

Monocitosis y displasia en un paciente con policitemia vera

María Huguet Mas¹, Elisa Orna Montero¹, Alba Mesa Tudel¹, Gustavo Tapia Melendo², Isabel Granada Font¹, Lurdes Zamora Plana¹, Marc Sorigué Tomàs¹, Marco Antonio Fernández Sanmartín³, Blanca Xicoy Cirici¹, José Tomás Navarro Ferrando¹

¹ Servicio de Hematología. Institut Català d'Oncologia-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona; ² Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Barcelona; ³ Institut de Recerca Germans Trias i Pujol. Barcelona

› Historia clínica

Se trata de un hombre de 64 años de edad, con antecedentes de hipertensión arterial y policitemia vera (PV) diagnosticada en julio de 2013 al objetivarse poliglobulia en una analítica rutinaria. Al diagnóstico presentaba la mutación *JAK2* V617F con una ratio de 34,13 (estudio cuantitativo por reacción en cadena de la polimerasa -PCR-). En cuanto al estudio medular, se objetivó un aumento de la serie eritroide sin otras alteraciones y el cariotipo era normal. En la biopsia se descartó la presencia de fibrosis.

Inicialmente, realizó tratamiento con flebotomías periódicas, con buen control clínico, hasta mayo de 2016, cuando apareció leucocitosis y trombocitosis, por lo que se decidió iniciar tratamiento con hidroxiurea. El paciente mantuvo un hemograma con recuentos celulares dentro de la normalidad hasta septiembre de 2019.

› Motivo de consulta

En septiembre de 2019 el paciente consultó por astenia de unas semanas de evolución. En el hemograma se detectó pancitopenia.

› Exploración física

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 1. No se palparon adenopatías periféricas ni visceromegalias. Auscultación cardiaca y pulmonar sin alteraciones.

› Pruebas complementarias

• **Hemograma:** leucocitos de $1,80 \times 10^9/L$ (neutrófilos 12%, linfocitos 40%, monocitos 38%, metamielocitos 2%, mielocitos 1%, blastos 7%), hemoglobina de 86 g/L, volumen corpuscular medio (VCM) de 102,7 fL, plaquetas de $76 \times 10^9/L$.

• **Frotis de sangre periférica (Figura 1):** anisopoi-quilocitosis marcada, con presencia de dacriocitos. Se observaban formas con punteado basófilo y anillos de Cabot. Presencia de 13 eritroblastos por cada 100 leucocitos. Desgranulación intensa de los polimorfonucleares neutrófilos, con hiposegmentación de los núcleos y cromatina en grumos (*clumping*).

• **Eritropatología:** ferritina de 265 ng/mL, transferrina de 135 mg/dL, haptoglobina de 165 mg/dL, ácido fólico de 5,9 ng/mL y cobalamina de 505 pg/mL.

• **Bioquímica:** sin alteraciones.

• **Estudio por PCR cuantitativa de la mutación puntual de *JAK2* V617F en sangre periférica:** 84,55.

• **Mielograma (Figura 2):** celularidad global abundante. La serie eritroide estaba en proporción aumentada (44%), con rasgos megaloblásticos marcados,

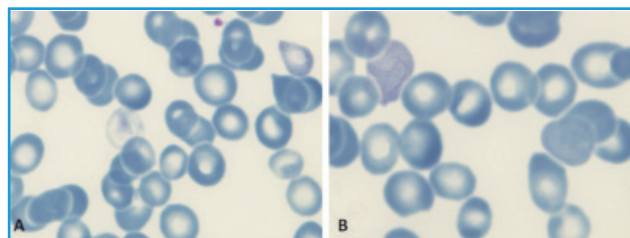


Figura 1. Extensión de sangre periférica correspondiente al momento en que se detectó la pancitopenia. May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$ (A) y $\times 1.000$ (B). Anisopoi-quilocitosis, con presencia de dacriocitos. Formas con punteado basófilo y anillos de Cabot.

