

Diagnóstico de neutropenias, aportación de los estudios moleculares. Del laboratorio básico a la práctica clínica

Alejandro Sanz-Rupérez*, Josune Zubicaray-Salegui, June Iriando-Alzola, Elena Sebastián-Pérez y Julián Sevilla-Navarro

Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid, España

Introducción

Puede definirse la neutropenia como una reducción del número absoluto de neutrófilos en sangre periférica a cifras inferiores a $1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$. Se denomina profunda cuando es inferior a $0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ y crónica si su duración es mayor de 3 meses (ya sea intermitente o permanente)¹. La etiología de la neutropenia es amplia y heterogénea, incluyendo causas hereditarias, infecciosas, medicamentosas o autoinmunitarias, entre otras. A continuación, revisamos el diagnóstico diferencial de la neutropenia a través de un enfoque práctico centrado en casos clínicos, haciendo énfasis en el papel que los estudios moleculares pueden tener actualmente.

Casos clínicos

El primer caso es el de una niña de 10 años derivada a hematología desde atención primaria por el hallazgo incidental de una neutropenia moderada ($0,6-0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$) en una analítica por estudio de dolor abdominal. Aporta analíticas previas con cifras de neutrófilos dentro de la normalidad. No tiene clínica de infecciones de repetición ni antecedentes personales ni familiares de interés desde el punto de vista hematológico. En esta paciente podríamos incluir en el diagnóstico diferencial y como primera posibilidad la neutropenia autoinmune, ya que se trata de una niña de 10 años, con neutropenia adquirida, sin antecedentes familiares ni personales. Sin embargo, al revisar detenidamente su hemograma,

observamos que la neutropenia no es la única alteración presente, puesto que además tiene una monocitopenia absoluta ($0 \times 10^3/\mu\text{l}$). Este dato levanta la sospecha de que pueda tratarse de una neutropenia de origen genético, por lo que tempranamente se solicitaron un estudio de médula ósea y un estudio genético, en este caso mediante exoma completo. La médula ósea fue globalmente hipocelular, con moderados rasgos displásicos más evidentes en megacariocitos y en línea granulocítica. Por otra parte, el exoma se analizó centrando el estudio en genes asociados a neutropenia y fallo medular, detectándose la variante c.1187G>A (p.Arg396Gln) en heterocigosis en el gen *GATA2*, de carácter patogénico y descrita muchas veces en la literatura en casos de deficiencia de *GATA2*.

La deficiencia de *GATA2* es una enfermedad genética autosómica dominante que cursa con inmunodeficiencia, riesgo de infecciones oportunistas y predisposición al desarrollo de diversas neoplasias hematológicas. El espectro clínico de la enfermedad es muy amplio, habiendo pacientes que además presentan sordera congénita y linfedema en el llamado síndrome de Emberger, mientras que otros permanecen asintomáticos durante años y se diagnostican de forma tardía en la edad adulta cuando ya han desarrollado alguna complicación, como la leucemia mieloide aguda². En este caso, la monocitopenia absoluta, tan típica de esta enfermedad, fue la pista que llevó a un diagnóstico temprano, y el caso nos sirve para abordar el diagnóstico de las neutropenias de origen genético.

*Correspondencia:

Alejandro Sanz-Rupérez

E-mail: alejandro.sanz@salud.madrid.org

0036-4355 / © 2024 Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Publicado por Permanyer. Éste es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Recibido: 21-08-2024

Aceptado: 28-08-2024

DOI: 10.24875/SANGRE.M24000037

Disponible en internet:

Sangre. 2024;43(Supl 2):27-31

www.revistasangre.com

Dentro de las neutropenias congénitas, tradicionalmente se ha hecho una distinción en subgrupos según el fenotipo, distinguiéndose aquellas que cursan sin manifestaciones extrahematopoyéticas y las que sí pueden tener otras manifestaciones sistémicas. Las que cursan con neutropenia aislada están asociadas a un reducido grupo de genes, como son *ELANE*, *CSF3R*, *WAS* o *CXCR2*, mientras que los casos de neutropenia congénita que presentan clínica extrahematopoyética tienen una base genética más amplia (Tabla 1)¹. De todos ellos, las afecciones más frecuentes son las debidas a mutaciones en *ELANE* (50-60%) y en *HAX1* (30%)³.

