

Трудности диагностики лангергансоклеточного гистиоцитоза

Ю. В. Шатохин, И. В. Снежко, Е. И. Кузуб, О. Н. Шатохина, А. Э. Мационис, П. Э. Павилайтите

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону; ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону; ГБУ РО «Ростовское областное патологоанатомическое бюро», г. Ростов-на-Дону

Difficulties of diagnosis of Langerhans cell histiocytosis

Yu. V. Shatokhin, I. V. Snezhko, E. I. Kuzub, O. N. Shatokhina, A. E. Matsionis, P. E. Pavilaitite

Rostov State Medical University, Rostov Research Institute for Oncology, Rostov Regional Pathoanatomical Bureau; Rostov-on-Don, Russia

Резюме

Лангергансоклеточный гистиоцитоз является заболеванием из группы гистиоцитозов и характеризуется пролиферацией клеток системы макрофагальных фагоцитов в коже, костях, костном мозге, печени, селезенке, легких, лимфатических узлах. В связи с этим возможны множественные поражения различных органов и систем с проявлениями интоксикационного синдрома. Разнообразная симптоматика значительно затрудняет диагностику заболевания. Это демонстрирует разбор истории болезни двух пациентов, которые наблюдаются в гематологическом отделении клиники Ростовского государственного медицинского университета. Ведущее место в диагностике заболевания занимают гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Приведенные примеры полиморфной картины заболевания позволят клиницистам улучшить диагностику гистиоцитоза из клеток Лангерганса на ранних стадиях.

Ключевые слова: гистиоцитоз из клеток Лангерганса, поражения кожи, трудности диагностики.

Summary

The disease is Langerhans cell histiocytosis from the group characterized by proliferation of macrophage phagocytic system cells in the skin, bone, bone marrow, liver, spleen, lungs, lymph nodes. In this connection, multiple lesions of various organs and systems, with the manifestations of intoxication syndrome are possible. Diverse symptoms make it significantly difficult to diagnose the disease. This demonstrates the analysis of two case histories of patients who are seen in the hematology department of Rostov state medical university clinic. Histological and immunohistochemical studies take the leading role in the diagnosis of diseases. These examples from polymorphic picture of the disease will enable clinicians to improve the diagnosis of histiocytosis of Langerhans cells in the early stages.

Key words: histiocytosis from Langerhans cells, skin lesions, diagnostic difficulties.

Гистиоцитозы представляют гетерогенную группу заболеваний, патоморфологическим субстратом которых являются клетки гистиоцитарного ряда, к которым относятся тканевые макрофаги, моноциты, дендритные клетки и их предшественники. Согласно классификации ВОЗ и экспертов Международного общества по изучению гистиоцитозов (1997) выделяют следующие разновидности гистиоцитозов:

I. Гистиоцитозы разного биологического поведения

1) Связанные с дендритными гистиоцитами или происходящие из дендритных клеток:

- гистиоцитоз из клеток Лангерганса;
- вторичная пролиферация дендритных клеток;
- ювенильная ксантогранулема (фенотип дермальных гистиоцитов);
- солитарные гистиоцитомы с различным фенотипом дендритных клеток.

2) Связанные с макрофагами:

- гемофагоцитарный синдром (семейный и спорадический);
- вторичные лимфогистиоцитарные синдромы (связанные с инфекционным процессом, опухолью, другими хроническими заболеваниями);
- болезнь Розаи-Дорфмана (синус-гистиоцитоз с массивной лимфоаденопатией);
- солитарная гистиоцитома с фенотипом макрофагальных клеток.

II. Злокачественные гистиоцитозы

1) Связанные с моноцитами:

- лейкозы (M4, M5a, M5b, хронический миеломоноцитарный лейкоз);
- экстрамедуллярные моноцитонидные опухоли или саркомы;
- гистиоцитарные опухоли и саркомы (локализованные или диссеминированные) из дендритных клеток;
- макрофагальные опухоли и саркомы (локализованные или диссеминированные) из макрофагальных клеток.

