

La Biopsia de Médula Ósea en el Estudio de las Mielodisplasias

Martín CA¹, García Rivello HJ² y Narbaitz MI³

¹Consultorio de Hematopatología, La Plata.

²Servicio de Patología, Hospital Italiano, Buenos Aires.

³IIHema. Academia Nacional de Medicina y FUNDALEU, Buenos Aires. Grupo de Estudio de los Síndromes Mielodisplásicos de la Sociedad Argentina de Hematología.



ACTUALIZACIÓN

Fecha de recepción: 05-12-2010

Fecha de aprobación: 15-12-2010

HEMATOLOGIA, Vol. 14 Nº 3: 108-113
Septiembre-Diciembre, 2010

INTRODUCCIÓN

Los Síndromes Mielodisplásicos (SMD) son neoplasias clonales de las células madres hemopoyéticas que afectan principalmente a pacientes adultos¹. Comprenden un grupo heterogéneo de desórdenes caracterizados hematológicamente por citopenias y muestran un porcentaje variable de transformación a leucemia aguda^{1,2}. Desde el punto de vista morfológico, la displasia citológica es la característica más importante a evaluar en los extendidos coloreados con May Grünwald – Giemsa, formando la base de la clasificación morfológica FAB de 1982. Actualmente, la citomorfología es complementada con la histopatología, citometría de flujo, citogenética y evaluación de riesgo según índices pronósticos (IPSS, WPSS), de acuerdo a la reciente Clasificación de Neoplasias Hemopoyéticas de la Organización Mundial de la Salud 2008^{1,4}.

El estudio morfológico de los cilindros óseos obtenidos por punción de la cresta iliaca proporciona datos complementarios a los obtenidos por la citología de sangre periférica y la punción medular. Los cortes histológicos permiten una cuantificación de la celularidad hemopoyética medular así como también evaluar la topografía de las progenies en los espacios intertrabeculares. Con el uso de técnicas especiales de impregnación argéntica se puede graduar el estado de la trama fibrilar reticular y detectar el desarrollo de fibrosis. Tanto la celularidad hemopoyética como la presencia de fibrosis constituyen parámetros de significación pronóstica⁵⁻⁸.

MÉTODOS UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO DE LAS BIOPSIAS MEDULARES

Los cilindros obtenidos por punción de la cresta iliaca (mínimo 10mm de longitud, con 10 espacios evaluables) son fijados en Bouin o formol al 10% durante 24 hs. El líquido de Bouin es preferible por la superior morfología que produce, pero inutiliza el tejido para estudios moleculares posteriores. El proceso de descalcificación debe ser cuidadoso, para conservar la morfología y la reactividad antigénica tisular, a fin de permitir una correcta evaluación citomorfológica y la utilización posterior de técnicas de inmunomarcación. Los cortes histológicos son coloreados con hematoxilina y eosina (H&E) y Giemsa para el estudio morfológico inicial. Se complementa con una técnica de impregnación argéntica (p. ej. Gomori) para observar y graduar la trama fibrilar reticular. Los depósitos de hemosiderina pueden apreciarse con las técnicas rutinarias de coloración o ponerse de manifiesto con la técnica para hierro de Perls a fin de realizar una cuantificación más ajustada. Si bien la búsqueda de sideroblastos en anillo debe realizarse sólo en la citología de la punción medular, la observación del incremento de los depósitos de hemosiderina es un indicio indirecto de la eritropoyesis ineficaz de valor diagnóstico (Fig. 1).

CELULARIDAD Y TOPOGRAFÍA

En el examen inicial de la biopsia se debe descartar la presencia de otras patologías (neoplasias,

aplasias, lesiones inflamatorias, etc.) que puedan simular una mielodisplasia, denominadas por algunos autores como "mielodisplasias no clonales"⁹. Se procede luego a la evaluación de la celularidad, es decir a la estimación de la relación entre el componente hemopoyético y las células adiposas, ajustándose el porcentaje obtenido a la edad del paciente¹⁰. Las mielodisplasias muestran en general médulas hipercelulares, pero pueden ser normo o hipocelulares (Fig. 2). En este último caso debe realizarse el diagnóstico diferencial con las leucemias agudas hipoplásicas y con la aplasia medular^{8,11}.

