

112422

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO /  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

*CURSO CLINICO DE LA MASTOCITOSIS CUTANEA EN NIÑOS Y  
UTILIDAD DE LA TECNICA DE INMUNHISTOQUIMICA: Estudio de  
seguimiento y clinico-patológico utilizando técnica de inmunohistoquímica  
para cuantificación de células cebadas.*

TRABAJO DE INVESTIGACION QUE PRESENTA:

*Dra Ana Elisa Costa Kiszewski*

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN

DERMATOLOGIA PEDIÁTRICA

Mexico, DF

2001

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



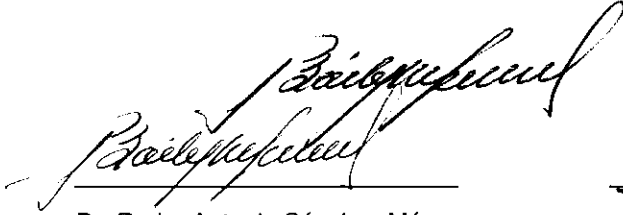
**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

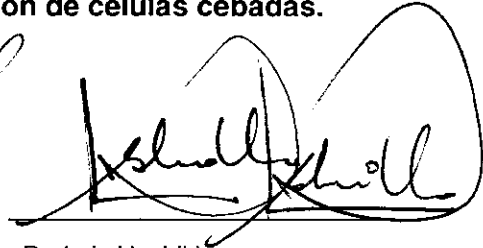
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

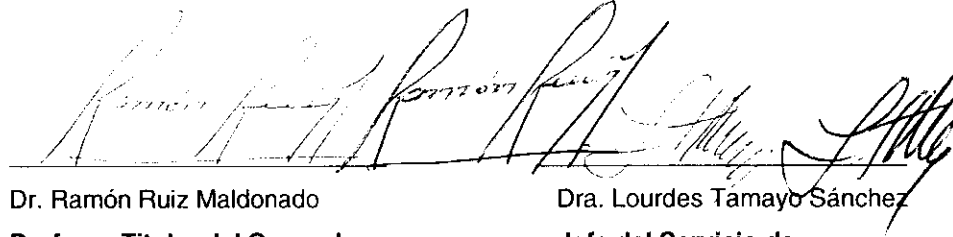
**CURSO CLINICO DE LA MASTOCITOSIS CUTANEA EN NIÑOS Y UTILIDAD DE LA TECNICA DE INMUNOHISTOQUIMICA: Estudio de seguimiento y clínico-patológico utilizando técnica de inmunohistoquímica para cuantificación de células cebadas.**



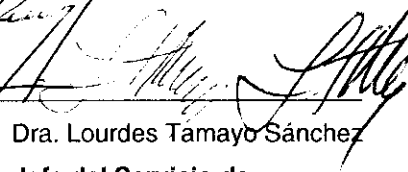
Dr. Pedro Antonio Sánchez Márquez  
Director General de Enseñanza



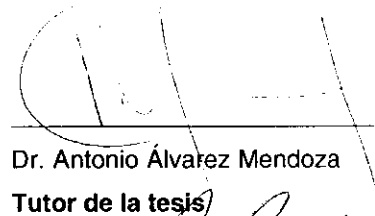
Dr. Luis Heshiki  
Jefe del Depto de Enseñanza  
de pré y posgrado



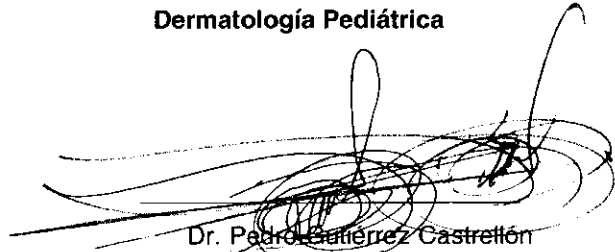
Dr. Ramón Ruiz Maldonado  
Profesor Titular del Curso de  
Dermatología Pediátrica



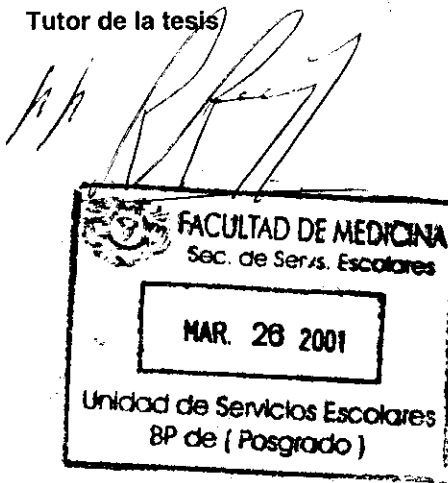
Dra. Lourdes Tamayo Sánchez  
Jefe del Servicio de  
Dermatología Pediátrica



Dr. Antonio Álvarez Mendoza  
Tutor de la tesis



Dr. Pedro Gutiérrez Castrellón  
Asesor en Metodología  
de la Investigación



## DEDICATORIA

*A mis padres Elvino e Ivete*

*A mi hermano Fernando*

*Gracias por el amor que siempre me han dado y por el incentivo a la carrera científica.*

*A Claiton Bau*

*Mi amor*

*A Tecla Pinheiro, José del Valle y a todas las personas que participaron de forma directa o indirecta en la elaboración de este trabajo.*

**AGRADECIMIENTOS:**

***A Secretaria de Relaciones Exteriores de México  
Por el apoyo económico***

***A mis maestros de Dermatología Pediátrica  
Por compartieren sus conocimientos***

***Al Departamento de Patología Experimental del Instituto Nacional de  
Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"***

***A Rene Hernandez Vasconcelos  
Por enseñarme las técnicas de inmunohistoquímica***

**AGRADECIMIENTO**

**HOMENAJE**

**Y MI ADMIRACIÓN**

**A mis tutores:**

***Dr. Rogelio Hernández Pando***

***Dr. Ramón Ruíz Maldonado***

***Dr. Pedro Gutiérrez***

***Dr. Antonio Alvarez Mendoza***

***Muchas Gracias***

**INDICE:**

<b>1. Resumen</b>	<b>pág. 7</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>pág. 9</b>
<b>2.1 Introducción</b>	<b>pág. 9</b>
<b>2.2 Mastocitos: origen, estructura y función</b>	<b>pág. 9</b>
<b>2.3 Citoquinas de las células cebadas</b>	<b>pág. 11</b>
<b>2.4 Antígenos de presentación y respuesta Th2</b>	<b>pág. 11</b>
<b>2.5 Subpoblaciones de las células cebadas</b>	<b>pág. 12</b>
<b>2.6 Células cebadas y su disposición en la mastocitosis</b>	<b>pág.12</b>
<b>2.7 Anticuerpo antitriptasa de las células cebadas</b>	<b>pág. 13</b>
<b>2.8 Anticuerpo policlonal anti c- Kit</b>	<b>pág. 14</b>
<b>2.9 Incidencia, distribución, clasificación y evolución de           de la mastocitosis en edad pediátrica</b>	<b>pág. 15</b>
<b>3. Justificación</b>	<b>pág. 19</b>
<b>4. Objetivos</b>	<b>pág. 20</b>
<b>5. Hipótesis</b>	<b>pág. 20</b>
<b>6. Clasificación de la Investigación</b>	<b>pág. 21</b>
<b>7. Material y Métodos</b>	<b>pág. 21</b>
<b>8. Análisis Estadístico y Interpretación de los Datos</b>	<b>pág. 24</b>
<b>9. Resultados (Estudio Clínico)</b>	<b>pág. 26</b>
<b>10. Discusión (Estudio Clínico)</b>	<b>pág. 33</b>
<b>11. Estudio Histopatológico y análisis morfométrico</b>	<b>pág. 37</b>
<b>12. Resultados (Estudio Histopatológico)</b>	<b>pág. 41</b>
<b>13. Discusión (Estudio Histopatológico)</b>	<b>pág. 44</b>
<b>14. Análisis Discriminate</b>	<b>pág. 48</b>
<b>15. Análisis de Pruebas diagnósticas</b>	<b>pág. 48</b>
<b>16. Conclusiones</b>	<b>pág. 49</b>
<b>16. Gráficos</b>	<b>pág. 50</b>
<b>17. Referencias Bibliográficas</b>	<b>pág. 63</b>

**CURSO CLINICO DE LA MASTOCITOSIS CUTANEA EN NIÑOS Y UTILIDAD DE LA TECNICA DE INMUNHISTOQUIMICA: *Estudio de seguimiento y clinico-patológico utilizando técnica de inmunohistoquímica para cuantificación de células cebadas.***

**RESUMEN**

**Antecedentes:** Mastocitosis es el nombre genérico para un grupo de síndromes clínicos cuyos signos y síntomas son producidos por la infiltración a varios tejidos y por células cebadas o mastocitos que liberan grandes cantidades de mediadores químicos tales como histamina, leucotrienos, prostaglandinas y otros (1,2,3). La forma clásica de fundamentar el diagnóstico es mediante tinciones metacromáticas como la tinción Giemsa. Recientemente se han publicado algunas investigaciones utilizando técnicas de inmunohistoquímica al parecer con mejor sensibilidad. Se desconoce la evolución de este padecimiento en niños mexicanos.

**Objetivos:** 1) Evaluar el curso clínico de la mastocitosis cutánea en niños mexicanos atendidos en una institución de 3er. nivel y la respuesta al tratamiento administrado, 2) Evaluar la utilidad del marcaje de las células cebadas con un anticuerpo monoclonal para el diagnóstico de mastocitosis, comparando con el diagnóstico establecido mediante Giemsa, para tal se realizará el cálculo de sensibilidad, especificidad y valores predictivos 3) Comparar el número de células cebadas, cuantificadas mediante marcaje con anticuerpos monoclonal (antitriptasa de las células cebadas -AA1) y policlonal (anti c-Kit) en cada uno de las diferentes mastocitosis y compararlas con los controles de piel normal, 4) Comparar los resultados obtenidos mediante el uso de esos anticuerpos contra los resultados reportados previamente en la literatura que han utilizado otras técnicas para la identificación de células cebadas.

**Material y Métodos:** Estudio observacional, comparativo, retrospectivo y longitudinal en el que se incluirán todos los expedientes y biopsias de los niños con diagnóstico de Mastocitosis Cutánea atendidos en el INP, del 1ero. De enero de 1971 al 31 de Diciembre de 1998, que forman parte del Archivo General, del archivo del Servicio de Dermatología y del archivo del Servicio de Patología. Una vez aprobado el estudio por el comité de Investigación de la Institución, se iniciará la búsqueda de los expedientes de los pacientes que cumplan los criterios de inclusión, y exclusión considerados en las secciones previas. A cada paciente se le evaluarán las variables de impacto primario y secundario, las cuales se incluirán en un formato de recolección de datos diseñado para los fines del estudio y las cuales se someterán posteriormente a análisis estadístico para evaluar el curso clínico de la enfermedad así como la respuesta al tratamiento. La fase del estudio histológico consiste en el análisis de las biopsias de estos pacientes utilizando tinciones de histoquímica (Giemsa) y tinciones de inmunohistoquímica (anticuerpos AA1 y c-Kit). Se analizará la distribución de las células en la dermis, la presencia de edema, necrosis, atrofia, otro tipo de infiltrado celular y la cuantificación de las células cebadas. Del total de casos diagnosticados clínicamente como mastocitosis cutánea, se dicotomizarán como pacientes con diagnóstico confirmado o descartado por la tinción habitual de Giemsa. Los bloques de parafina de estos pacientes serán procesados con técnica de inmunohistoquímica y se para efectuará una comparación entre la tinción de Giemsa y la inmunohistoquímica. Adicionalmente se compararán los



hallazgos con un grupo control, que será formado de piel normal de pacientes submetidas a mastectomía.

**Resultados:** Encontramos 72 pacientes con diagnóstico de mastocitosis y 6 pacientes en que el diagnóstico clínico no pudo ser confirmado por la tinción de Giemsa. Encontramos una discreta prevalencia del sexo masculino 1.8:1. Urticaria Pigmentosa fue el tipo más común de mastocitosis pediátrica (75%), las lesiones más seguidamente aparecen durante el primer año de vida (>90%) y el prurito fue el síntoma más frecuente. Los tratamientos no modificaron la evolución de la enfermedad. En el seguimiento de 31 pacientes, 80% de los pacientes mejoraron o tuvieron resolución espontánea de la enfermedad. El análisis morfométrico de los diferentes tipos de mastocitosis demostró que el número de células cebadas en la Urticaria Pigmentosa fue 44 veces superior cuando comparada con los controles de piel normal, mientras que en el Mastocitoma este número fue de 46 veces y en la Mastocitosis Cutánea Difusa fue de 86 veces. El número elevado de mastocitos en las lesiones estuvo relacionado con el prurito y hepatomegalia. En el análisis discriminante utilizando las tinciones de inmunohistoquímica, se pudo corroborar el diagnóstico en 4 de los 6 casos negativos a la tinción de Giemsa. La inmunohistoquímica tuvo una sensibilidad de 86%, cuando comparada a tinción de Giemsa.

**Conclusiones:** La mastocitosis en niños, al contrario de los adultos, tiene un curso benigno, no siendo necesaria la utilización de estudios invasivos o más sofisticados. El estudio de Medula ósea está indicado en caso de dolor ósea inexplicada ya que en este caso podría corresponder a leucemia de células cebadas. La inmunohistoquímica puede ser de ayuda en el diagnóstico de los casos donde la tinción de Giemsa es negativa y la sospecha clínica es fuerte.

## SUMMARY

Mastocytosis is a generic term applied to a group of clinical syndromes, having in common signs and symptoms secondary to tissues infiltration by mast cells (MC) and their chemical mediators. In children the disease has different clinicopathological presentations and different evolution. We studied 72 cases of pediatric mastocytosis, analyzed their clinical course and response to conventional treatment. We found a slight prevalence of male to female 1.8:1. Urticaria Pigmentosa was the most common type of mastocytosis in children (75%), lesions mostly appeared during the first year of life (>90%), and pruritus was the principal symptom. Treatments did not modified the evolution of the disease. In the follow-up of 31 patients, 80% of the patients improved and or had spontaneous resolution of the disease. Using a morphometric point counting technique we found: Urticaria Pigmentosa had 44 times more MC in the lesion as compared with the controls, Mastocytomas had 46 times more MC and Diffuse Cutaneous Mastocytosis had 86 times more. The higher number of MC in the lesions correlated with more pruritus and hepatomegaly. Discriminant analysis utilizing immunostain made diagnosis in 4 of the 6 cases without diagnosis with Giemsa stain. The immunocytochemistry had sensitivity of the 86% when compare with Giemsa stain.

In contrast to adults, mastocytosis in children has a "benign" clinical course, therefore it is not necessary in the cases to perform more sophisticated or invasive tests. The immunocytochemistry is helpful in the diagnosis of the negatives cases in the Giemsa stain.

**Palabras Claves:** mastocitosis, c-kit, urticaria pigmentosa, inmunohistoquímica.

## ANTECEDENTES

### Introducción:

La urticaria pigmentosa, es el mejor ejemplo de la enfermedad de células cebadas. Nettleship Y Tay en 1869 describieron una forma rara de urticaria que correspondía a una urticaria pigmentosa. Unna en 1887 demostró conexiones con la célula cebada (CB) de Ehlich (1,2,3). Mastocitosis consiste en un grupo heterogéneo de condiciones crónicas, las cuales son caracterizadas por proliferación excesiva de mastocitos, particularmente en piel, pero también en órganos internos (huesos, glándulas, tracto gastrointestinal, hígado y bazo) (4). Se piensa que la mastocitosis constituye una respuesta hiperplásica a un estímulo anormal más que una verdadera neoplasia (4, 5, 6, 7), sobre todo cuando se trata de mastocitosis en etapa pediátrica. Longley y cols fueron los primeros a encontrar en 1994 una mutación en el proto-oncogene c-Kit en 2 pacientes adultos con involucro sistémico (8,9). Piao X y cols identificaron que una mutación en el dominio catalítico de c-Kit producía un crecimiento independiente del factor de crecimiento, tumorigenicidad y diferenciación de células cebadas (10). Buttner y cols describieron mutaciones en el proto-oncogene c-Kit en todos los 6 pacientes adultos estudiados y no estuvo presente en ninguno de los 11 niños con mastocitosis estudiados y estos datos posiblemente expliquen el comportamiento clínico diferente en niño y en adultos (11).

