

Caso 3. Varón con fiebre, leucocitosis y bicitopenia

María Paz Garrastazul Sánchez, Miriam Vilches Moreno,
María del Carmen Fernández Valle, Inmaculada Marchante Cepillo

Unidad de Gestión Clínica de Hematología, Inmunología y Genética. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

› Motivo de consulta

Se trata de un varón de origen marroquí de 36 años que acudió al Servicio de Urgencias por fiebre persistente.

› Historia clínica

Refería malestar general y fiebre de hasta 39°C de 2 semanas de evolución, sin sintomatología acompañante sugestiva de foco, que había tratado sucesivamente con amoxicilina/clavulánico y azitromicina por indicación de su médico. Comentaba también que le salían frecuentes hematomas tras mínimos traumatismos desde hacía un mes.

No tenía antecedentes patológicos de interés ni hábitos tóxicos. Trabajaba de dependiente en una ferretería.

› Exploración física

Presentaba buen estado general. Se observaron numerosas equimosis dispersas en tronco y extremidades, y se palparon pequeñas adenopatías submandibulares y el polo inferior del bazo, siendo el resto de la exploración anodina.

› Pruebas complementarias

- Hemograma. Hemoglobina (Hb): 98 g/L; volumen corpuscular medio (VCM): 76 fL; leucocitos: $22,110 \times 10^9/L$; plaquetas: $42 \times 10^9/L$.

- Frotis: 36% neutrófilos, 12% linfocitos, 12% monocitos, 40% blastos. Los blastos (Figura 1) eran de hábito promonocitoide, tamaño grande, núcleo irregular de

cromatina fina dispersa, a veces con 1 o 2 nucleolos, y citoplasma ligeramente basófilo sin granulación. Llamó la atención el hallazgo de signos displásicos severos en los neutrófilos (Figura 2), siendo frecuentes la hiposegmentación nuclear, la hipogranularidad y los

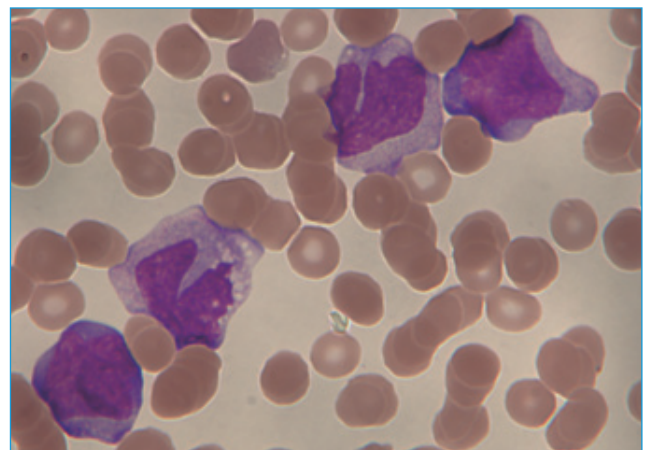


Figura 1. Sangre periférica $\times 1.000$, tinción May-Grünwald-Giemsa (MGG). Se muestran 4 células atípicas de aspecto monocítico, correspondiendo probablemente a promonocitos las 2 de los extremos y a monocitos displásicos las 2 del centro.

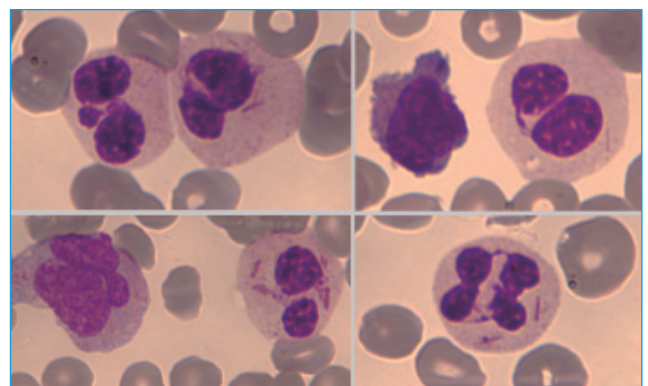


Figura 2. Sangre periférica $\times 1.000$, tinción MGG. Neutrófilos con núcleo hiposegmentado, citoplasma hipogranulado y, en 4 de ellos, bastones de Auer.

