



Araştırma Yazısı

Langerhans Hücre Histiositozisi ve İntra Kranial Germinoma: İmmunohistolojik Teknikler İki Antiteyi Ayırtetmede Yardımcımı?

Ahmet MIDİ, Süheyla Uyar BOZKURT, Özlem YAPICIER, Aydın SAV
Marmara Üniversitesi, Patoloji, İstanbul, Türkiye

Özet

Langerhans hücre histiositozu (LHH) langerhans hücrelerinin klonal bir proliferatif hastalığıdır. Langerhans hücreleri geniş eozinofilik sitoplazmalı olup, eozinofil lökositler, mononükleer ve multinükleer histiyositler, nötrofiller ve küçük lenfositlerden oluşan zeminde bulunurlar. İntrakranyal germinomada (İKG) ise orta ve/veya geniş sitoplazmalı germ hücreleri çoğunlukla lenfositlerin oluşturduğu inflamatuvar zeminde bulunurlar.

İKG ile LHH'nin histomorfolojik ayırımı bazı olgularda zor olabilmektedir. Eozinofillerin varlığı ayırıcı tanıda önemlidir. Ancak, deneyimlerimiz LHH'de sıklıkla bulunan eozinofillerin İKG'de de bulunabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada LHH ve İKG arasındaki immünohistokimyasal benzerlik ve farklılıkları tartışmanın yanısıra LHH'da görülen eozinofillerin İKG'da görülme sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Marmara Üniversitesi. Nörolojik Bilimler Enstitüsünde 1995-2003 yılları arasında tanı almış 10 İKG ve 11 LHH çalışma kapsamına alınmıştır. Olgulara S-100, CD68, CD1a, PLAP, vimentin, Ki-67 uygulanmıştır.

LHH olgularının 6'sı kadın, 5'i ise erkektir. İKG olgularının ise 9'u erkek, 1'i kadındır. S100, CD1a, CD68, vimentin LHH'de; PLAP İKG'de pozitif boyandı. Ki-67 pozitif hücre İKG'de daha fazla izlendi. Eozinofil LHH olgularının tümünde değişik yoğunlukta saptandı. Ancak eozinofil varlığı İKG olgularının bir kısmında izlendi. Bu durum LHH ve İKG arasında eozinofillerin ayırıcı tanıda kullanılan spesifik bir kriter olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Langerhans hücre histiositozu, İntrakranyal germinoma, eozinofil

Langerhans Cell Histiocytosis and Intracranial Germinoma: Are Immunohistology Techniques Helpful in Distinguishing Two Entities?

Abstract

Langerhans cell histiocytosis (LCH) is a clonal proliferative disease of the Langerhans cell. Langerhans cell bears abundant eosinophilic cytoplasm mainly associated with a matrix rich in eosinophils, mononuclear and multinucleated giant cells, neutrophils and mature lymphocytes. In the same way intracranial germinoma (ICG) consists of neoplastic germ cells having relatively moderate and/or abundant cytoplasm associated with an inflammatory background rich in lymphocytes. Histopathologic differentiation between ICG and LCH might be troublesome in some case. So far presence of eosinophils is accepted to be a crucial clue in differential diagnosis. In contrary, our experience emphasized eosinophils are present in both pathologic entities, i.e. LCH and ICG.

We aim to document similarities and dissimilarities LCH and ICG, and frequency of eosinophils in ICG. Cases were obtained from the archives of pathology laboratory, Marmara University Hospital, Institute of Neurological Science. A series consisted of 10 ICG and 11 LCH specimens were obtained within a time period of 8 years, 1995 to 2003. We performed specific monoclonal antibodies against S-100, CD68, CD1a, PLAP, vimentin and Ki-67.

Six cases were female and five cases were male of the LCH cases. If ICG nine cases were male and one case were female. S100, CD1a, CD68, vimentin were stained positively in the LCH. PLAP was stained positively in the ICG. MIB-1 index (detection anti-Ki-67 positive cells / overall population under investigation) value was remarkably higher in ICG. Although eosinophils were found to be almost in all LCH cases, in contrary in some of ICG's.

By conclusion, it clearly indicates that presence of the eosinophils should not be accepted as a specific criterion to be used distinguishing ICG from LCH.

