

Leucocitosis y cuadro constitucional en paciente diagnosticado de sarcoidosis

J. Díez Pastor¹, M. Ortiz Pareja¹, C. Ruiz Nuño¹, E. Prieto Sánchez², A. González Fernández³, M.I. Muñoz Pérez¹, J.J. Duarte Díaz⁴, J.A. Orfeo de Matos Correia e Vale⁵, A.I. Heiniger Mazo^{1,3}

¹ Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario (HRU). Málaga;

² UGC de Anatomía Patológica. HRU. Málaga; ³ UGC de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario (HCU). Málaga; ⁴ Laboratorio Gen Estudios Genéticos. Málaga; ⁵ Centro de Investigación del Cáncer (Universidad de Salamanca-CSIC)

Motivo de consulta

Astenia y pérdida de peso.

Antecedentes personales

Se trata de un varón de 58 años, exfumador de 40 paquetes/año y bebedor ocasional de alcohol, con antecedentes médicos de hipertensión arterial, diabetes mellitus de tipo 2, insuficiencia renal crónica, esófago de Barret y episodio de pancreatitis aguda biliar. Diagnosticado de sarcoidosis esplénica y ganglionar en 2012, en tratamiento esteroideo por este motivo hasta 10 meses antes.

Enfermedad actual

Acude a urgencias por astenia, hiporexia y dolor de miembros inferiores de unos 2 meses de evolución, junto con sudoración nocturna y pérdida de aproximadamente 10 kg de peso en los últimos 4 meses.

Exploración física

Regular estado general, bien hidratado y perfundido. Adenopatías palpables cervicales y supraclaviculares bilaterales. Auscultación cardíaca sin hallazgos, auscultación respiratoria con hipofonesis generalizada, más pronunciada en hemicampo derecho. Abdomen blando y depresible, con hepatomegalia de 2 traveses y esplenomegalia palpable homogénea. Dudosa parálisis facial central izquierda a la exploración neurológica, sin otros hallazgos.

Pruebas analíticas

• Hemograma. Hb: 137 g/L; VCM: 91,6 fL; HCM: 36,6 pg; leucocitos: $196 \times 10^9/L$ (19% neutrófilos, 19% linfocitos, 2% monocitos, células LUC 60%); plaquetas: $112 \times 10^9/L$.

• Bioquímica y serología. Glucosa: 133 mg/dL; creatinina: 2,28 mg/dL; LDH: 3.960 U/L; triglicéridos: 449 mg/dL; aspartato transaminasa: 110 U/L; gamma glutamil-transferasa: 483 U/L; fosfatasa alcalina: 643 U/L; bilirrubina total: 1,53 ng/dL. VHB, VHC y VIH negativas. VEB y CMV (IgG positiva e IgM negativa).

Pruebas de imagen

• Tomografía computarizada (TC) toracoabdominal: esplenomegalia de 21 cm y hepatomegalia de densidad homogénea. Derrame pleural bilateral de predominio derecho con colapso del pulmón subyacente. Líquido libre perihepático, periesplénico y en pelvis menor. Adenopatías supradiaphragmáticas (supraclaviculares, cervicales posteriores, axilares, mediastínicas, hiliares) e infradiaphragmáticas (conglomerados adenopáticos en hilio hepático, hilio esplénico, mesentéricas, retroperitoneales, pélvicas e inguinales bilaterales) de tamaño patológico.

Pruebas hematológicas e histológicas

• Frotis de sangre periférica: presencia de infiltración masiva de células de aspecto blástico, de mediano a gran tamaño. Las más pequeñas con escaso citoplasma y núcleo de aspecto convoluto. Otras de mayor tamaño con núcleos grandes e irregulares, varios excéntricos y de forma arriñonada. Se observan nucleolos en algunos elementos (Figuras 1 a 3).

• Mielograma y citoquímica: aspirado medular hiper celular, con serie megacariocítica discretamente descendida en número y relación mieloeitroide 1:1 sin displasias relevantes en ninguna de las 3 series hematopoyéticas. Población de aspecto blástico en el 65% del total celular, de mediano a gran tamaño, citoplasma basófilo agranulado en su mayoría. Núcleos pleomórficos e irregulares, desde convolutos, en hachazo e incluso divididos. A veces ocupan gran parte del citoplasma y en otras células se disponen de