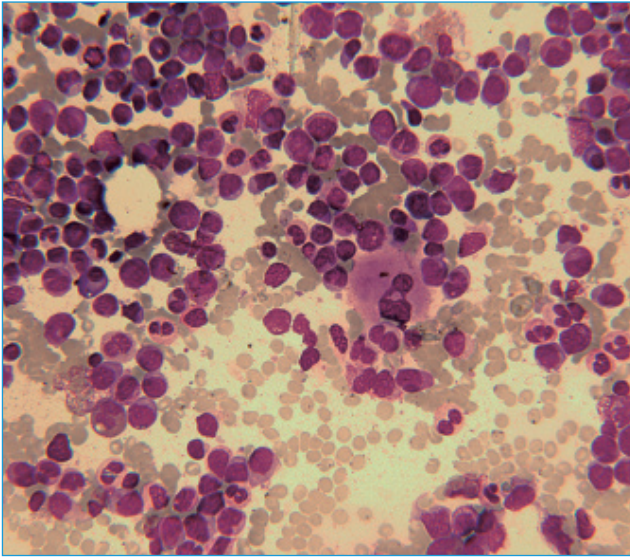


Figura 3. Aspirado medular × 200, tinción MGG. Médula ósea hiper celular y polimorfa con predominio de la serie granulocítica.

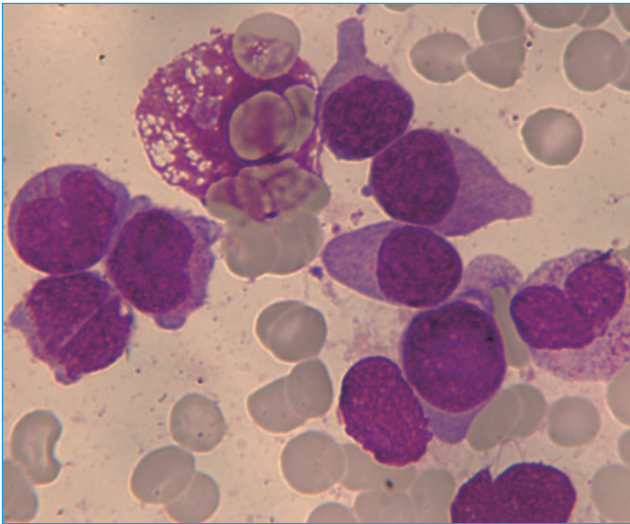


Figura 4. Aspirado medular × 1.000, tinción MGG. Se muestran, a la izquierda, 3 blastos monocitoides y, a la derecha, 4 blastos de aspecto indiferenciado junto a un cayado.

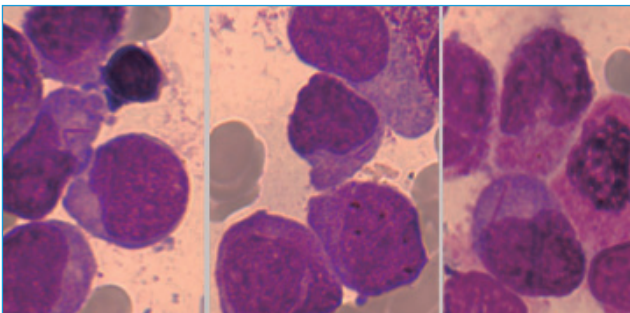


Figura 5. Aspirado medular × 1.000, tinción MGG. Se observan 3 blastos con bastones de Auer.

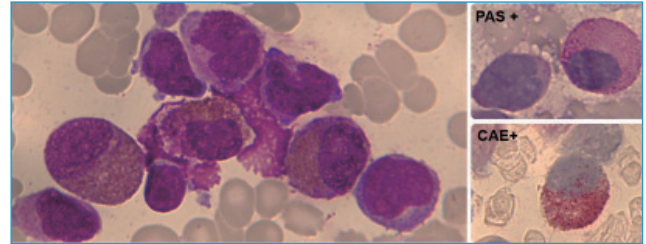


Figura 6. Aspirado medular × 1.000. En la imagen de la izquierda se observan 3 eosinófilos de morfología normal; a la derecha, se muestra un eosinófilo positivo con el PAS y otro positivo con la CAE.

bastones de Auer, que destacaban por ser numerosos y, a veces, múltiples dentro de una misma célula.

- Medulograma: el aspirado medular era hiper celular y polimorfo (**Figura 3**), con severa disminución de las series roja y megacariocítica, pero con una relativa conservación de la granulocítica y con un ligero aumento de los eosinófilos, presentando el siguiente recuento diferencial: 4% eritroblastos, 41,3% granulocitos, 4% eosinófilos, 2,66% monocitos, 2% linfocitos, 0,33% células plasmáticas y 46% blastos.