Esta clasificación de acuerdo con el fenotipo tenía su relevancia al elegir cuál sería la mejor técnica diagnóstica para estudiar las neutropenias hereditarias, en función de si únicamente se iba a analizar un grupo reducido de genes (siendo en ese caso factible la secuenciación Sanger) o si era necesario testar grupos amplios de genes (lo que puede hacerse hoy más eficazmente con el desarrollo de las técnicas de secuenciación de nueva generación [NGS]). Sin embargo, la disponibilidad creciente de las técnicas NGS y el continuo avance científico en la fisiopatología de estas enfermedades hacen que hoy sea habitual recurrir directamente a estas técnicas independientemente de la forma de presentación clínica.

Dentro de los distintos tipos de estudios de NGS disponibles, la primera aproximación y hasta ahora más extendida es el uso de paneles de genes relacionados con enfermedades hematológicas hereditarias. Estos paneles cubren un número limitado de genes y están restringidos al conocimiento científico disponible en el momento del diseño del panel. Por ello, el exoma clínico surge como una alternativa de interés para estudiar cualquier patología de origen germinal, ya que cubre toda la secuencia de ADN codificante y permite analizar de forma selectiva las regiones de interés en cada caso, pudiendo ampliar la búsqueda o reanalizar en el futuro teniendo en cuenta los descubrimientos genéticos para aquellos casos no concluyentes.

El siguiente caso clínico que presentamos es el de una niña de 6 semanas de vida, natural de la República Dominicana, nacida a término y sin complicaciones, remitida desde el servicio de pediatría de otro centro por el hallazgo de neutropenia moderada ($0,68 \times 10^3/\mu\text{l}$) en una analítica realizada como parte de un estudio por estancamiento ponderal. En este caso, aunque no es un cuadro típico, sería útil descartar una neutropenia aloinmune.

La neutropenia neonatal aloinmune se debe a una incompatibilidad antigénica feto-materna, producida por anticuerpos maternos que atraviesan la placenta y van dirigidos a antígenos leucocitarios fetales heredados del padre, la gran mayoría del sistema antigénico HNA. Si bien lo habitual es que se resuelva espontáneamente en 6 semanas, la neutropenia puede durar hasta 6 meses. El diagnóstico se establece demostrando la presencia de anticuerpos anti-HNA en suero materno, genotipificando al padre y al paciente, e idealmente demostrando la reactividad *in vitro* entre los anticuerpos detectados y los neutrófilos del padre⁴.

Sin embargo, en nuestra paciente este estudio fue negativo. No había presentado episodios infecciosos de gravedad ni tenía manifestaciones extrahematológicas, por lo que se consideró la posibilidad de la clásicamente llamada neutropenia étnica benigna. Este término viene derivado de la observación de que individuos con antepasados africanos tienen, en condiciones normales, una menor cifra absoluta de neutrófilos que los individuos caucásicos, sin evidencia de enfermedad ni predisposición a infecciones (en otras palabras, es una variante de normalidad). En la actualidad se sabe que este fenotipo clínico está fuertemente asociado a la presencia de un polimorfismo en la región promotora del gen *ACKR1* o *DARC*, que codifica para una proteína de membrana que es un receptor de citocinas y a su vez constituye el grupo sanguíneo Duffy^{5,6}. De ese modo, el polimorfismo c.1-67T>C (rs2814778) impide la transcripción del gen, generando un fenotipo Duffy nulo (Fy a- b-). Debido a que el fenotipo Duffy nulo es una ventaja selectiva frente a la infección por *Plasmodium vivax*, no es de extrañar que la distribución geográfica de este polimorfismo sea principalmente en África (80-100% de prevalencia), pero también en el Caribe y Oriente Medio. Por ello, en esta paciente realizamos un fenotipo eritrocitario, que demostró que se trataba de Duffy nulo, comprobando por genotipo que presentaba el mencionado polimorfismo en el promotor del gen *ACKR1*, y fue diagnosticada de neutropenia hereditaria asociada al fenotipo Duffy nulo.

