Leucemia de células natural Killer: a propósito de un caso clínico

Dra. Julia Guerrero, Dr. Gullermo Conte, Dr. Daniel Araos, Dr. Claudio Flores, Dra. Leonor Moyano. Servicio de Hematología y Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Las células Natural Killer (NK) son una línea de linfocitos no B, no T que cumplen función de citotoxicidad no restringida por el complejo mayor de histocompatibilidad. Morfológicamente son linfocitos grandes y granulares. Fenotípicamente, expresan en superficie, entre otros, antígenos CD16 y CD56, sin coexpresión de CD3.

El aumento del recuento de estos linfocitos en sangre periférico asociado a neutropenia fue reconocido como entidad clínica sindromática en 1977. Sólo en 1986 se describe en literatura el primer caso en adultos de Leucemia de células NK, de curso clínico agresivo y fatal.

Se presenta el siguiente caso clínico para su discusión y breve revisión del tema.

Caso Clínico

PBG, paciente mujer de 25 años de edad que no cuenta con antecedentes mórbidos de importancia. Su cuadro clínico comienza seis meses antes de consultar, caracterizado por baja de peso aproximada de 10 kilos, sin otro síntoma acompañante. Cinco días previos a su hospitalización refiere aparición de disnea progresiva, sensación febril no cuantificada y dolor torácico tipo puntada de costado, motivo por el que consulta al Servicio de Urgencias del hospital de su área, donde es internada con el diagnóstico de Neumonía comunitaria bilateral extensa y grave en la Unidad de Cuidados Intensivos. En ella, evolucionó grave con falla respiratoria que hizo necesario el uso de ventilación mecánica y tratamiento antibiótico empírico asociado de amplio espectro (Ceftriaxona, Clindamicina, Claritromicina). Desde el punto de vista microbiológico, se aisló en vía aérea Estafilococo aureus Meticilino Resistente y

Tabla 1

Bioquímica sanguínea

	Ingreso
Glicemia (mg/dl)	**68**
N. Ureico (mg/dl)	**44**
Creatinina (mg/dl)	**1.31**
Calcio (mg/dl)	**8.56**
Fósforo (mg/dl)	**4.6**
Bili Total (mg/dl)	**25.09**
Bili Directa (mg/dl)	**19.57**
Fosf Alcalinas (U/L)	**1140**
Sgot (U/L)	**280**
Sgpt (U/L)	**100**
Ggt (U/L)	**450**
Ldh (U/L)	**2790**
Proteínas (gr/dl)	**3.91**
Albuminas (gr/dl)	**1.91**
Colesterol (mg/dl)	**216**
Elisa VIH	**Negativo**
Elisa VHC	**Negativo**
Elisa HbsAg	**Negativo**

Tabla 2

Hemogramas

	Pre-ingreso	Ingreso	4 días Ingreso	5 días Ingreso
Hematocrito	**28.5**	**27**	**22**	**26**
Hemoglobina	**9.9**	**9.4**	**7.5**	**8.5**
VCM/CHCM		**82/34**	**89/34**	**90/33**
Reticulocitos	**10**	**3.4**	**2.4**	**2.4**
G. Blancos	**16900**	**23000**	**43100**	**59200**
Neutrofilos	**49**	**42**	**19**	**4**
Segmentados	**40**	**27**	**12**	**4**
Baciliformes	**5**	**11**	**7**	**0**
Metamielocitos	**0**	**2**	**0**	**0**
Mielocitos	**4**	**2**	**0**	**0**
Eosinofilos	**1**	**0**	**1**	**0**
Basofilos	**0**	**0**	**0**	**0**
Monocitos	**4**	**22**	**9**	**12**
Linfocitos	**13**	**21**	**25**	**5**
Plasmocitos	**0**	**0**	**0**	**0**
Plaquetas	**51000**	**31000**	**23000**	**23000**
VHS	**15**	**9**	**15**	**12**
Blastos	**30**	**12**	**1**	**18**
Monicitos Atípicos	**-**	**-**	**46**	**61**

Acinetobacter baumanil. Evolucionó en forma favorable con retiro de la ventilación mecánica y posterior extubación al sexto día de hospitalización. Llama la atención la aparición de ictericia de manera progresiva, anemia marcada y trombocitopenia. Una vez descartadas causas periféricas como etiología de la evolución antes descrita, se procedió a estudiar la médula ósea en la que se observó infiltración por células atípicas, razón por la que fue derivada a la Unidad de Hemato-Oncología de nuestro centro al noveno día de su hospitalización