Лангергансоклеточный гистиоцитоз (ЛГ). Это заболевание характеризуется пролиферацией клеток системы макрофагальных фагоцитов в коже, костях, костном мозге, печени, селезенке, легких, лимфатических узлах и в других органах и тканях. Частота этой патологии составляет 4,0–5,4 случая на один миллион человек и встречается как в детском, так и во взрослом возрасте. Чаще болеют лица мужского пола. Очаги поражения имеют гранулематозный характер с инфильтрацией гистиоцитами, вариабельным содержанием эозинофилов и лимфоцитов. По мере прогрессирования заболевания в гранулемах появляются очаги некроза, увеличивается эозинофильная инфильтрация. В терминальной стадии этого патологического процесса гистологически выявляются ксантомные изменения и фиброз с инфильтрацией многоядерными клетками. При электронной микроскопии с использованием

иммунохимических методов в цитоплазме лангергансовых клеток определяются гранулы Бирбека (органеллы в виде теннисной ракетки — результат инвагинации поверхностной мембраны). На поверхности этих клеток экспрессируются антигены CD101, CD1a. У этих пациентов повышено содержание в крови интерлейкинов третьего и восьмого, гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов (КСФ-ГМ), фактора некроза опухоли — α (ФНО α). При этом на поверхности лангергансовых клеток большое количество рецепторов к КСФ-ГМ, в связи с чем при высоком уровне в крови КСФ-ГМ отмечается значительная пролиферация клеток Лангерганса.

Клинические проявления ЛГ очень полиморфны, что в ряде случаев значительно затрудняет диагностику. При так называемых эозинофильных гранулемах отмечаются единичные очаговые поражения костей без системности поражения внутренних органов.

Частым проявлением ЛГ могут быть локализованный или распространенный себорейный дерматит, пиодермия, экзема, нодулярные поражения кожи с бронзовой окраской, ксантомы. Патологические изменения кожи чаще расположены на разгибательных поверхностях конечностей и волосистой части головы.

Серьезным проявлением ЛГ может быть поражение центральной нервной системы, которое обычно является следствием распространения патологического процесса из пораженных участков костей черепа на оболочки головного мозга или результатом возникновения гра-

нулем в веществе головного мозга в области гипоталамуса и мозжечка, глазниц, лобной доли, спинного мозга.

Часто при ЛГ встречаются эндокринные нарушения в виде несахарного диабета (следствие инфильтрации клетками Лангерганса гипоталамуса или гипофиза), дисфункции щитовидной железы. Если развивается несахарный диабет, то, к сожалению, он не поддается обратному развитию. В щитовидной железе могут формироваться гранулемы, что приводит к развитию гипотиреоза. Обычно поражение щитовидной железы сочетается с несахарным диабетом.

Патология легких при ЛГ часто клинически не проявляется и выявляется при компьютерной томографии в виде инфильтратов или диффузных нодулярных инфильтратов с образованием кист, локализованных по периферии легких или в верхних долях.

Инфильтрация печени клетками Лангерганса проявляется гепатомегалией с печеночной недостаточностью.

Спленомегалия у этих пациентов может приводить к синдрому гиперспленизма. Однако причиной цитопении в периферической крови может быть и поражение костного мозга.

О разнообразии клинической симптоматики при ЛГ свидетельствуют клинические случаи двух пациентов с этой патологией, которые наблюдаются в гематологическом отделении клиники Ростовского государственного медицинского университета.

Первый клинический случай

Пациент А. 34 года. Впервые обратился в клинику с жалобами на опухолевидные образования

на коже спины, волосистой части головы, поражение ногтевых пластинок пальцев рук и ног.

