

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства
Здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

Рогожин Дмитрий Викторович

**Дифференциальная диагностика гигантоклеточных поражений
костей у детей**

14.03.02 - патологическая анатомия

Диссертация на соискание
ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинский наук, профессор
Талалаев Александр Гаврилович

Москва – 2018 год

Оглавление

Введение:

Актуальность темы исследования, степень ее разработанности.....	5
Цель исследования.....	6
Задачи исследования.....	6
Научная новизна.....	7
Теоретическая и практическая значимость работы.....	7
Методология и методы диссертационного исследования.....	7
Личный вклад соискателя.....	8
Положения, выносимые на защиту.....	9
Степень достоверности результатов.....	9
Апробация результатов работы.....	9
Внедрение результатов исследования в практику.....	10
Публикации по теме диссертации (количество, из них рекомендованных ВАК)	11
Объем и структура диссертации.....	11

Глава I. Обзор литературы:

1.1	Краткие сведения о развитии, строении и функциях костной ткани.....	12
1.2	Гигантоклеточные поражения (ГКП) костей у детей.....	22
1.3	Краткая характеристика гигантоклеточных поражений (ГКП) костей у детей.....	24
1.3.1	Гигантоклеточная опухоль (ГКО).....	24
1.3.2	Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).....	29
1.3.3	Аневризмальная костная киста (АКК).....	33
1.3.4	Хондробластома (ХБ).....	40
1.3.5	Метафизарный фиброзный дефект / Неоссифицирующая фиброма (МФД/НОФ)	44
1.3.6	Классическая (конвенциональная) остеосаркома (КО).....	48

1.3.7	Гигантоклеточные поражения костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи)	56
1.3.8	Другие поражения костей с гигантоклеточным компонентом...	58
1.4	Заключение.....	59

Глава II. Материал и методы исследования:

2.1	Материалы.....	63
2.2	Методы исследования.....	68
2.2.1	Оформление направления на морфологическое исследование костной ткани.....	70
2.2.2	Транспортировка и сроки доставки материала.....	70
2.2.3	Фиксация материала.....	71
2.2.4	Вырезка (распил) материала.....	71
2.2.5	Методическое обеспечение исследования.....	72
2.2.6	Критерии качества гистологических препаратов.....	73
2.2.7	Микроскопическое описание.....	73
2.2.8	Иммуногистохимическое исследование.....	74
2.2.9	Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH).....	74
2.2.10	Секвенирование по Сенгеру.....	76
2.2.11	Формулировка заключения.....	76
2.2.12	Архивирование материала.....	77

Глава III. Результаты собственных исследований:

3.1	Гигантоклеточная опухоль (ГКО).....	78
3.2	Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).....	92
3.3	Аневризмальная костная киста (АКК).....	103
3.4	Хондробластома (ХБ).....	125
3.5	Метафизарный фиброзный дефект / Неоссифицирующая фиброма (МФД/НОФ).....	138
3.6	Классическая остеосаркома (КО), гигантоклеточный вариант...	149
3.7	Гигантоклеточные поражения костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи).....	153

3.7.1	Херувизм.....	153
3.7.2	Синдром Яффе-Кампаначи.....	156
Заключение:		
4.	Обсуждение полученных результатов.....	162
4.1	Гигантоклеточная опухоль (ГКО).....	165
4.2	Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).....	170
4.3	Аневризмальная костная киста (АКК).....	174
4.4	Хондробластома (ХБ).....	178
4.5	Метафизарный фиброзный дефект / Неоссифицирующая фиброма (МФД/НОФ).....	181
4.6	Классическая остеосаркома (КО), гигантоклеточный вариант...	183
4.7	Гигантоклеточные поражения костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи).....	184
4.8	Заключение.....	186
Выводы.....		190
Практические рекомендации.....		193
Список сокращений.....		194
Публикации по теме диссертации.....		195
Список литературы.....		198

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность.

Первичные опухоли костей среди всех неопластических поражений встречаются достаточно редко. Частота выявления доброкачественных опухолей костей и опухолеподобных поражений неизвестна, так как многие из них протекают клинически бессимптомно, и часто являются случайной находкой во время обследования по поводу других причин (травмы, мероприятия по диспансеризации и др.).

По данным ВОЗ частота регистрации злокачественных опухолей костей составляет 0,2% среди всех опухолей. В США выявляется до 2900 новых случаев злокачественных костных опухолей в год. Для сравнения рак легкого регистрируется с частотой 169500 случаев в год, рак молочной железы 193700 в год [15].

Анализ нашего материала показал, что в структуре неопластических поражений костей у детей преобладают доброкачественные опухоли и опухолеподобные поражения (56,47%), злокачественные опухоли составили 37,31%. При этом, значительная часть доброкачественных опухолей встречается в рамках различных синдромов (6,01%), среди которых преобладает синдром множественных остеохондром [6].

Отличительной особенностью диагностики и лечения заболеваний костей (прежде всего, опухолей) является неоспоримость мультидисциплинарного подхода. Он заключается в обязательном сборе клинических данных (жалобы пациента, клинические проявления заболевания), адекватной интерпретации данных лучевой диагностики и МРТ-исследования (если есть), разумному планированию тактики биопсии опухоли, внимательной оценке морфологической картины и при необходимости, использовании других методов, необходимых для формулировки диагноза (гистохимия, иммуногистохимия, цитогенетическое исследование, секвенирование и др.).

В большинстве случаев, жалобы пациентов с опухолями костей однотипны и не отличаются специфичностью (болевые ощущения, реже увеличение объема в месте поражения). Поэтому, одним из простых, дешевых, доступных и надежных методов диагностики по настоящее время остается рентгеновский снимок, выполненный в двух проекциях. При этом только небольшое количество первичных неопластических поражений костей могут быть выявлены при дополнительном использовании КТ и МРТ-исследования [108].

Одной из особенностей неопластических процессов в костной ткани является присутствие в очаге поражения гигантских многоядерных клеток (остеокластов), участвующих в процессах резорбции и ремоделировании костной ткани. Обнаружение данных клеток при различных опухолях костей в ряде случаев значительно затрудняет дифференциальную диагностику и приводит к большому количеству диагностических ошибок, которые, в свою очередь ведут к выбору неверной тактики лечения таких пациентов.

Цель исследования: разработать новые морфологические критерии дифференциальной диагностики гигантоклеточных поражений костей (ГКП) у детей на основе современных методов исследования.

Задачи исследования:

1. Проанализировать морфологические особенности различных ГКП костей у детей.
2. Показать морфологические, иммунофенотипические и генетические различия ГКП костей у детей (ГКО, ЦГКГ, АКК, ХБ, МФД/НОФ, гигантоклеточного варианта КО и ГКП в рамках синдромов) на основе собственных наблюдений.
3. Выявить корреляцию гистологического варианта строения опухоли, ее иммунофенотипа (G34W и K36M), данных секвенирования по Сенгеру,

цитогенетических методов (USP6), рентгенологических особенностей, клиники и течения заболевания на основе собственных наблюдений.

4. Разработать новые информативные критерии в диагностике различных вариантов ГКП костей у детей.

Научная новизна.

Используя междисциплинарный подход, впервые были разработаны новые морфологические критерии диагностики ГКП костей у детей. Было показано, что гигантские многоядерные клетки не являются клетками опухоли при ГКП у детей, несмотря на то что их присутствие значительно затрудняет дифференциальную диагностику.

Впервые было показано, что несмотря на схожие морфологические характеристики, ГКП костей у детей имеют не только четкие клинические, морфологические и иммунофенотипические, но также и генетические различия. В результате данного исследования был представлен дифференциально-диагностический алгоритм, который может широко применяться в практической работе патологоанатомов, ортопедов, хирургов, онкологов и рентгенологов.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные в работе данные значительно углубляют фундаментальные представления о ГКП костей у детей.

Разработаны принципы диагностики ГКП костей у детей для патологоанатомов, ортопедов, хирургов, онкологов и рентгенологов.

Методология и методы диссертационного исследования.

При выполнении диссертационного исследования были проанализированы 997 случаев опухолей костей у детей, при этом, поражения, содержащие гигантские многоядерные клетки были выделены в отдельную, наименее изученную группу ГКП (ГКО, ЦГКГ, АКК, ХБ,

МФД/НОФ, гигантоклеточный вариант КО, херувизм и синдром Яффе-Кампаначи). Помимо тщательного анализа морфологических и иммунофенотипических особенностей ГКП костей у детей, для понимания их сути были проанализированы клинические данные (возраст, пол, локализация поражения), данные инструментальной диагностики (рентгеновские снимки, КТ/МРТ-исследования), а также проведены секвенирование по Сенгеру и FISH-исследование, что отражает методологию диссертационной работы.

При выполнении диссертационного исследования применялись следующие методы:

1. Анализ клинической информации (возраст, пол, локализация поражения).
2. Сопоставление с данными инструментальной диагностики (рентгеновские снимки, КТ/МРТ-исследование, при наличии).
3. Гистологическое исследование (гематоксилин и эозин).
4. Иммуногистохимическое исследование (G34W и K36M).
5. Секвенирование по Сенгеру (исследование мутаций генов H3F3A и H3F3B).
6. FISH-исследование (поиск перестройки гена USP6).
7. Построение дифференциально-диагностического алгоритма.

Личный вклад соискателя.

Все случаи опухолей костей у детей были проанализированы лично соискателем на базе патологоанатомического отделения РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (анализ клинической информации, данные лучевой диагностики, гистологическое исследование (H&E), иммуногистохимическое исследование (G34W и K36M), подготовка материала для FISH-исследования и секвенирования по Сенгеру, сканирование готовых микропрепаратов, обработка и анализ полученных результатов).

Положения, выносимые на защиту:

1. Использование в практике патологоанатомов междисциплинарного подхода в диагностике ГКП костей у детей (анализ клинической информации, радиологических данных и сопоставление с морфологической картиной) значительно повышает достоверность диагноза.
2. Несмотря на низкую морфологическую гетерогенность различных ГКП у детей, присутствуют морфологические признаки, определяющие нозологическую форму.
3. ГКП костей у детей (ГКО, ЦГКГ, АКК, ХБ, МФД/НОФ, гигантоклеточный вариант КО и ГКП в рамках синдромов) имеют иммунофенотипические и генетические различия.
4. Предложены наиболее эффективные критерии в диагностике различных вариантов ГКП костей у детей.

Степень достоверности результатов.

Для достижения достоверности результатов при каждом виде исследований (гистологическое исследование, иммуногистохимия, секвенирование по Сенгеру и FISH) строго придерживались соответствующих протоколов и рекомендаций, а также применяли положительный и отрицательный контроль.

Апробация результатов работы.

Материалы диссертации были представлены на 10th Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS) Meeting. 9-11 Apr. 2014. Melbourne, Australia, 26th European Congress of Pathology, London, 2014, P. S196, 27th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society (E.M.S.O.S.). May 21-23, 2014 – Vienna, Austria, 28th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society. 29 April – 1 May, 2015, Athens, Greece, The International Skeletal Society Meeting 2015, Grand Wailea – A

Waldorf Astoria Resort Maui, Hawaii, USA, The International Skeletal Society Meeting 2016, Paris, France, The International Skeletal Society Meeting 2017, New York, USA. Материалы диссертации использовались при проведении школ-семинаров по диагностике и лечению опухолей костей и мягких тканей в Санкт-Петербурге 16-17 февраля 2017 года, в Чебоксарах 29-30 мая 2017 года, в Москве 6-7 октября 2017 года, в Краснодаре 3-4 ноября 2017 года, в Тюмени 18-19 января 2018 года.

Результаты работы прошли апробацию на кафедре патологической анатомии и клинической патологической анатомии лечебного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова» Минздрава России 28 марта 2018 года.

Внедрение результатов исследования в практику.

Результаты исследования применяются в практической работе при исследовании опухолей костей у детей в патологоанатомическом отделении Российской детской клинической больницы Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, в патологоанатомическом отделении Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России, а также используются в процессе лекционного и практического обучения студентов 3 курса, интернов, ординаторов и стажеров кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии лечебного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российского

национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Публикации по теме диссертации.

По теме диссертации было опубликовано 19 печатных работ, в том числе 10 из них в изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из трех основных частей – введения, основной части и заключения.

Введение состоит из актуальности, формулировки цели и задач исследования, научной новизны и значимости работы, а также из положений выносимых на защиту, степени достоверности результатов, апробации и внедрения результатов, указанием на количество опубликованных работ (в том числе, в изданиях, рекомендованных ВАК).

Основная часть диссертации состоит из обзора литературы, материалов и методов исследования, а также представленных результатов.

Заключение состоит из обсуждения полученных результатов исследования, выводов и практических рекомендаций.

Диссертация изложена на 216 страницах машинописного текста, содержит 71 рисунок и 20 таблиц. Библиография состоит из 141 источника литературы, из которых 8 отечественных и 133 зарубежных.

Глава 1.

Обзор литературы.

1.1 Краткие сведения о развитии, строении и функциях костной ткани.

Для понимания закономерностей возникновения различных патологических процессов в костной ткани, необходимо знать основные этапы и особенности развития скелета. Основная часть костей скелета являются производными мезодермы. Так, кости аксиального скелета (позвоночник, ребра, грудина) происходят из парааксиальной мезодермы. Кости конечностей развиваются из мезодермы латеральной пластины (lateral plate mesoderm). Кости свода и основания черепа, а также внутренние две трети ключицы развиваются из нейрального гребня (neural crest).

Процесс формирования костей может происходить двумя путями: интрамембранозная оссификация и энхондральная (эндохондральная) оссификация. Это зависит от того, формируется ли кость из соединительной ткани или из хрящевой [100].

Интрамембранозная оссификация проходит без стадии образования хряща. В недифференцированной мезенхиме мезенхимальные стволовые клетки начинают дифференцироваться в остеопрогениторные клетки. По мере дифференцировки клетки приобретают грушевидную форму, увеличивается объем цитоплазмы, а также количество гранулярного эндоплазматического ретикулума и начинают секретировать экстрацеллюлярный матрикс (в основном, коллаген I типа). Данные клетки постепенно окружают себя матриксом, который минерализуется и дифференцируются в остециты. В процессе интрамембранозной оссификации большое значение имеет транскрипционный фактор Cbfa1 (Runx2), который активирует экспрессию коллагена I типа, а также остеопонтина и остеонектина. Интересным является факт, что кортикальный слой трубчатых костей скелета также формируется путем интрамембранозной оссификации. При этом, из недифференцированных

клеток перихондриума возникают остеопрогениторные клетки, а затем остеобласты. С началом продукции остеοидного межклеточного матрикса кортикального слоя перихондриум называется уже периостеумом (надкостница).

При энхондральной оссификации происходит образование костной ткани через хрящевую стадию. Данный тип оссификации является присущим для большинства костей скелета человека. Основными транскрипционными факторами, регулирующими и индуцирующими хрящевую стадию являются факторы семейства SOX, наибольшее значение имеет SOX9 [103]. Среди недифференцированных мезенхимальных стволовых клеток появляется очаг, где часть клеток увеличиваются в размерах, приобретают округлую форму. При этом, в периферических отделах клетки сохраняют вытянутую или звездчатую форму, более конденсированы. По мере дифференцировки расположенные в центральных отделах клетки начинают секретировать белки межклеточного матрикса (коллагены и гликозаминогликаны), которые постепенно заполняют пространство между клетками, увеличивая расстояние между ними. Такой тип роста называется интерстициальным или внутренним экспансивным. В периферических отделах формирующегося хряща клетки менее дифференцированы и располагаются более плотно. Рост в объеме хрящевой ткани в этих зонах происходит за счет деления данных незрелых клеток (аппозиционный тип роста). Затем в средних отделах образующегося хряща происходит минерализация межклеточного матрикса и хондроциты подвергаются апоптозу (программируемая клеточная смерть) [101]. Клеточные пространства занимаемые до этого хондроцитами пенетрируются кровеносными сосудами надкостницы. Вместе с сосудами из надкостницы в минерализованный хрящевой матрикс проникают остеобласты, которые начинают синтезировать остеοид. Так появляется первичный центр оссификации (точка окостенения) [100]. Основные этапы эндохондрального остеогенеза повторяются в процессе репарации при переломах [102]. Известно, что в костях скелета в различные возрастные периоды

обнаруживается пул мезенхимальных стволовых клеток, которые участвуют в процессах репарации костной ткани при повреждении [104].

По мере того как кортикальный слой кости становится толще, минерализованный хрящевой матрикс в области диафизов трубчатых костей и вновь возникшие центры оссификации уже содержат в своей структуре остеокласты, которые активно резорбируют минерализованный матрикс и первичные трабекулы, с образованием пространства для костного мозга. Данные процессы постепенно распространяются в направлении от центра к эпифизам.

Хрящевая ткань в области эпифизов растет в объеме за счет аппозиционного роста. В перихондриуме эпифизов возникают инвагинации, которые продвигаются к центрам эпифизов, формируя хрящевые каналы, что способствует васкуляризации и возникновению точек окостенения эпифизов (вторичные точки окостенения). Между эпифизом и диафизом формируется переходная зона воронкообразной формы – метафиз. По мере увеличения объема костной ткани, между метадиафизом и эпифизом остается узкая полоска гиалинового хряща – ростковая пластина (growth plate) или физис [100].

Интенсивность роста в области ростковых пластинок в разных костях скелета различается. Наибольшие темпы роста отмечаются в дистальном физисе бедренных костей, на втором месте по интенсивности следует проксимальный физис большеберцовых костей [86].

В скелете человека насчитывается 206 костей. По анатомическим признакам скелет условно можно разделить на аксиальный (череп, позвоночник, ребра, грудина и подъязычная кость) и периферический (кости верхней и нижней конечности и кости таза). Кости кистей и стоп относятся к акральному скелету. Все кости классифицируются также в зависимости от размеров и формы: длинные трубчатые (плечевая, бедренная, большеберцовая), короткие трубчатые (кости пясти, плюсны и фаланги пальцев), плоские (кости черепа, тазовые кости) и кубовидные (кости

запястья и предплюсны) [86]. В длинных трубчатых костях выделяют эпифиз, апофиз, метафиз и диафиз. Классификация костей, основанная на трех принципах (форма, функция, развитие) была предложена Привесом М.Г. [5]:

I. Трубчатые кости.

1. Длинные (плечевая кость, кости предплечья, бедренная кость, кости голени).
2. Короткие (кости пясти, плюсны и фаланги пальцев).

II. Губчатые кости.

1. Длинные (ребра и грудина).
2. Короткие (кости запястья, предплюсны и позвонки).
3. Сесамовидные.

III. Плоские кости.

1. Кости свода черепа (лобная и теменная).
2. Кости поясов конечностей (лопатка, тазовая кость).

IV. Смешанные кости.

1. Кости основания черепа.
2. Ключица.

Несмотря на различия в форме и размерах, все кости имеют однотипное строение, включая надкостницу (periosteum) и эндост (endosteum), кортикальный слой (cortex) и медуллярный канал (костномозговая полость).

Надкостница покрывает почти все кости человека (за исключением сесамовидных) не включая суставные поверхности, которые покрыты суставным гиалиновым хрящом. Состоит из двух слоев – внутреннего (камбиального), прилегающего непосредственно к костной поверхности и наружного (фиброзного) слоя. Камбиальный слой содержит фибробласты, остеопрогениторные клетки и остеобласты. Клеточность данного слоя варьирует в различные возрастные периоды, большая клеточность отмечается в период формирования и роста костей у детей. Наружный слой

гипоклеточный, состоит из веретеновидных фибробластов и большого количества зрелого коллагенизированного межклеточного матрикса. В области суставов продолжается в капсулу суставов или переходит в сухожилия и мышечные фасции [86]. Надкостница играет важную роль в процессах роста (аппозиционный рост) и ремоделирования костной ткани, а также в процессе репарации при повреждениях и переломах [99]. Во все возрастные периоды доброкачественные и злокачественные неопластические процессы в костной ткани сопровождаются активацией камбиального слоя надкостницы. В зависимости от агрессивности локального воздействия, надкостница участвует в формировании того или иного типа периостальной реакции, по которому рентгенологически можно предположить характер поражения кости [98].

Кортикальный слой состоит из компактной костной ткани, толщина которой зависит от локализации и силы механических воздействий. Например, наибольшая толщина кортикального слоя отмечается в медиальных отделах диафизов бедренных костей, так как механическая нагрузка в этих отделах достаточно велика.

Медуллярный канал построен из губчатой (трабекулярной) костной ткани, содержит жировой и гемопоэтический костный мозг, кровеносные сосуды и нервные волокна.

Костная ткань выполняет важные функции в организме человека (опорная, двигательная, депо кальция и фосфора, обеспечивает оптимальные условия для функционирования костного мозга). Основными клеточными компонентами костной ткани являются остеобласты, остеокласты, остеоциты и выстилающие клетки (bone lining cells). Несмотря на кажущуюся инертность, костная ткань является очень динамичной за счет постоянно протекающих сбалансированных процессов резорбции (остеокласты) и костеобразования (остеобласты). Остеоциты выступают в роли главного дирижера в этих сложных взаимодействиях [79].

В процессе роста организма ребенка, пока его скелет достигает своих окончательных размеров с помощью ремоделирования костной ткани, можно наблюдать согласованную деятельность костного синтеза и костной резорбции с преобладанием синтеза [8].

Ремоделирование костной ткани возможно за счет согласованных взаимодействий между остеоцитами, выстилающими клетками, остеокластами и остеобластами, которые формируют для этих целей временную анатомическую структуру, называемую основной межклеточной единицей (basic multicellular unit, BMU). Процесс ремоделирования костной ткани абсолютно необходим для репарации переломов, адаптации скелета к механическим нагрузкам и поддержанию гомеостаза кальция и фосфора в организме. Нарушение баланса костной резорбции и костеобразования может лежать в основе таких заболеваний костей как остеопороз и остеопетроз. Равновесие в процессе ремоделирования костной ткани поддерживается за счет локальных и системных факторов, включая цитокины, хемокины и гормоны [79].

Остеобласты.

Остеобласты представляют собой клетки кубовидной формы, локализующиеся на костных поверхностях, составляют 4-6% от всех клеток костной ткани и выполняют костеобразующую функцию. Характеризуются развитой гранулярной эндоплазматической сетью, комплексом Гольджи и содержат большое количество секреторных вакуолей, что отвечает их протеинсинтетической функции (синтез остеоида для костного матрикса). Происходят из мезенхимальной стволовой клетки, дифференцировка которой в направлении остеобласта включает последовательные этапы с активацией определенных генов и экспрессией необходимых маркеров, включая костные морфогенетические белки (bone morphogenetic proteins, BMP), Wingless (Wnt) путь, Runt-связанный транскрипционный фактор 2, Dlx5, Osx (osterix) и Runx2.

Синтез элементов костного матрикса осуществляется остеобластами в два основных этапа: создание органической матрицы и ее последующая минерализация. На первом этапе остеобласт секретирует коллагеновые (в основном, коллаген 1 типа) и неколлагеновые белки (OCN, остеоонектин, BSP II, остеопонтин), а также протеогликаны, включая декорин и бигликан, которые образуют органическую матрицу. Второй этап (минерализация органической матрицы) в свою очередь состоит из везикулярной и фибриллярной фаз. Матричные везикулы (диаметром от 20 до 300 нм) отделяются от апикальной мембраны остеобласта в окружающую матричную среду, где связываются с протеогликанами и другими межклеточными компонентами. Затем ионы фосфора и кальция образуют кристаллы гидроксиапатита.

Зрелый остеобласт может дифференцироваться в остеоцит, выстилающую клетку или подвергаться апоптозу.

Выстилающие клетки.

Выстилающие клетки представляют собой уплощенной формы полежащие остеобласты, располагающиеся на костной поверхности, где не происходит активных процессов резорбции или костеобразования. Содержат в цитоплазме небольшое количество органелл, в том числе, гранулярного эндоплазматического ретикулума. Функция этих клеток до конца не изучена, известно, что они предотвращают взаимодействие остеокластов с костным матриксом, участвуют в дифференцировке остеобластов, продуцируют остеопротегерин (OPG) и активатор рецептора ядерного фактора каппа-В лиганда (RANKL).

Остеоцит.

Остеоциты составляют 90-95% клеточного состава костной ткани и являются наиболее долгоживущими клетками (до 25 лет). В течении многих десятилетий из-за сложности выделения и изучения данных клеток, их функции были неизвестны.

Остеоциты располагаются в лакунах, которые окружены минерализованным костным матриксом и имеют множество отростков. Морфология остеоцитов зависит от типа костной ткани, в которой они расположены. В губчатой костной ткани остеоциты имеют более округлую форму, в компактной костной ткани они несколько вытянуты. Являются производными мезенхимальной стволовой клетки, проходя стадию дифференцировки остеобласта. В конце каждого цикла костеобразования субпопуляция остеобластов превращается в остеоциты и встраивается в костный матрикс. Этот процесс сопровождается морфологическими и ультраструктурными изменениями (уменьшение размеров клетки, сокращение гранулярного эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи и др.). Механизм данных превращений до конца не изучен, однако известна важная роль в этих процессах белка E11/gp38, известного под названием Podoplanin, который экспрессируется в остеоцитах. Считается, что он взаимодействует с элементами цитоскелета остеоцитов.

Каждый остеоцит, заключенный в лакуне имеет порядка 50 цитоплазматических отростков, которые располагаются в специальных канальцах, формирующих лакуноканаликулярную систему, благодаря которой контактируют соседние остеоциты, а также остеобласты, находящиеся на поверхности. Посредством данной системы осуществляется транспорт различных молекул между клетками, таких как простагландины и оксид азота. Данная система взаимодействует также и с сосудистой сетью костной ткани, обеспечивая транспорт питательных веществ и кислорода. Благодаря лакуноканаликулярной системе, остеоциты способны воспринимать и оценивать механические нагрузки и давление и ежедневно помогать костной ткани адаптироваться к механическим воздействиям. С этой точки зрения, остеоциты выступают в роли дирижеров межклеточных взаимодействий в костной ткани, регулируя процессы ремоделирования.

Остеокласт.

Остеокласты – это терминально дифференцированные многоядерные клетки, предшественниками которых являются моноклеарные клетки, развивающиеся из гемопоэтической стволовой клетки под воздействием нескольких факторов. Среди этих факторов можно выделить два, имеющих наибольшее значение: макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), который секретируется остеопрогениторными мезенхимальными клетками и остеобластами, и RANK лиганд (RANKL), секретируемый остеобластами, остеоцитами и стромальными клетками (играет основную роль в остеокластогенезе). При связывании RANKL с рецепторами RANK на поверхности клетки предшественника остеокласта запускается процесс его активации. С другой стороны, существует фактор, называемый остеопротегерин (OPG), который связываясь с RANKL препятствует взаимодействию RANK/RANKL и тем самым ингибирует остеокластогенез. OPG продуцируется остеобластами, стромальными клетками, а также некоторыми видами фибробластов (gingival fibroblasts). Таким образом, RANKL/RANK/OPG является основной системой, регулирующей остеокластогенез [80; 112]. Открытие данной системы стало краеугольным камнем для понимания многих патологических процессов в костной ткани [8].

В процессе ремоделирования костной ткани и активации остеокласта его клеточная мембрана делится на функциональные домены вследствие внутренней реорганизации цитоскелета: ворсинчатый (соприкасается непосредственно с резорбируемой костью) и светлую зону (примыкающую к костной поверхности), образуя между поверхностью остеобласта и костью лауну (howship lacuna) или полость резорбции. Растворение гидроксиапатита происходит в пределах этой лакуны после его окисления вследствие продукции ионов водорода (H^+) в результате распада угольной кислоты под воздействием карбоангидразы 2 (CAII). После завершения минеральной фазы (растворение гидроксиапатита), высвобождаются

ферменты, разрушающие органическую матрицу (катепсин К, ММР-9 и TRAP) [79; 8].

Повышение активности остеокластов с преобладанием процессов резорбции костной ткани может лежать в основе многих заболеваний костей, таких как остеопороз с возрастанием вероятности переломов. Воспалительная инфильтрация может локально индуцировать остеокластогенез и приводить к локальной резорбции костной ткани при остеомиелите, артритах и периодонтитах.

Экстрацеллюлярный костный матрикс.

Кость состоит из неорганических солей и органической матрицы. Органическая матрица содержит коллагеновые белки (90%), преимущественно, коллаген I типа. К неколлагеновым белкам органической матрицы относятся остеокальцин, остеонектин, остеопонтин, фибронектин, костный сиалопротеин II, BMPs и факторы роста. Неорганические вещества представлены, в основном, ионами кальция и фосфора. Помимо этого костная ткань содержит натрий, калий, магний, цинк, барий и стронций. Кальций и фосфор формируют кристаллы гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Взаимодействие между клетками и костным матриксом.

Костный матрикс является не только каркасом для остеоцитов, остеобластов и остеокластов, но и играет ключевую роль в регуляции активности костных клеток посредством молекул адгезии (интегринов).

Наиболее известные интегрины остеобластов $\alpha_1 \beta_1$, $\alpha_2 \beta_1$, и $\alpha_5 \beta_1$. Для реализации функции резорбции остеокластами важное значение имеют интегрины $\alpha_v \beta_3$ и $\alpha_2 \beta_1$. На сегодняшний день остается открытым вопрос, какие интегрины обеспечивают взаимодействие остеоцитов с экстрацеллюлярным костным матриксом, предполагается, что ими являются β_3 и β_1 [79].

1.2 Гигантоклеточные поражения костей у детей.

Особое значение процессы ремоделирования костной ткани имеют при онкологической патологии. Так как остеокласты являются важнейшей и неотъемлемой частью костной ткани, их можно обнаружить практически при всех первичных опухолях костей, а также при метастатических поражениях.

Так как центральная роль в регуляции формирования остеокластов принадлежит системе RANKL/RANK/OPG, в том числе при опухолях костей, важно понимать, что при многих опухолях (ГКО, ХБ и др.) сами неопластические клетки могут синтезировать RANKL или факторы, косвенно индуцирующие остеокластогенез (паратиреоидный гормон, IL-1, IL-6, IL-11) [8]. Таким образом, остеокласты выступают в роли косвенного фактора, способствующего возникновению и прогрессии опухоли, в частности, при ГКП костей у детей.

По сути дела, являясь производными гемопоэтической стволовой клетки (в отличие от всех остальных клеточных компонентов костной ткани), остеокласты никогда не образуют морфологический субстрат первичных костных опухолей. Несмотря на это, они являются полноправными участниками неопластических процессов в костях, обуславливая выраженный локальный остеолитический эффект. Данный эффект особенно выражен при гигантоклеточных поражениях (ГКП) костей, одним из ярких представителей которых является гигантоклеточная опухоль (ГКО).

Обнаруживаясь в большом количестве в очаге поражения при различных опухолях и воспалительных процессах, остеокласты (гигантские многоядерные клетки) могут искажать адекватное восприятие истинного субстрата опухоли патологом и быть причиной ошибочного диагноза.

ГКП костей у детей и подростков представлены различными патологическими процессами, которые сложно дифференцировать между собой, а также выбирать соответствующие терапевтические опции. В доступной медицинской литературе нет четких определений, обозначающих группу «гигантоклеточных поражений костей». Однако, очевидно то, что к

данной группе относятся неопластические и другие патологические процессы, при гистологическом исследовании которых обнаруживаются гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки. К данной группе патологических процессов у детей относятся следующие:

1. Гигантоклеточная опухоль (ГКО).
2. Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).
3. Аневризмальная костная киста (в том числе, солидный вариант) (АКК).
4. Хондробластома (ХБ).
5. Метафизарный фиброзный дефект/неоссифицирующая фиброма (НОФ, МФД).
6. Классическая остеосаркома (вариант богатый гигантскими клетками).
7. ГКП костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи).
8. Другие поражения костей с гигантоклеточным компонентом: гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ), «коричневая» опухоль при гиперпаратиреозидизме и др.

Среди наследственных синдромов, при которых встречаются ГКП костей можно отметить херувизм, морфологическим субстратом которого являются множественные ЦГКГ, а также синдром Нунан и нейрофиброматоз 1 типа [73]. Множественные МФД/НОФ в сочетании с пятнами на коже по типу «кофе с молоком» (Café-au-lait spots) встречаются при синдроме Яффе-Кампаначи.

Многочисленные трудности, возникающие в дифференциальной диагностике данной группы заболеваний постоянно побуждали исследователей различных медицинских специальностей (рентгенологов, хирургов, патологов) проводить сравнительный анализ данных, доступный на тот момент для соответствующего уровня развития медицинской науки и знаний. Так например, американский патолог Н. Jaffe в 1953 году впервые

описал ЦГКГ как ГКП, отличающееся по некоторым морфологическим признакам от классической ГКО других локализаций. Позже появилось много работ, авторы которых постоянно сравнивали ГКО и ЦГКГ по разным критериям [96]. Несмотря на некоторые различия в возрастных группах, морфологическая картина при данных заболеваниях может быть практически неразличимой. Это послужило основой считать ГКО и ЦГКГ одним заболеванием [97]. Однако, обнаружение в ГКО мутации H3.3 (H3F3A), не найденной в ЦГКГ, позволило окончательно разграничить данные новообразования [71].

1.3 Краткая характеристика гигантоклеточных поражений костей у детей.

1.3.1 Гигантоклеточная опухоль (ГКО).

Гигантоклеточная опухоль (ГКО) – это доброкачественная, локально агрессивная опухоль кости, состоящая из моноклеарных клеток и гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток [15]. Использовались и другие названия, которые сейчас не применяются: остеокластома и остеобластокластома.

Была впервые описана английским придворным врачом-хирургом сэром Эстли Купером в 1818 году [1].

На долю ГКО приходится порядка 5% в структуре всех опухолей костей и 20% среди доброкачественных новообразований костей [123; 132]. Встречается с частотой от 1 до 6 случаев на 10 млн. населения; в США, Западной Австралии, Японии и Швеции заболеваемость 1 случай на 1 млн. населения [77]. Сообщается о более высокой заболеваемости в китайской популяции, в которой ГКО составляет порядка 20% в структуре всех опухолей костей [82]. Более половины всех случаев регистрируются на 3-й и 4-й декадах жизни [75] и редко встречается в возрасте старше 50 лет. У лиц женского пола наблюдается несколько чаще, чем у мужчин. У детей данная опухоль встречается крайне редко (менее 2% случаев) [45], в основном, в

подростковом возрасте. Считается, что ГКО развивается в костях зрелого скелета с закрытыми зонами роста. Нам удалось найти единичные работы, посвященные описанию ГКО у детей и подростков. Так, Puri A. et al. [84] сообщают о 17 случаях ГКО у детей, 14 из них были женского пола (82%), большинство опухолей развивались в типичной локализации (длинные трубчатые кости) вокруг коленного сустава, открытые зоны роста не препятствовали распространению новообразования и у 3 пациентов был отмечен локальный рецидив.

Точные причины возникновения ГКО неизвестны. Предполагается, что клетки опухоли (моноклеарные стромальные клетки) имеют мезенхимальное происхождение и фенотип преosteобластов. Они индуцируют циркулирующие моноциты к миграции в очаг поражения с последующей дифференцировкой в активированные остеокласты посредством синтеза RANK-лиганда. В свою очередь, моноциты содержат рецептор RANK [83].

В большинстве случаев ГКО возникает в метафизарно-эпифизарной зоне длинных трубчатых костей. У подростков чаще в области метафиза в непосредственной близости к эпифизарной ростковой пластинке [17]. Примерно половина всех случаев регистрируются в области коленного сустава (бедренная и большеберцовая кости) [87], следующими по частоте поражения идут дистальная часть лучевой кости [138] и крестец. Позвонки поражаются редко, в основном тело, реже задние элементы. В плоских костях (лопатка, кости таза) и мелких костях кистей и стоп ГКО возникает очень редко. Множественный характер поражения так же не характерен для ГКО, в таких случаях, в первую очередь следует исключить гиперпаратиреозидизм или болезнь Педжета [45]. Есть очень редкие наблюдения, описывающие ГКО ската, причем подтвержденные обнаружением соответствующей мутацией гена H3F3A [136].

Среди клинических проявлений, чаще всего присутствуют болевые ощущения и увеличение объема пораженной кости. Если в патологический

процесс вовлекается сустав, то могут возникать артралгии, выпот в полость сустава и ограничение подвижности. При поражении мягких тканей и нарушении локального кровообращения может наблюдаться подчеркнутая сосудистая сеть. Каждый пятый пациент с ГКО имеет патологический перелом на момент обращения [76; 82], хотя некоторые авторы приводят намного меньшие цифры (5%) [83].

При рентгенологическом исследовании в метафизарно-эпифизарной зоне (при поражении длинных трубчатых костей) обнаруживается эксцентричный литический очаг (чаще 'moth-eaten' pattern), внутрикостные границы которого (медуллярный край) могут быть четкими, без выраженных склеротических изменений. Опухоль не продуцирует матрикс, разрушает кортикальный слой кости и часто распространяется на прилежащие мягкие ткани. Может наблюдаться периостальная реакция, иногда в виде неполного тонкого ободка. Агрессивные формы периостальной реакции при ГКО, как правило, не встречаются. При отсутствии коркового слоя сдерживающим элементом от распространения опухоли в окружающие мягкие ткани может являться надкостница. Поэтому, отсутствие рентгенологически видимой внешней границы опухоли еще не означает распространение патологического процесса в прилежащие мягкие ткани [1].

При КТ-исследовании можно получить дополнительную информацию в отношении изменений коркового слоя, наличия патологического перелома, остеосклероза по периферии опухоли, подтвердить отсутствие агрессивного типа периостальной реакции, а также выявить наличие каких-либо включений [1].

При МРТ-исследовании можно уточнить структуру опухоли. В режиме T1 (low signal) лучше определяется интрамедуллярный компонент. В режиме T2 (high signal) хорошо визуализируется внекостный неопластический компонент (при больших размерах образования), а также кистозный компонент (fluid-fluid levels) по типу вторичной АКК, или без уровней разделения жидкостного компонента разной плотности.

Следует также отметить, что методы лучевой диагностики и МРТ-исследование, могут являться инструментом навигации для выполнения биопсии образования.

При макроскопическом исследовании на распиле опухоль хорошо ограничена, сочная, красновато-серого цвета. Разрушает кортикальный слой, часто распространяясь на прилежащие мягкие ткани или сустав. Может иметь кистозный компонент в виде полостей, содержащих кровянистую жидкость.

При гистологическом исследовании ГКО состоит из двух клеточных популяций: мононуклеарных клеток (являются морфологическим субстратом опухоли) и гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток. Мононуклеарные клетки круглой, овальной или немного вытянутой формы, с круглым или овальным ядром, содержащим гранулярный хроматин и 1 или 2 ядрышка. Митотическая активность в мононуклеарных клетках может быть достаточно высокой, однако, патологические формы митозов отсутствуют. По морфологическим характеристикам ядра мононуклеарных клеток идентичны ядрам гигантских многоядерных клеток. В некоторых полях зрения мононуклеарные клетки могут вытянутыми, иногда можно обнаружить зоны веретенклеточного компонента. Гигантские многоядерные клетки многочисленные, с богатой эозинофильной цитоплазмой, в которой может насчитываться более 50 ядер. Нам встретилось описание случая ГКО с образованием симпластов гигантских многоядерных клеток с псевдоанапластическими характеристиками клеток опухоли [137]. Иногда встречаются крупные гистиоциты и кластеры ксантомных клеток. Нередко регистрируются кистозные изменения (вторичная АКК), очаги некроза по типу инфаркта, в основном, без перифокальной воспалительной инфильтрации. В сосудах периферических отделов опухоли можно обнаружить опухолевые эмболы, которые не влияют на прогноз заболевания. Из более редких морфологических находок иногда удается найти небольшие зоны остеоида или реактивного костеобразования [45]. Данное

обстоятельство можно объяснить тем, что моноклеарные стромальные клетки имеют преостеобластический фенотип [83]. В очагах метастатического поражения (чаще всего в легких) наблюдается аналогичная гистологическая картина.

При иммуногистохимическом исследовании многоядерные клетки экспрессируют CD68, CD45, CD33, CD14, TRAP, Cathepsin K, p63 и Calcitonin [9; 83; 130].

Есть работы, авторы которых описывают различные хромосомные aberrации при ГКО. В основном, это теломерные ассоциации, вовлекающие несколько хромосом. Замечено, что нестабильность генома с транслокациями 1, 2, 11p, 12, 18p, 13p, 15p и 19 хромосом при ГКО напрямую коррелирует с агрессивным клиническим поведением опухоли [9; 109].

В 2013 году Sam Behjati et al. впервые опубликовали данные исследования о наличии драйверных мутаций при ГКО (H3F3A) и ХБ (H3F3B) [92]. Коллективом авторов было показано, что 92% ГКО (49 из 53) несут мутацию H3.3 в H3F3A, причем только в неопластических моноклеарных клетках. При исследовании гигантских многоядерных клеток в ГКО, генетических поломок обнаружено не было.

Дифференциальная диагностика ГКО проводится прежде всего с другими ГКП костей – АКК (прежде всего с солидным вариантом), ЦГКГ, МФД/НОФ, ХБ и классической остеосаркомой (вариант богатый гигантскими клетками).

Существует несколько опций для лечения ГКО. Самый распространенный хирургический метод лечения – это кюреттаж [134], при выполнении которого локальный рецидив опухоли наблюдается в 25-50% случаев в течение первых 3 лет [17; 82; 135]. При выполнении радикальной резекции удастся достичь локального контроля опухоли и снижения частоты рецидивов до 0-5%, однако, это сопряжено с риском хирургических осложнений [82]. В редких случаях (от 1 до 6%) возможны метастазы в легкие, которые подлежат хирургическому удалению [77]. Можно встретить

единичные описания метастатического поражения печени, органов средостения, аортальных лимфатических узлов, кожи и молочных желез [131]. Интервал времени от момента хирургического вмешательства по поводу ГКО и обнаружением метастазов в легких может значительно варьировать от нескольких месяцев до более чем 10 лет. Тем не менее, в большинстве случаев метастазы выявляются в течение первых трех лет. Можно найти описания редких наблюдений ГКО с метастазами в лимфатические узлы, печень, головной мозг, мягкие ткани, почки, средостение [78]. В случаях большого объема опухоли и невозможности применить хирургические методы лечения на первом этапе, применяется денозумаб [132].

1.3.2 Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).

Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ) – это доброкачественное внутрикостное гигантоклеточное поражение (опухоль), наиболее характерное для верхней и нижней челюсти и мелких костей добавочного скелета (кисти и стопы) [17; 64].

ЦГКГ в структуре всех доброкачественных опухолей челюстей составляет порядка 7%, встречается с частотой 1,1 на 1 млн. населения в общей популяции [74].

Была впервые описана в верхней челюсти патологом Н. Jaffe в 1953 году [67] как неопухоловое поражение, отличающееся от ГКО. Десятилетие спустя Askerman и Sprjut описали 2 подобных случая в фалангах пальца кисти под названием «гигантоклеточная реакция» [68]. В 1980 году Lorenzo and Dorfman описали 8 случаев гигантоклеточной гранулемы с поражением мелких костей кистей и стоп и добавили к определению слово «репаративная» [69]. Было постулировано, что ЦГКГ не является истинной опухолью, а представляет собой реактивный внутрикостный процесс, возникающий вследствие внутрикостного кровоизлияния. Хотя, факт предшествующей травмы констатировался далеко не всегда [70]. После

публикации работы Sanerkin et al. [50] в 1983 году, который впервые описал солидный вариант АКК, многие исследователи не обнаруживали никаких существенных различий с ЦГКГ, в том числе и гистологических. Поэтому, до недавнего времени эти термины (солидный вариант АКК и гигантоклеточная гранулема) считались синонимами, обозначающими одно и то же поражение.

Для обозначения данной патологии могут применяться и другие названия: гигантоклеточная реакция, гигантоклеточная репаративная гранулема. Так как, одной из излюбленных локализаций являются челюсти, в классификации ВОЗ данное заболевание обозначено как «Центральная гигантоклеточная гранулема».

ЦГКГ с поражением челюстей может встречаться практически в любом возрасте (от 2 до 80 лет), однако, обычно встречается у детей и подростков (первые две декады жизни), преобладают наблюдения с вовлечением в патологический процесс нижней челюсти (до 70%). В патологический процесс вовлекаются обычно передние отделы челюстных костей [110]. Не исключены и другие локализации (лобная и затылочная кости, позвонки) [72]. Считалось, что поражение мелких костей кистей и стоп встречалось в более старших возрастных группах (фаланги пальцев, кости пясти и запястья, плюсны и предплюсны) [15]. Соотношение полов в пользу женского в два раза (2:1).

Клинические проявления обычно ограничиваются болевыми ощущениями и жалобами на увеличение объема пораженной части тела. Если ЦГКГ локализуется в верхней челюсти и распространяется на полость носа, может приводить к затруднению носового дыхания, носовым кровотечениям, потере чувствительности к запахам и головной боли. При возникновении в челюстях могут быть деформации зубов и аномалии прикуса. При возникновении ЦГКГ в рамках синдрома могут присутствовать дополнительные клинические признаки, характерные для данного синдрома. Иногда ЦГКГ может являться случайной находкой при обследовании по поводу других причин (травма, зубная боль и т.д.). В ряде случаев,

поражение протекает агрессивно, характеризуется инвазивным ростом и частыми локальными рецидивами. Описаны случаи ЦГКГ полости носа с интракраниальной инвазией у 10-летней пациентки [65]. Учитывая вышесказанное, некоторые авторы выделяют неагрессивное (в большинстве случаев) и агрессивное клиническое течение ЦГКГ [110].

При рентгенологическом исследовании ЦГКГ представлена литическим хорошо ограниченным очагом, часто выходящим за нормальные анатомические границы кости (expanded). Размеры образования могут варьировать в широких пределах, от 5 мм (случайная находка) до 10 см и более. Кортикальный слой, как правило, не нарушен, но может быть истончен и фокально эрозирован. Периостальная реакция обычно не определяется или обнаруживается в виде ободка, непрерывного типа. Вовлечения в патологический процесс прилежащих мягких тканей обычно не отмечается, но не исключено при агрессивном клиническом течении заболевания. Образование может быть септированным, а также содержать кистозный компонент по типу вторичной АКК. При возникновении ЦГКГ в челюстях иногда удается обнаружить деформацию зубов и нарушение формирования прикуса.

При КТ-исследовании определяется хорошо ограниченный литический гиповаскулярный очаг, по плотности близкий к мышечной ткани.

При МРТ-исследовании выявляется гипоинтенсивный сигнал в T1 и T2 режимах.

Макроскопическое исследование. На распилах (срезах) очаг поражения, как правило, хорошо ограничен, солидный серовато-красного цвета, с участками кровоизлияний. В отдельных случаях может присутствовать кистозный компонент по типу вторичной АКК.

При гистологическом исследовании образование имеет относительно четкую границу, иногда в периферических зонах встречаются очаги реактивного костеобразования в виде незрелой грубоволокнистой костной ткани. Состоит из вытянутых веретеновидных клеток, ядра которых также

вытянутой формы. Клетки могут формировать хаотично расположенные в пространстве пучки. Межклеточный матрикс коллагенизированный. Митотическая активность низкая или не определяется. Некоторые авторы сообщают, что веретеновидные клетки при ЦГКГ активируют дифференцировку предшественников остеокластов через RANKL/RANK механизм [110]. Поэтому, одним из постоянных гистологических признаков ЦГКГ является обнаружение кластеров гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток, которые имеют тенденцию к неравномерному распределению, чаще концентрируются вокруг очагов кровоизлияний. Часто выявляются экстравазатные эритроциты, гранулы гемосидерина и гемосидерофаги (хорошо видны при окраске на железо по Перлсу). В некоторых участках может быть обнаружена слабо выраженная воспалительная инфильтрация, в основном, за счет лимфоцитов.

Для ЦГКГ не существует определенного иммунофенотипа. В некоторых литературных источниках можно найти сведения о позитивной реакции с р63 на веретеновидных клетках (не является специфичной только для ЦГКГ). Гигантские многоядерные клетки экспрессируют CD68 [66], Macrophage.

В доступных литературных источниках нами не обнаружено информации о каких-либо хромосомных или геномных поломках при ЦГКГ. В 2014 году исследователи из Великобритании Adrienne M. Flanagan и Paul M. Speight опубликовали статью «Giant Cell Lesions of Craniofacial Bones», в которой кратко и удачно суммировали последние знания о гигантоклеточных поражениях костей, в том числе о генетических абберациях [71]. Они также не нашли генетических дефектов в рамках группы ЦГКГ. Однако, удалось четко генетически разграничить ГКО (H3F3A p.Gly34Trp), ЦГКГ и АКК (t(16;17)(q22;p13)) и убедительно показать, что это абсолютно разные новообразования.

Дифференциальная диагностика ЦГКГ проводится с другими ГКП (ГКО, АКК, ГКЛ), а также с фиброзной дисплазией, ювенильной

оссифицирующей фибромой и группой одонтогенных опухолей (при локализации в челюстях).

Основным методом лечения ЦГКГ является хирургический. Объем и выбор тактики лечения зависят от распространенности поражения, локализации, возраста пациента и других факторов. Применяется как кюреттаж, так и радикальная резекция образования en block. Применяют введение кортикостероидов в очаг поражения. Существуют и терапевтические методы лечения (прием препаратов, содержащих кальцитонин) [74].

1.3.3 Аневризмальная костная киста (АКК).

Аневризмальная костная киста (АКК) – это локально деструктивное доброкачественное неопластическое поражение кости, состоящее из множества кистозных полостей, заполненных кровью [15].

Впервые была описана в 1942 году Jaffe и Lichtenstein [44]. Они анализировали случаи простой костной кисты и 2 из них не вписывались в это определение так как «вздували» кость на рентгенограмме и содержали множественные полости, заполненные кровью при патоморфологическом исследовании. Позже они собрали большее количество подобных наблюдений, что позволило окончательно разделить понятие простой костной (однокамерной) и аневризмальной костной кисты. До этого события использовались различные термины для обозначения данной патологии, например, «атипическая гигантоклеточная опухоль кости», «субпериостальная гигантоклеточная опухоль», «доброкачественная костная аневризма» или «оссифицирующая гематома» [46].

Этиология и патогенез данной опухоли остаются до конца не изученными по настоящее время. Существует лишь несколько теорий возникновения АКК, учитывающих влияние различных предрасполагающих факторов (локальных сосудистых, травматических и генетических). Наиболее распространенной до недавнего времени была гипотеза о локальных

сосудистых нарушениях в костной ткани. Считалось, что нарушение микроциркуляции приводило к повышению венозного давления с последующей дилатацией сосудов и возникновению АКК [47].

Частота выявления АКК в общей популяции 0,14 на 100000 населения. В структуре всех новообразований костей на АКК приходится от 1% [43] до 9,1% [42].

Выделяют первичные и вторичные АКК. Первичной считается АКК в которой не выявлены признаки иной опухоли. Вторичной считается АКК, которая является лишь элементом в структуре другой опухоли кости (например, вторичная АКК при ГКО, хондробластоме и др.) [59]. На долю первичной АКК приходится от 50 до 70% случаев, на долю вторичной 30 – 50% [45]. В данном контексте речь по умолчанию идет о первичной АКК, как о самостоятельной нозологической единице.

Может наблюдаться во всех возрастных периодах, однако, наиболее часто встречается у детей и подростков (до 80%), несколько реже встречается у детей в возрасте младше 5 лет. Распределение полов примерно равное. Часть авторов пишут о незначительном преобладании лиц женского пола среди заболевших с соотношением 1:1,3 [43].

В патологический процесс могут быть вовлечены любые кости скелета, но обычно АКК возникает в зоне метафизов длинных трубчатых костей (бедренная, большеберцовая и плечевая кости), составляя 50-60% (40% приходится на длинные трубчатые кости нижних конечностей и 20% на длинные трубчатые кости верхних конечностей). Часто можно встретить поражение задних элементов позвонков (20-30%), мелких костей кистей и стоп [57; 61], а также плоских костей скелета (кости таза, лопатка). В костях черепа и челюстях регистрируется редко. Есть единичные описания АКК мягких тканей (экстраскелетная локализация) [56].

Наиболее постоянными клиническими проявлениями при АКК являются болевые ощущения и увеличение объема пораженной кости (конечности), в части случаев может формироваться деформация. Если

опухоль располагается в позвонках, может присутствовать локальная неврологическая симптоматика.

При рентгенологическом исследовании выявляется эксцентрический литический очаг поражения, как правило, выходящий за нормальные анатомические границы кости, с истончением кортикального слоя, на большем протяжении хорошо ограничен за счет тонкого склеротического «ободка» (периостальная реакция). Толщина данного «ободка» зависит от темпов роста опухоли, чем медленнее рост, тем больше толщина и наоборот. При локально агрессивном поведении АКК можно наблюдать разрушение кортикального слоя кости, а также участки «потери» границ опухоли в прилежащих мягких тканях. Некоторых случаях хорошо видна септированность образования, поэтому, некоторые авторы применяют для описания рентгенологической картины термин «мыльные пузыри» [42]. При больших объемах поражения опухоль может разрушать ростковую пластинку, распространяясь на эпифиз с последующей деструкцией суставного хряща. Такой «агрессивный» характер поведения делает необходимым дифференцировать АКК с ГКО и остеосаркомой.

При КТ-исследовании более четко видны границы и распространенность опухоли, что позволяет более детально стадировать патологический процесс (Enneking staging system).

При МРТ-исследовании характерно обнаружение множественных уровней жидкости (fluid-fluid levels) в режиме T2 вследствие разделения компонентов крови и их различной суммарной плотности (сыворотка/форменные элементы).

При макроскопическом исследовании АКК выглядит как мультикистозное образование, полости которого заполнены кровью. Границы образования относительно четкие. На отдельных участках может разрушать кортикальный слой кости, выходя за ее нормальные анатомические границы. Септы, разделяющие полости могут быть переменными по толщине. Встречаются солидные участки, которые

следует обязательно брать в исследование в полном объеме для возможного обнаружения иной опухоли и исключения вторичного характера АКК. В редких случаях может преобладать солидный компонент, преобладание которого над кистозным представляет значительные сложности в диагностике. При таких наблюдениях на параллельных распилах (срезах) преобладает солидная красновато-розовая ткань.

Выделяют два гистологических варианта АКК: классический – кистозный (составляет порядка 95% случаев) и солидный (5%), в зависимости от преобладания того или иного компонента [43].

При гистологическом исследовании опухоль хорошо ограничена, состоит из кистозных полостей, заполненных эритроцитами. Стенки таких полостей не содержат эндотелиальных клеток. Септы представлены зрелой соединительной тканью, состоящей из вытянутых фибробластоподобных клеток. Причем, клеточная плотность отличаться в различных полях зрения. Митотическая активность может быть от минимальной до умеренной, но при этом, не обнаруживается патологических фигур митоза и признаков клеточной атипии. Легко можно найти очаги «реактивного» остеогенеза в виде незрелых трабекул грубоволокнистой костной ткани неправильной формы или фокусов остеоида, обычно в окружении пролиферирующих клеток остеобластического ряда. В одной трети случаев обнаруживаются структуры неравномерной минерализации, так называемые «blue bone», так как окрашиваются базофильно. Такая находка не является строго специфичной для АКК, так как может встречаться при других опухолях. Практически во всех наблюдениях можно выявить депозиты гемосидерина и небольшие скопления гемосидерофагов (лучше видны при окраске на железо по Перлсу), а также очаговые кровоизлияния. Очаги некроза могут быть выявлены при наличии в анамнезе патологического перелома.

Одним из постоянных гистологических признаков АКК является выявление гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток, которые могут распределяться неравномерно, местами образуя целые кластеры. В

случаях, когда преобладает солидный компонент и при наличии большого количества гигантских многоядерных клеток, возникают трудности в дифференциальной диагностике с другими ГКП, в частности, с ГКО и ЦГКГ. Данное обстоятельство может быть причиной грубых диагностических ошибок и неправильной лечебной тактики.

Впервые термин «солидный вариант АКК» применил в 1982 году N.G. Sanerkin et al. [50] для описания 4 случаев (3 с поражением позвонков и 1 решетчатой кости), в которых морфологическая картина напоминала по строению солидный компонент АКК, но при этом отсутствовал кистозный. Он выделил несколько гистологических признаков, присущих такому варианту АКК:

1. Фибробластическая и/или фиброгистиоцитарная пролиферация без признаков ядерной и клеточной атипии.
2. Поля зрения, богатые остеокластами. Распределяются по разному, но обязательно присутствуют во всех наблюдениях.
3. Очаги пролиферации остеобластов. Чаще выявляются в местах продукции остеоида и незрелой костной ткани.
4. Аневризмальные синусоиды, стенки которых образованы фиброзной тканью, содержащей остеокласты.
5. Иногда встречаются очаги фибромиксоидной ткани (следствие дегенеративных изменений).

Основываясь на вышеизложенном, ретроспективно интересным представляется факт публикации David C. Dahlin в 1977 году статьи, в которой был описан 31 случай ГКО позвоночника (не самая частая локализация для ГКО). При этом, 8 из этих пациентов были в возрасте от 2 до 17 лет (что не характерно для ГКО). Автор делает акцент на том, что по всей видимости, ГКО с локализацией в позвонках, имеет свои особенности в сравнении с ГКО других локализаций (в частности, возраст пациентов). В разделе о дифференциальной диагностике он сфокусировал внимание на различиях между ГКО и АКК, однако, из-за отсутствия кистозного

компонента в описываемых им случаях, диагноз АКК был на тот момент им исключен [51]. В настоящее время можно найти работы, посвященные описанию солидного варианта АКК с поражением позвонков и других локализаций у детей, однако, без исследования перестройки USP6 гена [62; 63].

При иммуногистохимическом исследовании для АКК не выявлено специфического иммунофенотипа (как и для большинства других первичных опухолей костей). Однако, косвенным подтверждением АКК является отсутствие эндотелиальных клеток на поверхности кистозных полостей (CD34-, CD31-), внутренним позитивным контролем служат эндотелиоциты сосудов и капилляров септ и солидного компонента АКК. Гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки позитивны в отношении анти-CD68. Сложнее интерпретировать данные при солидном варианте АКК, так как в таких новообразованиях могут полностью отсутствовать кистозные структуры, лишённые эндотелиоцитов как при кистозном варианте, при одновременной интенсивной васкуляризации солидного компонента с большим количеством гигантских многоядерных клеток.

