

## El histiocito

COORDINADORES: L. FLORENSA. *Barcelona*  
M. BARBÓN. *León*

### Resumen del simposio

Desde hace unos años en los Simposios del Grupo Español de Citología Hematológica se vienen tratando individualmente las principales células de la hematopoyesis con sus patologías más relevantes. Nos corresponde el presente año hablar del histiocito.

El histiocito forma parte del sistema mononuclear fagocítico (SMF) que engloba un conjunto de células derivadas de los precursores de los monocitos. El SMF es un sistema celular representado en todos los órganos, con un papel primordial en los mecanismos de defensa y que colabora en distintas situaciones reactivas y malignas.

El histiocito quizás sea una de las células hematopoyéticas cuya patología es menos conocida por la mayoría de los hematólogos, en parte debido a su infrecuencia y a su presentación más habitual en niños. Hemos querido englobar en este simposio las enfermedades más significativas de este tipo de células, incluyendo la clásica histiocitosis de las células de Langerhans, a pesar de que en la actualidad se sabe que su origen está relacionado con la célula dendrítica.

Estamos orgullosos de poder haber reunido a un grupo de ponentes, todos ellos con brillantísima trayectoria profesional y enorme reconocimiento.

En primer lugar, la Dra. Soledad Woessner, del Hospital del Mar de Barcelona, conocida entre todos los hematólogos, madre “y padre” de la citología española, nos expone los aspectos morfológicos de las células que forman el SMF con la ponencia titulada “del monoblasto al histiocito-macrófago”.

A continuación, la Dra. Pilar Giraldo, del Hospital Miguel Servet de Zaragoza, Jefe de Grupo de Investigación del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) y máxima exponente española de la enfermedad de Gaucher, nos hablará de “El macrófago de las enfermedades de depósito lisosomal”.

La ponencia de la Dra. Itziar Astigarraga, del Hospital de Cruces de Bilbao, presidenta del Comité de Histiocitosis de la Sociedad Española de Hemato-Oncología Pediátrica (SEHOP), versará sobre “Linfohistiocitosis hemofagocítica”, poniendo énfasis en los criterios diagnósticos de este proceso.

Por último, el Dr. Carlos Rodríguez-Galindo, del Dana Farber Cancer Institute y Children’s Hospital de Boston, secretario de la Sociedad Americana del Histiocito, comentará sobre “Patología proliferativa de las células de Langerhans”.

Esperamos que este simposio satisfaga las expectativas de los asistentes, permita conocer un poco más a fondo las principales patologías derivadas del SMF y el histiocito y contribuya a fomentar el diagnóstico precoz de estas enfermedades.

## DEL MONOBLASTO AL HISTIOCITO/MACRÓFAGO

S.WOESSNER<sup>1</sup>, L. ARENILLAS<sup>1,2</sup>, A. FERRER<sup>1,2</sup>,  
E. PÉREZ-VILA<sup>1,2</sup>, L. FLORENSA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Escola de Citologia Hematològica  
Soledad Woessner-IMAS. Hospital del Mar. Barcelona.*

<sup>2</sup> *Laboratorio de Citología Hematológica.  
Hospital del Mar. Barcelona*

### Generalidades

El sistema mononuclear fagocítico (SMF), término adoptado por Van Furth<sup>1</sup> en sustitución del de sistema reticuloendotelial, comprende un conjunto de células derivadas de los precursores monocíticos medulares, de los cuales el primero reconocible morfológicamente es el monoblasto y cuyo siguiente eslabón madurativo es el promonocito. El siguiente estadio evolutivo es el monocito, que, tras un paso sanguíneo efímero, se afina en los diversos tejidos del organismo y se constituye en el histiocito o macrófago, última etapa evolutiva de las células del SMF en condiciones de normalidad (Figura 1).

El SMF es un sistema celular importantísimo en la defensa innata del organismo, debido a su gran capacidad de fagocitosis, que ejerce con la máxima “profesionalidad” y que además segrega multitud de citocinas pro y antiapoptóticas (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, entre otras), presenta antígenos a las células T –aunque con menor eficacia que las células dendríticas– y ayuda a la reconstitución tisular así como a la eliminación de partículas extrañas.

Todas las células del SMF en su compartimiento medular, sanguíneo o tisular muestran similitudes con respecto a la tinción de esterasas inespecíficas, posesión de receptores IgG y de complemento así como en relación con su actividad fagocítica y de pinocitosis. Son marcadores de la serie monocítica los antígenos CD11c, CD14, CD36, CD64 y la lisozima o muramidasa. Los macrófagos son intensamente CD68 positivos.

Un 80% de los promonocitos incorporan 3H-timidina; son, por tanto, células que se dividen activamente. Los monocitos y los macrófagos se marcan mínimamente con 3H-timidina, lo que indica una escasa capacidad de división.

Los macrófagos recién llegados a un tejido, que aún no han sufrido estimulación por agentes inflamatorios o inmunológicos, representan una población celular quiescente cuyas capacidades funcionales aparecen sólo esbo-

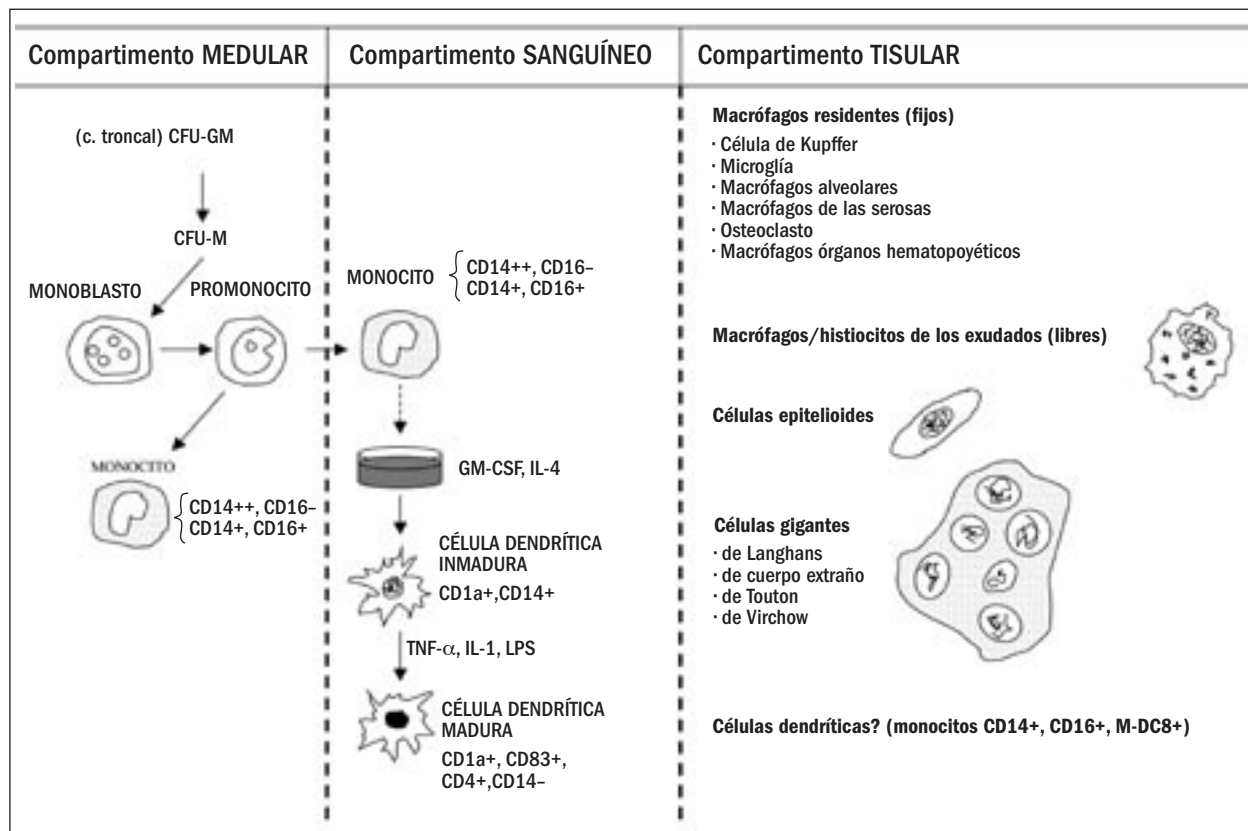


Figura 1. Secuencia madurativa esquemática de las células que integran el sistema mononuclear fagocítico.

zadas; al sufrir una estimulación de naturaleza diversa, se agrandan y experimentan un aumento de su capacidad quimiotáctica y fagocítica, tanto de partículas orgánicas como inorgánicas, un incremento de su dotación de gránulos lisosómicos ricos en hidrolasas ácidas y un aumento de su metabolismo oxidativo con gran producción de iones superóxido entre las sustancias más destacadas. Las distintas localizaciones y microambientes tisulares influyen marcadamente en el fenotipo de los macrófagos que hallamos en los distintos tejidos.

---

### El monoblasto

Procede directamente de una célula troncal comprometida hacia la serie monocítica y es la forma más joven, reconocible morfológicamente, de esta línea celular. Es una célula inmadura, de tamaño superior al del mieloblasto, con un núcleo situado generalmente en posición central, de contorno regular, redondo u ovalado con cromatina fina, generalmente con varios nucléolos bien visibles. El citoplasma es basófilo y puede contener pequeñas vacuolas y tenue granulación azurófila. Su atributo citoquímico más fidedigno es la positividad de esterasas inespecíficas, de patrón difuso y fluoruro-sensible. Su actividad de mieloperoxidasa es muy débil. Posee distintos marcadores inmunofenotípicos como moléculas HLA-DR, CD13, CD33 y CD15, entre otros.

---

### El promonocito

Es la célula que sigue al monoblasto en su maduración. Aunque su proporción es minoritaria en una médula ósea normal, se identifica con facilidad. Posee un núcleo muy característico de contorno no redondo –a diferencia del monoblasto– plegado o hendido con cromatina fina, aunque algo más condensado que su predecesor, con algún pequeño nucléolo visible con el microscopio de luz. El citoplasma ofrece una tonalidad grisácea y está finamente granulado. Su dotación enzimática es la propia de la serie monocítica y, en cuanto a su dotación de antígenos, además de expresar los del monoblasto presenta positividad para CD11b y CD14. Conviene recordar que en la clasificación de las leucemias (M4 y M5) de la OMS, el promonocito se equipara a un monoblasto, de ahí que sea esencial su correcto reconocimiento.

---

### El monocito

El siguiente eslabón madurativo lo constituye la célula de mayor tamaño hallada en una sangre normal. Su diámetro se cifra entre 15 y 30 micrómetros. El núcleo, posicionado centralmente, es voluminoso y adopta

formas abigarradas: en herradura o con dobleces e indentaciones; su cromatina es más densa que la del promonocito y ya no presenta nucléolos visibles. El citoplasma es amplio, de color azul plomizo, comparable al de los barcos de guerra, y contiene un número variable de gránulos azurófilos. El contorno citoplasmático puede ser algo irregular con presencia de pequeñas excrescencias o mamelones, que son la traducción de la actividad superficial observada con el microscopio electrónico y que le habilita para englobar partículas externas previamente a su digestión. Conviene tener presente el aspecto morfológico bastante diferente que puede presentar una serie monocítica patológica según se examine en la sangre periférica o en el aspirado medular. La característica positividad de las esterasas inespecíficas y su fluoruro-sensibilidad alcanza en este estadio la máxima expresividad.

Modernos estudios fenotípicos y de cultivos celulares han demostrado una gran heterogeneidad de los monocitos sanguíneos<sup>2,3</sup>. Existen dos subpoblaciones bien reconocidas: una mayoritaria (CD14<sup>++</sup>, CD16<sup>-</sup>, considerados como los monocitos clásicos), y otra minoritaria (CD14<sup>+</sup>, CD16<sup>+9</sup>), que comprende aproximadamente el 10% de la población monocítica; ambos tipos, si se cultivan con GM-CSF e IL-4, se transforman en células dendríticas mieloides inmaduras, que, a su vez, bajo el influjo del TNF y de lipopolisacáridos, evolucionan a células dendríticas mieloides maduras. Los monocitos CD14<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> expresan mayor número de moléculas HLA-DR, mayor potencial proinflamatorio por sobreproducción de citocinas (TNF e IL-6), aumento de la expresión de p53 y telómeros más cortos que los monocitos CD14<sup>++</sup>, CD16<sup>-</sup><sup>4</sup>. Tienen menor capacidad de adherencia al plástico y menor capacidad de fagocitosis que los monocitos clásicos. Muestran asimismo similitud con células dendríticas debido a su gran capacidad de presentación antigénica y expresan CD209, que es un marcador de célula dendrítica<sup>5</sup>. Con todo, estas células CD14<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> se asignan a la serie monocítica por su morfología, por su expresión de moléculas monocito-asociadas y por su positividad de esterasas inespecíficas fluorurosensibles. Los monocitos CD14<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> se relacionan fenotípicamente con macrófagos alveolares, especulando algunos autores que tendrían un especial tropismo por el pulmón. Más recientemente se ha definido un tercer subtipo de monocitos CD14<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup> que combina características de monocitos y de célula dendrítica, con alta expresión de CD86, de moléculas HLA-DR y gran capacidad estimuladora de linfocitos T<sup>6</sup>.

---

### Los macrófagos inmaduros o histiocitos

Derivan de los monocitos que han atravesado por diapédesis el endotelio vascular y se han afincado en los

diversos tejidos del organismo. Macrófagos e histiocitos son términos sinónimos en opinión de la mayoría de autores<sup>7,8</sup>. Personalmente, preferimos catalogar de **histiocito** a aquella célula tisular del SMF que no presenta material fagocitado, en tanto que reservar el término de **macrófago** a aquel histiocito en el que sí podemos detectar material fagocitado.

