

Hémangio-endothélio-sarcome splénique avec érythrophagocytose et angiopathie thrombotique

Étude morphologique, optique et ultrastructurale

C. Hopfner, M. Dufour, M. Pluot et T. Caulet *

Faculté de Médecine, Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Reims

Reçu le 6 Octobre 1971

Hemangio-Endothelioma of the Spleen with Erythrophagocytosis and Consumption Coagulopathy

Morphological, Optical and Ultrastructural Study

Summary. The authors studied the light and ultrastructural morphology of a malignant hemangioendothelioma of the spleen, which rapidly spread to the liver and bone marrow. An important phagocytic activity, especially erythrophagocytic, of the tumor cells was observed as well as multiple capillary thromboses. The stage of general spread was marked by the appearance of hemolytic anemia, thrombocytopenia, fragmented red blood cells, and a deficit in coagulation factors. The thrombosis was considered to be responsible for the consumption coagulopathy. The hemolytic anemia may be explained by two associated mechanisms: intravascular hemolysis (microangiopathic hemolytic anemia), and erythrophagocytosis by the tumor cells and by the reticuloendothelial system of the red blood cells made fragile by their passage through the tumor.

Résumé. Les auteurs rapportent l'étude morphologique et ultrastructurale d'un hémangio-endothélio-sarcome splénique avec diffusion rapide du processus tumoral au niveau de la moëlle osseuse et du foie. Il existe au sein de la tumeur splénique étudiée une importante activité phagocytaire et surtout érythrophagocytaire des cellules tumorales ainsi que des thromboses multiples. La phase de généralisation est marquée par l'apparition d'une anémie hémolytique, de globules rouges fragmentés, d'une thrombopénie et d'un déficit en facteurs de coagulation. Les thromboses sont responsables de la coagulopathie de consommation. L'anémie hémolytique peut s'expliquer par deux mécanismes associés: l'hémolyse intravasculaire (anémie hémolytique microangiopathique), et, l'érythrophagocytose par les cellules tumorales et le système réticuloendothélial, de globules rouges fragilisés par leur passage dans la tumeur.

Les hémangio-sarcomes spléniques sont rares. Dans un certain nombre de cas rapportés, la tumeur splénique qui domine la symptomatologie n'est qu'apparemment isolée, le processus tumoral est multifocal (angio-sarcomatose), avec en particulier, atteinte simultanée de la moëlle osseuse et du foie (Schlopsnies, 1930; Wright, 1949; Laforet, 1952; Tasker, 1958).

Dans l'observation que nous rapportons, il existe une importante érythrophagocytose, et des thromboses multiples au sein de la prolifération capillaire. La diffusion du processus tumoral s'accompagne d'un retentissement hématologique, avec anémie hémolytique, thrombocytopenie, déficit en facteurs de coagulation.

* Nous remercions pour leur assistance technique Mme Pousse, M. Guidez et M. Scheydecker.

Observation

Il s'agit d'un homme de 58 ans, qui consulte pour des douleurs de l'hypochondre gauche à type de pesanteur avec altération de l'état général. Il est porteur d'une splénomégalie isolée d'apparition récente avec un retentissement hématologique discret: anémie (3 500 000 GR) leucocytose (13 000 GB), légère thrombopénie (164 000 plaquettes). La moëlle est riche, érythroblastique sans fibrose. A la suite d'une série d'investigations restées négatives, l'indication d'une splénectomie est posée. L'intervention permet de découvrir une volumineuse tumeur splénique apparemment isolée, le foie est macroscopiquement normal. Cependant, l'étude des pièces de résection costale rendue nécessaire pour l'exérèse de la rate, montre de multiples foyers tumoraux médullaires. Les suites opératoires sont simples. Les mois suivant l'intervention, le foie augmente rapidement de volume alors que le taux de plaquettes tend à s'abaisser progressivement. La phase terminale est marquée par l'apparition: d'une anémie hémolytique, d'une thrombocytopénie, de la présence de globules rouges fragmentés dans le sang périphérique, et d'un déficit en facteurs de coagulation. Malgré une amélioration passagère obtenue grâce à l'héparinothérapie, l'évolution fut rapidement fatale. L'autopsie n'a pas été possible.

Matériel et méthodes

Dès l'exérèse chirurgicale, plusieurs fragments ont été prélevés sur le parenchyme splénique tumoral en différents territoires.