При цитогенетическом исследовании для первичной АКК в 70% случаев характерно обнаружение t(16;17) с перестройкой USP6 (TRE2 or TRE17) гена (fusion genes). Первое сообщение о такой находке появилось в 1999 году Panoutsakopoulos et al. [48]. Данная работа поставила под сомнение распространенное до этого мнение многих исследователей об АКК как о реактивном опухолеподобном патологическом процессе.

Позднее было показано, что чаще всего при АКК определяется перестройка генов партнеров CDH11- USP6, однако, описаны и другие варианты. Было обнаружено, что при вторичных АКК данная перестройка не выявляется [45]. Впервые эти данные были опубликованы Andre M. Oliveira et al. в ноябре 2004 [47]. При этом было отмечено, что перестройка генов USP6 и CDH11 наблюдалась только в веретеновидных клетках АКК и не обнаруживалась в гигантских многоядерных клетках (остеокластах),

остеобластах, эндотелиальных клетках, гистиоцитах и клетках воспалительного инфильтрата. Данное обстоятельство позволяет рассматривать гигантские многоядерные клетки при АКК как элемент реактивного клеточного окружения.

Следовательно, для АКК подтверждается клональная неопластическая пролиферация, обусловленная активацией онкогена, локализованного на коротком плече 17-й хромосомы. Данное обстоятельство ставит под сомнение утверждения авторов, рассматривающих АКК как реактивный опухолеподобный патологический процесс.

Дифференциальная диагностика АКК проводится прежде всего с телангиэктатической остеосаркомой, простой костной кистой и фиброзной дисплазией (классический кистозный гистологический вариант), а также с ГКО, НОФ/МФД и ЦГКГ (солидный гистологический вариант).

Солидный вариант АКК и гигантоклеточная гранулема многими авторами рассматриваются как абсолютные синонимы, так как не существовало работ, позволяющих обнаружить какие-либо дифференциальные признаки. Считалось, что гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ) чаще встречается в челюстях и мелких костях кистей и стоп. В 2014 году Narasimhan P Agaram et al. исследовали АКК и гигантоклеточную гранулему на предмет перестройки USP6 гена [49]. Было обнаружено, что гигантоклеточные гранулемы мелких костей кистей и стоп имеет перестройку USP6 гена, а поражения челюстных костей нет. Был сделан вывод, что гигантоклеточные гранулемы костей кистей и стоп следует переквалифицировать в солидный вариант АКК. В свою очередь, локализация гигантоклеточных гранул стала еще более ограниченной (верхняя и нижняя челюсть – ЦГКГ). Таким образом, единственный способ отличить солидный вариант АКК от ЦГКГ – это цитогенетическое исследование на предмет перестройки гена USP6.

В настоящее время применяется несколько лечебных опций для пациентов с АКК. Одним из радикальных методов лечения является резекция

en block, если это возможно (малоберцовая кость, ребра) [60]. Частота локального рецидива при этом минимальна. Чаще в хирургической практике используется кюреттаж с обработкой различными химическими агентами [55] и последующим заполнением образовавшейся полости специальным материалом или костной тканью. Частота рецидива при таком методе хирургического лечения достигает 50% [53]. Используется также метод селективной эмболизации сосудов, в частности, при лечении АКК позвонков, с разным количеством сеансов в зависимости от локального эффекта и возникающих осложнений [54]. Есть сообщения об эффективности чрескожных инъекций кальцитонина и стероидов в АКК под местным контролем КТ [58].

Описаны единичные случаи злокачественной трансформации [15] и даже метастазирования АКК в легкие [52].

1.3.4 Хондробластома (ХБ).

Хондробластома (ХБ) – доброкачественная хондроид-продуцирующая опухоль, состоящая из хондробластов, как правило, возникающая в эпифизах длинных трубчатых костей, при условии открытых зон роста (незрелый скелет) [17].

Известны также следующие синонимы: кальцифицирующая гигантоклеточная опухоль, опухоль Кодман, эпифизарная хондроматозная гигантоклеточная опухоль.

Составляет 1% среди всех опухолей костей, и от 5 до 9% среди доброкачественных костных опухолей [91; 88; 118], встречается с частотой 1,18 на 1 млн. населения, чаще регистрируется у подростков (2-я декада), гендерное соотношение в пользу мужского пола с соотношением 2:1 [17].

Самая частая локализация – это эпифизы длинных трубчатых костей (проксимальный эпифиз плечевой кости, дистальный бедренной кости и проксимальный эпифиз большеберцовой кости). Реже возникает в костях краниофациальной зоны (чаще височная кость), составляя 6,6 – 7,1% всех

случаев. При этом, средний возраст пациентов старше (39,4 лет), чем при локализации опухоли в эпифизах длинных трубчатых костей [81; 111], некоторые авторы приводят другие цифры (40-50 лет) [83]. Есть единичные описания ХБ ладьевидной кости [90], ребер [119] или в области ската (clivus) [81]. Интересным представляется описание двух случаев ХБ китайскими докторами Jilong Yang et al. [94] с локализацией в диафизе большеберцовой и плечевой кости, причем среди всего 7 наблюдаемых ими пациентов с ХБ.

Наиболее частой жалобой пациентов является боль, в том числе в области сустава, иногда в течении нескольких месяцев или лет. В части случаев отмечается увеличение объема пораженной части тела, ограничение подвижности в суставе. При локализации опухоли в височной кости могут быть такие симптомы как асимметрия лица, потеря слуха, диплопия, боли в области уха, головные боли.

При рентгенологическом исследовании выявляется литический очаг, который имеет четкие границы, почти всегда обнаруживается неравномерно выраженная зона остеосклеротических изменений в периферических отделах. При больших размерах опухоль может распространяться в направлении метафиза через ростковую пластинку. В редких случаях может наблюдаться фокальное разрушение опухолью кортикального слоя [93], что может имитировать злокачественный процесс. Часто опухоль продуцирует хондроидный матрикс, определяемый на рентгенограммах (punctate calcification) примерно в одной трети случаев [108].

При МРТ-исследовании в режиме T1 чаще наблюдается низкий уровень сигнала, в режиме T2 гетерогенная картина за счет возможных зон кальцификации и вторичных кистозных изменений [93]. Также, при МРТ-исследовании вокруг очага поражения можно выявить перифокальный отек и выпот в соответствующем суставе. Нередко обнаруживается кистозный компонент с характерными уровнями жидкости (fluid-fluid levels) по типу вторичной аневризмальной костной кисты [108].

Поскольку при данной опухоли в большинстве случаев применяется кюретаж, при макроскопическом исследовании материал фрагментирован, состоит из серовато-розовых частиц ткани. Можно обнаружить мелкие рассеянные кальцинаты и очаговые кровоизлияния. При резекции на распиле опухоль хорошо отграничена, обычно менее 5 см в диаметре. По периферии образования обнаруживаются зоны остеосклеротических изменений. Иногда присутствует кистозный компонент по типу вторичной АКК.

При гистологическом исследовании на малом увеличении опухоль имеет четкие границы и неравномерную клеточность. Определяются зоны с хондронидным слабоэозинофильным межклеточным матриксом (фиброхондронидный матрикс), что в части случаев может вызывать определенные сложности в дифференциальной диагностике с остеонидом. Следует отметить, что хондронидный матрикс в хондробластоме практически никогда не встречается. Обнаруживается два вида клеток – мононуклеарные клетки и гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки. Соотношение их может быть различным в разных полях зрения. Мононуклеарные клетки по морфологии напоминают хондробласты, с хорошо различимыми клеточными границами, овальной или неправильной формы, с бледно эозинофильной цитоплазмой. Ядра расположены эксцентрично, овальной формы, в части из них выявляется продольная бороздка (coffee bean). Митотическая активность умеренная, патологические формы не определяются. В одной трети случаев удается обнаружить участки с нежной перицеллюлярной кальцификацией, которые носят название проволочной сетки или куриной сетки (chicken wire). Гигантские многоядерные клетки могут быть многочисленными, содержат порядка 10 и более ядер, хотя их количество варьирует. При локальных скоплениях могут вызывать сложности в дифференциальной диагностике с другими ГКП. Могут встречаться очаги реактивного остеогенеза, особенно в таранной и пяточной костях [83]. Вторичная АКК встречается при ХБ в 14 – 30% наблюдений [88; 45; 114]. В некоторых опухолях (чаще краниофациальной

локализации) можно выявить крупные клетки, напоминающие эпителиоидные, с обильной цитоплазмой, содержащей гранулы гемосидерина [95]. В крайне редких случаях при ХБ могут быть обнаружены опухолевые эмболы в сосудах, обычно в периферических зонах. По всей видимости, данная находка не имеет никакого прогностического значения.

Следует помнить, что типичные гистологические признаки при ХБ встречаются далеко не во всех случаях и только в редких опухолях удастся обнаружить все из них (фиброхондроидный матрикс, перицеллюлярная кальцификация “chicken wire” и продольные бороздки в неопластических клетках).

При иммуногистохимическом исследовании клетки опухоли позитивны в отношении S-100 Protein и COX9. Интересным является факт, что неопластические клетки при ХБ экспрессируют RANKL [113]. Гигантские многоядерные клетки позитивны к гистиоцитарным маркерам (CD68, Macrophage).

При электронной микроскопии в клетках опухоли выявляется развитая гранулярная эндоплазматическая сеть, ядерная мембрана имеет глубокие вдавления. Такие признаки характерны для фетальных хондробластов [83].

Попытки выявления специфических генетических поломок при ХБ предпринимались неоднократно. Так например, в 2009 году Salvatore Romeo et al. описали новую транслокацию t(5;17) (p15;q22-23) в ХБ [89]. При этом, данная транслокация определялась только непосредственно в клетках опухоли и не выявлялась в гигантских многоядерных клетках, что подчеркивает их «реактивное» происхождение. В конце 2013 года Sam Behjati et al. опубликовали данные исследования о наличии драйверных мутаций при ХБ (H3F3B) и ГКО (H3F3A) [92]. Было показано, что 95% ХБ (73 из 77) имеют мутацию K36M в H3F3B в одном из двух генов, кодирующих гистон 3.3.

Дифференциальная диагностика при ХБ проводится с ГКО, АКК и хондромиксоидной фибромой.

Частота локального рецидива после кюреттажа опухоли составляет от 10 до 35% [120]. Рецидивы чаще регистрируются в плоских костях, например, в височной (до 50%). При агрессивном локальном поведении ХБ с разрушением кортикального слоя, может применяться радикальная резекция. В крайне редких случаях отмечается метастатическое поражение легких. Однако данные метастазы являются «доброкачественными» и не представляют опасности для пациентов [83], однако, подлежат хирургическому иссечению. Описаны единичные случаи трансформации ХБ в классическую остеосаркому [117].

1.3.5 Метафизарный фиброзный дефект / Неоссифицирующая фиброма (МФД/НОФ).

Неоссифицирующая фиброма (НОФ) – часто встречающееся доброкачественное поражение костей у детей и подростков, состоящее из пролиферирующих вытянутых фибробластов, в сочетании с переменным количеством гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток [15]. Существует несколько синонимов: метафизарный фиброзный дефект (МФД), кортикальный фиброзный дефект (КФД), гистиоцитарная фиброма и фиброзная ксантома. Если речь идет о небольших поражениях кортикального слоя, чаще употребляют термин МФД или КФД. Когда поражение распространяется медуллярно, а тем более, при возникновении угрозы патологического перелома, применяют термин НОФ.

В большинстве случаев поражение не имеет клинической симптоматики, может самопроизвольно разрешаться и, как правило, является случайной находкой во время обследования. При активно растущих поражениях, иногда появляются жалобы на локальные болевые ощущения [18]. Часть исследователей рассматривают НОФ не как истинную опухоль, а как локальный дефект остеогенеза в процессе роста костей скелета [9]. Множественный характер поражения встречается редко, чаще в рамках синдрома Яффе-Кампаначи (Jaffe-Campanacci syndrome), который помимо

множественных НОФ характеризуется наличием светло-коричневых пятен на коже (Café au lait spots), может сопровождаться отставанием в умственном развитии, гипогонадизмом или крипторхизмом, пороками развития сердечно-сосудистой системы, глаз, а также сочетаться с нейрофиброматозом [11; 12].

Частота обнаружения МФД/НОФ достигает 30%. Однако, так как клиническая симптоматика чаще всего отсутствует, истинная распространенность остается неизвестной. МФД/НОФ регистрируется чаще у детей и подростков, редко в возрасте младше 5 лет и у взрослых старше 20 лет.

МФД/НОФ локализуется в метафизах длинных трубчатых костей и по мере роста костей скелета может немного смещаться в сторону диафиза. Хорошо известно, что область метафиза и ростковой пластинки (growth plate) являются местами наиболее интенсивного роста костей у детей и подростков. Возможно поэтому, МФД/НОФ, как локальный «дефект остеогенеза», возникают именно в этой зоне. Некоторые авторы считают, что пусковым механизмом для развития МФД/НОФ может служить незначительная травма с субпериостальным кровоизлиянием [13]. Большинство поражений возникает в метафизах длинных трубчатых костей в зоне коленного сустава, однако, описаны случаи возникновения в костях таза, позвонках, ключице [16] и даже в нижней челюсти [9; 10]. Однако, при исследовании опухолей нижней челюсти, в первую очередь следует проводить дифференциальную диагностику с ЦГКГ.

Описан случай сочетания НОФ с остеосаркомой в дистальном метафизе бедренной кости у 15-летней девочки [18].

При рентгенологическом исследовании МФД выглядит как округлое или овальной формы литическое образование коркового слоя (или субпериостально), чаще немного вытянуто параллельно оси кости. Границы четкие, как правило, хорошо заметна небольшая зона остеосклероза вокруг. По мере роста МФД начинает распространяться в медуллярном направлении. Поэтому НОФ всегда выглядит эксцентрично, но также с четкими границами

и зоной перифокальных остеосклеротических изменений. В больших поражениях, занимающих более трети-половины поперечника кости, часто можно обнаружить дольчатость за счет склерозированных септ в составе которых при гистологическом исследовании определяется фиброзная ткань с очагами реактивного остеогенеза. При больших объемах поражения заболевание может манифестироваться патологическим переломом. В редких случаях контуры НОФ могут выходить за анатомические пределы кости. Периостальная реакция в большинстве случаев отсутствует, либо определяется в виде тонкой пластины (ободок).

Ritschl P. et al. [14] описали процесс эволюции МФД и НОФ от их возникновения до полного склерозирования, основываясь на рентгенологических данных и выделили 4 стадии: А, В, С и D. Стадия А: небольшой кортикальный округлый или овальный эксцентричный очаг обнаруживается вблизи ростовой пластинки (близко к эпифизу). Зона перифокального склероза практически отсутствует. Стадия В: очаг поражения отдален от эпифиза, приобретает неправильные «поликистозные» очертания, появляется тонкий склеротический ободок по периферии. Стадия С: склеротические изменения становятся выраженными, причем начинаются, как правило, с диафизарного полюса образования. Стадия D: образование полностью замещается гомогенной зоной склеротических изменений. Затем МФД/НОФ замещаются нормальной костной тканью и исчезают рентгенологически. Активный рост МФД и НОФ происходит на стадиях А и В, при выявлении образования в стадиях В и С увеличения в размерах в динамике не наблюдалось.

Рентгенологическая картина НОФ/МФД настолько типична, что в подавляющем большинстве случаев диагноз может быть выставлен только на основании рентгенологического исследования. Так как НОФ/МФД относятся к группе поражений костей «leave me alone lesion», это служит основанием для наблюдения и периодического рентгенологического исследования. Так как НОФ/МФД способны разрешаться самопроизвольно во время роста и

созревания костей скелета, активная хирургическая тактика не оправдана. Хирургические методы лечения применяются только при больших объемах образования, когда возникает угроза патологического перелома или НОФ манифестируется клинически патологическим переломом.

По системе стадирования Enneking для доброкачественных опухолей, НОФ/МФД, в большинстве случаев имеют 1 стадию (G0T0M0), в редких случаях при распространении за пределы нормальных анатомических границ кости – вторую.

При макроскопическом исследовании поражение хорошо ограничено, желтовато-серого цвета. Могут быть кистозные изменения, очаги кровоизлияний. Участки некроза могут быть выявлены после патологического перелома.

При гистологическом исследовании образование хорошо ограничено, состоит из фибробластоподобных веретеновидных клеток, образующих хаотично ориентированные пучки и шториформные структуры. Ядра овальной или вытянутой формы, мелкие ядрышки выявляются не во всех ядрах. Митотическая активность достоверно не определяется или обнаруживаются немногочисленные фигуры митоза. Одним из постоянных морфологических признаков является выявление кластеров крупных гистиоцитов или ксантомных клеток с обильной светлой цитоплазмой. Почти всегда можно обнаружить мелкие рассеянные гранулы гемосидерина, которые лучше видны при специальной гистохимической окраске на железо. Часто можно выявить скопления гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток. Нередко обнаруживаются кистозные изменения по типу вторичной аневризмальной костной кисты. При больших объемах образования могут быть выявлены зоны реактивного остеогенеза в виде грубоволокнистой костной ткани (woven bone), зоны гипоклеточной зрелой соединительной ткани. Если НОФ осложнилась патологическим переломом, часто определяются зоны некротических изменений.

Дифференциальную диагностику следует проводить с фиброзной дисплазией, аневризмальной костной кистой, гигантоклеточной опухолью, хондромиксоидной фибромой и десмопластической фибромой.

Несмотря на высокую распространенность данной патологии, осведомленность хирургов, специалистов лучевой диагностики и патологоанатомов в отношении такого диагноза остается крайне низкой.

1.3.6 Классическая (конвенциональная) остеосаркома (КО).

Остеосаркомой называется злокачественная остеогенная опухоль, состоящая из неопластических клеток, которые продуцируют остеонид или субстанцию гистологически неотличимую от него хотя бы в одном из полей зрения [16].

Классическая остеосаркома (КО) является наиболее частой первичной саркомой высокой степени злокачественности (high-grade) с поражением костей [19]. Частота возникновения от 10 до 26 новых случаев на 1 миллион населения планеты в год [20]. Имеет бимодальное возрастное распределение. Первый пик в возрастной группе 10 – 14 лет, второй в возрасте старше 40 лет. Крайне редко встречается у детей младше 5 лет [21]. Гендерное распределение в пользу мужского населения с соотношением 1,35:1.

Этиология возникновения остеосаркомы неизвестна. Возникает de novo без каких-либо предрасполагающих факторов. Может появляться после травмы, инородного тела (ортопедические импланты) [17] или индуцироваться предшествующим облучением и/или химиотерапией [29]. Приводятся данные о повышенном риске возникновения остеосаркомы у детей с массой тела при рождении более 4046 г. и ростом выше среднего [22]. Считается, что развивается из мезенхимальной стволовой клетки с минимальной остеобластической дифференцировкой, однако, «cell of origin» остается неизвестной [23]. Наблюдается чаще среди различных генетически обусловленных синдромов, чем в общей популяции (Li-Fraumeni,

врожденной ретинобластоме, Rothmund-Thomson, анемии Diamond Blackfan, синдроме Bloom, Werner и других) [24].

КО может возникать в различных костях скелета. Однако, чаще в длинных трубчатых костях конечностей [25], особенно в дистальной части бедренной кости (30%), проксимальной части большеберцовой кости (15%), проксимальной части плечевой кости (15%). Данные локализации объясняются наибольшей пролиферацией «ростковой пластинки». В длинных трубчатых костях опухоль обычно локализуется в метафизе (90%), реже в диафизе (9%), и крайне редко в эпифизе. Опухоли с локализацией в челюстях, костях таза и позвонках, как правило, наблюдаются в старших возрастных группах. При поражении челюстей, опухоль чаще встречается в нижней челюсти, чем в верхней (58% и 42% соответственно) [26]. Вовлечение в патологический процесс мелких костей скелета отмечается редко [15].

Клинически проявляется прогрессирующим увеличением объема пораженной части тела. Беспокоит «глубокая» нарастающая боль, иногда в течение нескольких недель или месяцев. Кожа над опухолью может быть гиперемизированной, отечной, с подчеркнутым венозным рисунком. В запущенных случаях наблюдается изъязвление кожи над опухолью. Из-за большого объема поражения могут быть ограничены движения в соответствующем суставе, выпот в полость сустава. Иногда отмечается потеря веса и кахексия. В 5-10% наблюдений регистрируются патологические переломы. Есть данные, что у детей в возрасте до 5 лет чаще встречается диафизарная локализация, опухоль протекает более агрессивно и хуже отвечает на проводимую химиотерапию [27].

Рентгенологическая картина при КО может варьировать в широких пределах [7]. Обычно определяется большая опухоль, разрушающая надкостницу и пораженную кость (литический компонент), плохо ограничена, с массивным внекостным мягкотканым компонентом. Часто обнаруживается так называемый «облаковидный» паттерн (cloud-like) из-за

неравномерной оссификации опухоли. Большинство опухолей у детей, возникающих в метафизарной зоне вовлекают в патологический процесс ростковую пластинку, что усложняет хирургическую резекцию и приводит к нарушению синхронного роста конечности [28].

При макроскопическом исследовании остеосаркома обычно более 5-10 см в наибольшем измерении, с поражением метафизарного отдела кости, расположена интрамедуллярно, серовато-белого цвета, неоднородная. Интенсивно минерализованные участки костной плотности, зоны содержащие ткань с хондродифференцировкой на разрезе имеют характерный блеск, хрящевой плотности. Могут встречаться муцинозные очаги при наличии миксоидного матрикса. Часто обнаруживаются кровоизлияния, очаги некроза и кистозные изменения. При разрушении опухоли надкостницы, мягкотканый компонент чаще плохо ограничен.

При гистологическом исследовании классическая остеосаркома имеет достаточно большой спектр морфологических изменений. Опухоль инвазивно растет по костномозговым пространствам, замещая последние. Окружает и разрушает нормальные костные трабекулы. Неопластические клетки характеризуются обычно умеренно выраженной клеточной атипией и плеоморфизмом. По форме они могут быть эпителиоидными, плазмацитоидными, веретеновидными и/или округлыми. Цитоплазма чаще эозинофильная, может быть светлая. Обязательным гистологическим критерием для постановки диагноза «классическая остеосаркома» является обнаружение неопластической костной ткани (патологический остеонид). Причем количество патологического остеоида не имеет значения, так как широко варьирует в различных полях зрения. Данный остеонид продуцируется неопластическими клетками и топографически обнаруживается рядом с ними и/или окружает их. Может образовывать подобие примитивной губчатой кости с хаотичной пространственной ориентацией «неопластических» трабекул. Неминерализованные депозиты патологического остеоида окрашиваются эозином, минерализованные

базофильны (окрашиваются гематоксилином). Достоверно отличить неминерализованный патологический костный матрикс (остеоид) от другого экстрацеллюлярного матрикса (коллаген) достаточно непросто. При большом увеличении микроскопа (x400) исследуя коллаген можно обнаружить фибриллярность, остеоид же более гомогенный.

В соответствии со специфическими гистологическими признаками, согласно классификации ВОЗ 2013 г. [15] классическая остеосаркома подразделяется на несколько гистологических вариантов:

1. Остеобластический (включая склерозирующий вариант).
2. Хондробластический.
3. Фибробластический.
4. Богатый гигантскими клетками (гигантоклеточный).
5. Остеобластомаподобный.
6. Эпителиоидный.
7. Светлоклеточный.
8. Хондробластомаподобный.

Однако, несмотря на выделение данных гистологических вариантов, не было выявлено различий в течении и прогнозе заболевания [28]. В пределах одной опухоли чаще всего обнаруживаются остеобластический, хондробластический и фибробластический варианты. Гистологический подтип определяется исходя из преобладающего паттерна в опухоли. Остеобластический вариант встречается в 76-80% случаев, хондробластический в 10-13%, фибробластический в 10%.

При остеобластическом варианте преобладает «неопластическая» кость в виде патологического остеоида, продуцируемого клетками опухоли. Обнаруживаются участки напоминающие по строению компактную кость (склерозирующий тип).

При хондробластическом варианте преобладают зоны с хондродифференцировкой в виде неопластического гиалинового хряща (high-grade). Могут быть миксоидные участки, чаще при поражении

челюстей. Неопластические клетки с фенотипом хондроцитов, с выраженной клеточной атипией, лежат в лакунарных пространствах хрящевого гиалинового матрикса или располагаются поодиночке или в виде тяжей в миксоидном матриксе. Хрящевой компонент может быть преобладающим или обнаруживаться в виде отдельных очагов.

При фибробластическом варианте неопластические клетки обычно веретеновидной формы, реже имеют эпителиоидный фенотип. В большинстве случаев выражена клеточная атипия. Клетки опухоли ассоциированы с экстрацеллюлярным коллагеном, вместе с которым часто образуют шториформный паттерн (ранее известный как вариант напоминающий злокачественную фиброзную гистиоцитому). Клетки с фибриллярной эозинофильной цитоплазмой, миофибробластической дифференцировкой. Остеокластоподобные многоядерные клетки не являются истинными клетками опухоли и могут быть обнаружены в разных полях зрения в разной концентрации.

При остеобластомаподобном варианте неопластические клетки отчетливо окружают остеонид и неопластическую костную ткань, напоминая строение остеобластомы. Однако, при КО присутствуют морфологические признаки клеточной атипии и высокая митотическая активность, в том числе, за счет патологических фигур митозов.

При эпителиоидном варианте обнаруживаются крупные полигональные неопластические клетки с эпителиоидной морфологией.

Хондробластомаподобный вариант напоминает по гистологическому строению хондробластому, однако, характеризуется инвазивным характером роста и клеточной атипией. Так как при данном гистологическом варианте классической остеосаркомы также могут присутствовать гигантские многоядерные клетки, он представляет определенные трудности в дифференциальной диагностике с другими ГКП костей у детей и подростков.

При варианте богатом гигантскими клетками в ткани опухоли выявляется большое количество гигантских многоядерных

остеокластоподобных клеток, которые по сути дела не являются неопластическими. Учитывая, что данный гистологический вариант КО встречается крайне редко, вероятность диагностической ошибки в таких случаях очень высока. В таких случаях возникает необходимость дифференциальной диагностики с другими ГКП костей (ГКО, АКК, ХБ, НОФ и др.).

Пациенты с классической остеосаркомой обычно получают предоперационную химиотерапию. Следовательно, важной задачей для патолога является адекватная оценка индуцированных посттерапевтических изменений в ткани опухоли, так как это один из значимых прогностических факторов, определяющих общую и безрецидивную выживаемость. Хорошим ответом является обнаружение менее 10% живой опухоли от ее общего объема (система Nuvos и соавт.) [17].

При иммуногистохимическом исследовании классической остеосаркомы не выявлено специфических маркеров, позволяющих достоверно проводить дифференциальную диагностику с другими неопластическими поражениями костей. Может наблюдаться экспрессия таких маркеров как S-100 Protein, Osteocalcin, Osteonectin, SMA, NSE и CD99. Следует помнить, что в ряде случаев встречается реакция с эпителиальными маркерами (panCK AE1/AE3 и EMA), что может приводить к диагностическим ошибкам.

При электронной микроскопии клетки опухоли имеют признаки мезенхимальных клеток с выраженной сетью эндоплазматического ретикулума. Ядро может располагаться эксцентрично, хорошо различим аппарат Гольджи. Межклеточный матрикс содержит коллагеновые фибриллы, в которых обнаруживаются депозиты кристаллов гидроксиапатита (патологический остеоид). Последний признак может быть полезным в дифференциальной диагностике с саркомой Юинга, метастатической карциномой, меланомой и лимфомой.

Большинство КО имеют комплексные (3 и более) хромосомные aberrации, как количественные, так и структурные. Модальное число

хромосом (общее количество хромосом) патологического клона очень вариабельно. Часто можно обнаружить сосуществование множества клонов, как родственных, так и неродственных. Изменчивость хромосомных aberrаций от клетки к клетке отражает тем самым высокий уровень генетической нестабильности и гетерогенности данного типа опухоли.

Повторяющиеся амплификации и увеличения копийности определенных участков ДНК были выявлены на нескольких определенных регионах хромосом: 1p36, 1q21-22, 6p12-21, 8q21-24, 12q11-14, 17p11-13, 19q12-13. Реже встречаются потери генетического материала регионов 3q13, 8p21, 9p13, 13q14 [30].

Частая делеция или потеря гетерозиготности участка 3q13 является специфичной aberrацией для остеосарком (в настоящий момент описана также только при раке яичника). В данном регионе картирован ген – онкосупрессор LSAMP (gene limbic system-associated membrane protein), регулирующий пролиферацию клеток, и, предположительно, играющий ведущую роль в патогенезе развития опухоли. Имеется тенденция к ассоциации делеции 3q12 с прогрессией и плохим прогнозом заболевания [31].

Амплификация и увеличение копийности региона 6p12-21 встречается в 40-50% случаев данного варианта опухоли. Потенциальным таргетным геном данного региона является ген RUNX2, участвующий в дифференцировке остеобластов. Высокий уровень экспрессии RUNX1 также ассоциирован с плохим ответом на терапию [32].

Делеция или потеря гетерозиготности генов-онкосупрессоров RB1 (retinoblastoma 1) (регион 13q13) и TP53 (tumor protein p53) (регион 17p), конституциональная инактивация которых ассоциирована с врожденной ретинобластомой и синдромом Ли-Фраумени, соответственно, встречается также в 35-40% случаях спорадических классических остеосарком [15; 33].

Следует отметить, что несмотря на большое разнообразие возможных генетических аномалий при остеосаркоме, не удалось обнаружить работы,

указывающие на ту или иную степень корреляции между типом генетических аномалий и морфологическим вариантом опухоли.

Дифференциальную диагностику классической остеосаркомы следует проводить с остеобластомой, хондросаркомой, дедифференцированной хондросаркомой, гигантоклеточной опухолью (особенно, вариант богатый гигантскими клетками), оссифицирующим миозитом, саркомой Юинга, аневризмальной костной кистой, фибросаркомой, причудливой параостальной остеохондроматозной пролиферацией [17].

Классическая остеосаркома характеризуется локально агрессивным ростом и быстрой гематогенной диссеминацией. Метастатическое поражение легких является наиболее частым. Описаны единичные случаи метастазирования остеосаркомы в желудок [34].

В первой половине двадцатого века 5-летняя выживаемость пациентов с классической остеосаркомой была не выше 20%. Одним из основных методов лечения была ампутация, однако, многие пациенты умирали от метастатического поражения легких. В 70-е годы 20-го века 5-летняя выживаемость при локализованных формах остеосарком повысилась и стала порядка 60-70% [25]. Данное обстоятельство было связано с началом применения химиотерапии в сочетании с усовершенствованием хирургической тактики. Некоторые авторы приводят более высокие цифры общей (75%) и бессобытийной (65%) 5-летней выживаемости при адекватной химиотерапии в сочетании с хирургическим лечением при отсутствии метастазов [28]. Однако, при метастатическом поражении 5-летняя выживаемость остается 25-30% по настоящее время, по данным разных авторов варьирует от 10 до 50%. Хуже прогноз при центральной локализации легочных метастазов [35]. Причем при радикальном иссечении метастазов в легких, выживаемость колеблется на уровне 12-23%, а при отсутствии метастазэктомии всего 2,6% [20]. Rajaram Nagarajan и соавт. [36] проследили выживаемость детей с диагнозом «остеосаркома» на протяжении более чем 20 лет. Согласно их данным, среди детей достигших 5-летний порог, 20-

летняя выживаемость составила 88,6%. Лучевая терапия при остеосаркомах не имеет значимой эффективности, а в ряде случаев может приводить к развитию вторичных индуцированных облучением злокачественных опухолей. Однако, некоторые авторы рекомендуют лучевую терапию в случаях нерезектабельных остеосарком [23].

Прогноз остеосаркомы зависит от многих факторов: возраст, пол, размеры (объем) опухоли, локализация, «чистота» хирургического края резекции и стадии. Например, локализованное дистальное поражение, более 90% химиотерапевтически-индуцированного некроза опухоли в сочетании с радикальной резекцией обеспечивает 5-летнюю выживаемость в более чем 80% случаев. Так например, есть работы, показывающие корреляцию между объемом некроза опухоли и прогнозом [37], уровнем экспрессии VEGF с худшим прогнозом и возможностью применения таргетной терапии [32; 38]. Некоторые авторы сообщают о лучшем прогнозе, если при морфометрическом исследовании обнаруживаются «большие и округлые» ядра неопластических клеток [39]. Хуже прогноз при проксимальной или аксиальной локализации опухоли, больших размерах, наличии метастазов и плохом ответе на проводимую предоперационную химиотерапию [15], при локализации опухоли в костях таза [40], при отклонении от нормального индекса массы тела на момент постановки диагноза [30]. Есть сообщения о зависимости интенсивности апоптоза неопластических клеток и прогноза [41].

1.3.7 Гигантоклеточные поражения костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи).

Одной из особенностей патологии костей у детей является обнаружение неопластических поражений в рамках различных синдромов (синдром множественных остеохондром, болезнь Олье, нейрофиброматоз и др.). Так например КО (в том числе и гигантоклеточный вариант) иногда наблюдается в рамках синдромов Li-Fraumeni, врожденной ретинобластоме,

Rothmund-Thomson, анемии Diamond Blackfan и других [24]. Группа ГКП костей не является исключением. Так например, ЦГКГ может встречаться в рамках нескольких синдромов. Одним из таких синдромов является херувизм (аутосомно-доминантное наследственное заболевание, картированное на хромосоме 4p16.3 SH3BP2). Он характеризуется билатеральным поражением челюстей, приводящим к выраженным деформациям лицевого скелета. Другим примером синдрома, в рамках которого можно встретить ЦГКГ является нейрофиброматоз 1 типа, синдром Яффе-Кампаначи [141] или синдром Нунан [17]. Описан случай сочетания нейрофиброматоза 1 типа, херувизма и множественного поражения скелета остеолитического характера [73]. Множественные МФД/НОФ можно встретить в рамках синдрома Яффе-Кампаначи.

Херувизм – аутосомно-доминантное наследственное заболевание, характеризующееся симметричным поражением верхней и нижней челюсти [116]. Ранее для обозначения данной патологии использовались следующие синонимы: семейная фиброзная дисплазия и ювенильная фиброзная дисплазия. Истинная частота данного заболевания неизвестна, так как оно встречается редко. Считается, что наблюдается чаще у детей и имеет тенденцию к регрессу в подростковом возрасте.

В этиологии придают значение мутации SH3BP2 гена, локализованного на хромосоме 4p16.3. Данная поломка выявляется в 80% случаев.

Синдром Яффе-Кампаначи – редкое заболевание, характеризующееся множественным поражением костей (НОФ), пятнами на коже (café-au-lait spots), чаще в сочетании с клиническими проявлениями нейрофиброматоза 1 типа [9; 115].

Впервые в 1958 году Яффе описал сочетание множественных НОФ и характерных пятен на коже в сочетании с нейрофиброматозом 1 типа, предполагая как необычный вариант течения последнего. Определение синдрома как «Яффе-Кампаначи» было предложено Mirra и соавт. в 1982 году [126]. В 1983 году Campanacci и соавт. опубликовали серию

наблюдений, состоящую из 10 пациентов с таким синдромом и предложили критерии его диагностики, актуальные по настоящее время [127]. В доступной медицинской литературе на сегодняшний день описано всего несколько десятков случаев [115; 128], при этом многие без генетической верификации диагноза.

1.3.8 Другие поражения костей с гигантоклеточным компонентом.

К другим поражениям костей с наличием гигантоклеточного компонента можно отнести гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) и так называемую «коричневую» опухоль при гиперпаратиреозе [105; 106; 107]. Данные поражения костей иногда могут представлять сложности в процессе дифференциальной диагностики с другими ГКП при малом объеме исследованного материала, особенно без учета возраста, клинических проявлений и использования лучевых методов диагностики. Однако, в большинстве случаев, при комплексном междисциплинарном подходе таких затруднений можно избежать. Так например, ГКЛ относится к группе гистиоцитарных поражений, в ряде случаев характеризуется не только множественными литическими очагами в костях, но и сочетается с поражением кожи и внутренних органов (генерализованная форма). При морфологическом исследовании неопластические клетки имеют характерные признаки (продольные бороздки в ядрах). При иммуногистохимическом исследовании клетки опухоли экспрессируют Langerin и CD1a. Таким образом, ГКЛ не представляет проблем в дифференциальной диагностике с другими представителями ГКП костей у детей и большинством авторов не рассматривается в данном контексте.

«Коричневая опухоль» при гиперпаратиреозе (ГПТ) характеризуется наличием деструктивных кистоподобных очагов в костях скелета в результате остеокластической резорбции костной ткани [83]. В типичных случаях диагноз может быть выставлен при исследовании уровней кальция, фосфора и паратгормона в периферической крови [106].

«Коричневая» опухоль при гиперпаратиреозе, в основном, встречается у взрослых пациентов, в наших исследованиях у детей не встречалась.

1.4 Заключение.

Как видно из приведенного обзора, ГКП костей у детей и подростков представляют собой сложную многокомпонентную задачу как на различных этапах диагностики, так и в выборе дальнейшей лечебной тактики и определения прогноза заболевания. Для успешного решения такой задачи необходим комплексный междисциплинарный подход в плане адекватной оценки и сопоставления информации о пациенте и его заболевании на всех этапах, начиная от подробного анамнеза и оценки данных инструментальной диагностики до внимательной интерпретации морфологической картины и применения дополнительных методов исследования (иммуногистохимия, цитогенетика, секвенирование и др.).

Так как основным компонентом всех ГКП костей является присутствие в разных количествах и соотношениях гигантских многоядерных клеток (остеокластов), данное обстоятельство зачастую обуславливает наличие сходных клинических признаков. Так, при многих ГКП жалобы пациентов похожи и не имеют какой-либо специфики, как например, при остеоид остеоме (ночные боли, купирующиеся приемом НПВС). При анализе данных лучевой диагностики и МРТ-исследования при всех ГКП обнаруживается литический компонент поражения, связанный в большей степени, с наличием остеолитического потенциала гигантских многоядерных клеток. Стоит отметить, что даже в современных руководствах, посвященных лучевой и МРТ-диагностике (Musculoskeletal Imaging), описание признаков, характерных для ГКО и ГКП мелких костей скелета описываются в одном разделе “Osteoclastic Giant Cell Rich Tumors” [108]. Наибольшие литические изменения чаще всего наблюдаются при ГКО, которая содержит большое количество остеокластоподобных многоядерных клеток. А при оценке гистологической картины опухоли, многие ГКП могут иметь чуть ли не

идентичную морфологическую картину, особенно, при наличии малого объема диагностического материала. Так, например, в некоторых наших наблюдениях ЦГКГ челюсти была гистологически неразличима с ГКО (так как вместо веретеночлечного компонента преобладал моноклеарный), а ХБ морфологически была трудно отличимой от ГКО (большое количество крупных многоядерных клеток, отсутствие очевидных признаков ХБ) и т.д.

Следовательно, даже самый тщательный анализ данных, но в рамках одного диагностического уровня (анамнез, инструментальная диагностика и морфологическое исследование) крайне ограничен в сравнении с комплексной оценкой.

Так, например, для корректной диагностики ЦГКГ необходимо принимать во внимание, что она чаще возникает у подростков (2-я декада жизни), излюбленная локализация данного образования – это верхняя и нижняя челюсть, имеет солитарный тип поражения (если не встречается в рамках херувизма или нейрофиброматоза 1 типа), медленные темпы роста (от нескольких месяцев до нескольких лет), представлена литическим очагом поражения с четкими границами. При гистологическом исследовании выявляется веретеночлечный компонент без признаков атипичности клеток и низкой митотической активностью, гигантские многоядерные клетки располагаются неравномерно, в виде кластеров, чаще вокруг очагов кровоизлияний. Каких-либо цитогенетических аномалий при ЦГКГ не выявлено. Напротив, для ГКО характерен следующий набор основных признаков: возраст от 20 до 40 лет, в половине случаев поражаются длинные трубчатые кости формирующие коленный сустав (бедренная и большеберцовая), поражение метафизарно-эпифизарное, при рентгенологическом исследовании выявляется эксцентричный литический очаг, иногда с разрушением кортикального слоя и формированием внекостного компонента мягкотканной плотности. При гистологическом исследовании опухоль состоит из двух типов клеток – моноклеаров и гигантских многоядерных клеток, причем ядра обоих клеточных

компонентов имеют схожие морфологические характеристики. При исследовании генетических поломок было обнаружено, что ГКО имеет аберрацию Н3.3 (Н3F3А) [85]. Несмотря на это, клинический диагноз ГКО часто фигурирует в направлениях пациентов с новообразованиями костей черепа и челюстей.

Интересной и сложной представляется комплексная диагностика АКК, особенно, ее солидного варианта. Последовательная история развития взглядов на АКК является тому подтверждением. Так, например, долгое время считалось, что АКК является реактивным патологическим процессом, так как обнаруживалась как самостоятельно, так и в комплексе с другими опухолями костей. Обнаружение при первичной АКК в 1999 году t(16;17) [48], а потом и перестройки USP6 (TRE2 or TRE17) гена (fusion genes), с последующей верификацией партнеров данной перестройки (CDH11- USP6) [45; 47] стало большим событием. Эти данные позволили не только подтвердить истинный неопластический генез первичной АКК, но и ретроспективно увидеть большое количество неточностей и ошибок в дифференциальной диагностике ГКП костей, в том числе у детей и подростков. Примером возможных неточностей могут служить выводы о более благоприятном протекании ГКО у детей с поражением позвоночника, хотя по всей видимости, речь шла о солидном варианте АКК, однако, на тот момент не было инструмента, позволяющего более точно дифференцировать данные ГКП между собой [51]. Интересным представляется факт публикаций работ о солидном варианте АКК у детей с прилагаемым обзором литературы, без исследований возможной перестройки гена USP6 и в настоящее время [62; 63].

Одним из распространенных заблуждений по настоящее время является миф о том, что солидный вариант АКК и ЦГКГ являются полными синонимами, причем не только в России, но и за рубежом. Действительно, так как не было выявлено каких-либо признаков, позволяющих их различить, до публикации работы Narasimhan P Agaram et al. в 2014 году, эти термины

были синонами. После данной работы выяснилось, что ГКП мелких костей кистей и стоп имеют перестройку USP6 гена и являются по сути дела солидным вариантом АКК [49], а термин ЦГКГ должен быть ограничен по локализации только для челюстей и костей черепа.

Парадоксальная ситуация складывается и вокруг МФД/НОФ у детей и подростков. Данное поражение является одним из самых частых у детей и подростков, имеет типичные рентгенологические характеристики, подробно описанные еще Ritschl P. et al. [14] в 1988 году и в большинстве случаев регрессирует и бесследно исчезает без каких-либо врачебных манипуляций. Тем не менее, в наших наблюдениях практически всем пациентам было выполнено хирургическое вмешательство (чаще, кюреттаж), что свидетельствует о низкой осведомленности специалистов лучевой диагностики, хирургов и патологоанатомов в отношении данной патологии у детей.

Таким образом, только оценивая все данные в комплексе (возраст, локализация, рентгенологическая картина, морфология, иммуногистохимия, генетика) мы значительно уменьшаем вероятность диагностической ошибки и выбора неправильной тактики лечения пациента с ГКП костей.

Учитывая вышеперечисленные особенности данной патологии, дифференциально-диагностические подходы диагностики ГКП костей у детей и подростков не разработаны по настоящее время, так как при рутинных методах исследования они часто имеют одинаковые клинические проявления, аналогичные рентгенологические признаки (литический компонент) и сходное гистологическое строение, требующее междисциплинарного детального комплексного (морфологического, иммуногистохимического, рентгенологического, МРТ и молекулярно-генетического) исследования.

Глава 2.

Материалы и методы исследования.

2.1 Материалы.

Собственные наблюдения составили 997 случаев опухолей костей у детей от момента рождения до 18 лет с января 2009 по декабрь 2017 года, структура которых в соответствии с классификацией ВОЗ и в зависимости от возраста пациентов показана в таблице 1.

Большую часть в составе собственных наблюдений составили доброкачественные опухоли костей у детей (563 случая, 56,47%), среди которых наиболее распространенными были остеохондрома (115 наблюдений), АКК (75), фиброзная дисплазия (69), НОФ/МФД (55), остеоид остеома (25), простая костная киста (24), ЦГКГ (22), ювенильная оссифицирующая фиброма (16) и десмопластическая фиброма (14 случаев). Некоторые неопластические поражения костей встречались в единичных наблюдениях: меланотическая нейроэктодермальная опухоль младенцев (5 случаев), хондромиксоидная фиброма (4) и доброкачественная нотохордальная опухоль (1 пациентка).

Количество диагностированных доброкачественных опухолей костей у детей увеличивалось с возрастом. Так например, при рождении было выявлено всего 4 случая неопластических костных поражений (3 наблюдения назальной хондромезенхимальной гамартомы и один случай меланотической нейроэктодермальной опухоли младенцев), что составило всего 0,71% среди всех доброкачественных опухолей костей у детей на нашем материале.

Наибольшее количество доброкачественных опухолей костей зарегистрировано в старших возрастных группах (от 7 до 12 лет – 193, от 12 до 18 лет – 277 случаев). Соотношение мальчиков/девочек 297/266. Среди отдельных опухолей распределение по половому признаку различалось в пользу того или иного пола.

Таблица 1.

Общая структура опухолей костей согласно классификации ВОЗ (2013 год) с распределением по возрасту.

	Врожденные:	До 1 года	От 1 до 3 лет	От 3 до 7 лет	От 7 до 12 лет	С 12 до 18 лет	Все го:	Мальчики	Девочки
Хрящеобразующие опухоли:									
Остеохондрома	0	0	1	13	47	54	115	74	41
Хондрома	0	0	0	6	10	5	21	6	15
Хондробластома	0	0	0	0	5	21	26	16	10
Хондромиксоидная фиброма	0	0	0	0	1	3	4	0	4
Подногтевой экзостоз	0	0	0	0	2	4	6	1	5
Синовиальный хондроматоз	0	0	0	0	1	0	1	1	0
Костеобразующие опухоли:									
Остеома	0	0	0	0	0	7	7	3	4
Остеоид-остеома	0	0	0	3	11	11	25	16	9
Остеобластома	0	0	0	1	5	7	13	9	4
Фиброгенные опухоли:									
Десмопластическая фиброма	0	1	1	4	4	4	14	8	6
Фиброгистиоцитарные опухоли:									
Неоссифицирующая фиброма и доброкачественная фиброзная гистиоцитома	0	0	0	3	19	33	55	24	31
Гигантоклеточные поражения:									
Гигантоклеточная опухоль	0	0	0	0	0	10	10	3	7
Гигантоклеточная репаративная гранулема	0	0	0	4	7	11	22	12	10
Нейроэктодермальные опухоли:									
Меланотическая нейроэктодермальная опухоль младенцев	1	4	0	0	0	0	5	4	1
Одонтогенные опухоли:	0	1	0	1	11	10	23	8	15

Таблица 1 (продолжение).

Сосудистые поражения:									
Гемангиома	0	0	1	1	8	2	12	2	10
Доброкачественные мягкотканые опухоли костей:									
Неврилеммома	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Доброкачественное миофибробластическ ое поражение	0	0	0	0	0	2	2	2	0
Undefined neoplastic nature:									
Аневризмальная костная киста	0	0	2	14	21	38	75	38	37
Простая костная киста	0	0	0	6	8	10	24	17	7
Фиброзная дисплазия	0	0	2	8	26	33	69	38	31
Ювенильная оссифицирующая фиброма	0	0	1	2	5	8	16	10	6
Доброкачественные фиброзно-костные поражения костей черепа	0	0	0	0	2	3	5	3	2
Остеофиброзная дисплазия	0	1	1	3	2	1	8	2	6
Доброкачественная нотохордальная опухоль	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Хондромезенхималь ная гамартома	3	1	1	0	0	0	5	1	4
Всего:	4	8	10	69	193	277	563	297	266
Хрящеобразующие опухоли:									
Хондросаркома	0	0	0	1	1	5	7	6	1
Костеобразующие опухоли:									
Остеосаркома	0	0	1	12	56	109	178	93	85
Нейроэктодермальные опухоли:									
Саркома Юинга:	0	1	12	8	30	63	114	66	48
Нотохордальные опухоли:									
Хордома	0	0	1	1	1	2	5	4	1
Адамантинома:	0	0	0	1	0	1	2	1	1

Таблица 1 (продолжение).

Гемопозитические опухоли:									
Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома	0	0	0	0	0	1	1	1	0
ALTCL, ALK negative	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Гистиоцитоз из клеток Лангерганса	0	6	11	15	11	9	52	29	23
Histiocytic/Dendritic cell tumour, NOS	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Злокачественные мягкотканые опухоли костей:									
Злокачественная опухоль из оболочек периферических нервов	0	0	0	0	1	0	1	1	0
Эмбриональная рабдомиосаркома	0	0	0	2	0	0	2	0	2
Альвеолярная рабдомиосаркома	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Злокачественная солитарная фиброзная опухоль	0	0	0	1	0	0	1	1	0
Неклассифицируемая опухоль:	0	0	0	3	0	3	6	5	1
Всего:	0	7	25	43	100	194	372	207	164
Опухолевые синдромы с поражением костей:									
Множественные остеохондромы	21	2	10	5	6	3	47	31	16
Болезнь Олье	0	0	1	3	2	0	6	3	3
Херувизм	0	0	0	2	1	1	4	2	2
Синдром Олбрайта	0	0	1	1	0	0	2	1	1
Яффе-Кампаначи	0	0	1	0	0	0	1	1	0
Всего:	21	2	12	11	9	4	60	38	22
Итого:	25	17	47	123	302	475	997	544	452

Так например, хондромы различных локализаций более чем в два раза реже регистрировались у мальчиков (6 случаев), по сравнению с девочками (15 случаев), а остеонид остеомы наблюдалась чаще у мальчиков с соотношением 16/9.

Злокачественные неопластические поражения костей встретились в 372 случаях (37,31%). Среди злокачественных опухолей костей у детей чаще встречались остеосаркомы и саркома Юинга (109 и 63 случая соответственно). В структуре всех остеосарком у детей и подростков чаще всего встречается классическая (конвенциональная) остеосаркома, одним из самых редких гистологических вариантов которой является гигантоклеточный (одно наблюдение). Значительную долю среди злокачественных поражений костей занимает ГКЛ – 52 случая (13,97%). Редкими злокачественными опухолями костей были хондросаркома (7), хордома (5), адамантинома (2), эмбриональная рабдомиосаркома (2), альвеолярная рабдомиосаркома (1), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (1), анапластическая крупноклеточная лимфома (1 случай) и др. Неклассифицированная злокачественная опухоль зарегистрирована в 6 наблюдениях (1,61%).

Немалую долю в структуре онкологической костной патологии у детей занимали различные доброкачественные опухоли костей в рамках различных синдромов (60 наблюдений, 6,01% в общей структуре всех опухолей). Одним из самых распространенных синдромов являлся синдром множественных остеохондром (47 случаев, 78,33%), обусловленный поломками генов EHT1 и/или EHT2. При этом 25 детям, страдающим множественными остеохондромами, хирургические вмешательства проводились 2 и более раз (53,19%). Среди пациентов почти в два раза преобладали мальчики с соотношением 31/16. На втором месте по частоте встречаемости находится болезнь Олье (один из видов энхондроматозов). Соотношение полов было равным – 3/3.

У 4 пациентов был диагностирован херувизм, морфологическим субстратом которого является ЦГКГ с симметричным поражением верхней и нижней челюсти.

В одном случае синдром Яффе-Кампаначи (мальчик, манифестация первых симптомов с 1,5-2 лет), при котором обнаруживались множественные НОФ костей, сопровождающиеся повторяющимися патологическими переломами.

В общей структуре исследованного материала опухолей костей у детей и подростков ГКП встретились у 194 пациентов (19,46%), объемное распределение которых показано на Рис 1. Больше количество наблюдений составили АКК (75), МФД/НОФ (55), ХБ (26) и ЦГКГ (22 случая). Реже встречались такие ГКП как ГКО (10), херувизм (4), гигантоклеточный вариант КО (1) и синдром Яффе-Кампаначи (1 наблюдение).

Учитывая, что гистологическая картина при выше обозначенных ГКП может быть сходной, вероятность ошибочного морфологического диагноза достаточно велика, особенно в тех случаях, когда не применяется комплексный междисциплинарный подход в процессе диагностики.

2.2 Методы исследования.

Биопсийный и операционный материал для гистологического исследования был получен при выполнении хирургических резекций опухолей, в результате кюретажа, а также после проведения открытых и игольных биопсий образований костной ткани.

Как правило, исследование биопсийного материала проводилось однократно при условии достоверной верификации диагноза (в большинстве случаев). При недостаточном объеме материала и невозможности установить диагноз, было рекомендовано повторить биопсию в большем объеме.

Достаточным считался объем материала, необходимый для достоверной верификации клинического диагноза и варьировал в значительных пределах, от 3-5 мм диаметром до, как минимум, не менее чем

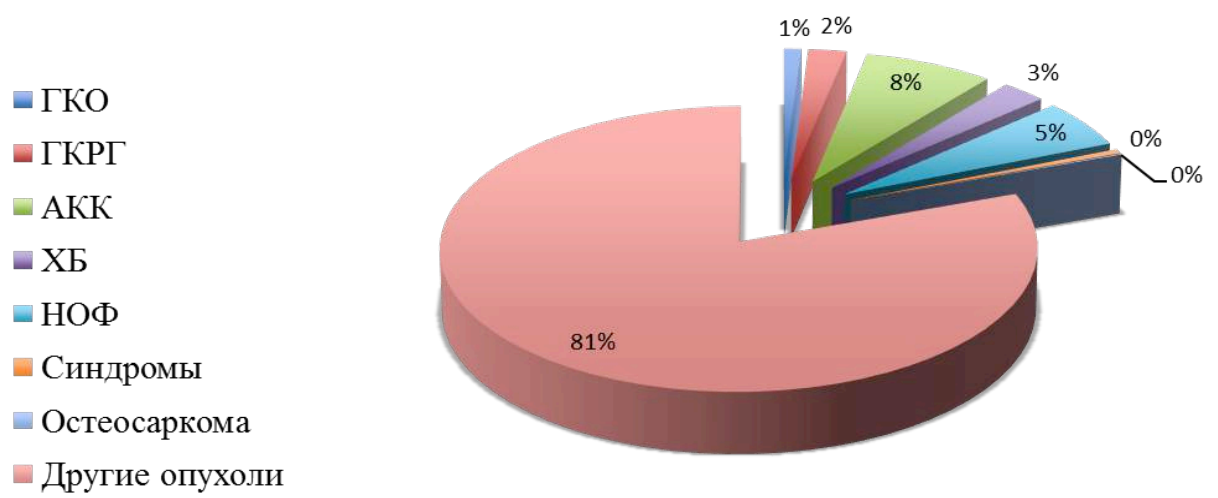


Рис. 1. Объемное распределение ГКП в общей структуре опухолей костей у детей.

1-1,5 см в наибольшем измерении. В части случаев (за исключением консультативного материала из других лечебных учреждений) предпочтительные методы и объем биопсии обсуждались перед ее выполнением совместно патологом, хирургом, онкологом и рентгенологом.

2.2.1 Оформление направления на морфологическое исследование костной ткани.

В направлении на гистологическое исследование были указаны ФИО, дата рождения (возраст), пол, лечебное учреждение и отделение, время выполнения биопсии, рабочий контакт лечащего врача (телефон, e-mail). В обязательном порядке к направлению прилагалась выписка из истории болезни и/или клиническая информация, включающая следующие пункты: жалобы пациента, краткий анамнез заболевания, применявшиеся методы лечения, результаты лечения. Во всех наблюдениях указывалась локализация поражения (кость с указанием распространенности патологического процесса, реакция надкостницы, поражены или нет прилежащие мягкие ткани, наличие метастазов и т.д.).

Важным условием для приема гистологического материала было наличие данных рентгенологического и/или КТ/МРТ исследования (снимки, диски или данные отправлялись на указанный e-mail лаборатории).

Все вышеперечисленные данные вносились в специальную электронную базу патологоанатомического отделения (МИС РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России).

2.2.2 Транспортировка и сроки доставки материала.

Полученный после хирургических манипуляций материал сразу помещался в раствор 10% забуференного формалина (с соответствующей разборчивой маркировкой) и направлялся в патологоанатомическое отделение ФГБУ РДКБ МЗ РФ. Срок доставки материала не превышал 1 суток с момента выполнения биопсии/операции.

2.2.3 Фиксация материала.

Материал был незамедлительно помещен в 10% забуференный раствор формалина. Объем формалина превышал объем фиксируемой ткани минимум в 10-15 раз. Большие фрагменты тканей (полученные после радикальных хирургических резекций en-block, операций эндопротезирования и др.) перед фиксацией распиливались при помощи специальной медицинской пилы EXAKT 312.

2.2.4 Вырезка (распил) материала.

Мелкие фрагменты костной ткани (или тканей, содержащих костный компонент) не более 0,5 см в наибольшем измерении описывались и раскладывались по гистологическим кассетам с присвоением соответствующего номера (был напечатан на специальном принтере Sakura Tissue-Tek Auto Write) и помещались в декальцинирующий раствор «биодек». Указывался размер каждого фрагмента и/или суммарный объем в кубических см. В таких случаях в исследование брали весь объем доставленного материала, делалась пометка об отсутствии сырого архива.

Крупные объекты исследования описывались (размер, цвет, состояния краев резекции и др.) и производился распил по длиннику кости (опухоли). Подробно описывались патологические изменения на распиле. После чего производился параллельный распил с целью получения пластинки макропрепарата толщиной не более 0,3-0,4 см. Данная пластинка дополнительно фиксировалась в 10% забуференном растворе формалина в течение одних суток и помещалась в декальцинирующий раствор. После декальцинации производилась разметка на квадранты (с соответствующей маркировкой гистологических кассет и блоков), полученная карта макропрепарата была отражена в протоколе исследования. Размер одного квадранта (фрагмента ткани помещенного в кассету) не превышал 1x1x0,3 см. При необходимости, в исследование брали большее количество материала с соответствующей маркировкой.

Если при макроскопическом исследовании не представлялось возможным судить о радикальности иссечения опухоли, применялись специальные окраски для маркировки краев резекции (Tissue Marking Dye).

