



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2017-2018

CASOS CLÍNICOS DE BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA

Ed. Cont. Lab. Clin 35: 46 - 54

PACIENTE DE 82 AÑOS CON NEUTROPENIA Y TROMBOPENIA.

Dra Maite Serrando

Laboratori Clínic ICS Girona; Hospital Universitari Dr Josep Trueta; Girona.

EXPOSICIÓN DEL CASO

Historia clínica

Paciente varón de 82 años de edad, con antecedentes de Diabetes tipo II en tratamiento actual con antidiabéticos orales (Metformina), bien controlada, sin complicaciones. Vive con su mujer, es totalmente independiente para las actividades básicas diarias. Actualmente en tratamiento de hipertensión arterial (HTA) buenos controles. Destaca algún episodio de claudicación intermitente, valorado por cirugía vascular en 2014 y en tratamiento desde entonces con ácido acetilsalicílico y Simvastatina.

Como antecedentes quirúrgicos destaca hemorroidectomía hace 40 años, Dupuytren en dedo de la mano derecha en el 2009 y fimosis intervenida hace dos semanas.

Paciente en seguimiento de anemia detectada de forma ambulatoria hace aproximadamente tres meses.

Acude a su centro de atención primaria para control y revisión; no refiere cambios clínicos, buen estado general, vida activa adaptada a la edad. Se solicitan hemograma y bioquímica básica.

Datos de laboratorio:

Eritrocitos 4,25 M/mcL, Hemoglobina 13,4 g/dL, Hematocrito 38 %, VCM 89,6 fL, HCM 32 pg, CHCM 35 g/dL, ADE 14,1 %, Plaquetas 94 K/mcL, Leucocitos 3,05 K/mcL, Neutrófilos 24 %, Linfocitos 73,3 %, Monocitos 1,4 %, Eosinófilos 0,4 %, Basófilos 0,9 %, Neutrófilos 0,7 K/mcL, Linfocitos 2,2 K/mcL, Monocitos 0,0 K/mcL, Eosinófilos 0,0 K/mcL y Basófilos 0,0 K/mcL.

Glucosa 130 mg/dL, Creatinina 1,05 mg/dL; Hb A1c 6,3 %; resto sin alteraciones destacables.

VALORACIÓN DEL HEMOGRAMA:

- Discreta trombopenia
- Discreta leucopenia con neutropenia (fórmula del analizador pendiente de comprobar al microscopio óptico por la bicitopenia). En las Figuras 1 y 2 se puede valorar la imagen de dispersión del diferencial leucocitario (WDF) y del canal de detección de células inmaduras (WPC).

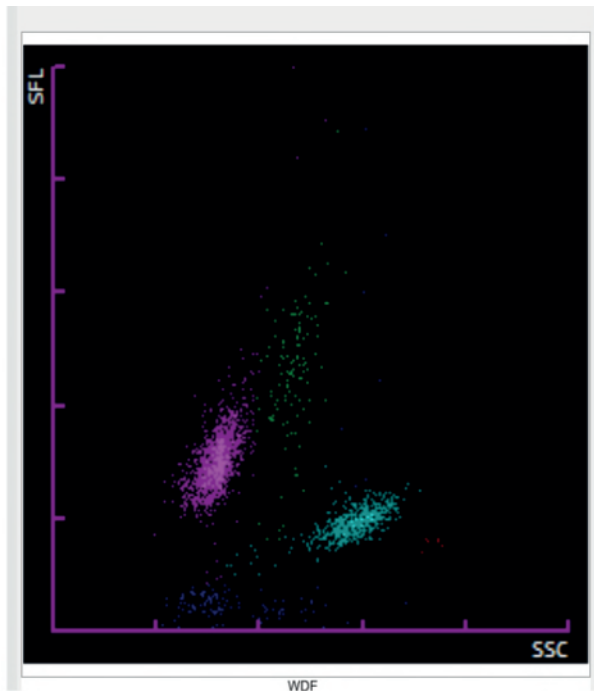


Figura 1: Imagen del canal WDF (diferencial leucocitario) en el analizador Sysmex XN; dispersión de las poblaciones leucocitarias con discreta presencia de células de alta fluorescencia de la población de monocitos. El analizador muestra la alarma Abnormal lympho/Blast, por lo que realiza el retest en el canal WPC.

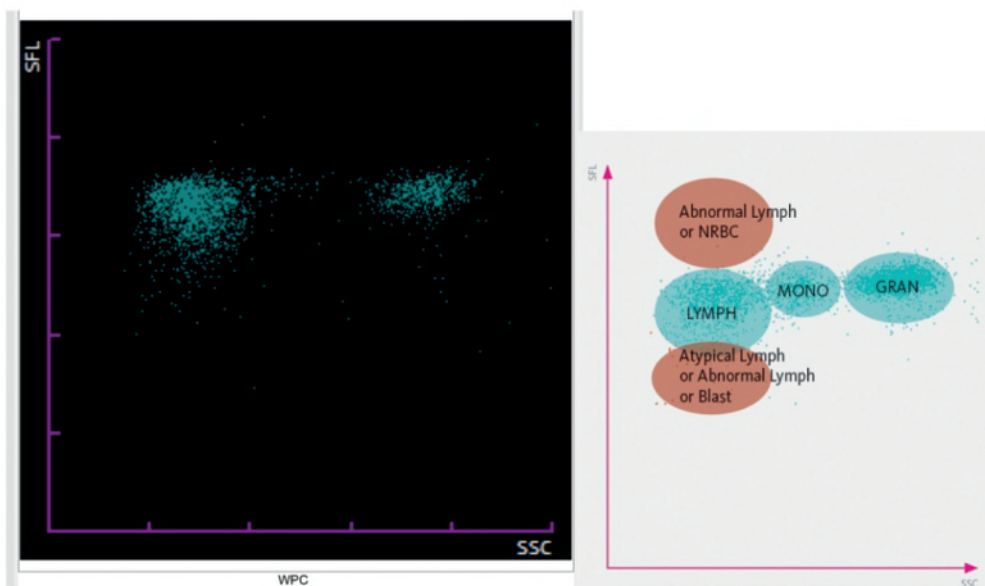


Figura 2: Imagen del canal de detección de células inmaduras WPC en el analizador Sysmex XN; se aprecia en la población de la izquierda correspondiente a los linfocitos como población mayoritaria; en la parte inferior discreta dispersión si apreciarse presencia de blastos.