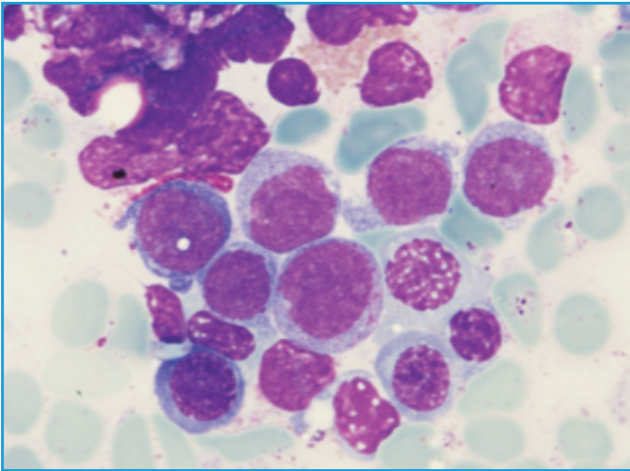


Figura 2. Aspirado de médula ósea realizado para el estudio de la pancitopenia. May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$.

núcleos irregulares y fenómenos de cariorrexis, alteración de la hemoglobinización y punteado basófilo. La serie granulopoyética estaba disminuida (31%), con escasas formas maduras que presentaban núcleos hiposegmentados y el citoplasma muy desgranulado. Se evidenció la presencia de eosinofilia y basofilia, así como monocitosis del 7%. Además, se observaba un 6% de promonocitos y una población de blastos del 5%. Los megacariocitos estaban en cantidad disminuida, con algunos elementos con el núcleo hipolobulado.

- **Inmunofenotipo:** destacaba la ausencia de serie granulocítica. Se observaba una población de fenotipo inmaduro que expresaba CD34, CD117, DR, CD33, CD13, CD4 y CD11b, representando el 5% de la celularidad medular. La celularidad restante estaba constituida por monocitos maduros que expresaban CD56.

- **Citogenética (Figura 3):** cariotipo 43,XY,-5,-7,der(9)t(9;17)(q11;q11.2),-17[19]/46,XY[1]. De las 20 metafases analizadas, 19 presentaban un cariotipo hipodiploide, complejo y monosómico. Las anomalías observadas eran monosomías de los cromosomas 5, 7 y 17 más un cromosoma 9 derivado de una translocación desequilibrada entre 9q11 y 17q11.2. En el estudio de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) TP53/CEP17: nuc ish(TP53,CEP17)x1 [61/100], se confirmó la delección del gen TP53.

- **Biología molecular:** estudio con panel de *next generation sequencing* (NGS) (Figura 4) en el que se identificaron, además de la mutación JAK2 V617F, 3 mutaciones *no-driver*: ASXL1, TP53 y TET2. Las 4 mutaciones presentaban una VAF (*variant allele frequency*) significativa.