El macrófago, término acuñado por Elie Metchnikoff en 1908, padre de los fagocitos, deriva etimológicamente de las palabras griegas *μακρος* ('grande') y *πηγαιν* ('comer'). Son los *big eaters* de los anglosajones: células con gran capacidad fagocítica y de ciclo vital largo, que pueden subsistir durante meses en los diversos tejidos. Es posible una proliferación local de los mismos. En condiciones normales, el macrófago afincado en un tejido no vuelve a la sangre sino que permanece en él hasta finalmente ser destruido in situ o en los ganglios regionales.

La morfología del histiocito/macrófago es muy variada dependiendo del tejido en donde asiente y cuya heterogeneidad refleja la especialización en la función adoptada según la ubicación anatómica (Figura 2); así, tenemos los macrófagos específicos del hígado que son las células de Kupffer, los osteoclastos en el tejido óseo, la microglia, uno de los histiocitos más representativos del sistema nervioso central, los macrófagos de las cavidades serosas, los macrófagos alveolares del pulmón, los macrófagos de la lámina propia del intestino, los macrófagos del bazo y de los ganglios. En la médula ósea existen distintos tipos de macrófagos, entre los que destacan los que centran los islotes eritroblásticos, cuya importancia es capital para una eritropoyesis adecuada. Su aspecto también depende de la capacidad degradativa de todo lo que puede ingerir y atesorar. Una característica morfológica constante del macrófago es su gran tamaño, relación núcleo/citoplasma mucho menor que la del monocito, con el núcleo generalmente rechazado hacia la periferia celular; la cromatina está finamente reticulada, como peinada, y consta de una malla laxa de filamentos entremezclados que se hacen muy evidentes en la zona contigua a la membrana nuclear, que, por ello, queda muy resaltada. Habitualmente se detectan 1 o 2 pequeños nucléolos de color azul celeste en la tinción panóptica. El citoplasma es amplio, de contorno mal definido, y contiene mayor o menor cantidad de granulación azurófila rica en enzimas lisosómicas (fosfatasa ácida, esterasas inespecíficas); y, en relación con el momento funcional, pueden observarse multitud de sustancias o células ingeridas o detritus procedentes de su digestión. El contorno citoplasmático suele estar poco definido, y por microscopía electrónica se observa una superficie de aspecto irregular debida a la presencia de pseudópodos y múltiples microvellosidades que los macrófagos precisan para poder ejercer una correcta fagocitosis y pinocitosis. Los macrófagos pueden fagocitar una gran variedad de bac-

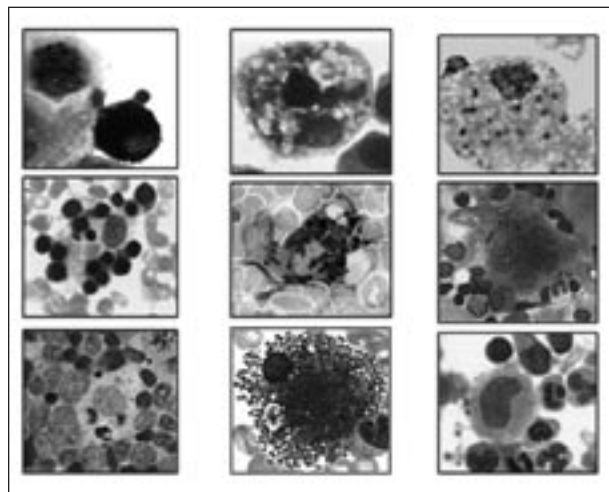


Figura 2. Células del sistema mononuclear fagocítico de aspecto muy diverso en función del tejido en el que asientan. (Tinciones de May Grünwald-Giemsa y de Perls.)

terias, protozoos, parásitos, hongos, hematíes sensibilizados recubiertos de IgG, hematíes senescentes que son reconocidos por los macrófagos gracias a su receptor fosfatidil-serina (CD36), leucocitos, plaquetas, células cancerosas, células dañadas o envejecidas, estructuras cristalinas: sílice, berilio, carbón, hierro, asbesto, pirofosfato cálcico, cristales de ácido úrico, pigmentos y sustratos varios que, en ocasiones, no pueden degradar, transformándose en las denominadas células de tesaurismosis (célula de Gaucher, de Niemann-Pick, histiocito azul marino, entre otras). Cuando atesoran material lipídico se constituyen en los histiocitos espumosos que pueden hallarse en multitud de patologías como diversas formas de hiperlipidemias, enfermedad de Wolman, gangliosidosis de tipo I y II, manosidosis o sialidosis, entre otras. En algunas patologías, como por ejemplo en la fiebre tifoidea, los macrófagos suelen adoptar un aspecto muy peculiar que ya describió Rindsfleisch en el siglo XIX y etiquetó de "células tíficas", que, al agruparse, se constituyen en los tifomas hallados en los cortes histológicos de las placas de Peyer infartadas de los enfermos afectados de fiebre tifoidea y que pueden hallarse también en la médula ósea en una tercera parte de estos pacientes<sup>9</sup>.

Una actividad fagocítica exaltada corresponde a situaciones de activación, como la observada en los síndromes hemofagocíticos, en que se asiste a una auténtica tormenta de citocinas, en tanto que en situaciones proliferativas de las células del SMF, los macrófagos no suelen presentar gran actividad fagocítica (macrófagos inapetentes). La dotación citoquímica de los macrófagos se resume en una gran riqueza de hidrolasas ácidas (fosfatasa ácida, betaglucuronidasa, alfa-naftilacetatoesterasa ácida), de esterasas inespecíficas con un patrón de positividad intenso y difuso; contienen tam-

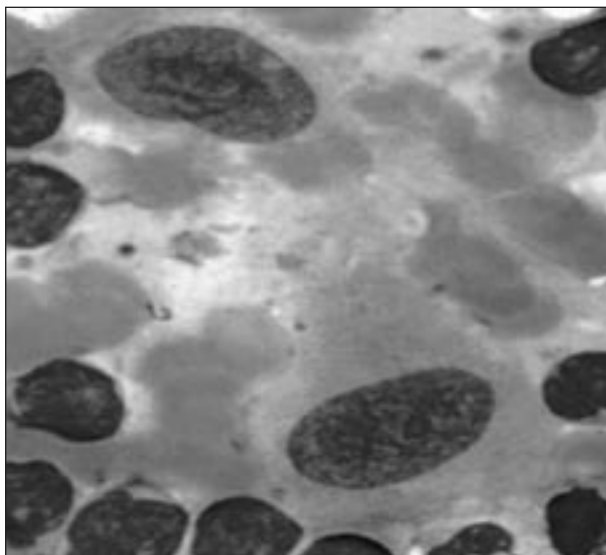


Figura 3. Dos células epitelioides en un aspirado ganglionar. (Tinción de May Grünwald-Giemsa.)

bién muramidasa y hemosiderina, siempre y cuando no exista una situación de ferropenia. Habitualmente son mieloperoxidasa-negativos, pero pueden mostrar positividad si han fagocitado elementos de la granulopoyesis.

Los conocimientos inmunofenotípicos de esta población son más bien escasos; expresan los antígenos CD14, CD11c, CD 68 y CD163.

Conviene recordar que existen algunos macrófagos que presentan apetencias fagocíticas selectivas; tal es el caso de la proteinosis lisinúrica, en que los fagocitos sólo, o preferentemente, fagocitan eritroblastos<sup>10</sup>; el macrófago de cuerpos tingibles de los centros germinales, con apetencia muy selectiva hacia células linfoides apoptóticas; o el histiocito sinusal de la enfermedad de Rosai Dorfman, que engloba preferentemente linfocitos<sup>11</sup>.

Los macrófagos son importantes células secretoras de múltiples citocinas y quimiocinas, de diversas enzimas y participan activamente en variados procesos inflamatorios e inmunitarios. Son células presentadoras de antígenos, si bien con menor efectividad que las células dendríticas. Los macrófagos participan en multitud de fenómenos fisiológicos como la hemostasia, al producir una serie de sustancias que participan en la coagulación como trombomodulina, factor VIII, factor XIII, inhibidor del activador del plasminógeno y proteína C, entre otras. También tienen la misión de reciclar el hierro de los hematíes procedentes de la eritrofagocitosis.

En determinadas circunstancias patológicas los monocitos –y, posiblemente, también los histiocitos– pueden dar lugar a otros dos tipos celulares: las células epitelioides y las células gigantes multinucleadas.

Tabla 1. Diferencias entre monocitos y células epitelioides

	Monocitos	Células epitelioides
Diámetro	15-20 micras	25-40 micras
Tonalidad del citoplasma	azul plumizo	pálida
Límites citoplasmáticos	bien definidos	imprecisos
Configuración nuclear	arriñonada	elongada “en zapatilla”
Aspecto de la cromatina	algo condensada	laxa
Enzimas lisosómicos	+	++
Mieloperoxidasa	+ débil	negativa

### Células epitelioides

Proceden de monocitos en un estadio precoz de diferenciación hacia macrófago y están inducidas por una particular respuesta inflamatoria (Figura 3). Cuando el monocito no puede acabar con el agente agresor mediante fagocitosis (p. ej., micobacterias), cambia su estrategia defensiva y se convierte en célula epiteliode secretora de múltiples citocinas, lo que ocurre en diversas enfermedades granulomatosas. Su tamaño es ligeramente superior al del monocito; se reconocen por un núcleo alargado, ovalado, algo hendido en forma de zapatilla, de cromatina muy fina y poco teñida con algún pequeño nucléolo en las formas más jóvenes; los elementos más envejecidos ofrecen una cromatina más condensada, sin nucléolos visibles (formas escirro). El citoplasma es amplio, de perfil mal delimitado y con escasa apetencia tintorial. Tienen gran tendencia a agruparse y son elementos constitutivos mayoritarios de los granulomas.

Poseen actividad catalásica, pero no peroxidásica. Contienen marcadores histiocíticos como muramidasa y alfa-1-antiquimiotripsina<sup>12</sup>. Los marcadores inmunofenotípicos son los propios de las células del SMF. En la Tabla 1 se anotan las principales diferencias entre monocitos y células epitelioides.

### Células gigantes multinucleadas

Constituyen un posible estadio evolutivo posterior del macrófago y pueden observarse en determinadas situaciones patológicas, muchas veces formando parte de un granuloma<sup>13</sup>. Las células gigantes multinucleadas se forman generalmente por endomitosis, mitosis que no van seguidas de división citoplásmica, o bien por fusión celular mediada por diversos factores promotores de la fusión y de diversas citocinas como la IL-4 y la IL-13 dando lugar a células gigantes de cuerpo extraño, en tanto que otras sustancias como CSF-GM o el interferón gamma inducen preferentemente a las células gigantes de Langhans.

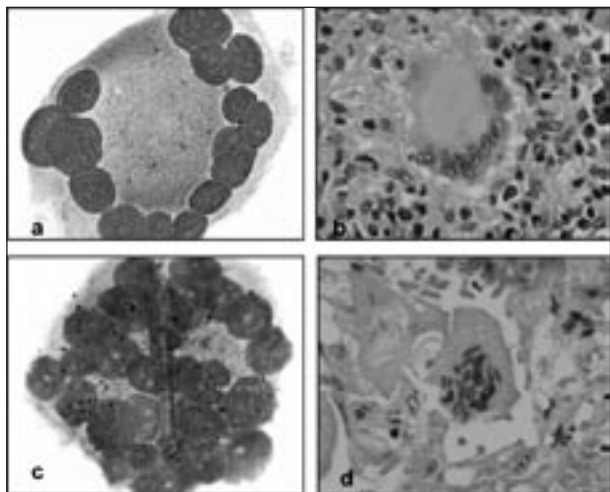


Figura 4. Célula gigante de Langhans. Aspecto morfológico en un frotis (a) y en un corte histológico (b). Célula gigante de cuerpo extraño en un frotis (c) y en un corte histológico (d). (Tinciones de May Grünwald-Giemsa y de hematoxilina-eosina.)

Las células gigantes multinucleadas son, como su nombre indica, de gran tamaño (pueden superar los 100  $\mu\text{m}$ ) y poseen varios núcleos bien individualizados, que en número puede superar la treintena; observadas con el microscopio electrónico de transmisión, se demuestra claramente la ausencia de membrana citoplasmática entre los núcleos; si están presentes en un aspirado medular, no deben confundirse con megacariocitos dismórficos. Pueden ser de distintos tipos:

- La célula gigante de Langhans (Figura 4a y b) posee múltiples núcleos dispuestos en la periferia citoplasmática en forma de paleta de pintor; dichos núcleos delimitan una amplia zona centrosómica formada por la fusión de varios cuerpos de Golgi, y en su citoplasma hay múltiples lisosomas distribuidos uniformemente. Forman parte de granulomas de distintas etiologías, especialmente de la tuberculosa.

- Otro tipo de célula gigante es la célula gigante de cuerpo extraño (Figura 4c y d); en éstas, a diferencia de las células de Langhans, los múltiples núcleos adoptan una situación central y los lisosomas tienden también a concentrarse en el centro del citoplasma.

- Una variedad de célula gigante es la célula gigante de Touton, también denominada gigante xantelmática (Figura 5). Se caracteriza por ser gigante, multinucleada y contener lípidos en su citoplasma; es requerimiento para su formación que, al estímulo que condiciona la fusión celular, se le añada un factor de absorción lipídica, el cual está ausente en la formación de los otros tipos de células gigantes. La microscopía electrónica muestra abundantes gotas lipídicas en su citoplasma, y la reacción del rojo al aceite suele ser positiva. La abundancia de antiqumiotripsina, anti-alfa 1 antitripsina y lisozima certifica su pertenencia al SMF.