El examen a menor aumento se complementa con la observación de las topografías de las progenies. En una médula ósea normal, la serie mieloide muestra una ubicación paratrabecular, con maduración progresiva hacia el centro de los espacios, en donde apreciamos a la serie eritroide conformando nidos y a los megacariocitos cercanos o en relación con los sinusoides^{9,12}.

En las mielodisplasias se presenta un cambio topográfico de magnitud variable en estos territorios, de tal forma que la serie mieloide se desplaza hacia el centro de la médula (Fig. 3), y los grupos eritroides tienden a formar playas poco definidas (Figs. 3 y 4) e inclusive llegan a contactar con las trabéculas óseas. Hacia allí se dirigen también algunos megacariocitos, los que a su vez pueden agruparse en esa localización (Fig. 5).

CITOMORFOLOGÍA

En el análisis con mayor aumento observamos las características citológicas y la presencia de displasia. Cabe destacar que estas alteraciones son detectadas con mucha mayor precisión en la citología de la punción aspirativa, a excepción de los cambios en la serie megacariocítica, donde la histología permite una observación más selectiva. Los hallazgos más

significativos de la serie mieloide lo constituyen la falta de maduración a formas segmentadas, con el consiguiente incremento de formas semi e inmaduras. Estas últimas pueden formar grupos en la porción central de los espacios medulares, denominados previamente como ALIP¹³ por Localización Anormal de Precursores Inmaduros en inglés (Fig. 6). En la actualidad la detección de estos grupos de células inmaduras o progenitores se realiza con inmunomarcación para CD34 (Fig. 7), a fin de determinar por medio de la reactividad para este marcador la presencia y posición de los grupos, que puede ser tanto centromedular como paratrabecular.

La serie eritroide puede presentar cambios megablostoides, exceso de proeritroblastos y en ocasiones bi o multinucleación de los eritroblastos (Fig. 8).

Los megacariocitos exhiben tamaños variables, destacándose la presencia de microformas de núcleos redondeados, particularmente numerosos en el síndrome de 5q- (Figs. 9 y 10). Asimismo se aprecian formas de mayor tamaño, con núcleos irregulares (Fig. 11) y eventual multinucleación.

REACCIONES ESTROMALES

La utilización de la técnica de impregnación argéntica nos permite apreciar el estado de la trama fibrilar reticular, de importancia actual por su relación con el pronóstico adverso^{2,5}. Con la técnica de Gömöri se puede realizar una cuantificación de las fibras de reticulina así como detectar la formación de fibras colágenas, basados en la coloración de las fibras. De acuerdo al Consenso Europeo¹⁰ el contenido de fibras puede definirse como Grado 0 (normal) cuando sólo se observan aisladas fibras lineares de reticulina, con condensación exclusivamente perivascular (Fig. 12A), Grado 1 (fibrosis leve) trama laxa de reticulina con algunas intersecciones (Fig. 12B), Grado 2 (fibrosis

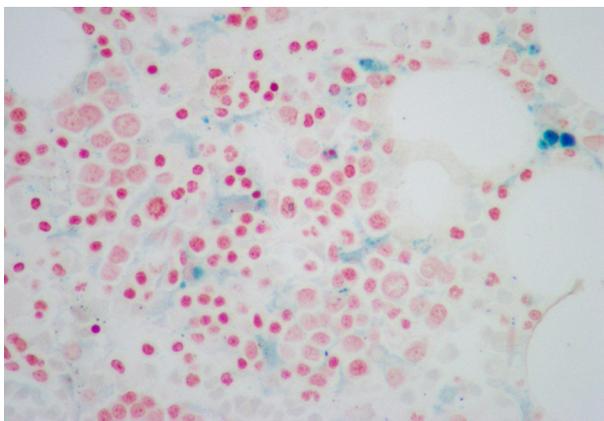


Fig. 1.- Incremento de la hemosiderina (Perls, 400x).