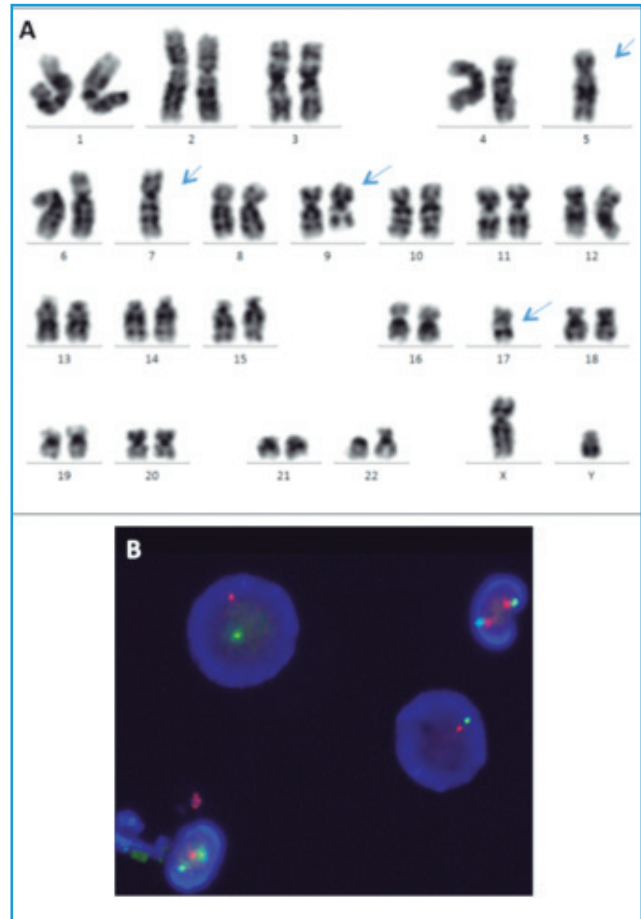


Figura 3. A: cariotipo en la muestra obtenida de la médula ósea: 43,XY,-5,-7,der(9)t(9;17)(q11;q11.2),-17[19]/46,XY[1]; B: estudio de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) TP53/CEP17: el gen TP53 se encuentra localizado en 17p13 (marcado con la señal roja) y CEP17 se encuentra en el centrómero del cromosoma 17 (señal verde). Se observa pérdida de una señal para el gen TP53 (en rojo), confirmando la delección de TP53. La pérdida de una señal para el centrómero del cromosoma 17 (en verde) puede explicarse por la translocación desequilibrada entre 9q11 y 17q11.

Ante estos hallazgos, se decidió suspender el tratamiento con hidroxiurea para valorar qué papel podía tener en relación con la mielodisplasia observada. Se realizó seguimiento semanal del paciente, observándose en el hemograma un aumento progresivo de la cifra de leucocitos, por lo que a los 30 días se realizó un nuevo estudio de la enfermedad:

- **Hemograma:** leucocitos de $28,90 \times 10^9/L$ (neutrófilos 41%, linfocitos 8%, monocitos 28%, metamielocitos 2%, mielocitos 17%, blastos 4%), hemoglobina de 96 g/L, VCM de 99,6 fL, plaquetas de $364 \times 10^9/L$.

Classification*	Gene	Chr.	Exon	c.DNA	Protein	Total readings	VAF 2019 (%)	VAF 2013 (%)
Class 1	<i>JAK2</i>	9	14	c.1849G>T	p.(Val617Phe)	5233	91.71	43.68
Class 1	<i>ASXL1</i>	20	13	c.1934dupG	p.(Gly646Trpfs*12)	6563	35.91	10.44
Class 1	<i>TP53</i>	17	5	c.523C>G	p.(Arg175Gly)	3325	82.41	13.18
Class 3B	<i>TET2</i>	4	3	c.1285G>A	p.(Gly429Arg)	5582	50.21	46.96

Figura 4. Variantes detectadas en el panel de *next generation sequencing* (NGS). * Clasificación de las variantes:

- **Clase 1:** ha sido establecida como variante patogénica en hemopatías mieloides y altera un gen accionable.
- **Clase 2:** ha sido establecida como variante patogénica en tumores sólidos o hemopatías no mieloides y altera un gen accionable.
- **Clase 3:** variante no descrita previamente como un gen objetivo en las hemopatías mieloides. Afecta a un gen accionable y lo clasifica como:
 - **Clase 3A:** presumiblemente patogénica.
 - **Clase 3B:** significado incierto.
 - **Clase 3C:** presumiblemente benigna.

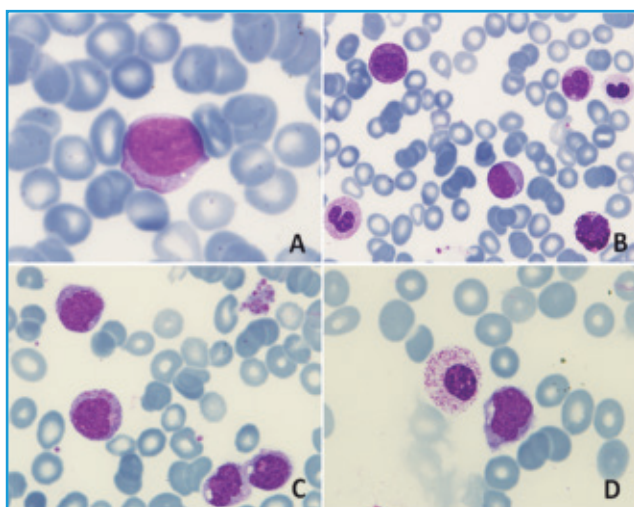


Figura 5. Extensión de sangre periférica. May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$. A: blasto; B: rasgos displásicos marcados en la serie granulocítica. Mielemia. Promonocito; C: monocitosis; D: monocito y neutrófilo con núcleo hiposegmentado y cromatina de tipo *clumping*.