El último caso que presentamos es el de una paciente de 5 años en el momento de su derivación a nuestro centro, que consulta para una segunda opinión por neutropenia crónica que ha tenido múltiples cuadros infecciosos (infecciones otorrinolaringológicas de repetición, neumonías con ingreso hospitalario, estomatitis aftosa, abscesos perianales...), sin manifestaciones extrahematopoyéticas acompañantes. Ante un cuadro clínico como este, con infecciones recurrentes, algunas

Tabla 1. Genes más frecuentemente implicados en neutropenia congénita

Neutropenia congénita sin manifestaciones extrahematopoyéticas			
<i>ELANE</i>	Elastasa de neutrófilos	AD	
<i>CSF3R</i>	Receptor de G-CSF	AR	
<i>WAS</i>	Homeostasis del citoesqueleto	X	
<i>CXCR2</i> Síndrome WHIM	Receptor IL8	AR	
Neutropenia congénita con manifestaciones extrahematopoyéticas			
<i>SBDS</i> Shwachman Diamond	Biogénesis ribosomal	AR	Insuficiencia pancreática exocrina, displasia ósea, retraso mental
<i>EFL1</i>	GTPasa, ensamblaje ribosomal	AR	Insuficiencia pancreática exocrina, displasia ósea, retraso mental
<i>GATA2</i>	Factor de transcripción	AD	Linfedema, sordera, infecciones por micobacterias y VPH
<i>G6PC3</i>	Glucosa-6-fosfatasa	AR	Sistema venoso superficial prominente, alteraciones cardíacas auriculares, uropatía
<i>SLC37A4</i> Glucogenosis Ib	Transportador de glucosa-6-fosfato	AR	Hipoglucemia, acidosis láctica en ayuno, sobrecarga de glucógeno hepático
<i>TFAZZIN</i> Síndrome de Barth	Transacilasa mitocondrial	X	Miocardiopatía hipertrófica, síndrome miopático, aciduria metilglutacónica
<i>CXCR4</i> Síndrome WHIM	Receptor de quimiocinas	AD	Linfocitopenia, trombocitopenia, cardiopatía, tetralogía de Fallot
<i>JAGN1</i>	Proteína del retículo endoplasmático	AR	Anomalías óseas y pancreáticas exocrinas
<i>VPS13B</i> Síndrome Cohen	Transporte de proteínas en el retículo endoplasmático	AR	Retraso psicomotor, torpeza, microcefalia, facies típica, hipotonía, laxitud articular, miopía
<i>GFI1</i>	Represor transcripcional	AD	Linfocitopenia, alteraciones del oído interno
<i>HAX1</i> Enfermedad de Kostmann	Proteína antiapoptótica	AR	Retraso mental, epilepsia
<i>AP3B1</i> Hermansky Pudlak tipo 2	Biogénesis de organelas	AR	Albinismo
<i>LAMTOR2</i>	Ensamblaje lisosomal	AR	Albinismo
<i>USB1</i>	Fosfodiesterasa de snRNA	AR	Poiquilodermia
<i>VPS45</i>	Tráfico de moléculas	AR	Megalias (renal, hepatoesplénica), retraso mental
<i>TCIRG1</i>	V-ATPasa (regulador de pH lisosomal)	AD	Angiomatosis cutánea
<i>EIF2AK3</i> Síndrome Wolcott-Rallison	Modulador mitocondrial	AR	Diabetes neonatal dependiente de insulina
<i>CLPB</i>	ATPasa, modulación proteica	AD	Retraso mental y catarata congénita, aciduria metilglutacónica
<i>STK4</i>	Cinasa serina/treonina	AR	Defectos atriales
<i>SMARCD2</i>	Complejo regulador cromatínico	AR	Diarrea crónica, anomalías óseas, orejas de implantación baja

