

Морфологическая диагностика лангергансоклеточного гистиоцитоза с поражением костей у детей

Н. А. Анисимова, Л. М. Гринберг, Н. Д. Сорокина, Л. Г. Фечина
Отдел детской онкологии и гематологии ОДКБ№1, ГОУ ВПО УГМА Росздрава, г. Екатеринбург

Резюме

Проведено патоморфологическое исследование 19 случаев лангергансоклеточного гистиоцитоза с поражением костей у детей. Морфологическим субстратом заболевания является инфильтрат, состоящий преимущественно из крупных клеток с эозинофильной вакуолизированной цитоплазмой и переменными по форме ядрами. В 13 случаях (68,4%) обнаружены скопления гигантских клеток. Элементы реактивного инфильтрата представлены в основном эозинофилами и лимфоцитами. Для достоверной диагностики гистиоцитоза выполнено иммуногистохимическое исследование.

Выявлена положительная экспрессия гистиоцитов одновременно антигенов CD_{1a} и S100 и в большинстве случаев отрицательная экспрессия CD₆₈. Дифференциальную диагностику лангергансоклеточного гистиоцитоза с поражением костей у детей следует в первую очередь проводить с туберкулезными оститами, неспецифическими остеомиелитами и лимфомами.

Ключевые слова: лангергансоклеточный гистиоцитоз, морфологическая диагностика, поражение костей.

Клиническая диагностика очаговых форм поражения костей у детей в большинстве случаев базируется на результатах морфологического исследования биопсийного материала. В связи с этим особую значимость приобретают вопросы морфологической диагностики лангергансоклеточного гистиоцитоза, а также дифференциальной диагностики с другими формами патологии костей у детей.

Лангергансоклеточный гистиоцитоз (ЛКГ) — клональное заболевание, характеризующееся пролиферацией гистиоцитов [1]. Впервые ЛКГ (прежние термины: гистиоцитоз X, болезнь Хэнда-Шюллера-Крисчена, болезнь Леттерера-Зиве, эозинофильная гранулема, болезнь Таратынова) был описан в 1913 году русским патологом Н. И. Таратыновым, который обозначил заболевание термином «псевдотуберкулезная гранулема». В 1953 году L. Lichtenstein объединил ранее описанные варианты под общим названием «Гистиоцитоз X». В 1973 г. С. Nezelof с соавт. идентифицировал гистиоциты из очагов поражения как клетки, несущие структурно-функциональные маркеры эпидермальных клеток Лангерганса. В 1987 г. историческое название «Гистиоцитоз X» было заменено термином «Гистиоцитоз из клеток Лангерганса» [1].

В настоящее время продолжается дискуссия об опухолевой природе ЛКГ. Отдельно выделен саркоматоидный вариант лангергансоклеточного гистиоцитоза, имеющий злокачественный характер, возникающий чаще в старшей возрастной группе (медиана — 40 лет) и характеризующийся высокоагрессивным течением. В этих случаях опухоль образована клетками Лангерганса с выраженной степенью атипии, митотическая активность высокая, эозинофилы в инфильтрате встречаются редко [1].

ЛКГ в основном болеют дети. Заболеваемость ЛКГ составляет 2-6 случаев на 1 млн детей в год [2, 3]. Летальность достигает 10% [1]. Поражение может носить локальный и генерализованный характер с вовлечением в патологический процесс различных органов и тканей, но наиболее часто поражаются кости и кожа. По данным разных авторов поражение костей встречается при ЛКГ в 40-100% случаев [4]. Деструкция костной ткани с преимущественной локализацией в костях черепа, таза, длинных трубчатых костях, ребрах является одним из наиболее важных симптомов заболевания при ЛКГ. Кости кистей и стоп поражаются редко [2, 5].

Выделяют три основных клинических варианта ЛКГ с однотипной морфологической картиной: эозинофильная гранулема, болезнь Хэнда-Шюллера-Крисчена и болезнь Леттерера-

Л. М. Гринберг — д. м. н.; Л. Г. Фечина — к. м. н.

ра-Зиве. Эозинофильная гранулема характеризуется локальной деструкцией кости, обусловленной внутрикостным развитием гистиоцитарных гранулем. При болезни Хенда-Шюллера-Крисчена образуются множественные гранулематозные разрастания не только в костях, но и в коже, лимфатических узлах и внутренних органах. Болезнь Леттерера-Сиве обычно проявляется на первом году жизни или при рождении ребенка. Это наиболее тяжелая форма ЛКГ, характеризующаяся острым началом, бурным течением и быстрым летальным исходом. Характерно поражение кожи, внутренних органов, костей черепа, таза, ребер, позвонков, длинных трубчатых костей [3].

