

Enfermedad de Kikuchi Fujimoto: estudio histológico e inmunohistoquímico de cinco casos.

Adriana Morales, Cathy Hernández, Jorge García Tamayo.
Laboratorio de Patología Molecular NOVAPATH, Caracas, Venezuela.

Resumen

Se estudiaron histológica e inmunohistoquímicamente cinco casos de Enfermedad de Kikuchi Fujimoto en ganglios linfáticos de mujeres con una edad promedio de 27 años. Los resultados demostraron la presencia de grandes áreas de necrosis con actividad fagocitaria de numerosos macrófagos (CD68+) y presencia de linfocitos T (CD45ro+), algunos grandes y atípicos. Se discute la etiopatogenia de esta linfadenitis necrotizante y se destaca el papel de los linfocitos T en la aparición de los cuerpos apoptóticos en los macrófagos y en las áreas de necrosis.

Palabras Clave

Inmunohistoquímica, linfadenitis, necrosis, linfocitos T, macrófagos, apoptosis.

Title : Kikuchi Fujimoto´s disease : immunohistochemical study of five cases.

Summary :

Five cases of Kikuchi Fujimoto´s disease in lymph nodes of women with a mean age of 27 years were examined by histological and immunohistochemical procedures. Results were those of extensive areas of necrosis with numerous macrophages (CD68+) exhibiting phagocytosis and T lymphocytes (CD45ro+), some of them enlarged and with atypical appearance The etiology and pathogenesis of this necrotizing lymphadenitis and the role of T lymphocytes in the apoptotic bodies observed in macrophages and necrotic areas is discussed. .

Introducción

La enfermedad de Kikuchi Fujimoto (EKF) es un proceso inflamatorio de los ganglios linfáticos el cual ha sido considerado como una “linfadenitis necrotizante subaguda” y que afecta predominantemente a mujeres menores de 30 años; se presenta con adenomegalias, fiebre, escalofríos, mialgias, dolor de garganta, altralgias, esplenomegalia y con una erupción en la piel, y su evolución es benigna resolviéndose en unos meses (1).

Aunque la etiología de la EKF es desconocida, se ha propuesto que su origen es infeccioso y más concretamente, viral. Diversos agentes como la Yersinia enterocolitica, la Brucella, la Bartonella henselae, el Toxoplasma gondii, los Parvovirus B19, los virus del grupo Herpes Humano 6 y 8, el virus Epstein-Barr y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) han sido señalados como causantes de la enfermedad sin que se haya podido señalar un germen causal específico (2,3,4). La apariencia necrotizante y grande células atípicas mononucleares en los ganglios, en ocasiones obligan a

plantearse el diagnóstico de linfoma (5,6) y la enfermedad también se ha asociado al Lupus eritematoso sistémico (7).

Esta linfadenopatía fue descrita por primera vez en Japón el año 1972 y se observa ocasionalmente en América y en Europa (8,9) . En nuestro medio, no hemos hallado descripciones sobre la histopatología e inmunohistoquímica de la EKF por lo que en este trabajo, al examinar estos aspectos en cinco casos venezolanos, revisamos diversos aspectos interesantes sobre la etiología y la patogenia de la enfermedad.

Material y Métodos

Se revisaron los archivos del Laboratorio de Patología Molecular NOVAPATH, de los años 1998-2003, se seleccionaron 5 casos de linfadenitis necrotizantes que habían sido clasificados como Enfermedad de Kikuchi Fujimoto. Se reevaluó cada caso tanto histológica como inmunohistoquímicamente. La evaluación histológica inicial se hizo en cortes de dos micras teñidos con hematoxilina-eosina (H&E). Para el estudio inmunohistoquímico cortes de dos micras fueron hechos en un micrótopo rotatorio y se recogieron en láminas sialinizadas o recubiertas con poli-L-lisina. Previo bloqueo de la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno-metanol se procedió a la recuperación de antígenos. Se utilizó para la recuperación antigénica una solución de citrato de sodio a pH 6, en una olla de presión dentro de un horno de microondas para elevar la temperatura a 100°C durante varios minutos. Se usó como cámara húmeda, un sistema de capilaridad de la casa Shandon y los anticuerpos usados fueron de la casa DAKO a las diluciones correspondientes. Se examinó cada caso con los siguientes anticuerpos: CD45 (Antígeno Leucocitario Común- ALC), CD20, CD45ro, CD68, y Proteína S100.