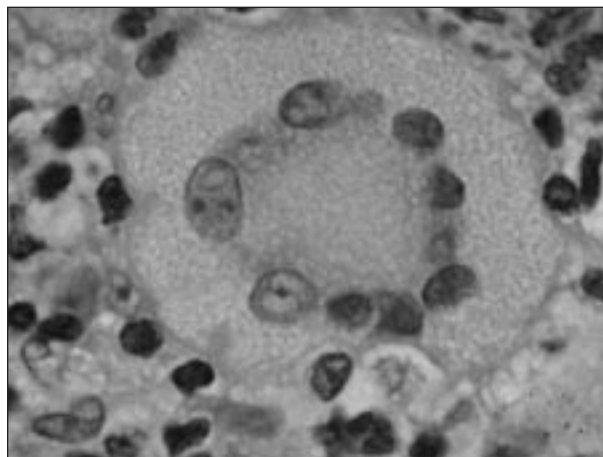


Figura 5. Célula gigante multinucleada de Touton en un xantelasma. (Tinción de hematoxilina-eosina.)

- Las células de Virchow son otras células gigantes multinucleadas que contienen bacilos de Hansen; poseen de 3 a 10 núcleos de cromatina finamente reticulada y con nucléolos visibles. En ocasiones se observa una imagen negativa (espacios intracitoplasmáticos no teñidos) que aparece como pequeñas estructuras cristaloides en la tinción de Giemsa y que corresponden a haces de *Mycobacterium leprae* evidenciados mediante la tinción de Ziehl-Neelsen modificada<sup>14</sup>, imagen muy parecida al del citoplasma de las células pseudo-Gaucher repleto de *Mycobacterium avium* de los enfermos de sida.

Finalmente aludiremos a unos tipos de macrófagos con especial relevancia en el contexto hematológico: el macrófago que centra el islote eritroblástico medular y el macrófago con cuerpos tingibles de los centros germinales del ganglio y los macrófagos esplénicos.

### Macrófagos de la médula ósea

El macrófago medular con mayor personalidad es el que forma parte del islote eritroblástico (Figura 6). El islote eritroblástico es una estructura anatómica constituida por un macrófago central rodeado de múltiples eritroblastos en distintos estadios evolutivos. Fue descrito hace ya 50 años por Marcel Bessis gracias a estudios ultraestructurales de secciones de médula ósea. Los islotes eritroblásticos no se observan frecuentemente en los aspirados medulares, ya que suelen dislacerarse con las maniobras de aspiración y extensión del material obtenido por punción. Los eritroblastos, en número que oscila entre 5 y 30, circundan al macrófago y comparten extensos contactos membranarios con el mismo con intercambio de información entre ambos tipos celulares. Estudios moleculares recientes han renovado el interés por esta estructura anatómica, que es muy importante para un desarrollo eritroblástico normal. En un nido

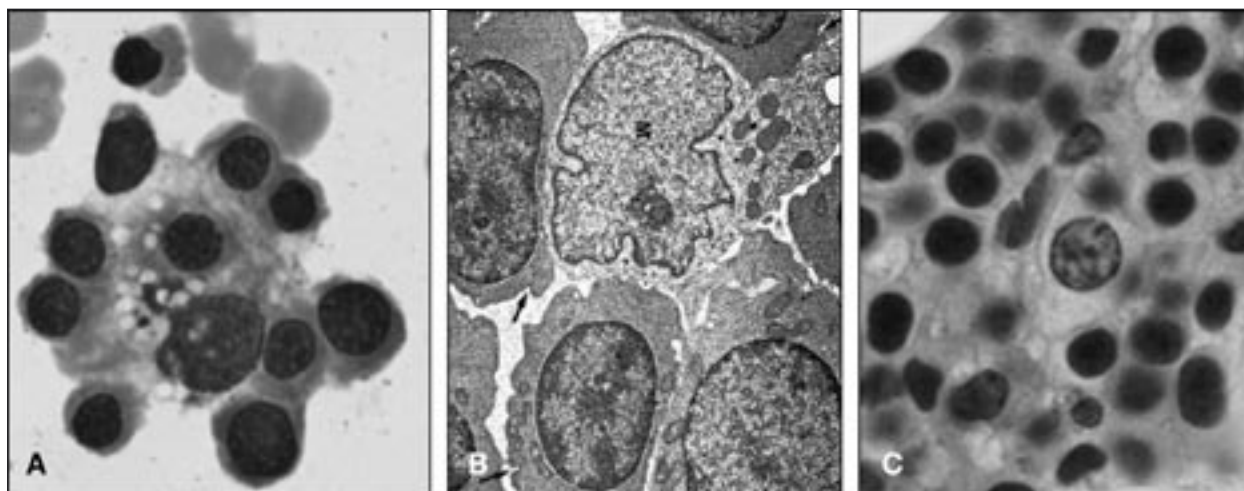


Figura 6. Macrófago de un islote eritroblástico observado en un aspirado medular (A) con el microscopio electrónico de transmisión (B) y en un corte histológico (C).

eritroblástico normal los eritroblastos más cercanos al macrófago corresponden a las formas más jóvenes, situándose los reticulocitos en la periferia del nido eritroblástico. El macrófago que centra un islote eritroblástico aporta a los eritroblastos diversas sustancias tróficas como determinadas citocinas, factores de crecimiento como eritropoyetina y, así como ferritina, que los eritroblastos incorporan por el mecanismo de la rofeocitosis; se justifica, pues, el calificativo de **célula nodriza** para este macrófago<sup>15</sup>; además, no experimenta estallidos respiratorios y, en consecuencia, no desprende moléculas oxidantes tóxicas, por lo cual merece el calificativo de “célula nodriza perfecta”<sup>16</sup>. Otra importante función de la célula nodriza es la de fagocitar los núcleos de los eritroblastos que éstos expulsan en su etapa terminal de diferenciación. Por otra parte, al igual que los macrófagos persinusoidales, fagocitan células eritroides defectuosas o envejecidas, impidiendo su paso a la circulación. La célula nodriza y los eritroblastos experimentan interacciones de adherencia que mantienen la integridad del islote. En esta interacción eritroblasto-macrófago intervienen diversas moléculas de adhesión que, por parte del macrófago, se refiere a la molécula EMP (*erythroblast macrophage protein*), VCAM-1, alfa (v) integrina, entre otras. Se ha podido demostrar que la molécula de adhesión ICAM-4 es crítica en la constitución del islote eritroblástico al unirse a la molécula alfa (v) del macrófago<sup>17</sup>. El ambiente extracelular vecino al nido eritroblástico también está modulado en parte por el macrófago central, facilitando el movimiento de los islotes hacia los sinusoides medulares y el consiguiente paso de los reticulocitos a la circulación.

La importancia del macrófago central se ve reforzada con estudios experimentales que han demostrado de modo fehaciente que el contacto directo con aquél favorece in vitro la proliferación de eritroblastos; éstos

prolifera tres veces más que si los precursores eritroides se cultivan solos<sup>18</sup>. Asimismo, anomalías en la función macrofágica (por alteraciones de la paladina, de la proteína supresora del tumor del retinoblastoma, etc.) pueden conducir a perturbaciones en la función del nicho eritroide<sup>19</sup>. Todo ello apoya el concepto de que una función macrofágica perturbada pueda dar lugar a una anemia que responda mal al tratamiento con eritropoyetina, como sucede en las anemias asociadas a neoplasias malignas o a inflamación crónica.

Este macrófago comparte las características citoquímicas propias de las células del SMF, así como los marcadores inmunofenotípicos, y además expresa los antígenos CD69 y CD163 que se han identificado como receptores de eritroblastos.

El macrófago medular también puede rodearse de otras células que no sean eritroblastos, como linfocitos B o células plasmáticas, en cuyo caso se constituye el islote inmunológico. El macrófago está cargado de antígenos y se establece un estrecho contacto macrófago-célula linfoide, una auténtica sinapsis inmune. El paso de la información antigénica del macrófago al linfocito hace que éste experimente una metamorfosis y se transforme en célula plasmática productora de anticuerpos. Asimismo, es posible la formación de rosetas constituidas por un macrófago central al que se adhieren varios linfocitos T<sup>20</sup>.

Otros macrófagos de la médula ósea son los persinusoidales que no presentan atributos especiales aparte de su localización.

### Macrófagos ganglionares

El ganglio posee unos macrófagos muy peculiares que se denominan **macrófagos con cuerpos tingibles** (*tingi-*

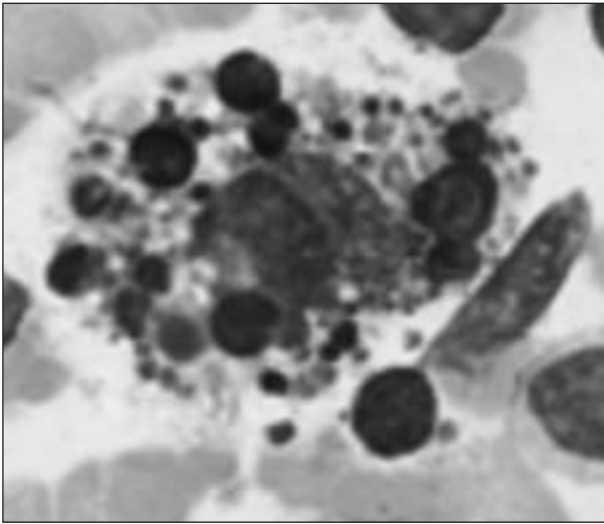


Figura 7. Macrófago con cuerpos tingibles en un aspirado ganglionar. (Tinción de May Grünwald-Giemsa.)

*ble body macrophages*), que se ubican en los centros germinales próximos a las células foliculares dendríticas<sup>21</sup>. (Figura 7). Contienen en su citoplasma abundantes detritus nucleares (de donde procede el nombre) provenientes mayoritariamente de linfocitos B apoptóticos; también contienen detritus citoplasmáticos y hematíes en distintos estadios de lisis. Por endocitosis adquieren y presentan antígenos y así ayudan a regular la magnitud de las reacciones del centro germinal. Estos macrófagos segregan una glicoproteína, denominada MFG-E8, que atrae las células apoptóticas con la finalidad de ser fagocitadas.<sup>22</sup> También se ha constatado su riqueza en prostaglandina en comparación con la de otros macrófagos ganglionares externos al centro germinal.

Se suele detectar una gran proliferación de estos macrófagos centrofoliculares en diversas situaciones patológicas, tanto reactivas como neoplásicas, especialmente en los linfomas de alto grado de malignidad. La gran abundancia de macrófagos de cuerpos tingibles proporciona al corte histológico del centro germinal un aspecto comparado al de un cielo estrellado (Figura 8). Otros histiocitos ganglionares son los ubicados en los senos ganglionares y están involucrados preferentemente en la fagocitosis de partículas extrañas; finalmente están los histiocitos presentes en las áreas paracorticales, ricas en linfocitos T; todos estos macrófagos comparten características inmuno e histoquímicas propias de las células del SMF (HLA-DR +, receptores de complemento y de IgG+, CD11+, CD14+, CD4+, CD68+, fosfatasa ácida+, esterasas inespecíficas+, lisozima+, alfa-1-antiquimiotripsina+).

Para terminar, una breve referencia a los macrófagos del bazo, órgano extraordinariamente rico en fagocitos. La pulpa roja del bazo y sus senos venosos están revestidos de multitud de macrófagos. El paso enlen-

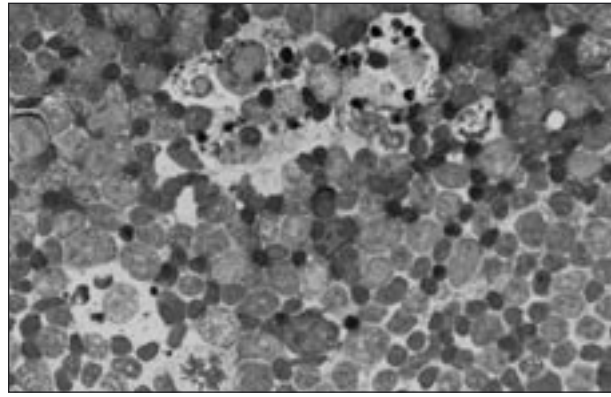


Figura 8. Tres macrófagos con cuerpos tingibles que proporcionan al corte histológico el aspecto en cielo estrellado. (Tinción de hematoxilina-eosina.)

tecido de la sangre a través de los cordones de Billroth crea una situación ambiental y metabólica muy favorable para que los macrófagos puedan fagocitar desechos indeseables de la sangre, en especial hematíes envejecidos o con taras, así como diversas inclusiones de su interior. Además de los macrófagos de la pulpa roja debemos citar los macrófagos de la zona marginal esplénica, de capital importancia en la defensa antiinfecciosa pero sin atributos morfológicos especiales. Los macrófagos de la pulpa blanca del bazo ofrecen también el aspecto de macrófagos con cuerpos tingibles.

Como se desprende de lo expuesto, el SMF es, pues, un sistema celular ampliamente representado en todos los órganos, de gran importancia en nuestros mecanismos defensivos y que participa en multitud de situaciones reactivas, pero también en patologías malignas, a veces de difícil diagnóstico, que precisan la conjunción de todas las técnicas hoy día a nuestro alcance.

## Bibliografía

1. Van Furth R, Raeburn JA, van Zwet TL. Characteristics of human mononuclear phagocytes. *Blood*. 1979; 54: 485-500.
2. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*. 2005; 5: 953-64.
3. Ziegler-Heitbrock HW. Heterogeneity of human blood monocytes: the CD14+, CD16+ subpopulation. *Immunol Today*. 1996; 17: 424-8.
4. Carracedo J, Merino A, Noguera S, Carretero D, Berdud I, Ramírez R, et al. On-line hemodiafiltration reduces the proinflammatory CD 14+ CD16+ monocyte derived dendritic cells: a prospective, crossover study. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17: 2315-21.
5. Geissmann F, Auffray C, Palframan R, Wirrig C, Ciocca A, Campisi L, et al. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell response. *Immunology and Cell Biology*. 2008; 86: 398-408.
6. Grage-Griebenow E, Flad HD, Ernst M, Bzowska M, Skrzeczyńska J, Pryjma J. Human MO subsets as defined by expression of CD 65 and CD 16 differ in phagocytic activity and generation of oxygen intermediates. *Immunobiology*. 2000; 202: 42-50.