Прижизненный диагноз ЛКГ устанавливается на основании клинико-морфологических проявлений при исследовании биоптата или резектата патологического очага. Патоморфологические изменения сводятся к наличию инфильтрата, образованного гистиоцитами и эозинофилами. Однако достоверный диагноз заболевания может быть получен только с использованием иммуногистохимического исследования и/или электронной микроскопии.

При иммуногистохимическом исследовании отмечается положительная реакция гистиоцитов одновременно с антигенами CD_{1a} (мембранная экспрессия) и S100 (ядерная и цитоплазматическая экспрессия). Следует подчеркнуть, что единственным специфическим маркером клеток Лангерганса является антитело Langerin (CD₂₀₇) к поверхностному клеточному рецептору, который отвечает за формирование в клетках гранул Бирбека [1]. Иммунофенотип неопластических клеток Лангерганса выглядит следующим образом: клетки экспрессируют Langerin, CD_{1a}, S100, bcl-2, Fascin, Vimentin, CD₄₅, в некоторых случаях CD68 и не экспрессируют CD₂₁, CD₃₅, CD₁₅, CD₃₀ [6]. Но для практических целей необходимо и достаточным является обнаружение на клетках Лангерганса одновременной экспрессии CD_{1a} и S100.

При электронной микроскопии в клетках обнаруживаются цитоплазматические гранулы Бирбека своеобразной палочковидной формы, в виде «теннисных ракеток» или «молнии». Они состоят из 5 мембран, центральная мембрана имеет поперечную исчерченность, ширина гранул 33 нм. [1, 7].

ЛКГ с поражением костей у детей принадлежит к относительно редким видам патологии, что вызывает значительные трудности при его дифференциальной диагностике, особенно на ранних этапах заболевания. Поэтому патоморфологическое исследование, включая иммуногистохимический метод и электронную

микроскопию, приобретает первостепенное значение [8, 9].

Цель исследования — изучить случаи ЛКГ с поражением костной ткани у детей по данным отдела детской гематологии и онкологии ОДКБ№1 в период с 1996 по 2007 год и определить дифференциально-диагностический ряд при морфологической диагностике этого заболевания.

Материалы и методы исследования

Критериями включения в исследование являлись: возраст до 18 лет, наличие биопсии, диагноз ЛКГ и поражение костной ткани. В период с 1996 по 2007 год в отделе детской гематологии и онкологии ОДКБ№1 было выявлено 19 случаев ЛКГ с поражением костной ткани.

Для морфологического исследования кусочки ткани размером до 5x10 мм фиксировали в 10% забуференном формалине, заливали в парафин, гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематооксином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон, в ряде случаев проводили окраску по методу Циля-Нильсена.

Иммуногистохимическое исследование (стрептавидин-биотиновый метод) проводили на срезах толщиной 4 мкм, антигенную иммунореактивность восстанавливали высокотемпературным методом. Применяли первичные антитела: CD_{1a} и S100 фирмы ДАКО. Результаты реакции визуализировали с помощью полимерной системы LAB Vision, хромоген — диаминобензидин (ДАБ).

Результаты исследования и их обсуждение

По данным отдела детской онкологии и гематологии ОДКБ№1 за истекший период гистиоцитоз был морфологически верифицирован в 31 случае. ЛКГ с поражением костной ткани выявлен в 19 случаях (61,3%).

Было установлено, что в среднем, частота встречаемости ЛКГ с поражением костей у детей составила 2±1 случаев в год. Распределение по полу: девочек — 6 (33,3%), мальчиков — 12 (66,3%). Средний возраст — 5,7±3,9 лет. У девочек заболевание в среднем диагностировано в 4,8±3,2 года, у мальчиков в 6,3±4,1 года.

В изучаемой группе поражение костей черепа было выявлено в 14 случаях (72,2%), в том числе комбинированное поражение костей черепа и ребер в 1 случае (5,7%), трубчатых костей конечностей в 5 случаях (27,8%).