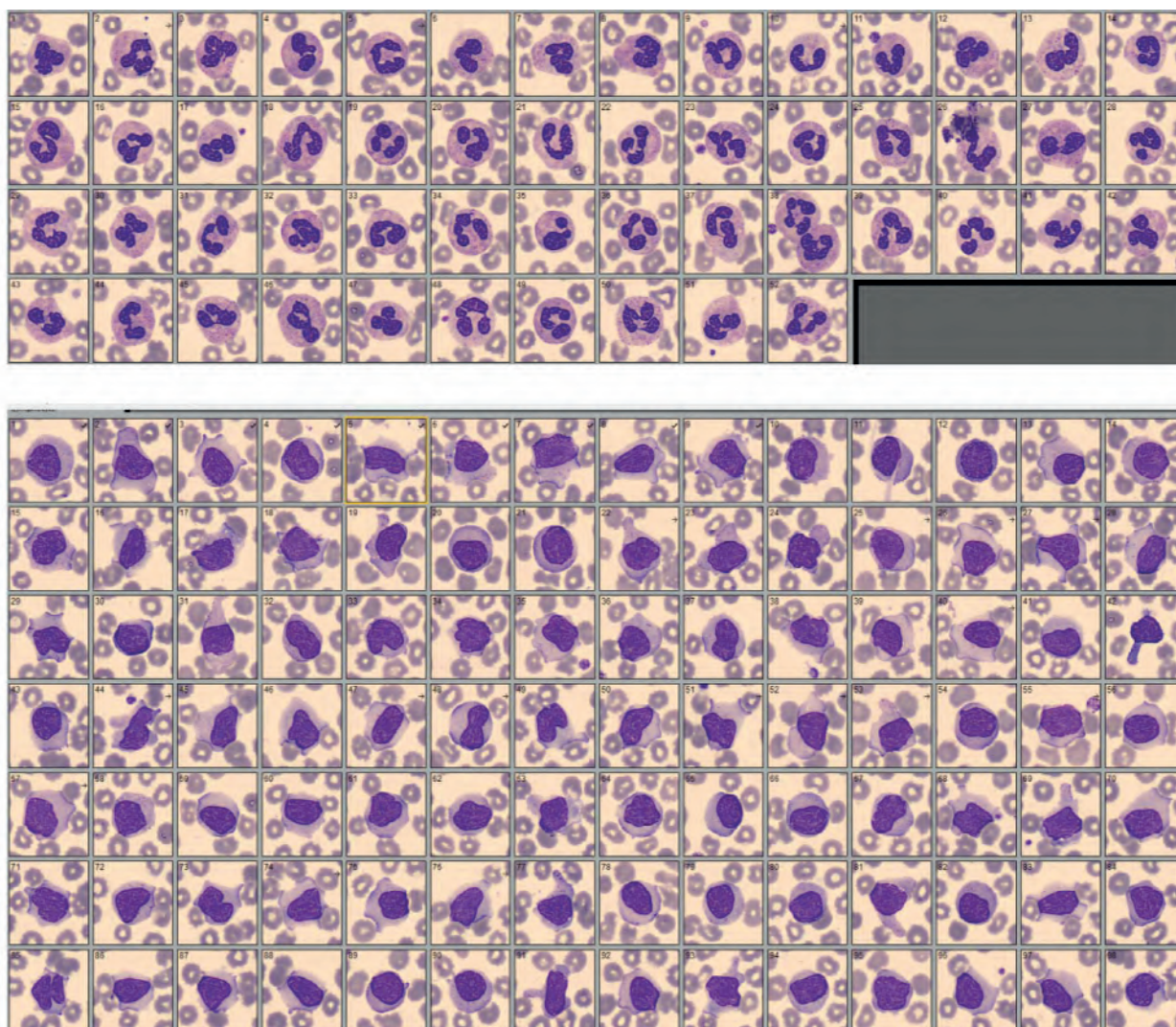


Figura 3: Imágenes de la morfología en sangre periférica en CellaVision DM96; se comprueba la neutropenia sin más alteraciones destacables; ausencia de elementos inmaduros.

Se realiza interconsulta con el servicio de Hematología; se cita al paciente en tres semanas en consultas externas para estudio de bicitopenia (en la Figura 3 se puede valorar el aspecto citomorfológico leucocitario).

Episodio actual

A los 10 días de su consulta, acude de urgencia a su centro de primaria por mal estar general, fiebre no termometrada, sensación distérmica y astenia. No refiere pérdida de peso ni sudoración nocturna.

Destaca un pequeño hematoma en la región testicular relacionada con la reciente intervención de fimosis pero que no mejora.

En la exploración física destaca discreta palidez de piel y mucosas, no se palpan visceromegalias ni adenopatías.

Valoración en urgencias

Paciente hemodinámicamente estable, afebril y sin sintomatología asociada. Constantes mantenidas y leve deshidratación. Petequias en extremidades inferiores (EEII) y paladar. Equimosis en dorso de mano derecha, pliegue cubital derecho y EEII. Edemas con fovea bimaolares. No se palpan adenopatías ni visceromegalias.

Datos de laboratorio:

Eritrocitos 2,07 M/mcL, Hemoglobina 6,7 g/dL, Hematocrito 20 %, VCM 98,6 fL, HCM 32 pg, CHCM 33 g/dL, ADE 17 %, Plaquetas 7 K/mcL, Leucocitos 22,36 K/mcL, Neutrófilos 16,9 %, Linfocitos 18,5 %, Monocitos 61 %, Eosinófilos 0,72 %, Basófilos 0,08 %. Neutrófilos 3,80 K/mcL, Linfocitos 4,13 K/mcL, Monocitos 13,63 K/mcL, eosinófilos 0,72 K/mcL y basófilos 0,0 K/mcL, Reticulocitos 1,8 %.

Velocidad de sedimentación globular 41 mm (referencia 1-15).

En las Figura 4 y 5 se aprecia la distribución anómala de la población leucocitaria así como las alarmas que el analizador detectó en el paciente.

Glucosa 122 mg/dL, Creatinina 1,2 mg/dL, lactato deshidrogenasa 520 U/L (referencia 135-225), PCR 1,47 mg/dL (referencia 0-0,5), Bilirrubina total 0,46 mg/dL (referencia 0,1-1,2), GOT 21 U/L y GPT 27 U/L (referencia 0-40).

Se realizó frotis de sangre periférica (SP).

Se solicitó perfil de coagulación básico, siendo el resultado de Tasa Protrombina (INR) 1,29 (1-1,3), tiempo de cefalina (TTPA) 25,3 segundos (25-39), tiempo de cefalina (ratio) 0,8 (0,8-1,3), fibrinógeno deducido 233 mg/dL (150-450), Dímero D 17.355 ng/ml.

Proteinograma-Globulina alfa-2 8,3 % (7,1-11,8), Proteinograma-Globulina beta 13,5 % (8,4 – 13,1); Proteinograma-Globulina gamma 11,7 % (11,1-18). IgA 224,6 mg/dL (70 - 400). IgG 646 mg/dL (700 – 1400) . IgM 39,8 mg/dL [40 - 230].

Serología: Antígeno superficie Hepatitis B Negativo. Anticuerpo core Hepatitis B POSITIVO. Ac. Superficie Hepatitis B 0,1 U/L (< 10). Ac. Virus Hepatitis C Negativo.

Anticuerpos VIH Negativos. Ac. IgG Citomegalovirus 214,8 AU/mL (< 15). Ac. IgM Citomegalovirus Negativo.

Ecocardiograma, radiografía de tórax y espirometría normales.

