

Reaktivne limfadenopatije u svakodnevnoj praksi

Vesna Čemerikić-Martinović

Beo-lab, Beograd, Srbija

Apstrakt

Limfadenopatije su čest klinički nalaz u pacijenata svih uzrasta. Predstavljaju reakciju limfnog tkiva na različite spoljašnje i unutrašnje stimulanse. Najveći broj limfadenopatija su benigne promene koje mogu da liče na limfome i različite druge tumore tako da su njihovo poznavanje i diferencijalna dijagnoza bitni za isključivanje maligne bolesti. Limfni čvorovi veći od 1,5cm u najvećem prečniku, supraklavikularna lokalizacija i generalizovana limfadenopatija pobuduju sumnju na malignu etiologiju. Lokalizovana limfadenopatija u starijih osoba je uvek sumnjiva na metastatski tumor. U slučaju generalizovane limfadenopatije limfomi, metastaze solidnih tumora i različite promene benigne etiologije se moraju razmatrati u diferencijalnoj dijagnozi. Benigne limfadenopatije se mogu podeliti na folikularno-nodularne, sinusne, interfolikularne ili mešovite i difuzne u zavisnosti od izgleda promena u različitim delovima limfnog čvora. Promene su dinamične tako da njihov izgled zavisi od momenta uzimanja biopsije. Najčešće benigne limfadenopatije su folikularna hiperplazija i limfadenitis u toksoplazmozi. U novije doba sve više vidamo limfadenopatije koje su posledica ugrađivanja implantata i proteza (silikonska limfadenopatija) ili su posledica davanja različitih kontrastnih sredstava (lipidna limfadenopatija). Specifična dijagnoza i diferencijacija od malignih bolesti zahteva korelaciju između kliničkih nalaza, morfologije limfnog tkiva, seroloških analiza i rezultata imunohistohemijskih, molekularnih i genetskih analiza.

Ključne reči: limfadenopatije, klasifikacija, dijagnostika, FISH

Uvod

U ljudskom telu postoji oko 600 limfnih čvorova. Promene u njihovoj veličini, broju i konzistenciji se označavaju kao limfadenopatija. Čest je klinički nalaz u svim uzrastima. Preporuka je da se pacijenti sa limfadenopatijom većom od 1cm koja perzistira šest nedelja obavezno podvrgnu detaljnoj dijagnostičkoj proceduri, uključujući i biopsiju (1). Limfni čvorovi čiji je prečnik manji od 1cm se smatraju normalnim, mada to

Reactive lymphadenopathy in daily practice

Vesna Cemerikic-Martinovic

Beo-lab, Belgrade, Serbia

Abstract

Lymphadenopathy is a common clinical finding, affecting patients of all ages. The majority of lymphadenopathies are reactive processes of lymph nodes in response to a variety of exogenous and endogenous stimulants. They are non-neoplastic conditions that can mimic lymphoma and other malignant tumors. Therefore their recognition and differential diagnosis is of great importance in order to rule-out the neoplastic disease. Signs of malignant etiology include lymph nodes >1,5cm in diameter, supraclavicular localization and generalized lymphadenopathy. A metastatic carcinoma is always in the differential diagnosis of localized lymphadenopathy in older individuals. In case of generalized lymphadenopathy lymphomas, metastatic solid tumors and various benign etiologies need to be considered. The reactive lymphadenopathies are grouped into four major categories according to their predominant architectural histologic pattern: follicular-nodular, sinus, interfollicular or mixed, and diffuse. As reactive conditions of the lymph nodes are dynamic processes the predominant pattern may differ depending on when during the course of the disease the biopsy is performed. The most common reactive lymphadenopathies are follicular hyperplasia and toxoplasmic lymphadenitis. Nowadays some lymphadenopathies with foreign-body reaction are side effects of silicone prostheses (silicone lymphadenopathy) and various contrast media (lipid lymphadenopathy). A specific diagnosis and differentiation from neoplastic disease often requires correlation among the morphologic features, the clinical history, serologic studies, immunohistochemistry and molecular genetic analysis.

Key words: lymphadenopathy, classification, diagnosis, FISH

zavisi od njihove lokalizacije. Ingvinalni čvorovi veći od 1,5cm se smatraju izmenjenim dok je kod epitrohlearnih kriterijum 0,5cm. Godišnja incidencija limfadenopatije je oko 0,6%-0,7% u opštoj populaciji (1). Stoga tkivo limfnih čvorova predstavlja jedan od najčešćih biopsijskih materijala u patohistološkim laboratorijama. Osnovni problem koji se postavlja pred patologa je da li je limfadenopatija benigna ili maligna. Precizna dijagnoza zahteva korelaciju između kliničkih nalaza, morfologije izmenjenog limfnog tkiva, seroloških analiza, histohemijskih bojenja, uključujući i ona za identifikaciju mikroorganizama, imunohistohemijskih, molekularnih i genetskih analiza.

U oko 50%-60% slučajeva postavi se pozitivna dijagnoza specifične limfadenopatije, različitih infektivnih limfadenitisa, metastaskih tumora i limfoma. Najveći broj uvećanih limfnih čvorova (40%-55%) je benign i predstavlja nespecifičnu reakciju na različite antigene, bilo strane, bilo sopstvene. U opštim bolnicama neoplazme se nađu u oko 1%-2% biopsija limfnih čvorova, dok se u specijalizovanim ustanovama taj broj penje na 60%. U velikoj studiji autora iz Velike Britanije (2) koja je obuhvatila 550 bolesnika sa limfadenopatijom, 95 (17,3%) je imalo malignu bolest, od kojih 62 limfoproliferativnu bolest (19 Hodgkinov limfom, 18 difuzni B-krupnoćelijski non-Hodgkinov limfom, a ostatak su bili različiti NHL). U 168 bolesnika je dijagnostikovana nespecifična, reaktivna limfadenopatija, u 139 benigne limfadenopatije različitih uzroka a u 21 bolesnika benigni tumori.

Prvi korak u dijagnostici limfadenopatija je detaljno poznavanje kliničkih simptoma i karakteristika bolesti (3): postoje li znaci ili simptomi koji ukazuju na infekciju ili neoplazmu; postoje li simptomi kao što su bol, groznica, temperatura, gubitak težine, znojenje, osip po koži i sl.; epidemiološki podaci koji se odnose na ishranu, seksualne navike, profesionalno izlaganje štetnim materijama, uzimanje lekova i supstanci koji mogu da izazovu limfadenopatiju, postojanje proteza i implantata itd.

