

Evaluación de lesiones vasculares pulmonares en pacientes VIH positivos mediante la biopsia transbronquial

Drs. Joanna Santeliz Casavilca^a, Maryalejandra Mendoza de Sifontes^b, Ivy Contreras Villamizar^b, Fanny Ochoa Ochoa^b, Celina Pérez de Salazar^c, Carmen Fuenmayor Meza^d

RESUMEN

La mortalidad asociada a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana ha experimentado una disminución significativa en los últimos años, sin embargo las enfermedades pulmonares en este grupo de pacientes siguen siendo una importante causa de morbilidad. El objetivo fue describir las lesiones vasculares que se observaron al realizar biopsia transbronquial a un grupo de pacientes VIH positivos. Se evaluaron 35 pacientes VIH positivos que acudieron al Servicio de Neumonología y Cirugía de Tórax del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (Mérida, Venezuela). Previa evaluación clínica, se procedió a realizar fibrobroncoscopia diagnóstica acompañada de biopsia transbronquial con la finalidad de recolectar muestras para cultivos bacteriológicos y análisis histopatológico. Veinticuatro pacientes (66,7 %) evaluados presentaron lesiones vasculares en las muestras obtenidas por biopsia transbronquial. La lesión vascular más frecuentemente encontrada fue la hiperplasia de la capa media de los vasos sanguíneos seguida de lesiones complejas tales como vasculitis asociada a necrosis fibrinoide y duplicidad luminal. No se observaron asociaciones significativas entre la presencia de lesiones vasculares y variables tales como tiempo de diagnóstico de la enfermedad ($P = 0,25$), recuento de linfocitos T CD4+ ($P = 0,53$), carga viral ($P = 0,87$), uso de terapia antirretroviral de gran actividad ($P = 0,54$) o presencia de infección bacteriana pulmonar ($P = 0,68$). Dieciocho pacientes con lesiones vasculares presentaron coloración de Grocott positiva para *P. jirovecii* ($P = 0,09$). La biopsia transbronquial permitió la identificación de alteraciones histopatológicas vasculares que comúnmente se asocian a hipertensión arterial pulmonar.

Palabras clave: VIH/SIDA. Fibrobroncoscopia. Biopsia transbronquial. Hipertensión arterial pulmonar.

^a Departamento de Ciencias Funcionales, Sección de Fisiología, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Barquisimeto, estado Lara, Venezuela

^b Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IAHULA), Mérida, estado Mérida, Venezuela

SUMMARY

The mortality associated with human immunodeficiency virus infection has decreased significantly in recent years however pulmonary diseases continue to be an important cause of morbidity in this group of patients. The objective was to describe vascular lesions in HIV positive patients observed in lung samples obtained by transbronchial biopsy. Thirty five patients attending the Servicio de Neumonología y Cirugía de Torax del Instituto Autonomo Hospital Universitario de los Andes (Merida, Venezuela) were studied. After clinical evaluation we proceeded to perform diagnostic fiberbronchoscopy accompanied by transbronchial biopsy with the aim to obtain samples for bacteriological cultures and histopathology analysis. Twenty four patients (66.7 %) evaluated showed vascular lesions in the lung samples. The most common vascular lesion found was hyperplasia of the media followed by complex arterial lesions such as vasculitis associated to fibrinoid necrosis and luminal duplicity. There were no significant associations between the presence of vascular lesions and variables such as time of diagnosis ($P = 0.25$), CD4+ T lymphocyte count ($P = 0.53$), viral load ($P = 0.87$), use of antiretroviral therapy of high activity ($P = 0.54$) or presence of pulmonary bacterial infection ($P = 0.68$). Eighteen patients with vascular lesions showed Grocott staining positive for *P. jirovecii* ($P = 0.09$). Transbronchial biopsy allowed the identification of vascular histopathological lesions commonly associated with pulmonary arterial hypertension.

