

---

# Izolovaná lymfadenopatie jako první projev systémové mastocytózy – popis dvou případů

---

Kinkor Z.<sup>1</sup>, Šíma R.<sup>2</sup>, Skálová A.<sup>1</sup>, Boudová L.<sup>2</sup>, Peková S.<sup>3</sup>, Dvořáková D.<sup>4</sup>, Dědič K.<sup>5</sup>, Kracík M.<sup>6</sup>, Janoušek M.<sup>7</sup>, Michal M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biopstická laboratoř s.r.o., Plzeň,

<sup>2</sup>Šiklův ústav patologie, LF UK, Plzeň

<sup>3</sup>Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha 5

<sup>4</sup>Interní hemato-onkologická klinika, Dětská nemocnice, FN Brno

<sup>5</sup>Fingerlandův ústav patologie, LF UK a FN, Hradec Králové

<sup>6</sup>Oddělení ušní, nosní, krční, Nemocnice Jičín

<sup>7</sup>Oddělení patologie, Nemocnice Kladno

---

## Souhrn

Popisovány jsou dva případy systémové mastocytózy u 46leté a 63leté ženy, kdy byla prvně stanovena správná diagnóza na základě morfologie v náhodně zjištěné izolované krční, resp. nitrobřišní lymfadenopatii. U obou nemocných chyběly v okamžiku histologické diagnózy charakteristické kožní projevy i typické „mediátorové“ symptomy. V jednom případě šlo o indolentní typ systémové mastocytózy bez prokázané genetické alterace, druhý případ byl uzavírán jako agresivní systémová mastocytóza s eozinofilií se zjištěnou bodovou mutací asp816val c-kit genu a překvapivě dobrou odpovědí na terapii Gleevecem. Rozebírána je jak morfologická diferenciální diagnóza mastocytózy v lymfatické uzlině, tak nové poznatky v molekulární biologii těchto proliferací, které mají vedle osvětlení rozdílné geneze systémových mastocytóz především zásadní prognostické a terapeutické implikace.

**Klíčová slova:** lymfatická uzlina – systémová mastocytóza – molekulární genetika – c-kit – PDGFRa

## Summary

### Isolated Lymphadenopathy as the First Presentation of Systemic Mastocytosis – Description of Two Cases

Presented are two cases of systemic mastocytosis in 46- and 63-year-old women, where the correct diagnosis was established in randomly disclosed cervical respectively intraabdominal lymphadenopathy. Both cases lacked characteristic skin and systemic mast-cell mediator symptoms at the time of histologic diagnosis. The first case was classified as a indolent systemic mastocytosis without any proven genetic alteration, the second one met the criteria of aggressive systemic mastocytosis with eosinophilia, where the point mutation asp816val in c-kit gene was confirmed and the patient responded unexpectedly well to Gleevec. Discussed are both conventional morphological differential diagnosis of mastocytosis in lymph nodes and recent advances in genetics of these systemic clonal mast cell proliferations. The latter not only outlines the oncopathogenesis but, in particular, also provides important prognostic and biological implications of this peculiar disease.

**Key words:** lymph node – systemic mastocytosis – molecular genetic – c-kit – PDGFRa

*Čes.-slov. Patol., 42, 2006, No. 1, p. 34–38*

---

## Úvod

---

Systémová mastocytóza (SM) je pestrá skupina onemocnění společně charakterizovaných multiorgánovým nahromaděním nádorových

(klonálních) mastocytů (3). Na rozdíl od benigních a většinou reaktivních, čistě kožních mastocytóz, vyskytujících se hlavně u dětí, postihuje SM typicky dospělé osoby a je spojena se značnou morbiditou. Klinická a laboratorní manifestace SM je velmi pestrá a zahrnuje vedle kožního projevu (obvykle formou urticaria pigmentosa) dále

symptomy způsobené uvolňováním mediátorů (histamin, tryptáza, heparin, prostaglandin D, leukotrien C4 atd.), které zahrnují např. bolesti hlavy, záchvaty zčervenání, hypotenzi až anafylaxi, astmatické záchvaty, zvracení, peptické vředy, nitrobršišní křeče, průjmy atd. (6–8). Nejzávažnější příznaky jsou však odrazem orgánového poškození a zde dominují hepatosplenomegalie s ascitem a portální hypertenzí, lymfadenopatie, osteoporóza, osteolýza či zlomeniny a konečně cytopenie při infiltraci kostní dřevě (3, 6–8). Asi 20 % SM doprovází výrazná a mnohdy izolovaná krevní eozinofilie (7).

