

Caso 3. Mujer de 39 años con lumbalgia, anemia y trombocitopenia

Concepción Prats-Martín¹, Rosario M. Morales-Camacho¹, Teresa Caballero-Velázquez¹, Estrella Carrillo¹, M. Teresa Vargas¹, Sergio Burillo², M. Isabel Montero¹, Ricardo Bernal¹, José Antonio Pérez-Simón¹, Juan José Borrero³

¹ Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Hematología y Hemoterapia, ² Servicio de Inmunología, UGC de Laboratorios Clínicos,

³ UGC de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla

► Motivo de consulta

Se trata de una paciente remitida de otro hospital por bicitopenia y sospecha de hemopatía aguda.

► Historia clínica

Mujer de 39 años con historia de alergia al ácido acetilsalicílico e intolerancia a los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Presentaba desde hacía 4 meses lumbalgia izquierda intensa con hallazgo en una resonancia magnética nuclear (RMN) de una hernia lumbar L5-S1, que se trató con AINE. Un mes antes del ingreso fue intervenida por perforación de una úlcera yuxtapilórica, realizándose gastrectomía parcial. La persistencia del dolor lumbar refractario al tratamiento y el hallazgo de anemia y trombopenia motivaron su ingreso.

► Exploración física

A la auscultación cardíaca y respiratoria mostraba taquicardia y taquipnea. A la palpación se objetivaron 2 adenopatías laterocervicales, así como una esplenomegalia de 2 cm por debajo del reborde costal. El resto de la exploración física no mostraba hallazgos de interés.

► Pruebas analíticas

• **Hemograma:** leucocitos $15,9 \times 10^9/L$, neutrófilos $5,7 \times 10^9/L$, hemoglobina (Hb) 73 g/L, volumen corpuscular medio (VCM) 91,5 fL, plaquetas $48 \times 10^9/L$, reticulocitos $58,5 \times 10^9/L$.

• **Pruebas de coagulación:** dentro de la normalidad.

• **Bioquímica plasmática.** Destacan: GOT 68 U/L (10-37), GGT 521 UI/L (10-50), GPT 27 UI/L (10-40) y fosfatasa alcalina 539 UI/L (40-130). LDH: 1.970 UI/L (135-225); ferritina: 1.287 µg/L (15-150); transferrina: 145 mg/dL (200-330). Proteínas totales: 5,6 g/dL (6,5-8). Función renal y resto de la bioquímica normales. Velocidad de sedimentación globular (VSG): 97 mm/h (1-20). Proteinograma con IgG, IgA e IgM normales. Marcadores tumorales negativos. Estudio elemental de orina normal. Pruebas de autoinmunidad negativas.

• **Microbiología:** serologías negativas para virus de la hepatitis C (VHC) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) –vacunada para virus de la hepatitis B (VHB)–; serología para virus de Epstein-Barr (VEB) IgM negativa e IgG positiva; citomegalovirus (CMV) IgM negativa e IgG positiva; virus de la varicela zóster (VZV) IgG positiva. Urocultivo/Hemocultivos negativos.

► Pruebas de imagen

• **Tomografía axial computarizada (TAC)** toracoabdominal: adenopatías laterocervicales bajas y supraclaviculares izquierdas sin carácter significativo. Adenopatías axilares de pequeño tamaño (máximo: 1,2 cm). Hepatoesplenomegalia homogénea. Adenopatías múltiples retroperitoneales confluentes.

► Estudios citológicos y de citometría de flujo

En la extensión de **sangre periférica** se objetivaron leucocitos de $15,9 \times 10^9/L$, con la siguiente fórmula manual: 46% de células atípicas, mielocitos 4%, metamielocitos 6%, cayados 12%, segmentados 14%, linfocitos