Key words: HIV/AIDS. Fiberbronchoscopy. Transbronchial biopsy. Pulmonary arterial hypertension.

^c Laboratorio de Micología, Facultad de Farmacia, Universidad de los Andes (ULA), Mérida, estado Mérida, Venezuela

^d Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes (ULA), Mérida, estado Mérida, Venezuela

Correspondencia: Dra. Joanna Santeliz, Avenida Libertador con Avenida Andrés Bello, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, estado Lara, Venezuela, 3001. Teléfono: 0251-2591944. Fax: 0251-2591840 Dirección electrónica: jsanteliz@ucla.edu.ve

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), continúa siendo un importante problema de salud pública a nivel mundial aun cuando las estadísticas demuestran una disminución significativa en el número de pacientes infectados así como de las muertes asociadas al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (1). Sin embargo, los pacientes que viven actualmente con VIH no están exentos de sufrir enfermedades crónicas debilitantes predominantemente de naturaleza cardiovascular y pulmonar. En particular, las enfermedades pulmonares son una importante causa de morbimortalidad a pesar del uso de terapia antirretroviral de gran actividad. Estudios postmortem han demostrado que el pulmón es un órgano comúnmente afectado en hasta un 80 % de los pacientes que reciben terapia antirretroviral (2,3).

La fibrobroncoscopia es una herramienta de elevada utilidad para el diagnóstico de un gran número de enfermedades pulmonares la cual ha probado tener una baja morbilidad (0,1 %-2,5 %) y una muy baja mortalidad (< 0,05 %). Específicamente, la biopsia transbronquial es un método que permite el diagnóstico de neoplasia, infecciones y algunos tipos de enfermedades intersticiales pulmonares (4). Aun cuando el estudio histopatológico de la biopsia pulmonar quirúrgica abierta se considera el estándar de oro para la identificación de lesiones vasculares asociadas a hipertensión arterial pulmonar (HAP), este procedimiento implica un aumento en el número de días de estancia hospitalaria y una mayor morbimortalidad (5).

En pacientes VIH positivos, la fibrobroncoscopia diagnóstica acompañada de biopsia transbronquial ha probado ser un método de exploración útil y bien tolerada en particular para el estudio microbiológico y citológico del árbol bronquial (6). Sin embargo, en pacientes a quienes se les ha realizado este procedimiento por las causas antes mencionadas, puede ser de extrema importancia la evaluación de la vasculatura pulmonar ya que la presencia de alteraciones histopatológicas que comprometen los vasos sanguíneos pulmonares puede orientar al clínico a la búsqueda de enfermedades tales como la HAP cuya prevalencia, cercana a un 0,5 %, es mucho mayor que la descrita en la población general (4).

El objetivo del presente estudio es describir las lesiones vasculares que se observaron al realizar biopsia transbronquial a un grupo de pacientes VIH positivos y su relación con factores tales como carga

viral, nivel de inmunosupresión, uso de terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA), entre otros.

MÉTODOS

Desde el 01 de febrero hasta el 30 de septiembre de 2009 se evaluaron todos los pacientes VIH positivos mayores de 18 años que acudieron al Servicio de Neumonología y Cirugía de Tórax del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (Mérida, estado Mérida, Venezuela). Previa revisión y aprobación por el Comité de Bioética de dicho hospital se procedió a incluir 35 pacientes con o sin síntomas respiratorios y con o sin signos radiológicos de patología pulmonar. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: alteraciones en el estado de conciencia (obnubilación o coma), presión arterial de oxígeno < 80 mmHg y no deseo de participación voluntaria o falta de colaboración en la realización de los procedimientos diagnósticos.

Previo realización de fibrobroncoscopia, se procedió a recolectar una muestra de 5 mL de sangre venosa la cual se colocó en un tubo con 200 μ L de heparina para el recuento de linfocitos T CD4+, CD8 y carga viral. El recuento de linfocitos T CD4+ y CD8+ en sangre venosa se realizó según técnica descrita anteriormente (7). La cuantificación directa del ARN del virus de inmunodeficiencia 1 en el plasma se realizó utilizando el Versant HIV-1 RNA 3.0 Assay (Siemens) según las recomendaciones del fabricante. El límite de detección es de 35 copias de ARN VIH-1/mL.