L'étude microscopique optique est effectuée à partir de fragments fixés dans le liquide de Bouin, de Hollande ou dans le formol neutre et inclus en paraffine. Outre, les colorations usuelles les techniques suivantes ont été utilisées: hématoxyline-phosphotungstique de Mallory, coloration de Perls, coloration par le Giemsa, coloration des fibres réticuliniques (Gordon-Sweets — réticuline Mann-Dominici).

Pour l'étude ultra-structurale, les fragments sont prélevés sur les foyers tumoraux florides apparaissant macroscopiquement non nécrotiques et peu hémorragiques (Fig. 1*).

Ces fragments sont immédiatement fixés dans de la glutaraldéhyde à 5% tamponnée (tampon cacodylate de sodium pH 7,2), puis post-fixés à l'acide osmique et inclus dans l'Epon. Les coupes sont colorées par l'acétate d'Uranyl simple, ou suivie de citrate de plomb selon les techniques de Reynolds (1963), de Venable et Coggeshall (1965).

Un certain nombre de préparations ont été colorées par la méthode de Rambourg (acide périodique-argent méthénamine, 1967). Les coupes semi-fines sont colorées par le Bleu de Toluidine-Borax ou par l'Azur II — Bleu de Méthylène.

L'examen des coupes ultra-fines a été effectué sur microscope Siemens Elmiskop I.

Résultats

Étude macroscopique

La rate pèse 2635 g, il existe deux rates accessoires, l'une siège au pôle inférieur (Pds: 25 g), l'autre au niveau du hile (Pds: 20 g). La capsule splénique est peu déformée, elle présente un net épaississement fibreux. Elle est adhérente au diaphragme en plusieurs endroits. A la coupe, le parenchyme splénique est en majeure partie occupé par des formations tumorales aux limites imprécises, grossièrement polylobées, souvent confluentes, de couleur rougeâtre ou chamois, faisant saillie sur le plan de section. Elles sont entourées de zones hémorragiques rouges sombres, et de vastes plages de nécrose blanchâtre ou jaunâtre (Fig. 1). Les deux rates accessoires sont le siège d'altérations identiques.

Étude microscopique optique

Il s'agit d'une tumeur essentiellement constituée de tubes capillaires tumoraux anastomosés entre eux. Les colorations des fibres réticuliniques les mettent particulièrement en évidence (Fig. 2). Il existe également des zones massives consti-



Fig. 1. Tranche de section transversale de la rate. Nodule tumoral floride peu remanié (*). Foyers hémorragiques (→). Nombreuses plages blanches de nécrose

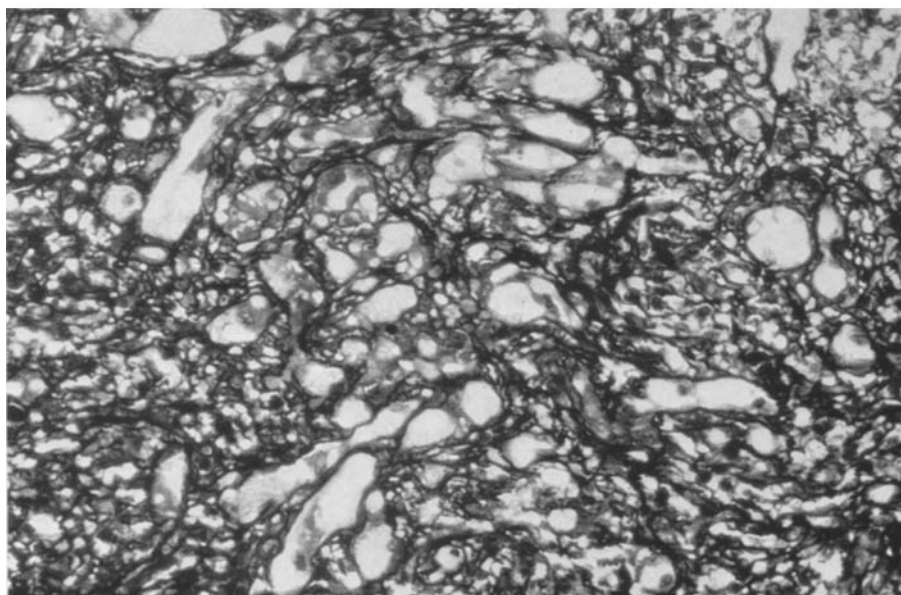


Fig. 2. Structure capillaire de la tumeur. Gr. 200 (col. Réticuline-Mann-Dominici)