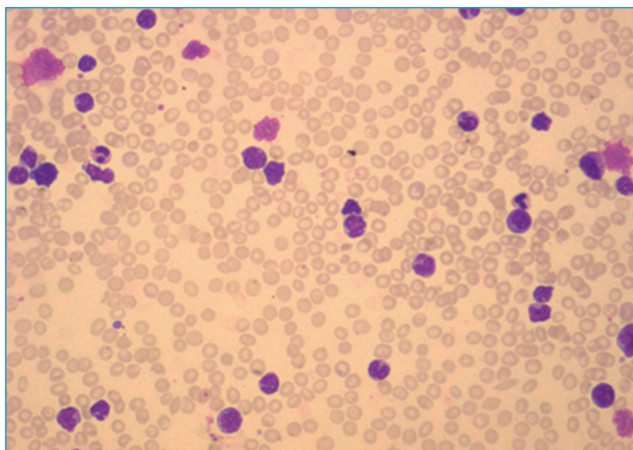


Figura 1. Sangre periférica: infiltración por células blásticas de diferentes tamaños (MGG × 20).

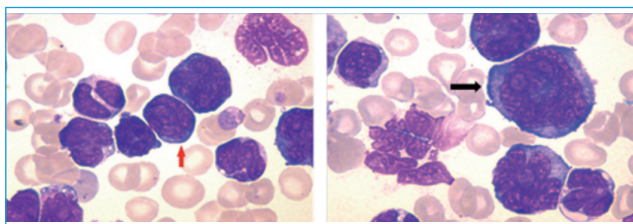


Figura 2. Sangre periférica: pleomorfismo celular. Varias células de escaso citoplasma y núcleo de aspecto convoluto (flecha roja). Núcleos abigarrados nucleolados (flecha negra) (MGG × 100).

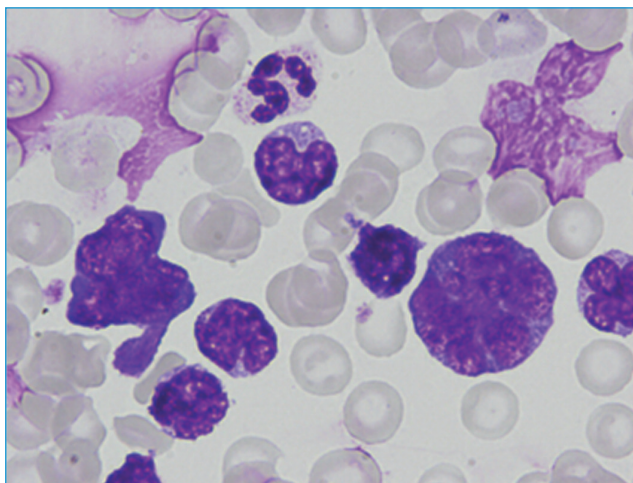


Figura 3. Sangre periférica: células de gran tamaño con núcleos grandes e irregulares (MGG × 100).

forma excéntrica y arriñonada. Nucleolos existentes, pero no constantes. Se aprecia algún elemento en pétalo de flor. Abundantes figuras mitóticas (Figuras 4 a 7). Mieloperoxidasa negativa en la población blástica (Figura 8), PAS positividad en gran parte de la población blástica (Figura 9) y negatividad para la butirato esterasa (Figura 10).

- Citometría de flujo y cuantificación de ADN: células patológicas con FSC/SSC grande, positivas para

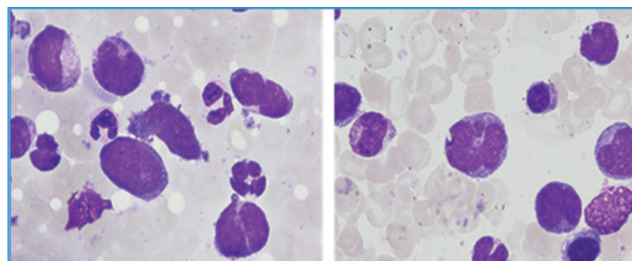


Figura 4. Aspirado de médula ósea: células de mediano tamaño y citoplasma basófilo. Núcleos irregulares, algunos divididos (MGG × 100).

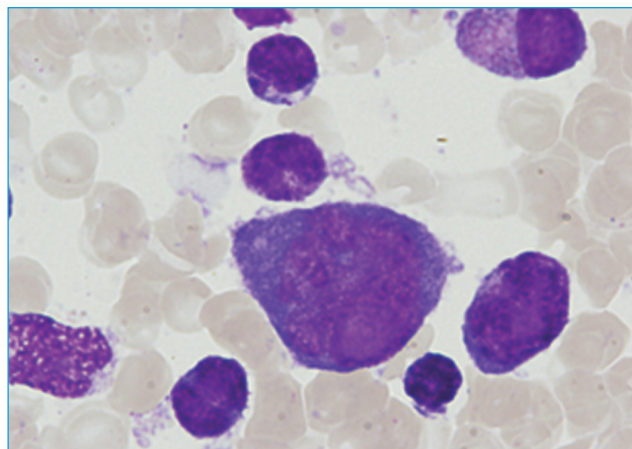


Figura 5. Aspirado de médula ósea: gran célula con núcleo en pétalos de flor (MGG × 100).