Resultados

Caso N° 1: (Biopsia NP:407-98) Se trató de una paciente femenina de 17 años a quien se le practicó biopsia de un ganglio cervical. La apariencia histológica con Hematoxilina-Eosins (H&E) era de una extensa necrosis en las áreas centrales del ganglio linfático (Figuras 1 y 2). El CD45 (ALC) inmunomarcó las áreas preservadas del ganglio (Figura 3). Con CD20 se vio marcaje focal en las áreas foliculares con presencia de grandes inmunoblastos (Figuras 4 y 5). Con CD68 se observaron numerosos macrófagos en las extensas zonas de necrosis con presencia de fagocitosis (Figuras 6 y 7). En los macrófagos se observaron restos nucleares con aspecto de cuerpos apoptóticos. El CD15 inmunomarcó escasos neutrófilos. Con CD45ro se vieron linfocitos T pequeños y algunas de mayor tamaño, dispersos en las zonas de necrosis (Figura 8).

Caso N° 2: (Biopsia NP:162-99) Paciente femenina de 24 años de edad con biopsia de ganglio cervical derecho. Con el H&E se observaron numerosos histiocitos con cuerpos apoptóticos en las áreas de necrosis y las áreas preservadas se observaron mejor con CD45 (ALC) (Figura 9). El CD15 fue positivo en escasos neutrófilos, y CD20 mostró marcaje focal en las áreas foliculares con inmunoblastos de gran tamaño (Figura 10). Con CD45ro se vieron linfocitos T en la periferia del ganglio y dispersos en las zonas de

fibrosis y en la áreas de necrosis, algunos de ellos de gran tamaño (Figura 11). CD68 mostró la presencia de numerosos macrófagos en las extensas zonas de necrosis con fagocitosis activa (Figura 12) y la Proteína S100 discreta reactividad en las células dendríticas.

Caso N° 3: (Biopsia NP: 680-99) Una paciente femenina de 24 años a quien se le extrae un ganglio cervical. La histología mostró con H&E áreas indemnes (Figura13) y extensas áreas de necrosis (Figuras 14, 15 y 16). Con CD45ro se vieron linfocitos T grandes (Figuras 17 y 18). CD20 mostró escasos linfocitos B (Figura 19) y la Proteína S100 resultará negativa. Con CD45 (ALC) se vieron linfocitos abundantes en las zonas periféricas del ganglio (Figura 20). Se apreció inmunomarcaje con CD68 en numerosos macrófagos en las áreas de necrosis (Figuras 21 y 22).

Caso N° 4: (Biopsia NP: 212-2000) Mujer de 30 años de edad con biopsia de ganglio de sitio no referido. Con H&E se vieron áreas de necrosis (Figuras 23 y 24) las cuales se cuando se observan con mayor aumento es posible observar cariorexis y cuerpos apoptóticos en los macrófagos (Figuras 25 y 26). ALC inmunomarcó los linfocitos en áreas indemnes del ganglio (Figura 27), CD20 mostró marcaje focal en los nódulos hiperplásicos subcorticales (Figura 28) y en algunas áreas dispersas con algunos inmunoblastos con marcaje de membrana. CD45ro mostró dispersos y numerosos linfocitos T, algunos de ellos muy grandes con apariencia atípica (Figura 29). Numerosos macrófagos se inmunomarcaron con CD68 (Figuras 30 y 31). En las zonas de necrosis con marcada fagocitosis de los macrófagos y cariorexis no se detectaron neutrófilos.

Caso N° 5: (Biopsia NP: 848-2003) Paciente de 43 años de edad y femenina, con biopsia de ganglio linfático cervical. Con H&E se observa la necrosis y la fagocitosis de restos nucleares por los macrófagos (Figuras 32 y 33), estos hallazgos se destacan con CD68 donde evidenció la presencia de abundantes macrófagos (Figura 34). CD20 inmunomarcó los centros germinales y con ALC se destacan linfocitos dispersos entre la necrosis (Figura 35). CD45ro se vieron linfocitos T pequeños y algunos grandes en las áreas de necrosis (Figura 36 y 37). Con la Proteína S100 no se vieron células dendríticas.