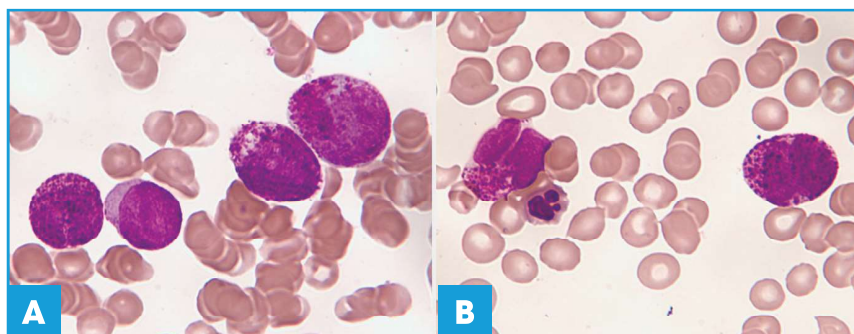


Figura 1. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). A: grupo de células leucémicas, 3 de ellas hipergranulares; B: forma con el núcleo hendido en hachazo.

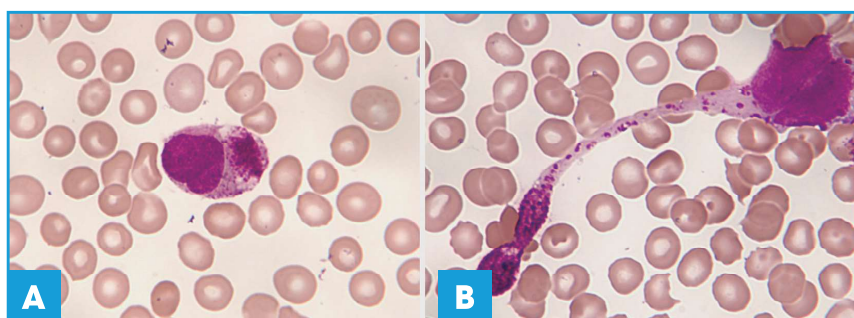


Figura 2. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). A: célula con concentración de gránulos en un polo del citoplasma; B: célula con una proyección citoplasmática alargada.

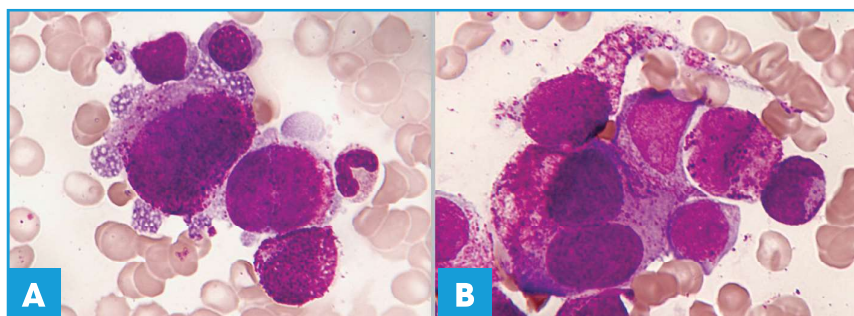


Figura 3. Aspirado de médula ósea (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). A: blasto mastocítico grande con proyecciones mamelonadas con inclusiones vacuolares; B: en la parte superior de la fotografía, célula con una larga proyección citoplasmática.

17% y monocitos 1%. Eritroblastos: 21/100 leucocitos. La población patológica presentaba con frecuencia una morfología con citoplasma hipergranular (**Figura 1A**), algunas de ellas con la granulación concentrada en un polo (**Figura 2A**) y, de manera excepcional, tenían largos pseudópodos (**Figura 2B**). En ocasiones, el núcleo era bilobulado o en hachazo (**Figura 1B**).

El aspirado medular era hiper celular y polimórfico, con una serie eritroide del 6%, serie granulocítica del

3%, linfocitos del 2% y monocitos del 0,5%; la serie megacariocítica estaba bien representada. Se observó un 88,5% de células de aspecto atípico, de tamaño grande, con citoplasma amplio, algunos de contorno irregular con proyecciones mamelonadas y ocasionalmente vacuolados (**Figura 3A**); muy excepcionalmente ($< 1\%$) se observaron formas con proyecciones largas a modo de pseudópodos semejantes a mastocitos leucémicos (**Figura 3B**). Además, tenían un patrón granular variable, desde formas agranulares a hipergranulares, a destacar en algunas de ellas la concentración de la granulación en un polo (**Figura 4**). Los núcleos eran redondeados con la cromatina ligeramente condensada, en general sin nucléolos y a menudo multilobulados/multinucleados y de gran tamaño (**Figura 5**). Se observaron imágenes de hemofagocitosis de hematíes, únicas o múltiples (**Figura 6**). Los macrófagos presentaban signos de activación con fenómenos de fagocitosis de hematíes, eritroblastos y plaquetas, y de manera excepcional de las células atípicas descritas (**Figura 7**).