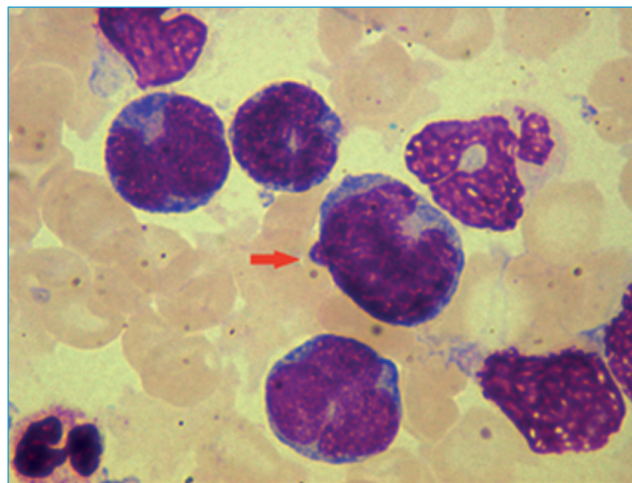


Figura 6. Aspirado de médula ósea: célula con núcleo excéntrico con forma reniforme (MGG × 100).

CD2++, HLADR+ heterogéneo, CD71d, CD45++, CyGranzima++, CD30 dudoso. Negativas para CD34, cyMPO, CD13, CD33, CD117, CD36, CD45RA, CD62L, CD64, CD304, CD19, CD22, cyCD79a, CD3, CD5, CD7, cyCD3, CD56, CD94 (Figura 11). Contenido de ADN aneuploide (índice de ADN 1,15) con una tasa proliferativa alta (S+G2/M de 18%).

- Biopsia de médula ósea y clonalidad T: infiltración intersticial y nodular por células de gran tamaño, con

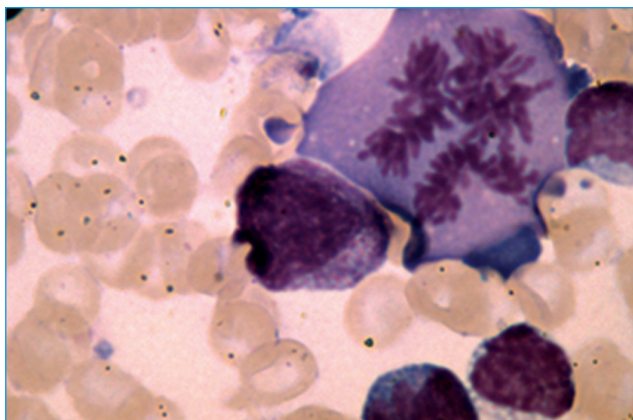


Figura 7. Aspirado de médula ósea: abundantes figuras mitóticas (MGG × 100).

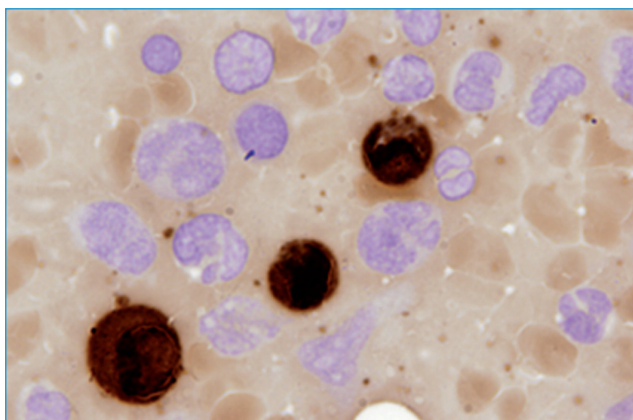


Figura 8. Aspirado de médula ósea: blastos mieloperoxidasa negativos.

