

Anomalías morfológicas de los leucocitos en el niño

O. Fenneteau¹

Resumen. Hacemos una revisión de las anomalías morfológicas de polinucleares, monocitos y linfocitos precisando su orientación diagnóstica en el niño. En efecto, es en el principio de la vida donde se manifiesta la mayoría de las patologías hereditarias que tienen repercusión en los leucocitos.

PLAN

1. Anomalías morfológicas de los polinucleares
2. Anomalías morfológicas de los monocitos
3. Anomalías morfológicas de los linfocitos

Los leucocitos, células sanguíneas circulantes de la serie blanca, pueden presentar diferentes anomalías morfológicas en los frotis sanguíneos coloreados con May Grünwald Giemsa. El reconocimiento de estas anomalías permite orientar el diagnóstico de diferentes patologías, constitucionales o no, que son las que abordaremos.

Trataremos sucesivamente las anomalías citoplasmáticas (granulaciones anormales, vacuolas) y nuclea-

¹ Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Robert Debré, Paris, AP-HP.

res en cada categoría celular (polinuclear, monocito, linfocito)

1. ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS DE LOS POLINUCLEARES

1.1. Infecciones severas

En el curso de las infecciones bacterianas severas, cualquiera que sea la edad, los polinucleares neutrófilos puedan presentar diversas anomalías citoplasmáticas asociadas: granulaciones tóxicas, intensificación de las granulaciones o, al contrario, desgranulación, presencia de cuerpos de Döhle (zona basófila), vacuolas, así como anomalías nucleares: defecto de segmentación o hipersegmentación, núcleos dobles, gigantismo. Gérmenes y también parásitos, levaduras, que pueden ser observados en los polinucleares neutrófilos **(Figura 1)**.

1.2. Mielodisplasias

La mielodisplasia es rara en el niño (1), las anomalías morfológicas de los polinucleares son idénticas a las observadas en el adulto: desgranulación o granulación anormal, a veces bastoncillos de Auer, defecto de seg-

mentación, doble núcleo, núcleo en forma de cinta (Figura 2).

1.3. Condensación anormal de la cromatina

En algunos pacientes con trasplantes (de órganos, de médula ósea), bajo tratamiento inmunosupresor, se pueden descubrir anomalías de la estructura de la cromatina en el frotis sanguíneo. Los polinucleares neutrófilos tienen un núcleo poco lobulado con una cromatina fragmentada y condensada (**Figura 3**). Este fenómeno retrocede después de suspender el tratamiento (2).

1.4. Enfermedades hereditarias

1.4.1. Anomalías citoplasmáticas

En el curso de la enfermedad de Chediak-Higashi, enfermedad hereditaria de transmisión autosómica recesiva, que asocia albinismo oculocutáneo parcial, infecciones severas y un déficit inmunitario, las granulaciones de todos los polinucleares son anormales (**Figura 4**). Son dispersas, ensanchadas, de coloracio-

ZOOM sobre...

Enfermedades de sobrecarga lisosomial

Confirmadas en el examen del frotis sanguíneo, la orientación comporta la búsqueda de anomalías morfológicas en:

- **polinucleares**
 - Anomolia de Alder
 - Agrupación anormal de las granulaciones
- **monocitos**
 - Granulaciones anormales
- **linfocitos**
 - Linfocitos de Gosser
 - Linfocitos en granulaciones anormales
 - Linfocitos vacuolados
 - Linfocitos rhodocircés (rosadas)

nes diversas en el MGG. Los lisosomas de secreción son anormales (3). La granulación de los eosinófilos está aumentada, con aspecto cristaloides.

En el curso de las enfermedades de sobrecarga lisosomial, los polinucleares neutrófilos pueden presentar granulaciones anormales, testigos de sobrecarga lisosomial, esencialmente en el curso de mucopolisacaridosis (MPS) (4). Así, la **anomalía de Alder** se traduce en la presencia de granulaciones azurófilas más groseras, más numerosas, anormalmente cargadas de mucopolisacáridos (**Figura 5**).