7. Gordon S. The macrophage: past present and future. *Eur J Immunol.* 2007; 37 (Suppl. 1): 9-17.
8. Züllig S, Hengartner MO. Tickling macrophages, a serious business. *Science.* 2004; 304: 1123-4.
9. Navarro JA. La célula tífica en la médula ósea. *Sangre.* 1962; 7: 287-97.
10. Parenti G, Sebastio G, Strisciuglio P, Incerti B, Pecoraro C, Terraciano L, et al. Lysinuric protein intolerance characterized by bone marrow abnormalities and severe clinical course. *Pediatr.* 1995; 126: 246-51.
11. Carbone A, Passannante A, Gloghini A, Devaney KO, Rinaldo A, Ferlito A. Review of sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai-Dorfman disease) of head and neck. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1999; 108: 1095-104.
12. Knolle J. Immunohistochemical characterization of epithelioid cells. *Acta Histochem Suppl.* 1983; 35: 159-64.
13. Anderson JM. Multinucleated giant cells. *Curr Opin Hematol.* 2000; 7: 40-7.
14. Gupta SR, Kumar B, Kaur S. Aspiration cytology of lymph nodes in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1981; 49: 9-15.
15. Chassis JA, Monadas N. Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis. *Blood.* 2008; 112: 470-8.
16. Manwani D, Bieker JJ. The erythroblastic island. *Curr Top Dev Biol.* 2008; 82: 23-53.
17. Lee G, Lo A, Short SA, Mankelov TJ, Spring F, Parsons SF, et al. Targeted gene deletion demonstrates that the cell adhesion molecule ICAM-4 is critical for erythroblastic island formation. *Blood.* 2006; 108: 2064-71.
18. Leimberg MJ, Prus E, Konijn AM, Fibach E. Macrophages function as a ferritin iron source for cultured human erythroid precursors. *J Cell Biochem.* 2008; 103: 1211-8.
19. Liu XS, Li XH, Wang Y, Shu RZ, Wang L, Lu SY, et al. Disruption of palladin leads to defects in definitive erythropoiesis by interfering with erythroblastic island formation in mouse fetal liver. *Blood.* 2007; 110: 870-6.
20. Novak IT, Cabral HR. Rosette formation by macrophages with altered T lymphocytes is precluded by inhibitors of antigen processing and presentation. *Biocell.* 2008; 32: 169-74.
21. Smith JP, Burton GF, Tew JC, Szakal AK. Tangible body macrophages in regulation of germinal center reactions. *Dev Immunol.* 1998; 6: 285-94.
22. Hanayama R, Miyasaka K, Nakaya M, Nagata S. MFG-E8-dependent clearance of apoptotic cells, and autoimmunity caused by its failure. *Curr Dir Autoimmun.* 2006; 9: 162-72.

## EL HISTIOCITO: EL MACRÓFAGO DE LAS ENFERMEDADES DE DEPÓSITO LISOSOMAL

P. GIRALDO<sup>1</sup>, P. IRÚN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hematología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. CIBERER

<sup>2</sup>Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

### Introducción

Las enfermedades de depósito lisosomal (EDL) son un conjunto de entidades clínicas caracterizadas por amplia variabilidad genotípica y fenotípica, la implicación de diferentes órganos y sistemas, su carácter genético hereditario y el importante protagonismo

Tabla 1. Funciones del monocito-macrófago

1. Producción de enzimas lisosomales
2. Fagocitosis y eliminación de partículas
3. Función adaptativa inmunomoduladora

del que goza la línea celular implicada, el monocito-macrófago<sup>1-3</sup>.

### Monocito-macrófago

El monocito, célula procedente fundamentalmente de la línea mieloide-granulocitaria de la médula ósea, es la célula “diana” de las EDL, consiste en una célula multifuncional comprometida y versátil (Tabla 1). Su morfología uniforme en la médula ósea y sangre periférica es cambiante y se adapta al entorno cuando se transforma, de acuerdo con las condiciones ambientales, en macrófago<sup>4</sup>.

La maduración del monocito-macrófago transcurre en la médula ósea, con una duración temporal de siete días desde que la célula madre pluripotencial es comprometida hacia la producción de la línea celular mononuclear-macrófaga. Del progenitor mieloide común deriva la unidad formadora de colonias granulocito/macrófago (CFU-GM). Las células que forman estas colonias pasan a monocitos al ser estimuladas por IL-3 o GM-CSF (factor estimulante de colonias granulocito/macrófago)<sup>5</sup>. Si los monocitos son estimulados con M-CSF (factor estimulante de colonias de macrófagos), dan lugar a macrófagos, mientras que si son estimulados con GM-CSF, IL-4 y TNF- $\alpha$  originan células dendríticas. Las citocinas del entorno y otras señales de diferenciación estimulan la interconversión de estas células entre sí<sup>6</sup> (Tabla 2).

En la sangre periférica los monocitos son minoritarios, representan el 2-9% del total de los leucocitos circulantes, y, además, están en tránsito durante un máximo de 72 horas para llegar a los diferentes tejidos. Sin embargo, las células de esta línea celular produci-

Tabla 2. Proteínas reguladoras de la actividad del monocito-macrófago. Citocinas

1. IL-10 estimula la expresión de receptor 1 de la fracción constante (Fc) de la IgG en el macrófago estimulando la fagocitosis mediada por IgG y por complemento
2. Interferón gamma estimula la expresión del receptor 1 de la fracción constante de la IgG
3. IL-4 disminuye la expresión de todos los receptores de IgG disminuyendo la fagocitosis mediada por IgG y activando la expresión de los receptores de la molécula del factor 3 del complemento activando la fagocitosis mediada por C3

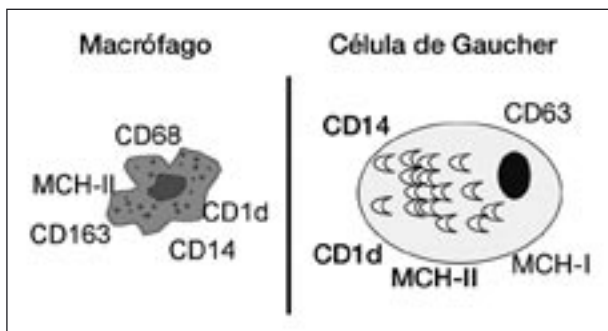


Figura 1. Marcadores de superficie del macrófago y de las células de Gaucher.

das en la médula ósea tienen una función primaria que es la endocitosis y, cuando emigran a los diferentes tejidos, desarrollan funciones propias del órgano donde asientan en función de las condiciones ambientales a las que son sometidas. Entre ellas existe una gran heterogeneidad, por lo que en cada órgano hay subpoblaciones fenotípicamente diferentes. La diversidad de los macrófagos se expresa por el gran número de anticuerpos monoclonales que puede ser dirigido hacia ellos. La expresión de CD14 y CD68 es muy común entre los macrófagos; sin embargo, no es un marcador universal. La expresión del receptor M-CSF es reconocido por el anticuerpo CD115, pero tampoco constituye un marcador universal del macrófago. La heterogeneidad de los marcadores expresa la multifunción de esta línea celular, con gran cantidad de vías de activación y distintos perfiles de expresión<sup>7,8</sup>. Sin duda, la aplicación de tecnología *microarray* para identificar el perfil molecular de la célula puede contribuir a precisar la promiscuidad de la expresión de los marcadores de superficie<sup>9</sup>. En las células de Gaucher la expresión de los antígenos de HLA-DR es de mayor intensidad que en los monocitos normales<sup>10</sup> (Figura 1).

La proteína soluble CD163 (sCD163) se ha identificado en el plasma como procedente del monocito-macrófago y aparece incrementada en pacientes con enfermedad de Gaucher así como en leucemia mieloide o infecciones<sup>11</sup>.

La heterogeneidad del macrófago viene explicada en parte por el origen en diferentes precursores, la mayoría proceden de la línea mieloide, pero también algunos precursores linfoides pueden madurar a macrófagos; por tanto, las células del sistema pueden ser inmunofenotípicamente diferentes. En segundo lugar, los factores ambientales son fundamentales para la transformación a los diferentes subtipos celulares con distinta funcionalidad. La naturaleza de células centinela les confiere una especial sensibilidad para el entorno, estando especialmente atentas a las señales y a transportar información no solamente al sistema inmunitario sino también a otros como el hematopoyético y neuroendocrino.

Tabla 3. Denominación de los macrófagos según el órgano en que asientan

«Los macrófagos presentan, además de diferente morfología dependiendo del órgano donde se localicen, distinta actividad según su grado de maduración, su activación y su propia localización.»
Hígado: células de Kuffer
Tejido óseo: osteoclastos
Tejido nervioso: células de microglia
Piel: células de Langerhans
Bazo: células dendríticas
Sistema linfático: monocitos, macrófagos, células dendríticas
Pulmón: macrófagos alveolares
Tejido conectivo: histiocitos

El paso a los tejidos tiene lugar por la capacidad del monocito para reconocer a las células endoteliales y unirse a ellas. La unión se produce mediante las moléculas de adhesión ICAM-1 expresadas en las células endoteliales y las LFA-1 presentes en los monocitos; una vez que tiene lugar el reconocimiento, se produce el paso hacia los tejidos, un mecanismo funcional de singular importancia porque permite entender que los monocitos pueden llegar a todos los lugares del organismo a través de la sangre y vehiculizar sustancias a pequeña concentración para colocarlas en “santuarios” adonde no pueden acceder moléculas terapéuticas<sup>12</sup>.

Al llegar el monocito a los tejidos por la influencia de proteínas y señales celulares a las que son muy sensibles, se transforman en macrófagos diferenciados fenotípicamente según el tejido donde asientan, para llevar a cabo sus diferentes funciones (Tabla 3).

En el citoplasma del macrófago se encuentran los lisosomas, estructuras de 5-10 nm de diámetro, a modo de vesículas que contienen enzimas hidrolíticas que desarrollan su máxima actividad a pH ácido; son hidrolasas ácidas. Se producen en el aparato de Golgi y las enzimas se sintetizan en el retículo endoplásmico rugoso. La fusión en el citoplasma con los fagosomas que contienen material extracelular desencadena la secreción de las hidrolasas, que desarrollan una intensa actividad enzimática catalizando la degradación intracelular de moléculas complejas derivadas del metabolismo intra o extracelular, enlazando con la función de fagocitosis y eliminación de partículas y restos celulares rodeados de IgG y de factores del complemento para favorecer la internalización<sup>13</sup>.

El macrófago como protagonista de la función adaptativa es indispensable para la correcta modulación del sistema inmunitario, desempeñando un papel estimulador o inhibitor en amplio número de entidades. En la complejidad del sistema inmunitario interviene presentando el antígeno al linfocito B a través del APC (*antigen presenting cell*), y expresa MHC-II (complejo prin-

**Tabla 4. Citocinas producidas por el macrófago**

• MCP-1
• RANTES
• MIP
• TNF- $\alpha$
• IL-1, IL-2, IL-6, IL-12
• Interferón gamma
• C2, C3, C4, C5

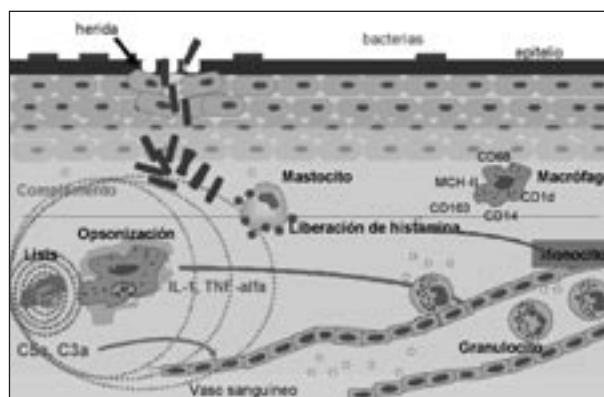
principal de histocompatibilidad de tipo II)<sup>14</sup>. La expresión antigénica es regulada también por IL-4 y el interferón gamma estimulando la expresión de MHC-II, mientras que la IL-10 la inhibe (Tabla 4).

En el proceso de la inflamación, los macrófagos activados sintetizan y liberan moléculas que atraen a los monocitos a la zona de inflamación y aumentan la expresión de las moléculas de adhesión en éstos y en las células endoteliales de vasos sanguíneos para favorecer la extravasación a tejidos (Figura 2).

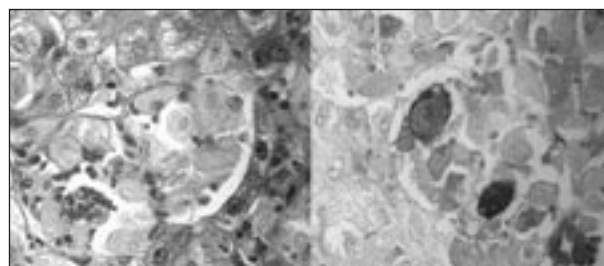
Estas moléculas son citocinas procedentes del macrófago, como la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1: *Monocyte Chemoattractic Protein-1*), la quimiocina secretada y expresada por las células T normales mediante activación celular (RANTES: *Regulated-upon-Activation, Normal T-cells Expressed and Secreted chemokine*) y la proteína inflamatoria de los macrófagos (MIP: *Macrophage Inflammatory Protein*)<sup>15</sup>. Los macrófagos activos también puede sintetizar otras citocinas como el TNF, IL-1 y el interferón gamma (Tabla 5).

Todos estos procesos se ven alterados y comprometidos en las EDL; así, las citocinas MIP-1 $\alpha$  y MIP-1 $\beta$  están significativamente elevadas en la EG y de manera similar a lo que ocurre en las complicaciones esqueléticas del mieloma múltiple<sup>16</sup>.