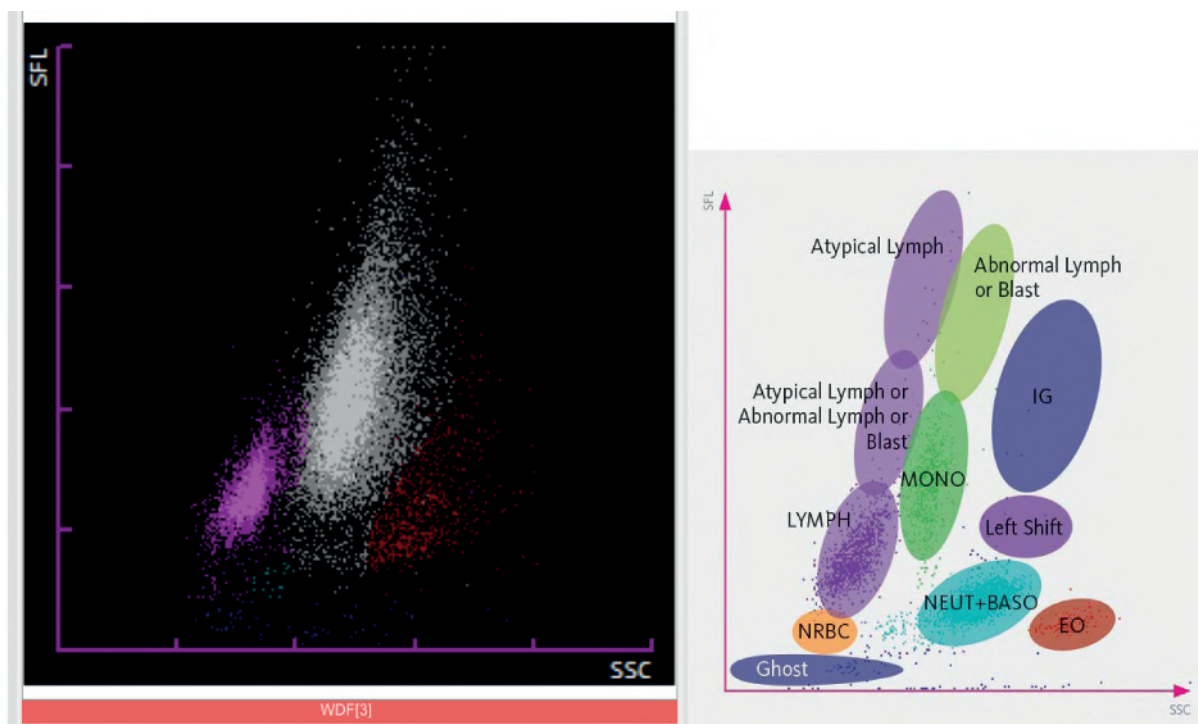


Figura 4: Imagen del canal WDF (diferencial leucocitario) en el analizador Sysmex XN; se observa una población celular única de color gris que agrupa monocitos y neutrófilos. No se consiguen apreciar las dos poblaciones separadas. Dispersión anormal del diferencial leucocitario.

Test	Result	Abn. Flag
Flags Profile		
Abn_Lympho?	0	
Atypical_Lympho?	0	
Blasts?	0	
Fragments?	30	
HGB_Defect?	70	
Iron_Deficiency?	70	
Left_Shift?	300	A
PLT_Clumps?	40	
RBC_Agglutination?	80	
Turbidity/HGB_Interference?	80	

Figura 5: Alarmas en el analizador, destaca la detección de desviación izquierda con un “score” máximo, valor 300. Esta alarma suele aparecer en los pacientes en los que se aprecian en sangre periférica elementos inmaduros especialmente bandas o cayados.

En la Figura 6 podemos apreciar la detección de células inmaduras en el canal WPC del analizador; es un canal muy útil en la selección de los pacientes candidatos a frotis para la identificación de precursores inmaduros. En las Figuras 7 y 8 se observan al detalle las imágenes al microscopio óptico del paciente del episodio actual.

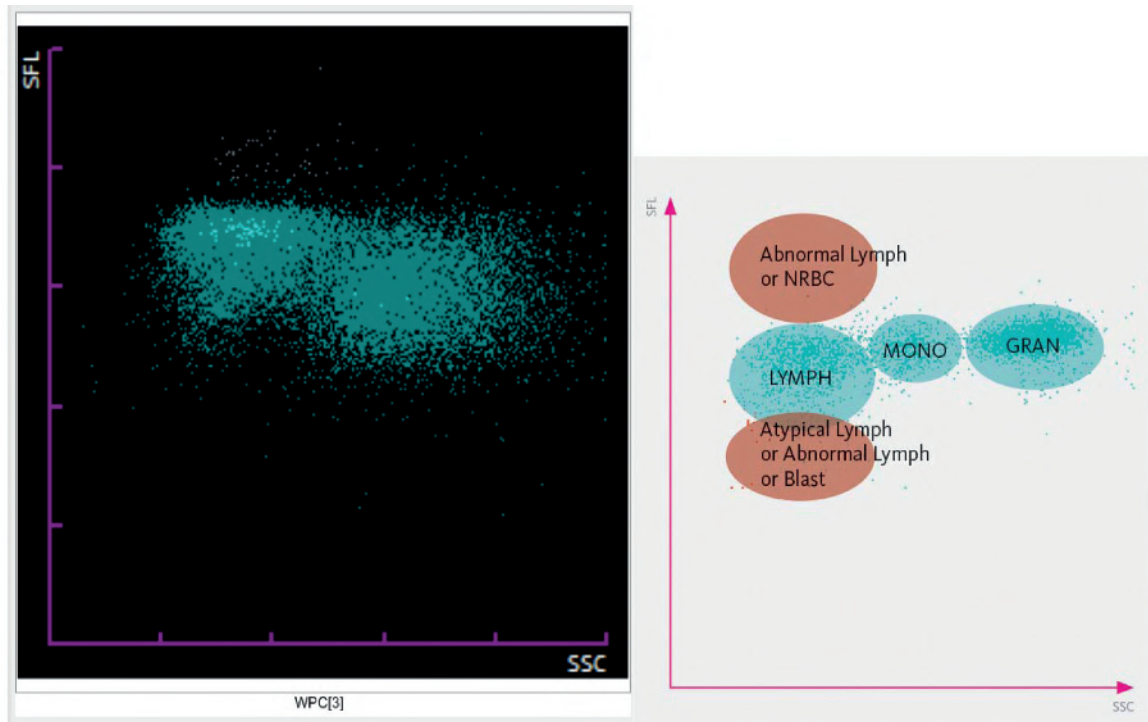


Figura 6: Imagen del canal de detección de células inmaduras WPC en el analizador Sysmex XN; se aprecia en la población de la derecha correspondiente a los granulocitos como población mayoritaria; en la parte inferior discreta dispersión sin apreciarse presencia de blastos. Por la parte superior derecha se aprecian células de mayor tamaño y mayor captación de fluorescencia, compatibles según el esquema con células reactivas.

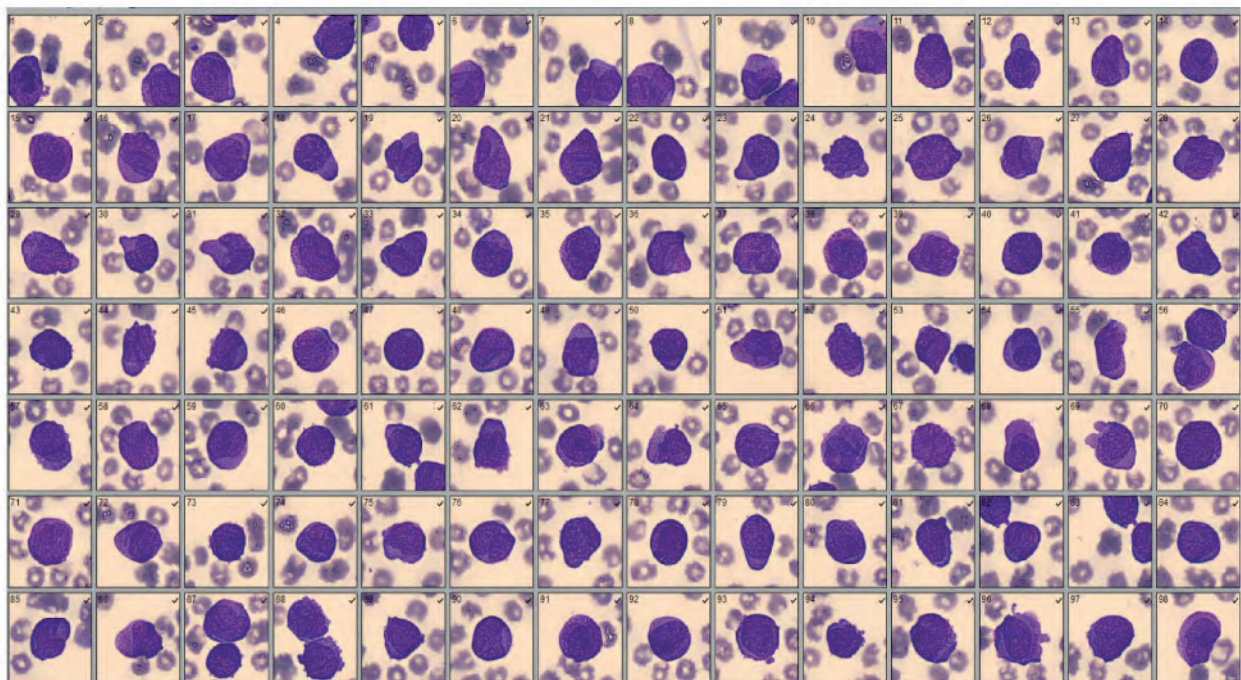


Figura 7: Imágenes de la sangre periférica en CellaVision DM96; se observa una población de células de aspecto anormal, de gran tamaño y aspecto inmaduro.