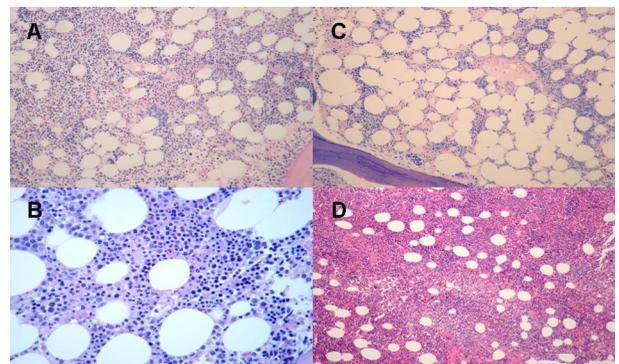


Fig. 2.- Estimación de la celularidad medular: A, B: normocelular, C, D: hipocelular, D: hipercelular (A, C y D H&E 100x, B H&E 400x)

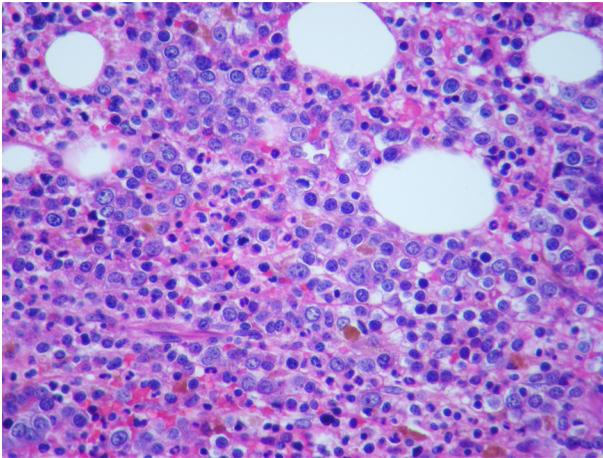


Fig. 3.- Formas mieloides semi e inmaduras así como elementos eritroides en grupos poco definidos (H&E, 400x).

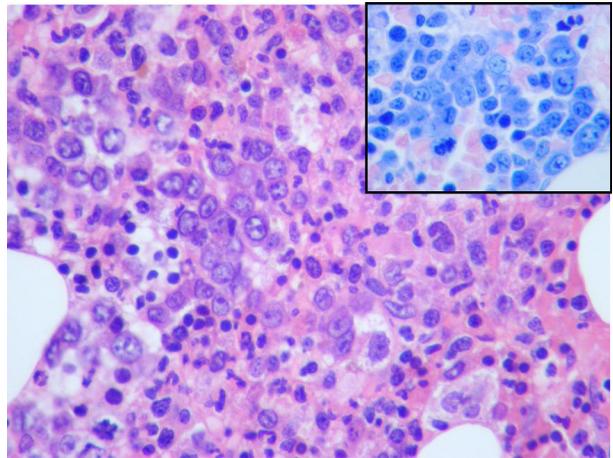


Fig. 6.- Precursores inmaduros centromedulares (H&E 400x, inserto: Giemsa 400x).

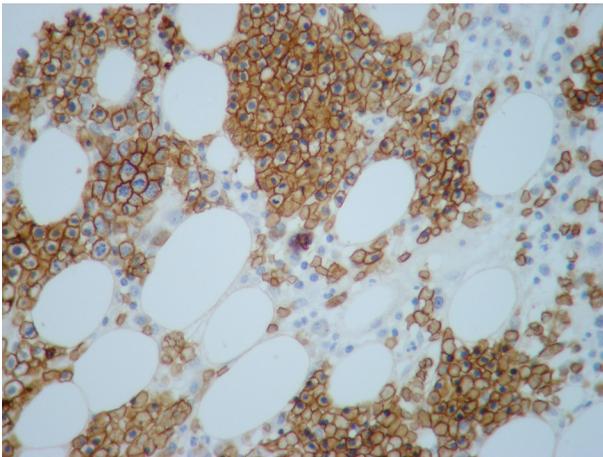


Fig. 4.- Serie eritroide en playas continuas (Glicoforina A, 400x).