При наличии возможности и необходимости сопоставления структуры макропрепарата с данными рентгенологического (КТ/МРТ) исследования, сразу при описании макропрепарата производилась фотосъемка (система ePath) с автоматическим сохранением фотографий макропрепарата на жестком диске.

2.2.5 Методическое обеспечение исследования.

Этап декальцинации проводился только с использованием специальных декальцинирующих растворов (биодек или миелодек). Применение различных неорганических кислот (азотная, серная и др.) было строго исключено, так как необратимо нарушает структуру костной ткани, приводит к необратимым нарушениям структуры белков и делает невозможным последующие исследования (иммуногистохимия, генетические тесты и др.). Исключение составили консультативные случаи из других лечебных учреждений, так как особенности технологии декальцинации исследованного материала в таких случаях были неизвестны.

Время декальцинации определялось исходя из плотности исследованного материала (от 5-10 минут до нескольких часов). При высокой плотности материала первоначальное время декальцинации составляло 20-30 минут, с последующей оценкой плотности. При необходимости продолжить декальцинацию, материал оставляли повторно в декальцинирующем растворе на 15 минут, с последующей оценкой плотности. По достижении соответствующей консистенции, материал направлялся в гистологическую проводку.

Применялась автоматизированная гистологическая проводка материала с использованием аппарата для гистологической проводки вакуумного типа Sakura Tissue-Tek VIP5 Jr (Sakura).

Гистологическая заливка исследуемых тканей осуществлялась на автоматизированной станции Slee MPS/P.

Все полученные срезы окрашивались гематоксилином и эозином (Tissue-Tek Prisma, Sakura) по специальному протоколу и накрывались автоматически (Tissue-Tek Film, Sakura).

В случае невозможности верифицировать диагноз применялись дополнительные методы (иммуногистохимическое исследование, цитогенетическое исследование, молекулярно-генетическое (Sanger sequencing) и др.).

2.2.6 Критерии качества гистологических препаратов.

Толщина срезов не превышала 3-4 мкм. Срез был равномерно окрашен, все клеточные элементы и костные структуры располагались в одной плоскости. В костном компоненте было легко различимо пластинчатое и/или грубоволокнистое строение. При большом увеличении микроскопа (x400) были хорошо различимы цитологические характеристики клеток (ядро, распределение хроматина, фигуры митозов, апоптотические тельца и т.д.).

2.2.7 Микроскопическое описание.

К микроскопическому описанию гистологических препаратов приступали только после ознакомления с клинической информацией о пациенте и изучения рентгеновских снимков (и/или КТ/МРТ исследований).

В описании фиксировались все выявленные изменения с указанием, при необходимости, их соотношения.

Подробно описывали из каких компонентов состоит образование с подробной характеристикой каждого, распространенность (вовлечение в патологический процесс надкостницы, мягких тканей и др.), митотическая активность, наличие клеточной атипии, зон некроза. Указывались особенности перифокальных реактивных изменений костной ткани и прилежащих мягких тканей.

Во время описания гистологических изменений проводилось сопоставление с рентгеновскими снимками (и/или КТ/МРТ-исследованиями при их наличии) и клиническими данными пациентов (анализировались соответствующие истории болезни, амбулаторные карты и выписки в случае консультативного материала).

2.2.8 Иммуногистохимическое исследование.

В исследовании были использованы два антитела к гистоновым белкам: H3.3 G34W (кроличье моноклональное антитело RM263, RevMAb Biosciences USA) и H3F3 K36M (кроличье моноклональное антитело RM193, RevMAb Biosciences USA).

Рабочие разведения (для всех антител 1:1000) были подобраны на контрольных блоках ГКО и ХБ с наличием соответствующих мутаций гистоновых белков H3F3A (для ГКО) и H3F3B (для ХБ), выявленных при секвенировании по Сенгеру. Позитивным результатом считалось наличие ядерной экспрессии соответствующих антител. Отрицательным результатом считалось отсутствие ядерной экспрессии. Все этапы иммуногистохимического исследования были проведены с использованием полностью автоматизированной системы Ventana Bench-Mark Ultra с последующим докрасиванием гематоксилином (Tissue-Tek Prisma, Sakura) по специальному протоколу и накрывались покровной пленкой автоматически (Tissue-Tek Film, Sakura). Далее готовые препараты оценивались методом световой микроскопии.

2.2.9 Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH).

Для выявления транслокаций, вовлекающих ген USP6, локализованный в районе 17p13.2, был использован зонд Zyto Light SPEC USP6 Dual Color Break Apart Probe (Pl 107, ZitoVizion GmbH, Germany).

Флуоресцентная гибридизация *in situ* проводилась на препаратах, изготовленных путем помещения срезов исследуемой ткани толщиной 4-5

мкм на специальные предметные стекла (SuperFrost), которые оставляли на нагревательном столике в течение 8 часов при температуре 60 градусов по Цельсию, затем помещали в ксилол (3 раза по 5 минут при комнатной температуре). Далее два раза проводили в 96% этаноле по 3 минуты. Гидратация срезов производилась выдерживанием препаратов последовательно по 3 минуты в 85% и 70% этаноле и дистиллированной воде при комнатной температуре. Затем препараты переносили в 0,01 М раствор цитрата натрия и инкубировали 15 минут при 96 градусах по Цельсию с последующей промывкой в дистиллированной воде два раза по 2 минуты. Срезы обрабатывали раствором пепсина (LK-101B, Kreatech Diagnostics, Leica Biosystems, Germany) 20-50 минут при комнатной температуре, промывали дистиллированной водой и оставляли на 5 минут в растворе 2xSSC pH 7,0. Затем срезы дегидратировали в 70%, 85% и 96% этаноле (1 минута в каждом растворе). На высушенный препарат наносили 8-10 мкл зонда USP6, растворенного в гибридизационной смеси (Zyto Light SPEC USP6 Dual Color Break Apart Probe), и накрывали покровным стеклом 18x18 или 22x22 (в зависимости от размера среза). Далее препарат подлежал окантовке резиновым клеем для предотвращения высыхания с последующей денатурацией 10 минут при температуре 75 градусов по Цельсию с использованием твердотельного термостата. Переносили препарат во влажную камеру и оставляли для гибридизации при температуре 37 градусов на 12-18 часов в термостате. Затем клей удаляли. Снятие покровного стекла и постгибридизационную отмывку проводили в соответствии с протоколом производителя (ZytoLightFISH, ZitoVizion, Germany).

Анализ результатов FISH-исследования проводили на флуоресцентном микроскопе, оснащенном светофильтрами, необходимыми для просмотра флуорохромов ZyGreen и ZyOrange, которыми мечен зонд Zyto Light SPEC USP6 Dual Color Break Apart Probe. Фотосъемку производили с использованием черно-белой CCD-камеры. Цветные изображения получали в среде компьютерной графической программы Adobe Photoshop CC 2014.

2.2.10 Секвенирование по Сенгеру.

Использовали метод прямого секвенирования по Сенгеру для определения мутаций в 27, 28, 35 и 37 кодонах гена H3F3A и 35 и 37 кодонах гена H3F3B каждого образца. Геномную ДНК выделяли из опухолевой ткани фиксированной формалином и залитой в парафин с использованием набора PCR Qiagen (Qiagen, Valencia, CA, США) в соответствии с инструкциями производителя. Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием следующих пар праймеров: H3F3A_F 5'-GTCTCTGTACCATGGCTCG-3' и H3F3A_R 5'-AGTTTTCCTGTTATCCATCTTTTGTG-3'; H3F3B_F 5'-ATCTTCGGGGCGTCTTTCTTAGGTG-3' и H3F3B_R1 5'-AGGGGAGGAGTGAGCGGAC-3'. Реакционная смесь для амплификации содержала 5-20 нг ДНК, 1x ПЦР-буфера, по 200 мкмоль/л dATP, dCTP, dGTP и dTTP, 3 ммоль/л MgCl₂, ДНК-полимеразу SynTaq (Синтол), и 200 нмоль/л каждого ПЦР-праймера, MQ до 25 мкл. Условия амплификации были следующими: 95 °C -5 мин; 40 циклов: 95°C – 30 сек, 63°C – 30 сек, 72°C – 30 сек; 72°C – 5 мин. Продукты ПЦР детектировали методом электрофореза в 2% агарозном геле, очищали с использованием набора для очистки Cleanup Mini (Евроген) и затем секвенировали с использованием Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) в соответствии с инструкциями производителя. Полученные данные последовательности были проанализированы с использованием программного обеспечения Sequence Scanner Software 2.

2.2.11 Формулировка заключения.

Заключение было сформулировано с учетом анамнеза, локализации патологического очага, данных лучевой диагностики и обязательной корреляцией с морфологической картиной, иммунофенотипом и результатами секвенирования по Сенгеру (для тех случаев, при которых оно

проводилось). Конкретная нозологическая единица указывалась в соответствии с МКБ последнего пересмотра.

При невозможности достоверной формулировки диагноза (недостаточный объем материала, тотальный некроз и т.д.), в заключении указывали характер выявленных при гистологическом исследовании изменений (реактивные, воспалительные, некротические изменения и т.д.).

2.2.12 Архивирование материала.

Весь исследованный материал хранился в сыром архиве до момента оформления заключительного диагноза. После чего оставляли в архиве только опухоль или ее часть.

Материал в парафиновых блоках хранили неограниченное время.

Все гистологические препараты были отсканированы на аппарате Leica Aperio AT2 с целью создания электронного архива оцифрованных микропрепаратов в рамках данного исследования.

Глава 3.

Результаты собственных исследований.

3.1 Гигантоклеточная опухоль (ГКО).

При пересмотре архива доступных случаев опухолей костей у детей, мы обнаружили 19 документированных заключений с диагнозом «ГКО». Всем пациентам было проведено хирургическое лечение (пункция, кюретаж или тотальная резекция образования). В каждом случае (при условии доступности информации) были проанализированы данные анамнеза (пол, возраст, локализация, жалобы, проведенное лечение), данные рентгенологического (КТ/МРТ) исследования (при наличии) и гистологический материал. В итоге, морфологический диагноз ГКО (до применения иммуногистохимического анализа с G34W и K36M, а также секвенирования по Сенгеру) был подтвержден только у 10 пациентов (Рис 2).

При комплексном анализе всех имеющихся данных четыре случая из 19 были переклассифицированы в солидный вариант АКК, один случай в НОФ, один в ЦГКГ, один в ХБ, и один в херувизм. У одного пациента окончательный диагноз верифицировать не удалось, так как материал был выдан родителям пациента.

Возраст пациентов варьировал от 12 до 17 лет. Девочек было 7, мальчиков 3.

Клинический диагноз ГКО при направлении материала на гистологическое исследование фигурировал только в 5 случаях (50%). Диагноз «злокачественная ГКО» встретился в 1 наблюдении (10%) у пациентки 15 лет с поражением крестца, «фиброзная дисплазия» также в 1 случае (10%). В 2 случаях содержательная часть направления ограничивалась словом «опухоль» без какого-либо дальнейшего уточнения. КО была заподозрена у одной пациентки, вследствие локальных агрессивных характеристик опухоли по данным лучевой диагностики (Табл. 2), причем в

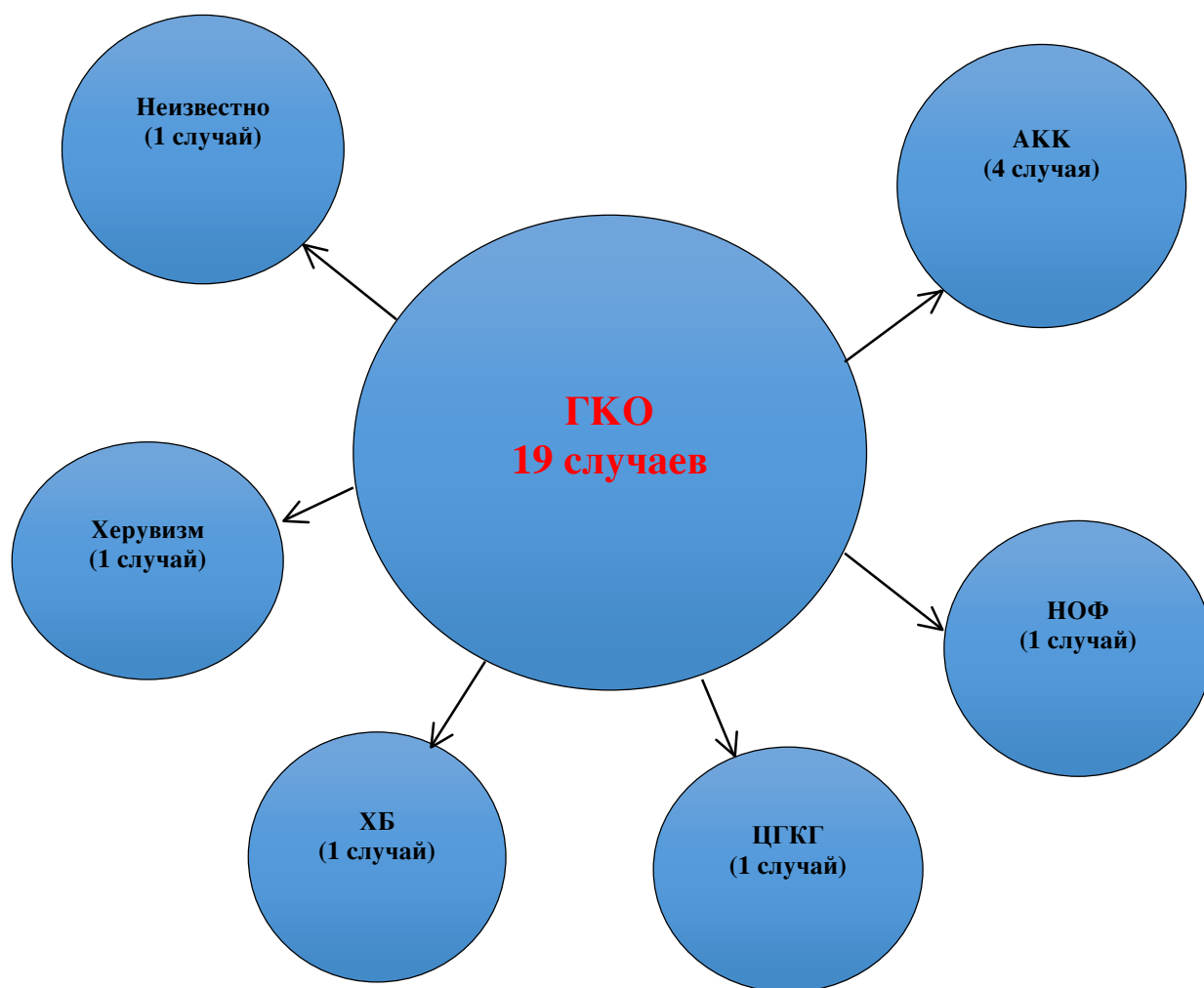


Рис. 2. Схема ретроспективного морфологического пересмотра ГКО у детей с применением комплексного подхода (возраст, локализация, данные лучевой диагностики).

Таблица 2.

Пациенты с ГКО.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Кл. диагноз	Локализация	Морф. диагноз	Размер (см)
1	ТЛ	Ж	15	647-63/12	ГКО	Правая малоберцовая кость	ГКО	НД
2	КК	Ж	14	9094-114/12	ГКО	Правая бедренная кость	ГКО	5,5x4,5x7,5
3	СО	Ж	15	21342-62/10	ГКО	Правая малоберцовая кость	ГКО	4x3x2,5
4	УД	Ж	15	M581/14	Злокачественная ГКО	Крестец	ГКО	НД
5	МК	М	12	2200-15/15	Фиброзная дисплазия	Левая большеберцовая кость	ГКО	3x2
6	КФ	М	17	15019-48/15	ГКО	Первое ребро слева	ГКО	6,8x4,8
7	АА	Ж	13	3225-31/16	Остеосаркома	Правая большеберцовая кость	ГКО	4x4x3
8	ПИ	М	17	F388/16	Опухоль	Левая большеберцовая кость	ГКО	НД
9	АЭ	Ж	17	G793/16	Опухоль	Левая большеберцовая кость	ГКО	НД
10	БП	Ж	14	G459/16	ГКО	Правая большеберцовая кость	ГКО	НД

НД – нет данных

данном случае пересмотр рентгеновских снимков, КТ/МРТ оказался недоступным.

Опухоль локализовалась преимущественно в метаэпифизарной зоне длинных трубчатых костей (8 случаев), у одной пациентки был поражен крестец, у другого пациента (мальчик, 17 лет) первое ребро слева (Рис. 3). Патологический перелом был зарегистрирован у одной пациентки с ГКО большеберцовой кости. Большая часть случаев в наших наблюдениях (6 из 10) локализовалась в длинных трубчатых костях, формирующих коленный сустав.

Рентгенологическая картина была достаточно характерной для ГКО во всех наблюдениях. Обнаруживался эксцентричный, относительно хорошо ограниченный литический очаг, преимущественно, без очевидного костного матрикса (Рис. 4). Граница костного края прослеживалась лучше, чем граница с прилежащими мягкими тканями. Во всех случаях опухоль распространялась за пределы как минимум одного анатомического компартмента (ростковая пластинка и/или кортикальный слой), что свидетельствовало о локальной агрессивности патологического процесса. Причем, агрессивного типа периостальной реакции (спикулы, козырек Кодман) не было выявлено ни в одном наблюдении.

При КТ-исследовании опухоль была хорошо ограничена, представлена мягкотканым компонентом, локально разрушала кортикальный слой с вовлечением в патологический процесс прилежащих мягких тканей (Рис. 5).

При макроскопическом исследовании на распиле опухоль была хорошо ограничена, сочная, красновато-серого цвета (Рис. 6).

При гистологическом исследовании ткань опухоли была преимущественно солидного строения (Рис.7), во всех случаях обнаруживались два клеточных компонента: моноклеарные клетки и гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки. Моноклеарные клетки имели круглую, овальную или вытянутую форму, с круглым или овальным ядром и мелким ядрышком. Митотическая активность в

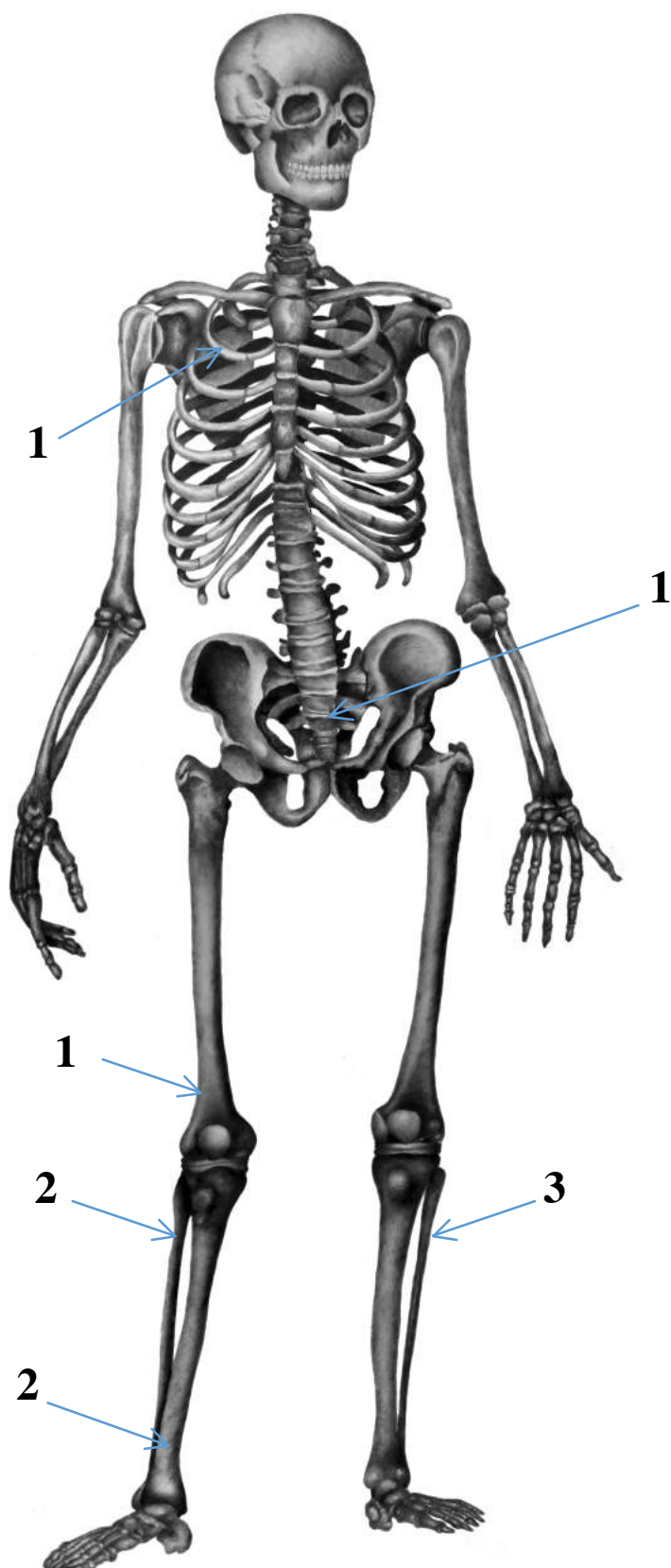


Рис. 3. Распределение случаев ГКО у детей в зависимости от локализации.



Рис. 4. Рентгенограмма пациентки с ГКО. В метафизарно-метафизарной зоне левой большеберцовой кости определяется литический очаг с разрушением кортикального слоя и распространением опухоли в прилежащие мягкие ткани.

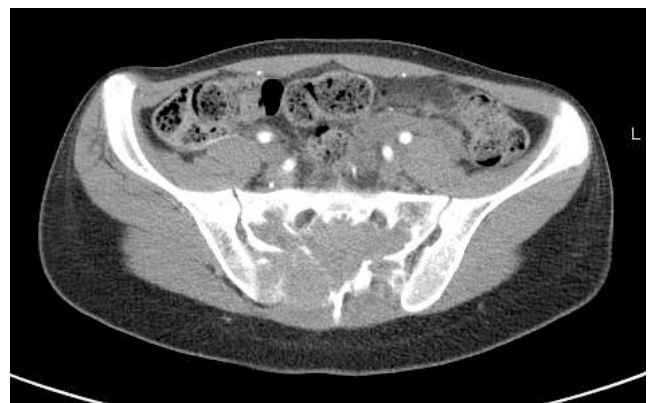
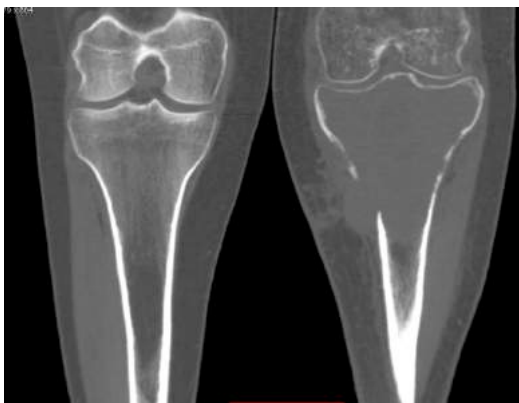


Рис. 5. А. КТ-исследование. ГКО левой большеберцовой кости. Видны участки разрушения кортикального слоя. Б. КТ-исследование. ГКО крестца с вовлечением в патологический процесс прилежащих мягких тканей.



Рис. 6. ГКО, макроскопическое исследование. Макпрепарат после эндопротезирования.

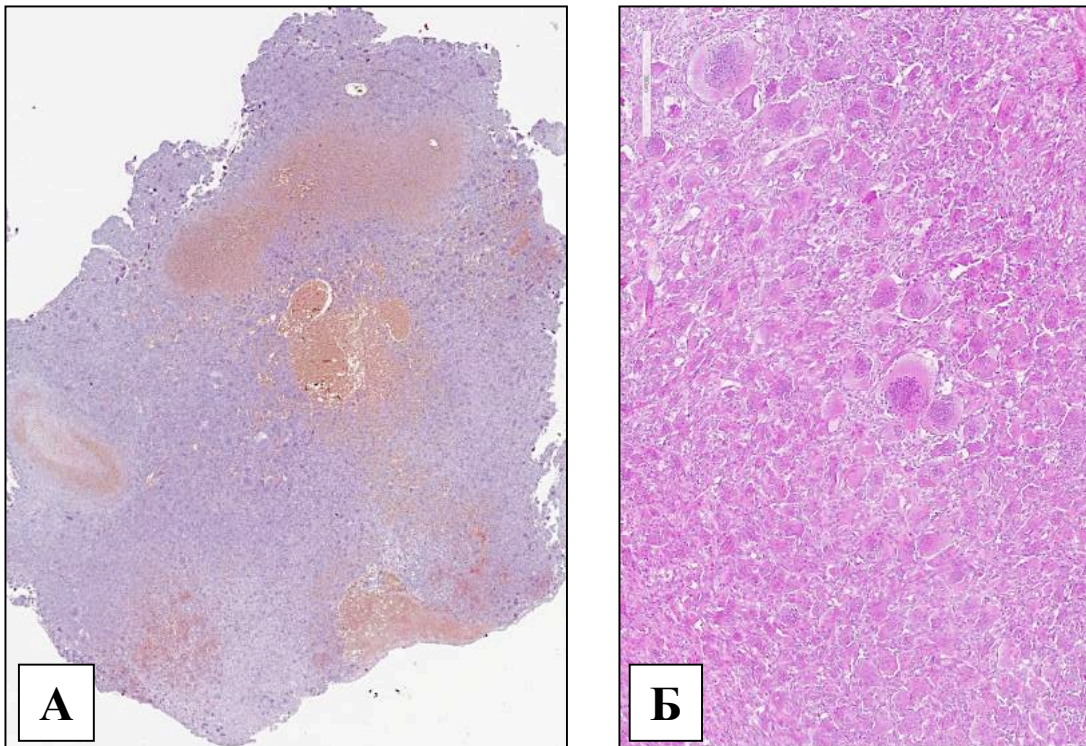


Рис. 7. А. Гистологический скан ГКО. Видны зоны солидного и кистозного строения, очаги некроза и очаговые кровоизлияния. ГЭ, х8. Б. ГКО. Определяются два клеточных компонента: мононуклеарные клетки и гигантские многоядерные клетки. Ядра клеток обоих компонентов имеют схожее строение. ГЭ, х40.

мононуклеарных клетках варьировала в различных полях зрения, однако, патологические формы митозов достоверно не определялись. По морфологическим характеристикам ядра мононуклеарных клеток были очень сходными с ядрами гигантских многоядерных клеток (Рис. 8). В трех наблюдениях в части полей зрения мононуклеарные клетки имели вытянутую форму, а также определялись зоны веретеночеточного строения (Рис. 9 А). Гигантские многоядерные клетки были всегда многочисленными, с богатой эозинофильной цитоплазмой, в которой насчитывалось более 30-50 ядер. Встречались крупные гистиоциты и небольшие кластеры ксантомных клеток (в двух случаях). Нередко выявлялись кистозные изменения (вторичная АКК). Единичные очаги некроза по типу инфаркта, без перифокальной воспалительной инфильтрации были зарегистрированы в одном наблюдении (пациентка 14 лет с ГКО правой большеберцовой кости). Опухолевые эмболы не встретились ни в одном из случаев. В части полей зрения обнаруживались небольшие зоны реактивного костеобразования (Рис. 9 Б). У одной пациентки было обнаружено метастатическое поражение легких (Рис. 10, 11).

Так как одной из характерных генетических поломок при ГКО является мутация гистоновых белков H3.3, было проведено иммуногистохимическое исследование с антителом G34W и K36M (Рис. 12, 13). Из доступных для выполнения данного исследования 9 случаев, позитивная ядерная экспрессия G34W была выявлена только у 5 пациентов (Табл. 3). В остальных 4 случаях экспрессия данного аберрантного белка не выявлялась. Причем, полученные данные полностью соответствовали результатам секвенирования по Сенгеру (Рис. 16). Позитивное окрашивание было ядерным и обнаруживалось только в неопластических клетках (мононуклеары и веретеночеточные клетки), гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки всегда были негативными (Рис. 13). Еще более интересным фактом было то, что в зонах с кистозным компонентом по типу вторичной АКК клетки также экспрессировали G34W (Рис. 14, 15). Причем по своей морфологической

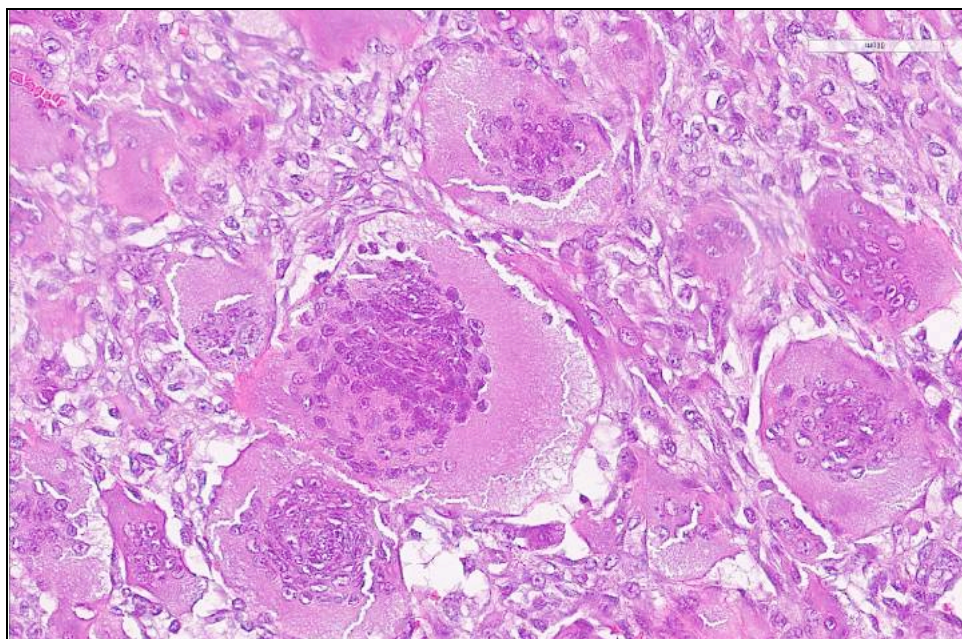


Рис. 8. ГКО. Гигантские многоядерные клетки содержат 50 и более ядер. Ядра клеток обоих компонентов имеют схожее строение. ГЭ, x400.

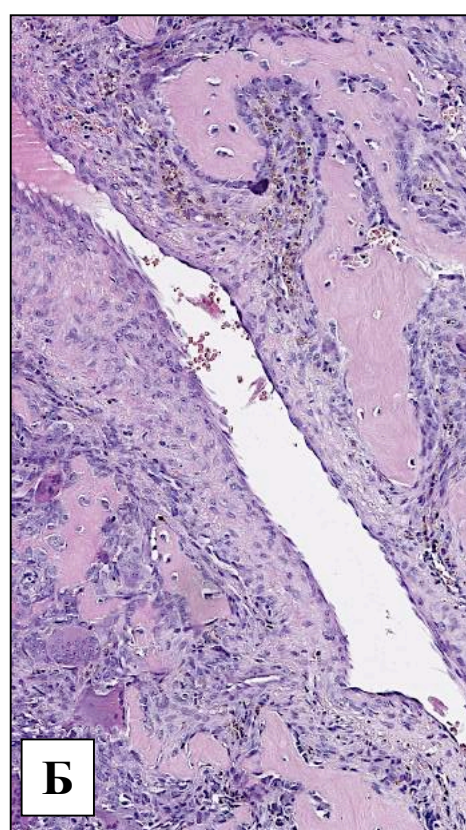
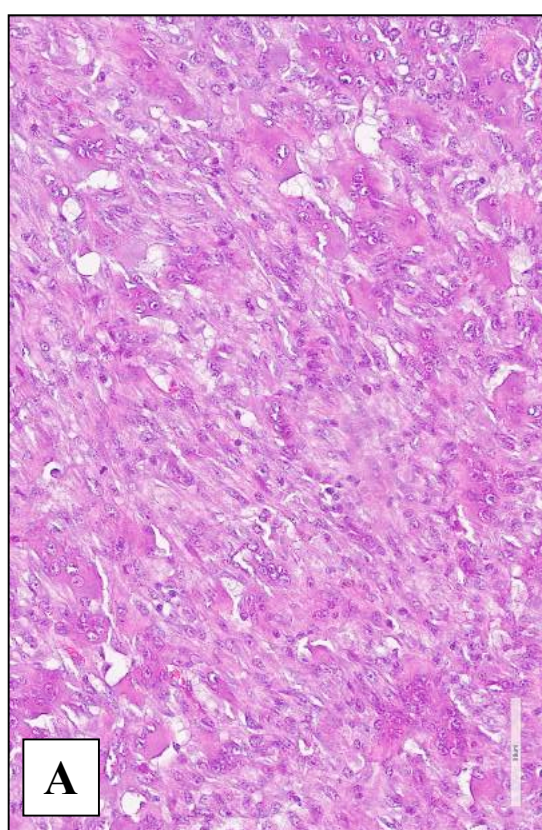


Рис. 9. А. ГКО, клетки опухоли вытянутой и веретеновидной формы. ГЭ, x100. Б. ГКО. Определяются зоны реактивного костеобразования. ГЭ, x70.



Рис. 10. Метастаз ГКО в ткань легкого у пациентки 16 лет. ГЭ, х4.

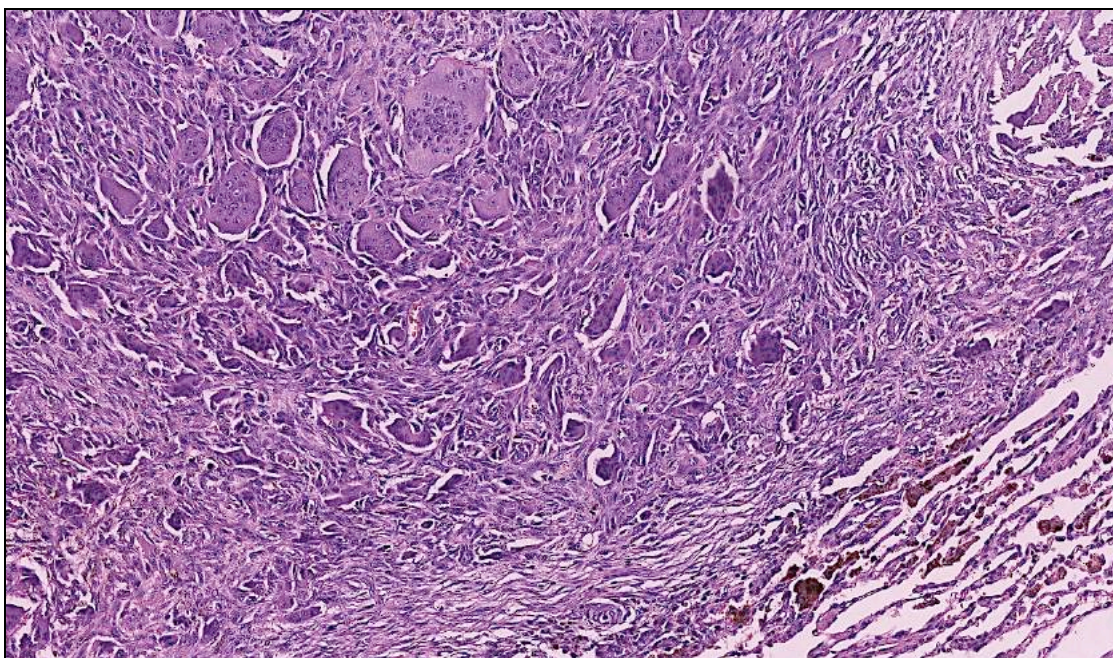


Рис. 11. Метастаз ГКО в ткань легкого (фрагмент). Ткань опухоли хорошо ограничена, состоит из двух клеточных компонентов. ГЭ, х100.

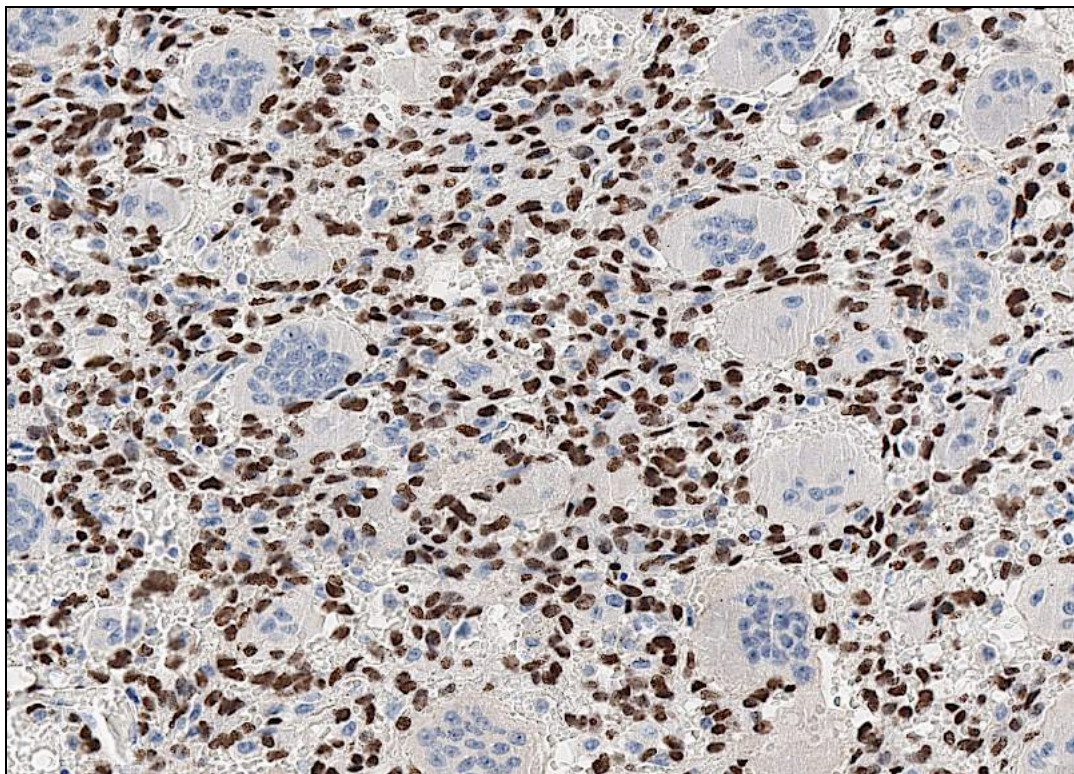


Рис. 12. Иммуногистохимическое исследование ГКО с G34R, клетки опухоли позитивны (ядерный локус), гигантские многоядерные клетки негативны, х250.

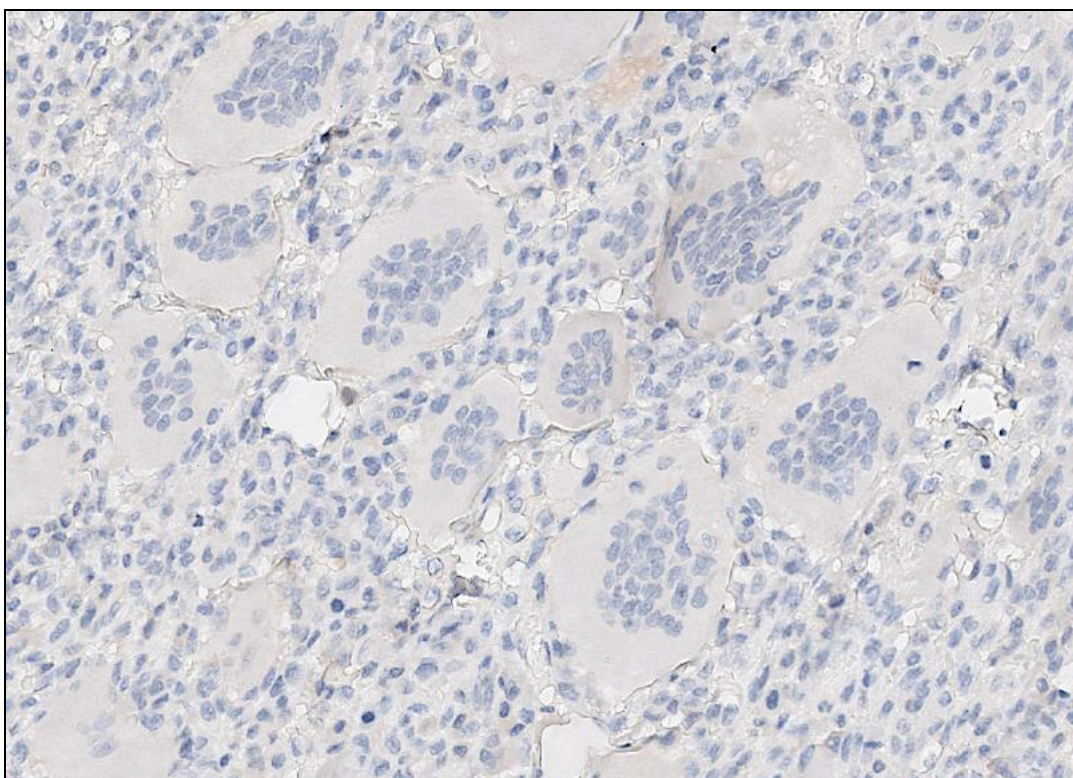


Рис. 13. Иммуногистохимическое исследование ГКО с K36M, клетки опухоли негативны, х250.

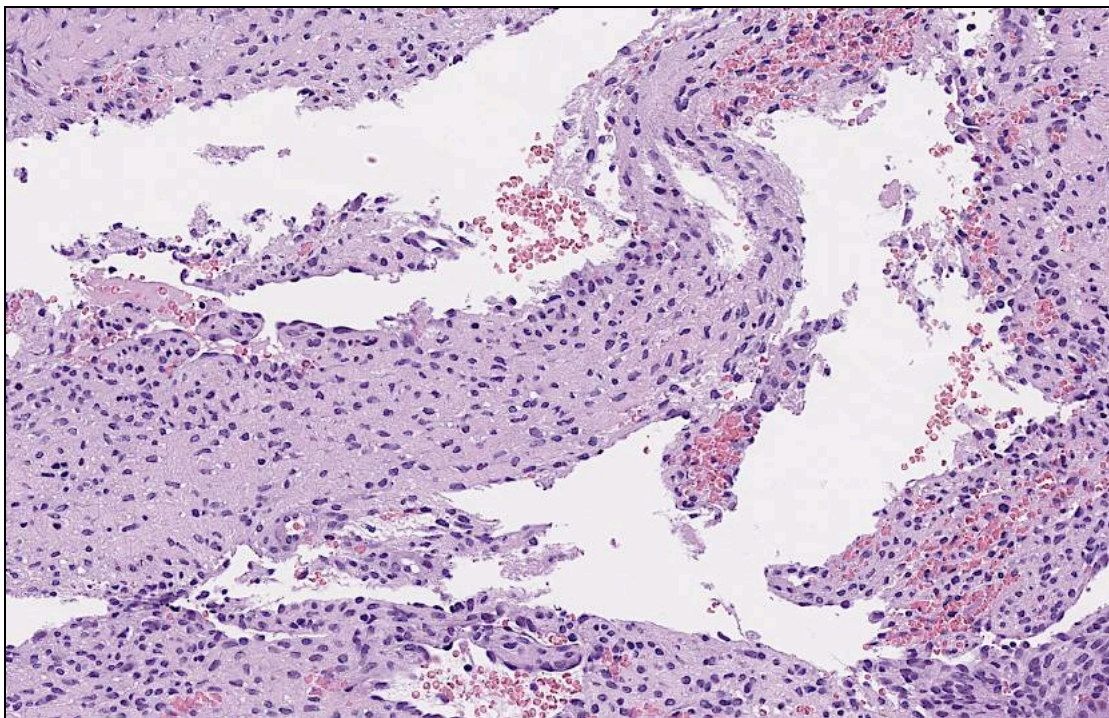


Рис. 14. Зоны вторичной АКК в ГКО. Видны множественные септы, состоящие из вытянутых клеток, гигантских многоядерных клеток мало. ГЭ x70.

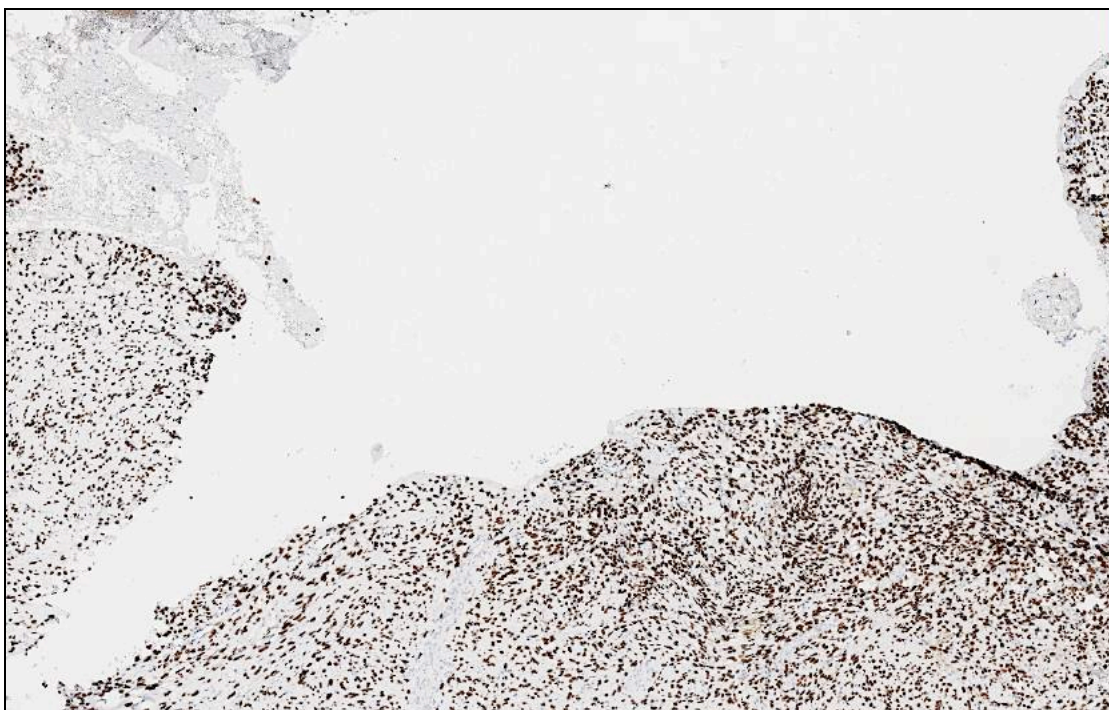


Рис. 15. Зоны вторичной АКК в ГКО. Иммуногистохимическое исследование с G34W (H3F3A), клетки вторичной АКК позитивны, x100.

3225-31/16

Gene name: H3F3A

AA mutation: p.G35R (Substitution - Missense, position 35, G R)

CDS mutation: c.103G>A (Substitution, position 103, G A)

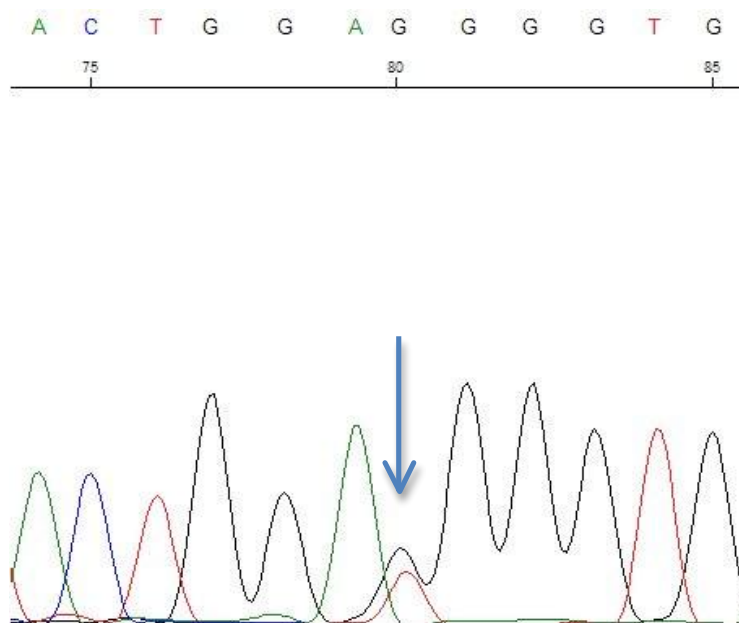


Рис. 16. Секвенирование по Сенгеру при ГКО. Показана мутация G35R (H3F3A).

Таблица 3.

Пациенты с ГКО. Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	ТЛ	Ж	15	647-63/12	-	-
2	КК	Ж	14	9094-114/12	-	-
3	СО	Ж	15	21342-62/10	МО	МО
4	УД	Ж	15	M581/14	+	-
5	МК	М	12	2200-15/15	-	-
6	КФ	М	17	15019-48/15	+	-
7	АА	Ж	13	3225-31/16	+	-
8	ПИ	М	17	F388/16	-	-
9	АЭ	Ж	17	G793/16	+	-
10	БП	Ж	14	G459/16	+	-

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

Таблица 4.

Результат секвенирования по Сенгер пациентов с ГКО.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Морф. диагноз	H3F3A Codon 27	H3F3A Codon 28	H3F3A Codon 35	H3F3A Codon 37	H3F3B Codone 35	H3F3B Codone 37
1	ТЛ	Ж	15	647-63/12	ГКО	МН	МН	МН	МН	МН	МН
2	КК	Ж	14	9094-114/12	ГКО	WT	WT	G35L	WT	WT	WT
3	СО	Ж	15	21342-62/10	ГКО	МО	МО	МО	МО	МО	МО
4	УД	Ж	15	M581/14	ГКО	WT	WT	G35R	WT	WT	WT
5	МК	М	12	2200-15/15	ГКО	МН	МН	МН	МН	МН	МН
6	КФ	М	17	15019-48/15	ГКО	WT	WT	G35R	WT	WT	WT
7	АА	Ж	13	3225-31/16	ГКО	WT	WT	G35R	WT	WT	WT
8	ПИ	М	17	F388/16	ГКО	МН	МН	МН	МН	МН	МН
9	АЭ	Ж	17	G793/16	ГКО	МН	МН	МН	МН	МН	МН
10	БП	Ж	14	G459/16	ГКО						

МН – материал неинформативен

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

WT – дикий тип (wild type)

характеристике опухоль в данных участках не имела характерных гистологических признаков ГКО, септы состояли из вытянутых фибробластоподобных клеток, количество гигантских многоядерных клеток было минимальным. Позитивной реакции с антителом K36M не было получено ни в одном из наблюдений ГКО (Рис. 13).

У 6 пациентов было выполнено секвенирование по Сенгеру с целью поиска характерной мутации (H3F3A). В 3 случаях из 6 исследованных была выявлена типичная мутация H3F3A в кодоне 35 (G35R), что достоверно подтверждало диагноз ГКО. В одном случае (девочка 14 лет, ГКО правой бедренной кости) была обнаружена мутация G35L в 35 кодоне гена H3F3A, что также достоверно подтвердило диагноз. Интересно отметить, что при иммуногистохимическом исследовании материала данной пациентки с антителом G34W экспрессии данного маркера не было выявлено ввиду другого, более редкого типа мутации исследованного гена.

Однако, ввиду сложностей выделения РНК из материала парафиновых блоков, в 4 случаях достоверный результат получить не удалось, что не исключает диагноз ГКО (Табл. 4). Данное обстоятельство можно объяснить применением агрессивной декальцинации полученного при биопсии гистологического материала (применение растворов агрессивных кислот), так как часть материала составляли консультативные случаи из других лечебных учреждений.

3.2 Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).

Мы наблюдали 22 случая ЦГКГ у детей и подростков. В каждом случае анализировались данные анамнеза (пол, возраст, локализация, жалобы, проведенное лечение), данные рентгенологического (КТ/МРТ) исследования (при наличии) и гистологический материал. Всем пациентам было проведено хирургическое лечение (пункция, кюретаж или тотальная резекция образования).

Распределение полов было примерно равным: мальчиков 12, девочек 10. Возраст варьировал от 5 до 17 лет, у пациентов младше 5 лет данное заболевание на нашем материале не встречалось. Интересно отметить, что клинический диагноз ЦГКГ при направлении биопсийного материала на исследование зарегистрирован только в 3 случаях (13,64%). ГКО фигурировала в клиническом диагнозе в большинстве случаев (8 пациентов, 36,36%), фиброзная дисплазия в 4 случаях (18,18%), диагноз «костная киста» (без уточнения) был у одного пациента (4,55%) и остеома в одном наблюдении. Клинический диагноз ограничивался определением «опухоль» в 5 случаях, что составило 22,73% (Табл. 5).

Почти все случаи обнаруживались в челюстях – 21 (нижняя челюсть 11, верхняя челюсть 10). В одном наблюдении ЦГКГ локализовалась в лобной кости – 4,54% (девочка 6 лет). Не было зарегистрировано ни одного случая с локализацией поражения за пределами челюстей и костей черепа.

Размеры образования варьировали от 1 до 12,8 см в наибольшем измерении. Патологические переломы не были выявлены ни в одном из наблюдений.

Основными клиническими проявлениями ЦГКГ были жалобы на безболезненное увеличение объема зоны поражения, косметический дискомфорт. При возникновении в челюстях наблюдались деформации зубов и аномалии прикуса (Рис. 18, 19). При вовлечении в патологический процесс верхней челюсти и верхнечелюстных синусов присоединялись симптомы назальной обструкции. Временной интервал от момента появления клинической симптоматики до обращения в клинику составлял обычно несколько месяцев.

При рентгенологическом исследовании во всех наблюдениях обнаруживался очаг поражения кости литического характера, как правило, с распространением за нормальные анатомические границы кости, был ограничен ободком костной ткани (периостальная реакция по типу скорлупы).

Таблица 5.

Пациенты с ЦГКГ.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Кл. диагноз	Локализация	Морф. диагноз	Размер (см)
1	АА	Ж	11	18473-84/04	ГКО	Верхняя челюсть справа	ЦГКГ	НД
2	ДУ	М	14	20210-16/12	Опухоль	Нижняя челюсть	ЦГКГ	3
3	КО	Ж	17	29634-50/11	ГКО	Нижняя челюсть справа	ЦГКГ	7
4	ЛВ	М	17	20392-02/06	ГКО	Нижняя челюсть	ЦГКГ	НД
5	НО	Ж	16	6696-705/11	ГКО	Небный отросток верхней челюсти	ЦГКГ	1,8x2,4x2,7
6	СЕ	Ж	12	8714-23/09	Фиброзная дисплазия	Верхняя челюсть справа	ЦГКГ	2x1
7	ФД	Ж	10	23667-82/10	Фиброзная дисплазия	Верхняя челюсть слева	ЦГКГ	2,5x1,9x1,4
8	ЯИ	М	12	21152-65/03	Фиброзная дисплазия	Верхняя челюсть	ЦГКГ	НД
9	АА	Ж	6	14885-95/07	Остеома	Лобная кость	ЦГКГ	2x4
10	ЕИ	М	5	11936-47/13	ГКО	Альвеолярный отросток верхней челюсти	ЦГКГ	5
11	ГК	Ж	14	19082-119/13	Опухоль	Нижняя челюсть	ЦГКГ	НД
12	ТМ	М	9	1258-62/13	Киста	Челюсть	ЦГКГ	НД
13	БА	М	16	360-70/15	Опухоль	Нижняя челюсть	ЦГКГ	НД
14	ТМ	Ж	6	F1679/15	Фиброзная дисплазия	Нижняя челюсть	ЦГКГ	НД
15	ПИ	М	10	6722-30/16	ЦГКГ	Верхняя челюсть	ЦГКГ	1x1,2
16	ЕК	Ж	16	G298/16	ГКО	Верхняя челюсть слева	ЦГКГ	НД
17	ДА	Ж	12	F828/16	Опухоль	Нижняя челюсть	ЦГКГ	НД
18	ДЯ	М	8	G827/16	ГКО	Верхняя челюсть слева	ЦГКГ	9,2x9,8x12,8
19	ЛА	М	7	Z134/16	ЦГКГ	Нижняя челюсть слева	ЦГКГ	НД
20	ПФ	М	5	13444-58/17	Опухоль	Верхняя челюсть	ЦГКГ	1x1,2
21	СТ	М	16	Z163/17	ЦГКГ	Нижняя челюсть	ЦГКГ	НД
22	ШД	М	7	22791-803/17	ГКО	Нижняя челюсть	ЦГКГ	5x3

НД – нет данных



Рис. 18. Вид пациента с ЦГКГ верхней челюсти, видна асимметрия лица и сглаженность левой носогубной складки.



Рис. 19. Тот же пациент с ЦГКГ верхней челюсти. В зоне поражения отмечается потеря зубов, нарушение прикуса.

При КТ-исследовании обнаруживался очаг мягкотканной плотности, практически всегда с четкой границей, окруженный тонким склеротическим ободком (Рис. 20, 21). Кортикальный слой был истончен или частично разрушен. При МРТ-исследовании иногда обнаруживался кистозный компонент различной степени выраженности (по типу вторичной АКК).

При макроскопическом исследовании (чаще материал, полученный после кюретажа) ткань опухоли была мягкая, серовато-розового цвета.

При гистологическом исследовании образование имело относительно четкую границу, в периферических зонах встречались участки реактивного костеобразования в виде незрелой структурированной грубоволокнистой костной ткани. ЦГКГ состояла из вытянутых веретеновидных клеток, ядра которых также имели вытянутую или овальную форму. Клетки местами формировали хаотично расположенные в пространстве пучки, в части полей зрения можно было обнаружить шториформный паттерн. Межклеточный матрикс был фокально коллагенизированным. Митотическая активность была низкой или достоверно не определялась во всех анализируемых случаях. Второй обязательный клеточный компонент был представлен кластерами гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток, которые имели тенденцию к неравномерному распределению, часто концентрировались вокруг очагов кровоизлияний (Рис. 22). Количество ядер в гигантских многоядерных клетках никогда не превышало 30. В большинстве случаев (17, 77,27%) обнаруживались немногочисленные экстравазально расположенные эритроциты, а также гранулы гемосидерина и гемосидерофаги.

В 16 случаях было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к G34W и K36M (Табл. 6). Позитивной ядерной экспрессии данных маркеров не было выявлено ни в одном из наблюдений (Рис. 23, 24).