Los macrófagos almacenan el hierro procedente de los eritrocitos lisados. Lo incorporan a través de receptores para la ferritina y para la transferrina. En los pacientes con enfermedad de Gaucher se produce en los depósitos de ferritina un incremento atribuido, en parte, a la activación del monocito-macrófago por el incremento de los depósitos intracelulares y, en parte, al bloqueo inducido por la cronicidad del proceso<sup>17</sup>. De hecho, más de la mitad de los pacientes con enfermedad de Gaucher de tipo I presentan concentración



**Figura 2. Inflamación y citocinas involucradas.**



**Figura 3. Células de Gaucher con depósitos intracelulares de hierro.**

basal de ferritina sérica elevada al diagnóstico, y ésta disminuye en relación con la respuesta al tratamiento (Figura 3).

Se ha especulado sobre la mayor incidencia de infecciones en los pacientes con EG justificando esta mayor tendencia en los pacientes esplenectomizados. Sin embargo, en los pacientes no esplenectomizados y que presentan infecciones recurrentes la función anti-infecciosa del macrófago podría estar comprometida por el defecto enzimático<sup>18</sup>.

**Tabla 5. Clasificación de los receptores de membrana de las citocinas**

Receptores de factores de crecimiento hematopoyético: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, GM-CSF y G-CSF
Receptores de interferón (IFN). Tienen receptores a y b. Pertenecen a esta familia: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$
Receptores de factores de crecimiento transformante (TGF). Pertenecen a esta familia: TGF- $\alpha$ y TGF- $\beta$
Receptores del factor de necrosis tumoral (TNF). Pertenecen: TNF- $\alpha$ y TNF- $\beta$
Receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Pertenecen a esta familia: IL-1a, IL-1b, IL-16a, IL-1b, IL-16, IL-8
Factor activador de las plaquetas (PAF)

### Enfermedades de depósito lisosomal

En el macrófago de las enfermedades lisosomales se produce por error genético una hidrolasa funcionalmente defectuosa que puede ser catalíticamente inactiva o tener defectos en el procesamiento postsíntesis de la enzima o producirse déficit de proteína activadora o bien déficit de la proteína transportadora necesaria para evacuar el material digerido desde el lisosoma, y como consecuencia se produce un acúmulo de sustrato en el interior de la célula debido al catabolismo incompleto del mismo con acumulación del metabolito insoluble parcialmente degradado en el interior.

Los lisosomas aumentan en cantidad y tamaño para intentar resolver la situación y se produce interferencia con la función celular normal.

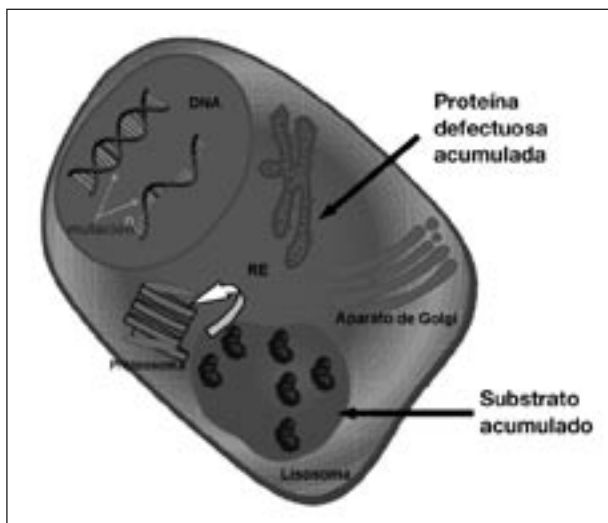


Figura 4. Lisosomas y mecanismo del depósito.

Recientemente, la Dra. Mia Horowitz, de Israel, ha demostrado que la GC es sintetizada en el retículo endoplásmico unido a los polirribosomas. A continuación se produce la N-glicosilación y es transportada al aparato de Golgi desde donde se intercambia con los ribosomas. El estudio demuestra que las variantes mutantes de b-GC presentan niveles variables de retención y retraso en la degradación en el proteosoma. Este proceso puede ser uno de los factores que condicionan la mayor o menor gravedad de la enfermedad<sup>19</sup>.

El proceso de acúmulo del sustrato en los lisosomas comienza en el periodo fetal, pero en muchas enfermedades no se producen síntomas clínicos hasta el primer año de vida; y, en algunas de ellas, en las formas juveniles y del adulto los síntomas se presentan mucho más tardíamente (Figura 4).

Como consecuencia del estímulo constante del monocito-macrófago también se produce incremento en otras enzimas y citocinas (Tabla 6). Una de ellas, la quitotriosidasa, pertenece a la familia de las quitinasas, unas enzimas que hidrolizan quitina y se encuentran abundantes en una amplia variedad de especies no vertebrados incluyendo bacterias, peces, hongos, insectos, nematodos y plantas, los macrófagos humanos producen este análogo de quitina: quitotriosidasa (QT). Esta enzima es de interés por varias razones: se produce en grandes cantidades por los macrófagos con déficit enzimático lisosomal, especialmente en la enfermedad de Gaucher, en que se encuentra una actividad cientos de veces elevada con respecto a los sujetos sanos. También aparece elevada en los pacientes con enfermedad de Niemann-Pick, en infecciones fúngicas, por micobacterias y por leishmanias, también en granulomatosis como sarcoidosis.

Tabla 6. Marcadores de actividad macrófaga

Fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP)
β-hexosaminidasa
Lisozima
Ferritina
Glucosilceramida
Proteína asociada a la membrana lisosomal (LAMP)
Enzima convertidora de la angiotensina (ACE)

La QT se está utilizando como marcador de respuesta a tratamiento en los pacientes con EG, aunque no es un marcador de excelencia, ya que tiene varios problemas; si bien es sensible al efecto que produce el tratamiento en el macrófago, no todos los sujetos tienen una producción estable y comparable, ya que la duplicación de 24 pb en el gen de la QT es bastante frecuente (30-40%) entre la población y condiciona que los portadores del defecto tengan una producción disminuida con respecto a los que poseen los dos alelos activos; además, hasta el 6% de la población caucásica carece por completo de actividad, al heredar la duplicación en los dos alelos del gen y tener, por tanto, un gen nulo para la QT<sup>20</sup>.

Un marcador subrogado de macrófago activado: la citocina CCL18/PARC, marcador de activación del macrófago pulmonar, se está utilizando como marcador de seguimiento de los pacientes con EG ya que esta proteína se encuentra 29 veces más elevada en los pacientes con EG y no existe solapamiento entre pacientes y controles.

### Enfermedad de Gaucher

Más de ciento veinte años después de su descripción, la EG continúa siendo, por una parte, una enfermedad enigmática en muchos aspectos; y, por otra, un modelo de actuación para otras enfermedades metabólicas hereditarias, de menor prevalencia pero con rutas metabólicas compartidas. Fue la primera en disponer de tratamiento enzimático sustitutivo, a principio de la década de los noventa; después, otras enfermedades lisosomales de acúmulo como la enfermedad de Fabry, la enfermedad de Pompe y la enfermedad de Hunter han conseguido también disponer de TES.

La variabilidad de las manifestaciones clínicas, la repercusión del tratamiento sobre la evolución natural de la enfermedad y la ausencia de una buena correlación genotipo-fenotipo suponen retos para la investigación de cuestiones todavía no resueltas. Hay preguntas importantes por responder, como el hecho sorprendente de que hasta entre hermanos que han heredado los mismos genes defectuosos la enferme-

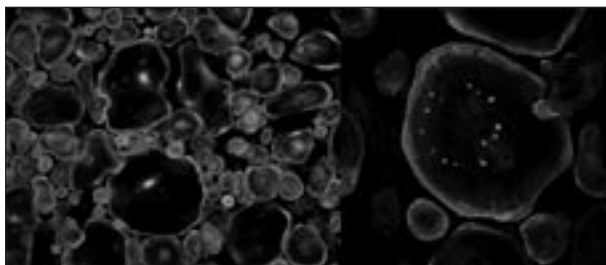


Figura 5. Imágenes de la transformación de monocitos a macrófagos y cinturón de actina.

dad se manifiesta con distinta intensidad y diferentes características. Es decir, la mutación en el gen de la GC no se traduce en un fenotipo homogéneo; posiblemente, otros defectos en proteínas activadoras o en el propio mecanismo de acción de la GC podrían ser la clave de estas diferencias.

Otro aspecto no aclarado es la predilección por el lugar de depósito: ¿por qué es predominante en tejido nervioso o en el hueso? ¿Tienen los macrófagos de la EG algunas características peculiares? ¿Hay un sustrato diferente?

Las lesiones óseas constituyen algunas de las complicaciones más importantes de la enfermedad y siguen apareciendo en un porcentaje elevado de casos a pesar del tratamiento enzimático sustitutivo prolongado.

Para valorar la influencia que el medio tiene en la transformación del monocito a macrófago, nuestro grupo está realizando experimentos *in vitro* mediante cultivos de monocitos obtenidos de sangre periférica de sujetos normales y de pacientes con EG de tipo 1 con distintos grados de afectación ósea para inducir posteriormente su transformación a osteoclastos (OC) mediante el aporte de factor estimulante de formación de colonias de macrófago (M-CSF) y de receptor ligando del activador del factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL). Para el seguimiento de la evolución de los cultivos, utilizamos como marcadores de OC el receptor de vitronectina CD51/61, la actividad fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP) y la concentración de proteína inflamatoria MIP-1 $\beta$ . Los resultados obtenidos indican que el marcador más adecuado para seguir la formación de OC es la actividad TRAP 5b, que se incrementa a partir del día 14 del inicio del cultivo, sin encontrar diferencias entre monocitos cultivados únicamente con M-CSF y aquellos en los que, además, se incorpora RANKL. Asimismo, determinamos la liberación del fragmento polipeptídico derivado del colágeno de tipo I (CTX-I) como marcador de resorción ósea. Estos experimentos nos sirven de base para incorporar al medio de cultivo los diferentes agentes terapéuticos y determinar su influencia en la transformación a osteoclastos<sup>21</sup> (Figura 5).

## Influencia del estímulo prolongado de los mecanismos de la inflamación y desarrollo de comorbilidades

Se especula sobre la influencia que el acúmulo anómalo de glucocerebrósido en el macrófago induce la activación del sistema reticuloendotelial desencadenando de forma crónica y constante un estímulo para la línea linfóide B, que podría justificar parcialmente, y junto al desequilibrio en el metabolismo lipídico, la mayor incidencia de gammopatías policlonales, superior al 70% en el Registro Español de Enfermedad de Gaucher<sup>22</sup>.

Se ha discutido *in extenso* la asociación entre EG y enfermedades linfoproliferativas. Diversos autores refieren que el 85% de los pacientes afectados de EG de menos de 50 años presentan componentes oligoclonales séricos. Como justificación a este hecho hay que considerar que el monocito-macrófago es una célula muy comprometida en el funcionamiento del sistema inmunitario humano, actuando directamente como elemento efector de la fagocitosis y como presentadora de antígenos para los elementos linfoides de la línea B, entre otros cometidos importantes en el funcionalismo de la inmunidad; se especula en este sentido si la constante estimulación del sistema inmunitario que sufre el paciente con EG condicionaría la eventual aparición de gammopatías monoclonales y síndromes linfoproliferativos, incluido el mieloma múltiple. Recientemente se han publicado dos estudios epidemiológicos –en 460 y 1.525 pacientes, respectivamente, con enfermedad de Gaucher de tipo 1– que evaluaban el riesgo de desarrollo de enfermedades neoplásicas: en el primero se estima un riesgo elevado de mieloma múltiple (RR: 25; IC 95%: 9,17-54,40) y otras neoplasias hematológicas (RR: 3,45; IC 95%: 1,49-6,79) y cáncer sólido (RR: 1,80; IC 95%: 1,32-2,40). En el segundo estudio, el riesgo de cáncer (RR: 0,91; IC 95%: 0,76-1,08 [n = 137])<sup>23,24</sup>.

## Enfermedad de Niemann-Pick

Otra de las enfermedades lisosomales más estudiada es la enfermedad de Niemann-Pick, un déficit enzimático lisosomal en el que se produce acúmulo en el macrófago tisular de esfingomielina, principalmente en los histiocitos, debido al déficit de esfingomielinasa, codificada por un gen localizado en el cromosoma 11p15.1-p15.4.

La célula de Niemann-Pick es similar a la de Gaucher; macrófago relleno de contenido espumoso, se distribuye en el parénquima hepático, esplénico y la médula ósea. Son de gran tamaño, con núcleo excéntrico y citoplasma abundante y pálido, finamente vacuolado y de aspecto espumoso (*foam cells*).

En las secciones teñidas con hematoxilina-eosina, algunas células contienen un pigmento amarillo o amarillento-marrón que es material ceroides o su equivalente, la lipofuscina. En la tinción de Giemsa, algunos de los macrófagos pueden contener gránulos en el citoplasma de color azul o azul verdoso, que les confieren la denominación de “histiocitos azul marino”. Al MET, las inclusiones lipídicas presentan en su periferia una disposición lamelar concéntrica.

Al igual que en la EG, la presencia de células espumosas es sugestiva de la enfermedad de Niemann-Pick pero no diagnóstica, puesto que en otras tesaurismosis también pueden verse histiocitos de aspecto espumoso. Para el diagnóstico se requiere la demostración química de la disminución de actividad de esfingomielina en los tipos A y B.

En esta enfermedad de acúmulo predomina el daño neurológico en mayor o menor grado. Clínicamente cursa con trastornos neurológicos y hepatoesplenomegalia. También puede haber adenopatías, erupción xantomatosa, infiltrados pulmonares difusos y manchas de color rojo cereza en la retina.

Según el grado evolutivo y la presencia o ausencia de afección del sistema nervioso, se consideran varias formas de la enfermedad, denominadas tipos A, B, C y D.