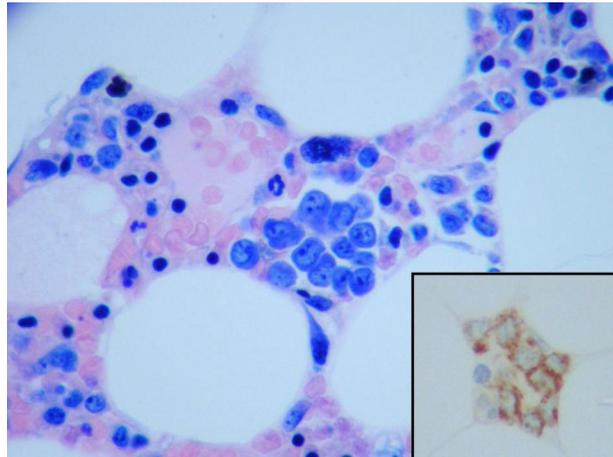


Fig. 7.- Acúmulo de precursores inmaduros centromedulares (Giemsa 400x, inserto: CD34 400x).

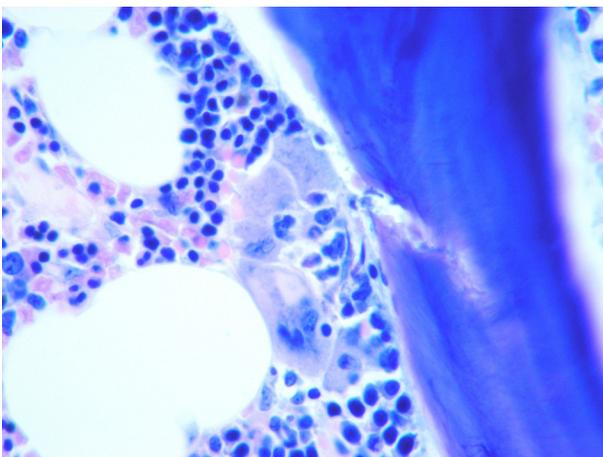


Fig. 5.- Grupo de megacariocitos paratrabeculares (Giemsa, 400x).

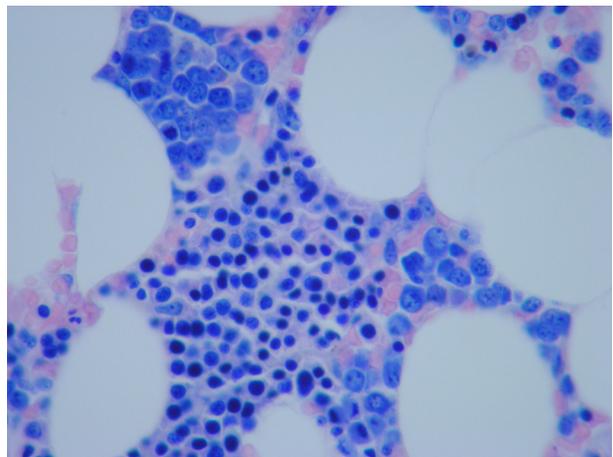


Fig. 8.- Grupos de eritroblastos con diseritropoyesis (Giemsa 400x).

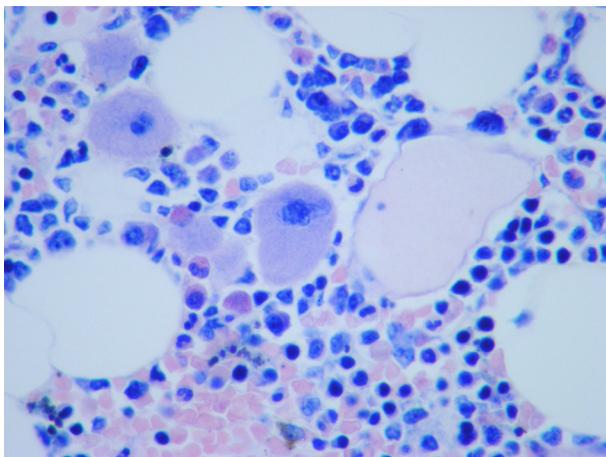


Fig. 9.- Megacariocitos hipobulbulados (Giemsa 400x).