Uzrast bolesnika je bitan. U dečijem uzrastu najveći broj limfadenopatija je benigna dok se u odraslim verovatnoća maligne limfadenopatije povećava sa starošću. Bolno uvećanje čvorova je obično benigno. Pokretni limfni čvorovi koji se brzo uvećavaju su verovatno ne-neoplastični za razliku od fiksiranih koji se sporo uvećavaju.

Lokalizovana limfadenopatija (75%) je češća od generalizovane (25%). Limfni čvorovi glave i vrata su najčešće uvećani (55%), zatim slede ingvinalni (14%), aksilarni (5%), dok su supraklavikularni uvećani u 1% slučajeva. Lokalizacija limfadenopatije može biti značajna jer često ukazuje na njen uzrok. Limfni čvorovi na vratu su najpre uvećani u infektivnoj mononukleozi, toksoplazmozi i drugim infekcijama ali i u limfoproliferativnim bolestima. Supraklavikularni limfni čvorovi su često udruženi sa malignom bolešću (25% pacijenata mlađih od 40 godina i u 90% starijih od 40 godina). Generalizovana limfadenopatija koja predstavlja uvećane limfne čvorove u više od tri regije, više ukazuje na malignitet.

Uzroci limfadenopatija su različiti (4, 5):

- Infekcije (streptokok, stafilocok, tuberkuloza, atipične mikobakterije, toksoplazmoza, bolest mačje ogrebotine, sifilis, gljivice, paraziti, Epstein-Barrov virus, HIV, citomegalovirus, herpesvirus itd.)
- Autoimune bolesti (reumatoidni artritis, SLE, Sjögrenov sindrom)
- Lekovi (dilantin, antikonvulzanti, antibiotici, aspirin, alopurinol)
- Sarkidoza
- Amiloidoza
- Whippleova bolest
- Vakcine
- Silikonski implantati, kontrastna sredstva, proteze
- Bolesti nakupljanja (Guacherova bolest)
- Benigne limfoproliferativne bolesti (Kikuchieva bolest, Kawasakieva bolest, Kimurina bolest, Rosai-Dorfmanova bolest, progresivna transformacija germinativnih centara, vaskularna transformacija sinnusa, inflamatorični pseudotumor, Castlemanova bolest, dermatopatska limfadenopatija)
- Maligne limfoproliferativne bolesti (non-Hodgkinovi limfomi, Hodgkinovi limfomi, akutne i hronične mijeloidne leukemije)
- Metastaski tumori

Diferencijalna dijagnoza limfadenopatije je jako široka, slična diferencijalnoj dijagnozi nejasnih febrilnih stanja ili povećane sedimentacije eritrocita. Diferencijalne dijagnoze se mogu grupisati prema akronimu CHICAGO (Cancers, Hypersensitivity syndromes, Infections, Connective tissue diseases, Atypical lymphoproliferative disorders, Granulomatous lesions, Other unusual causes of lymphadenopathy) (6).

Benigne limfadenopatije se mogu podeliti na folikularno-nodularne, sinusne, interfolikularne ili mešovite i difuzne u zavisnosti od izgleda promena u različitim delovima limfnog čvora (tabela 1). Ova podela nije striktna jer se često vide kombinacije promena u različitim odeljcima limfnog čvora. S druge strane promene su dinamične tako da njihov izgled zavisi od momenta uzimanja biopsije.

Folikularno-nodularne

- Nespecifična, reaktivna folikularna hiperplazija
- Autoimune bolesti (reumatoidni artritis)
- HIV limfadenopatija
- Sifilis
- Castlemanova bolest, hijalino-vaskularni tip
- Progresivna transformacija germinativnih centara
- Hiperplazija mantle zone
- Mikobakterijski pseudotumor

Sinusne

- Sinus histiocitoza
- Kontrastna sredstva, proteze, silikonski implantati
- Whippleova bolest
- Vaskularna transformacija sinusa
- Rosai-Dorfmanova bolest
- Sinus histiocitoza sa masivnom limfadenopatijom
- Hemofagocitni sindrom

Interfolikularne ili mešovite

- Parakortikalna hiperplazija i dermatopatska reakcija
- Granulomatozni limfadenitis
 - Nenekrotizirajući granulomi
 - Nekrotizirajući granulomi
 - Tuberkuloza
 - Glijivične infekcije
 - Bolest mačje ogrebotine
- Kimurina bolest
- Limfadenitis u toksoplazmozi
- Sistemski lupus
- Kikuchieva bolest
- Kawasakieva bolest
- Inflamatorični pseudotumor
- Bacilarna angiomatoza
- Limfadenopatije u sklopu imunodeficijencije

Difuzne

- Infektivna mononukleoza
- Citomegalovirus infekcija
- Herpes simplex limfadenitis
- Dilantinska limfadenopatija

Tabela 1. Morfološka klasifikacija reaktivnih limfadenopatija

U radu će biti detaljno prikazane reaktivna folikularna hiperplazija i limfadenitis u sklopu toksoplazmoze kao najčešće benigne limfadenopatije koje srećemo u našem podneblju. Ponekad, floridna reakcija limfnog tkiva može imati atipičan morfološki izgled te se može zameniti za limfom (7). Uz to će biti prikazane neke limfadenopatije koje sve više vidamo, a mogu predstavljati diferencijalno-dijagnostički problem: sili-konske i lipidne limfadenopatije.

Reaktivna folikularna hiperplazija

Folikularna hiperplazija (FH) je najčešća reaktivna limfadenopatija. Predstavlja umnožavanje sekundarnih limfoidnih folikula ili germinativnih centara po jedinici površine limfnog čvora. Jedan od kriterijuma za postavljanje dijagnoze je da >90% limfoidnih folikula sadrži aktivne germinativne centre. Folikuli su uvećani, hipertrofični, nepravilnog oblika. Česta je u dečijem uzrastu a ređa u starijem; retko se vidi posle 60-te godine kada je obično u sklopu reumatoidnog artritisa ili neke druge autoimune bolesti (8). Osnovni problem u dijagnostici reaktivne folikularne hiperplazije je diferencijacija od folikularnog NHL.

