atlas color

CITOLOGIA del CANCER

MASAYOSHI TAKAHASHI

Profesor y presidente del Departamento de Patología Escuela de Medicina de la Universidad de Gifu, Gifu, Japón.
Profesor visitante del Departamento de Patología Escuela de Medicina de la Universidad Kyorin, Tokio

SEGUNDA EDICIÓN

EDITORIAL MEDICA panamericana

JUNÍN 831 - BUENOS AIRES

BOGOTÁ - CARACAS - MADRID - MÉXICO - SANTIAGO DE CHILE - SÃO PAULO

Índice

Prólogo **VI**

Prefacio de la segunda edición **VII**

Prefacio de la primera edición **VIII**

PRIMERA PARTE: Citología general del cáncer 1

1. Lineamientos generales sobre citología del cáncer **3**
2. Estructura fundamental de las células **18**
3. Mitosis **24**
4. Constituyentes celulares normales en citología exfoliativa **29**
5. Criterios de malignidad **32**
6. Diferenciación y desdiferenciación **40**
7. Discariosis y disqueratosis **48**
8. Alteraciones celulares que simulan malignidad **50**
9. Selección preliminar práctica **57**
10. Clasificación diagnóstica **60**
11. Degeneración celular en citología exfoliativa **62**
12. Tipificación de células malignas **66**
13. Preparación de extendidos y fijación **74**
14. Alteraciones celulares por radiación **83**
15. Microscopia de fluorescencia **94**
16. Microscopia de contraste de interferencia diferencial **105**
17. Cromosomas humanos **107**
18. Cromatina X **119**
19. Cromatina Y **127**
20. Enfoque citoquímico de isoenzimas vinculadas con malignidad **131**

Bibliografía de la primera parte **139**

SEGUNDA PARTE: Citología práctica de órganos 159

21. Tracto genital femenino **161**
22. Mama **243**
23. Tracto respiratorio **267**
24. Tubo digestivo **335**
25. Sistema nervioso central **386**
26. Derrames en cavidades corporales **409**
27. Tracto urinario **459**
28. Ganglios linfáticos **506**
29. Piel y membranas mucosas **540**
30. Hueso y médula ósea **556**

Bibliografía selecta **563**

Índice analítico **564**

Prólogo

Parece casi ayer, cuando, poco después de publicarse la primera edición de este libro, pasé delante de una gran librería frente al Hospital Universitario de Viena, y lo vi en un lugar destacado de la vidriera, dando la impresión de que el dueño de la librería estaba tan orgulloso de él como si lo hubiese escrito él mismo.

Mientras se preparaba esta edición revisada y ampliada, el Dr. Masayoshi Takahashi tuvo la amabilidad de dejarme ver las pruebas de galera. Como al otorgarse a la primera edición un premio por su contribución a la industria editorial del Japón me tocó pronunciar un discurso, me considero partícipe de esta obra. La lectura de las pruebas de galera me causó una intensa emoción. Me emocionó el creciente convencimiento de que este libro no tiene parangón en el mundo en materia de citología oncológica.

El título de esta obra, Atlas Color Citología del Cáncer, no me satisface en absoluto. En otras palabras, creo que figuro entre los muchos lectores de la primera edición que opinan que este libro tendría que llamarse Libro de Texto y Atlas en Colores de Citología del Cáncer. Al limitarlo el título mencionado a un simple atlas en colores, se tiene la impresión de que es sólo eso, un atlas y una explicación, cuando, en realidad, esta obra se basa en un texto redactado con suma minuciosidad y es el fruto de las afamadas investigaciones del Dr. Takahashi, lo cual, a su vez, permitió la preparación del atlas. En consecuencia, el título debería decir que este libro es por completo distinto a todas las otras obras de títulos similares.

Las fotografías de esta obra, con excepción de los casos en que se indica lo contrario, fueron tomadas por el mismo Dr. Takahashi, lo cual explica por qué el material es tan excelente. En este sentido, también por esta razón, este libro no es un simple atlas en la acepción usual de la palabra, porque los preparados mismos parecen estar contenidos en sus páginas.

Este trabajo es un importante aporte a la citología vital porque destaca la morfología y la función de las células cancerosas y porque analiza a fondo el aspecto de estas células sobre la base de observaciones con la microscopia electrónica de rastreo y la microscopia de contraste de interferencia diferencial. Otra realización notable es la evaluación que el autor hace de la aplicación práctica de la determinación de alteraciones citoquímicas, como la desviación de las isoenzimas y la aparición de antígenos tumoroasociados. Además, el Dr. Takahashi ha incluido un capítulo nuevo basado en la técnica fluorescente para teñir los cuerpos Y en el cáncer de los varones. También hay un capítulo nuevo sobre huesos y médula ósea, y se ha ampliado mucho el texto de la primera edición en los capítulos sobre enfermedades de la piel, linfomas y tumores encefálicos. El Dr. Takahashi ilustra todos los puntos de su texto con fotografías en colores y establece comparaciones con el cuadro histológico siempre que sea necesario.

Al mismo tiempo que experimento un gran placer al escribir la introducción para esta obra de mi íntimo amigo y respetado colega Dr. Takahashi, desearía expresar la esperanza de que este trabajo sea de utilidad para quienes se dedican al estudio de la citología y desean progresar en la especialidad.

KAZUMASA MASUBUCHI

Presidente de la Academia Internacional de Citología, Vicepresidente del Hospital del Instituto del Cáncer, Fundación Japonesa de Investigaciones Cancerológicas, Tokio.

Prefacio de la segunda edición

En los 10 años transcurridos desde que apareciera la primera edición de esta obra, la citología ha hallado una aplicación más amplia en la práctica de la medicina de laboratorio. Su progreso obedece en particular al perfeccionamiento de los instrumentos endoscópicos. Estos adelantos tecnológicos permitieron que la citología desempeñe un papel práctico en el diagnóstico del cáncer en regiones de difícil acceso, como en el tracto respiratorio periférico y en las vías coledocopancreáticas. Otro factor importante que contribuye al incesante progreso de la citología es que los médicos están reconociendo la utilidad de la aspiración con aguja fina de órganos y tejidos que no son accesibles a la endoscopia. Además, el interés de los citopatólogos en el diagnóstico con cortes congelados como coadyuvante, ha conducido a otro ámbito de progreso. Un sencillo ejemplo es la utilidad de las impresiones citológicas en las neoplasias cerebrales, que permite realizar un diagnóstico rápido y exacto durante la operación. Aparte de la rapidez del citodiagnóstico, los extendidos citológicos para las linfadenopatías generalizadas son indispensables a los efectos de subclasificar el linfoma maligno, porque el preparado citológico, sea de la punción aspiradora o de la impresión, produce estructuras más finas que los cortes histológicos incluidos en parafina.

Tengo la impresión de que la brecha entre los conocimientos básicos en citología y la citología clínica se está cerrando, y esta obra refleja estos cambios. Por ejemplo, la observación del comportamiento de los cuerpos X, de los cuerpos Y y de los organizadores nucleolares en los núcleos en interfase, reviste interés y es importante en clínica médica porque la presencia o ausencia de cromatinas sexuales reviste importancia para el diagnóstico y también para el pronóstico. A la Primera Parte se le agregaron otros capítulos nuevos sobre la citoquímica de las isoenzimas en relación con los marcadores de malignidad y sobre microscopia de contraste de interferencia diferencial, que permite ver las estructuras celulares en tres dimensiones. Esto no sólo es aceptable para uso práctico en citología clínica, sino que es necesario para interpretar la función celular o las entidades patológicas.

El contenido de todos los capítulos de la Segunda Parte ha sido modificado en gran medida o ampliado en comparación con la primera edición, que versaba en particular sobre citología exfoliativa. El atlas en sí debería servir de guía para quienes poseen cierta experiencia. Aunque todas las láminas en colores fueron vueltas a procesar porque se modificó la técnica de impresión, he mantenido el estilo ilustrativo de libro de texto de la primera edición para conveniencia de los principiantes en citodiagnóstico. De ahí que se intentase colocar grandes cantidades de figuras en blanco y negro y en colores siguiendo el orden de la descripción general. Para facilitar la comprensión de los lectores, se introduce un resumen de la clasificación y etapas de determinados tumores malignos de acuerdo con el sistema TNM (UICC), que se agregó al final de todos los capítulos principales de la Segunda Parte. Toda la bibliografía de los capítulos de la Primera Parte aparece al final de ésta, mientras que la bibliografía de los capítulos de la Segunda Parte, sobre citología práctica, se consigna al final de cada capítulo; esto se hizo para evitar al lector la molestia de tener que volver muchas páginas.

Deseo expresar mi gratitud hacia el cuerpo médico de la Escuela de Medicina de la Universidad de Gifu, en Gifu, y de la Escuela de Medicina de la Universidad Kyorin, en Tokio, y hacia mis colegas del Departamento de Cirugía del Colegio de Medicina de Tokio y del Departamento de Patología Clínica, Hospital Central de los Ferrocarriles Nacionales del Japón, Tokio, por haberme proporcionado valiosos casos citológicos. También agradezco muy en particular a todos los que me permitieron usar sus casos importantes, sus figuras originales y los cuadros para este atlas. Vaya mi profundo reconocimiento para el personal del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de Botucatu, UNESP, Brasil, quienes tuvieron la gentileza de ofrecerme muestras inobtenibles durante mis dos meses de permanencia allí como profesor visitante. También deseo expresar mi agradecimiento por su asistencia técnica a la Srta. Ishii, K., C. T.; Srta. Mirwa, K., B. Pharm. C.T.; Sr. Kunizane, H., C.T., IAC, y Sr. Sumida, K., C.T. Por último, tengo el agrado de mencionar la ayuda prestada por el Sr. Kubota, H., y por el Sr. Tachikawa, S., de IGAKU-SHOIN, por su paciencia en el largo período en que esta obra se hallaba en preparación.

EL AUTOR

Prefacio de la primera edición

La técnica de Papanicolaou ha hallado amplia aceptación como recurso de diagnóstico en los cánceres incipientes de diversos órganos del cuerpo. A pesar de que el diagnóstico radiológico y endoscópico se limita a tumores de tamaño macroscópico y de que la citología exfoliativa nos permite detectar carcinomas intraepiteliales que son absolutamente curables, los dos primeros métodos todavía prevalecen en clínica.

El profesor Dr. Rudolf Virchow, padre de la "patología celular", nos ha legado el famoso axioma: "Omnis cellula e cellula". Hasta una sola célula cancerosa es biológicamente tan maligna que el trasplante de una sola célula cancerosa prende en condiciones experimentales, y esta unidad, la más pequeña posible, puede poseer los rasgos distintivos que satisfacen los criterios de malignidad. El reconocimiento exacto de las alteraciones celulares es la base de la citología exfoliativa.

Hablando en términos generales, los patólogos que están acostumbrados a observar atipias estructurales, como anormalidades en el ordenamiento de las células, crecimiento invasivo y/o permeación vascular, podrían vacilar en diagnosticar la malignidad de células individuales sin contar con los rasgos histológicos. Los médicos, en cambio, no pueden dedicar su tiempo a realizar estudios microscópicos en el laboratorio. El estudio citológico suele estar a cargo de tres personas por lo menos: el médico, que debe recoger muestras suficientes, el citotecnólogo, que debe preparar los extendidos y seleccionarlos, y el citopatólogo, responsable de realizar el diagnóstico definitivo. En otras palabras, el citodiagnóstico es como una carrera de relevos en que ninguno de los corredores puede desviarse de su trayectoria. Por lo tanto, este libro de texto tendría que ser aceptable para estos tres expertos. Al principio tuvimos la intención de preparar un atlas ilustrado con figuras en colores como manual para los citotecnólogos, pero, mientras tanto, el autor fue influido por el excelente libro de texto "Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases", escrito por el Dr. Leopold G. Koss, y se propuso ampliar los alcances de esta obra no sólo para los técnicos, sino también para los estudiantes de medicina y los médicos.

Se agregaron así al atlas procedimientos de laboratorio detallados, su utilidad diagnóstica y sus interpretaciones patológicas. En consecuencia, la edición japonesa original de 1965, titulada "Color Atlas of Cancer Cytology", ha sido renovada por completo en esta edición en idioma inglés. A pesar de que el contenido es similar al de un libro de texto, hemos dejado el nombre original, "Color Atlas of Cancer Cytology". Este libro consta de dos partes:

La Primera Parte versa sobre citología oncológica en general; comprende conocimientos fundamentales de citología y técnicas detalladas de laboratorio que se requieren en la práctica de rutina y a veces se prestan para investigaciones clínicas. En consecuencia, algunas porciones de esta parte pueden comprender aspectos no vinculados con la citología oncológica.

La Segunda Parte concierne a citología práctica, tal como se aplica en los diversos órganos y tejidos. Cada capítulo ha sido organizado a modo de un fascículo, empezando con la técnica para preparar los extendidos y yendo después a la citología normal y atípica, con particular referencia a la histopatología. Por consiguiente, cualquier capítulo sobre un órgano en particular puede ser entendido con facilidad por los que se interesan en el tema.

Tengo una profunda deuda de gratitud con el Dr. B. Cornelis Hopman por haber guiado mis primeros pasos en citología exfoliativa en el Jackson Memorial Hospital de la Universidad de Miami. Agradezco mucho el asesoramiento del Dr. Y. Chiba, director médico del Hospital Central de los Ferrocarriles Nacionales del Japón, y el del Prof. K. Hashimoto y el del Prof. N. Kosakai, de la Universidad Juntendo. También deseo agradecer al Prof. H. Katsuki, al Prof. Y. Hayata, al Dr. M. Tajima y al Dr. E. Tsuboi por su amable presentación de casos; al Dr. Y. Tenjin, al Dr. S. Noda, al Dr. S. Kurita, al Dr. N. Fukushima, al Dr. Y. Skai y al Sr. A. Sato, por haber cedido figuras en colores, y a todo el cuerpo médico y de laboratorio del hospital J. N. R. por su decidido apoyo. Por último, agradezco al personal de Igaku-Shoin Ltd., por sus esfuerzos y por la amabilidad con que encararon muchos problemas que les solicité que me resolviesen.

MASAYOSHI TAKAHASHI

PRIMERA PARTE

Citología general del cáncer

1 Lineamientos generales sobre citología del cáncer

A pesar de los progresos recientes en investigaciones biológicas sobre marcadores de neoplasias malignas, el diagnóstico práctico de cáncer todavía se limita a los exámenes histológicos, así como a los radiológicos o endoscópicos basados en la morfología. Aunque la citología exfoliativa también se basa en la morfología, no se la debe sobreestimar considerándola tan valiosa como el diagnóstico histopatológico. Los criterios histopatológicos de los tumores están representados por 1) anaplasia de las células tumorales, 2) crecimiento invasivo que destruye y sustituye a los tejidos normales circundantes, 3) rápido crecimiento autónomo y 4) metástasis por permeación linfática, siembras hematógenas e implantación. La citología exfoliativa, en cambio, por carecer de estructura histológica, sólo depende de la primera categoría, es decir, la anaplasia o desdiferenciación de las células tumorales. Esto ha hecho que los patólogos vacilen en aceptar la citología exfoliativa (Willis, Büchner, Hamperl), pero este tipo de examen no sólo es técnicamente sencillo y repetible, sino también exacto para detectar cánceres incipientes en diversos órganos (Albertini).

1. Carcinoma de útero

Se publicaron varios trabajos que describen la detección del cáncer del cuello uterino desde que Papanicolaou y Traut presentaron su monografía en 1943.[482] El muestreo amplio en torno del orificio externo y a lo largo del conducto cervical permite detectar el carcinoma cervical preclínico porque hasta la etapa 0 o carcinoma *in situ* abarca un área intraepitelial bastante grande. En consecuencia, se pueden anticipar altas tasas de diagnósticos positivos (más del 90 %) y una escasa proporción de resultados positivos falsos (menos del 0,5 %). En algunos carcinomas intraepiteliales limitados a un área focal es frecuente que con una sola punción biopsia no se detecte la lesión.[184] En lo tocante a la detección del carcinoma incipiente del cuello uterino, la citología es mejor que la biopsia. El citodiagnóstico es práctico para realizar exámenes preliminares en masa por su sencillez, repetibilidad y exactitud. Los exámenes preliminares en masa para cáncer cervical arrojaron una incidencia de alrededor del 0,5 %[125,158,414,584] y también elucidaron mejor el tema de la correlación entre displasia, carcinoma intraepitelial y carcinoma invasor. Según un estudio de Stern y Neely, la tasa de detecciones en la población vuelta a examinar disminuyó mucho, llegando a 0,09 por millar de mujeres en los cánceres de etapa 0 y I, respectivamente, mientras que la tasa para displasias siguió siendo un tanto alta (cuadro 1). Además, el hecho de que los casos positivos hallados en el nuevo examen preliminar fueron los mismos que habían exhibido displasia en la primera muestra, sugeriría que este carcinoma evoluciona pasando por la etapa displásica. El Programa de Londres (Ragula y Marks, 1973)[520] confirmó la influencia de los exámenes citológicos preliminares sobre la prevalencia de carcinoma cervical y lesiones preinvasivas porque la prevalencia de carcinoma invasor, que había sido 1,6 por 1000 mujeres en 1968, descendió a 0,4 en 1972. Las lesiones preinvasivas, que ascendían a 3,2 por 1000 mujeres en 1968, bajaron a 1,7 en 1972. Se comprobó que las lesiones displásicas se mantienen relativamente constantes y se las considera representativas de la incidencia normal. El abrupto aumento

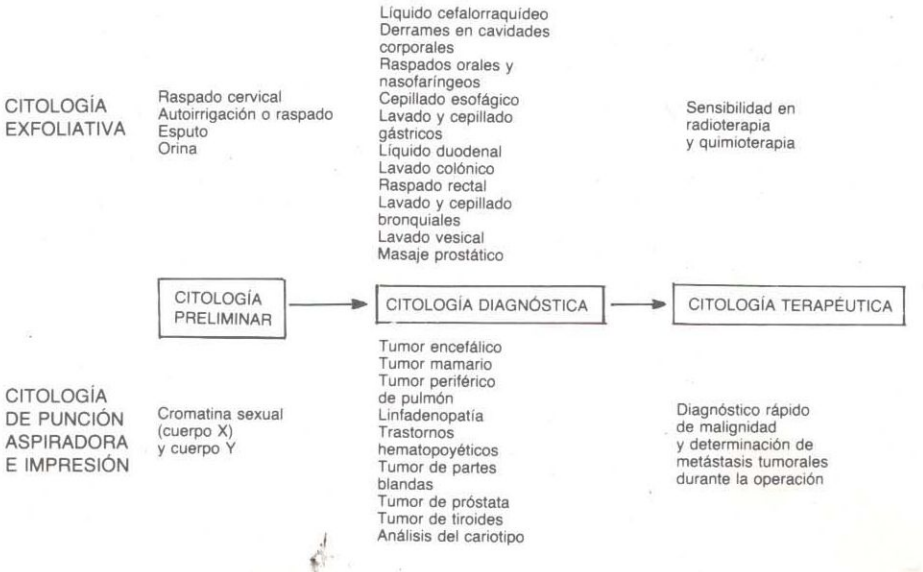


Fig. 1. Alcances actuales de la citología oncológica.

Cuadro 1. Exámenes preliminares masivos para carcinoma de cuello uterino

Autores	*Examen*	*Cantidad de mujeres*	*Carcinoma 1000 mujeres*	*Etapa*	*Positivos 1000 mujeres*	*Displasias 1000 mujeres*
STERN Y NEELY (1963)	Primero	19.192	7,6	0	5,1	5,4
				I	1,5	
				II-IV	1,0	
	Segundo	10.502	0,18	0	0,09	2,4
				I	0,09	
				II-IV	0	
CHRISTOPHERSON (1966)	Primero	73.888	6,98	0	3,91	
				I-IV	3,07	
	Segundo	32.123	2,52	0	1,65	
				I-IV	0,87	
	Tercero	12.964	2,01	0	1,70	
				I-IV	0,31	
	Cuarto y más	8.783	1,02	0	1,02	
THORARINSSON y col. (1970)	Primero	17.265	9,44	I-IV	0	
				0	7,53	
	Segundo	4.982	2,21	I-IV	1,91	
				0	1,81	
KASPER y col. (1970)	Total	175.767	5,81	I-IV	0,40	
				0	4,78	
	Reexaminadas	65.000	1,31	I-IV	1,03	
				0	1,31	

de la frecuencia de carcinomas *in situ* en mujeres de 25 a 29 años, sugiere que es necesario iniciar los exámenes preliminares a la edad de 25 años o antes[327] (fig. 2). En la actualidad todavía se discute la conveniencia de la técnica del extendido de irrigación para hacer exámenes preliminares en masa.[16,19,75,527,536] Aunque la exactitud de la detección del carcinoma de cuello uterino mediante autoirrigación es baja porque el muestreo de células no es satisfactorio, su principal ventaja radica en que la misma mujer puede recoger la muestra, de modo que la técnica se presta para hacer estos exámenes preliminares hasta en las regiones rurales.

Yokoyama[728] adoptó la técnica de la esponja cilíndrica como método de autorrecolección y encontró carcinoma cervical en el 0,58 % y displasia cervical en el 0,39 % de 2560 mujeres examinadas por primera vez. Al cabo de uno a dos años, en el segundo examen sólo aparecieron dos casos de carcinoma *in situ* y de displasia, respectivamente (0,17%). En cuanto al control efectivo del carcinoma cervical con exámenes preliminares en masa, Christopherson y Scott[108] hallaron tendencias decrecientes de la mortalidad por carcinoma cervical en las mujeres de 45 a 64 años en las cuales se habían hecho exámenes preliminares intensivos. La mortalidad estandarizada por carcinoma uterino ha venido declinando en este grupo desde que se iniciaron los exámenes preliminares, porque fue 41,7 por 100.000 en 1955, 32,4 en 1960, 27,9 en 1965 y 17,2 en 1971, mientras que las mujeres testigos de Inglaterra y Gales, donde el sistema de selección preliminar se adoptó hace poco, no desplegaron diferencias significativas en el mismo período. También se atribuye una utilidad pronóstica similar a los exámenes preliminares en masa en la comunicación de Macgregor y col.,[386] que demuestra la inversión de la gran incidencia del carcinoma clínico entre dos grupos de menos y de más de 60 años desde 1950 hasta 1970, porque en la década del 70 la frecuencia del carcinoma cervical, que era de más o menos el doble en mujeres menores de 60 años en 1950, se cruzó en su descenso con la de mujeres mayores de esa edad.

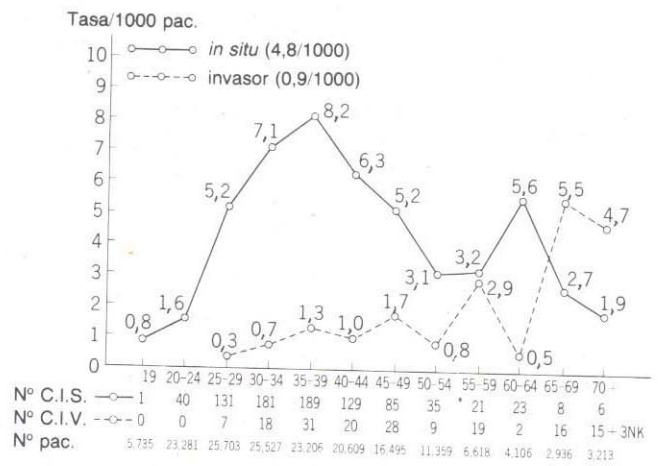


Fig. 2. Tasas de prevalencia. La cantidad de carcinomas epidermoides del cuello uterino existentes en la población estudiada, por grupos de edades de 5 años, se expresa en cifras absolutas (cuadro) y las tasas por millar de pacientes (gráfico). (Kasper, T. A.: Acta Cytol. *14*: 261, 1970. © 1970 International Academy of Cytology.)

La mayoría de las pacientes con carcinoma de endometrio son menopáusicas. La metrorragia irregular en mujeres premenopáusicas y las metrorragias en las posmenopáusicas podrían requerir un examen adicional en busca de carcinoma de endometrio. La citología mediante aspiración endometrial y raspaje es útil para detectar esta neoplasia (cuadro 2), pero el método histológico del curetaje es más confirmatorio que el citológico. Desde 1969 se utilizó una técnica del lavaje en chorro (Gravlee) que ha dado resultados satisfactorios para detectar carcinoma endometrial;[53,141,383,542,685] el lavaje a presión negativa evita complicaciones como peritonitis e implantación de células cancerosas por reflujo hacia la trompa de Falopio. Wied y col., quienes hallaron que la técnica del lavaje en chorro es muy exacta, recomendaron hacer filtración con membrana para las muestras escasas y preparar un bloque citológico con el sedimento, después de haber realizado el extendido para observar la histomorfología.[710] El examen histeroscópico seguido por biopsia selectiva habrá de prevalecer como recurso diagnóstico exacto para el carci-

Cuadro 2. Citología del carcinoma de endometrio

Autores	*Casos de carcinoma*	*Muestras*	*Tasa de diagnóstico*
Papanicolaou (1943)	53	Vaginal	86,8 %
Fremont-Smith (1947)	98	Vaginal	79,6
Reicher (1950)	18	Vaginal	72,2
Gusberg (1953)	69	Vaginal	69,4
Reagan (1954)	20	Vaginal	70,0
	20	Aspirado endometrial	90,0
Hecht (1956)	52	Vaginal	57,7
	52	Aspirado endometrial	92,3
Jordan (1956)	25	Cervico-vaginal	74,0
	25	Aspirado endometrial	84,0
Fox (1962)	12	Cepillado endometrial	91,7
Rascoe (1963)	94	Aspirado endometrial	92,6
	89	Vaginal	74,2
McGowan (1964)	46	Cervico-vaginal	40,6
Torres (1969)	22	Irrigación endometrial	77,3
	22	Cervico-vaginal	31,8
White y col. (1973)	31	Lavado en chorro	80,6
Muenzer (1974)	32	Aspirado endometrial	84,4
Lukeman (1974)	97	Lavado en chorro	86,6
	97	Cervico-vaginal	67,0
Bibbo (1976)	23	Lavado en chorro	95,6
An-Foraker (1979)	52	Aspirado endometrial	96,2

noma de endometrio, porque permite observar la localización, tamaño y extensión del tumor.[632] Además de la biopsia bajo visión directa histeroscópica, se podría adoptar la técnica citológica. En consecuencia, a medida que la incidencia del carcinoma endometrial va en aumento, el examen anual o semestral en busca de carcinoma de endometrio adquiere creciente importancia en perimenopáusicas y posmenopáusicas; este procedimiento está indicado en pacientes en la edad de mayor riesgo con menorragias anormales.

Uno de los descubrimientos recientes es la íntima relación entre la infección por el herpesvirus tipo 2 y el carcinoma cervical. La infección primaria no es infrecuente en mujeres jóvenes por promiscuidad sexual. Desde el punto de vista epidemiológico, esta infección se asocia con carcinoma cervical con mayor frecuencia que en los grupos testigos y precede al carcinoma cervical en unos 10 a 20 años.[334]

Otro aspecto de mucho interés en citología del tracto genital femenino es la mayor incidencia de adenosis vaginal en niñas cuyas madres fueron tratadas con dietilestilbestrol al comienzo del embarazo. Aunque el riesgo de cáncer por adenosis vaginal no sería grande, la mayor incidencia de carcinomas de células claras en mujeres de 15 a 25 años nacidas en la era en que se daba dietilestilbestrol para tratar complicaciones del embarazo, es muy sugestiva de una relación causal.[274,284,613]

En lo que respecta a los anticonceptivos orales, no hay pruebas definitivas de que contribuyan a la carcinogénesis del cuello uterino, aunque según algunas publicaciones, en las mujeres que consumen anticonceptivos orales por mucho tiempo hay una prevalencia mayor de carcinoma *in situ* o de displasia cervical.[146,410,617] Por otra parte, en un estudio citológico comparativo realizado por Fuertes-de la Haba y col.[199] con 4868 usuarias de anticonceptivos orales y 4829 testigos, no se halló que la tasa de progresión de los cuadros citológicos fuese distinta. Holzer[328] menciona un resultado similar que niega la relación causal. Es necesario considerar los efectos biológicos de los anticonceptivos orales sobre la disminución del nivel sérico de B_{12}[702] y el trastorno del metabolismo del folato,[59] que podrían inducir anemia megaloblástica complicada con candidiasis vaginal[99] en lugar de postular una relación causal con el carcinoma cervical. Para confirmar la carcinogénesis se requieren muchos años más de observación.

2. Carcinoma de ovario

Es frecuente la citología ascítica positiva por metástasis de un carcinoma de ovario implantadas en la serosa. Cuando el cáncer permanece localizado en el ovario (primera etapa) o se ha infiltrado por contigüidad en la cavidad pelviana alrededor del ovario (segunda etapa), es raro que en los extendidos cervicovaginales se descubra algún indicio de malignidad citológica. Se piensa que no todas las células malignas que aparecen en el extendido cervical provienen del ovario. El carcinoma ovárico que envía metástasis al útero o vagina puede exfoliar células en forma secundaria y éstas se manifiestan en la citología cervical. Rubin y Frost[548] sugieren que las células anormales exfoliadas del ovario deben diferenciarse de las endometriales atípicas derivadas de un endometrio hiperplásico. La aspiración del fondo de saco es poco útil como examen de selección preliminar,[436] pero se publicaron algunos trabajos[229,231,731] según los cuales se detectaron carcinomas preclínicos de ovario por la citología del líquido del fondo de saco. No siendo la culdocentesis una técnica difícil, es necesario investigar mejor su utilidad.

Aparte de la detección de células malignas, un fenómeno que vale la pena señalar es el aumento del índice de maduración (I.M.)[198] o índice eosinófilo, que se asocia con los tumores de ovario,[78,197,406,684] adenocarcinoma primario de ovario y tumores feminizantes como el tumor de células de la granulosa o el de células tecales. Este cambio citohormonal acompañado de un I.M. mayor del 12%[548] varios años después de la menopausia, sugiere la presencia de un tumor de ovario. Si no hay ascitis, para diagnosticar carcinoma ovárico se aspira el fondo de saco; es útil enjuagar la cavidad peritoneal con unos 100 ml de solución fisiológica para obtener citología positiva.

3. Carcinoma de mama

Franzen y Zajicek[193] introdujeron una técnica excelente de aspiración con aguja fina para hacer el diagnóstico citológico de diversos órganos y tejidos que no son accesibles sin un abordaje directo. Siendo infrecuente que ocurra secreción por el pezón, ya que no llega al 10%[211,247] en pacientes con cáncer, la mama es un órgano que se presta bien para la citología de punción aspiradora, la cual se puede hacer sin complicaciones. El temor de que esta maniobra favorezca las

Cuadro 3. Citología del carcinoma mamario mediante aspiración con aguja

Autores	*Casos de cáncer*	*Negativos*	*Sospechosos*	*Positivos*
Stavric y col. (1973)	108	5	0	103 (95,4 %)
Bothmann y col. (1974)	58	5	7 (12,1 %)	46 (79,3 %)
Kline y Neal (1976)	127	13	23 (18,1 %)	91 (71,4 %)
Kreuzer y Boquoi (1976)	247	33	29 (11,7 %)	185 (74,9 %)
Wallgren y Zajicek (1976)	1.068	106	139 (13,0 %)	823 (77,1 %)

metástasis carece de fundamento estadístico.[541] La sensibilidad diagnóstica varía mucho porque depende de los siguientes factores: 1) la desmoplasia en el cáncer puede acarrear dificultad para muestrear células cancerosas y 2) las células cancerosas bastante pequeñas pueden prestarse a interpretaciones erróneas de benignidad. En el laboratorio de este autor se prefiere la aguja fina de punta dentada (véase fig. 544), en lugar de la aguja convencional, porque se presta para obtener suficiente material para hacer el diagnóstico y reduce los resultados negativos falsos por error de muestreo. Aunque la frecuencia de resultados positivos falsos es baja (2,1% de 355 lesiones benignas en la serie de Kreuzer y Boquoi[353] y 0,1% de 1009 casos benignos en la de Wallgren y Zajicek[688]), no se sabe si se puede hacer mastectomía o no sin tener el diagnóstico histológico en los casos en que el citodiagnóstico es positivo. La proporción relativamente grande de resultados sospechosos en citología mamaria (cuadro 3), indica que durante la intervención quirúrgica se debe hacer el diagnóstico con cortes congelados. Como la mama normal no suele secretar líquido fuera de la lactación, toda secreción en el pezón obliga a investigar diversas enfermedades, como papiloma intracanalicular asociado o no con mastopatía, carcinoma intracanalicular y enfermedad de Paget. Aunque la secreción serosanguinolenta es más importante que la serosa para detectar neoplasias benignas o malignas, debemos señalar que el papiloma intracanalicular o la papilomatosis canalicular puede causar secreción sanguinolenta con mayor frecuencia que el carcinoma canalicular.

4. Carcinoma de pulmón

El pulmón es uno de los órganos en que se hace citología exfoliativa por su inaccesibilidad, excepto en las regiones hiliares. La tasa de mortalidad por cáncer de pulmón ha aumentado mucho en los últimos 30 años.[253] La incidencia subió desde 3 hasta 45 por 100.000 habitantes entre 1930 y 1972.[696] En los últimos años ha pasado a ocupar el primer puesto entre las muertes por cáncer en muchos países de Europa Occidental y en los Estados Unidos (cuadro 21). La Comisión Nacional de Educación Sanitaria de los Estados Unidos informó que los pacientes en cáncer de pulmón tuvieron la peor tasa de sobrevida a los 5 años (5% tras la cirugía o radioterapia), en comparación con otras localizaciones cancerosas, como 46% para el cáncer de útero y 34% para el de colon y recto.[447]

De acuerdo con un estudio de Shimkin y col., merced al tratamiento quirúrgico en la etapa localizada incipiente del tumor la tasa de sobrevida a los 5 años mejoró mucho[598] (cuadro 4). El cáncer intraepitelial, que es la etapa inicial del cáncer, era un tumor que sólo se descubría por casualidad en los estudios histológicos sistemáticos del árbol bronquial[31,481] hasta que se adoptó la citología del esputo para hacer exámenes preliminares en masa en la década del 70.[139,469] Además, hasta la metaplasia atípica que precede al carcinoma *in situ* se detecta con citología porque este cambio patológico persiste cuatro a cinco años hasta que se canceriza.

El examen citológico del esputo halla aceptación universal como uno de los recursos más importantes para detectar el cáncer de pulmón, en particular en la región hiliar. La secreción bronquial normal proveniente de las glándulas seromucíparas y caliciformes se trasporta por acción de las fibras musculares lisas y de las células ciliadas, y después se deglute. En los estados patológicos esta secreción es más abundante y se expectora con la tos. El pulmón es un órgano excepcionalmente apropiado para estudios citológicos. Para obtener una muestra lo suficientemente grande que sea útil,

Cuadro 4. Sobrevida a los 5 años del cáncer de pulmón, por etapa de la enfermedad y operación

Cirugía	*Lobectomía (Overholt)*		*Neumonectomía (Overholt)*		*Neumonectomía (Ochsner)*	
Etapa de la enfermedad	*N° de casos*	*Sobrevida*	*N° de casos*	*Sobrevida*	*N° de casos*	*Sobrevida*
Localizada	60	40 %	45	35 %	49	39 %
No localizada	56	12	166	15	142	7

(Shimkin, M.D., y col.: J. Thoracic Surg. *44*:503, 1962)

Cuadro 5. Exámenes preliminares masivos para cáncer de pulmón

Autores	*Grupos estadísticos*	*N° de casos*	*Positivos*			*Prevalencia*
			Citología	*Radiología*	*Radiología y citología*	
Grzybowski y Coy (1970)	Pacientes del Hospital General de Vancouver	2.122	7	8	2	17
Fontana y col. (1975)	Pacientes externos de la Clínica Mayo	3.528	10	14	4	28

la lesión tiene que abrirse en un bronquio que no esté obstruido. Por este motivo las células cancerosas que en un principio aparecen en el esputo, a veces desaparecen en la etapa más avanzada, cuando sobreviene atelectasia generalizada. Hasta ahora se publicaron muchos resultados de la citología pulmonar desde que se introdujo la moderna técnica de Papanicolaou y Traut en el tracto respiratorio. Es muy probable que la gran variación de la exactitud diagnóstica, que oscila entre 41 y 94%, se deba a diversos factores, como diferencias en la etapa del cáncer, las veces que se repite la citología del esputo y las técnicas de muestreo o de preparación de los extendidos. Aunque la tasa de diagnósticos obtenida por el autor al sumar todas las etapas del cáncer de pulmón ascendió al 86,6%, la calculada con la primera muestra sólo llegó al 45,3% (cuadro 6). A los efectos de diagnosticar cánceres curables, el método convencional de la citología del esputo no es adecuado[722] porque muchos pacientes con carcinomas minúsculos son asintomáticos o no expectoran (cuadro 7).

Otro estado que impide la expectoración de células cancerosas con el esputo es el tumor radicado en la periferia extrema del pulmón, cerca de la pleura. En este cáncer periférico las radiografías de tórax son mas elocuentes que la citología del esputo. Hasta los cánceres periféricos más pequeños detectables en clínica pueden tener uno a dos centímetros de diámetro. En la actualidad la técnica de aspiración con aguja fina ha superado la dificultad para hacer el citodiagnóstico de las lesiones minúsculas.

Muchas publicaciones se han hecho sobre concentración de células en el esputo mediante digestión con diversas enzimas proteolíticas o dispersión de esputo semisólido. El método de Saccomanno para fijar muestras de esputo en alcohol al 50% y carbowax al 2% y homogenizar con una mezcladora de alta velocidad, es muy satisfactorio para concentrar las células y se presta para exámenes preliminares en masa.[552] Aunque la colección de células ha dado buenos resultados, la alteración del estado natural del esputo al expectorarse y perderse la mezcla de moco con el exudado inflamatorio que contiene diversos tipos de células exfoliadas, podría ser una desventaja para analizar la etapa patológica. En la opinión de este autor, la importancia de la citología del esputo no radica en cómo tratar el esputo, sino en obtener una muestra apropiada que represente con exactitud la lesión. La técnica del aerosol para inducir la expectoración con solución hipertónica de cloruro de sodio y propilenglicol al 20% es un enfoque útil para este fin.[54] Takahashi y col. intentaron obtener muestras buenas administrando por vía parenteral alfa quimiotripsina.[637] El método del aerosol de solución hipertónica de cloruro de sodio con quimiotripsina ha dado buenos resultados. La moderna técnica de los raspa-

Cuadro 6. Citología pulmonar en 75 cánceres comprobados

Muestra	*1ª*	*2ª o 3ª*	*4ª o más*
Tasa de diagnósticos	45,3 % (34/75)	76,0 % (57/75)	86,6 % (65/75)
Confiabilidad	98,4 % (65/66)		

(Takahashi, M., y col.: Acta Cytol. *11*:61, 1967. © 1967 International Academy of Citology.)