SM se na základě kombinace klinicko-morfologických projevů, míry orgánového poškození a biologického chování dále dělí na tzv. *indolentní SM* (prognosticky nejpříznivější, bez klinických a laboratorních známek orgánové infiltrace); *agresivní SM* (klinicky i laboratorně manifestní organopatie s floridním průběhem; spolu s indolentní variantou tvoří většinu SM, subtypem je čistě lymfadenopatická mastocytóza s eozinofilií), *SM spojená s dalším klonálním hematologickým onemocněním* (asi 1/3 všech SM, prognosticky nepříznivá, nejčastěji akutní myeloidní leukémie či další myeloproliferativní stavy); *mastocytární leukémie/sarkom* (vzácné, vysoce maligní analogie běžnějších myelo/monocytárních hematologických malignit) (3, 6, 8).

Orgánová infiltrace spočívá v jemně rozptýlených či mozaikovitě, těsně nakupených, oválných nebo výrazně vřetenitých (obvykle ve dřevě a lymfatických uzlinách) mastocytů s eozinofilní, jemně zrnitou cytoplazmou s příznačnou metachromazií (3). Buněčné atypie, jaderné polymorfie a mitotická aktivita jsou vesměs minimální, nádorovou populaci často provází reaktivní eozinofilní příměs a mnohdy charakteristická sklerotizace. Obvyklý imunofenotyp nádorových mastocytů zahrnuje pozitivitu antigenů CD2, CD25, CD34, CD45RO, CD117 a dále expresi mastocytární tryptázy a chymázy (6, 8). V běžné histochemii je užitečná konstantní přítomnost chloracetát esterázy.

Do subtypizace mastocytóz v poslední době výrazně zasáhly nové poznatky z molekulární biologie mající zásadní prognostický a terapeutický význam (1, 2, 5–8). Ukazuje se, že SM je heterogenní skupina proliferací, kde se v onkopatogeneze uplatňují variabilní genetické přeměny (mutace) dvou vysoce homologních genů – c-kitu a PDGF $\alpha$  (receptor jednoho z destičkových růstových faktorů). Alterace těchto genů jsou, podobně jako u gastrointestinálních stromálních tumorů, vzájemně exkluzivní a výsledkem je v obou případech autonomní, ligand-nezávislá, tyrozin kinázová aktivita příslušného transmembránového receptoru vedoucí k nekontrolované, klonální proliferaci mastocytů. Právě cílená farmakologická kompetice na tomto receptoru a eli-

minace jeho konstitucionální tyrozin kinázové aktivity skýtá možnosti efektivní, kauzální léčebné strategie u SM.

Mezi nejčastěji uváděné změny patří bodová mutace asp816val v exonu 17 c-kit genu a intersticiální chromosomální delece v 4q12 se vznikem fúzního genu PDGF $\alpha$  / FIP1L1. První typ poruchy se popisuje nejčastěji u agresivní SM a bývá Imatinib (Gleevec) rezistentní, druhý se nachází prakticky pouze u SM s výraznou eozinofilií a terapeutický efekt Gleevecu je zde vynikající (1, 2, 5–7).

Prezentujeme na dvou pozorováních vlastní zkušenost se SM, kde zpočátku jediným klinickým projevem byla jinak zcela asymptomatická, izolovaná krční, resp. nitrobršišní lymfadenopatie.

---

## Metodika

---

Použity byly případy z běžné bioptické praxe a konzultačního registru prof. Michala. K průkazu  $\alpha$ -naftol chloracetát esterázy byly použita standardní histochemická reakce.

Imunohistochemie byla prováděna na depa-  
rafinovaných řezech s demaskováním antigenního epitopu v mikrovlnné troubě (0,1 N citrát sodný 2 x 5 min při 600 W). Inkubace primární protilátky probíhala přes noc při 4 °C. Jako detekční systém byl použit kit LSAB+ firmy Dako s inkubací 60 minut při pokojové teplotě (20 °C). K vizualizaci pozitivní reakce posloužil diaminobenzidyl tetrahydrochlorid (DAB).