- **Frotis de sangre periférica (Figura 5):** marcada anisopoiquilocitosis, con presencia de dacriocitos y hematíes con punteado basófilo y anillos de Cabot. Presencia de 6 eritroblastos/100 leucocitos. Neutrófilos hipogranulados, con núcleos hiposegmentados y con la cromatina hipercondensada de tipo *clumping*.

- **Bioquímica:** LDH de 747 U/L (valores normales entre 135 y 245 U/L). El resto de los parámetros estaban dentro de la normalidad.

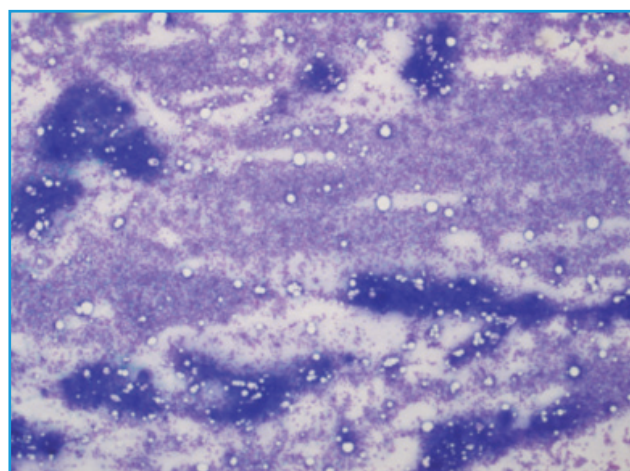


Figura 6. Médula ósea. May-Grünwald-Giemsa $\times 40$. Médula ósea con celularidad global aumentada.

- **Inmunofenotipo en sangre periférica:** un 95,16% de la población de monocitos era CD14⁺/CD16⁻ (fenotipo clásico), lo que sugería el diagnóstico de leucemia mielomonocítica crónica (LMMC)⁽¹⁾. Se observó una población de blastos del 7% de fenotipo mieloide.

- **Mielograma (Figuras 6 a 9):** médula hipercelular con disminución de la grasa. Cantidad aumentada de la serie eritroide (38%), con rasgos de diseritropoyesis en el 72% de las células. Serie granulopoyética en cantidad disminuida (35%), con predominio de las formas inmaduras. En los elementos maduros se observaba displasia en el 90% de las células, con marcada

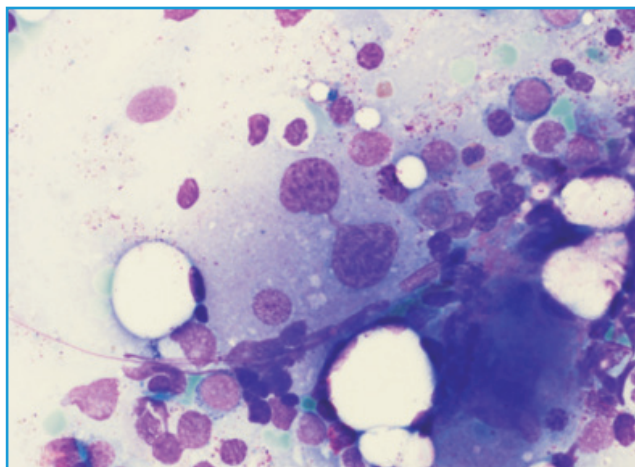


Figura 7. Médula ósea. May-Grünwald-Giemsa $\times 500$. Megacariocito hipolobulado con núcleos dispersos.