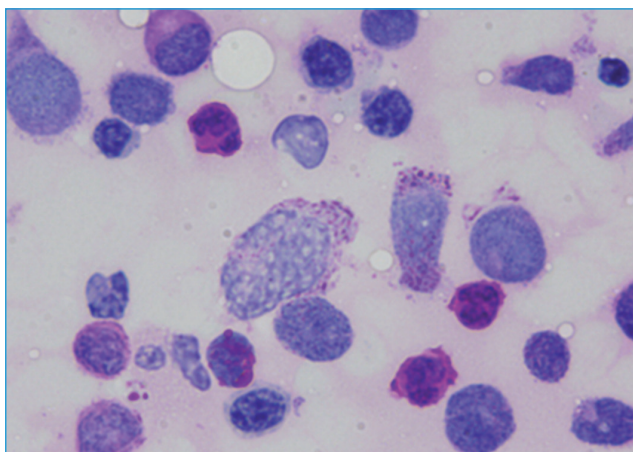


Figura 9. Aspirado de médula ósea: PAS positividad en elementos blásticos.

citoplasmas amplios y núcleos irregulares, algunos de ellos de forma arriñonada, nucleolos y eosinofilia perinuclear. Frecuentes figuras de mitosis y abundantes eosinófilos acompañantes (Figuras 12 y 13). Con técnicas de inmunohistoquímica eran positivas para CD45, CD45ro, CD3 (de forma débil) y CD30, siendo negativos CD7, CD20, CD3, CD23, CD21, ALK, entre otros (Figura 14). Se estudió la clonalidad T en médula ósea mediante técnica de reordenamiento del gen del

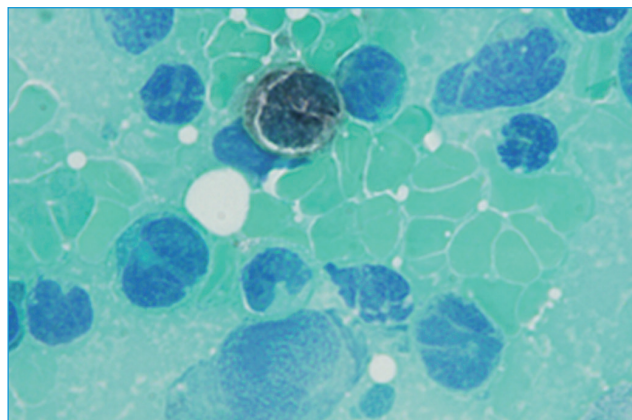


Figura 10. Aspirado de médula ósea: blastos butirato esterasa negativos.

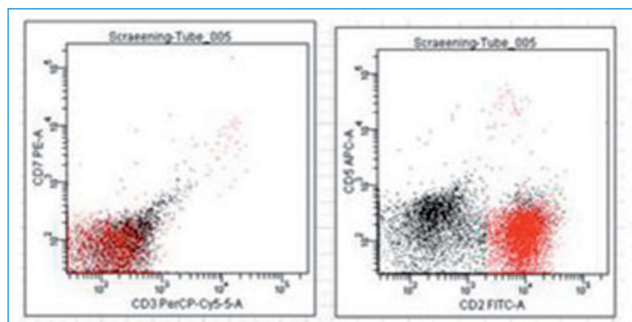


Figura 11. Citometría de flujo: positividad para CD2 con negatividad para CD7, CD3m y CD5.

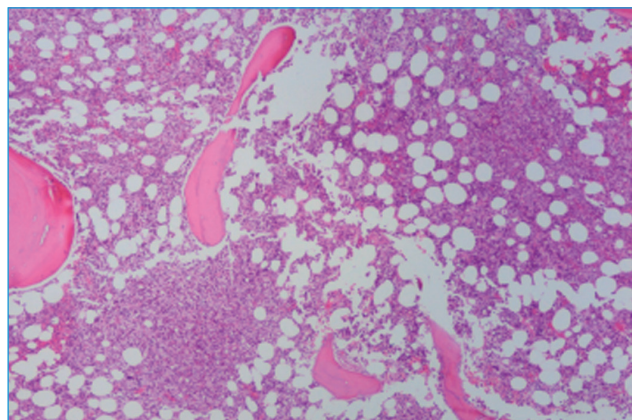


Figura 12. Biopsia de médula ósea: hipercelular y existencia de nódulos constituidos de grandes células atípicas (HE × 10).

receptor de linfocitos T (TCR), confirmándose la existencia de una población clonal T (Figura 15).

• Citogenética convencional en médula ósea (Figuras 16 y 17):

- 45,X,-Y,add(1)(p36),+2,iç(8)(q10),add(12)(p13),-16,del(17)(p12),-18,+19,19(pç)[9].
- 47,X,-Y,dup(1)(q32),+2,del(2)(q33),+7,add(7)(p32),iç(8)(q10),-10,add(12)(p13),14(qç),del(16)(q22),add(17)(p13),19(pç),+21[11].

