

Caso 1. Varón de 2 años con coxalgia

Carmen Freiría Albarte¹, Marta Santiago¹, Ana Villalba¹, Amparo Sempere^{1,5}, Esperanza Such^{1,5}, Margarita Llavador², Eva Barragán^{3,5}, José María Fernández⁴, Ana Isabel Vicente¹, Rafael Andreu¹, Samuel Romero¹, Gema Plumé¹, Mariam Ibáñez^{1,5}, Leonor Senent^{1,5}

¹ Servicio de Hematología y Hemoterapia. ² Servicio de Anatomía Patológica.

³ Servicio de Análisis Clínicos. ⁴ Servicio de Pediatría.

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia.

⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red Cáncer (CIBERONC). Instituto Carlos III. Madrid

› Motivo de consulta

Se trata de un niño de 2 años que acude a urgencias por coxalgia izquierda de 6 semanas de evolución sin antecedente traumático, asociada a fiebre de patrón vespertino durante la última semana. No presentaba otra clínica infecciosa por aparatos.

› Historia clínica

El paciente no presentaba antecedentes personales de interés y su desarrollo psicomotor era normal. Como antecedentes familiares, destacaba un tío materno portador de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos por una leucemia aguda bifenotípica a los 24 años y un tío materno diagnosticado de linfoma folicular.

La exploración física revelaba una ligera palidez cutánea y molestias a la palpación en isquion izquierdo sin limitación funcional. No se observaban lesiones cutáneas ni petequias y tampoco se objetivaban adenopatías ni hepatoesplenomegalia palpables.

› Pruebas complementarias

› Análisis de sangre al ingreso

El hemograma mostraba una pancitopenia leve: hemoglobina de 10 g/dL; volumen corpuscular medio (VCM) de 78 fL; plaquetas de 103.000/mm³; leucocitos de 5,89 mil/mm³ (segmentados 1,43 mil/mm³, lin-

focitos 3,90 mil/mm³, monocitos 0,46 mil/mm³). En el frotis de sangre periférica no se observaban células blásticas ni alteraciones morfológicas en ninguna de las series.

La bioquímica revelaba una ligera elevación de la lactato deshidrogenasa (LDH) (306 U/L) y los reactantes de fase aguda (PCR: 44,5 mg/L) con velocidad de sedimentación globular (VSG) normal. La función hepática, renal y el ionograma no mostraban alteraciones.

La hemostasia básica presentaba valores en rango y las serologías realizadas al ingreso para virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC), parvovirus, citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (VEB), virus herpes y toxoplasma fueron negativas.

› Pruebas de imagen

- La radiografía de cadera solicitada revela la existencia de una lesión permeativa en ilion e isquion izquierdos compatible con masa tumoral agresiva y sugiriendo, como primera posibilidad, un sarcoma de Ewing (Figura 1).

- Se completa el estudio con una resonancia magnética que confirma los hallazgos y una tomografía por emisión de positrones-tomografía axial computarizada (PET-TAC) como estudio de extensión que descarta la presencia de otras lesiones.

› Biopsia de la lesión

Se realiza una biopsia ecoguiada de la lesión descrita. El estudio morfológico mostraba infiltración por

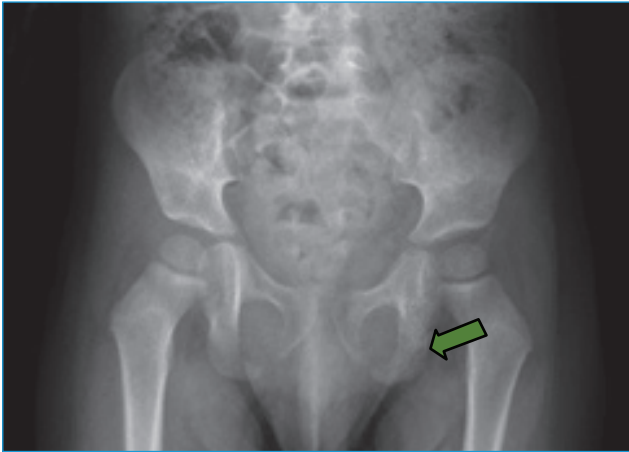


Figura 1. Imagen radiológica de la lesión permeativa en ilion e isquion izquierdos.

