

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI**

**EVALUAREA SANCTUARIZĂRII INFECȚIEI HIV
ÎN SISTEMUL NERVOS CENTRAL,
ASPECTE CLINICO-PATOLOGICE**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonator științific:

Prof. univ. dr. Daniela Adriana Ion

Doctorand:

Ioan-Alexandru Diaconu

2017

Acest studiu a fost posibil cu ajutorul unei echipe multidisciplinare dedicate și proactive, formate din medici și cercetători din domeniul bolilor infecțioase, fiziopatologiei, virusologiei, geneticii și anatomopatologiei.

*Doresc să adresez mulțumiri Doamnei **Prof. univ. dr. Daniela Adriana Ion**, coordonatorul meu de studii doctorale, al cărei rol a fost fundamental în studiu, oferindu-mi șansa de a lucra într-un mediu dinamic, performant și competițional, fiind permanent disponibilă, deschisă și comunicativă, conferindu-mi întru totul libertate în ideatică procesului de cercetare.*

*Doresc să adresez mulțumiri Doamnei **Prof. univ. dr. Victoria Aramă**, coordonatorul meu de rezidențiat, al cărei rol a fost de asemenea fundamental, atât în cercetare cât și în pregătirea mea profesională, interdependență necesară și obligatorie în direcția aprofundării rigorii și realismului studiului doctoral finalizat.*

*Un punct focal esențial în doctoratul meu a fost colaborarea strânsă cu Laboratorul de Anatomopatologie din cadrul Spitalului Clinic Colentina, unde am beneficiat de susținerea necondiționată a Doamnei **Prof. univ. dr. Sabina Zurac** și a Doamnei **dr. Luciana Nichita**, a căror expertiză mi-a oferit o nouă perspectivă asupra studiului infecției HIV.*

*Doresc să-i mulțumesc Doamnei **Prof. univ. dr. Simona Ruță** pentru ajutorul pe care mi l-a acordat de-a lungul studiului, dovedind un interes deosebit pentru prezenta cercetare, fapt foarte valoros pentru mine.*

*Totodată doresc să le mulțumesc Domnișoarei **dr. Daniela Munteanu** pentru răbdarea și sfaturile prețioase pe care mi le-a oferit și Domnului **dr. Laurențiu Stratan** pentru ajutorul său pe toată durata studiului doctoral .*

Acest studiu nu ar fi fost posibil fără susținerea permanentă a colegilor de pe Secția III din cadrul Institutului Național de Boli Infecțioase Prof. Matei Balș, unde am găsit permanent îndrumare și sfaturi, într-un mediu performant și proactiv.

Nu în ultimă instanță, doresc să le mulțumesc prietenilor și familiei, ce mi-au oferit spațiu și înțelegere pentru a-mi reculege gândurile și a-mi duce la bun sfârșit prezenta cercetare.

Cuprins

PARTEA GENERALĂ

1.1	Particularități epidemiologice - cohorta românească	7
1.2	Bariera hematoencefalică în relație cu infecția HIV-1	9
1.2.1	Generalități	9
1.3	Sanctuarizarea HIV în Sistemul Nervos Central	10
1.3.1	Generalități	10
1.3.2	Factori ce influențează pătrunderea antiretroviralelor în LCR	10
1.3.3	Caracteristicile antiretroviralelor ce determină penetrarea SNC	11

PARTEA SPECIALĂ

2	Scopul și obiectivele studiului.....	13
3	Materiale și metode	15
3.1	Lotul de pacienți și materialul investigat	16
3.1.1	Formarea lotului	16
3.2	Metode de calcul statistic	17
3.3	Limitările studiului.....	18
4	Rezultate.....	19
4.1	Date generale despre lot și distribuția clinico-patologică în sfera neurologică	19
4.1.1	Particularitățile generale ale lotului studiat	19
4.1.2	Particularități ale afectărilor neurologice asociate infecției HIV în lotul studiat	20
4.2	Patologii/comorbidități non-neuropsihiatrice în cadrul lotului de studiu	20
4.2.1	Patologii infecțioase la nivel pulmonar / respirator	20
4.2.2	Afectări digestive/metabolice în cadrul lotului studiat	21
4.4	Evaluarea din punct de vedere imunologic si virusologic și terapeutic a lotului studiat	22
4.4.1	Eficiența tratamentului antiretroviral în sanctuarul cerebral	23
4.5	Criptococoză cerebrală - evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot I).....	26
4.7	Tuberculoza cerebrală - evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot II).....	28
4.8	Toxoplasmoza cerebrală - evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot III).....	30
4.9	Leucoencefalopatie progresivă multifocală – evaluarea conc. clinico-histopatologice (sublot IV).....	32
4.10	Encefalopatia HIV – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot V)	33
4.11	Limfomul cerebral asociat HIV – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot VI)	35
4.12	Infecția CMV cerebrală - evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot VIII)	36
4.13	Hiperemia și edemul cerebral asociate HIV - evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot IX).....	37
4.14	Evaluarea ratei de confirmare histopatologică a diagnosticului clinic neurologic	38
4.14.1	Rata de corelație clinico-histopatologică.....	38
4.14.2	Rata de subdiagnosticare prin raportare la examenul histopatologic.....	39
4.14.3	Rata de supradiagnosticare prin raportare la examenul HP	40

5	Discuții.....	41
5.1	Particularitățile epidemiologice ale lotului studiat	41
5.2	Considerații privind problematica diagnosticului în meningita criptococică	41
5.3	Disjunția completă clinico-histopatologică în tuberculoza cerebrală	42
5.5	Corelații clinico-histopatologice și studiu de diagnostic diferențial în toxoplasmoza cerebrală.....	44
5.6	Disjunția completă clinico-histopatologică în deficiența neurocognitivă as. HIV / encefalopatia HIV ...	45
5.7	Considerații clinico-histopatologice privind limfomul cerebral asociat infecției HIV	46
5.8	Concordanța clinico-patologică din infecția CMV cerebrală	47
5.9	Studiul clinico-patologic al leucoencefalopatiei progresive multifocale.....	49
5.10	Considerații privind evoluția anuală a ratei de confirm. histopatologică a diag. clinic neurologic.....	50
6	Implicații practice ale rezultatelor cercetării.....	52
6.1	Algoritm global optimizat de diagnostic al patologiilor cerebrale asociate HIV	53
7	Concluzii.....	54
7.1	Concluzii generale.....	54
7.2	Concluzii privind evoluția în timp a corelației dintre diagnosticul clinic și cel histopatologic în ceea ce privește patologia neurologică asociată infecției HIV	54
7.3	Concluzii privind frecvența patologiilor cerebrale asociate HIV obiectivate histopatologic	56
7.4	Concluzii privind rata de confirmare morfologică a diagnosticului clinic	56
8	Bibliografie.....	58

Abrevieri

AgCr = Antigen seric criptococ

ARV = antiretroviral

AVC = atac vascular cerebral

bacilul Koch = *Mycobacterium tuberculosis*

BHE = bariera hematoencefalică

cART = tratament antiretroviral combinat

CCR5 / CD195 = *C-C chemokine receptor type 5*

CMV = citomegalovirus

CT = tomografie computerizată

CXCR-4 / fusină /CD184= *C-X-C chemokine receptor type 4*

H&E = Hematoxilină-Eozină

HAART = highly active antiretroviral therapy / tratament antiretroviral înalt activă

HAD = demenței asociate HIV

HHV-5. HCMV, CMV = human herpesvirus-5 / citomegalovirus

HIV = virusul imunodeficienței umane

HIVE = encefalita HIV

II = Inhibitori de integrază

INBIMB= în Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. dr. Matei Balș”,

INNRT = Inhibitori de reverstranscriptază non-nucleozidici

INRT = Inhibitorii nucleozidici de reverstranscriptază

IP = Inhibitori de protează

IRIS = sindrom de imunoreconstrucție

JC= virus John Cunningham

LCR = lichid cefalorahidian

MSOF = insuficiență multiplă de organ

neuroHIV= patologie neurologică asociată HIV

PAS = periodic acid Schiff

PML = Leucoencefalopatia progresivă multifocală (eng: Progressive Multifocal Leukoencephalopathy)

RMN = rezonanță magnetică

SDRA= sindromul de detresă respiratorie acuta

SIDA = sindromul imunodeficienței umane dobândite

TARV = tratament antiretroviral

TB/TBC = tuberculoză

TC = Toxoplasmoză cerebrală

TJ = joncțiunii strânse

ZN = Ziehl-Neelsen

PARTEA GENERALĂ

1.1 Particularități epidemiologice - cohorta românească

Infecția HIV a fost pentru prima oară obiectivată în România în anul 1985, urmând ca, într-o perioadă de 4 ani, între 1985 și 1989, să fie raportate 23 de cazuri, exclusiv adulți.

În perioada imediat următoare, de-a lungul a 18 luni, între iulie 1989 și decembrie 1990, au fost raportate 1090 de cazuri noi, reprezentând o creștere a populației autohtone infectate HIV de 47 de ori.

În ciuda faptului ca această creștere explozivă s-a putut încadra în trendul epidemic mondial al infecției HIV aferent perioadei 1990, populația nou infectată din România a dovedit a avea un set de particularități și un grad mare de omogenitate, fapt pentru care a primit denumirea de „Cohorta românească” sau „Cohorta 1987-1990”. Din totalul celor infectați, 97% au fost cazuri pediatrie sub vârsta de 3 ani, dintre care 62% instituționalizați, cu un raport între sexe de 1:1. Aparte de cazurile identificate și cuantificate, se consideră ca povara epidemiologică a Cohortei 1987-1990 a fost de 10.000 de copii infectați.

În decembrie 1990 Romania a raportat către Organizația Mondială a Sănătății mai multe cazuri de infecție HIV decât toate țările din regiunea europeană la un loc¹, aproape toate sub 3 ani, cu mame HIV negative.

Analiza filogenetică virală a permis obiectivarea altei particularități, respectiv infecția omogenă, apropiată de 100%, cu subtipul F1. Această tipologie virală era și încă este în anul 2016 foarte rară, reprezentând sub 1% din totalul infecțiilor la nivel mondial, fiind preponderentă în Africa, America de Sud și aproape absentă în Europa. În sine, subtipul F1 românesc este foarte asemănător structural cu subtipul F1 aferent Angolei, și relativ mai distant de cel sud-american, cu o descendență comună a acestora două într-o rădăcină virală din Congo, existentă teoretic în formă unică în jurul anului 1950².

În perioada 1985-2014 România a raportat 20.146 de cazuri de infecție HIV, la începutul anului 2015 în țară supraviețuind 12.866 de pacienți diagnosticați HIV. Din totalul istoric al infecțiilor, 65% au fost raportate la copii sub 14 ani, demonstrând astfel *sine qua non* accepțiunea nosocomială și orizontală a tipologiei cohorței românești, în cadrul unui fenomen de accident

epidemiologic aferent anilor 1987-1990. Rezervorul nosocomial de infecție nu a putut fi identificat până la momentul actual.

Rezultatul inerent al acestei particularități este preponderența marcată de la începutul anului 2015, într-o proporție de 45% din totalul infecțiilor, a unei populații HIV+ la vârstă fertilă și la momentul formării unui familii, respectiv de 25-29 de ani³. Ca urmare, având în vedere că aproximativ jumătate din populația HIV din România este situată în acest eșalon, se prefigurează o a doua epidemie HIV aferentă nou-născuților începând cu perioada 2015-2016. La acest factor epidemiologic se adaugă posibilitatea unui fenomen teratogen semi-permanent greu de controlat datorat efectelor post-medimentoase de termen lung a multiplelor linii succesive de antiretrovirale pe care Cohorta 1987-1990 le-a experimentat, odată cu schimbarea la 2-3 ani a terapiei ARV (*switch-ul*) cu o altă, inovativă și mai eficientă. Astfel, suma de modificări celulare permanente, semi-permanente sau remanente, după 10 linii terapeutice succesive a făcut ca atât pacienții Cohortei să fie greu de tratat prin prisma *oboselii biologice*, cât și viitorii lor copii, posibil HIV negativi prin prisma managementului medical inovativ (cART eficient de-a lungul sarcinii și profilaxie la naștere), însă cu potențiale particularități metabolice mediate prin mecanisme teratogene induse inutero de medicația antiretrovirală a mamei.

Aparte de particularitățile enunțate mai sus, România se înscrie în trendul european și mondial în ceea ce privește epidemiologia infecției HIV, respectiv cu existența a 3 căi majore de transmisie: prin contact sexual neprotejat în populația heterosexuală (cale dominantă, incidență de 57,4% în 2015), consum de droguri pe cale intravenoasă cu seringi utilizate în comun (20% în 2015), respectiv contact sexual neprotejat în populația homosexuală (risc crescut de transmisie, însă populație relativ restrânsă, 16% incidență în 2015⁴).

1.2 Bariera hematoencefalică în relație cu infecția HIV-1

1.2.1 Generalități

SNC este cel mai important și, totodată, cel mai sensibil sistem din corpul uman, în special datorită faptului că necesită un mediu extracelular perfect echilibrat pentru funcționarea optimă a neuronilor. Creierul uman are necesar metabolic înalt, de până la 20% din cantitatea de oxigen consumat de organismul uman, și este susceptibil la deteriorare provocată de o paletă largă de substanțe chimice neurotoxice.

Este esențial ca interfața între SNC și sistemul circulator periferic, bariera hematoencefalică (BHE), să asigure echilibrul ionic, transportul nutrienților și să acționeze ca un obstacol împotriva moleculelor potențial nocive⁵. De exemplu HIV-1 trebuie să treacă de bariera hematoencefalică pentru a pătrunde în SNC, unde este protejat într-o oarecare măsură de acțiunea unor medicamente antiretrovirale și unde generează o gamă largă de efecte neurotoxice, care duc la deficiențe cognitive, hormonale, vasculare și de homeostazie. Virusul poate persista în țesutul cerebral, un important sanctuar viral, acționând ca o sursă de reinfectare a restului corpului⁶. Prin acest substudiu, denumit BHE, am urmărit să sintetizăm cunoștințele curente relevante despre bariera hematoencefalică și rolul ei în neuropatologia infecției cu HIV.

Pentru pregătirea substudiului BHE, am cercetat următoarele baze de date, relevante din punct de vedere clinic: SpringerLink, UpToDate, PubMed, folosind diverse cuvinte-cheie: blood-brain barrier, HIV infection, tat, gp120, pericyte, monocyte, macrophage. Am ales publicațiile (originale sau review de literatură, capitole de carte și materiale statistice) care corespund cu obiectivele studiului nostru.

1.3 Sanctuarizarea HIV în Sistemul Nervos Central

1.3.1 Generalități

Compartimentele sunt definite ca regiuni anatomice care restricționează fluxul genetic al virusului HIV, permițând astfel divergența și evoluția virală separată de cea a virusului care circulă în sângele periferic. Rezervoarele sunt celule sau situri anatomice unde virusul poate supraviețui datorită cineticii virale mai lente decât cea din sângele periferic⁷

Una dintre principalele provocări în lupta împotriva infecției HIV este dezvoltarea de strategii capabile să elimine rezervorul viral persistent, respectiv *stingerea* sanctuarelor. Acest rezervor este rezistent sau parțial rezistent la acțiunea sistemului imunitar al gazdei și la terapia antiretrovirală. Virusurile care provin din sanctuar duc la un recul al viremiei odată ce tratamentul este oprit, ducând la reluare replicării virale⁸. Siturile clasice ale rezervoarelor și compartimentelor virale sunt sistemul nervos central, tractul genital, macrofagele și celulele CD4 infectate în stare de latență⁹.

Sistemul nervos central deservește un sanctuar important pentru replicarea virusului HIV. Prezența virusului în acest compartiment contribuie la dezvoltarea de complicații neurologice asociate HIV. Înțelegerea capacităților de penetrare a antiretroviraletor în sistemul nervos central poate contribui la elaborarea unor regimuri de tratament cu efecte neuroprotectoare¹⁰.

1.3.2 Factori ce influențează pătrunderea antiretroviraletor în LCR

Accesul diferitelor molecule în sistemul nervos central se bazează pe capacitatea lor de a penetra bariera hematoencefalică (BHE, *descrisă în detaliu în capitolul aferent*). Aceasta este formată din mai multe componente, dintre care două sunt descrise cel mai bine: BHE vasculară care include capilarele cerebrale și celulele endoteliale sigilate prin joncțiuni strânse, și bariera sânge-LCR reprezentată în principal de plexurile coroide¹¹. Datorită faptului că aria suprafeței capilare cerebrale este de 5000 de ori mai mare decât cea a plexului coroid, transportul prin BHE vasculară reprezintă principala cale de intrare în SNC pentru cele mai multe molecule¹².

Penetrabilitatea diverselor medicamente prin BHE, inclusiv a antiretroviraletor, este legată de mai mulți factori, cum ar fi particularitățile lor fizice și chimice, greutatea moleculară, procentul de legare de proteine, solubilitatea lipidică, gradul de ionizare, mecanismul pompelor

moleculare, fluxul sanguin cerebral și gradul de inflamație locală. Difuzia este una dintre cele mai comune mecanisme de trecere a BHE. Greutatea moleculară scăzută și o solubilitate lipidică mare facilitează penetrarea antiretroviralilor prin BHE. În contrapartidă, legare în proporție mare de legare de proteine asociată cu un nivel scăzut al moleculelor libere diminuează penetrarea prin BHE¹³. Ca urmare a secvențierii genomului uman, se consideră că aproximativ 500-1200 de gene codifică transportorii de medicamente. Prin urmare, există un spectru larg de transportori pentru diferite substraturi. Aceștia au fost clasificați în două grupe principale: transportori ATP-azici și SLC - solute-carrier family.