Keywords: Langerhans cell histiocytosis, intracranial germinoma, eosinophils

GİRİŞ

İntrakranial germinoma (İKG) ile Langerhans hücre histiositozis'in (LHH) histomorfolojik ayırımı bazı olgularda zor olabilmektedir. Eozinofillerin varlığı ve immünohistokimyasal boyamalar ayırıcı tanıda önemlidir. Ancak, deneyimlerimiz LHH'de sıklıkla bulunan eozinofillerin İKG'da da bulunabileceğini göstermektedir. İKG iri yuvarlak hücreler ve lenfositlerden meydana gelen hücre popülasyonundan oluşmaktadır. Hücreler belirgin hücre membranına sahiptir ve sitoplazması berrak görünümündedir. 1-3 belirgin nükleolu olan iri, merkezi yerleşimli nükleusu bulunur. Langerhans hücreleri yaklaşık 12-15 mikron çapında, mononükleer hücreler olup orta büyüklükteki sitoplazması genellikle eozinofilik görünümündedir. İnce kromatinli ve kalın nükleer membranı olan nükleusun ayırt edici özellikleri arasında nükleoussuz olup çentikli ya da lobüler görünümde olmasıdır. Mitotik aktivite olguya göre 0-25/10HPF, ortalama 2/10HPF olarak bildirilmiştir⁽¹⁾. Langerhans hücreleri genellikle eozinofil lökositler, mononükleer ve multinükleer histiositler, nötrofiller ve küçük lenfositlerden oluşan mikst bir zeminde izlenirler. Ultrastrüktürel olarak Langerhans hücrelerinde raket ya da çubuk şeklinde, Birbeck granülleri olarak adlandırılan pentalaminer tübüler yapıların varlığı patognomiktir⁽¹⁻⁹⁾. LHH'de immünohistokimyasal olarak S-100 ve CD1a ekspresyonu tipiktir. %80 den fazlasında vimentin, CD74, HLA-DR immüno pozitifdir. Hücrelerin önemli bir kısmında, granüler sitoplazmada değişen şiddette CD68 immüno ekspresyonu gösterilmiştir⁽¹⁻³⁾. İKG'de çoğunlukla lenfositlerin oluşturduğu inflamatuvar zeminde orta-geniş sitoplazmalı germ hücreleri bulunmaktadır. Immünohistokimyasal olarak PLAP pozitifdir. Bu iki lezyon morfolojik benzerlik göstermekte ancak immünohistokimyasal olarak ayırmaları yapılabilmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

M.Ü. Nörolojik Bilimler Enstitüsünde 1995-2003 yılları arasında tanı almış 10 İKG ve 11

LHH çalışma kapsamına alınmıştır. Olgulara S100 (1/250, Neomarkers,MS-296-P), CD68 (Ready to Use, Neomarkers,MS-1808-R7), CD1a (Ready to Use, Neomarkers,MS-1354-R7), PLAP (Ready to Use, Neomarkers,RM-9115-R7), vimentin (1/250, Neomarkers,MS-129-P), Ki-67 (Ready to Use, Neomarkers,RM-9106-R7) uygulanmıştır. Eozinofil, lenfosit varlığına bakılmış ve 0-3 arasında sayısal değer verilerek karşılaştırmaları yapılmıştır. Sonuçlar istatistiksel olarak Mann-Whitney U-testi ile değerlendirilmiştir.

İmmünohistokimyasal boyama yöntemi

Rezeksiyon materyalleri %4 buffer formaldehitte fiske edildikten sonra parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 3 aminopropyltriethoxysilane kaplı lamlara 2 µ kalınlıkta kesitler alınarak immünohistokimyasal boyama yapılmıştır.

Boyamada sırası ile şu işlemler yapılmıştır. Kesitler etüvde 60°C de 1 saat deparafinize edildi. Daha sonra xylene'de 10 dakika, %100'lük alkolde 5 dakika bekletildi ve su ile yıkandı. %10'luk citrat buffered solüsyonu içine yerleştirilen lamlar mikrodalgada maksimum güçte (800 watt) 15 dakika bekletildi. Daha sonra güç yarıya düşürülerek 20 dakika daha mikrodalgada bekletildi. Mikrodalgadan çıkarılan lamlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroxid'de 20 dakika bekletilerek giderildi. Distile su ile yıkanan lamlar 3x5 PBS ile muamele edildikten sonra üzerlerine protein blokajı damlatıldı. Beş dakika sonra blokaj yıkanmadan lamların üzerine S-100, CD68, CD1a, PLAP, vimentin, Ki-67 antikoruna damlatıldı. Primer antikorda 30 dakika bekletildikten sonra PBS'e alınarak 5 dakika yıkandı. Daha sonra biotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi ve PBS'te 5 dakika yıkandı. Peroksidaz konjuge antikor ile 20 dakika bekletildi. Daha sonra 5 dakika PBS'te yıkandı. ve kromojen de (DAB) 5 dakika bekletildi. Musluk suyu altında yıkanan lamlar hematoksilin ile counterstain yapıldı. Dehidrate edildi, kurutuldu ve entellan ile kapatıldı.