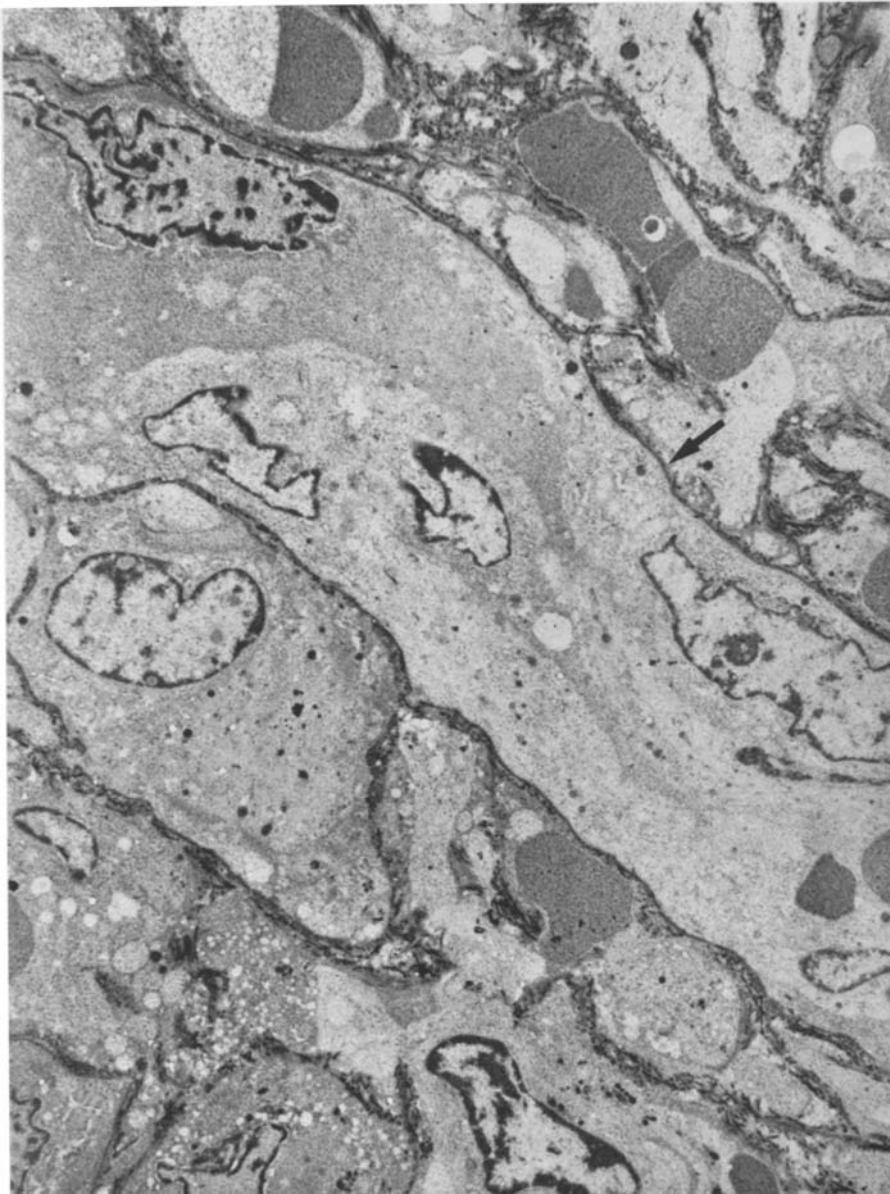


Fig. 3. Aspect endocapillaire de la prolifération. Membrane basale (→). Gr. 6250 (col. Rambourg)

tuées d'amas de cellules endothéliales atypiques, disposées en larges travées ou formant des structures d'allure glomérulaire. Les cellules tumorales sont allongées, fusiformes, parfois arrondies ou polygonales. Elles sont fréquemment le siège d'une surcharge ferrique associée ou non à des images d'érythrophagocytose. Les noyaux

