

Quando l'apparenza inganna: un caso di leucemia acuta con imponente vacuolizzazione dei blasti

Alessandra Marini

Laboratorio Analisi Ospedale Versilia, Settore di ematologia, coagulazione e citofluorimetria, Lido di Camaiore (LU)

ABSTRACT

Appearance can be deceptive: a case of acute leukemia with marked vacuolation of blasts. A 69-year-old female, suffering from myelodysplastic syndrome, is admitted to the hospital because of worsening of anemia and thrombocytopenia. The blood count confirms anemia (hemoglobin 97 g/L) and thrombocytopenia (platelets $43 \times 10^9/L$). At the optical microscopy 87% blast cells are observed; these are characterized by numerous cytoplasmic vacuoles, mimicking an acute lymphoid leukemia. A similar finding is obtained in myeloaspirate smears. By means of 6-color immunophenotyping, blast cells appear to be positive for CD13, CD33, CD34, CD117, CD38, CD45RA, CD71, myeloperoxidase, and partially positive for CD235a. The positivity for myeloperoxidase is confirmed by standard cytochemistry. Acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes is diagnosed. This case shows that marked vacuolation of blasts, although more frequent in cases of B-cell acute leukemia, may be present in sporadic cases of acute myeloid leukemia.

CASO CLINICO

Una donna di anni 69, affetta da alcuni anni da sindrome mielodisplastica, classificata come citopenia refrattaria con displasia multilineare secondo la classificazione dell'Organizzazione mondiale della Sanità (WHO) del 2008 (1), viene ricoverata in urgenza presso l'Ospedale Versilia per polmonite.

Al momento del ricovero, i valori dell'emocromo sono i seguenti: leucociti $7,70 \times 10^9/L$ (i.r. 4,8-10,8); eritrociti $3,03 \times 10^{12}/L$ (i.r. 4,2-5,4); emoglobina 97 g/L (i.r. 120-160); ematocrito 28,5% (i.r. 37-47); volume corpuscolare medio 94,1 fL (i.r. 81-99); piastrine $43 \times 10^9/L$ (i.r. 130-400).

L'esame emocromocitometrico e la conta leucocitaria differenziale sono stati eseguiti con gli analizzatori Advia 2120 (Siemens Healthcare Erlangen, Germania) e Sysmex XN (Sysmex, Kobe, Giappone).

Il primo utilizza la citochimica automatizzata a flusso, differenziando i globuli bianchi ad eccezione dei basofili dopo colorazione citochimica per la mieloperossidasi, il secondo separa le cellule mediante citofluorimetria, utilizzando 3 diversi segnali: "scatter" frontale (FSC), "scatter laterale" (SSc) e fluorescenza laterale (SFI).

La formula leucocitaria strumentale segnala su

Advia 2120 il 60% di cellule di grandi dimensioni mieloperossidasi negative ("large unstained cells") e un aumento percentuale della componente monocitaria, (20%; i.r. 3,4-9,0), con allarme dei blasti, mentre su Sysmex XN la componente monocitaria rappresenta il 67%, sempre con allarme dei blasti.

Lo striscio del sangue periferico mostra il 7% di granulociti neutrofili, il 6% di linfociti e l'87% di blasti, classificati come tali in accordo ai criteri proposti dall'"International Council for Standardization in Haematology" (ICSH) (2). I blasti sono scarsamente differenziati, caratterizzati da evidenti e numerosi vacuoli nel citoplasma (Figura 1 a, b), tali da far pensare a un quadro linfoide acuto. Occasionalmente, in alcuni vacuoli sono visibili inclusi amorfi di dimensioni molto piccole (Figura 1c).

L'esame morfologico dei preparati ottenuti da mieloaspirato mostra infiltrazione massiva da parte di blasti, caratterizzati essenzialmente dalla presenza di numerosi vacuoli, in sede citoplasmatica (Figura 1d). In alcuni blasti i vacuoli mostrano tendenza alla confluenza. I preparati del mieloaspirato non mostrano presenza di elementi mieloidi in maturazione.