В 9 случаях ЦГКГ было выполнено секвенирование по Сенгеру материала, полученного из парафиновых блоков. В одно наблюдении была обнаружена синонимичная мутация R27R (silent mutation) в 27 кодоне гена

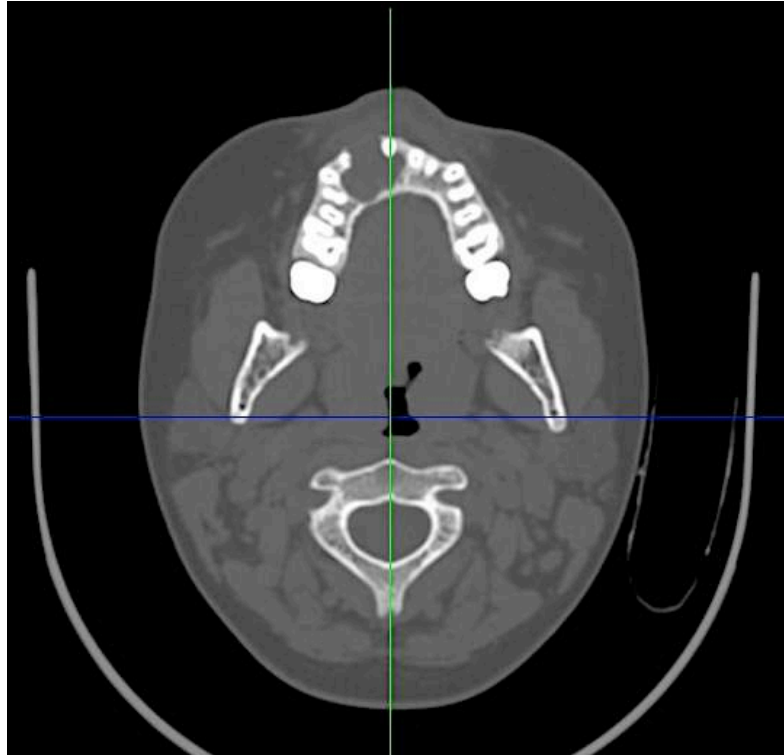


Рис. 20. КТ-исследование пациентки 11 лет с ЦГКГ. В верхней челюсти определяется литический очаг с четкой границей, истончением и фокальным отсутствием кортикального слоя.

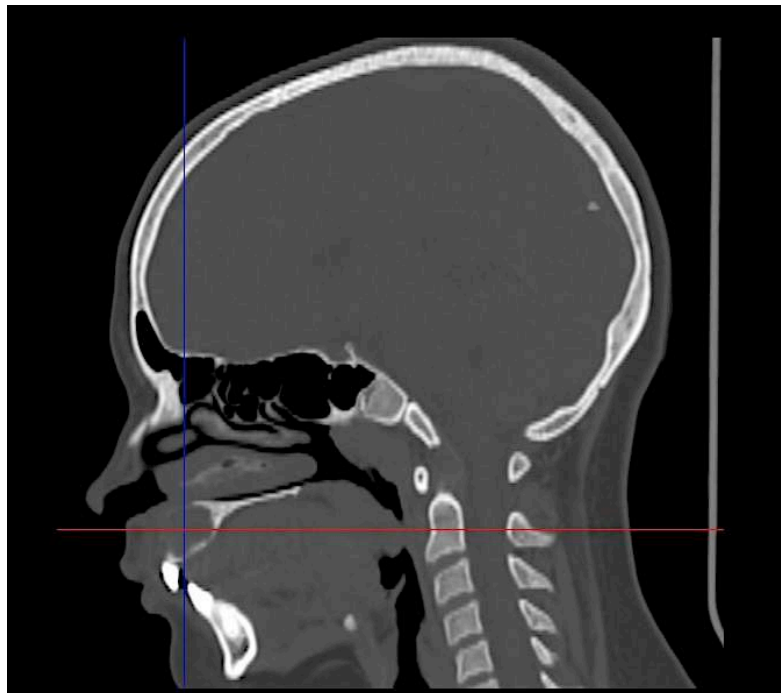


Рис. 21. КТ-исследование той же пациентки с ЦГКГ верхней челюсти.

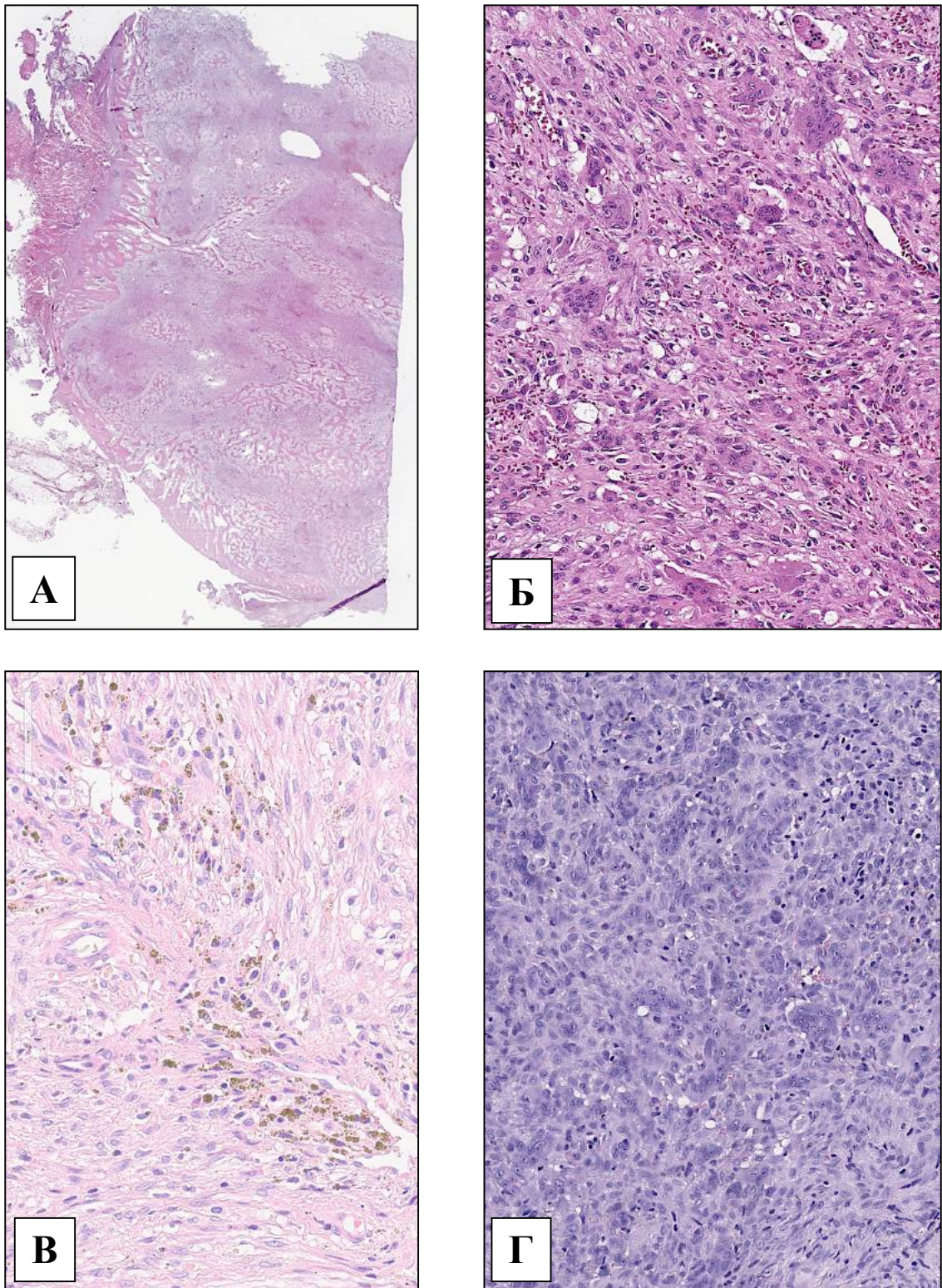


Рис. 22. ЦГКГ. А Определяется четкая граница, участки реактивного остеогенеза. ГЭ, х7. Б. Опухоль состоит из вытянутых клеток. Определяются множественные гигантские многоядерные клетки. ГЭ, х50. В. Очаги гемосидероза. Г. Клетки опухоли напоминают мононуклеарные клетки и гистологически симулируют строение ГКО.

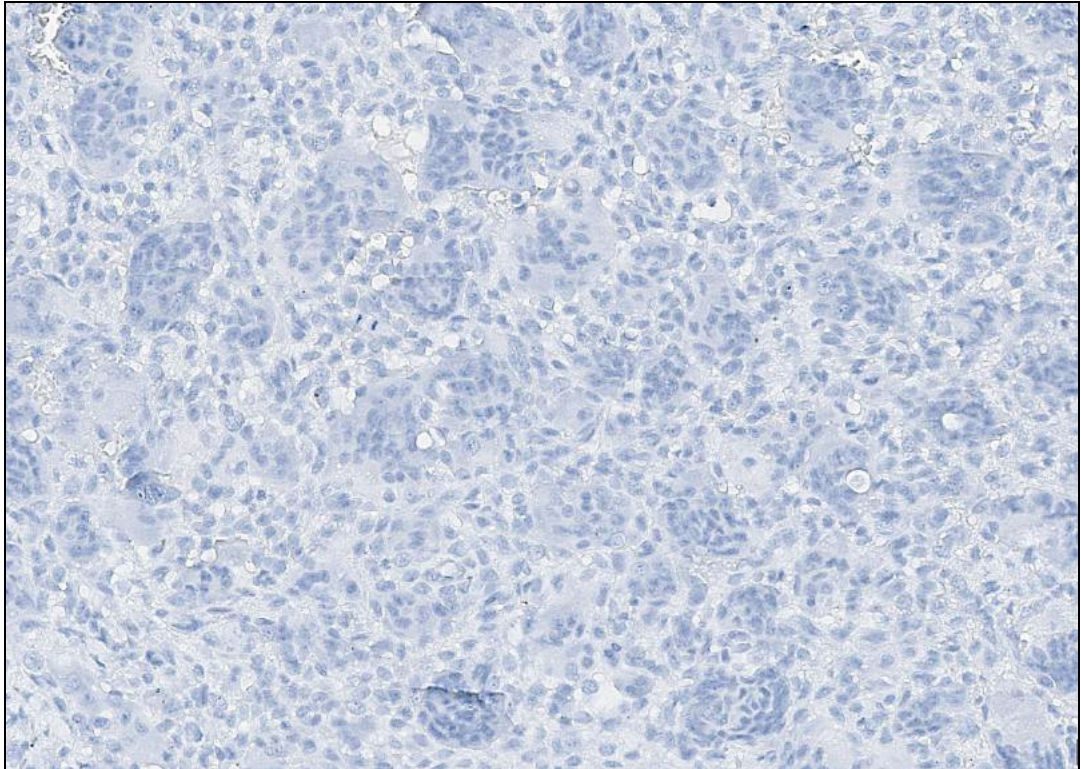


Рис. 23. Иммуногистохимическое исследование ЦГКГ с G34R (H3F3A), клетки опухоли негативны, x250.

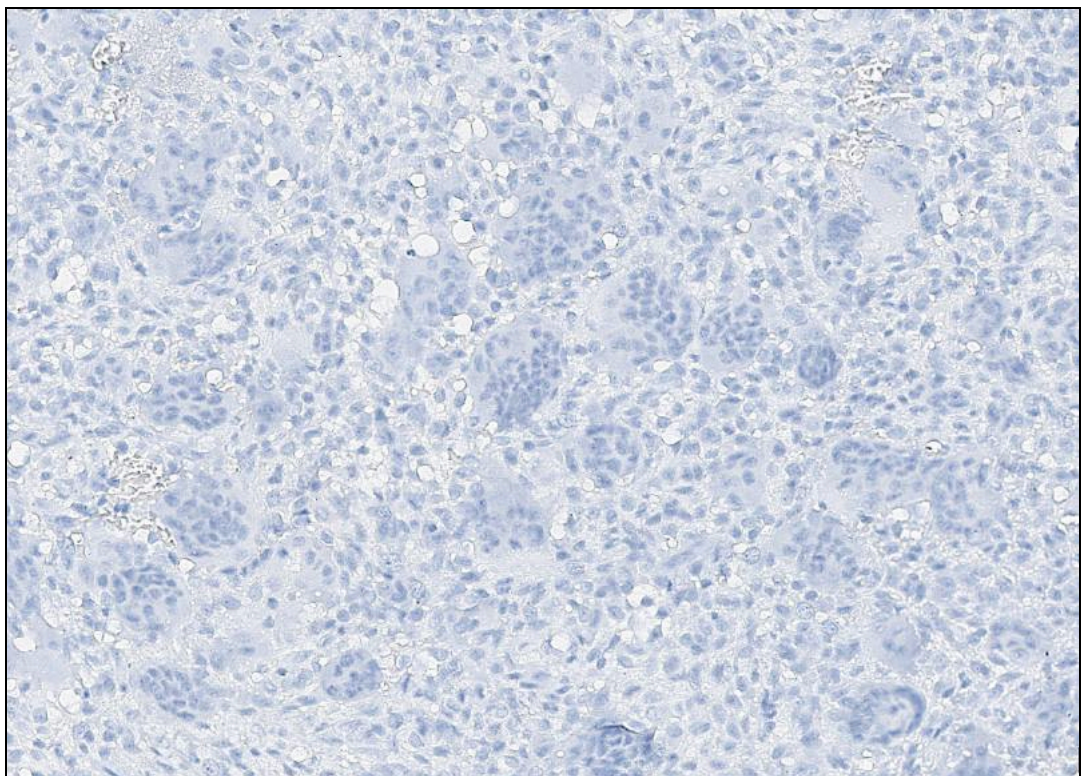


Рис. 24. Иммуногистохимическое исследование ЦГКГ с K36M (H3F3B), клетки опухоли негативны, x250.

Таблица 6.

Пациенты с ЦГКГ. Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	АА	Ж	11	18473-84/04	-	-
2	ДУ	М	14	20210-16/12	-	-
3	КО	Ж	17	29634-50/11	-	-
4	ЛВ	М	17	20392-02/06	МО	МО
5	НО	Ж	16	6696-705/11	-	-
6	СЕ	Ж	12	8714-23/09	-	-
7	ФД	Ж	10	23667-82/10	-	-
8	ЯИ	М	12	21152-65/03	МО	МО
9	АА	Ж	6	14885-95/07	МО	МО
10	ЕИ	М	5	11936-47/13	-	-
11	ГК	Ж	14	19082-119/13	МО	МО
12	ТМ	М	9	1258-62/13	МО	МО
13	БА	М	16	360-70/15	МО	МО
14	ТМ	Ж	6	F1679/15	-	-
15	ПИ	М	10	6722-30/16	-	-
16	ЕК	Ж	16	G298/16	-	-
17	ДА	Ж	12	F828/16	-	-
18	ДЯ	М	8	G827/16	-	-
19	ЛА	М	7	Z134/16	-	-
20	ПФ	М	5	13444-58/17	-	-
21	СТ	М	16	Z163/17	-	-
22	ШД	М	7	22791-803/17	-	-

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

Таблица 7.

Результат секвенирования по Сенгер пациентов с ЦГКГ.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Морф. диагноз	H3F3A Codon 27	H3F3A Codon 28	H3F3A Codon 35	H3F3A Codon 37	H3F3B Codon 35	H3F3B Codon 37
1	ДЯ	М	8	G827/16	ЦГКГ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
2	ДУ	М	14	20210-16/12	ЦГКГ					WT	WT
3	НО	Ж	16	6695-705/11	ЦГКГ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
4	АА	Ж	11	18473-84/04	ЦГКГ					WT	WT
5	ДА	Ж	12	F828/16	ЦГКГ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
6	СТ	М	16	Z163/17	ЦГКГ					WT	WT
7	ЛА	М	7	Z134/16	ЦГКГ	R27R	WT	WT	WT	WT	WT
8	ЕК	Ж	16	G298/16	ЦГКГ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
9	ПФ	М	5	13444-58/17	ЦГКГ	WT	WT	WT	WT	WT	WT

WT – дикий тип (wild type)

Mutation ID COSM4971457

Gene name H3F3A

AA mutation p.R27R (Substitution - coding silent, position 27, R R)

CDS mutation c.81C>T (Substitution, position 81, C T)

FATHMM prediction Pathogenic (score 0.77)

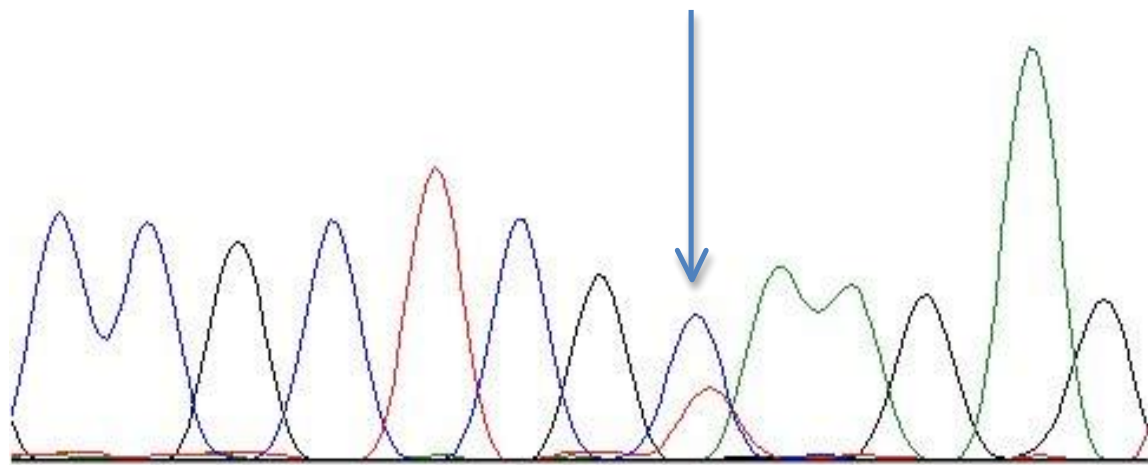
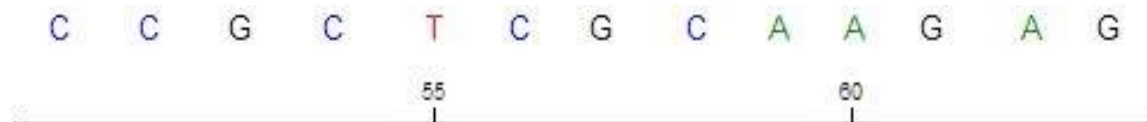


Рис. 25. Секвенирование по Сенгеру при ЦГКГ. Стрелкой показана синонимичная (silent) мутация R35R в гене H3F3A (codone 27).

H3F3A, обусловленная заменой нуклеотида без соответствующей замены аминокислоты (Табл. 7 и Рис. 25). Во всех остальных случаях в исследованных кодонах генов H3F3A и H3F3B мутации не выявлены (обнаружен дикий тип генов).

3.3 Аневризмальная костная киста (АКК).

АКК при морфологическом исследовании была выявлена у 75 пациентов. В каждом случае анализировались данные анамнеза (пол, возраст, локализация, жалобы, проведенное лечение), данные рентгенологического (КТ/МРТ) исследования (при наличии) и гистологический материал. Всем пациентам было проведено хирургическое лечение (пункция, кюретаж или тотальная резекция образования).

Возраст пациентов варьировал от 2 до 18 лет, с пиком инцидентности в период от 12 до 18 лет – 38 наблюдений (50,67%). В возрастной группе от 7 до 12 лет был диагностирован 21 случай АКК (28%), от 3 до 7 лет 14 случаев (18,66%), от 1 до 3 лет было выявлено всего 2 случая АКК (2,66%). В возрастной группе до одного года данное заболевание не встречалось. Количество мальчиков и девочек было примерно равным 38/37.

Среди клинических проявлений АКК дети предъявляли жалобы на спонтанные и пальпаторные болевые ощущения, увеличение объема пораженной части тела, иногда отмечалось ограничение амплитуды движений в суставе, близком к очагу поражения. Изменение длины конечностей при локализации АКК в длинных трубчатых костях было зарегистрировано у 11 пациентов (укорочение в 8, удлинение в 3 случаях), что составило 14,66%. Амплитуда движений в прилежащем к опухоли суставе была ограничена у 7 детей. Манифестация заболевания с патологического перелома при травмах была выявлена в 17 наблюдениях (22,66%). Указания на пункцию образования с диагностической или лечебной целью до хирургического вмешательства были обнаружены в анамнезе у 11 пациентов (14,66%).

Чаще всего АКК встречалась в метафизарно-диафизарной зоне плечевой (17 пациентов, 22,66%), бедренной (14 пациентов, 18,66%) и большеберцовой костей (8 наблюдений, 10,67%). Распределение случаев в зависимости от локализации поражения показано на рис. 26.

Клинический диагноз АКК при направлении материала на гистологическое исследование фигурировал только в 21 случае (28%). Диагноз «костная киста» встретился в 12 наблюдениях (16%), «простая костная киста» в 3 (4%). У 12 пациентов (16%) в клиническом диагнозе фигурировала «гигантоклеточная опухоль». В 14 случаях содержательная часть направления ограничивалась словом «опухоль» без какого-либо дальнейшего уточнения (18,66%). Телангиэктатическая остеосаркома была заподозрена в 5 наблюдениях (6,66%). Остеомиелит фигурировал в клиническом диагнозе в 2 случаях (2,66%), фиброзная дисплазия в 1 (1,33%) (Табл. 8).

Информация о размерах опухоли была доступна в 44 случаях (58,66%), в остальных наблюдениях такая информация отсутствовала. Размеры опухоли варьировали в значительных пределах, от 0,6 (солидная АКК фаланги пальца) до 12 см в наибольшем измерении.

Результаты визуальной диагностики были доступны к оценке только у 37-ми пациентов (49,33%), в остальных случаях ориентировались на предоставленное описание рентгенологической (КТ/МРТ) картины.

При рентгенологическом исследовании в доступных для анализа случаях, определялся эксцентрический литический очаг поражения, как правило, выходящий за нормальные анатомические границы кости, с истончением кортикального слоя. На большем протяжении патологический очаг был хорошо ограничен за счет тонкого склеротического «ободка» (периостальная реакция) (Рис. 27). При локально агрессивном поведении АКК, в основном, при солидном варианте строения, наблюдалось разрушение кортикального слоя кости, а также участки «потери» границ

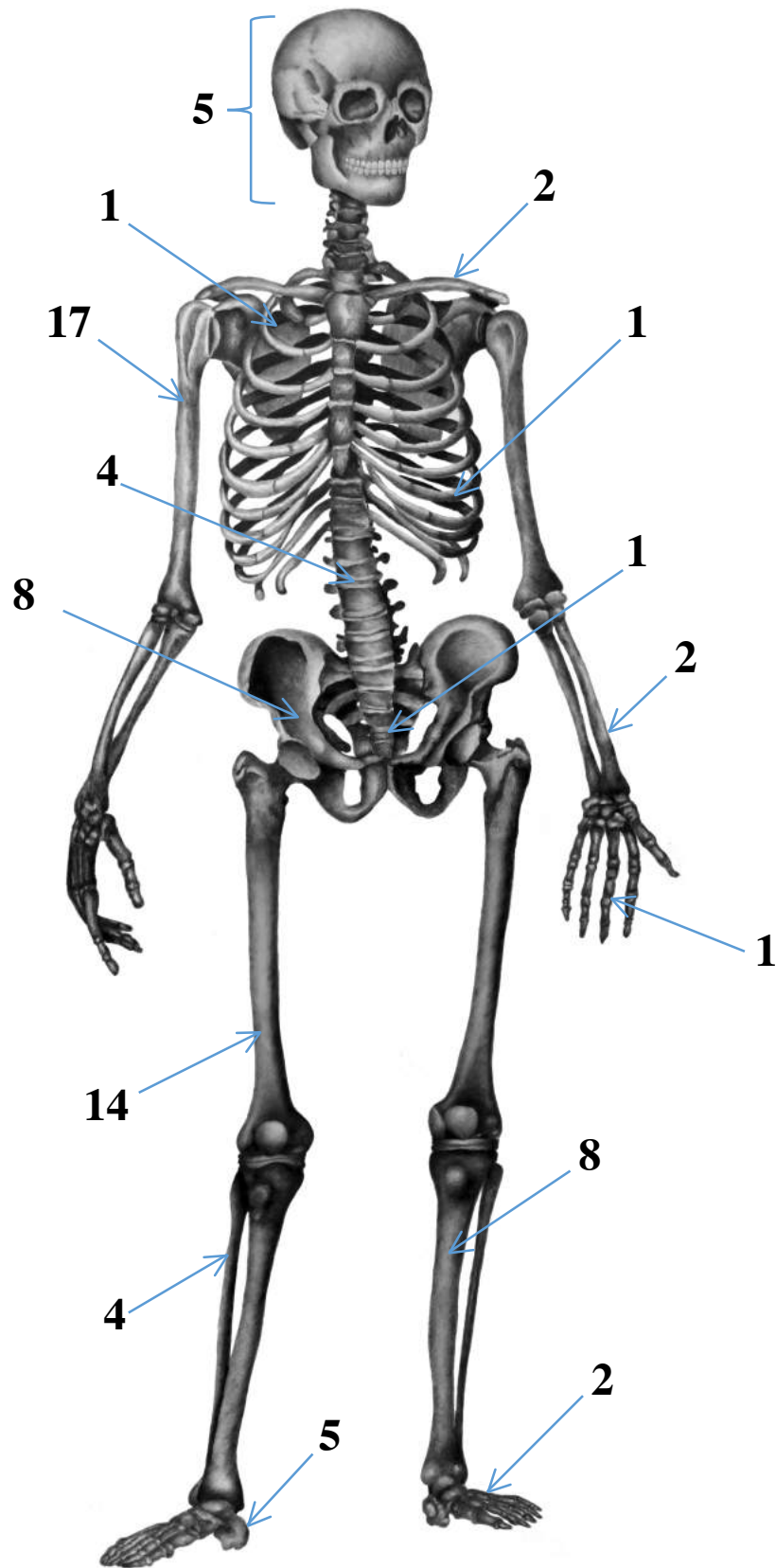


Рис. 26. Распределение случаев АКК у детей в зависимости от локализации.

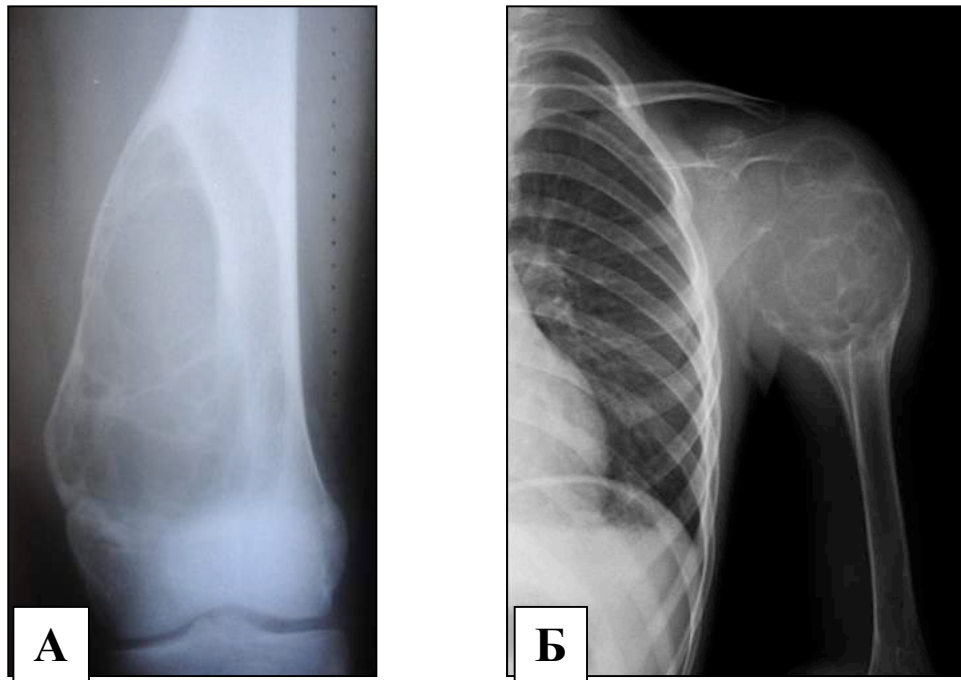


Рис. 27. Рентгенограммы пациентов с АКК (классический кистозный вариант). А. В метафизе бедренной кости хорошо ограниченный литический септированный очаг. Опухоль распространяется за нормальные анатомические границы бедренной кости. Б. Хорошо ограниченная септированная опухоль проксимального эпифиза и метафиза левой плечевой кости.



Рис. 28. Рентгенограммы пациентки с АКК (солидный вариант). Опухоль проксимального метафиза малоберцовой кости. Граница с мягкими тканями нечеткая, септированность не выражена.

Пациенты с АКК.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Кл. диагноз	Локализация	Морф. диагноз	Размер (см)
1	БН	М	11	22085-89/13	Киста	Плечевая	АКК	4х4х3
2	ГА	М	7	21153-75/13	ГКО	Верхняя челюсть	АКК	4х5х4,3
3	КА	М	17	20360-400/13	Солитарная киста	Плечевая	АКК	9х3х3,5
4	ЛА	Ж	7	19164-67/13	Киста	Плечевая	АКК	7х3х3
5	ДП	Ж	5	16264-94/13	Опухоль	Нижняя челюсть	АКК	7 в диам.
6	БН	Ж	14	3789-801/13	Солитарная киста	Пяточная	АКК	2х2
7	ЮЗ	Ж	11	2359-99/13	ГКО	Подвздошная	АКК	5 в диам.
8	СИ	М	11	22578-88/12	АКК	Пяточная	АКК	3/4 объема
9	РЮ	Ж	12	20749-73/12	АКК	Большеберцовая	АКК	6х4х4
10	ПА	Ж	16	18624-36/12	ГКО	Ключица	АКК	2х2х1,5
11	АТ	М	15	15799-814/12	Киста	Бедренная	АКК	6х5х3
12	ИП	М	7	14639-88/12	ГКО	Плечевая	АКК	5х3х3
13	ШО	Ж	8	10943-76/12	Остеомиелит	Большеберцовая	АКК	1,4х2
14	КМ	М	12	10454-87/12	Солитарная киста	Бедренная	АКК	8х5
15	ЕИ	М	5	1608-18/11	Киста	Плечевая	АКК	2х1,5
16	ГН	М	6	8032-42/11	Киста	Плечевая	АКК	НД
17	АВ	Ж	6	1889-99/10	Киста	Пяточная	АКК	НД
18	ГВ	Ж	13	28282-95/10	АКК	Плечевая	АКК	2,5х6,5
19	РС	М	2	5892-07//10	АКК	Плечевая	АКК	6х3
20	АА	Ж	11	15184-00/09	ГКО	Нижняя челюсть	АКК	НД
21	РУ	Ж	6	818-29/09	Киста	Большеберцовая	АКК	5,5х4х3
22	НИ	Ж	12	3223-38/14	ГКО	Седалищная	АКК	НД
23	ИК	М	5	3599-3618/14	Опухоль	Плечевая	АКК	6,8х6,1
24	МД	М	10	6454-58/14	Киста	Плечевая	АКК	7х2х2
25	ША	Ж	16	7416-40/14	Киста	Плечевая	АКК	4,5х3х3
26	ФА	М	11	6835-44/14	Киста	Плечевая	АКК	7х3х2,5
27	КЮ	М	13	9102-17/14	Киста	Бедренная	АКК	НД
28	БА	М	14	F567/14	АКК	Седалищная	АКК	НД
29	МА	Ж	7	11995-015/14	ГКО	Лучевая	АКК	3х1,5х2
30	ДЭ	М	4	16129-36/14	ГКО	Плечевая	АКК	6х3х4
31	ШЮ	Ж	16	21881-94/14	ГКО	Бедренная	АКК	6х5х7
32	НВ	Ж	13	F1131/14	Остеосаркома	Бедренная	АКК (солид.)	НД
33	КА	М	13	19922-29/14	Киста	Плечевая	АКК	8х3х2
34	КА	Ж	13	F1227/14	АКК	Седалищная	АКК	НД
35	ПА	М	6	F1234/14	Опухоль	Бедренная	АКК	НД
36	РЕ	М	9	F1042/14	АКК	Крестец S1-S2	АКК	НД
37	ПВ	М	12	3318-23/15	АКК	Клиновидная кость	АКК	НД
38	ЖА	М	16	19617-22/13	Опухоль	Позвонок Th5	ГКО	НД
39	КТ	Ж	5	33191-213/11	Опухоль	Лонная	ГКО	НД
40	БА	Ж	14	15363-81/09	Опухоль	Лонная и седалищная	ГКО	7,6х8,5х9
41	ММ	М	13	10200-17/09	ГКО	Бедренная	ГКО	2,9х2х2
42	ВО	Ж	15	5603-09//15	АКК	Лопатка	АКК	НД
43	КК	Ж	17	6314-53/15	Остеосаркома	Малоберцовая	АКК (солид.)	НД
44	КЕ	Ж	15	Z1048/15	Опухоль	Позвонок Th10	АКК	НД

Таблица 8 (продолжение).

45	МД	М	7	9913-18/15	Киста	Бедренная	АКК	НД
46	МА	Ж	12	11432-22/15	Фиброзная дисплазия	Бедренная	АКК	НД
47	КЕ	Ж	17	G1066/15	Опухоль	Позвонок	АКК	НД
48	ХА	Ж	8	Z1127/15	Опухоль	Плечевая	АКК	НД
49	НА	Ж	9	13961-65/15	АКК	Седалищная и подвздошная	АКК	12
50	КД	М	12	20518-29/15	АКК	Большеберцовая	АКК	7х4х3
51	ХВ	Ж	15	G50/16	Телангиэкт. остеосаркома	Большеберцовая	АКК	НД
52	ТМ	М	13	4296-05/16	Остеомиелит	Малоберцовая	АКК	НД
53	ДЛ	Ж	13	7304-08/16	Киста	Бедренная	АКК	3х2х2,5
54	СД	М	12	G461/16	Опухоль	Височная	АКК	НД
55	СВ	Ж	11	12667-71/16	АКК	Большеберцовая	АКК	6,8х3,8х3,2
56	ЖМ	М	6	13264-83/16	АКК	Плечевая	АКК	5х5х4,5
57	МШ	Ж	14	Z140/16	Саркома	Большеберцовая	АКК	6,3х6,5
58	СЕ	М	16	15433-34/16	Киста	Пяточная	АКК	НД
59	КИ	М	2	G926/16	ХБ	Ребро	АКК (солид.)	7х3,5х5,5
60	ГМ	Ж	16	21406-15/16	АКК	Бедренная	АКК	НД
61	ПВ	М	14	19486-90/16	Киста	Пяточная	АКК	НД
62	ЗМ	М	10	F126/17	Опухоль	Лучевая	АКК	НД
63	БВ	Ж	8	G189/17	ГКО	Позвонок Th2	АКК	4,8х4,3х3
64	СВ	Ж	7	9-я б-ца/17	Опухоль	Большеберцовая	АКК	НД
65	МА	Ж	8	6748-57/17	Опухоль	Ключица	АКК (солид.)	НД
66	ПИ	М	12	11940-49/17	Энхондрома	Фаланга 2 пальца кисти	АКК (солид.)	0,6
67	ГА	Ж	13	13775-94/17	Опухоль	Подвздошная	АКК	3х2,6х2,7
68	БА	М	4	14252-67/17	АКК	Бедренная	АКК	НД
69	КИ	М	13	G987/17	ГКО	Малоберцовая	АКК	8,5х3,5
70	БМ	Ж	5	15390-11/17	АКК	Большеберцовая	АКК	8х3х2,4
			5	15895-14/17	АКК	Большеберцовая	АКК	НД
71	ХЯ	М	6	16390-96/17	АКК	Плюсневая кость	АКК	2,9х2,1
72	ФЕ	М	13	11483-97/17	АКК	Плечевая	АКК	7х3х3
73	ГЭ	Ж	9	P746/17	Остеосаркома	Вторая правая плюсневая кость	АКК (солид.)	5х1,5
74	БВ	М	14	20123-25/17	Киста	Правая малоберцовая кость	АКК	НД
75	СД	М	5	20607-13/17	АКК	Левая бедренная кость	АКК	8х3х4

опухоли в прилежащих мягких тканях (Рис. 28). Была хорошо видна септированность образования.

При МРТ-исследовании (в доступных случаях) выявлялись множественные уровни жидкости (fluid-fluid levels) в режиме T2 вследствие разделения компонентов крови и их различной суммарной плотности (Рис. 29).

При гистологическом исследовании в 69 наблюдениях была выявлена типичная морфологическая картина, характерная для АКК (классический кистозный вариант). У 6 пациентов диагностирован солидный вариант АКК (8%) (Табл. 8). Опухоль практически во всех случаях была хорошо ограничена, состояла из многочисленных кистозных полостей, заполненных кровью (Рис. 30). Септы были представлены зрелой соединительной тканью, состоящей из вытянутых фибробластоподобных клеток. Клеточная плотность варьировала в различных полях зрения в каждом конкретном случае. Митотическая активность была от минимальной до умеренной, патологические фигуры митоза и достоверные признаки клеточной атипии не определялись. Одним из постоянных признаков было обнаружение очагов «реактивного» остеогенеза в виде незрелых трабекул, состоящих из грубоволокнистой костной ткани неправильной формы или фокусов остеоида, обычно в окружении пролиферирующих клеток остеобластического ряда. В одной трети случаев (25, 33,33%) были обнаружены структуры неравномерной минерализации, так называемые «blue bone structures». Во всех наблюдениях выявлялись депозиты гемосидерина и небольшие скопления гемосидерофагов, а также очаговые кровоизлияния.

Одним из постоянных гистологических признаков АКК является выявление гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток, которые распределялись неравномерно, местами наблюдалось образование нечетко ограниченных кластеров (Рис. 31). В 6 наблюдениях солидного варианта АКК при анализе гистологических изменений преобладали зоны солидного

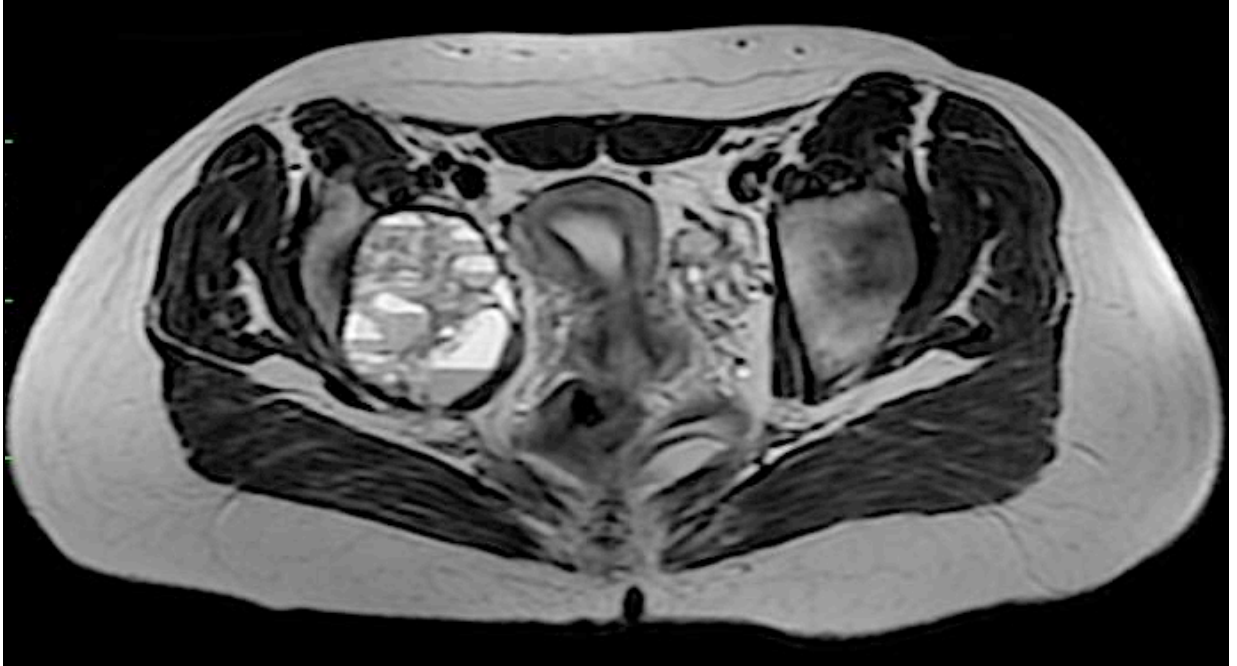


Рис. 29. МРТ пациента с АКК (классический кистозный вариант), режим T2. Хорошо ограниченное образование правой седалищной кости. Видны множественные уровни жидкости (fluid levels).

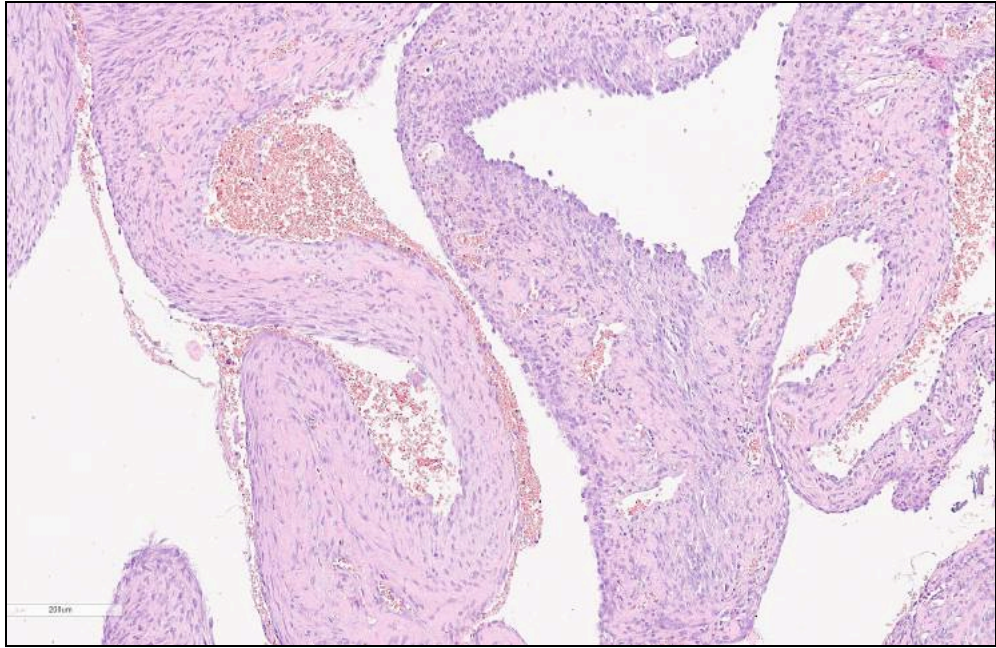


Рис. 30. АКК (классический вариант). Видны множественные полости, ограниченные септами, которые состоят из вытянутых фибробластоподобных клеток. ГЭ x7.

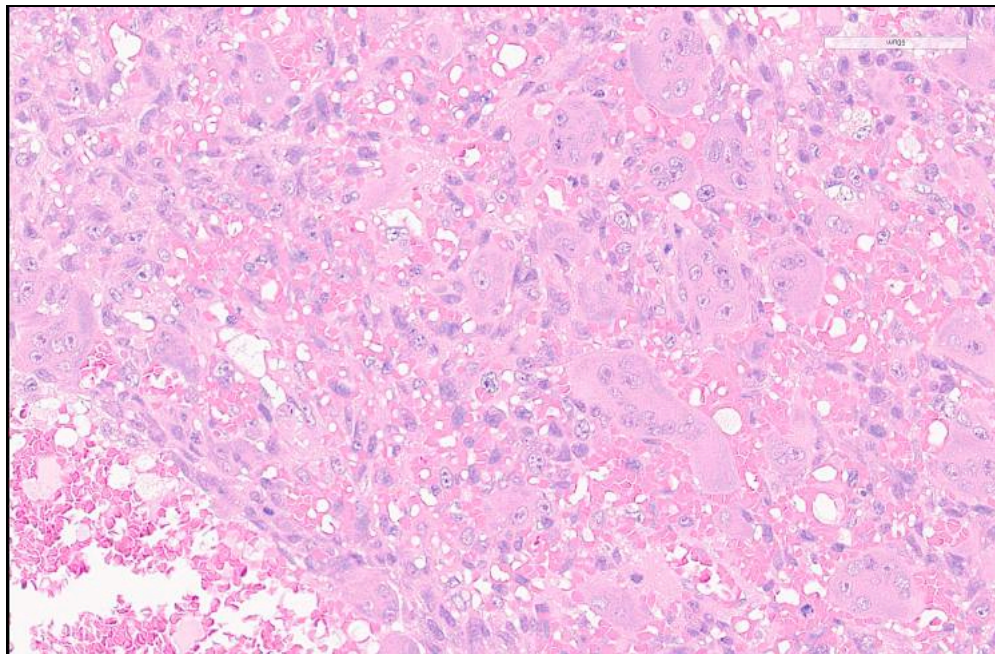


Рис. 31. АКК (классический вариант). Участки солидного строения в пределах септ. Определяются множественные гигантские многоядерные клетки. ГЭ, x70.

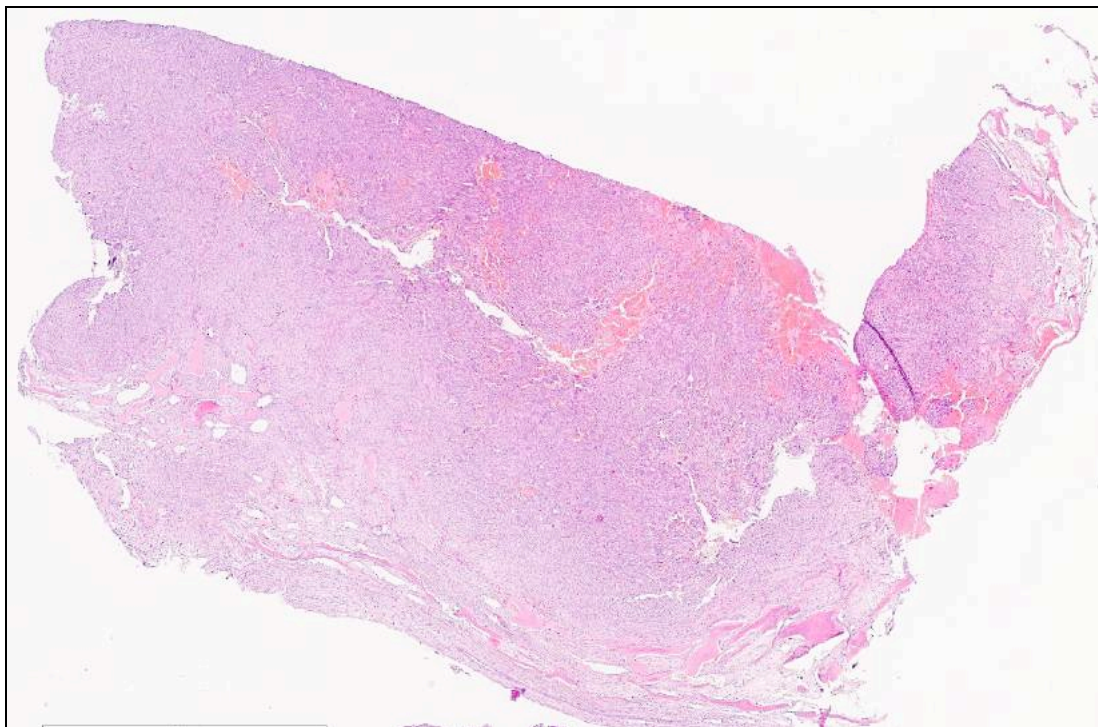


Рис. 32. Солидный вариант АКК. В ткани опухоли преобладает солидный компонент. В периферических отделах видны зоны реактивного костеобразования (периостальная реакция). ГЭх7.

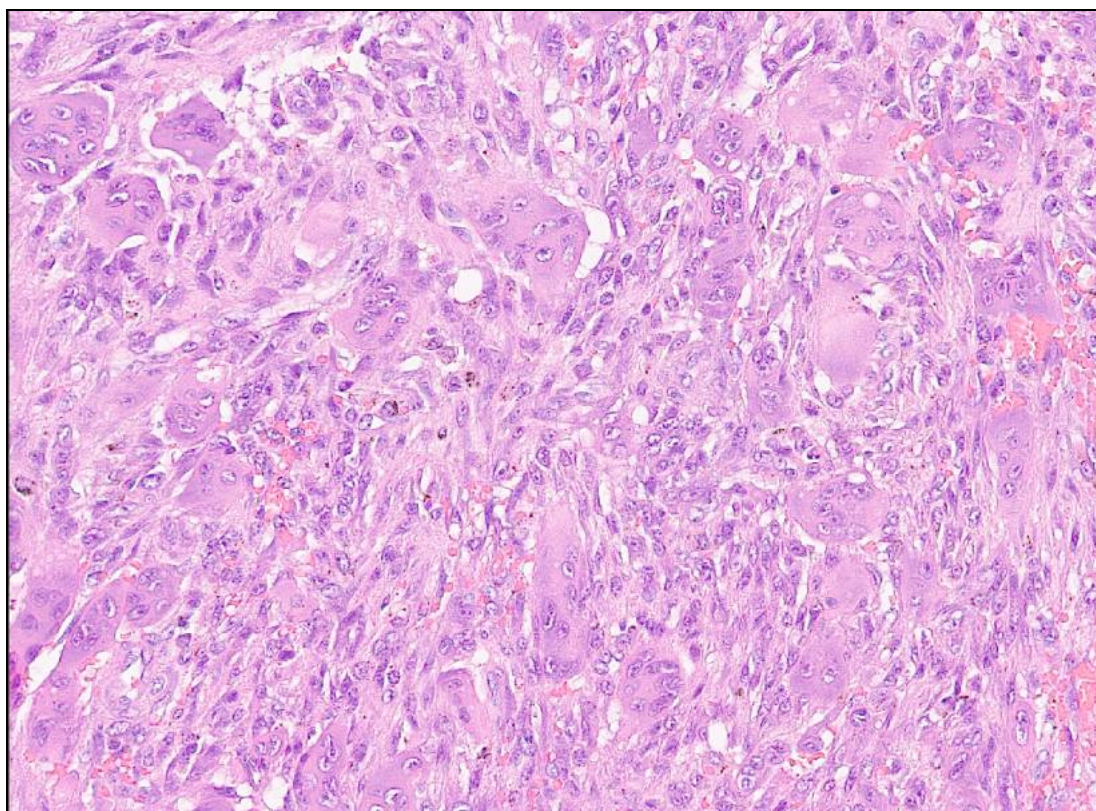


Рис. 33. Солидный вариант АКК (тот же пациент). Опухоль состоит из двух клеточных компонентов: овальных и вытянутых клеток опухоли и множественных гигантских многоядерных клеток. ГЭх250.

строения (Рис. 32, 33). В таких случаях отмечалось более диффузное распределение многоядерных клеток.

Локальный рецидив был выявлен у 10 пациентов с АКК (13,33%), при этом повторно был выполнен кюретаж.

Было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к G34W и K36M в 46 случаях АКК (Табл. 9). Позитивной реакции с антителом к G34W не зарегистрировано ни в одном наблюдении (Рис. 34, 35). Экспрессии K36M также не было выявлено, за исключением одного случая (рассмотрен ниже).

В четырех случаях АКК было выполнено FISH исследование на предмет перестройки гена USP6. У всех четырех пациентов была обнаружена перестройка данного гена. При этом, перестройка обнаруживалась только в вытянутых фибробластоподобных неопластических клетках. Ядра гигантских многоядерных клеток не содержали данной перестройки ни в одном из случаев (Рис. 36, 37).

У 10 пациентов с АКК было проведено секвенирование по Сенгеру (Табл. 10). В 4 случаях материал оказался неинформативным. В остальных был выявлен дикий тип (wild type) в различных кодонах генов H3F3A и H3F3B.

Представляется интересным, что на основании результатов проведенных исследований, два случая АКК были переклассифицированы в ХБ с вторичной АКК (один случай) и телангиэктатическую остеосаркому (другой случай). Рассмотрим каждый случай более подробно.

Пациент ПВ 14 лет за год до госпитализации отмечал жалобы на нарастающие болезненные ощущения в правой стопе, усиливающиеся при ходьбе и физической нагрузке. В клинике по месту жительства при рентгенологическом исследовании была обнаружена опухоль правой пяточной кости, была проведена пункция образования, получена кровь. При комплексном обследовании было сделано заключение «костная киста правой пяточной кости» и была рекомендована госпитализация.

Пациенты с АКК. Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	БН	М	11	22085-89/13	-	-
2	ГА	М	7	21153-75/13	МО	МО
3	КА	М	17	20360-400/13	-	-
4	ЛА	Ж	7	19164-67/13	-	-
5	ДП	Ж	5	16264-94/13	-	-
6	БН	Ж	14	3789-801/13	-	-
7	ЮЗ	Ж	11	2359-99/13	МО	МО
8	СИ	М	11	22578-88/12	-	-
9	РЮ	Ж	12	20749-73/12	-	-
10	ПА	Ж	16	18624-36/12	-	-
11	АТ	М	15	15799-814/12	МО	МО
12	ИП	М	7	14639-88/12	-	-
13	ШО	Ж	8	10943-76/12	-	-
14	КМ	М	12	10454-87/12	МО	МО
15	ЕИ	М	5	1608-18/11	-	-
16	ГН	М	6	8032-42/11	МО	МО
17	АВ	Ж	6	1889-99/10	МО	МО
18	ГВ	Ж	13	28282-95/10	МО	МО
19	РС	М	2	5892-07//10	МО	МО
20	АА	Ж	11	15184-00/09	МО	МО
21	РУ	Ж	6	818-29/09	МО	МО
22	НИ	Ж	12	3223-38/14	-	-
23	ИК	М	5	3599-3618/14	МО	МО
24	МД	М	10	6454-58/14	-	-
25	ША	Ж	16	7416-40/14	-	-
26	ФА	М	11	6835-44/14	-	-
27	КЮ	М	13	9102-17/14	-	-
28	БА	М	14	F567/14	МО	МО
29	МА	Ж	7	11995-015/14	-	-
30	ДЭ	М	4	16129-36/14	-	-
31	ШЮ	Ж	16	21881-94/14	-	-
32	НВ	Ж	13	F1131/14	-	-
33	КА	М	13	19922-29/14	-	-
34	КА	Ж	13	F1227/14	-	-
35	ПА	М	6	F1234/14	МО	МО
36	РЕ	М	9	F1042/14	МО	МО
37	ПВ	М	12	3318-23/15	МО	МО
38	ЖА	М	16	19617-22/13	-	-
39	КТ	Ж	5	33191-213/11	МО	МО
40	БА	Ж	14	15363-81/09	МО	МО
41	ММ	М	13	10200-17/09	МО	МО
42	ВО	Ж	15	5603-09//15	МО	МО
43	КК	Ж	17	6314-53/15	-	-
44	КЕ	Ж	15	Z1048/15	-	-
45	МД	М	7	9913-18/15	-	-
46	МА	Ж	12	11432-22/15	-	-
47	КЕ	Ж	17	G1066/15	МО	МО
48	ХА	Ж	8	Z1127/15	-	-
49	НА	Ж	9	13961-65/15	-	-
50	КД	М	12	20518-29/15	-	-
51	ХВ	Ж	15	G50/16	МО	МО
52	ТМ	М	13	4296-05/16	-	-
53	ДЛ	Ж	13	7304-08/16	-	-
54	СД	М	12	G461/16	МО	МО
55	СВ	Ж	11	12667-71/16	-	-

Таблица 9 (продолжение).

56	ЖМ	М	6	13264-83/16	-	-
57	МШ	Ж	14	Z140/16	-	-
58	СЕ	М	16	15433-34/16	МО	МО
59	КИ	М	2	G926/16	МО	МО
60	ГМ	Ж	16	21406-15/16	-	-
61	ПВ	М	14	19486-90/16	-	+
62	ЗМ	М	10	F126/17	-	-
63	БВ	Ж	8	G189/17	-	-
64	СВ	Ж	7	9-я б-ца/17		
65	МА	Ж	8	6748-57/17	-	-
66	ПИ	М	12	11940-49/17	-	-
67	ГА	Ж	13	13775-94/17	-	-
68	БА	М	4	14252-67/17	МО	МО
69	КИ	М	13	G987/17	-	-
70	БМ	Ж	5	15390-11/17		
71	ХЯ	М	6	16390-96/17	-	-
72	ФЕ	М	13	11483-97/17	МО	МО
73	ГЭ	Ж	9	P746/17	-	-
74	БВ	М	14	20123-25/17	-	-
75	СД	М	5	20607-13/17	МО	МО

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

Таблица 10.