El aspecto puede ser parecido a las **granulaciones**

tóxicas observadas en los polinucleares neutrófilos en infecciones severas, pero sin otras anomalías citológicas (vacuolas, cuerpos de Döhle). La anomalía es localizable más fácilmente en los polinucleares eosinófilos con granulaciones de tinte variable (gris, roja oscura, verdusca). Se observan siempre en la enfermedad de Maroteaux-Lamy (MPS de tipo VI), pero pueden ser inconstantes en el curso de otras MPS.

El aspecto de los polinucleares neutrófilos de los pacientes afectados por **MPS de tipo IV** (enfermedad de Morquio), es particular con granulaciones raras pero grandes, a veces reagrupadas en pares (**Figura 6**).

La presencia de **polinucleares eosinófilos anormales** (**Figura 7**) se observa en pacientes que sufren sialidosis y gangliosidosis GM1 en asociación con linfocitos con vacuolas múltiples.

En el curso de mucosulfatidosis, las granulaciones eosinófilas aparecen dispersas.

Tales imágenes de gránulos, poco numerosos, se encuentran también en pacientes afectados por el raro déficit hereditario en peroxidasa de los eosinófilos, cuyo núcleo a menudo está hipersegmentado.

En las hipereosinofalias reactivas (alergias, trata-

miento por factor de crecimiento) pueden observarse imágenes similares (**Figura 8**).

En el curso de diversas enfermedades metabólicas, se pueden observar vacuolas citoplasmáticas lipídicas coloreadas en rojo por *Oil Red O* (ORO) (anomalía de Jordans). Citemos el síndrome de Dorfman-Chanarin (5), el déficit en Beta-oxidación de ácidos grasos (**Figura 9**) y el déficit de carnitina.

En el curso del síndrome MYH9 (6), es evocadora la asociación de inclusiones basófilas en los polinucleares y trombopenia con plaquetas de tamaño aumentado (**Figura 10**).

La anomalía de May-Hegglin se caracteriza por la presencia de una o a veces 2 inclusiones voluminosas basófilas (pseudocuerpos de Döhle), mientras que en el **síndrome de Fechtner y de Sebastian**, las inclusiones son más numerosas y más discretas y evidenciar su presencia requiere un examen atento. Estas inclusiones se deben a la precipitación en el citoplasma de miosina no muscular de tipo IIA, anormal por mutación del gen *MYH9*.

1.4.2. Anomalías del núcleo

Las anomalías se refieren al grado de segmentación nuclear o a la textura de la cromatina.

La anomalía de Pelger-Huet, sin repercusión funcional; corresponde a una hiposegmentación del núcleo en dos lóbulos.

En la hipersegmentación **constitucional de Undritz**, se observan más de cinco lóbulos en la mayoría de los polinucleares.

En el curso de los trastornos hereditarios de la vitamina B12 o de los folatos, los polinucleares neutrófilos pueden ser hipersegmentados o más frecuentemente encintados (en banda) (**Figura 11**).

En el curso de mielocatexis como en el síndrome de WHIM (7), la morfología de los polinucleares neutrófilos es muy particular y asocia **vacuolas citoplasmáticas a un núcleo con varios lóbulos entrelazados por filamentos largos**. Este aspecto se observa sobre todo en la médula ósea donde los polinucleares son numerosos (**Figura 12**) mientras que en sangre periférica, existe neutropenia.

En el curso de la intolerancia a las proteínas dibásicas (8), enfermedad metabólica rara, a menudo de revelación neonatal que se acompaña de anemia y detrombopenia, se observan en la sangre polinucleares neutrófilos picnóticos.

En la médula ósea es muy evocadora la presencia de polinucleares picnóticos, cuyo núcleo se reduce a una masa redondeada con fagocitosis selectiva de estos núcleos por histiocitos y precursores mieloides (**Figura 13**).

Se observan anomalías **en el curso de trisomía 13 y trisomía 14 con mosaicismo**, la mayoría de los polinucleares neutrófilos presentan en el núcleo proyecciones sésiles o pedunculadas (Figura 14).

2. ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS DE LOS MONOCITOS

2.1. Infecciones severas

Los monocitos son de gran tamaño, fuertemente vacuolados, con una cromatina más fina.