Los blastos (**Figura 4**) eran de morfología diversa, identificándose un 28% de aspecto promonocitoide, similares a los observados en sangre periférica, y un 18% poco diferenciados, de tamaño pequeño a mediano, con el núcleo redondeado y generalmente sin granulación. Menos del 0,5% de los blastos contenía algún bastón de Auer (**Figura 5**), generalmente único. En el estudio citoquímico mostraron positividad granular con la mieloperoxidasa (MPO) en el 86% y negatividad con la cloro-acetato-esterasa (CAE) y la alfa-naftil-acetato-esterasa (ANAE).

Los eosinófilos aparecían en todos los estadios madurativos, contenían escasa granulación preeosinófila y se teñían tanto con el ácido peryódico (PAS) como con la CAE (**Figura 6**).

Cuando se estudió la morfología de la hematopoiesis residual, apenas se hallaron signos displásicos en las series roja y megacariocítica, y en cambio se identificó hasta un 96% de granulocitos displásicos (**Figura 7**), con trastornos similares a los observados en sangre periférica, con núcleos en pseudo-Pelger, con alteración de la forma o en espejo, y citoplasmas hipo o agranulares. Al igual que en sangre, fue llamativa la presencia de numerosos bastones de Auer, en torno al 10% de los granulocitos, que eran de variable grosor y longitud, y que se localizaban casi exclusivamente en cayados y segmentados, pero no en estadios anteriores. Como en la sangre periférica, estos bastones

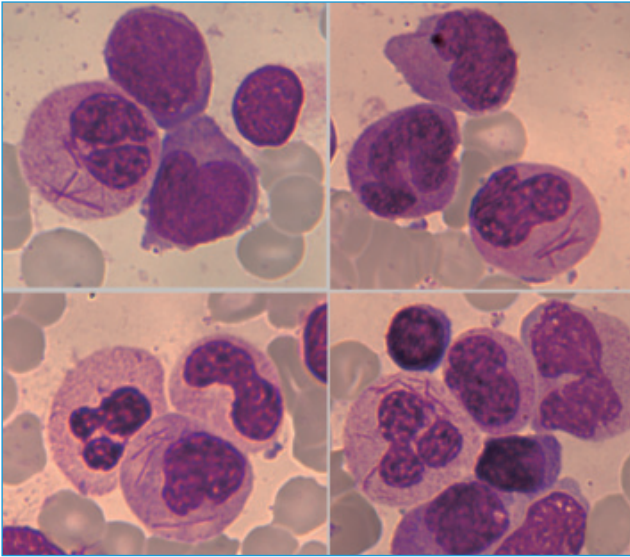


Figura 7. Aspirado medular $\times 1.000$. Destaca la observación de bastones de Auer múltiples en algunos cayados y segmentados.

a veces se acumulaban de forma múltiple dentro de una misma célula, pudiendo observarse granulocitos con hasta 15 bastones.

- Citometría de flujo (CMF) (**Figura 8**). Se identificaron 2 poblaciones de blastos: una con expresión

CD45+dim, MPO+, CD13+, CD33+dim, CD34+, CD15+, CD117+, HLA-DR+, CD123+, CD64-, CD14, CD11b- y CD56-, que suponía el 28% del total medular, y otra población con CD45+dim, MPO+, CD13+, CD33+, CD34+, CD117+, HLA-DR+, CD123+, CD64+, CD14-, IREM2-, CD16-, CD11b-, CD38+, CD4+dim, CD2-, CD7-, CD56- y CD19-, y que correspondía al 11% de la celularidad. Se halló también un 1,5% de promonocitos CD34-, CD64+, CD14-, CD19+dim.

- Estudio citogenético: el cariotipo (**Figura 9**) reveló la presencia de una inversión del cromosoma 16, siendo la fórmula: 46,XY,inv(16)(p13.1q22)[20]. Se observó una clona minoritaria en torno a 52 cromosomas en 4 de 40 metafases, pero no se pudo describir con precisión. La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (**Figura 10**) confirmó la existencia de una inv(16), mientras que el resto de las sondas estudiadas fueron negativas, incluyendo RUNX1-RUNX1T1, MLL y PML/RARA. Dada la presencia de núcleos hiposegmentados y de bastones de Auer múltiples, se aplicaron también sondas para *del*p53 y *c-myc*, que fueron negativas.

