

Varón de 56 años con pancitopenia y lesiones osteoblásticas

Rosario M.^a Morales-Camacho¹, C. Prats-Martín¹, R. Alcántara², O. Pérez-López¹, E. Carrillo¹, M.I. Montero¹, M.T. Vargas¹, S. Burillo³, C. Calderón¹, J.M. de Blas¹, R. Bernal¹, J.A. Pérez-Simón¹, T. Caballero-Velázquez¹

¹ Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Hematología y Hemoterapia; ² UGC de Radiología;

³ Servicio de Inmunología. UGC de Laboratorios Clínicos. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

► Motivo de consulta

Remitido de otro hospital por síndrome constitucional y pancitopenia con sospecha de leucemia aguda.

► Historia clínica

Varón de 56 años, exfumador desde hace 20 años (1 paquete/día), con dislipemia y valvulopatía aórtica degenerativa. En tratamiento con atorvastatina 40 mg/día. Refería astenia, anorexia y pérdida de peso de 4-5 kg en el último mes y epigastralgia intermitente desde hace 2 meses. Al ingreso presentaba además polaquiuria y disuria.

► Exploración física

A la inspección se objetivaron episodios de rash urticarial coincidentes con febrícula/febre. Soplo sistólico aórtico IV/VI; auscultación pulmonar sin hallazgos. Sin hepatoesplenomegalia ni adenopatías palpables.

► Pruebas analíticas

• Hemograma: leucocitos $2,16 \times 10^9/L$, neutrófilos $1,4 \times 10^9/L$, hemoglobina (Hb) 72 g/L, volumen corpuscular medio (VCM) 93,9 fL, Hb corpuscular media (HCM) 31,6 pg y plaquetas $21 \times 10^9/L$. Reticulocitos $26,6 \times 10^9/L$.

• Bioquímica: bilirrubina directa/indirecta, GOT y GPT normales; GGT 89 UI/L (10-50) y fosfatasa alcalina 1.017 UI/L (40-129). LDH 231 UI/L (135-225). Ferritina

1.044 µg/L (15-300). Proteinograma normal. Función renal y resto de la bioquímica normal.

• Otros: coagulación normal. Marcadores tumorales negativos. Elemental de orina normal.

• Microbiología: serologías negativas para virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC), y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); serologías para virus de Epstein-Barr (VEB), IgM e IgG negativas; citomegalovirus (CMV), IgM negativa e IgG positiva; IgG positivas para virus varicela-zóster (VZV) y herpes virus 1. Urocultivos/hemocultivos negativos.

► Pruebas de imagen

• Tomografía axial computarizada (TAC) toracoabdominal: múltiples lesiones osteoblásticas afectando prácticamente a todas las estructuras óseas incluidas en el estudio. Próstata aumentada de tamaño (6,6 × 7,7 cm) de densidad heterogénea. Sin hepatoesplenomegalia ni adenopatías.

En cortes sagitales con ventana ósea de columna dorsal distal, lumbar y sacra se aprecian múltiples imágenes hiperdensas irregulares, que afectan a los cuerpos vertebrales y a los elementos posteriores. Se realizó un estudio de densidad medular en L5, triplicando la del hueso normal (638 versus 225 unidades Hounsfield, respectivamente) (Figura 1).

► Otras exploraciones

• Endoscopia oral: hernia de hiato. En antro se observaron pequeñas erosiones planas. Bulbo duodenal con edema y eritema, y 2 úlceras, una de ellas profun-

da con fibrina y punto necrótico. Se tomaron biopsias que resultaron inespecíficas.

- Biopsia cutánea: sin alteraciones relevantes.

► Estudios citológicos y citometría de flujo

Extensión de sangre periférica (leucocitos $2,16 \times 10^9/L$): cayados 1%, segmentados 68%, linfocitos 28%, monocitos 3%. Se observaron 2 eritroblastos/100 leucocitos. No se encontraron blastos ni otras células atípicas.