Citoquímicamente, la población leucémica no mostraba actividad para mieloperoxidasa, cloroacetatoesterasa ni alfa-naftil-acetatoesterasa; la reacción del PAS presentaba intensa positividad granular que parecía coincidir con la vacuolización periférica. Con el azul de toluidina se observó una positividad del 100%

con una franca metacromasia en la granulación, muy intensa en el área de concentración de los gránulos, aspecto característico del mastocito. El patrón de fosfatasa ácida fue positivo intenso, superponible al de los gránulos metacromáticos (**Figura 8**).

El estudio de citometría de flujo en médula ósea identificó una población de gran tamaño (FSC) y complejidad (SSC) que expresaba de manera muy intensa CD117, con un CD45 intermedio y negativa

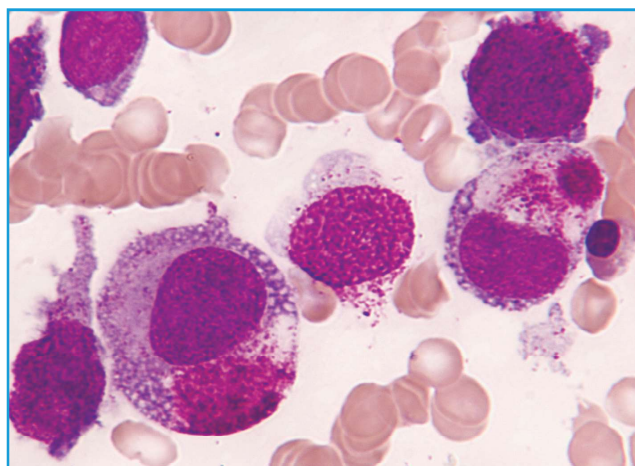


Figura 4. Aspirado de médula ósea (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). Concentración de los gránulos en un extremo del citoplasma.

para HLADR. Esta población no presentaba expresión del marcador de inmadurez CD34 y era negativa para mieloperoxidasa y marcadores de línea T (cCD3/sCD3) y B (CD19/cCD79a/CD10). En el resto del estudio inmunofenotípico destacaba la expresión intensa de CD203c, con negatividad para CD123, confirmando la línea del mastocito, con ausencia de expresión de CD25 y CD2, y expresión aberrante de CD30 (**Figura 9**).

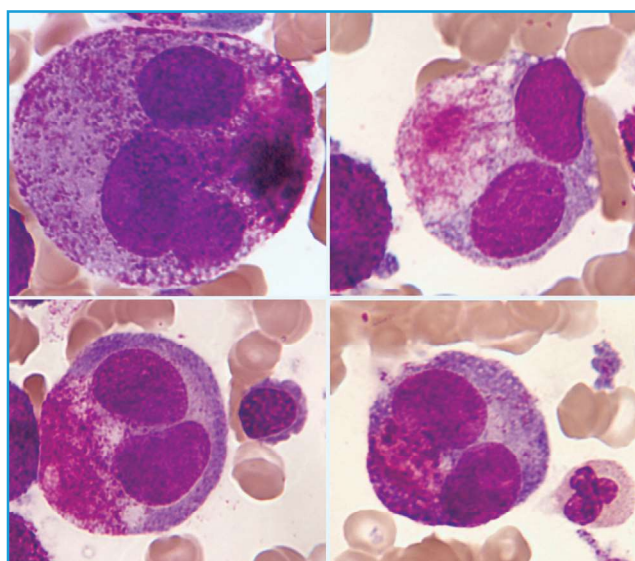


Figura 5. Aspirado de médula ósea (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). Multilobularidad/Multinuclearidad.