BULGULAR

LHH (Resim 1) olgularının yaş aralığı 1-50 olup ortalama yaş 13.2 dir. Olguların 6'sı kadın, 5'i erkektir (Tablo 1). İKG (Resim-2) olgularının yaş aralığı 9-30 olup ortalama yaş 17 dir. Olguların 1'i kadın 9'u erkektir (Tablo 2). Eozinofil tüm LHH olgularında değişik yoğunlukta izlenirken (+ veya +++), İKG olgularının 7'sinde seyrek izlendi (+ veya ++). Üç İKG olgusunda ise eozinofil saptanmadı. İstatistiksel olarak eozinofil sayısı LHH'de anlamlı olarak fazla bulundu (p= 0.037). Lenfosit her iki grupta tüm olgularda değişik yoğunlukta (+ veya +++) izlendi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (p=0.19). Ki-67 İKG'de ortalama %25.2 (%0-%62), LHH'de %2 (%0-%7) saptandı

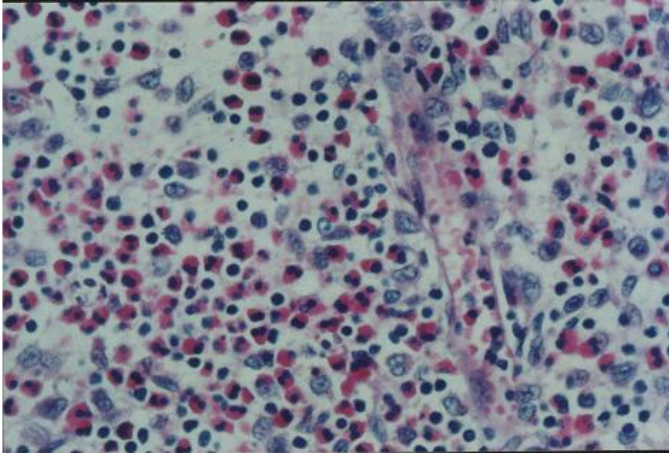
ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.03). CD68, LHH'de 1 olguda negatif, 1 olguda fokal pozitif, 9 olguda diffüz pozitif olarak bulundu. Sadece 1 İKG olgusunda CD68 (Resim 3) ile fokal pozitiflik izlendi. Bu fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu (p=0.0011). Vimentin ile tüm LHH olguları diffüz pozitif boyandı, buna karşın 4 İKG olgusunda fokal pozitiflik izlendi. Fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.006). S-100 (Resim 4) ve CD1a, boyanan tüm LHH (Resim 5) olgularında pozitif iken, hiçbir İKG olgusunda boyanma izlenmedi. PLAP İKG olgularının 7'sinde pozitif boyandı 3'ünde boyanma olmadı (Resim 6). Buna karşın hiçbir LHH olgusunda boyanma izlenmedi.

Tablo 1: LHH

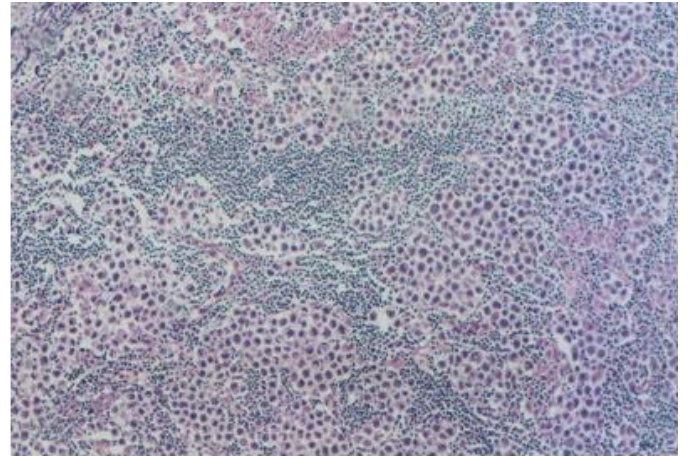
	Yaş/Cinsiyet	Eozinofil	Lenfosit	S-100	CD68	CD1a	PLAP	Vimentin	Ki-67
1	4/K	++	+	+++	+	+++	-	+++	%0
2	20/K	++	+	+	+++	+++	-	+++	%0
3	3/E	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	%0.2
4	17/E	+++	++	+++	+++	+++	-	+++	%1
5	1/E	++	+	+++	+++	?	-	+++	?
6	3/K	+++	+	+++	+++	+++	-	+++	%5
7	5/E	+	++	+++	+++	+	-	+++	%7
8	25/K	++	++	++	++	?	-	+++	?
9	10/E	+	++	+	+++	++	-	+++	%2
10	8/K	++	+++	+++	+++	++	-	+++	%1
11	50/K	++	+++	+++	-	++	-	+	%7