El aspirado medular era normocelular y polimórfico: serie eritroide 28%, granulopoyesis 31,5%, eosinófilos 1,5%, linfocitos 3%, monocitos 0,5%, macrófagos < 0,5%, plasmocitos 0,5%, serie megacariocítica conservada y destacaba un 35% de células con aspecto de malignidad, de apariencia hematológica, que se distribuían irregularmente y con cierta tendencia a confluir (pseudorosetas) (Figura 2). El tipo celular predominante era de tamaño grande (20-25 μm), con núcleo redondeado de cromatina poco condensada, nucléolos mal definidos, amplios citoplasmas de bordes muy irregulares con proyecciones mamelonares, similares a *blebs*, en las que solía distinguirse una fina vacuolización (Figura 3). A veces podía observarse una fina granulación azurófila. Cabía resaltar la variabilidad de tamaño de las células leucémicas, entre 10 y 12 μm (las menos) hasta algunas gigantes de > 30 μm .

Otro fenómeno muy repetitivo y destacado era el hallazgo de hemofagocitosis por las propias células malignas, que se apreciaba hasta en el 6% de las mismas. Internalizaban hematíes, pudiéndose seguir el proceso completo, desde una primera toma de contacto en la que el hematíe se deformaba, se estrangulaba y penetraba en el citoplasma (Figura 4). La eritrofagocitosis podía ser única o múltiple, y los hematíes fagocitados podían estar muy bien definidos, con un halo alrededor o compactados en el citoplasma. También se veían eritroblastos fagocitados (Figura 5), e incluso conjuntamente con hematíes. Igualmente, los eritroblastos sufrían el proceso gradual de englo-

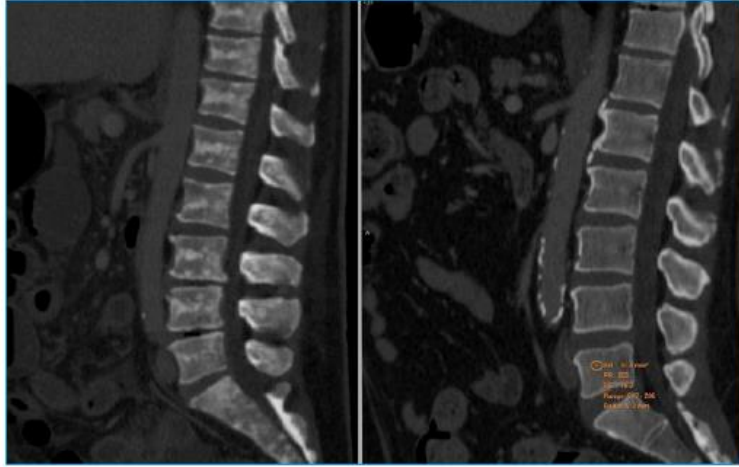


Figura 1. Tomografía axial computerizada (TAC). A la izquierda, imagen del paciente: en los cortes sagitales de columna vertebral se aprecian múltiples imágenes hiperdensas irregulares, que afectan a los cuerpos vertebrales y a los elementos posteriores. El estudio de densidad medular en L5 triplicaba el valor de referencia de un sujeto normal (derecha).

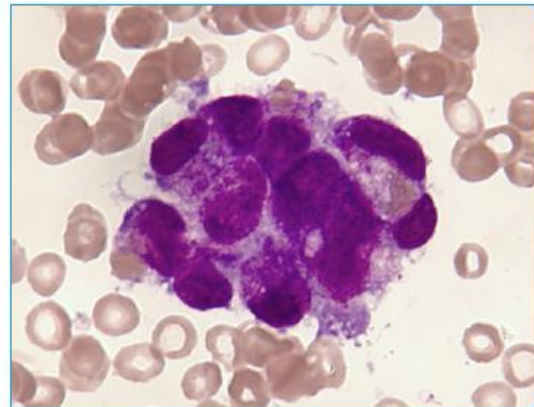


Figura 2. Aspirado de médula ósea (tinción de May-Grünwald-Giemsa, $\times 1.000$). Nido o roseta de mastocitos leucémicos simulando metástasis.

bamiento. Excepcionalmente se encontró fagocitosis de granulocitos (Figura 5).