Al ingreso, destacaba una paciente en malas condiciones generales, intensamente enflaquecida, bradipsíquica, con ictericia de piel y mucosas, púrpura cutáneo, equimosis en sitios de punción, no se palpaban adenopatías. En lo hemodinámico, normotensa, taquicárdica, taquipneica y febril. Al examen segmentario, sindrome de condensación pulmonar en ambas bases, hepatomegalia de 10 cm bajo el reborde costal y esplenomegalia de 4 cm bajo el reborde costal.

Desde el punto de vista del laboratorio, destacaba:

1. Bioquímica general, (ver tabla Nº 1)
2. Hemograma y Hemostasia, (ver tablas Nº 2 y 3)
3. Aspirado de Médula Osea: infiltración de células mononucleares atípicas grandes y medianas (ver tabla Nº4)
4. Biopsia de Médula Osea: estudio compatible con Leucemia de Células Nulas (ver tabla Nº5 y Figura Nº1). Hígado infiltrado (Figura Nº2)
5. Citometría de Flujo en sangre periférica: patrón de células NK (CD16/56+), HLA DR+, CD3-, PAN B-, PAN T- (ver Figura Nº3).
6. Estudio Citogenético: no se obtuvo muestra de la punción medular.
7. Estudio de imágenes: Ecotomografía Abdominal: Hepatomegalia compatible con hepatitis aguda. Esplenomegalia. Aumento de tamaño de ambos riñones con ecogenicidad levemente aumentada. Ovarios aumentados de tamaño, sólidos y ecogénicos. Ambos hallazgos hacen sospechar proceso infiltrativo difuso. Moderada cantidad de líquido libre intraabdominal.

Tabla 3

Hemostasia

	Ingreso	3 Días Ingreso
TTPK		
(normal: 30")	42"	35.3"
T. Protrombina		
(normal: 12.1")	16.3" 63% INR:1.37	16.7" 61% INR:1.41
T. Trombina		
(normal: 20")	24.5"	28"
Monomeros		
Fibrina	Negativo	Negativo
Fibrinogeno	163 mg%	195 mg%
Lisis de		
Euglobina	Negativo	Negativo