- Biología molecular: se detectó mediante RT-qPCR el transcrito CBF β -MYH11 en su isoforma A. Los restan-

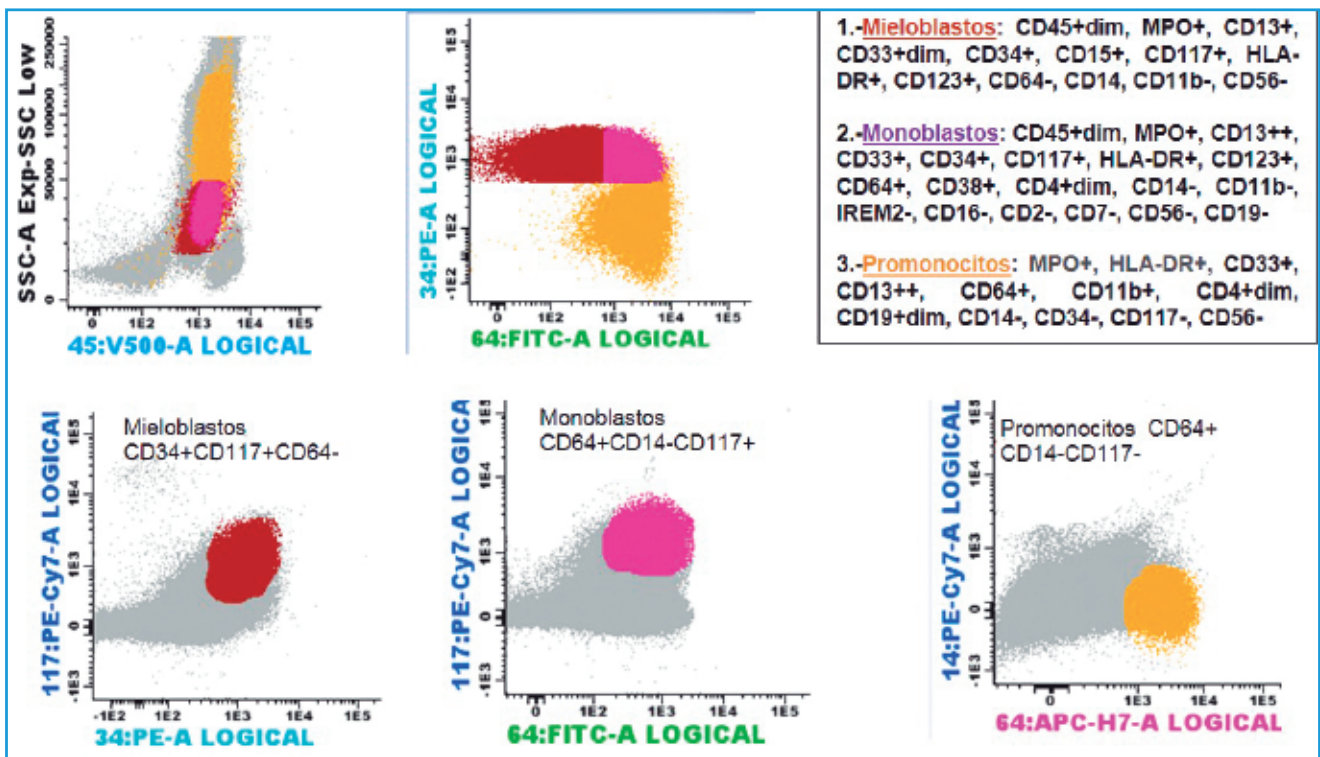


Figura 8. Inmunofenotipo de médula ósea donde se indican las distintas poblaciones de blastos halladas: mieloblastos en marrón, monoblastos en rosa y promonocitos en naranja.