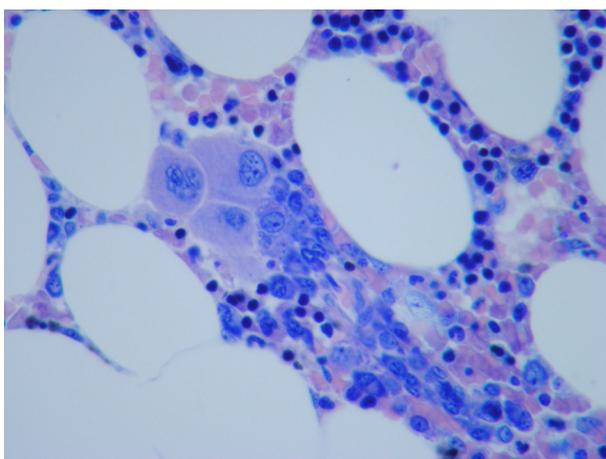


Fig. 10.- Micromegacariocitos agrupados (Giemsa 400x).

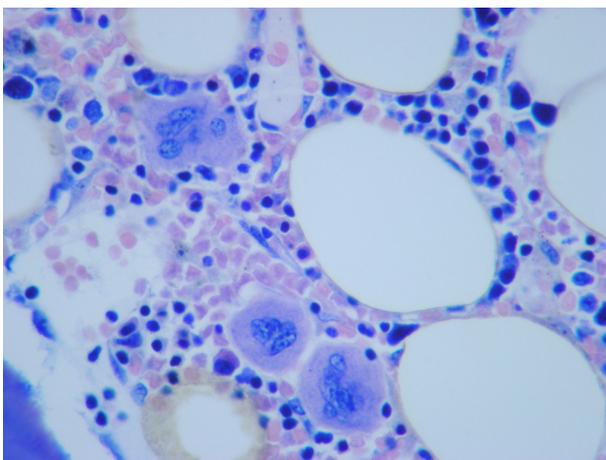


Fig. 11.- Megacariocitos polimorfos (Giemsa 400x).

moderada) incremento denso difuso de fibras reticulares, con intersecciones extensivas y a veces formación focal de colágeno (Fig. 12C), Grado 3 (fibrosis severa) cuando existe un incremento denso y difuso de fibras reticulares con intersecciones extensivas y haces gruesos de colágeno (Fig. 12D). Puede asociarse neoformación ósea endostal (osteosclerosis).

INMUNOHISTOQUÍMICA COMPLEMENTARIA

El empleo de la inmunomarcación apunta en ocasiones a la mejor definición de las poblaciones celulares medulares. A ese fin se utilizan marcadores específicos como la mieloperoxidasa (MPX) para la serie mieloide (Fig. 13), Glicoforina A (GlyA) para la eritroide (Fig. 4), CD31, CD61o CD42b para la megacariocítica (Fig. 14)¹⁴. Otros marcadores pueden a su vez ser utilizados en casos determinados. La marcación para CD34 debe realizarse en todos los casos de mielodisplasia con el objeto de determinar la presencia de blastos y permitir su cuantificación^{2, 4}. Esta marcación permite detectar los grupos de precursores que anteriormente denominábamos ALIP y ahora definidos como "acúmulos multifocales de células progenitoras CD34+" (Fig. 6)². En condiciones normales, se encuentra un 0.5 a 1% de células mononucleares CD34+ en los cortes de médula ósea, por lo que la marcación permite apreciar incrementos incipientes de estas células e inclusive definir los grupos de Anemia Refractaria con exceso de blastos 1 (RAEB-1) (5-9%) y RAEB-2 (10-19%)¹. La aplicación seriada de la marcación para CD34 en estos pacientes permite apreciar en algunos de ellos el progresivo incremento de la población blástica y su evolución a la leucemia aguda (Fig. 15). En raras ocasiones se observan formas inmaduras sugestivas de blastos que no son CD34+. En estos casos está indicado realizar marcaciones para antígenos de linaje (MPX, GlyA) así como CD117 a fin de establecer el significado de los mismos (fig. 16).