Tablo 2: İKG

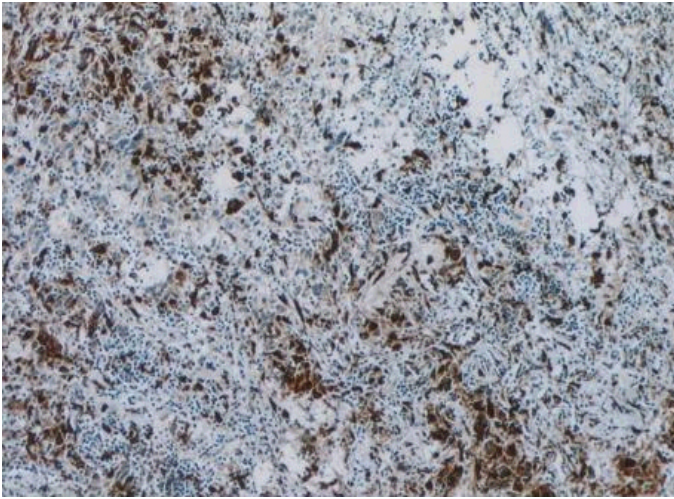
	Yaş/Cinsiyet	Eozinofil	Lenfosit	S-100	CD68	CD1a	PLAP	Vimentin	Ki-67
1	15/E	+	+++	-	-	-	++	-	%7
2	?/E	+	+++	-	Fokal +++	-	-	Fokal +++	%28
3	?/E	+	++	-	-	-	+++	-	%50
4	28/E	-	+	-	-	-	+++	-	%1
5	11/E	+	+++	-	-	-	++	-	%55
6	12/E	-	++	-	-	-	Fokal ++	-	%1
7	12/E	+	+++	-	-	-	-	Fokal ++	%0
8	19/E	-	++	-	-	-	+++	Fokal ++	%20
9	30/E	+/+++	++	-	-	-	Fokal ++	-	%62
10	9/K	++	+++	-	-	-	-	Fokal ++	%28