Cuadro 7. Síntomas del cáncer pulmonar y citología del esputo

Cáncer general (403 casos, Boyd y col., 1954)		*Cáncer minúsculo, menos de 2 cm (70 casos, Katsuki, 1965)*	
Tos	82,6 %	Tos	38,5 %
Tos productiva	70,0	Tos productiva	30,0
Pérdida de peso	68,4	Dolor torácico	17,0
Dolor torácico	57,3	Fiebre	10,0
Disnea	49,8	Disnea	2,9
Hemoptisis	47,1	Edema de la cara	2,9
Debilidad	42,1	Tumefacción de ganglios linfáticos cervicales	2,9
Sibilancias	16,1		
Citología positiva	50,4	Citología positiva	8,5

Cuadro 8. Citología del carcinoma de pulmón

Autores	*Muestra*	*Casos de cáncer*	*Positivos*	*Tasa de diagnósticos*
Dudgeon y Wrigley (1935)	Esputo	58	39	67,2 %
Wandall (1944)	Esputo	100	84	84,0
Kahlau (1951)	Esputo	71		76,0
Spjut y col. (1955)	Esputo	501	290	57,8
Von Haam (1962)	Esputo	445		91,0
Koss (1964)	Esputo	149	115	77,2
Gray (1964)	Esputo	135	110	81,4
Link y Strrad (1956)	Esputo	158	119	75,3
McKay y col. (1948)	Asp. bronq.	54	40	74,2
O'Keefe (1950)	Asp. bronq.	307	272	88,6
Mohr y Toebben (1952)	Asp. bronq.	54		81,5
McCormack y col. (1955)	Asp. bronq.	200	93	46,5
Sproul y col. (1962)	Aerosol	135	81	60,0
Brenner y col. (1962)	Aerosol	41	31	75,6
Takahashi y col. (1967)	Aerosol	75	65	86,6
Hattori y col. (1964)	Esputo	68	51	75,0
Hattori y col. (1965)	Cepillado	33	29	87,8
Bedrossian y Rybka (1976)	Cepillado	50	38	76,0
Bibbo y col. (1973)	Cepillado	224	157	70,1
Tsuboi y col. (1967)	Curetaje	158	129	81,6
Nasiell (1967)	Punc. asp.	39	29	74,4
Hayata (1969)	Punc. asp.	45	41	91,1

Asp. bronq. = aspiración bronquial; Aerosol = esputo inducido con aerosol; Punc. asp. = punción aspiradora con aguja.

Cuadro 9. Sobrevida a los 5 años del carcinoma intraoral

Localización	*Casos de cáncer*	*Sobrev. a 5 años*
Lengua	3627	24,5 %
Piso de la boca	1021	33,8
Mucosa yugal	929	30,8
Encía	243	28,8
Amígdala	162	6,9

JAMES, A. G.: *Cáncer Prognosis Manual*

dos o cepillados selectivos con catéter de Metras[261,266] o catéter arterial[172] posibilita el diagnóstico de pequeños cánceres situados en la periferia.[262,667] Este dispositivo, originario del Japón, ha hallado aceptación universal.[171,500,605]

5. Carcinoma de la cavidad oral

En vista de que las lesiones bucales se ven y son muy accesibles, tal como sucede con el carcinoma de útero, la boca se presta muy bien para la citología oncológica. Desde que Morrison y col. empezaron a aplicar la técnica moderna a la citología oral se han publicado varias investigaciones.[435]

Mientras que el carcinoma de útero adquiere invasividad tras un largo período de permanencia *in situ*, el intraoral puede seguir una evolución de diseminación rápida y dar metástasis temprano. Según el *Cancer Prognosis Manual* de A. G. James, la sobrevida a los 5 años de las neoplasias malignas intraorales es baja a pesar de que este tumor es muy accesible para los procedimientos quirúrgicos (cuadro 9). Las lesiones orales suelen estar cubiertas de restos necróticos o de material queratinizado y esto reduce la exactitud del diagnóstico. Para obtener un material adecuado se frota con energía la superficie con gasa húmeda o se la raspa con una espátula de madera. Dados los inconvenientes técnicos para obtener extendidos buenos, la máxima sensibilidad que se menciona para la citología oral corresponde a las células sospechosas o de la clase III. Las tasas de diagnósticos limitadas estrictamente a las clases IV y V no llegan al 78% (cuadro 10). Si bien es fácil biopsiar las lesiones intraorales, la técnica rápida, sencilla y no hemorrágica de la citología exfoliativa es la más indicada para hacer exámenes preliminares en busca de displasia o carcinoma *in situ* y como coadyuvante de la biopsia. Hace poco se halló una asociación entre el carcinoma intraoral y el hábito de fumar cigarrillos en la génesis del cáncer; existe mayor incidencia de carcinomas y aparición más frecuente[423,601] de segundos tumores en los grandes fumadores que en las poblaciones de control.

6. Carcinoma de esófago

Es fácil obtener muestras del esófago mediante cepillados a ciegas con el tubo encamisado y mediante lavados o raspados directos a través del esofagoscopio.[17,413] Conviene combinar la técnica a ciegas con la radioscopia para situar el cepillo en la lesión. Dado que el cáncer de esófago pertenece a un grupo de neoplasias de morbilidad un tanto baja, por ahora no se incluye al esófago en los exámenes preliminares para grandes poblaciones. En consecuencia, las altas tasas de diagnósticos que se consignan en el cuadro 11 corresponden a cánceres que habían dado manifestaciones clínicas.

Cuadro 10. Citología del carcinoma intraoral

Autores	*Casos de cáncer*	*Positivos*	*Tasa de diagnósticos*
CAWSON (1960)	32	29	90,6 %
TIECKE (1960)	50	43	86,0
UMIKER (1960)	106	100	94,3
MORITA (1963)	59	46	77,9
INGRAM (1963)	17	14	82,3
SELBACH (1963) excluyendo la clase III	93	90 (50)	96,8 (43,8)
SANDLER (1964) excluyendo la clase III	315	307 (242)	97,4 (76,8)
GARDNER (1964) excluyendo la clase III	18	18 (14)	100,0 (77,8)
KING (1965) excluyendo la clase III	56	53 (43)	94,6 (76,8)
ALLEGRA (1973)	77	75	97,4

Cuadro 11. Citología del cáncer de esófago

Autores	*Casos de cáncer*	*Positivos*	*Tasa de diagnósticos*
ANDERSON (1949)	63	49	77,8 %
JOHNSON (1955)	148	103	69,6
KLAYMAN (1955)	20	19	95,0
GEPHART (1956)	56	52	94,6
HERSHENSON (1958)	26	16	61,5
RASKIN (1959)	70	67	95,7
DEE (1963)	16	13	81,2
HENNING (1964)	88	70	79,5

En los pacientes que se quejan de disfagia se debe hacer un método de cepillado o enjuague como primer paso del examen físico. Es raro que los pacientes rechacen la sonda de Levin y muchas veces con este sencillo procedimiento se descubre un cáncer minúsculo en una etapa en que la esofagoscopia y la radioscopia no arrojan ninguna anormalidad. Puesto que los cánceres casi siempre son espinocelulares y responden bien a la radioterapia, repitiendo los exámenes citológicos se confirma el efecto de la radioterapia.

7. Carcinoma de estómago

El citodiagnóstico del estómago fue uno de los capítulos importantes de la citología en una época en que el estómago era un órgano relativamente inaccesible para biopsiar. A diferencia de la baja prevalencia del cáncer gástrico en los Estados Unidos, la mortalidad es grande en países como Japón, Chile, Austria, Finlandia, Alemania Occidental, Italia, Portugal, Noruega, etc. (cuadro 21). En vista de que el estómago no es sino un depósito de líquido gástrico, a diferencia del árbol bronquial, las técnicas perfeccionadas para recoger las muestras trajeron apareada una mayor exactitud diagnóstica (cuadro 13). El estudio del jugo gástrico mismo se ha abandonado y en la actualidad sólo reviste importancia histórica. Los lavajes gástricos hallaron adopción universal como método de rutina y en ocasiones se obtuvieron resultados excelentes en más del 90% de los casos.[72,525,551] Sin embargo, la detección de carcinomas intramucosos incipientes mediante lavajes gástricos no ha sido estimada del todo bien todavía. Los investigadores japoneses, empleando el gastrofibroscopio consiguieron hacer la detección temprana del carcinoma intramucoso mediante enjuague selectivo de la lesión. El método más confiable basado en la histopatología se hace con un gastroscopio de fibra óptica especial para

Cuadro 12. Comparación de la exactitud diagnóstica mediante lavaje de rutina y lavaje gástrico gastrofibroscópico

	Métodos	*Total de casos*	*Positivos*	*Intermedios*	*Negativos*	*Exactitud*
Cáncer avanzado	Lavaje de rutina	69	61	4	4	88,4 %
	Lavaje bajo gastrofibroscopia	69	66	3	0	95,7
Cáncer incipiente	Lavaje de rutina	15	6	5	4	40,0
	Lavaje bajo gastrofibroscopia	15	3	2	0	86,7

(KASUGAI, T: Acta Cytol. 12:345, 1968. © 1968 International Academy of Cytology.)

Cuadro 13. Citología del carcinoma gástrico

Métodos	*Autores*	*Casos de cáncer*	*Positivos*	*Tasa de diagnósticos*
Aspiración de jugo gástrico	PAPANICOLAOU (1946)	9	2	22,2
	PAPANICOLAOU y COOPER (1947)	27	10	37,0
	FREMONT-SMITH (1948)	65	35	53,8
	RICHARDSON y col. (1949)	27	13	48,1
Lavaje gástrico				
a) solución fisiológica	ULFELDER y col. (1948)	14	12	85,7
	YUKAWA y col. (1953)	172	122	70,9
	AYABE (1954)	117	81	69,2
	ROSS y col. (1958)	41	29	70,7
	RASKIN y col. (1959)	141	134	90,3
	SCHADE (1960)	282	252	89,3
	BERES y col. (1960)	20	17	85,0
	FOUSHEE y col. (1966)	46	27	58,7
b) Papaína	CONTE y HEBERT (1957)	76	42	55,2
	KNAPE (1958)	67	49	73,1
c) Quimiotripsina	RUBIN (1955)	20	19	95,0
	UMIKER y col. (1958)	49	34	69,4
	BRANDBORG y col. (1961)	114	103	90,3
	YAMADA y col. (1964)	178	145	81,2
	SABURI y col. (1967)	151	146	96,7
Raspajes gástricos				
a) Globo	SEYBOLT y PAPANICOLAOU (1957)	117	77	68,1
	LOMBARDO y SARACCO (1958)	21	14	66,6
	KUROKAWA y col. (1960)	303	258	85,1
	KASUGAI (1968)	136	110	80,9
b) Otros	CABRÉ y GARCÍA (nudos de nilón) (1962)	204	185	80,9
	HENNING y col. (esponja de espuma de goma) (1964)	139	97	69,8
Lavaje gastrofibroscópico	FUKUDA y col. (1967)	6*	6	100,0
	KASUGAI (1968)	375	363	96,8
	SHIDA (1971)	67	60	89,6

* Estos casos sólo fueron de carcinoma incipiente de la mucosa

punción biopsia. Comparando las técnicas de la citología del lavaje y biopsia en los mismos casos de cáncer, se obtuvieron resultados casi similares.[329] Aunque la citología no es un procedimiento de diagnóstico definitivo, la gastrofibroscopia con mejores instrumentos ha permitido realizar muchos lavajes o cepillados selectivos en amplias regiones, con lo que detectó carcinomas que se extienden en la superficie.

Cuadro 14. Exactitud diagnóstica comparativa para el carcinoma gástrico en el Centro Nacional del Cáncer de Tokio

	Casos	*Negativos*	*Sospechosos*	*Positivos*
Lavados gástricos	821	29,1 %	6,9 %	63,9 %
Lavados selectivos	28	17,9	10,7	71,4
Cepillados selectivos	52	19,2	5,8	75,0
Extendido de impresión	396	25,0	3,3	71,7
Punción biopsia	393	12,7	2,8	84,5

(TAKASU, S., y col.: J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *14*:140, 1975)

El histodiagnóstico basado en múltiples punciones biopsias ofrece la tasa de diagnósticos más exacta en los casos menos sospechosos y el método del extendido de impresión sólo se adopta como coadyuvante (cuadro 14). Este es el principal motivo por el cual en los últimos tiempos los gastroenterólogos han dejado de considerar a la citología en el carcinoma gástrico. Sin embargo, con el método del cepillado se obtienen buenas muestras de muchas lesiones, las cuales se pueden diagnosticar sin pérdida de tiempo. De los estudios comparativos realizados en nuestro laboratorio sobre los distintos valores diagnósticos entre la punción biopsia y la citología, se dedujo que la citología de cepillado no se debe desechar porque carcinomas incipientes de estómago y esófago no detectados con endoscopia ni con punción biopsia, se descubrieron por este método.

Cuadro 15. Sobrevida a los 5 años del cáncer gástrico

	Casos	*Sobrev. a 5 años*	*Tasa*
Cáncer incipiente			
Intramucoso	30	27	90,0 %
Microsubmucoso invasor	55	36	65,5
Cáncer avanzando	7.588	1.446	19,1

(MURAKAMI, T., y col.[441])

La Comisión Japonesa de Investigaciones Cancerológicas de Estómago definió el término "cáncer gástrico incipiente" sobre la base de la profundidad de la infiltración cancerosa, cualquiera que sea el ancho de la diseminación superficial, o sea que se trata de un cáncer superficial cuya infiltración se confina a la lámina propia o, a lo sumo, en forma focal a la submucosa. En comparación con el cáncer avanzado, en el cáncer gástrico incipiente se puede anticipar una excelente tasa de sobrevida a los 5 años.

8. Carcinoma de colon

El colon rectosigmoide se estudia con facilidad mediante proctosigmoidoscopia, pero el carcinoma del intestino grueso que está fuera del alcance de la sigmoidoscopia raras veces se detecta, salvo con enemas masivos. Existe una gran diferencia en la exactitud diagnóstica entre los cánceres de colon visibles y los no visibles. Según un estudio realizado por Knoernschild y Cameron,[344] se diagnosticaron cánceres visibles en el 79% de 132 casos, mientras que los cánceres que estuvieron fuera del alcance del sigmoidoscopio sólo se detectaron en el 5% de 95 casos. Procurando resolver este problema, Cook y Margulis[113] hicieron enemas con espuma siliconada. Los elastómeros de polisiloxano administrados en enemas se polimerizan en el intestino, forman un molde y se evacuan al hacer la deposición. El líquido lavado del molde es una muestra apropiada para citología. Spjut y col.[609] mencionaron una tasa satisfactoria del 63,9% de diagnósticos o del 78,9% al incluir en el grupo positivo los casos sospechosos. En vista de que cerca de las dos terceras partes de todos los cánceres de colon ocurren en los últimos 25 centímetros del intestino grueso, se pueden hacer hisopados directos de la lesión con hisopos de algodón largos.

9. Carcinoma de páncreas

El carcinoma de páncreas se asocia con una mortalidad bastante grande, pero sólo se pudo hacer citodiagnóstico en una pequeña cantidad de casos a causa de la inaccesibilidad de este órgano. La técnica convencional para obtener jugo pancreático ha mejorado al adoptarse la estimulación con secretina o pancreozimina y secretina; los aspirados duodenales se deben recoger en frascos seriados enfriados con hielo tras la inyección intravenosa del estimulante. Los recientes adelantos en colangiopancreatografía retrógada endoscópica permitieron obtener jugo pancreático puro, tornándose confiable así la interpretación citológica.[260] Otro método confiable es la citología de aspiración con aguja fina, que permite distinguir entre la patología inflamatoria y la neoplásica.[259] La técnica de aspiración, a pesar de que requiere punciones múltiples, sería más satisfactoria que la biopsia, que entraña cierto riesgo de complicaciones.[626,627] Hastrup y col. mencionaron una alta tasa de diagnósticos preoperatorios del 89,5% en 19 casos de tumores malignos de páncreas y ningún resultado positivo falso en 18 pacientes con pancreatitis.[259] Hace poco se describieron técnicas de punción aspiradora transcutánea bajo control angiográfico,[466,644] canaliculográfico,[644] sonográfico[255,282,606] y centellográfico. Todavía falta investigar mejor su exactitud e inocuidad.

10. Carcinoma de las cavidades corporales

En vista de que la mayoría de los casos positivos de derrames serosos de las cavidades corporales se deben a implantaciones metastásicas o invasión directa del tumor maligno en la serosa, el citodiagnóstico no es útil en la detección temprana del cáncer, pero sí es importante para diferenciar entre tumores malignos y reacciones mesoteliales activas. A pesar de su gran exactitud, la citología negativa no significa siempre que no haya cáncer porque puede ocurrir un derrame excesivo por obstrucción circulatoria. Johnson[318] informa que la citología fue negativa en el 42% de 345 casos de derrames con histología positiva para tumor maligno.

Luecke y Klebs (1867) fueron los primeros que describieron células malignas en la ascitis por carcinoma de ovario y de páncreas. Además de la técnica de centrifugación ordinaria, en muchas publicaciones[103,183,242] se mencionó la importancia de la técnica del bloque celular desde 1917, cuando Mandelbaum[392] empezó a introducir procedimientos histológicos para estudiar el sedimento de los exudados. Por ejem-

Cuadro 16. Citología de los derrames

Autores	*Muestras*	*Casos*	*Positivos*	*Tasa de diagnósticos*
FOOT (1956)	Pleurales peritoneales y pericárdicas	610	434	71,1 %
CEELEN (1964)	Ascitis	72	59	81,9
GRAHAM (1964)	Pleurales	40	28	70,0
	y peritoneales	84	77	91,7
GRUNZE (1964)	Pleurales y pericárdicas	200	174	87,0
ROME (1964)	Pleurales	226	127 (206)*	56,2 (91.2)*

* En los positivos se incluyen células sospechosas (clase III).

Cuadro 17. Sitios primarios de ascitis positiva

Tumores primarios	*Casos*	*Porcentaje*
Carcinoma ovárico	16	22,2 %
Carcinoma gástrico	12	16,7
Carcinoma colónico	10	13,9
Carcinoma pancreático	8	11,1
Carcinoma mamario	6	8,3
Linfoma	6	8,3
Hipernefroma	2	2,8
Hepatoma	2	2,8
Otros	10	13,9
Total	72	100 %

(CEELEN, HG.H.: Acta Cytol. *8*:175, 1964. © 1964 International Academy of Cytology.)

plo, en los bloques celulares, las células adenocarcinomatosas revelan evidentes formaciones papilíferas, acinosas y/o trabeculares indicativas de su tipo histológico. Los principales órganos responsables de los derrames pleurales son los pulmones y las mamas, y en ocasiones el esófago y el mediastino. En cambio, los órganos que causan derrames peritoneales malignos son más variables y comprenden ovarios, estómago, colon, páncreas, colédoco, hígado, retroperitoneo y vías urinarias (cuadro 17). Sin embargo, la incidencia de citología positiva en los derrames se relaciona con el comportamiento biológico del tumor propagado a la membrana serosa. Por ejemplo, el hepatoma suele presentarse debajo del revestimiento mesotelial, de modo que es raro que se lo diagnostique por la citología ascítica.[318] Aunque el carcinoma pulmonar es la neoplasia más común que produce acumulación de líquido, la incidencia de metástasis implantadas en la pleura junto con derrames, varía de acuerdo con el tipo celular, o sea que es mucho más frecuente en el adenocarcinoma que en el carcinoma de células de avena y en el carcinoma espinocelular. De acuerdo con el estudio de Johnson, los tumores que dan células malignas en los derrames de más del 60% de los casos son cánceres de pulmón, mama, estómago y ovario. Aparte del cáncer, no es raro que aparezcan células linfomatosas o leucémicas (7,1%, Rome,[543] y 11,4%, Johnson[318]) y se debe prestar atención para diferenciarlas de los linfocitos activados, de las células neuroblastomatosas y de las células de avena. El mesotelioma, que es el tumor primario de las cavidades corporales, raras veces se detecta en la citología de los derrames.

11. Carcinoma de vías urinarias

A la citología urinaria siempre se la consideró poco útil porque el tumor maligno primario más común del riñón, que es el carcinoma de células renales, raras veces invade la pelvis renal en su etapa inicial y, por lo tanto, no desprende células cancerosas, mientras que el carcinoma de vejiga es fácil de ver mediante cistoscopia y se diagnostica con facilidad con una punción biopsia. Se discute la tasa de detecciones del carcinoma de células renales. Aunque en unas pocas comunicaciones se mencionaron altas tasas diagnósticas, como 100% por Meisels,[408] 80% por Harrison[258] y 73% por Deden,[134] la mayoría de los observadores no confirmaron tales resultados, sino que consideran que este tumor raras veces se puede diagnosticar mediante citología urinaria.[269,349,403] La citología diagnóstica es útil para las vías urinarias por debajo de la pelvis y uréter.

Cuadro 18. Comparación entre citodiagnóstico urinario y grado histológico

Grado histológico		*N° de casos*	*Negativos*	*Sospechosos*	*Positivos*
0-I	Papiloma	52	44 (86,6 %)	8 (15,4 %)	0
II	No invasor	35	24 (68,6 %)	8 (22,9 %)	3 (8,6 %)
	Invasor posible	31	10 (32,3 %)	6 (19,4 %)	15 (48,4 %)
	Invasor	68	8 (11,8 %)	8 (11,8 %)	52 (76,5 %)
III-IV	Carcinoma transicional	140	8 (5,7 %)	7 (5,0 %)	125 (89,3 %)

(Esposti, P.L. y Zajicek, J.: Acta Cytol. *16*:529, 1972. © 1972)

En general, las ventajas de la citología urinaria son la facilidad con que se pueden hacer los estudios de seguimiento en los pacientes operados y su utilidad en los exámenes de selección preliminar para tumores de vejiga en los que trabajan con colorantes químicos.[121] La beta naftilamina y la bencidina son importantes aminas aromáticas cancerígenas; Wendel y col.[699] mencionan una incidencia muy grande de carcinoma de vejiga en el 52% de los trabajadores que estuvieron expuestos a la bencidina por un período medio de 10,6 años. Además del cáncer *in situ* clínicamente invisible y de los tumores no papilíferos que se confunden con cistitis, se detectan la úlcera de Hunner y la malacoplaquia[23,409] porque hasta las pequeñas lesiones malignas de la vejiga producen material adecuado para el diagnóstico citológico.[411] El carcinoma de células transicionales, de grado histológico I a III o IV, concuerda directamente con la clasificación de Papanicolaou para citología exfoliativa. Desde el punto de vista histológico, al tumor papilífero de aspecto benigno de vejiga se lo considera biológicamente un carcinoma de células transicionales grado I; en otras palabras, cuanto más invasivo y más grave es el grado histológico, más células atípicas se exfolian. La confiabilidad y la sensibilidad dependen del grado de malignidad; el papiloma benigno y el tumor papilífero de grado I de vejiga raras veces desprenden células tumorales de aspecto benigno con la orina. Este es el principal motivo por el cual los resultados negativos falsos son frecuentes en citología urinaria.[713] La reseña crítica sobre citología que realizaron Esposti y Zajicek revela que los resultados negativos falsos disminuyen en forma gradual desde el papiloma hasta los tumores transicionales de grado III-IV (cuadro 18), pero las células tumorales son de tamaño y forma bastante uniformes y exhiben escasa atipia

Cuadro 19. Citología del carcinoma del tracto urinario

Autores	*Casos*	*Positivos*	*Sospechosos*	*Tasa de diagnósticos*	*Incluyendo sospechosos*
Papanicolaou (1947)	55	42	6	76,4 %	87,3 %
Chute (1948)	29	19		65,5	
Schmidlapp (1948)	67	49	10	73,1	88,1
Hazard (1957)	42	32		76,2	
Feeney (1958)	34	14		41,2	
Foot (1958)	212	131	37	61,8	79,2
Harpst (1961)	19	11	3	57,9	73,7
Umiker (1964)	28	24	4	85,7	100
Allegra y col. (1966)	111	104		93,6	
Esposti (1970)	170	87	28	51,2	67,6
Wiggishoff (1972)	97	69	12	71,1	83,5

plo, en los bloques celulares, las células adenocarcinomatosas revelan evidentes formaciones papilíferas, acinosas y/o trabeculares indicativas de su tipo histológico. Los principales órganos responsables de los derrames pleurales son los pulmones y las mamas, y en ocasiones el esófago y el mediastino. En cambio, los órganos que causan derrames peritoneales malignos son más variables y comprenden ovarios, estómago, colon, páncreas, colédoco, hígado, retroperitoneo y vías urinarias (cuadro 17). Sin embargo, la incidencia de citología positiva en los derrames se relaciona con el comportamiento biológico del tumor propagado a la membrana serosa. Por ejemplo, el hepatoma suele presentarse debajo del revestimiento mesotelial, de modo que es raro que se lo diagnostique por la citología ascítica.[318] Aunque el carcinoma pulmonar es la neoplasia más común que produce acumulación de líquido, la incidencia de metástasis implantadas en la pleura junto con derrames, varía de acuerdo con el tipo celular, o sea que es mucho más frecuente en el adenocarcinoma que en el carcinoma de células de avena y en el carcinoma espinocelular. De acuerdo con el estudio de Johnson, los tumores que dan células malignas en los derrames de más del 60% de los casos son cánceres de pulmón, mama, estómago y ovario. Aparte del cáncer, no es raro que aparezcan células linfomatosas o leucémicas (7,1%, Rome,[543] y 11,4%, Johnson[318]) y se debe prestar atención para diferenciarlas de los linfocitos activados, de las células neuroblastomatosas y de las células de avena. El mesotelioma, que es el tumor primario de las cavidades corporales, raras veces se detecta en la citología de los derrames.

11. Carcinoma de vías urinarias

A la citología urinaria siempre se la consideró poco útil porque el tumor maligno primario más común del riñón, que es el carcinoma de células renales, raras veces invade la pelvis renal en su etapa inicial y, por lo tanto, no desprende células cancerosas, mientras que el carcinoma de vejiga es fácil de ver mediante cistoscopia y se diagnostica con facilidad con una punción biopsia. Se discute la tasa de detecciones del carcinoma de células renales. Aunque en unas pocas comunicaciones se mencionaron altas tasas diagnósticas, como 100% por Meisels,[408] 80% por Harrison[258] y 73% por Deden,[134] la mayoría de los observadores no confirmaron tales resultados, sino que consideran que este tumor raras veces se puede diagnosticar mediante citología urinaria.[269,349,403] La citología diagnóstica es útil para las vías urinarias por debajo de la pelvis y uréter.

Cuadro 18. Comparación entre citodiagnóstico urinario y grado histológico

Grado histológico		*N° de casos*	*Negativos*	*Sospechosos*	*Positivos*
0-I	Papiloma	52	44 (86,6 %)	8 (15,4 %)	0
II	No invasor	35	24 (68,6 %)	8 (22,9 %)	3 (8,6 %)
	Invasor posible	31	10 (32,3 %)	6 (19,4 %)	15 (48,4 %)
	Invasor	68	8 (11,8 %)	8 (11,8 %)	52 (76,5 %)
III-IV	Carcinoma transicional	140	8 (5,7 %)	7 (5,0 %)	125 (89,3 %)

(Esposti, P.L. y Zajicek, J.: Acta Cytol. *16*:529, 1972. © 1972)

En general, las ventajas de la citología urinaria son la facilidad con que se pueden hacer los estudios de seguimiento en los pacientes operados y su utilidad en los exámenes de selección preliminar para tumores de vejiga en los que trabajan con colorantes químicos.[121] La beta naftilamina y la bencidina son importantes aminas aromáticas cancerígenas; Wendel y col.[699] mencionan una incidencia muy grande de carcinoma de vejiga en el 52% de los trabajadores que estuvieron expuestos a la bencidina por un período medio de 10,6 años. Además del cáncer *in situ* clínicamente invisible y de los tumores no papilíferos que se confunden con cistitis, se detectan la úlcera de Hunner y la malacoplaquia[23,409] porque hasta las pequeñas lesiones malignas de la vejiga producen material adecuado para el diagnóstico citológico.[411] El carcinoma de células transicionales, de grado histológico I a III o IV, concuerda directamente con la clasificación de Papanicolaou para citología exfoliativa. Desde el punto de vista histológico, al tumor papilífero de aspecto benigno de vejiga se lo considera biológicamente un carcinoma de células transicionales grado I; en otras palabras, cuanto más invasivo y más grave es el grado histológico, más células atípicas se exfolian. La confiabilidad y la sensibilidad dependen del grado de malignidad; el papiloma benigno y el tumor papilífero de grado I de vejiga raras veces desprenden células tumorales de aspecto benigno con la orina. Este es el principal motivo por el cual los resultados negativos falsos son frecuentes en citología urinaria.[713] La reseña crítica sobre citología que realizaron Esposti y Zajicek revela que los resultados negativos falsos disminuyen en forma gradual desde el papiloma hasta los tumores transicionales de grado III-IV (cuadro 18), pero las células tumorales son de tamaño y forma bastante uniformes y exhiben escasa atipia

Cuadro 19. Citología del carcinoma del tracto urinario

Autores	*Casos*	*Positivos*	*Sospechosos*	*Tasa de diagnósticos*	*Incluyendo sospechosos*
Papanicolaou (1947)	55	42	6	76,4 %	87,3 %
Chute (1948)	29	19		65,5	
Schmidlapp (1948)	67	49	10	73,1	88,1
Hazard (1957)	42	32		76,2	
Feeney (1958)	34	14		41,2	
Foot (1958)	212	131	37	61,8	79,2
Harpst (1961)	19	11	3	57,9	73,7
Umiker (1964)	28	24	4	85,7	100
Allegra y col. (1966)	111	104		93,6	
Esposti (1970)	170	87	28	51,2	67,6
Wiggishoff (1972)	97	69	12	71,1	83,5

citológica.[10] Por lo tanto, a la citología urinaria del carcinoma grado I se la solió clasificar como sospechosa o de clase III (cuadro 19); en el tracto urinario este grupo no significa una decisión dudosa, sino que incluye carcinoma *in situ*, papiloma y carcinoma papilífero grado I.

12. Carcinoma del tracto genital masculino

El diagnóstico citológico de carcinoma de próstata no se aprecia a pesar de la sencilla técnica del masaje prostático. Aunque algunos investigadores mencionaron una tasa de diagnósticos bastante alta de más del 70%,[117,275,395,496] la detección citológica del cáncer de próstata incipiente no es eficaz. La citología preliminar dista de ser apropiada para descubrir carcinomas de próstata ocultos en hombres asintomáticos;[179,396] en cambio, como método fácil y exacto, Esposti[159] y Sonnenschein[607] recomiendan hacer citología de aspiración transrectal con aguja fina.

La aguja fina flexible (calibre 22) de Franzen y col.[192] mide unos 20 cm de longitud y se maniobra con facilidad con una camisa metálica. Esta camisa tiene un anillo piloto en su parte proximal y está diseñada de modo que se pueda insertar la aguja orientándola en cualquier dirección hacia la lesión. Garret y Jassie[206] señalan que la utilidad diagnóstica de la orina recogida tras el masaje prostático es mayor que la de las secreciones obtenidas con el masaje.

13. Tumor encefálico

Es bastante poco común que se publiquen estudios citológicos sobre el líquido cefalorraquídeo. La aspiración de este líquido cuando existe tumor encefálico plantea el peligro de herniación del tallo encefálico, que es el estado más crítico del *cono de presión*. En consecuencia, para obtener células se debe extraer una cantidad muy pequeña de líquido, a menudo pocos milímetros. Aunque como examen de rutina se emplea una técnica de centrifugación, de este modo apenas se obtiene una cantidad adecuada de células. Este problema se ha resuelto con la "técnica de la filtración con membrana".[402,640]

Cuadro 20. Citología del tumor

Autores	*Casos*	*Positivos*	*Tasa de diagnósticos*
Kline (1962)	96	39	40,6 %
Naylor (1964)	102	26	25,5
Bots (1964)	31	16	51,6

Debemos recordar que casi nunca se diagnostican tumores primarios de encéfalo con extendidos de líquido cefalorraquídeo, a menos que estén en relación anatómica con los ventrículos o con las meninges. Por este motivo, las tasas de diagnóstico de los gliomas se mantienen bajas hasta ahora (cuadro 20). Se recomienda la técnica de la punción aspiradora directa de la lesión en el acto operatorio como coadyuvante o, a veces, en reemplazo de los cortes congelados. La técnica de la papilla es tan valiosa como el diagnóstico con cortes congelados, porque se tiene una minúscula cantidad de tejido cerebral que no alcanza para hacer cortes congelados y se demuestran bien los detalles celulares, incluso capilares y células endoteliales.

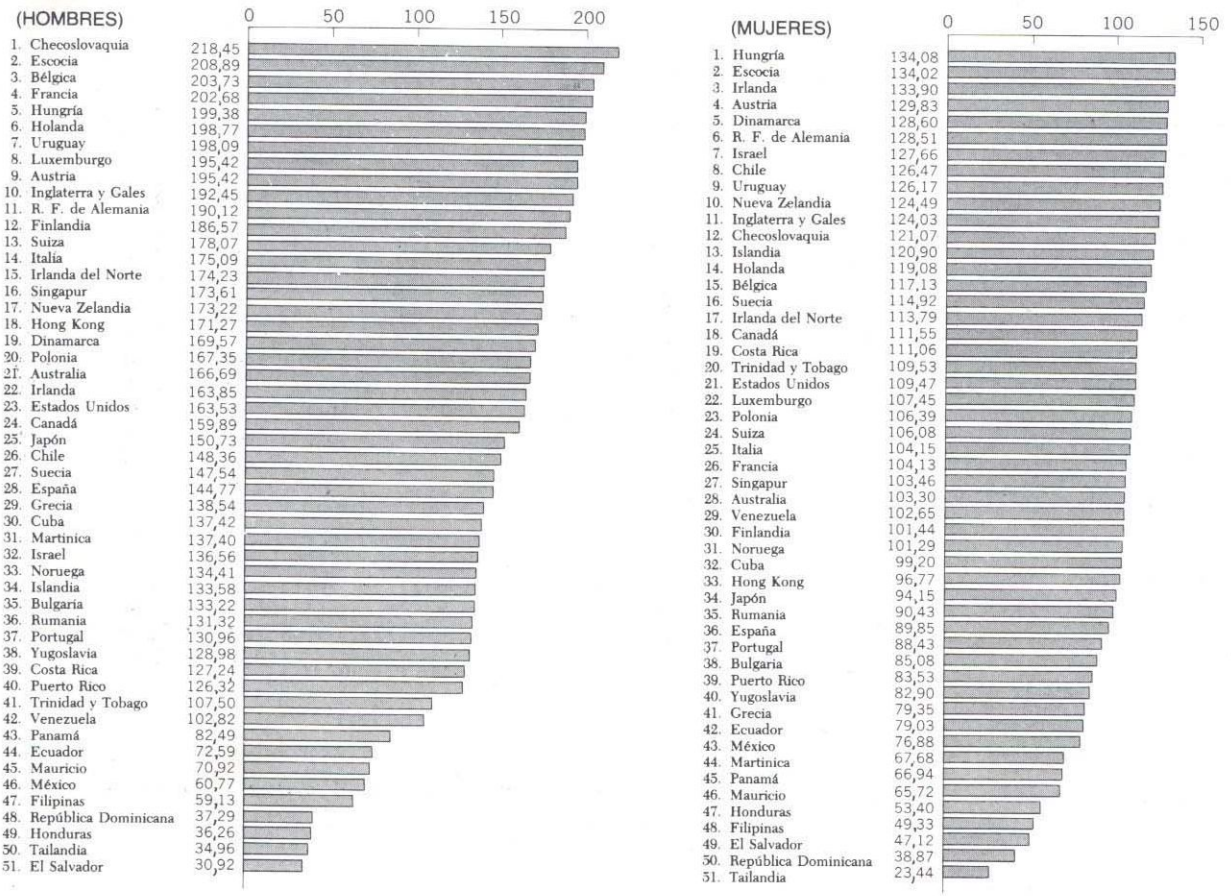


Fig. 3. Tasas de mortalidad para neoplasias de todos los sitios, ajustadas para la edad (1974).[585]

Cuadro 21. Tasas de mortalidad, ajustadas por edades, para el cáncer de determinados sitios, basadas en el Anuario Mundial de Estadísticas de la Salud (1971-1972)