### Mastocitos: origen, estructura y función

Los mastocitos tienen origen en células pluripotenciales de la médula ósea, que expresan el antígeno CD34 en sus membranas celulares y circulan en bajas concentraciones en la sangre periférica como células mononucleares indiferenciadas y maduran en el tejido bajo influencias locales (4,5,12). Los mastocitos entonces migran a los tejidos donde proliferan y sufren la influencia de muchos factores, principalmente del factor de crecimiento *Stem*, también llamado factor de crecimiento *Stell*, factor de crecimiento de las células madre

hematopoyética, factor de crecimiento de las células cebadas o *ligando de c-Kit* (4, 12). Este factor puede ser producido por fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos y por la propio mastocito (13,14). La membrana citoplasmática del mastocito presenta receptores de alta afinidad para la fracción Fc de la IgE (receptores RFce), además del receptor c-Kit (4,5,13). El receptor c-Kit es un receptor de tipo tirosina-quinasa, es producto del protooncogene c-Kit y es el receptor para el factor de crecimiento *Stem* (ligando de c-Kit) (13,14). La CB es una célula relativamente voluminosa de formato fusiforme, oval o poligonal, variando su diámetro de 15 a 20  $\mu\text{m}$ , con un citoplasma rosado y núcleo basofílico. Histológicamente las células cebadas contienen gránulos acidófilos (que varían en tamaño de 0.2 a 1.5  $\mu\text{m}$  de diámetro), los cuales son metacromáticos con las tinciones de azul de toluidina o Giensa (4,16,17,18).

Las células cebadas se encuentran en el tejido conectivo tanto en humanos como en animales en prácticamente todos los órganos. La densidad de células cebadas se incrementa mucho en tejidos expuestos al medio ambiente, tal como la mucosa respiratoria, la mucosa intestinal y la piel; sin embargo existe una variación regional normal en estos órganos. Un número substancial de células cebadas es también encontrado en la médula ósea, órganos linfoides y membranas serosas. En condiciones normales las células cebadas tienen una localización preferencial alrededor de las vénulas, nervios y de los anexos. Las células cebadas cutáneas son encontradas en número máximo inmediatamente abajo de la unión dermo-epidérmica, su concentración disminuye progresivamente en la profundidad de la dermis. El tejido subcutáneo contiene escasas células cebadas y la epidermis está libre de ellas (4,5,19).

La cantidad y distribución de células cebadas encontradas en la piel normal también han sido descritas en la literatura (19,20,21).

Las células cebadas pueden activarse, mediante degranulación, mediada inmunológicamente vía IgE (4,5,13) o en forma no inmunológica por medio de estímulos, físicos o químicos como traumatismos, cambios de temperatura, toxinas bacterianas, ácido acetilsalicílico, alcohol, morfina, codeína, polimixina B, quinina, y otros. Dentro de las sustancias liberadas durante la degranulación

están: la histamina, leucotrienos, factores activadores de plaquetas, prostaglandina D2, factores quimiotáticos, proteoglicanos, heparina y enzimas como triptasa y quimasa e hidroxilasas ácidas (4,5,15,22,23).

### **Citoquinas de las células cebadas**

Estudios demuestran que CB son capaces de producir y liberar muchas citoquinas como IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, GM-CSF (factor estimulante de colonias), IFN $\gamma$  (interferon gama), MIP $\alpha$  (proteína inflamatoria de macrófago), MIP $\beta$ , TNF $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa) en respuesta a una interacción del receptor IgE que presentan en la membrana celular. Sin embargo la liberación de citoquinas no dependientes del receptor IgE también han sido identificados y ejemplos de estos son los lipopolisacáridos, complejos inmunes y el factor *steml*. Aún así se ha identificado recientemente otras interleucinas liberadas por las CB como IL8, IL13, IL16, FGF (factor de crecimiento fibroblástico básico), MCP-1 (proteína quimiotática de monocitos) y VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular (4,5,15,22,23)

### **Antígenos de presentación y respuesta Th2**

Las CB expresan los antígenos de clase II HLA sugiriendo que ellas puedan participar en la presentación antigénica, presentando antígenos solubles a las células T con subsecuente respuesta proliferativa de células T. Interesantemente la presentación antigénica es estimulada por el IL4GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos-monocitos) e inhibidos por el IFN gama. Por eso hace sentido que las CBs estén particularmente involucradas en las respuestas inmunes donde hay una expresión de citoquinas de tipo Th2 tales como infecciones alérgicas y parasitarias. Como las CB son capaces de liberar IL4 al

mismo tiempo que son capaces de presentar antígenos proporcionan un microambiente ideal para una diferenciación de células T hacia una respuesta Th2 (4).

### **Subpoblaciones de células cebadas**

Estudios recientes sugieren que existen 2 subpoblaciones de células cebadas en los humanos, con diferencias morfológicas, de contenido y de función entre ellas: (1) mastocitos de la dermis y submucosa del sistema digestivo sintetizan triptasa y quimasa (proteasas) , mientras que el proteoglican predominante es la heparina (6\*). Mastocitos del pulmón y mucosa intestinal que sintetiza solamente triptasa y produciendo hepariane en el pulmón y condroitin sulfato E en el intestino (4,5).

Las células cebadas también han sido identificadas con la tinción de avidina conjugada a forma cualitativa y cuantitativa (21,22). También es posible marcar las CB con anticuerpos monoclonales: CD2 y CD25 son utilizados principalmente en el estudio de médula ósea (24). Los anticuerpos Ki-MC1 y AA1 al parecer son bastante específicos para marcar la célula cebada en el tejido (). Las células cebadas de la piel y pulmón ambas expresan el anticuerpo c-Kit (CD117), sin embargo, los mastocitos cutáneos expresan CD32 y pierden la expresión de CD50, al contrario de las células cebadas del pulmón (25).

### **Células cebadas y su disposición en la mastocitosis cutánea**

Ruiz-Maldonado en un estudio de 56 pacientes con urticaria pigmentosa encontró que en las lesiones maculares el infiltrado de CB predomina de forma perivascular, mientras que en las formas nódulo-papuloas predomina la infiltración tumoral y en las formas máculo-papulosas predomina el infiltrado mixto (26).

El número y las características morfológicas de las CB en pacientes con mastocitosis cutánea ha sido el interés de muchos estudios. Kasper et al, utilizando una tinción de FITC-avidin cuantifica el número de CB de acuerdo con el tipo de mastocitosis cutánea, comparando sus hallazgos con otras enfermedades cutáneas. El autor concluye que la técnica cuantitativa permite la

estratificación de los pacientes con mastocitosis, y permite una correlación clínico-patológico de la lesión morfológica (21). Eses mismos autores han descrito que la cantidad de las células cebadas es mayor en los nódulos y menor en las manchas y otros autores han buscado la relación del número de célula cebadas al tipo clínico de la enfermedad, encontrando mayor número de mastocitos en la mastocitosis cutánea difusa (21). Recientemente se han descritos anticuerpos monoclonales como el Antitriptasa de las células cebadas (AA1) y policlonales como el anticuerpo anti c-Kit (c-Kit) que son bastante específicos para marcar la célula cebada (27,28,29,30,31). El anticuerpo AA1 está dirigido a la enzima triptasa presente exclusivamente en los gránulos de las células cebadas (29) y el anticuerpo c-kit está dirigido al receptor c-kit, un receptor de membrana, presente en los mastocitos y melanocitos en la piel (13).

### **Anticuerpo monoclonal anti-triptasa de las células cebadas**

Los anticuerpos monoclonales antitriptasa de las células cebadas poseen varias propiedades que los hacen una alternativa viable para la identificación de las células cebadas en los tejidos. Lo más importante es que son fuertemente reactivas contra células cebadas humanas en ambos tejidos conectivos y mucosa pero no en otras estirpes celulares (incluyendo basófilos o otras células hematopoyéticas) (27,29,31,32). Esta es una ventaja sobre las tinciones metacromáticas, las cuales no son específicas para las CB y también fracasan en teñir las CB mucosas excepto en tejidos no fijados con tinciones no utilizadas de rutina tales como Carnoy o Mota. La reacción de este anticuerpo en otros tipos celulares puede ser observado en pequeños enterocitos intestinales, hepatocitos, y túbulo renal proximal y es substancialmente diferente en característica a la encontrada en las CB y por lo tanto no debe interferir con la interpretación de los resultados (31). Schwartz y cols utilizaron el anticuerpo antitriptasa de las células cebadas en 2 pacientes adultos con mastocitosis sistémica y en piel normal de mastectomías encontrando que todas las células positivas a la tinción de Giemsa fueron también positivas a la triptasa (30). Walls y cols encontraron que la tinción

de AA1 identificaba  $200 \pm 42$  % más las CB de tejidos fijados en parafina que la tinción metacromática de azul de toluidina (con una  $P < 0.0005$ ) y concluye la distribución de las células con azul de toluidina fue la misma que de la AA1, pero esta última fue significativamente más sensible y también completamente específica (29). Por otro lado, Hamann y cols estudiaron varios marcadores de inmunohistoquímica (entre ellos AA1 y anti c-Kit) y los marcadores histoquímicos convencionales (azul de toluidina), y concluyeron que los marcadores histoquímicos fueron más específicos para las CB cuando comparados con la inmunohistoquímica, aún que anticuerpos anti-triptasa y quimasa para la piel también tuvieron positividad restringida a las CB (32).

### **Anticuerpo policlonal anti c-Kit**

En 1978 y 79 Yukihiko Kitamura observó que ratones con doble mutación en el locus *W* del cromosoma 5 y en el locus *Sl* del cromosoma 10, exhibían anemia macrocítica, esterilidad y pérdida de melanocitos cutáneos. Más tarde se identificó que el locus *W* del ratón codificaba el receptor que recibiría las iniciales del apellido del Profesor Kitamura (Kit) y en humano está localizado en el cromosoma 4q11-12. Por otro lado, el ligando para el receptor c-Kit correspondería al locus *Sl* del ratón y está localizado en el cromosoma 12 en el humano (13).

El receptor c-Kit está presente en las células cebadas y también en los melanocitos, lo que confiere positividad de este marcador para estos tipos celulares en la piel. Además el receptor c-kit que es expresado en células hematopoiéticas y células germinales. El receptor c-kit es una proteína miembro de la familia de receptores tirosina-cinasa de tipo III, homólogo de receptores de factores tales como factor estimulante de colonia 1, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de permeabilidad vascular, factor de crecimiento celular

endotelial El factor ligando para el receptor c-kit también llamado factor de crecimiento de las células cebadas, factor de crecimiento de la célula madre (*stem cell factor*), ligando de kit (*kit-ligand*) o factor Steel (*steel factor*), por su vez es expresado por fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos, células de Langerhans, algunas células estromales, ductos de glándulas sudoríparas, fibroblastos y mastocitos en la piel humana normal El un trabajo hecho por Hamann el anticuerpo c-Kit mostró grande positividad para las células cebadas en mastocitoma, Urticaria Pigmentosa, piel normal, pero también fue positivo para basófilos (12). Lerner comunica en su artículo que el anticuerpo c-Kit es positivo para células progenitoras hematopoyéticas (34). Hamann en otro artículo encontró que las células positivas para el anticuerpo c-Kit en piel corresponderán a mastocitos en la dermis (también positivos para la tinción de Giemsa) y melanocitos en la capa basal (también positivos para un anticuerpo antimelanosomal) (12). Ceponis en otro estudio en membranas sinoviales de pacientes con artritis reumatoide encontró que la tinción de c-Kit fue restringida a las células cebadas (35).

#### **Incidencia, distribución, clasificación y evolución de la mastocitosis en etapa pediátrica**

Los datos acerca de la incidencia de la mastocitosis son variables de acuerdo con diferentes autores. Beare M. J. refiere 1 caso en cada 800 consultas de primera vez, mientras que Sagher y Even-Paz estimaron que era de uno en cada 1000 a 8000 pacientes vistos en una clínica de dermatología (1,3).

Aún que la mastocitosis generalmente no tiene transmisión familiar, hay pocos reportes casos de múltiples miembros de una familia afectados, y en la forma cutánea difusa existe alguna evidencia de un modelo autosómico dominante (36). La ocurrencia mundial parece ser esporádica (37). Hombres y mujeres son afectados igualmente y predomina en personas de piel blanca (38).



Las formas adultas y pediátricas de la mastocitosis tienen diferencias clínicas e histopatológicas (37,39,40).

La mastocitosis puede ser dividida en relación a su presentación clínica como mastocitosis cutánea cuando la piel es el único órgano involucrado y mastocitosis sistémica cuando afecta varios órganos y tiene o no manifestaciones cutáneas (41). La mastocitosis sistémica es mucho más común en adultos, muestra infiltración en varios órganos, tiene un carácter progresivo, debilitante y fatal (36). La mastocitosis limitada a la piel es primariamente una enfermedad de la niñez.

La última clasificación propuesta fue descrita en 1991 por Metcalf (42) y aparece en la tabla 1 (modificada por Golkar) (7). Hubo cierta dificultad para adaptar esa clasificación a los pacientes pediátricos, principalmente en respecto al involucro de otros órganos y evolución, por lo que se propuso una nueva clasificación en 1998 por Torrelo para la mastocitosis pediátrica que aparece en la tabla 2 (24).

Setenta por ciento de todos los adultos con diagnóstico de mastocitosis referían lesiones desde la niñez, siendo que la mayoría se habían iniciado antes de los 2 años de edad (41). Sin embargo, la enfermedad puede surgir en cualquiera edad desde el nacimiento hasta la vida adulta (36). El inicio de la enfermedad en 65% de los pacientes está entre el nacimiento y 15 años de edad. El otro 35% desarrolla síntomas en la edad adulta (39).

La mastocitosis cutánea puede ser dividida en 4 categorías: urticaria pigmentosa, mastocitoma, mastocitosis cutánea difusa y telangectasia macular eruptiva persistente (2,36,39). La urticaria pigmentosa y el mastocitoma son las formas de mastocitosis cutánea más común en niños (1,36,39). El desarrollo de mastocitosis sistémica parece ser menos común en el niño que lo que ocurre en el adulto. El pronóstico de la mastocitosis cutánea en la niñez es bueno y varía de acuerdo con la forma en que esta se presenta (1,9,36,39,43). Mastocitosis difusa es una forma rara, generalmente presente antes de los 3 años y la telangectasia macular eruptiva persistente es casi siempre limitada a adultos. Hay también algunas variantes menos comunes, por ejemplo las formas ampollosas,

pseudoxantomatosas y otras. La edad de inicio es alrededor de los 3 a 9 meses, pero se ha visto en el momento del nacimiento (2).

Lesiones de urticaria pigmentosa incluyen máculas, pápulas, y/o placas, con una distribución generalizada que tiende a ser más densa en el tronco. Las áreas acrales son más preservadas. Vesículas y bulas son comunes en la niñez, mas no son usuales después del 2º año de la vida (26,39).

La urticaria pigmentosa tiene una naturaleza benigna y tienen una tendencia hacia la resolución espontánea. El tipo nodular tiende a curarse con mayor rapidez que el tipo maculopapular. La duración promedio del caso ordinario de la urticaria pigmentosa es de seis a nueve años, pero pocos casos las lesiones permanecen activos de manera indefinida (2,39). El pronóstico empeora y el riesgo de afectar otros órganos aumenta con la edad de inicio de las lesiones (9,37).

El mastocitoma ocurren usualmente en niños de menos de 6 meses de edad, es usualmente una lesión solitaria, pero pueden ser múltiples (9,44). Pueden aparecer como máculas, pápulas, placas o nódulos, teniendo la superficie aspecto de piel de naranja (9,44). En la mayor parte de los casos las lesiones se remiten espontáneamente. (9)

En la mastocitosis cutánea difusa la piel tiene una apariencia amarilla y gruesa de consistencia pastosa (piel de naranja). Los pliegues cutáneos son exagerados y tiene un mal pronóstico (1,36).

En los niños el prurito es el síntoma más frecuente, con tendencia a ser intermitente y paradójico, leve o moderado (26,19,43). El signo de Darier es una característica casi constante (2,9,26,36,43,45). Los síntomas gastrointestinales ocurren en la minoría de los casos, tanto en adultos como en niños (44,46).