Una característica muy frecuente de las células leucémicas era la multinuclearidad y/o lobulación de los núcleos, que llegaba a verse en el 9% (Figura 6). Se distinguieron formas con gran multinuclearidad que podían confundirse con megacariocitos atípicos. Menos del 1% eran hipergranulares y con tendencia de los gránulos a concentrarse en un polo de la célula (Figura 7). Un

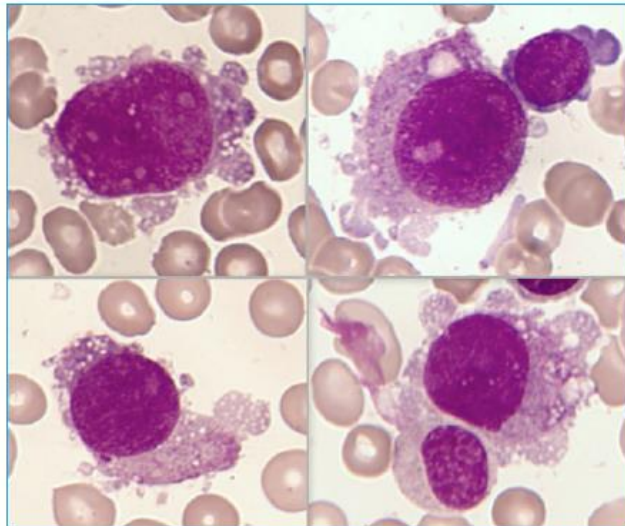


Figura 3. Aspirado de médula ósea (MGG, x1000). Mastocitos leucémicos de gran tamaño de núcleos redondeados, con la cromatina escasamente condensada, citoplasmas con muy escasa granulación con proyecciones en los bordes y vacuolización fina.

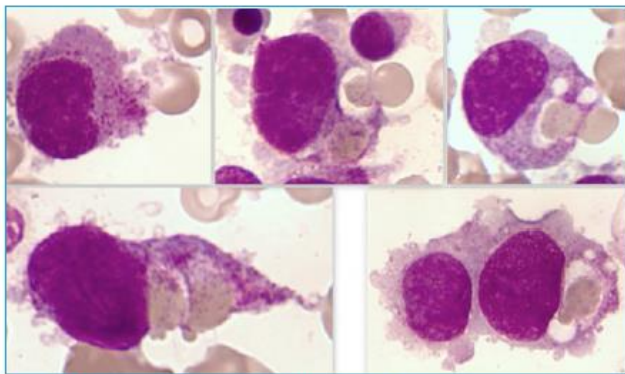


Figura 4. Aspirado de médula ósea (MGG, x 1.000). Secuencia de eritrofagocitosis, desde la toma de contacto hasta la internalización completa.

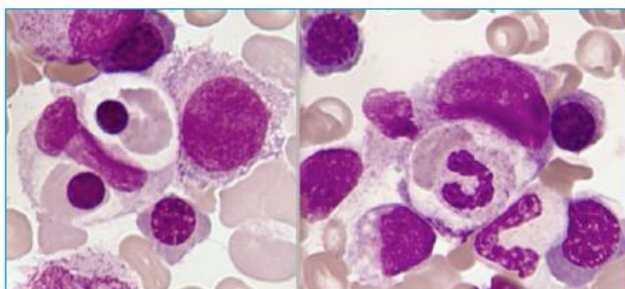


Figura 5. Aspirado de médula ósea (MGG, x 1.000). Mastocitos patológicos con fagocitosis: a la izquierda, eritroblastos ortocromáticos; a la derecha, un eritrocito y un granulocito.

mínimo de las células malignas ($< 1/500$) presentaban un pseudópodo único con granulación azurófila (Figura 8). Finalmente, se observó gran cantidad de mitosis reflejo del elevado índice proliferativo de la enfermedad.

Citoquímicamente, eran negativas para mieloperoxidasa (MPO) y cloroacetatoesterasa (CAE), observándose ocasionalmente granulocitos MPO y CAE positivos fagocitados por estas células. Es de interés resaltar que cerca del 90% eran PAS +, con inclusiones que parecían corresponder con la vacuolización periférica de los *blebs*. Con el azul de toluidina se observó una débil positividad en gránulos finos solo en el 5% de las células leucémicas. La tinción de Perl's reveló un hierro hemosiderínico normal sin sideroblastos patológicos.

En la hematopoyesis presente se observó una displasia leve-moderada. Menos de 1/500 de la serie roja mostró rasgos de displasia severos como la observación aislada de un puente internuclear.

La citometría de flujo identificó una población patológica de tamaño grande (FSC) y complejidad intermedia (SSC), con una expresión débil para el antígeno pan-leucocitario CD45. Las células leucémicas expresaban de manera intensa CD117 y CD203c, CD33 positivo más fuerte que los monocitos y, débilmente, el receptor de la IL-3 (CD123). Destacaba también una expresión débil de CD64 y patológica de CD25, sin expresión de CD2. No se demostró MPOc ni marcadores de línea B ni T en esta población (Figura 9).