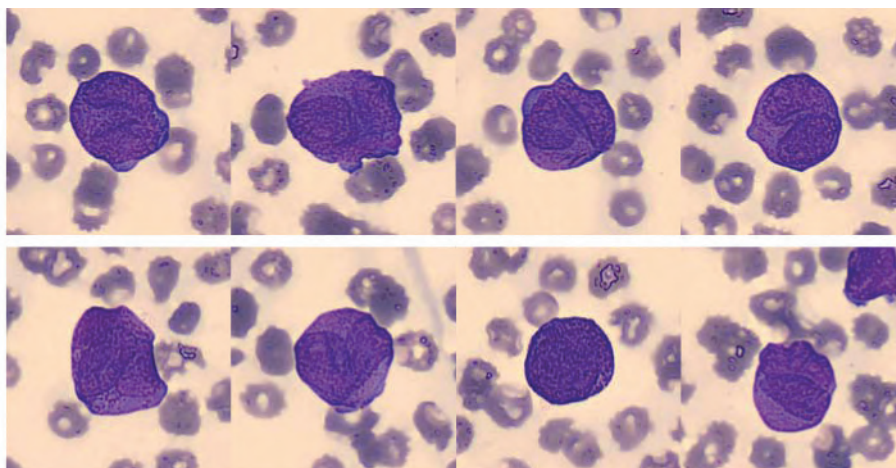


Figura 8: Imágenes del CellaVision DM96 a más aumento donde se puede apreciar la granulación celular primaria basófila, con núcleos bilobulados, partidos y con nucleolo.

Al microscopio óptico convencional:

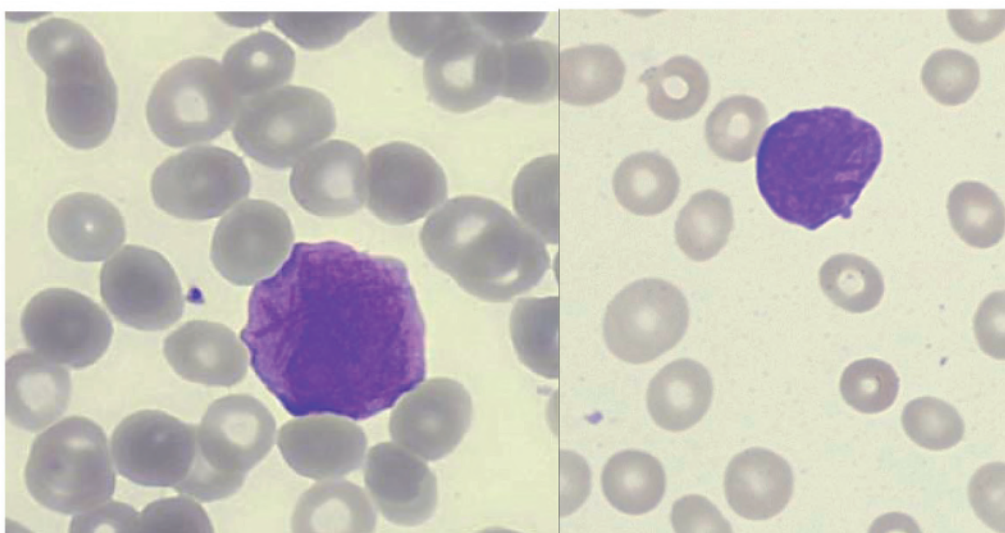


Figura 9: Imágenes al microscopio óptico, gran aumento. Se aprecian astillas en el citoplasma celular; granulación hiperbasófila. Morfología compatible con Leucemia Aguda Promielocítica (M3).

Las imágenes del microscopio óptico (Figura 9) son claramente sugestivas de proceso hematológico agudo maligno por lo que se decide avisar al hematólogo de guardia e ingresar al paciente en el servicio de Hematología para valoración clínica y decisión terapéutica.

ORIENTACIÓN DIAGNÓSTICA: LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA (M3)

Actitud terapéutica en la urgencia:

- Transfusión de dos concentrados de hematíes y un pool de plaquetas (Furosemda entre las dos transfusiones).
- Control estricto de constantes y diuresis.
- Programada transfusión de pool de plaquetas en 12 horas.

- Si fiebre > 38°C solicitar hemocultivos e inicio de antibiótico según foco.
- Se le explica al paciente la sospecha diagnóstica y el motivo del ingreso, la intención de realizar un aspirado de médula ósea (MO) y el pronóstico. Entiende la información y acepta.

Para la confirmación diagnóstica del proceso hematológico se realizan las siguientes pruebas complementarias en médula ósea:

- **Aspirado Medular** donde se observan abundantes células de aspecto blástico con abundantes astillas y de características similares a las observadas en SP. En inmunofenotipo de médula ósea se objetiva una población blástica del 85 % que expresa marcadores de inmadurez CD123/CD45 ++ con CD34 negativo, junto a la expresión de marcadores granulocitarios CD117++/MPO débil/CD13 y CD33 intensos, CD64 débil y CD15 negativo. Destaca un HLA-DR negativo. Resto de marcadores monocíticos, eritroides, megacariocíticos y linfoides negativos, excepto CD19. Fenotipo compatible con LAM tipo M3 con expresión aberrante de CD19, a correlacionar con estudio genético.
- El **cariotipo** muestra la alteración citogénica t (15;17)(q24;q21).
- El estudio por **FISH** confirma el reordenamiento PML/RAR positivo.
- Estudio de **biología molecular en médula ósea** confirma gen PML/RAR isoforma BCR. No se detecta la duplicación en tándem del dominio JM del gen FLT-3.

DIAGNÓSTICO DE CONFIRMACIÓN: Leucemia Promielocítica aguda (M3) de alto riesgo.

Se inicia tratamiento con Ácido transretinoico (ATRA) cada 12 horas vía oral, dexametasona cada 12 horas vía intravenosa (iv) e Idarrubicina a días alternos vía iv.

A los 15 días presenta una escara necrótica extensa a nivel escrotal derecho compatible con gangrena de Fournier. En el frotis de la herida se aislaron bacilos Gram negativos (BGN). Se inicia tratamiento empírico inmediato con Meropenem (1 gr/8 h iv) y Vancomicina (1 gr/12 h iv). A la mañana siguiente se apreciaron múltiples lesiones de ectima gangrenosa en tronco y extremidades. Se aíslan en el frotis de las heridas BGN. Se identificó el agente causal de la infección, *Pseudomona aureoginosa*.

Empeoramiento general en las siguientes 24 horas, con fiebre, fallo renal y cuadro agudo de desorientación y bradipsiquia muy evidente. Se decide parar tratamiento de quimioterapia y proceder a medidas paliativas. El paciente fallece a las pocas horas del inicio del cuadro clínico compatible con shock séptico.

BIBLIOGRAFÍA

Bain BJ; Diagnosis from the blood smear. N Engl J Med. 2005 Aug 4;353(5):498-507.

Stewart C, Nicholson JKA (eds). Immunophenotyping. Wiley-Liss Inc, New York 2000; 239-59.