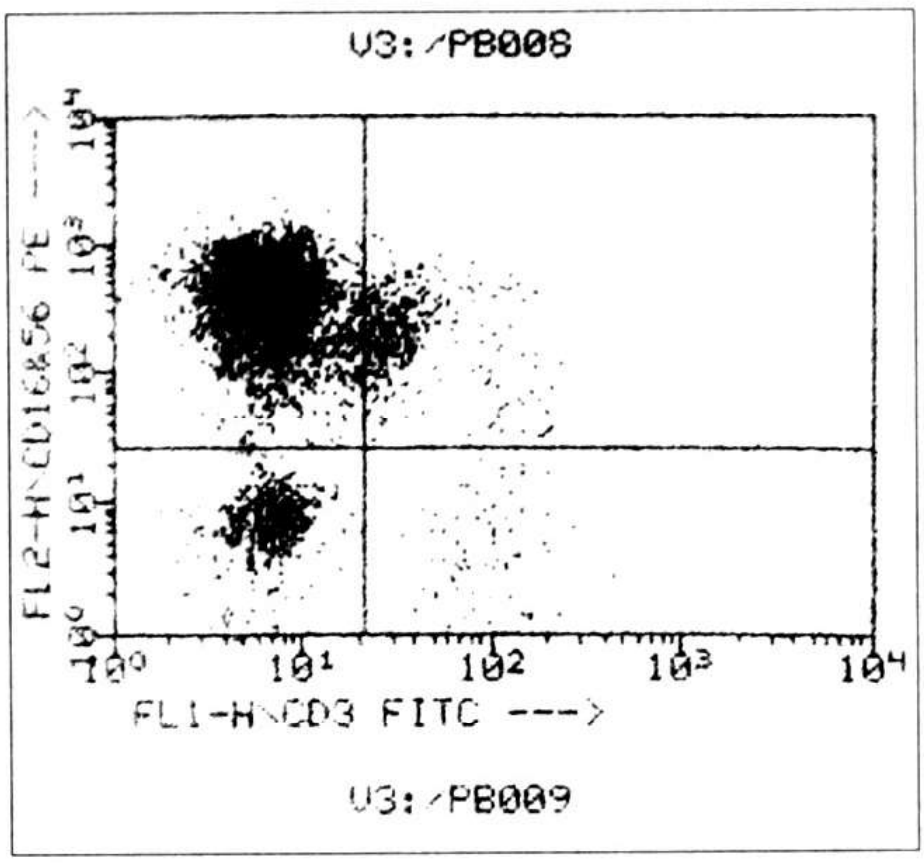

Figura 3

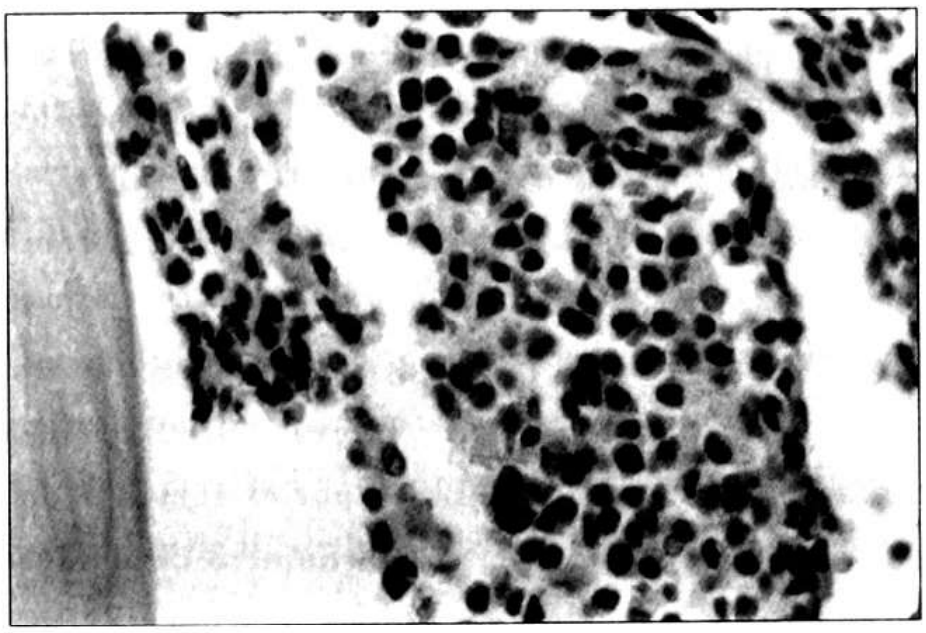

Figura 1: Médula ósea 400x hematoxilina-eosina

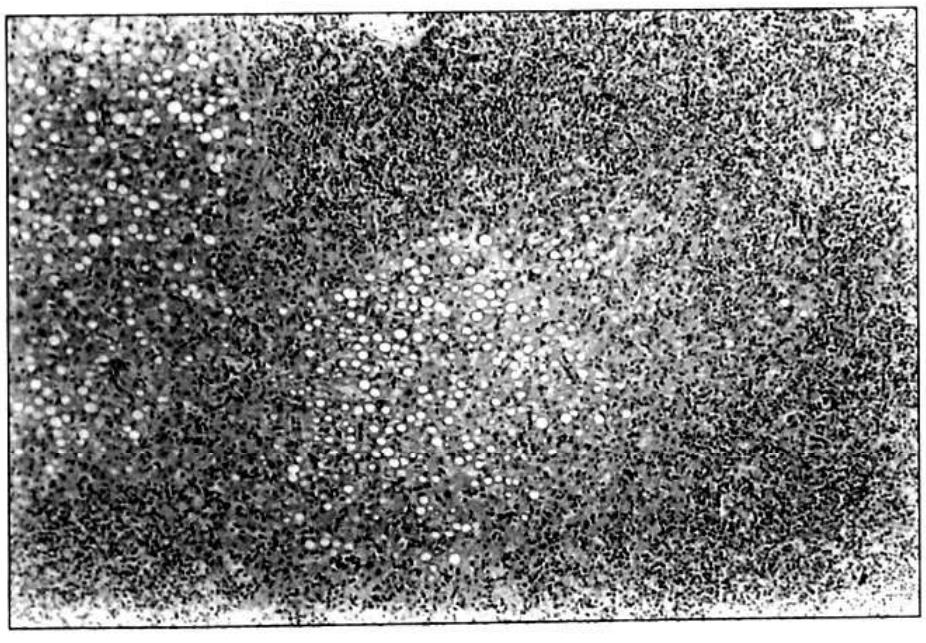

Figura 2: Hígado 100x hematoxilina-eosina

Dada la presencia del cuadro infeccioso pulmonar intercurrente, se inició tratamiento antibiótico empírico asociado y de amplio espectro (Ceftazidima, Vancomicina). Persistió febril, sin deterioro de sus parámetros hemodinámicos, con mejoría subjetiva de la disnea y discreta regresión radiológica de los infiltrados pulmonares.

En los días sucesivos, la disnea se hizo progresiva con falla respiratoria, signos evidentes de actividad séptica desatada, progresión de la ictericia que se asoció a signos y síntomas de insuficiencia hepática. Por lo anterior, se debió postergar el inicio del tratamiento quimioterápico y continuar su manejo en la Unidad de Pacientes Críticos donde evolucionó grave con falla multiorgánica. Fallece al séptimo día de haber ingresado a nuestro hospital.

El estudio de necropsia demostró Leucemia de Células Grandes Granulares de tipo Natural Killer en etapa IV (Médula y Bazo), demostrado por inmunohistoquímica y citometría de flujo de sangre periférico. La causa de muerte fue Shock hipovolémico por Hemoperitoneo Pulmón de shock, Necrosis tubular renal, Mieloptisis. Además, Derrame pleural bilateral, Infartos esplénicos, Bronconeumonia terminal.

Tabla 4

Aspirado de médula ósea	
Se obtienen escasa cantidad de muestra en punción esternal donde se observa un reemplazo de la serie eritroide (9%) y granulocitica (38%), linfocitos (8%) por elementos mononucleares atípicos (45%) medianos y grandes, de citoplasma basófilo, con frecuencia granular y azurófilo y en ocaciones vacuolado.	Conclusión: Infiltración medular. Probable linfoma.

Tabla 5

Biopsia de médula ósea	
Ex. Macro: cilindro óseo 12x3mm. Ex. Histopat. marcada osteolisis, actividad osteoblastica y osteolítica. Medula ósea hematopoyética con infiltración difusa 90% de celulas grandes y núcleo irregular, cromatina grumosa, citoplasma escaso y granular. Inmunohistoquímica CD20 y UCHL 1(-) en células neoplásicas	Conclusión: Estudio compatible con leucemia de células nulas.

