

Tinción de hierro medular. Coloración de Perls

Perls Iron Stain

Crudo C¹, Erramouspe B¹, Sueldo E¹, Arias M¹

¹Laboratorio de Hematología - Unidad Asistencial por más Salud
Dr. César Milstein, CABA

crudoclaudia@gmail.com

Fecha de recepción: 04/03/2016
Fecha de aprobación: 28/04/2016



LABORATORIO
EN HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA
Volumen 20 n° 2: 243 - 246
Mayo - Agosto 2016

Palabras clave: Perls,
Hemosiderina,
Anemia

Keywords: Perls,
Hemosiderin,
Anemia

Resumen

La tinción de Perls es una de las técnicas citoquímicas más antiguas, prácticamente sin cambios desde su descripción original. Es uno de los mejores métodos para conocer las reservas de hierro (Fe) en la médula ósea (MO), que se encuentran en forma de hemosiderina, lo cual es importante para el diagnóstico de una variedad de patologías hematológicas.

Abstract

Perl's staining is one of the oldest cytochemical techniques, almost unchanged since its original description. It is one of the best methods to find the iron (Fe) in the bone marrow (BM), which is in the form of hemosiderin, this is important for the diagnosis of a variety of hematological diseases.

Introducción

La hemosiderina y la ferritina son las principales formas de almacenar hierro del organismo. El hierro que se libera de la degradación de la hemoglobina, si no se usa inmediatamente para una nueva síntesis, se almacena en los macrófagos de la MO en forma de hemosiderina o ferritina.

La hemosiderina es un agregado de hierro, componentes lisosomales y otros productos de digestión intracelular.⁽¹⁾

El Fe que se encuentra depositado en el interior de las células en forma de agregados o gránulos insolubles en agua es detectable citoquímicamente mediante la reacción de Perls. Dichos gránulos se observan en el interior de los eritroblastos (sideroblastos) en algunos eritrocitos (siderocitos) y en los macrófagos medulares, del hígado y del bazo.

Fundamento

El hierro depositado se libera por acción del ácido clorhídrico y reacciona con ferrocianuro potásico para formar ferrocianuro férrico. Esta técnica pone en evidencia la presencia de complejos insolubles de Fe por la formación de un precipitado coloreado (azul de Prusia). La intensidad del color es un parámetro solamente cualitativo y su utilidad es evaluar las reservas de Fe al permitir una semicuantificación de los depósitos.

Material

Extendidos de aspirado médula ósea, con material suficiente, para evitar resultados erróneos (**Figura 1**).

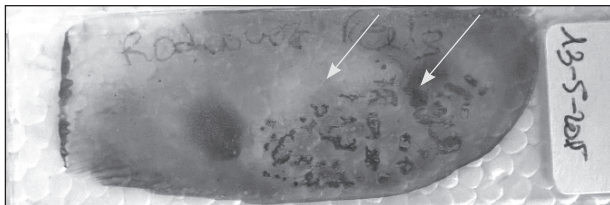


Figura 1. Frotis de médula ósea con abundantes grumos

Esta técnica también se puede emplear para frotis de sangre periférica, orina, y cortes histológicos.

Reactivos

- * Metanol absoluto, etanol absoluto o vapores de formol.
- * Ferrocianuro de potasio al 2%
- * Acido clorhídrico libre de Fe al 2%

- * Safranina 2% en agua bicarbonatada a pH 7.5-8.0. Se sugiere filtrar.

Desarrollo

- a) Fijar los extendidos con metanol, etanol absoluto o vapores de formol durante 10-15 min.
- b) Lavar con H₂O por inmersión de 2 a 3 veces.
- c) Colocar la muestra en un borrel con una mezcla de partes iguales de ferrocianuro de K al 2% y HCl exento de Fe al 2%.
- d) Dejar 1 hora a temperatura ambiente.
- e) Lavar con agua destilada.
- f) Contracolorar con la solución de safranina de 30 a 45 segundos.
- g) Observar al microscopio los precipitados de azul de Prusia.