2.2. Leucemia mielomonocitaria juvenil

Un fuerte monocitosis, asociada en niños chicos (< 4 años) a esplenomegalia voluminosa es evocadora de esta patología. Los monocitos a menudo tienen un aspecto dismórfico con fuertes repliegues y cromatina más fina. El frotis sanguíneo también revela la presencia

de eritromielemia y escaso número de blastos mieloides (**Figura 15**).

2.3. Enfermedades hereditarias

2.3.1. Anomalías citoplasmáticas

En el curso de la enfermedad de Chediak-Higashi, se observan a veces en el frotis sanguíneos monocitos raros con una inclusión de tinte variable rosa pálido a rojo, (**Figura 16**).

En el curso de las enfermedades de sobrecarga lisosomal se encuentran granulaciones voluminosas de tinte morado oscuro en los monocitos de los pacientes afectados por mucopolisacaridosis particularmente de tipo I, VI, VII (**Figura 17**).

En el curso de la enfermedad de May-Hegglin, pueden observarse zonas basófilas en los monocitos.

2.3.2. Anomalías nucleares

En el curso de enfermedades metabólicas raras, particularmente la **aciduria metilmalónica**, asociada a un déficit de metimalonil-coenzima A muta-

sa, se puede observar cromatina desestructurada en los monocitos y en menor grado en los polinucleares neutrófilos (**Figura 18**).

Tales imágenes de cromatina «deshecha» también se encuentran en patologías adquiridas, particularmente en el curso de grandes hipertermias

3. ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS DE LOS LINFOCITOS

3.1. Infecciones

En el curso de la tosferina, que puede sobrevenir en el lactante, es casi invariable hiperlinfocitosis de linfocitos maduros que presentan, no siempre, un aspecto particular con núcleo hendido (**Figura 19**).

En el curso del síndrome mononucleósico, son numerosas las células mononucleadas hiperbasófilas. Su aspecto es heterogéneo en tamaño, intensidad de basofilía y en textura de la cromatina. Las células más típicas tienen 15 - 20 μm de diámetro, pueden presentar un fortalecimiento de la basofilia en periferia, un núcleo a menudo en forma de bandera (**Figura 20**), granulaciones finas azurófilas.

3.2. Enfermedades hereditarias

Las anomalías morfológicas de los linfocitos en el curso de las enfermedades metabólicas hereditarias únicamente afectan al citoplasma pero son diversas.

En el curso de la enfermedad de Chediak-Higashi, la acumulación de proteínas lisosomiales en lisosomas de secreciones afecta a los linfocitos T citotóxicos y células natural killer (NK), lo que se traduce por la presencia de una, o más raramente, varias **granulaciones voluminosas** rojo vivo al May Grünwald Giemsa (MGG) (**Figura 21**).

En el curso del mucopolisacaridosis (MPS) (9), el hallazgo de linfocitos de Gasser es un elemento importante de orientación diagnóstica (**Figura 22**). El linfocito de Gasser se caracteriza por la presencia de una o a veces varias granulaciones gruesas de tinte violeta oscuro, más raramente rosada al MGG, en el seno de una vacuola. Linfocitos de Gasser también se pueden hallar en el curso de la enfermedad de Austin (mucosulfatidosis) y a veces en el curso de gangliosidosis de GM2.

Linfocitos con granulaciones anormales también son testigos de una sobrecarga de MPS. En uno o dos polos del linfocito, en general de pequeño

Tabla 1.—Linfocitos y enfermedades de sobrecarga

Linfocitos vacuolados (vacuolas de pequeño tamaño, poco numerosas):

Gangliosidosis de GM2
Enfermedad de Niemann-Pick
Enfermedad de Wolman
Glicogenosis tipo II (Enfermedad de Pompe)
Fucosidosis
Aspartil glucosaminuria

Linfocitos vacuolados (vacuolas de gran tamaño y múltiples):

Gangliosidosis de GM1
Ceroidolipofuscinosis (Enfermedad de Batten)
Manosidosis
Sialidosis II
Mucopolipidosis de tipo II
Déficit de transporte de ácido siálico

tamaño, se concentran granulaciones anormales más o menos oscuras, a veces dentro de una vacuola voluminosa. Estas granulaciones presentan un metacromasia al azul de toluidina (Figura 23). Este tipo de linfocito es frecuentemente observado en la MPS de tipo III (Enfermedad de Sanfilippo).