Se realizó fibrobroncoscopia diagnóstica con un equipo Olympus BF-10 (Olympus, Tokyo, Japón) siguiendo los lineamientos de la Sociedad Americana de Tórax (ATS) y de la Sociedad Respiratoria Europea (ERS) (8,9). Brevemente, los pacientes fueron premedicados con 0,5 mg de atropina, 2 % de lidocaína en spray para la anestesia de las vías aéreas superiores y midazolam a una dosis de 5 mg vía endovenosa. Se procedió a insertar el fibrobroncoscopio por vía oral, realizar lavado de cada lóbulo pulmonar instilando 3 alícuotas de 5 mL de solución salina estéril al 0,9 % a temperatura ambiente y se procedió a la recolección del líquido del lavado broncoalveolar en trampas de Luken. Se realizó biopsia transbronquial de lesiones en el árbol bronquial o de zonas sospechosas detectadas previamente en la tomografía de tórax de alta resolución y las muestras recolectadas fueron fijadas en una solución de 10 % de formol. Las láminas fueron teñidas con hematoxilina-eosina, ácido periódico

de Schiff, tricrómico, Grocott y Ziehl Neelsen para estudio anatomopatológico. Se realizaron cultivos bacteriológicos cuantitativos y micológicos de las muestras de lavado broncoalveolar. El cultivo bacteriológico se consideró positivo si se detectaron más de 100 000 UFC/mL. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20 para Windows. La comparación entre dos muestras independientes se realizó utilizando la prueba X^2 para variables categóricas y la prueba U de Mann-Whitney para variables continuas. Diferencias entre grupos con una $P < 0,05$ fueron consideradas estadísticamente significativas.

RESULTADOS

Treinta pacientes del sexo masculino y 6 del sexo femenino participaron en el estudio. El 68,6 % de los pacientes tenía menos de 5 años con el diagnóstico de infección por el VIH. En relación con la forma de contagio del VIH, 23 pacientes (65,7 %) reportaron contagio por contacto heterosexual, 11 pacientes (30,5 %) por contacto homosexual y 2 pacientes (3,8 %) por vía transfusional. Con respecto al uso de terapia antirretroviral de gran actividad, solo 37 % de los participantes la recibía. Para el momento de participación en el estudio, ningún paciente recibía profilaxis para *P. jirovecii* o *M. tuberculosis*.

En relación con el perfil inmunológico de los pacientes, el valor promedio de linfocitos T CD4+ y CD8+ en sangre periférica fue $315,61 \pm 49,19$ células/ μL y $869,61 \pm 94,81$ células/ μL , respectivamente. El valor promedio de la carga viral plasmática fue de $78\,830,82 \pm 24\,795,63$ copias/mL.

Veinticuatro pacientes (66,7 %) evaluados presentaron lesiones vasculares en las muestras de biopsia transbronquial. La lesión histológica más frecuentemente encontrada fue la hiperplasia de la capa media de los vasos sanguíneos (Figura 1). En algunos de los vasos sanguíneos se encontró un extenso infiltrado inflamatorio mononuclear a predominio eosinofílico que invadía la pared de los vasos sanguíneos (vasculitis) asociado a necrosis fibrinoide (Figura 2). En menor grado se observaron signos de angiogénesis asociados a hiperplasia de células endoteliales. Otras lesiones arteriales complejas tales como duplicidad luminal vascular también fueron observadas (Figura 3).