Transportorii ATP-azici formează grupul cel mai des studiat, responsabili pentru transportul la nivel celular a unei varietăți de molecule, utilizând energia produsă prin hidrolizarea ATP. Glicoproteina-P este molecula reprezentativă a acestei familii. Expresia acestor transportori la nivelul barierei hematoencefalice și pe alte celule, cum ar fi limfocitele, celulele CD4+ și microgliile joacă un rol important în penetrarea antiretroviralilor în rezervoarele celulare și anatomice ale virusului HIV. Al doilea grup, transportorii SLC, au de asemenea un rol important în efluxul de compuși organici și reglarea circulației antiretroviralilor prin bariera hematoencefalică. Aceștia sunt independenți de sodiu și ATP și sunt exprimați la nivelul endoteliilor capilare cerebrale și plexurilor coroide¹⁴.

1.3.3 Caracteristicile antiretroviralilor ce determină penetrarea SNC

Moleculele antiretrovirale au diverse caracteristici ce mediază penetrarea în sistemului nervos central: greutatea moleculară, legarea de proteinele plasmatică, statutul lipofil și cel de substrat pentru sistemele active de transport. Greutatea moleculară este invers proporțională cu gradul de intrare în SNC, date fiind joncțiunile de la nivelul barierei. Legarea de proteine scade penetrabilitatea în sanctuarul cerebral, având în vedere că numai fracțiunea liberă a antiretroviralilor poate difuza prin bariera hematoencefalică. Statutul lipofil crește gradul de difuziune a medicației antivirale prin bariera hematoencefalică. Pentru acizi și baze, solubilitatea lipidică este determinată mai mult prin gradul lor de ionizare, care este pH dependentă.

Medicamentele ce sunt metabolizate de citocromul P450 3A tind să fie substraturi pentru glicoproteina-P, cu toate că această asocieră nu este în întregime consecventă. Glicoproteina-P este un mecanism potent pentru excluderea moleculelor "nedorite" și este deosebit de important pentru inhibitorii de protează, inhibitorii de integrază și antagoniștii CCR5¹⁵.

PARTE SPECIALĂ

2 Scopul și obiectivele studiului

Infecția HIV a fost și rămâne una dintre cele mai complexe patologii ale epocii moderne, clinicianul confruntându-se cu o multitudine de complicații directe și indirecte ce derivă din disfuncția imunologică produsă de virusul imunodeficienței umane dobândite. Istoria acestei infecții este relativ recentă, puțin peste 25 de ani. Infecția HIV s-a răspândit rapid pe toate continentele, infectând peste 80 de milioane de persoane, dintre care jumătate au decedat.

Acest studiu a fost construit pentru a evalua metodele prin care clinicianul observă, cuantifică și controlează efectele infecției HIV, fie acestea directe (mediate strict viral), fie indirecte (prin infecții oportuniste), cu localizare la nivelul unui spațiu anatomic în care metodele de investigare sunt încă relativ limitate – sanctuarul cerebral.

Scopul este de a observa dacă metodele standard de diagnosticare clinică și paraclinică (serologice, virusologice, imunologice și imagistice) sunt eficiente și suficiente pentru diagnosticarea corectă din punct de vedere etiologic a afectărilor SNC, la pacienții cu infecție HIV, prin raportare la diagnosticul neuroanatomopatologic. Altfel spus, studiul a încercat să evalueze dacă de-a lungul ultimilor 23 de ani continua modernizare a metodelor de diagnostic clinic și paraclinic a permis o creștere a ratei de diagnosticare corectă a patologiilor cerebrale asociate infecției HIV.

Obiectivele studiului, enunțate în vederea obținerii de rezultate analizabile ce ar permite atingerea scopului mai sus enunțat, sunt:

1. Identificarea și evaluarea pacienților infectați HIV aflați în baza de date a INBIMB la care s-a efectuat necropsie cerebrală în intervalul 1993-2015, în conformitate cu criteriile de includere și excludere enunțate în subcapitolul *Materiale și metode*.
2. Împărțirea pacienților în subloturi în funcție de afectările cerebrale asociate infecției HIV, în vederea evaluării comparative a diagnosticelor clinice și histopatologice la nivel de entitate patologică.
3. Evaluarea comparativă a eficienței metodelor de diagnostic clinic și paraclinic în afectările neurologice asociate infecției HIV, pornind de la sensibilitatea și specificitatea acestora, utilizând drept standard rezultatul anatomopatologic final.

4. Evaluarea în dinamică, pe parcursul a 23 de ani, a evoluției ratei de diagnosticare clinică corectă, obiectivată prin confirmare histopatologică, cu estimarea ratelor de sub- și supradiagnosticare, precum și estimarea ratei de îmbunătățire a concordanței între diagnosticul clinic și cel histopatologic.
5. Redactarea în baza rezultatelor cercetării și coroborării acestora cu date la zi din literatura de specialitate a unui set de algoritmi optimizați de diagnosticare a patologiilor oportuniste ale SNC în cadrul infecției HIV.

Motivația care a stat la baza studiului a fost formarea unei imagini de ansamblu a instrumentelor de diagnosticare a afectărilor neurologice asociate infecției HIV și descrierea acestora într-o manieră unitară, urmărindu-se optimizarea evaluării pacienților. Studiul este plasat într-o arie a medicinei pe care clinicianul o sesizează punctiform și rar, pacient cu pacient, cea a evaluării clinico-histopatologice prin comparație directă între diagnosticele clinice emise antemortem și cele necroptice. Astfel, rezultatele studiului pot conferi o viziune nouă asupra infecției HIV, aceea a realității palpabile din spatele diagnosticului clinic, respectiv dacă ceea ce clinicianul observă indirect prin instrumentele sale de diagnostic se confirmă sau nu histopatologic, respectiv dacă setul de protocoale și algoritmi de diagnostic este unul viabil sau doar aproximativ.

3 Materiale și metode

Modelul de studiu este unul longitudinal, descriptiv, retrospectiv, desfășurat pe o perioadă îndelungată, respectiv 23 de ani, între 1993 și 2015, cu date conexe prelevate din două instituții medicale – Institutul Național de Boli Infecțioase Prof. Matei Balș (INBIMB) și Spitalul Clinic Colentina, ambele din București, România.

Diagnosticul clinic a fost considerat corect în acest studiu atunci când a coincis cu diagnosticul neuroanatomopatologic obținut post-mortem – fie prin sistem *match-up*, fie atunci când clinicianul a emis un diagnostic de etapă de tip sindrom care s-a dovedit a fi compatibil cu diagnosticul de boală emis histopatologic (corectitudine clinică parțială/incompletă).

Cele două metode histopatologice de confirmare a diagnosticului clinic în afectările SNC asociate infecției HIV (*match-up*) considerate *golden standard* au fost biopsia cerebrală *intravitală* și biopsia cerebrală postmortem (necropsia cerebrală). Biopsia cerebrală *intravitală* prezintă multiple dezavantaje, cel mai important fiind studierea unei secțiuni limitate din creier, de mici dimensiuni, fără a fi evaluate zonele cu aspect imagistic aparent sănătos, dar posibil modificate în cadrul infecției.

Necropsia cerebrală are avantajul de a putea asigura o evaluare histopatologică completă și globală a creierului, dar prezintă dezavantajul că este rareori efectuată la pacienții cu infecție HIV decedați, fie din cauza faptului că familiile acestora solicită scutire de necropsie, fie din cauza rezervelor pe care uneori le au Departamentele de Prosectură în a efectua necropsii pacienților cu infecție HIV.

În vederea obținerii unei analize clinco-histopatologice concludente a sanctuarizării infecției HIV în sistemul nervos central, au fost excluse rezultatele de tip biopsie cerebrală *intravitală* și au fost incluse în studiu numai necropsiile cerebrale efectuate pacienților aflați în baza de date a INBIMB, de la începutul epidemiei HIV în România (prima necropsie cerebrală în 1993) și până în prezent. Este de subliniat că acesta este primul studiu de acest tip efectuat în România.

3.1 Lotul de pacienți și materialul investigat

3.1.1 Formarea lotului

Lotul propus spre analiză este format din 39 de pacienți cu infecție HIV, tratați în INBIMB cu vârste cuprinse între 3 luni și 54 de ani, decedați ca urmare a unor complicații asociate infecției HIV, **la care s-a efectuat necropsie cerebrală**. Lotul reprezintă **întreaga populație** care s-a încadrat în criteriile de includere și excludere.

Criterii de includere:

Pacient(a) cu infecție HIV, decedat(a), internată anterior în INBIMB, la care s-a efectuat necropsie cerebrală.

Criterii de excludere:

Pacient(a) cu traumatisme cranio-cerebrale antemortem sau care a prezentat orice altă cauză a morții ce a încadrat cazul ca fiind medico-legal.

Țesuturile necroptice au prezentat un grad marcat/moderat de autoliză.

Cazurile la care colorațiile de tip imunohistochimic au relevat rezultate fals negative, fals pozitive sau neconcludente.

Materialul folosit spre analiză histopatologică este reprezentat în totalitate din țesut cerebral uman prelevat în cursul necropsiilor efectuate **de-a lungul unei perioade de 23 de ani** (1993 - 2015) în cadrul Serviciului de Anatomopatologie din cadrul Spitalului Clinic Colentina. Efectuarea autopsiilor a fost conformă cu legislația în vigoare – Hotărâre de Guvern 241/2004 – pacienți decedați în spital, fără a fi cazuri de tip medico-legal, pentru care s-a cerut completarea/precizarea/confirmarea diagnosticului clinic.

În cadrul actualei cercetări a fost comparat diagnosticul histopatologic cu cel obținut prin cumulul datelor clinice, paraclinice, serologice, imunologice și imagistice, informații obținute prin consultarea foilor de observație din arhiva INBIMB.

Diagnosticul histopatologic a fost obținut prin tehnici de macroscopie și microscopie, urmând metode curente histopatologice, de imunohistochimie și de imunofluorescență. Toate necropsiile

au fost efectuate în paralel de câte doi medici anatomopatologi și cuantificate după criterii unitare.

Autopsiile au fost efectuate conform legislației la cel puțin 24 de ore după constatarea exitusului, însumând un total de 39 de necropsii cerebrale. Creierul a fost examinat și descris macroscopic, cu recoltarea unuia sau mai multor fragmente în vederea evaluării microscopice. Piese recoltate au fost fixate într-un timp secund în formaldehidă 3,7%, pH 7,4, apoi prelucrate conform procedurilor standard.

3.2 Metode de calcul statistic

Datele statistice, graficele și tabelele au fost prelucrate în Microsoft Excel 2010 împreună cu Analysis ToolPak.

Pentru o mai bună înțelegere a viziunii clinice, metoda de calcul a ratei de confirmare histopatologică a diagnosticului s-a raportat la fiecare patologie în parte.

Astfel, dacă la un pacient au fost emise 3 diagnostice clinice de patologie cerebrală asociată HIV, la care 1 patologie a fost confirmată histopatologic (A), alte 2 infirmate (B și C) și una descoperită anatomopatologic fără a avea enunțare clinică (D), a fost posibilă calcularea unei rate combinate de confirmare clinică pentru patologia A, lipsa de enunțare clinică pentru D, supradiagnosticare pentru B și pentru C, respectiv subdiagnosticare pentru D.

Aceste date au fost evaluate global atât pentru fiecare patologie în parte (ratele de confirmare, de subdiagnosticare și de supradiagnosticare cu rezultat procentual), cât și cu raportare la anul efectuării necropsiei. Tendințele au fost evaluate prin calcul de regresie liniară.

Ratele de confirmare histopatologică relevă eficiența diagnosticului clinic, ridicând după caz semnale de alarmă acolo unde procentele sunt reduse. Ratele de supra și subdiagnosticare au rol adjuvant în acest calcul, obiectivând sursa blocajului (sau confuziei) din faza de diagnostic diferențial.

Studiul pe ani calendaristici arată tendințan clinicienilor de a optimiza procesul de diagnosticare pe parcursul celor două decenii scurse de la debutul epidemiei HIV în România.

Având în vedere gradul înalt de heterogenitate al lotului de studiu, evaluarea patologiilor asociate infecției HIV a fost efectuată prin metode de statistică descriptivă – grafice, tabele de distribuție și diagrame Venn-Euler.

În funcție de complexitatea diagnosticului și de gradul de concordanță între diagnosticul clinic și cel anatomopatologic, în capitolul *Implicații practice ale studiului* au fost construite protocoale sintetice și algoritmi de diagnosticare pentru diferitele afectări neurologice asociate infecției HIV.

3.3 Limitările studiului

Studiul prezentat este longitudinal, descriptiv, retrospectiv, desfășurat pe o perioadă îndelungată, respectiv 23 de ani, între 1993 și 2015, cu date conexe prelevate din două instituții medicale – INBIMB și Spitalul Clinic Colentina, ambele din București, România.

Caracterul retrospectiv al studiului aduce limitări, însă este de menționat că formarea prospectivă mono-centrică a unei cohorte de cazuri HIV necropsiate, cu o dimensiune confortabilă statistic, ar reprezenta o provocare, fiind necesară o perioadă de recrutare de minimum 10 ani.

Lotul a inclus întreaga populație care a întrunit criteriile de includere și excludere, totalizând 39 de cazuri. O limitare importantă a fost dimensiunea redusă a lotului, datorată efectuării necropsiilor cerebrale la un număr redus de pacienți infectați HIV, fenomen ce a îngreunat procesul statistic.

O altă limitare a fost heterogenitate accentuată a lotului din punct de vedere al vârstelor, statusului imunologic, statusului virusologic, schemelor de tratament antiretroviral, a comorbidităților și a comedicațiilor.

Cercetarea a necesitat studiu intensiv de arhivă – o parte din datele extrase s-au dovedit a fi incomplete sau absente. Stocarea computerizată a datelor medicale a debutat în jurul anului 2001, ca atare în anii precedenți informațiile au fost înregistrate strict scriptic.

Datele prezentate reprezintă finalul unei etape intermediare, studiul de față urmând a fi continuat în sistem de nucleu de cercetare multidisciplinar, preferabil multicentric, în cadrul unor cercetări postdoctorale.

4 Rezultate

4.1 Date generale despre lot și distribuția clinco-patologică în sfera neurologică

4.1.1 Particularitățile generale ale lotului studiat

Cei 39 de pacienți din lot, cu vârste între 3 luni și 54 de ani, prezintă un raport între sexe de 1,78/1 în favoarea sexului masculin.

Conform CDC, statusul imunologic se clasifică diferit în funcție de vârstă, copiii sub 13 ani fiind categorisiți diferit față de adulți și adolescenți. Lotul studiat prezintă 12 pacienți sub 13 ani și 27 peste această vârstă

Segmentul de vârstă cel mai bine reprezentat este 6-13 ani, fiind format din 9 pacienți, urmat de segmentul 30-39 ani, cu câte 7 pacienți. La polul opus, intervalul 1-5 ani are un singur reprezentant, în timp ce segmentul de sub 1 an prezintă 2 pacienți..

Lotului este format din pacienți necropsiați de-a lungul unei perioade de aproximativ două decenii, între anii 1993 și 2015, cu o medie de aproximativ 2 pacienți pe an. Excepțional, în 1998 și 2005 au existat două vârfuri de câte 6 pacienți necropsiați cerebral. În restul perioadei s-a menținut o ritmicitate de 1-3 pacienți per an. În ciuda faptului ca mortalitatea a scăzut semnificativ odată cu introducerea terapiei antiretrovirale eficiente, nu se remarcă o frecvență mai mare a necropsiilor cerebrale anterior anului 2000.

- În perioada 1993-2000 au fost efectuate 14 necropsii cerebrale,
- în perioada 2000-2007 au fost efectuate 14 necropsii cerebrale, iar
- în perioada 2008-2015 au fost efectuate 11 necropsii cerebrale.

De menționat că **autopsierea totală în cazul unui deces asociat HIV**, fără încadrare în aria medico-legală, **reprezintă o raritate medicală**, în majoritatea cazurilor familia solicitând scutire de necropsie.

4.1.2 Particularități ale afectărilor neurologice asociate infecției HIV în lotul studiat

În total au fost emise 47 de diagnostice anatomopatologice cerebrale la nivelul întregului lot. În cazul a 32 de pacienți diagnosticul a fost unic, pentru 6 pacienți s-au emis câte 2 diagnostice distincte, iar pentru un singur caz s-au emis 3 diagnostice.

Cele mai frecvente diagnostice sunt *hiperemia și edemul cerebral* (13 cazuri), *meningoencefalita nespecific* (8 cazuri), *criptococoza cerebrală* (5 cazuri), urmate de *encefalopatia HIV*, *leucoencefalopatia progresivă multifocală* și *toxoplasmoza cerebrală* cu câte 4 cazuri fiecare. Lotul se încheie cu 3 cazuri de *infarct ischemic cerebral*, 2 cazuri de *limfom cerebral* și câte un caz de *citomegaloviroză cerebrală*, *encefalită nespecifică*, *meningită carcinomatoasă*, respectiv *ramolismen ponto-cerebelos*.