CONCLUSIÓN

El diagnóstico de los SMD es un proceso integrado que involucra la clínica, citología, histopatología, citometría de flujo, citogenética y análisis molecular¹⁵. El papel de la histopatología consiste en agregar datos que no son obtenidos en forma confiable por otros métodos, como el porcentaje de celularidad, las alteraciones topográficas, la presencia de fibrosis y aportar una estimación adecuada del porcentaje de blastos, su agrupamiento y localización.

Todo ello es posible con una muestra adecuada, bien fijada y procesada, estudiada por un hematopatólogo con la asistencia de técnicas inmunohistoquí-

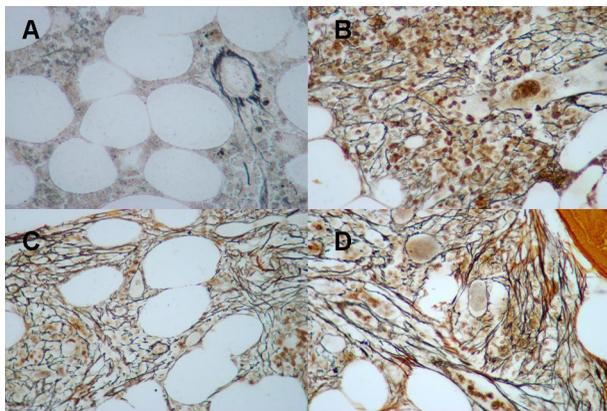


Fig. 12.- Cuantificación de la trama fibrilar: A: grado 0, B: grado 1, C: grado 2, D: grado 3 (Gömöri, 400x).

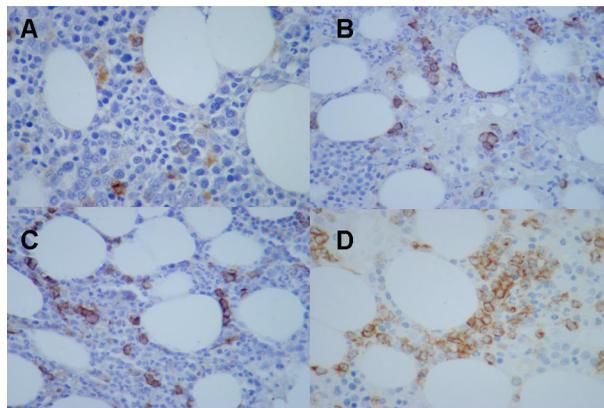


Fig. 15.- Incremento progresivo de células CD34+ (A-C) y evolución a leucemia aguda (D) (CD34 400x).

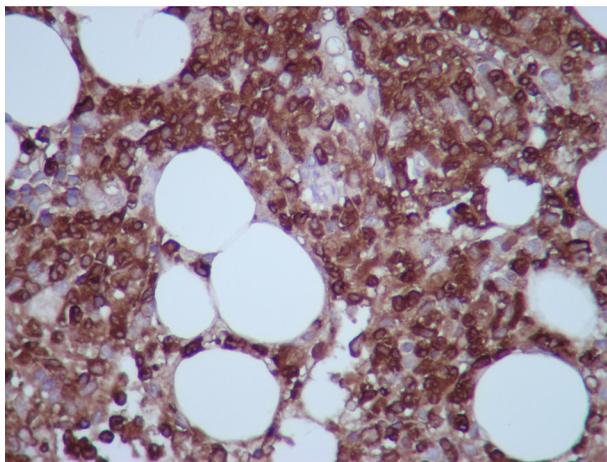


Fig. 13.- Predominio de la serie mieloide (Mieloperoxidasa 400x).

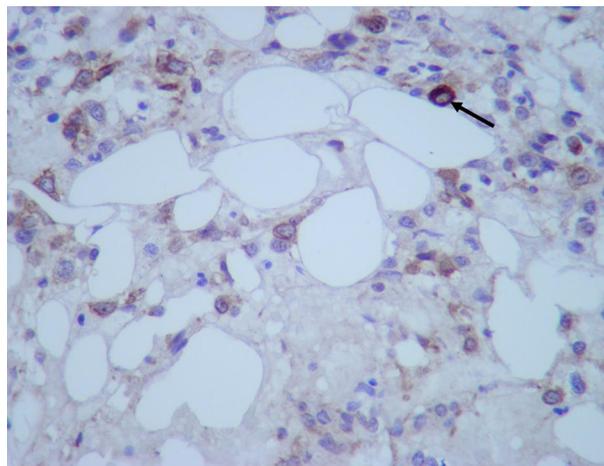


Fig. 16.- Blastos CD117+ dispersos y mastocito positivo (flecha) como control interno de la marcación (CD117 400x).