	Todos los sitios		*Cavidad bucal y faríngea*				*Esófago*			
	1971		1971		1972		1971		1972	
	Hombres	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*
ÁFRICA										
1. Egipto	40.54	19.54	0.53	0.20			0.60	0.14		
2. Mauricio	66.43	45.24	1.35	0.76	1.38	0.68	4.40	1.81	5.21	1.76
AMÉRICA										
3. Argentina			3.87*	0.77*			13.18*	4.27*		
4. Canadá	153.78	106.82	4.30	1.06	4.36	1.54	3.13	1.18	3.44	1.20
5. Chile	149.90*	136.23*	2.39*	0.84*	2.33	0.67	10.30*	5.03*	10.05	4.52
6. Costa Rica	130.33	107.90	3.62	0.91	2.93	0.46	4.72	1.08	3.17	3.47
7. Cuba	141.02	97.42	7.90	2.17	8.30	1.72	5.69	2.05	4.54	1.78
8. Ecuador			0.66	0.25			3.09	0.23		
9. El Salvador	24.56	41.13	1.69	0.31	0.78	0.38	0.13	0.38	0.67	0.36
10. Guatemala			1.80	0.70			1.61	0.88		
11. Honduras					0.43	—			0.70	—
12. México					1.54	0.75			1.63	0.78
13. Panamá	73.35	75.28	2.92	1.18	2.48	1.39	3.88	1.84	2.38	0.73
14. Perú			0.82	0.42			2.54	0.55		
15. Puerto Rico	121.56	82.23	10.72	3.42	10.48	2.19	12.03	4.19	13.92	4.11
16. Trinidad y Tobago			1.35	1.19			3.14	1.12		
17. Estados Unidos			4.75	1.53			3.90	1.04		
18. Uruguay	214.95	133.33	7.37	0.78	5.64	1.24	15.49	4.60	14.16	5.05
19. Venezuela	98.60	101.73	3.14	2.27	3.23	2.15	3.28	2.20	2.93	2.43
ASIA										
20. Hong Kong	170.73	96.51	16.51	5.69	18.44	7.16	10.84	3.81	11.07	4.08
21. Israel	129.12	119.95	1.47	1.02	1.44	0.66	2.68	1.63	1.52	1.36
22. Japón	139.59	91.09	1.66	0.59	1.51	0.58	7.72	2.08	7.46	1.86
23. Filipinas	42.73	36.30	3.44	2.58	4.06	2.51	0.60	0.34	0.64	0.45
24. Singapur	159.36	89.26	15.24	5.24			13.33	4.72		
25. Tailandia	23.51	16.29	1.84	0.92	2.12	0.91	1.05	0.26	1.00	0.42
EUROPA										
26. Austria	192.46	125.51	3.81	0.77	4.15	0.64	4.18	0.64	4.11	0.48
27. Bélgica			2.63	0.55			3.58	1.11		
28. Bulgaria	129.20	79.83	2.08	0.82	1.74	0.58	1.17	0.72	1.17	0.49
29. Checoslovaquia	202.13	117.40	3.32	0.78	3.07	0.72	2.61	0.34	2.76	0.51
30. Dinamarca	168.78	134.84	2.37	0.87	2.29	0.84	2.81	1.26	2.36	0.99
31. Finlandia	191.39	101.16	2.79	0.95	2.59	0.91	4.50	3.52	3.87	3.22
32. Francia	181.01	97.42	12.55	1.03	13.08	0.97	13.89	1.08	14.20	1.00
33. Alemania (R.F.)	177.33	123.34	2.03	0.60	2.22	0.57	3.62	0.85	3.39	0.78
34. Grecia	122.41	73.55	1.68	0.58	1.62	0.43	1.48	0.76	1.86	0.47
35. Hungría	182.19	124.89	4.72	0.78	4.63	0.92	2.41	0.39	2.71	0.46
36. Islandia	120.15	121.98	2.39	0.53	2.46	2.50	1.60	2.14	2.25	3.80
37. Irlanda	158.21	121.69	4.11	1.56	4.27	1.77	5.60	4.03	4.80	4.31
38. Italia	168.94	101.18	6.05	0.86	5.88	0.99	4.62	0.86	4.56	0.79
39. Luxemburgo	217.68	111.78	5.09	0.25	4.72	1.31	8.04	0.79	5.50	2.01
40. Malta	129.95	87.09	5.84	2.04	5.94	1.20	1.38	0.53	0.53	1.83
41. Holanda	184.13	115.64	1.95	0.59	2.14	0.62	3.03	1.18	3.02	0.82
42. Noruega	136.55	99.14	3.02	1.19	3.21	0.93	2.28	0.48	2.60	0.76
43. Polonia	157.83	102.16	4.71	1.04	4.74	0.99	4.60	1.04	4.31	1.03
44. Portugal	132.12	91.78	5.07	1.20	5.21	0.94	5.54	1.86	6.02	2.08
45. Rumania	123.00	87.26	2.72	0.81	3.12	0.88	1.70	0.54	1.59	0.61
46. España	136.19	86.90	2.97	0.54	3.04	0.56	4.58	1.19	4.55	1.00
47. Suecia	139.97	109.42	2.12	1.17	2.47	1.18	2.89	1.01	3.03	1.00
48. Suiza	178.53	109.46	6.47	0.82	6.38	0.86	8.26	1.34	8.23	0.83
49. Reino Unido										
Inglaterra y Gales	184.82	119.19	2.93	1.37	2.84	1.26	4.96	2.64	5.11	2.54
Irlanda del Norte	165.64	114.39	2.85	1.24	3.86	2.11	4.27	1.70	3.33	2.13
Escocia	203.60	127.79	2.53	1.30	2.80	1.35	6.36	3.57	6.30	3.34
50. Yugoslavia	111.57	73.95	2.70	0.51	3.11	0.73	2.03	0.41	2.37	0.55
OCEANÍA										
51. Australia	154.40	101.37	3.55	1.14			3.78	1.57		
52. Nueva Zelanda	166.90	113.71	3.91	1.31	3.06	0.99	3.63	1.56	3.63	1.98

(SEGI, M. y TOMATSU, K: "Age-adjusted rates for cancer for selected sites [A-classification] in 43 countries in 1971", Marzo 1976; SEGI, M., NOYE, H. y SEGI, R.: ibid. en 1972, enero 1977)

* Estadísticas de 1970

Cuadro 21. *(Cont.)*

	Estómago				Intestino, excepto recto				Recto			
	1971		1972		1971		1972		1971		1972	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
ÁFRICA												
1. Egipto	1.45	0.99			0.98	0.57			1.70	0.71		
2. Mauricio	18.82	4.07	17.05	6.13	2.55	2.58	5.09	2.55	2.36	1.90	1.09	1.83
AMÉRICA												
3. Argentina	25.22*	11.22*			12.77*	11.46*			4.43*	2.79*		
4. Canadá	14.49	6.88	14.00	6.45	14.54	14.36	14.76	14.23	6.31	3.80	7.08	3.92
5. Chile	59.75*	33.00*	58.51	31.22	3.99*	5.17*	4.99	5.64	2.52*	2.24*	2.98	2.28
6. Costa Rica	53.42	30.76	52.01	35.70	2.91	3.16	1.63	1.98	3.58	0.83	1.89	1.87
7. Cuba	13.14	6.10	12.36	6.17	6.98	7.56	7.24	8.32	3.40	2.54	2.89	3.11
8. Ecuador	22.28	15.59			2.22	2.18			0.71	0.84		
9. El Salvador	4.49	4.58	5.46	4.66	1.01	0.61	0.98	1.29	0.11	0.12	0.43	0.37
10. Guatemala	14.96	10.41			1.23	1.08			0.84	0.22		
11. Honduras			6.01	5.78			0.31	0.24			—	—
12. México			9.93	9.06			1.93	2.76			0.79	0.85
13. Panamá	11.38	9.47	13.17	7.34	3.20	4.58	2.54	2.96	1.61	2.23	2.23	2.17
14. Perú	19.18	14.78			2.21	2.16			1.08	1.00		
15. Puerto Rico	22.14	8.80	20.34	8.62	3.44	5.33	5.74	4.70	1.65	1.28	1.73	1.89
16. Trinidad y Tobago	21.62	16.38			8.81	5.39			4.14	2.27		
17. Estados Unidos	7.80	3.88			14.16	12.47			4.74	2.94		
18. Uruguay	35.68	14.56	33.08	16.97	14.77	14.66	14.30	13.85	6.51	5.06	6.22	4.83
19. Venezuela	29.74	17.76	29.26	17.17	2.81	3.73	2.99	3.57	1.50	1.25	2.18	1.56
ASIA												
20. Hong Kong	18.03	7.94	16.64	9.23	7.15	5.65	8.28	6.18	5.80	3.03	4.54	2.81
21. Israel	17.26	9.42	16.68	9.41	9.56	8.69	8.91	8.35	3.64	2.90	3.46	2.35
22. Japón	61.07	32.51	60.20	31.26	4.21	3.88	4.37	3.92	5.34	3.88	5.29	3.78
23. Filipinas	5.23	3.72	5.21	3.71	1.67	1.35	1.57	1.58	0.56	0.44	0.56	0.39
24. Singapur	30.63	11.79			6.71	4.43			4.85	2.47		
25. Tailandia	1.39	0.64	1.80	0.91	1.31	0.98	1.76	0.88	0.15	0.05	0.08	0.05
EUROPA												
26. Austria	35.78	18.82	33.41	17.36	12.56	10.22	13.26	11.02	10.22	5.44	10.73	6.16
27. Bélgica	22.08	11.39			13.02	12.69			8.44	5.05		
28. Bulgaria	32.19	18.90	32.06	18.32	3.37	3.40	4.08	3.63	4.63	3.08	4.15	3.75
29. Checoslovaquia	35.96	18.02	32.86	17.12	8.97	6.61	8.68	7.02	11.09	6.50	11.67	6.95
30. Dinamarca	16.29	8.97	16.13	8.65	11.33	12.34	12.24	11.66	10.27	6.68	10.75	6.55
31. Finlandia	29.83	14.61	26.80	14.40	5.52	5.96	5.89	6.57	6.04	4.40	6.00	3.85
32. Francia	16.94	7.91	16.52	7.94	12.68	9.85	13.01	10.15	6.65	3.42	7.26	3.67
33. Alemania (R.F.)	30.00	16.33	28.99	15.24	12.41	11.38	12.58	11.43	9.59	5.77	9.50	5.79
34. Grecia	13.53	8.03	13.21	8.27	4.80	4.99	5.25	4.80	0.57	0.49	0.80	0.58
35. Hungría	39.79	20.46	38.84	18.88	10.85	9.49	10.31	10.10	7.79	5.37	8.00	5.74
36. Islandia	34.16	8.83	31.73	11.33	14.40	15.18	14.81	10.30	3.28	2.41	6.35	0.52
37. Irlanda	22.24	14.56	22.79	13.81	14.84	15.11	14.82	14.41	8.34	4.56	8.32	4.68
38. Italia	30.16	14.68	29.52	14.47	10.41	8.46	10.70	8.83	6.20	3.75	6.10	3.74
39. Luxemburgo	21.55	10.52	20.90	9.98	12.93	8.10	13.33	12.06	10.68	3.93	7.99	6.62
40. Malta	21.27	6.90	20.55	9.36	10.70	2.65	7.66	5.49	4.09	1.99	7.01	2.18
41. Holanda	22.76	11.25	22.00	10.50	11.16	11.99	11.10	11.81	6.94	3.82	6.77	4.34
42. Noruega	21.13	10.33	19.71	10.41	9.59	8.61	9.56	9.12	7.51	4.40	6.26	4.23
43. Polonia	38.12	16.12	37.34	16.02	4.77	3.96	5.10	4.05	4.94	3.53	4.95	3.80
44. Portugal	38.19	19.72	33.17	18.34	8.91	8.14	7.70	8.99	5.66	4.23	6.02	3.88
45. Rumania	29.98	13.93	30.61	13.72	3.16	3.59	3.57	3.40	3.08	2.96	2.99	2.80
46. España	26.99	14.50	25.83	14.54	6.51	6.69	6.19	6.62	3.69	2.54	3.50	2.51
47. Suecia	17.46	9.63	17.47	9.56	11.46	9.73	11.37	9.63	6.50	3.89	6.43	3.97
48. Suiza	22.11	10.92	21.22	10.36	13.37	9.27	13.08	8.79	7.14	4.02	7.97	3.62
49. Reino Unido												
Inglaterra y Gales	20.82	9.69	20.49	9.64	12.31	11.72	12.72	11.95	9.13	5.12	9.10	5.34
Irlanda del Norte	20.97	11.61	19.83	10.25	15.39	13.89	14.61	14.20	6.47	5.27	8.11	4.12
Escocia	22.91	10.91	21.13	12.13	16.05	15.35	14.22	14.62	8.56	5.32	8.64	5.22
50. Yugoslavia	22.44	11.72	23.23	11.70	3.38	3.10	3.87	3.19	3.89	3.02	4.18	3.68
OCEANÍA												
51. Australia	14.13	7.16			12.81	13.42			5.70	3.69		
52. Nueva Zelanda	13.26	6.58	13.15	6.54	17.76	13.74	14.90	15.05	7.63	5.38	9.87	5.94

* Estadísticas de 1970

Cuadro 21. *(Cont.)*

	Laringe				*Tráquea, bronquios y pulmón*				*Hueso*			
	1971		1972		1971		1972		1971		1972	
	Hombres	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*
ÁFRICA												
1. Egipto	1.53	0.39			2.00	0.73			0.16	0.15		
2. Mauricio	1.66	0.39	3.74	0.30	8.30	3.01	14.35	2.23	1.00	0.00	0.99	0.76
AMÉRICA												
3. Argentina	5.11*	0.49*			47.78*	5.89*			2.54*	1.43*		
4. Canadá	2.23	0.30	2.15	0.41	41.18	6.49	42.28	7.72	1.13	0.64	1.02	0.62
5. Chile	1.38*	0.28*	1.98	0.16	16.64*	5.21*	17.73	4.54	1.63*	1.30*	1.95	1.16
6. Costa Rica	2.17	0.00	1.71	—	6.06	5.25	11.27	5.51	0.39	0.27	0.29	0.58
7. Cuba	6.32	0.79	5.22	0.83	39.92	13.98	38.62	14.23	1.36	1.09	1.25	0.99
8. Ecuador	1.02	0.05			4.86	2.19			1.04	0.80		
9. El Salvador	0.45	0.08	0.21		0.90	0.87	1.49	0.96	0.16	0.00	0.17	0.30
10. Guatemala	0.95	0.28			1.62	1.53			0.89	0.51		
11. Honduras			0.45	0.19			1.36	0.58			0.31	0.18
12. México			2.04	0.59			8.04	4.18			0.78	0.74
13. Panamá	3.56	1.10	2.44	0.44	8.92	2.28	11.84	2.03	0.89	0.31	0.41	0.35
14. Perú	1.02	0.19			7.25	2.92			0.88	0.69		
15. Puerto Rico	4.55	0.73	5.03	1.21	15.16	3.93	15.36	5.70	1.66	1.05	1.85	1.09
16. Trinidad y Tobago	1.19	1.14			16.04	2.54			0.98	0.59		
17. Estados Unidos	2.21	0.28			47.16	9.93			0.94	0.54		
18. Uruguay	7.67	0.29	8.00	0.34	45.38	3.73	43.25	4.01	1.68	0.96	0.98	1.08
19. Venezuela	3.10	1.33	2.34	1.11	14.85	5.86	15.53	6.68	1.01	0.79	0.87	0.86
ASIA												
20. Hong Kong	2.92	0.22	2.32	0.16	39.26	20.69	40.42	19.58	0.44	0.63	1.10	0.43
21. Israel	2.29	0.19	1.23	0.41	24.24	10.15	23.25	6.84	1.42	0.75	0.73	0.89
22. Japón	1.49	0.23	1.53	0.22	16.51	5.16	17.57	5.50	1.01	0.57	0.95	0.59
23. Filipinas	0.40	0.21	0.41	0.23	4.19	2.24	4.39	2.31	1.19	1.04	1.36	1.05
24. Singapur	3.58	0.15			39.71	13.05			0.84	0.27		
25. Tailandia	0.09	0.03	0.22	0.03	3.01	1.10	2.62	1.03	0.25	0.20	0.13	0.22
EUROPA												
26. Austria	2.98	0.25	2.94	0.18	49.68	6.53	51.68	6.35	2.12	0.84	1.39	0.85
27. Bélgica	4.80	0.28			62.91	4.46			1.44	1.21		
28. Bulgaria	4.41	0.32	3.93	0.46	35.81	5.70	35.08	6.43	1.84	1.15	1.42	1.15
29. Checoslovaquia	3.31	0.18	3.60	0.21	62.88	5.40	61.91	5.54	1.63	1.04	1.83	0.98
30. Dinamarca	2.15	0.13	1.53	0.33	43.60	9.16	48.11	10.14	0.82	0.37	0.97	0.65
31. Finlandia	2.37	0.18	3.46	0.04	68.99	4.36	63.57	4.71	1.17	0.44	0.71	0.42
32. Francia	10.69	0.34	11.44	0.39	30.96	3.38	33.13	3.40	2.13	1.09	1.94	0.98
33. Alemania (R.F.)	2.34	0.18	2.29	0.15	44.90	4.79	45.54	4.66	1.31	0.85	1.37	0.79
34. Grecia	4.19	0.42	4.45	0.36	32.13	5.07	33.41	5.84	2.58	1.96	2.29	1.51
35. Hungría	5.89	0.44	5.69	0.40	42.47	7.78	42.29	7.69	2.02	1.23	2.12	1.39
36. Islandia	0.89	0.00	0.96	—	9.74	11.22	19.12	11.68	0.90	1.15	3.64	0.92
37. Irlanda	2.14	1.07	2.13	1.32	39.55	11.31	39.06	11.88	2.63	0.83	1.65	1.22
38. Italia	6.48	0.31	6.53	0.27	38.61	4.56	39.92	4.94	2.27	1.21	2.45	1.28
39. Luxemburgo	6.82	0.36	5.58	0.66	67.57	3.92	61.86	7.88	2.10	0.51	1.58	2.08
40. Malta	2.25	1.13	4.49	0.42	40.37	3.14	24.23	0.62	2.25	0.58	—	—
41. Holanda	1.92	0.19	1.67	0.25	66.34	3.78	66.15	4.17	1.04	0.76	1.01	0.57
42. Noruega	1.33	0.08	1.06	0.09	19.29	3.87	19.10	3.83	0.60	0.43	0.21	0.28
43. Polonia	3.61	0.27	3.33	0.25	38.43	5.10	39.19	5.13	2.18	1.19	1.92	1.32
44. Portugal	5.35	0.73	4.86	0.38	14.81	3.18	13.77	3.06	1.96	2.31	2.58	2.04
45. Rumania	5.10	0.49	4.46	0.58	27.37	5.16	27.56	5.35	2.44	1.78	2.75	1.61
46. España	7.09	0.33	6.69	0.32	22.89	4.06	23.74	3.89	2.05	1.39	2.22	1.40
47. Suecia	0.66	0.13	0.58	0.09	21.52	5.12	22.39	5.10	1.33	0.82	0.89	0.78
48. Suiza	3.34	0.03	3.42	0.07	42.46	3.72	42.61	4.13	1.11	0.40	0.94	0.70
49. Reino Unido												
Inglaterra y Gales	1.77	0.26	1.62	0.28	72.14	12.67	73.26	13.20	0.96	0.60	0.81	0.59
Irlanda del Norte	2.09	0.74	1.96	0.16	52.02	9.46	46.69	10.23	1.46	0.74	1.62	1.02
Escocia	1.87	0.38	2.03	0.37	80.52	14.78	83.18	15.93	0.84	0.66	0.96	0.64
50. Yugoslavia	4.50	0.38	5.31	0.53	27.42	4.75	29.82	4.87	1.70	1.22	2.07	1.49
OCEANÍA												
51. Australia	1.90	0.19			43.30	6.69			0.91	0.66		
52. Nueva Zelanda	1.52	0.06	1.68	0.14	45.18	7.94	41.00	9.51	0.56	0.22	0.68	0.74

* Estadísticas de 1970

Cuadro 21. *(Cont.)*

	Piel				Mama		Cuello uterino		Útero (otros)		Útero (totales)	
	1971		1972		Mujeres		Mujeres		Mujeres		Mujeres	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	1971	1972	1971	1972	1971	1972	1971	1972
ÁFRICA												
1. Egipto	0.00	0.01			2.87		0.28		2.02		2.30	
2. Mauricio	0.81	0.30	—	0.30	3.28	7.15	7.60	7.47	3.66	6.44	11.26	13.90
AMÉRICA												
3. Argentina	1.94*	0.99*			18.78*		3.93*		9.28*		13.22*	
4. Canadá	1.63	1.16	1.78	1.35	23.28	24.11	5.39	4.95	3.49	3.32	8.88	8.26
5. Chile	0.88*	0.75*	1.22	1.18	11.49*	11.58	15.53*	15.34	6.10*	5.70	21.63*	21.04
6. Costa Rica	1.18	0.88	1.74	0.38	7.97	9.45	11.20	7.69	6.89	11.72	18.09	19.39
7. Cuba	1.44	0.61	1.20	0.84	13.51	14.28	5.41	4.86	10.53	10.77	15.94	15.63
8. Ecuador	0.93	0.98			3.66		4.04		15.49		19.55	
9. El Salvador	0.91	0.28	0.64	0.20	1.42	1.22	4.97	4.94	2.53	2.29	7.50	7.18
10. Guatemala	0.39	0.17			2.19		0.27		9.10		9.37	
11. Honduras			0.27	0.16		1.11		0.42		5.08		5.51
12. México			0.78	0.82		5.13		10.57		8.52		19.10
13. Panamá	0.89	0.27	0.22	0.21	7.47	5.79	7.72	15.52	4.70	5.25	12.42	20.76
14. Perú	0.97	0.79			4.23		6.72		9.94		16.61	
15. Puerto Rico	0.84	0.64	0.89	0.31	7.98	8.29	5.79	4.83	8.19	7.37	13.98	12.20
16. Trinidad y Tobago	0.36	0.58			14.89		16.43		13.35		29.79	
17. Estados Unidos	2.32	1.49			22.03		5.12		3.83		8.96	
18. Uruguay	1.71	1.07	2.28	0.96	26.61	25.02	5.79	7.40	8.52	8.06	14.31	15.44
19. Venezuela	1.22	1.70	1.40	1.12	9.06	9.33	13.48	11.78	12.59	13.12	26.07	24.90
ASIA												
20. Hong Kong	0.30	0.40	0.90	0.70	9.19	9.39	8.51	8.47	1.95	1.45	10.46	9.91
21. Israel	1.97	0.94	2.05	1.62	22.75	25.50	0.83	1.54	4.99	3.94	5.82	5.42
22. Japón	0.74	0.55	0.73	0.50	4.53	4.47	2.41	2.50	7.98	7.72	10.39	10.23
23. Filipinas	0.58	0.56	0.94	0.50	4.34	4.71	0.72	0.66	3.43	3.85	4.15	4.52
24. Singapur	0.81	0.94			7.94		9.95		2.06		12.01	
25. Tailandia	0.06	0.13	0.07	0.03	0.77	0.70	0.56	0.53	1.91	1.95	2.47	2.49
EUROPA												
26. Austria	1.99	1.89	2.03	1.79	18.42	18.84	4.95	5.21	11.73	10.23	16.68	15.45
27. Bélgica	1.25	0.99			23.01		3.96		6.60		10.55	
28. Bulgaria	1.76	1.17	1.71	1.03	10.81	10.86	2.55	2.98	4.56	4.87	7.11	7.84
29. Checoslovaquia	2.11	1.53	2.39	1.69	15.88	17.34	5.49	5.33	6.47	6.73	11.96	12.05
30. Dinamarca	2.62	1.72	2.68	1.97	25.57	27.44	10.53	8.42	4.12	4.91	14.65	13.32
31. Finlandia	2.49	1.74	2.71	1.55	14.73	15.18	5.03	3.79	3.30	3.79	8.33	7.58
32. Francia	1.57	1.29	1.54	1.27	17.03	17.90	2.55	2.48	7.11	7.17	9.66	9.69
33. Alemania (R.F.)	1.85	1.35	1.85	1.40	19.25	19.49	5.80	5.75	5.60	5.45	11.40	11.20
34. Grecia	1.10	0.79	0.88	1.00	9.92	12.34	0.88	1.09	4.83	4.93	5.71	6.01
35. Hungría	2.39	1.95	2.30	1.90	17.38	17.54	6.10	6.72	10.12	9.68	16.22	16.38
36. Islandia	1.78	2.34	—	2.10	24.29	23.12	7.99	5.14	2.01	5.82	10.00	10.96
37. Irlanda	2.65	2.11	1.88	1.65	24.83	23.87	3.42	4.18	4.15	3.54	7.57	7.72
38. Italia	1.60	1.02	1.64	0.99	17.83	18.24	1.50	1.33	10.14	9.89	11.64	11.22
39. Luxemburgo	1.98	0.51	1.66	0.28	22.77	21.76	7.85	4.74	4.70	9.81	12.55	14.49
40. Malta	0.79	1.66	—	—	23.85	23.93	3.17	1.83	9.68	2.25	12.85	4.09
41. Holanda	1.99	1.11	1.49	1.63	26.70	27.09	5.32	4.89	3.94	3.36	9.26	8.24
42. Noruega	3.06	1.90	2.75	1.71	17.14	17.52	6.11	5.27	2.92	2.60	9.03	7.87
43. Polonia	1.71	1.47	1.86	1.52	11.54	12.06	9.33	9.30	5.47	5.09	14.80	14.41
44. Portugal	2.02	1.66	2.06	1.38	14.70	14.58	8.05	7.01	5.01	5.83	13.06	12.81
45. Rumania	2.09	1.06	1.37	1.13	10.38	10.18	9.63	9.55	8.39	7.94	18.02	17.49
46. España	1.23	0.80	1.21	0.69	11.04	11.32	0.69	0.83	8.59	8.18	9.28	9.02
47. Suecia	2.45	1.54	2.41	1.51	19.07	20.58	5.03	5.10	3.84	4.41	8.87	9.51
48. Suiza	2.38	1.65	2.96	1.64	24.10	23.40	6.25	5.28	5.30	5.32	11.55	10.58
49. Reino Unido												
Inglaterra y Gales	1.55	1.50	1.62	1.40	26.79	26.73	6.06	5.73	3.27	3.04	9.33	8.82
Irlanda del Norte	1.30	0.77	1.45	1.14	23.78	22.92	4.00	5.06	3.60	4.11	7.60	9.17
Escocia	2.30	1.64	1.84	1.76	24.16	27.42	5.84	5.31	2.97	2.62	8.81	7.92
50. Yugoslavia	1.63	1.08	1.79	1.42	9.39	10.68	4.98	4.87	5.36	6.42	10.34	11.35
OCEANÍA												
51. Australia	4.48	2.58			20.66		4.80		2.90		7.70	
52. Nueva Zelanda	3.64	2.44	4.44	2.16	25.33	21.90	5.84	5.18	2.60	4.03	8.44	9.20

* Estadísticas de 1970

Cuadro 21. *(Cont.)*

	Piel				*Mama*		*Cuello uterino*		*Útero (otros)*		*Útero (totales)*	
	1971		1972		*Mujeres*		*Mujeres*		*Mujeres*		*Mujeres*	
	Hombres	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	1971	1972	1971	1972	1971	1972	1971	1972
ÁFRICA												
1. Egipto	0.00	0.01			2.87		0.28		2.02		2.30	
2. Mauricio	0.81	0.30	—	0.30	3.28	7.15	7.60	7.47	3.66	6.44	11.26	13.90
AMÉRICA												
3. Argentina	1.94*	0.99*			18.78*		3.93*		9.28*		13.22*	
4. Canadá	1.63	1.16	1.78	1.35	23.28	24.11	5.39	4.95	3.49	3.32	8.88	8.26
5. Chile	0.88*	0.75*	1.22	1.18	11.49*	11.58	15.53*	15.34	6.10*	5.70	21.63*	21.04
6. Costa Rica	1.18	0.88	1.74	0.38	7.97	9.45	11.20	7.69	6.89	11.72	18.09	19.39
7. Cuba	1.44	0.61	1.20	0.84	13.51	14.28	5.41	4.86	10.53	10.77	15.94	15.63
8. Ecuador	0.93	0.98			3.66		4.04		15.49		19.55	
9. El Salvador	0.91	0.28	0.64	0.20	1.42	1.22	4.97	4.94	2.53	2.29	7.50	7.18
10. Guatemala	0.39	0.17			2.19		0.27		9.10		9.37	
11. Honduras			0.27	0.16		1.11		0.42		5.08		5.51
12. México			0.78	0.82		5.13		10.57		8.52		19.10
13. Panamá	0.89	0.27	0.22	0.21	7.47	5.79	7.72	15.52	4.70	5.25	12.42	20.76
14. Perú	0.97	0.79			4.23		6.72		9.94		16.61	
15. Puerto Rico	0.84	0.64	0.89	0.31	7.98	8.29	5.79	4.83	8.19	7.37	13.98	12.20
16. Trinidad y Tobago	0.36	0.58			14.89		16.43		13.35		29.79	
17. Estados Unidos	2.32	1.49			22.03		5.12		3.83		8.96	
18. Uruguay	1.71	1.07	2.28	0.96	26.61	25.02	5.79	7.40	8.52	8.06	14.31	15.44
19. Venezuela	1.22	1.70	1.40	1.12	9.06	9.33	13.48	11.78	12.59	13.12	26.07	24.90
ASIA												
20. Hong Kong	0.30	0.40	0.90	0.70	9.19	9.39	8.51	8.47	1.95	1.45	10.46	9.91
21. Israel	1.97	0.94	2.05	1.62	22.75	25.50	0.83	1.54	4.99	3.94	5.82	5.42
22. Japón	0.74	0.55	0.73	0.50	4.53	4.47	2.41	2.50	7.98	7.72	10.39	10.23
23. Filipinas	0.58	0.56	0.94	0.50	4.34	4.71	0.72	0.66	3.43	3.85	4.15	4.52
24. Singapur	0.81	0.94			7.94		9.95		2.06		12.01	
25. Tailandia	0.06	0.13	0.07	0.03	0.77	0.70	0.56	0.53	1.91	1.95	2.47	2.49
EUROPA												
26. Austria	1.99	1.89	2.03	1.79	18.42	18.84	4.95	5.21	11.73	10.23	16.68	15.45
27. Bélgica	1.25	0.99			23.01		3.96		6.60		10.55	
28. Bulgaria	1.76	1.17	1.71	1.03	10.81	10.86	2.55	2.98	4.56	4.87	7.11	7.84
29. Checoslovaquia	2.11	1.53	2.39	1.69	15.88	17.34	5.49	5.33	6.47	6.73	11.96	12.05
30. Dinamarca	2.62	1.72	2.68	1.97	25.57	27.44	10.53	8.42	4.12	4.91	14.65	13.32
31. Finlandia	2.49	1.74	2.71	1.55	14.73	15.18	5.03	3.79	3.30	3.79	8.33	7.58
32. Francia	1.57	1.29	1.54	1.27	17.03	17.90	2.55	2.48	7.11	7.17	9.66	9.69
33. Alemania (R.F.)	1.85	1.35	1.85	1.40	19.25	19.49	5.80	5.75	5.60	5.45	11.40	11.20
34. Grecia	1.10	0.79	0.88	1.00	9.92	12.34	0.88	1.09	4.83	4.93	5.71	6.01
35. Hungría	2.39	1.95	2.30	1.90	17.38	17.54	6.10	6.72	10.12	9.68	16.22	16.38
36. Islandia	1.78	2.34	—	2.10	24.29	23.12	7.99	5.14	2.01	5.82	10.00	10.96
37. Irlanda	2.65	2.11	1.88	1.65	24.83	23.87	3.42	4.18	4.15	3.54	7.57	7.72
38. Italia	1.60	1.02	1.64	0.99	17.83	18.24	1.50	1.33	10.14	9.89	11.64	11.22
39. Luxemburgo	1.98	0.51	1.66	0.28	22.77	21.76	7.85	4.74	4.70	9.81	12.55	14.49
40. Malta	0.79	1.66	—	—	23.85	23.93	3.17	1.83	9.68	2.25	12.85	4.09
41. Holanda	1.99	1.11	1.49	1.63	26.70	27.09	5.32	4.89	3.94	3.36	9.26	8.24
42. Noruega	3.06	1.90	2.75	1.71	17.14	17.52	6.11	5.27	2.92	2.60	9.03	7.87
43. Polonia	1.71	1.47	1.86	1.52	11.54	12.06	9.33	9.30	5.47	5.09	14.80	14.41
44. Portugal	2.02	1.66	2.06	1.38	14.70	14.58	8.05	7.01	5.01	5.83	13.06	12.81
45. Rumania	2.09	1.06	1.37	1.13	10.38	10.18	9.63	9.55	8.39	7.94	18.02	17.49
46. España	1.23	0.80	1.21	0.69	11.04	11.32	0.69	0.83	8.59	8.18	9.28	9.02
47. Suecia	2.45	1.54	2.41	1.51	19.07	20.58	5.03	5.10	3.84	4.41	8.87	9.51
48. Suiza	2.38	1.65	2.96	1.64	24.10	23.40	6.25	5.28	5.30	5.32	11.55	10.58
49. Reino Unido												
Inglaterra y Gales	1.55	1.50	1.62	1.40	26.79	26.73	6.06	5.73	3.27	3.04	9.33	8.82
Irlanda del Norte	1.30	0.77	1.45	1.14	23.78	22.92	4.00	5.06	3.60	4.11	7.60	9.17
Escocia	2.30	1.64	1.84	1.76	24.16	27.42	5.84	5.31	2.97	2.62	8.81	7.92
50. Yugoslavia	1.63	1.08	1.79	1.42	9.39	10.68	4.98	4.87	5.36	6.42	10.34	11.35
OCEANÍA												
51. Australia	4.48	2.58			20.66		4.80		2.90		7.70	
52. Nueva Zelanda	3.64	2.44	4.44	2.16	25.33	21.90	5.84	5.18	2.60	4.03	8.44	9.20

* Estadísticas de 1970

Cuadro 21. *(Cont.)*

	Próstata		*Leucemia*				*Otros tejidos linfáticos y hematopoyéticos*			
	Hombres		1971		1972		1971		1972	
	1971	1972	*Hombres*	*Hombres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*	*Hombres*	*Mujeres*
ÁFRICA										
1. Egipto	1.33		1.95	1.37			0.85	0.21		
2. Mauricio	4.19	2.05	2.56	0.34	2.12	0.78	1.36	0.39	2.34	1.61
AMÉRICA										
3. Argentina	13.87*		5.87*	4.18*			5.33*	3.20*		
4. Canadá	14.60	14.31	6.74	4.79	7.04	4.38	8.60	5.29	8.46	5.55
5. Chile	9.06*	11.13	3.93*	3.38*	3.84	3.22	3.21*	2.73*	4.65	2.87
6. Costa Rica	8.58	8.23	3.26	3.26	3.64	5.26	3.78	2.91	3.70	2.99
7. Cuba	15.03	15.21	4.70	3.79	4.26	3.13	6.52	3.61	6.58	3.88
8. Ecuador	5.72		1.98	2.47			2.17	1.07		
9. El Salvador	1.36	0.98	2.15	1.93	3.00	1.51	1.05	0.87	0.75	0.31
10. Guatemala	2.29		1.50	1.09			1.41	0.39		
11. Honduras		0.77			1.23	0.85			0.32	0.33
12. México		5.72			2.54	2.21			2.01	1.47
13. Panamá	7.36	9.79	3.12	1.56	2.56	1.81	2.42	2.58	4.16	4.12
14. Perú	5.14		1.98	1.68			3.23	2.17		
15. Puerto Rico	12.35	14.01	5.42	4.66	5.35	3.31	5.36	3.12	4.14	3.32
16. Trinidad y Tobago	15.21		2.25	3.00			2.89	2.69		
17. Estados Unidos	13.94		7.17	4.55			9.27	6.05		
18. Uruguay	16.58	18.59	7.27	4.27	6.38	4.17	6.01	3.97	6.56	4.21
19. Venezuela	8.93	8.95	3.58	3.06	3.83	2.97	4.47	3.33	4.06	2.76
ASIA										
20. Hong Kong	2.22	2.26	2.59	1.81	3.13	2.01	4.73	1.51	3.57	2.19
21. Israel	8.17	8.15	5.98	5.16	6.07	4.60	8.53	7.95	9.26	6.96
22. Japón	1.88	2.03	3.87	2.95	3.95	3.10	3.45	1.82	3.87	2.02
23. Filipinas	0.95	1.00	2.46	2.17	3.13	2.62	1.70	1.07	0.84	0.55
24. Singapur	1.15		3.47	3.11			1.75	1.47		
25. Tailandia	0.09	0.23	0.19	0.13	0.13	0.14	0.01	0.00	0.00	0.02
EUROPA										
26. Austria	13.53	13.47	6.35	4.20	6.15	4.39	5.91	3.51	4.93	3.93
27. Bélgica	14.51		6.24	4.70			6.75	3.73		
28. Bulgaria	6.41	6.55	4.24	3.55	4.48	3.50	4.91	2.32	4.53	2.40
29. Checoslovaquia	9.90	9.62	6.83	4.47	6.36	4.26	6.68	3.95	6.72	4.05
30. Dinamarca	13.88	13.25	7.95	4.93	7.85	4.71	7.61	6.73	8.68	5.46
31. Finlandia	14.26	12.83	6.73	4.19	7.41	5.10	9.69	5.46	7.87	5.23
32. Francia	14.40	14.61	6.50	4.11	6.76	4.42	5.13	3.12	5.18	3.04
33. Alemania (R.F.)	14.27	14.76	6.05	4.47	6.21	4.32	5.83	3.48	5.92	3.71
34. Grecia	6.17	6.20	6.66	4.68	6.77	4.35	4.03	2.46	4.75	2.57
35. Hungría	14.89	14.76	6.30	3.97	6.17	4.41	5.67	3.34	6.02	4.03
36. Islandia	15.46	7.99	4.96	7.18	6.52	8.55	4.09	3.68	2.44	3.96
37. Irlanda	13.31	14.22	5.78	3.49	6.15	3.01	5.90	2.64	6.23	3.06
38. Italia	10.58	10.73	6.67	4.77	7.00	4.64	6.39	3.59	6.18	3.89
39. Luxemburgo	11.82	11.87	6.17	6.14	5.60	3.02	4.90	3.67	6.01	1.32
40. Malta	7.78	2.72	3.06	1.96	5.71	6.42	6.43	3.80	4.74	1.41
41. Holanda	14.73	14.96	5.69	4.46	6.97	4.79	7.32	5.05	7.60	5.43
42. Noruega	19.08	16.67	6.19	4.20	6.22	4.10	6.79	5.13	7.55	4.22
43. Polonia	8.61	8.46	5.71	3.90	5.42	3.78	4.00	2.28	3.95	2.17
44. Portugal	14.50	12.58	5.70	4.45	5.68	3.90	3.31	1.57	3.11	1.45
45. Rumania	7.96	8.70	4.71	3.33	4.63	3.16	4.38	2.54	4.57	2.38
46. España	12.53	12.07	4.35	3.33	4.42	3.59	3.37	1.90	3.48	1.92
47. Suecia	19.03	21.95	6.68	5.16	6.49	4.93	8.37	5.41	8.14	5.85
48. Suiza	18.81	18.10	6.91	5.23	7.52	4.58	8.27	5.47	7.59	5.22
49. Reino Unido										
Inglaterra y Gales	11.48	11.78	5.52	3.67	5.51	3.92	6.61	4.33	6.97	4.36
Irlanda del Norte	12.41	11.52	5.96	3.17	5.08	3.83	8.97	4.71	6.92	2.92
Escocia	11.11	11.28	5.44	3.60	5.37	3.48	7.06	4.66	7.63	4.59
50. Yugoslavia	6.83	7.55	4.17	2.89	4.35	3.23	3.76	2.14	4.01	2.23
OCEANÍA										
51. Australia	14.77		6.77	4.10			8.29	5.29		
52. Nueva Zelanda	15.25	14.81	7.76	4.45	6.57	5.37	9.99	5.27	10.10	5.24

* Estadísticas de 1970

2 Estructura fundamental de las células

Las células consisten en un núcleo y un citoplasma, los cuales son los componentes esenciales de la estructura celular; ambos están formados por protoplasma, lo cual significa toda la sustancia celular. El protoplasma de las células vivas se halla en un estado de sol coloidal débilmente alcalino que contiene proteínas, hidratos de carbono, lípidos y iones inorgánicos. El citoplasma se halla rodeado por una membrana celular (plasmalema), compuesto por moléculas de lípidos y proteínas (Robertson). Los componentes esenciales del citoplasma son mitocondrias, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, lisosomas, centrosomas, fibrillas, gránulos secretorios, pigmentos, etc.

