

Les histiocitosis de cèl·lules no de Langerhans en el nen: Contribució al seu coneixement mitjançant estudis clínics, histològics, immunohistoquímics i ultraestructurals en una revisió de 153 casos

Ramon Grimalt Santacana

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

LES HISTIOCITOSIS DE CÈL.LULES NO DE LANGERHANS EN EL NEN:

**CONTRIBUCIÓ AL SEU CONEIXEMENT MITJANÇANT
ESTUDIS CLÍNICS, HISTOLÒGICS, IMMUNOHISTOQUÍMICS I
ULTRAESTRUCTURALS
EN UNA REVISIÓ DE 153 CASOS**



Resultats de l'estudi histològic

L'estudi histològic de les seccions seriades parafinades i colorejades amb hematoxilina-eosina mitjançant un microscopi òptic ha demostrat el següent:

Partint de la base que l'estudi estava fet "en cec" i que es desconeixia inicialment de quin tipus clínic de forma histiocitària provenia el material histològic que s'observava, vàrem poder distingir tres patrons histològics en les biòpsies estudiades:

- Un primer patró que hem anomenat **patró papilar dèrmic**. L'infiltrat es localitzava exclusivament al derma papilar, i en la majoria de casos exclusivament entre dos processos papilars que d'alguna manera intentaven envoltar l'infiltrat dermo-papilar.

Aquest tipus de patró s'ha observat en 7 casos de HCB, en 3 casos de XGJ, i en 1 cas de XP. (Fig. 13)

- El segon tipus de patró l'hem anomenat **patró difús**. En aquest cas l'infiltrat es distribuïa de manera uniforme a tot el derma.

Aquest patró l'hem trobat en 3 casos de HCB, en 10 casos de XP, en 21 casos de XGJ i en 3 casos (dels 4 histològics) de HEG. (Fig. 14)

- El tercer patró ha estat anomenat **patró liquenoide** i consistia en un infiltrat en banda de tipus liquenoide localitzat al derma superficial.

Aquest darrer patró ha estat vist en 4 casos de HCB, en un XGJ, en un XP i en una HEG.

Una vegada acabat l'estudi i desvetllat l'aspecte "de ceguesa", la confrontació del resultat histològic amb les formes clíniques dóna els següents resultats:

- **Xantogranuloma juvenil:**

L'histologia del XGJ ha estat la més variada de les quatre, probablement també degut a que el nombre de casos estudiats ha estat molt major.

- Les lesions solitàries madures (clínicament) presentaven un patró difús compost per histiòcits grossos i regulars, amb un citoplasma pàlid, sovint vacuolitzat, alguns histiòcits pleomorfs, i grosses cèl.lules xantomitzades a tot el derma. Les cèl.lules de Touton es trobaven sobretot a nivell del derma superficial al límit superior de l'infiltrat. Molts limfòcits i eosinòfils acompanyaven a les cèl.lules proliferants.

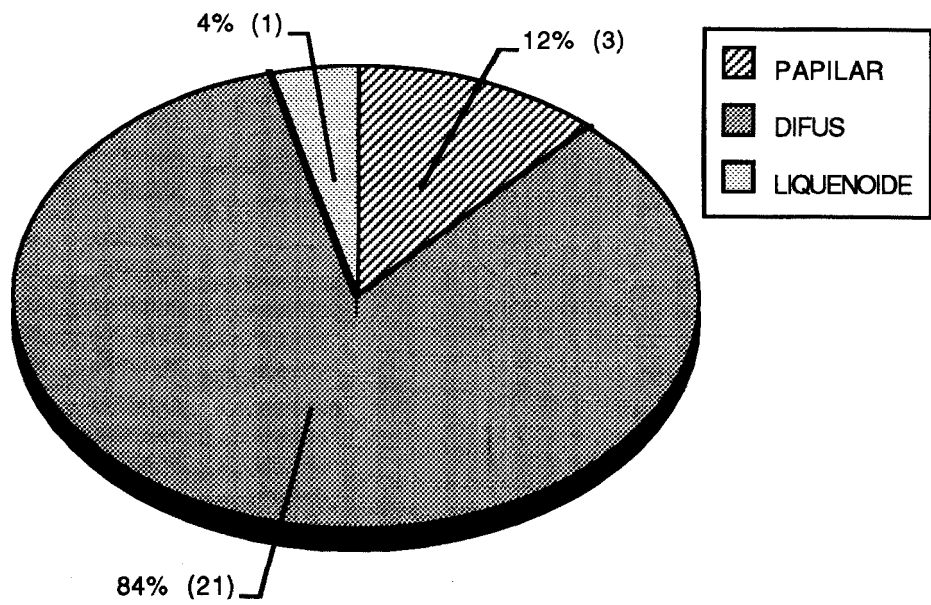
- Les lesions solitàries recents mostraven un patró molt semblant al de la HEG (Figs. 19-22). En el derma superficial i fons, una proliferació difusa d'histiòcits grossos, sense lípids al seu interior, es trobava distribuïda escassament. L'infiltrat s'acompanyava de pocs limfòcits i eosinòfils i rarament d'alguna cèl.lula de Touton.