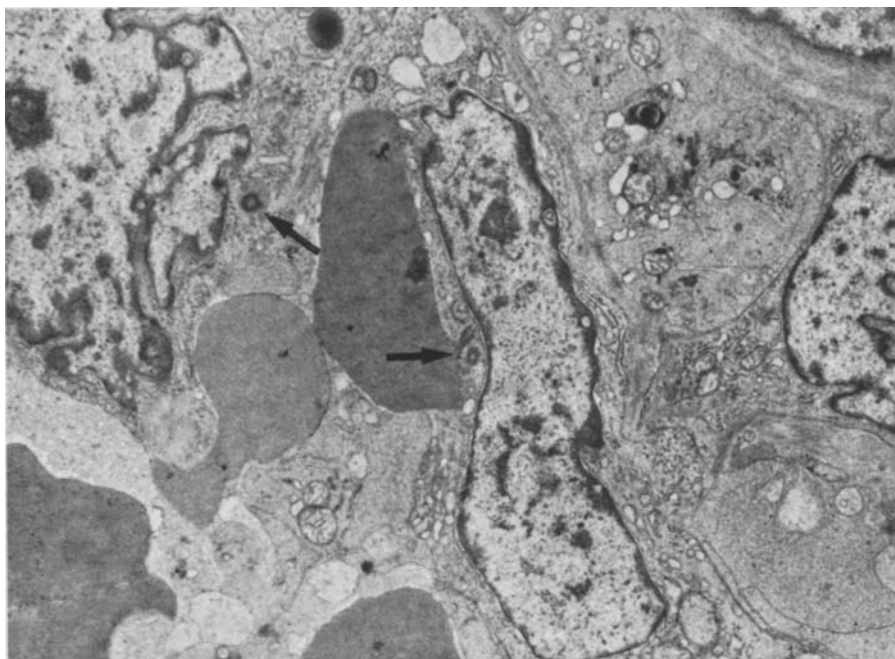


Fig.4. Cellules tumorales pauvres en organites, riches en ribosomes libres. Centrioles apparents (→). Gr. 8000 (col. Uranyl Pb)

sont de grande taille, nucléolés, leurs contours sont toujours très irréguliers. De nombreux capillaires tumoraux sont partiellement thrombosés. Il n'y a pas de foyer d'hémopoïèse au sein de la tumeur.

Étude ultrastructurale

Elle porte sur des zones constituées exclusivement de tubes capillaires tumoraux richement anastomosés. Les lumières vasculaires contiennent de nombreuses hématies, d'important aggrégats de plaquettes, peu de leucocytes. Elles sont souvent collabées. Il n'y a pas de thrombose intra-capillaire dans les territoires prélevés pour l'étude en microscopie électronique. La coloration des basales capillaires par l'argent-méthénamine selon Rambourg, montre bien le caractère exclusivement endocapillaire de la prolifération cellulaire (Fig. 3).

Les cellules qui bordent les capillaires rappellent les cellules endothéliales normales dont elles possèdent les caractéristiques générales (Fawcett, 1961; Mori et Lennert, 1969). Il s'agit de cellules très actives. Le rapport nucléoplasmique est élevé, les noyaux ont des contours très irréguliers, ils sont souvent plurinucléolés et la chromatine a volontiers une disposition marginale. Le cytoplasme présente une morphologie variable, ses contours sont irréguliers avec au niveau du bord adhérent de larges encoches où l'on trouve des éléments de basale associés à des fibres de collagène. Essentiellement 3 types cellulaires peuvent être observés:

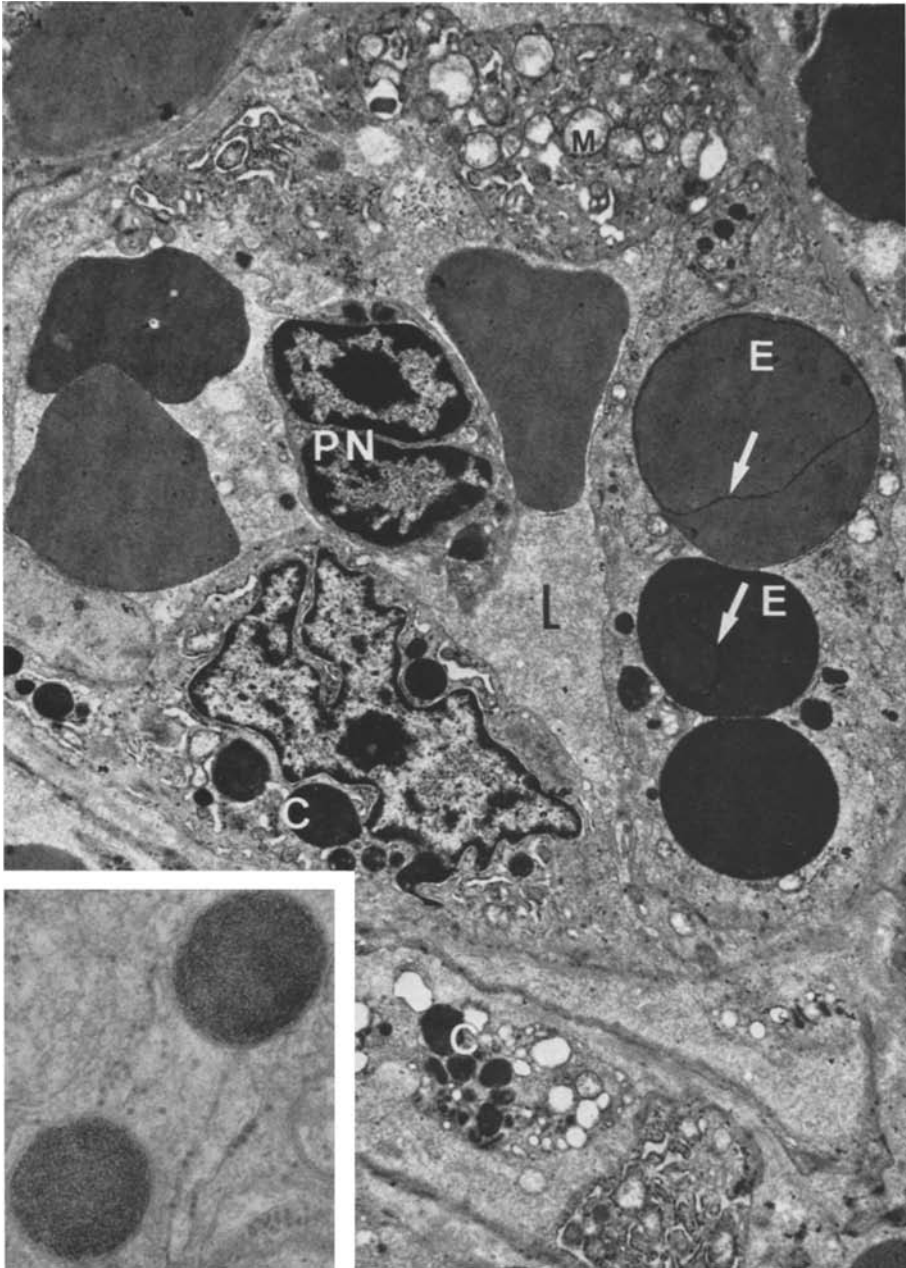


Fig. 5. Coupe perpendiculaire d'un capillaire tumoral. La lumière (L) contient un polynucléaire (PN). Erythrophagocytose (phase d'hémolyse) au sein d'une cellule endothéliale. Les érythrocytes (E) sont de densité variable. Leur membrane est retractée (→). Mitochondries vacuolisées (M). Amas de corps denses (C) à type de lysosomes et de sidérosomes. Gr. 6250. Encart: sidérosomes. Gr 50000 (col. Uranyl Pb)

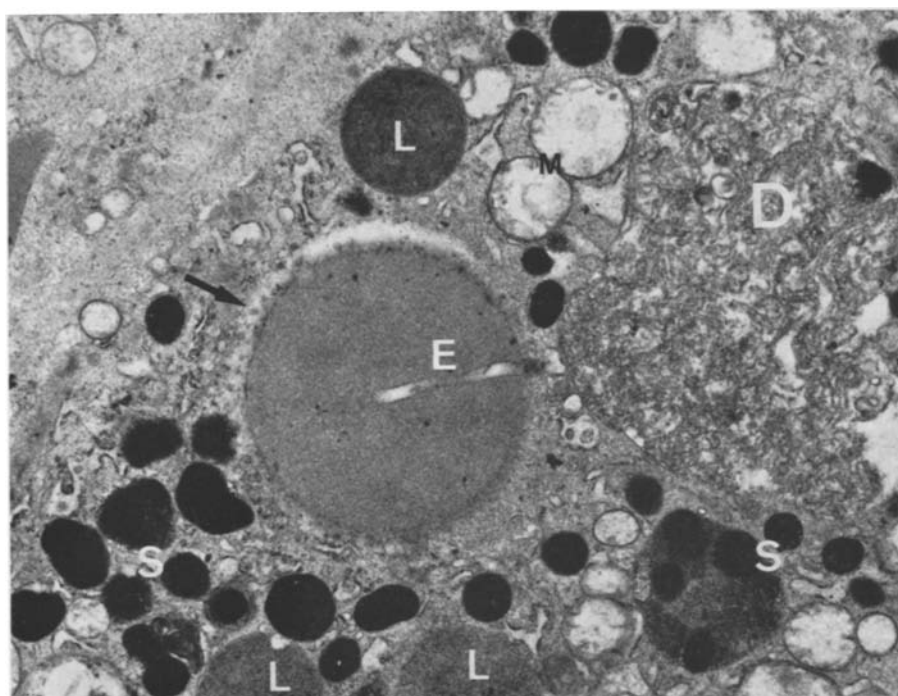


Fig. 6. Cellule endothéliale macrophagique. Erythrocytes phagocytés (*E*). Vésicules cytoplasmiques lysosomiales fusionnant avec la vacuole de phagocytose (\rightarrow). Amas de structures lamellaires entouré d'une membrane simple (*D*). Nombreux sidérosomes et lysosomes (*S*, *L*). Mitochondries vacuolisées (*M*). Gr. 20000 (col. Uranyl Pb)