➤ Citogenética y estudio molecular

El análisis citogenético de la médula ósea mostró un cariotipo complejo con una hi-

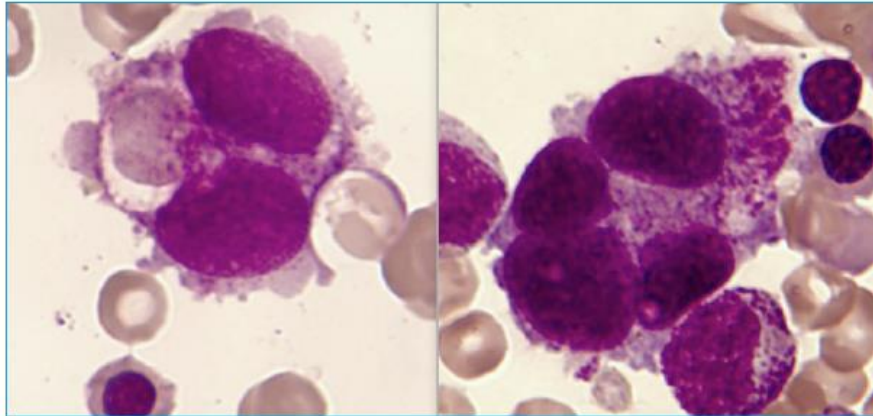


Figura 6. Aspirado de médula ósea (MGG, $\times 1.000$). Mastocitos multinucleados. A la izquierda con 2 núcleos, y a la derecha tetranucleado.

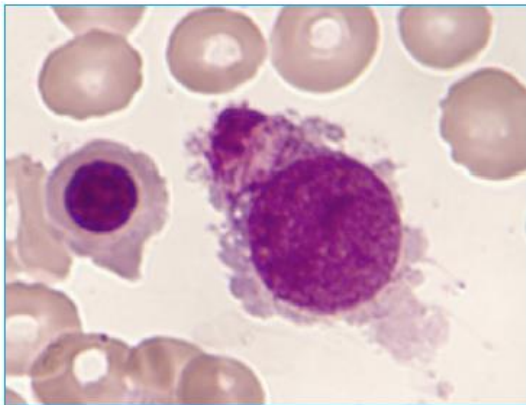


Figura 7. Aspirado de médula ósea (MGG, $\times 1.000$). Mastocito con la granulación azurófila concentrada en un polo del citoplasma.

potriploidía en torno a 65 cromosomas en 5 de 20 metafases analizadas, con numerosas alteraciones estructurales, incluyendo delección de 1q y al menos 10 cromosomas marcadores (Figura 10).

Las mutaciones de *KITD816V*, *FLT3-ITD* y *NPM1* resultaron negativas (reacción en cadena de la polimerasa -PCR-).

El estudio NGS (*next generation sequencing*) de las regiones *hotspot* del gen *KIT* (exones 8, 10, 11, 17) resultó negativo, así como un panel de NGS para leucemia aguda mieloide (LAM) (Ion AmpliSeq™ AML CancerResearch Panel) que incluyó 19 genes: regiones codificantes de *CEPBA*, *DNMT3A*, *GATA2*, *TET2*, *TP53*, y regiones *hotspot* de *ASXL1*, *BRAF*, *CBL*, *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *NPM1*, *NRAS*, *PTPN11*, *RUNX1* y *WT1*.