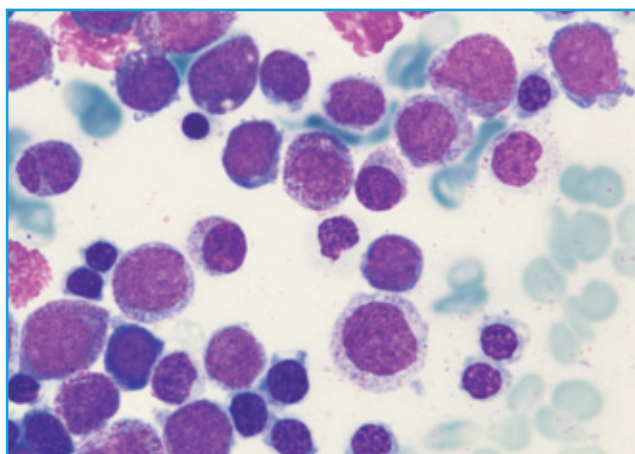


Figura 8. Médula ósea. May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$. Monocitosis, presencia de blastos y promonocitos. Rasgos displásicos de la serie eritroide y granulocítica.

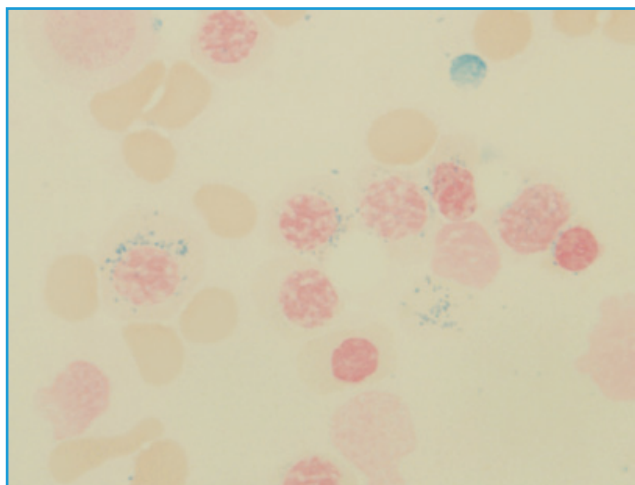


Figura 9. Médula ósea. Perls $\times 1.000$. Sideroblastos en anillo.

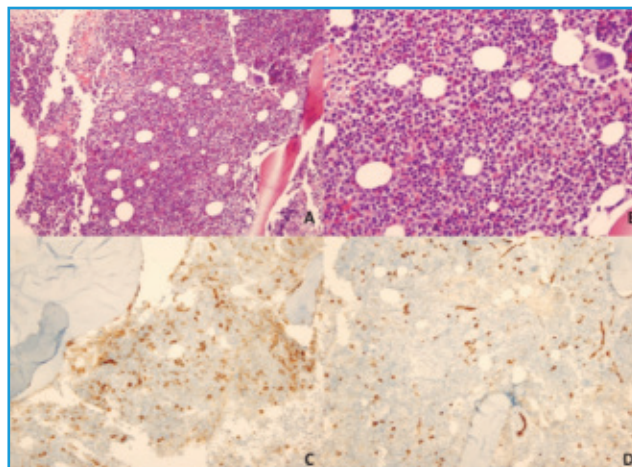


Figura 10. Médula ósea. A: hematoxilina-eosina $\times 100$; B: hematoxilina-eosina $\times 200$. Médula ósea hiper celular, con algunos megacariocitos atípicos; C: expresión de CD14 $\times 200$; D: expresión de CD34 $\times 200$.

hipogranulación e hiposegmentación de los núcleos con formas de tipo Pelger. Se observaba un 9% de monocitos, un 5% de promonocitos y una población de blastos del 6%. Además, se cuantificó un 30% de dismegacariopoyesis, con algunos megacariocitos grandes y con núcleos dispersos y otros pequeños con los núcleos monolobulados. En la tinción de Perls se observaba un hierro macrofágico disminuido, con un 65% de sideroblastos en anillo.

- **Inmunofenotipo:** estudio sin cambios significativos con respecto al anterior, a excepción de un aumento de la celularidad granulocítica. Los blastos tenían el mismo fenotipo mielode descrito en el estudio previo.
- **Citogenética:** sin cambios respecto al estudio previo.