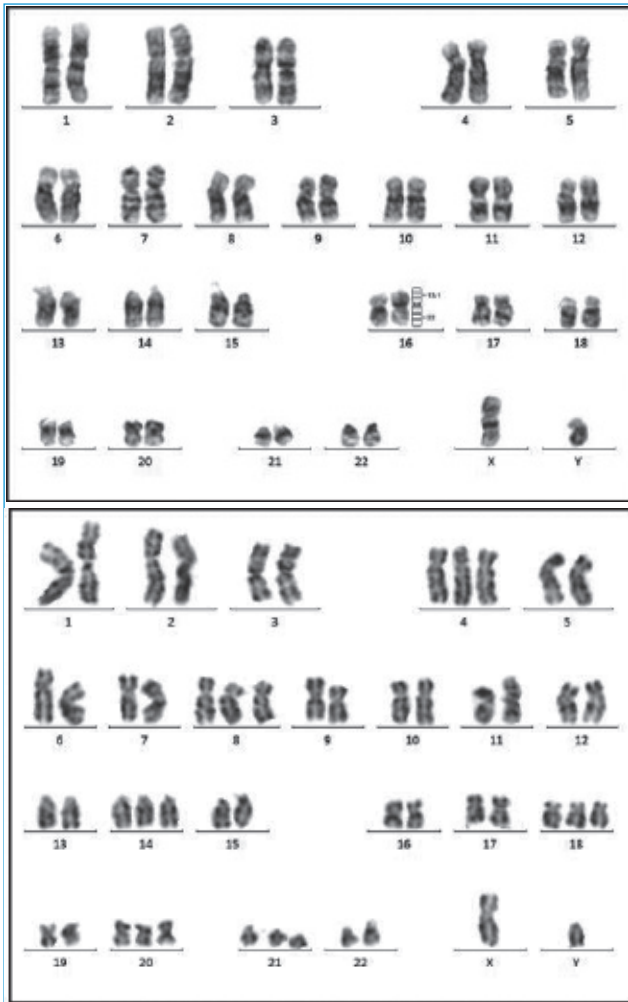


Figura 9. Cariotipo de médula ósea. Arriba se muestra una imagen del cariotipo de la paciente, con el hallazgo de una inv(16). Abajo, el cariotipo de una clona minoritaria hiperdiploide.

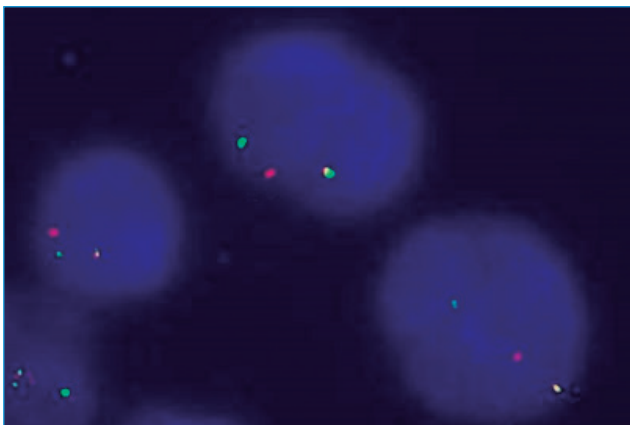


Figura 10. Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) de médula ósea que muestra una inv(16). La señal amarilla corresponde al cromosoma 16 normal, mientras que las señales verde y roja pertenecen al cromosoma que ha sufrido la inversión.

tes estudios fueron negativos: BCR-ABL p210 y p190, PML-RARA bcr 1, 2 y 3, RUNX1-RUNX1T1, NPM1 y FLT3-ITD.

- Secuenciación masiva: se halló la mutación KIT, p.Asp816Val, en el 49,5% del ADN. No se detectó ninguna de las demás mutaciones analizadas: CEBPA, DNMT3, GATA2, TET2, TP53, ASXL1, BRAF, CBL, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, NPM1, NRAS, PTPN11, RUNX1 y WT1.

- Otros análisis: la bioquímica mostró una elevación de la glucosa: 142 mg/dL; LDH: 535 U/L; PCR: 201 mg/dL; ferritina: 885 mg/dL; GGT: 160 U/L; y GPT: 62 U/L, con normalidad del resto de los parámetros. En el estudio de coagulación se observó una elevación del fibrinógeno: 5,55 g/L, con tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y tiempo de protrombina (TP) normales. El resto de los estudios realizados no presentaron alteraciones, incluyendo perfil de hierro y factores madurativos, estudio del líquido cefalorraquídeo, análisis de orina, proteinograma sérico, serología vírica, cultivos microbiológicos, etc.

- Pruebas de imagen: en la radiografía de tórax se observó un infiltrado alveolar en el lóbulo pulmonar inferior izquierdo. En la ecografía abdominal se halló una hepatomegalia y una esplenomegalia homogéneas, siendo el eje longitudinal esplénico de 18,4 cm.

➤ Diagnóstico

El estudio citológico del caso fue compatible con leucemia aguda mielomonocítica con eosinofilia (M4Eo). No obstante, la morfología atípica del caso, con la presencia de múltiples bastones de Auer en los neutrófilos, hizo plantear el diagnóstico diferencial con otras 3 leucemias mieloides agudas (LMA): la LMA con t(8;21), la LMA con reordenamiento PML/RARA o leucemia promielocítica aguda (LPA), y la LMA con cambios relacionados con la mielodisplasia (LMA-CRM).

En primer lugar, la LMA con t(8;21) suele acompañarse también de bastones de Auer en los neutrófilos y de eosinofilia medular; sin embargo, estos bastones suelen ser únicos, largos y de extremos afilados, y los eosinófilos habitualmente no tienen dismorfas y son CAE negativos, a diferencia de lo que ocurría en nuestro caso. Por otro lado, el resto de las características morfológicas típicas de las LMA con t(8;21), como el citoplasma de color asalmonado de los neutrófilos o las inclusiones globulosas, las vacuolas y el refuerzo basofílico de los blastos, no se vieron en nuestro caso.