Existen algunas variantes de la técnica, en la cual en el paso d), se incuba 1 hora a 37° renovando a los 30 minutos los reactivos y luego se prosigue con la técnica habitual.

Se recomienda usar safranina y no otro colorante ácido como la eosina ya que los gránulos de azul de Prusia son solubles en medio ácido.

Observación e interpretación

En el análisis del Fe medular se evalúan conjuntamente 3 parámetros: Fe macrofágico, número de sideroblastos y tipo de los mismos.

Se observan al microscopio precipitados azul-turquesa (ferrocianuro férrico) en los puntos donde se han liberado los iones férricos. Se usa bajo aumento (10x) para evaluar las reservas de hierro y su presencia en los macrófagos, y mayor aumento (100x) para el hierro en los eritroblastos.

Los depósitos de hemosiderina se informan según la intensidad de coloración con cruces (de + a +++) o como ausentes, escasos, moderados o aumentados.⁽²⁾

Nota: Se debe tener en cuenta la posible presencia de precipitados del colorante (formas poliédricas y no redondeada) que pueden ser malinterpretados como hierro macrofágico.

En condiciones normales se observan sideroblastos en cuyo interior aparecen de 1 a 4 gránulos en el citoplasma. El aumento en el número de gránulos indica un depósito excesivo de Fe y la existencia de una alteración en su metabolismo, que conduce a un depósito de Fe en el interior de las mitocondrias.

El International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) redefinió como sideroblasto patológico aquél que contiene 5 o más gránulos sideróticos en disposición perinuclear (que rodean el núcleo o que abarcan al menos un tercio de la circunferencia nuclear) (**Figura 2**).⁽³⁾

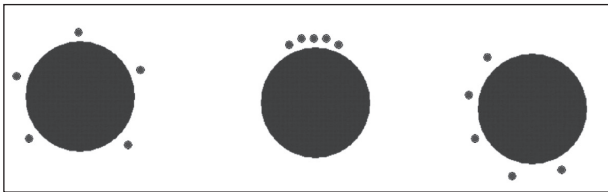


Figura 2. Gránulos de localización perinuclear en sideroblastos patológicos

Los resultados se expresan como % de sideroblastos (normales, patológicos o en anillo) por cada 100 eritroblastos evaluados (ver figura 3).

Varios autores toman como valor de referencia de 10 hasta 30% de sideroblastos normales (menos de 5 gránulos). Cada laboratorio debe establecer sus propios valores acordes a los reactivos empleados.

Los siderocitos se observan en 1/1000 eritrocitos normales, y contienen 1 ó 2 (excepcionalmente muchos) gránulos pequeños.

Según las clasificaciones FAB y OMS de los síndromes mielodisplásicos los sideroblastos en anillo son característicos y definitorios de la anemia refractaria sideroblástica (ARSA), en la que deben hallarse en una proporción mayor o igual al 15%.

Se pueden observar depósitos de Fe aumentados en la anemia perniciosa, lupus, infecciones crónicas, en estados anémicos que cursan con sobrecargas férricas; muy aumentadas después de transfusiones múltiples, hemosiderosis y hemocromatosis. El hierro de los macrófagos también se incrementa en la talasemia, anemias de los procesos crónicos, disritropoyesis y síndromes mielodisplásicos. Por el contrario está disminuido o ausente en anemia ferropénica pura. Los sideroblastos se encuentran disminuidos o ausentes en anemia ferropénica pura, de aparición muy precoz en un balance férrico negativo y anemias de los procesos crónicos (donde hay un bloqueo del Fe a nivel de los macrófagos, por lo que el Fe no puede ser cedido a los eritroblastos).