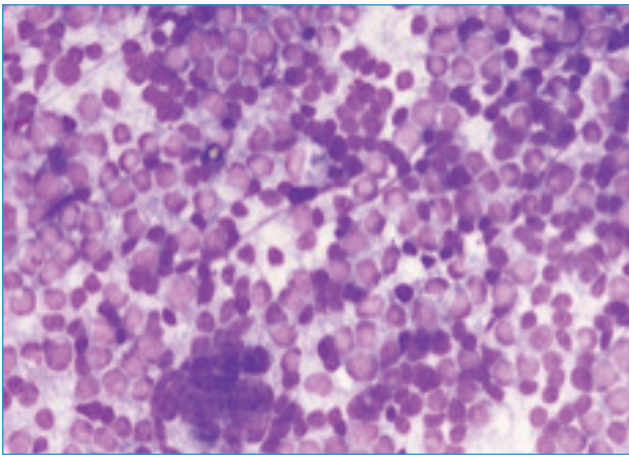


Figura 2. Impronta de la lesión pélvica (MGG 40x).

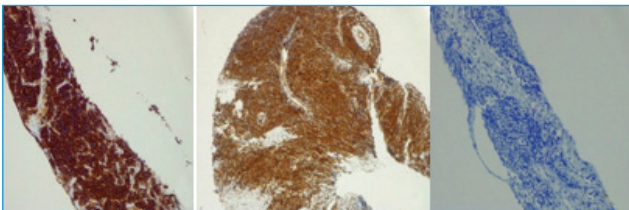


Figura 3. Estudio histológico de la lesión pélvica. Se observa positividad intensa y difusa para CD56 (izquierda) y lisozima (imagen del centro) y negatividad para MPO (derecha).

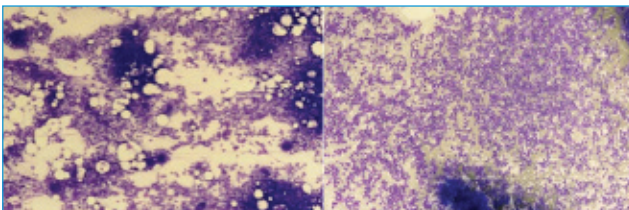


Figura 4. Infiltrado células blásticas (MGG 10x) de aspecto monomorfo, algunas con vacuolización (derecha, MGG 60x).

células de aspecto neoplásico con aumento de la actividad mitótica, sin poder filiar la estirpe de las mismas por pérdida de viabilidad celular, siendo el inmunofenotipo no concluyente. En el examen histológico se observaba (Figura 2) infiltración por células de aspecto monomorfo, de tamaño pequeño y mediano, con una elevada relación núcleo-citoplasma y un citoplasma basófilo. Las técnicas de inmunohistoquímica (Figura 3) mostraron una positividad intensa y difusa para lisozima sérica y CD56 con positividad focal para HLA-DR, CD43, WT1 y CD68, mientras que la mieloperoxidasa, los marcadores linfoides, eritroides, mesenquimales, neurogliales fueron negativos. Con estos datos, se concluyó el diagnóstico de sarcoma mielóide blástico^(1,2).

› Estudio medular

Se realizó un estudio de extensión para demostrar si existía infiltración medular, realizando en 2 días consecutivos 2 aspirados de médula ósea en crestas contralaterales.

- **Aspirado y biopsia de médula ósea** en cresta ipsilateral a la lesión (izquierda): médula ósea normocelular con abundantes grumos y aumento de megacariocitos.

- Mielograma: serie eritroblástica 39%; serie mielóide 18%; eosinófilos 2%; blastos 21%; serie linfóide 19%; células plasmáticas 1%.

- En las imágenes del estudio medular, a pequeño aumento (Figura 4), destaca la presencia de células inmaduras de tamaño pequeño-mediano similares a las observadas en la lesión pélvica, con una elevada relación núcleo-citoplasma. A mayor aumento, observamos un núcleo sin nucléolos prominentes y ausencia de granulación citoplasmática; algunas de ellas presentan vacuolización. Estas células se disponían característicamente formando nidos (Figura 5) y coexistían con hematopoyesis de aspecto normal con representación de las 3 series. En cuanto a la serie megacariocítica, se observaba coexistencia de elementos normales con micromegacariocitos. La serie linfóide se encontraba ligeramente aumentada sin presentar alteraciones morfológicas⁽³⁾.