În total au fost emise 44 de diagnostice clinice neurologice, cu următoarea distribuție: 7 forme de tuberculoză cerebrală, 6 encefalopatii HIV, 5 meningoencefalite nespecifice, 4 criptococozes cerebrale, 4 forme de leucoencefalopatie progresivă multifocală, 4 suspiciuni de limfom cerebral, 4 toxoplasmoze cerebrale, câte 2 suspiciuni de infarct ischemic cerebral, 2 de proces tumoral, 2 de neurosifilis și câte un diagnostic clinic de infecție CMV cerebrală, hidrocefalie, Kaposi cerebral, meningoencefalită carcinomatoasă, respectiv o suspiciune de hemoragie cerebrală.

4.2 Patologii/comorbidități non-neuropsihiatrice în cadrul lotului de studiu

Lotul de studiu este format din pacienți cu multiple patologii non-neuropsihiatrice asociate infecției HIV, care vor fi tratate separat în această lucrare. Dintre acestea, cele mai frecvente au fost cele din sfera pulmonară/respiratorie, digestivă/metabolică și hematologică / cardiovasculară, la care se adaugă un set de comorbidități non-grupabile.

4.2.1 Patologii infecțioase la nivel pulmonar / respirator

În afara de elementele clinice de ordin neurologic, au fost obiectivate la fiecare pacient din grup diagnostice clinice de ordin general. Se observă o frecvență crescută a patologiilor de ordin respirator/pulmonar, respectiv digestiv/metabolic. La 12 pacienți din totalul de 39 s-a ridicat suspiciunea de bronhopneumonie, iar la 9 de pneumocistoza, cu o suprapunere a acestor două

patologii la 4 pacienți. Se observă o incidență a patologiei pulmonare acute cu risc vital la 17 pacienți.

Tuberculoza pulmonară activă a fost diagnosticată clinic la 6 pacienți, cu mențiunea că în cazul a 3 pacienți, patologia nu a fost acompaniată de alte boli infecțioase respiratorii. De menționat că la un pacient a fost obiectivat emfizem bulos, iar la un altul o tumora pulmonară invazivă.

4.2.2 Afectări digestive/metabolice în cadrul lotului studiat

În cadrul lotului au fost identificate 35 de patologii distincte la nivel digestiv și/sau metabolic. Cașexia și candidoza de tract digestiv (predominant oro-faringiană) au fost cel mai frecvent întâlnite, reprezentând 62,85% din afectările la nivel digestiv / metabolic.

Astfel, la aproximativ o treime din pacienții lotului de studiu a fost obiectivată candidoza oro-faringiană cu leziuni extinse.

La 10 pacienți din lotul de studiu s-a stabilit diagnosticul de deficit sever ponderal și metabolic, respectiv cașexie - entitate clinică care este considerată apanajul infecției HIV avansate (SIDA). Denumirea acestui sindrom în literatura anglosaxona este mai grăitoare clinic, reunind termenul de cașexie cu cel de capital biologic depășit – așa zisul „Wasting Sindrom”, în traducere liberă „*sindrom de veștejire*”.

4.4 Evaluarea din punct de vedere imunologic si virusologic și terapeutic a lotului studiat

Evaluarea pacienților incluși în lot prezintă 5 elemente definitorii pentru prezentul studiu:

- status imunologic – evaluat prin determinarea titrului CD4 sau, atunci când această analiză nu a fost disponibilă, titrul total de limfocite
- status virusologic – valoarea viremiei HIV (ARN-HIV)
- status terapeutic – tratamentele antiretrovirale de care au beneficiat pacienții
- status clinic – evaluat în prezentul studiu prin urmărirea diagnosticelor clinice emise
- status post-mortem – evaluat în prezentul studiu prin urmărirea diagnosticelor necroptice anatomopatologice emise (specific studiului – cerebrale)

În cadrul evaluării imunologice, virusologice și terapeutice, mai jos sunt listate datele de arhivistică aferente fiecărui pacient: vârstă anterior de exitus în ani și anul decesului, valoarea CD4 sau titrul absolut de limfocite (cel/mm³) – ultima valoare premergătoare decesului, virmia HIV (copii/ml) – ultima valoare premergătoare decesului, respectiv tratamentul antiretroviral administrat. În măsura în dreptul unui rubrici nu este precizată o valoare, aceasta analiză fie nu a fost efectuată, fie datele de arhivistică nu au fost disponibile.

Tratamentele sunt descrise în dreptul fiecărui pacient sub forma unor sinteze, incluzând momentul inițierii (de raportat la anul decesului), perioade de întrerupere și modificări de tratament.

Schemele ARV utilizate sunt descrise sub formă sintetică, iar dozajele sunt cele standard, în măsura în care nu se specifică altfel.

Date complete pot fi consultate în *Anexa II – Extrase din fișele de observatie ale pacienților din lot.*

În cazul a 17 pacienți a fost cuantificată valoarea CD4. Valoarea minimă înregistrată a fost 1cel/mm³, cea maximă de 536 cel/mm³ (caz pediatric – vârstă de 1 luna). Toate cazurile peste 14 ani au prezentat o valoare CD4 sub 200cel/mm³. Copiii (0-14 ani) au prezentat valori CD4 între 190 și 536 cel/mm³.

Prima analiză de tip CD4 a fost efectuată în cadrul lotului în anul 1997. Incepând cu anul 2007 această analiză este constant determinată la toți pacienții din lot.

În cazul pacienților la care nu a fost disponibilă analiza valorii CD4, titrul absolut de limfocite a fost între 3400 și 342 cel/mm³. Pacienții peste 14 ani au prezentat valori între 400 și 1800 cel/mm³, iar cei sub 14 ani între 241 și 3400 cel/mm³.

În cazul a 19 pacienți a fost efectuată viremie HIV. 18 cazuri au prezentat valori detectabile, între 5.011.872 și 109 copii/ml. Un pacient a prezentat o viremie interpretată ca sub 400 copii/ml (conform posibilităților tehnice de la momentul analizei) – nu se poate decela dacă aceasta a fost nedetectabilă conform standardelor actuale (<10 copii/ml).

Aparte de pacientul mai sus menționat, cu viremie HIV de sub 400copii/ml, nu au fost înregistrați pacienți cu succes virusologic (menținerea nedetectabilă a viremiei sub tratament). Totodată nu se decelează pacienți de tip *elite controllers* (ARN-HIV nedetectabil susținut, cu serologie HIV pozitivă, în ciuda lipsei tratamentului antiretroviral), respectiv *elite therapeutic controllers* (ARN-HIV nedetectabil susținut după întreuperea terapiei antiretrovirale).

4.4.1 Eficiența tratamentului antiretroviral în sanctuarul cerebral

Din totalul de 39 de cazuri la care a fost efectuată necropsie cerebrală, 18 pacienți au primit tratament antiretroviral. Se observă că 13 din cazuri inițierea a fost efectuată cu mai puțin de 6 luni înainte de exitus, sub forma de terapie de salvare.

Peste jumătate din pacienții lotului studiat (21 de cazuri) nu au beneficiat de terapie antiretrovirală, motivele fiind variate: diagnosticarea pacienților cu infecție HIV în perioada 1993-1998 când terapia combinată de tip HAART încă nu era disponibilă în România; diagnostic tardiv în faza terminală a bolii; probleme de aderență la terapie, infecții oportuniste avansate cu risc de reconstrucție imună în cazul inițierii ARV.

Eșantionul cazurilor tratate prezintă o marcată heterogenitate în ceea ce privește durata și tipul de regim antiretroviral.

În pacienților care au beneficiat de un tratament inițiat timpuriu, intra în discuție eficacitatea tratamentelor potențiale accesibile în România la momentul inițierii.

Studiind schemele terapeutice administrate, se observă în cazul majorității pacienților un scor mediu-înalt de penetrabilitate în sanctuarul cerebral, calculat prin intermediul Clasificării Letendre de Penetrabilitate-Eficacitate a Terapiei Antiretrovirale în Sistemul Nervos Central (CNS Penetration-Effectiveness <CPE> Ranks 2010):

Nr.	Tratament antiretroviral	CPE Letendre
1	2003: 3TC+ZDV+NVP, TARV menținut 4 luni, apoi stopat 6 luni	10
	2004: 3TC+ABC+ZDV+EFV, TARV, stopat în 12.2004 până în 2007	12
	2007: ABC+3TC+Fosamprenavir/r, până în 02.2008, pauză până în 07.2008, continuat până în 09.2008, apoi din 11.2008:	9
	2008: ABC+3TC+DRV/r, TARV stopat de multiple ori până la deces, aderență foarte scăzută.	8
2	2007: DDI+ABC+LPV/r, stop TARV 10.2007-01.2008	8
	04.2008: reluare TARV cu ABC+3TC+LPV/r, întreruperi multiple de 3-4 luni până la deces	8
3	3TC+ABC+EFV 1 lună pre-exitus	8
4	Profilaxie neonatală AZT și 3TC din 24.09.2012.	6
5	3TC+LPV/R+Nevirapina, 1 lună	9
6	Inițiere în ianuarie 2010 cu ABC și 3TC, alături de DRV/r;	8
	Aprilie 2010, la 4 luni: se asociază RAL (Raltegravir) 800 mg/zi	11
	Mai 2010, la 1 lună: se asociază Enfuvirtide 90 mgx2/zi	12
7	3TC+ZDV+EFV 2 luni	9
8	ZDV+3TC+SAQ/r, 2 luni	6
9	2003: AZT+3TC+ABC (Trizivir), întreruperi multiple	9
	2005: AZT+3TC+Fosamprenavir/r, întreruperi multiple	7
10	2003-2005: 3TC+ABC+ZDV+Nelfinavir	10
11	3TC+AZT+LPV/r 3 luni	9
12	2002: EFV+3TC+IDV (Indinavir), întrerupt după 6 luni	10
	2004: 3TC+ABC+ZDV+LPV/r, 2 luni, apoi întrerupt	12
13	2004: 3TC+ZDV+LPV/r, 2 luni înainte de exitus	8
14	3TC+ZDV+EFV 1 lună anterior de exitus	8
15	2002: 3TC+ZDV+EFV, susținut până la exitus (2 ani)	8
16	AZT + NVP 2 săptămâni	8
17	AZT + IDV + ddC (Zalcitabină) – 2 săptămâni anterior decesului	9
18	AZT+ ddC (Zalcitabină) inițiată cu 5 luni anterior decesului	5

Terapia antiretrovirală în cadrul lotului a fost compusă dintr-o bază de inhibitori de revers transcriptază nucleozidici, formată din una dintre cele două combinații accesibile în România, AZT+3TC (preponderent), respectiv ABC+3TC, cu un scor cumulat de penetrabilitate-eficacitate în SNC de 5-6 puncte, sumă la care s-au adăugat între 1 și 4 puncte aferente celui de-al treilea compus (preponderent 3 puncte, aferente EFV sau LPV/r), rezultând un scor CPE Letendre între 6 și 12 puncte (punctajul maxim a fost obținut prin coroborarea a patru molecule în afara schemei clasice HAART).

De notat că o baza de inhibitori de revers transcriptază formată din Emtricitabină și Tenofovir cumulează 4 puncte în clasificarea Letendre, inferioară AZT+3TC sau ABC+3TC. Astfel, accesibilitatea mai redusă în România pentru moleculele noi precum TDF și FTC, a făcut ca, în pofida efectelor secundare mai frecvente ale ABC+3TC și mai ales AZT+3TC, penetrabilitatea SNC să fie superioară pe loturile de pacienți tratate în INBIMB. Totodată, accesibilitatea crescută la EFV și LPV/r a ridicat scorul total CPE Letendre la 8-9 puncte, sumă situată la limita superioară a eficacității de penetrare a barierei hematoencefalice.

Dimensiunea și heterogenitatea eșantionului de pacienți tratați nu permite o evaluare statistică a regimurilor terapeutice coroborate cu afectările directe și indirecte ale SNC asociate HIV. Se poate remarca însă că la nivelul eșantionului de pacienți tratați, scorurile de penetrabilitate-eficacitate a terapiei antiretrovirale în SNC per pacient prezintă valori medii-înalte.

Trei cazuri prezintă valori suboptimale, două în contextul biterapiei și unul prin adăugarea la baza de INRT a SAQ/r (penetrabilitate minimă în SNC).

În contextul unei majorități a scorurilor CPE Letendre situată în spectrul valorilor înalte, se ridică problema duratei de tratament, care a fost insuficientă pentru a permite o eventuală desanctuarizare virală cerebrală, care să atragă scăderea riscului de complicații SNC asociate HIV.

Studiu de diagnostic – analiza lotului cu împărțire în 9 subloturi

4.5 Criptococoza cerebrală

evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot I)

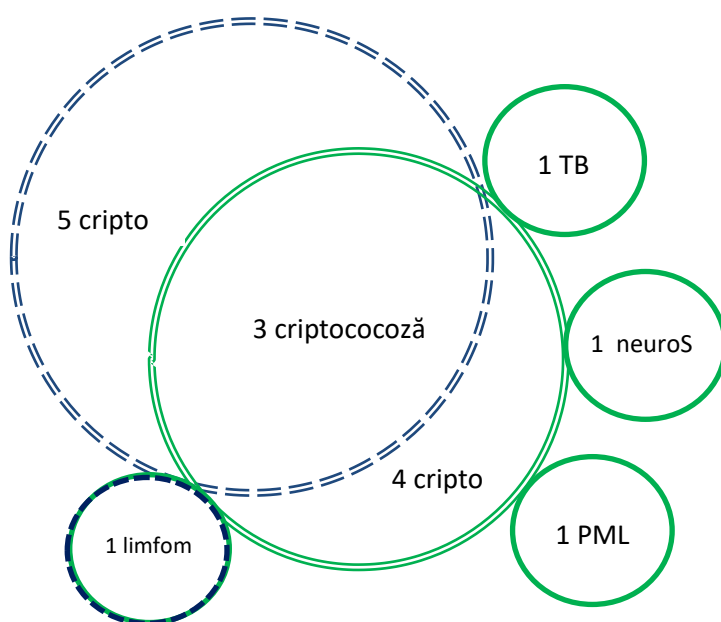
Sublotul I este format din 6 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de criptococoză cerebrală.

Au fost emise 5 diagnostice anatomopatologice de criptococoză cerebrală, cu confirmarea a 3 suspiciuni clinice, infirmarea uneia și descoperirea a 2 pacienți subdiagnosticați clinic (detalii în Tabelul 10, listat mai jos).

	Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	DC3	Histopatologic 1
1	Criptococoză	Suspiciune tuberculoza cerebrală		Criptococoză
2	Criptococoză			Criptococoză
3				Criptococoză
4	Suspiciune limfom cerebral	Criptococoza cerebrală	Neurosifilis	Limfom cerebral
5	PML			Criptococoză
6	Criptococoză			Criptococoză

	Nr. total de cazuri din sublotul I	6
Criptococoză cerebrală suspicionată clinic	4	
Criptococoză cerebrală diagnosticată HP	5	
Diagnostic clinic confirmat HP	3	
Supradiagnosticare - diagnostic clinic de criptococoză infirmat HP	1	limfom cerebral/neurosifilis
Subdiagnosticare - diagnostic HP de criptococoză cu diagnostic clinic diferit	2	PML, fără diagnostic
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP	0	
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP	3	TB, neurosifilis, PML

Tabel 1. Criptococoză cerebrală - distribuție clinico-histopatologic



Figură 1. Concordanța clinico-patologică a criptococozei cerebrale – diagramă Venn-Euler

Legenda: cercurile continue conturate în verde reprezintă diagnosticile clinice emise, cercurile conturate discontinuu în albastru reprezintă diagnosticile histopatologice. Intersecția formelor se consideră corelație clinico-patologică. Spațiile conturate în verde în afara liniei albastre punctate se consideră supradiagnosticări clinice, iar spațiile delimitate cu linie albastră discontinua în afara zonelor verzi reprezintă subdiagnosticări clinice; cercurile cu linie dublă, continuă sau discontinuă reprezintă aria de interes din subplot.

cripto=criptococoză, neuroS=neurosifilis, TB=tuberculoză cerebrală, limfom=limfom cerebral, PML=leucoencefalopatie progresivă multifocală,

Cazul supradiagnosticat prezenta în paralel 3 suspiciuni clinice – criptococoză cerebrală, limfom cerebral și neurosifilis, diagnosticul anatomopatologic final fiind de limfom. Astfel, evaluarea clinicianului a fost corectă, însă nu a putut fi depășită etapa de diagnostic diferențial.

Într-un alt caz diagnosticul clinic s-a oprit la nivelul etapei de diagnostic diferențial cu incertitudinea între criptococoză și tuberculoză cerebrală, ultima fiind exclusă la necropsie.

În cazul celor doi pacienți subdiagnosticați pentru criptococoză, unul a fost suspionat cu leucoencefalopatie progresivă multifocală, iar al doilea nu a primit diagnostic clinic din sferă cerebrală. Toți pacienții cu criptococoză cerebrală obiectivată au prezentat diagnostic histopatologic unic, fără a fi decelate alte infecții oportuniste sau efecte neurologice directe mediate viral.

Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 3/6 (50%).

4.7 Tuberculoza cerebrală

evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot II)

Sublotul II este format din 7 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de tuberculoză cerebrală.