- En el tipo A existe afección neurológica desde la primera infancia, mientras que en el tipo B se dan todas las manifestaciones clínicas descritas menos la afección cerebral. En los tipos C y D, además de hepatoesplenomegalia y de la presencia de histiocitos espumosos en médula ósea, hay afección neurológica de comienzo tardío.
- En los tipos C y D la acumulación de esfingomielina suele ser sólo moderada, y el principal trastorno metabólico consiste en un aumento del colesterol intracelular no esterificado.

Los signos clínicos neurológicos que presentan estos pacientes son paresia de la mirada vertical de tipo supranuclear, ataxia, deterioro intelectual y trastornos extrapiramidales (disonía y coreoatetosis).

Los pacientes pueden presentar diversos grados de citopenia y la presencia de linfocitos y monocitos vacuolados. El tipo A suele ser fatal en la primera infancia, mientras que los niños con enfermedad del tipo B suelen sobrevivir aunque con hepatoesplenomegalia.

## Tratamiento

No existe, por el momento, ningún tratamiento para la enfermedad de Niemann-Pick A/B. Se ha conseguido la normalización de la actividad de esfingomielinasa en dos enfermos tras el trasplante de médula ósea. Los valores de esfingomielina plasmática se normalizaron en ambos niños durante más de un año, aunque

la esplenomegalia y los trastornos neurológicos no se modificaron.

Muy recientemente ha sido aprobada por la EMEA la indicación de miglustat para el tratamiento de la variedad C de la enfermedad de Niemann-Pick, a partir de los resultados obtenidos en tratamiento a largo plazo<sup>25</sup>.

## Conclusiones

1. La heterogeneidad de los marcadores de superficie del monolito-macrófago es una característica de la multifunción de esta línea celular.
2. La producción de citocinas proinflamatorias procedentes del monolito-macrófago está alterada en la enfermedad de Gaucher, y las citocinas MIP-1 $\alpha$  y MIP-1 $\beta$  se encuentran significativamente elevadas.
3. El estímulo constante del monocito-macrófago en las EDL produce incremento de actividad en otras enzimas y citocinas como la quitotriosidasa, que aumenta cientos de veces en la EG y CCL18/PARC, que aumenta 29 veces su valor respecto a los controles sanos, siendo útiles como biomarcadores de seguimiento.
4. El marcador más adecuado para comprobar la transformación de monolito-macrófago a osteoclastos es la actividad TRAP 5b.
5. La estimulación constante del sistema inmunitario que se produce en los pacientes con enfermedad de Gaucher condicionaría un mayor riesgo de aparición de neoplasias.

## Bibliografía

1. Staretz-Chacham O, Lang TC, LaMarca ME, Krasnewich D, Sidransky E. Lysosomal storage disorders in the newborn. *Pediatrics*. 2009; 123: 1191-207.
2. Ballabio A, Gieselmann V. Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1793: 684-96.
3. Pastores GM. Musculoskeletal complications encountered in the lysosomal storage disorders. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008; 22: 937-47.
4. Naito M, Hasegawa G, Takahashi K. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cells. *Microsc Res Tech*. 1997; 39: 350-64.
5. Cerrato L, Valeri A, Bueren JA, Albella B. In vitro sensitivity of granulo-monocytic progenitors as a new toxicological cell system and endpoint in the ACuteTox Project. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009; 238 (2): 111-9.
6. Svensson M. Isolation and culture of human hematopoietic progenitors for studies of dendritic cell biology. *Methods Mol Biol*. 2009; 531: 187-202.
7. Way KJ, Dinh H, Keene MR, White KE, Clanchy FI, Lusby P, Roiniotis J, Cook AD, Cassidy AI, Curtis DJ, Hamilton JA. The generation and properties of human macrophage populations from hemopoietic stem cells. *J Leukoc Biol*. 2009; 85: 766-78.

8. Backe ES, Gerdes J, Ernst M, Stein H Ber-MAC3: new monoclonal antibody that defines human monocyte/macrophage differentiation antigen. *J Clin Pathol.* 1991; 44: 936-45
9. Maouche S, Poirier O, Godefroy T, Olaso R, Gut I, Collet JP, Montalescot G, Cambien F. Performance comparison of two microarray platforms to assess differential gene expression in human monocyte and macrophage cells. *BMC Genomics.* 2008; 9: 302.
10. Boven LA, Meurs M, Boot RG, Mehta A, Boon L, Aerts JM, Laman JD. Gaucher cells demonstrate a distinct macrophage phenotype and resemble alternatively activated macrophages. *Am J Clin Pathol.* 2004; 122: 359-69.
11. Møller HJ, de Fost M, Aerts H, Hollak C, Moestrup SK. Plasma level of the macrophage-derived soluble CD163 is increased and positively correlates with severity in Gaucher's disease. *Eur J Haematol.* 2004; 72: 135-9.
12. Evans BJ, McDowall A, Taylor PC, Hogg N, Haskard DO, Landis RC. Shedding of lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) in a human inflammatory response. *Blood.* 2006; 107: 3593-9.
13. Germain DP. Lysosomes and lysosomal storage diseases. *J Soc Biol.* 2002; 196: 127-34.
14. Yang XY, Cai SX, Zhang WJ, Tang XL, Shin HY, Lee JY, Gu QQ, Park H. Semi-vioxanthin isolated from marine-derived fungus regulates tumor necrosis factor-alpha, cluster of differentiation (CD) 80, CD86, and major histocompatibility complex class II expression in RAW264.7 cells via nuclear factor-kappaB and mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Biol Pharm Bull.* 2008; 31: 2228-33.
15. Kim JS, Kim JG, Moon MY, Jeon CY, Won HY, Kim HJ, Jeon YJ, Seo JY, Kim JI, Kim J, Lee JY, Kim PH, Park JB. Transforming growth factor-beta1 regulates macrophage migration via RhoA. *Blood.* 2006; 108: 1821-9.
16. Gervás J, Quintana L, Giraldo P, Pocovi M. Proinflammatory bone cytokine profile in type 1 Gaucher disease. (Abstract Book) 9th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases. 2009. 86.
17. Laine F, Guyader D, Turlin B, Moirand R, Deugnier Y, Brissot P. Hyper-ferritinemia and Gaucher disease. *Gastroenterol Clin Biol.* 1996; 20: 512-3.
18. Aker M, Zimran A, Abrahamov A, Horowitz M, Matzner Y. Abnormal neutrophil chemotaxis in Gaucher disease. *Br J Haematol.* 1993; 83: 187-91.
19. Ron I, Horowitz M. ER retention and degradation as the molecular basis underlying Gaucher disease heterogeneity. *Hum Mol Genet.* 2005; 14: 2387-98.
20. Giraldo P, Cenarro A, Alfonso P, Pérez-Calvo JI, Rubio-Félix D, Giralt M, Pocovi M. Chitotriosidase genotype and plasma activity in patients type 1 Gaucher's disease and their relatives (carriers and non carriers). *Haematologica.* 2001; 86: 977-84.
21. Irún MP, Alfonso P, Gervás J, Giraldo P, Pocovi M. Transformación "in vitro" de monocitos a osteoclastos. Influencia de M-CSF y RANK-L (Abstract Book) II Congreso CIBERER. Valencia 2008. 45.
22. Giraldo P, Pocovi M, Pérez-Calvo J, Rubio-Félix D, Giralt M. Report of the Spanish Gaucher's Disease Registry: clinical and genetic characteristics. *Haematologica.* 2000; 85: 792-9.
23. Taddei TH, Kacena KA, Yang M, Yang R, Malhotra A, Boxer M, Aleck KA, Rennert G, Pastores GM, Mistry PK. The underrecognized progressive nature of N370S Gaucher disease and assessment of cancer risk in 403 patients. *Am J Hematol.* 2009; 84: 208-14.
24. Landgren O, Turesson I, Gridley G, Caporaso NE. Risk of malignant disease among 1525 adult male US Veterans with Gaucher disease. *Arch Intern Med.* 2007; 167: 1189-94.
25. Patterson MC, Vecchio D, Prady H, Abel L, Wraith JE. Miglustat in Niemann-Pick C disease: results of the first 12 months' treatment. *Lancet Neurol.* 2007; 6: 765-72.

## LINFOHISTIOCITOSIS HEMOFAGOCÍTICA

I. ASTIGARRAGA AGUIRRE

*Servicio de Pediatría. Hospital de Cruces.  
Baracaldo (Vizcaya)*

---

### Introducción

Bajo la denominación de linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH) se incluyen diversas entidades: una forma genética o familiar<sup>1</sup> y formas secundarias asociadas con infecciones, cáncer o enfermedades autoinmunes<sup>2</sup>. La HLH en pacientes con enfermedades reumáticas suele denominarse "síndrome de activación macrofágica".

La identificación de los defectos en los mecanismos de linfocitotoxicidad ha supuesto su reciente inclusión como inmunodeficiencia primaria en la última clasificación. También puede ser la forma de presentación de diversas inmunodeficiencias raras como síndrome de Chédiak-Higashi, Griscelli linfoproliferativo ligado a X<sup>3</sup>.

---

### Etiopatogenia

La HLH no es una enfermedad única, sino un síndrome clínico que se puede encontrar asociado a diversas condiciones genéticas o adquiridas. Todas se caracterizan por una respuesta inflamatoria excesiva, causada por una proliferación incontrolada de linfocitos activados e histiocitos que secretan gran cantidad de citocinas<sup>4</sup>. Se producen defectos en los mecanismos reguladores de la respuesta inmune e inflamatoria y en el control de la proliferación y destrucción celular, debido a una hiperactivación de las células presentadoras de antígenos (macrófagos e histiocitos) y de linfocitos T CD8+, junto a una proliferación excesiva y migración ectópica de células T<sup>6</sup>. En la mayoría de los pacientes con todas las formas de la HLH, se observan alteraciones en la función de las células *natural killer* (NK)<sup>8</sup> y elevación de los niveles de diversas citocinas proinflamatorias<sup>9,10</sup>.

Las formas familiares de la HLH (FHLH) se asocian con defectos en la apoptosis y una herencia autosómica recesiva<sup>12,13</sup>. Su incidencia estimada es de 1:50.000 nacimientos<sup>1</sup>. Investigaciones genéticas han mostrado mutaciones en el gen de la perforina (*PRF1*), primera publicación en 1999, y en los genes *MUNC 13-4* y *syntaxin 11*<sup>14-16</sup>. Estas alteraciones genéticas se encuentran sólo en el 40-50% de los casos y se observan claras diferencias étnicas<sup>17</sup>. Se han podido establecer correlaciones genotipo-fenotipo y asociaciones entre el

tipo de mutación y las diferentes formas de deficiencia de células NK descritas<sup>6,18-20</sup>. Los padres y hermanos de pacientes con FHLH también suelen presentar disminución de la función de las células NK, aunque estén sanos, y no se conocen bien los mecanismos implicados<sup>8</sup>.

Las alteraciones genéticas de los síndromes asociados (Griscelli, Chediak-Higashi y XLP) se conocen mejor y también están implicadas en la vía de citotoxicidad mediada por perforina<sup>3</sup>. Las formas adquiridas o reactivas aparecen en personas previamente sanas, de cualquier edad, y no se conocen bien las causas por las que se desarrolla el síndrome hemofagocítico<sup>2,3,9</sup>.

---

## Histopatología

La primera descripción clínica de FHLH se publicó en 1952<sup>21</sup>. La primera revisión retrospectiva, en 1983, describía una supervivencia media de menos de un mes tras el inicio de los síntomas y una supervivencia global del 5% un año después del diagnóstico<sup>22</sup>. Los estudios de autopsias mostraban una infiltración difusa por linfocitos T e histiocitos que afectaba prácticamente a todos los órganos y de forma especial al hígado, bazo, ganglios linfáticos, médula ósea y sistema nervioso central, y el cuadro histológico era indistinguible en las formas familiares y adquiridas<sup>23</sup>. La hemofagocitosis sólo se encontraba en la mitad de las biopsias hepáticas<sup>24</sup>.

En revisiones muy recientes también se comprueba que la presencia de hemofagocitosis en médula ósea es un hallazgo poco sensible y poco específico de la enfermedad, con grados de afectación muy variables (25- 100%) y heterogéneas, tanto en las formas familiares como secundarias<sup>25</sup>. Estos hallazgos apoyan la necesidad de buscar otros criterios diagnósticos y no considerar la presencia de hemofagocitosis como factor clave para distinguir pacientes con HLH de otros síndromes clínicos, ni para tomar decisiones sobre el tratamiento<sup>28</sup>.

---

## Clínica

Las manifestaciones clínicas principales de la HLH son la fiebre y la hepatoesplenomegalia<sup>1-4</sup>. La sintomatología neurológica puede dominar el curso clínico inicial con las convulsiones, irritabilidad y signos de meningitis como manifestaciones más frecuentes<sup>27,28</sup>, e incluso pueden ser la primera y única manifestación de HLH<sup>29</sup>. Las adenopatías, exantema, edemas o diarrea son menos frecuentes.

En los análisis de sangre destacan las citopenias, especialmente anemia y trombopenia, elevaciones de triglicéridos, ferritina, transaminasas, bilirrubina, lac-

tato-deshidrogenasa y disminuciones del fibrinógeno, albúmina y sodio.

En los estudios de líquido cefalorraquídeo destacan la pleocitosis (leve o moderada) y un discreto aumento de las proteínas, incluso sin clínica neurológica.

Los hallazgos radiológicos más característicos se observan en ecografías abdominales que muestran aumento del tamaño de hígado y bazo. En RM cerebrales (30% de los casos) se observan signos de atrofia cerebral generalizada, seguidos de lesiones de la sustancia blanca y desmielinización<sup>28</sup>.

Todos estos hallazgos clínicos, analíticos y radiológicos se pueden explicar por la hipercitocinemia e infiltración de los órganos por los linfocitos e histiocitos y pueden aparecer idénticas, tanto en formas genéticas como adquiridas.