1. Núcleo

Envoltura nuclear

El núcleo es un componente esencial de la célula viva que se halla separado del citoplasma por una membrana nuclear. La denominación clásica de membrana nuclear rige para los preparados fijados y coloreados que se examinan con el microscopio óptico, porque se presenta como un solo contorno bien nítido que da reacción de Feulgen positiva. En la célula viva, en cambio, la membrana es tan delicada que a duras penas se la reconoce. La microscopia electrónica revela que esta membrana consiste en dos membranas paralelas osmiófilas de 60 a 100 Å de espesor, separadas por una túnica osmiófoba de 100 a 150 Å de ancho.[89,695]

La envoltura nuclear está horadada por unos "poros nucleares" y las dos membranas osmiófilas se unen entre sí en estos poros. La capa externa se halla en comunicación directa con el retículo endoplasmático,[278,695,727] en tanto que los interespacios osmiófobos se comunican con las cisternas del citoplasma.[157]

La entidad de la fina membrana interna todavía es borrosa, pero en un estudio reciente Fawcett[167] demostró una delgada capa de finos filamentos denominada lámina fibrosa, que parece continuarse en los poros.

Fisiológicamente, la envoltura nuclear no es una membrana de difusión simple sino una membrana hemipermeable que permite el paso de sustancias de bajo peso molecular en ambas direcciones, pero sólo el paso unidireccional de productos de alto peso molecular desde el núcleo hacia el citoplasma.

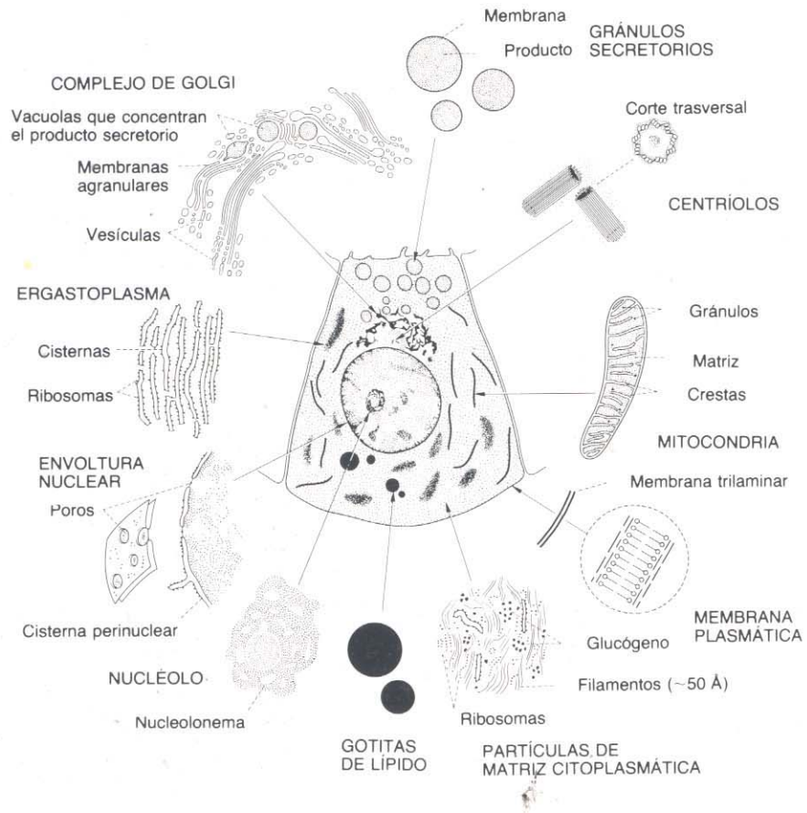


Fig. 4. Estructura fundamental de una célula. (Gentileza del doctor Bloom, doctor Fawcett y W. B. Saunders Company: A Textbook of Histology, 10ª ed., 1974.)

Carioplasma

El carioplasma es la sustancia esencial del núcleo que contiene el material genético, es decir ácido desoxirribonucleico (DNA), en estado de sol homogéneo. El DNA del núcleo se halla combinado con una proteína básica como histona o protamina, dispersa difusamente por todo el núcleo. En la célula viva el núcleo aparece homogéneo porque el carioplasma está hidratado, pero al fijarlo se lo ve como una armazón reticulada. En los preparados coloreados el material genético se presenta como una cromatina que da la reacción de Feulgen y toma los colorantes catiónicos o básicos como hematoxilina, azul de metileno y verde de metilo. Algunas regiones de cromatina se hallan condensadas por su firme arrollamiento[540] durante la interfase. Estos segmentos de cromatina se denominan heterocromatina y se piensa que son genéticamente inertes (Heitz, 1929). Los grumos de gránulos de heterocromatina se denominan cromocentros o cariosomas, a los cuales los filamentos de cromatina parecerían fijarse. El resto, que consiste en cromosomas dispersos poco tingibles y pálidos, se llama eucromatina. El área funcional de eucromatina corresponde a la replicación cromosómica incipiente y participa activamente en la síntesis de RNA. Los componentes bioquímicos de la cromatina son complejos de DNA y proteína, y contienen una minúscula cantidad de RNA cromosómico.[315] La microscopia electrónica revela en todo el núcleo unos finos gránulos filamentosos que se conocen como cromonemas. Los gránulos filamentosos dispersos miden unos 50 a 150 Å de diámetro. La densidad granular predomina más o menos en la periferia del núcleo.

La cromatina adherida al nucléolo se llama "cromatina asociada con el nucléolo". Otros elementos del núcleo son los gránulos intercromatínicos, que se conocen como ribonucleoproteínas nucleares localizadas. Esta cromatina es una aglomeración de ribonucleoproteína de unos 200 Å de diámetro y el gránulo intercromatínico es una gran estructura granular unida a la cromatina condensada. El gránulo pericromatínico está rodeado por un halo y mide unos 300 a 500 Å de diámetro.

Cuerpo nuclear

Los cuerpos nucleares son unos glóbulos electrondensos que se hallan separados del nucleoplasma por un halo y miden 0,5 a 1,8 μ de diámetro. No se suelen identificar en la microscopia óptica, salvo si se preparan cortes muy finos y si están rodeados por un halo claro. Se considera que las variaciones de forma de los cuerpos nucleares se deben a la diferencia en su etapa evolutiva. Bouteille y col.[68] clasifican cinco tipos de cuerpos nucleares:

Tipo 1. Mide unos 0,5 μ de diámetro, es una forma representativa agranular u homogénea, y consiste en material fibrilar.

Tipo 2. Es un poco más grande, de unos 0,8 μ de diámetro, y consiste en fibrillas concéntricas.

Tipo 3. Consta de dos capas: los gránulos osmiófilos internos y la estructura fibrilar externa.

Tipo 4. Es el más grande de todos, pues mide 0,8 a 1,8 μ de diámetro. Se parece al tipo 3, pero sus gránulos internos son más compactos.

Tipo 5. Se caracteriza por unos densos glóbulos osmiófilos, en lugar de los gránulos de los tipos 3 y 4.

Todavía no se conoce bien la identidad y significación del cuerpo nuclear porque no sólo aparece en diversas enfermedades, como infecciones virales, trastornos hormonales y neoplasias, sino también en condiciones fisiológicas. Vale la pena señalar que es más frecuente en asociación con las neoplasias.[68]

2. Nucléolo

El nucléolo es un corpúsculo redondo o esferoide que se halla en el centro o en la periferia del núcleo. Su reacción tintorial basófila o, a veces, acidófila, se debe a su afinidad por la

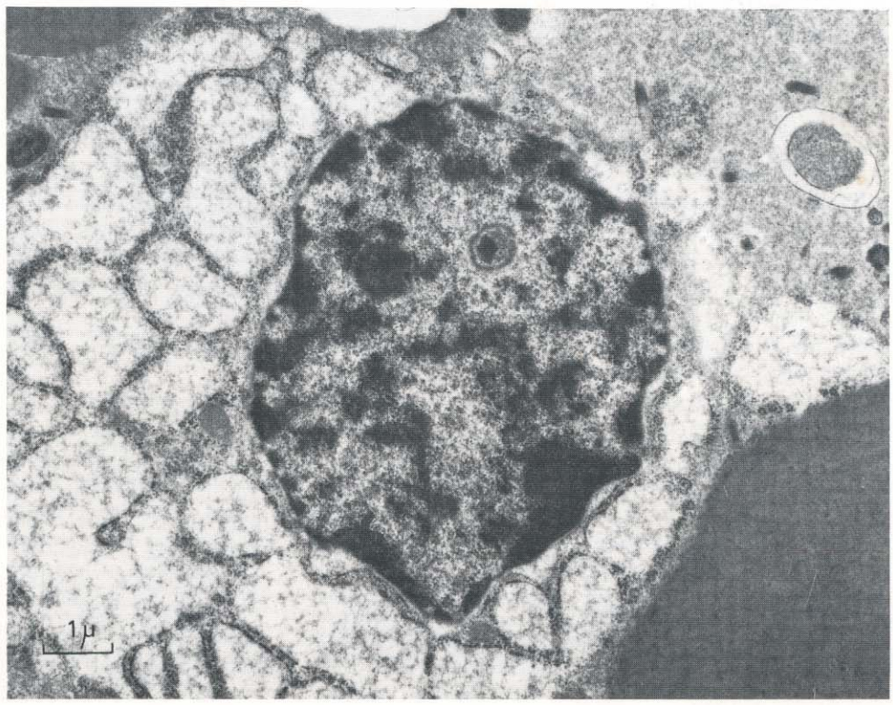


Fig. 5. Micrografía electrónica de un cuerpo nuclear. Nótese un gránulo osmiófilo central y su estructura arrollada circundante (× 10.000).

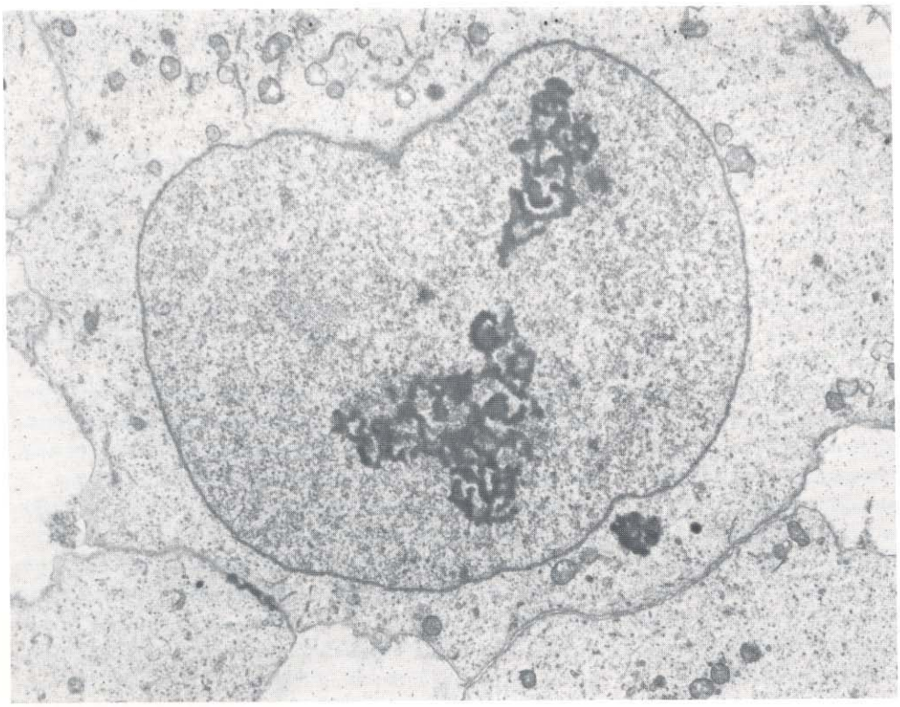


Fig. 6. Nucleolonema filamentoso en una célula de seminoma. El nucleolonema en madeja es común en los tumores de células germinativas (× 6000).

hematoxilina, por la contratinción aniónica o por ambas cosas, en particular a pH 4,8 (Menzies).

Sólo una porción adyacente al nucléolo, que se denomina cromatina asociada con el nucléolo, se tiñe con la reacción de Feulgen. La sustancia nucleolar contiene ácido ribonucleico (RNA), por supuesto, pero no tanto como se sugirió en otra época; a lo sumo el RNA representa el 10% de la masa nucleolar total o menos.[84,442,676]

La basofilia de los nucléolos no sólo se debe al RNA, sino también a su gran contenido proteico. Es posible que una proteína individual que contiene diaminoácidos exhiba grupos ácidos o básicos que no llegan a neutralizarse mutuamente a causa de su orientación espacial, pero están disponibles para teñirse con los colorantes apropiados. Los nucléolos que contienen principalmente grupos iónicos ácidos captarían hemateína en cantidades tan grandes que adquirirían un color azul o negro azulado. En cambio, los nucléolos que contienen importantes cantidades de grupos sulfhidrilo podrían captar poca hemateína y se teñirían con los colorantes de la contratinción.[204] Se cree que, poco después de sintetizarse, pasa al citoplasma un RNA nucleolar de composición química similar al RNA citoplasmático.[152] Aunque el pasaje de sustancia nucleolar al citoplasma no se ha verificado con seguridad, la notable observación de Altmann (1952),[12] de que los nucléolos de las células de páncreas exocrino empiezan a fusionarse y se acercan a la periferia para ser excretados, contribuiría a interpretar[148] la relación entre el nucléolo y el citoplasma.

La cantidad de nucléolos depende del número cromosómico y es de uno a cuatro en las células somáticas normales observadas con el microscopio óptico. Los nucléolos se forman en las regiones organizadoras del nucléolo de los cromosomas 3D y 2G portadores de satélites. En teoría, más de 6 nucléolos en la interfase son anormales. Después de la mitosis, los nucléolos pequeños y múltiples se fusionan y se agrandan para entrar en la etapa funcional de la síntesis proteica. Las células que sintetizan poco o nada de proteína no exhiben nucléolos reconocibles.

Estable y Sotelo[162] estudiaron la estructura nucleolar fina valiéndose de una técnica de impregnación argéntica especial, y demostraron unas riendas reticulares llamadas *nucleolonema* y el denso material homogéneo denominado *pars amorpha*. La microscopia electrónica también revela que estas riendas anastomóticas contienen unos gránulos finos (componente granular) de unos 150 Å de diámetro, que se conocen como ribosomas nucleolares.

Muchas veces hay un componente fibrilar, el esqueleto del nucleolonema, que aparece como una densa masa sin estructura y es indistinguible respecto del componente granular. Las estructuras filamentosas que forman riendas reticulares miden unos 50 Å de diámetro por 200 a 400 Å de longitud. El componente amorfo consistiría en un material proteináceo electrondenso de bajo peso molecular. Los rasgos del nucléolo se clasifican en tipo compacto, tipo anular y un tipo con nucleolonema.[85] Una forma extrema de un tipo con nucleolonema es un nucleolonema filamentoso o en madeja que suele verse en los tumores de células germinativas.

3. Citoplasma

Mitocondrias

Las mitocondrias son unas pequeñas estructuras baciliformes que toman la tinción vital con el verde Janus B y exhiben dobles membranas, cuya capa interna forma los pliegues que se llaman *crestas mitocondriales*. La capa externa, de 50 a 60 Å de espesor, es una membrana limitante lisa. La cámara externa se forma entre estas dos membranas e incluye el centro de las crestas. La matriz mitocondrial, que ocupa la gran cámara interna delimitada por la membrana interna, suele ser homogénea, pero contiene unos gránulos densos de

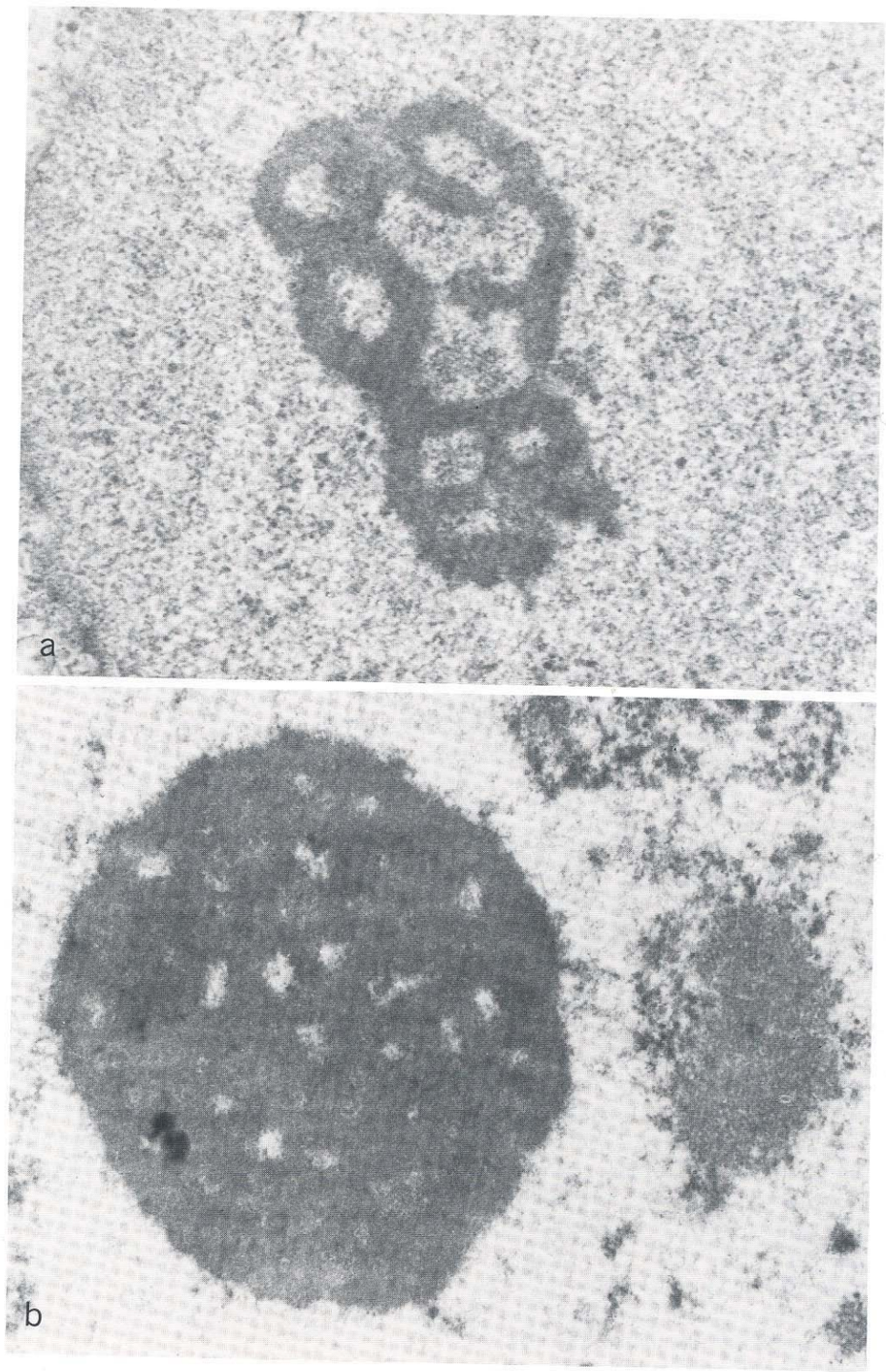


Fig. 7. Micrografía electrónica de nucléolos de diverso tamaño. El nucléolo de arriba presenta unas densas riendas anastomóticas, en tanto que el de abajo es compacto y se ha condensado en una masa densa homogénea. *a*, Célula melanomatosa (× 30.000). *b*, Célula adenocarcinomatosa (× 30.000).

300 a 500 Å de diámetro. Se piensa que estos gránulos intervienen en la regulación catiónica intracelular porque fijan cationes bivalentes como Mg^{++} y Ca^{++}. Las mitocondrias son muy sensibles a las modificaciones del equilibrio hidroelectrolítico, tensión de oxígeno, pH y temperatura. También son comunes las alteraciones por artificios. Al ser deficiente la tensión de oxígeno, ocurre una alteración patológica consistente en ingurgitación y pérdida de las crestas, así como de la matriz. Ocurre gigantismo mitocondrial en las carencias de vitamina E y de riboflavina. Se sabe que las mitocondrias contienen diversas enzimas vinculadas con la oxidación, la síntesis proteica y la síntesis lipídica.[484]

Cada componente se asocia con enzimas características. La membrana externa se relaciona con monoamino oxidasa, NADH citocromo C reductasa, quinurenina hidrolasa, etc., en tanto que la membrana interna contiene enzimas de la cadena respiratoria, ATP sintetasa, succinato deshidrogenasa, beta hidroxibutirato deshidrogenasa, etc.[363] Las enzimas marcadoras que se utilizan con fines de identificación son citocromo oxidasa para la membrana interna, monoamino

oxidasa para la membrana externa, malato deshidrogenasa para la matriz y adenilato cinasa para la cámara externa.[575]

Retículo endoplasmático

Merced a la microscopia electrónica se descubrió que la sustancia fundamental homogénea del citoplasma se halla surcada por una trama canalicular o vesicular de elementos delimitados por membranas; a esta trama se le dio el nombre de ''retículo endoplasmático''.[250,509,510] Los organoides se anastomosan entre ellos y es probable que se comuniquen con los espacios extracelulares y también con los perinucleares. Algunos organoides son vesículas aisladas. Adheridas a la capa externa de la membrana limitante del retículo endoplasmático hay unas finas partículas de un tamaño constante de 120 a 150 Å, los ribosomas[700] o ''gránulos de Palade''.[475,476] Por su reacción tintorial histoquímica, por su absorción de rayos ultravioleta y por haberlos aislado mediante ultracentrifugación se comprobó que son elementos que contienen RNA. Los gránulos de Palade o ribosomas intervienen de modo directo en la síntesis de la proteína que las células secretan.

Entre los retículos endoplasmáticos canaliculares hay unos ribosomas libres que son los responsables de la basofilia citoplasmática y estos gránulos ricos en RNA participan en la síntesis proteica necesaria para la proliferación celular. Se sabe que las células en rápido crecimiento tienen un retículo endoplasmático poco desarrollado, pero contienen abundantes ribosomas libres. El retículo endoplasmático que presenta ribosomas adheridos se llama retículo endoplasmático áspero o de superficie áspera, o ergatoplasma.

Otro tipo de retículo endoplasmático que se encuentra libre de ribosomas se llama retículo endoplasmático de superficie lisa, liso o agranular y está dispuesto en laminillas íntimamente entrelazadas. Un papel importante del organoide es el trasporte intracelular de metabolitos específicos, pero también cumple la función de sintetizar y excretar productos celulares.

Aparato de Golgi

El aparato de Golgi, organoide descubierto por Golgi en 1898, se encontró en el sistema nervioso como una red delineada mediante impregnación argéntica. En la actualidad se lo reconoce como un cuerpo osmiófilo de la región yuxtanuclear.

A pesar de que por mucho tiempo se dudó de la existencia del aparato de Golgi sobre la base de la microscopia óptica o de contraste de fase, este organoide ha sido confirmado mediante microscopia electrónica en diversas formas, es decir, vacuolas, sáculos laminillares y pequeñas vesículas (Dalton, 1952).

Todavía no se ha esclarecido bien la función que cumple el aparato de Golgi, pero se la considera relacionada con la formación de productos secretorios y celulares de otro tipo.[126,130,276,440,445,544]

Hirsch[285] describió un proceso excretorio en que los gránulos precursores de cimógeno de las células del páncreas exocrino se forman en el ergatoplasma y pasan directamente al área de Golgi, donde los gránulos de cimógeno se completan y se excretan. Esto también fue confirmado por Caro[90] con la técnica autorradiográfica.

Estos fenómenos secretorios se observaron en muchas otras células glandulares. Como otra función más, el aparato se relaciona con el sistema de trasferencia de agua intracelular.[354]

Lisosomas

Los lisosomas, así llamados por de Duve y col.,[136] son unos cuerpos densos de 0,25 a 0,5 μ de diámetro. Estas partículas se hallan limitadas por una membrana lipoproteica y se sabe que contienen varias hidrolasas ácidas, como fosfatasa ácida, ribonucleasa ácida, desoxirribonucleasa ácida, β-glucuronidasa, catepsina, β-galactosidasa, arilsulfatasa, lisozima, hialuronidasa, α-manosidasa y peroxidasa. Las hidrolasas ocurren en las membranas lisosómicas de las células normales y desempeñan un papel importante en la digestión intracelular de sustancias biológicas a pH ácido. Las bacterias englobadas por la célula son muertas y digeridas por enzimas hidrolíticas. Por razones morfológicas se incluyen en la designación de lisosomas las sustancias granulares de gran actividad de fosfatasa ácida, que pueden ser fagosomas[439] (pinosomas), que intervienen en el proceso de endocitosis, o gránulos secretorios,[161,720] que participan en el proceso de exocitosis.

En ciertos estados patológicos limitados, como anoxia o intoxicación, la disgregación del organoide permite que las enzimas escapen y digieran a la célula misma.

De acuerdo con el concepto actual, a los lisosomas se los agrupa en dos tipos principales. El lisosoma primario es un gránulo pequeño y denso que es liberado por los complejos de Golgi; debajo de la membrana limitante se ve un halo de escasa densidad electrónica. Se piensa que sus enzimas son sintetizadas por los ribosomas, se acumulan en el retículo endoplasmático y pasan a los complejos de Golgi. El lisosoma secundario es un fagosoma en funcionamiento activo que se induce por el englobamiento de material extraño (heterofagia) o de material intracelular (autofagia) e inicia la digestión al fusionarse con el fagosoma primario. Los cuerpos residuales son unos grandes lisosomas secundarios derivados de la digestión incompleta o acumulación de alguna sustancia por defecto o falta de enzimas hidrolíticas. Los productos no degradables pueden acumularse dentro de las células y originar una enfermedad lisosómica genética. Los cuerpos mielínicos, consistentes en figuras laminillares concéntricas, son buenos ejemplos de acumulación de membranas lipoproteicas.[293]

Microcuerpo

El microcuerpo fue designado por Rhodin (1954) como un cuerpo esférico de unos 0,2 a 0,6 μ de diámetro[6] dotado de una matriz homogénea y finamente granular. Este organoide posee una sola membrana y contiene catalasa y otras oxidasas. Novikoff[452] hasta llegó a conjeturar que el microcuerpo sería un tipo de lisosoma. Holt[289] lo distinguió por la ausencia de actividad de fosfatasa ácida. Aunque la morfología de este organoide es similar a la de los gránulos secretorios, no se evidenció que se secrete.

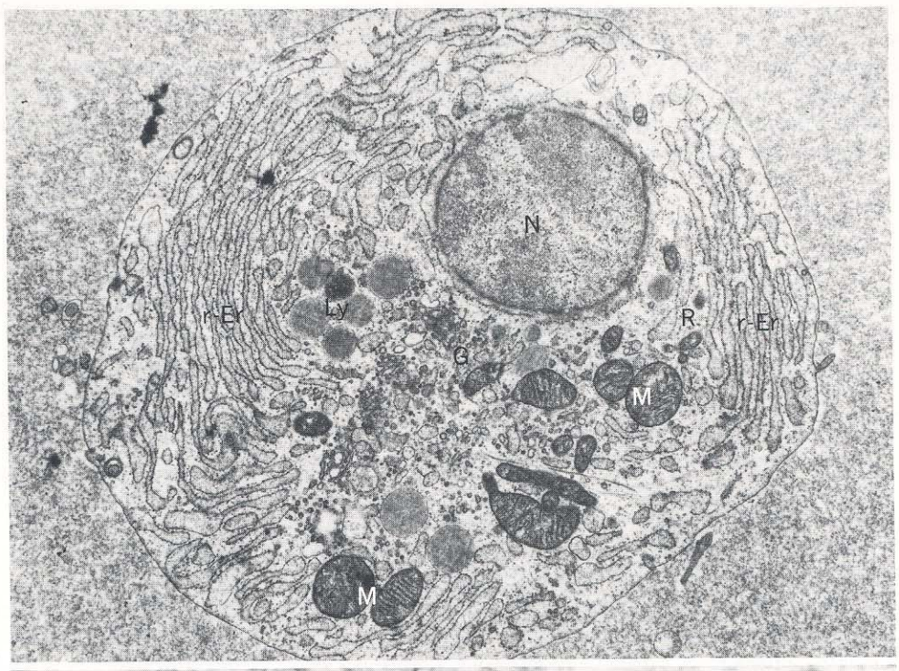


Fig. 8. Estructura fundamental de una célula. *N*, núcleo; *M*, mitocondrias; *G*, aparato de Golgi; *R*, ribosoma libre; *Ly*, lisosoma; *r-Er*, retículo endoplasmático áspero.

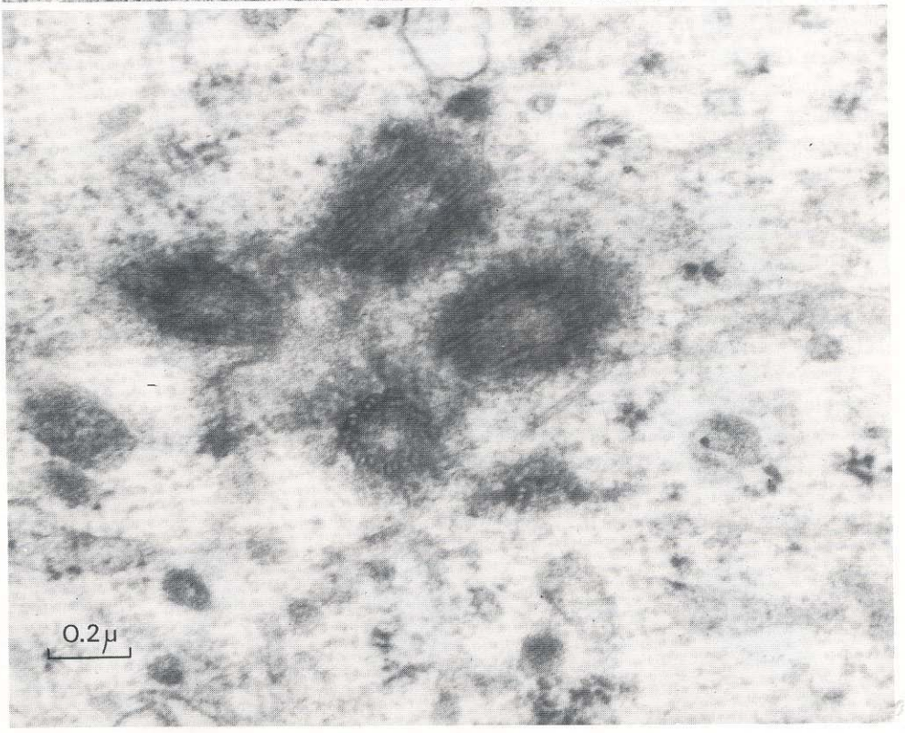


Fig. 9. Micrografía electrónica de un centrosoma consistente en dos pares de centríolos. Los cortes longitudinal y trasversal de los centríolos muestran estructuras cilíndricas. Esto es de un carcinoma de células de avena del pulmón.

Paraplasma

El paraplasma consiste en diversos depósitos que comprenden gotitas hialinas, gránulos de glucógeno, gotitas de grasa y pigmentos variables, como hemosiderina, lipofucsina, melanina y ceroide.

Centrosoma

Los cinetocentros son importantes componentes celulares que determinan la dirección del movimiento de los cromosomas durante la mitosis. Existe un par de pequeños gránulos que se desplazan hacia los polos. El centro de la mitosis de cada polo se llama centrosoma (Boveri, 1888) y el corpúsculo granular que está dentro del centrosoma es el centríolo. En ocasiones el centrosoma se demuestra mediante tinción con hematoxilina férrica.

En la microscopia electrónica esta estructura aparece como un cilindro hueco de 500 nm de longitud y 150 nm de diámetro, cuya pared consiste en una estructura tubular triple (fig. 9).

3 Mitosis

1. Mitosis normal

Mitosis normal es la división de una célula madre en dos células hijas idénticas que reciben igual cantidad de material nuclear. En la interfase de la división celular que se ve en la mayoría de las células de la citología exfoliativa de rutina, el material cromosómico se halla disperso en un estado de sol por la hidratación. Aunque algunos núcleos en interfase, como los de las células ganglionares, que no se dividen, mantienen un contenido constante de DNA, la mayoría de las células somáticas en estado de proliferación despliegan una síntesis progresiva de DNA hasta la profase, cuando la cantidad de DNA nuclear se duplica. Sobre la base de estudios autorradiográficos empleando el precursor del DNA ^{3}H-timidina, la fase intermitótica se clasifica en varias etapas: tiempo de presíntesis (G_1), intervalo variable y prolongado que dura semanas o meses, durante el cual el contenido de DNA se mantiene constante; tiempo de síntesis de DNA (S), cuya duración es bastante constante[430,653] de 6 a 10 horas y durante el cual el DNA se replica, y tiempo precariocinético (G_2), que dura menos de pocas horas.

La molécula de DNA es una unidad fundamental del cromonema que presenta una estructura helicoidal doble (Watson y Crick).[176,693,694] En las células somáticas del mamífero, la molécula de DNA se replica mediante el desarrollamiento de la hélice y de las riendas complementarias a modo de un "cierre relámpago" común o en una "imagen especular", por mediación de la DNA polimerasa (modo semiconservador)[373] (fig. 11). Desde el punto de vista del citodiagnóstico, recuérdese que el volumen nuclear aumenta de pronto por hidratación al completarse la telofase y después aumenta muy poco hasta la antefase, es decir, justo antes del comienzo de la profase, cuando el núcleo se vuelve a ingurgitar con mucha rapidez.

Profase

Los cromonemas dispersos se deshidratan o condensan formando un gel, para convertirse en riendas visibles de cromatina y formar el espirema denso. A continuación las riendas se acortan y se engruesan para constituir el espirema laxo. Al principio se distribuyen con uniformidad y empiezan a aproximarse a la envoltura nuclear a medida que avanza la profase. En ocasiones se reconoce una pequeña zona centromérica clara. Esta región (centrosoma) se convierte en

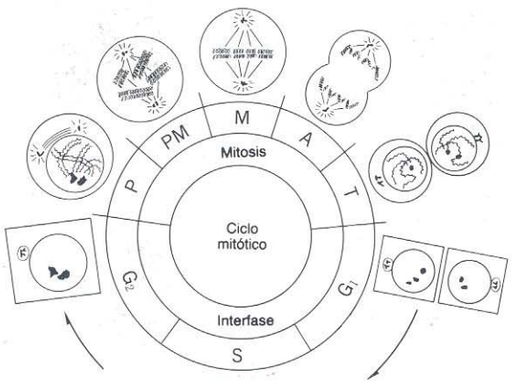


Fig. 10. Diagrama de un ciclo mitótico. (Takeda, S.: *En* Textbook of Cytology. Asakura Shoten, Tokio, 1965.) *P*, profase; *PM*, prometafase; *M*, metafase; *A*, anafase; *T*, telofase.

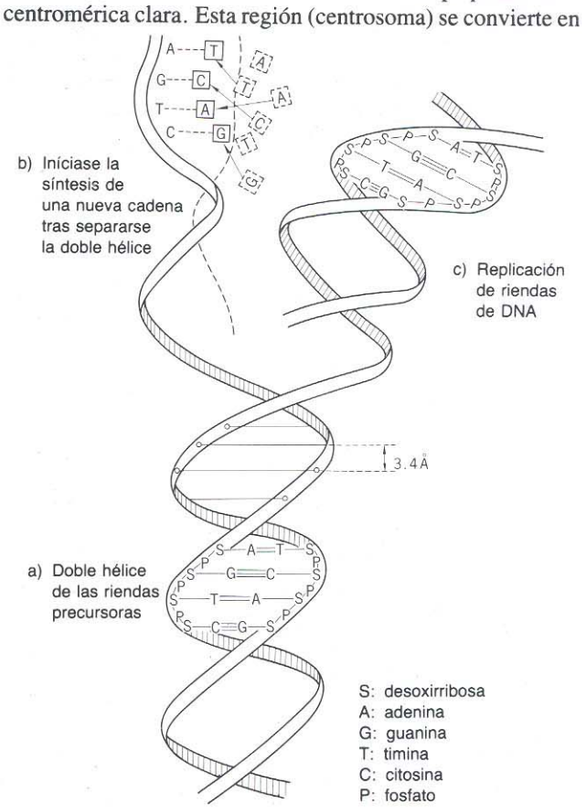


Fig. 11. Modelo de la molécula de DNA. Según Watson y Crick. Replicación del DNA por el modo semiconservador. (Parte de esta figura pertenece a la figura 4 de "Chromosome Diagnostics in Clinical Medicine". Gentileza del doctor R. R. Eggen y Charles C Thomas, Publisher.)

un polo importante para los movimientos de los cromosomas.

Los centríolos están a un lado de la membrana nuclear, y entre cada centríolo aparece un delicado huso filamentoso. Los centríolos migran continuamente hacia los polos en antípodas.

Todavía no se elucidaron del todo bien los papeles de los centríolos y sus ásteres circundantes; los centríolos son esenciales para producir el aparato móvil de las células funcionantes y los ásteres son importantes para determinar la distribución de los cromosomas.[33] Mientras tanto el nucléolo, que es un tanto elongado por un tiempo, desaparece al final de la profase y poco después la envoltura nuclear desaparece, lo cual es un signo de prometafase.