În toate cazurile suspicionate clinic examenul necroptic **a exclus** prezența unor modificări histologice compatibile cu tuberculoza cerebrală, înregistrându-se o rata de supradiagnosticare de 100%. **Toate cazurile suspicionate cu tuberculoză cerebrală au primit medicație anti-tuberculoasă.**

	Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	DC 3	Histiopatologic (HP) 1	HP2	HP3
1	Meningoencefalită nespecifică	Suspiciune tuberculoză cerebrală		Meningoencefalită nespecifică		
2	Criptococoză	Suspiciune tuberculoză cerebrală		Criptococoză		
3	Tuberculoza cerebrală			Hiperemie și edem		
4	Suspiciune tuberculoză cerebrală			Citomegaloviroză Cerebrală		
5	Meningoencefalită carcinomatoasă	Suspiciune tuberculoză cerebrală		Meningită carcinomatoasă		
6	Citomegaloviroză cerebrală	Suspiciune tuberculoză cerebrală		Hiperemie și edem		
7	Suspiciune tuberculoză cerebrală	IRIS	AVC	Limfom cerebral	AVC	Hiperemie și edem

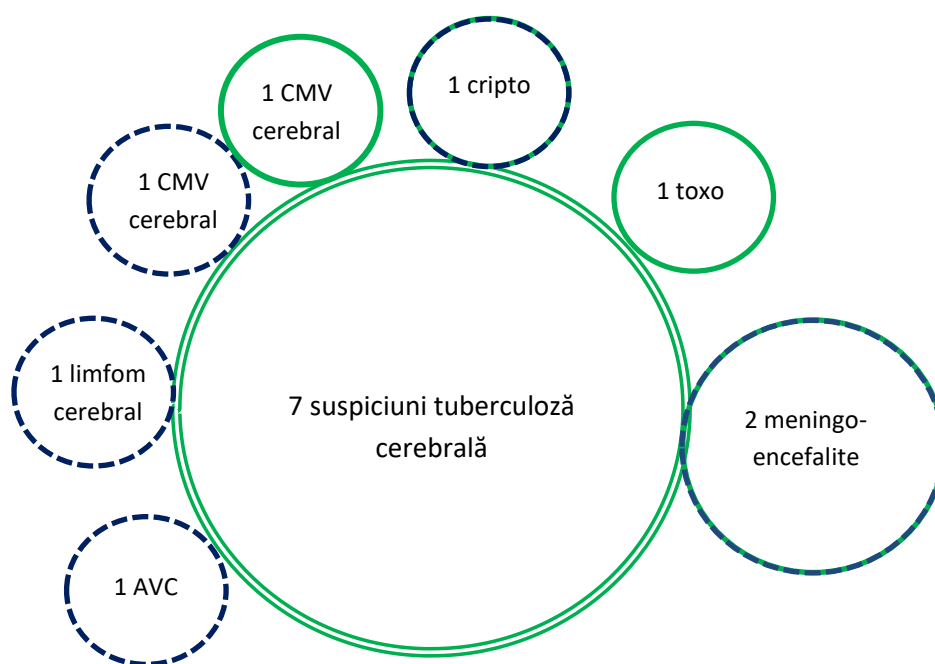
Număr total din sublotul II		7
Tuberculoză cerebrală diagnosticată clinic		7
Tuberculoză cerebrală diagnosticată HP		0
Diagnostic clinic confirmat HP		0
Supradiagnosticare - diagnostic clinic infirmat HP		7
Subdiagnosticare - diagnostic HP de TB cerebral cu diagnostic clinic diferit		0
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP		2
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP		2
		Citomegaloviroză, limfom IRIS, Citomegaloviroză

Tabel 2. Tuberculoză cerebrală - distribuție sublot

În cadrul Sublotului II, 6 cazuri au prezentat diagnostic histopatologic unic, iar într-un singur caz s-au emis 3 diagnostice histopatologice în paralel.

Discordanța între evaluarea clinică și cea anatomopatologică s-a produs între tuberculoza cerebrală și următoarele patologii obiectivate histologic: criptococoză, citomegaloviroză, meningoencefalită nespecifică, meningită carcinomatoasă, limfom cerebral, modificări cerebrale nespecifice de tip hiperemie și edem și infarct ischemic cerebral. Din totalul de modificări observate histologic, următoarele au fost suspicionate clinic, pe lângă tuberculoza cerebrală: meningoencefalita nespecifică, criptococoză și meningoencefalita carcinomatoasă și infarctul ischemic cerebral. Au fost subdiagnosticate limfomul cerebral și infecția CMV.

Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 0/7 (0%).



Figură 2. Concordanța clinico-patologică a tuberculozei cerebrale - diagramă Venn-Euler

Legenda: cercurile continue conturate în verde reprezintă diagnosticele clinice emise, cercurile conturate discontinuu în albastru reprezintă diagnosticele histopatologice. Intersecția formelor se consideră corelație clinico-patologică. Spațiile conturate în verde în afara liniei duble verzi se consideră supradiagnosticări clinice, iar spațiile delimitate cu linie albastră discontinua reprezintă subdiagnosticări clinice.

AVC=atac vascular cerebral, CMV=citomegalovirus, toxo=toxoplasmoză cerebrală

4.8 Toxoplasmoza cerebrală – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot III)

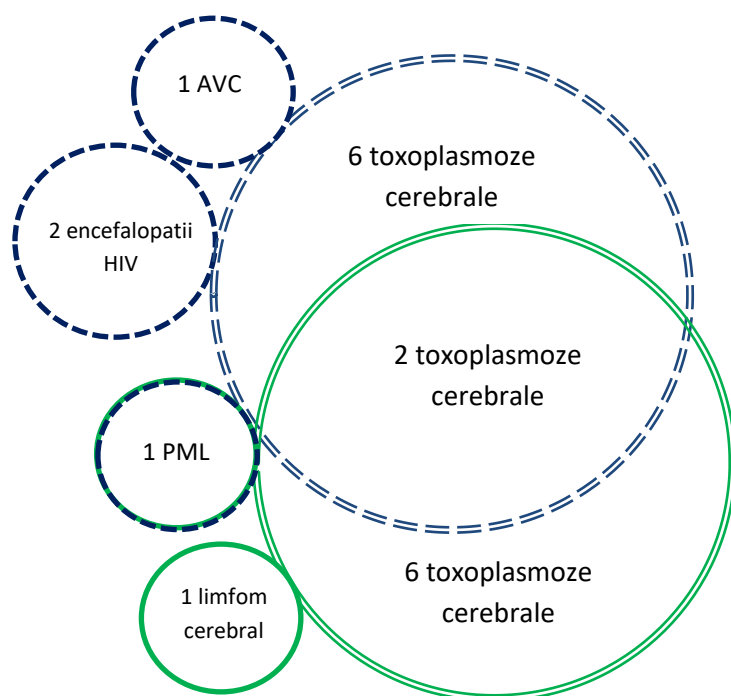
Sublotul III este format din 6 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de toxoplasmoză cerebrală. Au fost emise 4 diagnostice anatomopatologice de toxoplasmoză cerebrală, cu confirmarea a 2 suspiciuni clinice, infirmarea a 2 cazuri și descoperirea a 2 pacienți subdiagnosticați clinic. Din suma de cazuri, 4 pacienți au prezentat diagnostic HP unic și 2 pacienți câte 2 diagnostice în paralel. Detalii în tabelele de mai jos.

	Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	Histopatologic (HP) 1	HP2
1	Toxoplasmoză cerebrală		Infarct ischemic cerebral	Encefalita nespecifică
2	Limfom cerebral		Toxoplasmoza cerebrală	
3	Proces tumoral		Toxoplasmoza cerebrală	
4	Toxoplasmoză cerebrală	PML	PML	Encefalopatie HIV
5	Toxoplasmoză cerebrală	Neurosifilis	Toxoplasmoza cerebrală	
6	Toxoplasmoză cerebrală	Limfom cerebral	Toxoplasmoza cerebrală	

Număr total de cazuri din sublotul III	6	
Toxoplasmoză cerebrală suspicionată clinic	4	
Toxoplasmoză cerebrală diagnosticată HP	4	
Diagnostic clinic confirmat HP	2 + 1	(+1 = diag. clinic de proces tumoral)
Supradiagnosticare - diagnostic clinic de TC infirmat HP	2	
Subdiagnosticare - diagnostic HP de TC cu diagnostic clinic diferit	1	
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP	3	AVC, Encefalită nespecifică, Encefalopatie HIV
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP	3	Limfom cerebral x 2, neurosifilis

Vârsta/ Sex	Diagnostic clinic neurologic	Diagnostic histologic cerebral	Viremie HIV Titru	Serologie Toxoplasmoză
30/F	Toxoplasmoză cerebrală în observație Neurosifilis în observație	Toxoplasmoză la nivelul nucleilor bazali, talamus și trunchi	HIV-RNA=542070 CD4=23	IgM negativ IgG pozitiv
15/M	Proces înlocuitor de spațiu intracranian Tumora cerebeloasă în observație Sindrom de hipertensiune intracraniană Sindrom cerebelos	Meningoencefalita toxoplasmică	HIV-RNA=603000 CD4=?	IgM negativ IgG pozitiv
27/M	Formațiuni tumorale intracerebrale Toxoplasmoză cerebrală în observație Limfom în observație	Toxoplasmoză temporo-parietală	HIV-RNA=1968 CD4=50	IgM negativ IgG pozitiv
25/F	Pneumocistoză cu determinări cerebrale Suspiciune limfom cerebral	Toxoplasmoză cerebrală	HIV-RNA=422000 CD4=?	IgM negativ IgG negativ

Tabel 3. Detalierea cazurilor de toxoplasmoză confirmată histopatologic



Figură 3. Concordanța clinico-patologică a toxoplasmozei cerebrale – diagramă Venn-Euler

Legenda: cercurile continuate conturate în verde reprezintă diagnosticul clinic emis, cercurile conturate discontinuu în albastru reprezintă diagnosticul histopatologic. Intersecția formelor se consideră corelație clinico-patologică. Spațiile conturate în verde în afara liniei albastre punctate se consideră supradiagnosticări clinice, iar spațiile delimitate cu linie albastră discontinuu în afara zonelor verzi reprezintă subdiagnosticări clinice; cercurile cu linie dublă, continuă sau discontinuu reprezintă aria de interes din sublot..

PML=leucoencefalopatie progresivă multifocală, AVC=infarct ischemic cerebral

Cele două cazuri confirmate histologic se aflau în etapa de diagnostic diferențial, fiind în paralel suspicionate limfomul cerebral într-un caz, respectiv neurosifilis în altul, infirmate HP.

În cazul pacienților cu înfirmare histologică a diagnosticului clinic de toxoplasmoză cerebrală, s-au obiectivat următoarele: infarct ischemic cerebral și encefalita nespecifică într-un caz, respectiv leucoencefalopatie progresivă multifocală (suspectat clinic în paralel) și encefalopatie HIV în cazul celui de-al doilea.

Pacienții la care nu s-a suspectat clinic toxoplasmoză cerebrală, fiind subdiagnosticați, au primit diagnostic clinic de limfom cerebral într-un caz, respectiv proces tumoral în cel de-al doilea caz.

La 5 din 6 pacienți s-au obiectivat anticorpi serici de tip IgG pentru T. Gondii, iar unul a avut IgG negativ. Niciun pacient nu a prezentat IgM pentru T. Gondii. **De menționat că la pacientul cu titru seric negativ de IgG și IgM pentru T. Gondii s-a obiectivat toxoplasmoză cerebrală.**

Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 2/6 (33%).

4.9 Leucoencefalopatie progresivă multifocală – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot IV)

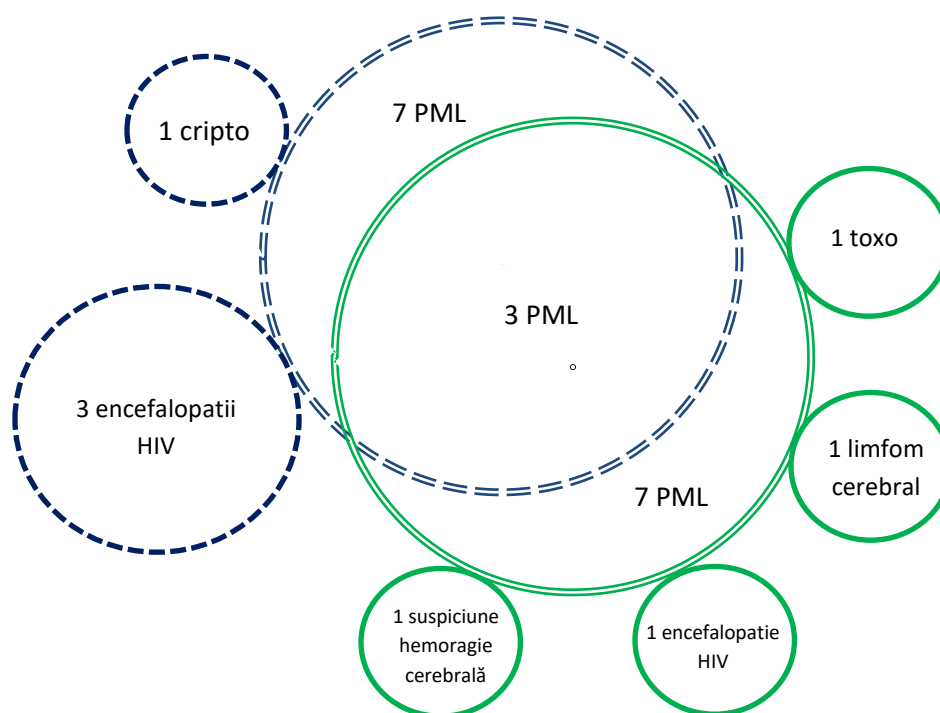
Sublotul IV este format din 5 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de leucoencefalopatie progresivă multifocală (PML).

Au fost emise 4 diagnostice anatomopatologice de PML, cu confirmarea a 3 suspiciuni clinice, infirmarea unui caz și descoperirea unui pacient subdiagnosticat clinic.

	Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	Histopatologic (HP) 1	HP 2
1	PML	Suspiciune hemoragie cerebrală	PML	Encefalopatie HIV
2	Encefalopatie HIV		PML	
3	Proces tumoral, suspiciune limfom cerebral	Suspiciune PML	PML	Encefalopatie HIV
4	PML		Criptococoză	
5	Toxoplasmoză cerebrală	PML	PML	Encefalopatie HIV

Număr total de cazuri din sublotul IV	5
PML suspicionată clinic	4
PML diagnosticată HP	4
Diagnostic clinic confirmat HP	3
Supradiagnosticare - diagnostic clinic de PML infirmat HP	1
Subdiagnosticare - diagnostic HP de PML cu diagnostic clinic diferit	1
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP	3
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP	3
	Criptococoză
	Encefalopatie HIV
	Encefalopatie HIV x 3
	Encefalopatie HIV, limfom cerebral, toxoplasmoză cerebrală

Tabel 4. Leucoencefalopatia progresivă multifocală - distribuție sublot



Figură 4. Concordanța clinico-patologică a PML – diagramă Venn-Euler

Legenda: cercurile continue conturate în verde reprezintă diagnosticul clinic, cercurile conturate discontinuu în albastru reprezintă diagnosticul histopatologic. Intersecția formelor se consideră corelație clinico-patologică. Spațiile conturate în verde în afara liniei albastre punctate se consideră supradiagnosticări clinice, iar spațiile delimitate cu linie albastră discontinuu în afara zonelor verzi reprezintă subdiagnosticări clinice, cercurile cu linie dublă, continuă sau discontinuu reprezintă aria de interes din sublot.

toxoplasmoză cerebrală, cripto=criptococoză PML=leucoencefalopatie progresivă multifocală

Din suma de cazuri, 2 pacienți au prezentat diagnostic HP unic și 3 pacienți câte 2 diagnostice în paralel, toate cu aceeași patologie – encefalopatie HIV. Pacientul supradiagnosticat cu PML a relevat histopatologic criptococoză cerebrală. S-au înregistrat 3 diagnostice clinice paralele cu PML, infirmate HP: hemoragie cerebrală, limfom și toxoplasmoză cerebrală.

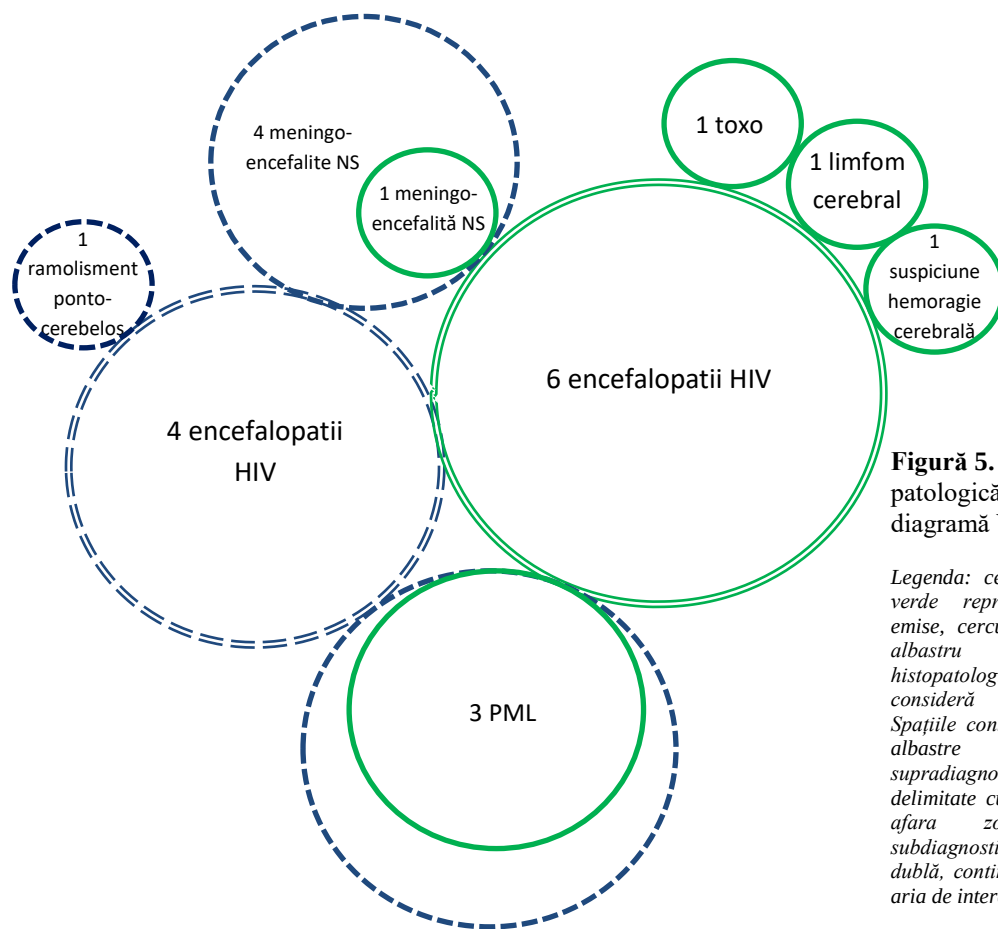
Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 3/5 (60%).

