

HALLAZGO DE CELULAS CLONALES B EN LEUCEMIA MIELOMONOCITICA AGUDA

VIVIANA NOVOA¹, NERI NUÑEZ¹, MIRTA CERVELLINI¹, AIDA STAROSTA², ORLANDO G. CARBALLO¹¹Laboratorio de Inmunología, Unidad de Inmunología, ²Servicio de Hematología, Hospital de Agudos Dr. Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina

Resumen La coexistencia de enfermedades mieloproliferativas y linfoproliferativas en el mismo paciente no es común. La mayoría de los casos corresponden a pacientes que desarrollan leucemia aguda durante el curso evolutivo de una leucemia linfática crónica tratada con drogas quimioterápicas. Se presenta un caso de leucemia mielomonocítica aguda y leucemia linfática crónica B diagnosticadas simultáneamente en un paciente en el cual, el análisis por citometría de flujo utilizando un amplio panel de anticuerpos monoclonales, permitió identificar las diferentes poblaciones patológicas y determinar su inmunofenotipo característico. Una revisión de la bibliografía muestra solamente la descripción de casos aislados sin encontrar datos sobre la incidencia de esta asociación. Destacamos la utilidad de la técnica de citometría de flujo para identificar las células anormales que nos llevan al diagnóstico de estas dos enfermedades.

Palabras clave: leucemia mielomonocítica aguda, leucemia linfática crónica, citometría de flujo

Abstract *Presence of B cell clones in acute myelomonocytic leukemia.* The coexistence of acute myeloid leukemia and chronic lymphocytic leukemia in the same patient is rare. The majority of the cases correspond to patients that developed acute leukemia during the evolutionary course of a chronic lymphatic leukemia following treatment with chemotherapy drugs. We report a case of acute myelomonocytic leukemia concurrent with untreated B-cell chronic lymphocytic leukemia in which the use of flow cytometry analysis with a large panel of monoclonal antibodies, allowed the demonstration of different pathological populations and determine immunophenotyping patterns. Published cases of simultaneous chronic lymphocytic leukemia and acute leukemia are reviewed. The use of multiparametric flow cytometry to differentiate the populations demonstrates the utility of this technology in the diagnosis of these hematological malignancies.

Key words: acute myelomonocytic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, flow cytometry

La asociación de leucemia aguda (LA) con leucemia linfática crónica (LLC-B) es un evento raramente observado. La mayoría de los casos corresponden a pacientes que desarrollan una LA durante el curso evolutivo de su LLC-B tratada con drogas quimioterápicas o radiaciones ionizantes¹⁻³. Sin embargo, se han informado algunos casos de desarrollo de LMA en pacientes con LLC-B no tratados o de diagnóstico simultáneo de LA y LLC-B en pacientes sin antecedentes previos¹⁻¹⁰. Presentamos un caso de hallazgo simultáneo por citometría de flujo de células clonales B tipo LLC-B y blastos leucémicos en un paciente con sospecha clínica de LMMA y sin antecedentes previos.

Caso clínico

Paciente de sexo masculino de 73 años de edad que consultó por síndrome febril e infiltrado en base derecha com-

patible con neumonía, presentando esplenomegalia, hematuria intermitente y episodios de hemoptisis. El hemograma mostró un hematocrito de 28%, recuento de plaquetas de 50 000/mm³ y un recuento leucocitario de 249 000/mm³ con un 88% de células blásticas de aspecto monocitoide por morfología. Por citoquímica las reacciones de peroxidada y esterasas fueron positivas. Una muestra de sangre periférica se envió para inmunotipificar los blastos patológicos por citometría de flujo. Las células fueron estudiadas con un panel amplio de anticuerpos monoclonales (Tabla 1) para identificar todos los linajes hematopoyéticos previa lisis de eritrocitos. Se adquirieron 10 000 células en un citómetro de flujo FACSort B.D equipado con láser de argón 15nW (excitación a 488nm) utilizando el programa *CELL Quest*. Para el análisis multiparamétrico basado en propiedades físicas como *Forward Scatter* (FSC) y *Side Scatter* (SSC) y de intensidad de fluorescencia se utilizó el programa *Paint-A-Gate*. Las poblaciones leucocitarias presentes en la muestra se identificaron basándose en propiedades morfológicas de FSC, SSC e intensidad de expresión de CD45 y se analizaron los patrones inmunofenotípicos patológicos^{11, 12}. El inmunofenotipo mostró la presencia de un 58% de células inmaduras de gran tamaño, moderado SSC y débil expresión de CD45, CD13(+) CD33(+) MPO(+) DR(+) CD34(+) y CD56(±) compatibles con blastos mieloides, un 18% de células monocitoides grandes de moderado SSC y expresión de CD45 de intensa fluorescencia, CD13(+) CD33(+) DR(+) CD14(+) y CD34(-) (Fig. 1)