Считает себя больным с августа 2014 года, когда обратил внимание на ломкость и помутнение ногтевой пластинки на большом пальце левой стопы с серозным отделяемым из ногтевого ложа, затем в течение 3–4 месяцев аналогичные изменения ногтевых пластинок возникли на всех пальцах кистей и стоп. Обратился к дерматологу по месту жительства. Состояние пациента было расценено как грибковое поражение, лабораторные исследования микоз не подтвердили, но противогрибковая терапия пациенту проводилась в течение месяца. Через месяц антифунгального лечения улучшения не наступило, появились участки уплотнения кожи с опухолевидными разрастаниями диаметром от 3 до 7 см на коже спины в межлопаточной области и волосистой части головы. В течение 3–4 месяцев практически все опухолевидные изменения кожи подверглись изъязвлению.

В течение года пациент продолжал наблюдаться у дерматологов различных учреждений, состояние ухудшалось, появились умеренные проявления интоксикационного синдрома. В мае 2015 пациенту была произведена биопсия участка опухолевого поражения кожи. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптата было выполнено в Ростовском областном патологоанатомическом бюро.

Гистологическое исследование № 1573–1620 от 24.07.2015.

В эпидермисе акантоз. Дистрофические изменения клеток базального и шиповатого слоев. Местами в шиповатом слое среди клеток встречаются немногочисленные зрелые лимфоциты. Есть участки, где в верхних слоях эпидермиса видны микроабсцессы. Есть участки, где эпидермис истончен до 3–5 слоев клеток шиповатого слоя. Сосочки рыхлые, сосуды полнокровные. В верхних отделах дермы периваскулярно располагаются множественные эпителиоидноклеточные гранулемы из гигантских многоядерных клеток с пенистой и зернистой цитоплазмой и зрелых лимфоцитов.



Рисунок 1. Поражение кожи у пациента А.



При электронной микроскопии в клетках Лангерганса выявляются гранулы Бербека.

Результат иммуногистохимического исследования:

CD20 — положительное в отдельных крупных В-клетках и их скоплениях;
CD3 — положительное в многочисленных Т-клетках;

Ki67 — положительное в 10–15% ядер;

CD56 — положительно в отдельных немногочисленных клетках;

CD2 — положительное в Т-клетках;

CD4 — положительное в Т-клетках;

CD5 — положительное в Т-клетках;

CD7 — положительное, часть Т-клеток;

CD8 — положительное в Т-клетках;

CD30 — в редких единичных клетках;

CD68 — положительное в большом числе макрофагов-гистиоцитов;

TB — отрицательно (есть отдельные зерна, но, возможно, это меланин);

EBV LMP — отрицательно;

GrB — положительное, часть клеток;

TIA — положительное в единичных клетках;

Perforin — отрицательно;

CD117 (c-kit) — отрицательно;

Результаты молекулярно-генетического исследования

Для выявления перестройки гена бета-цепей Т-клеточного рецептора человека анализ выполнен согласно протоколу BIOMED-2: ДНК для исследования выделена из 10 парафиновых срезов по 10 мкм набором QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Германия). Оценка качества полученной ДНК проведена постановкой ПЦР с праймерами к housekeeping genes человека (Specimen Control Size Ladder Master Mix, InVivoScribe Technologies, США). Разведение ДНК, давшее наилучший результат с размером амплифицированного продукта не менее 300 п.н., использовано для постановки мультиплексных ПЦР с семейство-специфичными праймерами к полной (Vb–Jb) и неполной (Db–Jb) перестройке TCRB-гена (использована тест-система IdentiClone TCRB Gene Clonality Assay, InVivoScribe Technologies, США).

Получены следующие результаты:

- выделенная ДНК хорошего качества. В реакции с контрольными генами удается получить ПЦР-продукты длиной до 400 п.н;

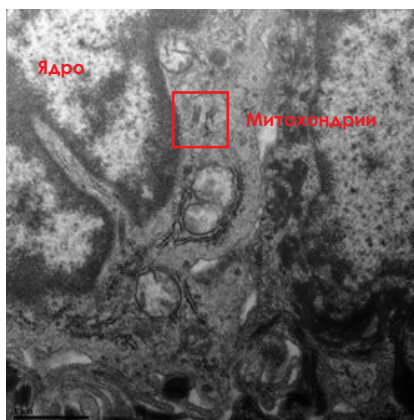


Рисунок 2. Клетки Лангерганса с гранулами Бербека.