FH je posledica antigene aktivacije B-limfocita (izazvane najčešće stranim, bakterijskim antigenima, ali ne-retko i sopstvenim). Ova aktivacija dovodi do somatskih mutacija, sazrevanja, klonalne ekspanzije i selekcije limfoidnih ćelija čiji je rezultat stvaranje plazma ćelija i produkcija antitela. Proces se može i morfološki pratiti u limfnom tkivu. Prisustvo brojnih apoptotskih tela i „tingible body“ makrofaga je morfološki znak klonalne selekcije, a brojne mitoze ukazuju na proliferativnu prirodu procesa. Citološke promene od malog, okruglog limfocita preko krupnih centroblasta i imunoblasta do zrelih limfocita sa potpunom antigenom selekcijom koje vidimo kao centrocite, su histološki dokaz aktivacije imunog sistema.

Makroskopski, limfni čvorovi su sjajni, na preseku granulirane površine, a ponekad se mogu videti i lako uzdignuti noduli. Nažalost, isto ovako izgledaju i NHL koji pokazuju folikularni tip rasta.

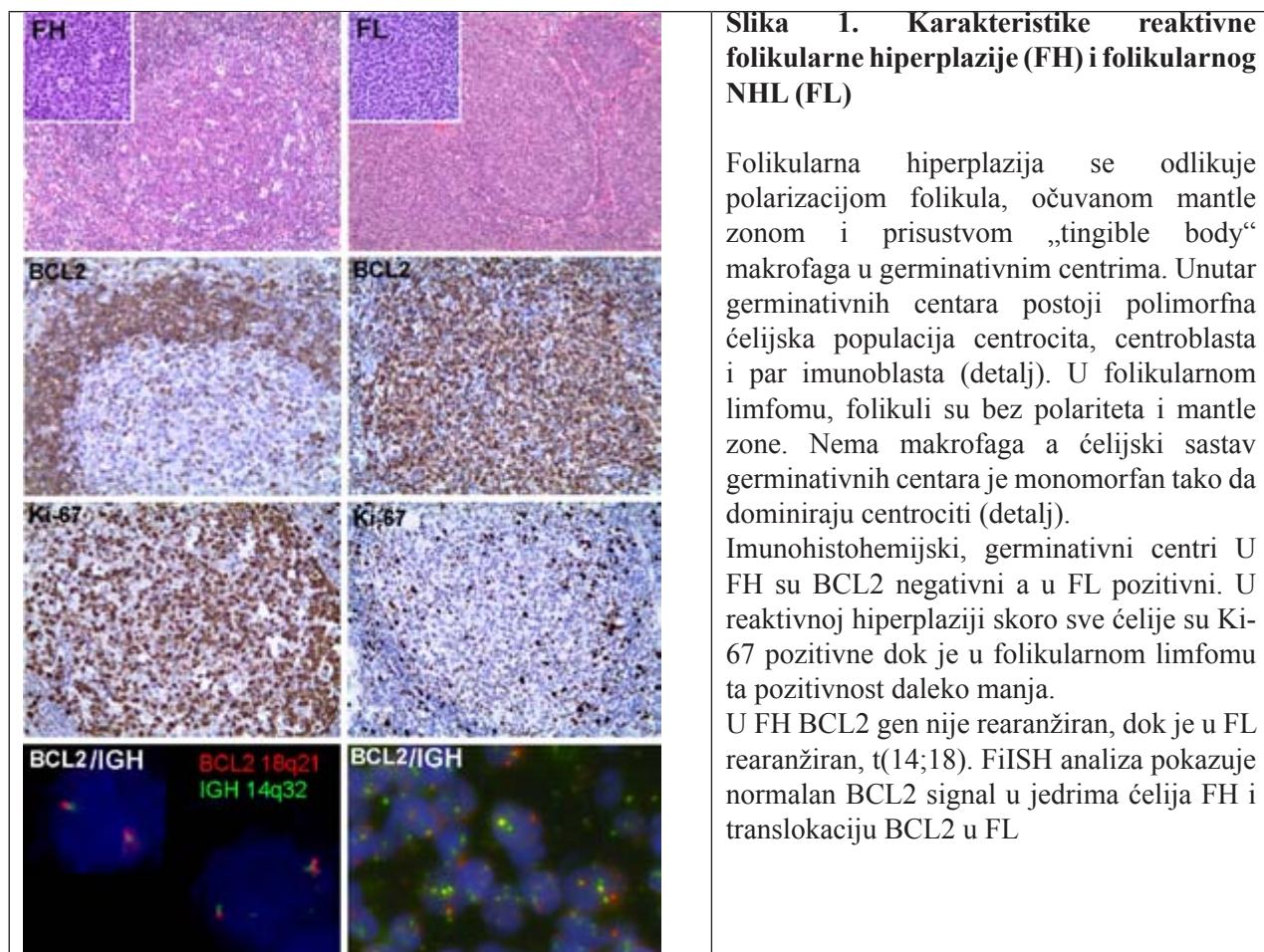
Mikroskopski, slikom dominiraju umnoženi limfoidni folikuli različite veličine i oblika, raspoređeni po svim odeljcima limfnog čvora (korteks, parakorteks, medula). Građa limfnog čvora je u osnovi očuvana, uz prisutan sinusni sistem. Reaktivni folikuli se obično ne nalaze van kapsule i u perinodalnom masnom i vezivnom tkivu za razliku od neoplastičnih folikula u folikularnom NHL. Na reaktivnu prirodu procesa ukazuju polarizacija folikula, očuvana mantle zona i prisustvo „tingible body“ makrofaga koji germinativnim centrima daju izgled zvezdanog neba (starry sky). Germinativni centri su upadljivi. Unutar njih postoji polimorfnica ćelijska populacija centrocita, centroblasta i par imunoblasta. Krupne ćelije preovlađuju tako da germinativni centri deluju svetlo. Retikularna osnova je očuvana ili lako potisnuta ka periferiji, za razliku od folikularnog NHL gde je značajno zgusnuta i potisnuta ka periferiji. U folikularnom limfomu, folikuli su obično sitniji, mnogobrojniji, zgusnutiji, međusobno relativno jednak, bez mantle zone u „back-to-back“ položaju, bez polarizacije. Ćelijski sastav germinativnih centara je monomorfan tako da deluju „mirnije“ od FH, bez „tingible body“ makrofaga. Dominiraju sitnije ćelije, centrociti pa germinativni centri izgledaju tamnije (8). U starijih bolesnika germinativni centri pokazuju manji stepen aktivacije nego kod mlađih tako da se folikularna hiperplazija lako zameni za folikularni NHL.