Recibido: 8-VI-2009

Aceptado: 23-XII-09

Dirección Postal: Dra. Viviana Novoa, Alvarez Jonte 1647 13° A, 1416 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4 982 0625 e-mail: novoaviviana@yahoo.com.ar

TABLA 1.- Panel de anticuerpos monoclonales utilizados para identificación de los distintos linajes hematopoyéticos

FITC	CD3	CD4	CD7	CD10	CD15	CD23	CD34	MPO	DR	a-Kappa	a-Lambda	FMC7
PE	CD2	CD5	CD8	CD13	CD14	CD16	CD19	CD22	CD33	CD56	CD79a	CD79b
PCP	CD45											

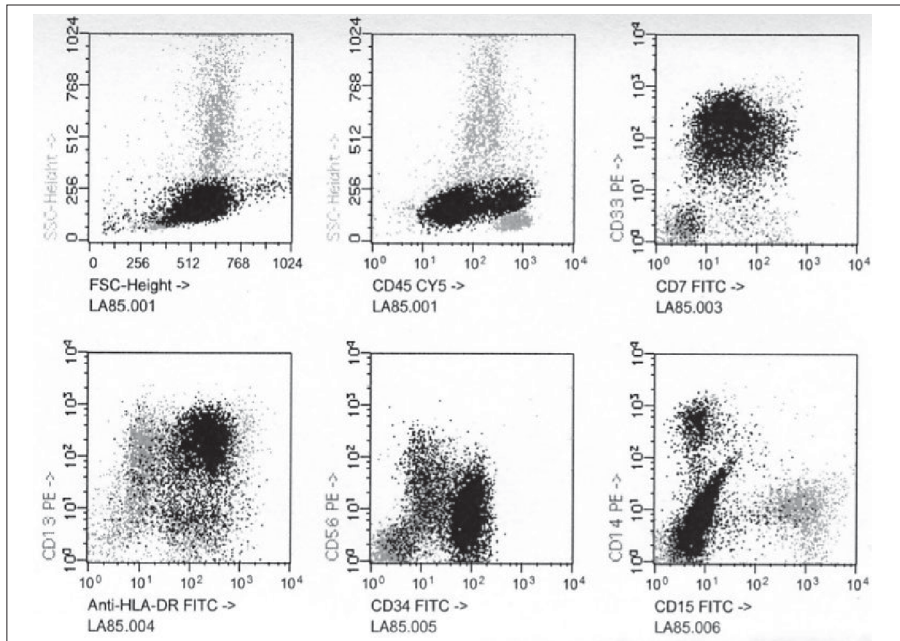


Fig. 1.- Inmunofenotipo de blastos mielomonocíticos. Se observan dos poblaciones celulares: una más inmadura con menor intensidad de CD45, expresión de CD34 y fenotipo de mieloblastos y otra de mayor expresión de CD45, ausencia de CD34 y fenotipo monocitoide.