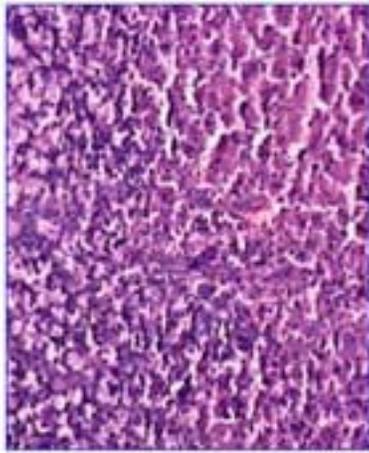


Figura 1
H&E 100X

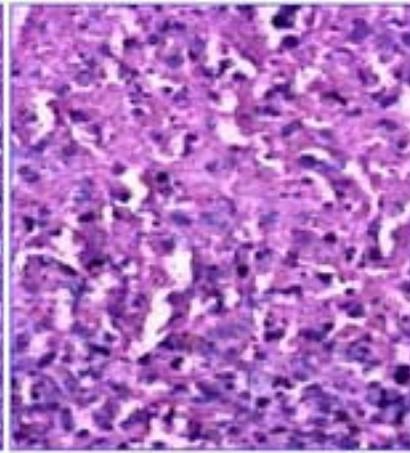


Figura 2
H&E 200X

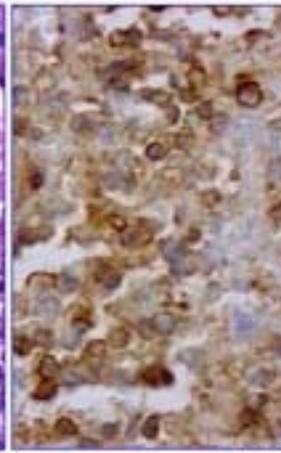


Figura 3
ALC 200X

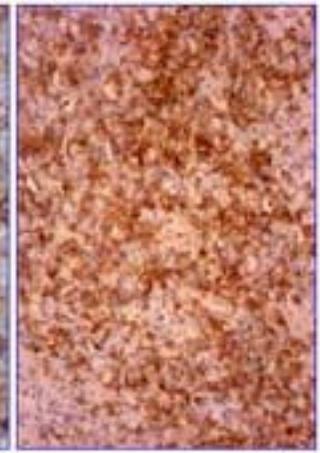


Figura 4
CD20 100X

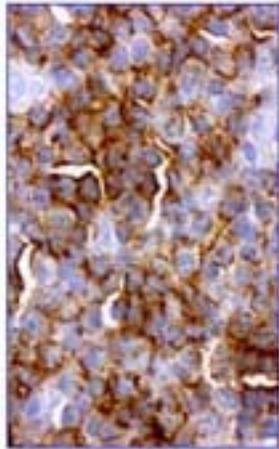


Figura 5
CD20 200X

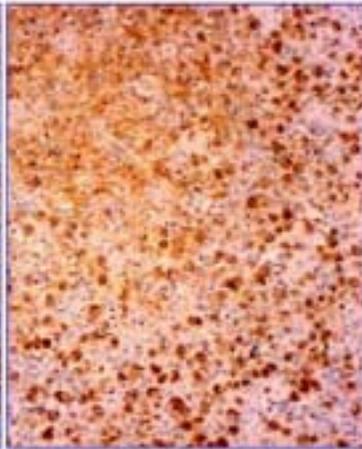


Figura 6
CD68 100X

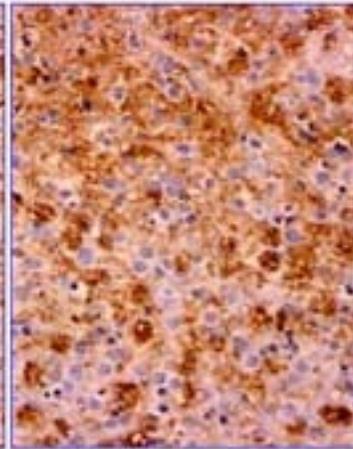


Figura 7
CD68 200X

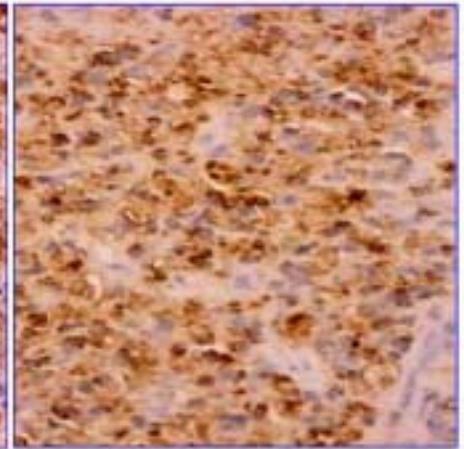


Figura 8
CD45ro 200X

Caso N° 1: (Biopsia NP:407-98)