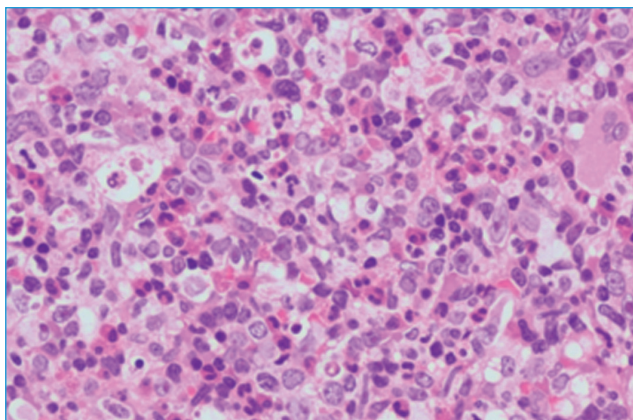


Figura 13. Biopsia de médula ósea: a mayor aumento se pueden observar los grandes núcleos de contorno irregular con nucleolos marcados y abundantes eosinófilos (HE x 40).

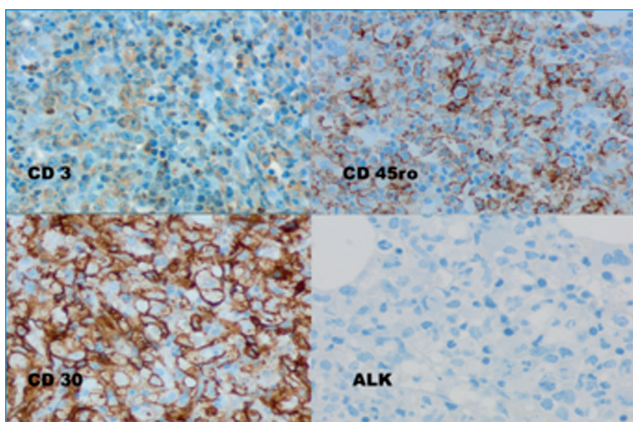


Figura 14. Inmunohistoquímica en biopsia de médula ósea: CD3+, CD45ro+, CD30+ y ALK negativa.



Figura 15. Estudio de reordenamiento del gen TCR por PCR: electroforesis en gel de acrilamida. Beta globina: control de calidad del ADN; C+: control positivo; C-: control negativo. Se confirma la existencia de población clonal T en ganglio (2012) y en médula (2015).

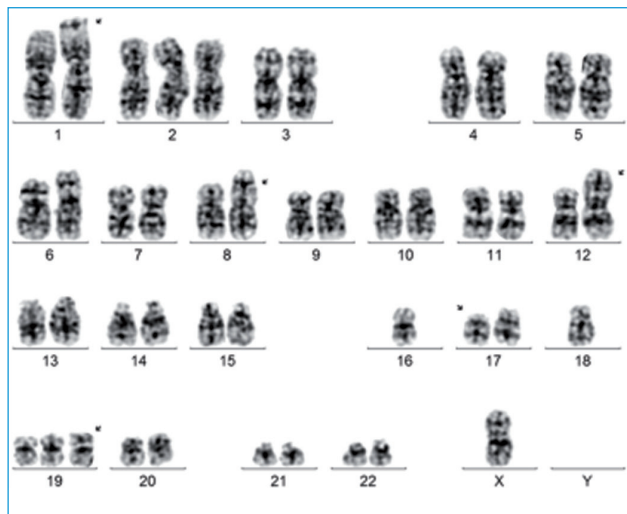


Figura 16. Citogenética convencional: 45, X, -Y, add(1)(p36), +2, i?(8)(q10), add(12)(p13, -16, del(17)(p12), -18, +19, 19(p?) [9].

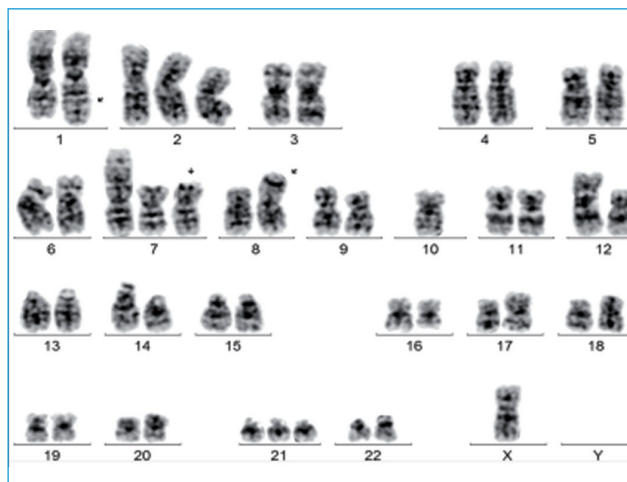


Figura 17. Citogenética convencional: 47, X, -Y, dup(1)(q32), +2, del(2)(q33), +7, add(7)(p32), i?(8)(q10)-10, add(12)(p13), 14(q?), del(16)(q22), add(17)(p13), 19(p?)+21 [11].