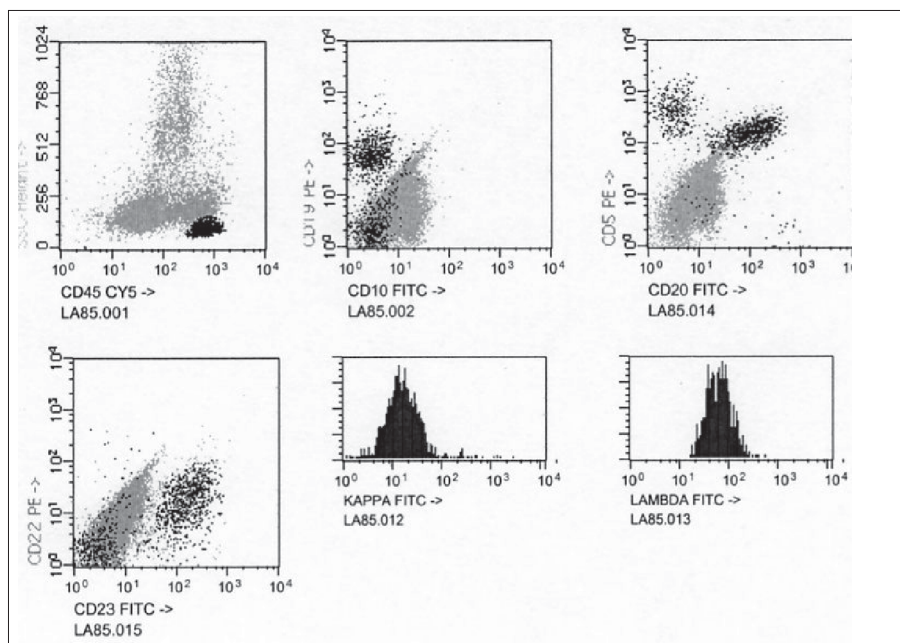


Fig. 2.- Inmunofenotipo de las células B patológicas. En la población linfóide se identifica aumento de células CD19(+) con monoclonalidad de cadena liviana lambda, expresión de CD23 y CD5.

y un 9% de células de tamaño pequeño, bajo SSC e intensa expresión de CD45 compatible con linfocitos maduros. En la población linfoide se observó un aumento importante de células linfoides B CD19(+) que representaba el 68% de los linfocitos totales. El posterior estudio de esta subpoblación linfoide mostró un inmunofenotipo de tipo LLC-B^{13, 14}: CD19(+) CD20(+) CD22(+ débil) CD5(+) CD23(+), ausencia de CD79b, FMC7 y CD10 con clonalidad para cadenas livianas lambda (Fig. 2). Estas células B clonales constituían el 6% del total leucocitario con un recuento absoluto de 14 940 cel/mm³. No se realizaron estudios citogenéticos ni evaluación de médula ósea.

Discusión

La presencia simultánea de LA y LLC-B en un paciente es un evento muy poco frecuente y a veces de difícil diagnóstico morfológico. En el paciente presentado, el alto porcentaje de células con morfología y citoquímica compatible con blastos monocitoides, linfocitos sin alteraciones y la ausencia de antecedentes clínicos, orientó el diagnóstico médico solamente hacia una LMMA subtipo M4. En el estudio de citometría de flujo se utilizó en primera instancia un amplio panel de anticuerpos monoclonales para la identificación de células inmaduras de linaje mielomonocítico y linfoide T y B como es sugerido por Consensos Internacionales^{11, 12}. En el análisis se evaluaron simultáneamente todas las poblaciones leucocitarias de la muestra identificadas por la expresión diferencial de CD45 y utilizando el programa *Paint-A-Gate*, de esta manera se pudo identificar los blastos mieloides y monocitos y observar un marcado aumento de la expresión de CD19 en la población linfoide. El posterior marcaje de las células linfoides para evaluar fenotipo B patológico y clonalidad mostró un fenotipo típico de LLC-B¹⁴ (CD19, CD5 y CD23 positivos con restricción de cadenas livianas de inmunoglobulinas lambda).