— des éléments à rapport nucléoplasmique élevé, à cytoplasme réduit, pauvres en organites, mais remplis de ribosomes libres. L'ergastoplasme est peu développé, les centrioles sont souvent apparents (Fig. 4);

— des éléments de morphologie voisine, à cytoplasme plus étendu, riche en mitochondries de grande taille et en lysosomes;

— des éléments présentant une activité macrophagique intense. Leur cytoplasme contient de nombreux sidérosomes, des mitochondries de grande taille, des hématies phagocytées, et possède des prolongements qui se projettent dans la lumière des tubes capillaires; le collapsus fréquent des tubes tumoraux ne permet pas toujours de les différencier de ceux des thrombocytes (Fig. 5—7).

Commentaires

Bien que le processus tumoral présente un début apparent purement splénique, la découverte d'une atteinte osseuse costale radiologiquement muette et, l'apparition rapide d'une hépatomégalie importante évoquent une «maladie du système» à développement multifocal. Ces tumeurs spléniques sont rares comme le montrent des revues récentes (Das Gupta *et al.*, 1965; Castrup et Lennartz, 1970). La tumeur que nous avons observé présente les caractéristiques microscopiques des

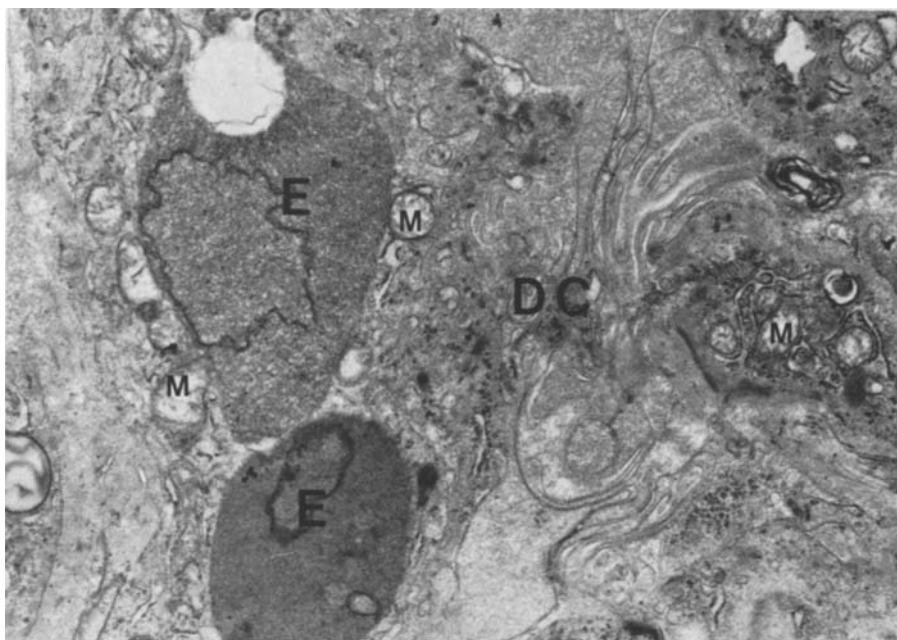


Fig. 7. Lumière capillaire collabée avec nombreuses digitations cytoplasmiques enchevêtrées (DC). Erythrocytes phagocytés (E). Mitochondries vacuolisées (M). Gr. 15000 (col. Uranyl Pb)

hémangio-endothéliomes décrits par Stout (1943); Stout et Lattes (1966) et Rappaport (1966). Des études ultrastructurales récentes effectuées sur le parenchyme splénique fixé par perfusion chez différents animaux montrent que les cellules bordant les sinus spléniques n'apparaissent pas fondamentalement différentes des cellules endothéliales d'autres sites; elles conservent cependant une activité de phagocytose (Pictet *et al.*, 1969; Burke et Simon, 1970). Les cellules endothéliales phagocytaires des sinus spléniques pourraient être le point de départ d'hémangio-endothélio-sarcomes, comme le suggère Evans (1966) pour l'origine des hémangio-endothélio-sarcomes hépatiques à partir des sinusoides hépatiques.