Su uno striscio di sangue midollare viene eseguita colorazione citochimica per mieloperossidasi

Corrispondenza a: Alessandra Marini, Laboratorio Analisi Ospedale Versilia USL Toscana Nord Ovest, Via Aurelia 335, 55043 Lido di Camaiore (LU). Tel. 05846055320, Fax 05846055375, E-mail a.marini@uslnordovest.toscana.it

Ricevuto: 25.01.2016

Revisionato: 09.03.2016

Accettato: 15.03.2016

Pubblicato on-line: 01.08.2016

DOI: 10.19186/BC_2016.024

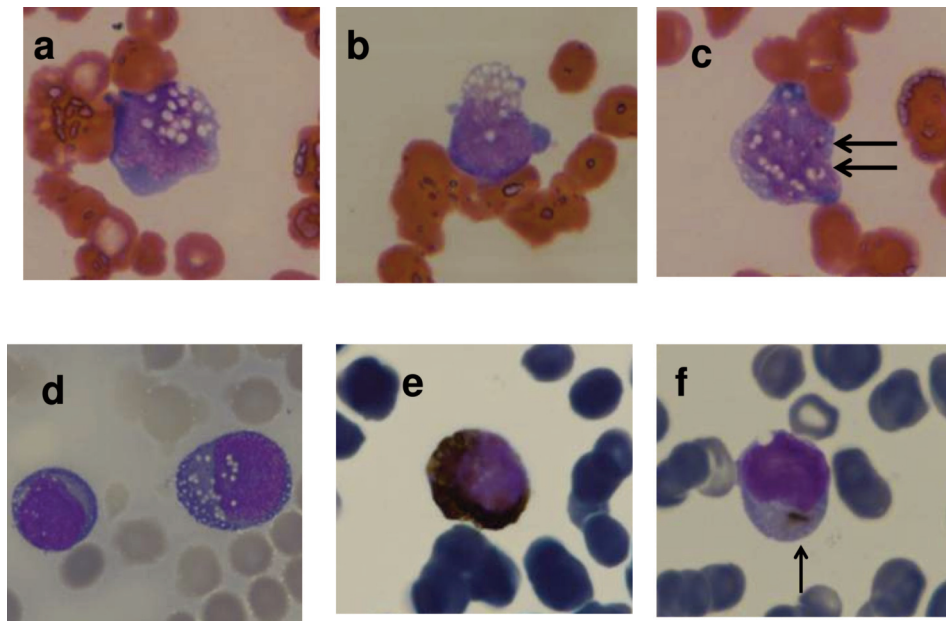


Figura 1

Morfologia dei blasti. a, b: sangue periferico, blasti con numerosi vacuoli; c: sangue periferico; le frecce mostrano presenza di materiale amorfo all'interno di due vacuoli; d: sangue midollare; due blasti di diversa taglia con presenza di vacuoli; e: sangue midollare; intensa positività alla colorazione citochimica per mieloperossidasi; f: sangue midollare, la freccia indica un corpo di Auer osservato con la citochimica. Ingrandimento: 1000 x.