При морфологическом изучении биоптатов костной ткани в 19 случаях (100%) был выявлен инфильтрат, состоящий преимущественно из крупных клеток (15–30 мкм) с эозинофильной вакуолизированной цитоплазмой. Ядра клеток вариабельные по форме: округлые, оваль-

ные, бобовидные, неправильной формы, типа «кофейного зерна», в части ядер обнаруживали 1-2 ядрышка (рисунок А, см. цв. вкладку). В 13 случаях (68,4%) в инфильтрате имелись скопления гигантских клеток с обильной вакуолизированной эозинофильной цитоплазмой с 2-10 ядрами с толстой ядерной мембраной, в ядрах выявлялись 1-3 хорошо заметных ядрышка (рисунок Б, см. цв. вкладку). Реактивный инфильтрат был представлен эозинофилами, местами формирующими скопления типа эозинофильных абсцессов (в 13 случаях, 68,4%), лимфоцитами, нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, фибробластами (рисунок В, см. цв. вкладку). Митотическая активность вариабельна (от 0 до 14 митозов в 10 полях зрения).

Костные балки обнаружены в 6 случаях (31,5%). Отмечается пазушная (гладкая) резорбция костных балок с образованием пазух с гладкими стенками, внутри которых в ряде случаев выявляются остеоциты. Костно-мозговые пространства замещаются инфильтратом, представленным гистиоцитами и эозинофилами (рисунок Г, см. цв. вкладку).

При длительном течении заболевания (более года) в костной ткани происходит стирание типичной морфологической картины ЛКГ, что значительно затрудняет диагностику. При этом встречаются лишь единичные диагностические клетки Лангерганса, преобладает фиброз с небольшим количеством пенистых ксантоматозных макрофагов, обнаруживаются фокусы крупноглыбчатых кальцинатов, некрозы и кровоизлияния. Диагноз в этих случаях можно установить только при использовании иммуногистохимического метода и/или электронной микроскопии (рисунок Д, см. цв. вкладку).

Иммуногистохимическое исследование проведено 9 больным (47,4%). Выявлена положительная реакция гистиоцитов одновременно с антигенами CD_{1a} (мембранная экспрессия) и S100 (цитоплазматическая и ядерная экспрессия) (рисунок Е, см. цв. вкладку). При этом гигантские многоядерные клетки экспрессируют CD₆₈ в цитоплазме и не экспрессируют S100. Следует еще раз отметить, что для достоверной диагностики ЛКГ необходимо проводить иммуногистохимическое исследование.

Дифференциальную диагностику ЛКГ в первую очередь следует проводить с туберкулезным оститом, который некоторые авторы называют «микобактериальным гистиоцитозом», неспецифическими остеомиелитами и лимфомами.

Туберкулезный остит и ЛКГ имеют сходную клиническую и рентгенологическую картину, поэтому диагноз может быть достовер-

но установлен только при использовании морфологического и иммуногистохимического методов исследования. Туберкулезный остит у детей большинство авторов в современных условиях связывают с БЦЖ-инфекцией. [11, 12]. Морфологическим субстратом при туберкулезном остите у детей (мы располагаем морфологическими данными 78 таких случаев) является специфическая грануляционная ткань с полями светлых эпителиоидных CD₆₈ позитивных клеток. В ряде случаев обнаруживаются эпителиоидоклеточные гранулемы и гигантские клетки Ланганса. Гранулемы с центральными микронекрозами встречаются не более чем в 10%. Инфильтрат представлен преимущественно лимфоцитами и моноцитами, реже обнаруживаются эозинофилы и нейтрофилы. Костные балки подвергаются гладкой (пазушной) резорбции, происходит замещение костно-мозговых пространств грануляционной тканью. При прогрессировании заболевания, когда преобладают некротические реакции (30% случаев), а также при длительном течении заболевания (1 год и более), когда преобладают процессы организации (до 10% случаев) грануляционная ткань встречается лишь на отдельных участках с небольшим количеством эпителиоидных клеток, что значительно затрудняет диагностику туберкулезного остита. При окраске по Цилю-Нильсену микобактерии, как правило, не выявляются. При иммуногистохимическом исследовании гранулем, эпителиоидные клетки экспрессируют CD₆₈. Имеется примесь Т-лимфоцитов (CD₃⁺). В-лимфоциты (CD₂₀⁺) представлены в значительно меньшем количестве и расположены по периферии гранулем. Достоверных различий в соотношении субпопуляций Т-лимфоцитов (CD₄⁺/CD₈⁺) нет [10].