- TubeA (Vb–Jb) — поликлональное распределение пиков на участке 240–285 п.н.;
- TubeB (Vb–Jb2) — поликлональное распределение пиков на участке 240–285 п.н.;
- TubeC (Db–Jb) — поликлональное распределение пиков на участке 170–210 п.н. и на участке 285–325 п.н.

Дополнительно проведено исследование перестройки гена гамма-цепей Т-клеточного рецептора. Для этого подготовленная вышеуказанным способом ДНК использована для постановки мультиплексных ПЦР с семейство-специфичными праймерами к Vg–Jg-перестройке TCRG-гена (использована тест-система IdentiClone TCRG Gene Clonality Assay, InVivoScribe Technologies, США). Детекция результатов проведена вышеуказанным способом.

Получены следующие результаты: TubeA (Vg–Jg) — поликлональное распределение пиков на участке 145–255 п.н.; TubeB (Vg–Jg) — поликлональное распределение пиков на участке 80–220 п.н.

Также проведено исследование перестройки гена тяжелых цепей иммуноглобулинов человека. Для этого подготовленная вышеуказанным способом ДНК использована для постановки мультиплексных ПЦР с семейство-специфичными праймерами к полной (Vh–Jh) перестройке IgH-гена (использована тест-система IdentiClone IGH Gene Clonality Assay, InVivoScribe Technologies, США). Детекция результатов проведена вышеуказанным способом.

Получены следующие результаты:

- TubeA (Vh–FR1–Jh) — слабое поликлональное распределение пиков на участке 310–360 п.н.;
- TubeB (Vh–FR2–Jh) — поликлональное распределение пиков на участке 250–295 п.н.;
- TubeC (Vh–FR3–Jh) — поликлональное распределение пиков на участке 100–170 п.н.

Резюме по молекулярно-генетическому исследованию

В доставленном на исследование материале не обнаружено клональной перестройки генов бета- и гамма-цепей Т-клеточного рецептора. Также не обнаружено клональной перестройки гена тяжелых цепей иммуноглобулинов. Полученный результат свидетельствует об отсутствии в представленном материале клональной клеточной популяции.

Пятый этап иммуногистохимического исследования:

- S100 — положительное в отдельных гистиоцитах-макрофагах;
- Langerin — положительное в клетках Лангерганса;
- CD1a — положительное в значительном числе клеток;
- CD34 — положительное в стенке сосудов;

Заключение морфологических исследований

Гранулематозное воспаление с формированием ангиоцентрических гранул из гигантских многоядерных клеток, опухолевые клетки положительны с S100, CD1a, CD68. Морфология и иммунофенотип более всего соответствуют гистиоцитозу из клеток Лангерганса.

Для исключения поражения костей пациенту 05.10.2015 выполнена остеосцинтиграфия, которая не выявила очагов патологической гиперфиксации препарата в костях.

При СРКТ органов грудной клетки и брюшной полости висцеральные поражения не обнаружены.

Таким образом, представленный нами клинический случай отражает сложности диагностики ЛГ при наличии только кожных поражений.



Рисунок 3. Поражение кожи у пациента Н. с гистиоцитозом.

Результаты морфологических исследований биоптата убедительно показывают, насколько сложна верификация гистиоцитозов.

Второй клинический случай

Пациент Н., 32 года. Обратился в клинику с жалобами на слабость, недомогание, высыпания на коже волосистой части головы, на лице, в области подмышечных впадин, паховой области, перианальной зоны.