Imunohistohemijski, germinativni centri se sastoje uglavnom od CD20+ B-ćelija, izmešanih sa različitim brojem CD4+, CD57+ T-limfocita kao i PD-1+ intrafolikularnih T-ćelija. Germinativni centri su BCL2 negativni za razliku od neoplastičnih folikula u folikularnom limfomu koji su BCL2 pozitivni. Ispitivanje sa BCL2 se uvek mora raditi zajedno sa reakcijama na CD20 i CD3 jer brojni BCL2+ T-limfociti mogu biti prisutni i u reaktivnim folikulima što se može pogrešno protumačiti kao BCL2+ NHL. Ekspresija BCL2 je obično jača u ćelijama folikularnog limfoma nego u okolnoj mantle ili interfolikularnoj zoni. Oko 5%-25% folikularnih NHL je BCL2 negativno. Pozitivnost opada sa gradusom; u folikularnim limfomima gradusa 3 se kreće od 50% do 75%. U slučaju sumnje na BCL2 negativan folikularni NHL obavezno uraditi FISH ili PCR analizu jer postoji BCL2 rearanžman, bez obzira na imunohistohemijsku negativnost (sl.1).

I benigni i neoplastični folikuli eksprimiraju CD10 i BCL6, mada je ekspresija CD10 nešto slabija u folikularnoj hiperplaziji. BCL6 može biti pozitivan samo u delu ćelija folikularnog limfoma, za razliku od folikularne hiperplazije u kojoj su sve ćelije pozitivne. Proliferativni marker Ki-67 može biti od velike koristi u

diferencijaciji FH od folikularnog limfoma: u reaktivnoj hiperplaziji skoro sve ćelije su Ki-67 pozitivne dok je u folikularnom limfomu ta pozitivnost daleko manja, obično 10-20%, retko do 60% i to u GR3. U folikularnoj hiperplaziji ćelije u proliferaciji su često skoncentrisane u jednoj polovini germinativnog centra što odražava zonalnu organizaciju proliferacije i selekciju ćelija za apoptozu u reaktivnom germinativnom centru. U folikularnom NHL malobrojne Ki-67 pozitivne ćelije su obično razbacane po celoj površini germinativnog centra. Niska proliferacija u folikularnim limfoidnim lezijama je uvek visoko suspektna na NHL.

Imunohistohemijski dokaz monoklonalnosti, odnosno dokaz restrikcije lakih lanaca imunoglobulina (κ , λ) na smrznutim presecima ili putem protočne cytometrije je relativno pouzdana metoda za razlikovanje folikularnog NHL od FH. Lawrence i saradnici su prikazali pouzdane rezultate (64 pozitivnih od 67 slučajeva FH) primenom monoklonskih antitela (κ , λ) proizvođača Silver Lake Research Corporation (Monrovia, CA) (9) na parafinskim presecima limfnih čvorova. Nažalost, ovi markeri nisu registrovani u našoj zemlji pa su nam za sada nedostupni. Komercijalna antitela koja se kod nas mogu naći za parafinske preseke ne daju pouzdane rezultate.



Prema različitim literaturnim podacima, u 5-15% slučajeva diferencijalna dijagnoza između reaktivne limfoidne proliferacije i malignog limfoma zahteva molekularne genetske analize. Reaktivne limfoproliferacije imaju poliklonski rearanžman imunoglobulinskih (Ig) ili T-ćelijskih receptorskih (TCR) gena, za razliku od malignih koje imaju monoklonski rearanžman. Molekularne genetske analize (Southern blot i PCR) su najpozudanije metode za detekciju imunoglobulinskih, TCR i BCL2 rearanžmana u FH. Za razliku od imunofenotipizacije, njima se može utvrditi prisustvo male klonalne populacije ćelija i može se utvrditi monoklonalnost u imunohistohemijski Ig i BCL2 negativnim tumorima. Southern blot je preciznija metoda, ali je problem što zahteva sveže, nefiksirano tkivo. PCR analiza je manje senzitivna, mada se sa pojavom novih standardizovanih reagenasa i metoda za PCR-baziranu klonalnost (BIOMED-2 Concerted Action BMH4 CT98-3936) senzitivnost značajno poboljšala (99% u B-ćelijskim NHL i 94% u T-ćelijskim) (10).

Histološki reaktivne proliferacije predstavljaju široki spektar lezija sastavljenih od heterogene populacije poliklonskih limfocita preko lezija koje sadrže (oligo)klonalne aktivirane limfoidne ćelije ili, ponekad, monoklonsku komponentu. U studiji Van Kriekena i saradnika (11) urađena je ekstenzivna PCR analiza svih mogućih Ig/TCR genskih rearanžmana i translokacija t(11;14) i t(14;18) u 109 reaktivnih limfoidnih lezija, od kojih su 74 bile FH. U 75% slučajeva utvrđena je jasna poliklonalnost za Ig/TCR. U 10% (11/106) su uočeni jasni monoklonski produkti za jedan ili više Ig/TCR rearanžmana. U 2 od ovih 11, ponovnom patohistološkom analizom je utvrđeno delimično zahvatanje limfnog tkiva limfomom. Nalaz klonalnosti u reaktivnim lezijama zahteva tesnu saradnju patologa i molekularnog biologa u tumačenju rezultata da bi se izbegle potencijalne greške. Treba isključiti moguće tehničke poteškoće, imunobiološke karakteristike (EBV infekciju i sl.) i ako je rezultat suspektan klinički pratiti bolesnika, uz eventualne ponovljene biopsije sa ponovnim molekularnim analizama da bi se došlo do tačne dijagnoze.

Različiti spektar hromozomske aberacija (strukturalnih i numeričkih) je utvrđen u 17% reaktivnih limfadenopatijskih (116 pacijenata), među kojima najveći broj pripada FH (12). Kariotipske anomalije su češće u generalizovanoj nego u lokalizovanoj limfadenopatiji. U 40% promene su bile na hromozomu 14, pre svega translokacije koje zahvataju IGH lokus. Rearanžman BCL6 je detektovan u 20%. Pacijenti su praćeni 5 godina i samo kod jednog se pojavio NHL.