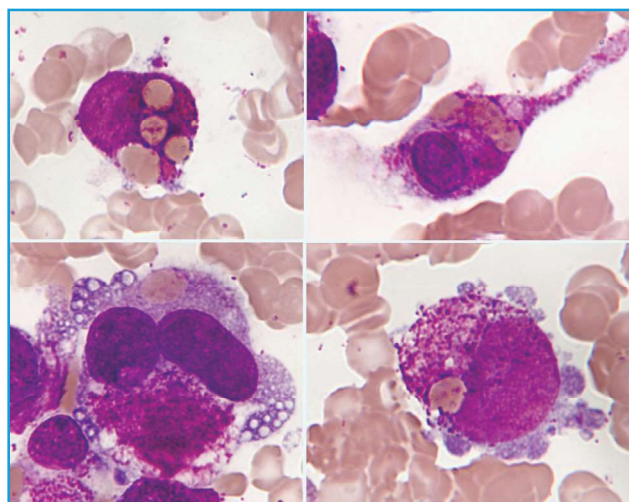


Figura 6. Aspirado de médula ósea (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). Fagocitosis de eritrocitos.

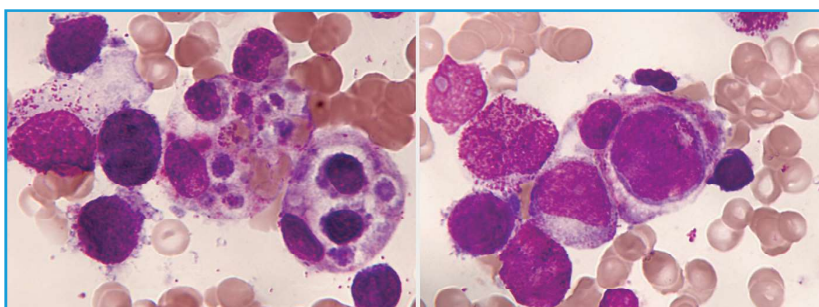


Figura 7. Aspirado de médula ósea (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$). A la izquierda, macrófagos con fagocitosis múltiple de eritroblastos y de plaquetas. A la derecha, un macrófago fagocitando una célula maligna.

› Estudio histológico de la biopsia de médula ósea

En la biopsia de médula ósea la hematoxilina eosina mostró una infiltración difusa por células medianas de citoplasma claro abundante, que en el estudio inmunohistoquímico eran cKit y triptasa positivas, y negativas para CD25. Se observó una fibrosis reticulínica de grado 2 (MF-2).

› Citogenética y estudio molecular

El estudio citogenético de la médula ósea mostró un cariotipo complejo con alteraciones numéricas, variando el número de cromosomas entre 55 y 86, y múltiples anomalías estructurales, que incluía la presencia de varios cromosomas marcadores, detectado en 12 de 20 metafases analizadas (**Figura 10**).

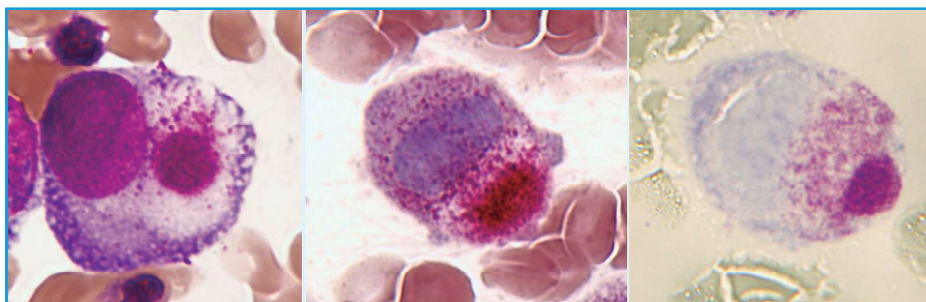


Figura 8. Aspirado de médula ósea. A la izquierda (tinción de May-Grünwald-Giemsa –MGG–, $\times 1.000$), concentración de gránulos en la región centrosómica; en el centro, positividad intensa con fosfatasa ácida; a la derecha, metacromasia con azul de toluidina.