El recuento de linfocitos T CD4+ en sangre evalúa el grado de inmunosupresión en pacientes VIH positivos. Los pacientes con lesiones vasculares

pulmonares presentaron un recuento promedio de linfocitos T CD4+ de 301 ± 50 células/ μL comparado con 386 ± 122 células/ μL en pacientes sin lesiones vasculares ($P=0,53$). No se observaron asociaciones significativas entre la presencia o no de lesiones vasculares y variables tales como carga viral ($P=0,87$), sexo ($P=0,62$), uso de terapia antirretroviral de gran actividad ($P=0,54$) o tiempo de diagnóstico de la enfermedad ($P=0,25$) (Figura 4).

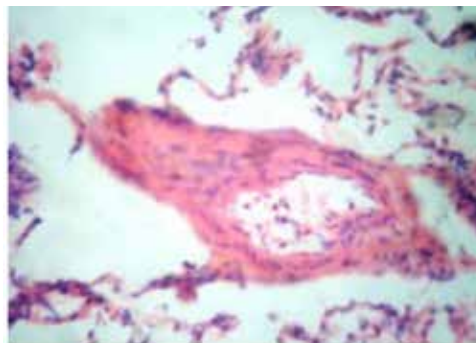


Figura 1. Microfotografía donde se observa pared de vaso sanguíneo grueso con hiperplasia (tinción HE, 40X).

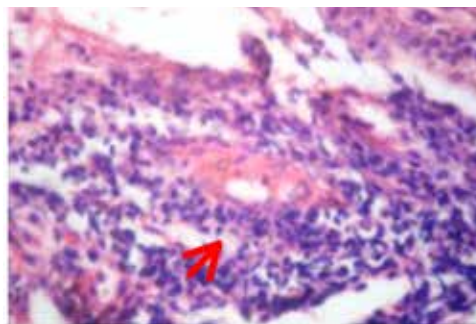


Figura 2. Microfotografía donde se observa pared de vaso sanguíneo agredida por infiltrado inflamatorio (tinción HE, 40X).

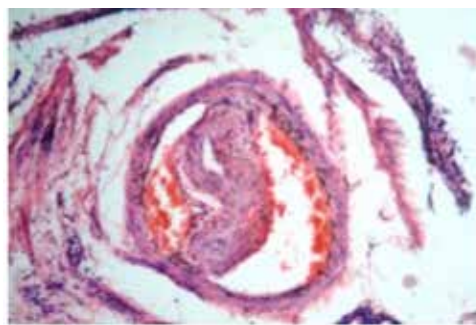


Figura 3. Pared de vaso sanguíneo con duplicación de su luz (tinción HE, 40X).