El concepto clásico de que FHLH aparece durante los primeros meses o años de la vida, observado en las primeras series (70-80% en el primer año)<sup>22,30</sup>, se ha modificado y se han descrito muchos casos de inicio más tardío y en la edad adulta, confirmados en los estudios genéticos<sup>19,30,32,33</sup>.

Otro concepto importante es que la identificación de un germen infeccioso no ayuda a discriminar entre las formas genéticas y adquiridas, ya que la mayoría de los episodios se desencadenan por infecciones, también en los casos genéticos<sup>32</sup>. Por este motivo, el tratamiento apropiado no debe retrasarse en base a unos resultados microbiológicos positivos.

El principal problema diagnóstico es que el cuadro clínico inicial es similar al de una infección normal en un paciente inmunocompetente. Tanto la sintomatología clínica como los datos analíticos y radiológicos son inespecíficos y aparecen también en otros cuadros clínicos infecciosos por bacterias, virus o parásitos (especialmente por VEB, CMV, parvovirus y *Leishmania*)<sup>2,4,9,34</sup>, en forma de sepsis, hepatitis o meningoencefalitis. También se deben diferenciar de procesos infiltrativos como leucemia, linfoma, histiocitosis de células de Langerhans o enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide juvenil<sup>4,29,35</sup>.

La HLH es una enfermedad progresiva: el porcentaje de pacientes que muestran los síntomas y signos clínicos característicos, es mucho menor en la primera presentación y el tiempo medio para el diagnóstico es prolongado en muchos casos (3,5 meses en una revisión de 65 pacientes alemanes)<sup>4</sup>. Además, en los primeros días o meses de la enfermedad, los síntomas pueden mejorar espontáneamente y aparecer reactivaciones clínicas posteriores<sup>3,31</sup>. Mientras que la mayoría de los síntomas de HLH se encuentran en pacientes inmunocompetentes en respuesta a agentes infecciosos, estas manifestaciones son más pronunciadas en pacientes con HLH. Esta progresión de la clínica o de la analítica debería alertar a los médicos de que se trata de una respuesta anormal ante la infección<sup>4</sup>.

## Diagnóstico

La ausencia de un marcador específico y definitivo de HLH representa una gran dificultad diagnóstica y origina muchos retrasos en el inicio del tratamiento.

En 1991 el grupo de estudio de la HLH de la Sociedad del Histiocito (Histiocyte Society) publicó las primeras guías diagnósticas, con cinco criterios.

Estas recomendaciones diagnósticas fueron revisadas y publicadas en 2007<sup>26</sup>. Se añadieron tres criterios más, los últimos del listado, y se incluyen en el protocolo HLH-2004:

- Historia familiar o diagnóstico genético específico.
- Criterios clínicos y de laboratorio (deben cumplirse 5 de 8):
  - 1) Fiebre
  - 2) Esplenomegalia
  - 3) Citopenias (2 o 3 líneas celulares)
    - Hemoglobina < 90 g/L
    - Plaquetas <  $100 \times 10^9/L$
    - Neutrófilos <  $1 \times 10^9/L$
  - 4) Hipertrigliceridemia o hipofibrinogenemia
    - Triglicéridos en ayunas  $\geq 3$  mmol/L
    - Fibrinógeno < 1,5 g/L
  - 5) Hemofagocitosis en médula ósea, LCR o ganglios linfáticos
  - 6) Ferritina  $\geq 500$   $\mu\text{g/L}$
  - 7) Factor soluble de la interleucina 2 o sCD25  $\geq 2.400$  U/mL
  - 8) Disminución o ausencia de actividad de células NK

Según estas recomendaciones, en ausencia de historia familiar o de diagnóstico genético específico se deben cumplir 5 de los 8 criterios definidos. Los 3 últimos estudios se añadieron a los criterios clásicos y reflejan la importancia de realizar estudios inmunológicos completos a los pacientes para confirmar el diagnóstico de HLH. La positividad de los resultados genéticos específicos es suficiente para el diagnóstico de esta enfermedad. También la hiperferritinemia se ha introducido como un criterio de gran utilidad diagnóstica por su accesibilidad y sensibilidad<sup>36</sup>.

## Tratamiento

1) El objetivo inmediato en el tratamiento de cualquier paciente con HLH es la supresión de la hiperinflamación, responsable del fallo multiorgánico y de los síntomas que amenazan la vida del paciente.

2) Un segundo objetivo es combatir el agente patógeno desencadenante, generalmente infeccioso, aunque no suele ser suficiente para controlar la situación, excepto en la leishmaniasis.

3) El tercer objetivo, y fundamental en las formas genéticas, es el trasplante de progenitores hematopo-

yéticos para reconstituir la alteración del sistema inmunitario por células normales<sup>4,26</sup>.

Teniendo en cuenta la posibilidad de evolución rápidamente fatal del HLH, se recomienda iniciar el tratamiento ante un alto grado de sospecha clínica, incluso aunque los resultados de algunas pruebas diagnósticas estén pendientes y, por ello, se considera como una urgencia terapéutica<sup>26</sup>. La heterogeneidad de la evolución clínica, con rápida progresión, curso tórpido y persistente, resoluciones espontáneas y las reactivaciones con intervalos muy variables, indica la necesidad de un buen control y seguimiento clínico para el diagnóstico correcto de la enfermedad<sup>29,35</sup>.

Los pacientes con HLH pueden desarrollar meningoencefalitis, y se ha comprobado que una alta proporción (61%) tienen síntomas neurológicos o alteraciones de LCR en el momento del diagnóstico. Además, los niños con afectación neurológica sufren mayor riesgo de mortalidad y mayor incidencia de secuelas neurológicas a largo plazo (aproximadamente, un 15% tiene retraso mental, epilepsia, sordera a los 5 años)<sup>28</sup>. Por ello, el tratamiento debe incluir fármacos que atraviesen la barrera hematoencefálica y controlen la inflamación cerebral.

Los tratamientos efectivos de HLH han incluido fármacos que neutralizan la función de los histiocitos y macrófagos activados (esteroides, etopósido y gammaglobulinas en dosis altas) y de las células T activadas (esteroides, ciclosporina A, globulinas anti-timocíticas, 2CdA), interrumpiendo el ciclo descontrolado de activación inmunitaria característico<sup>3,26,37</sup>. La decisión de iniciar tratamiento con corticoides, inmunosupresores y citostáticos en un paciente con fiebre y pancitopenia es muy difícil por la falta de un marcador diagnóstico específico. Sin embargo, si no se logra controlar la hiperinflamación, el paciente morirá por fallo multiorgánico, infección bacteriana o fúngica por neutropenia prolongada o por disfunción cerebral<sup>4</sup>.

Las formas más graves de HLH, y especialmente en los niños más pequeños, se deben tratar con combinaciones de fármacos como dexametasona, ciclosporina y etopósido, independientemente de la identificación de un germen infeccioso (con la posible excepción de *Leishmania*). En 1994, la Sociedad del Histiocito elaboró un protocolo (HLH-94) que incluía estos tres fármacos, y en 2004 se introdujo una pequeña modificación, manteniendo los mismos agentes<sup>26</sup>. Otros grupos de expertos han propuesto otras combinaciones que incluyen la globulina antitimocítica<sup>37</sup>. Las formas moderadas pueden responder bien a los esteroides e inmunoglobulinas inespecíficas<sup>4</sup>. Los bolos de metilprednisolona han demostrado su efectividad en muchos casos de síndrome de activación macrofágica.

En las reactivaciones de HLH es necesario reiniciar el tratamiento específico y son indicativas de la nece-

sidad de tratamiento definitivo con trasplante de progenitores hematopoyéticos. El trasplante es también el único tratamiento curativo en las formas familiares o genéticas, en el síndrome de Chédiak-Higashi, Griscelli y linfoproliferativo ligado a X<sup>26,38</sup>.

El pronóstico de los niños tratados con el protocolo HLH-94 se publicó en 2002. La supervivencia global a 3,1 años fue del 55% sobre 113 pacientes y del 51% en los casos familiares<sup>39</sup>. La respuesta inicial fue buena en el 75%, pero el 22% falleció antes del trasplante. En pacientes trasplantados, la supervivencia a tres años alcanzó el 63% (70% si donantes idénticos). Este tratamiento con inmunoterapia ha demostrado su efectividad y ha mejorado notablemente el pronóstico de esta enfermedad, considerada letal hace 25 años. La administración tardía de etopósido en los casos de HLH secundario a VEB es un factor pronóstico importante de mortalidad (riesgo de muerte 14 veces superior si se retrasa más de 4 semanas del diagnóstico).

### Consideraciones finales

- A pesar de los avances en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de HLH, y de la enorme contribución de las guías internacionales en los últimos 15 años, el conocimiento de esta enfermedad tiene todavía numerosas cuestiones pendientes de resolver a nivel de identificación de nuevos genes implicados, de factores inmunológicos que contribuyan a superar las dificultades diagnósticas de HLH con criterios más específicos y precoces. También es necesario correlacionar mejor los factores clínicos y biológicos, para facilitar las decisiones terapéuticas relativas a las indicaciones del tratamiento inmunocitotóxico y del trasplante de progenitores hematopoyéticos así como para evitar la alta tasa de mortalidad y de secuelas neurológicas.

- La presentación clínica de las formas de HLH familiares, genéticas o asociadas a infección, neoplasia o enfermedad autoinmune puede ser idéntica e indistinguible. El factor desencadenante infeccioso es frecuente en todos los tipos. El curso clínico es muy variable y oscila desde regresión espontánea a reactivaciones múltiples o deterioro progresivo grave y fatal.

- Las recomendaciones actuales para el diagnóstico indican la importancia de realizar estudios genéticos e inmunológicos específicos, y se ha comprobado que la hemofagocitosis está ausente en muchos pacientes.

- El inicio de tratamiento precoz, ante una fuerte sospecha clínica incluso con negatividad o falta de resultado de algunos criterios, puede evitar un fallo multiorgánico fatal o secuelas neurológicas permanentes.

- El tratamiento recomendado por la Histiocyte Society (HLH-94) con dexametasona, VP-16, ciclosporina y trasplante de progenitores hematopoyéticos ha mejorado el pronóstico con tasas de supervivencia a 3 años del 55% y del 63% en los casos trasplantados.

### Bibliografía

1. Weitzmann S, Egeler RM. Histiocytic Disorders of children and adults. Basic Science and Clinical Features and Therapy. 1ª Ed. Cambridge University Press 2005
2. Ladish S, Jaffe E. The histiocytosis. In Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology Lippincott, Philadelphia. 5ª Ed. 2005. pp: 768-785
3. Allen CE. Highly elevated ferritin levels and the diagnosis of HLH. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:1227-1235
4. Arico M. HLH. Report of 122 children from the International Registry. *Leukemia* 1996;10:197-
5. Cooper N, Rao K, Goulden N, Webb D, Amrolia P, Veys P. The use of reduced-intensity stem cell transplantation in HLH and LCH. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42 suppl 2: S47-50
6. Dapena JL. Haemophagocytic syndrome: A common pathogenic mechanism of various aetiologies. *An Pediatr (Barc)* 2009; 71(2): 110-6
7. Fadeel B. FHLH: Too little cell death may seriously damage your health. *Leukemia Lymphoma* 2001;42:13-20
8. Filipovich AH. Life-threatening syndromes: current outcomes with hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* 2005;9 Suppl 7:87-9
9. Filipovich AH. HLH and other related disorders. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2008; 28(2):293-313
10. Gonzalez-Posada JM. HLH in a pancreas-kidney transplant recipient: response to dexamethasone and cyclosporine. *Clin Nephrol* 2008; 70(1): 82-6
11. Gupta A. The role of hemophagocytosis in bone marrow aspirates in the diagnosis of HLH. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50:192-194
12. Henter JI. Treatment of HLH with HLH-94 immunotherapy and bone marrow transplantation. *Blood* 2002;100:2367-2373.
13. Henter JI, Horne AC, Arico M et al. HLH 2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for HLH. *Ped Blood Cancer* 2007; 48: 124-131.
14. Horne AC, Trottestam H, Arico M et al. Frequency and spectrum of CNS involvement in 193 children with HLH. *Br J Haematol* 2008;140(3):327-335
15. Ishii E. Nation survey of HLH in Japan. *Int J Hematol* 2007; 86(1): 58-65
16. Janka GE. Familial and acquired HLH. *Eur J Pediatr* 2007;166:95-109.
17. Janka GE. Hemophagocytic syndromes. *Blood Reviews* 2007; 21:245-253.
18. Mahlaoui N. Immunotherapy of FHL with antithymocyte globulins: A single center retrospective report of 38 patients. *Pediatrics* 2007;120(3):622-628. 1
19. Mancebo E. FHL in an adult patient homozygous for A91V in the perforin gene, with tuberculosis infection. *Haematologica.* 2006; 91:1257-60
20. Nagafuji K. Perforin gene mutations in adult-onset HLH. *Haematologica* 2007; 92(7): 978-81
21. Santamaria M. Leishmaniasis and concurrent hemophagocytosis with or without transient perforin expression perturbation. *Pediatr Blood Cancer* 2008;Apr 3
22. Trizzino A. Genotype-phenotype study of FHL due to perforin mutations. *J Med Genet* 2008;45(1):15-21.