Discusión

El caso clínico descrito corresponde al de una paciente portadora de Leucemia Aguda de Células NK, lo que se demostró por el estudio de Inmunohistoquímica y corroborado por la Citometría de Flujo que resultó ser característica para este grupo de linfocitos (Figura N°2).

El curso clínico agresivo y fatal corresponde a las comunicaciones descritas en la literatura.

Las células NK son una línea de linfocitos no B, no T que habitualmente dan cuenta del 10-15% de las células mononucleares presentes en la sangre periférico. Tienen actividad citotóxica no restringida por el complejo mayor de histocompatibilidad. En esta acción tóxica participan proteínas formadoras de poros ("Porinas") y serinproteasas, que forman parte de los constituyentes de los gránulos citoplasmáticos que los caracterizan desde el punto de vista morfológico. En relación al fenotipo, expresan en superficie marcadores CD16/CD56 y los marcadores B y T son negativos.

Inicialmente todo linfocito grande y granular fue interpretado como célula NK; sin embargo, la inmunofenotipificación con anticuerpos mononucleares hizo posible diferenciar dos grupos diferentes en relación a la presencia o no en superficie del marcador CD3:

CD3+: subgrupo de linfocitos T (LT) que expresan en superficie el complejo TCR/CD3 y presentan reordenamiento génico del receptor de LT (TCR).

CD3-: células NK. No expresan en superficie el complejo TCR/CD3.

En 1977 Mc Kenna y cols describen y reconocen como entidad clínica nueva un cuadro Linfoproliferativo caracterizado por el aumento del recuento en sangre periférico del número de linfocitos grandes y granulares asociado a neutropenia. Posteriormente Loughran y cols en 1988 asocian la presencia de Leucemia de Linfocitos grandes y granulares con alteraciones clonales, con lo que se demuestra su carácter de neoplasia.