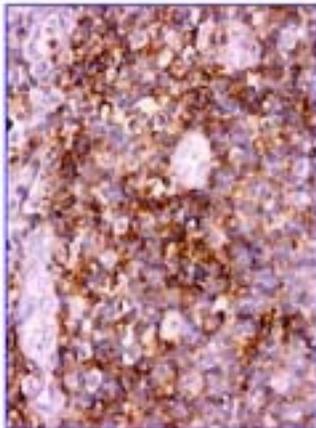


Figura 9
ALC 200X

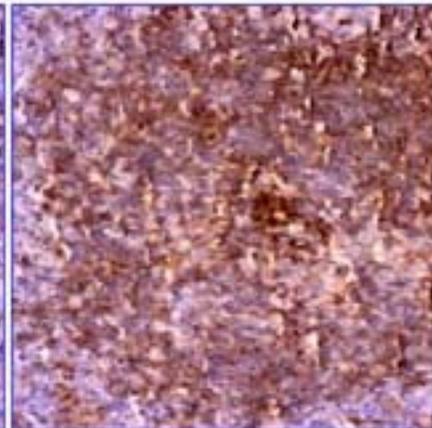


Figura 10
CD20 200X

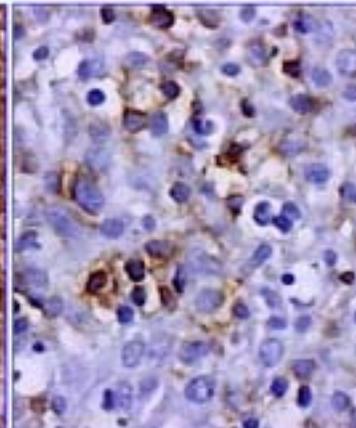


Figura 11
CD45ro 400X

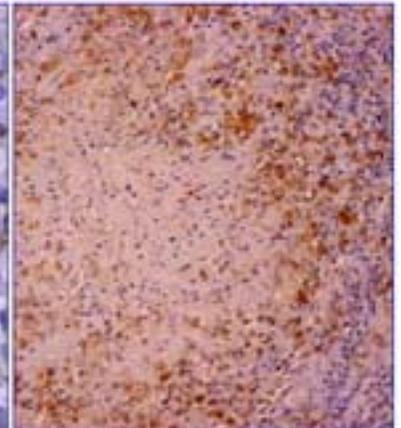


Figura 12
CD68 200X

Caso N° 2: (Biopsia NP:162-99)

