

Anemia hemolítica autoinmune severa como manifestación de linfoma no Hodgkin B de bajo grado: Dilema diagnóstico y terapéutico

Autoimmune hemolytic anemia as initial manifestation of low-grade-B-cell lymphoma: a diagnostic and therapeutic challenge

Parra S¹, Goyanarte B¹, Cazap N¹, Gotta D¹, Altuve J¹, Huber M¹, García A², Alsina MF², Avagnina A², Denninghoff V³, Cuello MT³, Dupont J¹.

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Anatomía Patológica; ³Sección Patología Molecular del Servicio de Patología. Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Dr. Norberto Quirno" (CEMIC)

bgoyanarte@gmail.com

Fecha recepción: 15/02/2017
Fecha aprobación: 24/11/2017



CASO CLÍNICO

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 n° 3: 317-323
Septiembre - Diciembre 2017

Palabras claves: linfoma de bajo grado, anemia hemolítica autoinmune, linfoma marginal esplénico, BRAF V600E, leucemia de células vellosas.

Keywords: low grade lymphoma, autoimmune hemolytic anemia, splenic marginal zone lymphoma, BRAF V600E, hairy cell leukemia.

Resumen

La leucemia de células vellosas (LCV) y el linfoma de la zona marginal esplénico (LME) son dos neoplasias linfoproliferativas que con frecuencia comparten una presentación clínica semejante, con esplenomegalia, citopenias y un curso clínico indolente.

Es fundamental realizar un diagnóstico diferencial adecuado, ya que el enfoque terapéutico y el pronóstico difieren entre estas dos entidades. La LCV responde al tratamiento con análogos nucleosídicos,

mientras que para el LME las opciones de tratamiento comprenden la esplenectomía o el uso de rituximab monodroga. El abordaje diagnóstico incluye estudios de imágenes, citometría de flujo y anatomía patológica de médula ósea, aunque los resultados de estos métodos no siempre son concluyentes.

Reportamos un caso clínico con una presentación aguda y severa (anemia hemolítica autoinmune) que resultó un reto diagnóstico en el cual el uso de un método novedoso fue de ayuda para arribar al diagnóstico definitivo y al tratamiento adecuado.

Abstract

Hairy cell leukemia (LCV) and splenic marginal zone lymphoma (LME) are two lymphoproliferative disorders that usually have in common a similar clinical presentation with splenomegaly, cytopenias and an indolent clinical course. It is essential to make a proper differential diagnosis, since the therapeutic approach and prognosis differ between both entities. LCV responds to treatment with nucleoside analogs, while LME treatment options include splenectomy

or rituximab. The diagnostic approach includes imaging studies, flow cytometry and pathology of bone marrow, although the results of these methods are not always conclusive. We report a clinical case that had an acute and severe presentation, with autoimmune hemolytic anemia and it also implied a diagnostic challenge in which the use of a novel method was helpful to arrive to a definitive diagnosis and an accurate treatment.

Introducción

El linfoma esplénico de la zona marginal (LME) y la leucemia de células vellosas (LCV) representan, cada uno, entre el 1-2% de los linfomas no Hodgkin (LNH)^(1,2). El LME tiene una mediana de presentación a los 65 años y la LCV a los 50 años. Ambos se manifiestan con esplenomegalia y citopenias⁽³⁾. Comparten un comportamiento indolente junto a un grupo de patologías que incluyen la leucemia linfática crónica (LLC), el linfoma folicular (LF), el linfoma linfoplasmocítico (LLP) y el linfoma de la zona marginal extranodal asociado a mucosas (MALT). Un 20% de los pacientes con LME y hasta un 25% de los pacientes con LCV tiene manifestaciones autoinmunes^(4,5): púrpura trombocitopénica inmune, anemia hemolítica autoinmune (AHAI), anticoagulantes circulantes y enfermedad por crioprecipitinas, entre otras⁽⁶⁾. La LLC es la entidad que se relaciona con mayor frecuencia a AHAI, con una prevalencia de esta complicación del 11 %⁽⁷⁾. En cuanto al LME se ha reportado una prevalencia del 10 %⁽⁶⁾. En los demás LNH y la LCV la prevalencia estimada se encuentra entre 0,23 y 6,2 %^(4,8).