Se realizó hibridación *in situ* fluorescente (FISH), que descartó la presencia de delección de 5q, monosomía 7/delección de 7q31, delección de p53, así como los reordenamientos *PML/RARA*, *BCR/ABL1* y *MLL*. Las mutaciones de *KIT* D816V y *FLT3-ITD* resultaron negativas por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Mediante PCR también se confirmó la ausencia del reordenamiento *PML/RARA*. Por último, se realizó un estudio de secuenciación masiva (NGS) para un panel amplio de genes implicados en neoplasia mieloide (Ion AmpliSeq™ AML CancerResearch Panel) incluidas las regiones *hotspot* del gen *KIT* (exones 8, 10, 11, 17) y 18 genes adicionales (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*), en el que no se identificaron mutaciones.

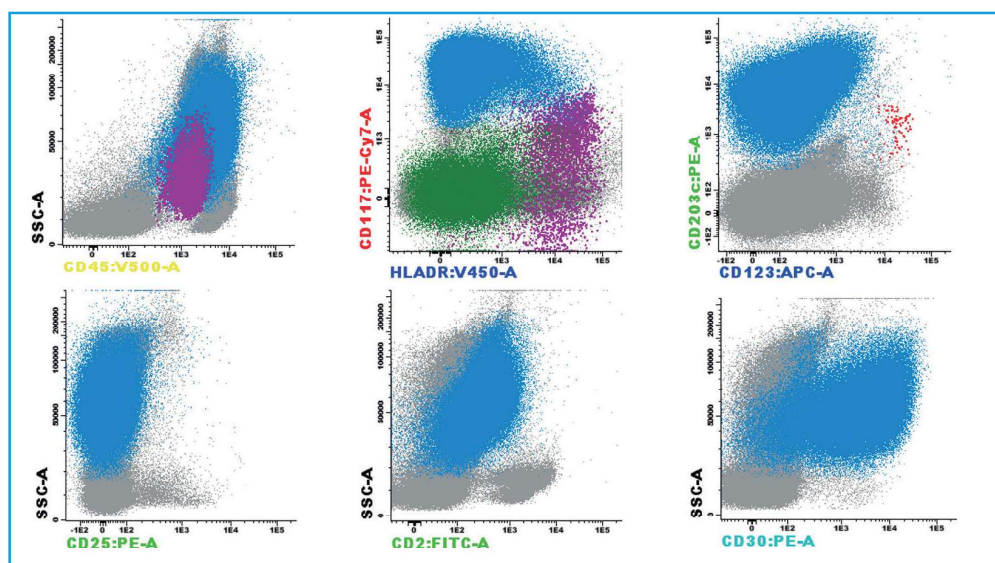


Figura 9. Citometría de flujo (médula ósea). La población de mastocitos se representa en color azul. En violeta progenitoras CD34. En verde neutrófilos. En rojo basófilos.

➤ Otras determinaciones

Con la orientación de los estudios citológico y citométrico se solicitó la determinación de triptasa sérica que resultó > 200 ng/mL (normal < 20 ng/mL).

➤ Diagnóstico

Leucemia de mastocitos (LCM), forma clásica, aguda y primaria.

➤ Evolución

La paciente recibió quimioterapia sistémica de inducción con citarabina (100 mg/m²/día $\times 5$ días) y fludarabina (50 mg intravenosos -i.v.-/día $\times 5$ días), a la que se añadió imatinib (200 mg/día), además de tratamiento con corticoides y dexclorfeniramina. Tras el inicio del primer ciclo de tratamiento, presentó síntomas severos de liberación de mediadores, con disnea, broncoespasmo, *rash* urticarial, prurito y fiebre. Antes del segundo ciclo ingresó en situación de progresión de su leucemia a pesar del tratamiento, con hepatomegalia, ascitis, edemas en miembros inferiores, derrame pleural y pericárdico, y fiebre, que requirió de su ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos. Falleció a los 2 meses y 4 días del diagnóstico por un *shock* séptico con fracaso multiorgánico y progresión de su enfermedad.