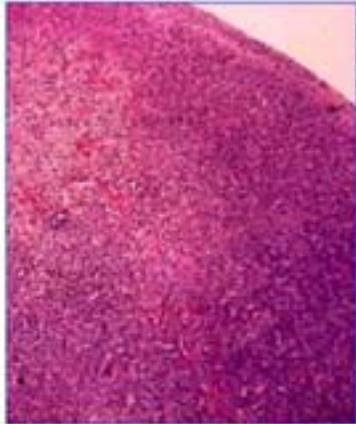


Figura 13
H&E 40X

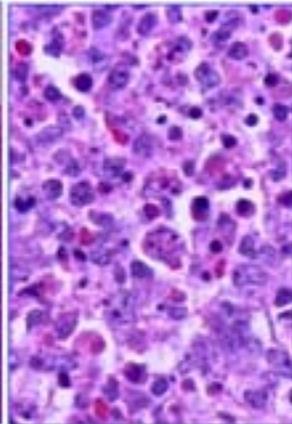


Figura 14
H&E 200X

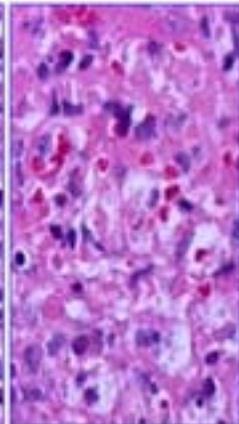


Figura 15
H&E 200X

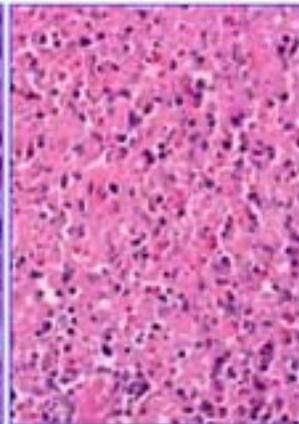


Figura 16
H&E 100X

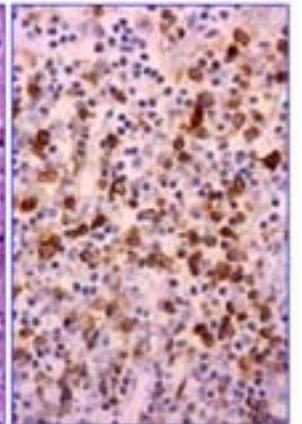


Figura 17
CD45ro 400X

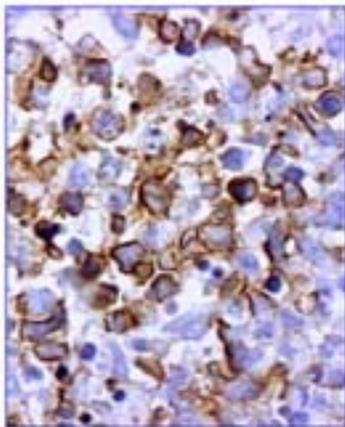


Figura 18
CD45ro 200X

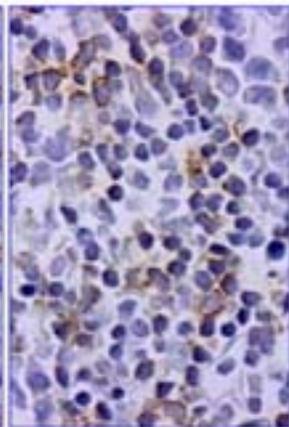


Figura 19
CD20 200X

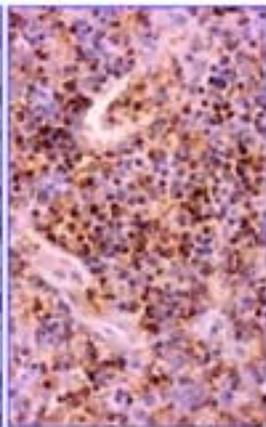