En segundo lugar, la LPA presenta generalmente bastones de Auer múltiples en los promielocitos atípicos/

blastos y a veces también en los neutrófilos. En nuestro paciente también se observaron bastones múltiples pero, al contrario que en la LPA, estos bastones predominaban en los granulocitos maduros, observándose muy raramente blastos con 1 o 2 bastones.

Por último, dada la importante displasia granulocítica que mostraba el caso, se planteó también diagnóstico diferencial con la LMA-CRM; sin embargo, no cumplía criterios morfológicos suficientes para el diagnóstico de esta entidad, ya que solo superaba el 50% de los elementos displásicos en esta serie, pero no en la roja ni en la megacariocítica.

La CMF identificó 2 poblaciones de blastos: mieloblastos y blastos de línea monocítica, lo que confirmó que se trataba de una LMA mielomonocítica y permitió descartar la LPA. Finalmente, los estudios citogenético y molecular detectaron la presencia de una inv(16) y la ausencia de t(8;21) y de PML-RARA, confirmando el diagnóstico de LMA con inv(16).

➤ Evolución

Se inició quimioterapia según el protocolo PETHEMA LMA < 65 años de 2010, alcanzando tras la inducción una remisión completa morfológica. La enfermedad mínima residual (EMR) mediante CMF tras la inducción y tras la primera consolidación no fue concluyente, ya que, aunque se detectó, respectivamente, un 1,5 y un 0,9% de blastos mieloides, no era posible distinguir si eran blastos de la leucemia original o si eran mieloblastos no patológicos, dada la ausencia de aberraciones en su expresión antigénica. La determinación de CBFB-MYH11 mediante RT-qPCR fue persistentemente positiva tras la inducción (1,5%) y tras la primera y la segunda consolidaciones (0,3% tras ambas). En la actualidad está pendiente de recibir un alotrasplante de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) de uno de sus hermanos.

➤ Comentarios y discusión

La LMA con inv(16) o t(16;16) representa el 15% de las LMA del adulto⁽¹⁾ y pertenece al grupo de las LMA con alteraciones citogenéticas recurrentes de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Junto a la LMA con t(8;21), es una de las LMA *core binding factor* (LMA-CBF), denominadas así porque de-

rivan del reordenamiento de uno de los genes que codifican alguna de las subunidades, alfa o beta, del factor de transcripción CBF. En la LMA con inv(16), el gen CBFB, ubicado en 16q22, codifica la subunidad beta y se fusiona con el gen MYH11, de la posición 16p13. Hasta ahora se han identificado 10 tipos de transcritos CBFB-MYH11 (A-J)⁽²⁾, de los cuales el A, que es el que detectamos en nuestro paciente, es el más frecuente.

La LMA con inv(16) se asocia morfológicamente con el subtipo LMA M4Eo de la clasificación FAB, cuyos blastos generalmente tienen diferenciación mielomonocítica y se suelen acompañar de un aumento de eosinófilos en la médula ósea, generalmente > 5%, que aparecen en distintos estadios de maduración, contienen un número variable de gránulos gruesos preosinófilos de color basófilo y muestran positividad con las tinciones de PAS y CAE⁽¹⁾.

Las LMA-CBF son leucemias de buen pronóstico, dado su alto índice de remisiones completas, del 88%, y de supervivencia libre de recaída (SLR), del 42% a los 10 años⁽¹⁾. Sin embargo, muestran una gran heterogeneidad clínica y se describe hasta un 30-40% de recaídas. Por ello, con el objetivo de identificar a los pacientes de mayor riesgo, diversos estudios⁽³⁻⁷⁾ han investigado la influencia de diferentes factores pronósticos en la evolución de estas enfermedades, incluyendo, entre otros, la presencia de mutaciones o alteraciones cromosómicas adicionales. En este sentido, las mutaciones de KIT, en los exones 8 y 17 principalmente, han sido asociadas con una corta SLR. Sin embargo, en recientes estudios prospectivos⁽⁷⁾, estas mutaciones no modificaban la supervivencia global y no discriminaban bien entre pacientes de alto riesgo *versus* bajo riesgo⁽³⁾, confirmando la EMR como el mejor predictor de recaída. Por este motivo, la mayoría de las guías clínicas, como la de la European Leukemia Net (ELN)⁽⁸⁾, no consideran el estado mutacional de KIT en la estratificación del riesgo, sino solo la EMR. En las LMA con inv(16), la EMR puede seguirse mediante CMF y qPCR, aunque respecto a este último método no está aún estandarizado un umbral que prediga el resultado^(3,5). En nuestro paciente se halló la mutación de KIT Asp816Val, del exón 17, y, aunque la EMR mediante CMF no fue concluyente, mantuvo una qPCR persistentemente positiva, por lo que se planificó la intensificación con alo-TPH, estando pendiente su realización en la actualidad.

