

# Núcleos “cup like” -invaginaciones nucleares prominentes- en leucemia mieloblástica aguda y su asociación con mutaciones NPM1 y FLT3.

Cup-like nuclei (prominent nuclear invaginations) in acute myeloblastic leukemia. Association with NPM1 and FLT3 mutations.

Enrico A <sup>1</sup>, Dick H<sup>1</sup>, Szelagowski M<sup>1</sup>, Prates V<sup>1</sup>, De Luca T<sup>1</sup>, Milone J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Área de Hematología Hospital Italiano La Plata.

enrico@netverk.com.ar

Fecha de recepción: 13/10/2015

Fecha de aprobación: 11/12/2015



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 19 n° 3: 217-220  
Septiembre - Diciembre 2015

**Palabras clave:** Leucemia mieloblástica aguda, Invaginación nuclear prominente, Mutaciones NPM1 y FLT3-ITD.

**Keywords:** Acute myeloid leukemia, Cup-like morphology, NPM1 and FLT3-ITD mutations.

## Resumen.

Existen variedades de leucemias mieloblásticas agudas (LMA) con anormalidades genéticas que presentan como hallazgo morfológico distintivo la presencia de blastos con invaginaciones nucleares prominentes (INP) (cup-like/fishmouth) asociados a mutaciones de los genes NPM1 y FLT3. Presentamos un paciente de sexo femenino con diagnóstico de LMA de novo, hiperleucocitosis, blastos con INP, fenotipo negativo para HLA-DR y CD34, cariotipo normal y mutaciones NPM1 y FLT3-ITD.

## Abstract.

Some acute myeloid leukemias (AML) with genetic abnormalities have a distinctive morphological finding. Blast cells have been described with prominent nuclear invaginations (PNI) called “cup-like or fishmouth nuclei” associated with NPM1 and FLT3 mutations. We report the case of a female patient diagnosed with “de novo” AML, hyperleukocytosis, cup-like blasts, HLA-DR and CD34 negative phenotype, normal karyotype and NPM1 and FLT3-ITD mutations.

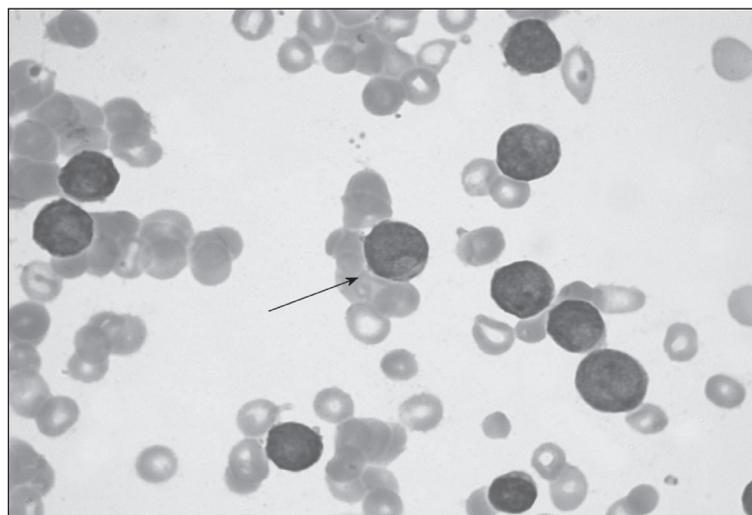
### Introducción.

La LMA es un proceso patológico que presenta desórdenes moleculares heterogéneos en la célula madre hematopoyética. Algunas variedades presentan características morfológicas que permiten predecir con un alto grado de certeza la presencia de anomalías genéticas tales como t(15;17) e inv(16). Otras asociaciones morfológicas con alteraciones moleculares (subtipo FAB M5 con mutaciones FLT3) no son altamente específicas. En aquellos casos en los cuales existen blastos con invaginaciones nucleares prominentes (INP) se observan mutaciones en los genes NMP1 y FLT3-ITD.

### Caso clínico.

Paciente de sexo femenino de 64 años, que consultó por síndrome de repercusión general de 2 semanas de evolución; al examen físico se presentó lúcida,

febril, hemodinámicamente estable con saturación de oxígeno menor al 90%, taquipneica y taquicárdica. Palidez cutáneo-mucosa generalizada con disminución de la entrada de aire en ambos campos pulmonares con radiografía de tórax sin hallazgos relevantes. Hematología: Hb: 7,8 g/dL Hto: 24%. Leucocitos 200.000/mm<sup>3</sup>. Plaquetas 37.000 mm<sup>3</sup>. ERS 80 mm. En el frotis sanguíneo se observó 60 % de blastos de tamaño intermedio con INP, cromatina laxa, aumento de la relación núcleo/citoplasma y algunos gránulos citoplasmáticos. Hemostasia: protrombina 47%; APTT: 53", RIN: 1,54, LDH: 643 U/L. En el aspirado medular se observó celularidad aumentada, disminución de megacariocitos, serie eritroide 6%, serie linfoide 5% y 89% de blastos con características morfológicas similares a las halladas en el frotis periférico, con escaso citoplasma granular, subtipo FAB M1. (**Figuras 1 y 2**).