Figura 20
ALC 200X

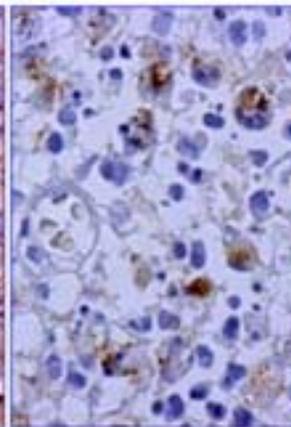


Figura 21
CD68 200X

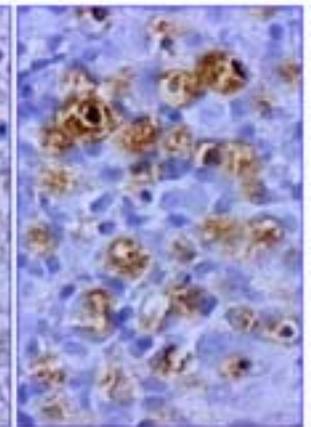


Figura 22
CD68 400X

Caso N° 3: Biopsia NP: 680-99

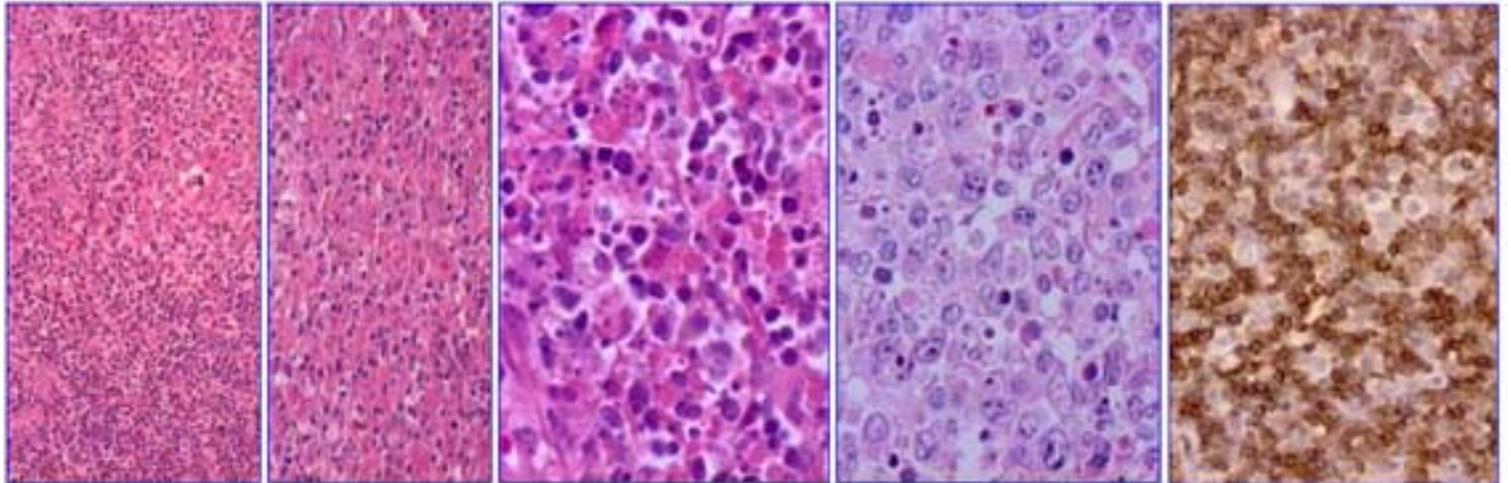


Figura 23
H&E 40X

Figura 24
H&E 200X

Figura 25
H&E 200X

Figura 26
H&E 100X

Figura 27
CD45ro 400X

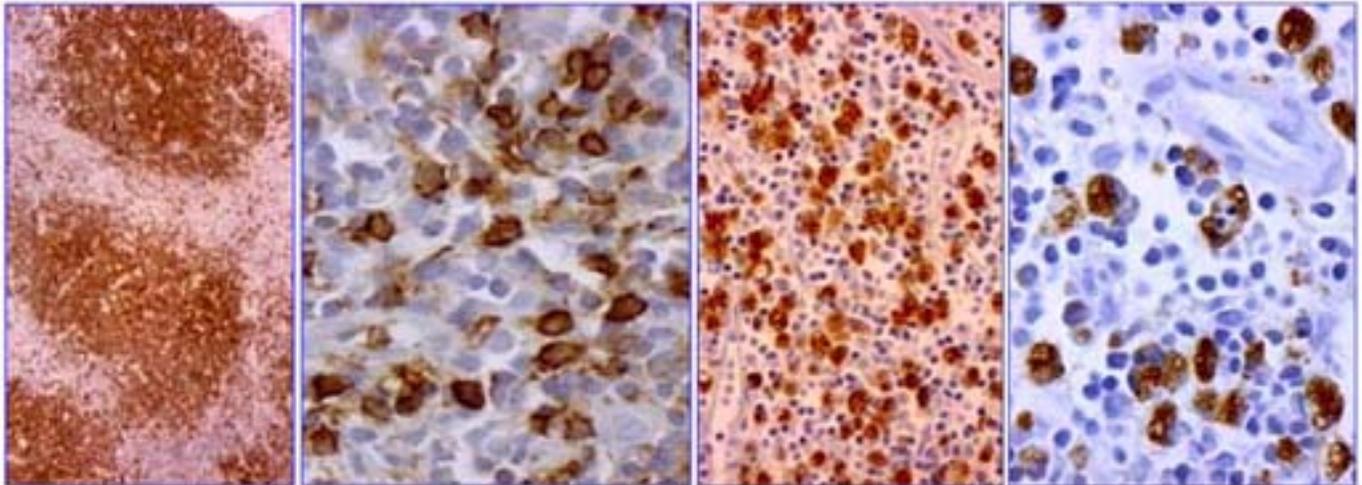


Figura 28
CD45ro 200X

Figura 29
CD20 200X

Figura 30
ALC 200X

Figura 31
CD68 200X

Caso N° 4: (Biopsia NP: 212-2000)