El pronóstico de los pacientes con LME es heterogéneo. La mediana de supervivencia se encuentra alrededor de los 10 años⁽⁹⁾. En la LCV la introducción de análogos de purinas al tratamiento ha transformado la expectativa de vida, que en la actualidad es cercana a la de la población general⁽¹⁰⁾. El diagnóstico definitivo del LME recae sobre la histología esplénica; cuando no está disponible se recurre a la biopsia de MO (BMO) y al inmunofenotipo de sangre periférica y MO. El LME no cuenta con un inmunofenotipo específico, por lo que su diagnóstico diferencial puede ser desafiante. La mutación del

BRAF (V600E) resulta de gran utilidad para esta diferenciación al estar presente en casi todos los casos de LCV⁽¹¹⁾ y ausente en LME.

Exponemos un caso clínico en el que se conjugaron una presentación clínica aguda y severa, un diagnóstico inicial dificultoso y el requerimiento de tratamiento empírico.

Caso clínico

En abril de 2015 recibimos a un hombre de 52 años sin antecedentes. Presentaba desde hacía 3 semanas astenia, ictericia, coluria y pérdida de peso no intencional de 3 kg, sin fiebre ni diaforesis nocturna. No se conocían hemogramas previos. Al examen físico presentaba ictericia marcada de piel y mucosas, esplenomegalia leve sin evidencia de adenomegalias. Laboratorio: hematocrito (Hto) 14 %, hemoglobina (Hb) 4.8 g/dL, plaquetas 84.000/mm³, leucocitos 3.040/mm³ (neutrófilos 33%, linfocitos 30%, monocitos 20%, eosinófilos 1%, basófilos 2%, cayados 3%, mielocitos 8%, metamielocitos 3%), volumen corpuscular medio 78 fL, lacticodehidrogenasa (LDH) 1.030 mg/dL [0-480], bilirrubina total 1,7 mg/dL, bilirrubina directa 22%, reticulocitos 230.000/mm³, haptoglobina 7,13 mg/dL (14-258), prueba de Coombs directa positiva por panaglutininas calientes de tipo IgG++, C3d+, eritrosedimentación 15 mm/h. El tiempo de protrombina, aPTT, fibrinógeno y proteinograma electroforético fueron normales. Las serologías virales para VIH, hepatitis A, B y C fueron negativas. El frotis de sangre periférica presentaba ligera microcitosis y eritroblastos ortocromáticos: 1/100 GB. La citometría de flujo (CMF) de sangre periférica no identificó pobla-

ciones vinculables a proceso linfoproliferativo. Se realizó tomografía axial computada de tórax, abdomen y pelvis en la que se evidenció esplenomegalia de 183 mm, sin adenomegalias asociadas. Se realizó examen de médula ósea (EMO) cuya impronta resultó hiper celular, con relación mieloeritroide disminuida e infiltración por linfocitos de pequeño tamaño que representaban el 45% de la celularidad total. Dichos elementos eran de núcleo redondeado, cromatina ligeramente compacta y citoplasma hiperbasófilo. El aspirado fue seco, por lo cual no se realizó CMF ni estudio citogenético. La BMO

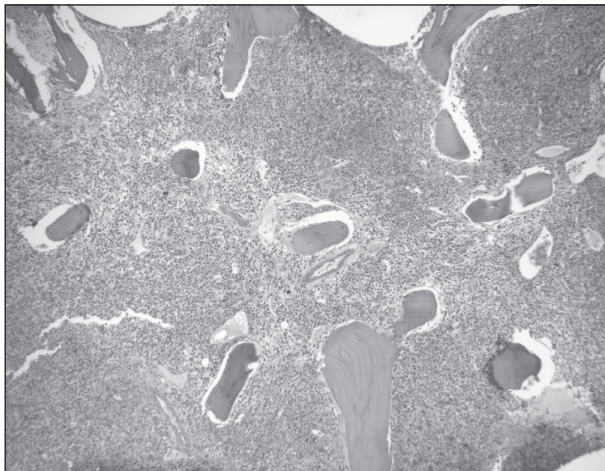


Figura 1. Infiltración linfomatosa con patrón arquitectural nodular e intersticial (HE 40x)

Estos hallazgos eran compatibles con linfoma de células B pequeñas de bajo grado (LBBG), descartando en primer término LF, LCV, LLC y LLP. Llegado este punto, las posibilidades diagnósticas a considerar eran LME y LCV.