Los sideroblastos en anillo son característicos de las anemias sideroblásticas. La presencia de sideroblastos en anillo es definitiva para la correcta clasificación de la anemia refractaria vs anemia refractaria con sideroblastos en anillo; aunque hay que tener en cuenta que los sideroblastos en anillo no son infrecuentes en otras neoplasias hematológicas, incluso en la mielofibrosis idiopática, en la leucemia mieloide aguda (LMA), particularmente eritroleucemia, y en la leucemia mieloide aguda con mielodisplasia multilineal. Además hay medicamentos que causan disritropoyesis (no sólo la quimioterapia) que se puede presentar con exceso de sideroblastos con 5 o más gránulos.

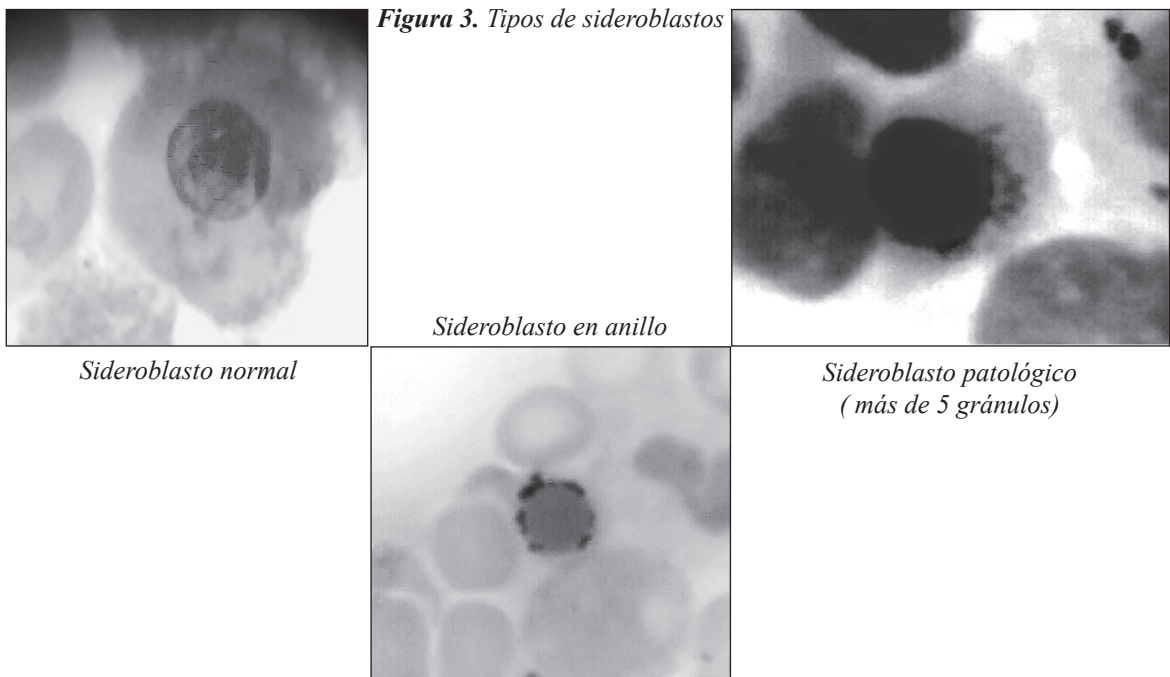


Figura 3. Tipos de sideroblastos

Sideroblasto normal

Sideroblasto en anillo

*Sideroblasto patológico
(más de 5 gránulos)*

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

Bain Barbara. Leukaemia diagnosis. 4th edition. 2010.

1. Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*. 2008 Jul 15;112(2):219-30
2. Hématologie biologique (Pr Marc Zandecki). Faculté de Médecine – CHU 49000-Coloration de Perls.
3. Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, Cazzola M, Fenaux P, Germing U, Hellström-Lindberg E, Jinnai I, Manabe A, Matsuda A, Niemeyer CM, Sanz G, Tomonaga M, Vallespi T, Yoshimi A; International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008 Nov;93(11):1712-7