

Expresión difusa de EMA y Glut-1, en tres casos de neurofibromas. Evidencia inmunohistoquímica de diferenciación perineural extensa

Diffuse expression of EMA and Glut-1 in three cases of neurofibromas. Immunohistochemical evidence of extensive perineural differentiation

Andrea María Sada-Mier y Terán¹, Rafael Padilla-Longoria², Sonia Toussaint-Caire³, Carlos Ortiz-Hidalgo^{1,4}

RESUMEN

Antecedentes: Los neurofibromas son tumores originados de la vaina del nervio periférico formados por diversos componentes celulares endoneuriales. La presencia de células perineurales, dentro de la proliferación del neurofibroma, es generalmente escasa. **Métodos:** De 15 neurofibromas encontrados en un periodo de cuatro años (1999-2003) en los archivos del departamento de patología del Hospital ABC, de la ciudad de México, tres casos presentaron extensa diferenciación perineural evidenciada por medio de la inmunomarcación con EMA, GLUT-1. **Resultados:** En los tres neurofibromas hubo numerosas células perineurales EMA y GLUT1 positivas, distribuidas en forma difusa, que representaron aproximadamente 40% de la población celular del tumor. Los pacientes fueron dos mujeres (20 años de edad con tumor subcutáneo en región sacra; y de 58 años de edad con lesión subungueal en dedo pulgar derecho) y un hombre (de 61 años de edad con tumor mesentérico). Las células perineurales eran delgadas con procesos citoplásmicos bipolares eosinófilos y formando fascículos laminares distribuidas irregularmente en todo el tumor, siendo particularmente prominentes en zonas con estroma mixoide. **Conclusión:** Informamos 3 casos de neurofibromas (NF) con numerosas células fusiformes positivas por inmunohistoquímica para el antígeno de membrana epitelial (EMA) y a la proteína transportadora de glucosa 1 (GLUT-1), lo que indica la presencia de células perineurales dentro de la lesión. Esta morfología de células perineurales en NF es difícil de observar con H&E por lo que el uso de inmunomarcación con EMA y GLUT-1 es necesario para comprobar la presencia de células perineurales en los neurofibromas. La diferenciación perineural extensa, aparentemente no tiene implicación pronóstica alguna.

Palabras clave: neurofibromas, perineurio, EMA, Glut-1

SUMMARY

Introduction: Neurofibromas belong to the group of neoplasms arising from nerve sheath and are composed of a mixture of endoneurial components. Usually, they contain only few perineurial cells within its cellular proliferation. **Patients and Methods:** Fifteen (15) neurofibromas were retrieved from the department of pathology files (ABC hospital in Mexico City), during a 5 years period (1999-2003). Three cases presented an extensive perineural differentiation that was made evident by immunostaining with EMA and Glut-1. **Results:** In the three selected cases, EMA and Glut-1 positive perineurial cells represented a significant cellularity percentage (approximately 40%). Two patients were females (age 20, with a subcutaneous tumor in the sacral region; and age 58, with a subungueal tumor in the right thumb) and one was male (age 61, with a mesenteric tumor). Perineurial cells appear as spindle-shaped with bipolar cytoplasmic processes irregularly distributed throughout, but especially at the periphery of the lesion and in areas with myxoid stroma. **Conclusions:** Three neurofibromas containing numerous EMA and Glut-1-positive, slender, spindle-shaped, perineurial cells are reported. Perineurial cells are difficult to identify by H&E. EMA and Glut-1 immunostainings are imperative to prove the amount of perineurial differentiation that seems to have no prognostic implications.

Key words: neurofibroma, perineurioma, EMA, Glut-1

Rev Esp Patología 2005; 38 (2): 83-86

Recibido el 22/12/04. Aceptado el 31/5/05.

¹ Departamento de Histología. Escuela de Medicina, Universidad Panamericana. México DF.

² Departamento de Cirugía. Centro Médico ABC. México DF.

³ Departamento de Dermatología. Hospital General Dr. Manuel Gea González. SS. México DF.

⁴ Departamento de Patología. Centro Médico ABC. México DF.