Els casos de XGJ micronodular mostraven una histologia caracteritzada per la presència d'un infiltrat molt superficial localitzat al derma papilar i algunes vegades molt aprop de la zona dermo-epidèrmica. Aquests casos recordaven molt a les formes de HCB pel tipus d'histiòcit pleomorf, per la presència de l'extravasació hemàtica, i per la presència d'algunes cèl.lules xantomitzades. De totes maneres les cèl.lules de Touton presents, tot i ser escasses, permetien distingir el XGJ de la HCB.

Els casos amb el patró liquenoide, presentaven característiques citològiques que eren una forma mixta entre les formes superficials (immadures, micronodulars) i les formes difuses (madures macronodulars).

TAULA XII:

DISTRIBUCIO DELS PATRONS HISTOLOGICS EN EL XJ





Figs. 13 i 14- L'histiocitosi cefàlica benigna tant es pot presentar amb un patró papilar (figura superior) com amb un patró difús (figura inferior).

- **Xantoma Papulós:**

L'infiltrat del XP era molt característic des d'un punt de vista histològic amb els típics histiòcits monomorfs, grossos, amb un nucli petit centrat al mig d'un citoplama escumós. Al voltant de les cèl.lules proliferants hi havia també alguns limfòcits i alguns PMN. (Fig. 16-18)

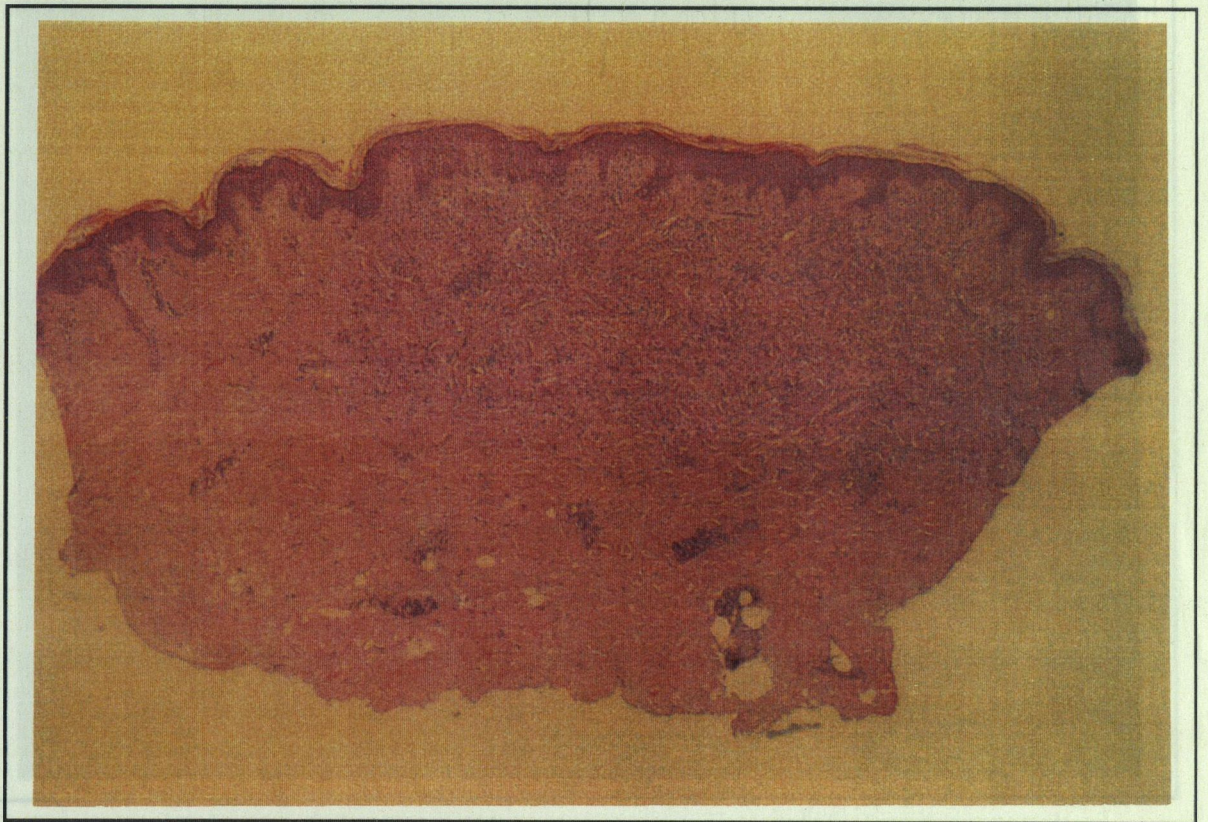


Fig. 15- El patró histològic *difús* és la presentació més freqüent de l'histiocitosi eruptiva generalitzada.