Los pacientes en los cuales las lesiones de mastocitosis aparecen por primera vez después de los 10 años de edad, el 90% aproximadamente tendrán persistencia del infiltrado de células cebadas, lesiones cutáneas visibles y en menor porcentaje algún síntoma (43).

<p><b>I Mastocitosis Cutánea</b></p> <p>Urticaria pigmentosa</p> <p>Mastocitoma solitario</p> <p>Mastocitosis cutánea difusa</p> <p>Telangectasia macular eruptiva persistente</p>
<p><b>II Mastocitosis sistémica con o sin involucro de la piel</b></p> <p>Infiltración de mastocitos en por lo menos uno órgano interno ( p.ej. medula ósea, tracto gastrointestinal, sistema esquelético)</p>
<p><b>III Mastocitosis en asociación con anomalías hematológicas, con o sin involucro de la piel</b></p> <p>Por ejemplo, leucemia, linfoma, desordenes mielodisplásicas o mieloproliferativas</p>
<p><b>IV Mastocitosis linfadenopática con eosinofilia con o sin involucro de la piel</b></p>
<p><b>V Leucemia de células cebadas</b></p>

Tabla 1 – Modificado de Metcalf: Referencia 7

<p><b>I Mastocitoma</b></p> <p>Una o escasas lesiones; ausencia de afección sistémica</p>
<p><b>II Urticaria pigmentosa</b></p> <p>Número variable de lesiones; escasos síntomas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin afección de medula ósea (sin afección sistémica)</li> <li>• Con afección de la medula ósea (con afección sistémica)</li> </ul>
<p><b>III Mastocitosis cutánea difusa</b></p> <p>Afección sistémica; síntomas floridas</p>

Tabla 2 – Referencia 41

## **JUSTIFICACIÓN**

El análisis de la literatura mundial con relación a mastocitosis cutánea muestra pocos estudios clinicopatológicos. No hay un método histológico ideal para evaluar esta enfermedad a pesar de los recientes avances de la inmunohistoquímica. Además hay pocos estudios clínicos y de seguimiento casi todos publicados en los años 60. Por otra parte muchos artículos de revisión hacen referencia a esos mismos trabajo.

En el Servicio de Dermatología del INP se atiende en promedio 3 casos nuevos de mastocitosis por año, por lo que se considera que es un padecimiento que debe ser re-evaluado y estudiado con métodos actuales tales como la inmunohistoquímica. También es importante analizar nuestros casos con relación a la presentación clínica, edad de diagnóstico y seguimiento, y comparar los datos con los de la literatura mundial.

Cabe resaltar que no hay trabajos en esta área producidos en nuestro medio.

Creemos que es posible hacer una análisis histológico tomando en cuenta la distribución y cantidad de las células cebadas en las diferentes formas histológicas de la enfermedad. Además, haremos un análisis comparativo entre las tinciones inmunohistoquímicas realizadas y la tinción de Giemsa que se utiliza como rutina diagnóstica en muchos servicio, este estudio será inédito en la literatura y servirá para valorar que utilidad tiene los anticuerpos monoclonales para el diagnóstico de mastocitosis, principalmente en lo que se refiere a las formas maculares de la enfermedad. La ventaja teórica de los anticuerpos monoclonales es que puede ser usado para cuantificar de manera específica el número de células cebadas, aún cuando estas se hallan degranuladas y no se pueda reconocer con tinciones habituales.

## **OBJETIVOS**

1. Evaluar el curso clínico de la mastocitosis cutánea en niños mexicanos atendidos en una institución de 3er. nivel y la respuesta al tratamiento administrado.
2. Evaluar la edad de apareamiento de las lesiones cutáneas, el tipo de lesión cutánea presente en cada subtipo clínico de mastocitosis, la frecuencia de los subtipos de mastocitosis en nuestra población y la presencia de compromiso sistémico.
3. Comparar el número de células cebadas, cuantificadas mediante marcaje con anticuerpos monoclonales y el método convencional de tinción de Giemsa en cada uno de las diferentes mastocitosis.
4. Evaluar la utilidad del marcaje de las células cebadas con anticuerpos monoclonales en el diagnóstico de mastocitosis en casos donde la tinción de Giemsa no pudo hacer el diagnóstico. Calcular la especificidad, sensibilidad y valores predictivos en relación a la tinción de Giemsa.

## **HIPÓTESIS**

1. La mastocitosis cutánea en niños mexicanos tiene un curso benigno en más del 90% de los casos y presenta remisión hasta la desaparición.
2. En 90% de los niños con diagnóstico de mastocitosis las lesiones aparecen dentro del primer año de vida, el tipo morfológico de lesión más frecuente en el mastocitoma es el nódulo y en la mastocitosis cutánea difusa es el engrosamiento difuso de la piel, el subtipo más común es el de la urticaria pigmentosa y el compromiso sistémico es de menos de 30% de los pacientes.
3. Existen diferencias significativas entre el número de células cebadas de acuerdo al tipo de mastocitosis y en comparación con la piel normal, teniendo mayor número de células cebadas la mastocitosis cutánea difusa.
4. La utilidad global (Sensibilidad, especificidad y valores predictivos) de la cuantificación del número de células cebadas para el diagnóstico de mastocitosis cutánea es superior al 80%.

## **OBJETIVOS**

1. Evaluar el curso clínico de la mastocitosis cutánea en niños mexicanos atendidos en una institución de 3er. nivel y la respuesta al tratamiento administrado.
2. Evaluar la edad de apareamiento de las lesiones cutáneas, el tipo de lesión cutánea presente en cada subtipo clínico de mastocitosis, la frecuencia de los subtipos de mastocitosis en nuestra población y la presencia de compromiso sistémico.
3. Comparar el número de células cebadas, cuantificadas mediante marcaje con anticuerpos monoclonales y el método convencional de tinción de Giemsa en cada uno de las diferentes mastocitosis.
4. Evaluar la utilidad del marcaje de las células cebadas con anticuerpos monoclonales en el diagnóstico de mastocitosis en casos donde la tinción de Giemsa no pudo hacer el diagnóstico. Calcular la especificidad, sensibilidad y valores predictivos en relación a la tinción de Giemsa.

## **HIPÓTESIS**

1. La mastocitosis cutánea en niños mexicanos tiene un curso benigno en más del 90% de los casos y presenta remisión hasta la desaparición.
2. En 90% de los niños con diagnóstico de mastocitosis las lesiones aparecen dentro del primer año de vida, el tipo morfológico de lesión más frecuente en el mastocitoma es el nódulo y en la mastocitosis cutánea difusa es el engrosamiento difuso de la piel, el subtipo más común es el de la urticaria pigmentosa y el compromiso sistémico es de menos de 30% de los pacientes.
3. Existen diferencias significativas entre el número de células cebadas de acuerdo al tipo de mastocitosis y en comparación con la piel normal, teniendo mayor número de células cebadas la mastocitosis cutánea difusa.
4. La utilidad global (Sensibilidad, especificidad y valores predictivos) de la cuantificación del número de células cebadas para el diagnóstico de mastocitosis cutánea es superior al 80%.

5. La utilización de anticuerpos monoclonales para la identificación de células cebadas, permite un mejor diagnóstico de los pacientes al compararlo con otras técnicas o tinciones de laboratorio.

## **CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Estudio descriptivo, comparativo, transversal.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Población objetivo**

Se incluirán en el estudio todos los expedientes y biopsias de los niños con diagnóstico de Mastocitosis Cutánea atendidos en el INP, del 1ero. De enero de 1971 al 31 de Diciembre de 1998, que forman parte del Archivo General, del archivo del Servicio de Dermatología y del archivo del Servicio de Patología.

### **Criterios De Inclusión**

*Para el estudio clínico*

1. Edad de 1 día a 18 años
2. Cualquier género
3. Diagnóstico de Mastocitosis Cutánea
4. Haber iniciado seguimiento en el Servicio de Dermatología de la Institución

*Para el estudio histológico*

1. Biopsias de piel fijadas en formaldeído e incluidas en parafina.
  2. Bloques de parafina correspondiente a las biopsias de los pacientes.
- Los cortes histológicos se teñirán con hematoxilina-eosina y con la tinción de Giemsa. Además se harán las tinciones de inmunohistoquímica mediante anticuerpos monoclonales anti triptasa de las células cebadas y anti c-Kit.
- Como controles comparativos se usarán cortes de piel normal de pacientes submetidas a mastectomía o mamoplastia.

5. La utilización de anticuerpos monoclonales para la identificación de células cebadas, permite un mejor diagnóstico de los pacientes al compararlo con otras técnicas o tinciones de laboratorio.

## **CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Estudio descriptivo, comparativo, transversal.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Población objetivo**

Se incluirán en el estudio todos los expedientes y biopsias de los niños con diagnóstico de Mastocitosis Cutánea atendidos en el INP, del 1ero. De enero de 1971 al 31 de Diciembre de 1998, que forman parte del Archivo General, del archivo del Servicio de Dermatología y del archivo del Servicio de Patología.

### **Criterios De Inclusión**

*Para el estudio clínico*

1. Edad de 1 día a 18 años
2. Cualquier género
3. Diagnóstico de Mastocitosis Cutánea
4. Haber iniciado seguimiento en el Servicio de Dermatología de la Institución

*Para el estudio histológico*

1. Biopsias de piel fijadas en formaldeído e incluidas en parafina.
  2. Bloques de parafina correspondiente a las biopsias de los pacientes.
- Los cortes histológicos se teñirán con hematoxilina-eosina y con la tinción de Giemsa. Además se harán las tinciones de inmunohistoquímica mediante anticuerpos monoclonales anti triptasa de las células cebadas y anti c-Kit.
- Como controles comparativos se usarán cortes de piel normal de pacientes submetidas a mastectomía o mamoplastia.



5. La utilización de anticuerpos monoclonales para la identificación de células cebadas, permite un mejor diagnóstico de los pacientes al compararlo con otras técnicas o tinciones de laboratorio.

## **CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Estudio descriptivo, comparativo, transversal.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Población objetivo**

Se incluirán en el estudio todos los expedientes y biopsias de los niños con diagnóstico de Mastocitosis Cutánea atendidos en el INP, del 1ero. De enero de 1971 al 31 de Diciembre de 1998, que forman parte del Archivo General, del archivo del Servicio de Dermatología y del archivo del Servicio de Patología.

### **Criterios De Inclusión**

*Para el estudio clínico*

1. Edad de 1 día a 18 años
2. Cualquier género
3. Diagnóstico de Mastocitosis Cutánea
4. Haber iniciado seguimiento en el Servicio de Dermatología de la Institución

*Para el estudio histológico*

1. Biopsias de piel fijadas en formaldeído e incluidas en parafina.
2. Bloques de parafina correspondiente a las biopsias de los pacientes.

Los cortes histológicos se teñirán con hematoxilina-eosina y con la tinción de Giemsa. Además se harán las tinciones de inmunohistoquímica mediante anticuerpos monoclonales anti triptasa de las células cebadas y anti c-Kit.

Como controles comparativos se usarán cortes de piel normal de pacientes sometidas a mastectomía o mamoplastia.

## **Criterios De Exclusión**

### *Para el estudio Clínico*

1. Expedientes inadecuados
2. Expedientes dados de alta o extraviados.

### *Para el estudio Histológico*

1. Biopsias registradas como Mastocitosis en las cuales no sea posible la evaluación actual con anticuerpos monoclonales antitriptasa por escasez de material.
2. Material mal conservado.

## **Descripción del Método**

Una vez aprobado el estudio por el comité de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría, se iniciara la búsqueda de los expedientes de los pacientes que cumplan los criterios de inclusión y exclusión considerados en las secciones previas. A cada paciente se le evaluarán las variables de impacto primario y secundario, las cuales se incluirán en un formato de recolección de datos diseñado para los fines del estudio y las cuales se someterán posteriormente a análisis estadístico para evaluar el curso clínico de la enfermedad así como la respuesta al tratamiento.

La fase histológica del estudio consiste en el análisis de las biopsias de estos pacientes utilizando tinciones de histoquímica (Giemsa) y tinciones de inmunohistoquímica: Anticuerpos monoclonales antitriptasa para células cebadas y anti c-Kit. Se analizará la distribución y la cantidad de las células cebadas. Del total de casos diagnosticados clínicamente como mastocitosis cutánea, se dicotomizarán como pacientes con diagnóstico confirmado o descartado por la tinción habitual Giemsa. Los bloques de parafina de estos pacientes serán procesados mediante la técnica de anticuerpos monoclonales y después se realizará un análisis comparativo con la tinción de Giemsa. Adicionalmente se compararán los hallazgos con un grupo control de piel normal.

## **Material Utilizado**

### *Para el estudio Clínico*

Del archivo del Servicio de Dermatología y del Archivo Central del INP se obtendrán los números de expedientes de los pacientes con diagnóstico de Mastocitosis Cutánea. Una vez listados los números de los expedientes se procederá a su búsqueda. Se hará una base de datos con las siguientes informaciones: Ficha de identificación: Nombre completo, sexo, número de expediente, dirección, teléfono; Antecedentes: Edad de inicio, edad de diagnóstico, fecha de la primera cita, fecha de la última valoración, antecedentes familiares (otros afectados), antecedentes personales; Padecimiento Actual: topografía de inicio y progresión, morfología de las lesiones (máculas, pápulas, placas, ampollas, nódulos), diagnóstico clínico, síntomas asociados diagnóstico histológico, hallazgos de laboratorio y tratamiento. Para el seguimiento se evaluarán los cambios en la piel del niño en comparación a primera cita de dermatología, presencia persistente de lesiones de mastocitosis en la piel. En caso afirmativo se preguntará si hubo mejoría con relación al inicio de la enfermedad. Además se buscará saber si todavía presentan lesiones cutáneas activas.

### *Para el estudio histológico*

Se buscarán las laminillas de todos los pacientes con sospecha clínica de Mastocitosis Cutánea, que se encuentren teñidas con azul de toluidina y/o Giemsa. Se obtendrán todos los cortes histológicos correspondientes a los casos. Si alguna de las tinciones habituales faltara se procederá a hacerlas siguiendo los métodos histoquímicos convencionales para azul de toluidina o Giemsa. Se obtendrán los bloques correspondientes y se harán cortes de 3 micras para la inmunotinción:

- Anticuerpo primario: Anticuerpos monoclonales antitriptasa para celulas cebadas y Anticuerpo Anti c-Kit ( Daco. Co.)
- Sistema Fosfatasa Alcalina para el Anticuerpo Antitriptasa.  
Sistema Avidina- Biotina Peroxidasa para el Anticuerpo c-Kit
- Sustancia cromogena: 3-3,diaminobenzidina para el Anticuerpo Antitriptasa y New Fuschin para el Anticuerpo c-Kit
- Tinción de contraste: Hematoxilina

El Anticuerpo Antitriptasa se hará a una dilución de 1:50 con un periodo de incubación de 1 hora. El anticuerpo c-Kit se hará a una dilución de 1:50 con un periodo de incubación de 2 horas.

#### **Tamaño minimo requerido de la muestra**

Se incluirá en el estudio el total de pacientes con diagnostico de mastocitosis cutánea, del cual se tiene un registro total de aproximadamente 50 pacientes. Una vez incluidos en el estudio y captados las variables de interés, se efectuaran el calculo del poder del estudio en forma post-hoc, considerando un error alfa < 0.05 y un error beta de 0.2.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS**

La información serÁ captada a través de una base de datos efectuada a través del programa Excell para Windows. La información será analizada desde el punto de vista estadístico en una computadora Pentium II con disco duro de 4 gigabytes, 4 Mb en RAMM a través del programa SPSS versión 8.0 para Windows. Se efectuara descripción de las variables mediante medidas de tendencia central y dispersión con calculo de promedios  $\pm$  desviación estándar para variables continuas con distribución Gaussiana y con Medianas y valores minimos-maximos y/o porcentajes para variables categóricas y/o con Distribución no Gaussiana. Se efectuará una comparación de las técnicas de diagnostico (Giemsa vs

- Anticuerpo primario: Anticuerpos monoclonales antitriptasa para celulas cebadas y Anticuerpo Anti c-Kit ( Daco. Co.)
- Sistema Fosfatasa Alcalina para el Anticuerpo Antitriptasa.  
Sistema Avidina- Biotina Peroxidasa para el Anticuerpo c-Kit
- Sustancia cromogena: 3-3,diaminobenzidina para el Anticuerpo Antitriptasa y New Fuschin para el Anticuerpo c-Kit
- Tinción de contraste: Hematolxilina

El Anticuerpo Antitriptasa se hará a una dilución de 1:50 con un periodo de incubación de 1 hora. El anticuerpo c-Kit se hará a una dilución de 1:50 con un periodo de incubación de 2 horas.