Correspondencia:

Carlos Ortiz-Hidalgo

Patología. Centro Médico ABC

Sur 136#116 Col. Las Américas, México DF 01120. México

cortiz@abchospital.com

INTRODUCCIÓN

Los neurofibromas (NF) son tumores que pueden estar asociados a neurofibromatosis tipo I, y generalmente son circunscritos, no encapsulados, y están compuestos por una mezcla de células de Schwann, fibroblastos, células perineurales y células con características ultraestructurales intermedias (1-4). Pueden también contener fragmentos de axones, células cebadas, células melanocíticas, elementos epiteliales heterólogos, células ganglionares y células fusiformes CD34 positivas (1,5). Las células perineurales pueden estar presentes y estas se identifican por medio de la inmunomarcación con el antígeno epitelial de membrana (EMA) y con la proteína transportadora de glucosa 1 (Glut-1), y son negativas a la proteína S 100 (1,6). Generalmente la presencia de células perineurales es focal en los NF, y ha sido poco estudiada la existencia de casos con numerosas células perineurales, como parte importante de NF con comprobación inmunohistoquímica utilizando EMA como marcador para la diferenciación perineural (6,7). Presentamos en este trabajo tres casos de neurofibromas, en

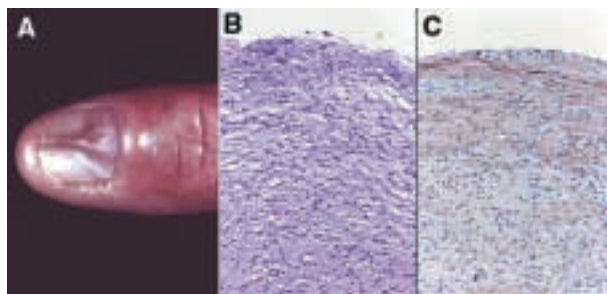


Fig. 1: A) Aspecto clínico del neurofibroma que se encuentra localizado en la zona subungueal. B) Neurofibroma H&E C) Neurofibroma mostrando numerosas células perineurales Glut-1 positivas.

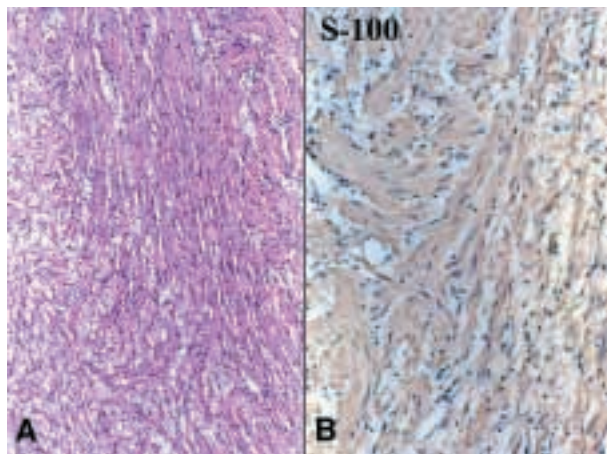


Fig. 2: Estas imágenes corresponden al tumor retroperitoneal (caso 2). A) H&E Proliferación fusiforme con células de Schwann con bandas de colágena gruesa y zona mixoides. B) Inmunomarcación con proteína S-100.

pacientes sin neurofibromatosis, con diferenciación perineural extensa utilizando EMA y Glut-1 como marcadores de perineuro.

MATERIAL Y METODOS

Se revisaron los archivos de patología del Hospital ABC de la ciudad de México, encontrándose 15 casos de neurofibromas en cuatro años (1999-2003). De esta serie, se seleccionaron tres por la extensa diferenciación perineural que se encuentran descritos en la tabla 1. Estos tres neurofibromas correspondieron a: 1) uno localizado en la región subcutánea sacra de una mujer de 20 años de edad de 2,2 cm, 2) otro localizado en el mesenterio de un hombre de 61 años de edad de 5,8 cm y 3) una lesión subungueal en el dedo pulgar derecho en una mujer de 58 años de edad de 0,7 cm (fig. 1). Ninguno de los tres pacientes presentó datos clínicos de neurofibromatosis. Del primero y del tercer caso se incluyó todo el tejido (del primero en dos cápsulas y del tercero en una cápsula). Del tumor mesentérico (segundo caso) se incluyeron 5 cortes representativos, en 5 cápsulas.