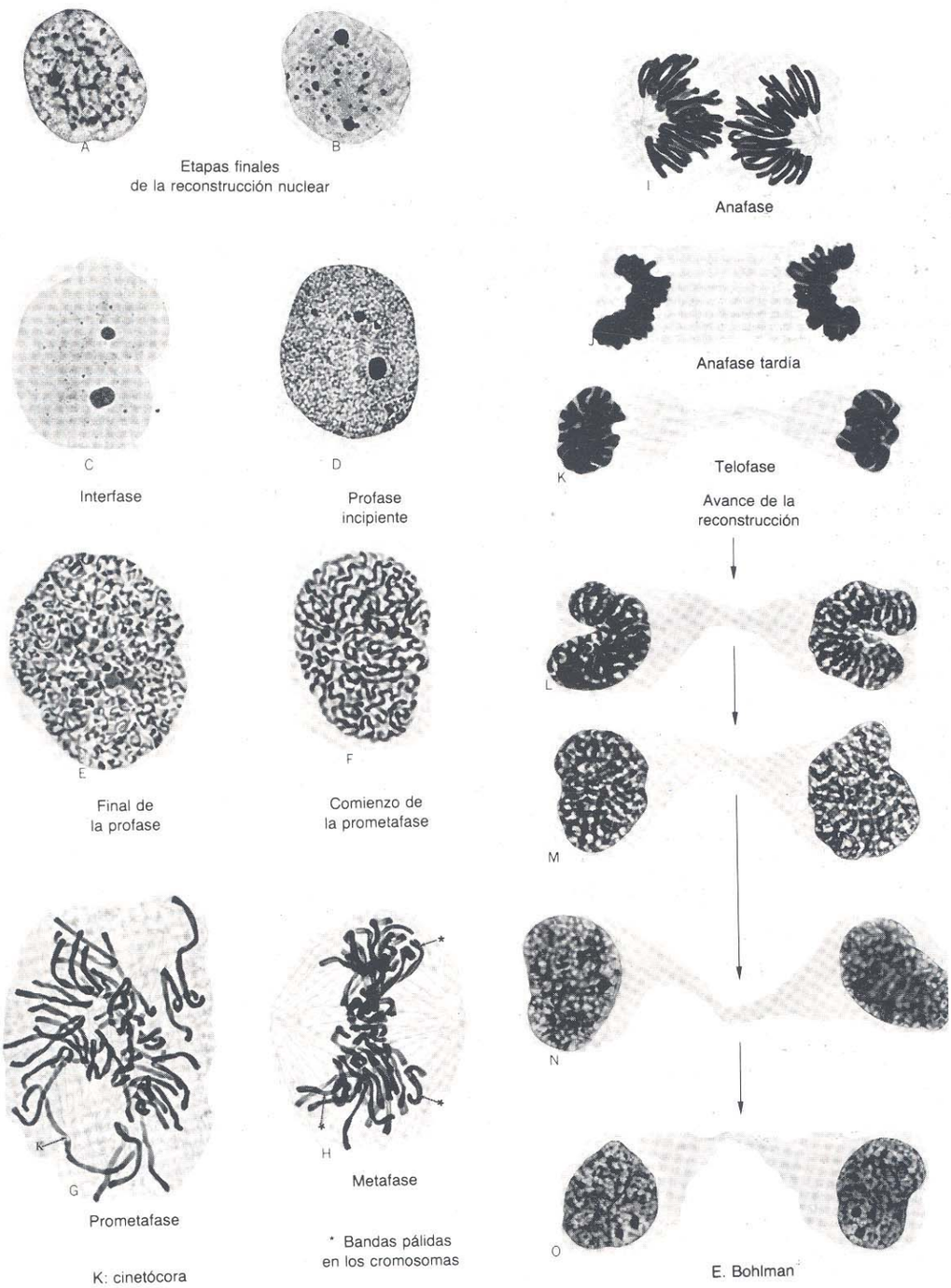


Fig. 12. Cambios nucleares en células mesoteliales mitóticas de *Amblystoma* en cultivos. (En la mayoría de estas células el citoplasma era mucho más extenso de lo que se ilustra.) Al final de la profase, la membrana nuclear y el nucléolo casi han desaparecido. Al final de la anafase, los cromosomas se están fusionando. Con la aparición de la envoltura nuclear en la telofase, los núcleos hijos experimentan una reconstrucción progresiva (*flechas*) hasta que alcanzan la etapa de la interfase. (Gentileza del doctor Bloom, doctor Fawcett y W. B. Saunders Company: A Textbook of Histology, 10ª ed., 1974.)

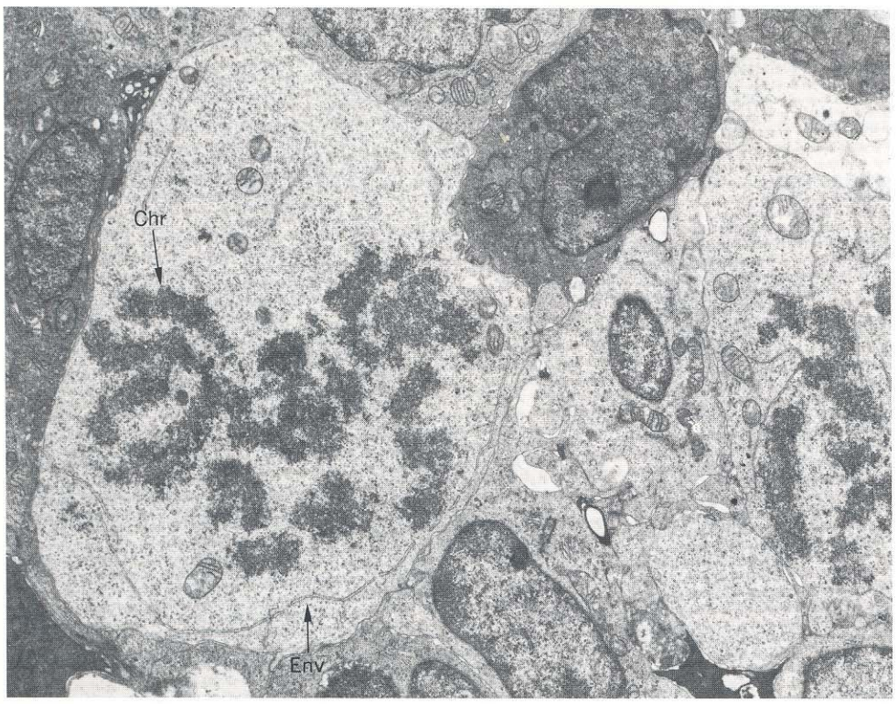


Fig. 13. Observación microscópica electrónica de la mitosis de células de cáncer pavimentoso. Nótense la envoltura nuclear en vías de desaparecer (*flecha*) y la condensación de los cromosomas (× 5400). *Chr*, cromosomas; *Env*, envoltura de membrana nuclear.

Metafase

Los cromosomas filiformes, que se han delimitado con mucha nitidez, se disponen en el plano ecuatorial del huso para formar un monáster típico, y a continuación los cromosomas progenitores se convierten en dos cromosomas hijos idénticos mediante una escisión longitudinal que ocurre al mismo tiempo.

Anafase

La anafase se inicia al dividirse la centrómera que unía a las cromátides. Los cromosomas hijos empiezan a separarse y se desplazan hacia los polos del huso. Poco después de la formación del diáster, los cromosomas empiezan a fusionarse para formar dos núcleos hijos. Este proceso se llama disyunción.

Telofase

Cuando se forman los espiremas hijos, las envolturas nucleares y los nucléolos reaparecen en la zona nucleolar (zona SAT), y el citoplasma se divide. Los cromosomas, que exhibían una estructura espiralada, se tornan menos compactos y pierden su arrollamiento. Este proceso se denomina "profase invertida". El volumen del núcleo y citoplasma de cada célula hija es más o menos la mitad que el de la célula en interfase.

2. Mitosis anormal

Los rasgos representativos de la mitosis anormal, que hacen el diagnóstico de neoplasia maligna, son no disyunción, adhesividad anómala, formación de husos multipolares, aglomeración polar de cromosomas, un "efecto colchi-

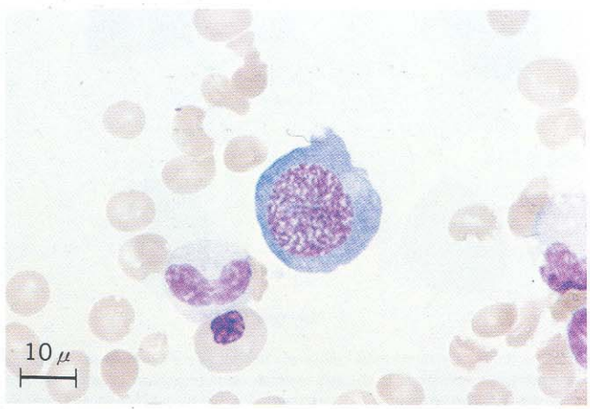


Fig. 14. Profase del eritroblasto. Los cromosomas se tornan visibles y la membrana nuclear desaparece.

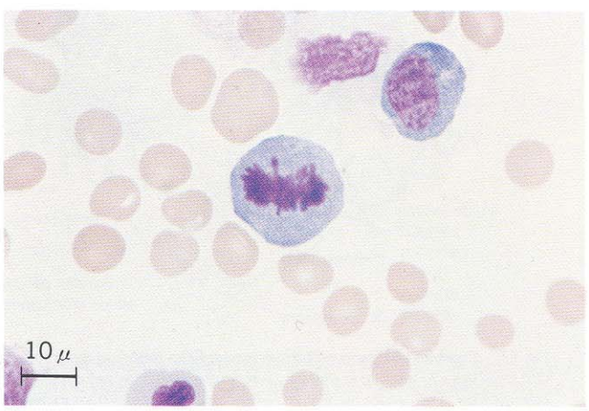


Fig. 15. Metafase de un eritroblasto vista de perfil.

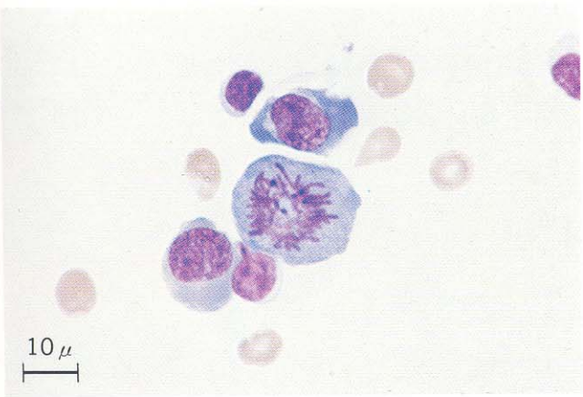


Fig. 16. Metafase con los cromosomas dispuestos en el plano ecuatorial. Vista desde un polo.

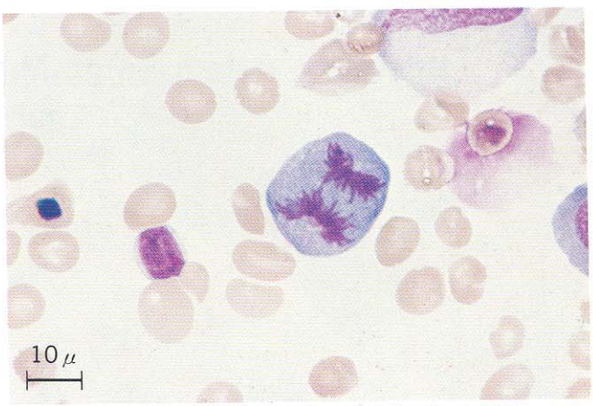


Fig. 17. Separación y movimiento de cromátides en la anafase.

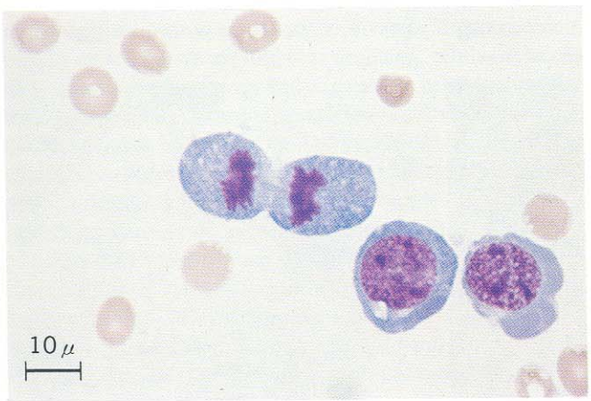


Fig. 18. Clivaje del citoplasma en la telofase.

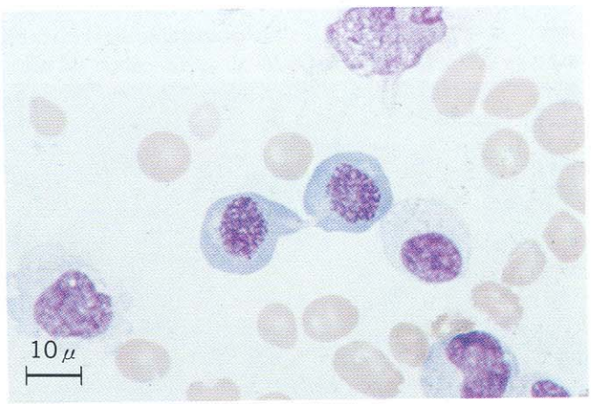


Fig. 19. Complétase el clivaje del citoplasma al final de la telofase. Nótese el pequeño tamaño de los núcleos de dos células hijas, en comparación con el núcleo grande en profase.

cínico'' que se caracteriza por cromosomas ampliamente diseminados, etc.[657] La no disyunción, que es la no separación de las cromátides en la anafase, origina aneuploidia. La adhesividad de los cromosomas muchas veces se acompaña de un atraso cromosómico porque tardan en separarse. Los cromosomas polares son idénticos a la ''metafase de tres grupos'', en que algunos grupos de cromosomas permanecen en los polos. La división multipolar se conoce como formación de centrosomas supernumerarios y acarrea poliploidia. La forma más común es la mitosis tripolar y en ocasiones se ve una mitosis cuadripolar en los tumores malignos (fig. 20). Scarpelli y von Haam[570] sólo observaron cromosomas polares y divisiones multipolares en el carcinoma *in situ* y en el carcinoma invasor del cuello uterino, pero nunca en las lesiones inflamatorias ni tampoco en las displásicas (véase figura 22).

3. Mitosis de células cancerosas y su utilidad en citodiagnóstico

Además de los rasgos de la mitosis anormal que describimos arriba, la prolongación o retardo de la metafase es un

Cuadro 22. Incidencia y tipos de mitosis normales y anormales en 5000 células del cuello uterino en división

Histología / *Figuras mitóticas*	*Epitelio normal*	*Lesiones cervicales*			
		Inflamación	*Displasia*	*Carcinoma in situ*	*Carcinoma invasor*
Multipolares	0	0	0	29	52
Metafase hueca	0	0	7	23	55
División asimétrica	0	7	4	47	61
Cromosomas atrasados	0	21	52	112	137
Cromosomas polares	0	0	0	58	49
Normales	1.000	972	937	731	646
Total	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

(SCARPELLI, D.G. y VON HAAM, E.: Cancer Res. *17*:880, 1957.)

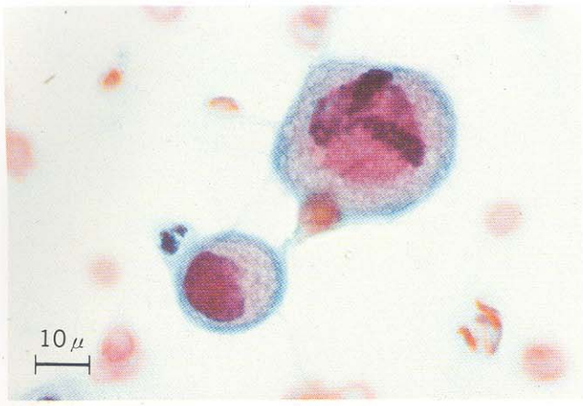


Fig. 20. Mitosis tripolar de una célula cancerosa. La división tripolar es común en la mitosis anormal de las células cancerosas. Esto pertenece a una ascitis por carcinoma gástrico.

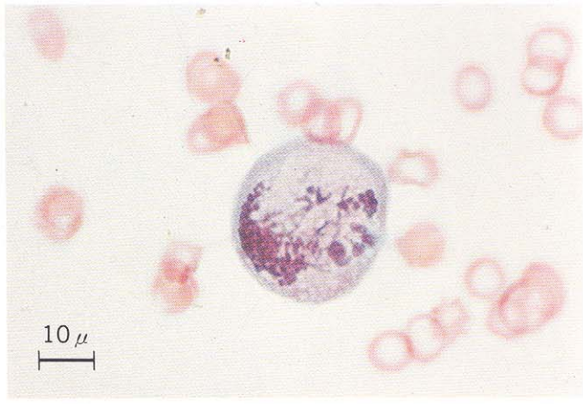


Fig. 21. Separación asimétrica de cromosomas de una célula cancerosa. Se postula que la adherencia anormal de los cromosomas (efecto colchicínico incompleto) se debe a la adhesividad anormal. De una ascitis por carcinoma gástrico.

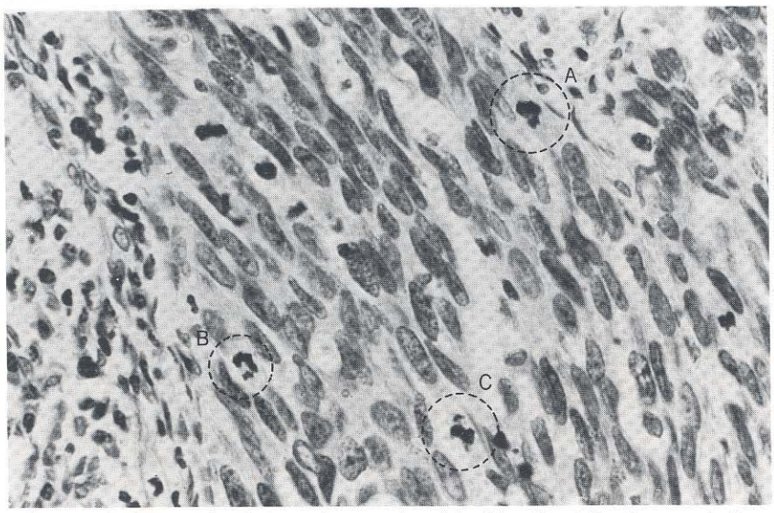


Fig. 22. Mitosis anormales de un carcinoma espinocelular del cuello uterino. La presencia de mitosis anormales es patognomónica de cáncer. *A* y *B*, Separación asimétrica de cromosomas; *C*, cromosoma polar.



Fig. 23. División anormal que muestra cromosomas atrasados.

hallazgo distintivo que posee utilidad diagnóstica en el cáncer, a diferencia de la metafase corta en la mitosis de las células normales.

Una característica importante de malignidad es la mayor relación de frecuencias entre metafase y profase,[657] o sea el índice obtenido por la cantidad de metafases dividida por la cantidad de profases, pero esto es más útil en histodiagnóstico que en citodiagnóstico porque es raro encontrar células en mitosis en los extendidos, ni siquiera en casos malignos.

Addendum: Índice mitótico. El índice mitótico es la relación entre la cantidad de células en división y las células totales y se usa mucho en hematología para evaluar la hematopoyesis. El índice mitótico de la serie eritroide de la médula ósea humana es 44,8/1000, mientras que el de la serie mieloide es 20,2/1000 (J. B. Miale). El índice mitótico se puede calcular en los cortes histológicos. El considerable aumento del índice, desde displasia leve y moderada hasta displasia severa y carcinoma *in situ* del cuello uterino, corrobora la validez de la clasificación histológica de las neoplasias intraepiteliales.

4 Constituyentes celulares normales en citología exfoliativa

1. Epitelio superficial

Clasificación

Mientras que la citología de punción aspiradora se ocupa de las células parenquimatosas de diversos órganos, como células epiteliales de los folículos tiroideos, células acinosas de la mama, hepatocitos, células renales y células glandulares de la próstata, la citología exfoliativa convencional estudia las células epiteliales de las superficies mucosas, las células epiteliales de los conductos glandulares, los macrófagos o histiocitos y las células de la sangre. Estas células epiteliales derivan de los siguientes epitelios:

1. Epitelio pavimentoso simple que reviste a las superficies internas de los vasos (endotelio) y a las cavidades serosas (mesotelio). El mesotelio participa en el trasporte activo mediante pinocitosis y facilita y protege el movimiento de las vísceras. Aunque los organoides son escasos, abundan las vesículas pinocitósicas.
2. Epitelio cuboide simple que reviste a los folículos de la tiroides, a los bronquíolos terminales, a los conductillos biliares, etc. Su forma se modifica de acuerdo con la función celular.
3. El epitelio columnar simple es el que tapiza a la superficie mucosa del estómago, intestino, endocérvix, vesícula biliar y conductos excretores de las glándulas. Este epitelio participa en la absorción y secreción, y ejerce una acción protectora y lubricante.
4. Epitelio columnar seudoestratificado que aparenta tener varios estratos porque los núcleos de las células de revestimiento se hallan a distintos niveles; no todas las células llegan a la superficie. Este epitelio cubre a la mucosa de la cavidad nasal, senos nasales, tráquea y bronquios.
5. El epitelio pavimentoso estratificado comprende la variedad queratinizante que cubre a la piel y la no queratinizante que reviste a la mucosa de la boca, esófago, hocico de tenca y vagina. Este epitelio protege a la mucosa y evita la pérdida de agua.
6. El epitelio transicional, que es estratificado y consiste en células transicionales, cubre las vías urinarias, pelvis, uréter, vejiga urinaria y una parte prostática de la uretra. Las células transicionales varían de altura y tamaño de un lugar a otro de acuerdo con su función; el epitelio vesical es poliestratificado y consiste en células redondas o altas durante la contracción, pero si la vejiga está distendida estas células son elongadas y aplanadas.

Addendum: Especialización celular. Las células columnares son especializadas o modificadas de acuerdo con la función que cumplen. Los ribetes en cepillo se disciernen a la microscopia óptica en la superficie libre de las células como unas estriaciones longitudinales finas y compactas en las células del intestino delgado y del epitelio renal; esta especialización facilita la absorción.

En los bordes libres de las células mucosas de la cavidad nasal, bronquios, trompa de Falopio y endometrio existen cilias dotadas de rápidos movimientos rítmicos metacrónicos; las cilias intervienen en el trasporte de partículas y el ATP potencia su función.

Las células caliciformes son células columnares funcionalmente modificadas que se caracterizan por estar cargadas de glucoproteínas (gránulos de mucígeno) en las regiones apicales supranucleares y por tener sus núcleos en el extremo basal.

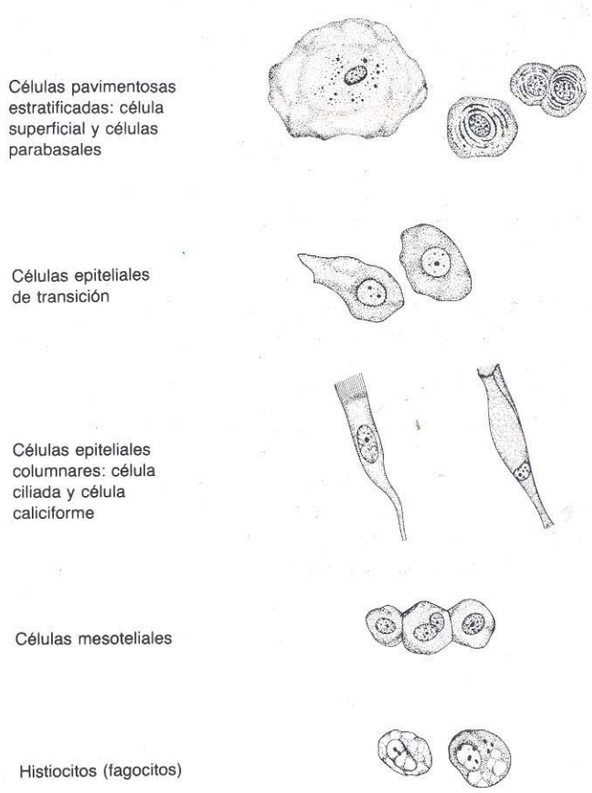


Fig. 24. Esquema de células normales representativas tal como aparecen en citología exfoliativa.

2. Epitelio glandular

Las células glandulares se clasifican, de acuerdo con los productos que secretan, en serosas, albuminosas y cimógenas. También se clasifican según el modo de descarga en merocrinas, apocrinas y holocrinas; los gránulos secretorios salen de las células sin pérdida de partes celulares en las glándulas merocrinas, en tanto que en las glándulas apocrinas los productos de la secreción se emiten junto con pequeñas partes apicales del citoplasma. Las células sebáceas pertenecen a una glándula holocrina típica que descarga el material acumulado junto con cuerpos celulares degenerados completos.

3. Células APUD en citología

En los últimos años se descubrieron en diversos órganos unas células que secretan polipéptidos de bajo peso molecular dotados de actividad hormonal, como adrenalina, noradrenalina y 5-hidroxitriptamina, y que sintetizan los precursores de estas aminas. En vista de que estas células poseen actividad aumentada de aminoácido descarboxilasa, la cual interviene en la síntesis de las aminas, se les dio el nombre de células APUD (*a*mine *p*recursor *u*ptake and *d*ecarboxylation). Los polipéptidos producidos por las células APUD[491] son glucagón en las células A de los islotes de Langerhans, insulina en las células B de los islotes de Langerhans, gastri-

Cuadro 23. Constituyentes celulares normales y benignos en muestras representativas

Muestra	*Constituyentes celulares*	*Forma*	*Cantidad*	*Aplicación*	*Comentario*
Raspado del orificio cervical	Células pav. superficiales Células pav. intermedias	Solas Solas a glomeradas	(+)–(++) (++)–(+)	Citología oncológica	El predominio de células superficiales o intermediarias es influido por el estado hormonal.
	Células endocervicales	Aglomeradas	(+++)		
	Células endometriales	Aglomeradas	(–)–(+)		La aparición de células endometriales después del 12º día del ciclo menstrual es sugestiva de patología endometrial.
	Histiocitos	Solos	(–)–(+)		
Raspado de la pared vaginal	Células pav. superficiales Células pav. intermedias	Solas Solas a aglomeradas	(+)–(+++) (+++)–(+)	Citología hormonal	La proporción entre células superficiales e intermedias depende del estado hormonal.
	Células parabasales	Solas	(–)–(+)		La escasa celularidad y el predominio de células parabasales indican posmenopausia.
				Evaluación citogenética	Se evalúan las células intermedias.
Esputo	Células pavimentosas Células colum. ciliadas	Solas Solas o a veces aglomeradas	(+)–(++) (+)–(++)	Citología oncológica	La relación entre células ciliadas y caliciformes es de unas 30 a 1; el predominio de células caliciformes indica irritación crónica, incluso tabaquismo intenso. La ausencia de células fagocitarias significa muestra insuficiente para citología pulmonar.
	Células caliciformes Fagocitos alveolares	Solas Solos	(–)–(+) (++)		
Cepillado bronquial	Células ciliadas	Solas o aglomeradas	(+++)	Citología oncológica	La cantidad de fagocitos y de partículas de polvillo reflejan la contaminación del aire.
	Células caliciformes	Solas	(+)		
	Fagocitos alveolares	Solos	(–)–(+)		
	Células cuboides	Solas a aglomeradas	(–)–(+)		
Cepillado gástrico	Células colum. superf.	Aglomeradas	(+++)	Citología oncológica	Las células caliciformes indican metaplasia intestinal. Las células pavimentosas y fagocitos son contaminantes del tracto digestivo superior y tracto respiratorio.
	Células foveolares	Aglomeradas	(–)–(+)		
	Células caliciformes	Entremezcladas en grupos celulares	(–)–(+)		
	Células pavimentosas	Solas	(–)–(+)		
	Fagocitos alveolares	Solos	(–)–(+)		
Líquidos corporales	Células mesoteliales	Sincitiales o solas	(+)–(++)	Citología oncológica	El exceso de líquido es patológico de por sí. En el exudado son importantes los linfocitos (T o B), neutrófilos y otras células.
	Macrófagos (histiocitos)	Solos	(+)–(++)		
Orina	Células transicionales superficiales	Solas	(+)–(++)	Citología oncológica	Las células transicionales reflejan el estado hormonal en mujeres en edad de procrear. Las células renales pequeñas y redondas, así como los cilindros, son útiles para evaluar nefropatías.
	Células transicionales profundas	Solas o aglomeradas	(+)–(++)	Evaluación del estado hormonal	
	Células pavimentosas	Solas	(+)		
	Células columnares	Solas	(–)–(+)		
	Células renales	Solas	(–)–(+)		
Secreción del pezón	Células espumosas	Solas	(++)–(+++)	Citología oncológica	La observación de una mezcla de eritrocitos, células inflamatorias y restos necróticos es de utilidad diagnóstica.
	Células columnares	Aglomeradas	(+)–(++)		
	Células pavimentosas	Solas	(–)–(+)		

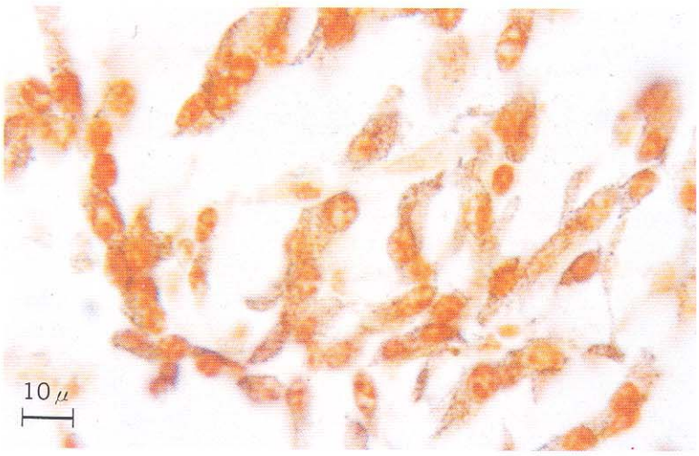


Fig. 25. Gránulos argirófilos en un carcinoide bronquial. Muchas veces el carcinoide bronquial que pertenece a un apudoma es positivo a la tinción argéntica. Extendido impreso teñido con el método de Grimelius.

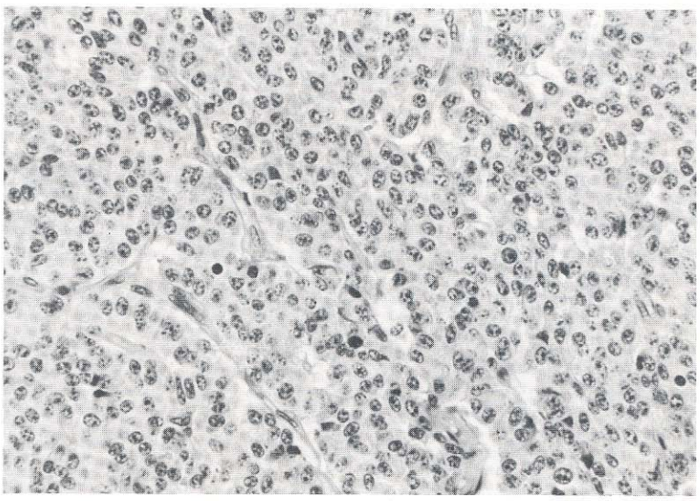


Fig. 26. Carcinoide bronquial común. Nótense las láminas sólidas de células tumorales ovoides uniformes, intersectadas por un escaso estroma vascular. El citoplasma es pálido y granular.

na en las células D de los islotes de Langerhans y en las células G del estómago, enteroglucagón en las células AL del estómago y EG del intestino, secretina en las células S del duodeno, hormona melanocitoestimulante (MSH) y adenocorticotrofina en la hipófisis y calcitonina en la tiroides. A las células argirófilas de Kulchitsky originadas en la cresta neural se las considera APUD y están distribuidas en diversos tejidos como epitelio bronquial, epitelio gastrointestinal y endocérvix.[645,646] Las neoplasias originadas en las células APUD elaboran ACTH, 5-hidroxitriptamina (5 HT), calcitonina (hCT) u otras hormonas polipeptídicas, y, en consecuencia, se denominan apudomas.[166]

En el examen citológico, las células tumorales de los apudomas despliegan un citoplasma tenuemente basófilo y finamente granular. Con la tinción argirófila de Grimelius se identifican unos pequeños gránulos neurosecretorios redondos de unos 100 a 200 nm de diámetro.

Addendum: Tumor funcionante. La serie APUD no explica de ninguna manera la producción hormonal ectópica porque hay células tumorales ajenas a esta serie que elaboran algunas hormonas ectópicas. Resumimos a continuación la producción hormonal por células tumorales:[721]

a) ACHT. Carcinoma de células de avena, tumor de los islotes pancreáticos, timoma, carcinoma papilífero y medular de tiroides, carcinomas gástrico y ovárico.
b) MSH. Carcinoma de células de avena.
c) ADH. Carcinoma de células de avena, hemangioblastoma cerebeloso y linfoma (enfermedad de Hodgkin).
d) PTH. Carcinoma espinocelular de bronquio, carcinoma vesical y carcinoma de útero y vulva.
e) TSH. Coriocarcinoma, mola hidatidiforme, carcinoma embrionario de testículo y carcinoma pulmonar.
f) Gonadotrofina. Hepatoma y carcinoma pulmonar.
g) Gastrina. Tumor de los islotes pancreáticos.
i) 5-hidroxitriptamina. Carcinoide de intestino delgado y apéndice.
j) 5-hidroxitriptófano, histamina. Carcinoide bronquial.

Aumento de la relación nuclear-citoplasmática

La relación entre el volumen nuclear y el citoplasmático se mantiene dentro de límites constantes en las células normales. El aumento del componente nuclear de esta relación[230,320,528,681] es uno de los rasgos más distintivos de malignidad. La relación nuclear-citoplasmática (relación N/C) no sólo es valiosa para distinguir malignidad, sino que da la pauta del grado de diferenciación de la célula cancerosa; cuanto menos diferenciadas son las células cancerosas, mayor es la relación N/C.

Puede ocurrir agrandamiento nuclear en células no malignas por irradiación, administración de agentes alquilantes, inflamación, metaplasia y regeneración, pero en estos estados las células no malignas exhiben un aumento de tamaño general y conservan la relación N/C dentro de límites benignos, de modo que se las puede diferenciar de las células malignas sin mayores dificultades.

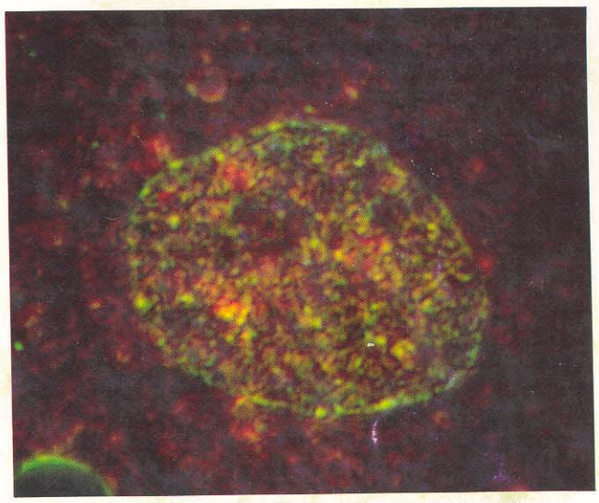


Fig. 29. Partículas de heterocromatina aumentadas en una célula cancerosa. Partículas de heterocromatina densamente distribuidas en una célula cancerosa no degenerada. De un carcinoma *in situ* del cuello uterino. Observación con luz polarizada sobre fondo oscuro.

Hipercromía del núcleo

Koss define el término "hipercromatismo" como una

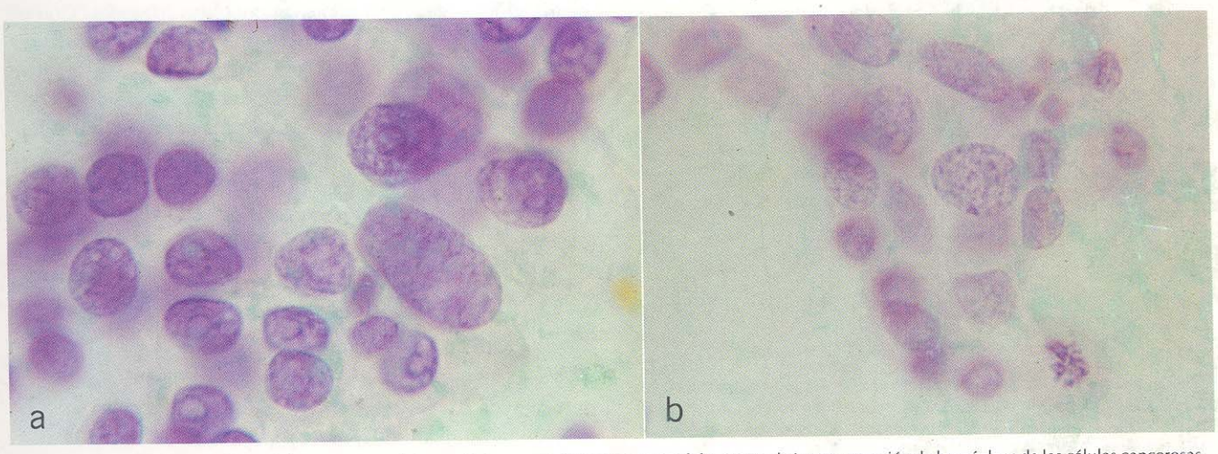


Fig. 30. Reacción de Feulgen en células cancerosas (a) y en células mesoteliales en actividad (b). Nótese la intensa reacción de los núcleos de las células cancerosas que varían de tamaño. No aparece reacción en las áreas nucleolares. La mayor cantidad y dispersión del contenido de DNA, medido con microespectrofotometría, se deben a la poliploidia y aneuploidia.

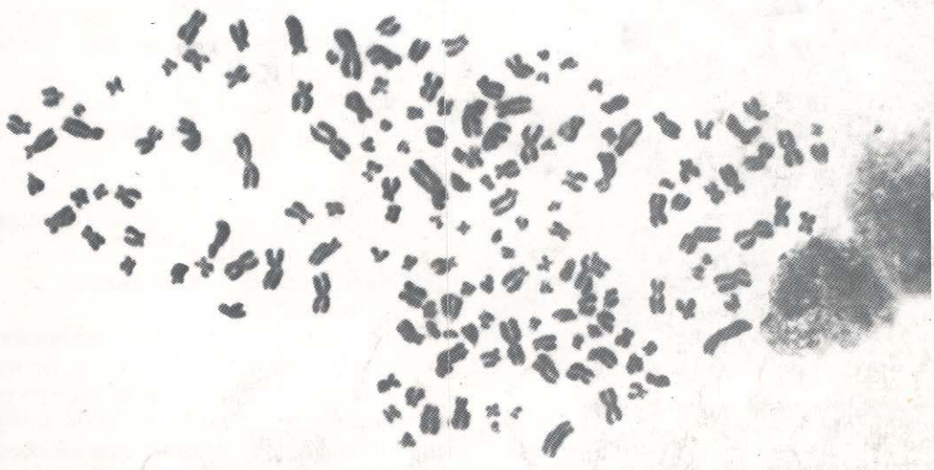


Fig. 31. Célula hiperploide con 157 cromosomas en un caso de ascitis. Esto pertenece a la muestra de la figura 30a. La llamativa poliploidia que aparece en derrames como éste no se suele reconocer en el tumor primario. Es probable que esto se deba a endomitosis o endorreduplicación en el líquido.

tinción perceptiblemente más oscura de los núcleos a la microscopia óptica, de modo que esto significa mayor concentración de DNA y mayor tingibilidad de sustancias basófilas (heterocromatina) en los núcleos en lugar de un simple aumento del DNA. Los núcleos hipercrómicos grandes suelen ser poliploides y hacen el diagnóstico de malignidad. De acuerdo con estudios espectrofotométricos, las células malignas en división activa no sólo contienen más DNA, sino que éste se halla ampliamente distribuido.[367,369,628] Las mayores cantidades de DNA son las causantes de la hipercromía para los colorantes básicos como verde de metilo[355,356] y azul de metileno, y de la fluorescencia acentuada con los fluorocromos de diaminoacridina. La existencia de células cancerosas normocrómicas[202] es atribuible a diversos factores que se interpretan como estado de la eucromatina, degeneración del DNA e hipodiploidia de las líneas clonales.