- Se realizó un segundo aspirado medular en la cresta iliaca contralateral a la lesión tras 24 horas, observando entonces una infiltración masiva por células blásticas sin presencia apenas de hematopoyesis normal ni megacariocitos.

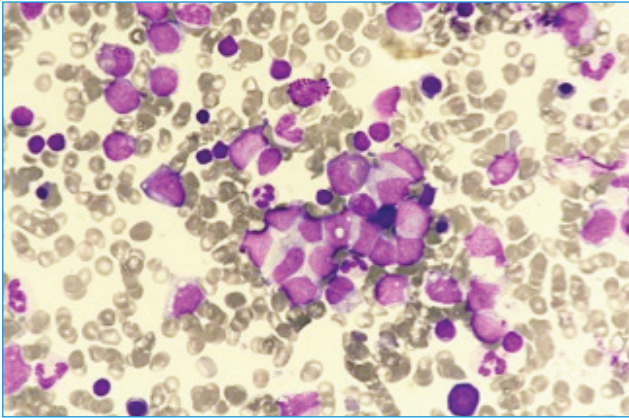


Figura 5. Presencia de células blásticas agrupadas en nidos, con hematopoyesis normal (MGG 40x).

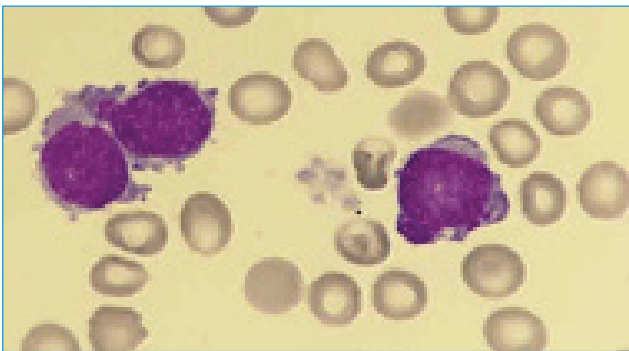


Figura 6. Megacarioblastos con sus prolongaciones citoplasmáticas características (MGG 60x).

- Mielograma: serie eritroblástica 11%; serie mieloide 2%; linfocitos 6%; blastos 86%; serie megacariocítica ausente.
- Las imágenes muestran una infiltración monomorfa en la que las células blásticas ocupan la totalidad

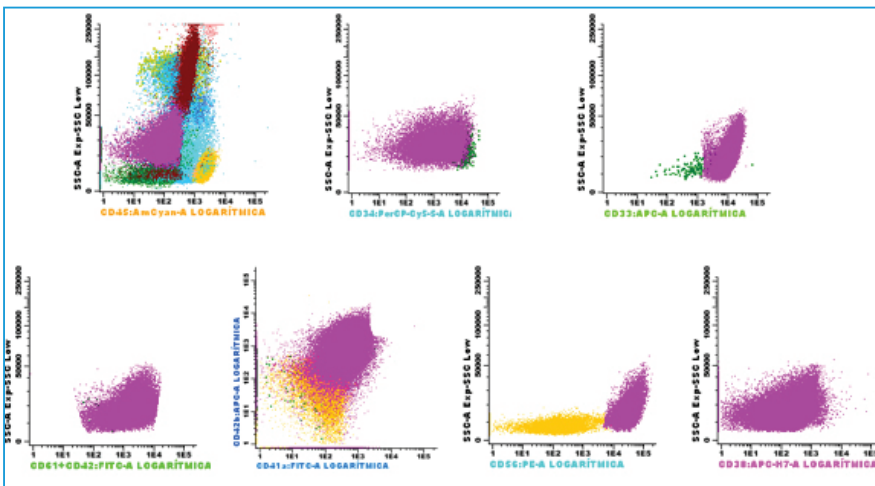


Figura 7. Caracterización inmunofenotípica de los blastos mediante el panel Euroflow LMA-SMD.

de la extensión. Se observa en las mismas de manera característica la presencia de un citoplasma agranular formando prolongaciones citoplasmáticas o *blebs* (Figura 6). Algunos blastos muestran mayor tamaño con un núcleo con la cromatina de aspecto reticulado y mayor citoplasma agranular.