En los tres casos se practicó tinción con hematoxilina y eosina así como azul alciano pH 2,5. Además se realizó inmunomarcación (Dako Autostainer) con proteína S-100 (Biogenex 1:800), EMA (Biogenex 1:50 recuperación antigénica con Trilogy), Glut-1 (Neo Marker 1:200) CD 34 (Biogenex 1:100), CD57 (leu7) (Biogenex 1:50), neurofilamentos (Cell Marque 1:100) y CD 117 (Dako 1:600) Recuperación antigénica con Declere.

RESULTADOS

Los tres tumores presentaron características histológicas similares. Los tumores no tenían cápsula, pero estaban bien delimitados por condensación irregular de tejido conectivo fibroso adyacente, y estaban compuestos por proliferación fusocelular irregular con citoplasma eosinófilo y núcleos sin pleomorfismo. Solamente el tumor mesentérico (caso 2), presentó escasas mitosis (<2 en 10 campos de 40x) no atípicas. En áreas del caso 1 y del 2, había zonas laxas mixoides que fueron positivas al azul alciano pH 2,5. Los tres casos había un número variable de células cebadas, que fueron más evidentes mediante la inmunomarcación con CD117, siendo el caso 2 en donde hubo mayor número de estas células (5-6 células cebadas en 10 campos de 40x). Los tumores presentaron positividad difusa a la proteína S-100, CD34 y al CD57 (fig. 2). Los tres casos presentaron escasos cilindroejes positivos a los neurofilamentos, en forma multifocal y numerosas células perineurales positivas al EMA y Glut-1, de distribución difusa, con predominio de las zonas periféricas (figs. 1 y 3). Estas células peri-

neurales eran fusiformes delgadas, con núcleo pequeño ovalado hipercromático, separadas focalmente por tejido fibroso, dando un aspecto «reticular» focal. Al realizar doble inmunomarcación con proteína S-100 y EMA, las células perineurales solamente fueron resaltadas con EMA, diferenciándose claramente de las células de Schwann S-100 positivas. Cabe hacer notar que la presencia de células perineurales era difusa en todos los cortes estudiados, en particular en el tumor más grande (2 tumor mesentérico de 5,5 cm) se encontró la presencia de células perineurales en los cinco cortes estudiados. Ninguno de los tres casos presentó necrosis, mitosis atípicas, ni pleomorfismo.

DISCUSIÓN

Los neurofibromas (NF) están formados por una mezcla celular constituida por células de Schwann (S-100 positivas), fibroblastos endoneurales (CD34 positivos), células perineurales (EMA positivas) y axones (positivos a los neurofilamentos) en proporción variable. (1-7). Aunque algunos informes de NF con examen ultraestructural han demostrado que las células perineurales representan parte prominente de la población celular, los estudios inmunohistoquímicos utilizado EMA como marcador de diferenciación perineural, no se ha podido establecer en la mayoría de las veces la presencia de células perineurales (1,8,9). Las células perineurales EMA positivas en neurofibromas, generalmente han sido encontradas en la zona periférica (subcapsular) (1,10,11), lo que ha sido interpretado como remanente perineural de los nervios afectados. Perentes y col (9), informaron numerosas células positivas a EMA en dos casos de neurofibromas y Tsang y col. en sus trabajos sobre perineuromas, menciona que hay tumores que contienen células positivas a EMA como parte importante de la población de células neoplásicas. (10,11). En estos estudios, las células positivas a EMA se encontraron en 8% de los NF, y fueron observadas en áreas extensas de la lesión, sugiriendo que estos elementos son parte de la población celular del tumor.

En ocasiones la presencia de células perineural puede ser inferida al examinar los cortes con H&E por la formación fusocelular digitiforme que presentan estas células, sin embargo este hallazgo no es constante. Las células perineurales poseen delgados procesos celulares

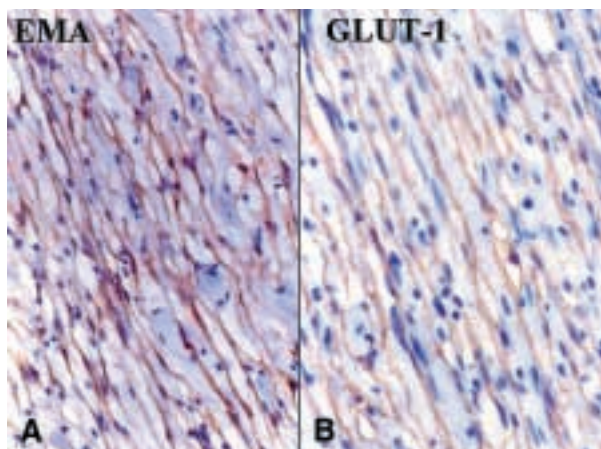


Fig. 3: Mismo caso de la figura 2 con a) inmunomarcación con EMA y b) Glut-1. Las células perineurales se hacen evidentes con estas dos inmunomarcaciones y se identifica la característica fusiforme de estas células.