#### **Tamaño minimo requerido de la muestra**

Se incluirá en el estudio el total de pacientes con diagnostico de mastocitosis cutánea, del cual se tiene un registro total de aproximadamente 50 pacientes. Una vez incluidos en el estudio y captados las variables de interés, se efectuaran el calculo del poder del estudio en forma post-hoc, considerando un error alfa < 0.05 y un error beta de 0.2.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS**

La información serÁ captada a través de una base de datos efectuada a través del programa Excell para Windows. La información será analizada desde el punto de vista estadístico en una computadora Pentium II con disco duro de 4 gigabytes, 4 Mb en RAMM a través del programa SPSS versión 8.0 para Windows. Se efectuara descripción de las variables mediante medidas de tendencia central y dispersión con calculo de promedios  $\pm$  desviación estándar para variables continuas con distribución Gaussiana y con Medianas y valores minimos-maximos y/o porcentajes para variables categóricas y/o con Distribución no Gaussiana. Se efectuará una comparación de las técnicas de diagnostico (Giemsa vs

Inmunohistoquímica) a través de ANOVA y análisis de Bone-Ferroni. Se efectuará comparación de promedios mediante prueba de T de Student y/o chi cuadrada para variables categóricas. El nivel de significancia será  $\alpha < 0.05$

#### **ASPECTOS ETICOS Y CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Por tratarse de un estudio retrospectivo no requiere evaluación por el Comité de Ética ni elaboración de una carta de Consentimiento Informado.

## PRIMERA PARTE – ESTUDIO CLINICO Y DE SEGUIMIENTO

### RESULTADOS

En el Instituto Nacional de Pediatría la frecuencia de mastocitosis cutánea fue de 1 en cada 500 pacientes de primera consulta del Servicio de Dermatología Pediátrica.

En el estudio de la fase clínica se incluyeron, originalmente, un total de 80 pacientes, de los cuales se retiraron del estudio 8 pacientes en quienes se había establecido el diagnóstico clínico de mastocitosis cutánea, pero que la biopsia no corroboró dicho diagnóstico. Estos pacientes fueron excluidos del análisis clínico y realizamos inmunohistoquímica en 6 de los 8 casos (no fueron encontrados 2 de los bloques de parafina). De los 72 pacientes restantes, 54 (75%) correspondieron a urticaria pigmentosa, 12 (16.7%) a mastocitoma y 6 (8.3%) a mastocitosis cutánea difusa. 65.3 % del total de la muestra correspondieron al género masculino (47 pacientes) y 34.7 % al femenino (25 pacientes). Cincuenta y seis pacientes presentaban biopsia de piel que apoyaba el diagnóstico. La biopsia fue indicada cuando había duda en el diagnóstico, por razones académicas y cuando los padres aceptaban el procedimiento.

La historia familiar estaba disponible solamente en 46 expedientes, habiendo solo 2 casos positivos: correspondieron a un niño con mastocitosis cutánea difusa, cuyo tío tenía mastocitosis cutánea difusa y un niño con urticaria pigmentosa cuyo hermano también presentaba urticaria pigmentosa.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los tipos de mastocitosis de acuerdo a la edad de inicio, edad al diagnóstico e intervalo entre el inicio y el diagnóstico (Ver tabla 3)

No se observaron diferencias significativas en cuanto a la distribución por sexo de acuerdo a cada uno de los diferentes tipos de mastocitosis con  $p = 0.71$ .

Se efectuó un análisis comparativo de la sintomatología de acuerdo a cada una de los diferentes tipos de mastocitosis, observándose diferencias significativas para hepatomegalia y esplenomegalia (Ver Tabla 4).

De acuerdo con la localización de la primera lesión, no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $p$  de 0.14) de acuerdo a los diferentes tipos de mastocitosis. Tabla 5.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de seguimiento en los diferentes tipos de mastocitosis, con  $p$  de 0.57. Tabla 6.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la evolución de los diferentes tipos de mastocitosis cutánea en niños, con  $p$  de 0.93. Tabla 7

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la evolución de las manchas ( $p$  de 0.71) y el signo de Darier ( $p$  de 0.19) en los diferentes tipos de mastocitosis en niños.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la evolución de la enfermedad y del signo de Darier en los diferentes tipos de mastocitosis (tabla 8 y 9).

En la análisis de la evolución de los pacientes de acuerdo a los tratamientos recibidos, sólo se levó en consideración el grupo de urticaria pigmentosa, visto que los otros dos grupos contaban con 3 pacientes cada uno. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos recibidos y la evolución de la enfermedad. Tabla 10.

En la análisis del tipo de lesión morfológica fue estadísticamente significativo para la presencia de manchas ( $p=0.00020$ ), de ampollas ( $p=0.02$ ), en la urticaria pigmentosa; el engrosamiento cutáneo difuso en la mastocitosis cutánea difusa ( $p < 0.05$ ); el nódulo en el mastocitoma ( $p=0.01$ ) y la ampolla en la urticaria pigmentosa ( $p=0.02$ ). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tipos de mastocitosis y la presencia de placas, pápulas y ronchas. Tabla 11.



TABLAS:

**Tabla 3. Edad al inicio de los síntomas y del diagnóstico de la Mastocitosis cutánea en niños mexicanos**

Concepto	Urticaria pigmentosa a n=54 x ± d.s. (meses)	Mastocitoma n=12 x ± d.s. (meses)	Mastocitosis cutánea difusa n=6 x ± d.s. (meses)	p *
Edad de inicio	7.5 ± 23.6	7.5 ± 19.0	2.3 ± 1.5	.12
Edad de Dx	16.8 ± 27.8	10.2 ± 21.0	5.2 ± 3.7	.33

• *Análisis de Kruskal-Wallis*

**Tabla 4. Manifestaciones clínicas de acuerdo al tipo de Mastocitosis**

Sintomatología	Urticaria pigmentosa n=54 pac. (%)	Mastocitoma n=12 pac. (%)	Mastocitosis cutánea difusa n=6 pac. (%)	P
Darier	89.7	100	75	0.55
Prurito	65.6	100	80	0.40
Linfadenopatía	12.1	20	50	0.15
Hepatomegalia	15.6	0	60	0.04
Esplenomegalia	3.2	0	40	0.01
Diarrea	18.9	0	40	0.27
Dermatitis atópica	10.8	40	0	0.12

**Tabla 5.** Localización de la primera lesión de acuerdo con el tipo de

Concepto	Cabeza y cuello f (%)	Tronco f (%)	Miembros inferiores f (%)	Miembros superiores f (%)	Diseminada f (%)
Urticaria pigmentosa	8 24.2	14 42.4	2 6	2 6	7 21.2
Mastocitoma	1 1	5 50	1 1	3 30	0 0
Mastocitosis cutánea difusa	2 50	0 0	1 25	0 0	1 25

**Tabla 6 – Seguimiento en años de acuerdo al tipo de mastocitosis cutánea**

Concepto	Seguimiento en años	Desviación
Urticaria Pigmentosa n= 26	3.75	3.81
Mastocitoma n=3	2.20	2.49
Mastocitosis Cutánea Difusa n=3	2.00	2.44

Teste de Kruskal Wallis 1

**Tabla 7 – Evolución de los diferentes tipos de mastocitosis cutánea en niños**

Concepto	Mejóro f (%)	Curó f (%)	Sin cambios f (%)	Empeoró f (%)
Urticaria pigmentosa n=26	19 73	2 7.6	4 15.3	1 3.8
Mastocitoma n= 3	3 100	0 0	0 0	0 0
Mastocitosis cutánea difusa n=3	3 100	0 0	0 0	0 0

**Tabla 8 – Evolución de los diferentes tipos de mastocitosis cutánea en niños**

Concepto	Mejóro		Curó		Sin cambios		Empeoró	
	f	(%)	f	(%)	f	(%)	f	(%)
Urticaria pigmentosa n=26	19	73	2	7.6	4	15.3	1	3.8
Mastocitoma n= 3	3	100	0	0	0	0	0	0
Mastocitosis cutánea difusa n=3	3	100	0	0	0	0	0	0

**Tabla 9. Evolución del signo de Darier en los diferentes tipos de Mastocitosis**

Concepto	Desapareció el signo de Darier		Mantuvo el signo de Darier	
	f	(%)	f	(%)
Urticaria Pigmentosa n= 16	7	43.7	9	56.2
Mastocitoma n= 2	0	0	2	100
Mastocitosis Cutánea Difusa n= 3	0	0	3	100

**Tabla 10.** Evolución de la urticaria pigmentosa de acuerdo al tratamiento recibido.

Concepto	Mejóro	Curó	Sin cambio	Empeoró	Valor de $p$
	f (%)	f (%)	f (%)	f (%)	
Difenhidramina n=7	5 71.4		1 14.2	1 14.2	.37
Loratadina n=6	4 66.6		1 16.6	1 16.6	.28
Astemizole n=5	4 80		1 20		.90
Ketotifeno n=4	3 75			1 25	.09
Terfenadina n=7	6 85.7	1 14.2			.19
Hidrocortisona n=3	2 66.6		1 33.3		.79
Cetirizina n=1	1(100%)	0	0	0	.95

**Tabla 11.** Relación entre la lesión morfológica y el tipo de mastocitosis cutánea en niños

Lesión cutánea	Urticaria Pigmentosa F (%)	Mastocitoma	Mastocitosis Cutánea Difusa	Valor de $p$
Mancha	42 77.7	2 18.1	2 33.3	.00
Placa	22 34.3	6 54.5	2 33.3	.62
Pápula	22 34.3	2 18.1	3 50	.30
Engrosamiento difuso	-	-	6 100	.00
Nódulo	2 3.1	3 27.2	-	.01
Ampolla	10 18.5	2 18.1	4 66.6	.02
Roncha	12 22.2	-	1 16.6	.21

<p><b>I - Urticaria pigmentosa</b></p> <p>Número variable de lesiones; síntomas discretos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin involucro visceral y de medula ósea</li> <li>• Con involucro visceral y/o de medula ósea</li> </ul>
<p><b>II Mastocitoma</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Una o escasas lesiones nodulares o en placas y ausencia de involucro sistémico</li> </ul>
<p><b>III Mastocitosis con infiltración difusa de la piel</b></p> <p>Afección sistémica; síntomas floridas, engrosamiento difuso de la piel</p>

**Tabla 12 – Nueva Clasificación Propuesta**

## DISCUSION

En nuestro estudio hubo predominio del sexo masculino, en una relación de 1.8:1 para el femenino. En la literatura la prevalencia entre los sexos varían en los diferentes estudios. Azaña J. M. y cols no encontraron diferencias en un estudio español; Louberyres S. y cols encontraron una relación masculino-femenino de 1.4:1 en un estudio frances; Torello F.A. encontró 1.4:1 en otro estudio español y Ben-Amitai y cols encontraron una relación femenino-masculino de 1.5:1 en el estudio en Israel (29,38,39,40). Es probable que un factor étnico sea responsable por esas diferencias en la prevalencia de los sexos afectados en diferentes poblaciones.

En la literatura encontramos que la forma predominante de presentación cutánea en la población pediátrica es la urticaria pigmentosa, seguida por los mastocitomas. La mastocitosis cutánea difusa es referida como una forma rara de presentación, en la mayor serie (172 pacientes) hubo solo 3 pacientes (39). El porcentaje de casos con urticaria pigmentosa varía del 90 al 50% de casos y el mastocitoma varía del 10 al 35% de los casos (39,40,41,43). En nuestro estudio encontramos 75% de urticaria pigmentosa y 16% de mastocitomas. Obtuvimos 6 pacientes con mastocitosis cutánea difusa, que correspondió a 8.3% de los casos. Probablemente la tasa de esa forma fue mas elevada en nuestra serie por se tratar de un hospital de tercer nivel.

Los casos familiares son descritos como raros en la literatura (27,38,43,44), sin embargo Ben-Amitai y cols encontraron historia familiar positiva para mastocitosis en 11% de los casos de urticaria pigmentosa. En nuestro estudio pudimos considerar solamente 26 expedientes, visto que en los demás el dato no estaba disponible. Encontramos 2 casos con historia familiar positiva que correspondió a 1 niño con urticaria pigmentosa cuyo hermano estaba afectado y 1 niño con mastocitosis cutánea difusa cuyo tío paterno también presentaba la misma enfermedad.

Prurito es el síntoma más frecuente y varía de leve a moderado y el signo de Darier es casi constante (9,29,43,44). El prurito y el signo de Darier fueron

bastante frecuentes en nuestra serie, afectando 70% y 88% de los pacientes, respectivamente. En la forma de mastocitoma el prurito y el signo de Darier estuvieran presentes en todos los casos. No hubo diferencias estadísticas en relación prurito y signo de Darier entre las diferentes formas de mastocitosis. La linfadenopatía, hepatoesplenomegalia y la diarrea son síntomas de la enfermedad sistémica en los adultos y normalmente tienen un curso progresivo y crónico (9,28,30,43,45,46). En los pacientes pediátricos, la presencia de diarrea, hepatoesplenomegalia y infiltración ósea suelen ser transitorios y tienden a la desaparición espontánea (29,38,39,44). Encontramos linfadenopatía en 12.1% de los casos de urticaria pigmentosa, 20% de los casos de mastocitoma y 50% de los casos de mastocitosis cutánea difusa, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos. Al parecer los datos no pueden ser muy valorizados puesto que es muy frecuente encontrar linfadenopatías asintomáticas, principalmente de la localización cervical en la población pediátrica. Cuadros frecuentes de diarrea fueron presentes en 50% de los casos de mastocitosis cutánea difusa, en 18.9% de los casos de urticaria pigmentosa y en ningún caso de mastocitoma. No se realizó biopsias de intestino en esos pacientes, pero se encontró resolución del cuadro en todos los casos con seguimiento. De los 54 pacientes con urticaria pigmentosa de nuestro estudio encontramos hepatomegalia en 4 pacientes y hepatoesplenomegalia en 1 paciente. De los 6 pacientes con mastocitosis cutánea difusa se encontraron 2 pacientes con hepatoesplenomegalia y 1 paciente con hepatomegalia. Hubo diferencias entre los 3 grupos de mastocitosis con relación a hepato y/o esplenomegalia ( $p < 0.05\%$ ). Ese hallazgo concuerda con la literatura donde refieren mayor infiltración sistémica en el caso de la mastocitosis cutánea difusa (9,43). La prevalencia de dermatitis atópica en nuestra serie no demostró ser mayor de la que es observada en la población general y ese hallazgo está de acuerdo con la revisión en la literatura (29,44).