Se interpretó el cuadro como AHAI por anticuerpos calientes en el contexto de un probable LBBG de difícil caracterización. Dado que la anemia era severa y sintomática se inició meprednisona 1 mg/kg/día, ácido fólico y transfusión de glóbulos rojos con mejoría parcial de la hemólisis.

Por intolerancia gástrica e insomnio la adherencia al tratamiento fue irregular, presentándose crisis hemolíticas recurrentes, que fueron tratadas con corticoides y transfusiones, con respuesta parcial.

En un nuevo EMO no se identificaron poblaciones vinculables a LNH en la CMF. La BMO continuaba evidenciando infiltración por elementos linfoides de aproximadamente el 40%. Las técnicas de inmunohistoquímica para CD3, CD5, CD10, CD20, CD23, CD138, ciclina D1 e índice de proliferación (Ki-67)

evidenció celularidad global del 70%, con presencia de elementos de las tres series hematopoyéticas con relación mieloeritroide y maduración conservadas. Se reconoció infiltración por elementos de morfología linfóide, pequeños, con núcleo redondeado y moderada cantidad de citoplasma, que se disponían formando nódulos y representaban el 30% de la celularidad total. Estos elementos fueron positivos para CD20 y negativos para CD3, CD5 y CD23. Con CD34 se observó menos del 1% de elementos inmaduros. No fue posible realizar CD10 ni ciclina D1 sobre tejido (**Figuras 1-2**).

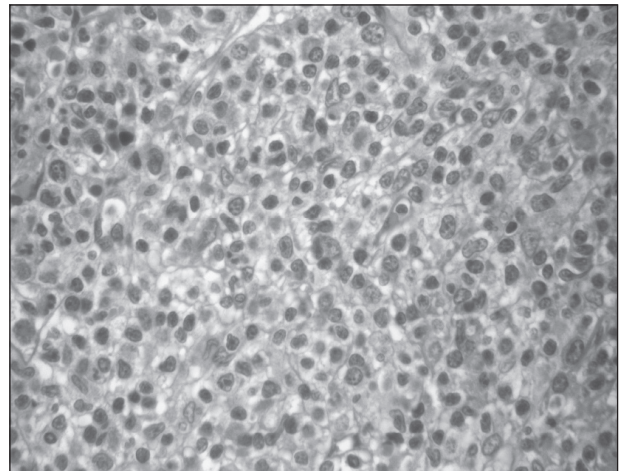


Figura 2. Con mayor aumento se puede observar la morfología de los linfocitos neoplásicos (HE 400x)

mostraron marcación positiva en el infiltrado linfóide solamente para CD20 (**Figura 3**), con un índice de proliferación (Ki-67) de 3% en dicho infiltrado, con incremento de la trama de reticulina y escaso depósito de colágeno (grado 2 de mielofibrosis) (**Figura 4**). No estaban disponibles para realizar por inmunohistoquímica CD103, CD25, anexina y DBA44.

El estudio citogenético no obtuvo metafases.

Se decidió iniciar inmunoterapia (RCVP: rituximab, ciclofosfamida, vincristina, metilprednisona). Tras dos ciclos de RCVP se obtuvo normalización del hematocrito.

Se realizó estudio del exón 15 del gen BRAF mediante amplificación por PCR. La secuencia estudiada no presentó mutaciones, con lo que se excluyó el diagnóstico de LCV y se confirmó el de LME.

Se continuó el tratamiento sólo con rituximab, con muy buena tolerancia. Recibió 4 ciclos adicionales evolucionando asintomático, con respuesta hematológica completa y resolución de la esplenomegalia.

La evolución de la Hb y la LDH durante el tratamiento se muestran en la **Figura 5**.