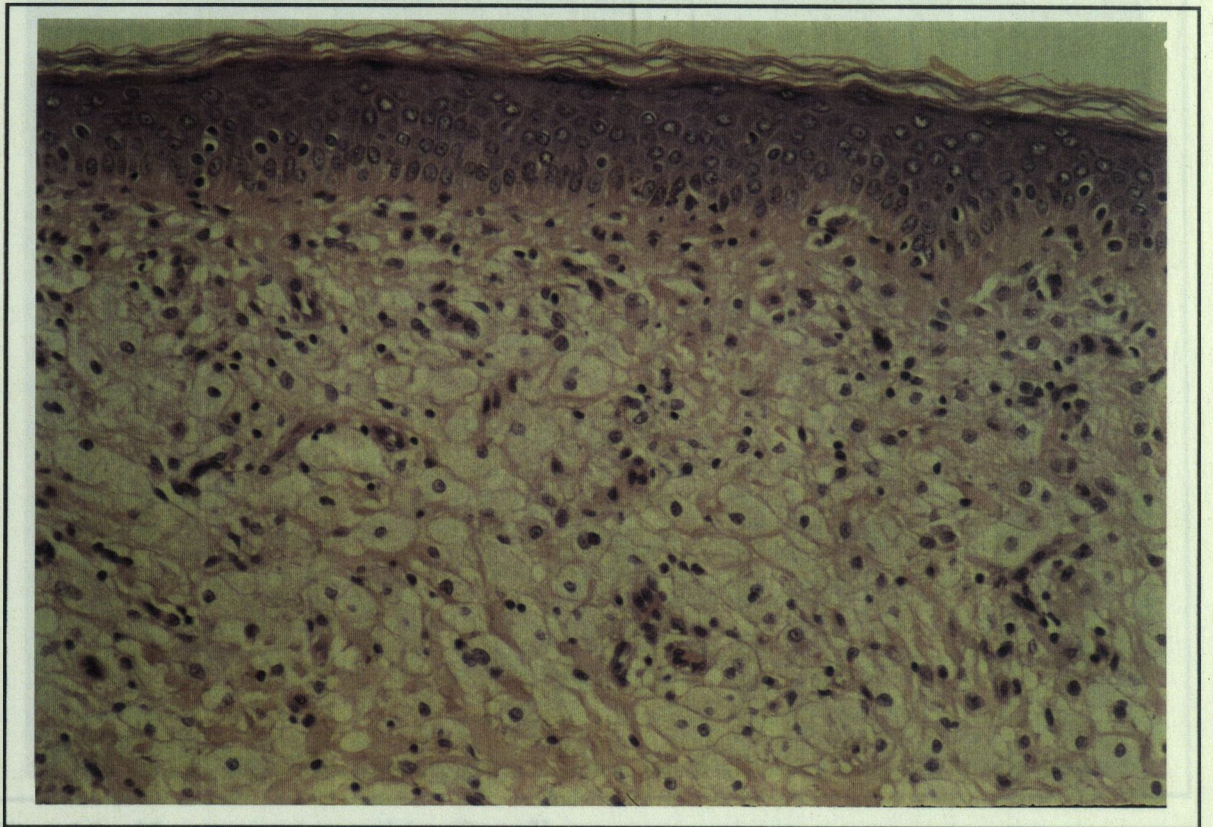


Fig. 16- L'aspecte histològic del xantoma papulós va resultar ser del tot característic.