Diagnóstico

Linfoma anaplásico de célula grande T, ALK negativo (LACG, ALK-).

Evolución

Se inicia tratamiento esteroideo y citarabina a dosis bajas, junto con profilaxis del síndrome de lisis tumoral (hidratación + alcalinización + rasburicasa) hasta filiación del cuadro. Los primeros días el paciente sufre un progresivo aumento de LDH (hasta 13.046 U/L) y creatinina séricas (hasta 2,9 mg/dL), junto con empeoramiento del perfil hepático. Tras 4 días y ante la ausencia de reducción de la cifra leucocitaria, se canaliza

vía venosa central (catéter Shaldon) previamente a leucoaféresis, que finalmente no se realiza por estabilidad clínica. En su lugar, se comienza con tratamiento de prefase (corticoides + ciclofosfamida). Sin embargo, y a pesar de ello, el paciente presenta un empeoramiento brusco de su estado, con oliguria y aumento de edemas periféricos, produciéndose una parada cardiorrespiratoria brusca y *exitus* 5 días después del ingreso y pendiente de diagnóstico definitivo.

Discusión

Los linfomas sistémicos anaplásicos de célula grande (LACG) son un grupo heterogéneo de linfomas no Hodgkin (LNH) de célula T de diagnóstico relativamente infrecuente que se caracterizan por la expresión de CD30 y la existencia de grandes células pleomórficas. Se clasifican en 2 categorías, según la presencia o no de la proteína cinasa del linfoma anaplásico (ALK). El reconocimiento de la identidad individual de estos 2 tipos de linfoma se hizo efectivo en 2008 en la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para tumores del tejido linfoide y hematopoyético⁽¹⁾. Aunque el LACG ALK- se consideró una entidad provisional dada la escasa información que se manejaba⁽²⁾, actualmente parece claro que existen diferencias genéticas y clínicas para catalogarlo de forma independiente⁽³⁾.

Morfológicamente, ambos tipos de linfoma comparten características similares y el diagnóstico no puede establecerse en función de la evaluación histológica aislada. Clásicamente, se reconocen unas células distintivas de gran tamaño y núcleos excéntricos de forma arriñonada con eosinofilia perinuclear, que se disponen en sábana borrando la arquitectura ganglionar. Se han descrito 5 patrones morfológicos en los LACG: común, linfohistiocítico, patrón de célula pequeña, Hodgkin-like y patrón mixto⁽⁴⁾, aunque en el subtipo ALK- no se ha observado el patrón de célula pequeña⁽⁵⁾. Algunos autores defienden que dentro de los LACG ALK- hay diferencias morfológicas correlacionadas con la presencia o no de reordenamientos del *locus* DUSP22, existiendo una celularidad de mayor tamaño y más pleomórfica y, por tanto, alejándose de los rasgos clásicos de los LACG, en el caso de carecer de dicho reordenamiento⁽⁶⁾.

La inmunohistoquímica es esencial en el diagnóstico y la subclasificación de los LACG. La positividad intensa en la expresión del antígeno CD30 es muy característica de estos linfomas, aunque no específica. El inmunofenotipo suele ser positivo para CD2 y CD4, pero a menudo carecen de la expresión de 1 o más antígenos pan-T, incluyendo el CD3, CD5, CD7 y CD8⁽⁴⁾.

Los estudios de expresión genética muestran que los LACG ALK+ y ALK- comparten un perfil similar,

sugiriendo un origen celular común. Sin embargo, la caracterización genética de los LACG ALK- se ha ido desarrollando en los últimos años, lo cual ha hecho posible encontrar diferencias sensibles entre ambos subtipos como, por ejemplo, los reordenamientos en el gen DUSP22 o en TP63, y las mutaciones en STAT3 o en JAK1⁽⁷⁾. Recientemente, se ha comunicado la expresión de ERBB4 en un 24 % de LACG ALK-, pero no en otro tipo de linfoma T periférico ni en el LACG ALK positivo⁽⁸⁾.

El diagnóstico diferencial de los LACG sin positividad para ALK se hace especialmente difícil ante entidades como el linfoma de células T periférico no especificado CD 30+ o la enfermedad de Hodgkin (EH) rica en células de Reed-Sternberg y con intensa depleción linfocitaria. En el primer caso, en ocasiones hay que recurrir a técnicas genéticas y, en el segundo, podría ayudar el PAX-5, que suele ser positivo débil en la EH y negativo en el LACG ALK-⁽⁹⁾.