➤ Discusión

La LCM es una forma de mastocitosis sistémica (MS) avanzada que se caracteriza por presentar un número igual o superior al 20% de mastocitos patológicos en el

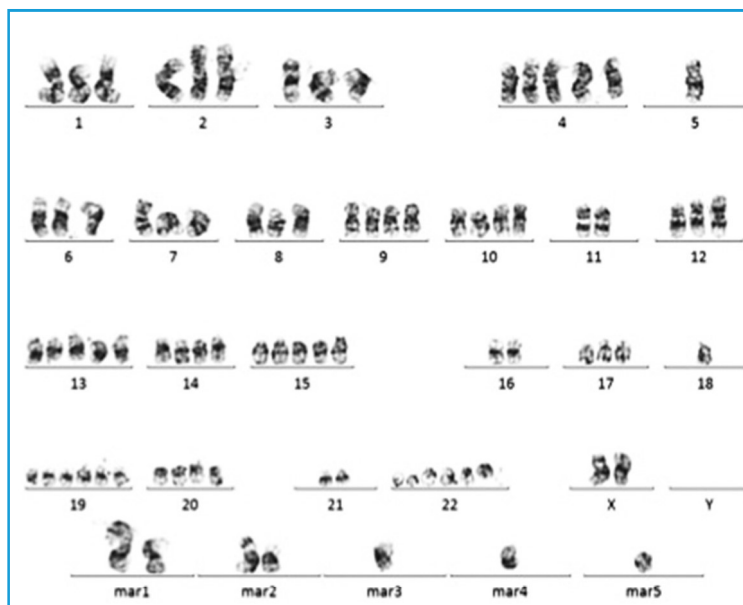


Figura 10. Cariotipo complejo (médula ósea): 55~86,XXX,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4,+mar5,inc[cp12]/46,XX[8].

aspirado de médula ósea^(1,2). Es una enfermedad rara (menos del 0,5% de las mastocitosis totales y < 1% de las MS)⁽³⁻⁵⁾ y agresiva con una supervivencia muy pobre⁽⁵⁻⁸⁾. Se caracteriza por la infiltración mastocitaria en múltiples órganos: médula ósea, hígado, bazo, tracto digestivo, hueso, etc., y es infrecuente, a diferencia de las MS indolentes, la afectación cutánea^(4,9). Los síntomas derivan tanto de la infiltración orgánica como de la activación y liberación de mediadores (*flushing*, prurito, *rash* cutáneo, fiebre, malestar, diarrea, úlcera gastroduodenal, taquicardia, dolor óseo...). El diagnóstico requiere cumplir los criterios de MS, más la presencia de $\geq 20\%$ de mastocitos en el aspirado medular^(1,2), los cuales son morfológicamente atípicos (polimorfismo,

hipogranularidad, concentración de la granulación en un polo, vacuolización, núcleos multilobulados/multinucleados y hemofagocitosis). Dentro de las LCM se reconocen la **forma clásica**, que es más infrecuente, con $\geq 10\%$ de mastocitos en sangre, y la **variante** con < 10%; además, pueden ser **primarias**, cuando aparecen *de novo*, o **secundarias** por progresión de una mastocitosis previa. Por último, se diferencia una presentación **aguda**, en la que existe habitualmente daño orgánico (hallazgos C), de una **crónica** en la que los mastocitos a menudo son maduros y el curso clínico es menos agresivo^(1,2). La biopsia de médula ósea muestra una infiltración difusa por mastocitos atípicos e inmaduros. El estudio de citometría de flujo permite la identificación de la línea del mastocito, define su estadio madurativo y determina la presencia de marcadores aberrantes como CD25 (criterio diagnóstico menor), CD2 u otros como CD30 que pueden tener utilidad como diana terapéutica⁽¹⁰⁾. Respecto al cariotipo, no se describen anomalías citogenéticas recurrentes, siendo lo más común el hallazgo de un cariotipo normal (entre el 79 y el 92%). La mutación de *KIT* se detecta hasta en un 89% de los casos, la más habitual D816V (37,5 a 68%), y es frecuente la presencia de mutaciones adicionales (68-100%), que van a tener relevancia pronóstica (*SRSF2/ASXL1/RUNX1*) hasta en el 52% de los casos⁽⁶⁻⁷⁾ (Tabla 1). En el tratamiento se emplean regímenes de quimioterapia, inhibidores de tirosina cinasa y trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos; el pronóstico es malo, con una supervivencia pobre^(1,5-7,11-14).