LESIONES VASCULARES PULMONARES EN PACIENTES VIH POSITIVOS

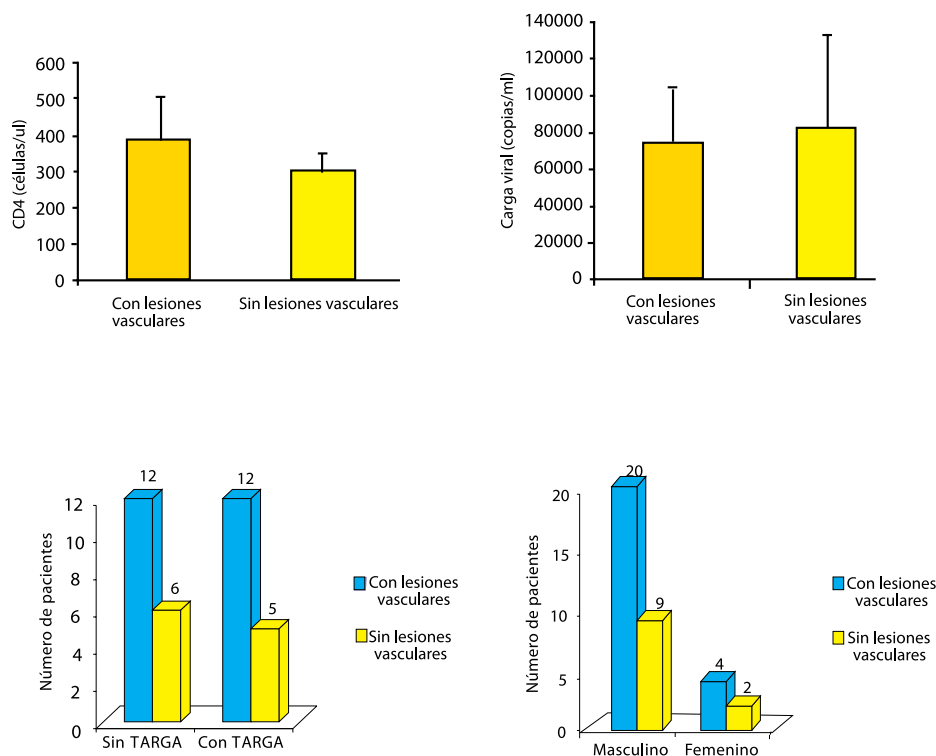


Figura 4. Marcadores de infección por VIH y desarrollo de lesiones vasculares pulmonares. No se observaron asociaciones significativas entre la presencia o no de lesiones vasculares y variables tales como niveles sanguíneos de linfocitos T CD4+ ($P = 0,53$), carga viral ($P = 0,87$), sexo ($P = 0,62$) y uso de terapia antirretroviral de gran actividad ($P = 0,54$).

Con respecto a la presencia de infección bacteriana pulmonar, aun cuando fue más frecuente encontrar cultivos bacteriológicos positivos en el lavado broncoalveolar de pacientes con lesiones vasculares pulmonares, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($P=0,68$). Asimismo, de los pacientes con lesiones vasculares histológicas, 18 de ellos presentaron coloración de Grocott positiva para *Pneumocystis jirovecii*. Sin embargo, la presencia de *P. jirovecii* fue solo marginalmente diferente entre ambos grupos de pacientes ($P = 0,09$).

DISCUSIÓN

La hipertensión arterial pulmonar es una enfermedad rápidamente progresiva asociada a una elevación persistente de la resistencia vascular pulmonar que conlleva a signos clínicos de insuficiencia cardíaca derecha y finalmente la muerte. Se estima que su prevalencia es de 15 a 50 casos por millón de habitantes sin embargo los pacientes VIH positivos presentan una prevalencia mucho más

elevada situándose esta en alrededor de un 0,5 %. Aun cuando la fisiopatología de la enfermedad no está plenamente dilucidada se sabe que factores genéticos y ambientales contribuyen a las alteraciones en la resistencia vascular pulmonar en estos pacientes. Antes del advenimiento de las nuevas modalidades de terapias anti-HAP, la expectativa media de vida al momento del diagnóstico era de 2,8 años (10) sin embargo hoy en día las estadísticas demuestran una supervivencia a los 3 años entre un 55 % a un 73 %, cifra por lo demás igualmente lamentable (11).

En nuestro estudio la mayor parte de los pacientes evaluados (66 %) presentaron lesiones vasculares sugestivas de HAP. Desde el punto de vista histopatológico, las lesiones vasculares sugestivas de hipertensión arterial pulmonar son producto de un proceso de remodelado de las paredes vasculares que incluye la afectación tanto de la íntima, media y adventicia. El engrosamiento de la capa media es un cambio no específico de la pared vascular que comprende básicamente hipertrofia e hiperplasia de las células musculares lisas. Por ser una alteración que

se observa tanto en los vasos pre como intra-acinares se consideran tales lesiones hemodinámicamente importantes. La afectación de la capa íntima se debe fundamentalmente a la proliferación celular y depósito de matriz extracelular. Las células son fenotípicamente células musculares lisas que aparentemente migran desde la capa media. La capa adventicia se presenta fibrosada producto de la proliferación y el incremento en la síntesis de proteína de matriz por parte de los fibroblastos adventiciales (12). Las lesiones complejas tales como las lesiones plexiformes y la necrosis fibrinoide/vasculitis son evidencia de enfermedad vascular de mayor severidad. Las lesiones plexiformes son producto de la proliferación descontrolada de las células endoteliales (13) mientras que las lesiones necróticas son resultado de la invasión de células inflamatorias que permean desde la adventicia hasta la íntima. Esta última comúnmente se asocia a la presencia de trombosis intraluminal. Todas estas lesiones fueron ampliamente observadas en el grupo de pacientes estudiados.

