

Lourdes Florensa Brichs

Escola de Citologia Hematològica Soledad Woessner. IMIM. Laboratorio de
Citología Hematológica. Servicio Patología. Hospital del Mar. Barcelona.

Contacto: Lourdes Florensa. Paseo Marítimo, 25, 08330. Barcelona.

Teléfono: 34932483036. lflorensa@parcdesalutmar.cat

Papel de la citología en la Hematología del siglo XXI

Lourdes Florensa, Hospital del Mar, Barcelona

Tradicionalmente, el citólogo hematológico ha afrontado el reto diagnóstico con un microscopio de luz y un frotis de sangre o de médula ósea teñido con una tinción panóptica. Esta tinción permite el estudio morfológico de las células hematopoyéticas mediante la evaluación de las diferentes estructuras celulares. Durante las últimas décadas, a medida que iban surgiendo nuevos conocimientos, el estudio morfológico con tinciones clásicas se ha complementado con diversas metodologías como la citoquímica, la citogenética (CG), la citometría de flujo (CF) y la biología molecular (BM). Así, el papel de la morfología ha ido cambiando pasando de ser la única técnica diagnóstica a ocupar el primer paso del proceso diagnóstico. Los recientes avances moleculares han proporcionado nuevos conocimientos para comprender la fisiopatología de las enfermedades hematológicas y han generado nuevas perspectivas para los marcadores diagnósticos y pronósticos.

En la clasificación de la de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las neoplasias del tejido hematopoyético y tejido linfoide¹, el diagnóstico de las hemopatías se fundamenta en la integración de toda la información disponible: clínica, morfológica, citoquímica, inmunofenotípica, citogenética (CG) y biología molecular (BM). Con este modelo de “*diagnóstico integrado*” se pretende identificar entidades biológicamente homogéneas y clínicamente relevantes para poder adoptar decisiones terapéuticas adecuadas. La importancia relativa de cada una de estas características utilizadas para el diagnóstico varía según la enfermedad, dependiendo del estado actual del conocimiento, sin que exista un único *gold standard* para definir a todas las enfermedades.

En la reciente actualización de los criterios para la clasificación de las neoplasias hematológicas de la OMS de 2017, la morfología es considerada como un **prerrequisito** para el diagnóstico de las neoplasias mieloides¹. Las características morfológicas, citoquímicas e inmunofenotípicas de las células neoplásicas son herramientas obligadas para establecer su linaje y grado de maduración, y para determinar si la morfología de la célula es normal o displásica. La CG y la BM son técnicas con gran valor diagnóstico y pronóstico.

En el diagnóstico de las neoplasias mieloides, la morfología es imprescindible para la identificación y enumeración de los blastos, la identificación de la línea monocítica y de la mielodisplasia. Para la valoración de todos estos datos, el estudio del inmunofenotipo por CF aporta una valiosa información, pero no lo suficientemente específica para sustituir a la morfología. Conocer el porcentaje de blastos en médula ósea y sangre periférica es muy importante para el diagnóstico y clasificación de las neoplasias mieloides. Existe una correlación aceptable entre el número de blastos observados por morfología y CF. No obstante, en muchas ocasiones existe una discordancia muy importante entre ambos métodos debido a que no todos los blastos son CD34 positivos, o por la existencia de fibrosis en la MO o por hemodilución de la muestra y también por una serie de variables preanalíticas. Estas dificultades han motivado que para el diagnóstico de las hemopatías, la enumeración de la cifra de blastos por morfología no puede ser sustituida por la de CF¹. Para establecer el porcentaje de blastos la técnica *gold standard* sigue siendo la citología óptica¹.

Los blastos pueden presentar características morfológicas sugestivas de determinados subtipos de leucemia mieloide aguda (LAM) que el hematólogo debe conocer para poder generar la exploración del resto de pruebas diagnósticas correctas, como la citogenética y molecular. Los blastos con imagen nuclear *cuplike* se relacionan con mutación de *NPM1*; los blastos con astillas son característicos de la leucemia promielocítica y su detección en situaciones muy concretas, en espera de la confirmación de la t(15;17)(q22;q12) y del reordenamiento de *PML/RAR α* por biología molecular, justificaría iniciar un tratamiento adecuado. En ambos casos la morfología orienta el diagnóstico que posteriormente confirma la CG o la BM¹.