Se realizó biometría hemática en 28 pacientes y los hallazgos fueron de 8 pacientes con anemia ( $Hb < 12g/dl$ ): 5 pacientes con urticaria pigmentosa y 3 pacientes con mastocitosis cutánea difusa), 3 con eosinofilia ( $> 500$  eosinófilos

totales): 1 paciente con mastocitoma y 2 pacientes con urticaria pigmentosa), y 1 paciente con plaquetopenia (<150 mil plaquetas): con urticaria pigmentosa que también presentaba eosinofilia. De los 11 pacientes que presentarán alteraciones en la biometría hemática, 6 pacientes tuvieron seguimiento y de esos 4 estaban asintomáticos y presentaron mejoría clínica. La principal alteración encontrada fue la anemia, pero su incidencia elevada en nuestro estudio no puede ser de todo atribuible a la mastocitosis. El estudio radiológico de huesos largos fue realizada en 7 pacientes y en todos fue considerado normal. El aspirado de medula ósea fue realizado en 2 pacientes con mastocitosis cutánea difusa y en ambos fue normal. En la literatura encontramos que en contraste con los adultos, en los niños las alteraciones hematológicas son poco frecuentes y se presentan como eosinofilia, anemia y leucopenia (24,39). Así como las alteraciones radiológicas, las alteraciones hematológicas en los niños generalmente no representan compromiso sistémico y tienden a remitir espontáneamente (39,44). En el estudio de Torello F.A. y cols (24) encontraron que el análisis de medula ósea fue normal en la mayoría de los pacientes (más de 75%), y la principal alteración encontrada fue la eosinofilia. Dado el curso benigno de la enfermedad Azaña y cols sugieren que estudios invasivos como aspirado de medula ósea o endoscopia digestiva deben ser reservados a los pacientes con anemia, leucopenia, trombocitopenia inexplicadas, dolor óseo o en alguna sospecha de involucro de alguno órgano (39). Nosotros pensamos que aspirado de medula ósea debe ser reservado a los pacientes con leucopenia, trombocitopenia o dolor óseo. La leucemia de células cebadas es rara en la niñez, pero por su gravedad amerita diagnóstico oportuno. En nuestro estudio las evidencias muestran que esa enfermedad tiene un curso bastante benigno en la población pediátrica, a diferencia de los adultos, y que por lo tanto debemos solicitar exámenes menos invasivos en los niños. Por las muchas diferencias entre la mastocitosis pediátrica y del adulto hay controversia en la literatura a cerca de la clasificación de la mastocitosis pediátrica (24,43,48,49,50,51,52). La clasificación utilizada actualmente fue propuesta en 1991 por Metcalfe (42) Torello y cols en 1998 sugiere una nueva clasificación para la población pediátrica. Esa clasificación se



divide en 3 grupos: el primer grupo pertenece a los mastocitomas ( una o escasas lesiones, ausencia de afección sistémica); el segundo la urticaria pigmentosa (con o sin afección sistémica de acuerdo a la infiltración de medula ósea) y el tercer grupo la mastocitosis cutánea difusa ( con afección sistémica y síntomas floridos) (39).

Encontramos que la forma de inicio más temprano fue la mastocitosis cutánea difusa con 2.3 meses de edad y desviación estándar de 1.5 meses. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativa en los demás grupos ( $p>0.05$ ).

La edad de aparición de las lesiones es importante para el pronóstico en la mastocitosis pediátrica. Cuando la UP surge antes de los 10 años de 50 a 60% de los casos van presentaron involución parcial o completa de las lesiones en la adolescencia (27,39,43), de los 40% restantes, 15 a 30% tienen riesgo de desarrollaren la enfermedad sistémica (27,29,43). Los pacientes que empiezan sus lesiones después de los 10 años de edad, 90% permanecen con lesiones en la vida adulta y de esos 15 a 30% presentaran compromiso sistémico. En 93% de los pacientes (67 casos) las lesiones surgieron antes del 1er año de vida y solamente 1 paciente presentó sus lesiones después de los 10 años de edad. Pudimos seguir a 31 de los 72 pacientes estudiados y encontramos que el 78% presentaron mejoría clínica: 19 pacientes con urticaria pigmentosa, 3 pacientes con mastocitoma y 3 pacientes con mastocitosis cutánea difusa; 12.5% pacientes referirán que su cuadro estaba igual: 4 pacientes con urticaria pigmentosa; las manchas desaparecerán completamente en 1 paciente con urticaria pigmentosa (4%) y fue considerado curado; 1 paciente (4%) con urticaria pigmentosa refirió aumento del prurito y enrojecimiento prurito por lo que se consideró como empeoramiento de la mastocitosis. Los parámetros utilizados para evaluar la mejoría clínica fueron 1 o mas de los que sigue: 1) evolución de nódulos, placas o pápulas hacia a mancha, 2) disminución del número o tamaño de las manchas, 3) aclaración de las manchas y 4) disminución del prurito. Se consideró curado el paciente que no presentaba ninguna lesión al momento del seguimiento. En el seguimiento se observó que el signo de Darier puede permanecer positivo en los pacientes que presentan mejoría clínica, siendo una excelente prueba para

corroborar el diagnóstico, pero no sirve como indicador de mejoría en el seguimiento.

Con relación al tratamiento de los 32 pacientes, 26 recibieron uno o más modalidades terapéuticas. Los medicamentos utilizados fueron: anti-histamínicos, ketotifeno y hidrocortisona. Para cada fármaco se analizarán los pacientes que lo recibirán y que no lo recibirán y se compararon los resultados obtenidos. En la análisis de los resultados no encontramos diferencias significativas en la evolución en los diferentes grupos de fármacos utilizados. Concluimos que las terapias utilizadas controlan la sintomatología, pero no modifican el curso de la enfermedad. No encontramos una análisis similar en la literatura para comparar resultados.

En el análisis estadístico del tipo morfológico de lesión, encontramos que la mancha fue significativa para la urticaria pigmentosa, el nódulo para el mastocitoma y las ampollas y el engrosamiento difuso para la mastocitosis cutánea difusa. Dado que en cada uno de los tipos de mastocitosis podemos encontrar diferentes lesiones morfológicas nos pareció importante hacer un análisis estadístico de las lesiones morfológicas encontradas, una vez que la literatura es muy controversia en ese aspecto (9,27,29,38,39,43,44).

Finalmente concluimos que en la etapa pediátrica la mastocitosis cutánea tiene un curso benigno y normalmente se auto resuelve. Proponemos una nueva clasificación con base en este estudio (tabla 3). Rara vez las manifestaciones cutáneas pueden persistir después de la adolescencia y en estos casos hay un incremento en el riesgo de evolución hacia a enfermedad sistémica vista en los adultos. Por lo tanto los niños deben ser seguidos hasta la involución de las lesiones. El aspirado de medula ósea debe ser realizado solamente en los niños con síntomas o signos que leucemia, con el objetivo de desechar leucemia de células cebadas.

## **SEGUNDA PARTE - ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO Y ANÁLISIS MORFOMETRICO**

### **Población estudiada**

En 42 biopsias de pacientes con diagnóstico clínico y histológico de mastocitosis observamos la distribución del infiltrado celular en la dermis, la distribución perianexial, la presencia de edema dérmico y atrofia epidérmica. Además analizamos 8 casos que fueron enviados a patología con el diagnóstico clínico de mastocitosis, pero que este no fue confirmado con el estudio histológico a través de la tinción de Giemsa (estos casos fueron reportados como teniendo un infiltrado linfocitario de predominio perivascular). Tuvimos un total de 33 pacientes con diagnóstico de Urticaria Pigmentosa, 6 pacientes con Mastocitoma Solitario y 3 casos de Mastocitosis Cutánea Difusa.

Realizamos inmunohistoquímica en 34 de los 42 casos con diagnóstico clínico y histológico y en 6 casos de los 8 casos dudosos, sumando un total de 41 casos. Se obtuvo 7 muestras de piel normal de mastectomías como grupo control.

### **Tinciones**

Todas las biopsias fueron cortadas a 3 micras para ambas tinciones histoquímicas y inmunohistoquímica. Los cortes destinados a inmunohistoquímica fueron montados en laminillas especiales preparadas con silane.

Realizamos las tinciones con hematoxilina-eosina y Giemsa en todas las biopsias.

El propósito del estudio histoquímico fue analizar la distribución de los mastocitos en la dermis, la presencia de edema en la dermis papilar, la presencia de ampollas y atrofia epidérmica y la presencia de infiltración a los anexos.

Para el estudio de inmunohistoquímica utilizamos el anticuerpo monoclonal anti triptasa de las células cebadas (AA1) y anti c-kit ambos del laboratorio Dako. Para la inmunohistoquímica del AA1, diluimos el anticuerpo a 1:50, utilizamos el método de fosfatasa alcalina-estreptavidina (APAAP) y Nueva Fuschina como cromógeno. Para la inmunohistoquímica del c-kit utilizamos el anticuerpo diluido a 1:100, el método empleado fue de la avidina-biotina-peroxidasa (ABC) y utilizamos diaminobenzidina como cromógeno.

El propósito del estudio inmunohistoquímico fue identificar la diferencia en el número de células positivas en los diferentes tipos de mastocitosis y la diferencia en el conteo cuando se utiliza diferentes medios para identificar las células cebadas. Buscamos averiguar si los 6 casos que no pudieron ser diagnosticados con la tinción de Giemsa podrían ser diagnosticados con los anticuerpos y además buscar la presencia de otros tipos celulares en los infiltrados.

En un estudio anterior (todavía no publicado) realizado por los autores, se buscaron la frecuencia de signos y síntomas relacionados con la mastocitosis cutánea en niños. Estos resultados fueron almacenados en una base de datos del Programa Excell for Windows a los que se agregaron los resultados obtenidos en la inmunohistoquímica para posterior análisis.

### Conteo de las células cebadas

Para la cuantificación de las células cebadas utilizamos el programa Leica Kwin Colour, bajo una magnificación de 400X. El campo analizado en este programa computadorizado midió un área de 7177.6  $\mu\text{m}^2$ . Se contaron los mastocitos en 5 campos consecutivos en la dermis papilar para cada laminilla teñida con Giemsa, anti-ckit y AA1. En la tinción de Giemsa, se consideraron mastocitos únicamente las células que presentaban en su interior gránulos metacromáticos (teñidos de color vino). Del mismo modo, se consideraron como células positivas al anticuerpo AA1, aquellas que presentaban gránulos rojos. Se consideró células positivas con c-kit la presencia de marcaje en la membrana de color marrón.

## RESULTADOS

Entre las variables analizadas en el estudio de histoquímica, buscamos la distribución del infiltrado de mastocitos en la dermis y encontramos que en la UP 2 casos (6.0%) tuvieron distribución perivascular, 20 casos (60.6%) casos tuvieron distribución perivascular y difusamente en dermis superior, 9 casos (27.2%) tuvieron el infiltrado en banda y 2 casos (6.0%) tuvieron el infiltrado tumoral. De los casos de Mastocitomas 3 pacientes (50.0%) tuvieron infiltrado en banda, 2 pacientes (33.3%) tuvieron el infiltrado en distribución perivascular y en dermis superior difusamente y solamente 1 paciente (16.6%) distribución de tipo tumoral. De los casos de mastocitosis Cutanea Difusa 2 pacientes (66.6%) tuvieron distribución en banda y 1 caso (33.3%) con distribución perivascular y en la dermis superior difusamente. El análisis estadístico con la prueba de chi-cuadrada no mostró diferencias significativas entre los grupos ( $p=0.56$ ).

Análisis de la distribución perianexial de las células cebadas en todos los casos mostró mastocitos alrededor de las glándulas ecrinas y folículos pilosos, en relación con el tipo de mastocitosis y fueron identificadas a través de las tinciones inmunohistoquímicas y de la tinción de Giemsa (Foto 1). No encontramos células cebadas en la epidermis.

Encontramos atrofia epidérmica en 3 casos de 33 (9.0 %) de UP, en 3 casos de 6 (50.0%) de los mastocitomas y en ningún caso de MCD. El análisis estadístico mostró una  $p=0.24$  entre los grupos.

Encontramos necrosis en 14.2% de los casos de mastocitoma; en 3.3% de mastocitosis cutanea difusa y no encontramos ninguno casos de necrosis epidérmica en la UP. El análisis estadístico mostró una diferencia significativa con una  $p$  de 0.029 entre los grupos.

El edema en la dermis papilar estuvo presente en 17 de 33 casos de urticaria pigmentosa, en 4 de 6 pacientes con diagnóstico de mastocitoma y en 2 de 3 pacientes con mastocitosis cutánea difusa, sin diferencias significativas entre los grupos.

Las ampollas estuvieron presentes en 1 de 33 pacientes con UP, en 1 de 6 pacientes con mastocitoma y en 1 de 3 pacientes con mastocitosis cutánea difusa. Cuando se buscó la relación de la presencia de ampollas y la edad en que se realizó la biopsias no encontramos diferencias estadísticas.

Analizamos el promedio de mastocitos presentes en cada tinción realizada en este estudio. El numero de mastocitos encontrados en el anticuerpo c-Kit fue de  $37.30 \pm 32.85$ , para el anticuerpo antitriptasa fue de  $23.26 \pm 29.45$  y el numero de mastocitos encontrados con la tinción de Giemsa fue de  $32.81 \pm 22.49$ , sin diferencias entre los grupos por la prueba de ANOVA. En los 6 casos dudosos también realizamos las 3 tinciones. Encontramos el siguiente: medias detectada en la tinción de Giemsa 0.4 CB/campo, c-Kit 5CB/campo, AA1 4.5 CB/campo; sin diferencias entre los grupos por ANOVA. En los controles encontramos: Giemsa 0.53 CB/campo, c-Kit 1.07 CB/campo y AA1 0.38 CB/campo, con una  $p = 0.02$  por ANOVA. Realizamos la prueba de Bone-Ferroni y encontramos que el grupo diferente era lo de AA1.

Cuando se analizaran las células c-Kit positivas y el tipo de mastocitosis se encontró un mayor numero de células positivas en la mastocitosis cutánea difusa, con un promedio de 60.6 células por área examinada, pero no encontramos diferencias significantes cuando comparada con los otros 2 tipos de mastocitosis al utilizar la prueba de ANOVA. Tabla 1

La presencia de otro infiltrado celular que células cebadas (eosinofilos, linfocitos y histiocitos) fueron presentes en 19 de 33 (57.5%) de los casos de UP, en 5 de 6 (83.3%) de los mastocitomas y en 2 de 3 (66%) de los casos de mastocitosis cutánea difusa. La análisis estadístico con la prueba de chi-cuadrada no mostró diferencias significativas entre los 3 tipos de mastocitosis y la presencia de otro infiltrado celular.

Buscamos en la base de datos del estudio clínico anterior el grupo de paciente que fue seguido y analizamos la evolución de estos pacientes que tenían o no otro infiltrado celular y no hubo diferencias significativas entre los grupos. También buscamos una relación entre la presencia de otro infiltrado celular y la

edad de la biopsia pero tampoco encontramos diferencias estadísticas entre los grupos ( $p=0.11$ ).

Utilizando la misma base de datos encontramos una relación entre el mayor número de células positivas con la tinción de c-Kit y la presencia de prurito  $p = 0.048$  con la prueba *T-test*. Tabla 2 Del mismo modo encontramos asociación entre el número de células c-Kit positivas y la presencia de hepatomegalia con una  $p$  de 0.036 utilizando *t-test*. Tabla 3.

En los 6 pacientes con diagnóstico clínico de mastocitosis, pero sin diagnóstico histológico, repetimos la tinción de Giemsa y nuevamente no identificamos gránulos en las células del infiltrado. Realizamos un análisis discriminante a través del Programa SPSS 10.0 de los 6 casos con diagnóstico clínico de mastocitosis, pero que no fueron confirmados con la tinción de Giemsa. El análisis discriminante fue realizado comparando las medias del conteo de células cebadas encontradas en este grupo ( $n=6$ ) con la media de células cebadas encontradas en el grupo de piel normal ( $n=9$ ) y los casos de mastocitosis confirmada ( $n=23$ ). Encontramos que 4 de los 6 casos dudosos fueron clasificados como mastocitosis por el programa.

La inmunohistoquímica tuvo sensibilidad de 86%, especificidad de 33%, valor predictivo positivo de 83% y valor predictivo negativo de 40%, cuando comparada con la tinción de Giemsa.