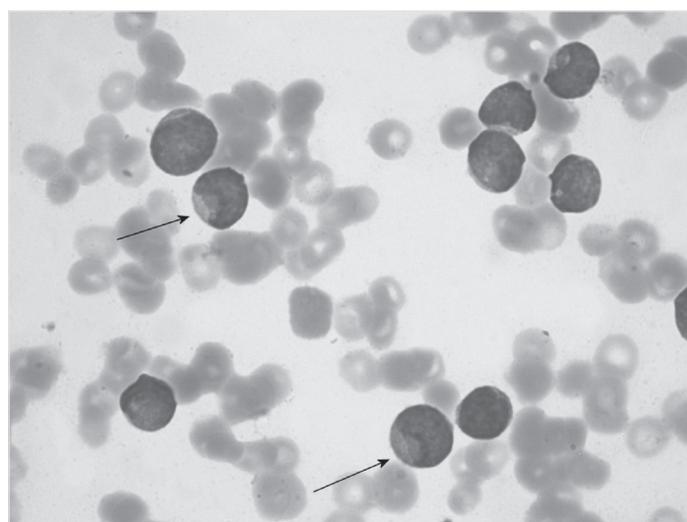


**Figura 1:**

Imagen típica de células blásticas en la médula ósea con INP. La imagen sugiere que la alteración es nuclear pero el resultado positivo para mieloperoxidasa (MPO) encontrado en la citometría revela su origen citoplasmático. Coloración May Grunwald Giemsa. 100 X.

**Figura 2:**

Blastos en médula ósea con morfología INP. Coloración May Grunwald-Giemsa. 100 X.



Citometría de flujo: 93% de células patológicas con elevada autofluorescencia, tamaño intermedio. Fenotipo CD45+, cyMPO+/-v, cyCD79a(-), cyCD3 (-), CD34 (-), HLA-DR (-), CD117-/++v, CD123++, CD13-/++v, CD33++, CD15-/+(4%), CD16 (-), CD11b (-), CD64-/+, CD14 (-), CD71+, CD56-/++d, CD7(-), CD123+, vinculado a promielocitos anormales. El informe concluyó que la presencia de blastos mieloides en rango leucémico es compatible con el diagnóstico de LMA cuyas características fenotípicas se asocian a t(15;17)(q24;q21) PML/RARA. El estudio citogenético fue normal (46,XX). La biología molecular mostró PML/RARA negativo y positividad para mutaciones NPM1 y FLT3-ITD. Inició tratamiento con ácido holo-trans-retinoico, 45 mg/m<sup>2</sup>/día, durante 5 días hasta obtener un resultado negativo para RARA. Se efectuaron 2 procedimientos de leucoaféresis con reducción del número de células blásticas. Posteriormente se inició tratamiento de inducción según protocolo GATLA 4-LMA-04, a los 16 días presentó una intercurencia infecciosa con óbito de la paciente.

### Discusión.

Ciertas leucemias presentan variantes clínico-patológicas, morfológicas y moleculares distintivas, algunas de las cuales poseen impacto pronóstico. Las mutaciones del gen NPM1 (28 al 35 %) se asocian con altas tasas de remisión completa y una mayor supervivencia, y las FLT3-ITD (30 %) han mostrado un pronóstico negativo<sup>(1)</sup>. En los casos de presencia de ambas mutaciones con cariotipo normal el pronóstico es similar al de la presencia de la mutación FLT3-ITD aislada<sup>(2)</sup>. En las LMA con blastos granulares se han identificado INP que generan dudas sobre si trata de un hallazgo morfológico o de un fenómeno artificial<sup>(3)</sup>. Este hallazgo se ha asociado con las mutaciones FLT3 y NPM1, así como con la falta de expresión de CD34 y HLA-DR. Estudios de microscopía electrónica han revelado que el fenómeno morfológico es real y está causado por el acúmulo de organelas citoplasmáticas debido a alteraciones de transporte núcleo citoplasmático de la NPM1, pudiendo esta mutación ser considerada como un evento causante y no debido a cambios nucleares primarios. Chen y col.<sup>(4)</sup> estudiaron 22 pacientes con LMA con estas características morfológicas. Utilizaron una definición estricta para blastos con INP,  $\geq$  del 10 % de blastos que ocupaban el 25 % del

área nuclear. El estudio demostró asociación con recuentos leucocitarios elevados, alto porcentaje de blastos en sangre y médula ósea, baja expresión de CD34 y HLA-DR (especialmente en los subtipos FAB no monocíticos), cariotipo normal y mutaciones en los genes FLT3, (86% vs. 38 %  $p = .002$ ), NPM1 (86% vs. 19%  $p < .0001$ ) o ambos (77% vs 14%  $p = .0001$ ). Concluyen que las LMA con INP están asociadas con las mutaciones FLT3-ITD y NPM1 y con varios hallazgos clínico patológicos e inmunofenotípicos.