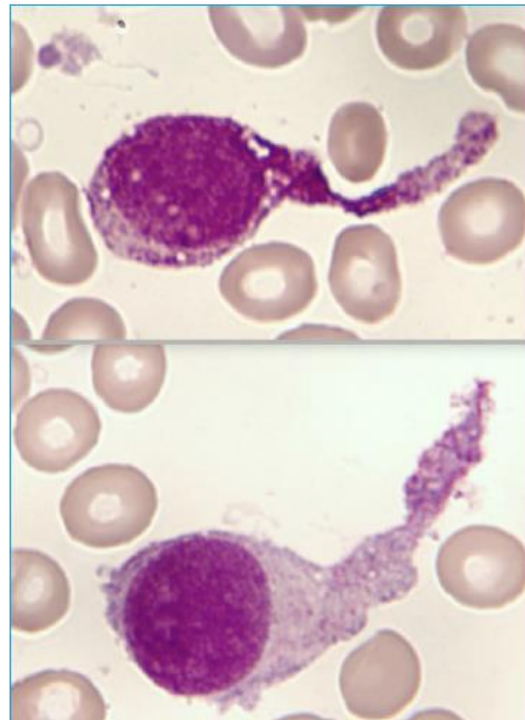


Figura 8. Aspirado de médula ósea (MGG, $\times 1.000$). Mastocitos patológicos con proyecciones únicas en forma de pseudópodo, de contenido granular variable.

➤ Diagnóstico

Leucemia de células mastocíticas (LCM). Variante aleucémica, de presentación aguda, primaria (*de novo*).

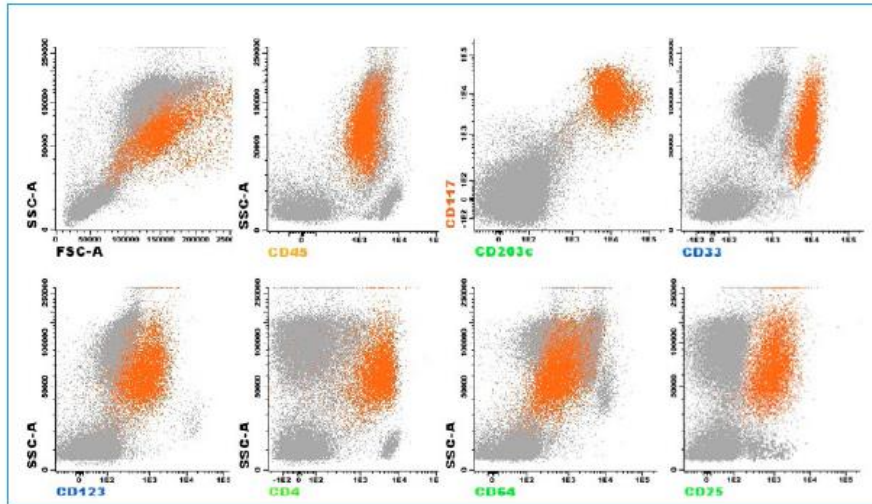


Figura 9. Citometría de flujo. La población de mastocitos se representa en color naranja.

➤ Evolución

El paciente recibió quimioterapia sistémica de inducción para LAM según el protocolo PETHEMA LMA 2010 con idarubicina (12 mg/m²/día intravenosos -i.v.-

días 1 a 3) y citarabina (200 mg/m²/día i.v. en perfusión continua días 1 a 7). Tuvo una evolución muy tórpida con ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), desarrollando una hepatoesplenomegalia severa con hipertensión portal, ascitis, fiebre, dolor