• **Biopsia de médula ósea (Figura 10):** médula ósea hiper celular, con predominio de la serie eritroide y serie granulopoyética algo disminuida con abundantes eosinófilos. Megacariocitos abundantes, algunos de ellos con rasgos displásicos (pequeño tamaño y núcleo hipolobulado). Células blásticas CD34 positivas que representan entre el 5 y el 10% de la celularidad medular global.

Teniendo en cuenta que en el estudio de NGS se encontraron 3 mutaciones *no-driver*, 2 de las cuales representan un peor pronóstico en numerosas neoplasias mieloides, nos resultó interesante averiguar si estas mutaciones estaban ya presentes en el momento del diagnóstico de la PV 6 años atrás. Es por eso que

se realizó un estudio de NGS de forma retrospectiva y, sorprendentemente, las 3 mutaciones ya estaban presentes al diagnóstico con una VAF menor (Figura 4).

› Diagnóstico

Para intentar confirmar la hipótesis de que la LMMC se trataba de una transformación de la PV *JAK2V617* positiva se aislaron las células *CD14⁺/CD16⁻* (monocitos de fenotipo clásico, aumentados en la LMMC) de la sangre periférica a través de *cell sorting* (BD FACSAria® II) y se confirmó por método Sanger la presencia en ellos de las mutaciones *JAK2V617F* y *ASXL1* (ya presentes en el diagnóstico de la PV).

Finalmente, el paciente se diagnosticó de **PV en progresión con fenotipo de LMMC de tipo 2-like**, según la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽²⁾.

› Evolución

Dado que las alteraciones genéticas encontradas confieren un mal pronóstico, se decidió que el paciente era tributario de quimioterapia intensiva seguida de alotrasplante de progenitores hematopoyéticos. Antes de iniciar el tratamiento y solamente 6 semanas después del diagnóstico, se detectó la progresión a leucemia aguda mieloide. Finalmente, el paciente recibió tratamiento quimioterápico con venetoclax-azacitidina y, un mes después, falleció a causa de insuficiencia respiratoria sin aislamiento microbiológico.

› Discusión

La PV es una neoplasia mieloproliferativa que se caracteriza por la hiperplasia de la serie roja y la presencia de la mutación *JAK2V617F*. La mediana de supervivencia en los pacientes es, aproximadamente, de 14 años, llegando a ser de hasta 24 años en aquellos pacientes menores de 60 años⁽³⁾. Las principales complicaciones relacionadas con la PV con repercusión sobre la supervivencia son los eventos trombohemorrágicos y la progresión de la enfermedad a mielofibrosis o a una leucemia aguda mieloide, con una incidencia de esta última del 5,5-18,7% a los 15 años⁽⁴⁾. Muchas veces la progresión de la enfermedad a fase

blástica se asocia con la aparición de mielodisplasia y la adquisición de alteraciones genéticas^(4,5).

Si analizamos la evolución que ha seguido la PV en este caso, observamos que a lo largo de 6 años ha adquirido varios cambios que le confieren una mayor agresividad y determinan una progresión de la enfermedad. Por lo que respecta a la citología, destaca la aparición de rasgos displásicos muy llamativos en las 3 series hematopoyéticas. Se ha objetivado que la aparición de diseritropoyesis, en general, y de sideroblastos en anillo, en concreto, en pacientes con PV son marcadores de progresión a fase blástica⁽⁶⁾. Por otro lado, el cariotipo normal inicial ha evolucionado a un cariotipo complejo, con adquisición de la delección de *TP53*. Aunque solo un 20% de los pacientes con PV presentan anomalías citogenéticas en el momento del diagnóstico⁽⁶⁾, se conoce que los pacientes pueden ir adquiriendo cambios en el cariotipo con buena correlación con el curso de la enfermedad⁽⁵⁾. Numerosos estudios asocian la adquisición de un cariotipo complejo a un mayor riesgo de progresión de la PV a fase blástica^(4,6), como habría ocurrido en nuestro caso.