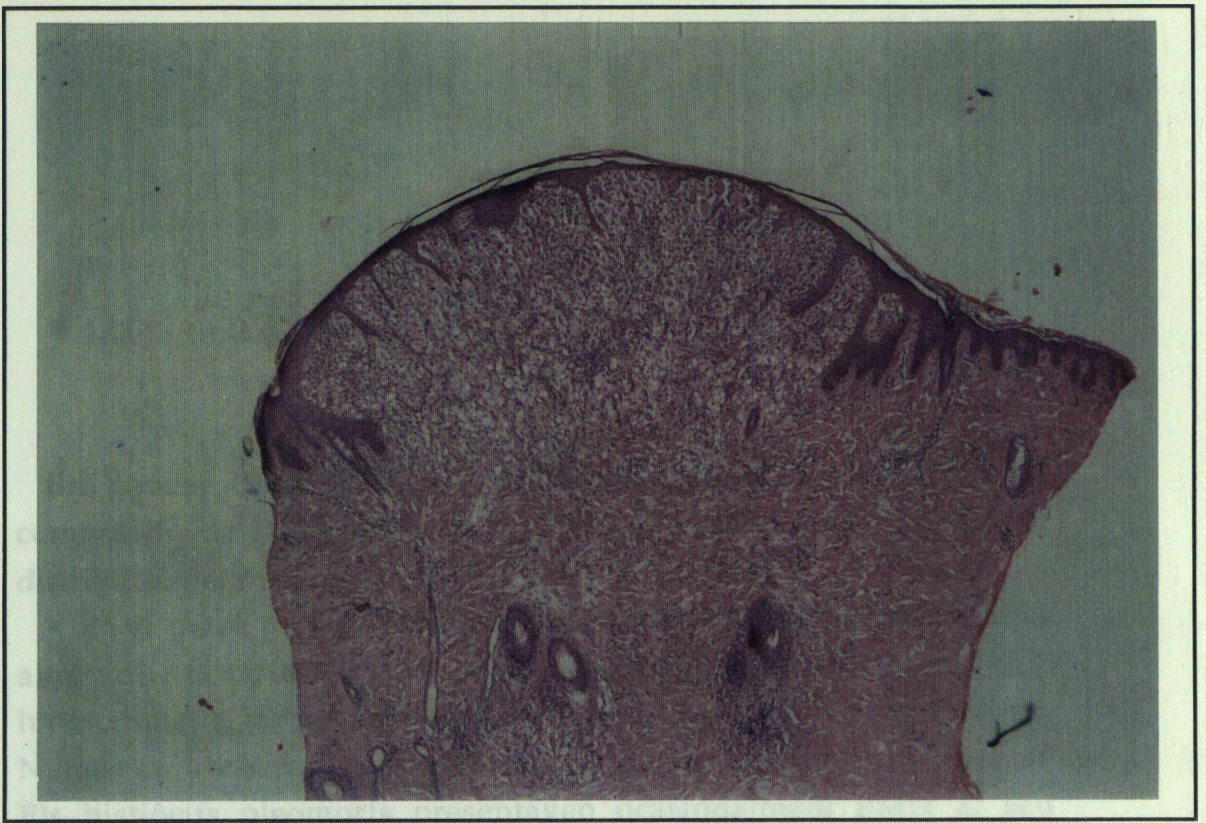


Fig. 17 - Xantoma papulós. Aspecte histopatològic mitjançant l'hematoxilina & eosina.

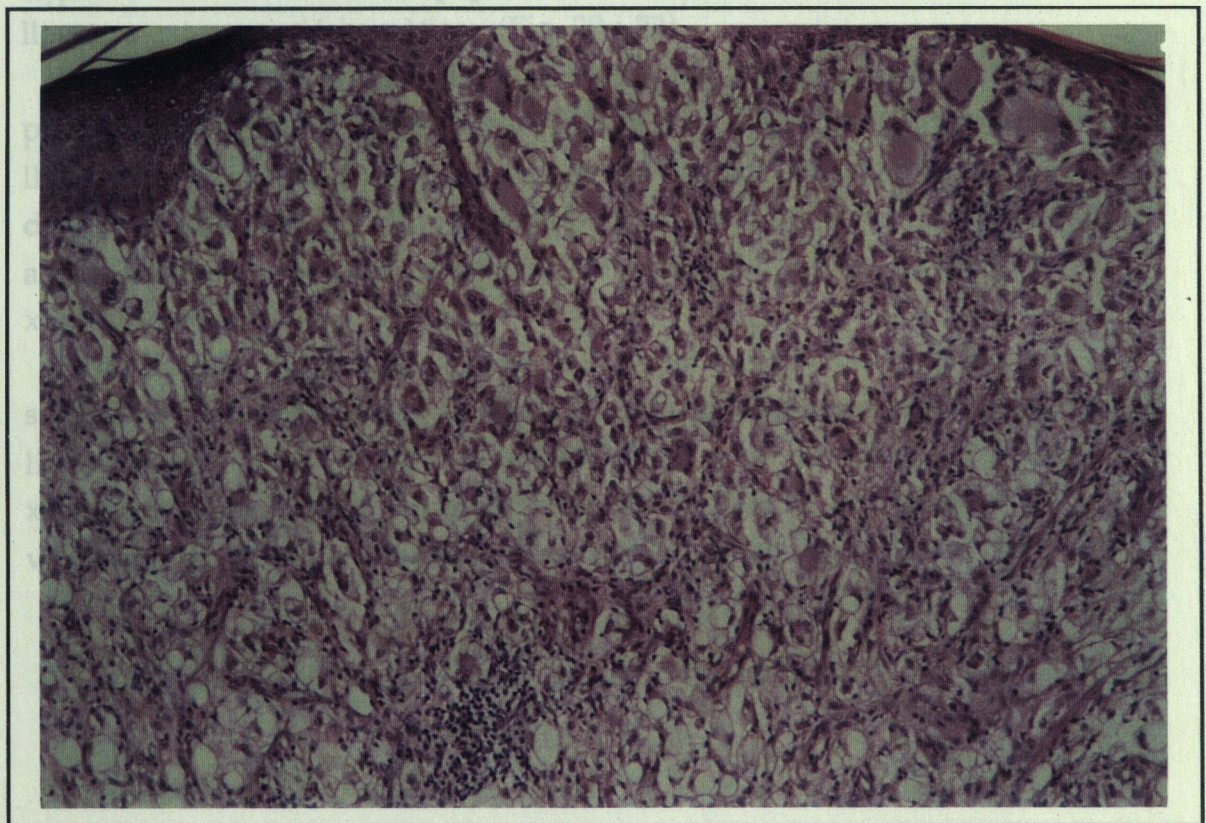


Fig. 18 - Xantoma papulós. Detall.