Orfao A, Ruiz-Arguelles A, Lacombe F, Ault K, Basso G, Danova M. Flow cytometry: its applications Haematologica 1995; 80: 69-81.

Fisher RI, Miller TP, O'Connor OA. Diffuse aggressive lymphoma. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2004:221-36.

Hoffbrand's Essential Hematology. Willey Blackwell Seventh Edition, 2016

Kandice Kottke-Marchant (Editor), Bruce Davis (Editor). Laboratory Hematology Practice; ISBN: 978-1-4051-6218-0, April 2012

COMISIÓN DE BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA

Anna Merino (*Presidenta*), M^a José Alcaide, Eduardo Arellano, Laura Bigorra, Cristian Morales, Javier Nieto, M^a Elena Redin, Maite Serrando, María Sanz de Pedro, Xavier Tejedor, Eloisa Urrechaga, Teresa Villalba.

ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, A. Merino, A. Moreno, A. Peña, N. Rico, M. Rodríguez (*Presidente*), MC. Villà.

ISBN 978-84-697-4015-6 – Abril 2018 (recibido para publicación Junio 2017).

RESOLUCIÓN DEL CASO

El diagnóstico multidisciplinar de la leucemia aguda mieloide (LAM) ha cambiado sustancialmente durante la última década. Actualmente la citogenética y la biología molecular son indispensables en el algoritmo diagnóstico de esta enfermedad tanto para la identificación de anomalías específicas como para la clasificación de las LAM. Estas técnicas nos aportan información fundamental que será necesaria para la evaluación de la remisión y la progresión de la enfermedad.

Los sorprendentes desarrollos en la biología molecular y citogenética ha permitido realizar una clasificación de la enfermedad atendiendo a su alta heterogeneidad genética. Sin embargo, a pesar de estos avances, la morfología sigue siendo crucial dando una base inicial en el diagnóstico sólida a estas innovaciones.

La LAM es el resultado de una clona neoplásica proliferativa en las células hematopoyéticas que invaden la médula ósea, la sangre periférica y en algunas ocasiones también tejido. Se observa una altísima heterogeneidad en la clínica, la morfología, la genética y la respuesta al tratamiento. La incidencia de la enfermedad es alrededor de 2,5-3 casos por 100.000 habitantes por año, con una mediana de edad de 65 años y ligero predominio en varones. En niños menores de 15 años representa casi el 20 % de los casos de leucemia aguda. La Organización Mundial de la Salud (OMS) revisa de forma periódica la clasificación de esta enfermedad según la citogenética y la morfología (Tabla 1).

<ul style="list-style-type: none"> • AML with certain genetic abnormalities <ul style="list-style-type: none"> – t(8;21), t(16), inv(16), chromosome 11 changes – t(15;17) as usually seen with AML M3 • AML with multilineage dysplasia (more than one abnormal myeloid cell type is involved) • AML related to previous chemotherapy or radiation • AML not otherwise specified <ul style="list-style-type: none"> – undifferentiated AML (M0) – AML with minimal maturation (M1) – AML with maturation (M2) – acute myelomonocytic leukemia (M4) – acute monocytic leukemia (M5) – acute erythroid leukemia (M6) – acute megakaryoblastic leukemia (M7) – acute basophilic leukemia – acute panmyelosis with fibrosis – myeloid sarcoma (also known as granulocytic sarcoma or chloroma) • Undifferentiated or biphenotypic acute leukemias (leukemias that have both lymphocytic and myeloid features. Sometimes called ALL with myeloid markers, AML with lymphoid markers, or mixed lineage leukemias.)

Tabla 1: Clasificación de las LAM (WHO 2008).

La clasificación actual de la OMS (WHO 2016, siglas en inglés) hace referencia a las mutaciones detectadas en esta enfermedad considerando la respuesta al tratamiento y el pronóstico a 5 años como factores más relevantes.

Siguen en vigor los criterios citomorfológicos de esta entidad propuesta en los años setenta por el grupo franco-anglo-estadounidense (FAB), especialmente en la primera

fase del diagnóstico de la enfermedad (Tablas 2 y 3). A menudo el primer contacto del enfermo con la medicina es el laboratorio (hemograma y morfología de sangre periférica).

FAB classification of acute myeloblastic leukaemia

	<p>M0 Acute myeloblastic leukaemia with minimal differentiation</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p>
<p><i>Morphology:</i></p>	<p>Can resemble LLA-L2 blasts. Medium-sized blasts, rounded nucleus, fine chromatin, basophilic non-granular cytoplasm, prominent nucleoli.</p>	<ul style="list-style-type: none"> •CD13 + •CD33 + •CD11b + •CD11c + •CD14 + •CD15 +
<p><i>Photo courtesy of: Acute myeloid leukemia pathophysiology, 2012</i></p>		
	<p>M1 Acute myeloblastic leukaemia without maturation</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p>
<p><i>Morphology:</i></p>	<p>Medium-sized blasts with high nucleocytoplasmic (n:c) ratio, rounded nuclei with immature, dispersed chromatin with one or more prominent nucleoli. Blasts can show fine azurophilic granulation or isolated Auer rods in the cytoplasm in 5% to 10% of cases</p>	<ul style="list-style-type: none"> •MPO + •CD13 + •CD33 + •CD117+ •CD34 +/-
	<p>M2 Acute myeloblastic leukaemia with maturation</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p>
<p><i>Morphology:</i></p>	<p>Small to medium-sized blasts with high nucleocytoplasmic (n:c) ratio and rounded nuclei sometimes located in a corner of the cytoplasm. The nucleus shows dispersed, immature chromatin with one or more nucleoli. The cytoplasm is basophilic and can contain traces of primary azurophilic granulation or isolated Auer rods.</p>	<ul style="list-style-type: none"> •MPO + •CD34 +/- •CD13 + •CD15 + •HLA-DR +/- •Sudan black + •CD117 +/-
	<p>M3 Promyelocytic leukaemia</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p>
<p><i>Morphology:</i></p>	<p>Abundant, intensely azurophilic granulation. The nucleus is usually monocytic in appearance (reniform) and is either irregular or bilobed with a deep cleft. Scarcely basophilic cytoplasm due to the proliferation of azurophilic granulation. Some atypical promyelocytes also contain elongated or splinter-shaped crystalline cytoplasmic inclusions specific to this type of leukaemia. These usually form clumps, but differ from Auer rods in that they show a tubular substructure on electronic microscopy.</p>	<ul style="list-style-type: none"> •CD13 + •CD33 + •HLA-DR - •CD34 -

Tabla 2: Clasificación de las LAM según la FAB, combinando los criterios morfológicos de SP y MO con el inmunofenotipo.