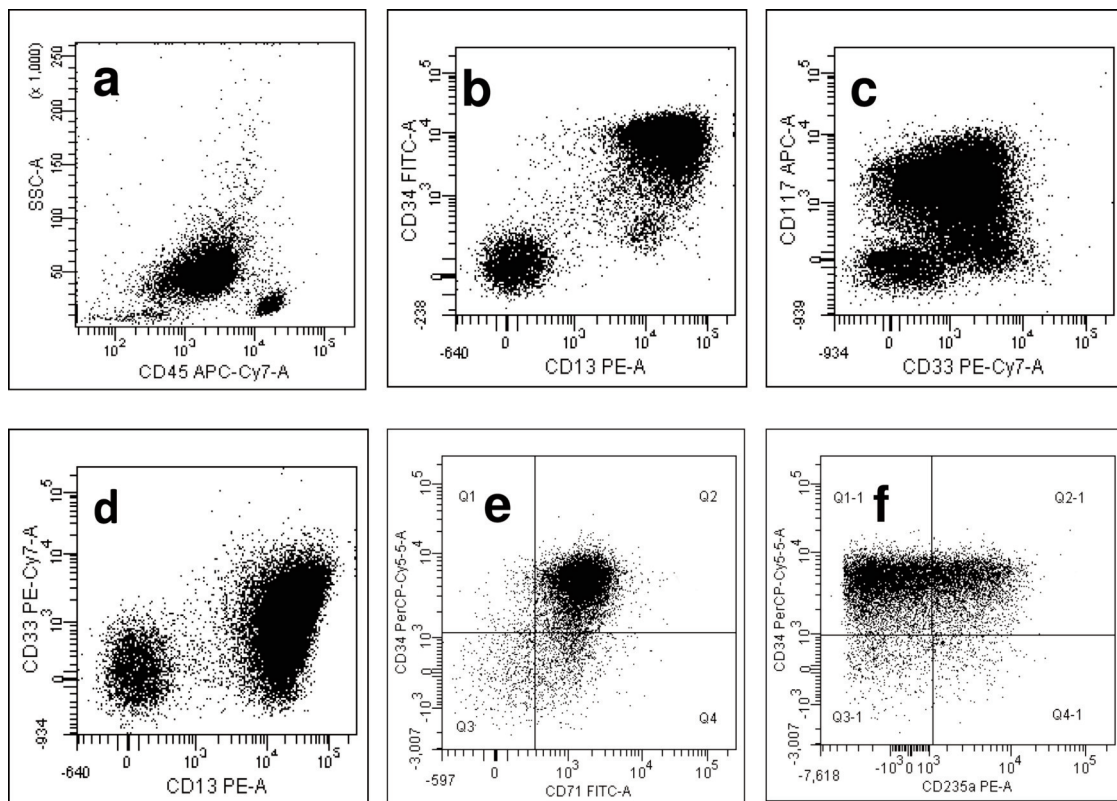


Figura 2

Immunofenotipo su sangue periferico. a: il citogramma mostra la localizzazione in sede granulocitica della popolazione patologica; b, c, d, e: i citogrammi indicano la positività per alcuni dei principali marcatori: CD34, CD13, CD33, CD117, CD71; f: una quota della popolazione patologica (32%) risulta positiva per CD235a.

(Peroxidase, Mieloperoxidase Leukocyte Kit, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA), la quale mette in evidenza una positività molto intensa nella maggior parte dei blasti con occasionali corpi di Auer (Figura 1 e, f).

L'analisi citofluorimetrica è eseguita su FACS Canto II (BD Biosciences San Jose, California, USA), utilizzando il software Facs Diva, sia su sangue periferico che su quello midollare. I campioni di sangue (100 μ L) sono incubati con anticorpi monoclonali (BD Biosciences) diretti contro i seguenti antigeni: CD45, CD34, CD13, CD33, CD117, CD14, CD64, HLA-DR, Mieloperoxidasi (MPO), CD16, CD11b, CD38, CD45RA, CD56, CD2, CD7, CD15, CD19, CD10, CD20, CD5, CD58, TdT, CD79a, cyCD3, cyCD22, CD36, CD235a, CD71.

L'immunofenotipo evidenzia su sangue periferico (e anche su sangue midollare) una popolazione patologica, pari a ~89% degli eventi acquisiti, che nel citogramma CD45 vs. SSc occupa una zona di tipo granulocitico e risulta positivo per i seguenti marcatori: CD34, CD13, CD33, CD117, CD38, CD45RA, MPO, CD71 (Figura 2a-e). Una quota della popolazione patologica (32%) risulta positiva per CD235a (Figura 2f).

Viene posta pertanto la diagnosi di leucemia acuta mieloide con alterazioni correlate a mielodisplasia.

DISCUSSIONE

Quadri di notevole vacuolizzazione nei blasti di leucemia acuta sono presenti in particolar modo nelle leucemie linfoblastiche a cellule B mature, in passato classificate come forme L3 dalla classificazione "French American British classification" (FAB) e ora classificate come variante leucemica del linfoma di Burkitt, quindi nell'ambito delle patologie neoplastiche a cellule B mature (3). Infatti il sottotipo L3 delle leucemie linfoblastiche era caratterizzato da blasti di grossa taglia con marcata vacuolizzazione del citoplasma (4). E' tuttavia noto che aspetti di vacuolizzazione possono essere osservati, anche se in modo meno evidente e molto meno frequentemente, in altre forme leucemiche acute (4,5). Per esempio in un'ampia serie di leucemie acute mieloidi, su 272 casi, aspetti di vacuolizzazione marcata erano presenti solo in due pazienti e soltanto in una parte dei blasti, e comunque associati a un aspetto monocitoide (6).

Nel caso clinico presentato in questo lavoro i blasti osservati nel sangue periferico e nel preparato di mieloaspirato mostrano morfologia indifferenziata e l'aspetto dell'imponente vacuolizzazione citoplasmatica interessa la maggior parte delle cellule, al punto da evocare una forma assimilabile a quelle oggi definite dalla classificazione WHO varianti leucemiche del linfoma di Burkitt (1).

La necessaria analisi immunofenotipica mediante citofluorimetria ha permesso di identificare con precisione la linea di appartenenza dei blasti nel caso in esame, assegnando un fenotipo essenzialmente mieloide, come testimoniato dalla espressione di CD13,

CD33, CD117, MPO. L'immunofenotipo è inoltre caratterizzato da una positività del CD71 e dalla parziale espressione di CD235a (glicoforina A), presente con debole espressione nel 32% dei blasti.