4.10 Encefalopatia HIV – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot V)

Sublotul V este format din 10 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de encefalopatie HIV. Au fost emise 4 diagnostice anatomopatologice de encefalopatie HIV, fără nicio confirmare a unei suspiciuni clinice, cu infirmarea a 6 cazuri și descoperirea a 4 pacienți subdiagnosticați clinic. Detalii în tabelul 15.

	Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	Histopatologic (HP) 1	HP 2
1	Encefalopatie HIV		Meningoencefalită nespecifică	
2	Encefalopatie HIV		Hiperemie și edem	
3	Encefalopatie HIV		Ramolism pontocerebelos recent	
4	AVC		Encefalopatie HIV	
5	PML	Suspiciune hemoragie cerebrală	PML	Encefalopatie HIV
6	Encefalopatie HIV		PML	
7	Proces tumoral, suspiciune limfom cerebral	Suspiciune PML	PML	Encefalopatie HIV
8	Meningoencefalită nespecifică	Encefalopatie HIV	Meningoencefalită nespecifică	
9	Toxoplasmoză cerebrală	PML	PML	Encefalopatie HIV
10	Encefalopatie HIV		Meningoencefalită nespecifică	Hiperemie și edem
Număr total de cazuri cu diagnostic clinic sau HP de encefalopatie HIV			10	
Encefalopatie HIV suspicionată clinic			6	
Encefalopatie HIV diagnosticată HP			4 + 2(?)	
Diagnostic clinic <i>parțial</i> confirmat HP			2(?)	descrise ca meningoencefalită nespecifică
Supradiagnosticare - diagnostic clinic de EHIV infirmat HP			3	
Subdiagnosticare - diagnostic HP de EHIV cu diagnostic clinic diferit			4	
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP			1	PML
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP			3	TC, limfom cerebral, AVC

Tabel 5. Encefalopatia HIV - distribuție sublot



Figură 5. Concordanța clinico-patologică a encefalopatiei HIV – diagramă Venn-Euler

Legenda: cercurile continuate conturate în verde reprezintă diagnosticile clinice emise, cercurile conturate discontinuu în albastru reprezintă diagnosticile histopatologice. Intersecția formelor se consideră corelație clinico-patologică. Spațiile conturate în verde în afara liniei albastre punctate se consideră supradiagnosticări clinice, iar spațiile delimitate cu linie albastră discontinuu în afara zonelor verzi reprezintă subdiagnosticări clinice; cercurile cu linie dublă, continuă sau discontinuu reprezintă aria de interes din sublot.

*toxoplasmoză cerebrală,
PML=leucoencefalopatie progresivă multifocală. NS=nespecific*

Se observă că din cele 10 cazuri luate în substudiu, **disjuncția evaluării clinice și anatomopatologice este completă**: toate cazurile suspicionate au fost înfirmate și niciun caz descoperit HP nu a fost evaluat clinic ca fiind encefalopatie HIV. Opțiunea clinică de encefalopatie HIV s-a dovedit a fi histopatologic, în funcție de pacient, meningoencefalită nespecifică, hiperemie și edem cerebral, leucoencefalopatie progresivă multifocală sau ramolismen ponto-cerebelos recent.

La polul opus, diagnosticul anatomopatologic de encefalopatie HIV este coroborat clinic, în funcție de pacient, cu infarct ischemic cerebral, leucoencefalopatie cerebrală multifocală, hemoragie cerebrală, limfom cerebral sau toxoplasmoză cerebrală. În extremis, două dintre cazurile suspicionate cu encefalopatie HIV au primit diagnostic HP de meningoencefalită nespecifică, fiind considerate în acest studiu ca fiind în congruență parțială.

Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 0/10 (0%).

4.11 Limfomul cerebral asociat HIV – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot VI)

Sublotul VI este format din 5 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de limfom cerebral. Au fost emise 4 diagnostice anatomopatologice de limfom cerebral, cu confirmarea a unui singur caz, infirmarea a 3 cazuri și descoperirea unui caz subdiagnosticat clinic. Detalii în tabelul 16.

	Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	DC 3	Histopat 1	HP2	HP3
1	Suspiciune limfom cerebral	Criptococoză cerebrală	Neurosifilis	Limfom cerebral		
2	Limfom cerebral			Toxoplasmoză cerebrală		
3	Proces tumoral, suspiciune limfom cerebral	Suspiciune PML		PML	Encefalopatie HIV	
4	Toxoplasmoză cerebrală	Limfom cerebral		Toxoplasmoză cerebrală		
5	Suspiciune tuberculoză cerebrală	IRIS	AVC	Limfom cerebral	Infarct ischemic cerebral	Hiperemie și edem
Număr total de cazuri în sublotul VI						5
Limfom cerebral suspionat clinic						4
Limfom cerebral diagnosticat HP						2
Diagnostic clinic confirmat HP						1
Supradiagnosticare - diagnostic clinic de limfom cerebral infirmat HP						3
Subdiagnosticare - diagnostic HP de limfom cerebral cu diagnostic clinic diferit						1
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP						2
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP						3
						Encefalopatie HIV, toxoplasmoză cerebrală
						TB cerebral, criptococoză, neurosifilis

Tabel 6. Limfom cerebral - distribuție sublot

Se observă că din cele 5 cazuri incluse în substudiu, rata de confirmare histopatologică este egală cu rata de subdiagnosticare, la un nivel de 20% (1/5), în timp ce rata de supradiagnosticare este situată la un nivel de 60% (3/5). Pacientul cu limfom obiectivat a prezentat 3 diagnostice concomitente în cadrul unui diagnostic diferențial imposibil de tranșat – neurosifilis, criptococoză și limfom cerebral, ultimul din listă fiind confirmat, însă cu prețul unui rate mari de supradiagnosticare.

În cazul pacienților suspecionați clinic cu limfom cerebral și cu înfirmare necroptică au fost obiectivate histologic următoarele patologii: 2 cazuri de toxoplasmoză cerebrală și 1 caz cu leucoencefalopatie progresivă multifocală concomitentă cu encefalopatie HIV .

Cazul subdiagnosticat a fost suspiciunat clinic cu tuberculoză cerebrală, sindrom inflamator de reconstrucție imună și infarct ischemic acut, fiind confirmat accidentul vascular, cu descoperirea unui limfom cerebral în detrimentul diagnosticului de toxoplasmoză.

Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 1/5 (20%).

4.12 Infecția CMV cerebrală – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot VIII)

Sublotul VIII este format din 2 pacienți, cu unic criteriu de includere: diagnosticul clinic și/sau anatomopatologic de infecție CMV cerebrală. Detalii în tabelul 18.

	Diagnosticul clinic (DC) 1	DC 2	Histopatologic 1
1	Suspiciune tuberculoză cerebrală		Infecție CMV cerebrală
2	Infecție CMV cerebrală	Suspiciune tuberculoză cerebrală	Hiperemie și edem

	Număr total de cazuri în sublotul VIII	2
	Citomegaloviroză cerebrală diagnosticată HP	1
	Diagnostic clinic confirmat HP	0
	Supradiagnosticare - diagnostic clinic de citomegaloviroză cerebrală infirmat HP	1
	Subdiagnosticare - diagnostic HP de citomegaloviroză cerebrală cu diagnostic clinic diferit	1
	Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP	0
	Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP	2
		2 x TB cerebral

Tabel 7. Citomegaloviroză cerebrală - distribuție sublot

Primul pacient a fost diagnosticat clinic cu suspiciune de tuberculoză cerebrală, fiind ulterior infirmat histologic, obiectivându-se infecție CMV cerebrală Al doilea caz a fost diagnosticat clinic cu infecție CMV cerebrală concomitentă cu tuberculoză cerebrală, ambele fiind infirmate.

Rata de diagnosticare clinică confirmată a fost de 0/2 (0%).

4.13 Hiperemia și edemul cerebral asociate HIV – evaluarea concordanței clinico-histopatologice (sublot IX)

Sublotul IX este format din 12 pacienți cu unic criteriu de includere: diagnostic histopatologic cerebral de hiperemie și edem cerebral.

Diagnostic clinic (DC) 1	DC 2	Histopatologic (HP) 1	HP 2
1		Hiperemie și edem cerebral	
2		Hiperemie și edem cerebral	
3 Tuberculoză cerebrală		Hiperemie și edem cerebral	
4 Infecție CMV cerebrală	Tuberculoză cerebrală	Hiperemie și edem cerebral	
5		Hiperemie și edem cerebral	
6 Meningoencefalită nespecifică		Hiperemie și edem cerebral	
7		Hiperemie și edem cerebral	
8 Encefalopatie HIV		Hiperemie și edem cerebral	
9		Hiperemie și edem cerebral	
10		Hiperemie și edem cerebral	
11 Hidrocefalie		Hiperemie și edem cerebral	Meningoencefalită nespecifică
12 Encefalopatie HIV		Hiperemie și edem cerebral	Meningoencefalită nespecifică
Număr total de cazuri în sublotul IX		12	
Diagnostic clinic confirmat HP		6	
Subdiagnosticare clinică a altor afecțiuni, diagnosticate HP		0	
Supradiagnosticare clinică a altor afecțiuni, infirmate HP		7	2 x TB, 2 x EHIV, CMV

Tabel 8. Hiperemie și edem cerebral - distribuție sublot

Din totalul de 12 pacienți - **6 nu au prezentat** un diagnostic clinic din sfera cerebrală.

Din restul de 6 pacienți, doi au fost suspicionați ca având encefalopatie HIV, doi pacienți tuberculoză cerebrală (dintre care la unul a fost propus un diagnostic concomitent de citomegaloviroză cerebrală), unul meningoencefalită nespecifică și unul hidrocefalie.

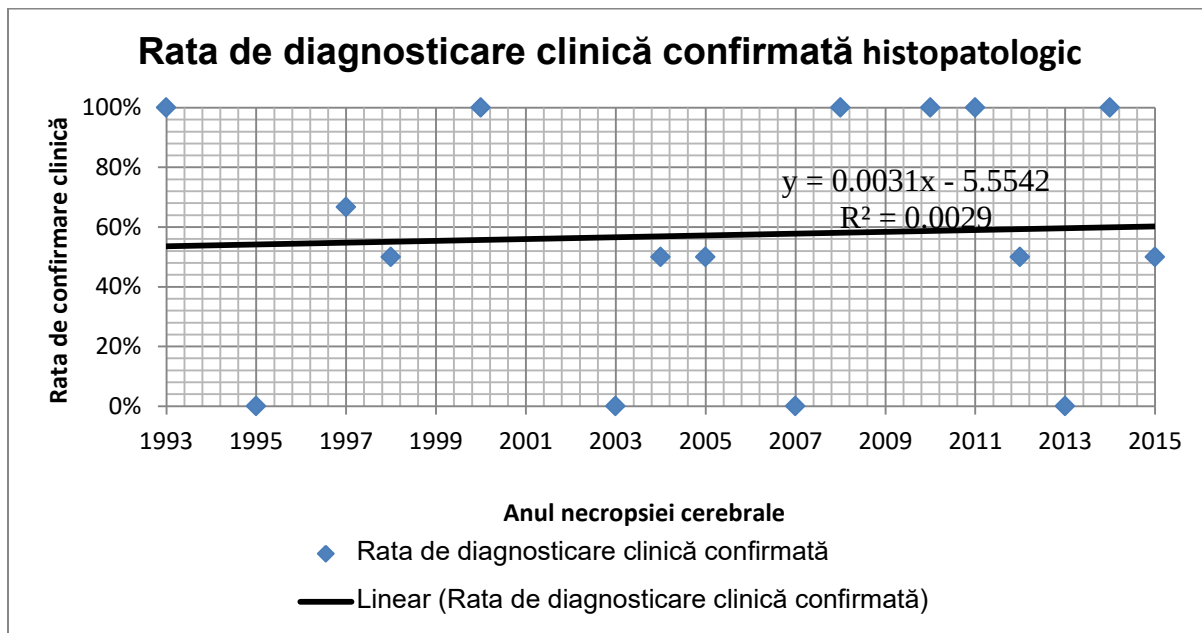
Având în vedere că nu există un consens al experților anatomopatologi în ceea ce privește asocierea modificărilor de tip hiperemie și edem cerebral cu infecția HIV, am ales să clasificăm toți pacienții cu acest diagnostic (acolo unde nu există alte patologii cerebrale asociate) ca având sistemul nervos central indemn. Prin urmare se observă că există 6/12 pacienți diagnosticați corect (lipsa diagnosticului clinic corelându-se cu lipsa modificărilor cerebrale asociate HIV) și 6 pacienți supradiagnosticați.

Rata de *confirmare* a diagnosticului clinic: 6/12 (50%).

4.14 Evaluarea ratei de confirmare histopatologică a diagnosticului clinic neurologic

4.14.1 Rata de corelație clinico-histopatologică

Evaluarea ratei de regresie liniară a diagnosticării clinice confirmate histopatologic raportată la anul necropsiei a elucidat următoarele date statistice:



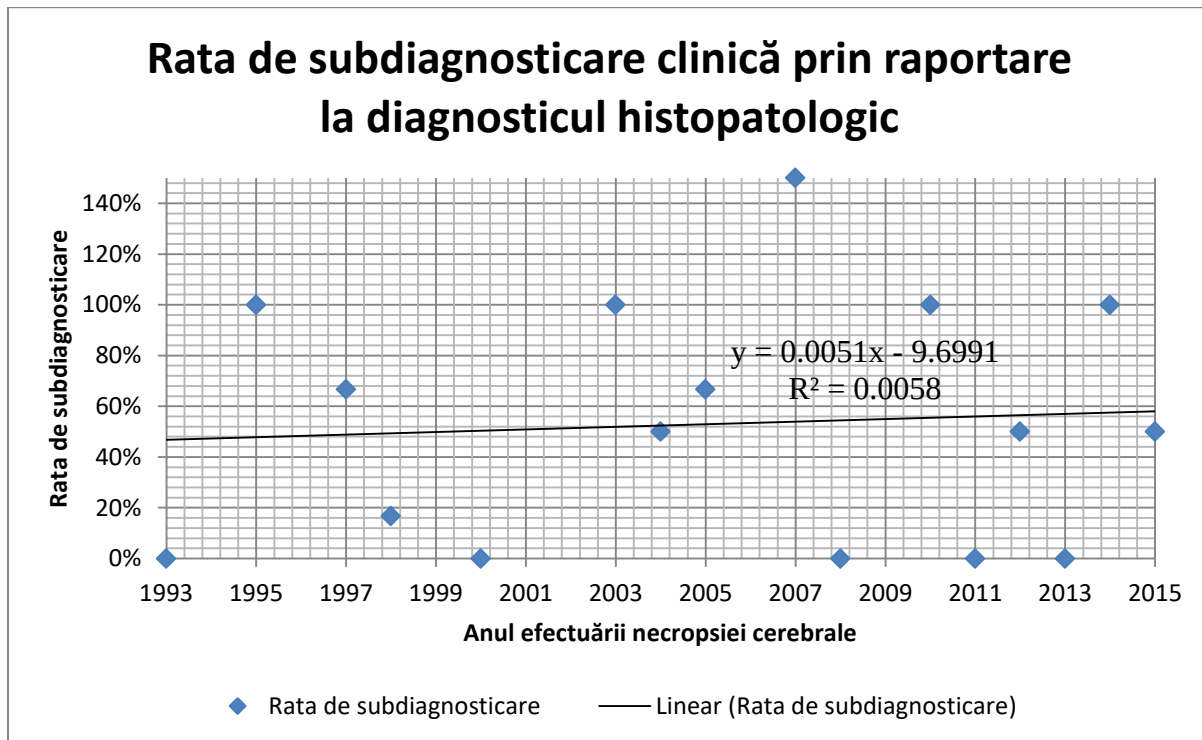
Figură 6. Rata de diagnosticare clinică confirmată HP, calculată prin analiză de progresie liniară a datelor incluse în perioada 1993-2015

Interpretarea datelor statistice relevă:

- valoare P / *significance F* = 0,84, ca atare nu există o modificare statistic relevantă (evaluată ca îmbunătățire / înrăutățire) a ratei de diagnosticare clinică confirmată histopatologic de-a lungul perioadei 1993-2015.
- ecuația de stabilire a trendului este $y = 0.0031x - 5.5542$, cu $R^2 = 0.0029$.
- rata de diagnosticare clinică confirmată prezintă o regresie liniară cu valori relativ constante, dreapta ce demarchează trendul fiind demarcată între 54% inițial și 60% la final.
- prezentarea grafică a calculului statistic este prezentată mai sus (Figura 33)