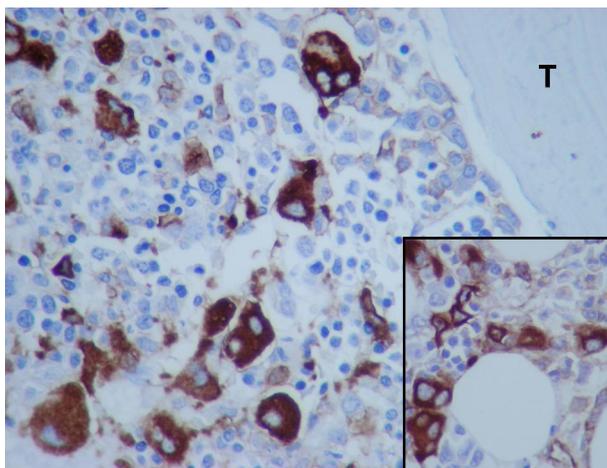


Fig. 14.- Dismegacariopoyesis, T: trabécula ósea (CD31 400x), inserto: micromegacariocitos-blastos (CD31+ 400x).

micas apropiadas y en el contexto de una información clínica completa.

Agradecimientos: a Mariela Gómez y Vladimir Rodríguez por su invaluable asistencia con el procesamiento de las imágenes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). **Myelodysplastic syndromes.** WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues 2008, p 87-107. IARC, Lyon.
2. Valent P, Horny H-P, Bennett J y col. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. **Leuk Res** 2007; 31: 727-736.
3. Verburgh E, Achten R, Moes B y col. Additional prognostic value of bone marrow histology in patients subclassified

- according to the international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2003; 21: 273-282.
4. Della Porta G, Malcovati L, Boveri E y col. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009; 27: 754-772.
 5. Horny H-P, Sotlar K, Valent P. Diagnostic value of histology and immunohistochemistry in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2007; 31: 1609-1616.
 6. Orazi A. Histopathology in the diagnosis and classification of acute myeloid leukaemia, myelodysplastic syndromes and myelodysplastic / myeloproliferative diseases. *Pathobiology* 2007; 74: 97-114.
 7. Sakuma T, Hayashi Y, Kanomata N y col. Histological and cytogenetic characterization of bone marrow in relation to prognosis and diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Pathology Int* 2006; 56: 191-199.
 8. Yue G, Hao S, Fadare O y col. Hypocellularity in myelodysplastic syndrome is an independent factor which predicts a favourable outcome. *Leuk Res* 2008; 32: 553-558.
 9. Naeim F, Rao N and Grody W. Myelodysplastic Syndromes. Hematopathology, Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics and Molecular Approaches 2008, pp 129-154. **Academic Press**, San Diego.
 11. Bennett J, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukaemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standard approach. *Haematologica* 2009; 94: 264-268.
 12. Orazi A, O'Malley D and Arber D. Illustrated Pathology of Bone Marrow. 2006, pp 5-15. Cambridge University Press, Cambridge.
 13. De Wolf-Peeters C, Stessens R, Desmet V y col. The histological characterization of ALIP in the myelodysplastic syndromes. *Pathol Res Pract* 1986; 181: 402-407.
 14. Dunphy C, O'Malley D, Perkins S y col. Analysis of immunohistochemical markers in bone marrow sections to evaluate for myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007; 15: 154-159.
 15. Steensma DP. The changing classification of myelodysplastic syndromes: what's a name?. Educational Program Book. *Hematology* 2009; 2009: 645-655.
 16. Thiele J, Kvaniscka H, Franco V y col. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005; 90: 1128-1132.