AD: autosómico dominante; AR: autosómico recesivo; VPH: virus del papiloma humano; X: herencia ligada al X.

graves que han requerido ingreso hospitalario, la sospecha principal en esta edad es una neutropenia hereditaria. No obstante, si los recuentos previos no

permiten aclarar la naturaleza congénita o adquirida del cuadro, es obligatorio realizar un estudio orientado a descartar una neutropenia autoinmune. En nuestro

centro se realizó esta aproximación, pero se descartó al no presentar marcadores de autoinmunidad y ante la negatividad de anticuerpos antineutrófilo. Se amplió el estudio con punción de médula ósea, que morfológicamente mostraba como principal alteración un parón madurativo de la serie granulocítica en los mielocitos. Por ello, se consideró que podría tratarse de un cuadro hereditario y se estudiaron primero los genes *ELANE* y *HAX1*, que no mostraron mutaciones. Este caso corresponde a aquellos tiempos en los que el estudio dirigido no era accesible en la práctica habitual. Posteriormente, una vez que esta aproximación se hizo más habitual, se amplió el estudio mediante panel NGS y se detectó la variante c.3G>A (p.Met1Ile) en homocigosis en el gen *JAGN1*, el cual codifica para una proteína del retículo endoplasmático que es crítica para la diferenciación y la supervivencia de los neutrófilos.

La neutropenia congénita grave por mutación en *JAGN1* es una enfermedad autosómica recesiva que cursa con neutropenia grave e infecciones de repetición, y suele asociar anomalías óseas o insuficiencia pancreática exocrina⁷. Pese a que nuestra paciente únicamente presentaba neutropenia, con este resultado se establece el diagnóstico y se instaura tratamiento con G-CSF periódico, con evolución favorable y disminución de los episodios infecciosos y de su gravedad.

Actualmente la paciente tiene 18 años y sigue con neutropenia crónica grave, con buen control sintomático con el tratamiento. Sin embargo, tras más de 10 años de seguimiento, surge la preocupación acerca del riesgo de transformación maligna. Por ello, recientemente se realizó un estudio de médula ósea, en el que persiste el parón madurativo en granulocitos a nivel de mielocitos, sin otros hallazgos reseñables. Sobre dicha muestra se llevó a cabo un estudio molecular para descartar mutaciones somáticas en genes asociados a patología mieloide (mediante panel NGS), en el cual se detectó la variante c.1782C > A (p.Cys594Ter) en el gen *ASXL1*, con una frecuencia alélica del 3,06%, probablemente patogénica. Este caso, por tanto, nos sirve para revisar la evolución clonal y la transformación maligna en los pacientes con neutropenia congénita.

La incidencia de neoplasias mieloides en los pacientes con neutropenia congénita es mucho mayor que en la población general, afectando al 10-60% de los pacientes, siendo del 1/10.000 en población sana, y se considera actualmente la principal causa de mortalidad⁸. Este riesgo varía en función de la mutación causante del cuadro, estimándose que a 30 años de seguimiento es del 60% en pacientes con *GATA2*, del