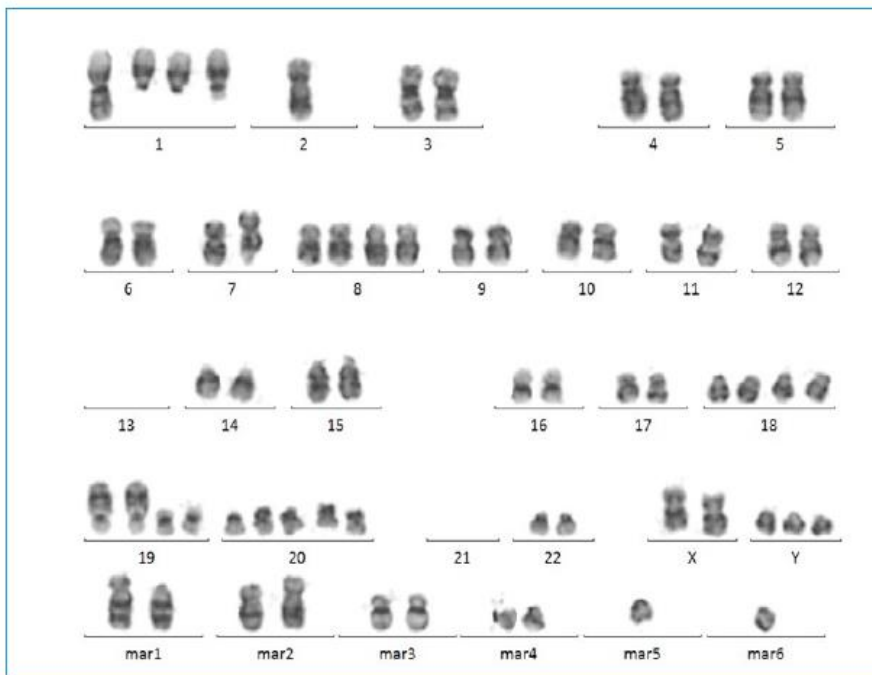


Figura 10. Citogenética de médula ósea: 65<3n>, XXV, +Y, +Y, +1, del(1)(q12)x3, -2, -2, -3, -4, -5, -6, -7, +8, -9, -10, -11, -12, -13, -13, -13, -14, -15, add(15)(q21)x2, -16, -17, +18, +19, add(19)(p13) x2, +20, +20, -21, -21, -21, -22, +mar1x2, +mar2, +mar3, +mar4, +mar5, +mar6, +mar7, +mar8, +mar9[5]/46,XY[15].

Tabla 1

Series	N.º pacientes	KIT D816V	Enfermedad hematológica asociada	Supervivencia (mediana)
Georjin-Lavialle <i>et al.</i> (Blood 2013)	51	46% (13/28)	8% (4/51)	6 meses
Jawhar <i>et al.</i> (Haematologica 2017)	28	68% (19/28)	71% (20/28)	17 meses
Jain <i>et al.</i> (2017)	13	37,5% (3/8)	31% (4/13)	31 meses

abdominal de tipo cólico e inestabilidad hemodinámica. Progresó a fracaso hepático con hiperbilirrubinemia hasta 15 mg/dL a expensas de la bilirrubina directa y también presentó derrame pleural bilateral. Finalmente, falleció a los 33 días del diagnóstico por shock séptico y fracaso multiorgánico.

» Discusión

La LCM es una enfermedad rara y agresiva incluida dentro de las mastocitosis, neoplasias mieloproliferativas según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2008 y que figuran en un capítulo aparte en la revisión de la OMS de 2016⁽¹⁾. La incidencia de mastocitosis sistémicas (MS) es de 0,89/100.000 habitantes/año y la prevalencia de 9,59/100.000 habitantes⁽²⁾. Las LCM suponen un 1% de las MS del adulto^(2,3). Se caracterizan por presentar $\geq 20\%$ de mastocitos leucémicos dispersos en el aspirado de médula ósea, efectuando el recuento en las zonas finas de la extensión y no en los grumos medulares. A su vez, la LCM se ha subclasificado en la revisión de la OMS de 2016 como forma clásica o variante aleucémica, según alcance o no el 10% de mastocitos en la sangre; aguda o crónica, según exista daño orgánico (curso habitualmente más agresivo) o no; y primaria (*de novo*) o secundaria a evolución de una mastocitosis⁽¹⁾. Se han publicado tres series relevantes de LCM^(4,5,6) (Tabla 1), con mediana de edad en torno a 60 años (5-82), sin claro predominio por sexos. Se demuestra la mutación *KIT* D816V entre el 37,5% y el 68%, asociación a enfermedad hematológica hasta en el 71% y supervivencia mediana de 17-31 meses en las dos últimas series.

Dentro de las mastocitosis, la enfermedad se encuadra entre las MS avanzadas, que integra junto a la LCM, la MS con una neoplasia hematológica asociada de línea no mastocítica (MS-NHA) –anteriormente conocida como MS con enfermedad hematológica clonal asociada de línea no mastocítica– y la MS agresiva⁽⁷⁾.

La LCM se caracteriza por la diseminación de mastocitos leucémicos a múltiples órganos: médula ósea (obligada para el diagnóstico $\geq 20\%$), hígado, bazo, hueso y tracto gastrointestinal. En cambio, no suele infiltrar la piel. La clínica puede deberse a activación de los mastocitos y/o infiltración. Las manifestaciones más comunes son síntomas constitucionales, prurito, urticaria, *flush*, fiebre, malestar, úlcus gastroduodenal, diarreas y taquicardia. Menos frecuentes son ascitis e hipertensión portal, polaquiuria, síntomas neuropsiquiátricos y dolores óseos. En la exploración se puede hallar hepatomegalia, esplenomegalia y adenopatías, siendo frecuente la progresión de las megalias a corto plazo⁽⁴⁾.