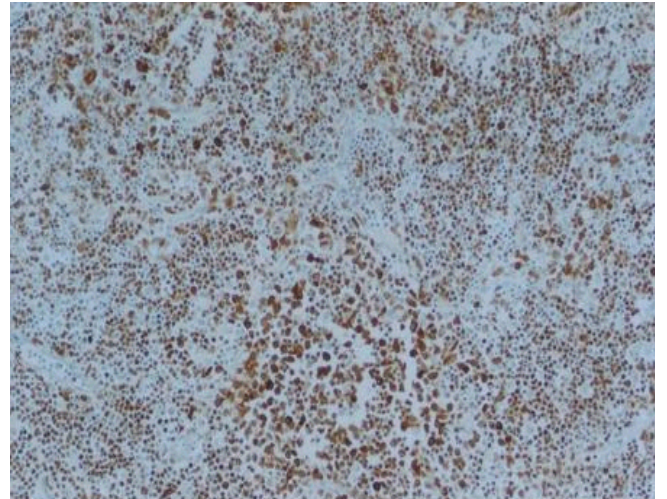
Şekil 1: LHH; Hematoksilen-Eosin X 200



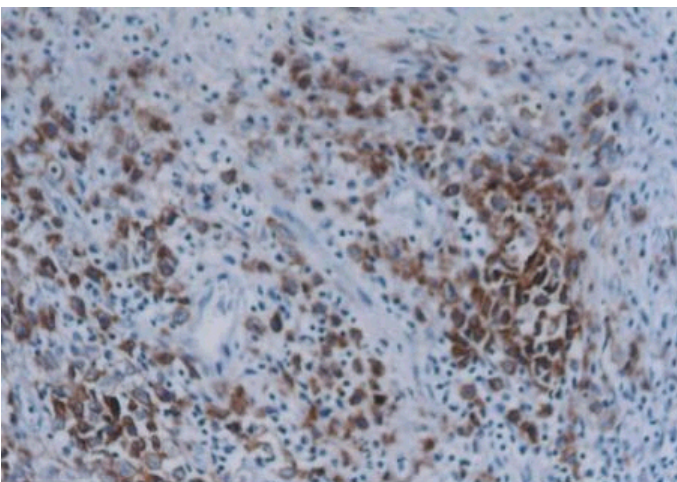
Şekil 2: İKG; Hematoksilen-Eosin X 200



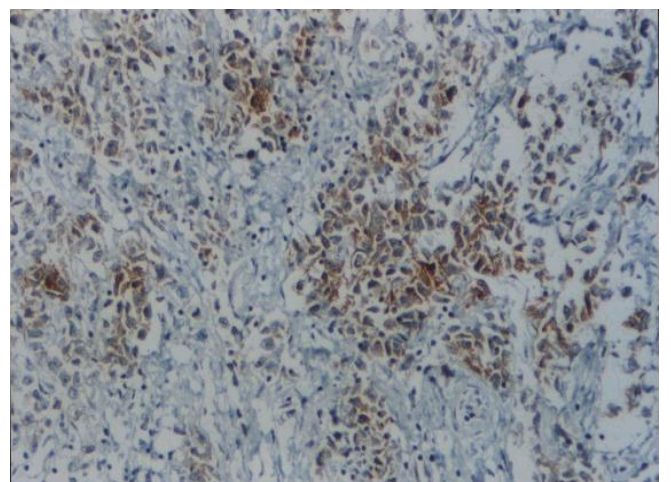
Şekil 3: İKG'de CD 68 ile histiyositler (X200)



Şekil 4: LHH; S-100 X 200



Şekil 5: LHH; CD1a X 200



Şekil 6: İKG; PLAP X200

TARTIŞMA

LHH etiyojisi bilinmeyen Langerhans hücrelerinin klonal bir proliferatif hastalığıdır⁽⁹⁾. Farklı histolojik görünüşlerine rağmen LHH tanısı, proliferen Langerhans hücrelerinin varlığıyla verilir^(2,3). SSS'de LHH olgularının en sık yerleşim yeri olan hipotalamus/hipofiz aksı İKG'ler tarafından ikinci sıklıkla tutulmaktadır^(5,6). Klinik ve rutin MR incelemeleri ile LHH'yi İKG'den ayırmak çok zordur. Ayrıca dinamik MRG'nin de ayırıcı tanıda önemli bir rolü bulunmamaktadır. LHH'ye genellikle kafatası lezyonları, deri bulguları, akciğer infiltrasyonu ve otitis media gibi tanıda yardımcı olan diğer lezyonlar eşlik etmektedirler⁽⁶⁾.

İKG en sık pineal bölge ve suprasellar bölgede yerleşir^(5,6). İKG yoğun lenfosit infiltrasyonunun yanında LHH olgularına spesifik olduğu düşünülen eozinofil içerebilir. Eozinofil varlığı olgularımızdan 7 tanesinde nadir, 1 tanesinde az sayıda tespit edilmiştir. Ancak hiçbir İKG olgusunda yoğun eozinofil izlenmemesine karşılık 3 LHH olgusunda yoğun eozinofil izlenmiştir. Daha büyük serilerde çalışmaya ihtiyaç duyulmakla birlikte yoğun eozinofil varlığı İKG'yi ekarte ettirebilir. Ancak düşünülenin aksine az sayıda eozinofil varlığı her iki lezyonda da bulunabileceği için ayırıcı tanıda bir kriter olarak kullanılmamalıdır.

İmmünohistokimyasal olarak Langerhans hücrelerinde S-100 ve CD1 ekspresyonu karakteristiktir^(2,3). Hücrelerin önemli bir kısmında değişen şiddette CD68 ekspresyonu da gösterilmiştir. Çalışmamızda S-100 ve CD1a tüm LHH olgularında pozitif iken hiçbir İKG olgusunda pozitive izlenmemiştir.