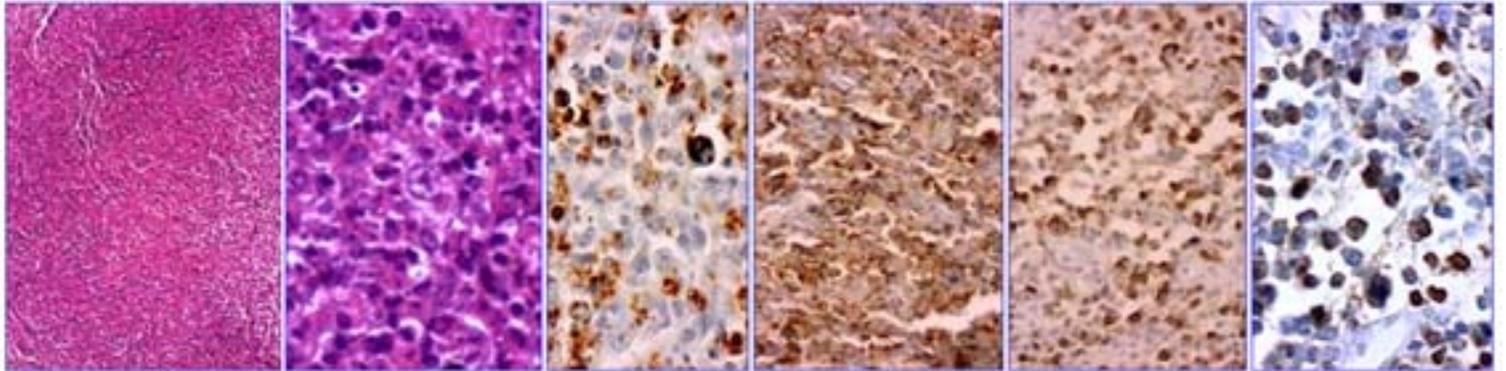


Figura 32
H&E 100X

Figura 33
H&E 400X

Figura 34
CD68 400X

Figura 35
ALC 200X

Figura 36
CD45ro 200X

Figura 37
CD20 100X

Caso N° 5: (Biopsia NP: 848-2003)

Discusión

La enfermedad de Kikuchi Fujimoto se caracteriza morfológicamente por una extensa necrosis del tejido linfóide de los ganglios linfáticos, con cariorexis en ausencia o en franca disminución de leucocitos neutrófilos. La necrosis es colonizada por macrófagos con una intensa actividad fagocítica que mostramos en los resultados con la coloración de H&E y con mayor precisión con la ayuda de la inmunohistoquímica y el anticuerpo CD68. En las áreas de necrosis se observan grandes células linfoides las cuales inmunohistoquímicamente son identificadas como células T, de estirpe evidentemente citotóxica. Algunos investigadores han señalado la presencia de células de aspecto plasmocitoide o de apariencia monocítica sin que haya podido explicarse su origen (4). Las células monocitoides más notorias en las áreas de necrosis en nuestros casos correspondieron a linfocitos T como demostramos con el anticuerpo CD45ro al igual que demostramos los macrófagos con CD68. Nuestras observaciones histológicas y hallazgos inmunohistoquímicos igualmente apoyan la tesis de un proceso de apoptosis intenso en esta enfermedad.

La presencia de cariorexis en ausencia de leucocitos polimorfonucleares es uno de los fenómenos que ha llamado la atención en la EKF. La discusión sobre las diferencias entre restos celulares necróticos y fragmentos de núcleos apoptóticos ha sido objeto de controversia (10). Sabemos que la apoptosis es un proceso genéticamente dirigido que se da como respuesta a estímulos externos o internos y el cual conlleva la fragmentación del ADN por endonucleasas produciendo los llamados cuerpos apoptóticos (11). Observaciones previas realizadas con el microscopio electrónico nos mostraron detalles ultraestructurales del fenómeno en la sangre periférica de pacientes con SIDA (12) y un par de años más tarde nos referimos a las variables morfológicas y fisiológicas que se producen durante la muerte celular (11). No obstante, los procesos fisiológicos y patológicos que se relacionan con la apoptosis, denominada también muerte celular programada, son múltiples, y pueden estar asociados al efecto de hormonas, al crecimiento de los tumores, o al daño celular provocado por células asesinas (11, 14, 16). Este último evento, pareciera ser el caso en la EKF.

El proceso de la apoptosis es regulado por el receptor Fas/APO-1, por c-myc, p53, bcl-2 y bax que actúa oponiéndose al efecto del bcl-2, proteína producto del protooncogén *bcl-2* supresor de la apoptosis. Los detalles de estos cambios del gen bax y de bcl-2, así como las alteraciones de la proteína p53 y la proteína c-myc que se expresan cuando se altera el ADN en la ruta hacia la apoptosis, han sido previamente revisados y no parecieran estar alterados significativamente en la EKF (15,17). La investigación de la vía de las perforinas y las granzimas y la vía del Fas-Fas ligando en la EKF demostró que ambas son válidas para provocar la apoptosis (18). El mecanismo de acción de las perforinas es la producción de poros transmembranosos que permitirán a las granzimas llegar hasta el núcleo provocando la ruptura de la nucleolina y la fragmentación del ADN. La detección reciente de RCAS1, una proteína asociada a la apoptosis que la inducen los linfocitos T activados con marcada proliferación de los macrófagos, ha servido para mostrar que ella se encuentra elevada en la linfadenitis necrotizante (19). La investigación reciente de una de las endonucleasas responsables

de la fragmentación del ADN en la EKF, la DNasa gamma, ha sido demostrada para señalar que igualmente, este es uno de los principales mecanismos de la apoptosis en esta enfermedad (20). Todos estos procesos, se dan a través de la inducción de citocinas por parte de los linfocitos T citotóxicos, los cuales ya señalamos son muy numerosos en la EKF.