¡ Para recordar !

El tamaño (pequeñas o voluminosas), el número (bajo o importante) de las vacuolas, así como el porcentaje de linfocitos afectados, dependen de la enfermedad de sobrecarga en cuestión (Tabla 1)

Los linfocitos de Gasser y los linfocitos con granulaciones anormales **no deben ser confundidos con** linfocitos granulados: linfocitos T citotóxicos y células natural killer (Figura 24).

En el curso de diversas enfermedades de sobrecarga lisosomal (Tabla 1), la detección de los **linfocitos vacuolados** es un elemento de orientación diagnóstica. Es la anomalía citológica más frecuente en las enfermedades de sobrecarga, pero no es específica.

Los linfocitos normales pueden contener microvacuolas o más raramente vacuolas grandes. En las enfermedades de sobrecarga lisosomal, el porcentaje de linfocitos vacuolados es variable, pudiendo alcanzar el 80 % o al contrario, ser bajo, del orden de pequeños porcentajes.

Las vacuolas no se colorean por el MGG y por tanto, son ópticamente vacías, salvo en la **mucopolidosis de tipo II** donde algunas **vacuolas se colorean de rosa**. La presencia **de una sobrelínea de vacuolas color rosa (linfocitos rhodocircés)** (Figura 25) se observa frecuentemente en ciertas MPS (Enfermedad de Hunter).

Ya sean las vacuolas de pequeño tamaño y escasas o de talla importante y numerosas, en estos casos hablamos de «vacuolas múltiples y grandes» (**Figura**

ra 26). El tamaño y el número de las vacuolas, así como el porcentaje de células afectadas dependen de la enfermedad de sobrecarga en cuestión.

Citemos por ejemplo, la **enfermedad de Wolman** que se puede sospechar ante el hallazgo de linfocitos con vacuolas, de pequeño tamaño, reagrupados en racimos, visibles en el citoplasma o en el núcleo **de coloración Oil Red O positiva**. Contrariamente, los linfocitos vacuolados en el curso de la enfermedad de Niemann Pick que presenta en sangre un aspecto próximo, son *Oil Red O* negativo. En el mielograma en estas 2 patologías se objetiva la presencia de numerosos histiocitos vacuolados (**Figura 27**). En el curso de la enfermedad de Pompe (**Tabla 1**), las vacuolas de pequeño tamaño son PAS positivo.

Citemos la **gangliosidosis GM1** en la que los linfocitos tienen vacuolas grandes, múltiples, muy visibles, asociadas con polinucleares eosinófilos anormales (**Figura 28**).

La búsqueda de elementos a favor de una enfermedad de sobrecarga debe ser objeto de una **observación minuciosa** de por lo menos de 100 linfocitos y de polinucleares neutrófilos. Estas anomalías **no son constantes**, de manera que en algunos pacientes

afectados por una auténtica enfermedad de sobrecarga, podemos no hallar las anomalías morfológicas, encontradas entre otros pacientes (particularmente en la mucopolisacaridosis de tipo III).

La orientación diagnóstica se basa en la apreciación del número y de asociación eventual de las diferentes anomalías encontradas (**Tabla 2**).

Todas las anomalías citológicas o nucleares de los leucocitos, cuando están presentes, son una ayuda muy valiosa para la orientación diagnóstica y permiten la

QUIZ: ¿Qué recuerda?

Someta a prueba sus conocimientos respondiendo sí o no a las afirmaciones siguientes. Respuestas al final de artículo

1. El fortalecimiento de las granulaciones de polinucleares neutrófilos es específico de las mucopolisacaridosis.
2. La enfermedad de May Hegglin asocia trombopenia con macroplaquetas y zonas basófilas en los polinucleares,
3. Todos los linfocitos son anormales en la enfermedad de Chediok-Higashi,
4. Los linfocitos de Gasser no se encuentran más que en las enfermedades de sobrecarga lisosomial
5. Los linfocitos vacuolados son específicos de las enfermedades de sobrecarga lisosomial.

Tabla 2.—Tipos de sobrecarga lisosomal y anomalías citológicas sanguíneas.