El caso descrito cumple criterios de MS, por tener el criterio mayor y 2 menores (elevación de triptasa

Tabla 1. Hallazgos citogenéticos y moleculares en 4 series publicadas de leucemia de células mastocíticas

Series	Pacientes	Enfermedad asociada	Mutación KIT	Mutaciones adicionales	Cariotipo	Supervivencia (mediana)
Georgin-Lavialle et al. (Blood. 2013)	51	8% (4/51)	19/28 (67%) D816V 13/28 (46%)	ND	Normal 19/23 (83%) 0 complejos	6 meses
Jawhar et al. (Haematologica. 2017)	28	71% (20/28)	25/28 (89%) D816V 19/28 (68%)	17/25 (68%) REL 13/25 (52%)*	Normal 19/24 (79%) 3 complejos (12,5%)	17 meses
Jain et al. (Leuk Res. 2017)	13	31% (4/13)	5/8 (62,5%) D816V 3/8 (37,5%)	8/8 (100%) REL 3/8 (37,5%)*	Normal 11/12 (92%) 1 complejo (8%)	31 meses
Justin Budnik et al. (Leuk Res. 2019)	75	ND	ND	ND	ND	9,4 meses

* Mutaciones relevantes (*SRSF2/ASXL1/RUNX1*)

y morfología atípica). La elevada infiltración por mastocitos en el aspirado medular (> 20%) lo cataloga como LCM. Se trata además de una forma clásica con un elevado porcentaje de mastocitos en sangre y aguda por la presencia de hallazgos C (insuficiencia medular con citopenias por la infiltración medular y hepatoesplenomegalia). Al carecer de diagnóstico previo de mastocitosis, correspondería a una forma primaria o *de novo*. Entre las atipias observadas en los mastocitos leucémicos destaca su polimorfismo, la variabilidad de su contenido granular, la frecuencia de la concentración de gránulos en un polo de la célula (constatada con el azul de toluidina y la actividad de fosfatasa ácida) la multilobularidad/multinuclearidad y la observación de eritrofagocitosis.

Con respecto al diagnóstico diferencial, la observación inicial de células hipergranulares en sangre plantea la duda con blastos promielocíticos, si bien se descarta este diagnóstico por las características atípicas de los mastocitos medulares, la citometría, la ausencia de mieloperoxidasa y de reordenamiento *PML/RARA*. Otros tipos de leucemia aguda mieloblástica, incluida la leucemia aguda de basófilos, con la que debe establecerse el diagnóstico diferencial, se excluyen por la elevada triptasa y el perfil citométrico. No hay datos citomorfológicos, fenotípicos o moleculares de la presencia de otra hemopatía acompañante, lo que descarta una LCM con una neoplasia hematológica asociada, y se diferencia de una MS agresiva por la presencia de $\geq 20\%$ de mastocitos en la médula ósea. Por último, al cumplir criterios de MS, queda excluida una leucemia mielomastocítica⁽¹⁵⁾.

La supervivencia en este caso fue muy corta y destacó en su estudio la ausencia de mutaciones en *KIT*, la ausencia de mutaciones adicionales de mal pronóstico y el hallazgo de un cariotipo complejo. El impacto pronóstico del perfil mutacional en las MS avanzadas está bien establecido, especialmente la presencia de mutaciones en *SRSF2*, *ASXL1* y *RUNX1*⁽¹⁶⁻¹⁸⁾, y en una serie de LCM también se demuestra su valor pronóstico adverso⁽⁶⁾. Sin embargo, la información disponible en cuanto al posible papel pronóstico del cariotipo es escasa. En una serie reciente de 109 MS se aporta valor pronóstico independiente al hallazgo de un cariotipo de riesgo en MS avanzadas, aunque esta serie incluye 18 LCM y solo 4 presentaban anomalías en el cariotipo, siendo todos casos con otra neoplasia hematológica asociada, a diferencia de este caso⁽¹⁹⁾. En otro estudio posterior, sin

embargo, no se comprueba el papel pronóstico independiente del cariotipo⁽²⁰⁾.