Referencias

1. **Pileri S, Kikuchi M, Heldbron D, Lennert K.** Histiocytic necrotizing lymphadenitis without granulocytic infiltration. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1982, 395: 257-271.
2. **Kruger GR, Huetter ML, Rojo J, Romero M, Cruz-Ortiz H.** Human herpesvirus HHV-4(EBV) and HHV-6 in Hodgkin's and Kikuchi's diseases and their relation to proliferation and apoptosis. *Anticancer Res* 2001, 21: 2155-2161
3. **Kikuchi M, Yoshizumi T, Nakamura H.** Necrotizing lymphadenitis: acute toxoplasmic infection. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1977, 376: 247-253.
4. **Tsang WYW, Chan JKC, Ng CS.** Kikuchi's lymphadenitis. A morphologic analysis of 75 cases with special reference to unusual features. *Am J Sur Pathol* 1994, 18 219-231.
5. **Chamulak GA, Brynes RK, Nathwani BN.** Kikuchi-Fujimoto disease mimick malignant lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1990, 14: 514-523.
6. **Yoshino T, Mannami T, Ichimura K, Takenada K, Nose S, Yamadori I, Akagi T.** Two cases of histiocytic necrotizing lymphadenitis (Kikuchi-Fujimoto's disease) following diffuse large B-cell lymphoma. *Human Pathol* 2000, 31: 1328-1331.
7. **Lopez C, Oliver M, Olavarria R, Sarabia MA, Chopite M.** Kikuchi-Fujimoto necrotizing lymphadenitis associated with cutaneous lupus erytematosus: a case report. *Am J Dermatopathol* 2000, 22: 328-333.
8. **Kikuchi M.** Lymphadenitis showing focal reticulum cell hyperplasia with nuclear debris and pahgocytosis. *Nippon Ketsueki Gakki Zasshi* 1972, 35: 379-380.
9. **Fujimoto Y, Kozima Y, Yamaguchi K.** Cervical subacute necrotizing lymphadenitis: a new clinicopathologic entity. *Naika* 1972, 20: 920-927.
10. **Arend MJ, Wyllie AH.** Apoptosis: mechanisms and roles in pathology. *Int Rev Exp Pathol* 1991, 32: 223-254.
11. **García Tamayo J.** Muerte celular (Editorial). *Invest Clin* 1994, 35:119-122.
12. **Caleiras E, García Tamayo J, E. de García S.** Evidencias ultraestructurales de apoptosis en sangre periférica de pacientes infectados con el VIH. *Memorias del 1er Congreso Atlántico de Microscopía Electrónica, Mérida, Venezuela*1992, 1: 198-199.
13. **Williams GT, Smith CA.** Molecular regulation of apoptosis: Genetic control on cell death. *Cell* 1993, 74: 777-779.
14. **Kerr JRF, Witerfold CM, Harmon BV.** Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994, 73: 2013-2026.

15. **Nuñez G, Clarke MF.** The bcl-2 family of proteins: regulators of cell death and survival. *Trends Cell Biol* 1994, 4: 394-399.
16. **Williams GT.** Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. *Cell* 1991, 65: 1097-1098.
17. **Carson DA, Ribeiro JM.** Apoptosis and disease. *Lancet* 1993, 341:1251-1254.
18. **Ohshima K, Shimazaki K, Kume T, Suzumiya J, Kanda M, Kikuchi M.** Perforin and Fas pathways of cytotoxic T-cells in histiocytic necrotizing lymphadenitis. *Histopathology*. 1998, 33:471-8.
19. **Abe Y, Ohshima K, Nakashima M, Hara K, Matsushima T, Choi I, Nishimura J, Kikuchi M, Nawata H, Watanabe T, Muta K.** Expression of apoptosis-associated protein RCAS1 in macrophages of histiocytic necrotizing lymphadenitis. *Int J Hematol*. 2003, 7:359-363.
20. **Higami Y, To K, Ohtani H, Masui K, Iwasaki K, Shiokawa D, Tanuma S, Shimokawa I.** Involvement of DNase gamma in apoptotic DNA fragmentation in histiocytic necrotizing lymphadenitis. *Virchows Arch*. 2003, 443:170-174.