Najveći problem u diferencijalnoj dijagnozi FH je folikularni limfom. U najvećem broju slučajeva diferencijacija se može izvršiti na osnovu arhitekturnih i citomorfoloških karakteristika. U komplikovanim i nejasnim slučajevima neophodna je detaljna imunohistohemijska i citogenetska analiza (sl. 1). Morfološki, imunohistohemijski i molekularni parametri za razlikovanje FH od folikularnog NHL su prikazani na tabeli 2. Poseban problem predstavlja BCL2 negativan folikularni limfom (10-15%) kada se dijagnoza može postaviti samo po utvrđivanju klonalnosti B-ćelijske populacije i citogenetskoj analizi. Različiti NHL koji mogu da rastu folikularno (NHL marginalne zone, mantle-ćelijski NHL i sitnoćelijski difuzni NHL) kao i Hodgkinov limfom tipa nodularne limfocitne predominacije mogu predstavljati problem u diferencijalnoj dijagnozi. Za diferencijaciju je neophodna pažljiva morfološka evaluacija, uz detaljno imunohistohemijsko i, eventualno, citogenetsko ispitivanje (FISH, PCR). U diskriminaciji između reaktivnih proliferacija i NHL ekspresije gena (mRNA microarray), može biti od velike koristi. Pokazano je da u reaktivnoj limfadenopatiji postoji niža ekspresija gena vezanih za imuni odgovor u odnosu na NHL (13). Postoji i redukovana ekspresija TAF3 i LDB2 gena.

Karakteristika	FH	FL
Arhitektura čvora	očuvana	narušena
Retikularna/FDRC osnova	očuvana	kondenzovana, iskidana
Germinativni centri		
granica	jasna	nejasna, "back to back"
veličina i oblik	nejednaki	relativno jednaki
mantle zona	prisutna	odsutna ili uska
polarnost folikula	često prisutna	nedostaje
perinodalno tkivo	odsutni folikuli	prisutni folikuli uz fibrozu
mitoze	brojne	retke
Citologija folikula		
centrociti	malobrojni	mnogobrojni
centroblasti	mnogobrojni	malobrojni
"starry sky"	upadljiv	nema
Interfolikularna zona		
plazmociti	mešovita ćelijska populacija	sitne ćelije (centorc.)
imunoblasti	često (poliklonski)	ponekad (monoklonski)
inflamatori infiltrat	nema	ponekad
		prisutan
Imunohistohemija		
CD20	+	+
CD10	+ (slabo)	+
BCL2	-	+
Ki-67	visok	nizak
Fascin u FDRC	+	-
Genetika		
klonalnost	poliklonska	monoklonska
rearanžman BCL2	nema	ima, t(14;18)

Tabela 2. Histološke, imunohistohemijske i genetske karakteristike korisne za razlikovanje FH i folikularnog NHL

Toxoplasma limfadenitis

Toxoplasma gondii je jedan od najuspešnijih parazita na našoj planeti jer je njime inficirano više od trećine čovečanstva. Otkrivena je 1908. godine u Tunisu (Nicolle i Manceaux). Uzročnik je oko 15%-20% svih limfadenopatijsa. Prenosioci toksoplazme najčešće su mačke i, znatno ređe, psi. Jedan od čestih puteva infekcije je konzumiranje termički nedovoljno obradjenog mesa i povrća. Ređi putevi prenošenja obuhvataju laboratorijske infekcije, infekcije preko transfuzije krvi i transplantiranih organa i infekciju nerođenog ploda preko majke (14).

Životni ciklus toksoplazme je osoben utoliko što se seksualni razvoj odigrava samo kod životinja iz porodice mačaka, a aseksualni kod svih ostalih domaćina. Kod mačke se razvoj parazita završava stvaranjem neinfektivnih oocista, koje inficirana mačka stolicom izbacuje u spoljnu sredinu. Posle 48 sati na spoljnoj temperaturi, ove oociste prelaze u spore i postaju visoko infektivne i veoma izdržljive: mogu da prežive u zemljištu do 18 meseci. Otporne su na uobičajene dezinficijense, a uništavaju ih isušivanje i temperatura iznad 60°C. Kod svih ostalih prelaznih domaćina, uključujući i čoveka, odvija se životni ciklus u kome se pojavljuju tahizoiti (2-6 µm veliki polumesecasti organizmi) koji se brzo dele, i bradizoiti (unutar intracelularne ciste) koji se sporo dele.

Čovek se najčešće inficira preko usta (digestivnog trakta), unošenjem bilo tkivnih cista bilo oocista. Posle unošenja bilo kog od ovih infektivnih oblika, pod dejstvom želudačnog soka dolazi do brzog razlaganja opne ciste i oslobođanja parazita, koji prelaze u tahizoite i prodiru u sve vrste ćelija organizma. Međutim, infekcija

podstiče imuni odgovor domaćina, pa paraziti da bi se zaštitili (ponovo) prelaze u oblik bradizoita koji se okružuju opnom (cista). Ciste se uglavnom smeštaju u tkivima slabije dostupnim imunom sistemu (centralni nervni sistem, oko, skeletni mišić, srce). Vrlo dugo prezivljavaju, praktično doživotno, izazivajući trajnu latentnu odnosno hroničnu infekciju, i ova sposobnost konverzije u manje zahtevni životni oblik i predstavlja suštinu parazitizma *Toxoplasme gondii*.

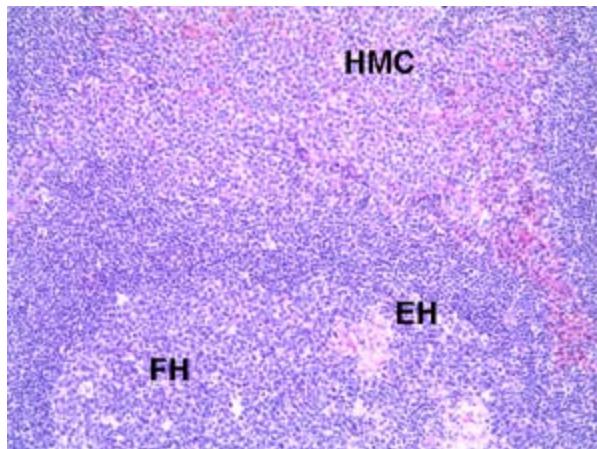
Infekcija toksoplazmom je veoma rasprostranjena i zastupljena na svim krajevima Zemljine kugle. U SAD varira od 13%-68%, zavisno od regije, pri čemu se 30% uzima kao prosek. U Evropi se zapažaju velike razlike u prokuženosti toksoplazmom: od 23-33% u Velikoj Britaniji, preko 62% u Austriji, do 67% u Francuskoj. U velikoj studiji Đuraković-Đaković i saradnika seroepidemiološkim ispitivanjem 2936 žena u periodu 1988. do 1997. godine utvrđena je prevalenca infekcije u 69% sa tendencijom pada tokom godina (od 88% do 39%), sa najvećom incidencom u Vojvodini (15).