La patogénesis de la hipertensión pulmonar arterial en el paciente VIH positivo aún no está bien comprendida. Hasta ahora, no existe evidencia de infección directa del virus en las células endoteliales vasculares (14), sin embargo, las proteínas virales pudieran tener un rol importante en esta enfermedad tal como fue evidenciado por Marecki y col. (15) y Sehgal y col. (16) quienes demostraron la presencia de la proteína Nef del virus VIH-1 en células endoteliales pulmonares en macacos y Flores y col. (17) quienes identificaron polimorfismos del gen que codifica Nef y que pudieran causar cambios estructurales de la proteína y de esta forma alterar la interacción de esta con importantes proteínas celulares vasculares pulmonares afectando la funcionalidad de las células endoteliales.

Las infecciones pulmonares como mecanismo patogénico de HAP es un tema de amplio debate. Swain y col. (18) demostraron que ratones infectados con el VIH con depleción de linfocitos CD4+ subsecuentemente infectados con *P. jirovecci* desarrollan hipertensión pulmonar. Sin embargo, nuestro estudio no demuestra esta asociación ni para infecciones bacterianas o para colonización con *P. jirovecci* lo cual coincide con los hallazgos encontrados por el grupo de George y col. (19) en macacos infectados con virus de inmunodeficiencia simiano (SIV) aun cuando la asociación con esta última (*P. jirovecci*) no fue significativa. Por otra parte tampoco encontramos asociación entre la presencia de

lesiones vasculares sugestivas de HAP y factores tales como carga viral, niveles sanguíneos de linfocitos T CD4+, uso de TARGA o tiempo de infección lo cual coincide con otros grupos de investigación (20-22).

En cuanto a las limitaciones de este estudio, lamentablemente no se pudieron realizar estudios ecocardiográficos o de cateterismo pulmonar derecho para realizar el diagnóstico funcional de hipertensión pulmonar arterial.

Por otra parte es importante resaltar que aun cuando la biopsia transbronquial no constituye el estándar de oro para la identificación de lesiones vasculares asociadas a hipertensión arterial pulmonar, las mismas no pueden pasar desapercibidas para el clínico, particularmente en pacientes VIH positivos en donde dicha entidad nosológica es particularmente severa y asociada a una elevada mortalidad.

En conclusión, en este estudio se evidenció que la biopsia transbronquial, método diagnóstico de menor morbimortalidad y complejidad técnica en comparación con la biopsia pulmonar quirúrgica abierta, permitió la identificación de lesiones vasculares pulmonares que comúnmente se asocian a hipertensión arterial pulmonar.

Financiamiento

Este proyecto fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de Los Andes, Mérida, estado Mérida.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a los pacientes que participaron en este estudio así como al personal de Enfermería del Servicio de Neumonología y Cirugía de Tórax del IAHULA y al personal del Laboratorio de Hormonas de dicha institución.