Laboratorio de fin de tratamiento: Hto 43%, Hb 15

g/dL, plaquetas 166.000/mm³, leucocitos 5280/mm³ (neutrófilos 57%, linfocitos 27%, monocitos 12%, eosinófilos 2%, basófilos 0.8%).

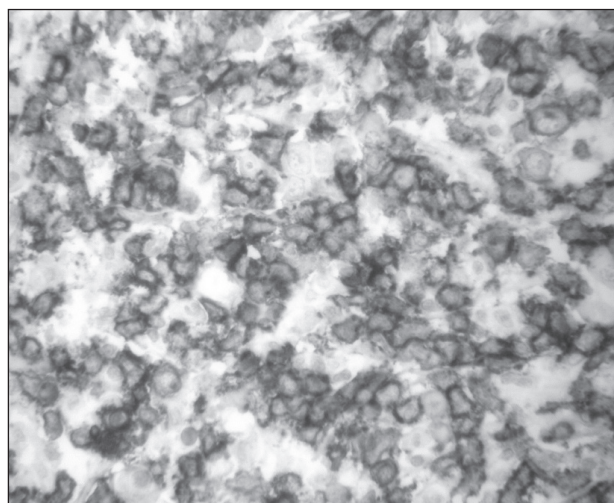


Figura 3. Marcación positiva para CD20 en el infiltrado linfomatoso (inmunohistoquímica, 400x)

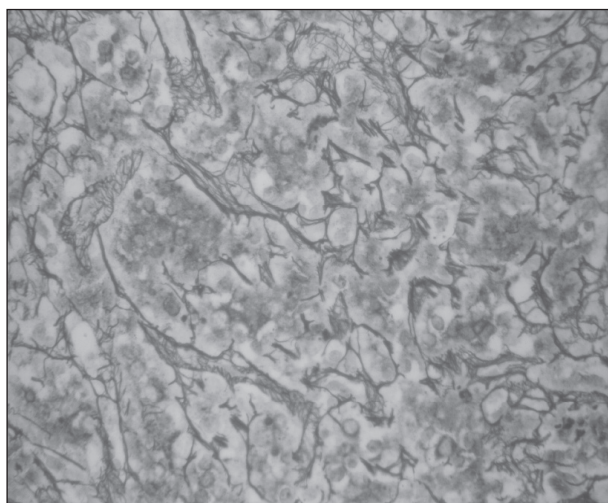
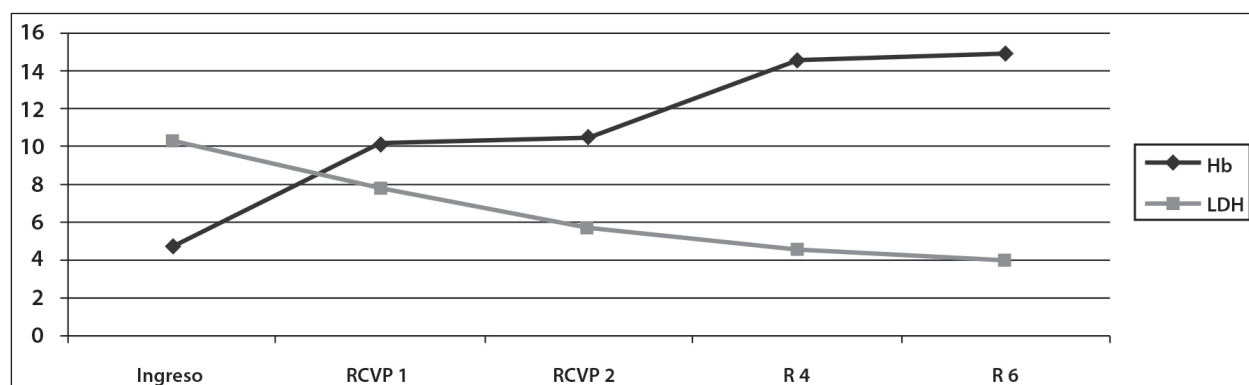


Figura 4. Fibrosis medular (inmunohistoquímica de reticulina 364).



RCVP: rituximab, ciclofosfamida, vincristina, prednisona, **Hb:** hemoglobina, **R:** rituximab.