Použity byly tyto primární protilátky: CD1a (Immunotech, neředěná), CD15 (Beckton Dickinson, 1:400), CD34 (Neo Markers, 1:800), CD 43 (Dako, 1:200), CD45RO (Biotech, 1:1000), CD45RB (Dako, 1:500), CD117 (Carpenteria, 1:500), mastocytární tryptáza (Dako, 1:250), S100 protein (Dako, 1:10 000) a myeloperoxidáza (Dako, 1:400).

Molekulárně biologická analýza genů c-kit a PDGF $\alpha$ : DNA byla izolována z formalínem fixované, v parafínu zalité tkáni. Pomocí PCR byly amplifikovány kódující oblasti exonů 9, 11, 13 a 17 genu c-kit. Mutační analýza byla provedena sekvenováním pomocí automatického genetického analyzátoru ABI Prism 310 (PE/Applied Biosystems). Dále byl vzorek testován na přítomnost fúzního genu FIP1L1 / PDGF $\alpha$ .

---

## Vlastní pozorování

---

**Případ 1:** u 46leté ženy vyšetřované pro „únavový syndrom“ byla zjištěna mírná jedno-

stranná krční lymfadenopatie a následně extirpována jedna 8 mm veliká lymfatická uzlina (LU). Na základě histologie bylo vysloveno podezření na SM, kterou potvrdila následná trepanobiopsie kostní dřeně. U nemocné byla dále nalezena hepatosplenomegalie a masivní postižení retroperitoneálních LU. Kožní projevy, krevní eozinofilie, „mediátorové“ symptomy event. jiné orgánové poruchy nebyly zaznamenány. Žena odmítla léčbu a k další kontrole se již nedostavila.

**Případ 2:** u 63leté ženy, vyšetřované pro neurčitě zažívací obtíže, byla zjištěna hepatosplenomegalie spolu s nitrobřišní a retroperitoneální lymfadenopatií doprovázených výraznou eozinofilií v periferní krvi. V laparoskopicky odebrané nitrobřišní lymfatické uzlině a následně i v kostní dřeni byla diagnostikována SM. Manifestace onemocnění v kůži ani jiný orgánový deficit nebyly zaznamenány. Zpočátku byl pacientce bez většího efektu aplikován Cladribin a posléze nasazen Gleevec, po kterém došlo k podstatné regresii klinického nálezu a ústupu eozinofilie. Během terapie došlo dvakrát k tzv. „release“ syndromu vyjádřeného hypotenzí, zčervenáním a astmatickým záchvatem. V současné době je stav stabilizován a žena je v péči hematologa.

**Histologický obraz:** u první nemocné šlo o relativně nenápadné změny a původní struktura LU byla prakticky zachována. Na první pohled upoutala jen nepravidelná, drobně světle mapovitá skvrnitost parakortexu (obr. 1). Ve druhém případě byla normální architektura LU již kompletně setřena a nahrazená zřetelnou masivní nádorovou infiltrací s řídko rozptýlenými zbytkovými uzlíčkovitými lymfoidní agregáty (obr. 2). Buněčné složení infiltrátu bylo v obou LU totožné a sestávalo z izolovaných nebo převážně mozaikovitě nakupených, oválných, pravidelných elementů s eozinofilní, jemně zrnitou, přesně ohraničenou cytoplazmou (obr. 1). Jaderné atypie a mitotická aktivita se prakticky nevyskytovaly. Charakteristická byla doprovodná reaktivní eozinofilní příměs. Ve vzorcích z kostní dřeně s atrofickými trámci spongiózy byla kompletně vymazána krvetvorba, kterou nahradila výše zmíněná nádorová populace identického vzhledu; převládala zde však spíše vřetenitý tvar buněk s naznačeným vírovitým uspořádáním (obr. 3, 4). Barvení s toluidinovou modří prokázalo metachromazii cytoplazmy a jasně pozitivní byl rovněž histochemický průkaz chlóracetát esterázy (obr. 5). Imunohistochemickým vyšetřením jsme zjistili expresi antigenů CD34, CD117 a mastocytární tryptázy (obr. 6); negativně reagovaly markery CD15, CD43, CD45RO, CD45RB, CD1a, S100 protein a myeloperoxidáza. Molekulární sekvenční analýzou jsme našli u druhé pacientky v exonu 17 c-kit genu bodovou heterozygotní mutaci asp816val. Vyšetření event. existence fúzního genu PDGF $\alpha$  / FIP1L1, indikované přítom-