En cuanto a la biología molecular, en estudios retrospectivos se ha objetivado que aproximadamente un 30% de los casos de PV *JAK2* positiva presentan mutaciones *no-driver* concomitantes en el momento del diagnóstico, siendo las más frecuentes *TET2* y *ASXL1*⁽⁷⁾. La presencia de las mutaciones de *ASXL1*, *SRSF2* e *IDH2* se ha asociado a una menor supervivencia global y a mayor riesgo de progresión a fibrosis o a leucemia aguda^(7,8). Por su parte, aunque la mutación de *TP53* solo se observa en un 1% de los pacientes con PV en fase crónica^(7,9), se detecta en aproximadamente un 45% de los casos de leucemia aguda post-PV^(6,8,9). En el caso descrito, 3 de las 3 mutaciones *no-driver* se han descrito como de mal pronóstico en numerosas patologías mieloides. Curiosamente, la evolución de la PV a fenotipo LMMC-like -y la posterior progresión a leucemia aguda- va asociada a un aumento significativo de la VAF de todas las mutaciones, incluidas las de mal pronóstico. Estos hallazgos sugieren que las técnicas de NGS podrían tener un papel clave en el estudio de neoplasias mieloproliferativas, ya que podrían identificar subgrupos de pacientes con mayor riesgo de evolución a leucemia. De hecho, un estudio recientemente publicado por Tefferi *et al.* apunta la posibilidad de incluir los análisis genéticos en nuevos scores pronósticos en las neoplasias mieloproliferativas⁽¹⁰⁾.

Así como la evolución a leucemia aguda ha sido ampliamente descrita como complicación en las neoplasias mieloproliferativas, la progresión a LMMC parece ser mucho más infrecuente. Según la OMS, los casos de LMMC que provienen de un síndrome mielodisplásico o síndrome mieloproliferativo previo no pueden ser diagnosticados como tal, ya que son una forma de progresión de la enfermedad de base^(2,11,12). Así pues, nuestro caso debe ser considerado como una PV con progresión a fenotipo LMMC-like. En la literatura se encuentran pocos casos descritos. En el trabajo publicado por Holcombe *et al.* en 1991 se reportan 2 casos similares, pero en ese momento no se disponía de análisis genético⁽¹³⁾. Recientemente, ha sido publicado por Andrei *et al.* un caso de PV con transformación a LMMC y adquisición de mutaciones *no-driver*⁽¹⁴⁾. En este caso, confirman que la población CD14⁺ es portadora de la mutación JAK2 V617F, por lo que extraen la conclusión de que la población clonal de LMMC proviene de la clona de PV⁽¹⁴⁾. Por otra parte, la mutación JAK2 V617F se observa en un 7,8% de las LMMC *de novo*⁽¹⁴⁾, especialmente en las de subtipo proliferativo.

Una monocitosis absoluta no siempre implica el diagnóstico de LMMC; de hecho, puede verse en condiciones benignas reactivas o asociada a otras enfermedades hematológicas⁽¹⁵⁾. Se ha observado que en algunos casos de neoplasias mieloproliferativas es relativamente frecuente la presencia de una monocitosis no-clonal acompañante⁽¹⁵⁾. En el caso de la mielofibrosis primaria, se ha objetivado que la presencia de monocitosis se asocia a la progresión de la enfermedad a una fase acelerada⁽¹²⁾. Barraco *et al.* apunta que la incidencia de monocitosis en pacientes con PV puede ser de alrededor del 21%⁽¹⁵⁾ y, además, sugiere que los pacientes con monocitosis configuran un subgrupo de pacientes con características similares: mayor edad (> 60 años) y mayor frecuencia de mutaciones *no-driver* (especialmente *TET2* y *SRSF2*)⁽¹⁵⁾. Se detecta también una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de monocitosis y una menor supervivencia global⁽¹⁵⁾. Concluye, por tanto, que la presencia de monocitosis en la PV podría sugerir que se trate de una enfermedad biológicamente más agresiva, con características del espectro de la LMMC⁽¹⁵⁾.