- **Histiocitosi cefàlica benigna:**

En aquest tipus d'histiocitosi vàrem poder observar que la composició de l'infiltrat estava en relació directa amb el patró de distribució del mateix, és a dir:

- En el **patró papilar dèrmic**, els histiòcits eren grans, pleomòrfics amb un citoplasma abundant, eosinòfil, i amb un nucli hipercromàtic, de vegades indentat i amb un nuclèol molt evident. Només en 4 casos alguns histiòcits contenien lípids al seu interior. Els histiòcits pleomorfs presentaven ocasionalment PMN al seu interior (leucofagocitosi). Al voltant dels histiòcits proliferants s'observava un infiltrat perivascular i difús compost per limfòcits i alguns eosinòfils. Al derma papilar de dos dels casos, era present una lleugera extravasació hemàtica. (Fig. 20 i 22)

- En el **patró difús** els histiòcits eren rodons i regulars i presentaven un citoplasma escàs. Aquestes cèl.lules es distribuïen al llarg dels feixos de col.làgena i es trobaven sovint acompanyades d'alguns limfòcits. En alguna secció seriada vàrem també observar algun histiòcit pleomorf, mai però, cèl.lules de Touton ni cèl.lules xantomitzades.

- En el **patró liquenoide** els petits histiòcits es trobaven al derma superficial disposats "en banda" i acompanyats per nombrosos limfòcits petits. Al derma més superficial s'hi trobaven cèl.lules xantomitzades i molt rarament alguns histiòcits pleomorfs. No vàrem poder observar epidermotropisme en cap de les seccions.

- **Histiocitoma eruptiu generalitzat:**

Els 4 casos estudiats presentaven el tipus de patró que hem definit anteriorment com *difús*, tot i que algunes seccions podien recordar d'alguna manera al patró liquenoide. (Fig. 15)

- En el **patró difús** els histiòcits es localitzaven entre els feixos de col·làgena, eren petits de mida, amb poc citoplasma i amb un nucli gros i hipercromàtic.

- En el **patró liquenoide** vàrem poder observar alguns histiòcits pleomorfs i escassos neutròfils i eosinòfils.

En cap dels dos patrons no hi havia cèl·lules xantomitzades ni cèl·lules de Touton. L'epidermis no estava mai invaïda per l'infiltrat.

TAULA XIII:

DISTRIBUCIÓ DELS PATRONS HISTOLÒGICS EN ELS CASOS ESTUDIATS

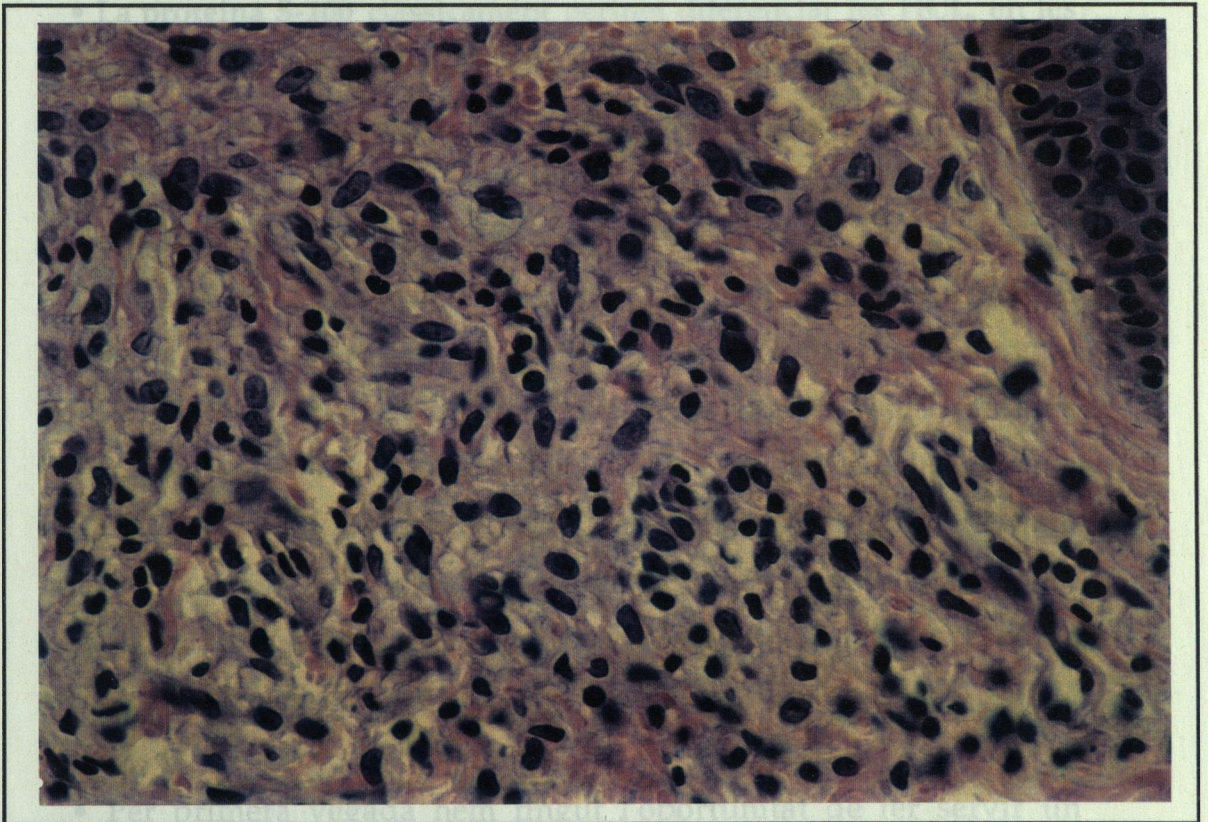
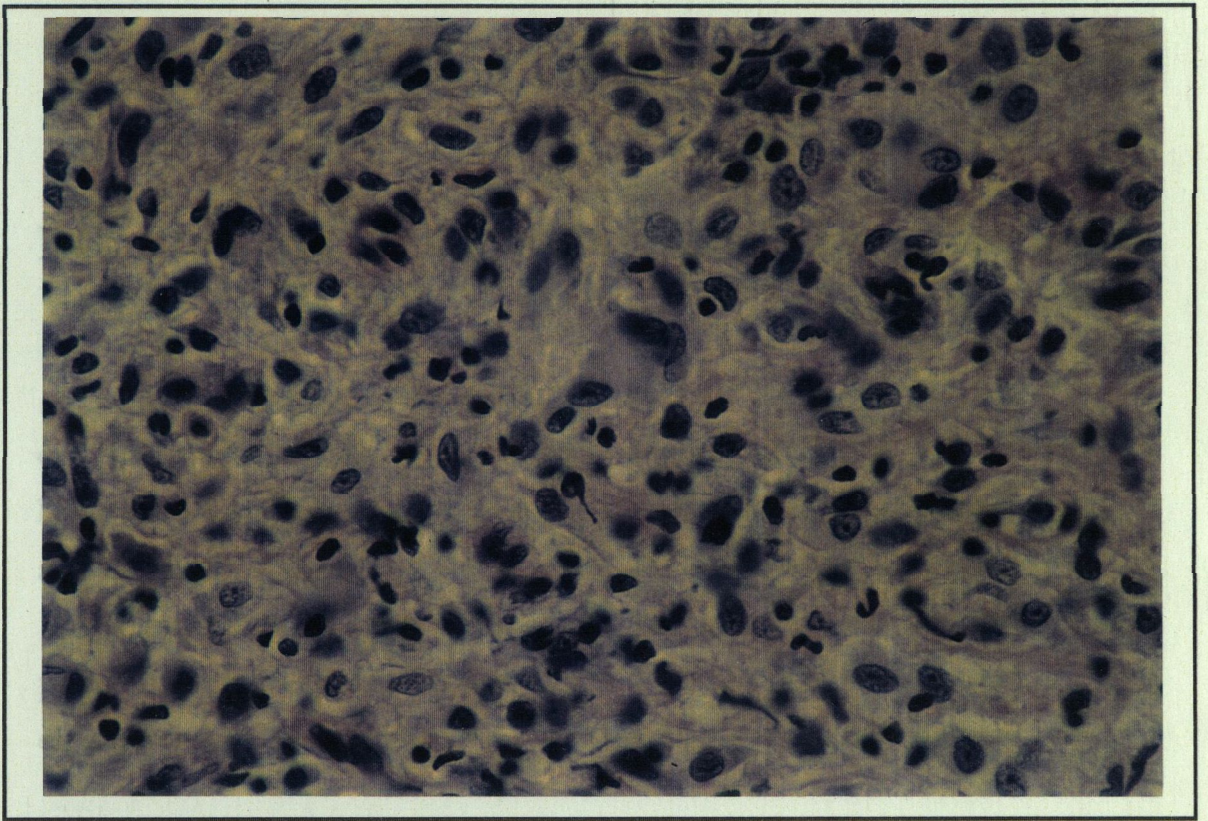
MALALTIA	Nº DE CASOS	PATRÓ
XGJ	25	Papilar en 3/25 Difús en 21/25 Liquenoide 1/25
XP	11	Papilar en 1/11 Difús en 10/11 Liquenoide 1/11
HCB	14	Papilar en 7/14 Difús en 3/14 Liquenoide 4/14
HEG	4	Papilar en 0/4 Difús en 3/4 Liquenoide 1/4

HCB: histiocitosi cefàlica benigna, HEG: histiocitoma eruptiu generalitzat ,
XP: xantoma papulós, XGJ: xantogranuloma juvenil

Aquests resultats de l'estudi histopatològic han estat parcialment presentats per l'aspirant al grau de doctor al 14th Colloquium of the International Society of Dermatopathology celebrat a Siena (Itàlia) l'abril del 1993 (58)



Figs. 19 i 20 - El patró histològic *papilar* era present tan en les formes de xantogranuloma juvenil (figura superior) com en les formes d'histiocitosi cefàlica benigna (figura inferior). Histològicament les lesions són indistingibles.



Figs. 21 i 22 - El tipus d'infiltrat era idèntic tan en les formes inicials, no xantomitzades de xantogranuloma juvenil (figura superior) com en les formes d'histiocitosi cefàlica benigna (figura inferior). Citològicament les lesions són indistingibles.