Carluccio y col.<sup>(5)</sup> estudiaron 68 pacientes con LMA en los cuales se detectaron células blásticas con INP (más del 10%) en 15 (22 %) de los casos. La presencia de INP estaba asociada con la mutación FLT3-ITD, así como con la pérdida de la expresión de CD34 y HLA-DR. Los resultados no se modificaron significativamente cuando se utilizó un punto de corte superior de células con INP.

Park y col.<sup>(6)</sup> estudiaron la correlación entre mutaciones FLT3 y NPM1 en blastos con INP en pacientes con LMA. Hallaron la presencia de éstas en el 21,2% de los casos. Esta morfología se asoció con recuentos de leucocitos elevados y baja expresión de CD 34 pero las mutaciones FLT3-ITD y NPM1 aisladas no se asociaban o lo hacían débilmente con esta morfología. En cambio la presencia de ambas mutaciones (17 pacientes  $p > 0.001$ ) se asociaban fuertemente con INP. Su conclusión fue que es necesario buscar ambas mutaciones cuando existen blastos con esta morfología.

Bennett y col.<sup>(7)</sup> analizaron la sensibilidad y especificidad de la predicción morfológica para la presencia de la mutación NPM1 en 66 pacientes con LMA, (17 con y 49 sin la mutación NPM1). Los resultados indicaron que una fracción mayor al 10 % de blastos con INP es altamente predictiva de la mutación pero con una sensibilidad sólo del 30 %.

Rastogi y col.<sup>(8)</sup> sostienen que, si bien los estudios moleculares son mandatorios para el diagnóstico y pronóstico de los pacientes con LMA, en caso de limitaciones para estos estudios debería considerarse su realización en aquéllos en los cuales existan blastos con INP. Recientemente Wein Wang y col. reportaron la presencia de esta característica morfológica en blastos con fenotipo de leucemia linfoblástica aguda B asociada a mutaciones TP53 y DNMT3A. Los autores consideran que este reporte inusual requiere futuras investigaciones.<sup>(9)</sup>

**Conclusiones.**

En resumen presentamos un caso de LMA con blastos de características morfológicas específicas (INP) e inmunofenotípicas (negatividad para expresión de CD34, HLA-DR y CD 7 y positividad para MPO) con cariotipo normal y mutaciones NPM1 y FLT3-ITD. La literatura recomienda en pacientes con blastos entre un 5 y 10 % con INP en sangre y/o médula ósea, que abarcan más del 25 % del área nuclear (como el caso presentado), buscar la presencia de las mutaciones NPM1 y FLT3-ITD.

**Declaración de conflictos de intereses:**

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

**Bibliografía.**

1. National comprehensive cancer network. Practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia (v1.2015). Available at <http://www.nccn.org>.
2. Röllig C, Bornhäuser M, Thiede C. Long-term prognosis of acute myeloid leukemia according to the new genetic risk classification of the European Leukemia Net recommendations: evaluation of the proposed reporting system. *J Clin Oncol*. 2011 Jul 10;29(20):2758-65.
3. Kroschinsky FP, Schäkel U, Fishser R et al. Cup-like acute myeloid leukemia: new disease or artificial phenomenon? *Haematologica* 2008; 93(2):283-6.
4. Chen W, Konoplev S, Medeiros LJ et al. Cup-like nuclei (prominent nuclear invaginations) in acute myeloid leukemia are highly associated with FLT3 internal tandem duplication and NPM1 mutation. *Cancer*. 2009 Dec 1; 115 (23):5481-9.
5. Carluccio P, Mestice A, Pastore D, et al. Immunophenotypic and molecular features of "cup-like" acute myeloid leukemias. *Eur J Haematol*. 2014 Feb;92(2):121-6.
6. Park BG, Chi HS, Jang S et al. Association of cup-like nuclei in blasts with FLT3 and NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2013 Apr; 92(4):451-7.
7. Bennett JM, Pryor J, Todd S et al. Is the Association of "Cup-like" Nuclei With Mutation of the NPM1 Gene in Acute Myeloid Leukemia Clinical Useful? *Am J Clin Pathol*. 2010; 134(4):648-52.
8. Rastogi P, Naseem S, Varma N, et al. Immunohistochemical Detection of NPM1 Mutation in Acute Myeloid Leukemia and its Association With Cup-like Nuclear Morphology of Blasts. *Am J Hematol*. 2015 Sep;90(9):847-8.
9. Wei W, Wei X, Shimin H. Cup-like blasts in B-lymphoblastic leukaemia *British Journal of Hematology* 2015 Sep;170(5):596.