30% en mutaciones *SBDS* y del 15% en *ELANE*¹. Habitualmente acontece tras años desde el diagnóstico de la neutropenia congénita, salvo en los pacientes afectados de *GATA2*, en los que puede ocurrir que la primera manifestación de la enfermedad sea la leucemia aguda. El tratamiento con G-CSF a dosis altas, en particular en aquellos poco respondedores, se considera un factor de riesgo para transformación leucémica³. Las alteraciones genéticas más frecuentes en este contexto son la monosomía 7, las anomalías del cromosoma 21 y las mutaciones en *CSF3R* y *RUNX1*⁹⁻¹¹, presentando un perfil genómico diferencial del de la leucemia mieloide aguda *de novo*. Si bien existe consenso acerca de que el mejor tratamiento para los pacientes con neutropenia congénita que desarrollan leucemia mieloide aguda es la inducción de la remisión y la consolidación con trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, no está tan claro cuál es el manejo adecuado para aquellos casos en los que se detectan mutaciones somáticas antes de la transformación maligna. A pesar de que existe evidencia acerca de la ganancia de mutaciones somáticas previa al desarrollo de leucemia mieloide aguda, sigue sin haber consenso acerca de en qué momento se establece la indicación de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, puesto que las complicaciones asociadas al procedimiento en estos pacientes siguen siendo altas.

Conclusiones

A través de los tres casos clínicos presentados hemos repasado el diagnóstico diferencial de la neutropenia, centrándonos en las neutropenias hereditarias, que si bien son con diferencia mucho menos frecuentes que las neutropenias secundarias a tóxicos o infecciones, son en las que más papel tienen los estudios moleculares y suponen un reto diagnóstico. Repasando los casos clínicos presentados, podríamos definir un perfil de paciente en el que estaría indicado hacer el estudio genético. Debería sospecharse especialmente en pacientes pediátricos con neutropenia grave junto con otras manifestaciones acompañantes que puedan ser hereditarias, en aquellos en los que tienen repercusión clínica significativa en forma de infecciones de repetición, y por norma general como segunda línea de pruebas complementarias una vez descartadas las causas más frecuentes en el resto de los pacientes^{1,12}. En pacientes adultos será excepcional el debut de la neutropenia una vez pasada la infancia, a excepción de aquellos con deficiencia de *GATA2*.

Bibliografía

1. Donadieu J, Beaupain B, Fenneteau O, Bellanné-Chantelot C. Congenital neutropenia in the era of genomics: classification, diagnosis, and natural history. *Br J Haematol*. 2017;179:557-74.
2. Calvo KR, Hickstein DD. The spectrum of GATA2 deficiency syndrome. *Blood*. 2023;141:1524-32.
3. Parisi X, Bledsoe JR. Discerning clinicopathological features of congenital neutropenia syndromes: an approach to diagnostically challenging differential diagnoses. *J Clin Pathol*. 2024;77:586-604.
4. Porcelijn L, de Haas M. Neonatal alloimmune neutropenia. *Transfus Med Hemother*. 2018;45:311-6.
5. Merz LE, Story CM, Osei MA, Jolley K, Ren S, Park HS, et al. Absolute neutrophil count by Duffy status among healthy Black and African American adults. *Blood Adv*. 2023;7:317-20.
6. Atallah-Yunes SA, Ready A, Newburger PE. Benign ethnic neutropenia. *Blood Rev*. 2019;37:100586.
7. Boztug K, Järvinen PM, Salzer E, Racek T, Mönch S, Garncarz W, et al. JAGN1 deficiency causes aberrant myeloid cell homeostasis and congenital neutropenia. *Nat Genet*. 2014;46:1021-7.
8. Link DC. Mechanisms of leukemic transformation in congenital neutropenia. *Curr Opin Hematol*. 2019;26:34-40.
9. Olofsen PA, Touw IP. RUNX1 mutations in the leukemic progression of severe congenital neutropenia. *Mol Cells*. 2020;43:139-44.
10. Skokowa J, Steinemann D, Katsman-Kuipers JE, Zeidler C, Klimenkova O, Klimiankou M, et al. Cooperativity of RUNX1 and CSF3R mutations in severe congenital neutropenia: a unique pathway in myeloid leukemogenesis. *Blood*. 2014;123:2229-37.
11. Beekman RE, Valkhof MG, Sanders MA, Van Strien PMH, Haanstra JR, Broeders L, et al. Sequential gain of mutations in severe congenital neutropenia progressing to acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012;119:5071-7.
12. Dale DC. How I manage children with neutropenia. *Br J Haematol*. 2017;178:351-63.