El interés del caso que presentamos es la existencia de signos displásicos severos en la serie granulocítica

Tabla 1. Casos publicados de leucemias agudas mieloblásticas con neutrófilos en *faggot*

	Edad/ Sexo	Leucos/Hb/Plaq	Diagnóstico	Genética	<i>Faggot</i>	Tratamiento	SG meses
Kallel 2005	8M	40,8/76/65	LMA M2	T(8;21)	Neutrófilos	Ara-C + Dauno × 1 ciclo	+ 1 No RC
Dawson 2007	46M	Pancitopenia	LMA	46,XX[20]	Neutrófilos	QT basada Ara-C	> 12
Ohnishi 2008	13M	143/5,2/64	LMA-M1	47,XX,+4[20]	Neutrófilos hasta metamielo	ECIDA, BMT	+ 52
Guerin 2008	67H	24/65/42	LMA CRM	Cariotipo complejo Ampl MYC (crom dmin)	Blastos y neutrófilos	3 + 7 + ATRA	+ 1 No RC
Jerez 2010	32M	67/8,5/10	LMA relacionada con terapia	47,XY,+8,inv(16) (p13q22)[20]		Inducción × 2	? No RC
Dmitrienko 2012	17H	?	LA de linaje ambiguo T/ mieloide	?	Neutrófilos	Protocolo LLA-AR + aloTPH	?

Hb: hemoglobina; LMA: leucemia mieloide aguda; QT: quimioterapia; RC: respuesta completa; SG: supervivencia global; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

en una LMA con inv(16) que, por lo demás, no presentaba alteraciones clínicas, analíticas ni citogenéticas especiales. Entre estos signos displásicos destacaban los bastones de Auer, tanto por su frecuencia como por su localización, ya que eran numerosos en los neutrófilos maduros, pero muy escasos tanto en formas jóvenes de la granulopoyesis como en los blastos, siendo de especial interés su frecuente disposición en forma de agrupamiento intracelular múltiple.

Los bastones de Auer son estructuras alargadas que se forman por la fusión de la granulación mieloide y pueden verse en los blastos de los síndromes mielodisplásicos (SMD) y de las LMA, generalmente en escasa cuantía. Una excepción es la LPA⁽⁹⁾, en la que los bastones/astillas son generalmente abundantes y característicamente forman agrupamientos múltiples dentro de los promielocitos atípicos, que por ello suelen describirse como *faggot cells* (células en rama). La observación de bastones de Auer en los neutrófilos es rara, habiéndose descrito en la LPA⁽⁹⁾, especialmente tras la instauración de tratamiento con ácido transretinoico (ATRA), en las LMA con maduración, sobre todo las LMA con t(8;21)⁽¹⁰⁾, donde aparecen como bastones largos y únicos, y las LMA mielomonocíticas.

La presencia de *faggot cells* en patologías no LPA es excepcional, habiéndose publicado apenas una docena de casos en los últimos 15 años en leucemias agudas y SMD, ya sea como blastos en *faggot*⁽¹¹⁻¹³⁾, como neutrófilos en *faggot*⁽¹⁴⁻¹⁹⁾ o como ambos⁽¹⁷⁾. No se conoce el mecanismo patogénico que origina esta alteración, pero algunos autores sugieren una posible asociación con la del(9p) o con la presencia

de cromosomas dobles minutos con amplificación de c-myc⁽¹¹⁻¹³⁾.

En la **Tabla 1** mostramos los últimos casos publicados de LMA con neutrófilos en *faggot*⁽¹⁴⁻¹⁹⁾, constituyendo un grupo muy heterogéneo en cuanto a edad, sexo, subtipo morfológico y evolución clínica. A pesar de ser un número muy reducido, 2 de estos casos son LMA-CBF: uno es una LMA con t(8;21)⁽¹⁴⁾ y el otro es una LMA con inv(16)⁽¹⁷⁾, como nuestro paciente, por lo que pensamos que podría haber una asociación entre las LMA-CBF y la presencia de bastones de Auer múltiples en los granulocitos. Es interesante puntualizar también que el único caso de los 6 en el que se vieron bastones de Auer múltiples en los blastos además de en los neutrófilos fue también el único en el que se demostró amplificación de c-myc⁽¹⁷⁾. En nuestro caso, el estudio de FISH con la sonda para c-myc fue negativo.