El diagnóstico se sustenta en la citología del aspirado medular ($\geq 20\%$) con marcada atipia de los mastocitos: formas inmaduras, fusiformes, hipogranularidad citoplasmática, núcleos ovalados y multilobulación/multinuclearidad. La citogenética suele mostrar un cariotipo normal (79-92%). La citometría contribuye a una correcta caracterización de la estirpe celular, a su estadio de maduración y determinación de la expresión de CD25 y CD2. Para el tratamiento de la forma aguda de LCM se indica poliquimioterapia, inhibidores de tirosin-kinasa, y trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, a pesar de lo cual la supervivencia es pobre^(1,4,5,8-10).

Por otra parte, el diagnóstico de LCM debe cumplir criterios de MS, el criterio mayor y 1 menor, o al menos 3 criterios menores. El criterio mayor de MS es la presencia de infiltrados densos (agregados de ≥ 15 mastocitos) multifocales observados en la histología de médula ósea y/o otros órganos extracutáneos. Los criterios menores son: en histología de médula ósea u otros órganos extracutáneos $> 25\%$ de los mastocitos son fusiformes o tienen morfología atípica, o bien en extensiones de un aspirado de médula ósea $> 25\%$ son inmaduros o atípicos; mutación en el codón 816 de *KIT* en médula ósea, sangre u otro órgano extracutáneo; expresión por los mastocitos de CD2 y/o CD25 además de sus marcadores habituales (en médula ósea, sangre u otros órganos extracutáneos); y, por último,

triptasa total sérica > 20 ng/mL (criterio no válido si se asocia enfermedad mieloide clonal). El requisito para diagnosticar una MS como LCM es que los mastocitos supongan $\geq 20\%$ de todas las células nucleadas en el aspirado de médula ósea. Además, la LCM se tipifica como clásica si los mastocitos suponen $\geq 10\%$ de las células circulantes en la sangre periférica y como variante aleucémica si suponen < 10%⁽¹¹⁾. El caso descrito cumple 3 criterios menores de MS que son: > 25% de los mastocitos son de morfología atípica, expresan CD25 y la triptasa sérica está muy elevada. Presenta un 35% de mastocitos en el aspirado de médula ósea y no se observan circulando en la sangre. De ahí la catalogación como variante aleucémica de LCM.

Debido a las lesiones osteoblásticas que presenta, el diagnóstico diferencial se debe hacer desde el punto de vista radiológico con metástasis, fundamentalmente de un cáncer de próstata. También se debe hacer con la enfermedad de Paget, el mieloma múltiple y linfomas, entre otros⁽¹²⁾.

El diagnóstico citológico integrado descarta una neoplasia no hematológica. Partiendo de que se trata de una leucemia, la dishemopoyesis de fondo obliga a descartar una LAM con cambios relacionados con mielodisplasia (CRMD) y una LCM asociada a un síndrome mielodisplásico (SMD). Si fuera una LAM con CRMD, se sospecharía morfológicamente un protagonismo de línea megacariocítica o monohistiocitaria en los blastos, que quedan excluidas fundamentalmente por la citometría⁽¹³⁾, la elevada triptasa y las peculiares manifestaciones clínicas. La asociación de un SMD a una LCM es planteable, aunque consideramos que no hay datos suficientes para esta afirmación y la displasia podría ser reactiva. No se han demostrado por NGS anomalías moleculares características de SMD^(5,14). Además, el cariotipo, aunque sea complejo, muestra una hipotriploidía y alteraciones estructurales que no suelen acompañar a un SMD, y parece más vinculado a los mastocitos leucémicos.

Diferenciamos la LCM de una MS agresiva por la elevada blastosis de la primera. Una leucemia aguda de basófilos no se considera por los hallazgos citométricos y la elevada triptasa sérica⁽¹⁵⁾. Se descarta una leucemia promielocítica aguda por la ausencia de MPO y la negatividad del *PML/RARA*. Finalmente, una leucemia mielomastocítica no es, ya que esta no cumple criterios de MS⁽¹⁶⁾.

► A recordar

- La observación de episodios de *rash* urticarial coincidentes con fiebre y epigastralgia ulcerosa son propios de la LCM. Pueden asociarse de manera inusual lesiones radiológicas osteoblásticas. Es muy infrecuente la ausencia de hepatoesplenomegalia inicial.