## DISCUSION

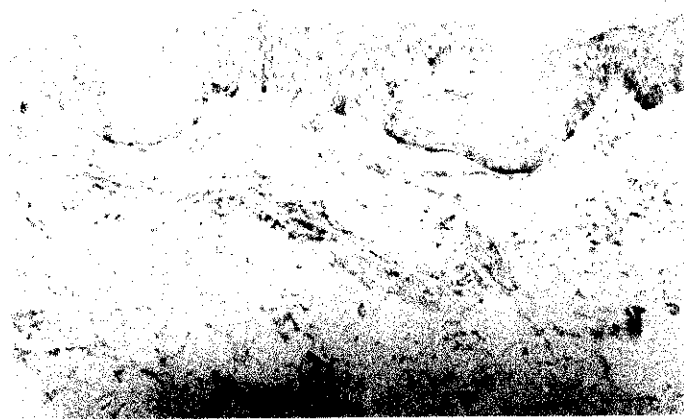
La mastocitosis es una enfermedad caracterizada por una hiperplasia de células cebadas en los tejidos (4). En la piel afectada el acumulo de células cebadas se localiza difusamente en el tercio superior de la dermis y alrededor de los vasos sanguíneos, sin embargo también puede tener distribución en banda o tumoral y llegar hasta el tejido celular subcutáneo (16,19,47). Muchos autores han intentado correlacionar el tipo de mastocitosis con numero y la distribución de los mastocitos en la dermis (16,21,28,47). Sin embargo se ha visto que el numero de células cebadas y la manera como se distribuyen está mas relacionada con la lesión morfológica que con el tipo clínico de mastocitosis (20,21,47). Así siendo, el mayor numero de mastocitos y la distribución de tipo tumoral o en banda son encontrados sobretodo en nódulos, mientras que las máculas presentan un menor número de mastocitos y la distribución se limita a ser perivascular. Las pápulas tienen número y distribución variable de los mastocitos, pudiendo ser la distribución perivascular, mixta o nodular (20,21). Aún así, muchos autores describen clásicamente la Urticaria Pigmentosa (UP) con infiltrados en banda o tipo nodular (tumoral) que se extienden de la dermis papilar hasta el tejido celular subcutáneo (16,28,47). En este estudio encontramos que la mayoría de los paciente con diagnostico de UP el infiltrado se distribuyó difusamente en la dermis superior y alrededor de los vasos sanguíneos dérmicos. Una vez que en la UP encontramos diversidad en las lesiones morfológicas (24,48,49) y que esta diversidad puede estar presente en el mismo paciente es probable que en nuestros pacientes se hayan biopsiado más las lesiones de tipo mancha o pápula. Como el estudio fue retrospectivo, hubo una limitación en el sentido de que en las hojas de patología no constaba que lesión morfológica se tomó la biopsia. Los mastocitomas pueden ser histológicamente indistinguible de las lesiones nodulares o en placas de la UP, y están constituidos por un infiltrado de tipo en banda o tumoral (16,21). De los 7 pacientes con diagnóstico de mastocitoma, 3 presentaron un infiltrado de distribución perivascular y difusamente en la dermis superior en que concluimos que también podemos encontrar este tipo de

distribución en los mastocitomas a pesar de no estar referido en la literatura. En la mastocitosis cutánea difusa el infiltrado se distribuye en banda, pero también puede distribuirse localmente alrededor de los anexos o en aglomerados en el tejido celular subcutáneo (16). En nuestro estudio 2 de los 3 pacientes estudiados presentaban infiltrado en banda.

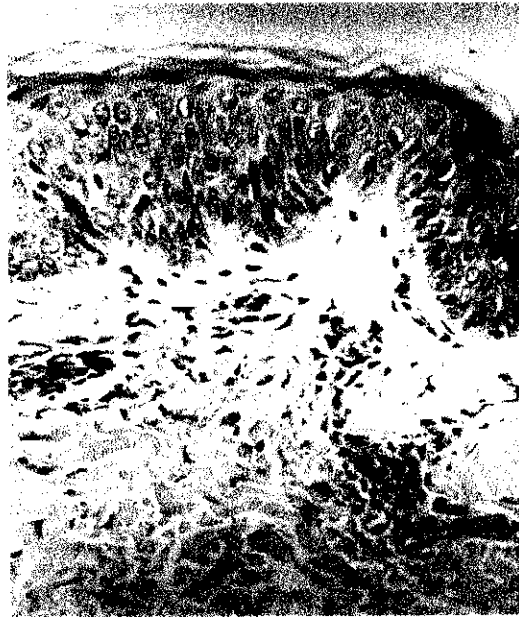
Todos los pacientes de nuestro estudio presentaron infiltración de mastocitos a los anexos cutáneos (folículo piloso y glándulas sudoríparas). La distribución perianexial de las células cebadas han sido descritas por muchos autores en la piel normal (19) y en enfermedades como la dermatitis atópica (53), pero la distribución particular en la mastocitosis únicamente se ha descrito en la forma de mastocitosis cutánea difusa. Creemos que la infiltración perianexial es de suma importancia para el diagnóstico de esta entidad una vez que encontramos en nuestro estudio estuvo presente en todos los casos estudiados.

En la literatura se describen que las agregaciones de células cebadas de tipo tumoral están asociadas con edema de la papilas dérmicas, ampollas y necrosis epidérmica (16). En nuestro estudio encontramos que el edema, la necrosis y la atrofia epidérmica fueron más frecuente en el mastocitoma y en la mastocitosis cutánea difusa o que concuerda con las descripciones de la literatura.

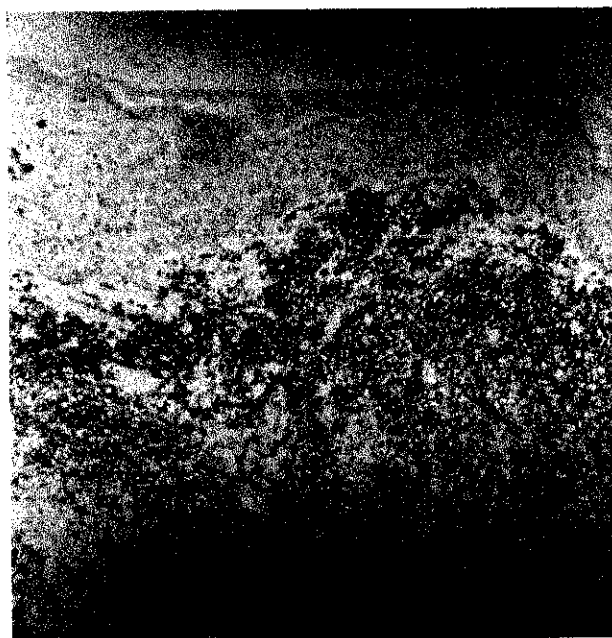
La tinción de Giemsa es conocida desde hace muchos años por ser específica en marcar mastocitos en la dermis, con la identificación de sus gránulos metacromáticos (18), sin embargo, no identificará mastocitos que estén degranulados. Del mismo modo el anticuerpo antitriptasa de las células cebadas (AA1) es muy específico para marcar los gránulos de los mastocitos (17,18). El anticuerpo anti- ckit ha mostrado positividad en la piel para los mastocitos y melanocitos y está dirigido a un receptor de membrana (receptor c-Kit) e por lo tanto marcará las células cebadas mismo que estas estén degranuladas (34). Hamann et al encontró que la expresión de AA1 fue inferior al c-Kit en los mastocitomas (54). En nuestro estudio hicimos un análisis cuantitativo comparando las 3 tinciones y encontramos que el c-Kit consigue identificar una mayor cantidad de células cebadas cuando comparado con las otras 2 tinciones y no encontramos diferencias entre la tinción de Giemsa y AA1.



**Fig. 3 - Biopsia anterior teñida con la tinción de c-kit  
Observamos las células cebadas teñidas de color café  
20X**



**Fig. 2 - Biopsia de una lesión macular teñida con la tinción de Giemsa en un paciente con Urticaria Pigmentosa – no se observan los gránulos metacromáticos (rojos) - 20X**



**Fig.1 - Foto histológica de una biopsia teñida con c-kit - lesión nodular en un paciente con Urticaria Pigmentosa - 20X**



**Paciente 1. Femenino, 8 meses.  
Urticaria Pigmentosa.  
Presencia de manchas,pápulas y placas.**



Paciente 6. Seguimiento a los 4 años.  
Se visualiza mejoría de las lesiones.

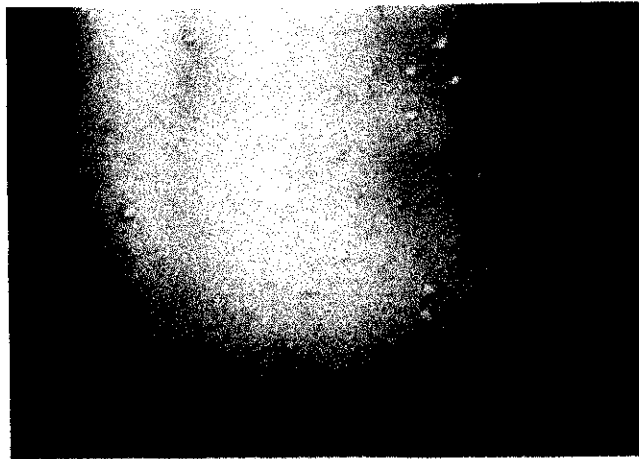


**Paciente 6 . Masculino  
1 año 3 meses  
Urticaria Pigmentosa  
presencia de pápulas y placas**





**Paciente 1.**  
**Seguimiento a los 12 años.**  
**Se verifica regresión de la mayor parte de las lesiones.**



**Paciente 50.  
Masculino, 11 meses.  
Urticaria Pigmentosa.  
Presencia de lesiones nodulares**

El número de mastocitos en la piel normal varía de 7 000 a 20 000 por mm<sup>3</sup> (19,50). Mikhail et al encontraron variaciones en diferentes sitios anatómicos del cuerpo con una media de 7 225 mastocitos mm<sup>3</sup> (19). El mismo autor encontró que el número de mastocitos en UP está aumentado cerca de 40 veces (19). Olafsson et al encontraron que la densidad media de células cebadas está aumentada cerca de 7 veces cuando comparada con los pacientes controles (47). Kasper et al encontró que en las lesiones nodulares la densidad de los mastocitos están aumentados cerca de 150 veces, mientras que en las formas papulares 30 veces y en las formas maculares varía de 4 a 9 veces el valor normal, cuando comparada con la piel normal (21). Nosotros encontramos resultados similares a los de Mikhail y Kasper, con una cantidad 44 veces mayor de mastocitos en la UP, 46 veces mayor en los mastocitomas y 86 veces mayor en la mastocitosis cutánea difusa.

En todos los tipos de mastocitosis podemos encontrar eosinófilos en número variable con excepción de la forma telanectasia eruptiva (16). Los estudios descriptivos anteriores son basados en estudios de histoquímica con tinciones de Giemsa o azul de Toluidina, pudiendo pasar desapercibido otros tipos celulares. En nuestro estudio confirmamos a través de inmunohistoquímica que en aproximadamente la mitad de los casos de mastocitosis tenían presentes otro tipo de infiltrado y los infiltrados estaban constituidos por eosinófilos, histiocitos y linfocitos con diferentes combinaciones. Podemos formular la hipótesis de que los mastocitos pueden atraer para estos locales otros tipos celulares además de los eosinófilos ya conocidos anteriormente y todavía no sabemos que traducción clínica podría tener estos infiltrados mixtos cuando comparados con los infiltrados únicos de células cebadas o aún se representan estadios evolutivos de la enfermedad. En nuestro estudio no pudimos establecer una relación entre la presencia de otros infiltrados y la edad de la biopsia y tampoco entre la presencia de otro infiltrado y el tipo clínico de mastocitosis o la presencia de otro infiltrado y la evolución de los pacientes.

Encontramos una asociación entre la cantidad de mastocitosis y la presencia de prurito y hepatomegalia. Creemos que esta asociación no ha sido descrita anteriormente en la literatura.

En el grupo de pacientes con diagnóstico clínico de mastocitosis (formas maculares) encontramos un número significativo de mastocitos en la inmunohistoquímica, que correspondió aproximadamente 4 veces más que la encontrada en la piel normal, confirmando el diagnóstico de mastocitosis macular en 4 los 6 casos estudiados, a través del análisis discriminante. Este hallazgo indica que la inmunohistoquímica es de utilidad para el diagnóstico histológico sobretodo de los casos dudosos (lesiones maculares) de mastocitosis, teniendo la inmunohistoquímica una sensibilidad de 86% y un valor predictivo positivo de 83% lo que apoya esta idea.

## ANÁLISIS DISCRIMINATE

Tinción de Giemsa	Tinciones de inmunohistoquímica: Reclasificación		
	Mastocitosis	Controles	Total
Mastocitosis =23	20	3	23
Casos Negativos=6	4	2	6
Controles=9	0	9	9

**Tabla 13 – Análisis Discriminate**

Teste de Igualdad de medias entre los grupos con prueba de Wilks' Lambda con significancia de 0.000 (para el promedio de c-Kit) y de 0.042 para el promedio de antitriptasa).

INMUNO	TINCION DE GIEMSA	
	POSITIVO	NEGATIVO
POSITIVO	20	4
NEGATIVO	3	2

**Tabla 14 – Análisis de Pruebas Diagnósticas**

Sensibilidad: 0.86

Especificidad: 0.33

Valor Predictivo positivo: 0.83

Valor Predictivo negativo: 0.4

## ANÁLISIS DISCRIMINATE

Tinción de Giemsa	Tinciones de inmunohistoquímica: Reclasificación		
	Mastocitosis	Controles	Total
Mastocitosis =23	20	3	23
Casos Negativos=6	4	2	6
Controles=9	0	9	9

**Tabla 13 – Análisis Discriminate**

Teste de Igualdad de medias entre los grupos con prueba de Wilks' Lambda con significancia de 0.000 (para el promedio de c-Kit) y de 0.042 para el promedio de antitriptasa).

INMUNO	TINCION DE GIEMSA	
	POSITIVO	NEGATIVO
POSITIVO	20	4
NEGATIVO	3	2

**Tabla 14 – Análisis de Pruebas Diagnósticas**

Sensibilidad: 0.86

Especificidad: 0.33

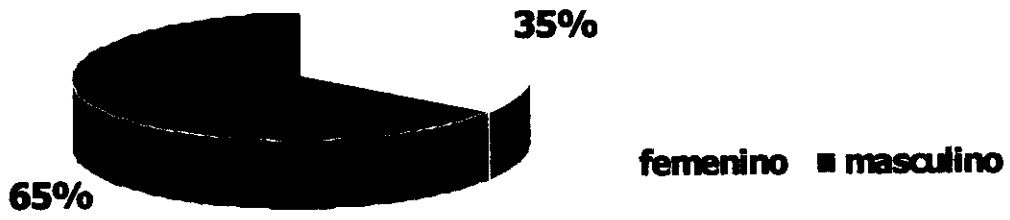
Valor Predictivo positivo: 0.83

Valor Predictivo negativo: 0.4

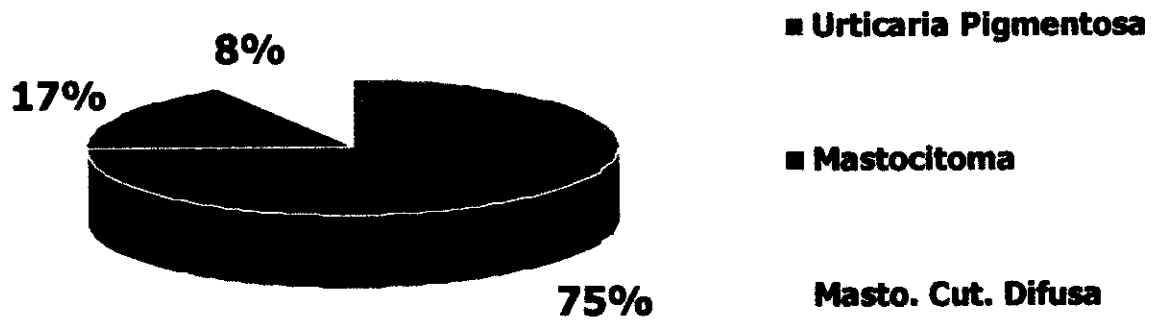
## CONCLUSIONES:

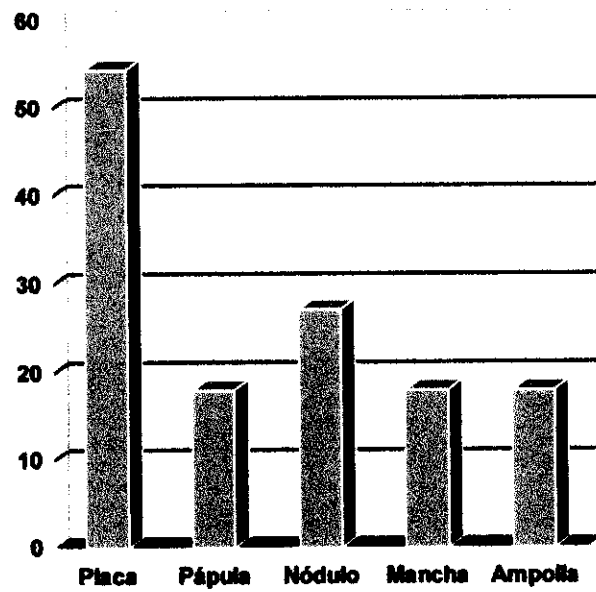
Nosotros encontramos una discreta prevalencia del sexo femenino 1.8:1. El tratamiento con antihistamínico no modificó la evolución de la enfermedad. El seguimiento de 31 pacientes mostró que 80% de los pacientes mejoran o tienen resolución espontánea de la enfermedad. El elevado número de células cebadas está correlacionada con el prurito severo y hepatomegalia. La inmunohistoquímica es de ayuda para el diagnóstico de los casos sospechosos clínicamente y que en los cuales no se puede hacer el diagnóstico con la tinción de Giemsa.