FAB classification of acute myeloblastic leukaemia

	<p>M4</p> <p>Acute myelomonocytic leukaemia</p> <p><i>Morphology:</i></p> <p>Large blasts, moderate nucleocytoplasm (n:c) ratio and variable basophilia. The nucleus may be rounded, kidney-shaped or irregular. Nucleoli are usually prominent.</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p> <ul style="list-style-type: none"> •CD13 + •CD15 + •CD33 + •CD11b + •CD11c + •CD14 + •CD64 + •CD4 +
	<p>M5</p> <p>Acute monocytic leukaemia</p> <p><i>M5a acute monoblastic leukaemia:</i> Large blasts with rounded nucleus and dispersed, immature chromatin (1-3 nucleoli) and moderately large and intensely basophilic cytoplasm. The cytoplasm may show some Auer rods and/or prolongations and granulations.</p> <p><i>M5b acute monocytic leukaemia</i> Promonocytes have a rounded or kidney-shaped nucleus with a less basophilic cytoplasm that is more highly granulated than monoblasts and contains some vacuoles. A findings of erythrophagocytosis together with monocytic blasts suggests a t(8;16) translocation.</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p> <ul style="list-style-type: none"> •CD14 + •CD68 + •CD4 + •CD11c + •HLA-DR + •CD64 +
	<p>M6</p> <p>Acute erythroid leukaemia</p> <p><i>M6a erythroid leukaemia with proliferation of mixed blasts:</i> Over 50% erythroid precursors and around 30% myeloblasts. Morphology of erythrocytes in peripheral blood is greatly changed, with schistocytes, "pincered" or mushroom-shaped cells, and spiculated echinocyte and acanthocyte cells.</p> <p><i>M6b pure erythroid leukaemia:</i> Erythroids make up 80% of bone marrow cells, with less than 3% myeloid cells. Erythrocytes in peripheral blood consist of macrocytes, basophilic stippling, Howell-Jolly bodies or Cabot rings.</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p> <ul style="list-style-type: none"> •CD13 + •CD33 + •CD15 + •Glycophorin A + •Glycophorin C +
	<p>M7</p> <p>Acute megakaryocytic leukaemia</p> <p><i>Morphology:</i></p> <p>Highly immature, polymorphic blasts. The nucleus is eccentric with dispersed, reticulated chromatin and 1-3 prominent nucleoli. The cytoplasm is non-granular, basophilic, and very similar in appearance to platelets, with pseudopods or granulations. Micromegakaryocytes and fragments of megakarioblasts are seen in peripheral blood (giant platelets, some highly degranulated).</p>	<p><i>Immunophenotype</i></p> <ul style="list-style-type: none"> •CD41 + •CD61 + •CD42 + •CD13 + •CD33 + •CD34 +

Tabla 3: Clasificación de las LAM según la FAB, combinando los criterios morfológicos de SP y MO con el inmunofenotipo.

En el caso clínico que nos ocupa el diagnóstico precoz citomorfológico es especialmente importante dado el factor pronóstico que implica el inicio temprano del tratamiento y la potencial curabilidad de la entidad. La leucemia promielocítica aguda (LPA) es una entidad que tiene rasgos altamente distintivos comparada con el resto de LAM, tanto en el aspecto clínico, morfológico e incluso terapéutico. Se reconoció al final de los años 50 como entidad clínico-citológica asociada a fenómenos hemorrágicos graves como consecuencia de la coagulación intravascular diseminada (CID) asociada.

La LPA clásica suele acompañarse de una cifra baja de leucocitos en SP, lo que dificulta su diagnóstico. Las células que proliferan muestran una morfología muy característica y se denominan promielocitos atípicos (hipergranulares). Puede cursar con accidentes hemorrágicos muy graves por CID.

Los promielocitos atípicos presentan una granulación intensamente azurófila y muy abundante. El núcleo suele ser de aspecto monocitoide (reniforme) y con un perfil bilobulado (en hachazo) con la presencia de una hendidura amplia, o bien de perfil irregular. El citoplasma es poco basófilo debido al elevado contenido de granulación azurófila. Algunos de los promielocitos atípicos contienen además inclusiones citoplasmáticas cristalinas alargadas o astillas (Figura 10), específicas de este tipo de leucemia, que suelen disponerse en cúmulos y que difieren de los bastones de Auer por la detección de una subestructura tubular cuando se estudian mediante microscopía electrónica de transmisión.

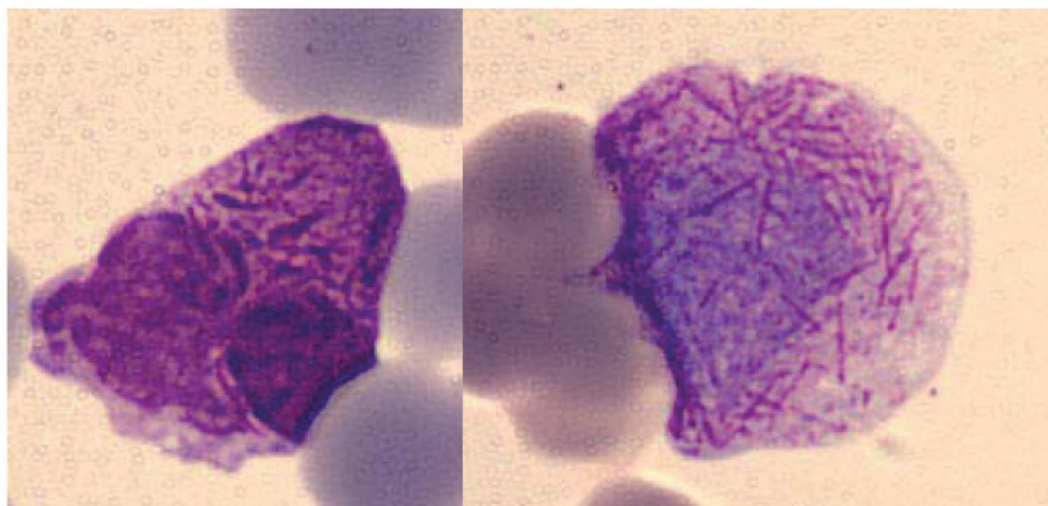


Figura 10: Imágenes de promielocitos anormales en la LPA; abundantes astillas citoplasmáticas, características de esta entidad y prácticamente diagnósticas.

Los promielocitos atípicos son muy positivos para la mieloperoxidasa (MPO, Figura 11) y Negro Sudán B (Figura 12). La reacción del PAS (ácido periódico de Schiff) muestra positividad difusa y las fosfatasas ácidas son intensamente positivas.

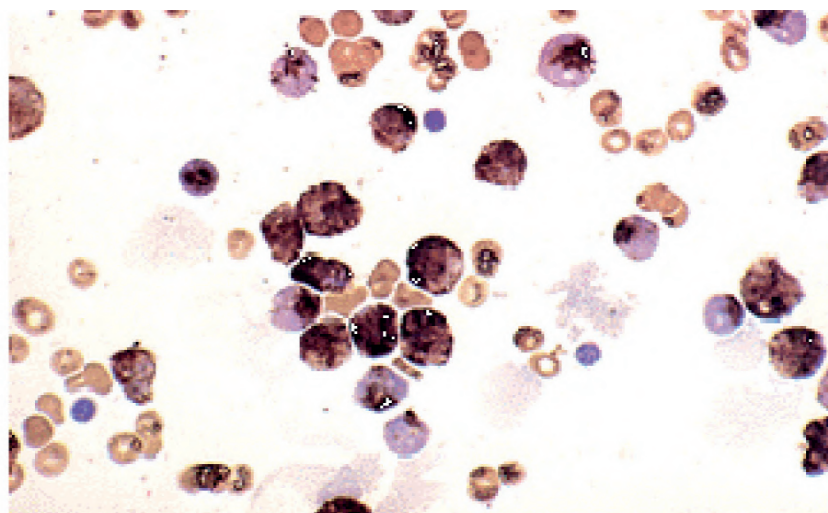


Figura 11: Tinción citoquímica MPO en LAM.