Questi aspetti sono meritevoli di discussione alla luce sia dei dati anamnestici (pregressa sindrome mielodisplastica), sia dell'attuale visione degli stadi della emopoiesi. Questa leucemia acuta si presenta infatti come una forma post-mielodisplastica, condizione nella quale sono possibili aberrazioni morfologiche e immunofenotipiche.

Per quanto riguarda l'anomala espressione del CD71, considerato un marcatore eritroide, questo antigene sembra essere presente in realtà in molti casi di leucemia acuta mieloide (LAM), e in particolare nelle forme associate a sindrome mielodisplastica. Infatti in un ampio studio è stato ipotizzato che la coespressione CD71/CD34, come nel caso qui presentato, rappresenti un marcatore di evoluzione dalla sindrome mielodisplastica alla LAM, dato che nel processo di trasformazione in cellule leucemiche gradualmente aumenta l'espressione sia di CD71 che di CD34 (7).

Il CD235a è un marcatore più specificatamente eritroide. Tuttavia i blasti del caso descritto non mostrano segni morfologici di differenziazione eritroide.

Considerato che il caso in oggetto non soddisfa i requisiti né della leucemia acuta eritroblastica pura, né della eritroleucemia (8), la coespressione, peraltro parziale, di CD235a, associata alla presenza di un altro marcatore eritroide come il CD71, potrebbe essere interpretata come manifestazione di trasformazione leucemica di un precursore molto immaturo mielo-eritroide, che rappresenta una delle tappe iniziali della normale emopoiesi umana, direttamente derivante dalla cellula staminale emopoietica (9).

In conclusione il caso descritto sottolinea il ruolo essenziale della immunologia nella diagnostica delle leucemie acute e l'evidente limite della sola morfologia, con conseguente invito a non basarsi solo su di essa, bensì a integrarla con gli altri mezzi diagnostici per le emopatie, come definito dalla classificazione WHO del 2008 (1). I rari casi di leucemia linfoblastica acuta granulosa, facilmente potrebbero infatti essere scambiati all'osservazione microscopica per LAM (10), in quanto i blasti presentano evidenti granuli citoplasmatici. Da segnalare infine la possibile e altrettanto rara evenienza in cui la citochimica risulta equivoca: sono riportati infatti in letteratura casi di leucemia acuta linfoblastica, peraltro tipica dal punto di vista immunofenotipico, con morfologia Burkitt-like e alta attività mieloperoxidasica, osservata sia in citofluorimetria che con metodo enzimatico (11). Tali casi rispondono alla terapia per leucemia linfoblastica acuta e devono essere distinti dalla LAM e dal linfoma di Burkitt.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC; 2008.
2. Palmer L, Briggs C, McFadden S, et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int J Lab Hematol* 2015;37:287-303.
3. D'Onofrio G, Zini G. Leucemie linfoblastiche e con fenotipo misto. In: D'Onofrio G, Zini G, eds. *Morfologia delle malattie del sangue*. Roma: Verduci Editore, 2013:531-64.
4. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2014;6:e2014073.
5. Foucar K, Richard K, Czuchlewski D. Acute myeloid leukemia. In: Foucar K, Richard K, Czuchlewski D, eds. *Bone marrow pathology*. Chicago: ASCP Press, 2011: 377-431.
6. Venditti A, Del Poeta G, Buccisano F, et al. Minimally differentiated acute myeloid leukemia (AML-M0): comparison of 25 cases with other French-American-British subtypes. *Blood* 1997;89:621-9.
7. Liu Q, Wang M, Hu Y, et al. Significance of CD71 expression by flow cytometry in diagnosis of acute leukemia. *Leuk Lymphoma* 2014;55:892-8.
8. Mihova D, Zhang L. Acute erythroid leukemia: a review. *N Am J Med Scir* 2012;5:110-8.
9. Kawamoto H, Wada H, Katsura Y. A revised scheme for developmental pathways of hematopoietic cells: the myeloid-based model. *Int Immunol* 2010;22:65-70.
10. Pitman SD, Huang Q. Granular acute lymphoblastic leukemia: a case report and literature review. *Am J Hematol* 2007;82:834-7.
11. Rytting ME, Kantarjian H, Albitar M. Acute lymphoblastic leukemia with Burkitt-like morphologic features and high myeloperoxidase activity. *Am J Clin Pathol* 2009;132:182-5.