Считает себя больным с весны 2008 года, когда впервые отметил появление сыпи на волосистой части головы. Обратился к дерматологу через четыре месяца, состояние было расценено как проявления себорейного дерматита, назначено местное лечение. Эффекта от терапии не было, через один месяц высыпания распространились на кожу спины и подмышечных впадин, паховую область, при соскобах были выявлены споры грибы рода *Mucor*. Проводилась антифунгальная терапия с незначительным положительным эффектом. В 2009 году в кожно-венерологическом учреждении г. Ростова-на-Дону решением консилиума состояние пациента было расценено как хроническая добокачественная пузырчатка Хейли-Хейли, и пациенту был проведен курс лечения преднизолоном в дозе 35 мг в сутки (семь таблеток по 5 мг) с положительным эффектом в виде уменьшения гиперемии, мокнутия кожных элементов. Однако после отмены преднизолона кожные поражения вновь стали прогрессировать. В 2012 году у пациента были диагностированы

несахарный диабет и аутоиммунный тиреоидит с гипотиреозом, по поводу которых пациент постоянно принимает минирин и эутирокс. В 2013 году у больного развился спонтанный пневмоторакс. По данным СРКТ от 28.03.2014 выявлен пневмосклероз с наличием буллезной эмфиземы от центрлобулярной до панлобулярной на всем протяжении легких. Лимфатические узлы средостения не увеличены. К 2014 году было зафиксировано папулезное, пиодермическое, себорейное поражения кожи лица в области подбородка.

В сентябре 2015 года пациент был направлен на консультацию к онкодерматологу, которым было заподозрено лимфомное поражение кожи. Пациент был направлен на консультацию к гематологу Ростовского государственного медицинского университета. По рекомендации гематолога была выполнена биопсия кожных поражений.

В Ростовском областном патологоанатомическом бюро были проведены гистологическое и иммуногистохимическое исследования (от 29.09.2015 № 2046–206: CD68 — положительное зернистое в немногочисленных клетках; S100 — положительное в значительном числе клеток; Langerin — положительное в значительной части клеток; CD20 — положительное в скоплениях немногочисленных В-клеток; CD3 — положительное в немногочисленных Т-клетках; Ki67 — отрицательно в двух повторях), которые позволили установить диагноз лангергансоподобного гистиоцитоза.

У пациента на момент обращения в клинику имелись следующие проявления заболевания: полиморфные кожные высыпания (локальные себорейные, инфильтративно-эрозивные, папулезные, пиодермические) на лице, волосистой части головы и в области кожных складок (подмышечные и паховые области, перианальная зона); несахарный диабет; гипотиреоз; гепатомегалия; множественные кистозные поражения ткани легких.

Приведенный клинический случай показывает малую информированность врачей о гистиоцитозах, что привело к поздней верификации диагноза (диагноз установлен через семь лет от клинической манифестации заболевания). Несомненно, такая поздняя диагностика привела к прогрессированию заболевания и множественным висцеральным поражениям, большинство из которых носят уже необратимый характер.

Таким образом, представленные нами данные свидетельствуют о необходимости морфологической верификации диагноза гистиоцитоза, которая базируется на гистологическом, гистохимическом исследовании и выполнении электронной микроскопии. Своевременная постановка диагноза и назначение базисной терапии позволят избежать развития необратимых висцеральных поражений.

Список литературы

1. Алексеев Н. А. Гематология и иммунология детского возраста / Н. А. Алексеев. СПб.: «Гипократ», 2009. — 1040 с.
2. Валиев Т. Т., Махонина А. А., Ковригина А. М. и др. Случай врожденного Лангергансоподобного гистиоцитоза у ребенка раннего возраста // «Онкогематология» М.: 2011. — № 3. — С. 19–22.
3. Горецкая М. В. Роль нейтрофилов, лимфоцитов, клеток ИТО, купферовских, дендритных, синусоидальных клеток в печени. Журнал Гродненского государственного медицинского университета: 2008. — № 1 (21). — С. 49–54.
4. Горланов И. А., Заславский Д. В., Минеева О. К. и др. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (гистиоцитоз X): клиническое наблюдение. Журнал «Вестник дерматологии и венерологии»: 2013. — № 1. — С. 51–55.
5. Степанян И. Э. Легочный гистиоцитоз из клеток Лангерганса: факты и гипотезы // Журнал «Практическая пульмонология»: 2014. — № 1. — С. 15–18.