Figura 5. Hemoglobina (Hb) y lacticodeshidrogenasa (LDH) durante la evolución. Unidades expresadas en mg/dL para la Hb y en mg/dL x 100 para la LDH.

Discusión

La presentación de nuestro paciente, con esplenomegalia y AHAI, es típica de los linfomas esplénicos (LE); sin embargo se requiere descartar causas infecciosas, tumores sólidos, enfermedades autoinmunes, hepatopatía y neoplasias mieloproliferativas como la mielofibrosis primaria y la leucemia mielomonocítica crónica⁽¹³⁾.

LME y LCV suelen presentar anemia, trombocitopenia y leucopenia. En la LCV es característica la monocitopenia⁽³⁾. Nuestro paciente presentó anemia y trombocitopenia, leucopenia sin monocitopenia.

Las células neoplásicas circulantes vinculables al LE son un hallazgo muy frecuente y de ahí la utilidad de la CMF de sangre periférica. Esto contrasta

con lo observado en nuestro paciente y que probablemente tenga que ver con el grado de fibrosis medular observado.

En cuanto a la inmunofenotipificación, el LME presenta IgM+, IgD+/-, Ig citoplasmática -/+, CD19+, CD20+, CD22+, CD79+, CD5-, CD10-, CD11c+ (débil), CD23-, CD43-/+ , ciclina D1-, CD25- y CD103-. Sin embargo, puede observarse con menor frecuencia un fenotipo atípico con CD5+, CD23+ y Ciclina D1+^(3,14). La LCV expresa antígenos B y es CD5-, CD10- y CD23-. Sin embargo, puede presentarse en algunas ocasiones con CD10 y CD23+. No existe un marcador único específico que permita diferenciar LCV de otras neoplasias de células B, pero

CD11c, CD103, CD123, CD 25, CD52 y ciclina D1 (débil) se expresan típicamente. El CD103 y CD25 no son expresados por el LME y sí por la HCL, ha-

bría sido útil contar con ellos. El CD21 y CD35 son de expresión variable en el LME (Tabla 1).

Tabla 1. Citometría de flujo del LME, LCV y LCVv

	IgS	CD20	CD5	CD10	CD23	CD25	CD103	CD123	DBA44
LME	Intenso	+++	+	-	+	+	-	-	NA
LCV	Intenso	+++	-	-	-	-	+++	+++	NA
LCVv	Intenso	+++	-	-	-	-	++	-	NA
-: positivo en <10% de los casos; +: 11%-35% casos positivos; ++: 36%-75% casos positivos; +++: >75% casos positivos. NA: no aplica.									
Inmunohistoquímica del LME, LCV y LCVv									
	IgM	CD20	CD5	CD10	CD23	CD25	CD103	CD123	DBA44
LME	+	+	-/+	-	-/+	NA	-	-	+/-
LCV	+	+	-	-	-	NA	+	+	+
LCVv	+	+	-	-	-	NA	+/-	-	+
-: <25% de los casos positivos; -/+: 25%-50% casos positivo; +/-: 50%-75% casos positivo; +: >75% casos positivos. LME: linfoma esplénico de zona marginal. LCV: leucemia de células vellosas. v: variante. Adaptado de Blood series 2016 ⁽³⁰⁾ .									

Tanto el LME como la LCV pueden presentar anomalías citogenéticas. De ellas la deleción homocigota 7q se observa en el 30% de los LME y linfoma/leucemia esplénico B inclasificable, pero es raramente vista en otros tipos de linfoma y LCV⁽¹⁵⁾. En nuestro caso el citogenético no obtuvo crecimiento.

En cuanto a la BMO en el LME suele observarse desde un discreto agregado linfoide, con patrón intersticial o intrasinusoidal, hasta otro muy extenso, con patrón nodular y paratrabecular. En la LCV el infiltrado está constituido por células linfoides, que parecen “espaciadas” debido a su citoplasma abundante y pálido. El estroma puede presentar fibrosis reticular fina, fibrosis colágena u osteoesclerosis. Habitualmente hay disminución de la serie roja y aumento de mastocitos reactivos⁽¹⁶⁾. En la primera biopsia se encontró un patrón nodular que puede ser de ayuda en el diagnóstico diferencial con LCV, el cual compromete la MO con patrón difuso o intersticial⁽¹⁾.