## ESTADO ACTUAL EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS HISTIOCITOSIS DE CÉLULAS DE LANGERHANS

C. RODRÍGUEZ-GALINDO

*Dana Farber Cancer Institute / Children's Hospital de Boston. Universidad de Harvard (EE UU)*

La histiocitosis de células de Langerhans (HCL) es un desorden proliferativo de células de Langerhans (CL) activadas con una gran variedad de comportamiento biológico y gravedad clínica<sup>1</sup>. La histopatología de las lesiones es uniforme independientemente de la gravedad clínica de la enfermedad, y consiste en acúmulos de CL, células interdigitantes y macrófagos, con la presencia constante de linfocitos T y números variables de histiocitos gigantes multinucleados y eosinófilos<sup>2</sup>. La patogenia de la HCL no está bien definida. La demostración de que la HCL es una enfermedad monoclonal podría sugerir que se trata de una enfermedad neoplásica<sup>3</sup>. Sin embargo, los distintos patrones de presentación clínica parecen indicar otros mecanismos patogénicos. La ocurrencia de remisiones espontáneas y la apariencia histopatológica benigna de las lesiones en la HCL sugieren una enfermedad clonal reactiva antes que un proceso maligno. Las CL, al igual que otras células dendríticas, tienen un papel crítico en el sistema inmunitario, y se ha sugerido que la HCL podría ser el resultado de desregulación inmunológica. A pesar de que no se han descrito alteraciones inmunológicas consistentes, existe cierta evidencia que sugiere que la HCL puede ser el resultado de una proliferación anormal e incontrolada de CL secundaria a una desregulación inmunológica o como respuesta a un estímulo indeterminado<sup>4</sup>. Con la finalidad de reconciliar el origen clonal de las CL patológicas con las evidencias de desregulación inmunológica, se ha propuesto la hipótesis de que la expansión monoclonal podría representar una respuesta del huésped a una estimulación antigénica crónica. Bajo condiciones de estimulación crónica, podrían emerger clones de células dendríticas dominantes que retendrían cierta habilidad para responder a las señales reguladoras inmunológicas normales, ejemplificado por los casos de remisiones espontáneas o aquellos que responden a ciclosporina.

### Tratamiento de HCL

Los cambios en el tratamiento de la HCL durante las últimas décadas reflejan los conceptos cambiantes sobre la enfermedad. De hecho, las dificultades para

desarrollar terapias más efectivas están directamente relacionadas con las deficiencias en el estudio de la patogenia de la HCL. Los estudios retrospectivos de Lahey<sup>5</sup> demostraron que, si bien distintos órganos pueden tener infiltración por CL, la afectación es solamente de importancia pronóstica si existe disfunción orgánica. Siguiendo este concepto, los pacientes podrían ser estratificados en distintos grupos de riesgo en función de la extensión de la enfermedad y el grado de disfunción orgánica. Estudios cooperativos confirmaron dichos conceptos a la vez que identificaron un subgrupo de pacientes (definido por edad > 2 años y ausencia de disfunción orgánica) con un pronóstico excelente a pesar de la afectación multisistémica<sup>6</sup>. En la actualidad, el tratamiento de pacientes con HCL es adaptado al riesgo: pacientes con enfermedad en un sistema único con lesión única generalmente requieren solamente terapia local u observación; pacientes con enfermedad más extensa (lesiones óseas o linfadenopatías múltiples) generalmente requieren terapia sistémica. La mejor opción terapéutica en esos casos no ha sido definida; se pueden observar respuestas con ciclos cortos de corticoides con o sin la adición de agentes quimioterápicos. El tratamiento recomendado por la Sociedad del Histiocito para este grupo de pacientes incluye una inducción de 6 semanas con prednisona y vinblastina, seguida de un tratamiento de continuación con pulsos de los mismos agentes cada tres semanas. El pronóstico para este grupo de pacientes es generalmente excelente, si bien aproximadamente el 30% de los pacientes sufren reactivaciones que siguen respondiendo a tratamiento. Siete estudios cooperativos han estudiado el tratamiento de pacientes con enfermedad multisistémica: el protocolo Italiano AIEOP-CNR-HX 83 Protocol<sup>7</sup>, el protocolo Austriaco/Alemania DAL-HX 83/90<sup>8</sup>, el protocolo del Grupo Japonés de HCL-96<sup>9</sup> y los tres estudios de la Sociedad del Histiocito (protocolos LCH-I<sup>9</sup>, LCH-II<sup>10</sup> y LCH-III). Todos ellos fueron adaptados al riesgo y se basaron en distintas combinaciones de prednisona, vinblastina, etopósido, metotrexato, ARA-C y 6-mercaptopurina. En todos estos estudios, las tasas de supervivencia fueron superiores al 90% para pacientes con enfermedad multisistémica sin afectación de órganos de riesgo. El protocolo LCH-III, recientemente completado, aleatorizó a pacientes con enfermedad multisistémica sin afectación de órganos de riesgo a un mantenimiento de 6 vs. 12 meses con la finalidad de evaluar el impacto de la duración del tratamiento en la incidencia de reactivaciones. Los pacientes aleatorizados al tratamiento más prolongado tuvieron unas tasas de reactivación significativamente inferiores. Para este grupo de pacientes, el tratamiento actual recomendado por la Sociedad del Histiocito es un régimen de 12 meses con prednisona y vinblastina. La afectación de órganos de riesgo acarrea un peor pronóstico. Este gru-

po de pacientes está caracterizado por presentación a edad temprana (generalmente < 2 años), y diferentes grados de afectación de hígado, bazo, sistema hematopoyético y pulmón. Estos pacientes responden pobremente al tratamiento, y la mortalidad es cercana al 40%. En el estudio LCH-III recientemente completado, estos pacientes fueron aleatorizados a un tratamiento basado en prednisona, vinblastina y 6-mercaptopurina con o sin metotrexato. Los resultados preliminares indican que la inclusión de metotrexato no es beneficiosa.

### Tratamiento de la HCL recurrente o refractaria

La reactivación de la enfermedad es común en pacientes con HCL, y parecen identificarse dos grupos:

1. Pacientes con reactivaciones de "bajo riesgo". Este grupo está formado por pacientes que presentan reactivación de enfermedad multifocal ósea o de enfermedad multisistémica de bajo riesgo (sin afectación de órganos de riesgo). En estos casos, las reactivaciones ocurren en aproximadamente una tercera parte de los pacientes y suelen responder bien a las terapias de segunda línea. Varios regímenes han demostrado eficacia en estas situaciones, incluyendo 6-mercaptopurina y metotrexato orales<sup>11</sup>, indometacina<sup>12</sup>, bisfosfonatos<sup>13</sup> y cladribina<sup>14</sup>.
2. Pacientes con reactivaciones de "bajo riesgo". Este grupo está caracterizado por la presencia de afectación de órganos de riesgo y pobre respuesta a la terapia inicial. La mortalidad es elevada, y estudios recientes sugieren que un régimen intenso con cladribina y altas dosis de ARA-C puede ser efectivo<sup>4</sup>. El trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas también ha demostrado eficacia en estos casos<sup>15</sup>.

### Tratamiento de la HCL recurrente o refractaria con análogos de nucleósidos

La enzima adenosina-deaminasa (ADA) juega un papel esencial en la degradación de los nucleósidos de purina derivados del procesamiento del ADN. En las células deficientes en ADA, la deoxiadenosina es metabolizada por la deoxicitidina cinasa (dCk), lo cual da lugar a concentraciones elevadas de deoxiadenosina mono-, di- y trifosfato (dAMP, dADP y dATP), que son tóxicas para las células. La 2-clorodeoxiadenosina (2-CdA, cladribina) es un análogo de las purinas resistente a la ADA pero no a la dCk. Ello da lugar a una acumulación de nucleótidos de deoxiadenosina clorinada que pueden ser eventualmente incorporados al ADN de las células en división, lo cual da a

lugar a un arresto en la fase S del ciclo celular y subsecuente activación de la apoptosis. Sin embargo, en contraste con los antimetabolitos convencionales, la cladribina es extremadamente tóxica para linfocitos maduros que no están en fase de división. Las elevadas concentraciones de deoxinucleótidos podrían interferir con la reparación de las rupturas en las cadenas de ADN e iniciar así el proceso de muerte celular programada. En niños, la cladribina ha sido utilizada principalmente en el tratamiento de la leucemia aguda mieloide, donde se han obtenido respuestas cercanas al 60%<sup>16</sup>. Los linfocitos y monocitos maduros expresan altos niveles de dCk. Estudios in vitro han demostrado que la cladribina es un agente muy selectivo contra monocitos, causando una disminución de la función y viabilidad de los monocitos, así como una disminución de la secreción de IL-6<sup>17</sup>. Dado que los histiocitos tisulares son derivados de la misma célula madre que los monocitos circulantes, la cladribina ha sido investigada en el tratamiento de pacientes con enfermedades histiocíticas. Respuestas clínicas excelentes, con respuesta global del 82%, han sido descritas en adultos con HCL recurrente<sup>18</sup>. En niños, el papel de la cladribina ha sido evaluado en dos situaciones clínicas:

- a) En pacientes con reactivaciones de 'bajo riesgo', la cladribina ha dado lugar a respuestas en > 90% de los pacientes, si bien nuevas reactivaciones todavía pueden ocurrir<sup>14,19</sup>. Un beneficio adicional de la cladribina es su efecto sobre la enfermedad del SNC (una complicación común en HCL)<sup>20</sup>. Una limitación importante del uso de la cladribina es su limitación a un curso corto de tratamiento: más de 4 o 6 ciclos han sido asociados a mielosupresión prolongada, ocasionando un cuadro similar a la mielodisplasia.
- b) Para pacientes con reactivación de 'alto riesgo', la cladribina como fármaco único tiene poco efecto<sup>19</sup>, y es necesario un régimen más intensivo. La combinación de altas dosis de cladribina (9 mg/m<sup>2</sup>/d × 5 días) con citarabina (1 gr/m<sup>2</sup>/d × 5 días) ha demostrado inducir respuestas en pacientes con enfermedad refractaria<sup>4</sup>. Si bien este tratamiento parece ser efectivo, está asociado a alta morbilidad, y una mortalidad asociada a toxicidad superior al 20%.

La clofarabina, un miembro de la segunda generación de análogos de la deoxiadenosina, está siendo investigada actualmente en la situación de enfermedad refractaria. Estudios preliminares sugieren que la clofarabina puede tener un efecto superior a la cladribina.

En conclusión, la HCL es una enfermedad proliferativa de las CL con manifestaciones clínicas heterogéneas. El factor pronóstico más importante es la presencia de enfermedad en los órganos de riesgo y, para este grupo de pacientes, nuevas terapias deben ser desarrolladas.

## Bibliografía

1. Arico M, Egeler RM. Clinical aspects of Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1998; 12: 247-58.
2. Schmitz L, Favara BE. Nosology and pathology of Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1998; 12 (2): 221-46.
3. Willman CL, Busque L, Griffith BB, et al. Langerhans' cell histiocytosis (histiocytosis X) - a clonal proliferative disease. *N Engl J Med.* 1994; 331 (3): 154-60.
4. Bernard F, Thomas C, Bertrand Y, et al. Multicentre pilot study of 2-chlorodeoxyadenosine and cytosine arabinoside combined chemotherapy in refractory Langerhans cell histiocytosis with hematological dysfunction. *Eur J Cancer.* 2005; 41: 2682-9.
5. Lahey ME. Histiocytosis X: an analysis of prognostic factors. *J Pediatr.* 1975; 87: 184-9.
6. Gadner H, Heiger A, Grois N, Gatterer-Menz I, Ladisch S. Treatment strategy for disseminated Langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol.* 1994; 23: 72-80.
7. Ceci A, de Terlizzi M, Colella R, et al. Langerhans cell histiocytosis in childhood: results from the Italian cooperative. *Med Pediatr Oncol.* 1993; 21: 259-64.
8. Morimoto A, Ikushima S, Kinugawa N, et al. Improved outcome in the treatment of pediatric multifocal Langerhans cell histiocytosis: results from the Japan Langerhans Cell Histiocytosis Study Group-96 protocol study. *Cancer.* 2006; 107: 613-9.
9. Ladisch S, Gadner H, Arico M, et al. LCH-I: a randomized trial of etoposide vs. vinblastine in disseminated Langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol.* 1994; 23: 107-10.
10. Gadner H, Grois N, Pötschger U, et al. Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification. *Blood.* 2008; 111: 2556-62.
11. Womer RB, Anunciato KR, Chehrena M. Oral methotrexate and alternate-day prednisone for low-risk Langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol.* 1995; 25: 70-3.
12. Munn SE, Olliver L, Broadbent V, Pritchard J. Use of indomethacin in Langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol.* 1999; 32: 247-9.
13. Farrán RP, Zaretski E, Egeler RM. Treatment of Langerhans cell histiocytosis with pamidronate. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2001; 23: 54-6.
14. Rodríguez-Galindo C, Kelly P, Jeng M, Presbury GG, Riemann M, Wang W. Treatment of children with Langerhans cell histiocytosis with 2-chlorodeoxyadenosine. *Am J Hematol.* 2002; 69: 179-84.
15. Steiner M, Mathes-Martin S, Attarbaschi A, et al. Improved outcome of treatment-resistant high-risk Langerhans cell histiocytosis after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36: 215-25.
16. Santana VM, Mirro J, Kearns C, Schell M, Crom W, Blakley RL. 2-chlorodeoxyadenosine produces a high rate of complete hematologic remission in relapsed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 1992; 10: 364-70.
17. Carrera CJ, Terai C, Lotz M, et al. Potent toxicity of 2-chlorodeoxyadenosine toward human monocytes in vitro and in vivo. *J Clin Invest.* 1990; 86: 1480-8.
18. Saven A, Burian C. Cladribine activity in adult Langerhans-cell histiocytosis. *Blood.* 1999; 93: 4125-30.
19. Weitzman S, Wayne AS, Arceci R, Lipton JM, Whitlock JA, De Rossi G. Nucleoside analogues in the therapy of Langerhans cell histiocytosis: a survey of members of the Histiocyte Society and review of the literature. *Med Pediatr Oncol.* 1999; 33: 476-81.
20. Büchler T, Cervinek L, Belohavek O, et al. Langerhans cell histiocytosis with central nervous system involvement: follow-up by FDG-PET during treatment with cladribine. *Pediatr Blood Cancer.* 2005; 44: 286-8.