En cuanto a la epidemiología, los LACG ALK+ aparecen en niños, mientras que los ALK- son más típicos de adultos. Ambos se suelen diagnosticar en estadios avanzados (III-IV), por lo que es común observar infiltración extranodal en órganos como piel, hueso, pulmón, hígado o médula ósea^(3,9). La afectación medular aparece con más frecuencia en los ALK+ de la población pediátrica, a veces incluso en forma de presentación leucémica⁽¹⁰⁾. Sin embargo, en los LACG ALK- la enfermedad en su forma leucémica es excepcional⁽¹¹⁾.

El pronóstico de estos linfomas es algo mejor que en otros linfomas T periféricos. Los datos comunicados por el Proyecto Internacional en Linfomas T Periféricos muestran que el mejor índice de supervivencia lo presentan los LACG ALK+, seguidos de los LACG ALK- y por último los linfomas T periféricos no especificados⁽³⁾. Por otra parte, aunque los LACG ALK- se consideran una enfermedad quimiosensible, hay que tener en cuenta que las respuestas son de menor duración que en los ALK+ y que las recaídas son comunes. Para mejorar los objetivos de supervivencia es necesario contar con técnicas que nos proporcionen rapidez diagnóstica, establecer nuevos subgrupos pronóstico en función de las características genéticas e incluir terapias de tratamiento como el anticuerpo conjugado dirigido contra CD30 (brentuximab vedotina)⁽⁴⁾.

La combinación de características morfológicas, inmunofenotípicas e inmunohistoquímicas en la biopsia y aspirado de médula ósea nos permitió finalmente diagnosticar a este paciente. Presentamos el caso citológico por la inusual presencia en sangre periférica de una intensa infiltración patológica, con una morfología celular pleomórfica, de citoplasma basófilo y núcleos grandes de contorno convoluto. El hallazgo en sangre de este tipo de células linfocitarias de gran tamaño ha sido descrito ocasionalmente^(11,12). Con la excepción del

linfoma/leucemia de células T del adulto, el resto de los linfomas T maduros suelen debutar con infiltración ganglionar. Por otra parte, cuando se produce la leucemización, por ejemplo en los LACG ALK positivos pediátricos, el componente celular observado suele ser de pequeño tamaño⁽¹⁰⁾, con lo cual se hace imprescindible diferenciar el proceso de otros de morfología similar como la leucemia prolinfocítica T o el síndrome de Sézary. En nuestro paciente, la citología celular mostraba diversos tamaños. Las más pequeñas, con un núcleo ocupando la mayoría de la célula y de aspecto convoluto, efectivamente recordaban al síndrome de Sézary. Entre los linfocitos de mayor tamaño era posible diferenciar alguna célula con núcleo en pétalo de flor, como las presentes en la leucemia/linfoma T del adulto⁽¹³⁾. También encontramos numerosas células con núcleo convoluto o con núcleo excéntrico de forma arriñonada. Igualmente, en la biopsia de médula ósea se observaban las llamadas *hallmark*, células de gran tamaño con núcleos en forma de herradura y eosinofilia perinuclear, ampliamente descritas en los LACG⁽⁴⁾.

El inmunofenotipo de la población patológica perdía la expresión de la mayoría de los antígenos pan-T, salvo CD2 y CD4, que son los que más frecuentemente se mantienen en este tipo de linfomas⁽¹⁴⁾. Presentaba perfil de célula madura por su intensa positividad de CD45 y cygranzima como marcador de célula citotóxica. Mediante inmunohistoquímica, la expresión de CD30 fue clara, así como a CD45ro.

El cariotipo medular fue de una alta complejidad, pero aparecieron alteraciones descritas en los LACG ALK-, como ganancias de material genético en los cromosomas 7 y 8, o en el brazo largo del cromosoma 1⁽¹⁵⁾.

Con todo, la confirmación diagnóstica de linaje la obtuvimos con la demostración de una población clonal mayoritaria de linfocitos T mediante reordenamiento del gen TCR gamma. El resultado de esta técnica fue idéntico al que simultáneamente se le realizó al cilindro ganglionar conservado desde 2012 y extraído mediante punción con aguja gruesa. Revisada nuevamente la morfología en dicha biopsia, no se podía sospechar la existencia de linfoma, puesto que sólo presentaba una infiltración linfocitaria inespecífica de aspecto reactivo y algún granuloma aislado. Este problema puede surgir con muestras extraídas mediante aguja gruesa, en las cuales es difícil valorar la arquitectura ganglionar y, por tanto, los diagnósticos pueden ser incorrectos o imposibles.