El BRAF es un miembro importante de la vía de señalización MAPK (*mitogen activated protein-kinase*)⁽¹⁵⁾. La mutación del BRAF (V600E) es un marcador presente en casi todos los casos de LCV y ausente en el LME⁽¹⁷⁾, por lo que resulta de gran utilidad para diferenciar la LCV de otras enfermedades linfoproliferativas. En aquellos casos donde no

se puede hacer diagnóstico diferencial sobre bases morfológicas e inmunofenotípicas, se sugiere su investigación como estrategia⁽¹⁸⁾.

Diferentes guías^(3,19,20) recomiendan tratar a los pacientes con LME en presencia de esplenomegalia sintomática, enfermedad nodal progresiva y/o síntomas sistémicos como en nuestro caso. Las opciones terapéuticas incluyen la esplenectomía, quimioterapia, rituximab monodroga y rituximab más quimioterapia. Debido a su baja prevalencia y a su evolución indolente, no se dispone de estudios aleatorizados que permitan estandarizar el tratamiento. Históricamente la esplenectomía constituía el estándar terapéutico y facilitaba el diagnóstico del LME. Estudios retrospectivos con un gran número de pacientes han mostrado mejoría de la leucopenia, de la anemia y de la esplenomegalia sintomática por más de 5 años sólo con la esplenectomía⁽²¹⁻²⁵⁾. El tratamiento con rituximab monoterapia es un tratamiento válido según algunas series de pacientes⁽²⁶⁻²⁸⁾. En un análisis retrospectivo de pacientes con LME tratados en primera línea con rituximab, Kalpadakis y col.⁽²⁶⁾ reportaron en 2013 una supervivencia libre de enfermedad (SLE) del 73% y una supervivencia global (SG) del 92% a 5 años. Asimismo, Iannitto y col.⁽²⁹⁾ en 2015, mediante un estudio prospectivo con 51 pacientes tratados en primera línea con rituximab, ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina y meprednisona

(RCHOP), reportaron SLE 54% y SG 72% a 6 años. La toxicidad fue importante (neutropenia mayor a grado 3 en el 26%; infecciones iguales o mayores a grado 3 en 8% y dos muertes asociadas a estas infecciones). Por lo expuesto decidimos suspender la quimioterapia y continuar el tratamiento del rituximab monodroga.

Conclusión

El caso mencionado describe la asociación de una patología autoinmune severa asociada a neoplasia linfoproliferativa y la importancia de establecer un diagnóstico específico para determinar un tratamiento. Además representa el desafío diagnóstico que constituyen en algunas ocasiones los linfomas indolentes y cómo el uso de un método diagnóstico novedoso y disponible en nuestra institución contribuyó a resolverlo.

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés.