Результат секвенирования по Сенгер пациентов с АКК.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Морф. диагноз	H3F3A Codon 27	H3F3A Codon 28	H3F3A Codon 35	H3F3A Codon 37	H3F3B Codon 35	H3F3B Codon 37
1	ФА	М	11	6835-44/14	АКК	МН	МН	МН	МН	МН	МН
2	МА	Ж	8	6748-57/17	АКК (солид.)	WT	WT	WT	WT	WT	WT
3	ШЮ	Ж	16	21881-94/14	АКК	WT	WT	WT	WT	WT	WT
4	ГА	Ж	13	13775-94/17	АКК	МН	МН	МН	МН	МН	МН
5	ТМ	М	13	4296-05/16	АКК	WT	WT	WT	WT		
6	КК	Ж	17	6414-53/15	АКК (солид.)	WT	WT	WT	WT		
7	ГМ	Ж	16	21406-15/16	АКК	МН	МН	МН	МН	МН	МН
8	КК	Ж	17	6314-53/15	АКК (солид.)	WT	WT	WT	WT		
9	КА	Ж	13	F1227/14	АКК	МН	МН	МН	МН	МН	МН
10	ША	Ж	16	7416-40/14	АКК	WT	WT	WT	WT		

МН – материал неинформативен

WT – дикий тип (wild type)

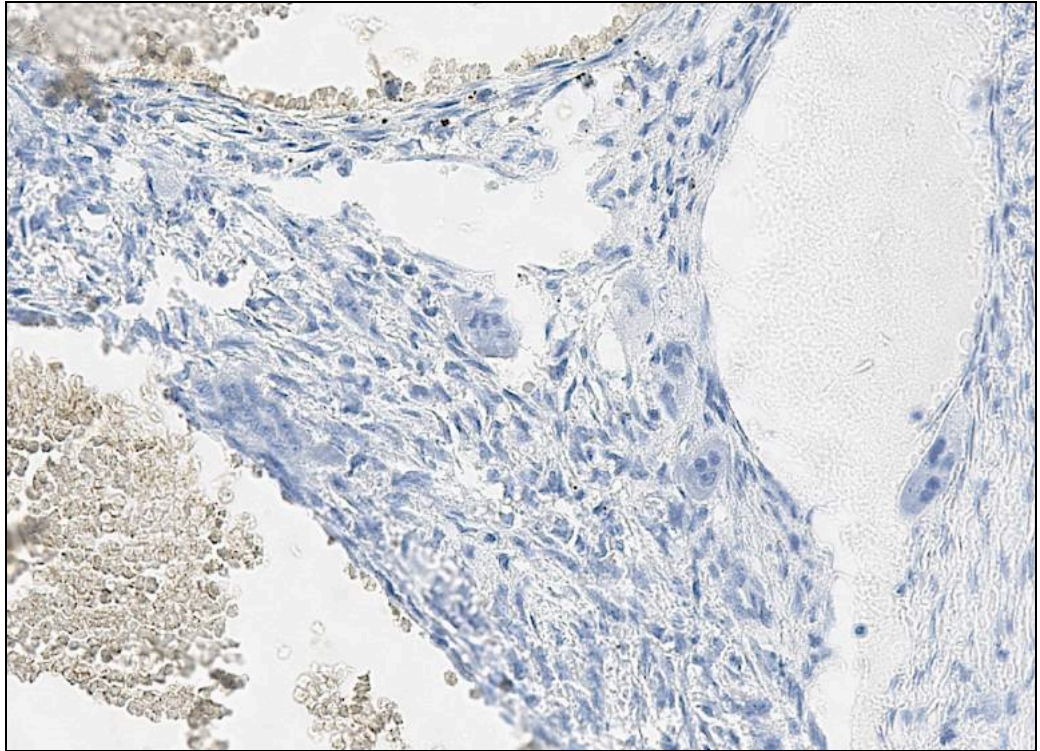


Рис. 34. Иммуногистохимическое исследование АКК с G34W (H3F3A), клетки опухоли негативны, х370.

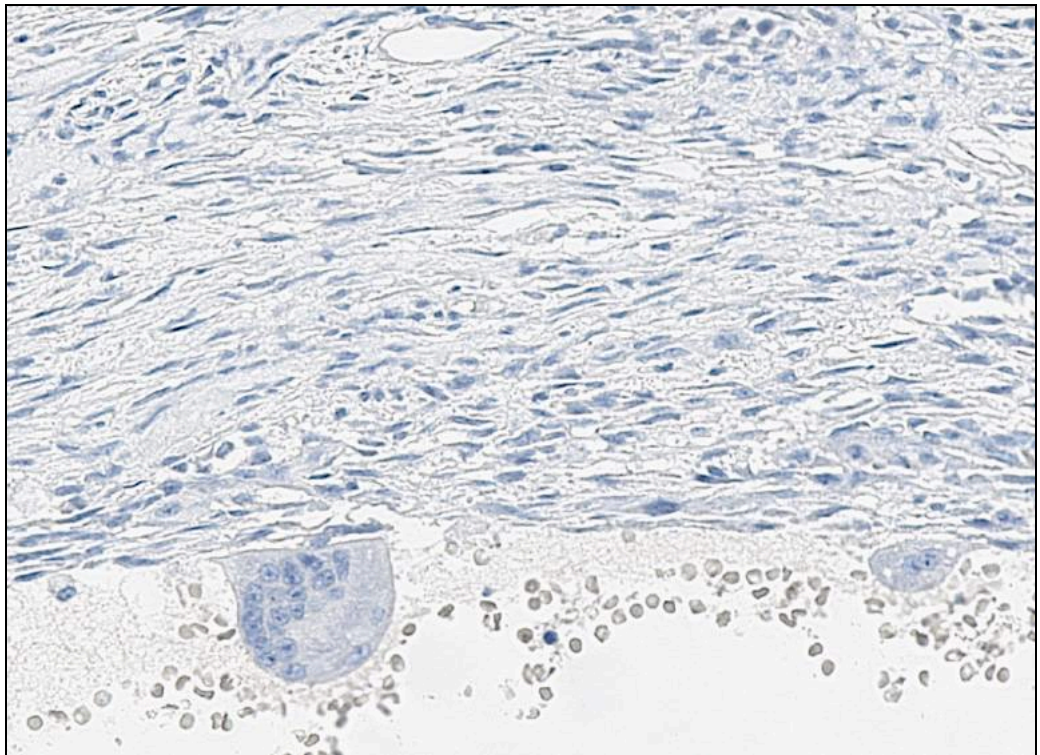


Рис. 35. Иммуногистохимическое исследование АКК с K36M (H3F3B), клетки опухоли негативны, х400.

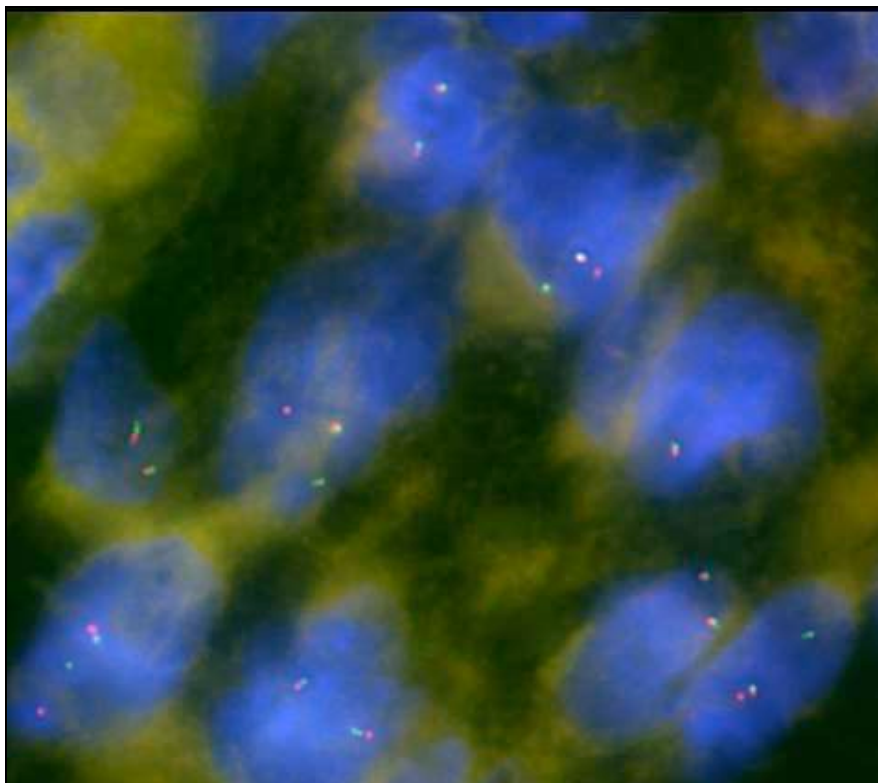


Рис. 36. FISH исследование с зондом Zyto Light SPEC USP6 Dual Color Break Apart Probe. В ядрах клеток находятся слитые красно-зеленые сигналы (отсутствие перестройки) и отдельные зеленые и красные сигналы (наличие разрыва в области гена USP6 в районе 17p13.2).

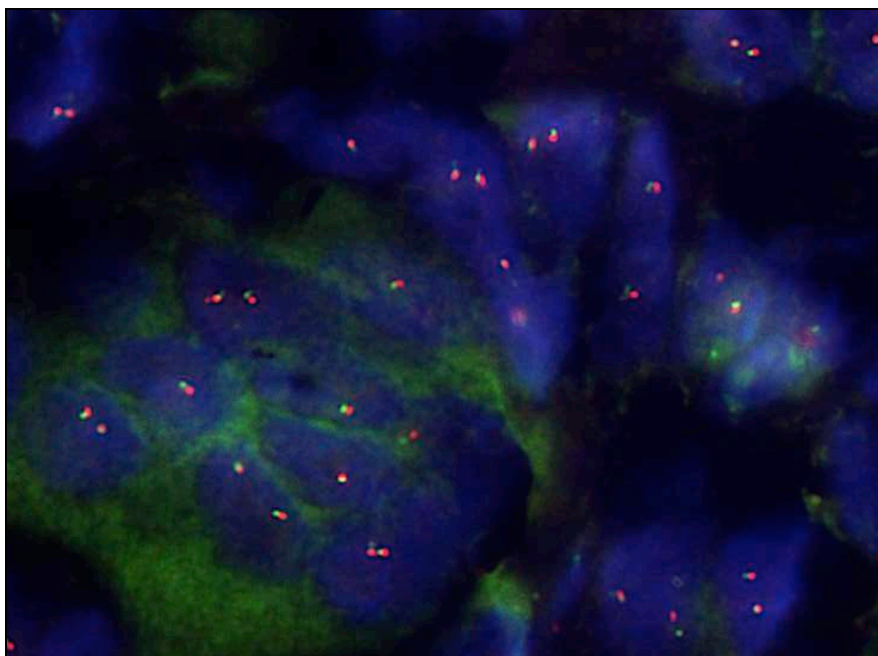


Рис. 37. FISH исследование с зондом Zyto Light SPEC USP6 Dual Color Break Apart Probe. В ядрах гигантских многоядерных клеток перестройка гена USP6 отсутствует.

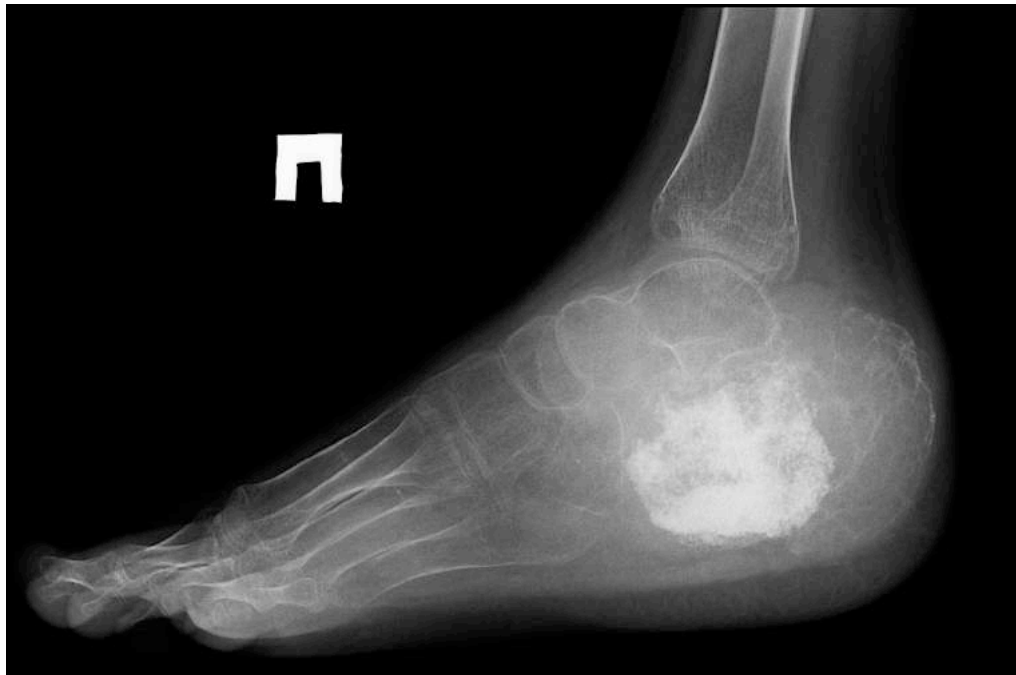


Рис. 38. Рентгенограмма пациента с предполагаемым диагнозом «АКК». Опухоль пяточной кости (рецидив) после кюретажа. Образование литического характера, септированное.

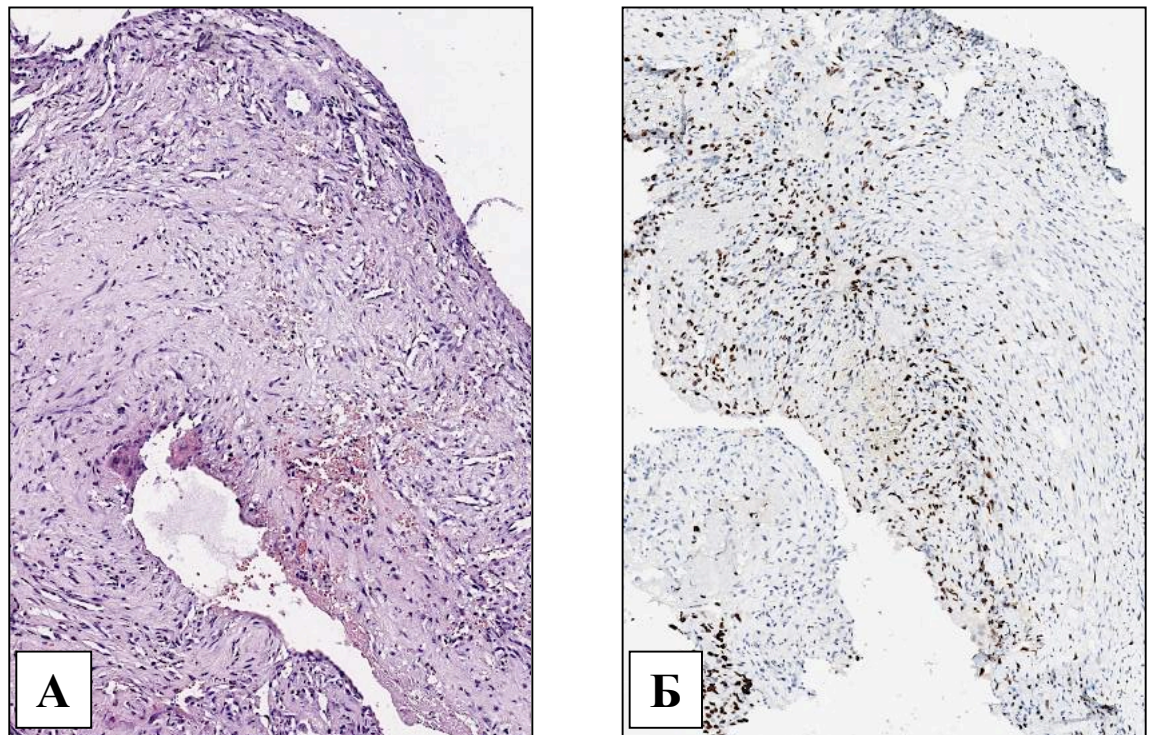


Рис. 39. Гистологическая картина опухоли того же пациента. А. Опухоль состоит из септ, ограничивающих полости. Септы содержат вытянутые фибробластоподобные клетки. ГЭх130. Б. Иммуногистохимическое исследование с K36M, позитивная реакция (ядерный локус), х130.

Во время госпитализации был выполнен кюретаж с замещением дефекта синтетическим материалом (Рис. 38). При гистологическом исследовании исследованный материал был представлен, преимущественно кистозным компонентом (Рис. 39 А). Септы, ограничивающие полости, были заполнены кровью, не содержали эндотелиального компонента, содержали вытянутые и веретеновидные фибробластоподобные клетки. Митотическая активность была низкой, насчитывалось не более 3 митозов на 10 полей зрения при увеличении микроскопа $\times 400$, патологические фигуры митоза не обнаруживались. Определялись хаотично распределяющиеся немногочисленные гигантские многоядерные клетки, содержащие не более 25 ядер, местами отмечалось образование плохо ограниченных кластеров. При проведении иммуногистохимического исследования была выявлена положительная реакция с антителом к К36М (Рис. 39 Б), что диктовало необходимость пересмотра всего комплекса полученных данных. При повторном пересмотре гистологической картины в септах и солидном компоненте были выявлены зоны, содержащие клетки овальной и округлой формы с ядрами с продольной бороздкой, характерными для ХБ. Таким образом, диагноз был изменен на ХБ с преобладанием кистозного компонента по типу вторичной АКК (Рис. 45).

Пациентка БМ 4 года обратилась в клинику по месту жительства с жалобами на нарастающие болевые ощущения в области левой голени и стопы. При рентгенологическом исследовании было выявлено хорошо ограниченное кистозное образование дистального метафиза и диафиза левой большеберцовой кости, без разрушения кортикального слоя и очевидных локальных инструментальных признаков агрессивности (Рис. 40А). После чего был выполнен кюретаж с элементами металлоконструкции. При гистологическом исследовании диагноз АКК не представлял сомнений, так как с учетом локализации и рентгенологических характеристик поражения, морфологическая картина была характерной (преобладал кистозный компонент, септы состояли из вытянутых клеток с минимальной



Рис. 40. Рентгенограммы пациентки с предполагаемым диагнозом «АКК». В дистальном метадиафизе определяется хорошо ограниченный литический очаг без разрушения кортикального слоя. Рентгенограмма в возрасте 4,5 года (А). В метадиафизе левой большеберцовой кости определяется плохо ограниченное образование с распространением в прилежащие мягкие ткани. Синтетический материал после оперативного вмешательства. Рентгенограмма в возрасте 6,5 лет (Б, В).

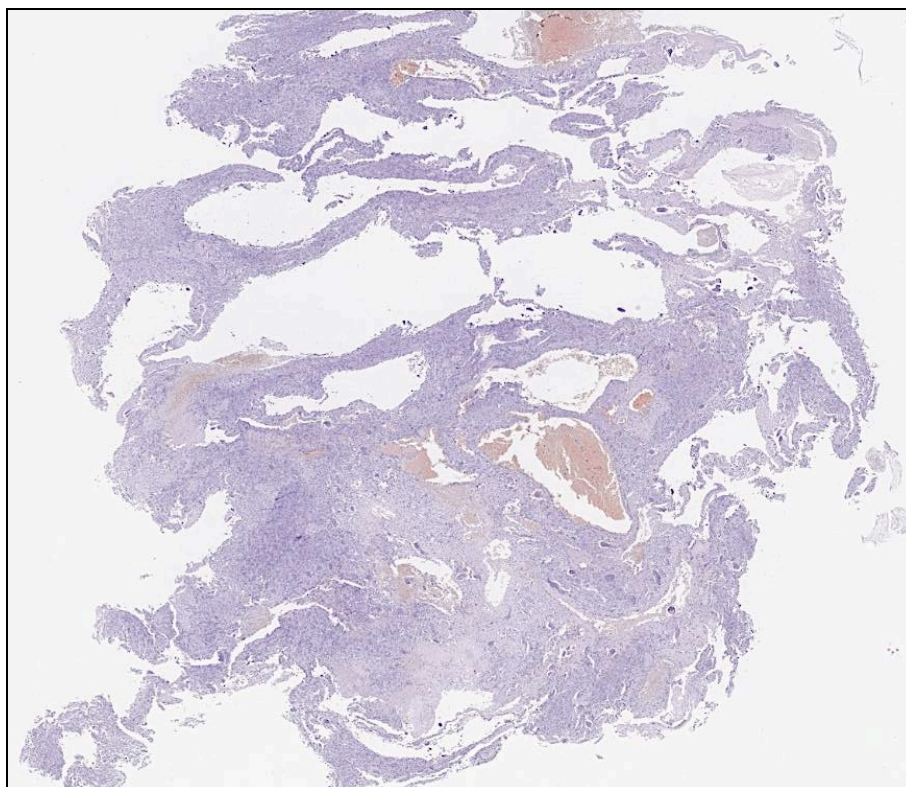


Рис. 41. Гистологическая картина пациента с предполагаемым диагнозом «АКК». Опухоль левой большеберцовой кости. Преобладает кистозный компонент, часть кист заполнены кровью. ГЭ x5.

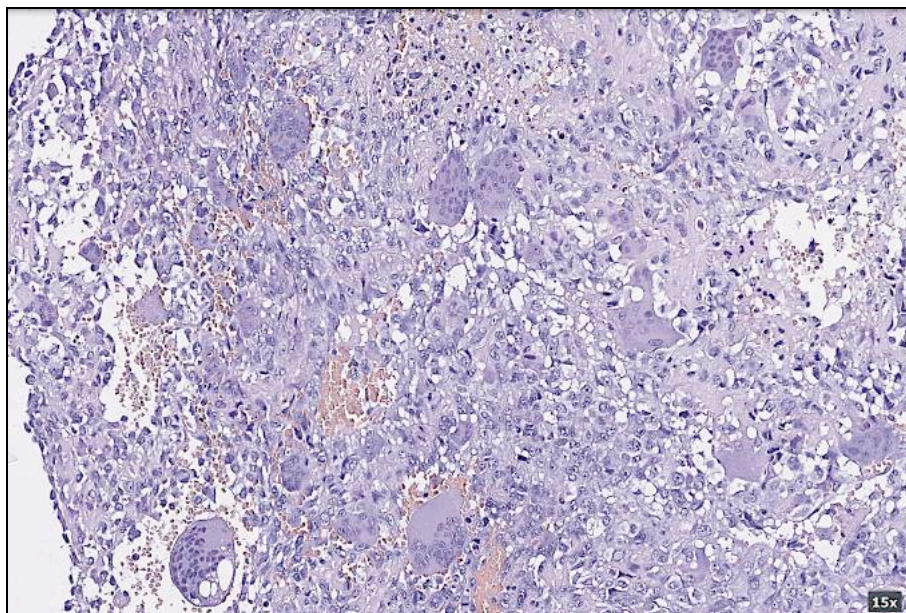


Рис. 42. Фрагмент Рис. 40. В солидном компоненте определяются вытянутые фибробластоподобные клетки без очевидных признаков атипии. Множественные гигантские многоядерные клетки. Участки образования остеоида. ГЭ x150.

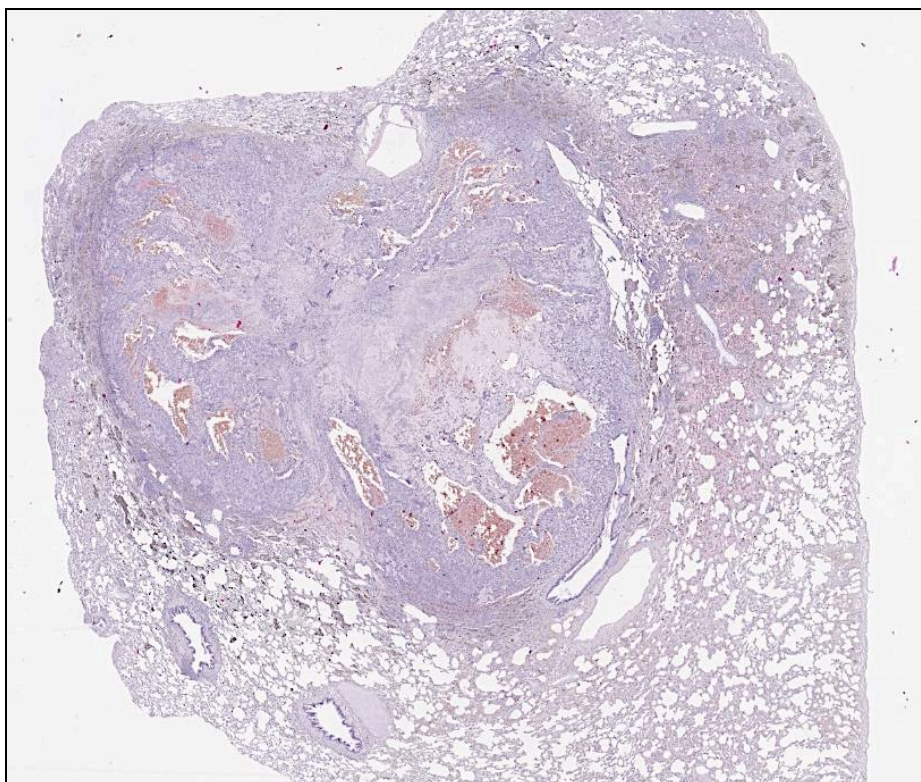


Рис. 43. Гистологическая картина пациента с предполагаемым диагнозом «АКК» левой большеберцовой кости. Метастаз в легком солидно-кистозного строения. ГЭ x5.

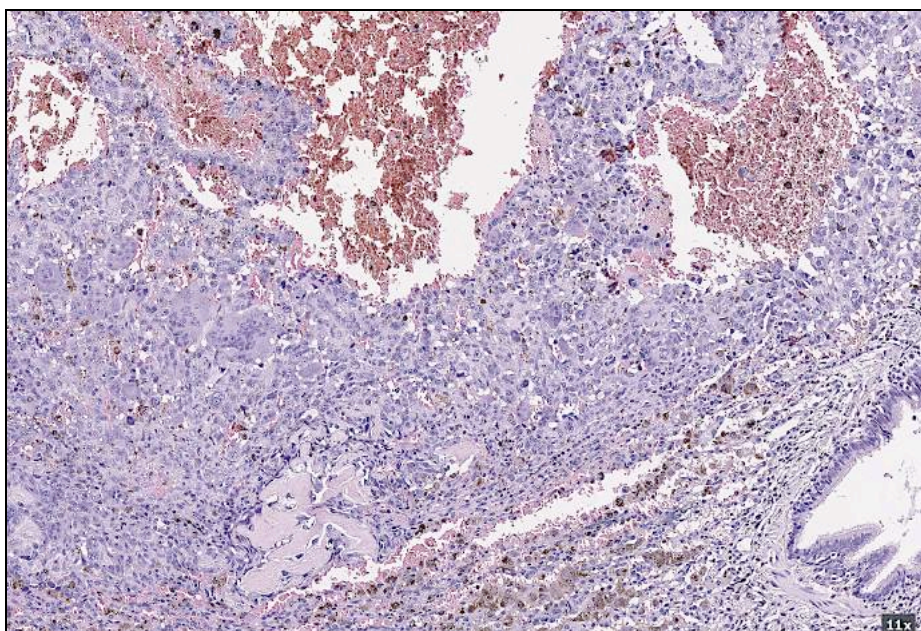


Рис. 44. Фрагмент Рис. 42. Опухоль состоит из крупных вытянутых и неправильной формы клеток. Очаги продукции патологического остеоида. Множественные гигантские многоядерные клетки. ГЭ x130.



Рис. 45. Схематический результат комплексного анализа случаев АКК у детей.

митотической активностью, встречались хаотично распределяющиеся гигантские многоядерные клетки). Далее было выявлено два локальных рецидива образования. Последнее рентгенологическое исследование (в возрасте 6,5 лет) выявило значительное распространение опухоли в прилежащие мягкие ткани (Рис. 40 Б, В), а при КТ легких было обнаружено два солидных очага размером до 0,5 и 0,7 см диаметром. Интересно отметить, что при каждом последующем рецидиве, гистологическая картина становилась все более «агрессивной» (нарастание митотической активности, появление крупных клеток с причудливой морфологией, увеличение количества гигантских многоядерных клеток) (Рис. 41, 42), однако не было достоверных критериев для постановки диагноза «телангиэктатическая остеосаркома» (отсутствие атипичии клеток опухоли, наличие патологических форм митозов). Была выполнена эксцизионная биопсия образований легкого. При гистологическом исследовании среди легочной ткани были выявлены два очага кистозно-солидного строения, с преобладанием солидного компонента (Рис. 43, 44). Опухоль состояла из крупных неопластических клеток вытянутой и неправильной формы, клетки содержали крупные гиперхромные ядра, с ядерно-цитоплазматическим соотношением в пользу ядра. Митотическая активность была высокой, насчитывалось более 10 митозов на 10 полей зрения при увеличении микроскопа $\times 400$, в том числе выявлялись атипические фигуры митоза. Обнаруживались множественные гигантские остеокластоподобные клетки, а также участки продукции патологического остеоида.

При исследовании методом FISH в последней биопсии опухоли большеберцовой кости в единичных клетках была выявлена транслокация гена USP6 (менее чем в 0,1% клеток опухоли). Так как данное значение находится намного ниже порогового, результат FISH не считался достоверным.

На основании вышеизложенного, первоначально выставленный диагноз АКК был переклассифицирован в телангиэктатическую

остеосаркому левой большеберцовой кости с метастатическим поражением легких (Рис. 45).

3.4 Хондробластома (ХБ).

Мы наблюдали 26 случаев ХБ у детей и подростков, что составило 2,61% в структуре всех опухолей костей у детей и подростков. В каждом случае анализировались данные анамнеза (пол, возраст, локализация, жалобы, проведенное лечение), данные рентгенологического (КТ/МРТ) исследования (при наличии) и гистологический материал. Всем пациентам было проведено хирургическое лечение (кюретаж).

Возраст пациентов варьировал от 9 до 17 лет, с пиком инцидентности в период от 12 до 18 лет (80,77%). В возрастной группе от 7 до 12 лет было диагностировано 5 случаев ХБ (19,23%). В более младших возрастных группах данная опухоль не встречалась. Количество мальчиков незначительно преобладало над количеством девочек 16/10.

Среди клинических проявлений ХБ пациенты предъявляли жалобы на спонтанные и пальпаторные болевые ощущения, увеличение объема, отмечалось также ограничение амплитуды движений в суставе, близком к очагу поражения. Манифестация заболевания с патологического перелома не выявлена ни у одного из пациентов.

В большинстве случаев ХБ локализовалась в эпифизах длинных трубчатых костей: проксимальном эпифизе плечевой кости – 10 случаев (38,46%), проксимальном и дистальном эпифизах большеберцовой кости – 7 случаев (26,92%), проксимальном и дистальном эпифизах бедренной кости – 5 наблюдений (19,23%) и в проксимальном эпифизе малоберцовой кости у одного пациента (3,85%). Лишь у одной девочки в патологический процесс был вовлечен суставной отросток левой лопатки. Распределение случаев с ХБ показано на рис. 46.

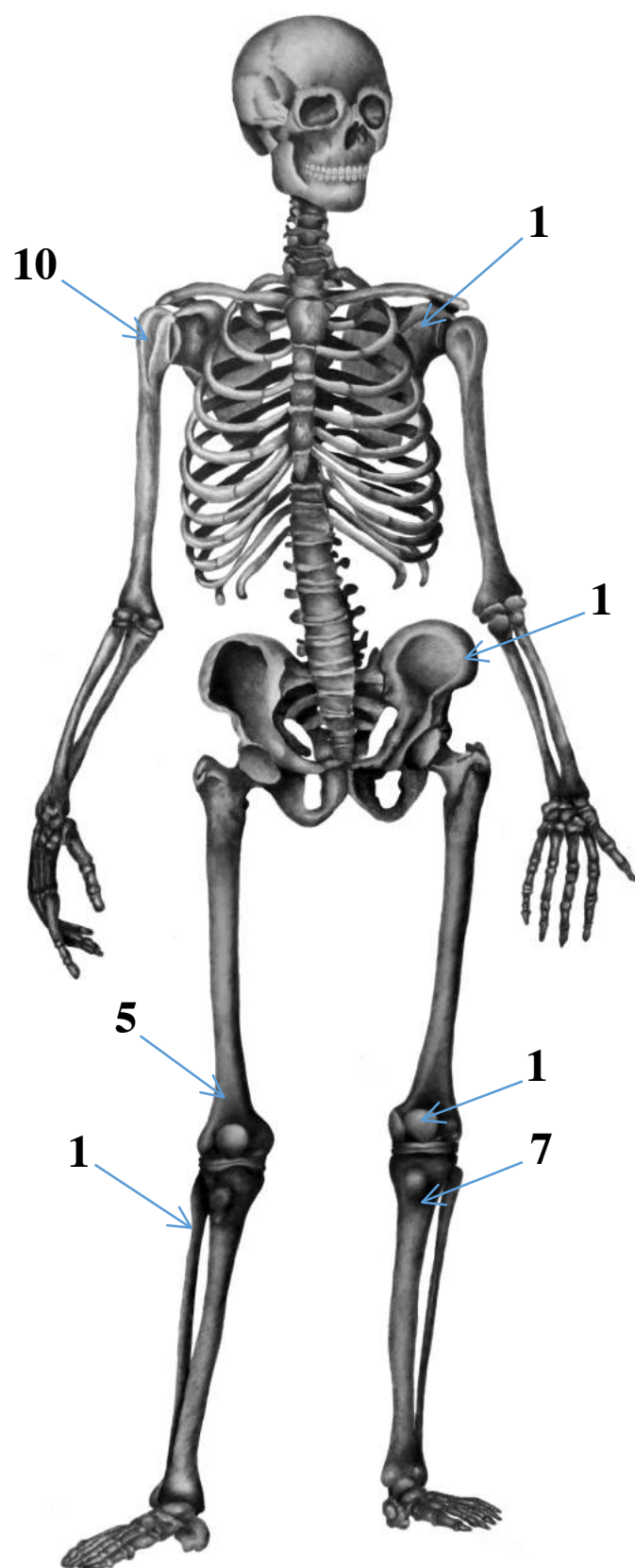


Рис. 46. Распределение случаев ХБ у детей в зависимости от локализации.

Клинический диагноз ХБ при направлении материала на гистологическое исследование фигурировал только в 13 случаях (50%). В 6 случаях (23,07%) содержательная часть направления ограничивалась словом «опухоль» без какого-либо дальнейшего уточнения. ГКО была заподозрена в 2 наблюдениях (7,69%), остеосаркома в 2 случаях (7,69%), энхондрома в 1 случае и туберкулезный остеомиелит у одной пациентки (Табл. 11).

Результаты инструментальной диагностики были доступны к оценке только в 14 случаях (53,84%), в остальных случаях ориентировались на предоставленное описание рентгенологической (КТ/МРТ) картины.

При рентгенологическом исследовании опухоль обнаруживалась в эпифизах длинных трубчатых костей (за исключением одного случая с поражением лопатки), была хорошо ограничена (Рис. 48, 49). Отмечались различной степени выраженности склеротические изменения в периферических отделах. В двух наблюдениях очаг поражения распространялся за пределы одного анатомического компартмента (7,69%), в остальных случаях поражение было ограничено одним анатомическим компартментом. В части случаев можно было обнаружить неравномерно распределяющийся кальцинированный матрикс.

При КТ и МРТ исследовании опухоль всегда имела четкие границы. В одном из наблюдений (ХБ проксимального эпифиза большеберцовой кости у пациента 15 лет) опухоль была выявлена только при КТ-исследовании и не обнаруживалась при рентгенографии в двух проекциях (в силу малых размеров патологического очага – 1х1,5 см) (Рис. 47).

Информация о размерах опухоли была доступна в 17 случаях (65,38%), в остальных наблюдениях такая информация отсутствовала. Размеры опухоли варьировали от 1 до 6 см в наибольшем измерении.

При гистологическом исследовании во всех наблюдениях была выявлена типичная морфологическая картина, характерная для ХБ (Рис. 50, 51). Во всех случаях преобладал солидный компонент с вариабельной клеточностью. Опухоль была построена из крупных округлых и овальных

Пациенты с хондробластомой.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Кл. диагноз	Локализация	Морф. диагноз	Размер (см)
1	КД	М	16	2685-2710/12	ХБ	Левая большеберцовая кость	ХБ	1х1
2	БН	М	15	13494-533/13	ХБ	Левая бедренная кость	ХБ	2х2х2,5
3	ПД	М	9	13286-23/13	ХБ	Левая плечевая кость	ХБ	4х3х2,5
4	ЦО	Ж	14	F198/14	Опухоль	Левая лопатка	ХБ	НД
5	ША	Ж	11	F841/14	ХБ	Большеберцовая кость	ХБ	НД
6	ТА	М	15	1378-93/15	ХБ	Большеберцовая кость	ХБ	1х1,5
7	ДК	М	13	8703-28/15	ХБ	Правая бедренная кость	ХБ	1,2х0,9х1
8	ТА	Ж	11	G1024/15	ХБ	Правая плечевая кость	ХБ	1х3х4
9	ВР	М	16	17761-75/15	ХБ	Правая плечевая кость	ХБ	3х2х2,5
10	СП	М	14	18132-35/15	ХБ	Большеберцовая кость	ХБ	6х5х3,5
11	ОС	М	17	G356/16	Остеосаркома	Большеберцовая кость	ХБ	3,5
12	ХО	Ж	13	G306/16	Опухоль	Правая малоберцовая кость	ХБ	НД
13	ЛА	Ж	13	11024-57/16	Опухоль	Бедренная кость	ХБ	4,5х4х3,5
14	ДЛ	Ж	10	12807-36/16	ХБ	Правая плечевая кость	ХБ	1,5х1
15	СИ	М	17	12441-67/16	ХБ	Левая плечевая кость	ХБ	4х3х3
16	РВ	Ж	10	M239/16	Туберкулезный остит	Левая бедренная кость	ХБ	2,2х1,6
17	НА	М	16	F421/15	ХБ	Большеберцовая кость	ХБ	НД
18	СЕ	Ж	15	G577/16	Опухоль	Правая бедренная кость	ХБ	НД
19	КН	М	13	G428/17	ХБ	Правая плечевая кость	ХБ	НД
20	ШВ	Ж	16	2715-34/14	ГКО	Правая плечевая кость	ХБ	3х2,5х3
21	ФК	М	16	12102-21/17	Киста	Левая подвздошная кость	ХБ	НД
22	ВД	М	17	14647-70/17	Энхондрома	Правая плечевая кость	ХБ	3х1х1
23	ЖЖ	М	14	P566/17	Опухоль	Правая плечевая кость	ХБ	НД
24	НЕ	Ж	16	16693-12/17	ГКО	Правая плечевая кость	ХБ	5
25	БК	М	16	G1095/17	Опухоль	Левый надколенник	ХБ	1,6х2,6х2,1
26	КВ	М	14	22830-45/17	Остеосаркома	Большеберцовая кость	ХБ	НД

НД – нет данных

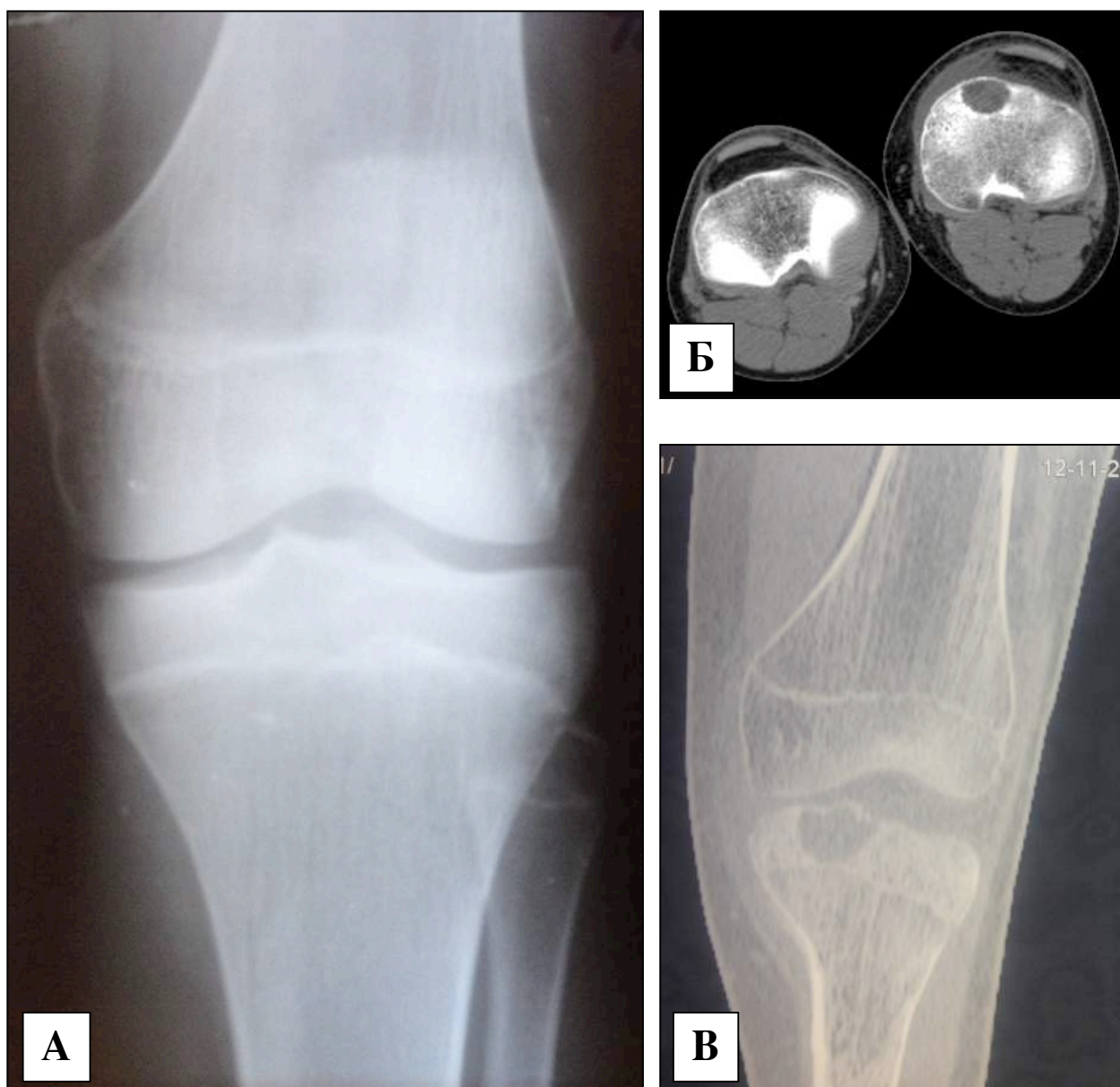


Рис. 47. ХБ проксимального эпифиза правой большеберцовой кости (один пациент). А Рентгеновский снимок в прямой проекции: из-за небольших размеров патологического очага опухоль не видна. Б. КТ-исследование: хорошо ограниченный литический очаг, окруженный зоной перифокальных склеротических изменений костной ткани. В. КТ-исследование: тот же очаг, не распространяется за нормальные



Рис. 48. Рентгеновский снимок пациентки с ХБ (прямая проекция). В проксимальном эпифизе и метафизе определяется хорошо ограниченный литический очаг (опухоль распространяется за пределы одного компартмента).



А



Б

Рис. 49. Пациент с ХБ головки правой бедренной кости. А Рентгенограмма (прямая проекция). В головке бедренной кости определяется хорошо ограниченный литический очаг с умеренно выраженными перифокальными склеротическими изменениями. Б КТ-исследование. Виден хорошо ограниченный литический патологический очаг в головке бедренной кости.

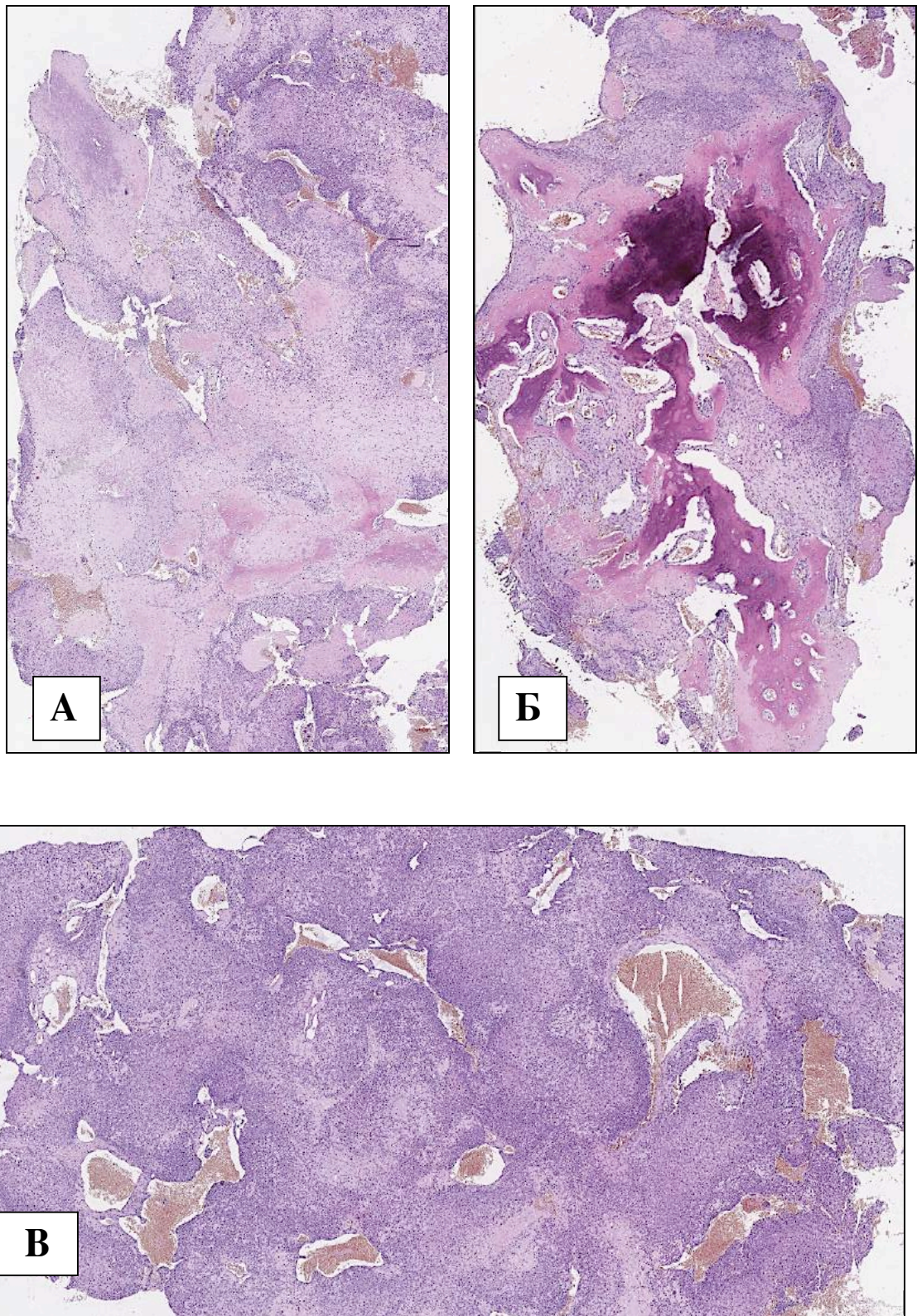


Рис. 50. ХБ. А Опухоль состоит из зон с различной клеточностью. ГЭ, x7. Б. Очаги реактивного остеогенеза в ткани ХБ, чаще наблюдающиеся после патологического перелома. ГЭ, x7. В. Множественные кистозные полости в ХБ (изменения по типу вторичной АКК). ГЭ, x100.

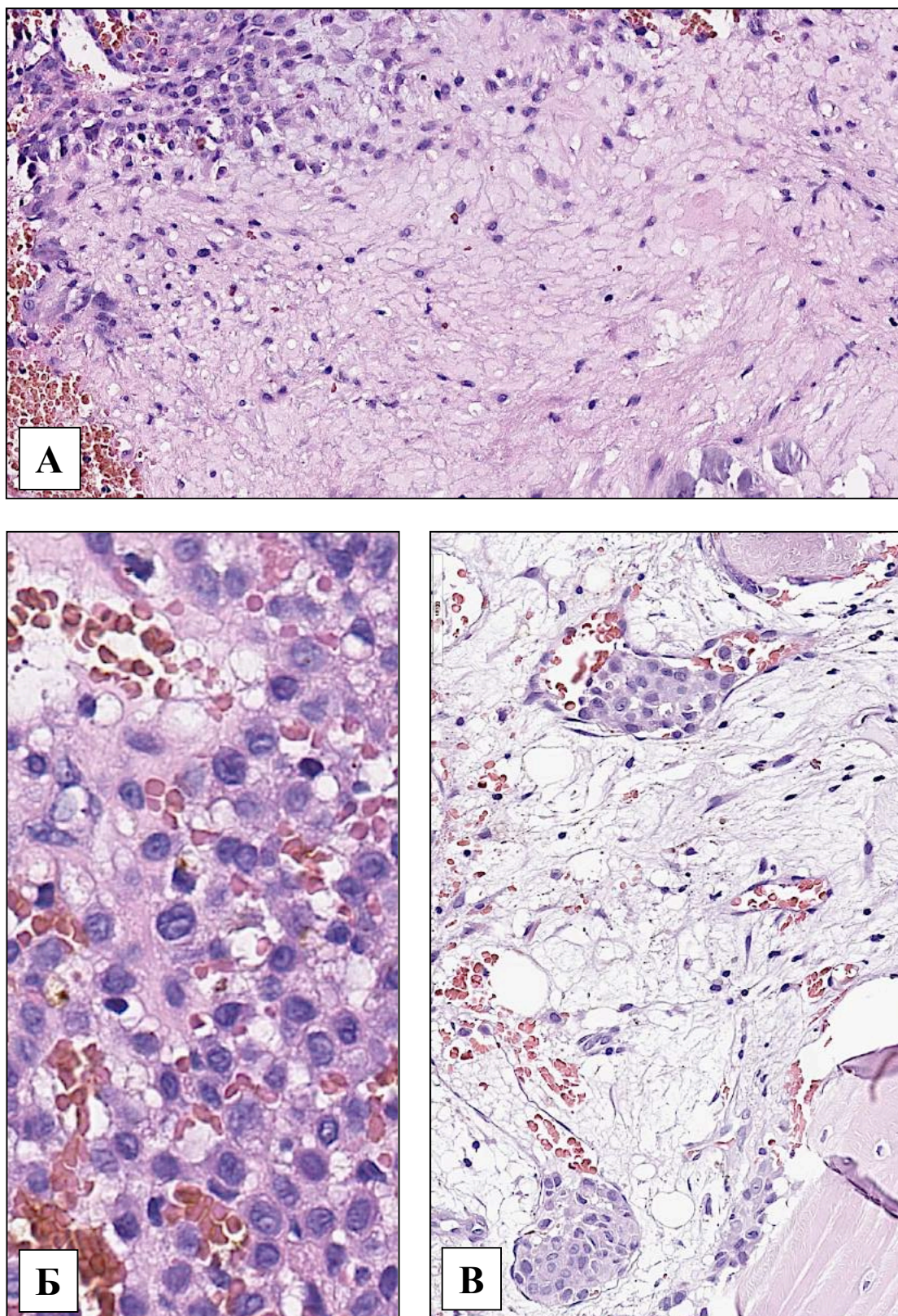


Рис. 51. ХБ. А Очаги перичеселлярного обызвествления (chicken wire calcifications). ГЭ, x200. Б. Клетки опухоли округлой и овальной формы, в части ядер видна продольная бороздка (coffee bean). ГЭ, x300. В. Множественные опухолевые эмболы в сосудах в периферических отделах опухоли. ГЭ, x250.

неопластических клеток, со слабо эозинофильной цитоплазмой. Ядра округлые и овальной формы, в части ядер во всех случаях обнаруживалась продольная бороздка (coffee bean). Митотическая активность была низкой, максимум до 5-6 митозов на 10 полей зрения при увеличении микроскопа х400, патологические митозы не выявлялись. Всегда присутствовали гигантские многоядерные клетки с неравномерным распределением, при этом количество ядер в многоядерных клетках не превышало 25-30. Во всех наблюдениях выявлялись зоны гомогенного эозинофильного межклеточного матрикса (хондроидный матрикс), а также зоны реактивного остеогенеза. В 8 случаях (30,76%) присутствовали характерные для ХБ структуры перицеллюлярного обызвествления (chicken wire). Мелкие очаги некротических изменений ткани опухоли выявлены у двух пациентов (7,69%).

В одном наблюдении, у девочки 16 лет с поражением эпифиза и метафиза плечевой кости ошибочно была диагностирована ГКО, так как опухоль разрушала ростковую пластинку, рентгенологически преобладал литический компонент, а при морфологическом исследовании были выявлены многочисленные гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки (Рис. 52). При этом, клетки опухоли были приняты за моноклеарные клетки при ГКО. У данной пациентки регистрировалось два локальных рецидива заболевания. При повторном совместном комплексном пересмотре диагностирована ХБ. В другом случае ХБ проксимального эпифиза большеберцовой кости у мальчика 15 лет были выявлены опухолевые эмболы в периферических отделах опухоли (Рис. 51В). При этом, без метастатического поражения легких даже через 3 года после постановки диагноза.

Локальный рецидив был выявлен у 4 пациентов (15,38%), при этом во всех случаях повторно был выполнен повторный кюретаж.

В 21 случае было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к G34W и K36M (Табл. 12, Рис. 53 Б).

Пациенты с ХБ. Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	КД	М	16	2685-2710/12	МО	МО
2	БН	М	15	13494-533/13	-	+
3	ПД	М	9	13286-23/13	-	-
4	ЦО	Ж	14	F198/14	МО	МО
5	ША	Ж	11	F841/14	МО	МО
6	ТА	М	15	1378-93/15	-	+
7	ДК	М	13	8703-28/15	-	+
8	ТА	Ж	11	G1024/15	-	+
9	ВР	М	16	17761-75/15	-	+
10	СП	М	14	18132-35/15	-	+
11	ОС	М	17	G356/16	-	+
12	ХО	Ж	13	G306/16	-	+
13	ЛА	Ж	13	11024-57/16	-	+
14	ДЛ	Ж	10	12807-36/16	-	+
15	СИ	М	17	12441-67/16	-	+
16	РВ	Ж	10	M239/16	-	+
17	НА	М	16	F421/15	-	+
18	СЕ	Ж	15	G577/16	-	+
19	КН	М	13	G428/17	-	+
20	ШВ	Ж	16	2715-34/14	-	+
21	ФК	М	16	12102-21/17	-	+
22	ВД	М	17	14647-70/17	-	+
23	ЖЖ	М	14	P566/17	МО	МО
24	НЕ	Ж	16	16693-12/17	МО	МО
25	БК	М	16	G1095/17	-	+
26	КВ	М	14	22830-45/17	-	+

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

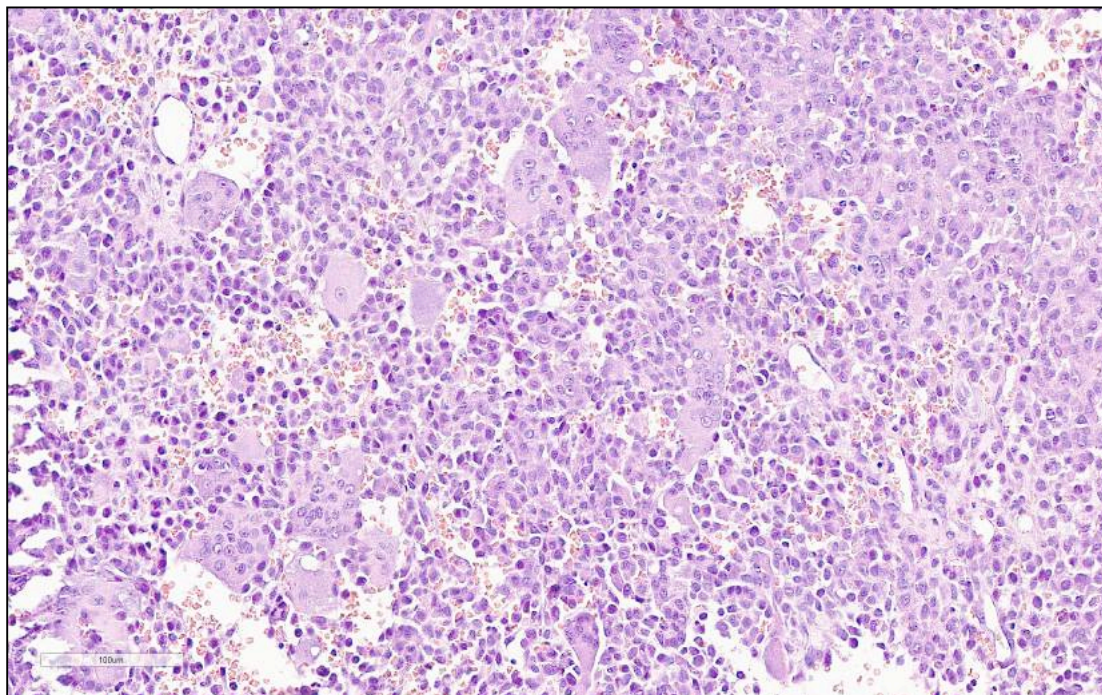


Рис. 52. ХБ, очаги концентрации гигантских многоядерных клеток, имитирующие строение ГКО. ГЭх200.

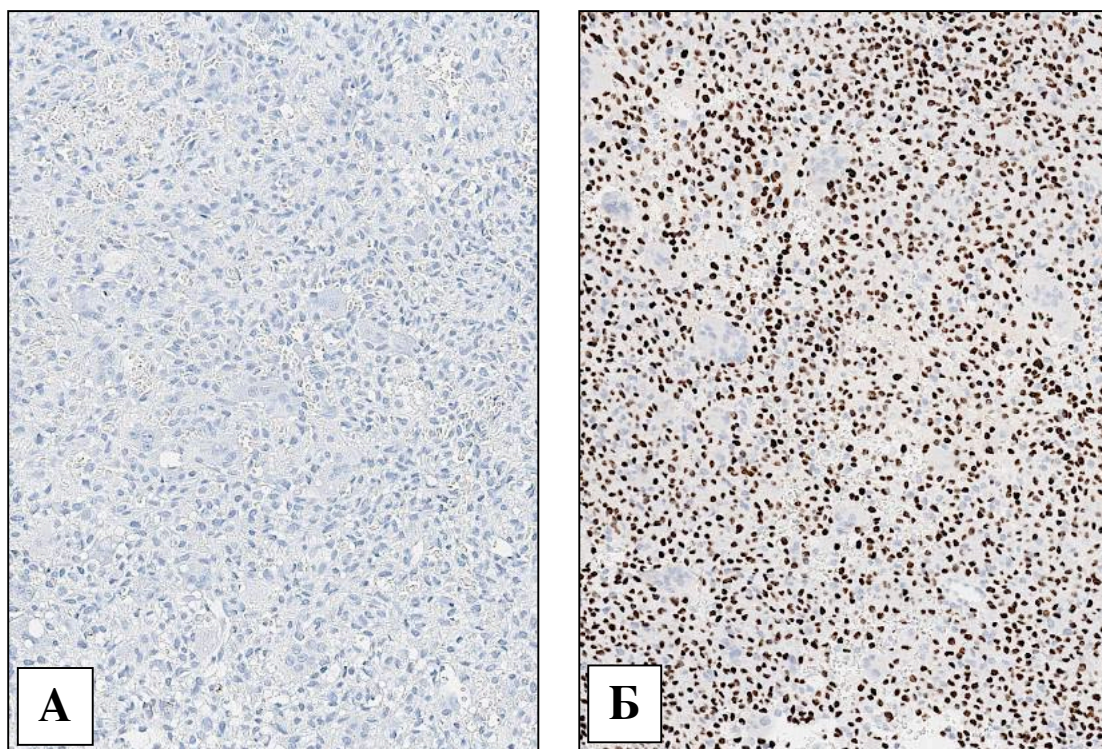


Рис. 53. Иммуногистохимическое исследование ХБ. А Реакция с H3F3A, клетки опухоли негативны, х240. Б. Реакция с H3F3B. Клетки опухоли позитивны (ядерный локус), гигантские многоядерные клетки негативны, х170.