ností eozinofilie, však tuto aberaci nezjistilo. V prvním případě jsme neprokázali žádnou alteraci c-kit genu, průkaz mutace PDGF $\alpha$  genu zde nebyl prováděn.

U obou pacientek jsme nález uzavírali jako uzlinový projev SM; v případě 1 vzhledem k aktuální absenci dalších klinických a laboratorních projevů zatím jako „doutnající“ indolentní typ, v případě 2 jako agresivní SM s eozinofilií.

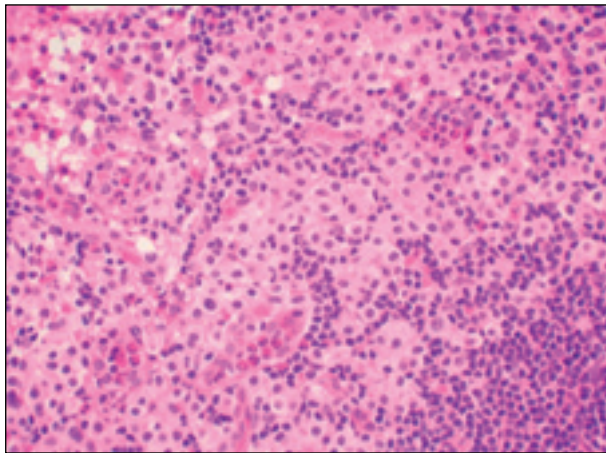
---

## Diskuse

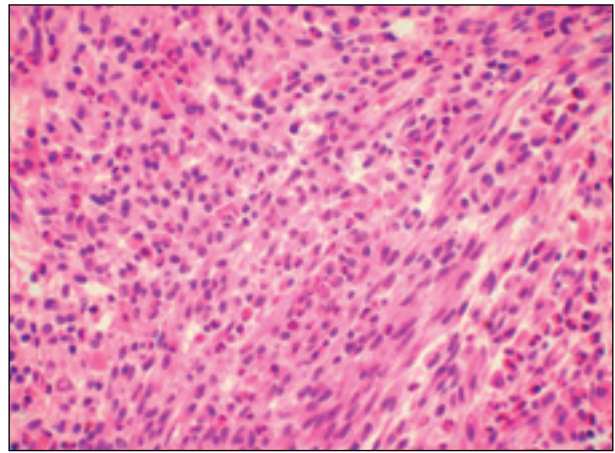
---

Jakkoliv je SM taxonomicky a biologicky značně heterogenní skupinou, společně jsou dva základní patogenetické momenty – 1. uvolňování pestré škály biochemicky aktivních mediátorů z granul mastocytů (histamin, tryptáza, heparin, prostaglandin D, leukotrien C4, atd.) a 2. nekontrolovaná proliferace a infiltrace orgánů (kůže, játra, slezina, kostní dřeň, GIT) spojená s možnou poruchou jejich funkce (dermatóza, hepatopatie s ascitem, hypersplenismus, malabsorpce, cytopenie, osteoporóza, patologické zlomeniny atd.) (3, 6, 8). Kombinace výsledných klinických projevů je relevantní pro systematické třídění SM a usměrňuje racionální terapii. V poslední době se však ukazuje, že o biologickém chování a prognóze pestré škály onemocnění v rámci SM rozhoduje především její genetický profil. Znalost konkrétních molekulárních přeměn pak slibuje také možnost efektivní a cílené léčby. Opakovaně se zjistilo, že časná onkogeneze SM je často spojena s alterací c-kit či PDGF $\alpha$  genů (1, 2, 5–8). Incidence jednotlivých typů těchto mutací je značně variabilní a vždy je postižen pouze jeden z těchto genů. Mezi nejčastěji uváděné změny patří bodová mutace asp816val v exonu 17 genu c-kit nebo vzácněji intersticiální chromosomální delece v 4q12 se vznikem fúzního genu PDGF $\alpha$  / FIP1L1 (1, 2, 5–7). Výsledkem genetického defektu těchto vysoce strukturálně a funkčně podobných genů je ligand-nezávislá (konstitucionální, autonomní) tyrozin kinázová aktivita jimi kódovaného transmembránového receptoru, která vede k nekontrolované, klonální proliferaci mastocytů. Terapeutický efekt spočívá v zablokování tohoto receptoru v nádorových mastocytech syntetickým inhibitorem. Přestože je mechanismus patogenetické mutace těchto genů u SM poněkud odlišný od stromálních tumorů GIT, analogická je rozdílná senzitivita, resp. rezistence alterovaného receptoru ke komerčně dostupnému inhibitoru – imatinib (Gleevec) (4). Např. mutace asp816val, která podle některých provází častěji agresivní typ SM, je údajně typicky Gleevec rezistentní; naopak mutace PDGF $\alpha$  / FIP1L1, jež se popisuje asi u 50 % SM spojených s eozinofilií, je pravidel-