Enfermedad	Déficit enzimático	Anomalías leucocitarias
Esfingolipidosis		
Gangliosidosis GM1	α -galactosidasa	L, vacuolados + (v.múltiples, grandes), eosinófilos anormales
Gangliosidosis GM2	Hexosaminidasa A	L, vacuolados \pm
Enfermedad de Tay-Sachs Enfermedad de Sandhoff	Hexosaminidasas A B	L. de Gasser \pm , L. vacuolados \pm
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	L. vacuolados (v. pequeñas, escasas)
Enfermedad de Wolman	Lipasa ácida	L. vacuolados (v. pequeñas, en racimos)
Mucosulfatidosis	Múltiples sulfatasas	Anomalia de Alder +, L. de Gasser + eosinófilos anormales
Enfermedad de Batten	Tioesterasa	L. vacuolados + (v. múltiples y grandes)
Oligosacaridosis		
Sialidosis II	Glicoproteína neuraminidasa	L. vacuolados + v. múltiples y grandes)
Manosidosis	α -D-mannosidasa	L. vacuolados ++ v. múltiples y grandes)
Glicogénesis tipo II	α -glucosidasa	L. vacuolados + v. escasas pequeñas)
Fucosidosis	α -L-fucosidasa	L. vacuolados + v. pequeñas, nombre variable)
Aspartilglicosaminuria	Aspartil glucosamina amido-hidrolasa	L. vacuolados + v. pequeñas)
Mucopolipidosis tipo II	N-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa	L. vacuolados ++ v. a veces coloreadas en rosa)
Mucopolipidosis tipo II		L. vacuolados \pm
Mucopolisacaridosis		
Tipo I - Hurler / Scheie	á-L-iduronidasa	L. vacuolados \pm , L. de Gasser +, L. con granulaciones anormales \pm , anomalia de Adler ++
Tipo II - Hunter	Iduronate-sulfatasa	L. vacuolados \pm , L. de Gasser +, L. con granulaciones anormales + L. <i>rhodocircós</i> \pm , anomalia de Adler \pm
Tipo III - Sanfilippo (subtipo A, B, C, D)	Enzimas variables dependiendo del subtipo	L. vacuolados \pm L. de Gasser +, L. con granulaciones anormales ++
Tipo IV - Morquio	N-acetilgalactosamina 6 - sulfato sulfatasa	Granulaciones grandes agrupadas por pares en los polinucleares
Tipo VI - Maroteaux-Lamy	N-acetilgalactosamina-4-sulfatasa	L. vacuolados \pm , L. de Gasser +, L. con granulaciones anormales \pm , anomalia de Adler ++
Tipo VII - Sly	á-glucuronidasa	Anomalia de Adler +, L. de Gasser +, L. vacuolados \pm
Déficit de transportadores de la membrana lisosomal		
Sialidosis	Déficit de transporte de ácido siálico	L. vacuolados + v. múltiples y grandes), eosinófilos anormales

Abreviaturas: L.: linfocitos, v.: Vacuolas, \pm : anomalia inconstante, +: anomalia frecuente, ++: anomalia constante y neta

Respuestas al QUIZ

1. NO, véase parágrafo 1,4.1
2. SI, véase parágrafo 1.4.1
3. NO, véase parágrafo 3.2
4. SI, véase parágrafo 3,2
5. NO, véase parágrafo 3.2

práctica rápida de otras pruebas que completen el perfil etiológico.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos H. Ogier (Hôpital Robert Debré - AP-HP) por sus críticas y su valiosa ayuda y a S. Piveteau (Hôpital Robert Debré - AP-HP por su excelente trabajo técnico.