4.14.2 Rata de subdiagnosticare prin raportare la examenul histopatologic

Evaluarea ratei de regresie liniară a subdiagnosticării clinice a patologiilor neurologice asociate HIV obiectivate histopatologic, raportată la anul necropsiei, a elucidat următoarele:



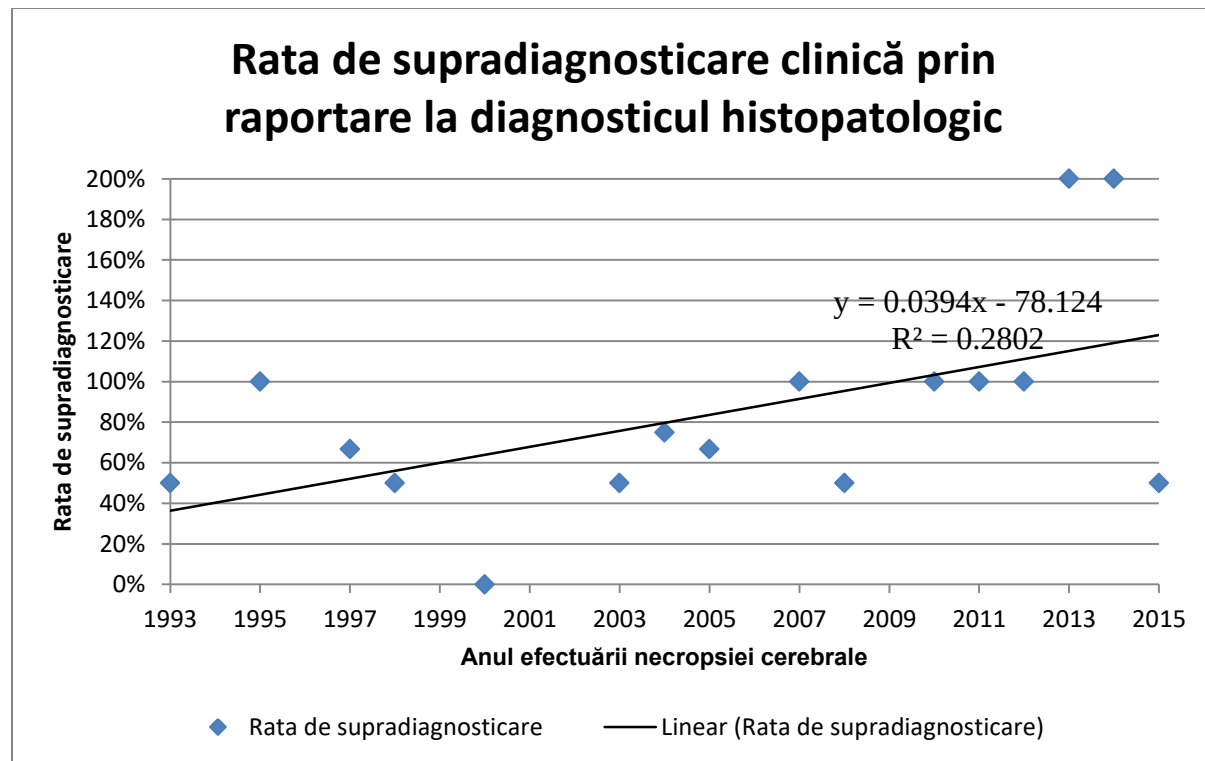
Figură 7. Rata de subdiagnosticare calculată prin analiză de progresie liniară a datelor incluse în perioada 1993-2015

Interpretarea datelor statistice relevă:

- valoare P / *significance F* = 0,78 ($>0,05$), ca atare nu există o modificare statistic relevantă (evaluată ca îmbunătățire / înrăutățire) a ratei de subdiagnosticare de-a lungul perioadei 1993-2015.
- ecuația de stabilire a trendului este $y = 0.0051x - 9.6991$, cu $R^2 = 0.0058$
- se observă un discret ușor pozitiv, capetele de interval înregistrând valori între 50% în 1993 și 60% în 2015.
- prezentarea grafică a calculului statistic este prezentată mai sus (figura 34)

4.14.3 Rata de supradiagnosticare prin raportare la examenul HP

Evaluarea ratei de regresie liniară a supradiagnosticării clinice a patologiilor neurologice asociate HIV obiectivate histopatologic, raportată la anul necropsiei, a elucidat următoarele:



Figură 8. Rata de supradiagnosticare calculată prin analiză de progresie liniară a datelor incluse în perioada 1993-2015

Interpretarea datelor statistice relevă:

- valoare P / *significance F* = 0,03 (<0,05), ca atare **există** creștere statistic relevantă a ratei de supradiagnosticare de-a lungul perioadei 1993-2015.
- această creștere liniară are capetele de interval la 36% (în 1993), respectiv 124% (în 2015).
- ecuația de stabilire a trendului este $y = 0.0394x - 78.124$, cu $R^2 = 0.2802$
- prezentarea grafică a calculului statistic este prezentată mai sus (figura 35).

5 Discuții

5.1 Particularitățile epidemiologice ale lotului studiat

În cadrul lotului luat în studiu, 16 pacienți din 39 fac parte din Cohorta 1987-1990, reprezentând 41%, proporție ce respectă datele statistice ce vizează populația infectată HIV din România^{1,4}. Totodată, în lotul studiat au fost incluse 17 cazuri pediatrice, sumă formată din cei 16 pacienți menționați mai sus, la care se s-a adăugat un caz de moarte perinatală (3 luni) din afara Cohortei. Media de vârstă la momentul decesului a pacienților din afara Cohortei a fost de 36 de ani, iar cea aferentă celor din cadrul Cohortei de 10 ani. Ultima necropsie cerebrală la un pacient născut între 1987 și 1990 a fost efectuată în 2005.

5.2 Considerații privind problematica diagnosticului în meningita criptococică

Evaluarea criptococozei cerebrale beneficiază de instrumente de obiectivare directă și indirectă eficiente, permițând o rată bună de succes al diagnosticului clinic. Astfel, sublotul I a înregistrat o rată de confirmare clinico-patologică de 50%, cu o ușoară tendință spre subdiagnosticare, un singur caz fiind supradiagnosticat, în cadrul unui diagnostic diferențial cu alte două entități – limfom cerebral și tuberculoză cerebrală.

Problematica diagnosticării meningitei criptococice survine în primă etapă prin lipsa simptomatologiei la un sfert dintre pacienți, în contextul unor modificări biologice nespecifice. În cazul în care pacientul prezintă simptomatologie, frecvent prezentarea este nespecifică și cu evoluție lentă, trenantă. Ca atare, eficientizarea descoperirii infecției criptococice revine unui proces de screening aferent tuturor pacienților HIV pozitivi, cu testarea antigenelor serice pentru criptococ.

Se remarcă similitudinea dintre sensibilitatea și specificitatea testului de detectare a antigenului de criptococ seric (sensibilitatea 91.4%, specificitate 83.3%¹⁶) față de cel rahidian - seric, față (sensibilitate 83-100%, specificitate 93-98%¹⁷), ca atare clinicianul nu este obligat să punționeze lombar pacientul pentru recoltarea de lichid cefalorahidian în vederea procesului de screening.

Cele 5 cazuri de criptococoză obiectivată histopatologic prezintă o particularitate comună – diagnostic histopatologic unic, fără a fi decelate alte infecții oportuniste asociate HIV sau efecte neurologice directe mediate viral. Tendința criptococozei de a avea exclusivitate în ceea ce privește localizare cerebrală este explicată în literatură printr-un mecanism de neoformare de mielină, cu rol capsular, de protecție a fungului¹⁸. În cadrul acestui proces *Criptococcus neoformans* utilizează rezervele pacientului de dopamină endogenă – ceea ce explică tropismul fungului pentru sistemul nervos central. Afinitatea pentru dopamină face ca acesta să intre în competiție cu alți oportuniști dependenți de dopamină, scăzându-le capacitatea de infiltrare cerebrală. Printre cei mai importanți patogeni dependenți de dopamină se mai numără *Toxoplasma Gondii*^{19,20}.

5.3 Disjunctia completă clinico-histopatologică în tuberculoza cerebrală

Sublotul II, format din 7 pacienți a relevat o caracteristică uniformă - **toate cazurile** suspicionate clinic la examenul necroptic au fost infirmate, cu **excluderea** prezenței de modificări histologice compatibile cu tuberculoza cerebrală, înregistrându-se o rata de supradiagnosticare de 100%.

Îmbunătățirea sensibilității și specificității examenului histopatologic în efortul de descoperire a tuberculozei poate fi facilitată prin introducerea tehnicii PCR in situ sau a analizei multifocale de spectru larg PLEX-ID.

Diagnosticarea tuberculozei meningiene implică coroborarea unor metode diagnostice diverse – serologice, imagistice, bacteriologice și histologice.

Serologia în infecția tuberculoasă implică recoltarea de Quantiferon, un test serologic de tip ELISA care detectează markeri surogați ai răspunsului imun celular la *M. tuberculosis*. Testarea este non-invazivă, însă laborioasă ca tehnică de laborator, cu sensibilitate bună (89-81%) însă cu specificitate înaltă (97%). Un rezultat pozitiv nu poate obiectiva o infecție acută și nici nu o poate exclude, fiind reactiv atât în infecția activă cât și în cea latentă²¹.

Diagnosticul de tip golden standard se realizează prin obținerea de culturi de bacil Koch prin însămânțarea unei probe din LCR pe mediu Löwenstein–Jensen, cu rezultat așteptat la 4 săptămâni. Pentru scurtarea timpilor de diagnostic, sunt utile frotiuri Ziehl-Neelsen sau Kinyoun,

prin intermediul cărora, printr-o metoda rapidă de staining, se poate obiectiva prezența bacililor alcool-acid rezidenți, cu o sensibilitate moderată, de aproximativ 55%, însă cu o specificitate excelentă, apropiată de 99%²².

Rezultatul obținut prin frotiuri, pozitiv sau negativ, poate fi verificat printr-o metodă de tip *Polymerase chain reaction* (PCR) pentru detectare de *M. tuberculosis* din LCR. Aceasta metodă de diagnostic, rapidă (sub 2 ore), are ratele de sensibilitate și de specificitate dependente de rezultatul inițial al frotiurilor. Astfel, în cazul unui frotiu cu BAAR prezenți, rezultatul PCR va avea o sensibilitate de peste 90% și o specificitate de 98%, rate excelente, în timp ce, în cazul unui frotiu cu BAAR absenți, sensibilitatea va scădea la o valoare de 67%, cu specificitatea rămânând la aceleași valori^{23,24}.

Suspiciunea clinică în tuberculoza cerebrală este susținută fie imagistic, fie prin rezultate obținute la analize de tip PCR, frotiu Zhiel-Nielsen sau culturi din LCR. Toți pacienții la care această suspiciune clinică a fost formulată au primit tratament antituberculos conform ghidurile de practică medicală – majoritatea pentru o scurtă perioadă, anterior de exitus.

Având în vedere aceste aspecte se formulează trei ipoteze:

- (1) infecția TB cerebrală nu a avut în niciunul din cazuri gravitatea scontată, efectele medicației anti-TBC de scurtă durată mascând modificările histopatologice cerebrale;
- (2) suspiciunea ridicată prin imagistică, fără confirmare prin probe din LCR, a fost falsă;
- (3) pacienții la care s-a obiectivat meningoencefalită nespecifică la necropsie aveau infecție TB cerebrală, însă cu aspect nespecific.

Indiferent de motivația în prisma căreia a apărut disjunția clinico-histopatologică, la niciun pacient nu a fost decelată anatomopatologic vreo leziune cerebrală tuberculoasă certă.

5.5 Corelații clinico-histopatologice și studiu de diagnostic diferențial în toxoplasmoza cerebrală

Din cei 6 pacienți incluși în Sublotul III, toxoplasmoza cerebrală a fost obiectivată prin necropsie în patru cazuri. Observăm la acestea caracteristici uniforme - pacienți infectați HIV, stadiu avansat - C3, vârste între 15 și 30 de ani, cu o împărțire egală pe sexe. Trei din patru pacienți erau sub tratament antiretroviral, cu viremii HIV de peste 400.000 copii/ml la trei din patru, titru CD4 sub 50 de celule/mm³ la doi pacienți, necunoscut antemortem la restul. *Detalii complete în Anexa II – Extrase din fisele de observație ale pacienților.*

Suspiciunea de toxoplasmoză a fost ridicată la două din cele patru cazuri, în timp ce diagnosticul diferențial cel mai frecvent a fost limfomul cerebral. Serologia de toxoplasmoză a fost uniformă – trei cazuri au prezentat IgM negativ, și IgG pozitiv, în timp ce de-al patrulea a avut atât IgM, cât și IgG cu titru negativ.

Seria de patru de cazuri relevă gradul mare de dificultate diagnostică la care este supus clinicianul. Serologia de tip IgM și IgG nu a avut în toate cele patru cazuri valență diagnostică, în conformitate cu datele din literatură.

Simptomatologia este prezentă la jumătate din pacienți, însumând modificări ale stării generale nespecifice – febra, cefalee și modificări ale statusului neuropsihomotor. Se remarcă faptul că 50% din pacienți sunt asimptomatici sau cel mult paucisimptomatici, ca atare, fără a se ridica o suspiciune clinică de toxoplasmoză cerebrală sau de sindrom meningeal, clinicianul se va confrunta cu o întârziere a diagnosticului, respectiv cu o accentuarea a riscului de complicații neurologice centrale prin fenomene de masă.

Serologia de tip IgG *T. gondii* este frecvent pozitivă, cu valori de peste 98%²⁵, absența acestora, deși improbabilă chiar și în populația generală, pune la îndoială diagnosticul de toxoplasmoză. Determinarea cantitativă a anticorpilor în dinamică nu prezintă interes clinic sau prognostic²⁶. Serologia pozitivă IgM este puțin frecventă, în ciuda episodului acut al bolii, neavând valoare diagnostică.

5.6 Disjuncția completă clinico-histopatologică în deficiența neurocognitivă asociată HIV / encefalopatia HIV

Se observă că din cele 10 cazuri luate în substudiu, **disjuncția evaluării clinice și anatomopatologice este completă**: toate cazurile suspicionate au fost infirmate și niciun caz descoperit HP nu a fost evaluat clinic ca fiind encefalopatie HIV. Opțiunea clinică de encefalopatie HIV s-a dovedit a fi histopatologic, în funcție de pacient, meningoencefalită nespecifică, hiperemie și edem cerebral, leucoencefalopatie progresivă multifocală sau ramolism recent

Disjuncția creată pune sub semnul întrebării modul de definire a acestei patologii asociate HIV. Diagnosticul clinic se compune prin analiză cognitiv-comportamentală, urmărind evoluția deficitului neuropsihic în funcție de baseline, respectiv cu raportare la scale psihometrice. Ca atare observăm că diagnosticul clinic are o puternică latură subiectivă, corectitudinea acestuia fiind dependentă atât de operator – medicul curant sau psihologul/psihiatrul desemnat – cât și de gradul de cooperare al pacientului. Modificările imagistice cerebrale observate prin rezonanță magnetică nucleară sunt relativ nespecifice, însă conduc clinicianul spre o suspiciune de patologie neuropsihiatrică cu substrat organic.

Modificările în psihometrie pot fi însă suprapuse altor patologii asociate HIV, având în vedere efectele dopaminergice ale toxoplasmozei, virusului Epstein-Barr sau criptococozei, efectele serotoninergice și dopaminergice ale Efavirenz, efectele neurodebilitante ale leucocenocefalopatiei progresive multifocale, efectele paralitice târzii ale tuberculozei cerebrale sau modificările statusului de conștiență din sindromul de reconstrucție imună. Clinicianul se află astfel în fața unui diagnostic diferențial dificil, cu o simptomatologie neuropsihică posibil aditivă, urmărind mai degrabă un diagnostic de excludere decât unul de certitudine.

5.7 Considerații clinico-histopatologice privind limfomul cerebral asociat infecției HIV

În cadrul sublotului VI, format din 5 pacienți, au fost emise 4 diagnostice anatomopatologice de limfom cerebral, cu confirmarea a unui singur caz, infirmarea a 3 cazuri și descoperirea unui caz subdiagnosticat clinic.

Cu o rata de confirmare a diagnosticului clinic redusă, sub 25%, limfomul cerebral se dovedește a fi o problemă majoră de diagnostic. Infecția HIV în fază avansată, în colaps imunologic, asociază, cu excepția cazurilor foarte rare, patru tipuri de neoplasme²⁷⁻²⁹:

- Sarcom Kaposi,
- Limfom non-Hodgkin,
- *Primary nervous system lymphoma* (PCL),
- Carcinom cervical invaziv.

Incidența neoplasmelor cerebrale în infecția HIV este strâns legată de doi factori²⁹:

- Lipsa tratamentului antiretroviral sau insucces imunologic în cadrul cART, la pacienți aflați în faze tardive ale bolii – incidența este improbabilă în primoinfecție sau în fazele timpurii ale bolii.
- Creșterea ratei medii de supraviețuire a pacienților prin folosirea profilaxiei sau tratamentului antibiotic aferent colapsului imunologic CD4, urmărindu-se combaterea eficientă a mycobacteriilor atipice (MAC-uri), pneumocistozei sau toxoplasmozei, chiar și în absența cART, a determinat creșterea incidenței limfoamelor cerebrale.