Recientes publicaciones han descrito clones de células B con un fenotipo similar a LLC-B en sangre periférica de adultos sanos. Marti y colaboradores¹⁵ han propuesto como criterios diagnóstico para esta linfocitosis B monoclonal la presencia de un bajo recuento de células B monoclonales circulantes (<5000 cel/ mm³) en adultos sanos con ausencia de antecedentes y síntomas de enfermedades linfoproliferativas o enfermedades autoinmunes y/o infecciosas con un riesgo de progresión a LLC-B variable. Sin embargo, la LLC-B en estadios de bajo riesgo puede presentarse en forma indolente, sin sintomatología y con una linfocitosis >5000 cel/ mm³ como puede ser el caso de nuestro paciente.

La citometría de flujo fue una técnica diagnóstica de gran utilidad, ya que la morfología y la citoquímica sólo pudieron diagnosticar la enfermedad aguda y no la leucemia crónica. El uso de amplios paneles de anticuerpos monoclonales, suficientes para detectar todas las poblaciones celulares presentes, y el análisis sistemático de las mismas, permitió identificar las diferentes células patológicas (aun las presentes en baja frecuencia). A pesar que la muestra fue enviada para la evaluación de LMMA, el panel utilizado permitió también

la detección de células clonales de tipo LLC-B y confirmar esta asociación tan poco frecuente.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés

Bibliografía

1. Mateu R, Bellido M, Sureda A, et al. Concomitant chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia with an uncommon immunophenotype. *Am J Hematol* 1997; 56: 281-7.
2. Gottardi M, Gattei V, Degan M, et al. Concomitant chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia: evidence of simultaneous expansion of two independent clones. *Leuk Lymphoma* 2006; 47: 885-9.
3. Morabito L, Raya Sánchez JM, Hernández García M, et al. Leucemia aguda de células precursoras mieloides/ natural killer de presentación simultánea con leucemia linfática crónica. *Med Clin (Barc)* 2008; 131: 356.
4. Yenerel MN, Hatemi I, Keskin H. Concomitant chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia diagnosed by two color flow cytometric analysis. *Haematologica* 1999; 84: 766-7.
5. Tamul KR, Meyers DC, Bentley SA, et al. Two color flow cytometric analysis of concomitant acute myeloid leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Cytometry* 1994; 18: 30-4.
6. Xie XY, Filie AC, Jasper GA, et al. Diagnosis of unexpected acute myeloid leukemia and chronic lymphocytic leukemia: a case report demonstrating the perils of restricted panels in flow cytometric immunophenotyping. *Cytometry* 2000; 42: 114-7.
7. McCoy JP Jr, Johnson E, Catalano E, et al. Detection and monitoring of a concomitant atypical myeloproliferative disorder and chronic lymphocytic leukemia by flow-cytometric immunophenotyping. *Arch Pathol Lab Med* 1995; 119: 1038-43.
8. Mitterbauer G, Schwarzmeier J, Mitterbauer M, et al. Myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia supervening previously untreated chronic B-lymphocytic leukemia: demonstration of the concomitant presence of two different malignant clones by immunologic and molecular analysis. *Ann Hematol* 1997; 74: 193-7.
9. Muta T, Okamura T, Niho Y. Acute myelogenous leukemia concurrent with untreated chronic lymphocytic leukemia. *Int J Hematol* 2002; 75: 187-90.
10. Lu CM, Murata-Collins JL, Wang E, Siddiqi I, et al. Concurrent acute myeloid leukemia with inv(16)(p13.1q22) and chronic lymphocytic leukemia: molecular evidence of two separate diseases. *Am J Hematol* 2006; 81: 963-8.
11. Stewart CC, Behm FG, Carey JL, et al. U.S./Canadian consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: selection of antibody combinations. *Cytometry* 1997; 30: 231-5.
12. Grieg B, Oldaker T, Warzynsky M, et al. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: recommendations for training and education to perform clinical flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; 72 Suppl 1:S23-33.
13. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994; 8: 1640-5.
14. Craig F and Foon K. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008; 111: 3941-67.
15. Marti GE, Rawstrom AC, Ghia P, et al. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol* 2005; 130: 325-32.