Conflicto de Interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. En: http://www.unaids.org/documents/20101123_GlobalReport_Chap2_em.pdf.
2. Afessa B, Greaves W, Green W, Oloponcia L, Saxinger C, Frederick W. Autopsy findings in HIV-infected inner-city patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1992;5:132-136.
3. Matos A, Hovnanian A, Parra E, Canzian M, Capelozzi V. Post-mortem histological pulmonary analysis in patients with HIV/AIDS. *Clinics*. 2008;64:497-502.
4. Doooms C, Seijo L, Gasparini S, Trisolini R, Ninane V, Tournoy K. Diagnostic bronchoscopy: State of the art. *Eur Respir Rev*. 2010;19: 229-236.
5. Blackhall V, Asif M, Renieri A, Civitelli S, Kirk A,

LESIONES VASCULARES PULMONARES EN PACIENTES VIH POSITIVOS

- Jilaihawi A, et al. The role of surgical lung biopsy in the management of interstitial lung disease: Experience from a single institute in the UK. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2013;17:253-257.
6. De Blic J, Blanche S, Danel C, Bourgeois M, Caniglia M, Scheinmann P. Bronchoalveolar lavage in HIV infected patients with interstitial pneumonitis. *Arch Dis Child*. 1989;64:1246-1250.
 7. Santeliz J, Vega Y, Ochoa A, Mendoza M, Contreras I, Borges L, et al. En pacientes VIH+ hay una compartimentalización de los linfocitos T reguladores a nivel pulmonar asociado a su estado infeccioso. *Pulmón*. 2011;2(3):13-21.
 8. American Thoracic Society. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis*. 1990;142:481-486.
 9. Rand D, Barber P, Goldring J, Lewis R, Mandal S, Munavvar M, et al. British Thoracic Society guideline for advanced diagnostic and therapeutic flexible bronchoscopy in adults. *Thorax*. 2011;66(3):iii21.
 10. Ajami G, Cherihi S, Amoozgar H, Borzouee M, Soltani M. Accuracy of Doppler-derived estimation of pulmonary vascular resistance in congenital heart disease: An index of operability. *Pediatr Cardiol*. 2011;32(8):1168-1174.
 11. Oudiz R. Death in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188:269-270.
 12. Demarchi V, Canzian M. Histopathology images of pulmonary vascular disease: Part I. *PVRI Rev*. 2009;1:34-38.
 13. Rai P, Cool C, King J, Stevens T, Burns N, Winn R, et al. The cancer paradigm of the pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178:558-564.
 14. Mette S, Palevsky H, Pietra C, Williams T, Bruder E, Prestipino A, et al. Primary pulmonary hypertension in association with human immunodeficiency virus infection. A possible viral etiology for some forms of hypertensive pulmonary arteriopathy. *Am Rev Respir Dis*. 1992;145:1196-2000.
 15. Marecky J, Cool C, Parr J, Beckey B, Luciw P, Tarantal A, et al. HIV-1 Nef is associated with complex pulmonary vascular lesions in SHIV-nef-infected macaques. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:437-445.
 16. Sehgal P, Mukhopadhyay S, Patel K, Xu F, Almodóvar S, Tuder R, et al. Golgi dysfunction is a common feature in idiopathic human pulmonary hypertension and vascular lesions in SHIV-nef-infected macaques. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009;297:L729-37.
 17. Flores S, Almodóvar S. Human immunodeficiency virus, herpes virus infection and pulmonary vascular disease. *Pulm Circ*. 2013;3:165-170.
 18. Swain S, Han S, Harmsen A, Shampeny K, Harmsen A. Pulmonary hypertension can be a sequel of prior *Pneumocystis pneumonia*. *Am J Pathol*. 2007;171:790-799.
 19. George P, Brower A, Kling H, Shipley T, Kristoff T, Reinhart T. Pulmonary vascular lesions are common in SIV- and SHIV-env-Infected macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011;27:103-111.
 20. Nunes H, Humbert M, Sitbon O, Morse J, Deng Z, Knowles J. Prognostic factors for survival in human immunodeficiency virus associated pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:1433-1439.
 21. Mehta N, Khan I, Mehta R, Sepkowitz D. HIV-related pulmonary hypertension: Analytic review of 131 cases. *Chest*. 2000; 118(4):31-41.
 22. Almodóvar S, Cicalini S, Petrosillo N, Flores S. Pulmonary hypertension associated with HIV infection. *Chest*. 2010;137: 6S-12S.