Aglomeración granular gruesa de cromatina

Además del hipercromatismo, la cromatina exhibe una distribución granular gruesa o en riendas gruesas e irregulares. Las aglomeraciones granulares de cromatina, que se definen como cromocentros, predominan más en las células malignas que en las benignas. El espacio comprendido entre los grumos gruesos parece libre de partículas de cromatina.

Las cromatinas asociadas con el nucléolo también aparecen en mayor cantidad y son más grandes, paralelamente al agrandamiento y multiplicación de los nucléolos.

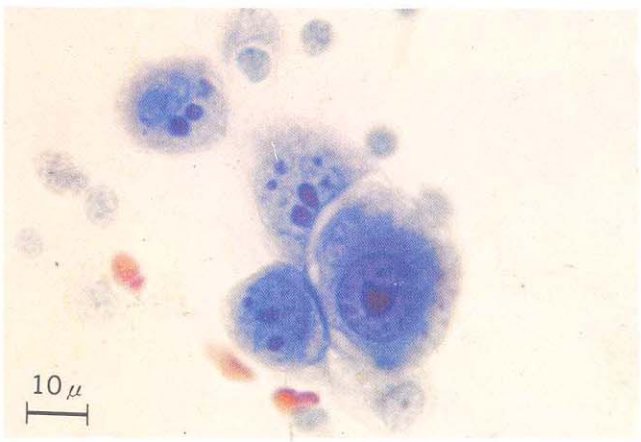


Fig. 32. Prominencia de los nucléolos en células adenocarcinomatosas. Los nucléolos se tiñen de púrpura rojizo con la coloración de azul de metileno y eosina. Aunque la cantidad de nucléolos varía por fusión en interfase, la multiplicidad es proporcional a la poliploidia y se la considera uno de los criterios de malignidad. Nótense los nucléolos redondos enormes, de contornos nítidos, y los halos perinucleolares. Esta figura es muy común en el adenocarcinoma.

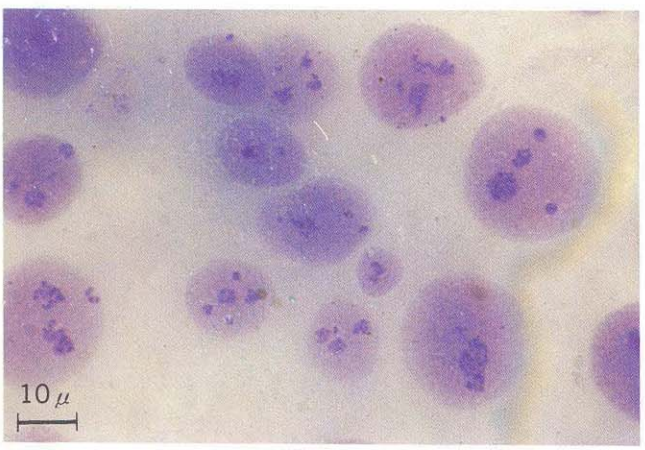


Fig. 33. Prominencia de nucléolos en células cancerosas. Aumento y variación de la cantidad de nucléolos y partículas en banda N. De una línea celular de un adenocarcinoma mal diferenciado de pulmón. Las partículas de banda N correspondientes a los organizadores nucleolares están dispersas en los nucléolos en interfase. Preparado secado al aire tras fijación con líquido de Carnoy y tratamiento con ClK 0,75 M durante 15 minutos, antes de la fijación.

Anormalidades de la cromatina sexual

En los cánceres de las mujeres pueden aparecer células cancerosas con cromatinas X anormalmente grandes o múltiples, mientras que la pérdida de la cromatina X es bastante más frecuente que la anormalidad de tamaño y/o cantidad (fig. 194). Las células cancerosas de los varones también se acompañan de anormalidades de las cromatinas Y. La pérdida o el aumento numérico sospechosos de malignidad.

Irregularidad y engrosamiento del borde nuclear

El borde del núcleo, que se solía llamar membrana nuclear, se engruesa y adquiere un contorno irregular. Con el microscopio electrónico se observan invaginaciones irregulares o indentaciones del borde nuclear (figs. 39 y 40). Recuérdese que la membrana nuclear se engruesa por condensación de cromatina en el borde del núcleo como signo incipiente de degeneración celular. De vez en cuando, en algunas células malignas se disciernen protrusiones nucleares anormales; esta figura anormal se debe a un cromosoma marcador.[29]

Aumento del tamaño y número de nucléolos

Todo agrandamiento del nucléolo en más de 5 μ de diámetro es muy sugestivo de malignidad. La relación nucleolar-nuclear está aumentada; el agrandamiento nucleolar se asocia con la síntesis de RNA y proteína. En la neoplasia maligna este aumento de tamaño también se debe a un bloqueo del trasporte de los productos nucleolares al citoplasma. Desde el punto de vista funcional del ciclo celular, los nucléolos observados con el microscopio óptico en la fase intermitótica pueden ser menos numerosos y destacarse más por fusión, en comparación con los que se ven justo después de la telofase, cuando los nucléolos reaparecen. La cantidad de nucléolos está dada por la cantidad de organizadores nucleolares que hay en los cromosomas.[717] Los nucléolos múltiples son atribuibles a la poliploidia; en teoría, la presencia de más nucléolos que los cinco juegos normales de organizadores nucleolares, significaría malignidad.

Multinucleación y multilobulación

La multiplicación y pronunciada indentación o plegamiento de los núcleos se deben a mitosis anormales: un buen ejemplo es la formación de células gigantes por endorreduplicación, pero recuérdese que también ocurre multinucleación en células benignas como las transicionales del tracto urinario, las mesoteliales en los derrames pleurales o peritoneales, las columnares de los bronquios o endocérvix, y los

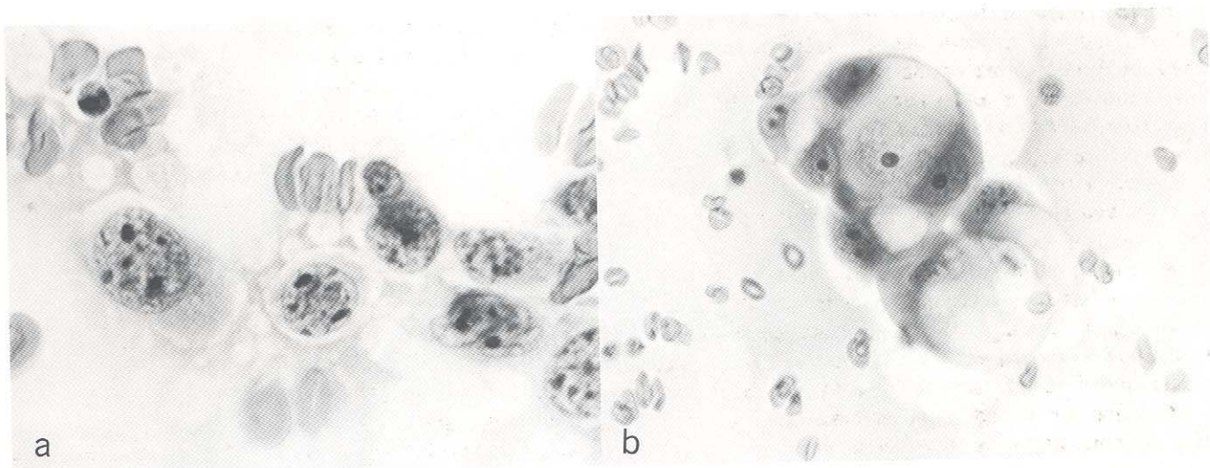


Fig. 34. Prominencia de nucléolos en células malignas. *a*, Vista muy ampliada de nucléolos múltiples en células linfomatosas histiocitarias. Además de la multiplicidad, en el reticulosarcoma son comunes las variaciones de tamaño y forma. *b*, Vista poco ampliada de enormes nucléolos en un grumo de células adenocarcinomatosas. En el adenocarcinoma diferenciado, el nucléolo redondo único se sitúa en el centro. (Azul de metileno y eosina.)

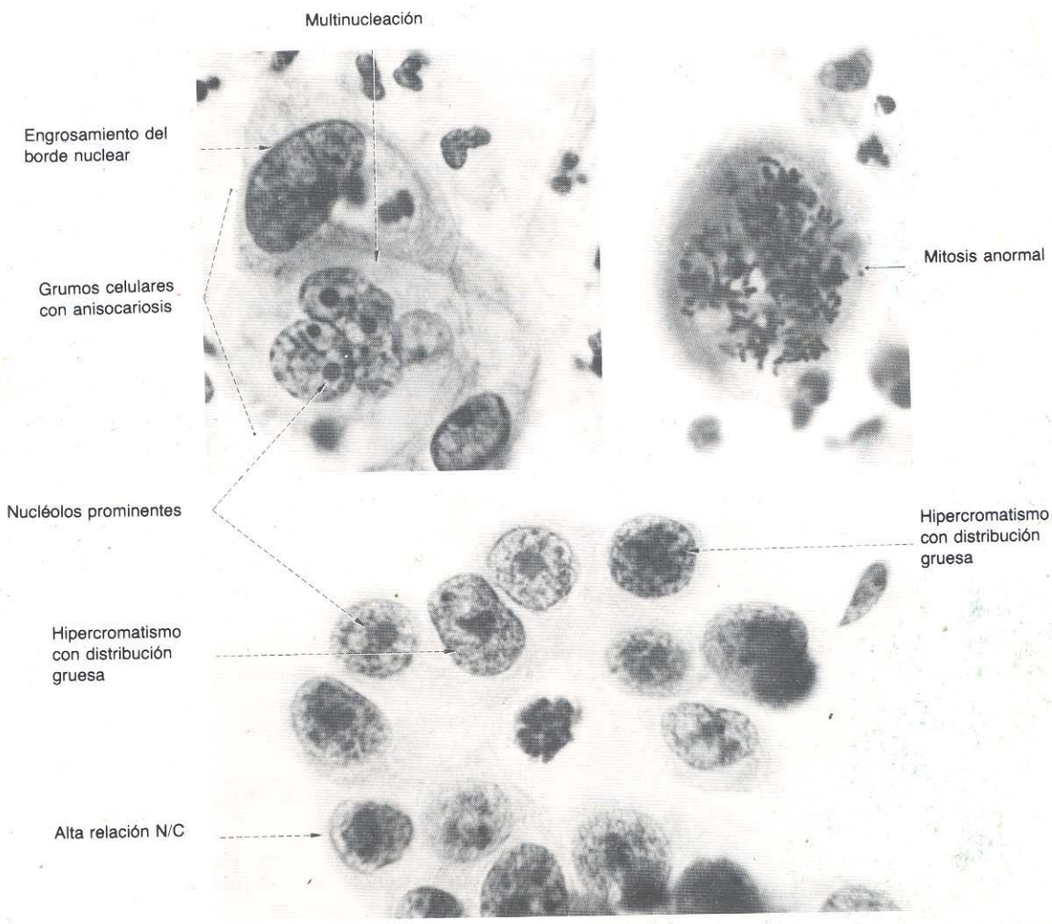


Fig. 35. Rasgos distintivos de malignidad.

histiocitos. La diferenciación entre multinucleación maligna y benigna debe basarse en la alta relación nuclear-citoplasmática, en la mayor cantidad de material cromatínico y en la irregularidad de su distribución, todo lo cual es característico de malignidad. En la multinucleación benigna los núcleos son de tamaño y forma uniformes y de igual contenido de cromatina.

Mitosis anormales

Aunque a veces se ven figuras mitóticas en los histiocitos y

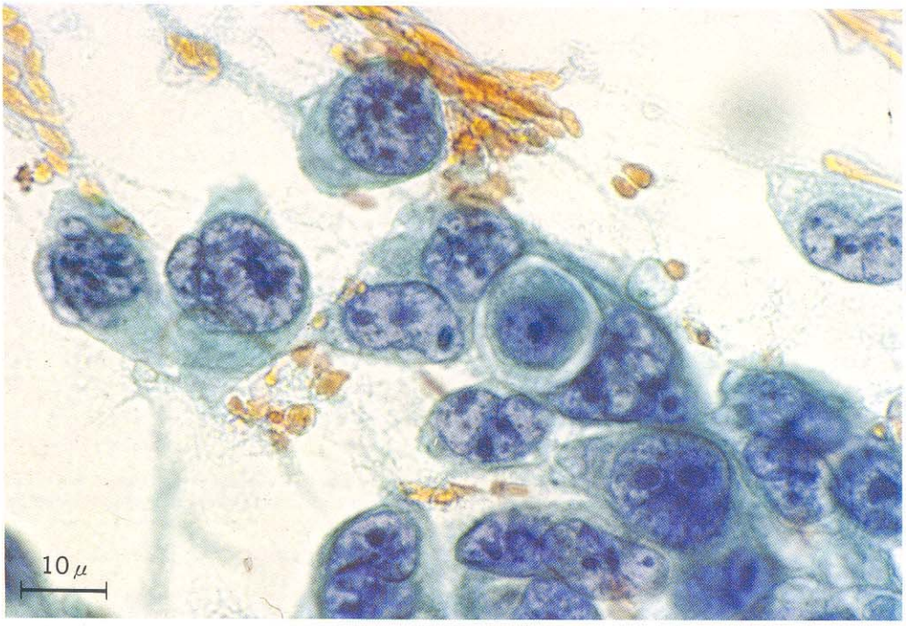


Fig. 36. Células malignas descamadas en un grumo suelto de un carcinoma gigantocelular de pulmón. Nótense los siguientes criterios completos de malignidad: 1) considerable agrandamiento nuclear; 2) gran aumento de la relación N/C; 3) pronunciado hipercromatismo con cromatinas gruesas; 4) prominencia de los nucléolos, y 5) variación del tamaño y forma de los núcleos.

células mesoteliales, las mitosis anormales y frecuentes significan malignidad. Las mitosis anómalas que caracterizan a las neoplasias malignas son placa en metafase hueca, cromosomas atrasados en anafase, división multipolar, división asimétrica y cromosomas polares. Los cromosomas multipolares y polares son los más útiles para diagnosticar malignidad (figs. 20-23).

Variaciones de tamaño y forma del núcleo y citoplasma

Estos son criterios muy notorios de malignidad. Hasta las células atípicas benignas pueden acompañarse de agrandamiento nuclear, prominencia del nucléolo e hipercromatismo de los núcleos, que son muy frecuentes en las neoplasias malignas, pero comparando las células malignas entre ellas se reconocen grandes variaciones de tamaño y forma en los núcleos y en el citoplasma.

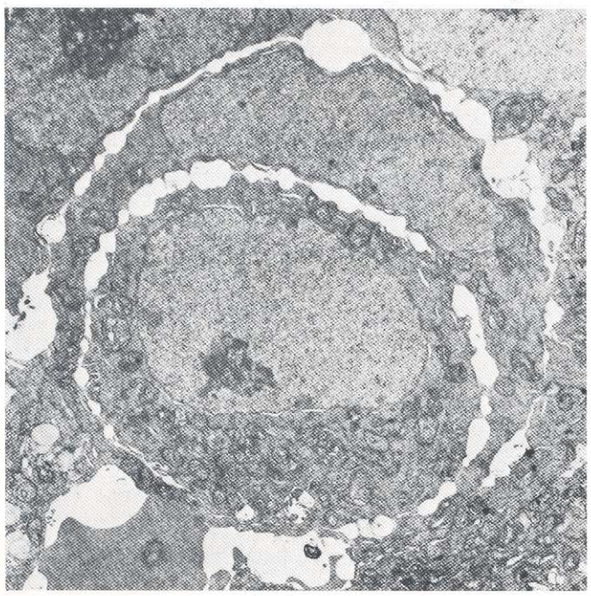


Fig. 37. Inclusión celular en células cancerosas cultivadas de un carcinoma pulmonar poco diferenciado. Esto no se debe a fagocitosis, sino que representa una íntima interrelación mutua.

Pérdida de especialización o especialización anómala

En la carcinogénesis se pierde la especialización de las células; por ejemplo, la presencia de cilias en las células del epitelio bronquial significa benignidad, mientras que en las neoplasias malignas es frecuente encontrar especialización anormal o desdiferenciación. En ocasiones se observa en el cistadenocarcinoma la ciliación de células cancerosas originadas en el ovario. También son buenos ejemplos la queratinización anormal en el carcinoma espinocelular y la enorme producción de moco con células en anillo de sello en el adenocarcinoma.

2. Rasgos malignos en aglomeraciones de células

Aglomeración celular con pleomorfismo y anisocariosis

Las células cancerosas de origen epitelial tienden a exfoliarse formando grumos de células, aunque es frecuente encontrar como células individuales más o menos degeneradas las del carcinoma espinocelular. Uno de los rasgos más característicos de malignidad en estas aglomeraciones celulares son las pronunciadas variaciones de tamaño y forma de los núcleos.

Distribución irregular de las células

Las células aglomeradas suelen hallarse apiladas en forma irregular o distribuidas en desorden. Esto se conoce como pérdida de la polaridad histológica del epitelio.

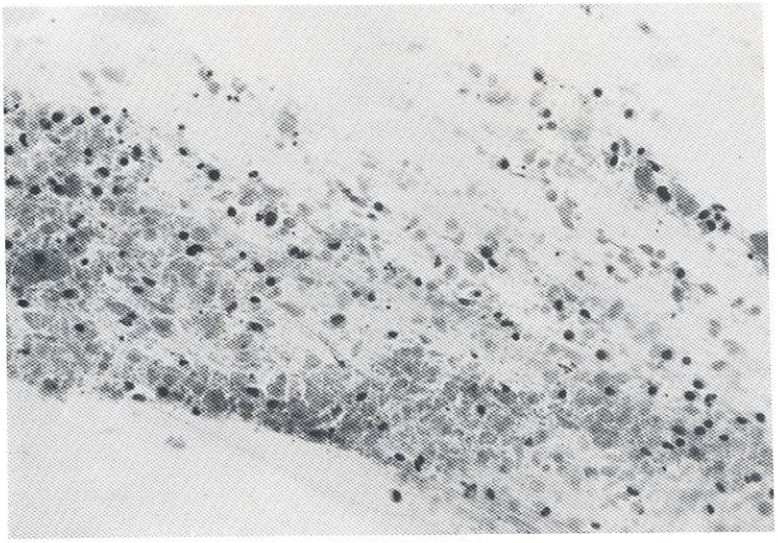


Fig. 38. Diátesis tumoral en el esputo de un paciente con carcinoma espinocelular de pulmón. Las células picnóticas dispersas que tienen núcleos en gotitas de tinta china dentro de los restos necróticos sugieren neoplasia maligna.

Presencia de células de inclusión y de células apareadas

La inclusión de células o canibalismo representa el estado en que una célula maligna se halla incluida en el citoplasma de otra célula maligna. A este fenómeno se lo explicó como "fagocitosis" de una célula maligna por otra. El contacto anormal de células cancerosas que han perdido la inhibición de contacto, puede originar invaginación citoplasmática, como si una célula esférica fuese ingerida por la externa, que emite una prolongación alada de su citoplasma; esta evidencia se puede interpretar por el hecho de que las membranas celulares entre las dos células persisten y están desarrollados los desmosomas (fig. 37). Para el canibalismo verdadero hay otra explicación que atribuye la inclusión celular a una mitosis anormal con separación incompleta de las células. Las células apareadas son dos células distintas unidas entre sí en una porción de la membrana celular. También se considera que se originan en la separación incompleta de las células durante la mitosis.

3. Criterios indirectos de malignidad

Presencia de gran cantidad de eritrocitos y de histiocitos cargados de hemosiderina

La presencia de numerosos glóbulos rojos puede sugerir hemorragia y su importancia depende del examen para sangre oculta. En consecuencia, carece de significado en los extendidos directos de raspajes como curetajes cervicales, cepillados bronquiales y esofágicos y muestreos con globo gástrico, pero sí es importante en muestras como esputo, orina, líquido cefalorraquídeo y derrames corporales.

Diátesis tumoral*

Los tumores malignos suelen ser degenerados y necróticos. La presencia de detritos celulares necróticos y las llamadas células fantasmas se denomina "diátesis tumoral", que significa cáncer avanzado (fig. 38). El material lipoide forma parte de los tejidos necróticos y es fagocitado por los histiocitos. Por lo tanto, en ocasiones los histiocitos sudanófilos significan necrosis hística.

Addendum: Contenido de DNA y su significación citodiagnóstica. En un gran número de publicaciones se describieron cantidades aumentadas de DNA en los núcleos de las células malignas[5,25,156,238,302,368,372,361] porque el aumento de DNA en los núcleos en interfase en muestreos aleatorios de células, se considera proporcional a la ploidia cromosómica; este cuadro indica el modo de las líneas clonales del tumor.[346,391,533,623] Debemos señalar que las células benignas que sintetizan activamente o que han sintetizado DNA y están en el período intermitótico (fase S o G_2) pueden presentar mayor cantidad de DNA: en el estado de proliferación celular el histograma del contenido de DNA revela el segundo pico en la región tetraploide y algunos valores dispersos en la gama hipotetraploide. El histograma obtenido de tumores malignos de una sola clona revela el pico máximo en su propio modo y un valor doble de DNA como segundo modo.[61] El análisis cuantitativo de DNA demuestra que el carcinoma poco diferenciado despliega una pronunciada heteroploidia con líneas clonales aneuploideas. En cambio, en algunos carcinomas bien diferenciados se ve un valor modal de DNA en la gama diploidia, como sucede en los de próstata[732] y mama.[61] En consecuencia, se requieren otros marcadores morfológicos o bioquímicos adicionales para distinguir entre un carcinoma próximo a la diploidia y neoplasias benignas e hiperplasia. Muchas veces surgen dificultades para reconocer una diferencia neta en el histograma de DNA entre displasia severa, carcinoma *in situ* y carcinoma invasor incipiente del cuello uterino.

* *Nota:* En la diátesis tumoral los extendidos presentan: 1) restos de tejido necrosado, 2) precipitados proteináceos y 3) signos de hemorragia venosa, representada por depósitos de hemosiderina.

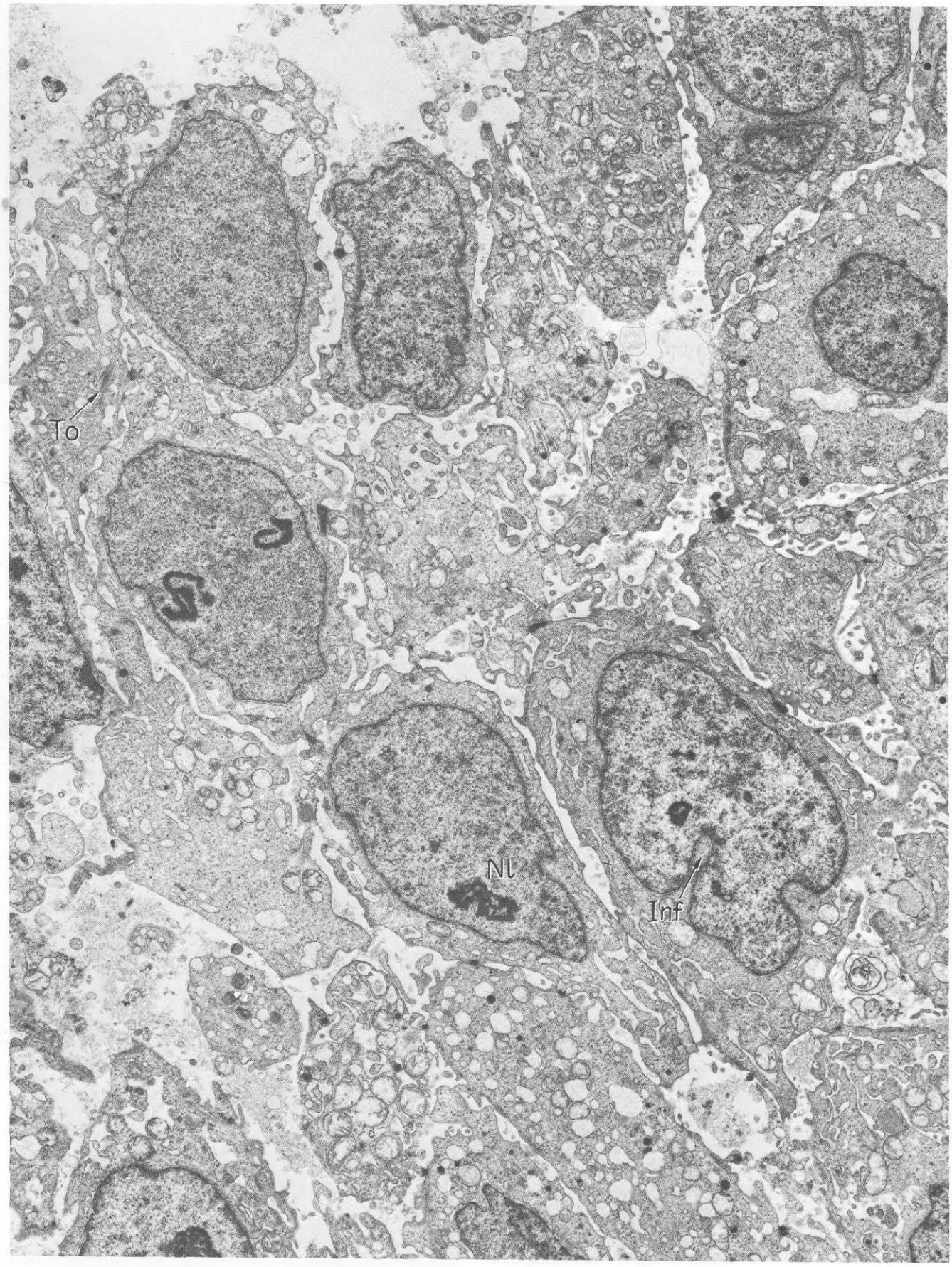


Fig. 39. Estructura fina del carcinoma epidermoide de pulmón. Nótese la variación del contenido de cromatina de una célula a otra. Los núcleos predominan en comparación con el citoplasma (relación N/C aumentada) y exhiben contornos irregulares, con invaginaciones ocasionales (*Inf*). Las tonofibrillas características de la diferenciación epidermoide se reconocen en forma focal (*To*). *Nl*, nucléolo. (× 4650.)

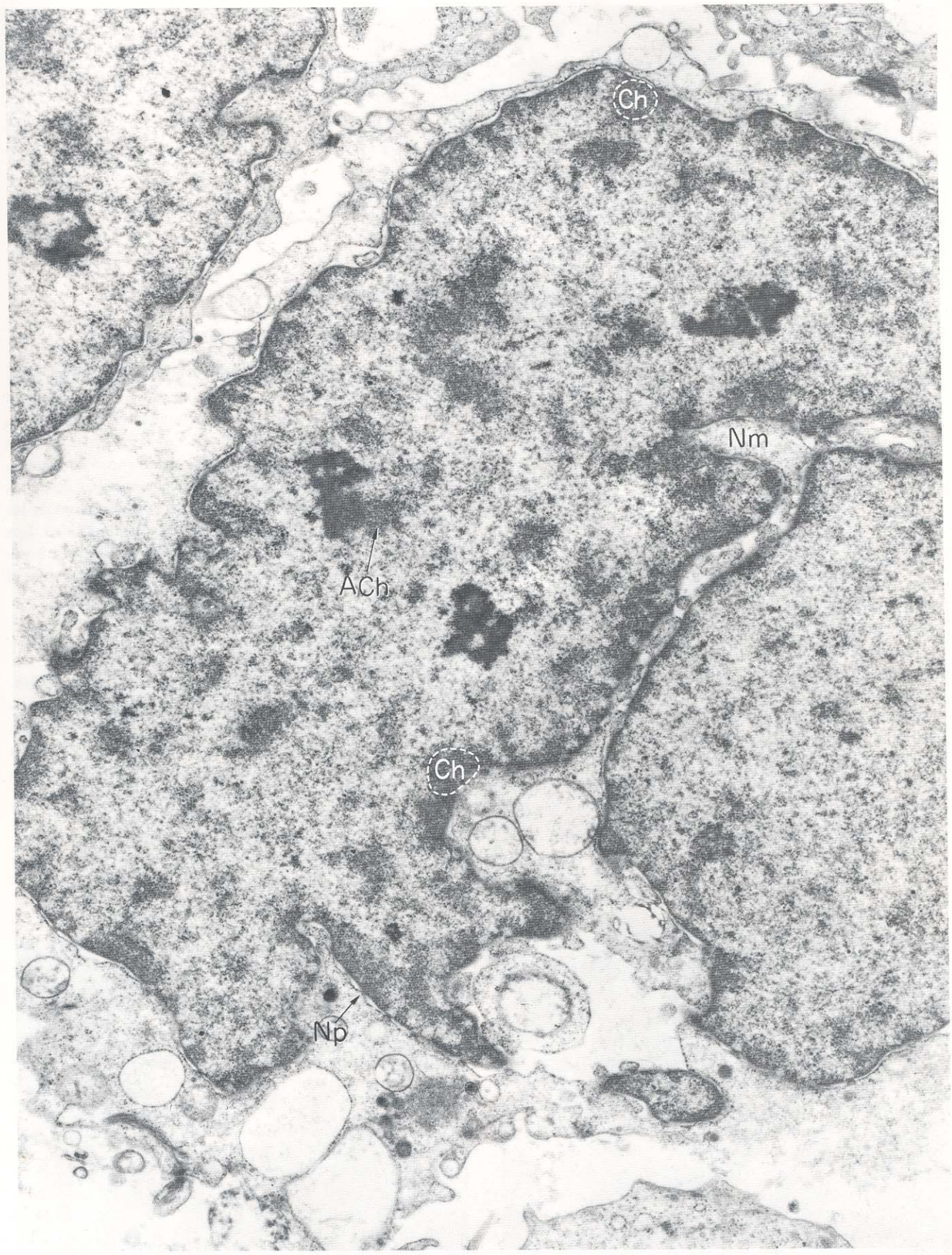


Fig. 40. Rasgos microscópicos electrónicos de malignidad. Hay mayor cantidad de grumos de cromatina, condensados a lo largo de la envoltura nuclear. Esto es la causa del engrosamiento del borde nuclear a la microscopia óptica. La membrana nuclear, con sus poros ocasionales, es tan irregular que forma invaginaciones. La menor cantidad de mitocondrias y el subdesarrollo del retículo endoplasmático representan desdiferenciación de células. *Ch*, cromatina; *ACh*, cromatina asociada con el nucléolo; *Nm*, membrana nuclear; *Np*, poro nuclear. (× 15.600.)

6

Diferenciación y desdiferenciación

1. Definición de diferenciación

Las células embrionarias que se desarrollan a partir del óvulo fecundado se organizan en tejidos y órganos. El proceso de la diferenciación o maduración celular es la etapa de especialización, y por lo general llega a un punto final de estructura y función estables. Las células normales muy jóvenes y las malignas indiferenciadas exhiben nucléolos más prominentes y núcleos más hiperplásicos que las células normales maduras y que las células malignas diferenciadas. El núcleo, que ejerce el control genético de la diferenciación celular, ocupa una posición central en las células embrionarias y después adopta una situación excéntrica durante la diferenciación celular a medida que se elaboran sustancias funcionales.[142] Los carcinomas anaplásicos y los tumores germinales presentan una posición nuclear central dentro de un citoplasma basófilo pálido y escaso.

La maduración celular se caracteriza por la diferenciación de la matriz citoplasmática y del plasmalema; el citoplasma de las células muy jóvenes es escaso, pálido, basófilo y de bordes borrosos. El citoplasma contiene gránulos ribosómicos libres que son los responsables de la basofilia. A medida que progresa la diferenciación (especialización en citomorfosis), el citoplasma aumenta de tamaño y aparecen organoides bien desarrollados como mitocondrias, aparato de Golgi, lisosomas y retículo endoplasmático, asociados con ribosomas.

2. Especialización

Especialización de la matriz citoplasmática

Este fenómeno está representado por el desarrollo de tonofibrillas, miofilamentos y neurofilamentos, etc. Las tonofibrillas, que se reconocen en las células pavimentosas de la epidermis, son los elementos fundamentales que mantienen los citoesqueletos; miden 30 a 60 Å de espesor y se aglomeran en haces que muchas veces terminan en dirección de los desmosomas. Los miofilamentos son característicos de las células musculares y están a cargo de la contractilidad. Los neurofilamentos son estructuras tubulares de 100 Å de espesor que se forman en las neuronas y corren paralelamente al cilindroeje.

Especialización del plasmalema

La diferenciación del plasmalema se manifiesta morfológicamente por el establecimiento de un contacto comunicativo entre las células y por la especialización de las membranas citoplasmáticas libres. Las uniones intercelulares, que están estructuradas para permitir el pasaje de moléculas, se pierden en las células trasformadas; en la microscopia electrónica las células cancerosas presentan contactos más simples que sus equivalentes normales. La especialización de las membranas citoplasmáticas está representada por un borde estriado, ribe-

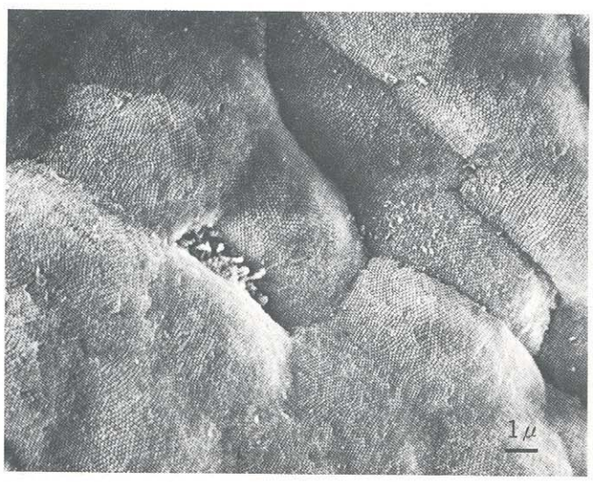


Fig. 41. Epitelio intestinal de rata, con su ribete en cepillo a la microscopia electrónica de exploración.

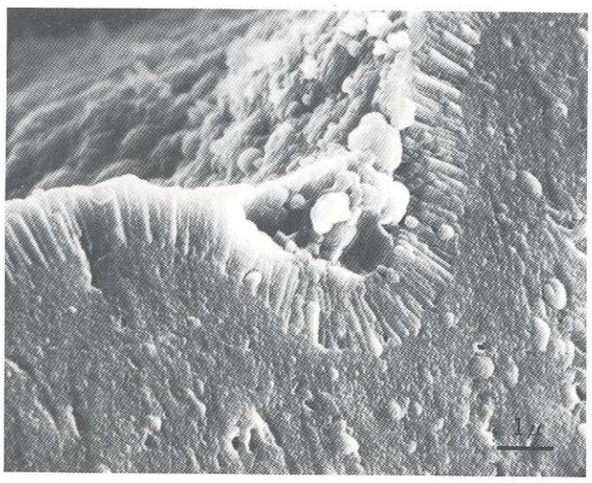


Fig. 42. Superficie del epitelio intestinal de rata vista con mayor aumento.

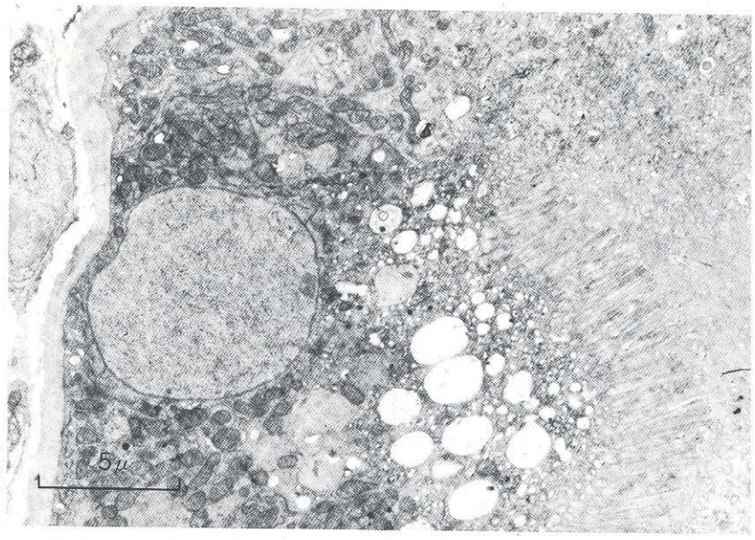


Fig. 43. Especialización de la superficie libre de la célula. Micrografía electrónica de los ribetes en cepillo del túbulo contorneado proximal. Nótense los elementos vellosos densamente aglomerados.

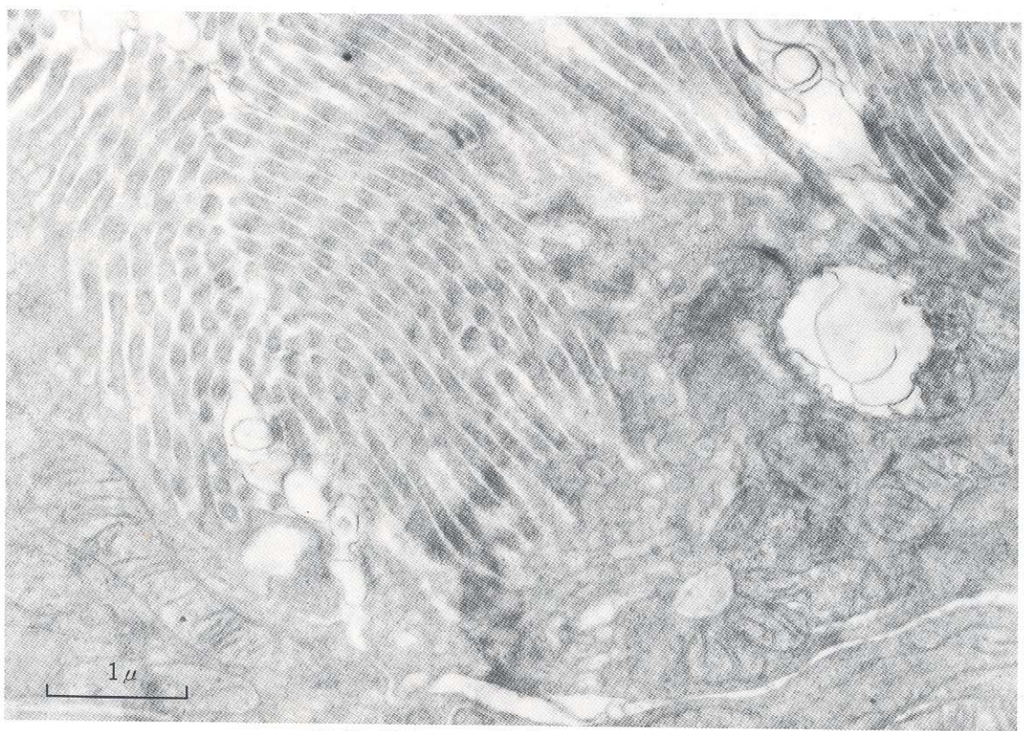


Fig. 44. Ribetes en cepillo vistos con mayor aumento.

te en cepillo, cilias, etc. Los bordes estriados se desarrollan de manera característica en los márgenes epiteliales del intestino (figs. 41 y 42). Éstas son unas prolongaciones cilíndricas delgadas e individuales de 0,5 a 1 μ de longitud y de unos 80 nm de diámetro. Los ribetes en cepillo se ven en los túbulos contorneados proximales del riñón y son similares a los bordes estriados (figs. 41 y 42), pero se diferencian en que los elementos vellosos aglomerados o fusionados forman unas invaginaciones tubulares funcionalmente compatibles con pinocitosis.