➤ Para recordar

- En las LMA es rara la observación de bastones de Auer en los granulocitos maduros; han sido descritos en LMA M3, M2, LMA con inv(8;21) y M4.
- Las células con múltiples bastones de Auer (*faggot cells*) no son específicas de la leucemia aguda promielocítica, pues han sido descritas en raros casos de LMA y SMD.
- La LMA con inv(16) es una enfermedad de riesgo favorable. Aunque las mutaciones de KIT han sido asociadas con mal pronóstico, no está claro que permitan distinguir grupos de mayor riesgo.

» Bibliografía

1. Solh M, Yohe S, Weisdorf D, Ustun D. Core-binding factor acute myeloid leukemia: Heterogeneity, monitoring, and therapy. *Am J Hematol*. 2014 Dec;89(12):1121-31.
2. Reilly JT. Pathogenesis of acute myeloid leukaemia and inv(16)(p13;q22): a paradigm for understanding leukaemogenesis? *Br J Haematol*. 2005 Jan;128(1):18-34.
3. Jourdan E, Boissel N, Chevret S, Delabesse E, Renneville A, Cornillet P, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121(12):2213-23.
4. Paschka P, Du J, Richlenk RF, Gaidzik VI, Bullinger L, Corbacioglu A, et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSG). *Blood*. Jan 2013;121(1):170-7.
5. Liu Yin JA, O'Brien MA, Hills RK, Daly SB, Wheatley K, Burnett AK, et al. MRD monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. Oct 2012;120(14):2826-35.
6. Hoyos M, Nomdedeu JF, Esteve J, Duarte R, Ribera JM, Llorente A, et al. CBF AML: the impact of age, leukocyte count, molecular findings, and minimal residual disease. *Eur J Haematol*. Sep 2013;91(3):209-18.
7. Park SH, Chi HS, Min SK, Park BG, Jang S, Park CJ. Prognostic impact of c-kit mutations in core binding factor acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2011;35(10):1376-83.
8. Dohner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. Jan 2017;129(4):427-44.
9. Castoldi GL, Liso V, Specchia G, Tomasi P. Acute promyelocytic leukemia: morphological aspects. *Leukemia*. 1994;8(Suppl. 2):S27-32.
10. Haferlach T, Bennett JM, Löffler H, Gassmann W, Andersen JW, Tuzuner N, et al. Acute myeloid leukemia with translocation (8;21). Cytomorphology, dysplasia and prognostic factors in 41 cases. AML Cooperative Group and ECOG. *Leuk Lymphoma*. 1996 Oct;23(3-4):227-34.
11. Frater JL, Hoover RG, Bernreuter K, Batanian JR. Deletion of MYC and presence of double minutes with MYC amplification in a morphologic acute promyelocytic leukemia-like case lacking RARA rearrangement: could early exclusion of double-minute chromosomes be a prognostic factor? *Cancer Genet Cytogenet*. 2006;166(2):139-45.
12. Poddighe PJ, Wessels H, Merle P, Westers M, Bhole S, Loonen A, et al. Genomic amplification of MYC as double minutes in a patient with APL-like leukemia. *Mol Cytogenet*. 2014;7:67.
13. Bruyère H, Sutherland H, Chipperfield K, Hudoba M. Concomitant and successive amplifications of MYC in APL-like leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2010 Feb;197(1):75-80.
14. Kallel C, Makni F, Bouzidi H, Hdiji S, Elloumi M, Souissi T, et al. Myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia with t(8; 21) and bundle of Auer rods in neutrophils: an unusual hemopath, *Ann Biol Clin*. 2005;63(4):429-32.
15. Dawson MA, Whitehead S. Mature neutrophils with multiple Auer rods: a rarity in normal karyotype acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2007 Apr;137(2):86.
16. Ohnishi H, Yoshino H, Yoneyama R, Ishii M, Watanabe T, Bessho F. Faggot formation in mature neutrophils and metamyelocytes in acute myeloid leukemia without maduraron. *Pediatr Hematol Oncol*. 2008 Apr-May;25(3):165-70.
17. Guerin E, Mahon FJ, Lippert E. Bundles of Auer rods in blast cells and mature neutrophils in a non-promyelocytic acute myeloblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2008;141:749.
18. Jerez A, Osma M, Amigo M, Ortuño FJ. Faggot cells in an HIV-positive patient with inv(16)/therapy-related acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2010;150:646.
19. Dmitrienko S, Vercauteren S. Auer rods in mature granulocytes of a patient with mixed lineage leukemia. *Blood*. 2012;119(19):4348.