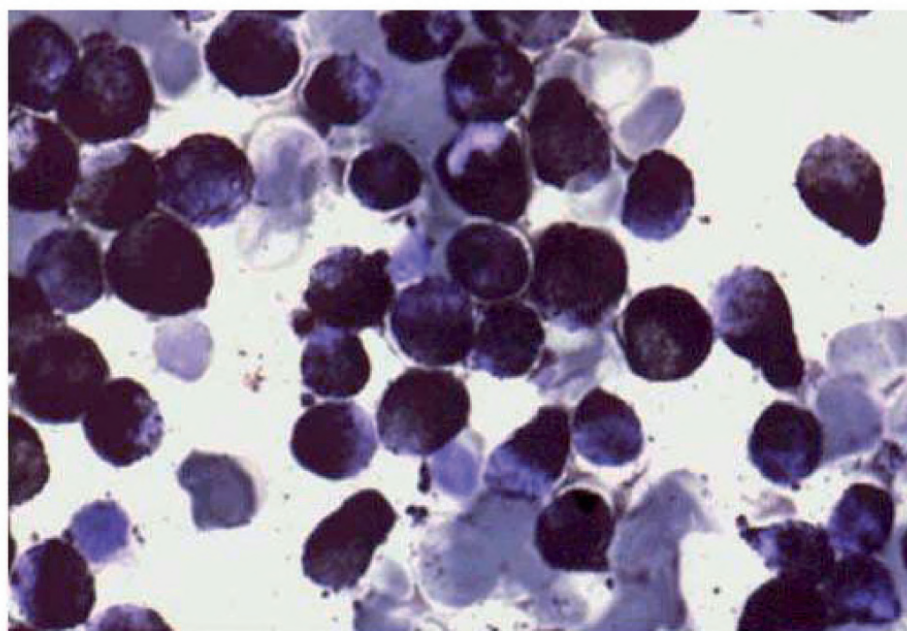


Figura 12: Tinción negro Sudán en LPA.

Por citometría de flujo, las células presentan un inmunofenotipo característico **HLA-DR** y **CD34** negativos (marcadores de inmadurez) y positivos para los anticuerpos **CD117**, **CD13** y **CD33** (Tabla 4). Expresión de **CD9**, ausencia de **CD7**, **CD11a**, **CD11b**, **CD14**, **CD18**, **CD66b** y **CD66c**; expresión débil o ausencia de **CD5** y **CD65** (marcadores granulocíticos). La Tabla 5 muestra un resumen del patrón citoquímico de la LAM3.

Precursor	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
Mielocítico	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, MPOc
Monocítico	Esterasa No Específica (NSE), CD11c, CD14, CD64, lisozima, CD4, CD11b, CD36.
Megacariocítico (glicoprot.Ib)	CD41 (glicoprot.IIb/IIIa), CD61 (glicoprot IIIa), CD42 (glicoprot.Ib)
Eritroide	CD235(glicoforina A), CD71, CD105, CD36
Basófilo, Mastocito, Célula Dendritica plasmocitoide	D123, CD203, CD22 Expresión aberrante linfoide y CD56, CD19, CD7, NG2, CD4, CD9

Tabla 4: Inmunofenotipo de los precursores clonales en LAM.

Citoquímica	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇
Peroxidasa	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Débil positivo	Positivo	Negativo
Negro Sudán	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Débil positivo	Positivo	Negativo
Ácido peryódico de Schiff (PAS)	Débil positivo	Débil positivo	Positivo	Positivo	Débil positivo	Positivo	Débil positivo
Cloroacetato esterasa específica (CAE)	Débil positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Naftol-AS-D-acetato esterasa (NASDA)	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Alfa naftil acetato esterasa (ANAE)	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Alfa naftil butirato esterasa (ANBE)	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Muramidasa	Variable	Variable	Variable	Elevada	Elevada	Variable	Negativo
Fosfatasa ácida	Débil positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Tabla 5: Patrón citoquímico de la LAM3.

La alteración citogenética característica de la LAM3 es la t(15;17), que provoca la fusión del oncogén PML (*promyelocytic leukemia gene*) con el gen del receptor del ácido retinoico ($RAR\alpha$), con el resultado de la formación del transcrito PML- RAR (esquema del mecanismo del receptor detallado en la Figura 13).

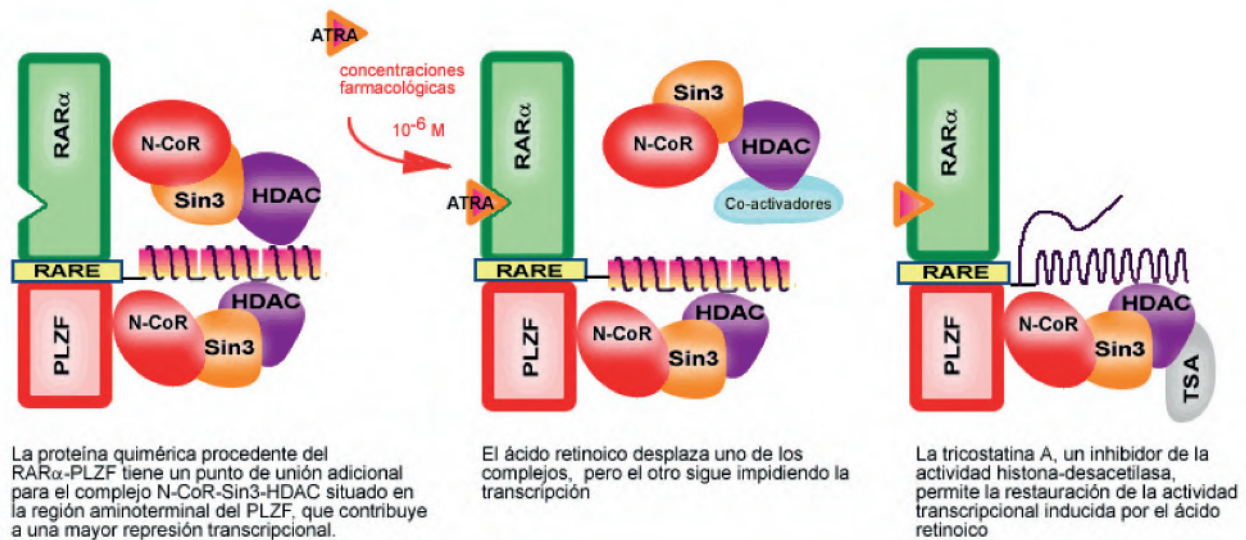


Figura 13: Esquema del mecanismo del receptor $RAR\alpha$.

Para detectar la t(15;17) se utilizan técnicas citogenéticas, de hibridación in situ y de biología molecular. Estas últimas identifican específicamente el transcrito PML- RAR en todos los casos de LAM3 que responden al tratamiento con ATRA (ácido transretinoico). El ATRA induce la maduración de las células leucémicas (a promielocitos, mielocitos y neutrófilos).

En el caso presentado en este curso existen datos que en esta entidad son poco frecuentes; esta entidad se suele presentar en varones jóvenes (adultos y adolescentes) especialmente en primavera y otoño. En nuestro caso el paciente tiene 82 años, edad de presentación muy poco habitual de esta enfermedad.

La LPA suele cursar con leucopenia y neutropenia, siendo escasa la aparición de células anormales en SP. La neutropenia es causada por la falta de maduración de los promielocitos atípicos, por bloqueo en su maduración. En algún caso puede existir leucocitosis pero no es la forma habitual de presentación. Nuestro caso se presenta como leucocitosis y presencia de una población muy abundante en SP de morfología anormal y aspecto inmaduro (núcleo bilobulado, bastones de Auer y astillas). No es raro observar células hipogranulares y/o de aspecto monocitoide, junto con las características de esta entidad.

La trombopenia suele presentarse en prácticamente todos los casos, siendo severa en la mayoría de ellos; es el resultado de la producción deficitaria en la médula ósea. En nuestro caso la cifra de plaquetas es francamente baja (trombopenia severa).

Las alteraciones en la coagulación con la presencia de fenómenos hemorrágicos en la mayoría de los casos (puede ser la forma de debut de la enfermedad, añadiendo gravedad en el momento del diagnóstico). La CID suele ser común en esta entidad como consecuencia de la actividad procoagulante de los promielocitos atípicos granulares. En el caso descrito si bien existen hematomas y petequias en el examen físico de la urgencia, no se objetivaron fenómenos hemorrágicos relacionados con una CID.

La preparación de médula ósea en este tipo de entidad suele ser dificultosa por la tendencia a coagularse rápidamente en la extracción. Muy a menudo el aspirado es hipocelular. La morfología es, a pesar de las dificultades técnicas, característica (Figura 14).