Resultats de l'estudi immunohistoquímic

L'ús dels anticossos mono i policlonals llistats a la **Taula II** (pàg. 47) ens ha portat a uns resultats molt interessants. Un resum de l'expressió d'aquests anticossos en les histiocitosis estudiades es troba a la **Taula XIV** (pàg. 94).

A continuació analitzem un per un els anticossos mono i policlonals utilitzats al nostre estudi i veiem-ne la seva expressió en els diferents components cel·lulars de les histiocitosis estudiades.

- La **proteïna S-100** clàssicament permet diferenciar les HCL, en les que marca les cèl·lules proliferants, de les HCNL en les que és negativa. Entre altres coses, l'S-100 marca també els nervis i els seus derivats, les cèl·lules de Langerhans de l'epidermis, així com els melanòcits, el múscul estriat i els adipòcits.

El nostre estudi immunohistoquímic ens ha permès confirmar el que ja havia estat establert des de fa anys: hem trobat una positivitat de l'S-100 en les HCL de control i una negativitat en totes les altres HCNL, però amb algunes excepcions: algunes de les cèl·lules gegants de l'infiltrat histiocitari de HCNL es marcaven dèbilment amb aquesta proteïna. De fet, és ben sabut que en el reticulohistiocitoma gegantocel·lular les cèl·lules gegants són S-100 positives. En casos de HCNL hem trobat també alguna cèl·lula gegant S-100 positiva.

- Per primera vegada hem tingut l'oportunitat de fer servir un **CD1a** que funciona en parafina, i ens ha permès estudiar molts dels casos que quedaven limitats per falta de material congelat. El CD1a marca normalment les cèl·lules de Langerhans i les indeterminades.

És sempre positiu en les HCL i dèbilment positiu en la histiocitosi del sinus amb limfadenopatia massiva de Rosai-Dorfman. El CD1a és constantment negatiu, tal i com hem demostrat en el nostre estudi actual, en tots els tipus de HCNL estudiats. (Vegi's taula XIV a la pàg. 94).

- El **25F9** és un nou monoclonal que marca les cèl.lules xantomitzades i que per tant és positiu en les HCNL que xantomitzen com el xantogranuloma juvenil i el xantoma papulós. Per desgràcia aquest marcador funciona malament en parafina i no l'hem pogut utilitzar en els casos dels que no disponiem de material congelat.

- El **CD34** marca la línia de cèl.lules de derivació fibroblàstica i els dendròcits dèrmics. És per tant molt útil per diferenciar les formes de dermatofibroma en les que és positiu *versus* xantogranulomes juvenils poc xantomitzats amb molt component cel.lular fibrós en ells aquest marcador és del tot negatiu. Aquest monoclonal ha estat utilitzat com a control en els casos que presentaven algun dubte en aquest sentit.

- El nou marcador **PGM1** representa un CD68 restringit. Tal com es veu dels nostres estudis, marca les cèl.lules de derivació monocito-macrofàgica, per tant l'hem trobat intensament positiu en totes les formes de HCNL estudiades (Figs. 23,24). En canvi el PGM1 no marca les cèl.lules de Langerhans de l'epidermis tot i que és parcialment positiu en els casos de control de HCL. Això probablement és degut a l'infiltrat, que en aquest tipus de patologia no és pur, sino que es veu enriquit d'un component macrofàgic reactiu que intenta delimitar l'infiltrat de cèl.lules de la

histiocitosi-X.

• **Les Catepsines D i E**, representen juntament amb el CD1a en parafina la nostra aportació a l'estudi immunohistoquímic de la patologia histiocitària. Fins ara no existia cap altre marcador a part de la proteïna S-100 i del CD1a (la primera era molt inespecífica i el darrer només funcionava en teixit congelat) que permetés confirmar un diagnòstic de HCL i per tant descartar altres histiocitosis. A partir d'aquest moment i mitjançant aquests dos nous marcadors policlonals, la Catepsina D i la Catepsina E, podrem definir millor aquesta patologia i establir aquest diagnòstic diferencial que de vegades es fa molt difícil.

La **Catepsina E** marca les cèl.lules de Langerhans de l'epidermis, marca també els granulòcits i especialment els eosinòfils (molt abundants en l'infiltrat reactiu al voltant de la patologia histiocitària), essent també positiva en les cèl.lules de les HCL i normalment negativa en les HCNL. La histiocitosi de Rosai-Dorfman es comporta com una HCL i per tant és positiva per la Catepsina E.

La **Catepsina D**, al contrari, no marca les cèl.lules de Langerhans de l'epidermis; marca positivament tota la sèrie mieloide i per tant és molt positiva a les HCNL. Paradoxalment marca també de manera més dèbil les HCL i la histiocitosi de Rosai-Dorfman.

Així doncs, l'ús d'aquests dos nous anticossos policlonals que funcionen en teixit parafinat (cosa fonamental per a estudis no tant sols d'investigació sinó de rutina diagnòstica) ens permet diferenciar sense cap dubte les HCL de les HCNL.