bipolares acomodados en fascículos laminares (1,12-18). El núcleo de estas células es ovoide y elongado y el citoplasma es eosinófilo con bordes celulares poco visibles. En nuestros casos, en las áreas en donde el tejido era más laxo (mixoide), el aspecto de cada célula perineural fue mucho más evidente. En los casos 1 y 3, en la zona periférica el aspecto de las células perineurales dio un patrón débilmente retiforme, similar a lo observado en la variante retiforme del perineuroma (19). A pesar de que la morfología mencionada en cortes con H&E nos puede sugerir diferenciación perineural en NF, esta no es específica pues puede estar presente en tumores del nervio periférico, sin diferenciación perineural. Es por esto la importancia de la inmunomarcación con EMA para comprobar la presencia de perineuro. El perineuro además puede ser identificado por medio de la inmunomarcación con GLUT-1 (6).

La mayoría de las células de los mamíferos transportan glucosa a través de una familia de proteínas transmembrana conocidas como «transportadores de glucosa». Por medio de clonación molecular de estos transportadores, se ha identificado a una familia de genes relacionados que codifican por lo menos a 13 proteínas de peso molecular aproximado entre 40 y 60kDa, conocidas como Glut-1 al Glut-13. Las diversas isoformas de Glut, difieren en su expresión tisular, sustrato específico y características cinéticas (6). Por inmunohistoquímica, el Glut-1 ha sido identificado en diversas células norma-

TABLA 1

CASO	Edad/Sexo	Localización	Tamaño	Neurofibromatosis
1	20/Femenino	Sacro derecho	2,2 × 0,8 cm	NO
2	61/Masculino	Tumor mesentérico	5,8 × 5,6 cm	NO
3	58 años/Femenino	Tumor subungueal dedo pulgar de la mano derecha	0,7 cm	NO

les y neoplásicas así como en la membrana del eritrocito (erythrocyte glucose transporter protein1). En el nervio periférico el Glut-1 se expresa selectivamente en el perineuro normal, e igualmente en los perineuromas y en las células perineurales de tumores de vaina de nervio periférico benignos y malignos (6). La expresión difusa del Glut-1 en nuestros tres casos de neurofibromas, fue similar a lo observado con el EMA, tanto en intensidad como en localización (fig. 3).

La inmunomarcación adicional realizada en nuestros tres casos de neurofibromas, corresponde a lo informado en estos tumores. En los tres casos hubo células de Schwann positivas a la proteína S-100 y al CD57 (fig. 2) (1,2,21,22). Mediante los neurofilamentos, se pudo hacer evidente escasos cilindroejes distribuidos en forma difusa en los tres tumores. Las células positivas a CD 34 en los NF son células fusiformes «dendríticas» que posiblemente corresponden a los fibroblastos que participan en la proliferación celular del NF. Se ha sugerido que estas células CD34 positivas corresponden a fibroblastos endoneurales que quizá contribuyan a mantener la estructura (sostén) endoneural (20,21,22).