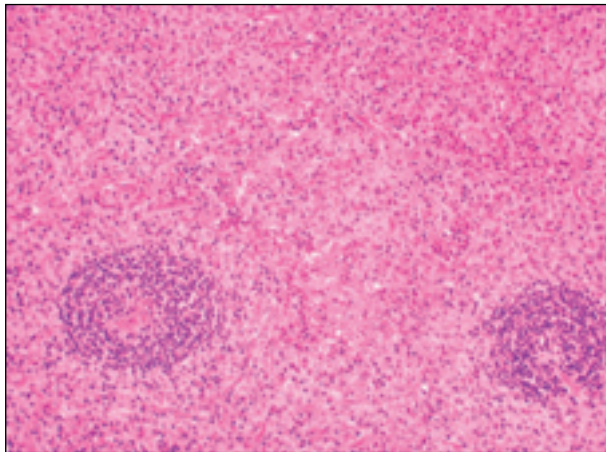




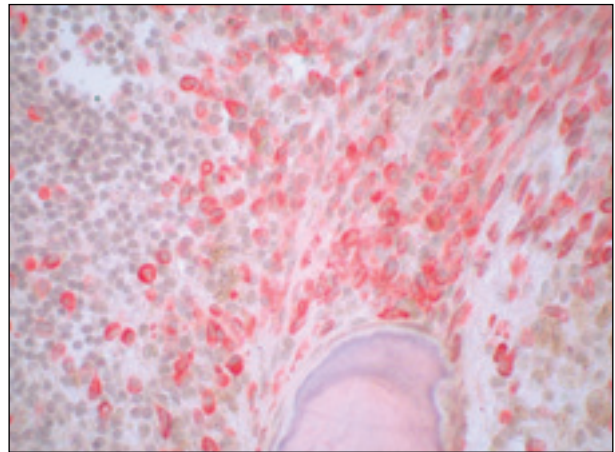
Obr. 1. Případ 1. „Skvrnitost“ parakortexu způsobená mosaikovitě uspořádanou populací blandně vyhlížejících, nádorových mastocytů se zřetelnými mezibuněčnými hranicemi a eozinofilní, jemně granulovanou cytoplazmou (HE, 200krát)



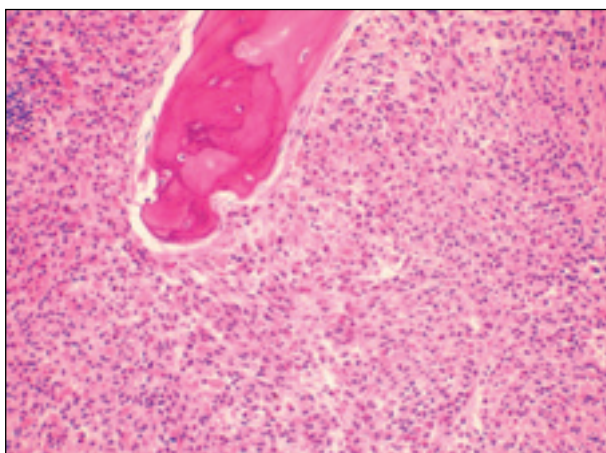
Obr. 4. Případ 1. Detail monotónního mastocytárního kostního dřevného infiltrátu s oválnými i protáhlými nádorovými buňkami bez zjevných jaderných nepravidelností a mitotické aktivity. Nápadná eozinofilní příměs (HE, 200krát)