Sonuç olarak LHH ile İKG hücre morfolojileri ile ayırt edilebilir. LHH nükleusu tipik olarak çentikli ya da lobule görünümündedir. İKG nükleusu yuvarlaktır. Ancak yine de histomorfolojik olarak ayırımın yapılamadığı olgularda CD1a ve S-100 pozitifliği LHH tanısını koydurur. PLAP pozitifliği İKG için spesifiktir. Ancak çok az bir grup olguda negatif olabilmesi nedeniyle

negatifliği İKG'yi ekarte ettirmez. Aynı şekilde mevcut çalışmada vimentin LHH olgularının tümünde pozitif iken bazı İKG olgularında da fokal pozitif boyanma saptanmıştır. Bu nedenle vimentin'in ayırıcı tanıda güvenilir bir kriter olmadığını düşünmekteyiz. LHH tanısında CD68 ve CD1a pozitifliği önemlidir. Hiçbir İKG olgusunda CD1a ile boyanma izlenmezken bazı İKG olgularında CD68'in fokal pozitif olabilmesi nedeni ile literatürde belirtildiği üzere çalışmamızda da CD1a'nın LHH tanısı koymada CD68'den daha güvenilir bir boya olduğu ortaya çıkmıştır. Eozinofil varlığı LHH olgularında belirgindir ancak İKG olgularının bir kısmında eozinofil varlığının izlenmesi, klasik kitaplarda belirtildiği üzere LHH ve İKG arasında eozinofillerin ayırıcı tanıda kullanılan bir kriter olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca, çalışmamızda Ki-67 pozitif boyanan hücre oranının İKG'de daha fazla olması ile bu iki lezyonun ayırımında Ki-67'nin önemli bir kriter olduğunu desteklemektedir.

İletişim:

Ahmet Midi

E-mail: ahmetmidi@yahoo.com

Geliş Tarihi: Mayıs 29 2006

Revizyon Tarihi: Temmuz 28 2006

Kabul Tarihi : Temmuz 29 2006

The Online Journal of Neurological Sciences (Turkish) 1984-2005

This e-journal is run by Ege University Faculty of Medicine, Dept. of Neurological Surgery, Bornova, İzmir-35100TR as part of the Ege Neurological Surgery World Wide Web service.

Comments and feedback:

E-mail: editor@jns.dergisi.org

URL: <http://www.jns.dergisi.org>

Journal of Neurological Sciences (Turkish)

ISSNe 1302-1664

KAYNAKLAR

1. Warnke RA, Weiss LM, Chan JKC, Cleary ML, Dorman RF et al. Tumors of The Lymph Nodes and Spleen. In *Atlas of Tumor Pathology, Third Series (Fascicle 14)*.

- Washington D.C. Armed Forces Institute of Pathology, 1994; 341-349.
2. Bigner DD, McLendon RE, Bruner JM. Russell and Rubinstein's Pathology of Tumors of the Nervous System, Sixth ed.(Vol. 2) New York, Arnold, 1996; 221-222, 658-659.
 3. Burger PC, Scheithauer BW. Tumors of The Central Nervous System. In Atlas of Tumor Pathology, Third Series (Fascicle 10). Washington D.C. Armed Forces Institute of Pathology, 1994; 402-404.
 4. Itoh H, Waga S, Kojima T, Hoshino T. Solitary eosinophilic granuloma in the frontal lobe: case report. *Neurosurgery*. 1992; 30(2):295-8
 5. O'Sullivan RM, Sheehan M, Poskitt KJ, Graeb DA, Chu AC, Joplin GF. Langerhans cell histiocytosis of hypothalamus and optic chiasm: CT and MR studies. *J Comput Assist Tomogr*. 1991; 15:52-5.
 6. Ragland RL, Moss DS, Duffis AW, Wolf D, Knorr JR. CT and MR findings in diffuse cerebral histiocytosis: case report. *Am J Neuroradiol*. 1991; 12:525-6.
 7. E Özel, B. Kılıçarslan Akkaya, A Küpesiz, V Hazar, G Karpuzoğlu. Langerhans hücreli histiositosis: olgu sunusu. *Turkish Journal of Haematology (Supplement)* 2002; 19:330-334.
 8. Köksal Y, Gülyüz A, Çalışkan Ü, Reisli İ, Uçar C. Sistemik tutulum ile giden Langerhans hücreli histiositosis Vaka Sunumu. *Inter J Hematol and Oncol*. 2004; 14:47-51
 9. Tun K, Türkoğlu Ö.F, Okutan Ö, Yeşilkılıç Ş, Beşkonaklı E, Özen Ö. Eosinophilic Granuloma in The Young Adult Patient: A Case Report. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*. 2005; 22:421-424.