Таблица 13.

Результат секвенирования по Сенгер пациентов с ХБ.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	Морф. диагноз	H3F3A Codon 27	H3F3A Codon 28	H3F3A Codon 35	H3F3A Codon 37	H3F3B Codone 35	H3F3B Codone 37
1	КД	М	16	2685-2710/12	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
2	БН	М	15	13494-533/13	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
3	ПД	М	9	13286-23/13	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
4	ЦО	Ж	14	F198/14	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
5	ША	Ж	11	F841/14	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
6	ТА	М	15	1378-93/15	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
7	ДК	М	13	8703-28/15	ХБ	МН	МН	МН	МН	МН	МН
8	ТА	Ж	11	G1024/15	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
9	ВР	М	16	17761-75/15	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
10	СП	М	14	18132-35/15	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
11	ОС	М	17	G356/16	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
12	ХО	Ж	13	G306/16	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
13	ЛА	Ж	13	11024-57/16	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
14	ДЛ	Ж	10	12807-36/16	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
15	СИ	М	17	12441-67/16	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
16	РВ	Ж	10	M239/16	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
17	НА	М	16	F421/15	ХБ	МН	МН	МН	МН	МН	МН
18	СЕ	Ж	15	G577/16	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
19	КН	М	13	G428/17	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
20	ШВ	Ж	16	2715-34/14	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	K37M
21	ФК	М	16	12102-21/17	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
22	ВД	М	17	14647-70/17	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
23	ЖЖ	М	14	P566/17	ХБ	WT	WT	WT	WT	WT	WT
24	НЕ	Ж	16	16693-12/17	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
25	БК	М	16	G1095/17	ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО
26	КВ	М	13		ХБ	МО	МО	МО	МО	МО	МО

МН – материал неинформативен

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

WT – дикий тип (wild type)

G428/17 1-3

Gene name: H3F3B

AA mutation: p.K37M (Substitution - Missense, position 37, K→M)

CDS mutation: c.110A>T (Substitution, position 110, A→T)

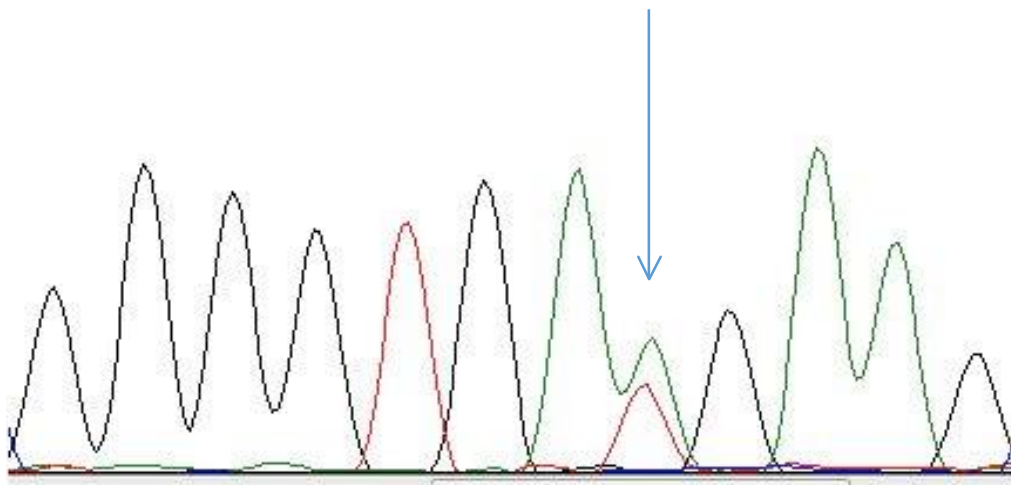


Рис. 54. Секвенирование по Сенгеру при ХБ. Стрелкой показана гетерозиготная мутация G35R (H3F3A).

В 20 наблюдениях была выявлена экспрессия белка К36М (ядерный локус). В одном из наблюдений с отрицательным результатом к белку К36М (мальчик, 9 лет) повторно были пересмотрены все инструментальные данные и результаты гистологического исследования. Опухоль имела характерную для ХБ локализацию, типичные критерии лучевой диагностики и гистологическую картину, что не являлось поводом для пересмотра диагноза.

В 16 наблюдениях ХБ было проведено секвенирование по Сенгеру. При этом, в 2 случаях материал оказался неинформативным. В 8 из 14 случаев (57,14%) была выявлена мутация в 37 кодоне гена Н3F3В (Табл. 13, Рис. 54). В остальных 6 случаях характерная мутация не обнаружена. Однако, в 4 случаях при отсутствии мутации гена Н3F3В, при иммуногистохимическом исследовании была выявлена экспрессия К36М, в одном случае иммуногистохимическое исследование провести не удалось (материал утрачен).

3.5 Метафизарный фиброзный дефект / Неоссифицирующая фиброма (МФД/НОФ).

В структуре всех опухолей костей у детей и подростков МФД/НОФ составили 55 наблюдений (5,52%) на нашем материале.

Возраст пациентов варьировал от 5 до 18 лет, наибольшее количество наблюдений отмечалось в возрасте от 12 до 18 лет – 33 пациента (60%). В возрастной группе от 7 до 12 лет зарегистрировано 19 случаев (34,55%), от 3 до 7 лет всего 3 наблюдения (5,45%). В более младших возрастных группах МФД/НОФ у детей не встречалось.

Множественный характер поражения наблюдался у одного пациента (мальчик, 14 лет), в дистальном метафизе левой бедренной и проксимальном метафизе левой большеберцовой кости, при этом был выполнен кюретаж образования левой большеберцовой кости.

Количество девочек незначительно преобладало над количеством мальчиков с соотношением 24/31.

Размеры образования варьировали в широких пределах: от 0,7 см в диаметре до 8х5х4 см (данный случай осложнился патологическим переломом).

В большинстве случаев (36 пациентов – 65,45%) жалобы на момент обнаружения образования отсутствовали, опухоль была выявлена случайно (чаще обследование по поводу травмы). Часть детей отмечали непостоянные болевые ощущения при физической нагрузке. В основном, при больших объемах поражения дистального метафиза бедренной кости. В 6 случаях (10,9%) был выявлен патологический перелом из-за большого объема поражения.

У двух детей отмечался локальный рецидив образования из-за нерадикального хирургического лечения (через 2 и 3 года соответственно).

НОФ/МФД чаще всего обнаруживаются в метафизах длинных трубчатых костей, в подавляющем большинстве в костях нижних конечностей (дистальный метафиз бедренной кости, проксимальный и дистальный метафизы большеберцовой и малоберцовой костей). Самой распространенной локализацией в наших наблюдениях были дистальный метафиз бедренной кости и проксимальный метафиз большеберцовой кости (Рис. 55). В одном случае (девочка, 9 лет) НОФ локализовалась в проксимальном метафизе левой плечевой кости (1,81%).

Клинический диагноз до хирургического лечения в большинстве случаев был «фиброзная дисплазия» - 29 случаев (52,72%). В 4 наблюдениях «гигантоклеточная опухоль» (7,27%), в 3 «остеомиелит» (5,45%), в 1 «остеоид остеома» (1,81%), в 1 «остеосаркома» (1,81%), в 6 «опухоль кости без уточнения» (10,90%). Диагноз МФД/НОФ был выставлен до оперативного лечения лишь у 9 больных (16,36%), что напрямую свидетельствовало о низком уровне осведомленности о данной патологии хирургов и специалистов лучевой диагностики (Таб. 14).

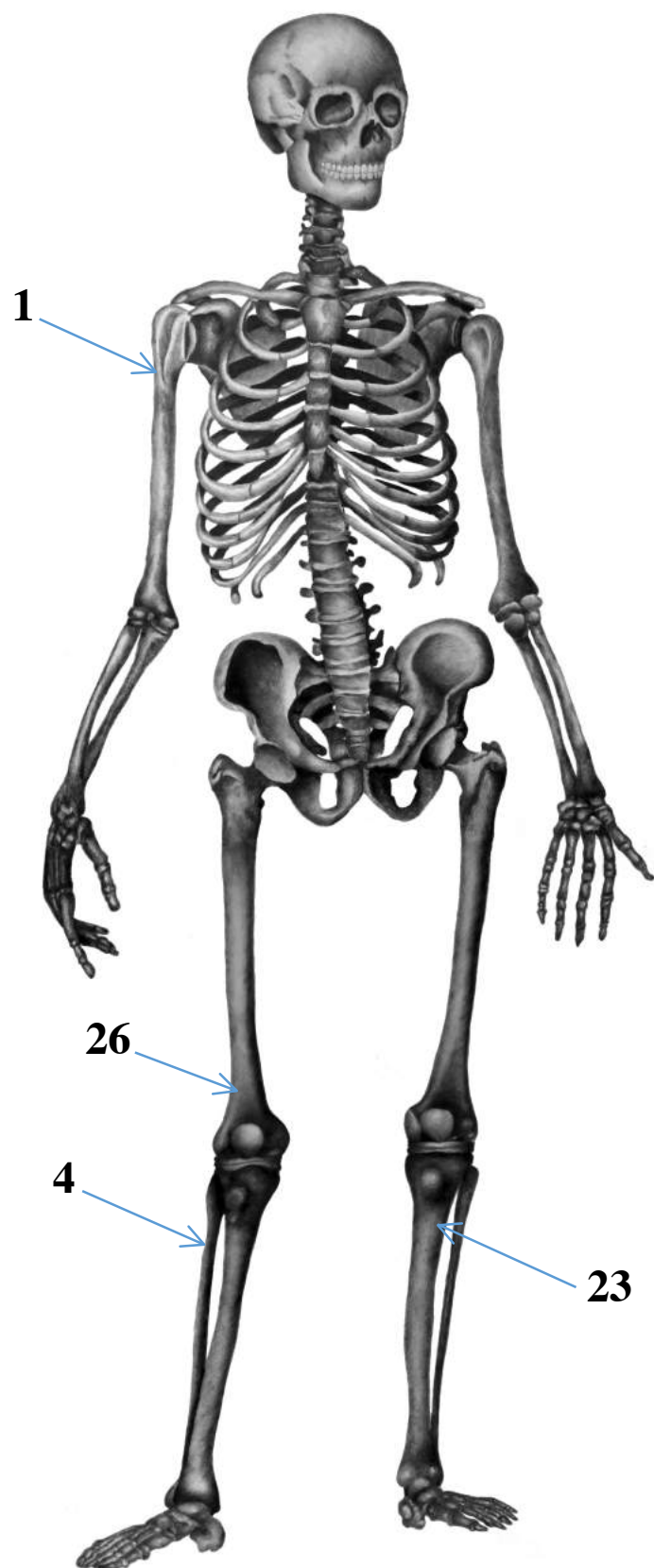


Рис. 55. Распределение случаев НОФ у детей в зависимости от локализации.

Пациенты с МФД/НОФ.

	Паци ент	Пол	Воз раст	№ биопсии	Кл. диагноз	Локализация	Морф. диагноз	Размер (см)
1	БЕ	М	15	24604- 23/13	Фиброзная дисплазия	НД	МФД/НОФ	НД
2	НС	Ж	10	19733- 802/13	ГКО	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	8x5x4
3	НА	Ж	7	18077- 92/13	Опухоль	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	1x2,5x2
4	СС	Ж	15	14562- 76/13	Остеомиелит	Бедренная кость	МФД/НОФ	1,5x1
5	ПВ	Ж	16	13910- 61/13	Остеомиелит	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	3x2x1
6	НМ	Ж	8	13784- 808/13	Кортикальный дефект	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	2,5x2x1,5
7	АЮ	Ж	11	11740- 49/13	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	6x5x3
8	ТИ	М	11	9272-86/13	Фиброзная дисплазия	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	1,5x2,5
9	БМ	Ж	14	5044-63/13	Фиброзная дисплазия	Левая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	1,5x1,5x1
10	БС	М	14	19280- 81/12	Остеосаркома	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	НД
11	УЯ	М	13	18248- 83/12	Фиброзная дисплазия	Правая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	1,7x1,5x3
12	ПИ	М	12	17351- 56/12	Фиброзная дисплазия	Левая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	3x1,2
13	ХА	Ж	14	15998- 16012/12	Фиброзная дисплазия	Левая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	6x1,5x1
14	ЧВ	Ж	16	1835-70/12	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	7x3x2,5
15	ИА	М	16	926-47/12	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	2x5
16	БА	М	11	4991- 5001/09	Фиброзная дисплазия	Левая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	3,5x2x1
17	ЕД	М	14	2216-35/14	Фиброзная дисплазия	Левая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	4,5x3x2,5
18	ШИ	Ж	15	13098- 107/11	ГКО	Правая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	1,5x3,7
19	РА	Ж	14	22133- 48/09	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	6x2x2
20	МП	Ж	13	M154/14	Опухоль	Правая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	НД
21	СТ	М	9	F612/14	Фиброзная дисплазия	Правая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	НД
22	НЕ	М	8	17538- 46/14	Фиброзная дисплазия	Левая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	2,5x1
23	АА	Ж	7	16472- 511/14	Фиброзная дисплазия	Правая больше- берцовая кость	МФД/НОФ	7x4x4
24	БТ	Ж	15	19130- 40/14	Остеоид остеома	Правая мало- берцовая кость	МФД/НОФ	1
25	БИ	М	17	18727- 38/14	Остеомиелит	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	2x1,4x1
26	ГГ	М	18	141-3/15	Опухоль	Бедренная кость	МФД/НОФ	НД
27	ПВ	Ж	16	907-21/16	Фиброзная дисплазия	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	3x1,5
28	БЕ	Ж	16	2243-53/15	Фиброзная дисплазия	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	НД

Таблица 14 (приложение).

29	НЮ	Ж	15	2935-54/15	Фиброзный дефект	Бедренная кость	МФД/НОФ	4,4x1x1,5
30	ДК	Ж	10	1301-25/13	Фиброзная дисплазия	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	3x1,5
31	СА	Ж	11	G40/15	ГКО	Левая малоберцовая кость	МФД/НОФ	НД
32	МЕ	Ж	13	6937-51/15	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	3,5x2x2,5
33	БА	Ж	11	6415-29/15	Кортикальный дефект	Правая большеберцовая кость	МФД/НОФ	1
34	КИ	М	13	10405-24/15	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	НД
35	КД	Ж	7	10917-44/15	Фиброзная дисплазия	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	НД
36	ЧЯ	Ж	12	11371-85/15	НОФ	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	9x3x2
37	КА	М	13	G1118/15	Опухоль	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	1,7x0,8
38	ХР	Ж	9	14540-56/15	Фиброзная дисплазия	Левая плечевая кость	МФД/НОФ	5,8x1,7
39	МФ	Ж	12	594-03/16	Фиброзная дисплазия	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	6x3x2
40	БА	Ж	9	G336/16	ГКО	Правая большеберцовая кость	МФД/НОФ	НД
41	БЕ	Ж	15	3199-18/16	НОФ	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	1,5x0,7
42	ФВ	Ж	16	11152-72/15	Фиброзная дисплазия	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	5x2x1
43	МС	Ж	7	15978-87/16	Опухоль	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	1,2x0,8x0,8
44	НЕ	Ж	16	20261-79/16	Киста	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	НД
45	ОА	М	9	2727-42/17	НОФ	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	НД
46	ГД	М	10	11463-82/17	МФД	Правая большеберцовая кость	МФД/НОФ	1,5x1,5
47	РП	Ж	10	11520-34/17	НОФ	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	3,5x3x3
48	КВ	Ж	11	14109-28/17	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	5,4x1,9x1,5
49	ВВ	М	15	14268-89/17	НОФ	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	6,2x2,6
50	НА	М	5	МО3779/17	Фиброзная дисплазия	Правая большеберцовая кость	МФД/НОФ	1,4x2,1x3,5
51	ЛЕ	Ж	8	16745-54/17	Фиброзная дисплазия	Правая малоберцовая кость	МФД/НОФ	НД
52	АД	М	5	F1192/17	Опухоль	Левая большеберцовая кость	МФД/НОФ	НД
53	ЛД	М	12	21187-01/17	Фиброзная дисплазия	Правая большеберцовая кость	МФД/НОФ	2x2,1
54	ФВ	М	14	19820-34/17	Фиброма	Правая бедренная кость	МФД/НОФ	НД
55	ТИ	Ж	13	18440-59/17	Фиброзная дисплазия	Левая бедренная кость	МФД/НОФ	3x3,5x2,5

НД – нет данных

В одном случае у девочки 10 лет до пересмотра в рамках данной работы, был выставлен морфологический диагноз «гигантоклеточная опухоль» ввиду большого количества гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток. Однако, при пересмотре рентгеновских снимков (хорошо ограниченный овальный очаг поражения в корковом слое дистального метафиза бедренной кости с перифокальной зоной склеротических изменений) и гистологического материала (веретенноклеточное поражение, шториформный паттерн, митотическая активность не обнаружена, группы ксантомных клеток, депозиты гемосидерина), а также, учитывая возраст (гигантоклеточная опухоль казуистически редко встречается у детей и подростков) диагноз был изменен на «МФД».

При рентгенологическом исследовании МФД/НОФ (в доступных для анализа случаях) выглядело как округлое или овальной формы литическое образование кортикального слоя метафизов, вытянутое параллельно оси длинной трубчатой кости (Рис. 56 А). Границы всегда были четкими с зоной остеосклероза вокруг. При распространении НОФ за пределы кортикального слоя, опухоль начинала распространяться в медуллярном направлении не теряя четкости границ.

При макроскопическом исследовании патологический очаг был хорошо ограничен, желтовато-серого цвета (Рис. 56 Б). Чаще всего материал для морфологического исследования был получен путем кюретажа и представлял собой фрагменты желтовато-серой ткани.

При морфологическом исследовании во всех наблюдениях образование было хорошо ограничено (Рис. 57), состояло из веретенновидных клеток, образующих хаотично ориентированные пучки и шториформные структуры (Рис. 58). Ядра были овальной или вытянутой формы, мелкие ядрышки выявлялись не во всех ядрах. Митотическая активность достоверно не определялась или обнаруживались единичные фигуры митоза (не более 1-2 на 10 полей зрения при увеличении микроскопа x400).

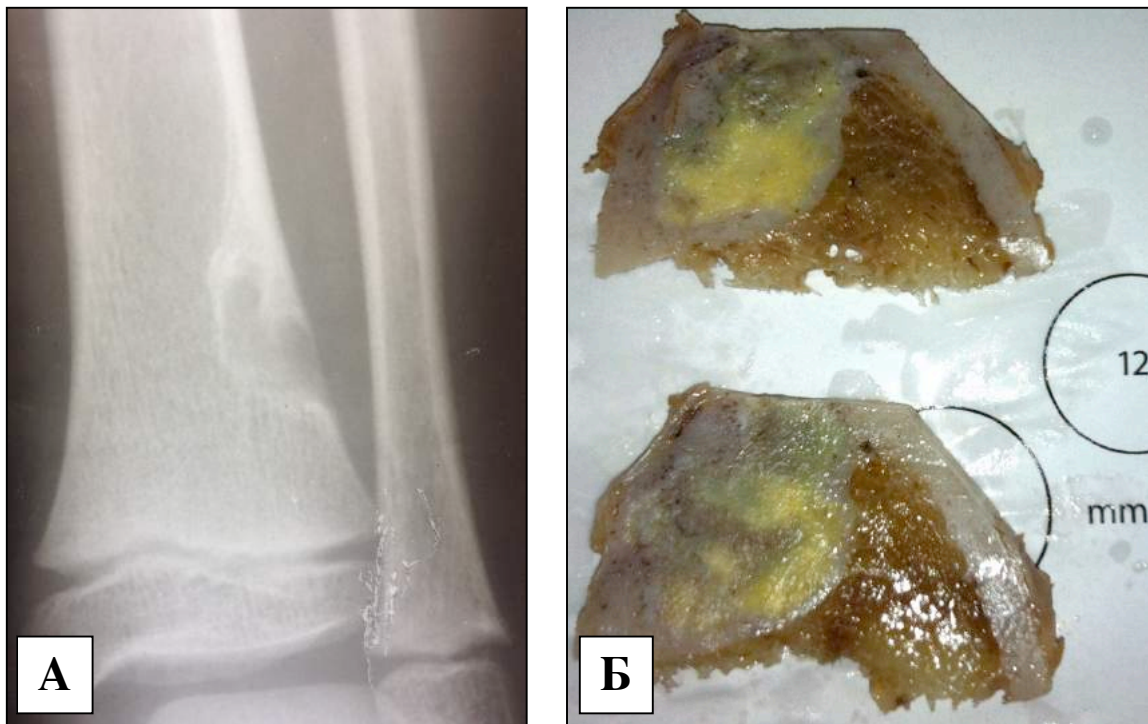


Рис. 56. НОФ. А. Рентгеновский снимок (прямая проекция): В дистальном метафизе правой большеберцовой кости определяется хорошо ограниченный кортикальный патологический очаг с выраженными склеротическими изменениями по периферии. Б. Фото макропрепарата НОФ: образование солидное, желтовато-серого цвета, с четкой границей.

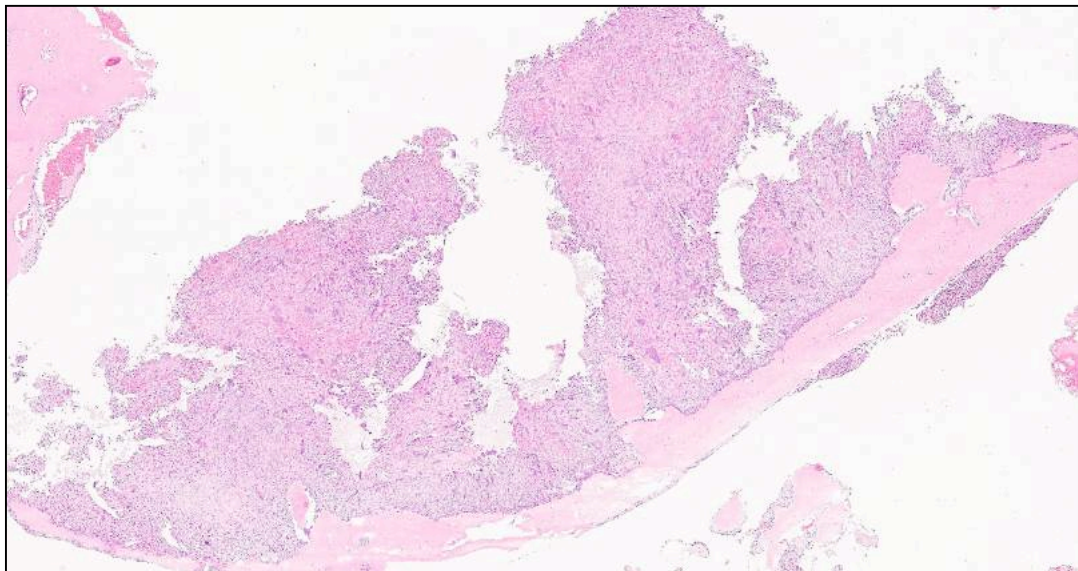


Рис. 57. НОФ. Образование солидного строения с четкой границей, окруженное костной тканью пластинчатого вида. Малое увеличение, ГЭx7.

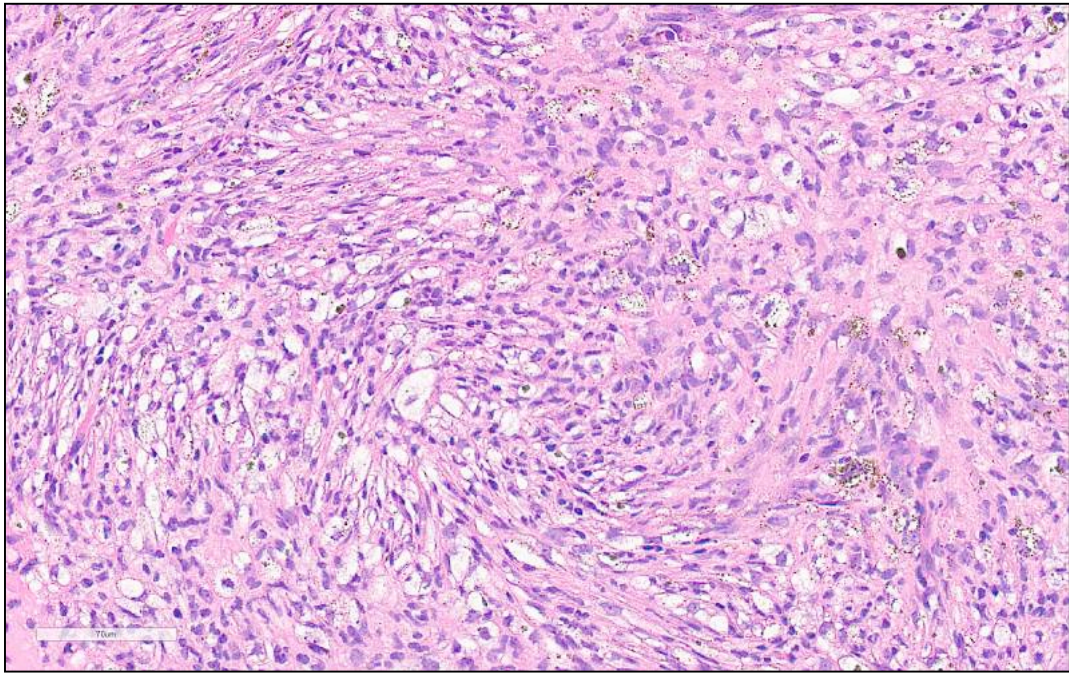


Рис. 58. НОФ. Состоит из вытянутых фибробластоподобных клеток с овальными и вытянутыми ядрами. Кластеры крупных ксантомных клеток. Депозиты гемосидерина. ГЭ, $\times 120$.

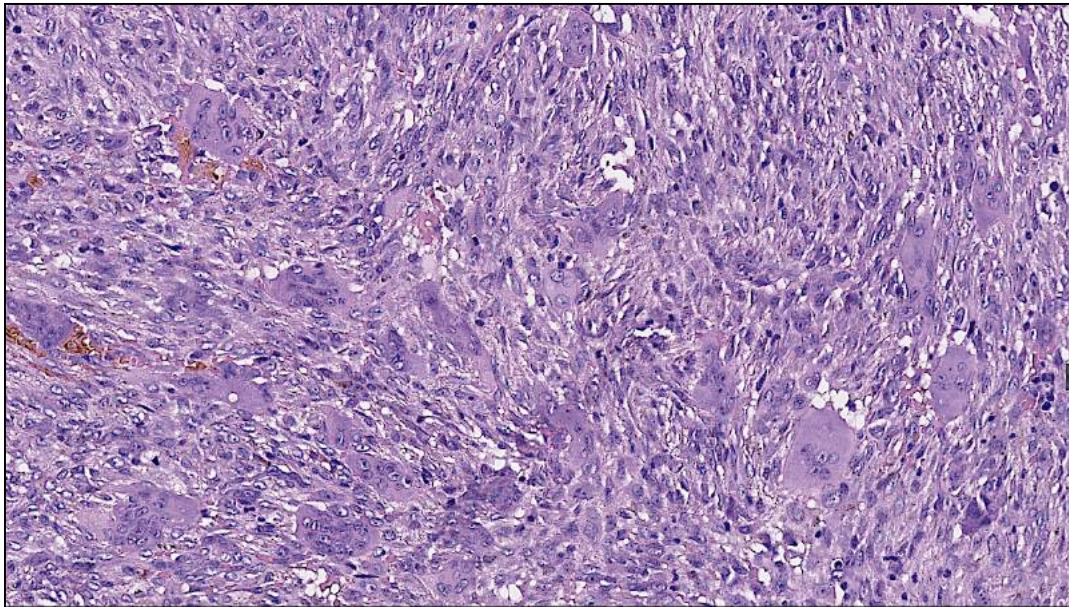


Рис. 59. НОФ. Участки с большим количеством гигантских многоядерных клеток. ГЭ $\times 300$.

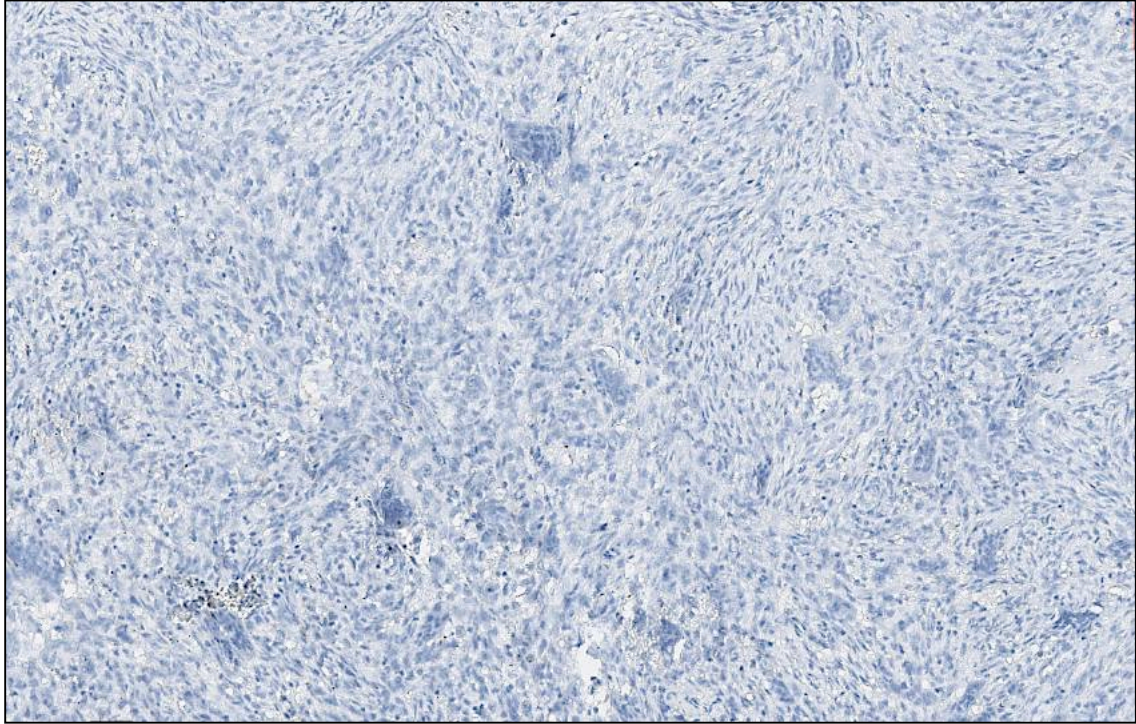


Рис. 60. Иммуногистохимическое исследование НОФ с G34R (H3F3A), клетки опухоли негативны, x200.

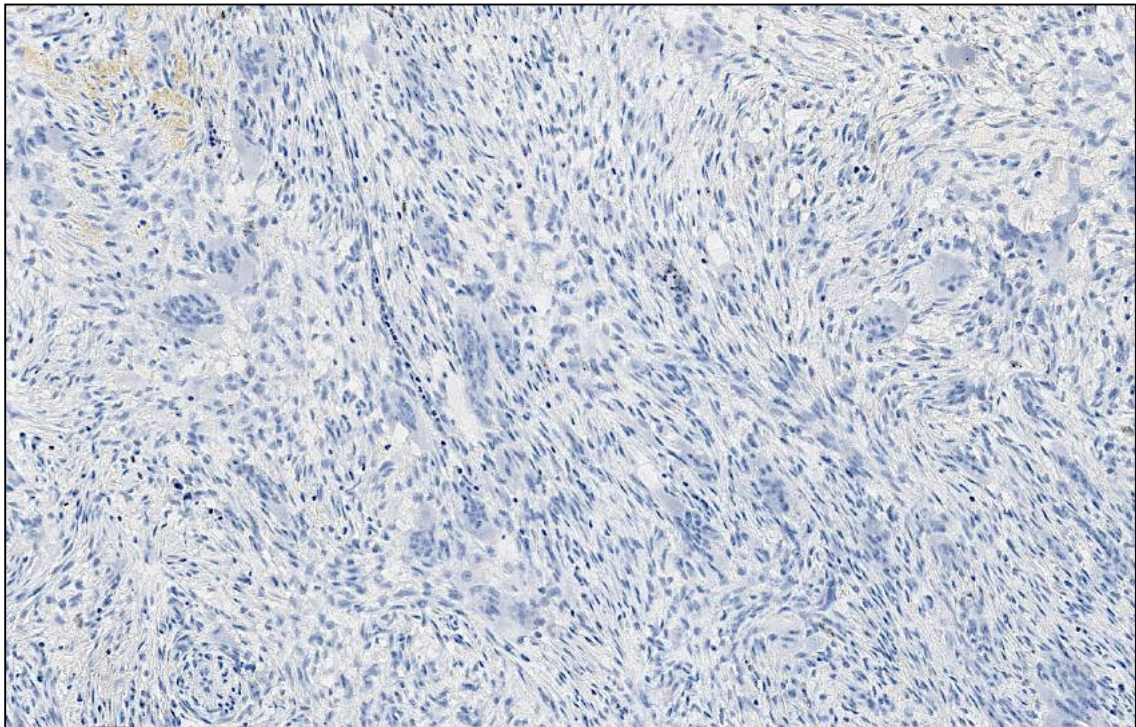


Рис. 61. Иммуногистохимическое исследование НОФ с K36M (H3F3B), клетки опухоли негативны, x210.

Пациенты с НОФ/МФД. Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	БЕ	М	15	24604-23/13	-	-
2	НС	Ж	10	19733-802/13	МО	МО
3	НА	Ж	7	18077-92/13	МО	МО
4	СС	Ж	15	14562-76/13	-	-
5	ПВ	Ж	16	13910-61/13	МН	МН
6	НМ	Ж	8	13784-808/13	-	-
7	АЮ	Ж	11	11740-49/13	МО	МО
8	ТИ	М	11	9272-86/13	МО	МО
9	БМ	Ж	14	5044-63/13	-	-
10	БС	М	14	19280-81/12	МО	МО
11	УЯ	М	13	18248-83/12	-	-
12	ПИ	М	12	17351-56/12	-	-
13	ХА	Ж	14	15998-16012/12	МН	МН
14	ЧВ	Ж	16	1835-70/12	-	-
15	ИА	М	16	926-47/12	-	-
16	БА	М	11	4991-5001/09	-	-
17	ЕД	М	14	2216-35/14	-	-
18	ШИ	Ж	15	13098-107/11	МО	МО
19	РА	Ж	14	22133-48/09	МО	МО
20	МП	Ж	13	M154/14	-	-
21	СТ	М	9	F612/14	-	-
22	НЕ	М	8	17538-46/14	-	-
23	АА	Ж	7	16472-511/14	-	-
24	БТ	Ж	15	19130-40/14	-	-
25	БИ	М	17	18727-38/14	-	-
26	ГГ	М	18	141-3/15	МО	МО
27	ПВ	Ж	16	907-21/16	-	-
28	БЕ	Ж	16	2243-53/15	-	-
29	НЮ	Ж	15	2935-54/15	-	-
30	ДК	Ж	10	1301-25/13	-	-
31	СА	Ж	11	G40/15	-	-
32	МЕ	Ж	13	6937-51/15	-	-
33	БА	Ж	11	6415-29/15	-	-
34	КИ	М	13	10405-24/15	-	-
35	КД	Ж	7	10917-44/15	МО	МО
36	ЧЯ	Ж	12	11371-85/15	-	-
37	КА	М	13	G1118/15	-	-
38	ХР	Ж	9	14540-56/15	-	-
39	МФ	Ж	12	594-03/16	-	-
40	БА	Ж	9	G336/16	-	-
41	БЕ	Ж	15	3199-18/16	-	-
42	ФВ	Ж	16	11152-72/15	-	-
43	МС	Ж	7	15978-87/16	-	-
44	НЕ	Ж	16	20261-79/16	МО	МО

Таблица 15 (продолжение).

45	ОА	М	9	2727-42/17	-	-
46	ГД	М	10	11463-82/17	-	-
47	РП	Ж	10	11520-34/17	-	-
48	КВ	Ж	11	14109-28/17	-	-
49	ВВ	М	15	14268-89/17	-	-
50	НА	М	5	МО3779/17	-	-
51	ЛЕ	Ж	8	16745-54/17	-	-
52	АД	М	5	F1192/17	-	-
53	ЛД	М	12	21187-01/17	МО	МО
54	ФВ	М	14	19820-34/17	-	-
55	ТИ	Ж	13	18440-59/17	-	-

МН – материал неинформативен

МО – материал отсутствует (парафиновые блоки)

В большинстве наблюдений (40 случаев, 72,72%) выявлялись скопления крупных гистиоцитов или ксантомных клеток с обильной светлой цитоплазмой. Всегда выявлялись мелкие рассеянные депозиты гемосидерина и/или гемосидерофаги. У всех пациентов обнаруживались неравномерно распределяющиеся скопления гигантских многоядерных клеток (Рис. 59). Нередко определялись кистозные изменения по типу вторичной АКК (20 случаев, 36,36%). В части случаев регистрировались зоны реактивного остеогенеза в виде грубоволокнистой костной ткани (woven bone), зоны гипоклеточной зрелой соединительной ткани. Участки некротических изменений были выявлены при наличии патологического перелома.

В 42 случаях МФД/НОФ было проведено иммуногистохимическое исследование с гистоновыми белками G34W и K36M (Таб. 15). Позитивных реакций не было получено ни в одном из наблюдений (Рис. 60, 61).

3.6 Классическая остеосаркома (КО), гигантоклеточный вариант.

Наши наблюдения составили 178 случаев остеосарком у детей (Табл. 16). На долю классической (конвенциональной) остеосаркомы приходилось наибольшее число пациентов (154 пациента, 86,51%). Среди различных гистологических вариантов классической остеосаркомы мы наблюдали только 1 случай гигантоклеточного варианта (0,65%). В клиническом диагнозе при направлении материала на гистологическое исследование фигурировал диагноз ГКО. К сожалению, рентгеновские снимки, данные КТ и/или МРТ исследований в данном случае оказались недоступны, так как материал был отправлен из региональной клиники в качестве внешней консультации. Судя по описанию, поражение носило локально агрессивный и преимущественно литический характер, локализовалось в дистальной метафизарно-эпифизарной зоне правой бедренной кости. Дальнейшая судьба этой пациентки неизвестна.

Таблица 16.

Пациенты с остеосаркомой.

Вариант остеосаркомы:	Количество:
Классическая остеосаркома:	154
- Остеобластический	128
- Хондробластический	19
- Фибробластический	4
- Остеобластомаподобный	1
- Хондромиксоидфибромаподобный	1
- Гигантоклеточный	1
Телангиэктатическая остеосаркома	14
Периостальная остеосаркома	4
Центральная остеосаркома (low-grade)	4
Мелкоклеточная остеосаркома	2
Итого:	178

Таблица 17.

Пациенты с гигантоклеточным вариантом классической остеосаркомы.

Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	РА	Ж	7	P218/15	-	-

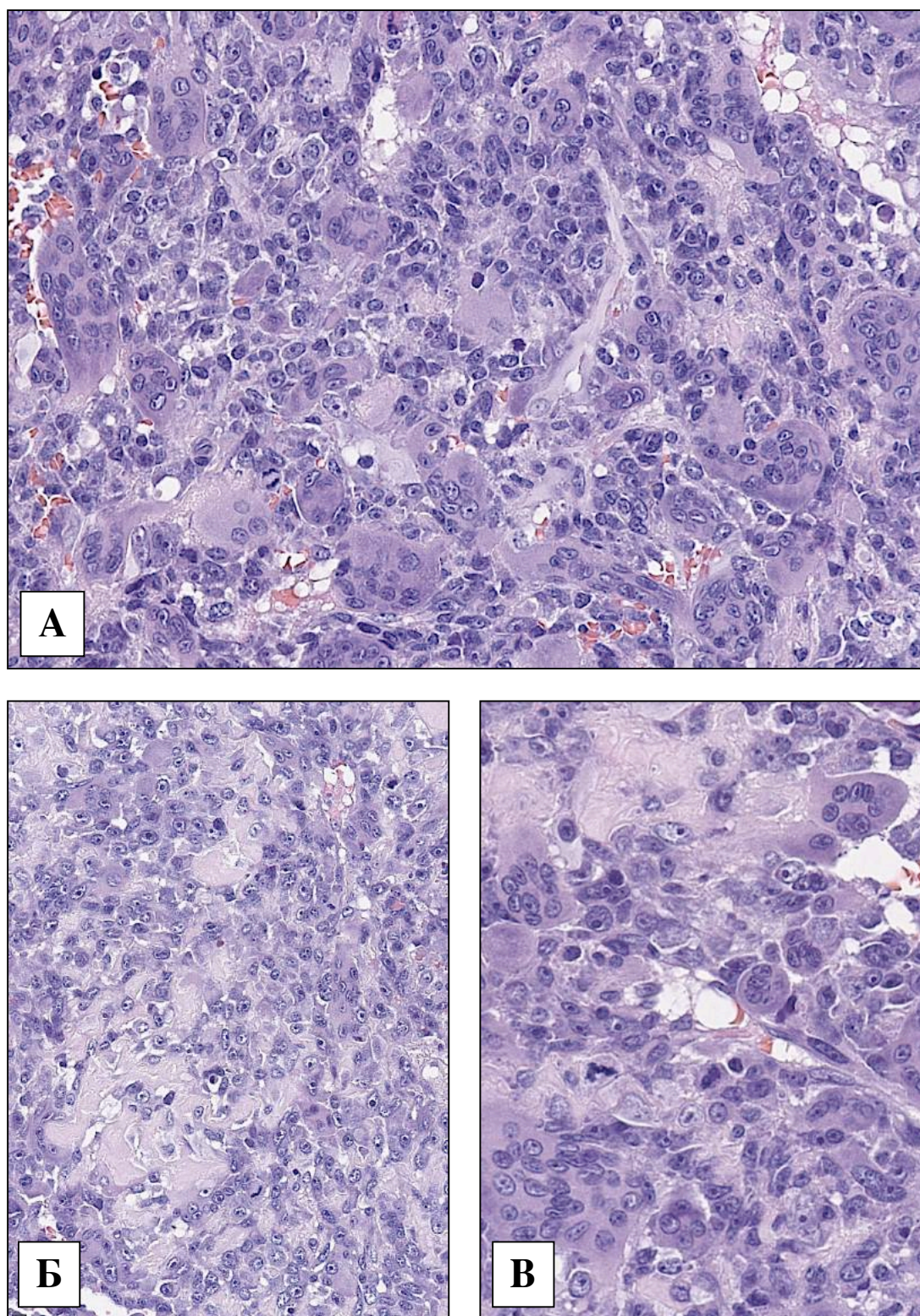


Рис. 62. Классическая остеосаркома (гигантоклеточный вариант). А. Крупные клетки опухоли различной формы, напоминающие моноклеарные клетки при ГКО. Множественные гигантские многоядерные клетки. ГЭ, х400. Б. Определяются скопления патологического остеоида. ГЭ, х370. В. Видны многочисленные патологические фигуры митозов. ГЭ, х500.

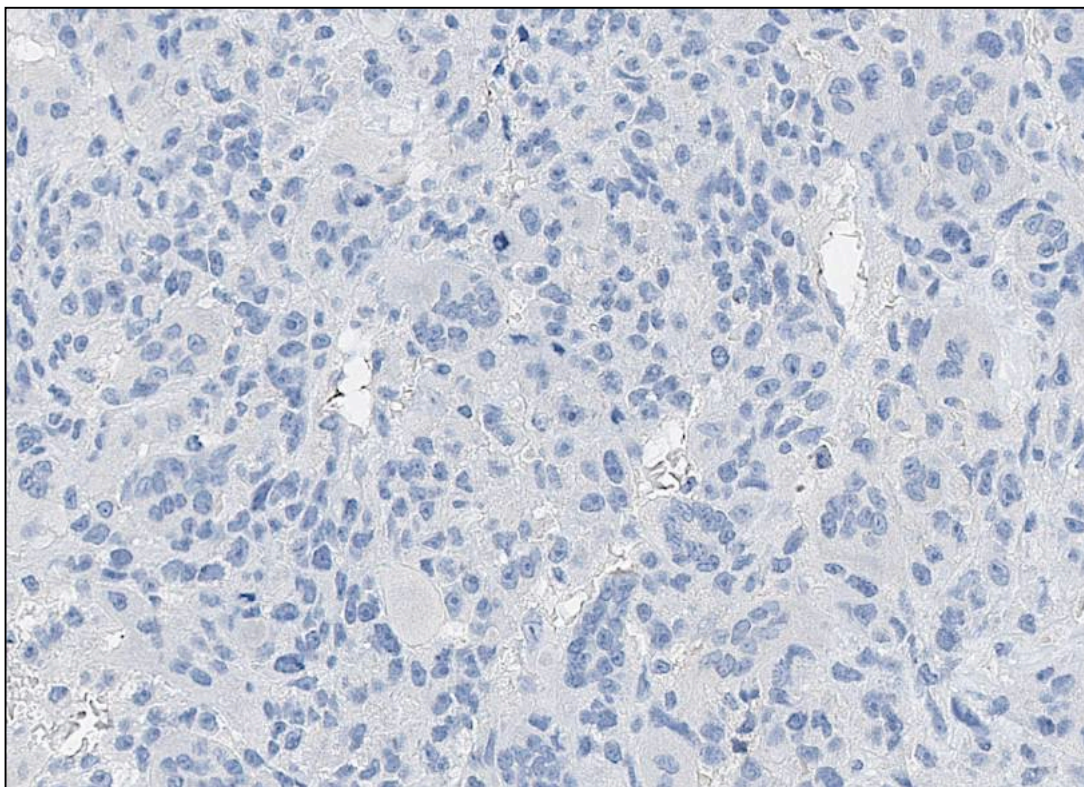


Рис. 63. Иммуногистохимическое исследование классической остеосаркомы (гигантоклеточный вариант) с G34R (H3F3A), клетки опухоли негативны, х370.

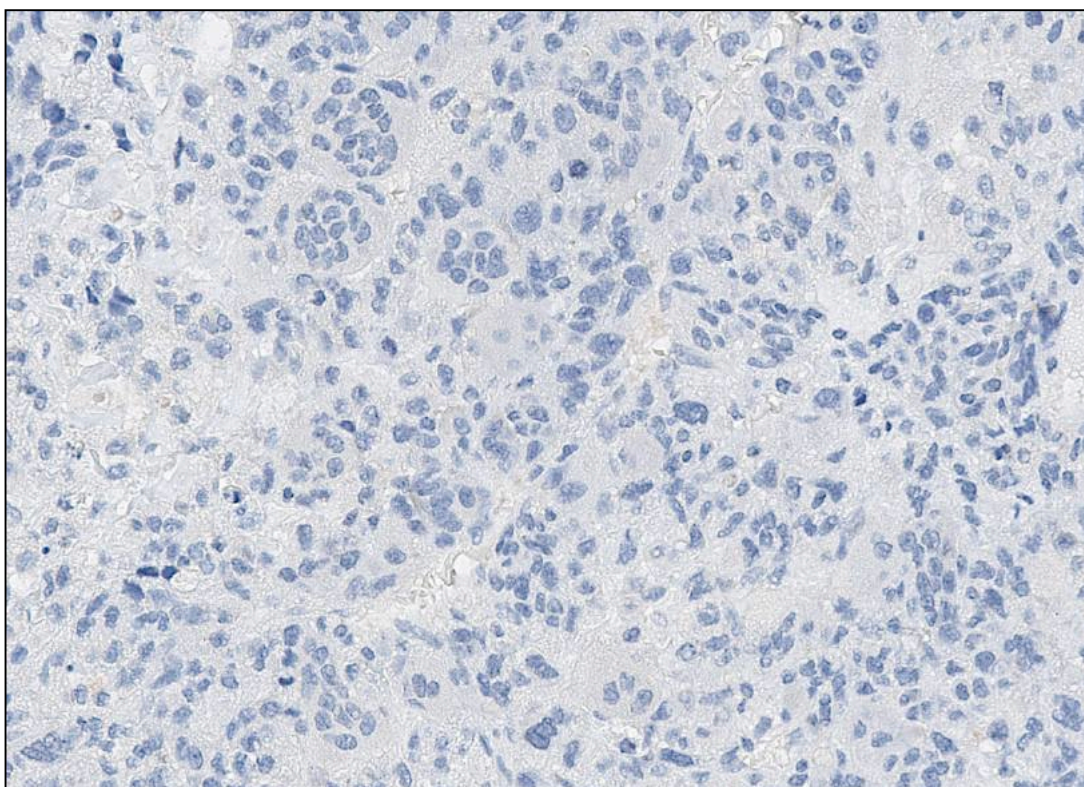


Рис. 64. Иммуногистохимическое исследование классической остеосаркомы (гигантоклеточный вариант) с K36M (H3F3B), клетки опухоли негативны, х400.

При гистологическом исследовании преобладал солидный компонент опухоли, состоящий из крупных неопластических клеток округлой, овальной и неправильной формы (Рис. 62). Ядра варьировали по форме и размерам, встречались гиперхромные, мелкие ядрышки были единичными. Митотическая активность была высокой, насчитывалось более 10 митозов на 10 полей зрения при увеличении микроскопа x400, в том числе, за счет многочисленных патологических форм. Обнаруживались зоны образования остеοидного межклеточного матрикса. Особенностью строения опухоли в данном случае было наличие большого количества гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток, рвспределяющихся диффузно и имитирующих гистологическую картину ГКО. Встречались единичные кистозные полости различного размера и формы, часть из которых были заполнены кровью (изменения по типу вторичной АКК).

Было выполнено иммуногистохимическое исследование с гистоновыми белками G34W и K36M, позитивной реакции на ядрах клеток опухоли не получено (Рис. 63, 64, Таб. 17).

3.7 Гигантоклеточные поражения костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи).

3.7.1 Херувизм.

Мы наблюдали 4 пациента с херувизмом, морфологическим субстратом которого является ЦГКГ с симметричным поражением челюстей. Среди всех поражений костей у детей в рамках синдромов, данное заболевание составило 6,66%. В трех случаях в патологический процесс были вовлечены верхняя и нижняя челюсти (75%), в одном случае только нижняя челюсть (Таб. 18). Возраст пациентов на момент госпитализации варьировал от 3 до 14 лет. Мальчиков и девочек было равное количество 2/2. Жалобы пациентов были такими же как в группе пациентов с ЦГКГ, за исключением симметричности поражения челюстей с двух сторон (Рис. 65).

Таблица 18.

Пациенты с херувизмом.

№	Паци- ент	Пол	Воз- раст	№ биопсии	Кл. диагноз	Локализация	Морф. диагноз	Размер (см)
1	АХ	Ж	9	16482- 89/03	Херувизм	Верхняя и нижняя челюсть	ЦГКГ, херувизм	НД
2	БЭ	Ж	14	22383- 88/10	ГКО	Верхняя и нижняя челюсть	ЦГКГ, херувизм	НД
3	КС	М	3	9300- 30/12	Фиброзная дисплазия	Нижняя челюсть	ЦГКГ, херувизм	НД
4	БД	М	8	7294- 307/17	Опухоль	Верхняя и нижняя челюсть	ЦГКГ, херувизм	НД

НД – нет данных

Таблица 19.

Пациенты с херувизмом. Иммуногистохимическое исследование.

№	Пациент	Пол	Возраст	№ биопсии	G34W	K36M
1	АХ	Ж	9	16482-89/03	-	-
2	БЭ	Ж	14	22383-88/10	МО	МО
3	КС	М	3	9300-30/12	-	-
4	БД	М	8	7294-307/17	-	-

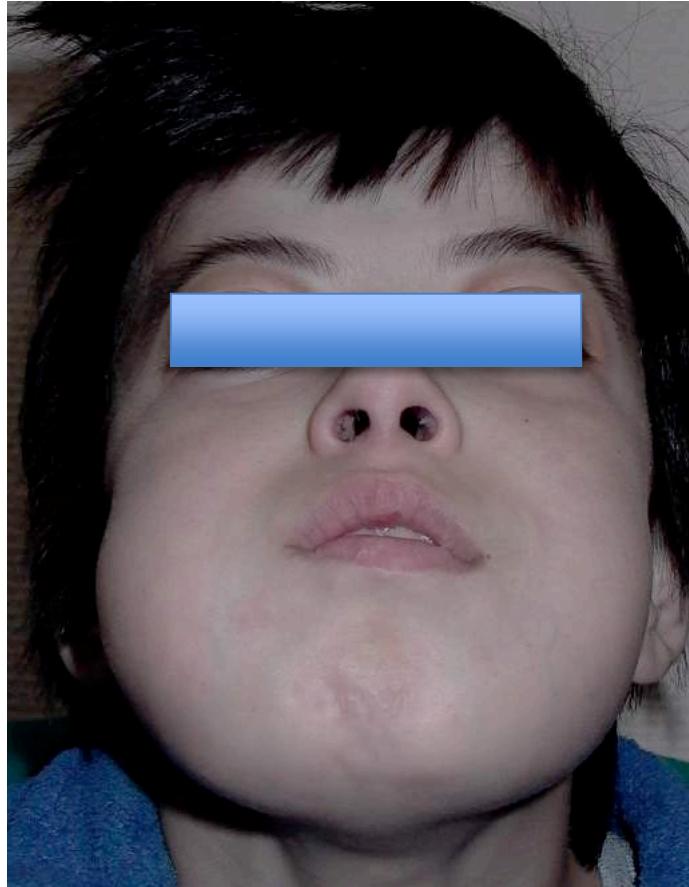


Рис. 65. Вид пациента с херувизмом. Симметричное поражение верхней и нижней челюсти.

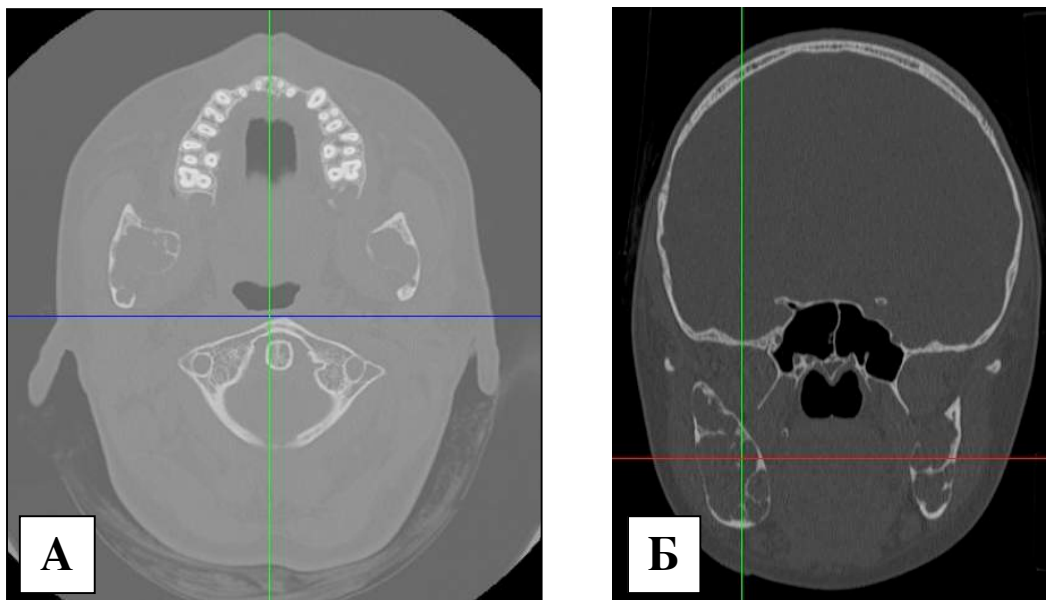


Рис. 66. КТ-исследование пациентов с херувизмом. Определяются множественные, хорошо ограниченные литические очаги в нижней челюсти.

Клинический диагноз «херувизм» при направлении материала на гистологическое исследование был зафиксирован только в одном наблюдении, в остальных случаях в клиническом диагнозе фигурировали ГКО, фиброзная дисплазия и опухоль без уточнения.

При рентгенологическом исследовании во всех наблюдениях обнаруживались множественные симметричные очаги поражения кости литического характера, как правило, с распространением за нормальные анатомические границы верхней и нижней челюсти. При этом сохранялся тонкий ободок из костной ткани (периостальная реакция в виде скорлупы) по периферии образований. При КТ исследовании также обнаруживались множественные симметричные литические очаги в челюстях (Рис. 66).

При макроскопическом исследовании материал был представлен множественными серовато-желтыми фрагментами ткани. Встречались очаговые кровоизлияния.

При гистологическом исследовании морфологическая картина не отличалась от таковой при ЦГКГ, за исключением того что, как правило, не встречались участки состоящие из моноклеаров, преобладал веретеночлесточный компонент с неравномерным распределением кластеров гигантских многоядерных клеток.

В трех из 4 случаев херувизма было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к G34W и K36M (Табл. 19). Позитивной реакции не было обнаружено ни с одним из вышеперечисленных антител ни в одном наблюдении.

3.7.2 Синдром Яффе-Кампаначи.

В одном из случаев ГКП нам встретился синдром Яффе-Кампаначи. На момент госпитализации мальчику было 5 лет. Был госпитализирован в связи с жалобами на патологический перелом правой плечевой кости. При рентгенологическом обследовании по месту жительства выявлены множественные эксцентричные, частично сливающиеся литические очаги

проксимального метафиза и диафиза левой плечевой кости с патологическим переломом в верхней части диафиза (Рис. 67).

Из анамнеза известно, что ранее регистрировалось два патологических перелома левой плечевой кости в возрасте 3 и 4 лет. При этом, мальчик проходил лечение в отделении травматологии и ортопедии в региональной детской клинике. При анализе имеющихся рентгенограмм, предоставленных родителями пациента был выявлен также кортикальный эксцентричный литический очаг в проксимальном метафизе правой большеберцовой кости.