Para el diagnóstico de la leucemia monoblástica y mielomonocítica aguda y para subclasificar la leucemia mielomonocítica crónica, el promonocito identificado por morfología es considerado equivalente al monoblasto¹.

Los rasgos morfológicos de displasia son imprescindibles para el diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos (SMD), SMD/ neoplasias mieloproliferativas y leucemias agudas¹. En ninguna de estas neoplasias el examen morfológico se puede suplir por la citometría de flujo por no disponer de patrones inmunofenotípicos totalmente específicos, siendo una herramienta de apoyo de la morfología¹. La detección de sideroblastos en anillo (SA), mediante la tinción

de Perls, es imprescindible para el diagnóstico de un subtipo de SMD, el SMD con SA¹ que se identifica por la presencia $\geq 15\%$ de SA o entre 5 y 14% de SA junto a la mutación de *SF3B1*, que permite establecer el diagnóstico. Sin embargo, la mutación de *SF3B1* por sí sola no es específica de ninguna hemopatía. Algunas dismorfias, guardan una estrecha correlación con alteraciones CG: megacariocitos monolobulados con del(5q), neutrófilos tipo Pelger y vacuolización con la pérdida de 17p, dismegacariopoyesis con del (20q) aislada y con inv(3)(q21.3q26.2) o t(3,3)(q21.3q26.2).

Para el diagnóstico del mieloma es obligado realizar un recuento de células plasmáticas en médula ósea por microscopía¹. El estudio inmunofenotípico de las células plasmáticas es recomendable para demostrar clonalidad y aberraciones fenotípicas. La enumeración de la cifra de células plasmáticas por morfología no debe ser sustituida por la de CF¹. A igual que la valoración numérica de los blastos por citometría, la cuantificación de las células plasmáticas está sujeta a dificultades inherentes a la muestra y a variables preanalíticas que han motivado que la enumeración de la cifra de plasmáticas por morfología no sea sustituida por la de CF¹.

En el resto de neoplasias linfoides la morfología es orientativa y en ocasiones nos ofrece una ayuda decisiva. Ejemplos claros son la detección de linfocitos típicos de la LLC, tricoleucocitos, células de Sézary entre otras.

Actualmente, con toda la tecnología de que se dispone para realizar y mejorar el diagnóstico de las neoplasias hematológicas, no se ha logrado obtener un marcador biológico o genético patognomónico para cada una de las hemopatías¹.

Es importante destacar que el estudio morfológico puede ayudar decisivamente a diferenciar alteraciones hematológicas primarias de otras de naturaleza extrahemática. Es un método orientativo en el estudio de enfermedades neoplásicas e infecciosas, tanto víricas, bacterianas como parasitarias. En anemias carenciales, hemolíticas adquiridas y congénitas, así como en el estudio neutropenia y plaquetopenia².

En el siglo XXI el papel que ocupa la morfología es el de ser el primer paso del modelo de diagnóstico integrado. En la era molecular la morfología sigue teniendo un papel muy importante en el proceso diagnóstico.

El citólogo con el examen morfológico inicia el proceso diagnóstico y en base a la información clínica-analítica, genera las pruebas oportunas, integra los resultados y efectúa el diagnóstico.

Para estar preparados para esta labor, los hematólogos no deben abandonar la citología y tienen que perfeccionar sus conocimientos morfológicos. La morfología es una técnica fácil de realizar y económica. Permite obtener una primera impresión de lo que está ocurriendo y nos orienta como debemos seguir, que técnicas debemos aplicar para llegar a un diagnóstico y así evitar exploraciones innecesarias y, en ocasiones, diagnósticos erróneos. La evaluación de la morfología citológica requiere, al igual que otras técnicas de diagnóstico (citometría de flujo, citogenética, histología), observadores experimentados y la disponibilidad de muestras de alta calidad y teñidas adecuadamente.

Existe un amplio consenso en el sentido de que los hematólogos deben seguir formándose en morfología, para poder realizar una adecuada orientación de las hemopatías en general y siempre como parte de un proceso diagnóstico integrado³. Es responsabilidad de los citólogos con experiencia transmitir a los nuevos hematólogos esta habilidad tan fundamental para el correcto diagnóstico hematológico.

Bibliografía

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues *WHO*. Lyon: IARC Press 2017
2. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Madrid. España. Acción Médica and FEHH. Quinta edición. 2006.
3. Van't Veer M, Haferlach T. Should clinical hematologists put their microscopes on eBay? *Haematologica*. 2014 Oct;99(10):1533-4.