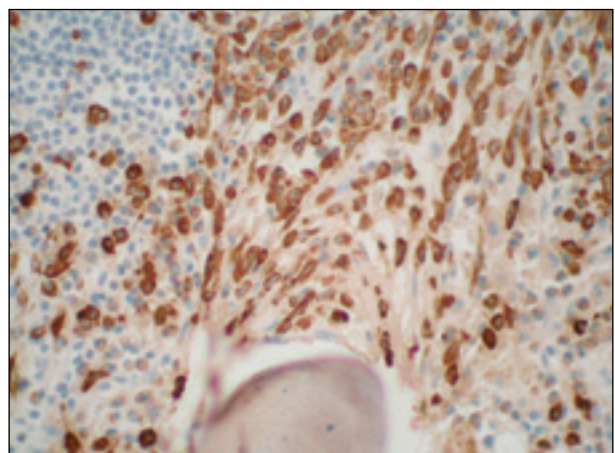
Obr. 2. Případ 2. Kompletně setřelá struktura lymfatické uzliny se dvěma zbytkovými atrofickými folikuly. Oxyfilní, mapovitá, monomorfní nádorová infiltrace ve které dominují eozinofily (HE, 100krát)



Obr. 5. Pozitivní reakce na chlóracetát esterázu v nádorových buňkách v běžném histochemickém barvení (100krát)



Obr. 3. Případ 1. Úplně vymizelou krevetvorbu nahradily mezi atrofickými kostními trámečky spongiózní kosti masy vírovitě uspořádaných mastocytů (HE, 100krát)



Obr. 6. Expres mastocytární tryptázy v nádorových buňkách při imunohistochemickém vyšetření (DAB, 100krát)

ně citlivá na Gleevec (1, 2, 5–7). Další sporadicky uváděné alternativní mutace c-kit genu, např. phe522cys, val560gly či asp820gly, vykazují proměnlivou citlivost na imatinib (1, 2, 5–7). Vzhledem k tomu, že počet dosud známých mutací c-kit a PDGFRA genu není patrně konečný a že se stále vyvíjejí nové účinnější inhibitory tyrozin kinázy, je jasné, že nastává potřeba SM třídit nejen podle klasického schématu, ale v daném případě i geneticky profilovat.

Naše dvě pozorování byla zajímavá z několika důvodů. Předně, ani u jednoho pacienta nebyla v době diagnózy přítomna kožní manifestace onemocnění, přestože šlo o systémový, multiorgánový proces. Absence kožního projevu u SM je velmi vzácná (sporadicky se popisuje jen u agresivní varianty SM) a v této souvislosti prakticky vždy chybí „mediátorová“ symptomatologie. Dále, v obou případech šlo o latentně probíhající, klinicky prakticky bezpříznakový, multiorgánový proces náhodně zjištěný díky izolované krční, resp. nitrobřišní lymfadenopatii. S tím také souvisel problém definitivního zařazení obou nálezů podle platné WHO klasifikace. Nepřítomnost jakékoliv organopatie a téměř normální laboratorní nálezy u první nemocné nás vedly k závěru tzv. „doutnající“ indolentní SM, která se považuje za nejlehčí formu s vynikající prognózou (8). Genetické vyšetření zde nezjistilo žádnou ze známých mutací c-kit genu a nepřítomnost eozinofilie prakticky vylučovala aberantní konfiguraci PDGFRA genu. Naopak u druhé ženy, kde se teoreticky předpokládá spíše genotyp PDGFRA / FIP1L1, byl identifikován nejběžnější typ bodové mutace asp816val c-kit genu, avšak s překvapivou a neočekávaně dobrou odpovědí na terapii Gleevecem. Během léčby ale došlo ke dvěma lehčím, nekomplikovaným „mediators release“ epizodám. Výsledně bylo onemocnění kvalifikováno jako *agresivní SM s eozinofilií*. Konečně, ani u jednoho z případů nebyla SM v prvním čtení zvažována a ke konzultaci nálezy přišly s žádostí o vyloučení alergické lymfadenitidy, resp. maligního lymfomu/leukémie.