En contraste con la mastocitosis de los adultos, mastocitosis en niños tiene un curso benigno, no siendo necesario la realización de estudios sofisticados o invasivos en la mayoría de los casos.

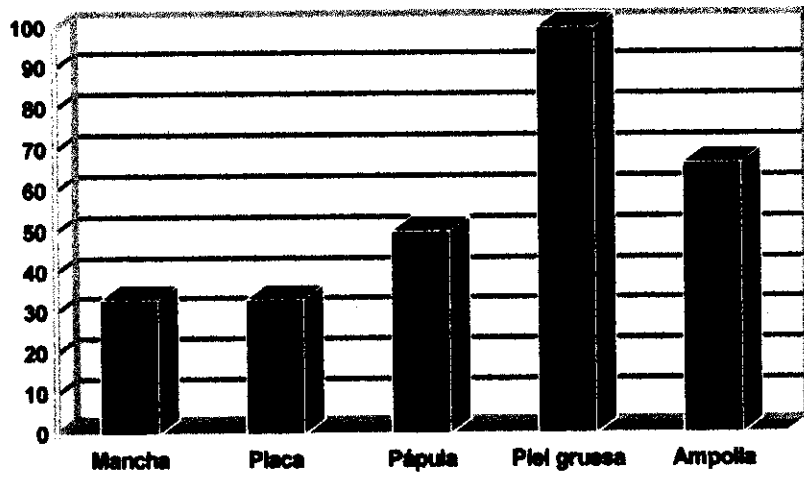




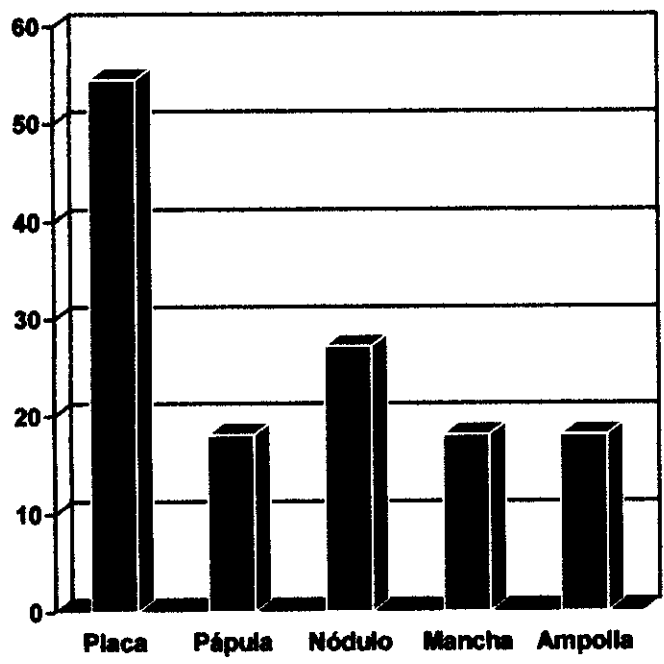




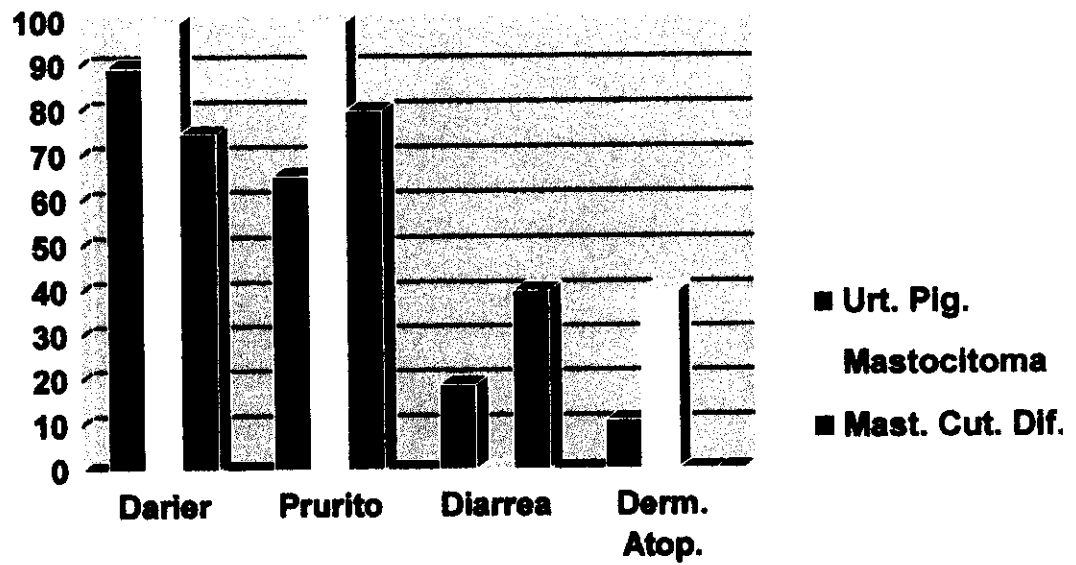
**Percentil de las diferentes lesiones dermatológicas en pacientes con Urticaria Pigmentosa**



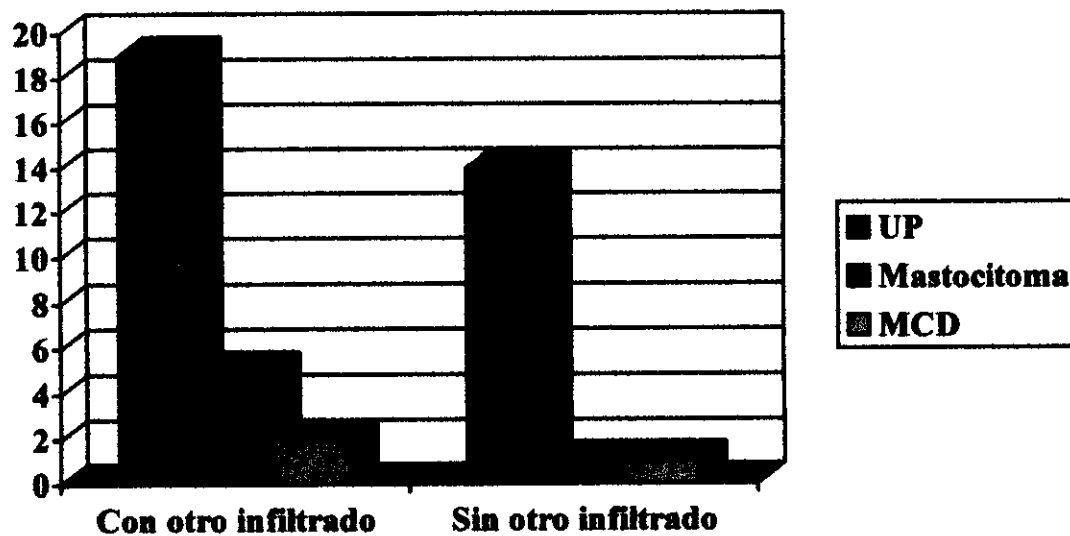
**Percentil de las diferentes lesiones dermatológicas en pacientes con Mastocitosis Cutánea Difusa**



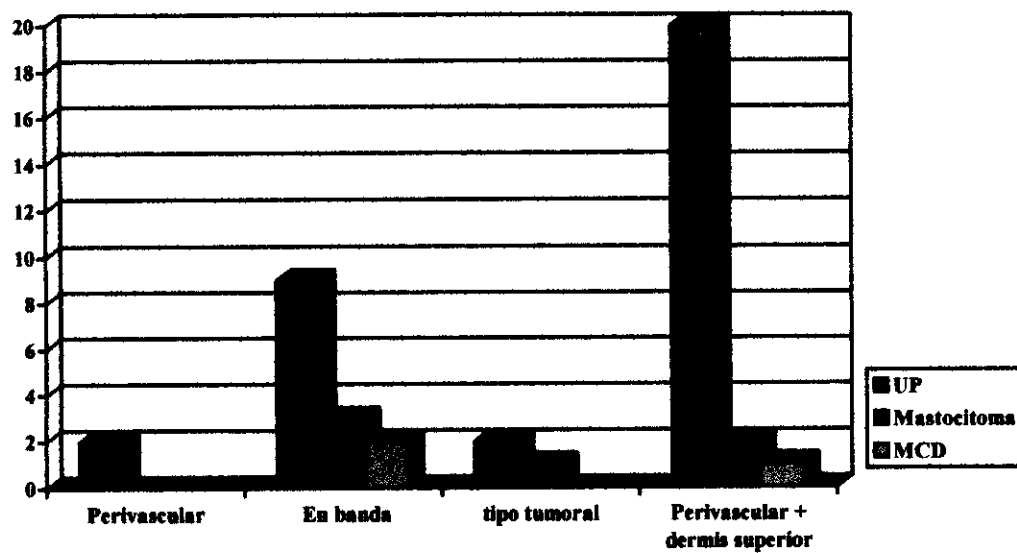
**Percentil de las diferentes lesiones dermatológicas en pacientes con Mastocitoma**



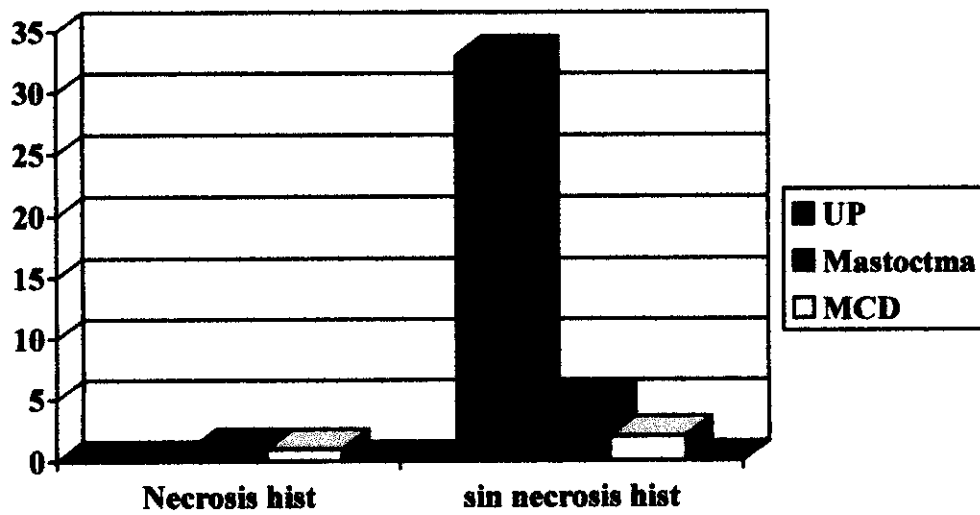
**Percentil de diferentes signos y síntomas en los diferentes tipos de mastocitosis**



**Numero de biopsias de piel con y sin otro tipo de infiltrado cutáneo en los diferentes tipos de mastocitosis cutánea**

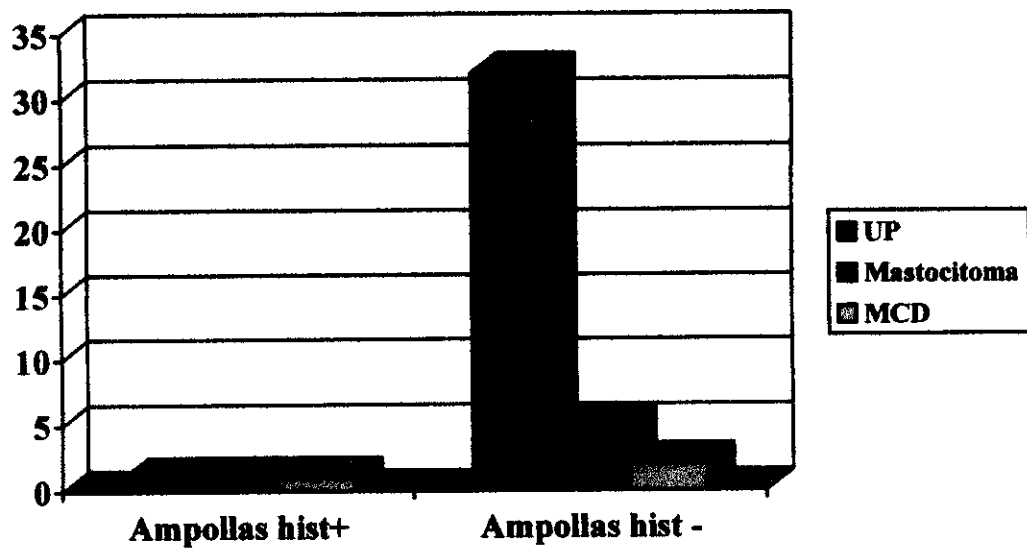


**Numero de biopsias de piel y las diferentes disposiciones del infiltrado celular**

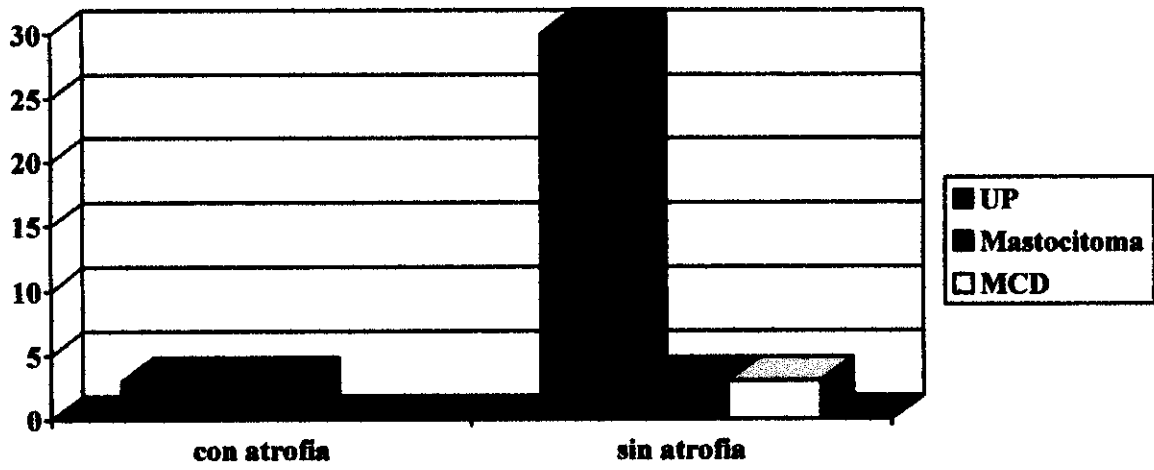


**Numero de biopsias de piel con y sin necrosis en los diferentes tipos de mastocitosis cutánea**





**Número de biopsias de piel con y sin ampollas en los diferentes tipos de mastocitosis cutánea**



**Numero de biopsias de piel con y sin atrofia en los diferentes tipos de mastocitosis cutánea**

## Canonical Discriminant Functions

DXHIST = 2

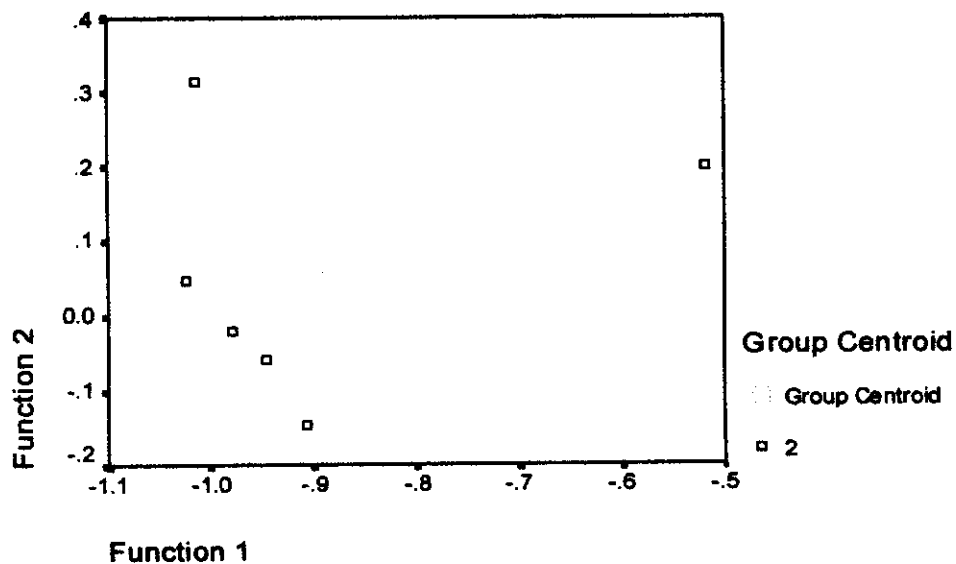


Gráfico mostrando la distribución de los 6 pacientes con mastocitosis clínica pero sin confirmación diagnóstica con la tinción de Giemsa y su reclasificación con la inmunohistoquímica. Vese que 4 pacientes se distribuyen del lado de los casos confirmados de mastocitosis y 2 del lado de los controles.