Toksoplazmoza je neobična infektivna bolest. Pored činjenice da je jedna od najčešćih infektivnih bolesti ona je u većini slučajeva asimptomatska. Kod 10-20% inficiranih može doći do uvećanja limfnih čvorova (najčešće zadnjih vratnih, ređe aksilarnih i ingvinalnih), uz lako povišenu temperaturu, malaksalost, bol u mišićima, znojenje, kožnu ospu, pa i uvećanje jetre i slezine. Kako tegobe posle nekoliko meseci i spontano isčezaaju, nije potrebna terapija. Sistemska toksoplazmoza je jedna od najznačajnijih oportunističkih infekcija u sklopu AIDS i jatrogene imunosupresije. Toksoplazmoza je najbitnija fetalna transplacentarna infekcija koja može da ošteći plod.

Karakteristična trijada histoloških nalaza u limfnom čvoru upućuje na toksoplazmozu: folikularna hiperplazija, sitni klasteri epiteloidnih histiocita i hiperplazija monocitoidnih B-ćelija unutar sinusoida (16). Ova trijada ima specifičnost od 91-97% u dijagnozi toksoplazmoze što je potvrđeno i PCR analizom.

Folikuli su uvećani, krupnih, aktivnih germinativnih centara u kojima postoji povećan broj centroblasta i veliki broj „tingible body“ makrofaga. Pojedinačne, krupne epiteloidne ćelije se vide u korteksu i parakorteksu. Prisutni su i brojni sitni klasteri epiteloidnih histiocita u parakorteksu ali i unutar germinativnih centra, što je karakteristično za toksoplazmozu. Germinativni centri stoga imaju nepravilnu, „nazubljenu“ ivicu. Ponekad se vide i veći klasteri epiteloidnih ćelija, tzv. „makrogranulomi“ koji sadrže više od 25 epiteloidnih histiocita. Pravih granuloma i multijedarnih džinovskih ćelija nema. Monocitoidne B-ćelije su krupne ćelije, oštrenih granica, obilne, svetle citoplazme, relativno sitnog, tamnog jedra, neupadljivog nukleolusa. Rasporеđene su u vidu plaža i ostrva oko i unutar sinusa limfnog čvora. Ponekad se nađu i perivaskularno (sl.2). Nekroza nema. Ciste parazita unutar makrofaga se retko nađu (u 1% slučajeva u AFIP-ovoj seriji). U obolelih od AIDS brojni slobodni tahizoiti se mogu naći u raznim tkivima. Najbolje se vide u Giemsom obojenim razmazima i imprintima. Mogu se identifikovati i imunohistohemijski.

Pozitivan serološki nalaz je najbitniji za potvrdu dijagnoze. Dijagnoza se može potvrditi i imunohistohemijski anti-*Toxoplasmosa* antitelom ili PCR analizom (pozitivan rezultat u 83% u slučaju postojanja karakteristične dijagnostičke trijade) (17).



Slika 2. Toksoplazma limfadenopatija

Toksoplazma limfadenitis sa folikularnom hiperplazijom (FH), klasterima epiteloidnih histiocita (EH) u parakorteksu i u germinativnim centrima i hiperplazijom monocitoidnih B-ćelija (HMC), H&E.

Diferencijalno dijagnostički na prvom mestu je limfadenitis u sklopu HIV infekcije i lajšmanijaze. Infektivna mononukleoza, bolest mačje ogrebotine i citomegalovirusni limfadenitis u ranoj fazi morfološki liče na toxoplazmozni limfadenitis. Sarkoidoza može predstavljati problem ali u njoj obično postoji jasno formirani granulomi i džinovske ćelije se uvek nađu. Dermatopatska limfadenopatija dolazi u obzir, ali nju odlikuje prisustvo melanina i lipida. Ponekad se sinus histiocitoza sa masivnom limfadenopatijom (Rosai-Dorfmanova bolest) zameni za toxoplazmozu ali se u ovoj bolesti histiociti nalaze unutar proširenih sinusa, a ne u tkivu. Neke forme NHL (Lennertov T-ćelijski NHL) mogu imati klastere epiteloidnih histiocita kao i Hodgkinov limfom.

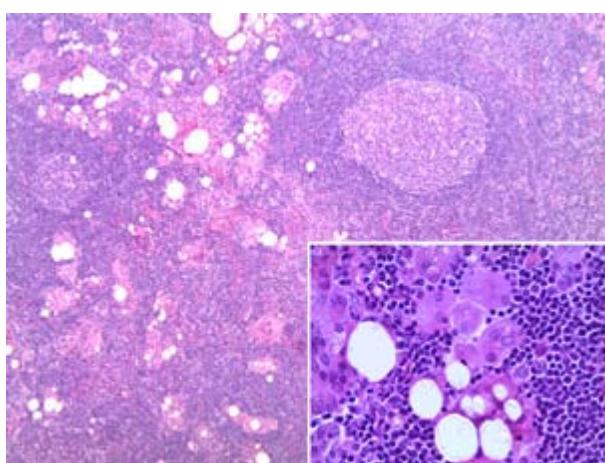
Limfadenopatije u XXI veku

Silikonska limfadenopatija

Medicinski silikon se sastoji od polimera dimetilsilosana. Postoji u čvrstoj formi (sličnoj gumi), kao gel i kao ulje. Sve tri forme se široko upotrebljavaju kao implantati u kozmetičke, ortopedске ili rekonstruktivne svrhe (naročito dojke po mastektomiji). Silikonsko ulje, gel ili guma su potencijalni bioaktivni agensi koji mogu da izazovu reakciju tkiva domaćina. Silikonski implantati mogu da rupturiraju (što su stariji mogućnost rupture je veća), a ubrizgani gel ili ulje mogu da se rasprše po tkivima i da dospeju u limfotok i krvotok kojima se šire na udaljena mesta, uključujući i limfne čvorove (20). Jedna od čestih komplikacija ovih ruptura je silikonska limfadenopatija sve više dolazi kao diferencijalno dijagnostički problem i u klinici i u patologiji.