– Los blastos eran negativos para mieloperoxidasa, butirato y PAS.

• El estudio por citometría de flujo (empleando el panel Euroflow LMA-SMD) mostró un 75% de células blásticas respecto a la celularidad nucleada total. Los blastos fueron negativos para CD45 con un CD34 heterogéneo y positivos para algunos marcadores mieloides como CD33 y CD13+ débil. Presentaban negatividad para marcadores de estirpe linfóide, monocítica (CD64-, CD14-), eritroide y positividad para marcadores megacariocíticos (CD61, CD41, CD42b) con un CD38+ débil y un CD56 con positividad muy intensa y homogénea (Figura 7)⁽⁴⁾.

Con estos datos obtenemos el diagnóstico de leucemia aguda megacarioblástica (M7 según la clasificación FAB), a la espera del estudio citogenético y molecular para poder completar la clasificación según la World Health Organization (WHO) 2016⁽⁵⁾.

• **Estudio citogenético:** el cariotipo convencional mostraba una delección en el brazo corto del cromosoma 5, sin otras alteraciones.

El panel de FISH para LMA (*p53*, *NUP214/DEK*, *AML1/ETO*; *MLL*, *7q-*; *CBFb/MYH11*, *EV11*) fue negativo.

En el estudio molecular tampoco se detectaron mutaciones en *NPM1*, *FLT3*, *CEBPA* ni *IDH*, sobreexpresión de *EV11* ni los reordenamientos *AML1/ETO*, *CBFb/MYH11*.

• Se realiza una secuenciación masiva de ARN de una muestra de médula ósea del paciente (RNAseq) que muestra una inversión del cromosoma 16 (p13q24) diferente a la recogida por la WHO como anomalía citogenética recurrente, cuya contrapartida molecular es el transcrito de fusión entre *CBFA2T3* y *GLIS2*, que confiere actividad antiapoptótica e hiperproliferativa a las células que lo contienen. La presencia de este transcrito de fusión fue confirmada mediante PCR.

- **Estudio histológico:** la biopsia de médula ósea confirmó los hallazgos descritos en el estudio morfológico.

› Diagnóstico definitivo

- Leucemia megacarioblástica aguda M7 según la FAB.
- Leucemia mieloblástica aguda NOS M7 según la WHO 2016.

› Evolución clínica

El paciente inicia tratamiento de inducción según el ensayo clínico *NOPHO DBH LMA 2012* con antraciclinas a altas dosis, alcanzando remisión completa post-inducción y enfermedad residual mínima positiva, tanto por citometría de flujo como por biología molecular, que persiste tras la segunda consolidación.

› Discusión

La leucemia aguda megacarioblástica (LMA-NOS, M7) es una entidad infrecuente que representa entre un 3 y un 5% del total de las LMA *de novo*. Con frecuencia se asocia a pacientes pediátricos diagnosticados de síndrome de Down, aunque puede presentarse tanto en niños como en adultos.

- **Criterios diagnósticos:** para su diagnóstico es necesario presentar igual o más de un 20% de blastos en médula ósea, de los cuales al menos un 50% debe ser de estirpe megacariocítica. Esta categoría excluye los casos asociados a síndrome de Down o a mielodisplasia, y también aquellos que presentan la t(1;22) (p13;q13), inv(3)(q21q26.2), t(3;3)(q21;q26.2), que serían clasificadas como asociadas a anomalías citogenéticas recurrentes según la WHO 2016^(5,6).

- **Presentación clínica:** la presentación clínica puede incluir lesiones líticas o escleróticas óseas, siendo infrecuente la detección de hepatoesplenomegalia. En sangre periférica es frecuente observar pancitopenia, aunque en ocasiones puede haber trombocitosis; y el grado de displasia es variable, pudiendo afectar a cualquiera de las series.

Se ha descrito, en varones jóvenes, la asociación de la leucemia aguda megacarioblástica con tumores germinales mediastínicos.

- **Morfología:** el examen del aspirado de médula ósea revela la presencia de blastos de tamaño mediano o grande, con una elevada relación núcleo-citoplasma, que suelen disponerse formando nidos, simulando una imagen de metástasis de órgano sólido. El núcleo suele presentar cromatina fina, a veces de aspecto reticulado, intuyéndose de 1 a 3 nucléolos. El citoplasma es basófilo y agranular, y se caracteriza por la presencia de prolongaciones o *blebs*. Estos blastos pueden coexistir con otros más pequeños, de aspecto linfoblástico. Las técnicas de citoquímica suelen mostrar positividad para PAS y fosfatasa ácida; y negatividad para MPO, SSB, CAE.