➤ Conclusiones a recordar

- La morfología de los mastocitos leucémicos hipergranulares en sangre plantea el diagnóstico diferencial con la leucemia promielocítica aguda, que es descartada fundamentalmente por la ausencia de actividad de mieloperoxidasa y del reordenamiento *PML-RARA*.
- Son características típicas de los mastocitos neoplásicos su polimorfismo, granularidad variable, la concentración de gránulos en un polo de la célula, metacromasia con azul de toluidina, largos pseudópodos, multilobulación/multinuclearidad, presencia de vacuolas y hemofagocitosis. Además, el estudio por citometría de flujo de estos mastocitos atípicos suele mostrar patrones de expresión anómalos.
- En este caso, se valoró la posible asociación de un cariotipo complejo, como posible factor de mal pronóstico ligado a una supervivencia muy corta, dado que no presentaba alteraciones moleculares.

➤ 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. Horny HP, Akin C, Arber DA, Peterson LC, Tefferi A, Metcalfe DD, et al. Mastocytosis. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (eds.). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Revised 4th edition. Lyon: IARC; 2017. pp. 61-9.
3. 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.
4. 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.
5. Georgin-Lavialle S, Lhermitte L, Dubreuil P, Chandesris MO, Hermine O, Damaj G. Mast cell leukemia. *Blood*. 2013;121(8):1285-95.
6. 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 Jun;102(6):1035-43.
7. 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.

8. Budnik J, Milano MT. A registry-based analysis of survival outcomes in mast cell leukemia. *Leuk Res.* 2019 Jan 16;78:24-8.
9. Valent P, Horny HP, Escribano L, Longley BJ, Li CY, Schwartz LB, et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res.* 2001 Jul;25(7):603-25.
10. 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.
11. Gotlib J, Kluin-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.
12. 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.
13. 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.
14. Ustun C, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Reiter A, Sperr WR, George T, et al. Advanced systemic mastocytosis: from molecular and genetic progress to clinical practice. *Haematologica.* 2016;101:1133-43.
15. 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.
16. Pardanani A, Lasho T, Elala Y, Wassie E, Finke C, Reichard KK, et al. Next-generation sequencing in systemic mastocytosis: derivation of a mutation-augmented clinical prognostic model for survival. *Am J Hematol.* 2016;91:888-93.
17. Jawhar M, Schwaab J, Schnittger S, Meggendorfer M, Pfeirrmann M, Sotlar K, et al. Additional mutations in SRSF2, ASXL1 and/or RUNX1 identify a high-risk group of patients with KIT D816V(+) advanced systemic mastocytosis. *Leukemia.* 2016; 30:136-43.
18. Jawhar M, Schwaab J, Hausmann D, Clemens J, Naumann N, Henzler T, et al. Splenomegaly, elevated alkaline phosphatase and mutations in the SRSF2/ASXL1/RUNX1 gene panel are strong adverse prognostic markers in patients with systemic mastocytosis. *Leukemia.* 2016;30:2342-50.
19. Naumann N, Jawhar M, Schwaab J, Kluger S, Lübke J, Metzgeroth G, et al. Incidence and prognostic impact of cytogenetic aberrations in patients with systemic mastocytosis. *Genes Chromosomes Cancer.* 2018 May;57(5):252-9.
20. Shah S, Pardanani A, Elala YC, Lasho TL, Patnaik MM, Reichard KK, et al. Cytogenetic abnormalities in systemic mastocytosis: WHO subcategory-specific incidence and prognostic impact among 348 informative cases. *Am J Hematol.* 2018 Dec;93(12):1461-6.