Silikonska limfadenopatija može nastati u regionalnim limfnim čvorovima kao reakcija na silikonske implantate u dojkama i na drugim mestima, usled direktnog ubrizgavanja silikona ili posle artroplastike malih zglobova. Prvi put je opisana 1978. godine (18). Najčešće se pojavljuje u aksilarnim limfnim čvorovima kada se klinički često zameni za metastazu karcinoma dojke. Incidencu silikonske limfadenopatije kod artroplastike malih zglobova se kreće od 1,8% do 13% (19). Može se javiti i nekoliko godina po ugrađivanju proteze. Silikon se, ako nije nestao prilikom obrade tkiva, lako prepoznaje u tkivu. U vidu je sitnih, providnih kapi amorfognog materijala koji ne polarizuje. Preseci deblji od 4 μ m (najbolje 10-30 μ m) su najbolji za njegovu identifikaciju jer se onda silikon ne gubi pri procesiranju tkiva.

Morfološki, normalna nodalna arhitektura je zamenjena sitnim i krupnim vakuolama koje deluju ili kao „prazne“ (jer je silikon ispran prilikom obrade tkiva) ili sadrže zaostale silikonske depozite (20). Džinovske ćelije tipa stranog tela i granulomi (silikonomi) se mogu naći u sinusima i parenhimu (sl.3).



Slika 3. Silikonska limfadenopatija

U limfnom tkivu se vide brojne sitne i krupne vakuole koje deluju ili kao „prazne“ (jer je silikon ispran prilikom obrade tkiva) ili sadrže zaostale silikonske depozite u vidu sitnih, providnih kapi amorfног materijal. Detalj: džinovske ćelije tipa stranog tela sa silikonskim kapima u citoplazmi, H&E.

U citoplazmi džinovskih ćelija se može naći silikon i inkluziona telašca. Mogu se videti i makrofagi penušave citoplazme, uz upadljivu sinus histiocitozu. Silikon se može identifikovati infracrvenom spektroskopijom ili bojenjem na Oil red O (ne uspeva uvek).

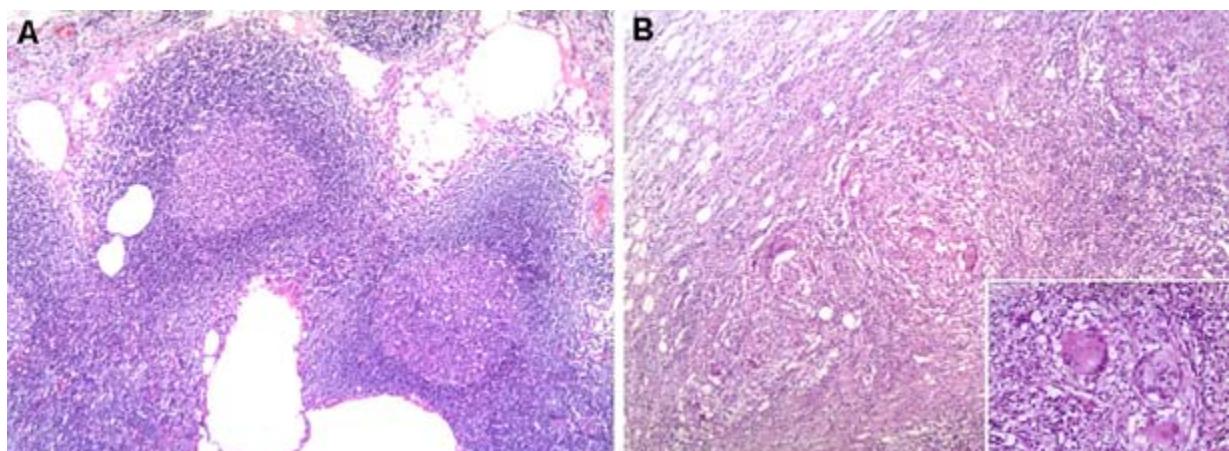
Klinički podaci su presudni za postavljanje dijagnoze. Diferencijalno-dijagnostički u obzir dolaze razna nakupljanja lipidnih materija (lipidna limfadenopatija), Whippleova bolest i atipične mikobakterioze. U poslednje dve se diferencijacija lako izvrši bojenjem na PAS ili prikazivanjem acido-rezistentnih bacila.

Lipidna limfadenopatija

Granulomatozna reakcija po tipu stranog tela na lipide u obliku lipogranuloma se može videti u limfnim čvorovima. Lipidna limfadenopatija je česta u starijih i gojaznih, kod dugotrajne parenteralne ishrane, kod raznih lezija žučne kese i žučnih puteva, u blizini hematomu, nekroza i nekih tumora. Uz to se može pojaviti kao posledica davanja kontrasta na bazi ulja. Nekada su se ovakvi kontrasti davali u limfografiji (21), a danas se ponekad daju u angiografiji. Depo lekovi koji se daju u vidu lipidnih rastvora mogu dovesti do ove limfadenopatije. Mi smo imali dva slučaja neobične lipidne limfadenopatije: u submandibularnom limfnom čvoru po ubrizgavanju Botoxa radi zatezanja lica (sl.4A); u aksilarnom limfnom čvoru kao posledicu akumpukture.

Sinusni sistem je proširen i ispunjen makrofagima koji u citoplazmi sadrže masne kapljice različite veličine koje imponuju kao prazne vakuole. Uz njih se vide epiteloidne i džinovske ćelije tipa stranog tela, ali ne-ma pravih granuloma (sl.4B). Mogu se naći limfociti i plazmociti, a ponekad i eozinofili. Lipidne kapljice se mogu videti i unutar atrofičnih germinativnih centara.

Diferencijalno dijagnostički, pored silikonske limfadenopatije u obzir dolaze i infekcije atipičnim mikobakterijama i gljivicama kao i Whippleova bolest.



Slika 4.

A. Lipidna limfadenopatija kao posledica ubrizgavanja Botoxa.

Narušena građa limfnog tkiva usled prisustva brojnih krupnih masnih kapi bez ikakve reakcije u tkivu, H&E.

B. Lipidna limfadenopatija.po ubrizgavanju kontrasta za angiografiju.

Narušena građa limfnog tkiva usled prisustva brojnih masnih kapi i nakupljanja džinovskih ćelija tipa stranog tela, H&E. Detalj: Džinovske želije tipa stranog tela koje okružuju lipidne kapi. U citoplazmi se vide masne kapi, H&E.

Imati u vidu:

Reaktivne limfadenopatije mogu imati dramatičnu i „divlju“ histološku sliku tako da se lako mogu pogrešno dijagnostikovati kao limfom što može imati katastrofalne posledice po pacijenta.

U razlikovanju folikularne hiperplazije od folikularnog NHL, prisustvo folikula van kapsule, pogotovo uz fibrozu, govori u prilog limfoma. Interfolikularno prisustvo centrocita je odlika folikularnog NHL.