## Canonical Discriminant Functions

DXHIST = 1

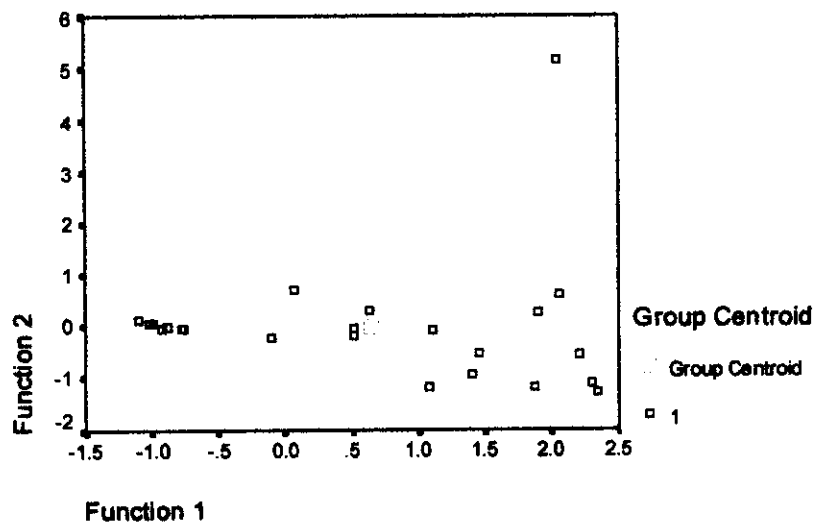


Gráfico mostrando la distribución de los 23 pacientes con mastocitosis clínica y con confirmación diagnóstica con la tinción de Giemsa y su reclasificación con la inmunohistoquímica.

**ANEXO 1**

**HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DEL ESTUDIO CLÍNICO**

NOMBRE: \_\_\_\_\_ Nº EXPEDIENTE \_\_\_\_\_  
FECHA DE LA 1ª CITA: \_\_\_\_\_ FECHA DE LA ULTIMA VALORACION: \_\_\_\_\_  
DIRECCION: \_\_\_\_\_  
SEXO: \_\_\_\_\_ EDAD DE APARECIMIENTO DE LAS LESIONES: \_\_\_\_\_  
EDAD DE DIAGNOSTICO: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES FAMILIARES**

- PADRES
- HERMENOS
- HIJOS
- OTROS

**ANTECEDENTES PERSONALES:**

ESPLENOMEGALIA ( ) SI ( ) NO

HEPATOMEGALIA ( ) SI ( ) NO

LINFOADENOPATIA ( ) SI ( ) NO

**TOPOGRAFIA DE INICIO DE LAS LESIONES:**

**SINTOMAS:**

SIGNO DE DARIER ( ) SI ( ) NO

**MORFOLOGIA DE LAS LESIONES:**

- MÁCULAS
- PÁPULAS
- NÓDULOS
- AMPOLLAS

**DIAGNOSTICO CLINICO**

DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO:

LABORATORIO:

- BIOMETRIA HEMATICA
- RX DE HUESOS LARGOS
- MEDULA OSEA

TRATAMIENTO RECIBIDO

EVOLUCIÓN:

- MEJORÍA
- CURACIÓN
- MISMO ESTADO
- EMPEORAMIENTO:

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

**ANEXO 2**

**HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DEL ESTUDIO HISTOPATOLGOGICO**

NOMBRE:

EXPEDIENTE:

NUMERO DE BIOPSIA:

ES PARTE DEL GRUPO CONTROL: ( ) SI ( ) NO

ES PARTE DEL GRUPO CON DX CLINICO Y/O HISTOLOGICO DE  
MASTYOCITOSIS ( ) SI ( ) NO

EDAD DE INICIO DE LAS LESIONES:

EDAD AL MOMENTO DE LA BIOPSIA:

LOCALIZACION DE LAS LESIONES:

MORFOLOGIA DE LAS LESIONES:

DIAGNOSTICO CLINICO:

DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO:

DISTRIBUCIÓN DE LOS MASTOCITOS EN LA DERMIS:

-PERIVASCULAR

-1/3 SUPERIOR

-SUBCUTANEO

-BANDA

-TUMORAL

-OTRO

HAY INFILTRACION DE MASTOCITOS PERIANEXIAL ( ) SI ( ) NO

HAY PRESENCIAS DE AMPOLLAS ( ) SI ( ) NO

HAY ATROFIA DE LA EPIDERMIS ( ) SI ( ) NO

EL INFILTRADO ESTA COMPUESTO POR OTRO TIPO DE INFILTRADO  
CELULAR ADEMÁS DE MASTOCITOS

( ) SI ( ) NO

CONTEO:

CELULAS POSITIVAS POR CAMPO EXAMINADO:

	GIEMSA	ANTITRIPTASA	C-KIT
1º CAMPO			
2º CAMPO			
3º CAMPO			
4º CAMPO			
5º CAMPO			



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beara JM, Minor Sandra N. Mastocitosis En: Ruiz-Maldonado R, Parich L Bear M. Tratado de Dermatología Pediátrica. México : Interamericana\*;1992: 363-369.
2. Greaves MW. Mastocytoses In: Rook/ Wilkinson / Ebling. Textbook of Dermatology. Oxford : Blackwell Scientific Publicaciones; 1992; vol. 3:2065-2072.
3. Sagher FE, Paz Z. Mastocytosis and the mast cells. Year Book Medical Publisher, Chicago, 1967.
4. Katsambas AD, Karpouzis AJ, Koumantaki-Mathioudaki E, Jorizzo JL. Mastocytosis with skin manifestatins: current status. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 1999;13: 155-165.
5. Longley J, Duffy TP, Kohn S. The mast cell and mast cell disease. J Ame Acad of Dermatology 1995; 32: 545-61.
6. Galli SJ. New concepts about the mast cell. New Eng J Med 1993;328:257-265.
7. Lazarus GS. Mastocytosis: new understandings in cutaneous pathophysiology. J Dermatol 1996;23:769-772.
8. Longley J. Is mastocytosis a mast cell neoplasia or a reactive hyperplasia? Clues from study of mast cell growth factor. Am Med 1994;26:115-116.
9. Golkar L, Bernhard DJ. Mastocytosis. Lancet.1997; 349:1379-85.
10. Piao X, Bernstein A. A point mutation in the domain of c-kit growth factor independence, tumorigenicity, and differentiation of mast cells. Blood 1996;87(8): 3117-23.
11. Buttner c, Henz BM, Welker P, Sepp NT, Grabbe J. Identification of activating c-kit mutation in adult, but not in childhood-onset indolent mastocytosis: a possible explanation for divergent clinical behavior. J Invest Dermatol 1998;111(6):1227-1231.
12. Cáceres-Cortés JR. El factor Steel. Rev Invest Clin 1997;49:507-14.

13. Galli SJ, Tsai M, Wershil B. The c-kit Receptor, Stem Cell Factor, and Mast Cells. What Each Is Teaching Us about the Others. *Am J Pathol* 1993; 142:965-974.
14. Hamann K, Haas N, Grabbe J, Czarnetzki M. Expression of stem cell factor in cutaneous mastocytosis. *British Journal of Dermatology* 1995;133:203-208.
15. Petrazzuoli M & Golsmith L. In: Fitzpatrick's. *Dermatology in General Medicine*; New York, McGraw-Hill; 1999; vol. 1:114-131.
16. Mihm MC, Clark WH, Reed RJ, Caruso MG. Mast cell infiltrates of skin and the mastocytosis syndrome. *Human Pathology* 1973, 4:231-239.
17. Marshall JS, Ford GP, Bell EB. Formalin sensitivity and differential staining of mast cells in human dermis. *British Journal of Dermatology* 1987;117:29-36.
18. Markey AC, Churchill LJ, MacDonald DM. Human cutaneous mast cell – a study of fixative and staining reactions in normal skin. *British Journal of Dermatology* 1989;120:625-631.
19. Mikhail GR, Miller-Miliska A. Mast Cell Population in Human Skin. *The Journal of Investigate Dermatology* 1963;30: 249-253.
20. Kasper CS, Tharp MD. Quantification of cutaneous mast cells using morphometric point counting and a conjugated avidin stain. *J Am Acad Dermatol* 1987; 16:326-31.
21. Kasper S, Freeman GR, Tharp D. M. et al. Diagnosis of Mastocytosis Subsets Using a Morphometric Point Counting Technique. *Arch Dermatology* 1987;123:1017-1021.
22. Tharp MD, Southwest Internal Medicine Conference: The Spectrum of Mastocytosis. *The American Journal of the Medical Sciences* 1985; 289:117-132.
23. Alto WA, Clarcq Lisa. Cutaneous and Systemic Manifestations of Mastocytosis. *American Family Physician* 1999; 59: 3047-3054.
24. Torrelo FA, Navarro CL, Escribano ML et al. Estudios Clínicos y de Laboratorio: Diagnóstico, tratamiento y clasificación de la mastocitosis pediátrica. Estudio de 172 casos. *Actas Dermosifiliogr*, 1998;89:461-476.

25. Ghannadan M, Baghestaian M, Wimazal F, Eisenmenger M, Latal D, Kargul G et al. Phenotypic characterization of human skin cells by combined staining with toluidine blue and CD antibodies. *J Invest Dermat* 1998 oct;11(4):689-95.
26. Ruiz-Maldonado R, Niebauer G, Ebner E. Urticaria Pigmentosa: estudio clínico, histopatológico y evolutivo de 56 casos. *Dermatologia Iber Latin Amer* 1970;4:391-407.
27. Schwartz L. Monoclonal antibodies against human mast cell tryptase demonstrate shared antigenic sites on subunits of tryptase and selective localization of the enzyme to mast cell. *The Journal of Immunology* 1985; 134: 526-531.
28. Harvima RJ, Harvina IT, Dull D, Dunder UK, Schwarz L. Identification and characterization of multiple forms of tryptase from de human mast cells. *Arch Dermatol Res* 1999;291:73-80.
29. Walls AF, Jones DB, Williams JH et al. Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissue using monoclonal antibodies specific for triptase. *Journal of Pathology* 1990;162:119-126.
30. Schwartz LB, Foley JV, Austen F et al. Localization of tryptase to human cutaneous mast cells and keratinocytes by immunofluorescence and immunoperoxidase cytochemistry with monoclonal antitryptase antibody. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:182-8.
31. Rimmer EF, Turberville C, Horton MA. Human mast cells detected by monoclonal antibodies. *J Clin Pathol* 1984;37:1249-1255.
32. Hamann K, Grabbe J, Welker P, Haas N, Algermissen B, Czarnetzki BM. Phenotypic evaluation of cultured human mast and basophilic cells and of normal human skin mast cells. *Arch Dermatol Res* 1994;286:380-385.
33. Dippel E, Haas N, Grabbe J, Shadendorf DS, Hamann K, Czarnetzki BM. Expression of the c-kit receptor in hypomelanosis: a comparative study between piebaldism, naevus depigmentosus and vitiligo. *British Journal of Dermatology* 1995;132:182-189.

34. Lerner NB, Nocka KH, Cole SR, Qiu F, Strife A, Ashman LK, Besmer P. Monoclonal Antibody YB5.B8 Identifies the human c-kit Protein Product. *Blood* 1991; 77 (9):1876-1883.
35. Cephonis A, Kontinen YT, Takagi M, Xu JW, Sorsa T, Matucci-Cerinic M, et al. Expression of Stem Cell Factor (SCF) and SCF receptor (c-kit) in synovial Membrana in Arthritis: Correlation with Synovial Mast Cell Hyperplasia and Inflammation. *J Rheumatol* 1998;25:2304-2314.
36. Mallory Susan B. Infiltrative Diseases In: Shachner LA, Hansen RC. *Pediatric Dermatology*. New York: Churchill Livingstone; 1995;vol. 2:852-858.
37. Soter NA. The skin in mastocytosis. *J. Invest. Dermatol.* 1991;96 ( suppl):32S-39S.
38. Fine JD. Mastocytosis. *Int. J. Dermatol.* 1980;19:117.
39. Azaña JM, Torreló A, Mediero GI, et al. Urticaria Pigmentosa: A review of 67 Pediatric Cases. *Pediatric Dermatology*.1994;11(2):102-106.
40. Tharp DM, Glass JM, Seelig LL. Ultrastructural morphometric analysis of lesional skin: Mast cells from patients with systemic and nonsystemic mastocytosis. *Journal of the American Academy of Dermatology*.1988;18(2):298-306.
41. Caplan, RM. The Natural Course of Urticaria Pigmentosa. *Arch Dermatol.* 1963;87:146.
42. Metcalfe DD. Conclusions . *J Invest Dermatol* 1991;96: 64S-65S.
43. Stein DH. Mastocytosis: A review. *Pediatric Dermatology.* 1986;3(5):365-375
44. Zucher-Franklin D. Ultrastructural evidence for common origin of the human mast cells and basófilos . *Blood* . 1980;56:534-540.
45. Horan FR, Schneider CL, Sheffer L.A. Alergic Skin Disorders and Mastocytosis. *JAMA*.1992;268(20):2858-2868.
46. Lemanske FR Jr, Atkins MF, Metcalfe DD. Gastro-intestinal mast cells in health and diseases. Parts I & II. *J. Pediatr.* 1983;103:177-184, 343-351.
47. Olafsson JH, Roupe G, Enerbäck L. Dermal Mast Cells in Mastocytosis: Fixation, Distribucion and Quantitation. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1986;66:16-22.

48. Loubeyres S, Léaute-Labrière, Roul S, et al. Classification et prise en charge des mastocytoses de l'enfant. *Ann Dermatol Venerol*, 1999;126:20-5.
49. Soter N. The Skin in Mastocytosis. *J Invest Dermatol* 1991 96:32S-39S.
50. Damsgaard TE, Olesen AB, Sorensen FB, Thestrup-Pedersen K, Schiotz PO. Mast cells and atopic dermatitis. Stereological quantification of mast cells in atopic dermatitis and normal human skin. *Arch Dermatol Res* (1997) 289:256-260.
51. Ben-Amitai D, Metzger A. Pediatric Mastocytosis. *Ann Dermatol Venerol.*, 1998;125: 1Sup 196.
52. Oranje AP, Middelkamp Hup MA, Heide R et al. Childhood versus Adulthood Mastocytosis. Joint Meeting: 3er Internacional Days on Pediatric Dermatology, 1999; 42-43.
53. Kettelhut BV, Metcalfe DD. Pediatric Mastocytosis. *Journal Invest. Dermatology*. 1991;96(suppl):15S-18S.
54. Hamann K, Haas N, Grabbe J, Welker P, Czarnetzki BM. Two novel mast cell phenotypic markers, monoclonal antibodies Ki-MC1 and Ki-M1P, identify distinct mast cell subtypes. *British Journal of Dermatology* 1995;133:547-552.