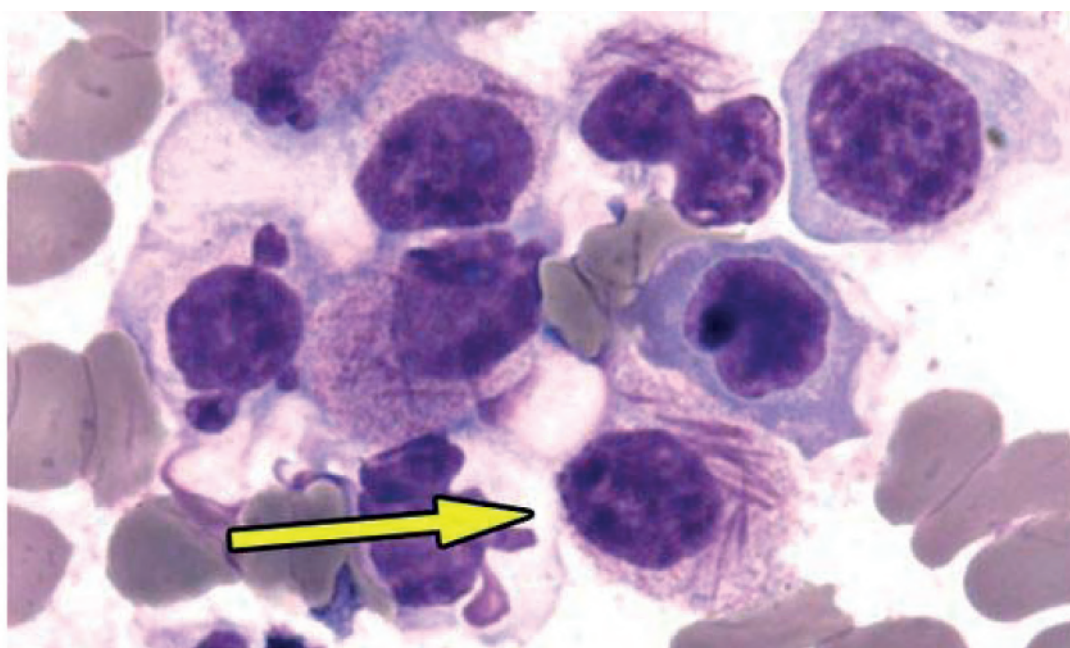


Figura 14: Imagen de los promielocitos con astillas en médula ósea en la LPA.

Variante microgranular de la LAM3

La Leucemia Aguda Promielocítica puede presentarse como una forma variante con algunas diferencias tanto en su forma clínica y en el laboratorio en el momento del diagnóstico. La forma hipogranular o Variante (LPA-V) supone un reto diagnóstico en el laboratorio dada su morfología atípica en sangre periférica así como los datos del hemograma.

La LPA-V tiene peor pronóstico que la forma clásica; suele cursar con leucocitosis ($30-50 \times 10^9/L$) y constituye el 15–20 % de la totalidad de las LPA. Citomorfológicamente en sangre periférica las células anormales que se observan son de tamaño medio con abundante citoplasma y con escasa granulación azurófila, por lo que suelen ser más basófilos que en la variante clásica. El núcleo es claramente visible gracias a esta ausencia de granulación y suele ser arriñonado, bilobulado y retorcido. La primera impresión al observarlo en SP es de células de aspecto monocitoide.

Según la clasificación de la FAB, la morfología clásica de la LPA (M3) se basa en la presencia de promielocitos anómalos característicos con una marcada granulación y presencia de bastones de Auer y los blastos con astillas. En la variante hipogranular (LPA-V) los promielocitos presentan una granulación mucho menos evidente y en la sangre periférica las células atípicas son más escasas. El núcleo de los promielocitos suele ser bilobulado y reniforme, con gránulos azurófilos en su interior. En los casos de LPA-V es muy importante reconocer las células de morfología anormal para poder diagnosticar correctamente la entidad.

A comparison of classical hypergranular and hypogranular variant.

	Hypergranular	Hypogranular
Definition	AML subtype in which maturation arrests in promyelocytic stage.	
Clinical	Disseminated intravascular coagulation/consumption coagulopathy	
WBC	Low	High
Nucleus	Round to oval	Bilobed
Cytoplasm	Densely packed large azurophilic granules, multiple auer rods, aggot cells.	Granules apparently absent, typical hypergranular promyelocytes exists in small number
Cytochemistry	Myeloperoxidase and Sudan Black-B strongly positive	
Immunophenotype	CD 33+, CD 34-/+ , CD15-/+; CD 56-/+; HLA DR positive	CD 13+, CD 34+, HLA DR negative
Cytogenetics	t(15;17) (q22;q12)	

Tabla 6: Análisis comparativo desde el punto de vista morfológico e inmunofenotípico de las variantes clásica e hipogranular de LAM3.

Su apariencia en el aspirado de médula ósea es muy parecido a LAM3 hipergranular pero con mayor proporción de promielocitos ricos en gránulos y bastones de Auer. Las pruebas citoquímicas: la peroxidasa y la cloroacetato esterasa (CAE) son positivas al igual que sucede en la LAM3 hipergranular pero su reacción es más débil.

El perfil del inmunofenotipo es similar a la LAM3 hipergranular (Tabla 6). Sin embargo, es más común la expresión **CD34**, **HLA-DR**, y a veces **CD52** y **CD56**. La expresión de **CD2** ha sido descrita en aquellos casos donde se observa morfología microgranular con alto recuento de leucocitos.

En nuestro caso, a pesar de presentar leucocitosis, hecho que estaría más relacionado con la leucemia promielocítica variante, las células anormales observadas en sangre periférica son hipergranulares y azurófilas. Se observaron también promielocitos anormales con astillas (Figura 15), por lo que se concluyó que el diagnóstico se trataba de una Leucemia Aguda Promielocítica clásica.

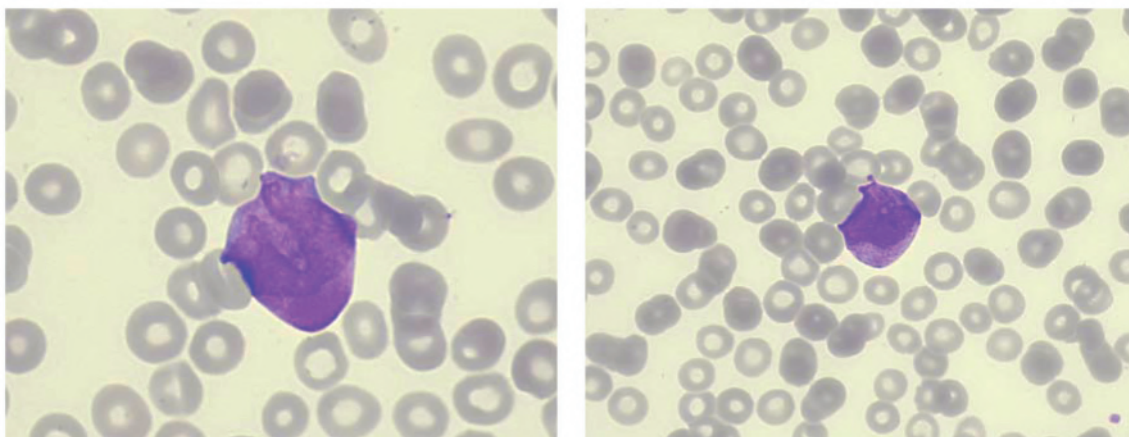


Figura 15: Imagen de los promielocitos del paciente donde se aprecia la abundante granulación citoplasmática y presencia de astillas en el que orienta a una leucemia promielocítica hipergranular a pesar de la leucocitosis.