Clinica tumorilor cerebrale maligne asociate infecției HIV include o simptomatologie nespecifică, frecvent cu evoluție trenantă, progresivă, dependentă de localizarea intracerebrală – efecte de focar, comițialitate, modificare a stării de conștientă, hemiplegie, hemipareză³⁰⁻³².

Puncția lombară cu analiza ulterioară a lichidului cefalorahidian relevă în 40% din cazuri celule limfoide maligne, fără modificări semnificative biochimice și de sediment – hiperproteinorahie și pleiocitoză celulară³³. De remarcat ca din lichidul cefalorahidian se poate recolta virorahie EBV – etiologie majoră a limfoamelor cerebrale.

5.8 Concordanța clinico-patologică din infecția CMV cerebrală

Sublotul VIII a inclus 2 pacienți, unul diagnosticat clinic cu suspiciune de tuberculoză cerebrală, fiind ulterior infirmat histologic cu obiectivarea de infecție CMV cerebrală și un al doilea caz diagnosticat clinic cu infecție CMV cerebrală concomitentă cu tuberculoză cerebrală, ambele infirmate histologic. Rata de diagnosticare corectă a fost nulă.

Pacientul subdiagnosticat a fost internat în anul 2005 în stare generală critică, cu deces înregistrat la 2 zile după admisie. Clinicianul nu a avut timp suficient pentru a diagnostica într-o manieră completă și corectă această patologie, în contextul în care afecțiunile asociate infecției HIV necesită o evaluare clinico-biologică în dinamică, având un grad mare de complexitate și nespecificitate.

Se observă că cel mai important diagnostic diferențial este tuberculoza cerebrală, encefalita CMV prezentând mai multe asemănări cu aceasta: apariția în cadrul unui colaps imunologic CD4, clinică nespecifică, examene serologice neconcludente, aspect imagistic RMN de tip inflamator la nivel periventricular, cu o eventuală îngroșare meningiană. De menționat că cea mai frecventă formă clinică a infecției CMV la pacientul HIV este retinita CMV, cu aspect retininan clasic de „brânză cu ketchup” la examenul de fund de ochi – cauză importată de cecitate în fazele târzii, termenele ale infecției HIV. Aceasta patologie poate fi solitară sau conexă unei encefalite CMV.

Având în vedere dificultatea de obiectivare a CMV, propun o schemă de diagnostic optimizată a infecției CMV cerebrale la pacienții infectați HIV (în capitolul *Implicații practice ale rezultatelor cercetării*), având la bază următoarele în considerare trei aspecte:

1. Simptomatologie clinică în context de imunosupresie avansată (colaps imunologic cu titru CD4 sub 50celule/mm³ și frecvent aspect de retinită CMV la examenul de fund de ochi.
2. Excluderea diagnosticelor diferențiale frecvente – tuberculoză cerebrală, toxoplasmoză cerebrală, limfom, leucoencefalopatie multifocală progresivă, alte procese expansive sau proliferative cerebrale. Imagistica relativ tipică CMV se caracterizează fie pe RMN, fie

pe CT printr-un **aspect de tip inflamator la nivel periventricular, cu o eventuală îngroșare meningiană**. Aspectul imagistic de calcificare periventriculară este tipic citomegalovirozei congenitale.

Examenul RMN poate să nu prezinte modificări cerebrale, în ciuda unei simptomatologii clinice severe și a obiectivării ulterioare a infecției³⁴.

3. Puncția lombară și evaluarea lichidului cefalorahidian permite obiectivarea infecției; proteinorahie ușor crescută, fără consum de glucoză, cu un sediment în care predomină celulele mononucleare.

Prezența virusului CMV în LCR poate fi pusă în evidență prin metode de tipul *polymerase chain reaction* (PCR), culturi virale sau dozare de anticorpi specifici localizați la nivel rahidian – IgM și IgG CMV, cu o eventuală compararea a acestora cu valorile lor serologice.

Dozarea serologică de IgM și IgG CMV, precum și metodele cantitative și calitative de obiectivare virală în sânge, s-au dovedit a fi ineficiente în procesul de diagnosticare a CMV cerebral, prezentând valori mici ale sensibilității³⁵.

În pofida acestui aspect, un rezultat de tipul IgG CMV serologic negativ prezintă o valoare predictivă negativă, dar având în vedere tendința mare în populația generală de a face boala și a forma imunitate de termen lung, acest rezultat este rar întâlnit.

5.9 Studiul clinico-patologic al leucoencefalopatiei progresive multifocale

Diagnosticul diferențial al PML asociat HIV este important de realizat cu atenție, întrucât este necesară excluderea altor patologii oportuniste cu localizare cerebrală, a căror terapie diferă.

Se impune o diferențiere între două entități patologice asociate HIV – leucoencefalopatia progresivă multifocală și encefalopatia HIV, cele două fiind observate frecvent în tandem la pacienții infectați HIV în faza avansată a bolii.

O prima diferențiere se poate face mecanism: leucoencefalopatia progresivă multifocală aparține categoriei infecțiilor oportuniste asociate HIV, fiind implicat în apariția ei virusul JC, în timp ce encefalopatia HIV este un rezultat direct al patogeniei virale, fiind una din puținele afecțiuni datorate în mare parte acțiunii neurotoxice a virusului. Evoluția naturală a celor două boli este asemănătoare, obiectivându-se o degenerare neurologică progresivă, aproape ireversibilă, având un prognostic rezervat. Tratamentul de imunoconsolidare tinde să amelioreze efectele degenerative, însă crește semnificativ rata de apariție a sindromului inflamator de reconstrucție imună asociat PML (IRIS-PML), patologie acută ce poate decompensa rapid pacientul, cu evoluție dificil de controlat terapeutic.

Degenerarea statusului neurologic din leucoencefalopatia progresivă multifocală rezultă prin apariția de arii largi de demielinizare, în special în zona fibrelor de tip U subcorticale, cu afectarea predominantă a oligodendrocitelor și interesarea în etapele târzii inclusiv a substanței cenușii³⁶.

Prin comparație, encefalopatia HIV interesează majoritar substanța cenușie, prin lezare neuronală directă, mediată de macrofage și microglijă prin descărcare de neurotoxine. Aditiv, mecanismul regenerativ neuronal este blocat de proteina virală gp120, prin inhibiția celulelor stem.

Se notează că cele două patologii pot coexista, iar diferențierea dintre cele două (respectiv observarea histopatologică a amândurora concomitent) este laborioasă, necesitând un laborator de anatomopatologie performant și medici histopatologi cu experiență.

5.10 Considerații privind evoluția anuală a ratei de confirmare histopatologică a diagnosticului clinic neurologic

Analiza evoluției ratei de confirmare histopatologică a arătat trei aspecte importante:

Rata de diagnosticare clinică confirmată histopatologic s-a menținut la un nivel constant din 1993 până în 2015, în pofida modernizării tehnologice continue a arsenalului de diagnostic în neurologie : introducerea imagisticii cerebrale performante, introducerea tehnicilor complexe de laborator (eg: viremii/virorahii, serologii pentru oportuniști, analiză genetică etc). Acest fenomen demonstrează importanța evaluării clinice corecte și complete, precum și consecvența clinicianului de-a lungul acestei perioade.

S-a observat o creștere progresivă importantă a **ratei de supradiagnosticare**, cu valori de 4 ori mai mari în 2015 față de 1993, fenomen statistic relevant ($P < 0,05$, $CI = 95\%$). Evoluția tehnologică medicală a determinat introducerea în procesul de diagnosticare clinică a unui complex de analize și examene paraclinice cu rate de sensibilitate și specificitate suboptimale. În ciuda modernizării, obiectivarea de tip *golden standard* a patologiilor oportuniste cerebrale asociate HIV a rămas laborioasă și riscantă – biopsia cerebrală stereotactică presupune riscuri perioperatorii ce pot depăși beneficiile aduse pacientului, iar obținerea culturilor din lichid cefalorahidian este cronofagă și asociază de asemenea riscurile aferente efectuării punșionării lombare – posibilă angajare cerebrală. Metodele indirecte, neinvazive, prezintă însă un grad de încredere ce poate predispune la eroare - imagistica cerebrală este frecvent nespecifică, în timp ce serologiile și metodele imunologice nu sunt suficiente pentru stabilirea certă a unui diagnostic. Ca atare, prin însumarea datelor, clinicianul nu poate exclude anumite patologii cerebrale, rămânând într-un *diagnostic diferențial blocat*.

O ultimă metodă diagnostică rămâne *proba terapeutică*, pacientului fiindu-i introdusă medicație direcționată împotriva unei patologii înalt suspicionate, încă neobiectivată, în așteptarea unui răspuns. Lipsa ameliorării la tratament conduce către o eventuală excludere a diagnosticului, fază temporizată de durata curei. Problematika acestei tehnici medicale *de salvare* este încărcarea pacientului cu multiple linii terapeutice cu efecte medicamentoase, intermedicamentoase și postmedicamentoase dificil de preconizat și manageriat. Așadar, îmbinarea acestor factori determină o tendință modernă netă spre supradiagnosticare și supratratere - administrarea unor

scheme terapeutice extrem de complexe cu o serie de posibile reacții adverse și interacțiuni medicamentoase dificil de preconizat și de integrat în conduita medicală a cazurilor

Rata de subdiagnosticare a înregistrat o ușoară creștere, de la aproximativ 50% la 60%, fără a putea fi demonstrată o tendință statistic relevantă – fenomen explicat prin numărul redus de pacienți. De remarcat că, în cazul pacienților neaderenți la tratament antiretroviral, suportul antiinfecțios intensiv prezintă limitări, fiind eficient pe termen scurt, însă cu eficacitate regresivă în timp. Odată cu accentuarea colapsului imunologic, cu apariția de rezistențe virale și patologii oportuniste asociate, virusul HIV se cantonează în sanctuare unde biodisponibilitatea medicamentoasă este redusă, reușită terapeutică fiind foarte greu de obținut la acel moment.

Scopul tratamentelor antiinfecțioase este de a susține bolnavul în perioada de refacere a statusului imunologic prin tratament antiretroviral. În cazul pacienților neaderenți, rezistența virală dobândită face acest tratament ineficient, durata necesară de obținere a succesului imunologic prin scheme complexe antiretrovirale depășind perioada în care pacientul poate fi susținut în viață. Totodată, în cazul infecției HIV netratate de-a lungul unei perioade lungi, la pacienți denumiți în literatura anglo-saxonă *late presenters*, durata de refacere imună, în ciuda absenței mutațiilor de rezistență, este foarte lungă, încărcăturile virale de la nivelul sanctuarelor virale fiind remanente în ciuda unui nedetectabilității virale în ser. Având în vedere aceste fenomene considerăm ca gradul de subdiagnosticare a crescut, în ciuda unei rate constante de diagnosticare clinică cu confirmare histopatologică, prin înmulțirea per pacient a patologiilor cerebrale asociate HIV. La debutul epidemiei, în 1993, un pacient descoperit cu o patologie SNC asociată HIV avea un prognostic imediat negativ/rezervat, date fiind limitările de tratament, și era improbabil ca acesta să poată fi susținut medical eficient, cu formarea unei ferestre de timp în care o a doua patologie cerebrală să se instaleze. În 2015 tratamentul antiinfecțios intensiv permite suportul pacienților pe durate mai lungi, prin urmare, în ciuda lipsei de aderență sau a rezistenței virale dobândite, pacientul poate dezvolta multiple patologii cerebrale asociate HIV, frecvent suprapuse, cu simptomatologie clinică asemănătoare și imagistică nespecifică.

Literatura de specialitate nu acoperă unitar fenomenul disjunției clinico-histopatologice din perspectiva supra- sau subdiagnosticării clinice cu raportare la examenul anatomopatologic în cadrul afecțiunilor cerebrale asociate HIV. Ca atare, nu au putut fi efectuate comparații ale datelor obținute în prezenta lucrare cu alte studii asemănătoare.

6 Implicații practice ale rezultatelor cercetării

Studiul „Evaluarea sanctuarizării infecției HIV în sistemul nervos central, aspecte clinice și histopatologice” a fost focalizat asupra unei nișe populaționale restrânse, cu multiple particularități și cu un grad ridicat de heterogenitate, lot format într-o perioadă de peste două decenii. În pofida rarității efectuării necropsiilor cerebrale la pacienții HIV+ și a unui lot de studiu relativ restrâns, cercetarea doctorală și-a propus extragerea unor rezultate și concluzii prin intermediul cărora să permită pe viitor un mai bun management al afectărilor neurologice asociate infecției HIV.

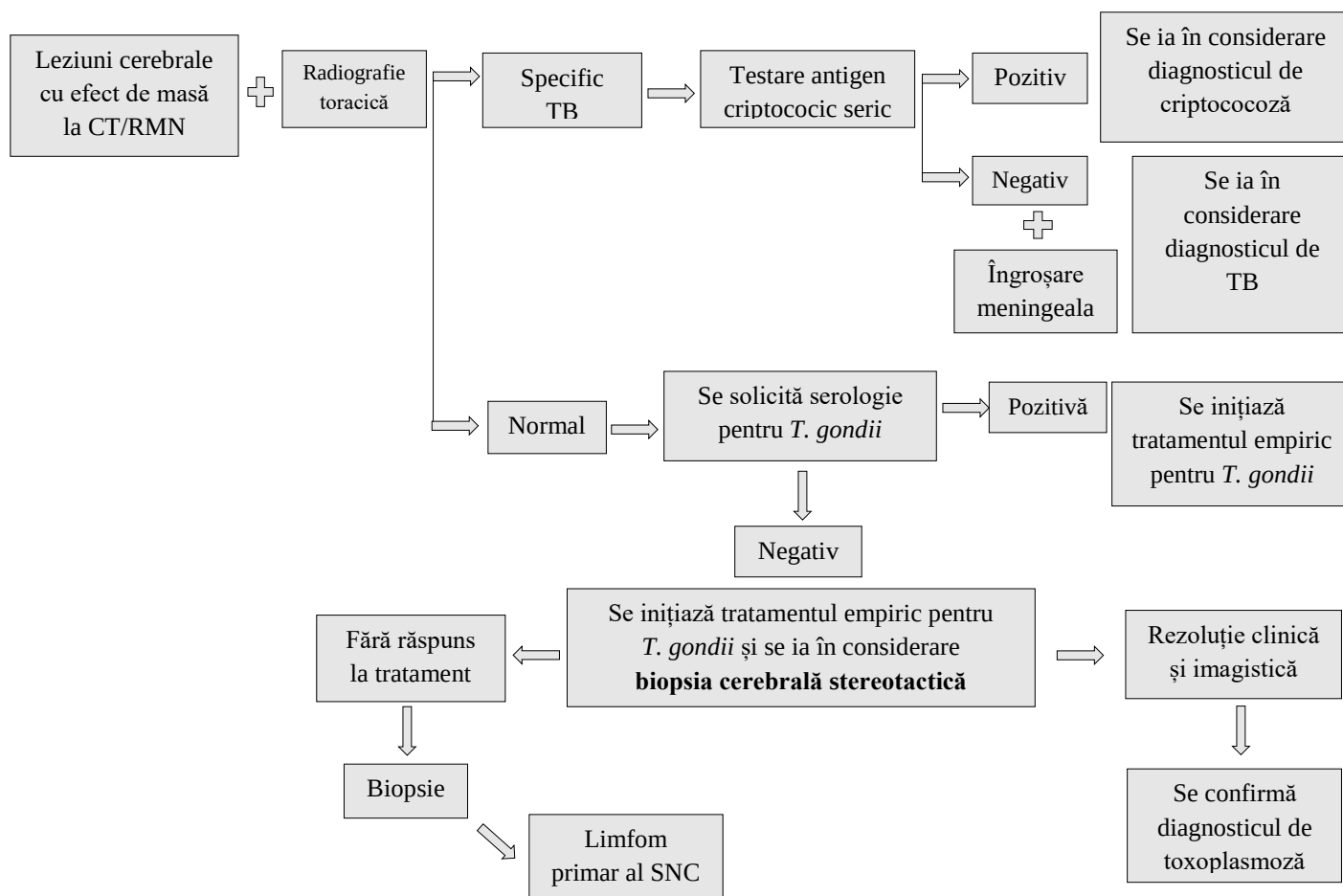
Coroborând datele obținute din acest studiu, experiența clinică extinsă a INBIMB și informațiile la zi din literatura de specialitate, în acest capitol am încercat o actualizare și optimizare a schemelor de diagnostic și tratament ce vizează afectările neurologice din infecția HIV:

- Algoritm optimizat de diagnostic în Criptococoză cerebrală
- Algoritm optimizat de diagnostic în Tuberculoză cerebrală
- Algoritm optimizat de diagnostic în Toxoplasmoză cerebrală
- Algoritm optimizat de diagnostic în Infecția CMV cerebrală
- Algoritm optimizat de diagnostic în Leucoencefalopatia progresivă multifocală
- Algoritm optimizat de diagnostic în Encefalopatia HIV

În concordanță cu tema studiului, accentul în schemele de diagnostic a fost pus pe gradul de sensibilitate și specificitate al diferitelor instrumente de diagnostic, urmărindu-se conștientizarea clinicianului asupra riscului de diagnostic fals, pozitiv sau negativ. Totodată, metodele imagistice au fost diferențiate, după caz, în funcție de gradul lor de anticipare a existenței unei patologii asociate infecției HIV.