En resumen algunos neurofibromas pueden presentar numerosas células perineurales que pueden hacerse evidentes por medio de la inmunomarcación con antígeno epitelial de membrana (EMA) o con la proteína transportadora de glucosa 1 (Glut-1). Esta diferenciación puede encontrarse hasta en 8% de los casos de neurofibromas como originalmente los demostraron Zemecknic y col. (7). La presencia de células perineurales es solamente un hallazgo histológico que no conlleva valor pronóstico alguno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perry A, Roth KA, Banerjee R, Fuller CE, Gutmann DH. NF deletion in S-100 protein-positive and negative cells of sporadic and neurofibromatosis 1(NF1)- associated plexiform neurofibromas and malignant peripheral nerve tumors. *Am J Pathol* 2001; 159: 57-61.
2. Ironside JW, Moss TH, Louis DN, Lowe JS, Weller RO. Tumors of peripheral nerves. En: *Diagnostic pathology of nervous system tumors*. London : Churchill-Livingstone; 2002. p. 425-63.
3. Burger PC, Scheithauer BW. *Atlas of Tumor Pathology. Tumors of Central Nervous System*. 3th series, fascicle 10. Washington, DC: AFIP; 1994.
4. Scheithauer BW, Woodruff JM, Erlandson RA. *Atlas of tumor Pathology. Tumors of the Peripheral Nervous System*. 3th series, fascicle 24. Washington, DC: AFIP; 1999.
5. Weiss SW, Nickoloff BJ. CD 34 is expressed by a distinctive cell population in peripheral nerve, nerve sheath tumors, and related lesions *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 1039-4.
6. Hirose T, Tani T, Shimada T, Ishizawa K. Immunohistochemical demonstration of EMA/Glut1-positive perineurial cells and CD34-positive fibroblastic cells in peripheral nerve sheath tumors. *Mod Pathol* 2003; 16: 293-8.
7. Zamecnick M, Michal M. Perineurial cell differentiation in neurofibromas. Report of eight cases including a case with composite perineurioma-neurofibroma features. *Path Res Pract* 2001; 197: 537-44.
8. Erlandson RA. The enigmatic perineurial cell and its participation in tumors and in tumorlike entities. *Ultrastruct Pathol* 1991; 15: 335-51.
9. McKeever PE. Immunohistochemistry of nervous system. En: *Diagnostic immunohistochemistry*. Dabbs DJ, editor. New York: Churchill-Livingstone; 2002. p. 559-624.
10. Theaker JM, Gatter KC, Puddle J. Epithelial membrane antigen expression by the perineurium peripheral nerve and in peripheral nerve tumors. *Histopathology* 1988; 13: 171-9.
11. Tsang WYW. Perineuriomas: perineurial cell neoplasms with distinctive extra and intra neural forms. *Adv Anat Pathol* 1996; 3: 212-22.
12. Tsang WYW, Chan JKC, Chow LTC, Tse CC. Perineurioma: An uncommon soft tissue neoplasm distinct form localized hypertrophic neuropathy and neurofibroma. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 756-63.
13. Emory TS, Scheithauer BW, Hirose T, Wood M, Onofrio BM, Jenkins RB. Intraneural perineurioma. A clonal neoplasm associated with abnormalities of chromosome 22. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 696-703.
14. Giannini C, Scheithauer BW, Jenkins RB, Erlandson RA, Perry A, Borell TJ, Hoda RS, Woodruff JM Soft tissue perineurioma. Evidence for an abnormality of chromosome 22, criteria for diagnosis, and review of the literature. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 164-73.
15. Lazarus SS, Trombetta LD Ultrastructural identification of benign perineurial cell tumor. *Cancer* 1978; 41: 1823-9.
16. Mentzel T, Dei Tos AP, Fletcher CDM. Perineurioma (storiform perineurial fibroma): Clinicopathological analysis of four cases. *Histopathology* 1994; 25: 261-7.
17. Canales Ibarra C, Magariños G, Olsoff-Pagovich P, Ortiz-Hidalgo C. Cutaneous sclerosing perineurioma of the digits: an uncommon soft tissue neoplasm. Report of two cases with immunohistochemical analysis. *J Cut Pathol* 2003; 30: 577-81.
18. Zelger B, Weinlich G, Zelger B. Perineurioma. A frequently unrecognized entity with emphasis on a plexiform variant. *Adv Clin Path* 2000; 4: 25-33.
19. Michal M Extraneural retiform perineuriomas. A report of four cases. *Pathol Res Pract* 1999; 195: 795-63.
20. Chaubal A, Paetau A, Zoltick P, Miettinen M. CD 34 immunoreactivity in nervous system tumors. *Acta Neuropathol (Berl)* 1994; 88: 454-8.
21. Khalifa MA, Montgomery EA, Ismiil A, Azumi A. What are the CD 34+ cells in benign peripheral nerve sheath tumors? Double immunostaining study of CD 34 and S 100 protein. *Am J Clin Pathol* 2000; 114: 123-6.
22. Ortiz Hidalgo C, De León Bojorge B, de la Vega G. Utilidad del CD34 en patología quirúrgica. *Patología (Revista Latinoamericana)* 1997; 35: 261-7.