Germinativni centri u folikularnoj hiperplaziji su imunohistohemijski BCL2 negativni. Uvek imati na umu BCL2 negativan folikularni NHL. U slučaju sumnje na BCL2 negativan folikularni NHL obavezno uraditi FISH ili PCR jer postoji BCL2 rearanžman.

Manje monoklonske B- i T-ćelijске populacije se mogu naći u reaktivnoj hiperplaziji. Ovakav nalaz uvek tumačiti u kontekstu kliničke i morfološke slike.

Ako posle svih dostupnih ispitivanja niste sigurni da li je reč o FH ili nekom NHL bolje se izjasniti da je benigno, uz savet da se bolesnik klinički prati (watch and wait).

Toksoplazmozni limfadenitis odlikuje trijada: folikularna hiperplazija, sitni klasteri epiteloidnih histiocita i hiperplazija monocitoidnih B-ćelija unutar sinusoida. Ovaj morfološki nalaz se mora potvrditi serološki i/ili imunohistohemijski i PCR reakcijom u tkivu.

Klinički podaci o kozmetičkim, rekonstruktivnim ili ortopedskim protezama kao i o davanju kontrasta i lekovima na bazi ulja su presudni za postavljanje dijagnoze silikonske ili lipidne limfadenopatije.

Literatura:

1. Fijten GH, Blijham GH. Unexplained lymphadenopathy in family practice. An evaluation of the probability of malignant causes and the effectiveness of physicians' workup. *J Fam Pract.* 1988;27(4):373-6.
2. Chau I, Kelleher MT, Cunningham D, Norman AR, Wotherspoon A, Trott P, Rhys-Evans P, Querci Della Rovere G, Brown G, Allen M, Waters JS, Haque S, Murray T, Bishop L. Rapid access multidisciplinary lymph node diagnostic clinic: analysis of 550 patients. *Br J Cancer.* 2003;10;88(3):354-61.
3. Ferrer R. Lymphadenopathy: differential diagnosis and evaluation. *Am Fam Physician.* 1998;58(6):1313-20.
4. Brown JR, Skarin AT. Clinical mimics of lymphoma. *Oncologist.* 2004;9(4):406-16.
5. Peric Lj, Zidovec-Lepej S, Jeren T, Kozic S, Peric N. Multifaktorijalno istraživanje nemalignih limfadenopatija. *Croatian J of Infection.* 2005;25(3):1005-110.
6. Good DJ, Gascoyne RD. Atypical lymphoid hyperplasia mimicking lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23(4):729-45.
7. Habermann T, Steensma DP. Lymphadenopathy. *Mayo Clin Proc.* 2000;75(7):723-732.
8. Wilkins BS. Pitfalls in lymphoma pathology: avoiding errors in diagnosis of lymphoid tissues. *J Clin Pathol.* 2011;64(6):466-76.
9. Weiss L, Loera S, Bacchi CE. Immunoglobulin light chain immunohistochemistry revisited, with emphasis on reactive follicular hyperplasia vs. Follicular lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(3):199–205.
10. JH van Krieken, AW Langerak, EA Macintyre, M Kneba, E Hodges, RG Sanz, GJ Morgan, A Parreira, TJ Molina, J Cabecadas, P Gaulard, B Jasani, JF Garcia, M Ott, ML Hannsmann, F Berger, M Hummel, F Davi, M Bruggemann, FL Lavender, E Schuuring, PA Evans, H White, G Salles, PJ Groenen, P Gameiro, Ch Pott, and JJ Dongen. Improved reliability of lymphoma diagnostics via PCR-based clonality testing: report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia.* 2007;21(2):201-6.
11. Langerak AW, Molina TJ, Lavender FL, Pearson D, Flohr T, Sambade C, Schuuring E, Al Saati T, van Dongen JJ, van Krieken JH. Polymerase chain reaction-based clonality testing in tissue samples with reactive lymphoproliferations: usefulness and pitfalls. A report of the BIOMED-2 Concerted Action MH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2007;21(2):222-9.
12. Sevilla DW, Murty VV, Sun XL, Nandula SV, Mansukhani MM, Alobeid B, Bhagat G. Cytogenetic abnormalities in reactive lymphoid hyperplasia: byproducts of the germinal centre reaction or indicators of lymphoma? *Hematol Oncol.* 2011;29(2):81-90.
14. Kongres udruženja patologa i citologa Srbije sa međunarodnim učešćem, Beograd 14-16 juna, 2012
- 14 th Congress of Serbian Association of Pathologists and Cytologists with international participation, Belgrade 14-16 June, 2012

13. Loi TH, Campain A, Bryant A, Molloy TJ, Lutherborrow M, Turner J, Yang YH, Ma DD. Discriminating lymphomas and reactive lymphadenopathy in lymph node biopsies by gene expression profiling. *BMC Med Genomics.* 2011;4:27.
14. Djurković-Djaković O, Bobić B, Klun I. Toxoplasmosis in Serbia: time for an action plan. *Parasite.* 2010 Sep;17(3):187-92.
15. Bobić B, Nikolić A, Đurković-Đaković O. Identifikacija faktora rizika za infekciju parazitom toxoplasma gondii u Srbiji kao osnov programa prevencije kongenitalne toksoplazmoze. *Srp Arh Celok Lek.* 2003, 31(3-4):162-167.
16. Eapen M, Mathew CF, Aravindan KP. Evidence based criteria for the histopathological diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy. *J Clin Pathol.* 2005;58(11):1143-6.
17. Lin MH, Kuo TT. Specificity of the histopathological triad for the diagnosis of toxoplasmic lymphadenitis: polymerase chain reaction study. *Pathol Int.* 2001;51(8):619-23.
18. Wintsh W, Smahel J, Clodius L. Local and regional lymph node response to ruptured gel-filled mammary prostheses. *Br J Plast Surg.* 1978;31:349-352.
19. Péoc'h M, Duprez D, Grice G, Fabre-Bocquentin B, Gressin R, Pasquier B. Silicone lymphadenopathy mimicking a lymphoma in a patient with a metatarsophalangeal joint prosthesis. *J Clin Pathol.* 2000;53(7):549-51.
20. Van Diest PJ, Beekman WH, Hage JJ. Pathology of silicone leakage from breast implants. *J Clin Pathol.* 1998;51(7):493-7.
21. Smith T. Fatty replacement of lymph nodes mimicking lymphoma relapse. *Cancer.* 1986;58:2686-2688.