- Existe una dificultad diagnóstica citomorfológica debida al polimorfismo de los mastocitos leucémicos, su frecuente hipogranularidad y los numerosos fenómenos de hemofagocitosis. Es relevante la interpretación de los estudios citométricos y los valores de triptasa séricos.

- Desde el punto de vista genético, destaca un cariotipo complejo, hipotriploide, con numerosas alteraciones estructurales y numéricas, a pesar de que se describe como normal en aproximadamente el 80% de los casos. Por otra parte, la mutación *KIT* D816V es negativa y conviene recordar que puede ser negativa en al menos un tercio de estos pacientes.

► Bibliografía

1. Valent P, Akin C, Metcalfe DD. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood*. 2017;129(11):1420-7.
2. Cohen SS, Skovbo S, Vestergaard H, Kristensen T, Møller M, Bindslev-Jensen C, et al. Epidemiology of systemic mastocytosis in Denmark. *Br J Haematol*. 2014;166(4):521-8.
3. Lim KH, Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Patnaik M, Butterfield JH, et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: survival studies and prognostic factors. *Blood*. 2009;113(23):5727-36.
4. Georgin-Lavallo S, Lhermitte L, Dubreuil P, Chandresris MO, Hermine O, Damaj G. Mast cell leukemia. *Blood*. 2013;121(8):1285-95.
5. Jawhar M, Schwaab J, Meggendorfer M, Naumann N, Horny HP, Sotlar K, et al. The clinical and molecular diversity of mast cell leukemia with or without associated hematologic neoplasm. *Haematologica*. 2017;102(6):1035-43.
6. Jain P, Wang S, Patel KP, Sarwari N, Cortes J, Kantarjian H, et al. Mast cell leukemia (MCL): Clinico-pathologic and molecular features and survival outcome. *Leuk Res*. 2017;59:105-9.
7. Ustun C, Arock M, Kluijn-Nelemans HC, Reiter A, Sperr WR, George T, et al. Advanced systemic mastocytosis: from molecular and genetic progress to clinical practice. *Haematologica*. 2016;101(10):1133-43.
8. Gottlieb J, Kluijn-Nelemans HC, George TI, Akin C, Sotlar K, Hermine O, et al. Efficacy and Safety of Midostaurin in Advanced Systemic Mastocytosis. *N Engl J Med*. 2016;374(26):2530-41.

9. Ustun C, Reiter A, Scott BL, Nakamura R, Damaj G, Kreil S, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for advanced systemic mastocytosis. *J Clin Oncol*. 2014;32(29):3264-74.
10. Ustun C, Gotlib J, Popat U, Artz A, Litzow M, Reiter A, et al. Consensus Opinion on Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Advanced Systemic Mastocytosis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(8):1348-56.
11. Horny HP, Akin C, Metcalfe DD, Escribano L, Bennett JM, Valent P, et al. Mastocytosis (mast cell disease). En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (eds.). *World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2008. pp. 54-63.
12. Feydy A, Carlier R, Vallée C, Mompoin D, Chevallier A, Engerand S, et al. Imaging of osteosclerotic metastases. *J Radiol*. 1995;76(9):561-72.
13. Sánchez-Muñoz L, Teodosio C, Morgado JM, Perbellini O, Mayado A, Álvarez-Twose I, et al. Flow cytometry in mastocytosis: utility as a diagnostic and prognostic tool. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014;34(2):297-313.
14. Jawhar M, Schwaab J, Schnittger S, Sotlar K, Horny HP, Metzgeroth G, et al. Molecular profiling of myeloid progenitor cells in multi-mutated advanced systemic mastocytosis identifies *KIT* D816V as a distinct and late event. *Leukemia*. 2015;29(5):1115-22.
15. Valent P, Sotlar K, Blatt K, Hartmann K, Reiter A, Sadovnik I, et al. Proposed diagnostic criteria and classification of basophilic leukemias and related disorders. *Leukemia*. 2017;31(4):788-97.
16. Valent P, Sotlar K, Sperr WR, Escribano L, Yavuz S, Reiter A, et al. Refined diagnostic criteria and classification of mast cell leukemia (MCL) and myelomastocytic leukemia (MML): a consensus proposal. *Ann Oncol*. 2014;25(9):1691-700.