Se ha asociado este cuadro a la presencia de un cromosoma adicional (1q+), duplicaciones de q21q31, aunque su rol patogénico no ha sido completamente aclarado. Se piensa que tales condiciones le confieren el carácter proliferativo que los caracteriza.

Se describe en la literatura un amplio espectro de patologías que pueden cursar con aumento proporcional o absoluto del recuento de células NK en la san-

gre periférico sin que esto signifique la presencia de una patología neoplásica. Entre ellas destacan:

- Linfocitosis crónica de células NK
- Púrpura trombocitopénico inmune
- Sindrome mielodisplásico
- Linfocitosis transitoria reactiva como epifenómeno de una alteración o disregulación del sistema inmune como ocurre en Artritis Reumatoidea, receptor de trasplante de médula ósea o procesos infecciosos tales como virus de Epstein Barr, virus Hepatitis B y virus Hepatitis C.

El hecho de demostrar monoclonalidad o la presencia de un curso clínico agresivo con sindrome tumoral e infiltración tisular, le confieren el sello de neoplasia.

Ha sido demostrado por Kawa y cols en una publicación de 1989 que en un grupo de pacientes portadores de enfermedad linfoproliferativa de linfocitos granulares CD3-, la presencia de secuencias de DNA de virus de Epstein Barr en estas células podría ser de utilidad para demostrar clonalidad y, probablemente, predecir un curso clínico más agresivo.

Los sindromes linfoproliferativos de células NK, en general, pueden manifestarse como:

1. Enfermedad linfoproliferativa de células granulares de linaje NK (NK-GLPD), correspondiente a un cuadro clínico relativamente infrecuente que puede evolucionar con un curso clínico variable: indolente, sin requerir tratamiento específico, hasta agresivo y fatal, pese a la terapia empleada.
2. Linfoma de célula NK: poco frecuente. En la morfología se observan lesiones necróticas y angiocéntricas. Clásica es su presentación nasal.
3. Leucemia Aguda de células NK: es infrecuente. Se ha descrito con las características de una Leucemia Aguda Linfoblástica o de crisis blástica en Leucemia Mieloide Crónica. En ambas, los blastos presentan características de células NK. En lo clínico, presentan compromiso hépato-esplénico y curso agresivo.

Clásicamente la existencia de más de 200 cel/ml de linfocitos grandes granulares por un período de tiempo de al menos seis meses confirma la presencia de una Enfermedad Linfoproliferativa por células NK. Sin embargo, se han descrito casos con recuentos celulares menores. La aparición de criterios citogenéticos y el análisis de polimerasa en cadena (PCR) para TCR y p58, han confirmado que son estos parámetros los que hacen el diagnóstico de certeza.

Lo anterior ha sido ratificado por Semenzato y cols quienes ha confirmado que no es necesario el recuento celular de 200 cel/ml ni el periodo de tiempo de observación antes estipulado (seis meses) para confirmar la presencia de enfermedad. Estos autores fundamentan sus hallazgos en la inmunofenotipificación, estableciendo la siguiente secuencia para su correcta interpretación:

1. Demostrar que se está frente a una proliferación de linfocitos grandes granulares: CD8, CDl6, CD56, CD57. Consideran fundamental la presencia de CD16.
2. Según se encuentre o no presente el marcador de superficie CD3, clasificar en uno de los siguientes grupos:

2.1) CD3+/ CD16+: Si el recuento celular es mayor del 5%, probablemente se trate de un Enfermedad Linfoproliferativa de Linfocitos Granulares CD3+. En esta casuística se demostró clonalidad por rearreglo del TCR en su secuencia Vß.

2.2) CD3-/ CD16+: Se fundamenta el diagnóstico en hallazgos clínicos. La persistencia de la linfocitosis estaría dada por reactividad frente a anticuerpos monoclonales anti-p58 (antígeno EB6, antígeno GL183). Este inmunofenotipo se presenta en forma poco frecuente y corresponde al caso clínico descrito en este reporte.