Неспецифический остеомиелит у детей встречается редко. Клинически могут быть выявлены боль и лихорадка. Чаще в поражение вовлекается одна кость. Обнаруживается деструкция костной ткани, гнойно-некротический детрит и инфильтрат, состоящий преимущественно из полиморфноядерных лейкоцитов и CD₆₈ позитивных гистиоцитов. Встречаются гигантские многоядерные клетки типа остеокластов. Гранулематозная реакция отсутствует (при оститах, вызванных грибами, могут быть обнаружены гранулемы). Результаты иммуногистохимического исследования гистиоцитов с CD_{1a} и S100 отрицательные.

При лимфомах в патологический процесс нередко вовлекаются несколько костей одновременно (до 20% случаев). Чаще встречаются В-клеточная крупноклеточная и анапластическая лимфомы. Опухолевый инфильтрат

полиморфен, ядра variabelны по форме и размеру. Костные балки подвергаются склерозированию, может быть выражен фиброз, при котором клетки приобретают веретенообразную форму. При иммуногистохимическом исследовании обнаруживается экспрессия гемопоэтических антигенов, таких как CD₄₅, CD₃, CD₇, CD₂₀, CD_{79a} и др.

Выводы

1. В период с 1996 по 2007 года по данным центра детской онкологии и гематологии ЛКГ с поражением костной ткани был выявлен у 19 детей, что составило 61% от ЛКГ. Мальчики болеют ЛКГ чаще, чем девочки. Средний возраст больных ЛКГ 5,7±3,9. Средний возраст девочек — 4,8±3,2, мальчиков — 6,3±4,1. Чаще всего в патологический процесс вовлекаются кости черепа (72,2%) и длинные трубчатые кости конечностей (27,8%).

2. Патоморфология ЛКГ сводилась к обнаружению в костной ткани инфильтрата, представленного преимущественно гистиоцитами Лангерганса, в ряде случаев обнаруживались гигантские многоядерные клетки, имелась значительная примесь эозинофилов.

3. Для достоверной диагностики ЛКГ следует выполнять иммуногистохимическое исследование и/или электронную микроскопию. Иммуногистохимическое исследование проведено в 9 случаях (47,4%). Была выявлена положительная реакция гистиоцитов одновременно с антигенами CD_{1a} (мембранная экспрессия) и с S100 (ядерная и цитоплазматическая экспрессия).

4. Дифференциальную морфологическую диагностику ЛКГ с поражением костей у детей

в первую очередь следует проводить с туберкулезным оститом, морфологическим субстратом которого является специфическая грануляционная ткань с полями светлых эпителиоидных CD₆₈ позитивных клеток.

Литература

1. Fletcher C., Diagnostic histopathology of tumors. USA; 2007.
2. Малашенков Е. А. Митусова Дорощев Г. М., Л. А. Случай гистиоцитоза X, принятого за генерализованный туберкулез. Проблемы туберкулеза 2001; 5: 44-46.
3. Махонова Л. А., Пичугина Л. Ю., Петерсон И. С. Гистиоцитарные пролиферативные заболевания у детей. Вопросы Онкологии 2000; 4: 452 — 458.
4. Опухоли и опухолеподобные процессы у детей. Под ред. Е. Д. Черствого. Минск: Асар; 2002.
5. Криволапов Ю. А., Леенман Е. Е. Морфологическая диагностика лимфом. СПб: Коста; 2006.
6. Taylor C. R., Cone R. J. Immunomicroscopy. A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. Major problems in pathology. USA; 2006.
7. Толпенинова Д. Ю., Черештов Ю. И., Бойкова С. П., Чумаков А. А. Результаты морфологического исследования гистиоцитоза из клеток Лангерганса в челюстных костях. Архив патологии 2005; 4: 32-36.
8. Волков М. В., Нечволодова О. Л. Дифференциальная диагностика костного туберкулеза и опухолей у детей. Проблемы туберкулеза. 1973; 5: 24-29.
9. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Под ред. Н. А. Краевского. М: Медицина; 1993.
10. Анисимова Н. А., Гринберг Л. М., Камаева Н. Г. Патоморфология туберкулезного остеомиелита у детей. Сборник научных трудов научно-практической конференции по инфекционной патологии ГУ НИИ МЧ РАМН; 2007.
11. Аксенова В. А., Мушкин А. Ю., Коваленко К. Н., Казьмина Е. А., Бакин М. Н. Исаева Н. Ю., Фомина Е. В. БЦЖ-оститы у детей: эпидемиологические показатели некоторых регионов Российской Федерации. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007; 1:9-12.
12. Мушкин А. Ю. Костно-суставной туберкулез у детей: современная ситуация и прогноз. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007; 1:13-16.