Sin embargo, y debido a la positividad clonal T de los linfocitos encontrada *a posteriori*, suponemos que el paciente presentaba la neoplasia a nivel adenopático desde hacía 3 años y que el diagnóstico de sarcoidosis había sido meramente clínico, ya que no lo había apoyado la morfología ganglionar linfática. Posiblemente,

el tratamiento a largo plazo con esteroides había mantenido la enfermedad controlada, hasta que al retirarlo, se produjo la progresión a linfoma leucemizado. En conclusión, proponemos una estrecha monitorización de los pacientes con procesos poliadenopáticos en los cuales no se haya llegado al diagnóstico morfológico exacto y, si es posible, biopsiar otros territorios ganglionares mediante procedimientos adecuados para poder filiar un proceso de forma temprana y susceptible de tratamiento precoz.

Para recordar

- En procesos poliadenopáticos no filiados, lo más importante es la realización de una biopsia adecuada, siendo preferente la exéresis completa del ganglio, seguida de cuña ganglionar y, por último, en casos de adenopatías inaccesibles o pacientes con alto riesgo quirúrgico, biopsia con aguja.
- El LACG ALK- es una entidad infrecuente dentro de los LNH, de diagnóstico complejo y excepcionalmente hallado en forma de linfoma leucemizado. Su diferenciación de otros cuadros linfoproliferativos es difícil, siendo la positividad a CD30 y la demostración de la clonalidad T herramientas muy útiles.
- Un diagnóstico correcto y precoz es fundamental para mejorar las supervivencias, ya que en la actualidad disponemos de novedosas terapias diana como el anticuerpo conjugado dirigido contra CD30 (brentuximab vedotina).

Bibliografía

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Haffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
2. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011; 117 (12): 5019-32.
3. Savage KJ, Harris NL, Vose JM, Ullrich F, Jaffe ES, Connors JM, et al. ALK- anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK+ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood* 2008; 111 (12): 5496-504.
4. Bennani-Baiti N, Ansell S, Feldman AL. Adult systemic anaplastic large-cell lymphoma: recommendations for diagnosis and management. *Expert Rev Hematol* 2016; 9 (2): 137-50.
5. Ferreri AJ, Govi S, Pileri SA, Savage KJ. Anaplastic large cell lymphoma, ALK negative. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 85 (2): 206-15.
6. King RL, Dao LN, McPhail ED, Jaffe ES, Said J, Swerdlow SH, et al. Morphologic features of ALK-negative anaplastic large cell lymphomas with DUSP22 rearrangements. *Am J Surg Pathol* 2016; 40 (1): 36-43.

7. Gaulard P, De Leval L. ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2016; 127 (14): 175-7.
8. Scarfò I, Pellegrino E, Mereu E, Kwee I, Agnelli L, Bergaggio E, et al. Identification of a new subclass of ALK-negative ALCL expressing aberrant levels of ERBB4 transcripts. *Blood* 2016; 127 (2): 221-32.
9. Hapgood G, Savage KJ. The biology and management of systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2015; 126 (2): 17-25.
10. Spiegel A, Paillard C, Ducassou S, Perel Y, Plantaz D, Strullu M, et al. Paediatric anaplastic large cell lymphoma with leukaemic presentation in children: a report of nine French cases. *Br J Haematol* 2014; 165 (4): 545-51.
11. Huang Q, Gaal KK, Nademanee A. Acute leukemic manifestation of recurrent anaplastic large-cell lymphoma 20 years after autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2012; 30 (3): e34-6.
12. Leung RY, Kwong YL. Leukaemic phase as initial presentation of primary bone anaplastic lymphoma kinase-negative anaplastic large cell lymphoma. *Br J Haematol* 2012; 159 (3): 257.
13. Matutes E. Adult T-cell leukaemia/lymphoma. *J Clin Pathol* 2007; 60 (12): 1373-7.
14. Hsi ED, Said J, Macon WR, Rodig SJ, Ondrejka SL, Gascoyne RD, et al. Diagnostic accuracy of a defined immunophenotypic and molecular genetic approach for peripheral T/NK-cell lymphomas. A North American PTCL study group project. *Am J Surg Pathol* 2014; 38 (6): 768-75.
15. Boi M, Zucca E, Inghirami G, Bertoni F. Advances in understanding the pathogenesis of systemic anaplastic large cell lymphomas. *Br J Haematol* 2015; 168 (6): 771-83.