L'activité phagocytaire des cellules endothéliales des sinus de la rate et du foie est bien connue; on sait également que les cellules endothéliales des capillaires d'autres tissus, peuvent avoir dans certaines circonstances une activité de phagocytose (Cotran, 1965; Florey, 1967; Burke et Simon, 1970). Dans notre observation, il existe une surcharge ferrique et une érythrophagocytose active. Les cellules endothéliales macrophagiques sont de grande taille, quelquefois plurinucléées, elles sont riches en mitochondries, la bordure cytoplasmique endocapillaire est hérissée de nombreuses digitations qui se projettent dans la lumière vasculaire (Fig. 5—7). On peut mettre en évidence les différentes phases de l'érythrophagocytose, et les images observées concordent avec les données de la littérature sur ce phénomène (Pictet *et al.*, 1969; Simon et Burke, 1970; Collet et Petrik, 1971; Petrik et Collet, 1971). Le processus s'accompagne de l'apparition au sein du cytoplasme de sidérolysosomes ou de sidérosomes, constitués d'un aggrégat de particules de ferritine entouré d'une membrane simple (Fig. 5).

Nous avons observé des foyers de thrombose partielle ou totale des tubes capillaires tumoraux. Ces thromboses plus ou moins extensives sont connues dans les angiomes bénins où elles peuvent s'accompagner d'un retentissement hémato-logique quand la tumeur est de grande taille (Inceman et Tangun, 1969). Elles ont été récemment décrites dans les hémangio-endothélio-sarcomes isolément ou associées à une érythrophagocytose, et peuvent s'accompagner d'un retentissement hémato-logique à type d'anémie hémolytique microangiopathique (Alpert et Benisch, 1970; Warner *et al.*, 1971); de telles anémies surviennent parfois sans que l'on puisse mettre en évidence de thrombose au sein de la tumeur (Donald et Dawson, 1971).

Conclusion

Cet hémangio-endothélio-sarcome splénique réponds aux critères morphologi-ques décrits par Stout (1943). Les hématies sont fragilisées par leur passage dans les tubes capillaires tumoraux qui sont richement anastomosés, tortueux; elles sont ainsi rendues vulnérables à l'activité phagocytaire des cellules endothéliales. Les hématies en voie d'être phagocytées n'apparaissent pas fragmentées. L'im-portance de l'activité phagocytaire paraît liée à la nature et à l'origine du pro-cessus tumoral, elle a cependant été observé en dehors de celui-ci (Alpert et Benisch, 1970). L'érythrophagocytose n'est pas habituellement décrite au sein des hémangiomes bénins; par contre, les phénomènes thrombotiques sont classiques et peuvent entraîner une anémie hémolytique micro-angiopathique (Kasabach et Meritt, 1940; Inceman et Tangun, 1969).

Erythrophagocytose et thrombose capillaire semblent être deux phénomènes indépendants. Leurs conséquences hémato-logiques (Dufour *et al.*, 1972) se mani-festent dans notre observation au cours de la phase de diffusion. On peut invoquer deux mécanismes pour expliquer l'anémie hémolytique: une destruction intra-vasculaire des hématies très altérées (anémie hémolytique micro-angiopathique), et, une érythrophagocytose active par les cellules tumorales et, le système réticulo-endothélial des hématies fragilisées. Il en est ainsi dans certaines conditions expérimentales (Bhargava *et al.*, 1969). Les thromboses extensives; outre les altérations des globules rouges; sont responsables de la coagulopathie de consom-mation avec thrombocytopénie.