Bibliografía

- Thieblemont C, Felman P, Berger F, Dumontet C, Arnaud P, Hequet O et al. Treatment of splenic marginal zone B-cell lymphoma: an analysis of 81 patients. *Clin Lymph.* 2002;3:41-7.
- Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood.* 2006;107(1):265.
- Hoffman R, Benz Jr. E, Silberstein L, Heslop H, Weitz J, Anastasi J. *Hematology: principles and practice* 6th Ed. Elsevier 2013.
- Matutes E, Oscier D et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia.* 2008; 22, 487-495.
- Kraut E. Clinical manifestations and infectious complications of hairy-cell leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2003;16:33-40.
- Franco V, Florena AM, Iannitto E. Splenic marginal zone lymphoma. *Blood.* 2003; 101:2464.
- Mauro FR, Foa R, Cerretti R et al. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features. *Blood.* 2000;95:2786-92.
- Gronbaek K, D'Amore F, Schmidt K. Autoimmune phenomena in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 1995;18:311-316.
- Bennett M, Schechter GP. Treatment of splenic marginal zone lymphoma: splenectomy versus Rituximab. *Semin Hematol.* 2010 Apr;47(2):143-7.
- Goodman GR, Burian C, Koziol JA, Saven A. Extended follow-up of patients with hairy-cell leukemia after treatment with cladribine. *J Clin Oncol.* 2003;21:891-896.
- Falini B., Martelli, MP., Tiacci E. BRAF V600E mutation in hairy cell leukemia: from bench to bedside. *Blood.* 2016; 128: 1918-1927
- Varoczy L, Gergely L, Zeher M, Szegedi G, Illes A. Malignant lymphoma-associated autoimmune diseases-a descriptive epidemiological study. *Rheumatol Int.* 2002; 22:233-237.
- Iannitto Emilio and Tripodo Claudio. How I diagnose and treat splenic lymphomas. *Blood.* 2011;117(9):2585-2595.
- Audouin J, Le Tourneau A, Molina T et al. Patterns of bone marrow involvement in 58 patients presenting primary splenic marginal zone lymphoma with or without circulating villous lymphocytes. *Br J Haematol.* 2003; 122:404.
- Salido M, Bar'ó C, Oscier D et al. Cytogenetic aberrations and their prognostic value in a series of 330 splenic marginal zone B-cell lymphomas: a multicenter study of the Splenic B-Cell Lymphoma Group. *Blood.* 2010;116(9): 1479-1488.
- Parker et al. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. *Haematology Guidelines.* British Committee for Standards in Haematology Royal College of Pathologists Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.* 2011; 364 (24): 2305-2315.
- Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.* 2011; 364 (24): 2305-2315.

18. Turakhia A, Lanigan C et al. Immunohistochemistry for BRAF V600E in the Differential Diagnosis of Hairy Cell Leukemia vs Other Splenic B-Cell Lymphomas. *Am J Clin Pathol*. July 2015;144:87-93.
19. Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2013;24(4):857-877.
20. Tarella C, Arcaini L, Baldini L, et al. Italian Society of Hematology, Italian Society of Experimental Hematology and Italian Group for Bone Marrow Transplantation guidelines for the management of indolent, nonfollicular B-cell lymphoma (marginal zone, lymphoplasmacytic, and small lymphocytic lymphoma). *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015;15(2):75-85.
21. Catovsky D, Matutes E. Splenic lymphoma with circulating villous lymphocytes/splenic marginal zone lymphoma. *Semin Hematol*. 1999; 36:148.
22. Franco V, Florena AM, Iannitto E. Splenic marginal zone lymphoma. *Blood*. 2003; 101:2464.
23. Parry Jones N, Matutes E, Gruszka Westwood AM et al. Prognostic features of splenic lymphoma with villous lymphocytes: a report on 129 patients. *Br J Haematol*. 2003; 120:759.
24. Lenglet J, Traullé C, Mounier N et al. Long term follow up analysis of 100 patients with splenic marginal zone lymphoma treated with splenectomy as first line treatment. *Leuk Lymphoma*. 2014; 55:1854.
25. Xing KH, Kahlon A, Skinnider BF et al. Outcomes in splenic marginal zone lymphoma: analysis of 107 patients treated in British Columbia. *Br J Haematol*. 2015; 169:520.
26. Kalpadakis C, Pangalis G et al. Treatment of Splenic Marginal Zone Lymphoma With Rituximab Monotherapy: Progress Report and Comparison With Splenectomy. *The Oncologist*. 2013;18:190-197.
27. Else M, Marine Niebla. Rituximab, used alone or in combination, is superior to other treatment modalities in splenic marginal zone lymphoma. *Br J Haematol*. 2012 Nov;159(3):322-8.
28. Bennett M, Schechter GP. Treatment of splenic marginal zone lymphoma: splenectomy versus Rituximab. *Semin Hematol*. 2010 Apr;47(2):143-7.
29. Iannitto E, Luminari S, Tripodo C et al. Rituximab with cyclophosphamide, vincristine, non pegylated liposomal doxorubicin and prednisone as first-line treatment for splenic marginal zone lymphoma: a Fondazione Italiana Linfomi phase II study. *Leuk Lymphoma*. 2015; 56(12):3281-3287.
30. Arcaini L, Rossi D, Paulli M. Splenic marginal zone lymphoma: from genetics to management. *Blood*. 2016 Apr 28;127(17):2072-81.