La célula ciliada normal de los vertebrados posee centenares de cilias de unos 5 a 10 μ de longitud por 0,2 μ de espesor, constituidas por dos filamentos centrales y nueve periféricos (figs. 45-47). En la carcinogénesis experimental se pueden inducir anormalidades en la estructura de las cilias; en pacientes con carcinoma pulmonar y en animales que han inhalado cancerígenos, se observan cilias compuestas, con múltiples filamentos axiales distorsionados y una localización no apical atípica.[257] En la diferenciación celular normal, el epitelio pavimentoso estratificado se diferencia desde las células basales hacia las células superficiales cornificadas. En consecuencia, puede decirse que las células cornificadas son más diferenciadas que las basales. Las células cancerosas también experimentan el proceso de diferenciación, aunque ésta puede ser incompleta o desordenada. El grado de diferenciación está dado por la similitud entre las células tumorales y los respectivos tejidos originales. El hepatoma con desviación mínima podría pertenecer a la forma más

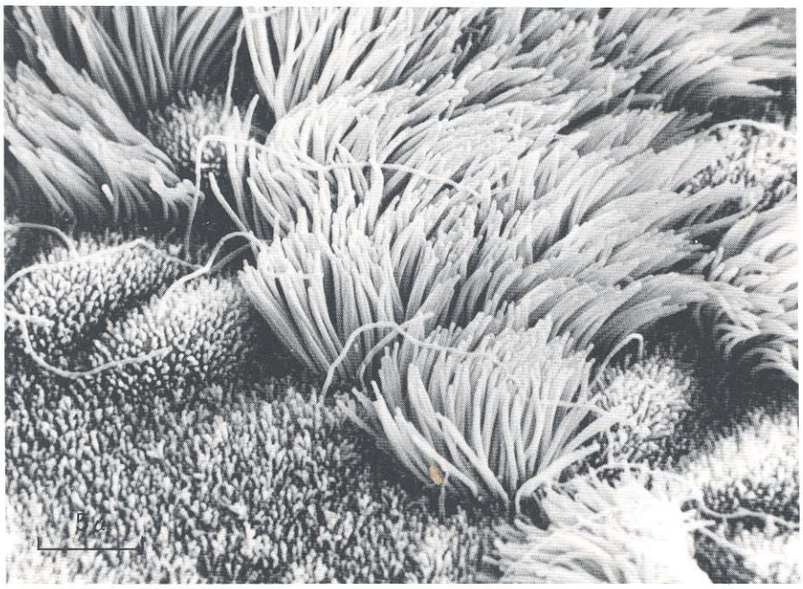


Fig. 45. Cilias de la trompa de Falopio humana vistas con microscopia electrónica de exploración.

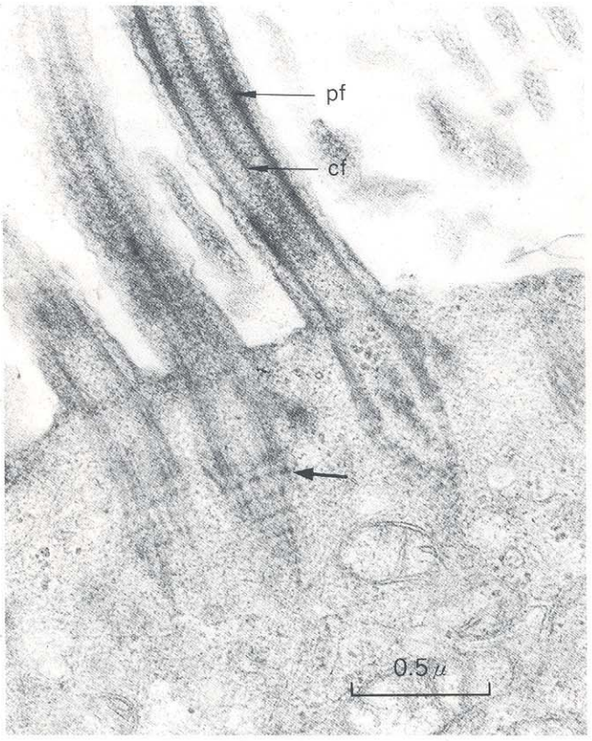


Fig. 46. Micrografía electrónica de un corte longitudinal de las cilias nasales. Nótense un filamento central electrondenso (*cf*) y los filamentos periféricos (*pf*). La raicilla posee estriaciones (*flecha*).

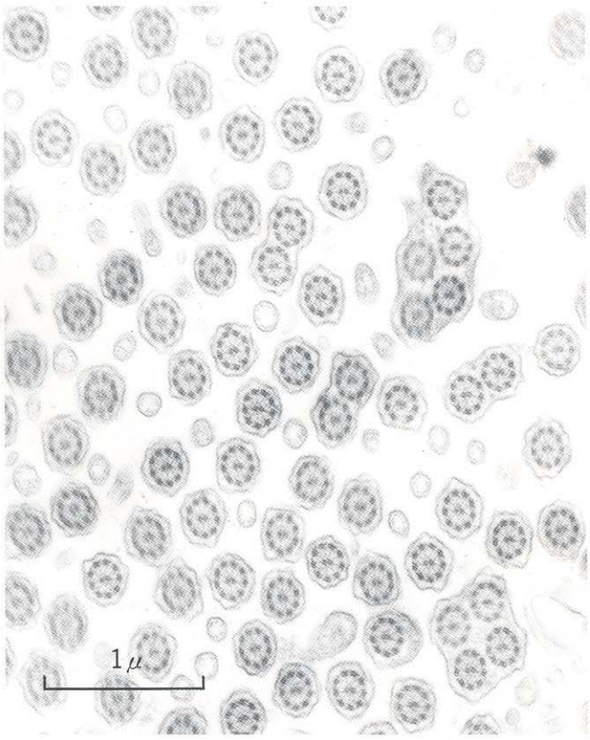


Fig. 47. Micrografía electrónica de un corte trasversal de una cilia. Cada cilia está constituida por dos filamentos centrales y nueve periféricos.

extrema. El cancroide con formación de perlas y el carcinoma mucosecretante, son formas bastante diferenciadas de carcinoma espinocelular y adenocarcinoma, respectivamente. Debemos señalar, empero, que la diferenciación celular en los aspectos morfológico y funcional no es paralela siempre a la malignidad biológica. El melanocarcinoma y el carcinoma mucosecretante, por ejemplo, son bastante diferenciados desde el punto de vista funcional, pero muchas veces se comportan como tumores malignos que dan metástasis. En cambio, el carcinoma (epitelioma) basocelular de la piel, que tiene un aspecto más inmaduro que el carcinoma queratinizante, es un tumor benigno desde el punto de vista biológico.

3. Desdiferenciación

La diferenciación retrógrada o desdiferenciación tiene lugar cuando una célula toma el camino contrario de la madura-

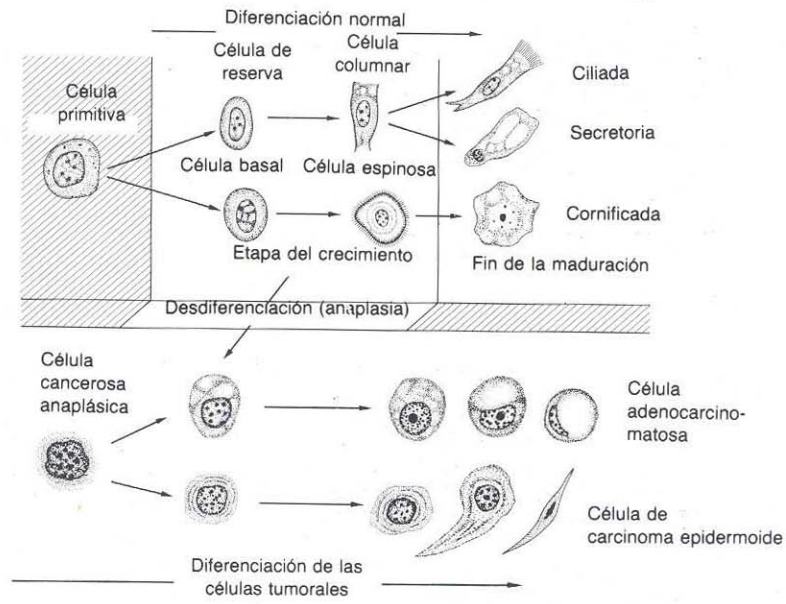


Fig. 48. Diferenciación y desdiferenciación de células.

ción citológica normal y retorna a su forma embrionaria, tal como se demuestra *in vitro* en la trasformación blastoide con PHA de los linfocitos T pequeños; desde el punto de vista morfológico esto se caracteriza por pérdida de la especialización y mal desarrollo de los organoides.[79] Hablando en términos generales, las células tumorales anaplásicas son ricas en ribosomas libres, poseen escasas mitocondrias y poco retículo endoplasmático áspero, y carecen de especialización. Mientras tanto, en ocasiones la célula adquiere el carácter y la energía de un crecimiento autónomo (anaplasia según Hansemann, 1920). No es probable que ocurra malignización en células normales y maduras por completo que se han de descamar. Las células sometidas a diversos mutágenos serían las que están en vías de crecimiento y diferenciación (fig. 48).

En citología exfoliativa muchas veces se habla de ''atipia'' o de ''atípico'' para denotar diferenciación retrógrada. Los anatomopatólogos muchas veces utilizan estos términos entendiendo un desarrollo anómalo o desviado sugestivo de carcinoma; pero los citólogos suelen emplearlos en un sentido relativo, tal como se lo representa en la clasificación de Papanicolaou o en la descripción de Stoll.[625]

4. Características bioquímicas en la desdiferenciación

Desde que se publicó el concepto de Greenstein sobre la simplificación bioquímica en la carcinogénesis, se ha estudiado la diferenciación retrógrada bioquímica hacia células fetales (desdiferenciación) o la diferenciación desviada respecto de las células normales de las cuales deriva el tumor (disdiferenciación). En los últimos años han aparecido tres direcciones principales en estos estudios; alteraciones de isoenzimas que intervienen en el fetalismo, producción de hormonas ectópicas y aparición de antígenos específicos para el embrión. Aunque los tumores indiferenciados originados en una variedad de tejidos se parecen entre ellos, la producción de una sustancia dada es específica de un órgano y se relaciona con la diferenciación de las células tumorales. La alfafetoproteína es un ejemplo de una sustancia que se produce específicamente en el carcinoma hepatocelular primario. Esta proteína no se produce en la misma medida en todos los casos de hepatoma y la elaboración es más pronunciada en el tumor de diferenciación intermedia. La producción de isoenzimas de tipo fetal como aldolasa A,[572] piruvato cinasa K,[166] subunidades H de LDH y transaminasa III de aminoácidos de cadenas ramificadas[298] es un importante criterio de malignidad y se dice que es más acentuada en los tumores de crecimiento rápido que en los de crecimiento lento.[166] En el capítulo sobre ''Isoenzimas vinculadas con malignidad'' se describe un enfoque citoquímico con técnicas tintoriales para isoenzimas relacionadas con neoplasias malignas.

5. Diferenciación experimental inducida en células tumorales y características bioquímicas respectivas

La diferenciación experimental inducida se ha aplicado a líneas celulares cultivadas *in vitro* y hace poco se empezaron a investigar sus manifestaciones en las características morfológicas y bioquímicas. La diferenciación inducida con rayos X,[515] con dibutiril adenosina 3':5'-monofosfato (dbc-AMP)[73,317,511,568] y con prostaglandina E_1 en presencia de inhibidor de fosfodiesterasa,[512] exhibe una diferenciación citoplasmática con aumento de tamaño de las células. Se sabe que el aumento del dbc-AMP intracelular inducido por activación de la adenil ciclasa de la membrana, es responsable de la acentuación de las funciones de proteína cinasa que intervienen en la síntesis de RNA, en la síntesis proteica,[513] en la actividad enzimática[57,203,537] y en la morfogénesis, como organización de microtúbulos, microfilamentos, etc. (fig. 49).

La prostaglandina E_1 es un estimulante de la adenilato ciclasa (Prasad y col.).[513] La papaverina (25 μg/ml) y la teofilina (1 mM) son conocidos inhibidores de la nucleótido cíclico fosfodiesterasa y ambas elevan el dbc-AMP intracelular. Haciendo el tratamiento *in vitro* con dbc-AMP en dosis óptima (0,5 a 1 mM) se registra un aumento de la cantidad de células diferenciadas a las 24 horas, pero la proliferación celular empieza a inhibirse más tarde, a los tres días de la administración, como consecuencia de la diferenciación celular (Prasad y Vernadakis)[515] (fig. 50).

En estos experimentos sobre diferenciación celular se solieron emplear líneas celulares cultivadas del sistema nervio-

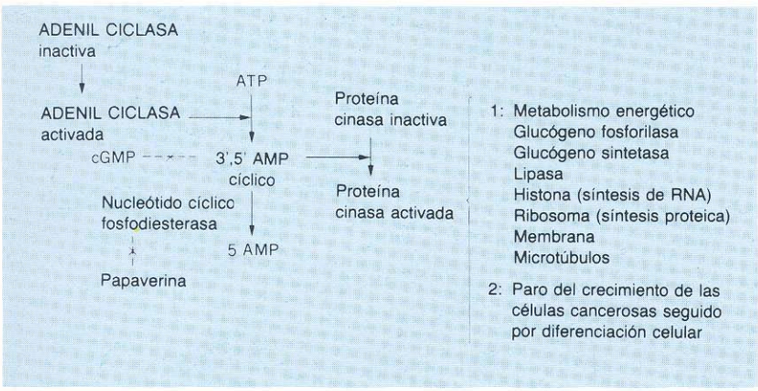


Fig. 49. Actividad funcional del 3',5'dbc-AMP en el metabolismo celular.

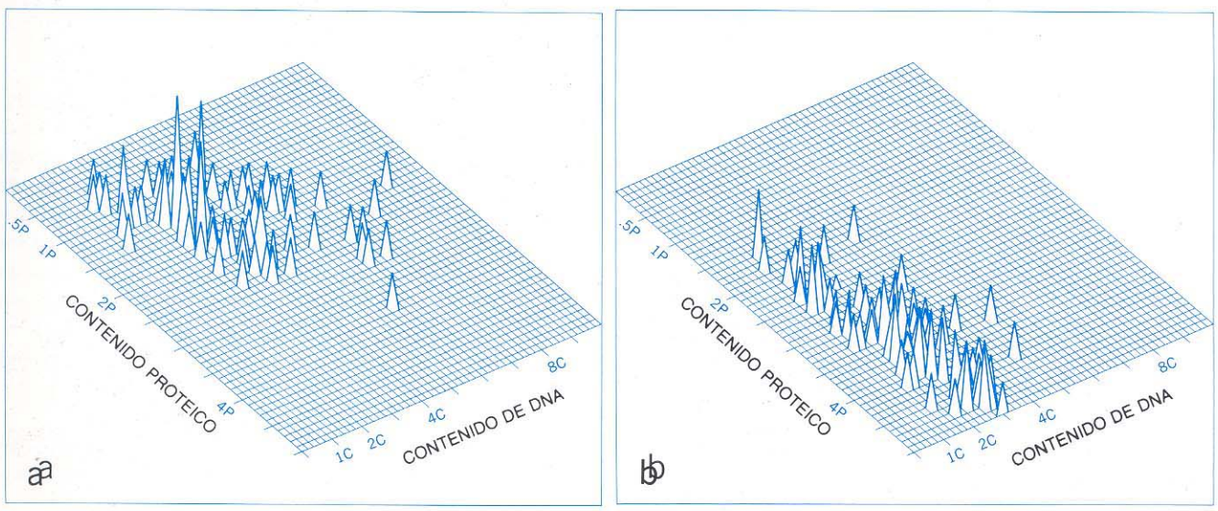


Fig. 50. Medición simultánea del contenido de DNA y proteína mediante microscopia fluorométrica (BH2-QRFL Olympus con combinaciones de filtro de excitación-espejo dicrótico-barrera filtrante) tras la estabilización de la fluorescencia con una técnica posirradiación.[738] Doble tinción con pararrosanilina-Schiff y ninhidrina-acriflavina. *a*, Línea celular PC 1 establecida a partir de un carcinoma espinocelular poco diferenciado de pulmón. Control: 72 horas después del pasaje sin dbc-AMP. *b*, Línea celular PC 1 a las 72 horas del pasaje con administración de dbc-AMP 1 mM. Se ha suprimido la proliferación celular y existe considerable síntesis de proteína (diferenciación celular) inducida por el dbc-AMP.

Cuadro 24. Alteraciones citoisoenzimáticas inducidas con dbc-AMP

	Ca. espinocelular poco diferenciado (CP 1)			*Adenoca. poco diferenciado (CP 7)*		
	Control	*dbc-AMP 0,5 mM*	*dbc-AMP 1 mM*	*Control*	*dbc-AMP 0,5 mM*	*dbc-AMP 1mM*
Termoestabilidad de la	0,5 KAU	16,9 KAU	31,6 KAU	1,4 KAU	70,2 KAU	67,9 KAU
fosfatasa alcalina*	100 %	91,1 %	12,3 %†	11,1 %	7,3 %	5,1 %†
Sensibilidad de fosfata-	4,9 KAU	7,6 KAU	14,3 KAU	30,0 KAU	76,9 KAU	42,9 KAU
sa ácida al tartra-	11,1 %	15,4 %	40,4 %†	7,3 %	34,0 %	66,3 %†
to **						
LDH total	1619 U.	2557 U.	2789 U.	3187 U.	6362 U.	5780 U.
Zimograma 1	0	0	0	3,8 %	4,5 %	2,0 %
2	12,0 %	12,8 %	26,9 %†	13,7 %	16,1 %	25,3 %†
3	51,7 %	47,5 %	40,3 %	34,9 %	29,0 %	29,3 %
4	36,3 %	39,7 %	32,8 %	38,3 %	43,9 %	36,0 %
5	0	0	0	9,3 %	6,5 %	7,4 %

Nota: Las actividades enzimáticas por 10^6 células se midieron a las 72 horas de la administración de dbc-AMP.
* La estabilidad citoquímica se examinó calentando 30 minutos a 56°C. No se hallaron isoenzimas placentarias.
** La sensibilidad citoquímica se examinó tratando con L-tartrato.
† Pronunciadas alteraciones de los valores.

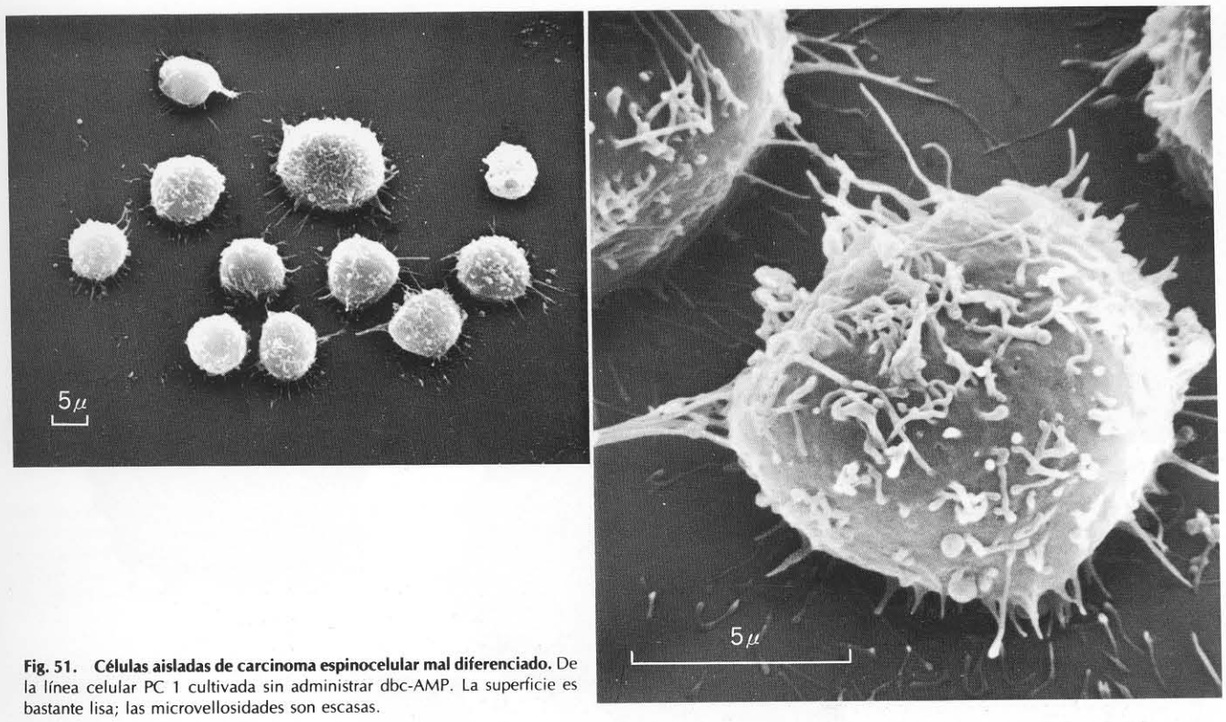


Fig. 51. Células aisladas de carcinoma espinocelular mal diferenciado. De la línea celular PC 1 cultivada sin administrar dbc-AMP. La superficie es bastante lisa; las microvellosidades son escasas.

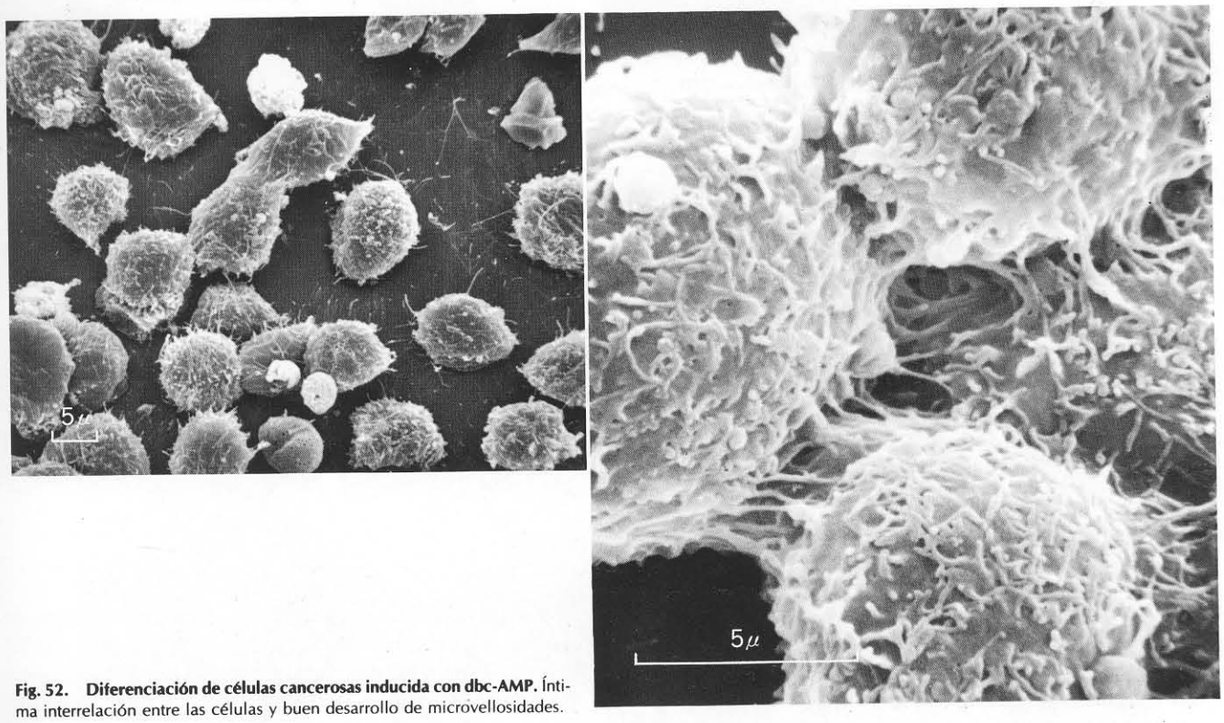


Fig. 52. Diferenciación de células cancerosas inducida con dbc-AMP. Íntima interrelación entre las células y buen desarrollo de microvellosidades.

so central, como neuroblastoma y glioblastoma, y se observó la aparición de prolongaciones de tipo axónico y un aumento de tamaño de las células, con maduración de los organoides. Se demostraron fuera de toda duda las mitocondrias, el aparato de Golgi y el retículo endoplasmático. Estos cambios morfológicos por diferenciación se pueden producir en líneas de células cancerosas, ocurriendo un evidente aumento de tamaño de las células, con abundante citoplasma, buen desarrollo de organoides, hipertrofia nuclear y nucleolar, y mayor cantidad de interdigitaciones entre las células (figs. 53 y 54).

De conformidad con la diferenciación morfológica obtenida con el dbc-AMP, se investigó la normalización de la actividad enzimática y se mencionó un pronunciado aumento en las actividades de acetilcolinesterasa tirosina hidroxilasa[512,537] y de colina acetiltransferasa[514] en células neuroblastomatosas inducidas con dbc-AMP. En nuestro laboratorio empleamos cinco líneas celulares cultivadas de carcino-

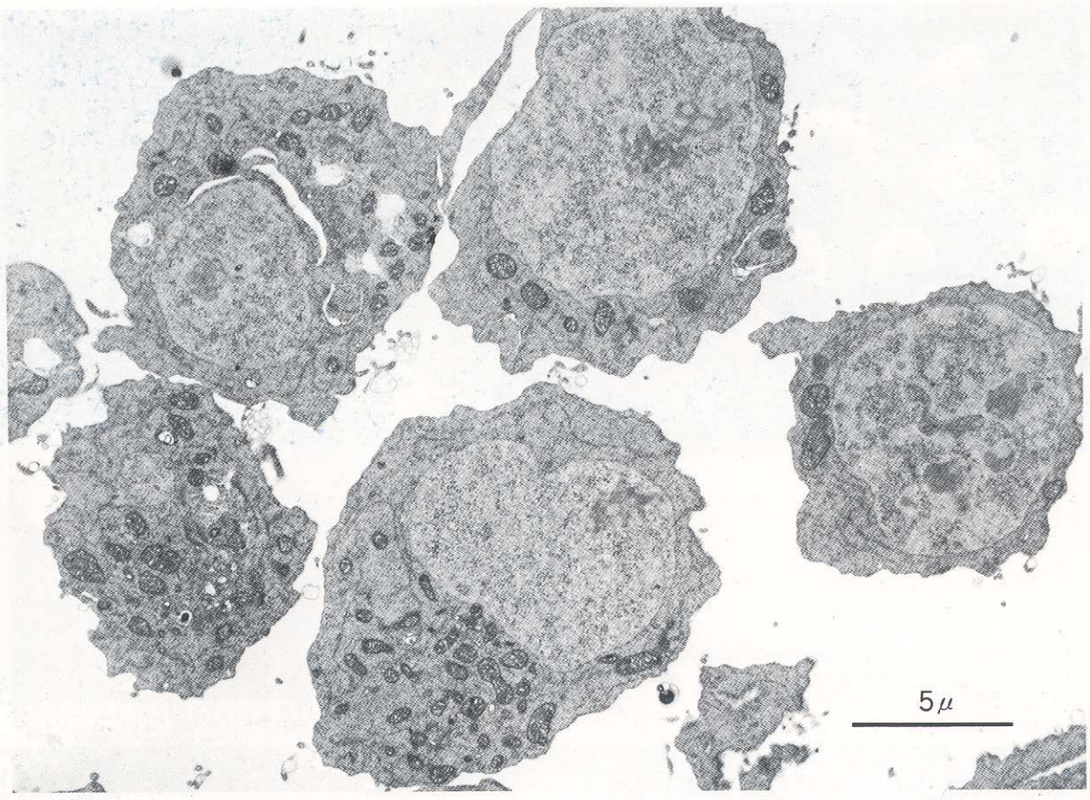


Fig. 53. Células aisladas de carcinoma espinocelular mal diferenciado. Las células cancerosas aisladas poseen núcleos muy grandes, con elementos electrondensos oscuros. El citoplasma es escaso y sus organoides están mal desarrollados.

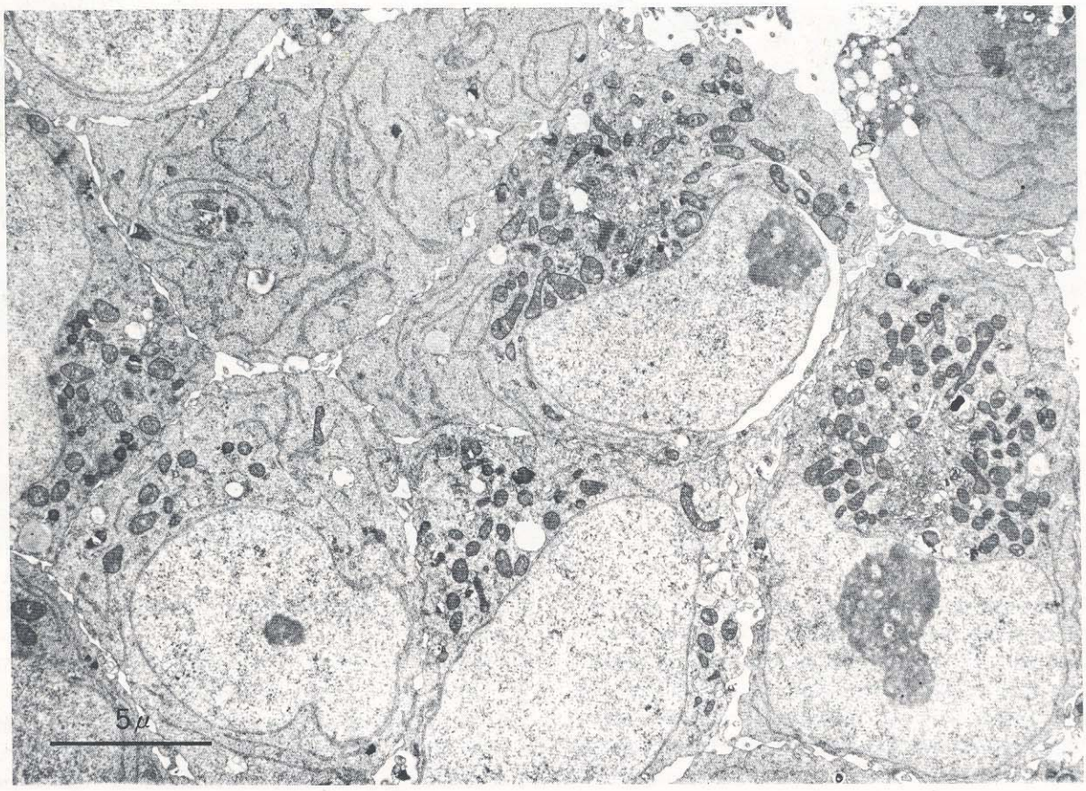
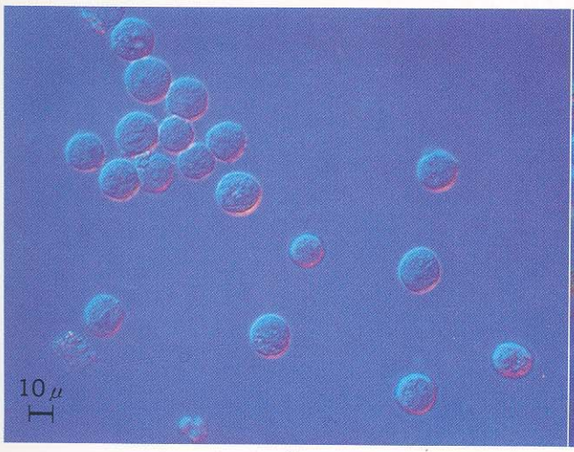
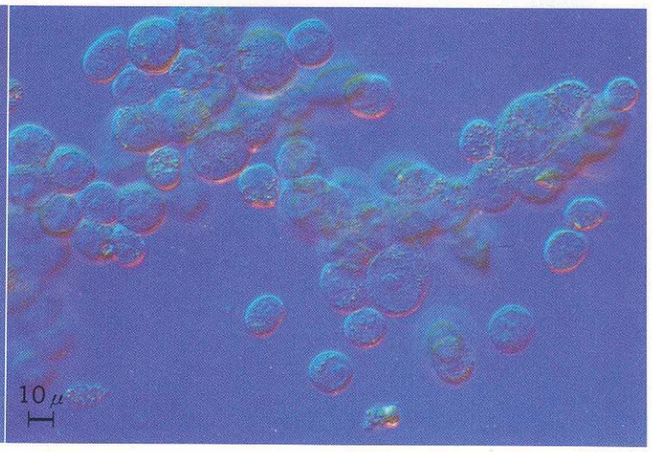


Fig. 54. Células cancerosas de un grupo en que se ha inducido la diferenciación. El citoplasma se torna abundante y exhibe organoides bien desarrollados. Hay una íntima interrelación entre las células. La diferenciación morfológica es responsable de la alteración citoisoenzimática.



55



56

Figs. 55 y 56. Diferenciación de células cancerosas inducida con dbc-AMP. La microscopia de interferencia diferencial (Nomarski) revela agrandamiento celular y mayor cantidad de finos gránulos citoplasmáticos que se atribuyen al metabolismo activado. Compárense estos cambios morfológicos con las alteraciones de las actividades enzimáticas (p. 44).
Fig. 55. Control sin dbc-AMP. Línea celular PC 1.
Fig. 56. A las 72 horas de administrar dbc-AMP 1 mM.

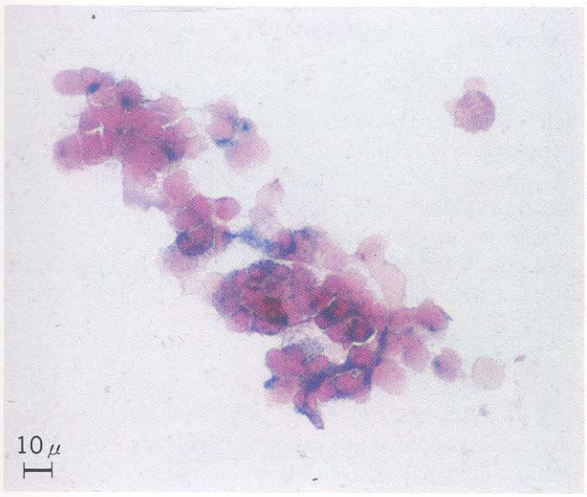


Fig. 57. Aspecto de la fosfatasa alcalina termolábil en células cancerosas tras la diferenciación inducida con dbc-AMP.

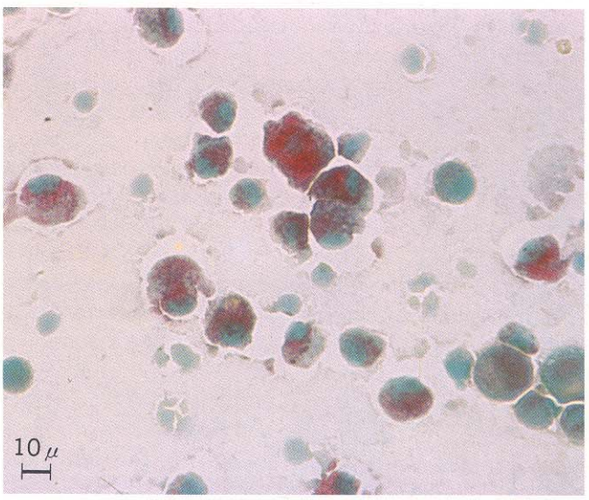


Fig. 58. Actividad aumentada de fosfatasa ácida en células cancerosas tras la diferenciación inducida con dbc-AMP. Se activó la fracción sensible al L-tartrato.

ma pulmonar (serie PC establecida por el Colegio Médico de Tokio) y pudimos inducir alteraciones enzimáticas hacia la benignidad en dos líneas celulares originadas en carcinomas espinocelulares y adenocarcinomas mal diferenciados; se registró un pronunciado aumento de la actividad total de fosfatasa alcalina, en particular de la variedad termolábil, moderada elevación del nivel de fosfatasa ácida sensible al L-tartrato y preponderancia de la subunidad H de LDH (LDH-2) (figs. 57 y 58; cuadro 24). Vale la pena señalar que la subunidad de LDH y la fosfatasa alcalina termolábil obtenidas con la diferenciación celular no se pudieron detectar con la técnica citoquímica. Sato y col. no describieron ninguna alteración en el cuadro de isoenzima de aldolasa en células glioblastomatosas cultivadas, pero sugirieron la importancia que puede tener el hecho de que se investiguen marcadores bioquímicos que reflejen la diferenciación y función de las células tumorales.[566]

En los últimos años se estudió mucho la inducción enzimática por los glucocorticoides.[743,749] Granner[741,742] describe una inducción adicional de la tirosina aminotransferasa mediante administración de dbc-AMP tras el tratamiento previo con glucocorticoides, de la línea celular de hepatoma de rata cultivado (HTC), aunque es muy probable que los efectos permisivos de los glucocorticoides sobre los procesos mediados por el AMP cíclico se deban a la supresión de la actividad de AMP cíclico fosfodiesterasa,[744] pues la interacción de los glucocorticoides con el AMP cíclico no se ha podido explicar biológicamente con claridad.

7 Discariosis y disqueratosis

En citología práctica los términos discariosis y disqueratosis se emplean en sentido amplio. Estas anormalidades celulares se originan en desviaciones de la diferenciación respecto del equilibrio normal entre el núcleo y el citoplasma.