Bibliographie

- Alpert, L. I., Benisch, B.: Hemangioendothelioma of the liver associated with microangio-pathic hemolytic anemia. *Amer. J. Med.* **48**, 624—628 (1970).
 Bhargava, M., Agarwal, K. N., Kumar, S.: Sites of red cell destruction in the anemia of experi-mental burns. *Brit. J. Haemat.* **17**, 179—185 (1969).
 Burke, J. S., Simon, G. T.: Electron microscopy of the spleen: I-Anatomy and microcircu-lation. II-Phagocytosis of colloidal carbon. *Amer. J. Path.* **58**, 127—181 (1970).
 Castrop, H. J., Lennartz, A. J.: Hemangiosarkom der Milz. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **113**, 395—400 (1970).
 Collet, A. J., Petrik, P.: Electron microscopic study of in vivo erythrophagocytosis by alveolar macrophages of the cat. I-Early period: Hemolysis. *Z. Zellforsch.* **116**, 464—476 (1971).
 Cotran, R. S.: Endothelial phagocytosis: An electron microscopic study. *Exp. molec. Path.* **4**, 217—231 (1965).
 Das Gupta, T., Coombes, B., Brasfield, R. D.: Primary malignant neoplasms of the spleen. *Surg. Gynec. Obstet.* **120**, 947—960 (1965).
 Donald, D., Dawson, A. A.: Microangiopathic haemolytic anaemia associated with malignant haemangio-endothelioma. *J. clin. Path.* **24**, 456—459 (1971).

- Dufour, M., Hopfner, C., Potron, G., Miraucourt, G.: Anémie hémolytique, syndrome de défibrination au cours d'un hémangio-endothéliosarcome splénique. Etude clinique et hématologique. *Presse méd.* (à paraître).
- Evans, R. W.: *Histological appearances of tumours*, 2nd ed., p. 107. Edinburgh-London: E. S. Livingstone 1966.
- Fawcett, D. W.: Comparative observations on the fine structure of blood capillaries. In: *The peripheral blood vessels*, International Academy of Pathology Monograph. p. 17 à 44, Orbison, J. L. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Co. 1963.
- Florey, L.: The uptake of particulate matter by endothelial cells. *Proc. roy. Soc. B* **166**, 375—383 (1967).
- Inceman, S., Tangun, Y.: Chronic defibrination syndrome due to a giant hemangioma associated with microangiopathic hemolytic anemia. *Amer. J. Med.* **46**, 997—1001 (1969).
- Kasabach, H. H., Meritt, K. K.: Capillary hemangioma with extensive purpura: Report of a case. *Amer. J. Dis. Child.* **59**, 1063—1070 (1940).
- Laforet, F. G.: Primary sarcoma of the spleen. *Amer. J. Path.* **22**, 46—55 (1952).
- Mori, Y., Lennert, K.: *Electron microscopic atlas of lymph node cytology and pathology*, p. 104—114. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Petrik, P., Collet, A. J.: Electron microscopic study of in vivo erythrophagocytosis by alveolar macrophages of the cat. II. Late period: Digestion. *Z. Zellforsch.* **116**, 477—486 (1971).
- Pictet, T., Orci, L., Forssmann, W. G., Girardier, L.: An electron microscope study of the perfusion — Fixed spleen. I-The splenic circulation and the RES concept. II-Nurse cells and erythrophagocytosis. *Z. Zellforsch.* **96**, 372—417 (1969).
- Rambourg, A.: An improved silver methenamine technique for the detection of periodic acid reactive carbohydrates with the electron microscope. *J. Histochem. Cytochem.* **15**, 409—412 (1967).
- Rappaport, H.: Tumors of the hematopoietic system. *Atlas of tumor pathology*, sect. III — fasc. 8. Washington DC: A. F. I. P. 1966.
- Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208—212 (1963).
- Schlopnies, W.: Über ein systematisiertes angioplastisches Sarkom in Milz, Leber und Knochenmark. *Virchows Arch. path. Anat.* **274**, 85—97 (1930).
- Simon, G. T., Burke, J. S.: Electron microscopy of the spleen. III-Erythroleukophagocytosis. *Amer. J. Path.* **58**, 451—470 (1970).
- Stout, A. P.: Hemangioendothelioma: A tumor of blood vessels featuring vascular endothelial cells. *Ann. Surg.* **118**, 445—464 (1943).
- Stout, A. P., Lattes, R.: Tumors of soft tissues. *Atlas of tumor pathology* 2nd ser. fasc. 1. Washington DC: A. F. I. P. 1966.
- Tasker, R. G.: Haemangioendothelioma of the spleen and liver. *J. Clin. Path.* **11**, 142—145 (1958).
- Venable, J. H., Coggeshall, R.: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **25**, 407—408 (1965).
- Warner, E. D., Hoak, J. C., Fry, G. L.: Hemangioma, thrombocytopenia and anemia. *Arch. Path.* **91**, 523—529 (1971).
- Wright, M.: Hemangiosarcoma of the spleen. *Arch. Path.* **47**, 180—190 (1949).

Dr. C. Hopfner
 Prof. T. Caulet
 Service d'anatomie pathologique
 du Centre hospitalier et universitaire
 F-51 Reims/France