Sugiere además, que el concepto de "tiempo de observación" (seis meses) tendría utilidad para descartar linfocitosis reactiva transitoria (de carácter policlonal), período de tiempo que resulta innecesario si se ha demostrado clonalidad o el curso clínico ha sido agresivo, situaciones en las cuales la quimioterapia debe ser iniciada a la brevedad. En la casuística del citado autor, la principal indicación de inicio de tratamiento resultó ser la neutropenia severa que condicionó la presencia de infecciones bacterianas recurrentes.

En general, podemos decir que frente a la sospecha de Leucemia de Linfocitos Grandes y Granulares (anemia, neutropenia, linfocitosis, infecciones recurrentes), debemos evaluar:

- Hemograma completo con recuento diferencial de leucocitos.
- Frotis de Sangre Periférica
- Inmunofenotipificación:

CD3+/CD16: Estudio de rearreglo de genes TCR:

Clonal: Leucemia de LGG.

No clonal: Proliferación de LGG Reactiva.

CD3 -/CD16: Observar las características del cuadro clínico:

Enfermedad agresiva: Leucemia de LGG-NK.

Enfermedad no agresiva:

Linfocitosis NK Crónica.

Linfocitosis NK Reactiva.

Ante un paciente que se presenta con un cuadro clínico caracterizando por compromiso del estado general, sindrome infiltrativo que compromete médula ósea, hígado y bazo con presencia de células atípicas en sangre, debe plantearse un cuidadoso estudio de la morfología e inmunofenotipo que permita diferenciar el diagnóstico entre una Leucemia aguda, Linfoma leucemizado o Leucemia de células Natural Killer como ha sido el caso clínico aquí presentado. El curso clínico agresivo, la rápida evolución y el desenlace fatal corrobora el carácter neoplásico agresivo de esta enfermedad que en esta oportunidad no hizo posible el tratamiento quimioterápico.

Referencias:

1. Jaffe SE
Classification of Natural Killer (NK) Cell and NK-Like T-Cell Malignances. Blood 87(4): 1207-1210, 1996.

2. Kwong YL, Chan ACL, Liang R, Cchiang AKS, Chim CS, Chan TK, Todd D, Ho FCS
CD56+ NK Lymphomas: clinicopathological features and prognosis. Brit J. Haem 97: 821-829; 1997.

3. Ohno T, Kanon T, Arita Y, Fujji H, Kuribayashi K, Masuda T, Horiguchi Y, Yaniwaki M, Nosaka T, Hatanaka M, Uchino H
Fulminant Clonal Expansion of Large Granular Lymphocites: Characterization of Their Morphology, Phenotipe, Genotipe and Function. Cancer 62: 1918-1927; 1988.

4. Loughran TP
Clonal Diseases of Large Granular Lymphocytes. Blood 82(1):1-14; 1993.

5. Fernández LA, Pope B, Lee C, Zayed K
Aggressive Natural Killer Cell Leukemia in an Adult with Establishment of an NK Cell Line. Blood 67(4): 925-930; 1986.

6. Kawa-Ha K, Ishihara S, Ninomiya T, Yumura-Yagi K, Hara J, Murayama F, Tawa A, Hirai K
Cd3- negative Lymphoproliferative Disease of Granular Lymphocytes Containing Epstein Barr Viral DNA. J. Clin. Invest. 84 (July): 51-55; 1989.

7. Semenzato G, Zambello R, Starkebaum G, Oshimi K, Loughran T
The Lymphoproliferative Disease of Granular Lymphocytes: Updated Criteria for Diagnosis. Blood 89 (1): 256-260; 1997.

8. Oshimi K
Lymphoproliferative Disorders of Natural Killer Cells. Int. J. Haematol 63(4): 279-290; 1996.

9. Trapani JA, Browne KA, Smyth MJ, Jans DA
Localization of Granzyme B in the nucleus. A putative role in the mecanism of cytotoxic lymphocyte- mediated apoptosis. J Biol Chem: 271(8): 4127-4133; 1996.

10. Yatabe Y, Mori N, Hirabayashi N, Asai J
Natural Killer Cell Leukemia: An autopsy case. Arch. Pathol. Lab. Med: 118(12): 1201-1204, 1.

11. Catli EA, Roberts JD, Erana R. Et al
Transplacental Transmission of Natural Killer cell Lymphoma. N Engl J Med 341 (2):85-91, 1999.