Pro diferenciálně diagnostický algoritmus SM v lymfatické uzlině je důležité především na tuto jednotku myslet a vnímat charakteristické cytologické detaily nádorového infiltrátu; velmi užitečná jsou některá speciální histochemická barvení a imunohistochemie. Např. alergickou lymfadenitis charakterizují nepravdělně rozložené CD68(KP1) pozitivní, histiocytární agregáty s masivní akumulací eozinofilů včetně vzniku eozinofilních abscesů. V klinice většinou nechybí alergická stigmata, výrazná je doprovodná periferní eozinofilie. Primární či sekundární uzlinovou histiocytózu X (eozinofilní granulom) určuje roz-

volněné nakupení elementů s chudší cytoplazmou, ale typicky pokrouceným a rýhovaným jádrem a jedinečná exprese antigenů CD1a a S100 proteinu. Odlišení Rosai-Dorfmanovy nemoci spočívá v převážně sinusoidálně vázané akumulaci mono- i multinukleárních, pěnítych S100 protein pozitivních histiocytů s téměř patognomonickou emperipolezou lymfocytů a erytrocytů. Celkový obraz většinou provázejí systémové příznaky. Diferencovat maligní lymfom/leukémii napomáhá difuzní, monomorfní a evidentně maligní povaha infiltrátu a především typově specifický imunoprofil. Zde je však potřeba neopomenout důsledné odlišení varianty SM asociované s další hematologickou malignitou. Pro metastázu event. karcinomu či melanomu svědčí zjevné atypie nádorové populace a určující, druhově specifická, imunohistochemie.

Závěrem lze říci, že i s ohledem na značný pokrok rozvoje sofistikovaných diagnostických a léčebných možností u SM však zůstává i nadále doménou v primární diagnostice tohoto relativně vzácného onemocnění, zejména při nezvyklé klinické manifestaci, rutinní světelná mikroskopie v rukou zkušeného patologa.

---

## Literatura

---

1. **Akin, C., Fumo, G., Yavuz, A.S., et al.:** A novel form of mastocytosis associated with transmembrane c-kit mutation and response to imatinib. *Blood*, 103, 2004, s. 3222–3225.
2. **Cools, J., DeAngelo, D.J., Gotlib, J.:** A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP 1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 348, 2003, s. 1201–1214.
3. **Jaffe, E.S., Harris, N.L., Stein, H., Vardiman, J.W.:** Mastocytosis. In: WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press: Lyon, 2001, s. 291–300.
4. **Medeiros, F., Corless, Ch., L., Duensing, A., Hornick, J.L., et al.:** Kit-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am. J. Surg. Pathol.*, 28, 2004, s. 889–894.
5. **Pardanani, A., Ketterling, R.P., Brockman, S.R., et al.:** CHIC2 deletion, a surrogate for FIP1L1 and PDGFRA fusion, occurs in systemic mastocytosis associated with eosinophilia and predicts response to imatinib therapy. *Blood*, 348, 2003, s. 3093–3096.
6. **Tefferi, A., Pardanani, A.:** Clinical, genetic and therapeutic insights into systemic mast cell disease. *Curr. Opin. Hematol.*, 11, 2003, s. 58–64.
7. **Tefferi, A., Pardanani, A.:** Systemic mastocytosis: Current concepts and treatment advances. *Curr. Hematol. Rep.*, 3, 2004, s. 197–202.
8. **Valent, P., Akin, C., Sperr, W.R., et al.:** Diagnosis and treatment of systemic mastocytosis: state of the art. *Br. J. Haematol.*, 122, 2003, s. 695–717.

MUDr. Zdeněk Kinkor, PhD  
Bioptická laboratoř s.r.o.  
Mikulášské náměstí 4  
326 00 PLZEŇ  
tel. : 737 220 449  
e-mail: kinkor@medima.cz