6.1 Algoritm global optimizat de diagnostic al patologiilor cerebrale asociate HIV

Însumând discuțiile pe subloturi și propunerilor de algoritmi de diagnostic per patologie, enunț mai jos un algoritm simplificat de diagnostic al patologiilor cerebrale asociate HIV, modificat după Becker J et al ³⁷.



Figură 9. Algoritm de diagnostic diferențial simplificat în cazul unui pacient infectat HIV cu semne neurologice de focar și nivel de limfocite CD4+ < 200cel/ml.

Derivat modificat după Becker J et al ³⁷

7 Concluzii

Prezenta cercetare doctorală reprezintă un studiu complex și interdisciplinar, de tip longitudinal, descriptiv, retrospectiv, desfășurat pe o perioadă îndelungată, respectiv 23 de ani, între 1993 și 2015, cu date conexe prelevate din două instituții medicale – Institutul Național de Boli Infecțioase Prof. Dr. Matei Balș și Spitalul Clinic Colentina, ambele din București, România. Studiul și-a propus să evaluează afecțiunile neurologice centrale din cadrul infecției HIV, din perspectivă clinică și histopatologică. Studiul a inclus examinări serologice, imunologice, virusologice și imagistice complexe și a necesitat o colaborare strânsă cu o echipă de medici anatomopatologi în vederea coroborării datelor clinice cu cele necroptice. Din analiza datelor aferente lotului de pacienți incluși în studiu s-au putut extrage următoarele concluzii:

7.1 Concluzii generale

- Lotul propus spre analiză este format din 39 de pacienți cu infecție HIV, tratați în INBIMB cu vârste cuprinse între 3 luni și 54 de ani, decedați ca urmare a unor complicații asociate infecției HIV, **la care s-a efectuat necropsie cerebrală**. Lotul reprezintă **întreaga populație** care s-a încadrat în criteriile de includere și excludere.
- Raport între sexe de 1,78/1 în favoarea sexului masculin.
- În ciuda lipsei de tratament antiretroviral (21 de pacienți din lot nu au beneficiat de tratament antiretroviral), a colapsului imunologic (la 38 de pacienți din 39 infecția HIV era clasificată clinico-imunologic C3, cu 1 caz B3) și a replicării virale înalte (viremiile - la pacienții la care s-au putut recolta - erau detectabile și cu valori înalte), **la 1/4 dintre pacienți nu s-au descoperit modificări cerebrale asociate HIV**.

7.2 Concluzii privind evoluția în timp a corelației dintre diagnosticul clinic și cel histopatologic în ceea ce privește patologia neurologică asociată infecției HIV

- Rata de confirmare histopatologică a diagnosticului clinic din sfera cerebrală a rămas constantă de-a lungul perioadei de studiu, între 1993 și 2015, fără să se înregistreze un trend pozitiv sau negativ al succesului diagnosticării clinice. Se constată că, în ciuda avansului tehnologic medical (în principal în imagistică și laborator), **diagnosticarea afecțiunile cerebrale asociate HIV nu s-a îmbunătățit între 1993 și 2015**.

- Rata de confirmare histologică a diagnosticului clinic neurologic asociat infecției HIV are o valoare medie raportată la anii de efectuare a necropsiei de aproximativ de 54-60%.
- **Rata de supradiagnosticare a patologiilor cerebrale asociate HIV a crescut din 1993 până în 2015 de 3 ori, de la aproximativ 36% la 124%, progresie relevantă statistic ($P<0.05$, CI=95%).**
- Rata de subdiagnosticare a patologiilor cerebrale asociate HIV a rămas relativ constantă de-a lungul perioadei de studiu, înregistrând în 1993 valori de aproximativ 50%, iar în 2015 valori de 60%, diferența nefiind semnificativă statistic.
- 21 de pacienți din lotul studiat nu au primit tratament antiretroviral, iar 18 pacienți au fost tratați antiretroviral. S-a observă că schemele de terapie au prezentat valori mari de penetrabilitate la nivelul barierei hematoencefalice, suma scorurilor de intrare la nivelul sanctuarului cerebral fiind între 6-12, cu deviere spre dreapta (scor CPE Letendre). Prin urmare concluzionăm că, **în cazul pacienților tratați, în pofida tereapiei eficiente, durata de tratament a fost insuficientă pentru prevenirea complicațiilor cerebrale asociate HIV.**

Concluzie cu importanță practică: S-a constatat că introducerea treptată a tehnicilor medicale moderne nu a adus îmbunătățiri semnificative ale ratei de confirmare histopatologice, nu a modificat rata de subdiagnosticare, ci a determinat o creștere exponențială a ratei de supradiagnosticare – se subliniază astfel importanța fundamentală a evaluării clinice corecte și complete.

Concluzie cu importanță practică: În contextul creșterii în timp a ratei de supradiagnosticare s-a observat că numărul de tratamente patogenice inițiate pentru variate patologii cerebrale asociate HIV a luat amploare, acestea reprezentând probe terapeutice sau tratamente de salvare (precum medicația anti-tuberculoasă – administrată la toți pacienții din lot la care această suspiciune a fost formulată). Acest fenomen a permis multiplicarea teoretică a potențialelor efecte nocive inter-medicamentoase, a efectelor secundare medicamentoase, respectiv a fenomenelor conexe eliberării de radicali liberi prin mecanisme farmacologice. Ca atare se recomandă eficientizarea procesului de diagnosticare în vederea evitării efectelor mai sus menționate, recunoscute ca având potențial de scădere a speranței de viață, cu precădere la pacientul critic.

7.3 Concluzii privind frecvența patologiilor cerebrale asociate HIV obiectivate histopatologic

- Cel mai frecvent diagnostic cerebral anatomopatologic a fost hiperemia și edemul cerebral, prezent la 12 pacienți. Nu există un consens în ceea ce privește etiologia acestui diagnostic, neexistând posibilitatea de evaluare a ponderii rolului infecției HIV asupra creierului apriori fenomenelor tanatologice suprapuse precoce. Ca atare, acest diagnostic histopatologic a fost corelat cu un creier antemortem clinic indemn.
- Cea mai frecventă patologie cerebrală asociată HIV a fost criptococoza, cu 5 cazuri obiectivate (12,8% din cazuri).
- La egalitate, au fost obiectivate morfologic câte 4 cazuri de toxoplasmoză cerebrală (10,2%), encefalopatie HIV (10,2%) și leucoencefalopatie progresivă multifocală (10,2%).
- Au fost descoperite 2 cazuri de limfom cerebral și 1 caz de infecție CMV cerebrală.
- Restul diagnosticelor anatomopatologice au relevat leziuni organice nespecifice – meningoencefalite nespecifice, accidente cerebrale ischemice sau hemoragice, ramolisme ponto-cerebeloase.

Concluzie cu importanță practică: Toate cazurile la care s-a obiectivat toxoplasmoză cerebrală sau criptococoză au prezentat o trăsătură comună: exclusivitate în sfera cerebrală a unui singur oportunist .

Concluzie cu importanță practică: Cazurile la care s-a obiectivat limfom cerebral au prezentat o trăsătură comună: lipsa unei infecții oportuniste asociate – fenomen explicabil prin ipoteza asocierii limfomului cu virusul Epstein-Barr.

7.4 Concluzii privind rata de confirmare morfologică a diagnosticului clinic

- Cea mai bună rată de confirmare histopatologică a diagnosticului clinic a fost de 60%, aferentă leucoencefalopatiei progresive multifocale.
- Pe locul al doilea s-au situat cu valori de 50% criptococoza și neformularea unui diagnostic clinic aferent sferei cerebrale, în cazul necropsiilor la care s-a obiectivat ca diagnostic unic hiperemia și edemul cerebral.
- Diagnosticul clinic de toxoplasmoza cerebrală a fost confirmat în 33% din cazuri, iar cel de limfom cerebral în 20%.

- Nicio suspiciune clinică (enunțată ca diagnostic clinic de deces) de encefalopatie HIV, tuberculoză cerebrală, neurosifilis sau infecție CMV nu a fost confirmată histopatologic.

Concluzie cu importanță practică: Niciun caz suspicionat clinic cu tuberculoză cerebrală nu a prezentat modificări organice aferente acestei patologii, examenul histopatologic relevând leziuni de tipul: meningoencefalita nespecifică sau carcinomatoasă, criptococoză, limfom cerebral sau hiperemie și edem - se recomandă reevaluarea protocolului de diagnostic clinic al tuberculozei cerebrale, în special considerând contextul României de țară endemica TBC.

- Din cele 4 diagnostice de leucoencefalopatie progresivă multifocală, 3 au fost asociate cu encefalopatie HIV, reprezentând 75%.
- Aparte de asocierea encefalopatie HIV – leucoencefalopatie progresivă multifocală, niciunul dintre cazurile obiectivate cu una dintre cele doua patologii nu a prezentat altă infecție oportunistă asociată HIV, descriind o posibilă exclusivitate în sfera cerebrală.

Concluzie cu importanță practică: Dintre cele 6 cazuri de encefalopatie HIV niciunul nu a fost confirmat histopatologic, iar dintre cele 4 cazuri obiectivate morfologic, niciunul nu a fost suspicionat clinic – se recomandă reevaluarea protocolului de diagnosticare clinică a encefalopatiei HIV, luând în seama procentul ridicat de asociere cu leucoencefalopatia progresivă multifocală (care paradoxal a prezentat în studiu cea mai mare rata de confirmare a diagnosticului clinic).

8 Bibliografie

1. Streinu-Cercel Adrian. Specific Challenges of the HIV Epidemic in Romania. In: *EACS Brussels.* ; 2013. http://www.cnlas.ro/images/doc/spec_chall_HIV.pdf.
2. Guimarães ML, Vicente A, Otsuki K, et al. Close phylogenetic relationship between Angolan and Romanian HIV-1 subtype F1 isolates. *Retrovirology*. 2009;6(1):39. doi:10.1186/1742-4690-6-39.
3. World Health Organisation (WHO). *HIV/AIDS Surveillance in Europe 2012.*; 2013. doi:10.2900/67211.
4. CNLAS. EVOLUTIA INFECTIEI HIV/SIDA IN ROMANIA. 2015. http://www.cnlas.ro/images/doc/31122015_rom.pdf.
5. Hawkins BT, Davis TP. The Blood-Brain Barrier / Neurovascular Unit in Health and Disease. *Pharmacol Rev*. 2005;57(2):173-185. doi:10.1124/pr.57.2.4.173.
6. Dohgu S, Banks W a. Brain pericytes increase the lipopolysaccharide-enhanced transcytosis of HIV-1 free virus across the in vitro blood-brain barrier: evidence for cytokine-mediated pericyte-endothelial cell crosstalk. *Fluids Barriers CNS*. 2013;10(1):23. doi:10.1186/2045-8118-10-23.
7. Almeida SM de. Cerebrospinal fluid analysis in the HIV infection and compartmentalization of HIV in the central nervous system. *Arq Neuropsiquiatr*. 2015;73(7):624-629. doi:10.1590/0004-282X20150071.
8. Churchill MJ, Deeks SG, Margolis DM, Siliciano RF, Swanstrom R. HIV reservoirs: what, where and how to target them. *Nat Rev Microbiol*. 2015;14(1):1-6. doi:10.1038/nrmicro.2015.5.
9. Hoetelmans RM. Sanctuary sites in HIV-1 infection. *Antivir Ther*. 1998;3 Suppl 4:13-17. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10723504>.
10. Wynn HE, Brundage RC, Fletcher C V. Clinical implications of CNS penetration of antiretroviral drugs. *CNS Drugs*. 2002;16(9):595-609. doi:10.2165/00023210-200216090-00002.
11. Strazielle N, Gherzi-Egea JF. Factors affecting delivery of antiviral drugs to the brain. *Rev Med Virol*. 2005;15(2):105-133. doi:10.1002/rmv.454.
12. Enting RH, Hoetelmans RMW, Lange JMA, Burger DM, Beijnen JH, Portegies P. Antiretroviral drugs and the central nervous system. *AIDS*. 1998;12(15). http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/1998/15000/Antiretroviral_drugs_and_the_central_nervous.5.aspx.
13. Ene L, Duiculescu D, Ruta S. How much do antiretroviral drugs penetrate into the central nervous system? *J Med Life*. 2011;4(4):432-439.
14. Varatharajan L, Thomas SA. The Transport of Anti-HIV Drugs across the Blood-CNS Interfaces : *Eur PMC Funders Gr*. 2009;82(2):1-25. doi:10.1016/j.antiviral.2008.12.013.The.
15. Yilmaz A, Price RW, Gisslén M. Antiretroviral drug treatment of CNS HIV-1 infection. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(2):299-311. doi:10.1093/jac/dkr492.
16. Asawavichienjinda T, Sitthi-Amorn C, Tanyanont V. Serum cryptococcal antigen: diagnostic value in the diagnosis of AIDS-related cryptococcal meningitis. *J Med Assoc Thai*. 1999;82(1):65-71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10087741>.
17. Tanner DC, Weinstein MP, Fedorciw B, Joho KL, Thorpe JJ, Reller L. Comparison of commercial kits for detection of cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol*. 1994;32(7):1680-1684. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7929757>.
18. Nosanchuk JD, Rosas AL, Lee SC, Casadevall A. Melanisation of *Cryptococcus neoformans* in human brain tissue. *Lancet (London, England)*. 2000;355(9220):2049-2050. doi:10.1016/S0140-6736(00)02356-4.
19. Prandovszky E, Gaskell E, Martin H, Dubey JP, Webster JP, McConkey GA. The Neurotropic Parasite *Toxoplasma Gondii* Increases Dopamine Metabolism. Ho PL, ed. *PLoS One*. 2011;6(9):e23866. doi:10.1371/journal.pone.0023866.
20. Williamson PR, Wakamatsu K, Ito S. Melanin biosynthesis in *Cryptococcus neoformans*. *J Bacteriol*.

1998;180(6):1570-1572.

21. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *MMWR Recomm Rep*. 2005;54(RR-15):49-55. doi:rr5415a4 [pii].
22. Hooja S, Pal N, Malhotra B, Goyal S, Kumar V, Vyas L. Comparison of Ziehl Neelsen & Auramine O staining methods on direct and concentrated smears in clinical specimens. *Indian J Tuberc*. 2011;58(2):72-76. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21644393>.
23. Ioannidis P, Papaventsis D, Karabela S, et al. Cepheid GeneXpert MTB/RIF Assay for Mycobacterium tuberculosis Detection and Rifampin Resistance Identification in Patients with Substantial Clinical Indications of Tuberculosis and Smear-Negative Microscopy Results. *J Clin Microbiol*. 2011;49(8):3068-3070. doi:10.1128/JCM.00718-11.
24. Helb D, Jones M, Story E, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol*. 2010;48(1):229-237. doi:10.1128/JCM.01463-09.
25. Luft BJ, Brooks RG, Conley FK, McCabe RE, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. *JAMA*. 1984;252(7):913-917. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6748191>.
26. Prevention R from the C for DC and, the National Institutes of Health and the HMA, America of the IDS of. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adult_oi.pdf.
27. Sandler AS, Kaplan LD. Diagnosis and management of systemic non-Hodgkin's lymphoma in HIV disease. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1996;10(5):1111-1124. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8880199>.
28. Coté TR, Biggar RJ, Rosenberg PS, et al. Non-Hodgkin's lymphoma among people with AIDS: incidence, presentation and public health burden. AIDS/Cancer Study Group. *Int J cancer*. 1997;73(5):645-650. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9398040>.
29. John M Leonard. AIDS-related lymphomas: Primary central nervous system lymphoma. In: PostTW(Ed), ed. *UpToDate*. UpToDate in Waltham, MA.; 2016.
30. Garg RK. HIV infection and seizures. *Postgrad Med J*. 1999;75(885):387-390. doi:10.1136/pmj.76.898.523.
31. Powles T, Matthews G, Bower M. AIDS related systemic non-Hodgkin's lymphoma. *Sex Transm Infect*. 2000;76(5):335-341. doi:10.1136/sti.76.5.335.
32. Sasaki M das G, Leite PGB, Leite AGB, Almeida SM de. Bilateral peripheral facial palsy secondary to lymphoma in a patient with HIV/AIDS: a case report and literature review. *Brazilian J Infect Dis*. 2002;6(1). doi:10.1590/S1413-86702002000100008.
33. John M Leonard. Clinical presentation, pathologic features, and diagnosis of primary central nervous system lymphoma. In: PostTW(Ed), ed. *UpToDate*. UpToDate in Waltham, MA.; 2016.
34. Clifford DB, Arribas JR, Storch GA, Tourtellote W, Wippold FJ. Magnetic resonance brain imaging lacks sensitivity for AIDS associated cytomegalovirus encephalitis. *J Neurovirol*. 1996;2(6):397-403. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8972421>.
35. Arruda LMF SD. Cytomegalovirus Infections in Patients with HIV/AIDS in a Unit of Health of the Amazonian Region, Belem, Para, Brazil. *J Med Microbiol Diagnosis*. 2015;4(2). doi:10.4172/2161-0703.1000186.
36. Morales H, Tomsick T. Middle cerebellar peduncles: Magnetic resonance imaging and pathophysiologic correlate. *World J Radiol*. 2015;7(12):438-447. doi:10.4329/wjr.v7.i12.438.
37. Becker JT, Sanders J, Madsen SK, et al. Subcortical brain atrophy persists even in HAART-regulated HIV disease. *Brain Imaging Behav*. 2011;5(2):77-85. doi:10.1007/s11682-011-9113-8.