Из семейного анамнеза выяснилось, что мама данного пациента в течение десяти лет страдает поражением кожи туловища, шеи, верхних и нижних конечностей, причем выраженность поражения со временем медленно увеличивается. Кожные элементы в виде возвышающихся папул и узелков бледновато-розового цвета, от 0,2 до 1,4 см в наибольшем измерении, со временем не регрессируют (Рис. 70). Специальное обследование не проходила. По месту жительства клинически был заподозрен диагноз «нейрофиброматоз».

При осмотре ребенка было выявлено образование затылочной области справа, мягкой консистенции, при пальпации безболезненное (Рис. 69). При КТ и МРТ исследовании с относительно четкими границами, плотность ткани ближе к жировой с соединительнотканными септами (Рис. 71). Биопсия данного образования не проводилась. При осмотре пациента обращает на себя внимание наличие множественных светло-коричневых пятен (Café au lait spots) на коже туловища и нижних конечностях (Рис. 68). Со слов мамы данные пятна впервые появились в возрасте 1,5-2 лет. Обращает на себя внимание больший объем правой стопы по сравнению с левой, имеются соответствующие жалобы на трудность подбора обуви в течение последних 6 месяцев.

Был выполнен кюретаж образования левой плечевой кости с репозицией и наложением гипсовой лонгеты.

При макроскопическом исследовании материал образования был представлен фрагментами ткани серовато-розового цвета.

При гистологическом исследовании гистологическая картина не отличалась от таковой при МФД/НОФ (Рис. 72).

Было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к гистоновым белкам G34W и K36M, позитивной ядерной реакции на веретеночлеточном компоненте не выявлено.

В целях поиска патогенных мутаций, ассоциированных с нейрофиброматозом, а также наследственными заболеваниями со сходными фенотипическими проявлениями, была исследована периферическая венозная кровь. Мутации в гене AKT1 не обнаружены (характерны для синдрома Протея). Была обнаружена гетерозиготная мутация в гене NF1 (экзон 9, chr17:29528053A>G, rs1060500358), приводящая к нарушению канонического сайта сплайсинга (c.1063-2A>G, NM_001042492.2), что подтвердило диагноз синдрома Яффе-Кампаначи. Данная мутация не зарегистрирована в контрольных выборках «1000 геномов», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium (ExAC).

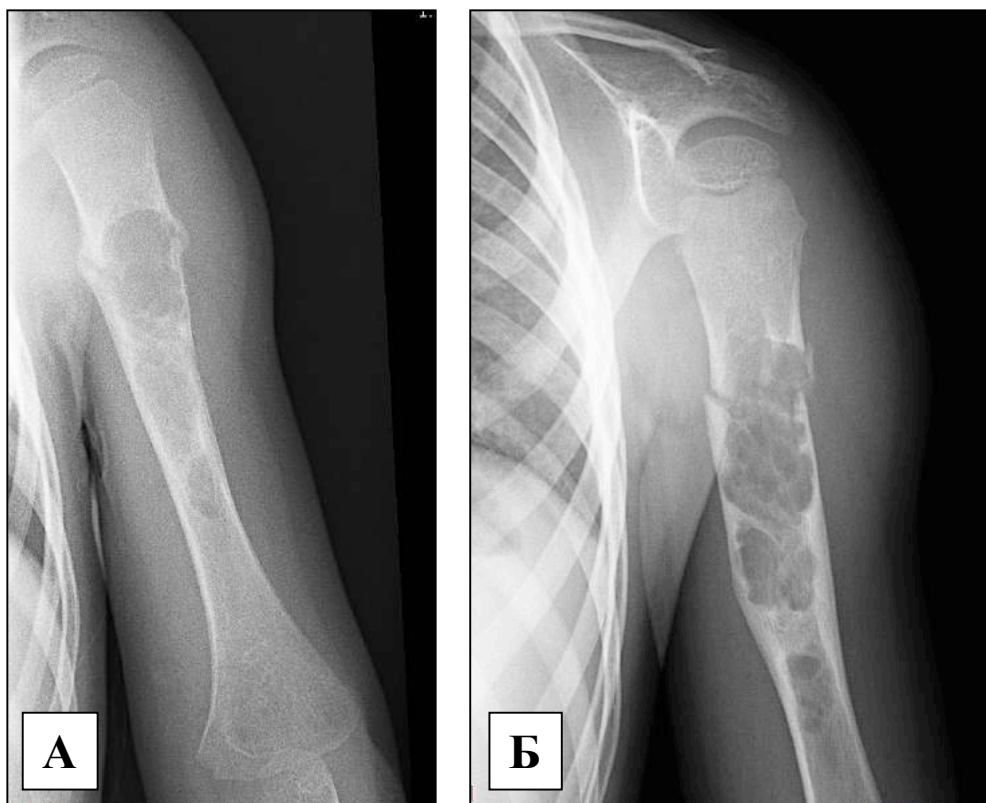


Рис. 67. Рентгенограммы пациента с синдромом Яффе-Кампаначи (прямая проекция). В проксимальном метафизе и диафизе левой плечевой кости определяются множественные сливающиеся литические очаги. Патологический перелом. А. 2015 год. Б. 2016 год.



Рис. 68. Множественные светло-коричневые пятна на коже пациента с синдромом Яффе-Кампаначи.



Рис. 69. Внешний вид пациента с синдромом Яффе-Кампаначи. Мягкотканное образование затылочной области справа.



Рис. 70. Внешний вид матери пациента с синдромом Яффе-Кампаначи. Видны множественные экзематозные образования на коже туловища, а также светло-коричневые пятна.

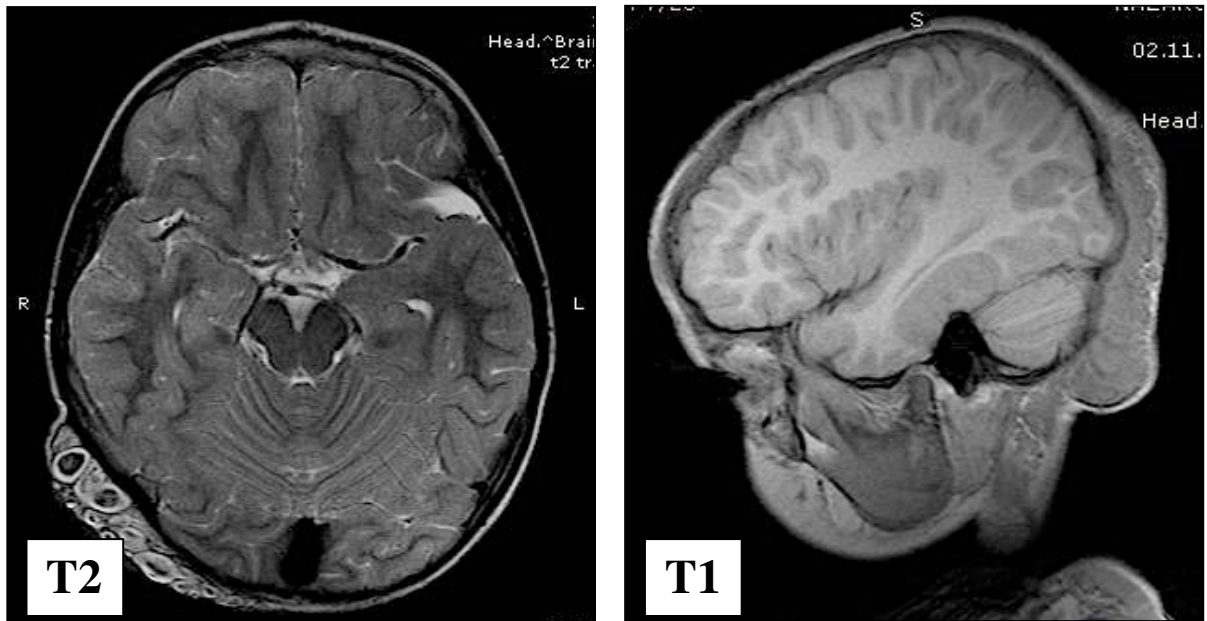


Рис. 71. МРТ исследование (T2 и T1) пациента с синдромом Яффе-Кампаначи. В затылочной области справа мягкотканное образование неоднородной структуры.

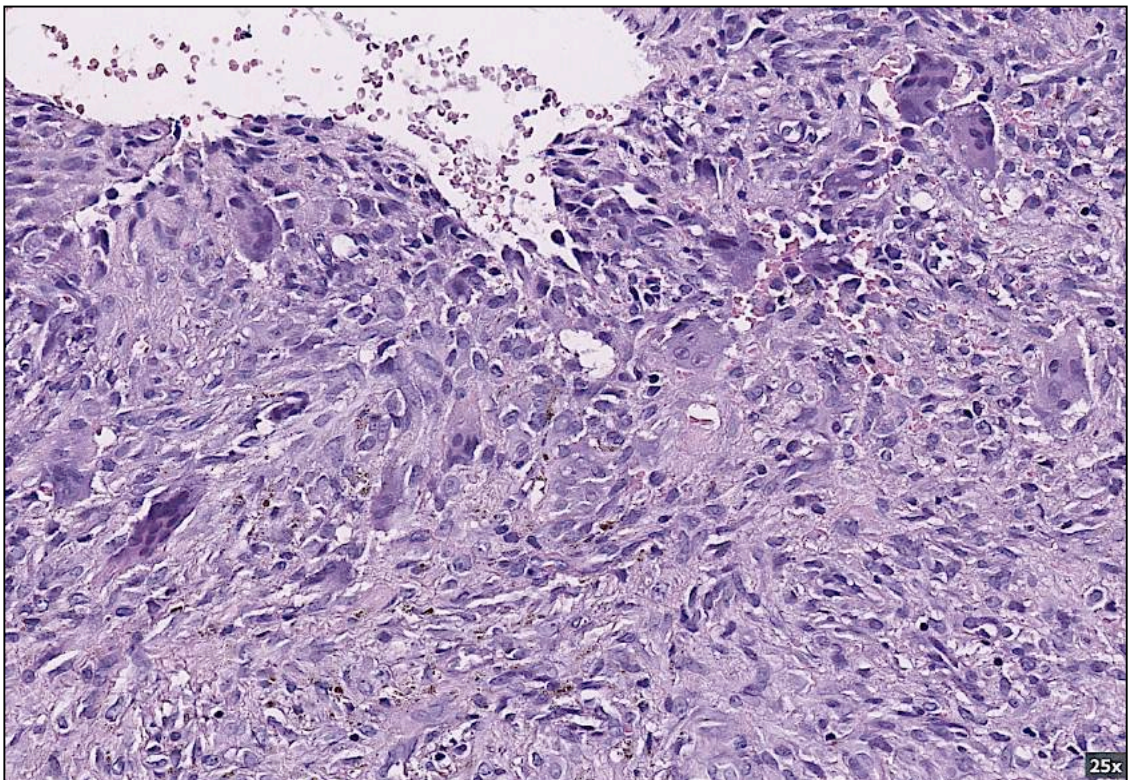


Рис. 72. НОФ левой плечевой кости у пациента с синдромом Яффе-Кампаначи. Определяется солидный компонент, состоящий из вытянутых клеток, местами формирующих шториформный паттерн. Рассеянные гигантские многоядерные клетки. Видны кистозные изменения по типу вторичной АКК (в верхней части фото), ГЭ, x200.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глава 4. Обсуждение полученных результатов.

Анализ собственного материала ГКП костей у детей представлял собой сложную многокомпонентную задачу на всех этапах диагностического поиска. Для успешного решения такой задачи применялся комплексный междисциплинарный подход в плане адекватной оценки и сопоставления информации о пациенте и его заболевании на всех этапах, начиная от подробного анамнеза и оценки данных лучевой диагностики до этапа интерпретации морфологической картины и применения дополнительных методов исследования (иммуногистохимия, FISH исследование и секвенирование по Сенгеру).

Так как основным компонентом всех ГКП костей у детей является присутствие в разных количествах и соотношениях гигантских многоядерных остеокластоподобных клеток, данное обстоятельство зачастую обуславливает наличие «одинаковых» клинических и морфологических признаков. Так, при многих ГКП костей жалобы пациентов похожи и не имеют какой-либо определенной специфики. При анализе данных лучевой диагностики и МРТ-исследований при всех ГКП обнаруживается литический компонент поражения, связанный в большей степени, с наличием остеолитического потенциала гигантских многоядерных клеток.

Проведенные исследования показали, что даже несмотря на комплексный междисциплинарный подход в диагностике ГКП костей у детей, часть случаев были переквалифицированы в рамках данной группы с учетом полученных нами данных иммуногистохимического исследования (G34W и K36M) и результатов секвенирования по Сенгеру. Данные изменения диагнозов лишний раз подчеркивают актуальность и необходимость дифференциальной диагностики различных опухолей, входящих в группу ГКП. Основные ключевые пункты для дифференциальной диагностики ГКП у детей отражены в Табл. 20.

Дифференциально-диагностические критерии ГКП костей у детей.

Признаки:		ГКО	ЦГКГ	АКК	ХБ	МДФ/ НОФ	КО (гигант оклето чный вариан т)	Теланг изкстат и ческая остеоа срома	Херуви зм	Синдр ом Яффе- Кампа начи
Общее количество (194)		6/194	22/194	77/194	27/194	55/194	1/194	1/194	4/194	1/194
Мальчики (96), возраст	до 1 года	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	От 1 до 3 лет	0	0	2	0	0	0	0	0	1
	От 3 до 7 лет	0	2	9	0	2	0	0	1	0
	От 7 до 12 лет	0	5	9	1	6	0	0	1	0
	От 12 до 18 лет	1	5	20	16	13	0	0	0	0
Девочки (98), возраст	до 1 года	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	От 1 до 3 лет	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	От 3 до 7 лет	0	2	4	0	0	0	1	0	0
	От 7 до 12 лет	0	2	12	4	15	1	0	1	0
	От 12 до 18 лет	5	6	21	6	19	0	0	1	0
Локализа ция (скелет)	Плечевая	0	0	17	10	1	0	0	0	1
	Локтевая	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Лучевая	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	Лопатка	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	Колючица	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	Кости кисти	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Ребро	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	Позвонок	0	0	4	0	0	0	0	0	0
	Кости таза	1	0	9	1	0	0	0	0	0
	Бедренная	1	0	14	5	27	1	0	0	0
	Большеберцо вая	3	0	9	7	23	0	1	0	0
	Малоберцовая	0	0	6	1	4	0	0	0	0
	Надколенник	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Кости стопы	0	0	6	1	0	0	0	0	0
	Челюсти	0	21	3	0	0	0	0	4	0
	Кости черепа	0	1	2	0	0	0	0	0	0
Локализация в длинных трубчатых костях	Эпифиз	(-)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Метафиз	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	(-)	+
	Эпифиз+ Метафиз	+	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Диафиз	(-)	(-)	+	(-)	(-)	+	+	(-)	+
	Не применимо	(-)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	(-)
Пораже ние:	Солитарное	6	22	77	27	54	1	1	0	0
	Множествен ное	0	0	0	0	1	0	0	4	1
Жалобы	Болевые ощущения	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(+/-)	+	+	(+/-)	(-)
	Увеличение объема	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(-)	+	+	+	(-)
	Патологичес кий перелом	1	0	17	0	6	0	1	0	1
Рентгенологическ ие признаки (рентген и КТ)	Медуллярное поражение	+	+	(-)	+	(-)	+	+	+	(-)
	Кортикальное поражение	(-)	(-)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	(-)	+
	Смешанное поражение	(-)	(-)	+	(-)	+	+	+		+
	Литический очаг	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Септирован ность	(-)	(+/-)	+	(-)	(+/-)	(-)	(+/-)	(+/-)	(+/-)

Таблица 20 (продолжение).

Рентгенологическое признаки (рентген и КТ)	Кортикальный слой сохранен	(+/-)	+	+	+	+	(-)	(-)	+	+
	Кортикальный слой разрушен	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Матрикс	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(-)	(+/-)	(+/-)	(-)	(-)
	Периостальная реакция в виде скорлупы	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	(-)
	Периостальная реакция "козырек Кодман"	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Периостальная реакция в виде спикул	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Внекостный компонент	(+/-)	(-)	(+/-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
МРТ:	Экспансивный характер роста	+	+	+	+	+	(-)	(-)	+	+
	Инфильтративный характер роста	(+/-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Кистозный компонент	(+/-)	(+/-)	+	(+/-)	(+/-)	(+/-)	+	(+/-)	(+/-)
Морфология:	Солидный компонент - моноклеары	+	(+/-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Солидный компонент – веретенновидные клетки	(+/-)	+	+	(-)	+	(+/-)	(+/-)	+	+
	Бороздки в ядрах	(-)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Структуры blue bone	(-)	(-)	30%	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Кистозный компонент	50%	27,27%	92,21%	44,44%	30,90%		100%	25%	
	Митотическая активность (0-4 в 10 hpf)	+	+	+	+	+	(-)	(-)	+	+
	Митотическая активность (5-9 в 10 hpf)	(+/-)	(-)	(+/-)	(+/-)	(-)	(+/-)	(-)	(-)	(-)
	Митотическая активность (10 и более в 10 hpf)	(-)	(-)	(+/-)	(-)	(-)	(+/-)	+	(-)	(-)
	Патологические фигуры митозов	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Инвазивный характер роста	(+/-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Клетки опухоли в сосудах	(+/-)	(-)	(-)	(+/-)	(-)	+	+	(-)	(-)
	Метастазы в легких	(+/-)	(-)	(-)	(+/-)	(-)	(+/-)	(+/-)	(-)	(-)
Иммуногистохимия:	G34W	98%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	K36M	0%	0%	0%	98%	0%	0%	0%	0%	0%
FISH:	USP6	0%	0%	70%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Секвенирование по Sanger	H3F3A	70%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

4.1 Гигантоклеточная опухоль (ГКО).

На основании проведенных нами исследований, из 19 первоначально документированных случаев ГКО у детей, в итоге остались только 6. Данное обстоятельство отражает гипердиагностику ГКО у детей вследствие отсутствия междисциплинарного подхода при постановке диагноза и применения высокоспецифичных антител (G34W и K36M) в практической работе патологоанатомов. Важную роль в постановке диагноза играют результаты секвенирования по Сенгеру, особенно в случаях редких мутаций в гене H3F3A.

При анализе данных доступной медицинской литературы было показано, что для ГКО характерен следующий набор основных признаков: возраст от 20 до 40 лет (опухоль зрелого скелета с закрытыми зонами роста), в половине случаев поражаются длинные трубчатые кости формирующие коленный сустав (бедренная и большеберцовая), при этом поражение метафизарно-эпифизарный характер. Так же как и у взрослых, у детей большая часть ГКО в наших наблюдениях локализовалась в длинных трубчатых костях, формирующих коленный сустав [129]. Возраст пациентов в наших наблюдениях варьировал от 13 до 17 лет. Девочек было 5, мальчиков 1, что соответствует данным литературы [75].

При рентгенологическом исследовании опухоль была представлена эксцентричным литическим очагом, часто с разрушением кортикального слоя и вовлечением в патологический процесс прилежащих мягких тканей. Причем, агрессивного типа периостальной реакции (спикулы, козырек Кодман) не было выявлено ни в одном наблюдении.

При гистологическом исследовании ГКО состояла из двух типов клеток – мононуклеаров и гигантских многоядерных клеток, причем ядра обоих клеточных компонентов имели схожее морфологическое строение, что является важным диагностическим признаком.

При секвенировании по Сенгеру было обнаружено, что ГКО имеет аберрацию H3.3 (H3F3A) [85], в том числе, в наших наблюдениях. Несмотря

на это, клинический диагноз ГКО часто фигурировал в направлениях пациентов с новообразованиями краниофациальной локализации.

Дифференциальная диагностика ГКО проводится с другими ГКП костей – ЦГКГ, АКК (прежде всего с солидным вариантом), ХБ [2; 3], МФД/НОФ и классической остеосаркомой (вариант богатый гигантскими клетками).

Несмотря на схожие гистологические характеристики, ЦГКГ встречается преимущественно у детей младших возрастных групп в челюстно-лицевой локализации (в основном, верхняя и нижняя челюсть), что не характерно для ГКО. Основным компонентом ЦГКГ при гистологическом исследовании являются веретеновидные клетки, при этом, гигантские многоядерные клетки обнаруживаются в виде кластеров и чаще вокруг очагов кровоизлияний. При иммуногистохимическом исследовании ЦГКГ не экспрессируют G34W в отличие от ГКО и не имеют мутаций гена H3F3A.

Большинство случаев АКК встречаются в более младшей возрастной категории, локализуются чаще в метафизе длинных трубчатых костей, имеют четкие границы на рентгенограмме (как правило, окружены так называемым «ободком»). При гистологическом исследовании в септах преобладает веретенноклеточный компонент, гигантские многоядерные клетки располагаются кластерами. Веретенноклеточный компонент при АКК не экспрессирует G34W. При цитогенетическом исследовании АКК по данным литературы [15] в 70% обнаруживается перестройка USP6 гена (Рис. 36, 37).

ХБ чаще регистрируется у детей в возрастной группе от 12 до 18 лет (80,77%), локализуется в эпифизах длинных трубчатых костей, имеет четкие границы, иногда с незначительными склеротическими изменениями по периферии опухоли. При больших размерах может наблюдаться метафизарно-эпифизарное поражение, но в отличие от ГКО не обладает признаками локально агрессивного роста (как правило, четкие границы). При морфологическом исследовании состоит из овальных и неправильной формы клеток с вытянутыми ядрами, в которых выявляются продольные бороздки,

чего не наблюдается при ГКО, легко обнаруживается хондроидный межклеточный матрикс. При иммуногистохимическом исследовании неопластические клетки при ХБ не выявляют позитивной реакции с антителом к G34W, при этом обнаруживается позитивная ядерная экспрессия K36M. При секвенировании по Сенгеру в клетках опухоли при ХБ в большинстве случаев выявляется точечная мутация в гене H3F3B.

МФД/НОФ чаще встречается у детей в возрастной категории от 12 до 18 лет (60%), имеет метафизарную локализацию в кортикальном слое, четкие границы и склонность к самопроизвольной регрессии. При морфологическом исследовании состоит из веретеновидных клеток с небольшими скоплениями гемосидерофагов и ксантомных клеток. Гигантские многоядерные клетки обычно не столь многочисленны как при ГКО и, как правило, меньших размеров. При иммуногистохимическом исследовании веретенноклеточный компонент при МФД/НОФ не экспрессирует G34W. Секвенирование по Сенгеру не выявляет мутаций в генах H3F3A и H3F3B.

Классическая остеосаркома также может вызывать сложности в дифференциальной диагностике с ГКО, особенно при варианте богатом гигантскими многоядерными клетками. Стоит отметить, что классическая остеосаркома клинически протекает агрессивно, чаще чем ГКО встречается у детей. При исследовании рентгенологических данных, для КО характерно поражение метафизов, реже диафизов длинных трубчатых костей. В большинстве случаев удается обнаружить «облаковидный» инфильтрат за счет продукции опухолью костного матрикса, а также агрессивный тип периостальной реакции (козырек Кодман, спикулообразная или сочетание). При гистологическом исследовании, несмотря на большое количество гигантских многоядерных клеток, при КО всегда можно найти признаки клеточной атипии и высокую митотическую активность, в том числе за счет многочисленных атипических мультиполярных митозов. В том или ином количестве обнаруживается неопластический остеоид. Данные признаки не характерны для ГКО. При иммуногистохимическом исследовании клетки

опухоли при КО не экспрессируют G34W, в отличие от ГКО, и не содержат мутаций в гене H3F3A.

Из 10 проанализированных случаев ГКО у детей, в 9 случаях нами было выполнено иммуногистохимическое исследование с оценкой экспрессии гистонового белка G34W, высокоспецифичного для ГКО. Параллельно выполнялось секвенирование по Сенгеру с целью поиска соответствующей мутации. В 5 наблюдениях была выявлена экспрессия G34W (ядерный локус). Данные результаты полностью совпали с результатами секвенирования (при условии адекватности исследованного материала). В одном случае ГКО правой бедренной кости у пациентки 14 лет не было выявлено экспрессии G34W. Однако, при секвенировании по Сенгеру в данном наблюдении была обнаружена мутация G35L, что полностью объяснило отсутствие экспрессии G34W и достоверно подтвердило диагноз ГКО. У трех пациентов была найдена мутация G35R (H3F3A, Codon 35), что напрямую коррелировало с позитивной реакцией с антителом к G34W.

В одном случае у пациентки 14 лет с ГКО правой большеберцовой кости через полтора года было обнаружено метастатическое поражение легких. При этом, при иммуногистохимическом исследовании метастазов также была выявлена ядерная экспрессия G34W.

Позитивной реакции с K36M не было обнаружено ни в одном случае ГКО.

Основываясь на наших исследованиях, диагноз ГКО был очевидным и доказательным в 6 из 10 случаев. В остальных 4 случаях наиболее очевидным диагнозом был «АКК, солидный вариант».

В последних работах [121; 139] была показана высокая специфичность антитела G34W для верификации ГКО. Учитывая вышеизложенное, часть публикаций с описанием случаев ГКО без соответствующего подтверждения (G34W, H3F3A) представляются сомнительными [122].

Интересной представляется работа, в которой авторы не обнаружили мутаций в гене H3F3A при ГКО ни у одного из пациентов в азиатской популяции, при этом была обнаружена мутация гена IDH2 в 80% случаев [124]. Позже было сделано предположение, что для ГКО, возникающих у белого населения, драйверной мутацией в ГКО является H3F3A, а у азиатского населения IDH2 [125]. Однако, данный вопрос требует дальнейших исследований.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что клинический диагноз ГКО до этапа морфологического и иммуногистохимического исследования был выставлен в половине случаев. При этом следует учитывать имеющуюся гипердиагностику ГКО среди неопластических поражений костей у детей как патологоанатомами, так и докторами других медицинских специальностей. Так например, следует помнить, что ГКО у детей встречается крайне редко (0,6% в структуре всех ГКП у детей по нашим данным) и только в старшей возрастной группе от 12 до 18 лет (100%). Самая ранняя презентация ГКО была зарегистрирована у пациентки в возрасте 13 лет (опухоль правой большеберцовой кости). Среди 6 случаев ГКО преобладали девочки (5). При морфологическом исследовании важным критерием для диагностики является обнаружение моноклеарных неопластических клеток, ядерные характеристики которых сходны с таковыми в гигантских многоядерных клетках. При этом следует учитывать, что в ГКО у детей можно встретить веретеночлещный компонент, а также кистозные изменения по типу вторичной АКК, что значительно затрудняет дифференциальную диагностику с другими представителями ГКП костей. Наши исследования показали, что для достоверной диагностики ГКО у детей характерно наличие ядерного локуса экспрессии G34W, что согласуется с данными других исследователей [121; 139]. Секвенирование по Сенгеру выявило мутации в гене H3F3A в 4 случаях, причем результаты полностью сопоставимы с данными иммуногистохимического определения белка G34W. Однако, следует

учитывать, что чувствительность данного метода ниже чем иммуногистохимического, и составляет порядка 69% по данным литературы [140]. При этом, часть исследованного нами материала составили консультативные случаи из других лечебных учреждений, и возможно, имели место погрешности на этапах гистологического процессинга (длительная декальцинация в агрессивных кислотах).

4.2 Центральная гигантоклеточная гранулема (ЦГКГ).

Собственные наблюдения показали, что ЦГКГ чаще возникает у детей на второй декаде жизни (50% в группе от 12 до 18 лет), излюбленная локализация данного образования – это верхняя и нижняя челюсть, имеет солитарный тип поражения (если не в рамках херувизма или нейрофиброматоза 1 типа), медленные темпы роста (от нескольких месяцев до нескольких лет), представлена литическим очагом поражения с четкими границами. При гистологическом исследовании выявляется веретеночлесточный компонент без признаков атипии клеток и низкой митотической активностью, гигантские многоядерные клетки располагаются неравномерно, в виде кластеров, чаще вокруг очагов кровоизлияний. Каких-либо специфически значимых цитогенетических аномалий при ЦГКГ не выявлено.

Дифференциальная диагностика ЦГКГ проводится с другими ГКП: ГКО, АКК, ХБ и КО (вариант богатый гигантскими многоядерными клетками).

ГКО чаще встречается у детей крайне редко (0,6% по нашим наблюдениям) и только в старшей возрастной группе (все случаи от 13 до 18 лет), излюбленная локализация – длинные трубчатые кости скелета. Ни одного случая ГКО не было зарегистрировано в челюстях и костях черепа, что полностью согласуется с данными литературы. При рентгенологическом исследовании ГКО также выявляется литический очаг, однако в отличие от ЦГКГ он не имеет четкой границы, разрушает кортикальный слой и может

распространяться на прилежащие к очагу поражения мягкие ткани. При гистологическом исследовании ГКО состоит из двух клеточных компонентов, один из которых моноклеарный, в отличие от преобладания веретенноклеточного компонента при ЦГКГ. В редких случаях, при ЦГКГ веретенноклеточный компонент по морфологии может приближаться к моноклеарному, что вызывает сложности в дифференциальной диагностике. Гигантоклеточный компонент при ГКО состоит из гигантских многоядерных клеток большего размера чем при ЦГКГ, в которых может насчитываться более 50 или даже 100 ядер. При этом, многоядерные клетки в ГКО распределяются более равномерно, чем при ЦГКГ. Ядра моноклеарных и гигантских многоядерных клеток в ГКО имеют сходные морфологические характеристики. При иммуногистохимическом исследовании при ЦГКГ не обнаруживается позитивной реакции с G34W. Секвенирование по Сенгеру не выявляет мутации в гене H3F3A, в отличие от ГКО.

При сравнительной ретроспективной оценке признаков дифференциальной диагностики ЦГКГ и ГКО интересной представляется работа Resnick et al. [96]. В ней говорится о том, что между данными новообразованиями больше общего, чем различий, и что эти два заболевания могут быть одной и той же опухолью. При этом данными авторами было проанализировано 93 наблюдения ГКП (45 поражений челюстей и 48 опухолей костей аксиального и добавочного скелета). Различия в возрастных группах пациентов они объяснили тем, что вследствие периодического скрининга ГКП челюстей выявляются раньше, чем ГКП других локализаций. При этом, следует учитывать, что авторы не рассматривали вопросы дифференциальной диагностики ГКО и ЦГКГ на основании иммуногистохимического и мутационного профиля, так как первые подобные сообщения появились позже.

Трудности возникают при дифференциальной диагностике АКК (особенно солидного варианта) и ЦГКГ. В большинстве случаев,

рентгенологически и морфологически эти новообразования практически не различимы, поэтому, долгое время считались синонимами [64]. Часто можно встретить описания клинических наблюдений, называемых ЦГКГ при локализации в костях кистей и стоп [4]. В 2014 году Narasimhan P Agaram et al. [49] исследовали ГКП мелких костей кистей и стоп и ЦГКГ челюстей на предмет перестройки USP6 гена. Оказалось, что ГКП кистей и стоп в 8 из 9 случаев содержала перестроенный USP6 ген, в то время как ЦГКГ верхней и нижней челюсти такой перестройки не имели. На основании этого был сделан вывод о том, что термин ЦГКГ должен быть ограничен для использования только при локализации образования в челюстях. И самое главное, случаи гигантоклеточных гранул мелкокостных кистей и стоп было рекомендовано переклассифицировать в солидный вариант АКК.

ХБ реже возникает в челюстях и костях черепа (чаще височная кость), составляя 6,6 – 7,1% всех случаев. При этом, средний возраст пациентов старше (39,4 лет), чем при локализации опухоли в эпифизах длинных трубчатых костей [81; 111]. В наших наблюдениях у детей таких случаев не зарегистрировано. При рентгенологическом исследовании и МРТ ХБ имеет четкие границы, но в отличие от ЦГКГ может определяться матрикс. При гистологическом исследовании при ХБ обнаруживаются два вида клеток – моноклеарные клетки и гигантские многоядерные остеокластоподобные клетки. Моноклеарные клетки по морфологии напоминают хондробласты, с хорошо различимыми клеточными границами, овальной или неправильной формы и бледно эозинофильной цитоплазмой. Ядра овальной формы, в части из них выявляется продольная бороздка (coffee bean). Митотическая активность низкая или умеренная, патологические митозы не определяются. В одной трети случаев удается обнаружить участки с нежной перицеллюлярной кальцификацией, которые носят название проволоочной сетки или куриной сетки (chicken wire). Гигантские многоядерные клетки могут быть многочисленными, содержат порядка 10 и более ядер, хотя их количество варьирует. При иммуногистохимическом исследовании в

неопластических клетках ХБ выявляется позитивная реакция с K36M (ядерный локус), чего никогда не бывает при ЦГКГ. При секвенировании по Сенгеру в ЦГКГ не обнаруживается мутации в гене H3F3B (характерна для ХБ).

Несмотря на то что КО одна из самых частых злокачественных опухолей костей у детей, она крайне редко возникает в костях черепа и челюстях, излюбленная локализация это метафизы длинных трубчатых костей. В отличие от ЦГКГ, КО всегда имеет локальные признаки агрессивного роста по рентгенологическим данным и МРТ-исследовании (разрушение кортикального слоя, вовлечение в патологический процесс мягких тканей), наблюдается наличие костного матрикса, чего не отмечается при ЦГКГ.

Мы провели иммуногистохимическое исследование 16 доступных случаев ЦГКГ с антителами к G34W и K36M. Ни в одном наблюдении не было выявлено позитивных реакций с данными антителами, что доказывает отсутствие среди этих случаев ГКО и ХБ. В одном наблюдении (опухоль нижней челюсти, мальчик 7 лет) была выявлена мутация R27R в 27 кодоне гена H3F3A. Однако, в данном случае это была синонимичная (Silent-мутация, не приводящая к замене аминокислоты), которая не имела никакого клинического значения (учитывались только Miscense-мутации). Данное обстоятельство согласуется с данными Flanagan и соавт., что ЦГКГ и ГКО являются генетически различными опухолями, при этом ГКО не встречается в челюстях и костях черепа у детей, несмотря на их морфологическое сходство.

Таким образом, до этапа морфологического исследования диагноз ЦГКГ был выставлен только в 3 случаях (13,64%), что отражает низкий уровень осведомленности клинических докторов и специалистов лучевой диагностики в отношении данного заболевания. Интересно отметить, что в клиническом диагнозе в большинстве случаев фигурировала ГКО (8 пациентов, 36,36%). Данные цифры говорят о гипердиагностике ГКО у детей

и отсутствии осознания важности комплексного учета информации о пациенте, в частности речь идет о таких важных признаках как возраст и локализация поражения. При гистологическом исследовании важно обращать внимание на то что морфологическим субстратом поражения при ЦГКГ являются веретенновидные клетки, гигантские многоядерные клетки располагаются кластерами вокруг очагов геморрагий, отсутствуют признаки атипии, митотическая активность низкая или не определяется и имеются депозиты гемосидерина. При иммуногистохимическом исследовании в ЦГКГ не определяется экспрессия G34W и K36M, а секвенирование по Сенгеру не обнаруживает мутаций генов H3F3A и H3F3B.

4.3 Аневризмальная костная киста (АКК).

Наши наблюдения показали что АКК чаще встречается у детей в метафизарной зоне длинных трубчатых костей (61,33%), реже в коротких трубчатых костях кистей и стоп (4%), плоских костях (17,33%). Поражение позвонков встретилось в 5 наблюдениях (6,66%). Распределение в зависимости от локализации показано на Рис. 26. Возраст пациентов варьировал от 2 до 18 лет, с пиком инцидентности в период от 12 до 18 лет – 38 наблюдений (50,67%). В результате проведенного комплексного анализа, два случая АКК из 75 были переквалифицированы в ХБ и телангиэктатическую остеосаркому.

Дифференциальная диагностика АКК проводится прежде всего с телангиэктатической остеосаркомой, ГКО, ЦГКГ, ХБ и МФД/НОФ.

Телангиэктатическая остеосаркома имеет много общих характеристик с АКК, в частности, клинические проявления, рентгенологические характеристики, макроскопические особенности, а также очень напоминает АКК при малом увеличении микроскопа (x40). Однако, при тщательном анализе можно обнаружить, что телангиэктатическая остеосаркома имеет более агрессивное клиническое поведение. При оценке данных лучевой диагностики выявляются очевидные признаки локальной агрессивности

процесса (разрушение кортикального слоя на большом протяжении, периостальная реакция прерывистая по типу козырька Кодман или спикурообразная, иногда очаговый «облаковидный» инфильтрат, свидетельствующий о продукции опухолью костного матрикса). При анализе гистологической картины, помимо множественных кистозных полостей как при АКК, обращает на себя внимание, что опухоль плохо ограничена от окружающих тканей, с признаками инвазивного роста. Достаточно легко обнаруживаются признаки клеточной атипии и полиморфизма неопластических клеток. Митотическая активность, как правило, очень высокая, в том числе, за счет многочисленных патологических мультиполярных форм. Могут выявляться очаги некротических изменений опухоли. Один из наших 75 случаев АКК был переквалифицирован в телангиэктатическую остеосаркому на основании того что при каждом последующем локальном рецидиве, гистологическая картина становилась все более «агрессивной» (нарастание митотической активности, появление крупных клеток с признаками атипии, увеличение количества гигантских многоядерных клеток). При КТ-исследовании легких было обнаружено два солидных метастатических очага размером до 0,5 и 0,7 см диаметром.

ГКО встречается в более старших возрастных группах (3-5 декада жизни), при закрытых зонах роста (зрелый скелет). В наших наблюдениях мы не встретили случаев ГКО у детей младше 13 лет. Чаше локализуется в метафизарно-эпифизарной зоне длинных трубчатых костей в виде плохо ограниченного литического очага с частым разрушением кортикального слоя и вовлечением в патологический процесс прилежащих мягких тканей, что не характерно для АКК. При гистологическом исследовании ГКО состоит из двух клеточных компонентов: моноклеарного и гигантоклеточного. При типичной гистологической картине в комплексе с вышеперечисленными данными, не вызывает каких-либо сложностей в дифференциальной диагностике. Однако, ГКО часто сопровождается кистозными изменениями (вторичная АКК), а при локализации в длинных трубчатых костях,

моноклеарный компонент местами может выглядеть как веретеночелюточный, что вызывает диагностические сложности. В таких ситуациях кроме комплекса всех прочих признаков может помочь обнаружение перестройки USP6 гена (характерно для АКК). При иммуногистохимическом исследовании в АКК не обнаруживается экспрессия G34W, при секвенировании по Сенгеру не выявляются мутация гена H3F3A (характерно для ГКО).

Солидный вариант АКК и гигантоклеточная гранулема (в том числе, ЦГКГ) многими авторами рассматриваются как абсолютные синонимы, так как не существовало работ, позволяющих обнаружить какие-либо дифференциальные признаки. Считалось, что гигантоклеточная гранулема чаще встречается в челюстях и мелких костях кистей и стоп. В 2014 году Narasimhan P Agaram et al. исследовали АКК и гигантоклеточную репаративную гранулему на предмет перестройки USP6 гена [21]. Было обнаружено, что поражения мелких костей кистей и стоп имеет перестройку USP6 гена, а ЦГКГ с поражением челюстных костей нет. Был сделан вывод, что поражения костей кистей и стоп следует переклассифицировать в солидный вариант АКК. В свою очередь, локализация ЦГКГ стала еще более ограниченной (верхняя и нижняя челюсть). Таким образом, единственный способ отличить солидный вариант АКК от ЦГКГ – это цитогенетическое исследование на предмет перестройки гена USP6.

ХБ у детей в большинстве случаев локализуется в эпифизах длинных трубчатых костей (92,3% на нашем материале), в то время как АКК в зоне метафизов трубчатых костей. При анализе данных инструментальной диагностики можно отметить, что для ХБ не характерно «вздувание» кости и септированность, кроме того, при ХБ обнаруживается неравномерно распределяющийся матрикс (АКК – литическое образование). При гистологическом исследовании ХБ состоит из округлых и овальных клеток, в ядрах которых определяется продольная бороздка. При

иммуногистохимическом исследовании отмечается экспрессия K36M, в АКК данной реакции не обнаруживается.

НОФ/МФД часто встречается у детей и подростков в виде кортикального четко ограниченного литического очага, локализуется в зоне метафизов длинных трубчатых костей (подавляющее большинство случаев – длинные трубчатые кости, образующие коленный сустав). Иногда содержит кистозный компонент по типу вторичной АКК. При этом, выявляется веретенноклеточный шториформный компонент. Клетки без признаков атипии, митотическая активность низкая или не выявляется. Почти всегда видны кластеры крупных ксантомных клеток, а также гемосидерофаги, что позволяет поставить диагноз.

Мы провели иммуногистохимическое исследование с антителами к G34W и K36M в 46 случаях АКК у детей. Во всех случаях не было отмечено позитивной реакции с G34W. В 45 наблюдениях экспрессии K36M также не выявлено. Однако, в 1 наблюдении у пациента 14 лет с кистозным поражением пяточной кости была получена позитивная реакция с K36M. При повторном анализе и пересмотре гистологического материала у данного пациента в септах, разделяющих полости были выявлены участки, состоящие из клеток с морфологией хондробластов. Диагноз в данном случае был изменен на ХБ с преобладанием кистозного компонента по типу вторичной АКК.

В 10 случаях у пациентов с АКК было проведено секвенирование по Сенгеру. В 4 наблюдениях материал оказался неинформативным. В остальных случаях был выявлен дикий тип в различных кодонах генов H3F3A и H3F3B. Причем, в данную группу были включены 3 случая с солидным вариантом АКК, морфологическая картина которых очень сходна с другими ГКП, в частности с ГКО.

В 4 случаях АКК было проведено FISH-исследование на предмет выявления характерной перестройки гена USP6. Во всех исследованных случаях данная перестройка была обнаружена (Рис. 36, 37). Интересен факт,

что в ядрах гигантских многоядерных клетках перестройка гена USP6 не выявлена, что согласуется с данными других исследователей [47].

Таким образом, АКК это одна из самых частых доброкачественных опухолей костей у детей, составляет 7,32% среди всех опухолей костей и 37,62% среди ГКП костей у детей. Клинический диагноз АКК до этапа морфологического исследования был выставлен только в 27,76% случаев. В 16,43% в клиническом диагнозе фигурировала ГКО. При морфологическом исследовании следует обращать внимание на наличие кистозного компонента (92,21%), преобладание в септах веретеновидных фибробластоподобных клеток и отсутствие признаков клеточной атипии. При иммуногистохимическом исследовании в АКК не обнаруживается экспрессии с антителами к G34W и K36M, при секвенировании по Сенгеру не выявляются мутации генов H3F3A и H3F3B. Важным признаком является наличие перестройки гена USP6 в 70% случаев первичной АКК по данным литературы [15].

4.4 Хондробластома (ХБ).

По нашим данным ХБ встречается редко и составляет 2,7% среди всех опухолей костей у детей и 13,91% среди ГКП. В большинстве случаев локализуется в эпифизах длинных трубчатых костей (92,3% на нашем материале).

Дифференциальная диагностика при ХБ проводится с ГКО, ЦГКГ, АКК, МФД/НОФ и КО (вариант богатый гигантскими многоядерными клетками).

ГКО встречается в старших возрастных группах (на втором и третьем десятилетии жизни), когда закрыты зоны роста. При рентгенологическом исследовании ГКО имеет метафизарно-эпифизарную локализацию, представлена литическим очагом, часто с разрушением кортикального слоя и вовлечением в патологический процесс прилежащих мягких тканей, что не характерно для ХБ. При гистологическом исследовании ГКО состоит из

моноклеарных клеток и гигантских многоядерных клеток, причем ядра обоих клеточных компонентов аналогичны по морфологическим характеристикам. При ХБ гигантские многоядерные клетки располагаются неравномерно, меньших размеров, чем при ГКО. Такие морфологические признаки как хондроидный матрикс, перицеллюлярная кальцификация и продольные бороздки в ядрах неопластических клеток характерны только для ХБ. При иммуногистохимическом исследовании в моноклеарных клетках ГКО не обнаруживается экспрессия K36M, а при секвенировании по Сенгеру нет мутации в гене H3F3B.

АКК тоже содержит гигантоклеточный компонент, причем в трети случаев также можно выявить нежную базофильную кальцификацию (blue bone). Однако, в отличие от ХБ, АКК чаще обнаруживается в зоне метафиза и не распространяется на эпифиз, «вздувает» кость, выходя за ее нормальные анатомические границы, имеет уровни жидкости при МРТ-исследовании. Следует внимательно относиться к случаям выявления признаков АКК с эпифизарной локализацией, так как данные находки могут скрывать ХБ. При цитогенетическом исследовании первичная АКК имеет перестройку USP6 гена в 70% наблюдений.

МФД/НОФ в отличие от ХБ всегда локализуется в метафизах длинных трубчатых костей и располагается кортикально. При больших размерах НОФ возможно вторичное распространение опухоли в медуллярном направлении. При гистологическом исследовании обнаруживается веретенноклеточный компонент с кластерами ксантомных клеток и депозиты гемосидерина. При иммуногистохимическом исследовании в МФД/НОФ не выявляется реакции с K36M.

Для КО характерно поражение метафизов с агрессивными локальными рентгенологическими характеристиками (разрушение кортикального слоя с вовлечением в патологический процесс мягких тканей), а также наличием признаков клеточной атипии и высокой митотической активностью при

морфологическом исследовании, отсутствием экспрессии K36M и мутации H3F3B.

Из 26 случаев ХБ доступных для анализа, в 21 было выполнено иммуногистохимическое исследование с антителами к G34W и K36M. Позитивной реакции с G34W не выявлено ни в одном случае, что позволило провести дифференциальную диагностику с ГКО. Экспрессия K36M на клетках опухоли обнаружена в 20 наблюдениях. У одного пациента 9 лет с поражением левой плечевой кости отрицательная реакция с K36M коррелирует с отсутствием мутаций гена H3F3B (секвенирование по Сенгеру). В данном случае применялись агрессивные методики декальцинации, в результате чего можно предположить утрату иммунореактивности данного материала.

В 16 наблюдениях ХБ было проведено секвенирование по Сенгеру. При этом, в 2 случаях материал был неинформативным. В 8 из 14 случаев (57,14%) была выявлена мутация в 37 кодоне гена H3F3B (Табл. 13). В остальных 6 случаях характерная мутация не обнаружена. Однако, в 4 случаях при отсутствии мутации гена H3F3B, при иммуногистохимическом исследовании была выявлена экспрессия K36M, в одном случае иммуногистохимическое исследование провести не удалось (материал утрачен). Вероятно, данное обстоятельство можно объяснить малым объемом биопсийного материала в этих наблюдениях и попаданием «нормальной» ткани с отсутствием мутации K36M в клетках. Отсутствие экспрессии гистонового белка K36M и мутации H3F3B у одного из пациентов с ХБ левой плечевой кости может быть связано с применением агрессивных методов декальцинации и изначально сниженной иммунореактивностью исследованного материала.

Таким образом, ХБ это доброкачественная опухоль с пиком инцидентности в период от 12 до 18 лет, которая чаще поражает эпифизы длинных трубчатых костей и встречается в 2,7% среди всех опухолей костей у детей. Клинический диагноз ХБ до этапа морфологического исследования

был выставлен в 13 случаях (48,14%). Основными морфологическими характеристиками ХБ являются цитологические характеристики клеток опухоли (овальные клетки, продольная бороздка в ядре), зоны перицеллюлярного обызвествления (chicken wire), хондроидный межклеточный матрикс, низкая или умеренная митотическая активность. При иммуногистохимическом исследовании характерна экспрессия К36М (ядерный локус), при секвенировании по Сенгеру обнаруживается мутация гена H3F3B. В наших наблюдениях данная мутация выявлена в 57,14% случаев. По данным литературы чувствительность секвенирования по Сенгеру материала из парафиновых блоков ниже чем иммуногистохимического исследования, и составляет порядка 70% [140]. При этом, часть исследованного нами материала составили консультативные случаи из других лечебных учреждений, и возможно, имели место погрешности на этапах гистологического процессинга (длительная декальцинация в агрессивных кислотах).

4.5 Метафизарный фиброзный дефект / Неоссифицирующая фиброма (МФД/НОФ).

Анализ собственного материала показал, что МФД/НОФ является одним из самых частых поражений костей у детей и имеет типичные рентгенологические характеристики, подробно описанные еще Ritschl P. et al. [14] в 1988 году. В подавляющем большинстве случаев МФД/НОФ регрессирует со временем и бесследно исчезает без каких-либо врачебных манипуляций. Тем не менее, в наших наблюдениях абсолютно всем пациентам было выполнено хирургическое вмешательство (чаще, кюреттаж), что свидетельствует о низкой осведомленности специалистов лучевой диагностики, хирургов и патологоанатомов в отношении данной патологии у детей. Данное поражение большинством авторов отнесено к группе так называемых «leave me alone lesions» [9].

МФД/НОФ регистрировалась в 5,51% среди всех опухолей костей у детей, и в 28,35% среди группы ГКП по нашим наблюдениям.

Дифференциальную диагностику следует проводить с ГКО, ЦГКГ, АКК и ХБ.

ГКО в отличие от МФД/НОФ обнаруживается в метафизрно-метафизарной зоне, разрушает кортикальный слой, имеет тенденцию к локальному агрессивному поведению. При гистологическом исследовании основным морфологическим компонентом ГКО являются мононуклеарные клетки овальной формы, ядра мононуклеаров в ГКО идентичны по морфологии ядрам многоядерных остеокластоподобных клеток [17]. Однако, в виду того что при ГКО может встречаться веретенклеточный компонент, при отсутствии комплексного анализа локализации опухоли и данных лучевой диагностики, патологоанатомом могут быть допущены диагностические ошибки. При иммуногистохимическом исследовании веретенковидные клетки при МФД/НОФ не экспрессируют G34W, в отличие от ГКО.

ЦГКГ в отличие от МФД/НОФ имеет другую локализацию – в челюстях и костях черепа. При отсутствии комплексного анализа клинической информации при гистологическом исследовании этих образований патологоанатомом могут быть допущены диагностические ошибки, так как морфологическая картина МФД/НОФ и ЦГКГ может быть сходной.

Редко встречается солидный вариант аневризмальной костной кисты (АКК). Чаще локализуется в длинных трубчатых костях. При рентгенологическом исследовании АКК, как правило, в виде литического очага, хорошо ограничена, часто выходит за нормальные анатомические пределы кости, иногда четкая граница с мягкотканым компонентом может утрачиваться. При гистологическом исследовании нет выраженного шториформного паттерна как при МФД/НОФ, обнаруживаются

множественные фокусы реактивного остеогенеза (woven bone). В первичной АКК обнаруживается t(16;17) с перестройкой UPS6 гена.

Дифференциальная диагностика с ХБ не вызывает затруднений при комплексном анализе клинической информации. При иммуногистохимическом исследовании в неопластических клетках ХБ выявляется позитивная реакция с K36M (ядерный локус), чего никогда не бывает при МФД/НОФ. При секвенировании по Сенгеру в ХБ обнаруживается мутация в гене H3F3B.

В 42 случаях МФД/НОФ было проведено иммуногистохимическое исследование с белками G34W и K36M. Позитивных реакций не было получено ни в одном наблюдении. Данные результаты позволяют достоверно исключить ГКО и ХБ среди этих наблюдений.

Таким образом, МФД/НОФ обнаруживается в кортикальном слое метафизов длинных трубчатых костей и чаще в возрастной группе от 12 до 18 лет (60%) имеет характерные признаки при рентгенологическом исследовании и МРТ, в подавляющем большинстве случаев не требует хирургического лечения. При этом клинический диагноз МФД/НОФ до этапа морфологического исследования был выставлен только у 9 пациентов (16,36%), что напрямую свидетельствовало о низком уровне осведомленности о данной патологии. При гистологическом исследовании состоит из вытянутых фибробластоподобных клеток без признаков атипии, кластеров ксантомных клеток и депозитов гемосидерина. При иммуногистохимическом исследовании отсутствует реакция с антителами к G34W и K36M.

4.6 Классическая остеосаркома (КО), гигантоклеточный вариант.

Среди 178 случаев остеосарком у детей и 154 наблюдений КО, гигантоклеточный вариант встретился только у одной пациентки, что свидетельствует о редкости данного гистологического варианта и обуславливает значительные сложности его диагностики.

Дифференциальная диагностика гигантоклеточного варианта КО может основываться на наличии жалоб (нарастающие болевые ощущения, увеличение объема пораженной зоны, отек), признаков локальной агрессивности при инструментальных методах исследования (разрушение кортикального слоя, вовлечение в патологический процесс прилежащих мягких тканей). Выявляются признаки атипии при морфологическом исследовании, высокая митотическая активность, участки формирования патологического остеоида). При иммуногистохимическом исследовании отсутствуют реакции с G34W и K36M.

4.7 Гигантоклеточные поражения костей в рамках синдромов (херувизм, синдром Яффе-Кампаначи).

4.7.1 Херувизм.

Диагноз «херувизм» при комплексном исследовании был выставлен нами у четырех пациентов при условии множественного симметричного поражения верхней и нижней челюсти, морфологическим субстратом которого была ЦГКГ. Как правило, при комплексном анализе и сопоставлении клинической информации, инструментальных методов диагностики (рентгеновское исследование, КТ/МРТ) и сопоставлении последних с морфологической картиной заболевания (ЦГКГ), всегда удается выставить данный диагноз.

Дифференциальный диагноз не представляет сложностей при условии комплексного анализа клинической информации, локализации и симметричности поражения. Морфологическая картина идентична ЦГКГ. При иммуногистохимическом исследовании не выявляется экспрессия G34W и K36M.

4.7.2 Синдром Яффе-Кампаначи.

Синдром Яффе-Кампаначи – редкое заболевание, характеризующееся множественным поражением костей (НОФ), пятнами на коже (*café-au-lait spots*), чаще в сочетании с клиническими проявлениями нейрофиброматоза 1 типа [9; 115]. В рамках данной работы мы наблюдали одного пациента с синдромом Яффе-Кампаначи.

Сложности диагностики заключались в редкости данной патологии, отсутствии комплексного анализа (анамнез, возраст пациента, особенности оценки инструментальных данных и сопоставлении этих признаков с морфологической картиной заболевания). В данном случае выяснение анамнеза позволило заподозрить наследственный характер патологии (клинические проявления нейрофиброматоза 1 типа у матери в течение нескольких лет), начало заболевания у ребенка с 1,5-2 летнего возраста (появление множественных кофейных пятен на коже), мягкотканное образование правой затылочной области, парциальный гигантизм правой стопы, кортикальный эксцентричный литический очаг в проксимальном метафизе правой большеберцовой кости и наличие рецидивирующих патологических переломов левой плечевой кости. При морфологическом исследовании материала полученного при ревизии литических очагов левой плечевой кости, патологические изменения соответствовали НОФ. Вышеуказанный комплекс симптомов послужил поводом для проведения поиска патогенных мутаций, ассоциированных с нейрофиброматозом, а также наследственными заболеваниями со сходными фенотипическими проявлениями. При этом была обнаружена гетерозиготная мутация в гене NF1 (экзон 9, chr17:29528053A>G, rs1060500358), приводящая к нарушению канонического сайта сплайсинга (c.1063-2A>G, NM_001042492.2), что подтвердило диагноз синдрома Яффе-Кампаначи в рамках семейного нейрофиброматоза 1 типа. Интересным является тот факт, что данная мутация не была зарегистрирована в контрольных выборках «1000 геномов», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium (ExAC).

Дифференциальную диагностику данного синдрома следует проводить с другими представителями группы ГКП костей у детей, прежде всего МФД/НОФ. Однако, в спорадических случаях МФД/НОФ чаще всего являются солитарным поражением (множественный характер – 2 очага наблюдался только у одного пациента – 1,81%) и встречается в более старших возрастных группах с наибольшим количеством наблюдений у детей от 12 до 18 лет (60% по нашим данным), а клинические проявления синдрома Яффе-Кампаначи регистрируются в младших возрастных группах. Стоит отметить особенности локализации патологического процесса. Так, МФД/НОФ всегда выявлялись в зоне метафизов с вторичным вовлечением медуллярного канала при условии большого объема патологического очага, редко сопровождалась патологическим переломом (10,9%). При синдроме Яффе-Кампаначи патологический очаг, как правило, не ограничивается только метафизарной зоной, а распространяется на диафиз длинных трубчатых костей.

Нами было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами G34W и K36M, позитивных реакций обнаружено не было, что позволило провести дифференциальную диагностику с такими ГКП костей у детей как ГКО и ХБ. Следует также отметить, что данные опухоли не встречались в данной возрастной группе и имели другую локализацию (ХБ – эпифиз длинных трубчатых костей, ГКО – эпифизарно-метафизарная зона) и характерные морфологические особенности строения (Табл. 20).

4.8 Заключение.

Проведенные исследования показали, что ГКП костей у детей имеют сходные характеристики при морфологическом исследовании, в результате чего могут быть причиной диагностических ошибок. Все представители данной группы состоят из двух основных клеточных компонентов – клеток опухоли и гигантских многоядерных клеток в различных сочетаниях. Клетки опухоли могут быть представлены моноклеарами (ГКО, ХБ) или

ветереновидными клетками (АКК, ЦГКГ, МФД/НОФ). В большинстве случаев в различных полях зрения можно обнаружить сочетание клеток с морфологией мононуклеаров и вытянутых веретеновидных клеток. Присутствие гигантских многоядерных клеток обуславливает основной литический потенциал данной группы опухолей и делает различные образования морфологически схожими или идентичными.

Интересным фактом является то что гигантские многоядерные клетки не являются субстратом опухоли в ГКП костей у детей. Их присутствие в ткани опухоли обусловлено продукцией определенных цитокинов клетками опухоли и привлечением циркулирующих моноцитов в патологический очаг с последующим формированием гигантских многоядерных клеток. Доказательством их «вторичности» в опухоли является то что ни мы, ни другие исследователи не обнаружили в них экспрессии гистоновых белков G34W (ГКО) и K36M (ХБ), перестройки гена USP6 (АКК), а также мутаций H3F3A (ГКО) и H3F3B (ХБ).