El grado de displasia es variable y pueden observarse micromegacariocitos, que no son contabilizados como blastos^(5,6).

Algunos pacientes pueden presentar fibrosis medular extensa, con lo que el aspirado en ocasiones es seco, siendo necesaria la biopsia medular para efectuar el diagnóstico. En estos casos el estudio histológico mostrará un aumento de blastos con un número variable de micromegacariocitos y un grado también variable de fibrosis reticulínica.

- **Inmunofenotipo:** los blastos de la LMA M7 suelen mostrar positividad para algunos marcadores mieloides como CD13, CD33 y CD36; y son característicamente negativos para CD34, CD45, HLA-DR y MPO, así como para el resto de los marcadores granulocíticos. Los marcadores linfoides son también negativos, aunque pueden presentar CD7 de manera aberrante.

El diagnóstico de la leucemia megacarioblástica se realiza tras comprobar positividad para una o más glicoproteínas plaquetarias: CD41 (glicoproteína IIb/IIIa); CD61 (glicoproteína IIIa) o CD42 (Gp Ib).

- **Citogenética:** la leucemia aguda megacarioblástica suele asociarse a cariotipos complejos. Los casos asociados a tumores germinales mediastínicos presentan con frecuencia i(12)p.

En nuestro caso, se detecta a través de RNAseq la presencia de una inversión críptica del cromosoma 16 cuya contrapartida molecular es el transcrito de fusión entre *CBFA2T3-GLIS2*, que ya había sido previamente descrito^(7,8) y se encuentra en un 30% de las LMA M7 no asociadas a síndrome de Down. Los datos publicados hasta la fecha apoyan el mal pronóstico que la presencia de esta alteración confiere, independientemente del subtipo de LMA.

› Conclusiones

- La leucemia aguda megacarioblástica no es exclusiva de la población pediátrica y puede debutar con lesiones óseas.
- El reordenamiento *CBFA2T3/GLIS2* no es exclusivo de la LMA M7 y confiere mal pronóstico.
- Es esencial realizar un diagnóstico integrado para la correcta caracterización de las neoplasias hematológicas: morfología, inmunofenotipo, citogenética, biología molecular y anatomía patológica.
- Las nuevas técnicas citogenéticas y moleculares permiten buscar nuevas alteraciones en casos dudosos.

› Bibliografía

1. Novello M, Coli A, Della Pepa GM, Martini M, Doglietto F, De Stefano V, et al. Myeloid sarcoma with megakaryoblastic differentiation mimicking a sellar tumor. *Neuropathology*. 2014 Apr;34(2):179-84.
2. Sangle NA, Schmidt RL, Patel JL, Medeiros LJ, Agarwal AM, Perkins SL, Salama ME. Optimized immunohistochemical panel to differentiate myeloid sarcoma from blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Mod Pathol*. 2014 Aug;27(8):1137-43.
3. Anton-Harisi M, Douna V, Baka M, Servitzoglou M, Kosmidis H, Georgouli H, Anastasiou T. Acute megakaryoblastic leukemia with increased hematogones in children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2012;34(8):e337-40.
4. Cetin N, Lorsbach RB. Pan myeloid antigen-negative pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Nov;61(11):2089-91.
5. Swerdlow S, Campo E. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic Tissues. Revised 4th edition. WHO; 2017. pp. 129-70.
6. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5.^a edición. AEHH/FEHH; 2006. pp. 404-12.
7. Masetti R, Pigazzi M, Togni M, Astolfi A, Indio V, Manara E, et al. CBFA2T3-GLIS2 fusion transcript is a novel common feature in pediatric, cytogenetically normal AML, not restricted to FAB M7 subtype. *Blood*. 2013 Apr 25;121(17):3469-72.
8. Masetti R, Bertuccio SN, Astolfi A, Chiarini F, Lonetti A, Indio V, et al. Hh/Gli antagonist in acute myeloid leukemia with CBFA2T3-GLIS2 fusion gene. *J Hematol Oncol*. 2017;10:26-31.