En les HCL trobarem una positivitat per a la Catepsina E associada a una negativitat per la Catepsina D, a part de la positivitat de la proteïna S-100 i del CD1a. En canvi, en les HCNL trobarem una forta positivitat de la Catepsina D i una dèbil positivitat de la Catepsina E, juntament amb un CD68 fortament positiu i un CD1a i una proteïna S-100 negatius.

Fem a continuació un resum del què ha estat l'expressió dels anticossos mono i policlonars aquí citats en cada una de les quatre patologies estudiades:

- **Xantogranuloma juvenil:** En aquests casos, que fóren els més nombrosos, tant la proteïna S-100 com el CD1a eren sempre negatius. El PGM1 i el 25F9 eren intensament positius (Figs. 23,24), i pel que fa a les catepsines cal dir que tal i com pertoca a una HCNL, la catepsina D era positiva i la E negativa.

- **Xantoma papulós:** Aquesta histiocitosi presentava una negativitat absoluta per al CD1a i una negativitat quasi constant per a la proteïna S-100. El CD68 era intensament positiu (+++) (Fig. 25), (potser és la patologia en la que és més positiu de totes quatre), i el 25F9 era també molt positiu, ja que la major part de les cèl.lules que componen l'infiltrat en el XP són cèl.lules xantomitzades i aquest marcador marca precisament la xantomització. La catepsina D era positiva (Fig. 26) , i la E negativa (Fig. 27).

- **Histiocitosi cefàlica benigna:** En aquesta histiocitosi hem trobat sempre una clara negativitat per al CD1a, juntament amb una negativitat quasi absoluta per a la proteïna S-100, excepte alguna cèl.lula gegant que de vegades es troba en aquesta patologia. El PGM1 (que no és altra cosa que un CD68 restringit) era intensament positiu. El marcador 25F9 (que marca les cèl.lules xantomitzades) era normalment negatiu amb alguna excepció. Pel que fa a l'expressió de les catepsines, podem dir que la Catepsina D era sempre positiva (Fig. 28) i que la E era habitualment dèbilment positiva.

- **Histiocitoma eruptiu generalitzat:** Estudiant els *punchs* practicats als nens amb aquesta patologia hem pogut observar que les cèl.lules principals de l'infiltrat eren sempre CD1a negatives i normalment S100 negatives, tot i que, algunes cèl.lules podien, de manera aïllada, marcar dèbilment per a aquesta proteïna.

El CD68 era sempre positiu tal i com correspon a una HCNL clàssica. El marcador 25F9 era quasi totalment negatiu, la Catepsina D positiva, i la E dèbilment positiva en alguns casos.

- **Histiocitosi de cèl.lules de Langerhans:** Els casos controls mostraven un marcatge especular respecte a les quatre formes abans descrites que, de fet, es poden unificar com a expressió immunohistoquímica. Així doncs en les HCL tant la proteïna S-100 com el CD1a són positius (Figs. 29,30), el PGM1 és normalment negatiu, amb algunes excepcions, el 25F9 és clarament negatiu i la catepsina E és molt positiva i la D dèbilment positiva.

Així doncs, com a **conclusió resum** del què han estat aquests **resultats immunohistoquímics**, podem dir que tal i com es pot veure en la taula XIV (pàg. 94), amb aquest estudi hem demostrat que **no hi ha cap marcador que permeti diferenciar absolutament les diferents formes de HCNL estudiades.**

Les petites diferències, sobretot pel que fa a l'anticòs monoclonal 25F9 que marca les cèl.lules xantomitzades, són obviament degudes a les diferències de xantomització que presenten aquestes histiocitopaties (i que des del nostre punt de vista, només representen diverses fases evolutives). Així doncs, el xantoma papulós i el xantogranuloma juvenil eren molt més positius que no pas la histiocitosi cefàlica benigna o l'histiocitoma eruptiu generalitzat, les quals normalment no presenten cap tipus de xantomització.

La proteïna S-100 també ha demostrat algunes variacions, ja que pot marcar, a més de les HCL, les cèl.lules gegants de l'infiltrat d'algunes HCNL, i l'hem trobada dèbilment positiva en alguna HCB, en algun cas de HEG i també en algún XP.

Amb el CD68, que correspon a l'anticòs monoclonal PGM1, hem trobat una major positivitat en les formes de xantoma papulós i en els xantogranulomes juvenils amb moltes cèl.lules gegants, provablement degut a que aquestes cèl.lules presenten un quantitat

major de citoplasma i creen un fals augment de la positivitat d'aquest marcador citoplasmàtic. Algunes vegades les HCL podien marcar dèbilment per aquest anticòs.

Tot i no haver trobat cap diferència immunohistoquímica substancial entre les diferents HCNL estudiades, hem trobat però unes grans diferències entre aquest grup de patologia i el grup control portat a estudi, és a dir les HCL. Així doncs, amb aquest estudi, no només hem demostrat que no hi ha marcadors que permetin diferenciar des d'un punt de vista immunohistoquímic una HCNL d'una altra, si no que també hem presentat uns nous marcadors fins ara no utilitzats (Catpsines, CD1a) que són immensament útils per a fer el diagnòstic diferencial entre les formes de HCNL i les de HCL.