En resumen, presentamos un caso infrecuente de PV en progresión con fenotipo de LMMC de tipo 2-like, objetivando que las 2 poblaciones presentan las mis-

mas alteraciones genéticas (demostrando así un origen común). El carácter agresivo de la enfermedad y la evolución fatal posterior sugieren que, como en la mielofibrosis primaria⁽¹²⁾, la aparición de monocitosis en los pacientes con PV puede ser signo de progresión de la enfermedad. Además, este caso pone de manifiesto el papel de las técnicas NGS en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas y plantea la introducción de determinadas alteraciones genéticas en nuevos scores pronósticos.

► Para recordar

- Si bien la evolución de PV a leucemia aguda mieloide es ampliamente conocida, la progresión a fenotipo de LMMC-like es poco común.
- Recientes estudios apuntan que en la PV existe una asociación estadísticamente significativa entre la aparición de monocitosis y una menor supervivencia. La monocitosis, por tanto, podría considerarse un marcador de agresividad.
- Las técnicas de NGS pueden llegar a tener un papel crucial en el diagnóstico y el seguimiento de las neoplasias mieloproliferativas, ya que determinar la presencia de determinadas mutaciones *no-driver* puede ayudar a identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de transformación a fase blástica.

► Bibliografía

1. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V, Bardet V, Itzyksin R, Bencheikh L, et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2015;125:3618-26.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. p. 82.
3. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2019;94:133-43.
4. Cerquozzi S, Tefferi A. Blast transformation and fibrotic progression in polycythemia vera and essential thrombocythemia: a literature review of incidence and risk factors. *Blood Cancer J*. 2015;5:e366.
5. Tang G, Hidalgo López JE, Wang Sa, Hu S, Ma J, Pierce S, et al. Characteristics and clinical significance of cytogenetic abnormalities in polycythemia vera. *Haematologica*. 2017;102:1511-8.
6. Hidalgo-López JE, Kanagal-Shamanna R, Reyes S, Zhao C, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE. Ring sideroblasts in chronic phase of polycythemia vera

- identifies a subset of patients with an increased risk of progression to blast phase. *Ann Diagn Pathol*. 2019;40:45-8.
7. Tefferi A, Lasho TL, Guglielmelli P, Finke CM, Rotunno G, Elala Y, et al. Targeted deep sequencing in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Adv*. 2016;1:21-30.
 8. Yogarajah M, Tefferi A. Leukemic transformation in myeloproliferative neoplasms: a literature review on risk, characteristics and outcome. *Mayo Clin Proc*. 2017;92:1118-28.
 9. Hidalgo-López JE, Carballo-Zárate A, Verstovsek S, Wang SA, Hu S, Li S, et al. Bone marrow findings in blast phase of polycythemia vera. *Ann Hematol*. 2018;97:425-34.
 10. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Coltro G, Kinke CM, Loscocco GG, et al. Mutation-enhanced international prognostic systems for essential thrombocythaemia and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. 2020;189(2):291-302.
 11. Wang SA, Galili N, Cerny J, Sechman E, Chen SS, Loew J, et al. Chronic myelomonocytic leukemia evolving from preexisting myelodysplasia shares many features with de novo disease. *Am J Clin Pathol*. 2006;126(5):789-97.
 12. Boiocchi L, Espinal-Witter R, Geyer JT. Development of monocytosis in patients with primary myelofibrosis indicates an accelerated phase of the disease. *Mod Pathol*. 2013;26:204-12.
 13. Holcombe RF, Treseler PA, Rosenthal DS. Chronic myelomonocytic leukemia transformation in polycythemia vera. *Leukemia*. 1991;5:606-10.
 14. Andrei M, Pandey A, Avezbakiev B, Wang JC. Chronic myelomonocytic leukemia as a transformation from polycythemia vera. *Leuk Res Rep*. 2019;11:14-6.
 15. Barraco D, Cerquozzi S, Gangat N, Patnaik MM, Lasho T, Finke C, et al. Monocytosis in polycythemia vera: clinical and molecular correlates. *Am J Hematol*. 2017;92:640-5.