В процессе работы был использован комплексный междисциплинарный подход, что легло в основу дифференциальной диагностики ГКП костей у детей. Так например, было показано, что ГКО у детей встречается очень редко (3,09% среди всех ГКП и 0,6% среди всех опухолей костей у детей), только в старшей возрастной группе (13-18 лет), среди пациентов значительно преобладают девочки (соотношение 1:6), при этом никогда не локализуется в челюстях и костях черепа. При этом, на долю ГКО у взрослых приходится порядка 5% в структуре всех опухолей костей и 20% среди доброкачественных новообразований костей [119, 132]. Напротив, ЦГКГ локализуется исключительно в челюстях и костях черепа и обнаруживается у детей в возрасте от 5 до 17 лет. Излюбленной локализацией для ХБ являются эпифизы длинных трубчатых костей, пик инцидентности отмечается в возрастной группе от 12 до 18 лет. МФД/НОФ встречаются преимущественно в возрастной группе от 12 до 18 лет (60%) в метафизах длинных трубчатых костей.

ГКП костей у детей имеют много общего при инструментальных методах исследования (литический очаг). Однако существуют и отличительные особенности. Например, ГКО представлена эксцентричным литическим очагом в метафизарно-эпифизарной зоне с разрушением кортикального слоя, АКК хорошо ограниченное поражение в метафизарной зоне с наличием септированности, «вздуванием» кости, МФД/НОФ всегда располагается в кортикальном слое метафизов длинных трубчатых костей.

Несмотря на схожие гистологические характеристики ГКП при морфологическом исследовании существуют признаки, более характерные для той или иной опухоли. Так, при ГКО морфология ядер моноклеаров идентична таковой в гигантских многоядерных клетках, в ядрах клеток ХБ есть продольные бороздки и в трети случаев присутствуют элементы перицеллюлярного обызвествления (chicken wire), в АКК в трети случаев удается обнаружить струтктуры blue bone, в ЦГКГ гигантские многоядерные клетки располагаются кластерами в зонах кровоизлияний, в МФД/НОФ веретенноклеточный компонент строит шториформный паттерн и присутствуют кластеры ксантомных клеток и т.д.

Важным диагностическим инструментом для дифференциальной диагностики ГКП у детей послужило применение высокоспецифичных антител к G34W и K36M. В последних немногочисленных работах была показана их высокая диагностическая ценность и специфичность у взрослых при ГКО и ХБ [121; 139]. Ввиду того что чувствительность секвенирования по Сенгеру при обнаружении специфических мутаций для ГКО и ХБ не превышает 69% и 70% соответственно [140], а доступность секвенирования в практической работе ограничена, данные антитела могут быть рекомендованы в практической работе патологоанатомов. Высокая диагностическая ценность иммуногистохимического исследования с антителами к G34W и K36M заключается также в том, что позитивные реакции выявляются не только в зонах с «типичной» гистологической картиной ГКО или ХБ, а также в зонах вторичной АКК при данных

опухолях. Данное обстоятельство может быть решающим в морфологической диагностике при малых объемах диагностического материала и в отсутствии в материале гистологических признаков, характерных для ГКО и ХБ (Рис. 14, 15).

В итоге, после комплексного анализа 194 случаев ГКП костей у детей (возраст, локализация поражения, данные лучевой диагностики, морфологическая картина опухоли), применения иммуногистохимического исследования с антителами к G34W и K36M, секвенирования по Сенгеру и FISH-исследования на предмет перестройки гена USP6, 15 диагнозов были изменены (7,73%). Наибольшее количество изменений диагнозов было в группе детей с ГКО (изначально документировано 19, подтверждено 6), что свидетельствует о редкости данной патологии у детей и сложностях ее морфологической диагностики.

Таким образом, дифференциальная диагностика ГКП костей у детей представляет большие сложности и возможна только с применением комплексного клинико-морфологического анализа (клиническая информация, данные рентгенологических методов исследования и МРТ, гистологическое и иммуногистохимическое исследование (G34W и K36M), секвенирование по Сенгеру и FISH-исследование на предмет перестройки гена USP6).

Выводы.

1. Несмотря на общепринятые критерии дифференциальной диагностики ГКП у детей имеют много общего при гистологическом исследовании, что влечет за собой большое количество диагностических ошибок.
2. ГКО у детей встречается крайне редко (0,6% в структуре всех ГКП костей у детей по нашим данным), при этом только в возрастном интервале от 13 до 18 лет.
3. Морфологическим субстратом при ГКО, несмотря на формальное название нозологической единицы, являются моноклеарные клетки круглой, овальной или вытянутой формы, с круглым или овальным ядром и мелким ядрышком. По морфологическим характеристикам ядра моноклеарных клеток были сходными с ядрами гигантских многоядерных клеток. В половине случаев ГКО у детей обнаруживались участки веретеночеточного строения клеток опухоли. В 1 случае был диагностирован метастаз в легкие.
4. ЦГКГ у детей состоит из веретеновидных клеток с вытянутыми ядрами. В большинстве случаев (77,27%) выявлялись депозиты гемосидерина (являются характерной, но не постоянной гистологической особенностью). Митотическая активность была низкой или достоверно не определялась во всех анализируемых случаях. В случаях херувизма морфологическим субстратом опухоли является ЦГКГ.
5. При морфологическом исследовании АКК следует обращать внимание на наличие кистозного компонента (92,21%), преобладание в септах веретеночеточных фибробластоподобных клеток и отсутствие признаков клеточной атипии.

6. Основными морфологическими характеристиками ХБ являются цитологические характеристики клеток опухоли (овальные клетки, продольная бороздка в ядре), зоны перичеселлюлярного обызвествления (chicken wire), хондроидный межклеточный матрикс, низкая или умеренная митотическая активность.
7. МФД/НОФ при гистологическом исследовании состоит из вытянутых фибробластоподобных клеток без признаков атипии, кластеров ксантомных клеток и депозитов гемосидерина. При синдроме Яффе-Кампаначи морфологическим субстратом поражения является НОФ.
8. В случае КО (гигантоклеточный вариант) выявляются признаки инвазивного роста и клеточной атипии при морфологическом исследовании, высокая митотическая активность (более 10 митозов на 10 полей зрения при увеличении микроскопа x400), участки формирования патологического остеοидного межклеточного матрикса.
9. Гигантские многоядерные клетки при всех ГКП у детей не являются субстратом опухоли, не несут на себе экспрессии характерных гистоновых белков (G34W и K36M) и не содержат специфических мутаций, являясь таким образом всего лишь элементом «реактивного» клеточного микроокружения.
10. В клетках вторичной аневризмальной костной кисты при ГКО и ХБ, экспрессируются гистоновые белки G34W и K36M. Данное обстоятельство может быть полезным в целях дифференциальной диагностики ГКП у детей при малом объеме биопсии в сложных диагностических случаях.

11. Результаты секвенирования по Сенгеру показали корреляцию выявленных мутаций H3F3A и H3F3B с иммуногистохимически определяемой экспрессией соответствующих гистоновых белков G34W и K36M. Следовательно, данные антитела могут быть рекомендованы для рутинной диагностики ГКО и ХБ у детей в практической работе патологоанатомов.
12. Метод секвенирования ДНК является основным для поиска мутаций при диагностике ГКП при различных синдромах у детей.
13. Разработаны новые информативные критерии дифференциальной диагностики ГКП у детей на основе комплексного клинико-морфологического подхода, особенностей морфологической картины, результатов иммуногистохимического исследования (G34W и K36M), секвенирования по Сенгеру и FISH-исследования (USP6) (суммированы в Табл. 20).
14. ГКП костей у детей должны дифференцироваться между собой только путем мультидисциплинарного подхода (клинические данные, лучевая диагностика, морфология, иммуногистохимия (G34W и K36M), при необходимости – секвенирование по Сенгеру и FISH).

Практические рекомендации.

1. Точность морфологического диагноза значительно возрастает при комплексном анализе информации (клинические данные, лучевая диагностика, морфология, иммуногистохимия (G34W и K36M), при необходимости – секвенирование по Сенгеру и FISH-исследование).
2. Так как гигантские многоядерные клетки при ГКП костей у детей являются элементом реактивного микроокружения, следует обращать внимание на морфологические характеристики и иммунофенотип клеток, составляющих субстрат опухоли (мононуклеары, веретеновидные клетки).
3. В практической работе патологоанатомов применение антител к гистоновым белкам (G34W и K36M) может быть решающим в дифференциальной диагностике ГКО и ХБ с другими представителями ГКП, особенно, при малых объемах диагностического материала.
4. Разработанные критерии дифференциальной диагностики ГКП костей у детей могут быть легко применимы в практической работе не только патологоанатомов, но и ортопедов, хирургов, онкологов и рентгенологов.

Список сокращений.

ГКП – гигантоклеточные поражения

ГКО – гигантоклеточная опухоль

ЦГКГ – центральная гигантоклеточная гранулема

АКК – аневризмальная костная киста

ХБ – хондробластома

МФД – метафизарный фиброзный дефект

НОФ – неоссифицирующая фиброма

КО – классическая остеосаркома

Публикации по теме диссертации.

1. Rogozhin D.V., Bolotin M.V., Kisliakov A.N., Ektova A.P., Konovalov D.M., Boulytcheva I.V. Juvenile ossifying fibroma, problems in differential diagnosis // 10th Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS) Meeting. Melbourne, Australia. – 9-11 Apr. 2014.
2. D. Rogozhin, I. Boulytcheva, N. Kushlinskiy, A. Talalaev, D. Konovalov, A. Ektova, V. Roshin, D. Abramov, A. Mitrofanova. Analysis of the bone tumors in children. Virchov Archiv // 26th European Congress of Pathology. London. – 2014. – P. S196.
3. D.V. Rogozhin, I.V Boulytcheva, A. P. Ektova, M.V. Bolotin, D.M. Konovalov, A.G. Talalaev, V.Y. Roshin, A.V. Lopatin. Analysis of the skull bone tumors in children and adolescents // 27th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society (E.M.S.O.S.). Vienna, Austria – 21-23 May 2014.
4. Рогожин Д.В., Булычева И.В. Ювенильная оссифицирующая фиброма у детей. Особенности дифференциальной диагностики. // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2014. – №1. – С. 70-73 – УДК: 616.091.8.
5. Рогожин Д.В., Булычева И.В., Талалаев А.Г., Коновалов Д.М, Эктова А.П., Рощин В.Ю. Опухоли и опухолеподобные поражения костей у детей и подростков. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №8. – С. 66-70. – УДК 616-006.34.
6. Рогожин Д.В., Булычева И.В., Кушлинский Н.Е., Соловьев Ю.Н., Bertoni F., Vacchini P., Казакова А.Н. Семинар по костной патологии. Классическая остеосаркома. Новое или хорошо забытое старое? // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2014. – №1. – С. 9-18. – УДК: 616-006.36.
7. Бабкина И.В., Тимофеев Ю.С., Тен Е.А., Рогожин Д.В., Соловьев Ю.Н., Руссо Е.Ю., Кадагидзе З.Г. Интерлейкин 16 в сыворотке крови больных

с новообразованиями костей. // Молекулярная медицина. – 2014. – №4. – С. 40-43. – УДК 616.71-006.04-078.33.

8. Бабкина И.В., Тимофеев Ю.С., Кузнецов И.Н., Рогожин Д.В., Руссо Е.Ю., Кадагидзе З.Г., Соловьев Ю.Н. Интерлейкины в сыворотке крови больных новообразованиями костей. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №8. – С. 23-28. – УДК 616-006.34:616.15-078:577.12.08.
9. Rogozhin D.V., Konovalov D.M., Bolotin M.V., Lopatin A.V., Boulytcheva I.V., Roshin V.Yu., Talalaev A.G., Kugushev A.Yu. Fibrous Displasia of Craniofacial Area in Children and Adolescents // 28th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society. Athens, Greece. – 29 April - 1 May 2015.
10. Rogozhin D.V., Konovalov D.M., Bolotin M.V., Lopatin A.V., Boulytcheva I.V., Roshin V.Yu., Ektova A.P., Kuzin A.S., Talalaev A.G. The spectrum of bone Giant Cell Lesions in Children and Adolescents // 28th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society. Athens, Greece. – 29 April - 1 May 2015.
11. Rogozhin D.V., Konovalov D.M., Roshin V.Yu., Bolotin M.V., Lopatin A.V., Boulytcheva I.V., Talalaev A.G. Melanotic Neuroectodermal Tumour of Infancy, analysis of 5 cases // 28th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society. Athens, Greece. – 29 April - 1 May 2015.
12. Rogozhin D.V., Kugushev A.Yu., Konovalov D.M., Roshin V.Yu., Bolotin M.V., Lopatin A.V., Boulytcheva I.V., Talalaev A.G. A case of hemangioma of the frontal bone in a female teenager // 28th Annual Meeting of the European Musculo-Skeletal Oncology Society. Athens, Greece. – 29 April - 1 May 2015.
13. Rogozhin D.V., Konovalov D.M., Michael J. Klein, Abramov D.S. The case of primary histiocytic/dendritic cell tumour of vertebra in a teenager. // The International Skeletal Society Meeting. Grand Wailea – A Waldorf Astoria Resort Maui, Hawaii, USA. – 2015.

14. Рогожин Д.В., Булычева И.В., Кушлинский Н.Е., Коновалов Д.М., Талалаев А.Г., Рошин В.Ю., Эктова А.П., Кушнир Б.Л., Кузин А.С., Бологов А.А. Остеохондрома у детей и подростков. // Архив патологии. – 2015. – 77(3). – С. 37-40. – УДК 616.71-006.33-053.2. doi 10.17116/patol201577337-40.
15. Rogozhin D.V., Bertoni F., Vanel D., Gambarotti M., Righi A., Boulytcheva I.V., Konovalov D.M., Talalaev A.G., Roshin V.Y., Ektova A.P., Bolotin M.V., Lopatin A.V. Benign Fibro-Osseous Lesions of the Craniofacial Area in Children and Adolescents: A Review. // Архив патологии. – 2015. – 77(4). – С. 63-70.
16. Rogozhin DV, Konovalov DM, Vanel D, Campanacci L, Boulytcheva IV, Talalaev AG, Roshin VY, Ektova AP, Bogorodickiy YS, Skapenkov IN and Strikov VA. Malignant solitary fibrous tumor of the sacrum: A case report. // J Cancer Res Ther. – 2015. – 3(4). – P. 52-55.
17. Рогожин Д.В., Коновалов Д.М., Козлов А.С., Талалаев А.Г., Эктова А.П. Неоссифицирующая фиброма (метафизарный фиброзный дефект). // Архив патологии. – 2016. – 78(2). – С. 36-40. – УДК 616.71-006.327.03-053.2-07-091.8. doi 10.17116/patol201678236-40.
18. Рогожин Д.В., Коновалов Д.М., Талалаев А.Г., Рошин В.Ю., Большаков Н.А., Тихонова М.В., Ремизов А.Н. Центральная остеосаркома с низким злокачественным потенциалом. Обзор литературы. // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2016 – №3. – С. 16-21. – УДК 616.71-006-089.23
19. Рогожин Д.В., Коновалов Д.М., Большаков Н.А., Талалаев А.Г., Козлов А.С., Кузин А.С. Аневризмальная костная киста у детей и подростков. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2017. – № 2. – Т.16. – С. 33-39. – Doi 10/24287/1726-1708-2017-0-0-0-0.

Список литературы:

1. Блудов А.Б., Неред А.С., Замогильная Я.А., Кочергина Н.В. Гигантоклеточная опухоль кости. // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2014. – №1. – С. 16-34.
2. Григоровский В.В. Гигантоклеточная опухоль кости: морфогенез, клинико-морфологические особенности, дифференциальная диагностика, подходы к лечению. // Онкология (Киев). – 2012. – Т.14. – №1. – С. 64-76.
3. Егоренков В.В. Пограничные и доброкачественные опухоли костей.// Практическая онкология. – 2010. – т.11. – №1. – С. 37-44. – ББК Р569.481.
4. Берченко Г.Н., Морозов А.К., Семенова Л.А., Франтов А.Р. Диагностика гигантоклеточной репаративной гранулемы костей кистей и стоп. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2001. – С. 87-92.
5. Обухова Л.А., Чевагина Н.Н. Анатомия человека. Система скелета и соединения костей. // Учебно-методическое пособие. Новосибирск. – 2012. – С. 9-10. – УДК 611.71/72. ББК 28.86.
6. Рогожин Д.В., Булычева И.В., Талалаев А.Г., Коновалов Д.М., Эктова А.П., Рощин В.Ю. Опухоли и опухолеподобные поражения костей у детей и подростков. // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №8. – С. 66-71.
7. Рогожин Д.В., Булычева И.В., Кушлинский Н.Е., Соловьев Ю.Н., Бертони Ф., Бачини П., Казакова А.Н. Семинар по костной патологии. Классическая остеосаркома. Новое или хорошо забытое старое? // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2014. – №2. – С. 9-18.
8. Кушлинский Н.Е., Зуев А.А., Тимофеев Ю.С. Экспериментальные и клинические исследования системы RANK/RANKL/OPG при

- метастатических опухолях костей. // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №8. – С. 3-12.
9. Picci P., Manfrini M., Fabbri N., Gambarotti M., Vanel D. Atlas of Musculoskeletal Tumors and Tumorlike Lesions // The Rizzoli Case Archive. – 2014. – P. 21-26, 45-50, 95-97.
 10. Leah M. Bowers, Donald M. Cohen, Indraneel Bhattacharyya, James C. Pettigrew Jr., Mary F. Stavropoulos. The Non-ossifying Fibroma: A Case Report and Review of the Literature // Head and Neck Pathol. – 2013. – 7:203–210 DOI 10.1007/s12105-012-0399-7.
 11. Campanacci M., Laus M., Boriani S. Multiple Non-Ossifying Fibromata with extraskeletal anomalies: a new syndrome? // British Editorial Society of Bone and Joint surgery. – Vol. 1983. – №5. – November – P.65-B.
 12. Stéphane Cherix, Yann Bildé, Fabio Becce, Igor Letovanec and Hannes A Rüdiger. Multiple non-ossifying fibromas as a cause of pathological femoral fracture in Jaffe-Campanacci syndrome. // Cherix et al. BMC Musculoskeletal Disorders. – 2014. – 15. – P.218.
 13. Marcin Błaż, Piotr Palczewski, Jan Świątkowski, Marek Gołębiowski. Cortical fibrous defects and non-ossifying fibromas in children and young adults: The analysis of radiological features in 28 cases and a review of literature // Pol J Radiol. – 2011. – 76(4). – P. 32-39.
 14. P. Ritschl, F. Karnel, P. Hajek. Fibrous metaphyseal defects – determination of their origin and natural history using a radiomorphological study // Skeletal Radiol. – 1988. – 17:8-15.
 15. Christopher D.M. Fletcher, Julia A. Bridge, Pancras C.W. Hogendoorn, Fredrik Mertens // WHO Classification of Tumors of Soft Tissue and Bone. 4th Edition. – 2013. – P. 302-304, 281-296.
 16. K. Krishnan Unni, Carrie Y. Inwards // Dahlin's Bone Tumors. – 2010. – P.310-316, 122-154.

- 17.G. Petur Nielsen, Andrew E. Rosenberg, Vikram Deshpande, Francis J. Hornicek, Susan V. Kattapuram, Daniel I. Rosenthal // Diagnostic Pathology Bone. – 2013. – P. 5-2 – 5-7, P. 2-2 – 2-21.
18. Michael Kuriakos, William A. Murphy. Concurrence of Metaphyseal Fibrous Defect and Osteosarcoma // Skeletal Radiol. – 1981. – 6. – P. 179-186.
- 19.Lisa Mirabello, Rebecca J. Troisi, Sharon A. Savage. International osteosarcoma incidence patterns in children and adolescents, middle ages, and elderly persons // Int J Cancer. – 2009 July 1. – P. 125(1).
- 20.Kosei Ando, Marie-Françoise Heymann, Verena Stresing, Kanji Mori, Françoise Rédini, Dominique Heymann. Current Therapeutic Strategies and Novel Approaches in Osteosarcoma // Cancers. – 2013. – 5. – P. 591-616.
- 21.Jennifer Worch, MD, Katherine K. Matthay, MD, John Neuhaus, PhD, Robert Goldsby, MD, and Steven G. DuBois, MD. Osteosarcoma in Children 5 Years of Age or Younger at Initial Diagnosis // Pediatr Blood Cancer. – 2010 August. – 55(2). – P. 285–289.
- 22.Lisa Mirabello, Ruth Pfeiffer, Gwen Murphy, Najat C. Daw, Ana Patiño-Garcia, Rebecca J. Troisi, Robert N. Hoover, Chester Douglass, Joachim Schüz, Alan W. Craft, and Sharon A. Savage. Height at diagnosis and birth-weight as risk factors for osteosarcoma // Cancer Causes Control. – 2011 June. – 22(6). – P. 899–908.
- 23.Carola A. S. Arndt, MD; Peter S. Rose, MD; Andrew L. Folpe, MD; and Nadia N. Laack, MD, MS. Common Musculoskeletal Tumors of Childhood and Adolescence // MayoClinProc. – 2012. – 87(5). – P. 475-487.
- 24.George T. Calvert, R. Lor Randall, Kevin B. Jones, Lisa Cannon-Albright, Stephen Lessnick, Joshua D. Schiffman. Review Article. At-Risk Populations for Osteosarcoma: The Syndromes and Beyond // Hindawi Publishing Corporation Sarcoma Volume. – 2012. – Article ID 152382, P. 9.

25. Lisa Mirabello, Rebecca J. Troisi, Sharon A. Savage. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: Data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program // *Cancer*. – 2009 April 1. – 115(7). – P. 1531–1543.
26. S Wang, H Shi, Q Yu. Osteosarcoma of the jaws: demographic and CT imaging features // *Dentomaxillofacial Radiology*. – 2012. – 41. – P. 37–42.
27. Maud AM Guillon, Pierre MJ Mary, Laurence Brugière, Perrine Marec-Bérard, Hélène D Pacquement, Claudine Schmitt, Jean-Marc Guinebretière, Marie-Dominique P Tabone. Clinical characteristics and prognosis of osteosarcoma in young children: a retrospective series of 15 cases. Guillon et al // *BMC Cancer*. – 2011. – 11. – P. 407.
28. Carola A. S. Arndt, MD; Peter S. Rose, MD; Andrew L. Folpe, MD; and Nadia N. Laack, MD, MS. Common Musculoskeletal Tumors of Childhood and Adolescence // *MayoClinProc*. – 2012. – 87(5). – P. 475-487.
29. Atsushi Okada, Masahito Hatori, Masami Hosaka, Munenori Watanuki, Eiji Itoi. Secondary osteosarcoma arising after treatment for childhood hematologic malignancies // *Upsala Journal of Medical Sciences*. – 2009. – 114. – P. 249–255.
30. Pooja Hingorani, MD, Kristy Seidel, MD, Mark Krailo, MD, Leo Mascarenhas, MD, Paul Meyers, MD, Neyssa Marina, MD, Ernest U. Conrad, and Douglas S. Hawkins, MD. Body Mass Index (BMI) at Diagnosis is Associated With Surgical Wound Complications in Patients With Localized Osteosarcoma: A Report From the Children's Oncology Group // *Pediatr Blood Cancer*. – 2011 December 1. – 57(6). – P. 939–942.
31. Tale Barøy, Stine H Kressel, Magne Skårn, Marianne Stabell, Russell Castro, Silje Lauvrak, Antonio Llombart-Bosch, Ola Myklebost and Leonardo A Meza-Zepeda. Reexpression of LSAMP inhibits tumor growth in a preclinical osteosarcoma model // *Mol. Cancer*. – 2014. – 13. – P. 93.
32. John Lammi, Minyan Fan, Howard G. Rosenthal, Meghan Patni, Elizabeth Rinehart, Gerardo Vergara, Elizabeth Ablah, Paul H. Wooley, George

- Lucas, Shang-You Yang. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor correlates with the advance of clinical osteosarcoma // International Orthopaedics (SICOT). – 2012. – 36. – P. 2307–2313.
- 33.Sverre Heim, Felix Mitelman // Cancer Cytogenetics, Third Edition. – 2009. – P. 683-685.
- 34.Hiroshi Urakawa, Satoshi Tsukushi, Issei Tsurudome, Akihiro Hirata, Eisuke Arai, Eiji Kozawa, Naohisa Futamura, Ryoji Miyahara, Naoki Ishiguro and Yoshihiro Nishida. Metastasis of osteosarcoma to stomach made clinically evident by hematemesis: a case report. Urakawa et al // World Journal of Surgical Oncology. – 2013. – 11. – P. 48.
- 35.Phillip A Letourneau, MD, Lianchun Xiao, MS, Matthew T Harting, MD, Kevin P Lally, MD, Charles S. Cox Jr., MD, Richard J Andrassy, MD, and Andrea A Hayes-Jordan, MD. Location of Pulmonary Metastasis in Pediatric Osteosarcoma is Predictive of Outcome // J Pediatr Surg. – 2011 July. – 46(7). – P. 1333–1337.
- 36.Rajaram Nagarajan, MD, MS, Anmmd Kamruzzaman, MSc, Kirsten K. Ness, PhD, PT, Victoria G. Marchese, PhD, PT, Charles Sklar, MD, Ann Mertens, Ph.D, Yutaka Yasui, Ph.D., Leslie L. Robison, Ph.D., and Neyssa Marina, MD. Twenty Years of Follow-Up of Survivors of Childhood Osteosarcoma: A Report from the Childhood Cancer Survivor Study (CCSS) // Cancer. – 2011 February 1. – 117(3).
- 37.Xin Li, Adedayo O. Ashana, Vincent M. Moretti, Richard D. Lackman. The relation of tumor necrosis and survival in patients with osteosarcoma // International Orthopaedics (SICOT). – 2011. – 35. – P. 1847–1853.
- 38.Shishir Rastogi, Ramakant Kumar, Sukesh Rao Sankineani, Kanniraj Marimuthu, Laxman Rijal, Shyam Prakash, Divesh Jalan, Shah Alam Khan, Mehar C. Sharma. Role of vascular endothelial growth factor as a tumour marker in osteosarcoma: a prospective study // International Orthopaedics (SICOT). – 2012. – 36. – P. 2315–2321.

39. Carlos E. de Andrea, Antonio Sergio Petrilli, Reynaldo Jesus-Garcia, Luiz F. Bleggi-Torres, Maria Teresa S. Alves. Large and round tumor nuclei in osteosarcoma: good clinical outcome // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2011. –4(2). – P. 169-174.
40. Michael S. Isakoff, Donald A. Barkauskas, David Ebb, Carol Morris, G. Douglas Letson. Poor Survival for Osteosarcoma of the Pelvis. A Report from the Children's Oncology Group // *Clin Orthop Relat Res.* – 2012. – 470. – P. 2007–2013.
41. Xing Wu, Biao Cheng, Zheng-dong Cai and Lie-ming Lou. Determination of the apoptotic index in osteosarcoma tissue and its relationship with patients prognosis // *Cancer Cell International.* – 2013. – 13. – P.56.
42. David N. Hakim a, Theo Pelly b, Myutan Kulendran c, Jochem A. Caris. Benign tumours of the bone: A review // *Journal of Bone Oncology.* – 2015. – 4. – P. 37–41.
43. Radu Radulescu, Adrian Badila, Robert Manolescu, Maria Sajin, Ion Japie. Aneurysmal bone cyst – clinical and morphological aspects // *Rom J Morphol Embryol.* – 2014. – 55(3). – P. 977–981.
44. Jaffe HL, Lichtenstein L, Solitary unicameral bone cyst: with emphasis on the Roentgen picture, the pathologic appearance and the pathogenesis, *Arch Surg.* – 1942. – 44(6). – P. 1004–1025.
45. Andrew L. Folpe, Carrie Y. Inwards. Bone and Soft Tissue Pathology // A volume in the series “Foundation in Diagnostic Pathology”. – 2010. – P. 428, P. 401-7.
46. C.S.V. Subramaniam, P.F. Mathias. Aneurysmal bone cyst // *The journal of bone and joint surgery.* – 1962. – vol. 44 B, No. 1. – P. 93-101.
47. Andre M. Oliveira, Antonio R. Perez-Atayde, Carrie Y. Inwards, Fabiola Medeiros, Victoria Derr, Bae-Li Hsi, Mark C. Gebhardt, Andrew E. Rosenberg, and Jonathan A. Fletcher. USP6 and CDH11 Oncogenes Identify the Neoplastic Cell in Primary Aneurysmal Bone Cysts and Are Absent in

- So-Called Secondary Aneurysmal Bone Cysts // American Journal of Pathology. – November 2004. – Vol. 165, No. 5. – P. 1773-80.
48. Panoutsakopoulos G, Pandis N, Kyriazoglou I, Gustafson P, Mertens F, Mandahl N: Recurrent t(16;17)(q22;p13) in aneurysmal bone cysts // Genes Chromosomes Cancer. – 1999. – 26. – P. 265–266.
 49. Narasimhan P Agaram, Francois V LeLoarer, Lei Zhang, Sinchun Hwang, Edward A Athanasian, Meera Hameed, and Cristina R Antonescu. USP6 Gene Rearrangements Occur Preferentially in Giant Cell Reparative Granulomas of the Hands and Feet but not in Gnathic Location // Hum Pathol. – 2014 June. – 45(6). – P. 1147–1152. – doi:10.1016/j.humpath.2014.01.020.
 50. N. G. Sanerkin, MD, FRCPE, M. G. Mott, MB, CHB, MRCP, and J. Roylance, MB, CHB, FRCR. An Unusual Intraosseous Lesion with Fibroblastic, Osteoclastic, Osteoblastic, Aneurysmal and Fibromyxoid Elements. “Solid” Variant of Aneurysmal Bone Cyst // Cancer. – 1983. – 51. – P. 2278-2286.
 51. David C. Dahkin. Giant-cell tumor of vertebrae above the sacrum. A review of 31 cases // Cancer. – 1977. – 39. – P. 1350-1356.
 52. Addy C. M. van de Luijtgaarden, Rene P. H. Veth, Piet J. Slootweg, Pauline M. Wijers-Koster, Leo J. Schultze Kool, Judith V. M. G. Bovee, Winette T. A. van der Graaf. Metastatic potential of an aneurysmal bone cyst // Virchows Arch. – 2009. – 455. – P. 455–459. DOI 10.1007/s00428-009-0845-4.
 53. Mehmet Zileli, Hasan Serdar Isik, Fatih Ersay Ogut, Merih Is, Sedat Cagli, Cem Calli. Aneurysmal bone cysts of the spine // Eur Spine J. – 2013. – 22. – P. 593–601. DOI 10.1007/s00586-012-2510-x.
 54. L. Amendola, L. Simonetti, C. E. Simoes, S. Bandiera, F. De Iure, S. Boriani. Aneurysmal bone cyst of the mobile spine: the therapeutic role of embolization // Eur Spine J. – 2013. – 22. – P. 533–541. DOI 10.1007/s00586-012-2566-7.

55. Eduardo N. Novais, Amy K. Zimmerman, Laura W. Lewallen, Peter S. Rose, Franklin H. Sim, Amy L. McIntosh. Functional outcomes and quality of life following surgical treatment of aneurysmal bone cysts of the pelvis in children // *J Child Orthop.* – 2014. – 8. – P. 281–288. DOI 10.1007/s11832-014-0588-x.
56. Cyril Jacquot, Jadwiga Szymanska, Lakshmi J. Nemana, Lynne S. Steinbach, Andrew E. Horvai. Soft-tissue aneurysmal bone cyst with translocation t(17;17) (p13;q21) corresponding to COL1A1 and USP6 loci // *Skeletal Radiol.* – 2015. – 44. – P. 1695–1699. DOI 10.1007/s00256-015-2205-6.
57. Adam D. Singer, Abhijit Datir, Jonathan Tresley, Travis Langley, Paul D. Clifford, Jean Jose, Ty K. Subhawong. Benign and malignant tumors of the foot and ankle // *Skeletal Radiol.* – 2016. – 45. – P. 287–305. DOI 10.1007/s00256-015-2278-2.
58. Connie Y. Chang, Susan V. Kattapuram, Ambrose J. Huang, F. Joseph Simeone, Martin Torriani, Miriam A. Bredella. Treatment of aneurysmal bone cysts by percutaneous CT-guided injection of calcitonin and steroid // *Skeletal Radiol.* – Oct. 2016. – on-line. DOI 10.1007/s00256-016-2503-7.
59. Hongtao Hu, Jianxin Wu, Liang Ren, Xianze Sun, Feng Li, Xiaojian Ye. Destructive osteoblastoma with secondary aneurysmal bone cyst of cervical vertebra in an 11-year-old boy: case report // *Int J Clin Exp Med.* – 2014. – 7(1). – P. 290-295.
60. Juntang Guo and Chaoyang Liang. A giant aneurysmal bone cyst of the rib: Case report // *Oncologi Letters.* – 2014. – 7. – P. 267-269. DOI: 10.3892/ol.2013.1642.
61. Jiangyinzi Shang, Runsheng Guo, Ping Zhan, Chuwen Chen, Jing Kan, Hucheng Liu and Min Dai. Aneurysmal bone cyst of the metatarsal: A case report // *Oncology Letters.* – 2016. – 12. – P. 2769-2771. DOI: 10.3892/ol.2016.5007.

- 62.Christos Karampalis, Robert Lenthall, Bronek Boszczyk. Solid variant of aneurysmal bone cyst on the cervical spine of a child: case report, differential diagnosis and treatment rationale // *Eur Spine J.* – 2013. – 22. – P. 523–531. DOI 10.1007/s00586-012-2548-9.
- 63.Adriano Jander Ferreira, Sebastião de Almeida Leitão, Murilo Antônio Rocha, Valdênia das Graças Nascimento, Giovanni Bessa Pereira Lima, Antonio Carlos Oliveira de Meneses. Solid variant of aneurysmal bone cyst on the distal extremity of the radius in a child // *Rev bras ortop.* – 2016. – 51(3). – P. 370–373.
- 64.Peter G. Bullough. *Orthopaedic Pathology* // Fifth edition, Mosby Elsevier. – 2010. – P. 456-9.
- 65.Sung Tae Seo, Ki Ryun Rha, Seon-Hwan Kin, and Yong Min Kim. Pediatric aggressive giant cell granuloma of nasal cavity // *Int J Surg Case Rep.* – 2015. – 16. – P. 67–70.
- 66.Varsha VK, Kaveri Hallikeri, HC Girish, and Sanjay Murgod. Expression of CD34 and CD68 in peripheral giant cell granuloma and central giant cell granuloma: An immunohistochemical analysis // *J Oral Maxillofac Pathol.* – 2014 Sep-Dec. – 18(3). – P. 341–348.
- 67.Jaffe HL. Giant cell reparative granuloma, traumatic bone cyst, and fibrous (fibro-osseous) dysplasia of the jaw bones // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* – 1953. – 6. – P. 159–175.
- 68.Ackerman LV, Spjut HJ, eds. *Tumors of bone and cartilage* // *Atlas of tumor pathology*, 2nd series, fasc. 4. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology. – 1963. – P. 295.
- 69.Lorenzo JC, Dorfman HD. Giant-cell reparative granuloma of short tubular bones of the hands and feet // *Am J Surg Pathol.* – 1980. – 4. – P. 551-63.
- 70.Denis F. Macdonald, MD, Paul A. Binhammer, MD, Joel D. Rubenstein, MD, Victor L. Fornasier, MD. Giant cell reparative granuloma of the hand: case report and review of giant cell lesions of hands and feet // *Can J Surg.* – December 2003. – Vol. 46. – No. 6.

71. Adrienne M. Flanagan and Paul M. Speight. Giant Cell Lesions of Craniofacial Bones // *Head and Neck Pathol.* – 2014. – 8. – P. 445–453. DOI 10.1007/s12105-014-0589-6.
72. A. Santos-Briz, R.D. Lobato, A. Ramos, J.M. Millán, J.R. Ricoy, F.J. Martínez-Tello. Giant cell reparative granuloma of the occipital bone // *Skeletal Radiol.* – 2003. – 32. – P. 151-155. DOI 10.1007/s00256-002-0563-3.
73. Francisco J. Martínez-Tello, Palmira Manjón-Luengo, Manuel Martín-Pérez, Santiago Montes-Moreno. Cherubism associated with neurofibromatosis type 1, and multiple osteolytic lesions of both femurs: A previously undescribed association of findings // *Skeletal Radiol.* – 2005. – 34. – P. 793-798. DOI 10.1007/s00256-005-0938-3.
74. Zhi-Jun Sun & Yu Cai & Roger A. Zwahlen, Yun-Fei Zheng & Shi-Ping Wang & Yi-Fang Zhao. Central giant cell granuloma of the jaws: clinical and radiological evaluation of 22 cases // *Skeletal Radiol.* – 2009. – 38. – P. 903–909. DOI 10.1007/s00256-009-0740-8.
75. Anshul Sobti, DNB, Pranshu Agrawal, MS, Sanjay Agarwala, MS, Manish Agarwal, MS. Giant Cell Tumor of Bone – An Overview // *Arch Bone Jt Surg.* – 2016. – 4(1). – P. 2-9.
76. Lizz van der Heijden MSc, P. D. Sander Dijkstra MD, PhD, Domenico A. Campanacci MD, PhD, C. L. Max H. Gibbons MD, PhD, Michiel A. J. van de Sande MD, PhD. Giant Cell Tumor With Pathologic Fracture: Should We Curette or Resect? // *Clin Orthop Relat Res.* – 2013. – 471. – P. 820–829. DOI 10.1007/s11999-012-2546-6.
77. A. López-Pousa, J. Martín Broto, T. Garrido, J. Vázquez. Giant cell tumour of bone: new treatments in development // *Clin Transl Oncol.* – 2015. – 17. – P. 419–430. DOI 10.1007/s12094-014-1268-5.
78. Aikeremujiang Muheremu and Xiaohui Niu. Pulmonary metastasis of giant cell tumor of bones // *World Journal of Surgical Oncology.* – 2014. – 12. – P. 261.

79. Rinaldo Florencio-Silva,¹ Gisela Rodrigues da Silva Sasso,¹ Estela Sasso-Cerri,² Manuel Jesus Simões,¹ and Paulo Sérgio Cerri. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. Review Article // Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume. – 2015. – P. 17. Article ID 421746.
80. Niroshani Surangika Soysa, Neil Alles, Kazuhiro Aoki, and Keiichi Ohya. Osteoclast formation and differentiation: An overview // J Med Dent Sci. – 2012. – 59. – P. 65-74.
81. Jonathan Liu, Arjang Ahmadpour, Arnaud F. Bewley, Mirna Lechpammer, Matthew Bobinski, Kiarash Shahlaie. Chondroblastoma of the Clivus: Case Report and Review // J Neurol Surg Rep. – 2015. – 76. – P.258-264.
82. Han Wang, Ningjun Wan, Yongcheng Hu. Giant cell tumour of bone: a new evaluating system is necessary // International Orthopaedics (SICOT). – 2012. – 36. – P. 2521–2527. DOI 10.1007/s00264-012-1664-9.
83. Eduardo Santini-Araujo, Ricardo K. Kalil, Franco Bertoni, Yong-Koo Park. Tumors and Tumor-Like Lesions of Bone // Springer-Verlag London. – 2015. – P. 351-5, 277-85, 815-825, 324.
84. Puri A., Agarwal M.G., Shah M., Jambhekar N.A., Anchan C., Behle S. Giant cell tumor of bone in children and adolescents // J Pediatr Orthop. – 2007 Sep. – 27(6). – P. 635-9.
85. Nade`ge Presneau, Daniel Baumhoer, Sam Behjati, Nischalan Pillay, Patrick Tarpey, Peter J Campbell, Gernot Jundt, Rifat Hamoudi, David C Wedge, Peter Van Loo, A Bassim Hassan, Bhavisha Khatri, Hongtao Ye, Roberto Tirabosco, M Fernanda Amary and Adrienne M Flanagan. Diagnostic value of H3F3A mutations in giant cell tumour of bone compared to osteoclast-rich mimics // The Journal of Pathology: Clinical Research. J Path: Clin Res. – April 2015. – 1. – P. 113–123. DOI: 10.1002/cjp2.13.
86. Stacey E. Mills, MD. Histology for Pathologists // Forth Edition. – 2012. – P. 85-100.

87. Patrizia Bacchini, Franco Bertoni, Irena Boulytcheva. Differential diagnosis of giant cell-containing bone lesions // Update in bone Pathology San Petersburg. Bone and Soft Tissue Sarcomas and Tumors of the Skin. – 2013. – 3. – P. 31-38.
88. D. P. Strong, R. J. Grimer, S. R. Carter, R. M. Tillman, A. Abudu. Chondroblastoma of the femoral head: management and outcome // International Orthopaedics (SICOT). – 2010. – 34. – P. 413–417. DOI 10.1007/s00264-009-0779-0.
89. Salvatore Romeo, Karoly Szuhai, Isao Nishimori, Marije Ijszenga, Pauline Wijers-Koster, Antonie HM Taminiau and Pancras CW Hogendoorn. A balanced t(5;17) (p15;q22-23) in chondroblastoma: frequency of the re-arrangement and analysis of the candidate genes // BMC Cancer. – 2009. – 9. – P. 393. DOI:10.1186/1471-2407-9-393.
90. Zhenhua Fang and Ming Chen. Chondroblastoma associated with aneurysmal cyst of the navicular bone: a case report // World Journal of Surgical Oncology. – 2013. – 11. – P. 50.
91. Carrie Y. Inwards. Update on Cartilage Forming Tumors of the Head and Neck // Head and Neck Pathol. – 2007. – 1. – P. 67–74. DOI 10.1007/s12105-007-0015-4.
92. Sam Behjati, Patrick S Tarpey, Nadège Presneau, Susanne Scheipl, Nischalan Pillay, Peter Van Loo, David C Wedge, Susanna L Cooke, Gunes Gundem, Helen Davies, Serena Nik-Zainal, Sancha Martin, Stuart McLaren, Victoria Goodie, Ben Robinson, Adam Butler, Jon W Teague, Dina Halai, Bhavisha Khatri, Ola Myklebost, Daniel Baumhoer, Gernot Jundt, Rifat Hamoudi, Roberto Tirabosco, M Fernanda Amary, P Andrew Futreal, Michael R Stratton, Peter J Campbell, and Adrienne M Flanagan. Distinct H3F3A and H3F3B driver variants define chondroblastoma and giant cell tumour of bone // Nat Genet. – 2013 December. – 45(12). DOI:10.1038/ng.2814.

93. Georgia Papaioannou, Neil J. Sebire and Kieran McHugh. Imaging of the unusual pediatric blastomas. REVIEW ARTICLE // Cancer Imaging. – 2009. – 9. – P. 1-11. DOI: 10.1102/1470-7330.2009.0001.
94. Jilong Yang, Wei Tian, Xiongzeng Zhu, and Jian Wang. Chondroblastoma in the long bone diaphysis: a report of two cases with literature review // Chin J Cancer. – 2012. – Vol. 31 Issue 5. – P. 257-264.
95. Robert A. Robinson, Steven D. Vincent. Tumors and Cysts of the Jaws // AFIP Atlas of Tumor Pathology. – 2012. – №16. – P.163-8.
96. Resnic CM, Margolis J, Susarla SM, Schwab JH, Hornicek FJ, Dodson TB, Kaban LB. Maxillofacial and axial/appendicular giant cell lesions: unique tumors or variants of the same disease? A comparison of phenotypic, clinical, and radiographic characteristics // J Oral Maxillofac Surg. – 2010 Jan. – 68 (1). – P. 130-7. DOI: 10.1016/j.joms.2009.04.106.
97. Auclair PL, Cuenin P, Kratochvil FJ, Slater LJ, Ellis GL. A clinical and histomorphologic comparison of the central giant cell granuloma and the giant cell tumor // Oral Surg Oral Med Oral Pathol. – 1988 Aug. – 66(2). – P. 197-208.
98. Damien Bisseret, Rachid Kaci, Marie-Hélène Lafage-Proust, Marianne Alison, Caroline Parlier-Cuau, Jean-Denis Laredo, Valérie Bousson. Periosteum: Characteristic imaging findings with emphasis on radiologic-pathologic comparisons // Skeletal Radiol. – 2015. – 44. – P. 321–338. DOI 10.1007/s00256-014-1976-5.
99. Jerry R. Dwek. The periosteum: what is it, where is it, and what mimics it in its absence? // Skeletal Radiol. – 2010. – 39: P. 319–323. DOI 10.1007/s00256-009-0849-9.
100. Michael J. Klein, S. Fiona Bonar, Tony Freemont, Tuyethoa N., Robert Lopez-Ben, Herrick J., Gene P. Siegal. Non-Neoplastic Diseases of Bones and Joints // Atlas of Nontumor Pathology. – 2011. – P. 1-14, 902-10.
101. A.L. Boskey and R. Coleman. Aging and Bone // J Dent Res. – 2010. – 89 (12). – P. 1333-1348.

102. Ferguson C, Alpern E, Miclau T, Helms JA. Does adult fracture repair recapitulate embryonic skeletal formation? // *Mech Dev.* – 1999. – 87. – P. 57-66.
103. David M. Ornitz and Pierre J. Marie. Fibroblast growth factor signaling in skeletal development and disease // *Genes & Development.* – 2015 Jul. 15. – 29(14). – P. 1463-86. DOI: 10.1101/gad.266551.115.
104. Hu Zhao, Jifan Feng, Thach-Vu Ho, Weston Grimes, Mark Urata, and Yang Chai. The suture provides a niche for mesenchymal stem cells of craniofacial bones // *Nat Cell Biol.* – 2015 April. – 17(4). – P. 386–396. DOI:10.1038/ncb3139.
105. Claudio Marcocci, Luisella Cianferotti and Filomena Cetani. Bone disease in primary hyperparathyroidism // *Ther Adv Musculoskel Dis.* – 2012. – 4(5). – P. 357–368. DOI: 10.1177/ 1759720X12441869.
106. C. De Crea, E. Traini, L. Oragano, C. Bellantone, M. Raffaelli, C.P. Lombardi U.O. Are brown tumours a forgotten disease in developed countries? // *ACTA oTorhinolAryngologiCA iTAlICA.* – 2012. – 32. – P. 410-415.
107. Katherine Wesseling, Sevcan Bakkaloglu, Isidro Salusky. Chronic kidney disease mineral and bone disorder in children // *Pediatr Nephrol.* – 2008. – 23. – P. 195–207. DOI 10.1007/s00467-007-0671-3.
108. Thomas L. Pope, Hans L. Bloem, Javier Beltran, William B. Morrison, David J. Wilson. *Musculoskeletal Imaging*, 2nd edition. – 2015. – P. 924, 933.
109. Moskovszky L., Szuhai K., Krenacs T., Hogendoorn P.C., Szendroi M., Benassi M.S., Kopper L., Fule T., Sapi Z. Genomic instability in giant cell tumor of bone. A study of 52 cases using DNA ploidy, relocalization FISH, and array-CGH analysis // *Genes Chromosomes Cancer.* – 2009 Jun. – 48(6). – P. 468-79. DOI: 10.1002/gcc.20656.
110. Brad W. Neville, Douglas D. Damm, Carl M. Allen, Angela C. Chi. *Oral and Maxillofacial Pathology* // Elsevier. – 2016. – P. 584-6.

111. Andrew P. Carlson, M.D., Howard Yonas, M.D., Garth T. Olson, M.D., Kaaren K. Reichard, M.D., and Rafael Medina-Flores, M.D. Temporal Chondroblastoma with a Novel Chromosomal Translocation (2;5)(q33;q13) // Skull Base Reports. – 2011. – VOL. 1. – № 1. – P. 65-70.
112. Tetsuro Yamagishi, Hiroyuki Kawashima, Akira Ogose, Takashi Ariizumi, Taro Sasaki, Hiroshi Hatano, Tetsuo Hotta, Naoto Endo. Receptor-Activator of Nuclear KappaB Ligand Expression as a New Therapeutic Target in Primary Bone Tumors // PLOS ONE. – May 10, 2016. – P. 1/11 – 11/11. DOI:10.1371/journal.pone.0154680.
113. L Huang, Y Y Cheng, L T C Chow, M H Zheng, S M Kumta. Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) is expressed in chondroblastoma: possible involvement in osteoclastic giant cell recruitment // J Clin Pathol: Mol Pathol. – 2003. – 56. – P. 116–120.
114. Sandip Barman, Preeti Diwaker, Divya Bansal, Neelam Wadhwa, Gurvinder Singh. Aneurysmal Bone Cyst: An Uncommon Secondary Event in Calcaneal Chondroblastoma // Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2016 Jun. – Vol-10(6). – P. 14-16. DOI: 10.7860/JCDR/2016/19524.8016.
115. Stéphane Cherix, Yann Bildé, Fabio Becce, Igor Letovanec, and Hannes A Rüdiger. Multiple non-ossifying fibromas as a cause of pathological femoral fracture in Jaffe-Campanacci syndrome // BMC Musculoskeletal Disorders. – 2014. – 15. – P. 218.
116. Adel K. El-Naggar, John K.C. Chan, Jannifer R. Grandis, Takashi Takata, Pieter J. Slootweg. WHO Classification of Head and Neck Tumours // Lyon. – 2017. – P. 257-8.
117. Prashant Narhari, Amber Haseeb, and Vivek Ajit Singh. Spontaneous Conventional Osteosarcoma Transformation of a Chondroblastoma: A Case Report and Literature Review // Indian J Orthop. – 2018, Jan-Feb. – 52(1). – P.82-90.

118. Mohamed Ahmed Mashhour, Mohamed Abdel Rahman. Lower recurrence rate in chondroblastoma using extended curettage and cryosurgery // International Orthopaedics (SICOT). – 2014. – 38. – P. 1019–1024. DOI 10.1007/s00264-013-2178-9.
119. Jury Brandolini, Luca Bertolaccini, Alessandro Pardolesi, Maurizio Salvi, Mirca Valli, Piergiorgio Solli. Chondroblastoma of the rib in a 47-year-old man: a case report with a systematic review of literature // Journal of Thoracic Disease. – 2017. – 9(10). – P.907-911. DOI: 10.21037/jtd.2017.08.137.
120. Yan Xiong, Yun Lang, Zeping Yu, Hongyuan Liu, Xiang Fang, Chongqi Tu and Hong Duan. The effects of surgical treatment with chondroblastoma in children and adolescents in open epiphyseal plate of long bones. Xiong et al // World Journal of Surgical Oncology. – 2018. – 16. – P. 14. DOI 10.1186/s12957-018-1314-9.
121. Fernanda Amary, MD, PhD, Fitim Berisha, MSc, Hongtao Ye, PhD, Manu Gupta, PhD, Alice Gutteridge, MSc, Daniel Baumhoer, MD, PhD, Rebecca Gibbons, BSc, Roberto Tirabosco, MD, Paul O'Donnell, MD, and Adrienne M. Flanagan, MD, PhD. H3F3A (Histone 3.3) G34W Immunohistochemistry. A Reliable Marker Defining Benign and Malignant Giant Cell Tumor of Bone // Am J Surg Pathol. – 2017. – P. 1-10.
122. Svetoslav A. Slavchev, Georgi P. Georgiev, Kircho Patrikov. An Active Giant Cell Tumor of the Patella: A Case Report // A Case Report. Cureus. – 2017. – 9(9). – P.1642. DOI 10.7759/cureus.
123. Andreas F. Mavrogenis, Vasileios G. Igoumenou, Panayiotis D. Megaloikonomos, Georgios N. Panagopoulos, Panayiotis J. Papagelopoulos, and Panayotis N. Soucacos. Giant cell tumor of bone revisited // SICOT J. – 2017. – 3. – P. 54.
124. Kato Kaneko, M., Liu, X., Oki, H., Ogasawara, S., Nakamura, T., Saidoh, N., Kato, Y. Isocitrate dehydrogenase mutation is frequently observed in

- giant cell tumor of bone // *Cancer Science*. – 2014. – 105(6). – P. 744–748.
<http://doi.org/10.1111/cas.12413>.
125. Giuseppina Divisato, Federica Scotto di Carlo, Laura Pazzaglia, Riccardo Rizzo, Domenico A. Coviello, Maria Serena Benassi, Piero Picci, Teresa Esposito, and Fernando Gianfrancesco. The distinct clinical features of giant cell tumor of bone in pagetic and non-pagetic patients are associated with genetic, biochemical and histological differences // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – No. 38. – P. 63121-63131.
 126. Mirra JM, Gold RH, Rand F: Disseminated nonossifying fibromas in association with cafe-au-lait spots (Jaffe-Campanacci syndrome) // *Clin Orthop Relat Res*. – 1982. – 168. – P. 192–205.
 127. Campanacci M, Laus M, Boriani S: Multiple non-ossifying fibromata with extraskeletal anomalies: a new syndrome? // *J Bone Joint Surg Br*. – 1983. – 65. – P. 627–632.
 128. Ammar C. Al-Rikabi, FRCPath, FIAC, Jyothi C. Ramaswamy, MBBS, MD, Venkatraman V. Bhat, MD, FRCR. Jaffe-Campanacci syndrome. Case report // *Saudi Med J*. – 2005. – Vol. 26 (1). P. 104-106.
 129. Vipin Sharma, Seema Sharma, Kewal A. Mistry, Bhanu Awasthi, Lucky Verma, Uttam Singh. Giant cell tumor of bone in skeletally immature patients – a clinical perspective // *Journal of Orthopaedic Case Reports*. – 2015 Oct-Dec. – 5(4). – P. 57-60. DOI: 2250-0685.347.
 130. Nawal Hammas, Chbani Laila, Alaoui Lamrani My Youssef, El Fatemi Hind, Taoufiq Harmouch, Tizniti Siham, Amarti Afaf. Can p63 serve as a biomarker for giant cell tumor of bone? A Moroccan experience. Hammas et al // *Diagnostic Pathology*. – 2012. – 7. – P.130.
 131. Junling Liu^{1,2}, Han Yang^{1,3}, Rui Sun^{1,4}, Zhijun Yang^{1,2}, Zhihua Zhu. Retrospective analysis of patients with rare-site and metastatic giant cell tumor // *Chin J Cancer Res*. – 2013. – 25(5). – P. 585-592.
 132. Chenglei Liu, Yawen Tang, Mei Li, Qiong Jiao, Huizhen Zhang, Qingcheng Yang, Weiwu Yao. Clinical characteristics and prognoses of six

- patients with multicentric giant cell tumor of the bone // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – No. 50. – P. 83795-83805.
133. Arun S Singh, Neal S Chawla, Sant P Chawla. Giant-cell tumor of bone: treatment options and role of denosumab // *Biologics: Targets and Therapy*. – 2015. – 9. – P. 69–74. [dx.doi.org/10.2147/BTT.S57359](https://doi.org/10.2147/BTT.S57359).
 134. Som. P. Gupta, Gaurav Garg. Curettage with cement augmentation of large bone defects in giant cell tumors with pathological fractures in lower-extremity long bones // *J Orthopaed Traumatol*. – 2016. – 17. – P. 239–247. DOI 10.1007/s10195-016-0397-8.
 135. Pan Hu, Liming Zhao, Huilin Zhang, Xiuchun Yu, Zhen Wang, Zhaoming Ye, Sujia Wu, Shibing Guo, Guochuan Zhang, Jinghua Wang, Xianjia Ning, Yongcheng Hu, Yingze Zhang. Recurrence Rates and Risk Factors for Primary Giant Cell Tumors around the Knee: A Multicentre Retrospective Study in China // *Scientific Reports*. – 6:36332 | DOI: 10.1038/srep36332.
 136. Federica Scotto di Carlo, Giuseppina Divisato, Maurizio Iacoangeli, Teresa Esposito, Fernando Gianfrancesco. The identification of H3F3A mutation in giant cell tumour of the clivus and the histological diagnostic algorithm of other clival lesions permit the differential diagnosis in this location. Scotto di Carlo et al // *BMC Cancer*. – 2018. – 18. – P. 358. DOI.org/10.1186/s12885-018-4291-z.
 137. Judy Sarungbam, Narasimhan Agaram, Sinchun Hwang, Chao Lu, Lu Wang, John Healey, Meera Hameed. Symplastic/pseudoanaplastic giant cell tumor of the bone // *Skeletal Radiol*. – 2016 July. – 45(7). – P. 929–935. DOI:10.1007/s00256-016-2373-z.
 138. Hongbin Cao, Fengsong Lin, Yongcheng Hu, Liming Zhao, Xiuchun Yu, Zhen Wang, Zhaoming Ye, Sujia Wu, Shibing Guo, Guochuan Zhang, Jinghua Wang. Epidemiological and Clinical Features of Primary Giant Cell Tumors of the Distal Radius: A Multicenter Retrospective Study in China // *Scientific Reports*. – 7: 9067. DOI:10.1038/s41598-017-09486-6.

139. Julian Luke, Alexandra von Baer, Jordan Schreiber, Christoph Lubbehusen, Thomas Breining, Kevin Mellert, Ralf Marienfeld, Markus Schultheiss, Peter Moller, Thomas F E Barth. H3F3A mutation in giant cell tumor of the bone is detected by immunohistochemistry using a monoclonal antibody against the G34W mutated site of the histone H3.3 variant // *Histopathology*. – 2017. – 71. – P. 125-133. DOI: 10.1111/his.13190.
140. Cleven AH, Hocker S, Briaire-de Bruijn I, Szuhai K, Cleton-Jansen AM, Bovee JV. Mutation Analysis of H3F3A and H3F3B as a Diagnostic Tool for Giant Cell Tumor of Bone and Chondroblastoma // *Am J Surg Pathol*. – 2015 Nov. – 39(11). – P. 1576-83. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000512.
141. Douglas R. Stewart, MD, Hilde Brems, PhD, Alicia G. Gomes, MS, CGC, Sarah L. Ruppert, MS, CGC, Tom Callens, BSc, Jennifer Williams, MS, Kathleen Claes, PhD, Michael B. Bober, MD, PhD, Rachel Hachen, MD, MPH, Leonard B. Kaban, MD, DDS, Hua Li, PhD, Angela Lin, MD, Marie McDonald, MD, MBBCh, Serge Melancon, MD, June Ortenberg, MDCM, FRCPC, Heather B. Radtke, MS, CGC, Ignace Samson, MD, Robert A. Saul, MD, Joseph Shen, MD, PhD, Elizabeth Siqveland, RN, CNP, Tomi L. Toler, MS, CGC, Merel van Maarle, MD, PhD, Margaret Wallace, PhD, Misti Williams, PhD, Eric Legius, MD, PhD, and Ludwine Messiaen, PhD. Jaffe–Campanacci syndrome, revisited: detailed clinical and molecular analyses determine whether patients have neurofibromatosis type 1, coincidental manifestations, or a distinct disorder // *GeNeTICs in MeDICINe*. – June 2014. – Vol. 16. – Num. 6. – P. 448-59.