Рисунки к статье

Н. А. Анисимовой, Л. М. Гринберг, Н. Д. Сорокиной и Л. Г. Фечиной

«Морфологическая диагностика лангергансоклеточного гистиоцитоза с поражением костей у детей, стр. 116.

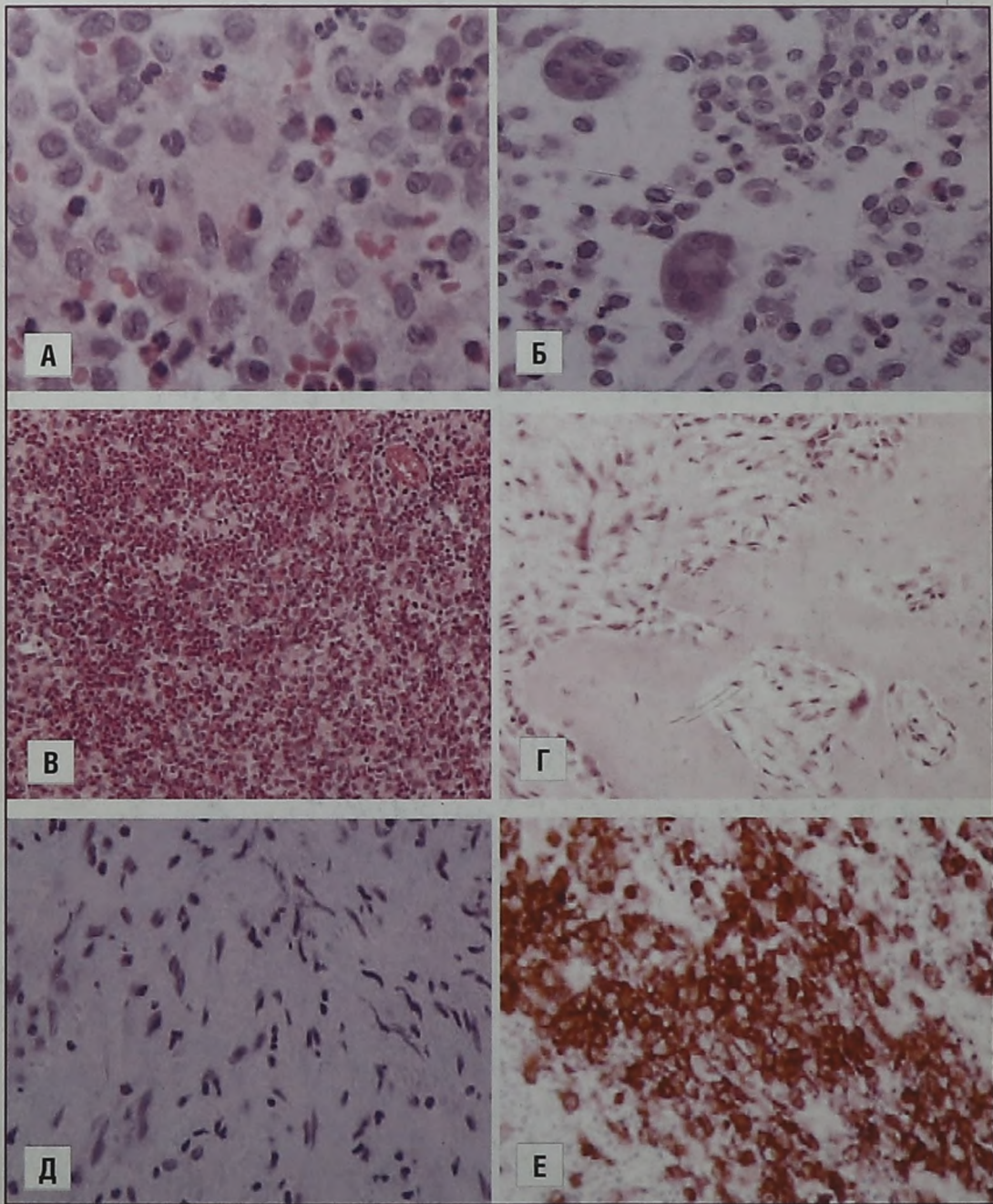


Рисунок Патоморфология ЛКГ с поражением костей. (А) Инфильтрат из клеток Лангерганса. (Б) Гигантские многоядерные клетки. (В) Эозинофильный абсцесс. (Г) Резорбция костных балок. (Д) Фиброз при длительном течении ЛКГ. (Е) Мембранная реакция с CD_{1a} на клетках Лангерганса.