REFERENCIAS

1. Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM et al. A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia*, 2003; 17 :277-82
2. Daliphard S, Accard F, Delattre C et al. Reversible abnormal chromatin clumping in granulocytes from six transplant patients treated with mycaphenolate mofetil : a rare adverse affect mimicking abnormal chromatin clumping syndrome. *Br J Haematol.*, 2002; 116 : 725-8
3. De Saint Basile G. Implication du trafic intracellulaire dans trois maladies héréditaires du système hématopolétique. *Med Sc* (Paris), 2000; 16 : 745-50
4. Smith H. Anomalies of leucocyte structure. *Diagnosis in pediatric haematology*. New York: Churchill Livingstone, 1996, 201-38
5. Srebrnik A, Tur E, Perluk C et al. Dorfman-Chanarin syndrome. *J Am Acad Dermatol.*, 1987, 5 : 801-8
6. Pujol-Moix N, Kelley MJ, Hernandez A, Muniz-Diaz E, Español I. ultrastructural analysis of granulocyte inclusions in genetically confirmed MYH9-related disorders. *Haematologica*, 2004, 89:330-7
7. Balabanian K, Lagane B, Pablas JL et al. WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CxCL12. *Blood*, 2005, 105 : 2449-57
8. Doireau y, Fenneteau O, Duval M et al. Intolérance aux protéines dibasiques avec lysinurie: aspect caractéristique de l'atteinte médullaire. *Arch Pédiatr.*, 1996, 3 : 877-80
9. Cosson A, Maroteaux P, Tapon J, Maier M, Girot R. Apport de la cytologie sanguine et médullaire au diagnostic des maladies de surcharge. *Nouv Rev Fr Hematol.*, 1977, 18 : 205-6

CASO CLÍNICO 1

Lactante, de 3 meses, nacido de padres consanguíneos, hospitalizado por desnutrición por anorexia, vómitos, diarrea y un estancamiento completo del crecimiento ponderal. El examen clínico revela hepatoesplenomegalia voluminosa, esteatorrea abundante, meteorismo abdominal.

Hemograma:

Hg 8,3 g/dl; VGM 86 μm^3

Leucocitos $8.10^9/l$ con 45 % de polinucleares neutrófilos

Plaquetas: $150.10^9/l$

Estudio de la morfología de los leucocitos en frotis sanguíneo.

Presencia de linfocitos vacuolados con pequeñas vacuolas en racimo.

A- ¿Cuál es el origen probable de la hepatoesplenomegalia?

B- ¿Qué exámenes complementarios habría que practicar?

CASO CLÍNICO 1

(RESPUESTAS)

A - Una enfermedad de sobrecarga lisosomial, orientada por la presencia de linfocitos vacuolados asociada a hepatoesplenomegalia voluminosa. Se debe buscar prioritariamente dos patologías: enfermedad de Wolman y enfermedad de Niemann-Pick.

B- Realizar determinaciones enzimáticas (lipasa ácida - Enfermedad de Wolman) (esfingomielinasa - Enfermedad de Niemann-Pick)

La realización de un mielograma objetivaría la presencia de numerosos histiocitos vacuolados en estas 2 patologías.

En este paciente la ecografía revela calcificaciones suprarrenales, el perfil bioquímico muestra hipercolesterolemia y las mediciones enzimáticas realizadas en los leucocitos muestran caída de la actividad de la lipasa ácida.

Estos datos permiten el diagnóstico de enfermedad de Wolman, confirmado por el estudio de las mutaciones del gen de la lipasa ácida.

CASO CLÍNICO 2

Niño de 4 años consulta en neurología por retraso psicomotriz.

En el examen clínico se observa: dismorfia facial moderada, hiperpi-
losidad en espalda, hepatomegalia moderada e hiperactividad.

Hemograma:

Hg 12,8 g/dl; VGM 85 μm^3

Plaquetas: $250 \cdot 10^9/l$

Leucocitos $8 \cdot 10^9/l$ con 44 % de polinucleares neutrófilos

El estudio de la morfología de los leucocitos sobre frotis sanguíneo
revela

- La presencia de un número escaso de linfocitos con pequeñas vacuolas
- La presencia de escasos linfocitos con granulaciones anormales

A-¿Cuál es el origen probable del dismorfia y de la degradación mental?

B-¿Cuáles son los exámenes complementarios a realizar?

CASO CLÍNICO 2

(RESPUESTAS)

A - La presencia de linfocitos vacuolados asociados con **linfocitos con granulación anormal** están a favor de mucopolisacaridosis.

B - Búsqueda de mucopolisacáridos en orina y búsqueda del déficit enzimático implicado en la vía de degradación de los mucopolisacáridos.

Estos exámenes pusieron de manifiesto una **enfermedad de Sanfilippo (MPS de tipo III)** en el que existen 4 déficit enzimáticos.