1. Discariosis

Papanicolaou introdujo el término ''discariosis'' para designar los cuadros citológicos anormales vinculados con el cáncer incipiente del cuello uterino. Significa una hipertrofia anormal del núcleo, que no guarda proporción con una buena diferenciación de su citoplasma. En la actualidad este concepto es de uso común en citología del tracto genital femenino para designar anormalidades que están dentro de límites benignos y exhiben agrandamiento e hipercromía nuclear, irregularidad del borde nuclear y multinucleación. Como el citoplasma está bastante bien diferenciado, las células se pueden diferenciar como células pavimentosas discarióticas de los tipos parabasal, intermedio o superficial, y como células columnares discarióticas. Se dice que en las reacciones citoquímicas el citoplasma de las células discarióticas exhibe cualitativamente la misma maduración que las células pavimentosas normales, salvo que hay mayor actividad de succínico deshidrogenasa sólo en las células discarióticas parabasales.[64]

Grado

El grado de discariosis está comprendido entre escaso (leve) y pronunciado (avanzado), de acuerdo con la severidad de las anormalidades nucleares.[349] La discariosis leve se caracteriza por escasa hipertrofia nuclear, escasa hipercromía y cromatinas granulares pero de distribución pareja. En la discariosis pronunciada o avanzada hay rasgos nucleares normales que se parecen a los de las células cancerosas, como considerable hipercromía, relación N/C aumentada y cromatinas de gránulos un tanto gruesos. Los rasgos importantes que la distinguen del cáncer son la distribución pareja de los gránulos de cromatina, el plegamiento y/o rugosidad de la membrana nuclear, y la ausencia de nucléolos prominentes.

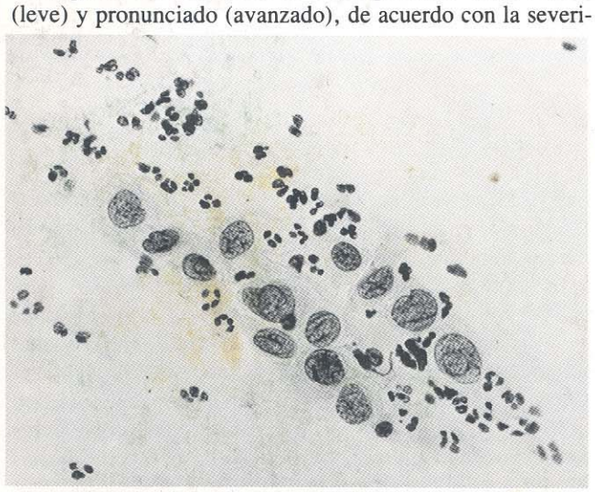


Fig. 59. Células discarióticas inmaduras. El agrandamiento nuclear con indentación y plegamiento de las membranas nucleares, junto con una fina trama de cromatina, significa displasia leve. El citoplasma se tiñe poco y es de bordes borrosos.

Madurez

El citoplasma de las células discarióticas no experimenta siempre una maduración suficiente. En consecuencia, a la discariosis se la clasifica en madura e inmadura, de acuerdo con el grado de madurez del citoplasma. Mientras que la discariosis madura presenta suficiente diferenciación como para que las células sean normales, bien tingibles y de bordes celulares nítidos, la inmadura se caracteriza por tingibilidad cianófila y bordes celulares borrosos.

2. Disqueratosis

A la célula discariótica se la define como una célula pavimentosa anormal que exhibe sobremaduración del citoplasma y diferenciación normal del núcleo. La sobremaduración citoplasmática se caracteriza por intensa naranjofilia y aparición de gránulos queratohialinos. En la disqueratosis se debe prestar atención a la displasia y se la debe buscar, porque esto sucede a menudo en el proceso de alteración displásica.

3. Seudoqueratosis

En el extendido con coloración de Papanicolaou satisfactoria, el citoplasma es intensamente naranjófilo en la queratosis o disqueratosis. En la queratinización avanzada se discierne a veces una naranjofilia refractiva brillante, como sucede en la displasia queratinizante y en el carcinoma espinocelular queratinizante. Muchas veces la irradiación origina diferenciación en las células cancerosas; en el cáncer espinocelular ocurre queratinización como respuesta a la radiación. Aparte de la queratinización de las células cancerosas, en conjunto las células despliegan un citoplasma muy acidófilo después de la irradiación (fig. 64). La inflamación es una causa de intensa eosinofilia que se presta a confusión

con disqueratosis; además de la eosinofilia citoplasmática, a menudo los núcleos son hipertróficos, hipercromáticos y poseen macronucléolos. En consecuencia, los cambios inflamatorios pueden prestarse para una citología positiva falsa y para una interpretación errónea del índice eosinófilo hormonal aumentado. Aunque la muerte celular acrecienta la eosinofilia citoplasmática, se la distingue porque se asocia con alteraciones nucleares, cariorrexis, picnosis y colicuación.



Fig. 60. Discariosis leve de células intermedias y parabasales. Los núcleos están agrandados y tienen un moderado aumento de cromatina, pero la distribución de la cromatina es fina y pareja.



Fig. 61. Discariosis avanzada de células intermedias y parabasales. Considerable hipercromía y contornos nucleares irregulares. Aunque las cromatinas son granulares, su distribución es pareja y la relación N/C se mantiene dentro de límites benignos. Nótese la doble nucleación consistente en núcleos de tamaño y forma iguales.

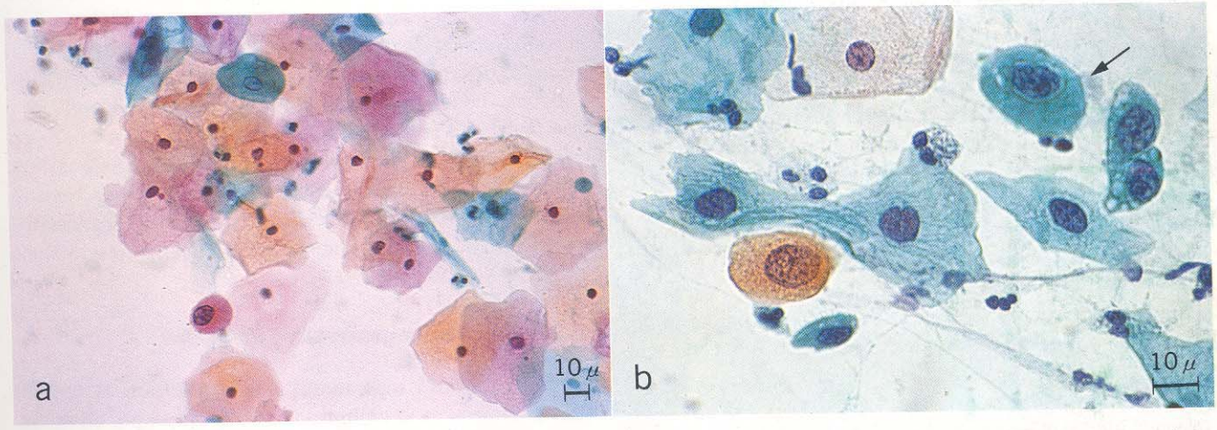


Fig. 62. Disqueratosis de una célula parabasal con naranjofilia anormal del citoplasma. *a*, Aparición abrupta de una célula parabasal disqueratósica en una citología normal. *b*, Célula parabasal disqueratósica con agrandamiento nuclear (*flecha*), vista con gran aumento. De un extendido con displasia leve.
Nota: La disqueratosis tiende a confundirse con la seudoacidofilia por inflamación o irradiación. El diagnóstico de disqueratosis debe hacerse después de haber descartado alteraciones inflamatorias y efecto de la radiación.

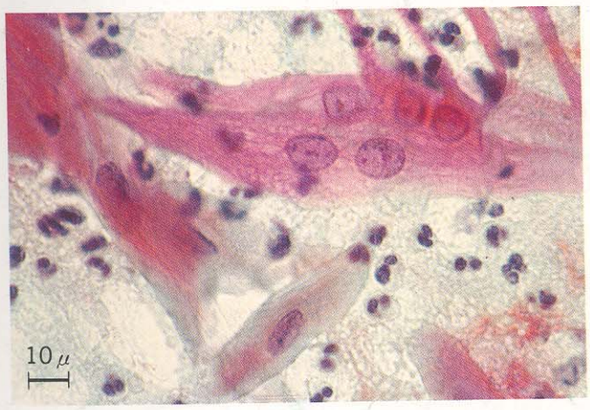


Fig. 63. Acidofilia por cervicitis. El citoplasma de todas las células epiteliales es eosinófilo. Esto no se debe a disqueratosis.

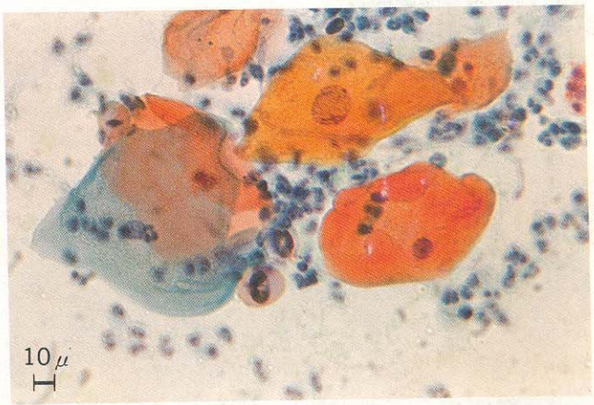


Fig. 64. Acidofilia por irradiación. Las células pavimentosas agrandadas por radioterapia exhiben intensa naranjofilia citoplasmática.

8 Alteraciones celulares que simulan malignidad

Las lesiones fronterizas o las precancerosas descaman células atípicas cuyos diversos grados de atipia significan desviaciones morfológicas desde la normalidad hacia la anaplasia. En los capítulos anteriores describimos la desdiferenciación o atipia. En este capítulo nos ocuparemos de las alteraciones que simulan malignidad en diversas lesiones progresivas con atipia.

1. Proliferación inflamatoria

La estimulación inflamatoria puede originar proliferación activa de células como respuesta directa a una noxa.

Puede ocurrir agrandamiento nuclear, hipercromatismo con engrosamiento del borde nuclear, tumefacción nucleolar y multinucleación. La interpretación de las alteraciones celulares inflamatorias se debe centrar en los cambios citoplasmáticos y en las estructuras de cromatina. Además de estar agrandado el núcleo, en la inflamación también es más grande el citoplasma, de modo que la relación nuclear-citoplasmática está muy poco alterada. Es probable que haya un halo o vacuolación perinuclear y englobamiento de leucocitos en el citoplasma. La forma de los núcleos varía de acuerdo con el grado de degeneración celular: algunas de estas células presentan unos núcleos poliédricos con condensación irregular de la cromatina, en particular en el borde nuclear, y algunas otras exhiben cariopicnosis o cariorrexis, en ocasiones asociada con acidofilia citoplasmática, mientras que en las células viables los núcleos son redondos y la cromatina es granular y pareja. Se considera que la multinucleación de células epiteliales ocurre por separación incompleta del citoplasma en la telofase. La multinucleación de las células benignas difiere de la que ocurre en las malignas por la baja relación nuclear-citoplasmática y por la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos.

2. Hiperplasia

La hiperplasia es un estado en que los tejidos u órganos están aumentados porque la cantidad de células es mayor. La hiperplasia se puede acompañar de hipertrofia celular, o sea un aumento del volumen de las células. Cuando esto sucede en los epitelios columnar, transicional y pavimentoso, las células del epitelio de revestimiento se multiplican y al mismo tiempo se retarda la maduración celular; muchas veces se observa hiperplasia de las glándulas endometriales, próstata, conductillos mamarios y epitelio endocervical o bronquial. La citología de las células epiteliales con hiperplasia benigna se caracteriza por un agrandamiento nuclear de contornos regulares y estructuras de cromatina bastante suaves, aunque a menudo se disciernen uno o dos cariosomas prominentes. La relación nuclear-citoplasmática está aumentada apenas.

3. Reparación (regeneración) de tejidos

Las reacciones reparadoras que ocurren en el epitelio pavimentoso y en el columnar se caracterizan por un agrandamiento nuclear y una prominencia nucleolar que simulan malignidad. La regeneración o reparación del epitelio superficial tras la ocurrencia de un defecto en el tejido, va a la formación de tejido de granulación. La epitelización empieza en el borde del defecto textural, cubriendo la base de la

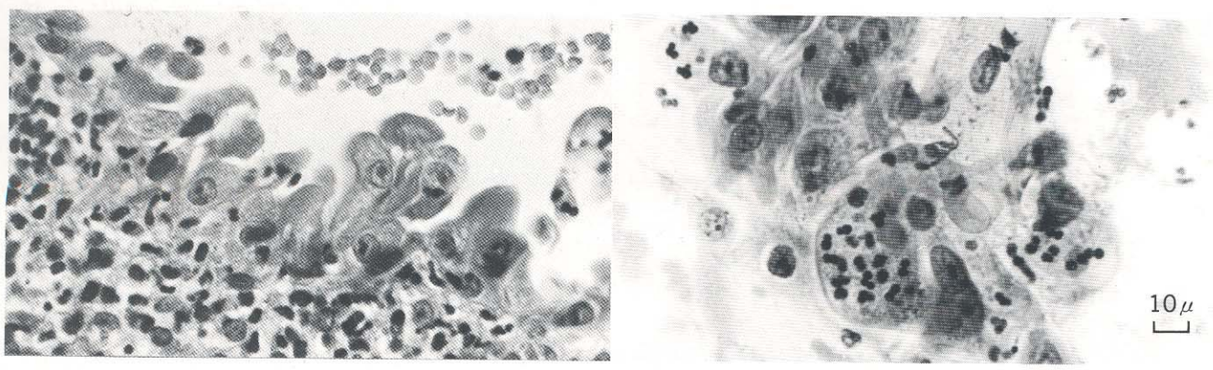


Fig. 65. Proliferación inflamatoria en la cervicitis crónica. Citología e histología de la hipertrofia inflamatoria. Los núcleos están agrandados, pero suelen ser de forma similar. Se destacan los nucléolos. El citoplasma es eosinófilo y exhibe englobamiento de leucocitos.

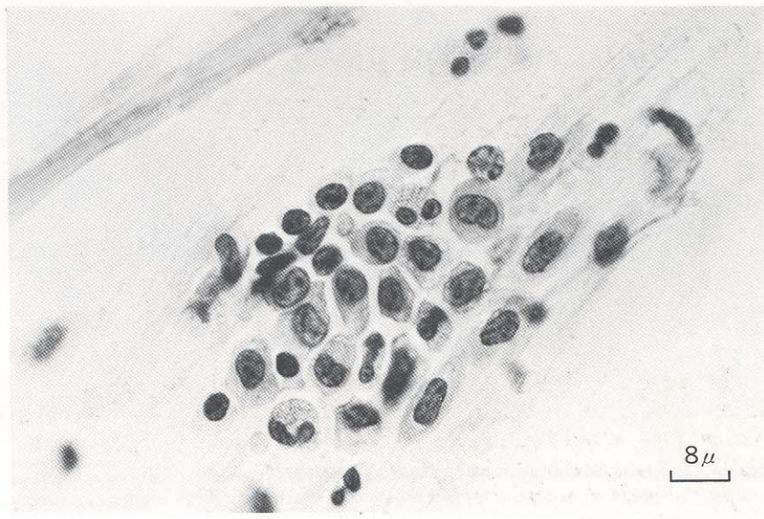
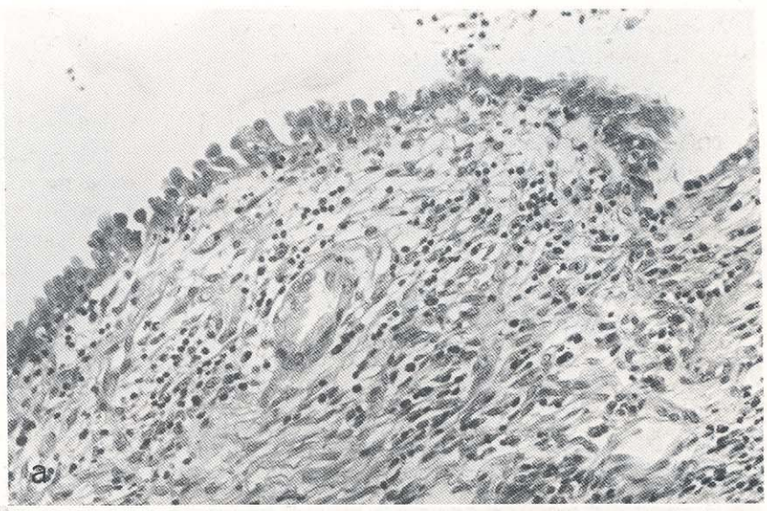


Fig. 66. Hiperplasia de células del epitelio bronquiolar. Hipertrofia de núcleos con hipercromatismo ligero a moderado. La cromatina es finamente granular y de distribución pareja, excepto en varios cariosomas. El citoplasma, columnar o poliédrico (metaplásico), es poco tingible pero está preservado.



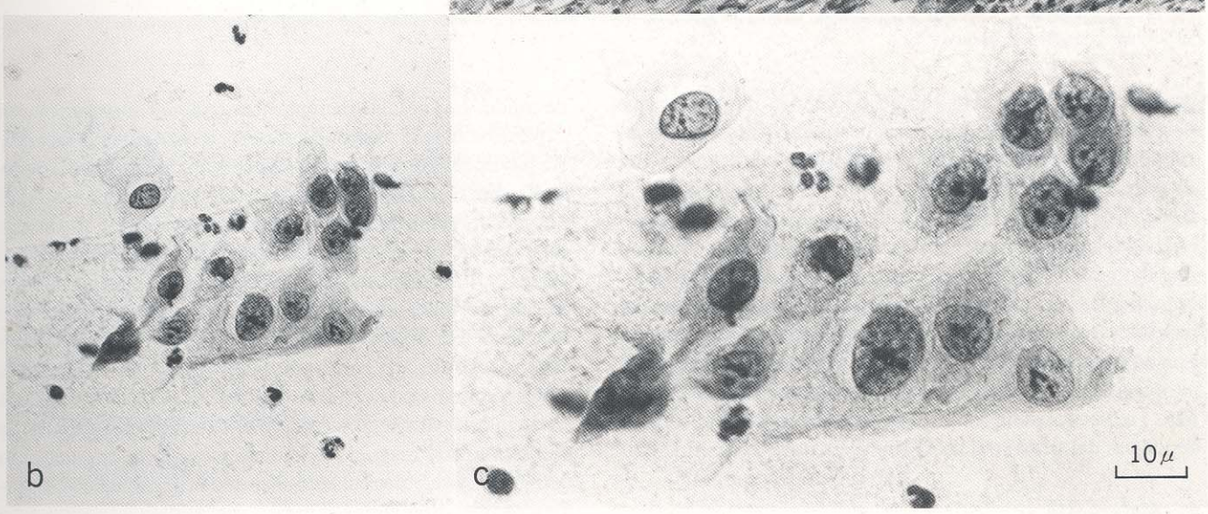
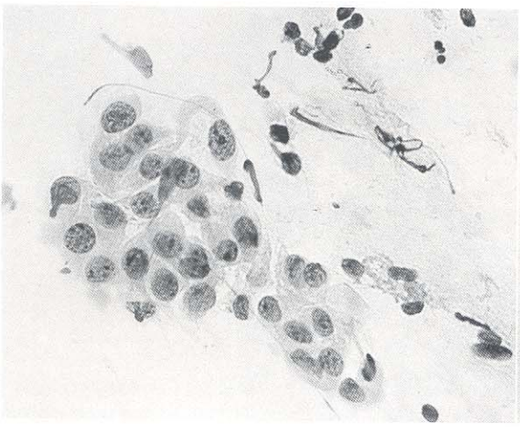
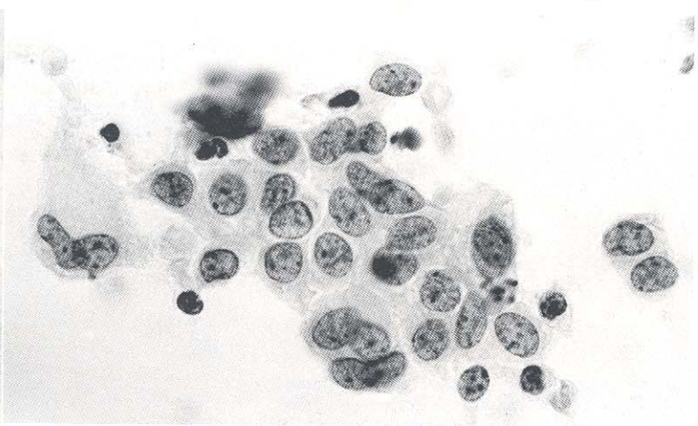


Fig. 67. Células de reparación hipertróficas tras la criocirugía del cuello uterino. Los núcleos son grandes y exhiben moderada hipercromía, pero se reconoce su benignidad por su forma uniforme, su membrana nuclear lisa y delicada, y su cromatina granular fina. El macronucléolo eosinófilo es un rasgo característico de reparación textural. *a*, Epitelio en vías de regenerar; *b*, células reparadoras vistas con poco aumento; *c*, células reparadoras vistas con mucho aumento.

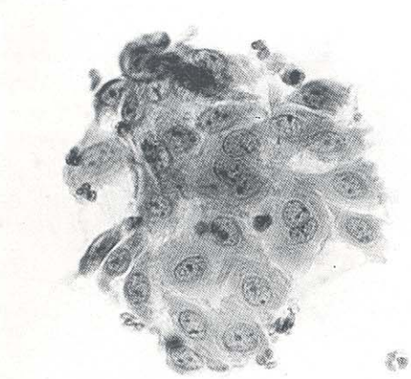


68

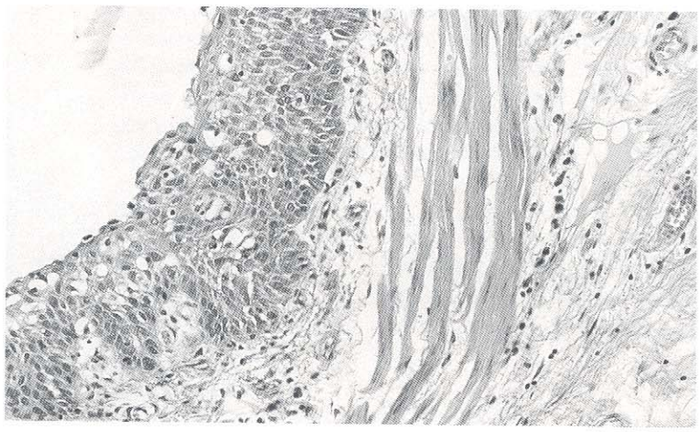


69

Fig. 68. Células metaplásicas pavimentosas inmaduras del cuello uterino. El citoplasma es inmaduro porque es poco tingible y porque los bordes celulares no son nítidos, pero el citoplasma poliédrico y la distribución en empedrado sugieren una etapa incipiente de metaplasia pavimentosa.
Fig. 69. Células metaplásicas pavimentosas inmaduras del cuello uterino. Las células redondas están distribuidas en empedrado. El citoplasma todavía es escaso, pero de forma poliédrica.



70



71

Fig. 70. Células metaplásicas pavimentosas maduras del cuello uterino. Citoplasma abundante y muy tingible, con estructuras fibrilares en torno de los núcleos. La distinción respecto de las células parabasales originales preexistentes es la borrosidad de los bordes celulares y el agrandamiento de los núcleos.
Fig. 71. Histología de una metaplasia pavimentosa madura del epitelio bronquial. El epitelio columnar ciliado multiestratificado ha sido sustituido por un epitelio pavimentoso estratificado maduro.

granulación con un solo estrato de células inmaduras que después pueden diferenciarse hacia epitelio pavimentoso estratificado o epitelio columnar glandular. Las células en regeneración activa exhiben rasgos similares a los de la hiperplasia que describimos arriba y muchas veces participan en las alteraciones citológicas inflamatorias. Los núcleos son grandes e hipercrómicos, y contienen macronucléolos hipercromáticos. La trama de cromatina es finamente granular y pareja, y en ocasiones reticular, pero no presenta grumos gruesos irregulares. El contorno nuclear es liso y nítido. El citoplasma es moderadamente cianófilo y a menudo eosinófilo. La vacuolación vesiculosa y la inclusión leucocitaria dependen del grado del proceso inflamatorio concomitante.

4. Metaplasia

Metaplasia es la inducción de un tipo de tejido normal distinto por células que deberían diferenciarse hacia otro tipo de tejido. Las células metaplásicas que nos interesan en este capítulo son de la variedad epitelial, en particular la metaplasia pavimentosa de los epitelios endocervical, nasal y bronquial, que se ve con frecuencia. Esta metaplasia es precedida por proliferación de las células de reserva basales, que suelen estar debajo del epitelio columnar indiferente como células planas. Otra metaplasia es la conversión del epitelio mucoso de las porciones antral y pilórica del estómago en el tipo intestinal. La metaplasia intestinal del epitelio foveolar muchas veces se asocia con hiperplasia; a pesar de la hipertrofia e hipercromatismo del núcleo, la uniformidad de los núcleos en cuanto a tamaño y forma, y la distribución pareja de la cromatina, son rasgos que la distinguen de la degeneración maligna. Las células sospechosas que originan cambios citológicos que simulan malignidad, son células metaplásicas o displásicas atípicas con agrandamiento nuclear y cariosomas o nucléolos un tanto prominentes. La diferenciación entre estas células y las malignas se debe basar en las siguientes

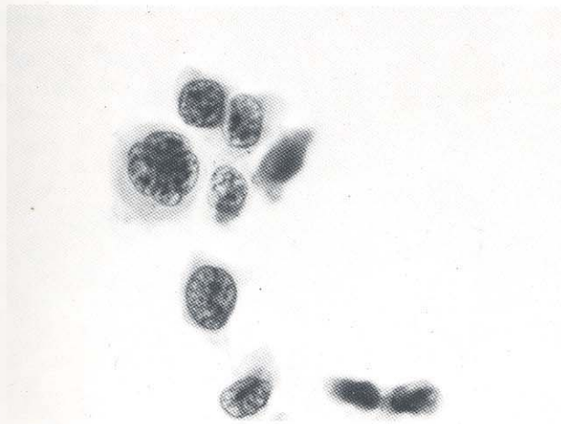


Fig. 72. Célula cancerosa multinucleada de un cepillado bronquial. Considerable hipercromatismo, cromatinas granulares gruesas, prominencia de nucléolos y alta relación N/C. Compárese la trama de cromatina con las cromatinas homogéneas suaves de la multinucleación benigna.



Fig. 73. Multinucleación de células epiteliales bronquiales en el esputo de un gran fumador. Los núcleos superpuestos son muy tingibles pero de tamaño y forma uniformes. Nótese la trama de cromatina suave y homogénea.

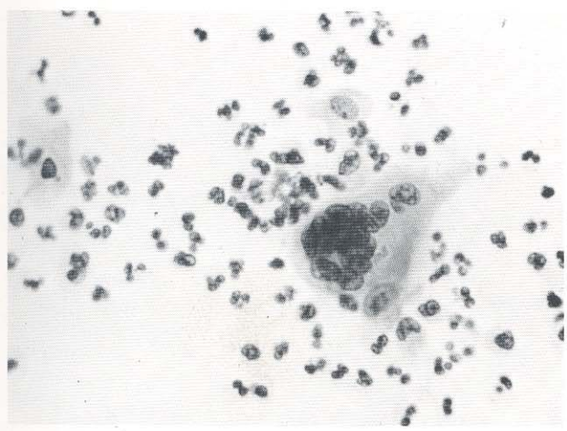


Fig. 74. Células epiteliales multinucleadas del cuello uterino. Los núcleos son redondos u ovales y de tamaño uniforme. Las gruesas membranas nucleares son distintas de las del histiocito multinucleado (fig. 78). El citoplasma se tiñe bien.

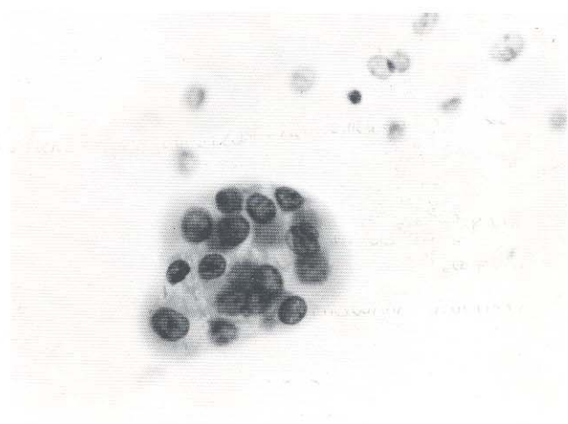


Fig. 75. Células mesoteliales multinucleadas en la ascitis. La multinucleación mesotelial es sincitial. Los núcleos son redondos u ovales y de tamaño uniforme, y están diseminados sin íntima superposición.

observaciones: 1) Las células metaplásicas están dispuestas en una lámina plana y poseen un citoplasma bastante adecuado. 2) La cromatina es finamente granular y de distribución pareja, ofreciendo un aspecto de vidrio esmerilado, pero recuérdese que muchas veces las células metaplásicas del esputo presentan una condensación irregular de la cromatina y un citoplasma acidófilo por reacción degenerativa. Es frecuente que estas células simulen células cancerosas epidermoides necrosadas.

5. Alteraciones asociadas con infección viral

Las alteraciones celulares generalizadas que se asocian con infecciones virales como por herpesvirus, adenovirus, citomegalovirus, etc., pueden simular malignidad; los cambios representativos son hipertrofia nuclear, multinucleación y ocurrencia de inclusiones intranucleares de tipo nucleolar.

La citología de la infección por herpesvirus se diferencia de la multinucleación de las células malignas por el moldeamiento nuclear de distribución característica y sin superposición. Las cromatinas nucleares están condensadas en la periferia, con pérdida de la trama normal. Las inclusiones intranucleares semejan un nucléolo de tamaño enorme. La infección por citomegalovirus induce agrandamiento nuclear, condensación de la cromatina en el borde del núcleo y una gran inclusión intranuclear cianófila o basófila. En la infección por el virus del polioma las células urogenitales afectadas exhiben una gran inclusión basófila homogénea que llena al núcleo.[110]

6. Células multinucleadas

Uno de los signos de malignidad son la formación de células gigantes con pronunciado agrandamiento del núcleo y multinucleación o multilobulación, pero esto no se debe confundir con la multinucleación benigna.

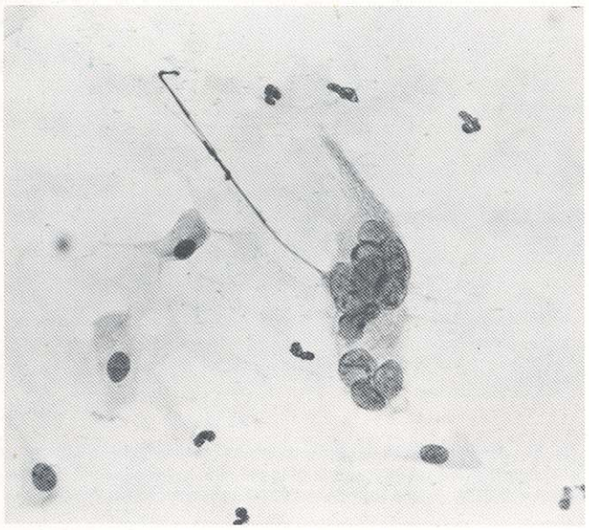


Fig. 76. Multinucleación en una infección herpética del cuello uterino. Moldeamiento, marginación y borrosidad de los núcleos. No se ven inclusiones intranucleares.

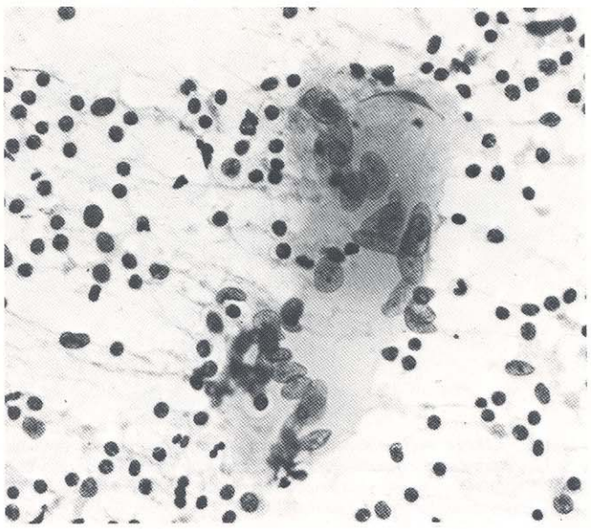


Fig. 77. Célula gigante de Langhans multinucleada. Los núcleos, desplazados hacia la periferia, son elongados y de contornos delicados, con una trama de cromatina fina y uniforme.

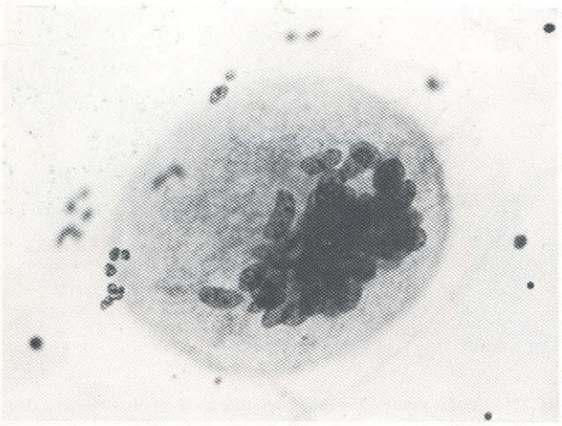


Fig. 78. Histiocito multinucleado. Los núcleos densamente aglomerados exhiben una forma elíptica elongada. Las membranas nucleares delicadas difieren de las de las células epiteliales. El citoplasma es espumoso o vesiculoso.



Fig. 79. Multinucleación de una célula epitelial irradiada. Los contornos nucleares son gruesos e irregulares. El citoplasma presenta un agrandamiento asombroso y se caracteriza por ser vacuolado como consecuencia de la irradiación.



Fig. 80. Célula gigante tipo Touton de la enfermedad de Hand-Schüller-Christian; punción aspiradora. Nótense los núcleos ovales agrupados en el centro de un citoplasma espumoso.

Células malignas multinucleadas

La multinucleación de las neoplasias malignas se debe a la formación de husos multipolares. Las células multinucleadas malignas satisfacen criterios de malignidad, como el aumento de la relación nuclear-citoplasmática, hipercromatismo con tramas de cromatina gruesas, contornos nucleares irregulares, prominencia de nucléolos y variaciones de tamaño y forma de los núcleos (fig. 72).

Células displásicas multinucleadas

Las células displásicas contienen dos o tres núcleos, a veces cuatro, con superposiciones. Estos núcleos son redondos o poliédricos, grandes e hipercromáticos. Las partículas de cromatina aparecen distribuidas con uniformidad, con excepción de algunos cariosomas o glomeraciones punteadas; esta trama de cromatina es distinguible respecto de las

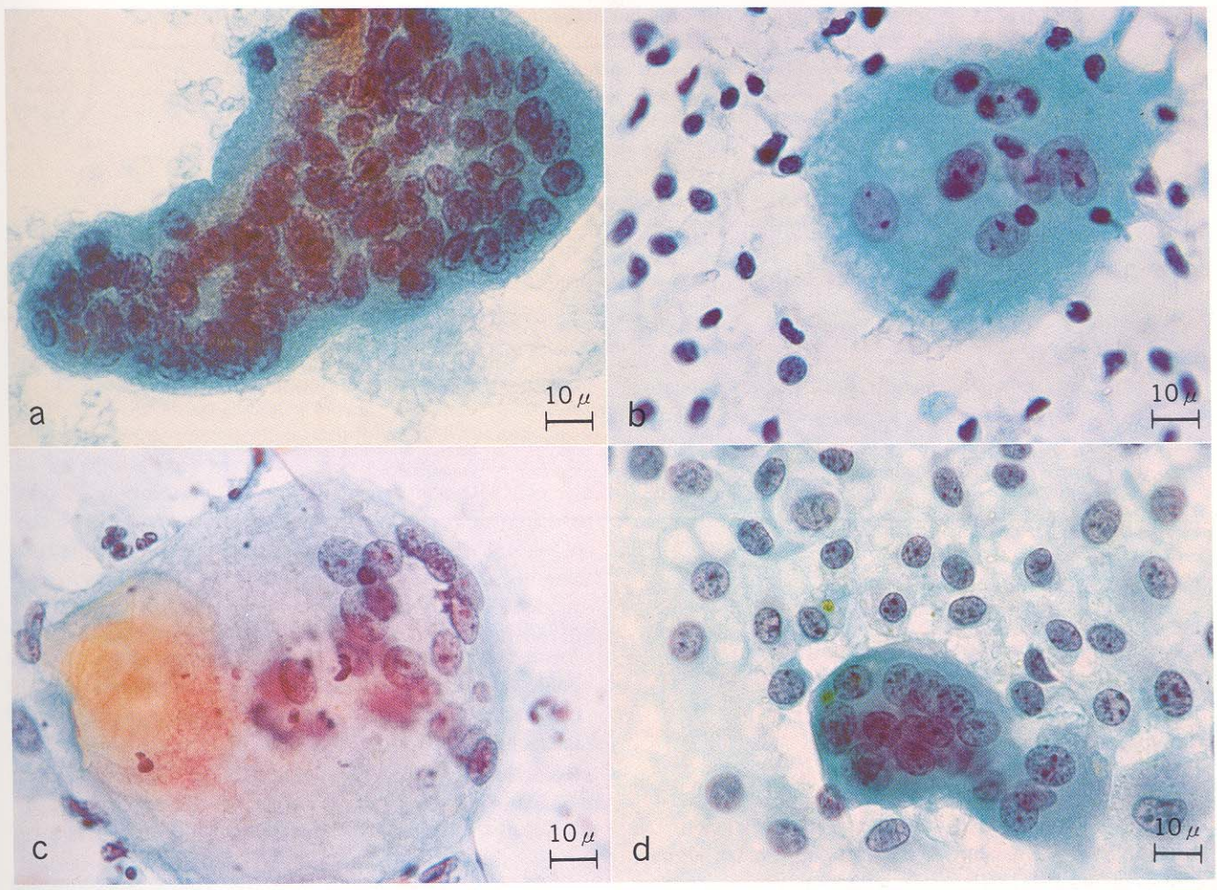


Fig. 81. Diversos tipos de multinucleación benigna. *a, Sincitio-trofoblasto con una gran cantidad de núcleos en un extendido vaginal sanguinolento.* De un aborto incompleto. Nótense los núcleos muy teñidos, pero ovales o redondos y uniformes. El citoplasma se delinea con nitidez. *b, Célula histiocitaria multinucleada.* De un cepillado bronquial. El citoplasma es fino, espumoso y de borde borroso. *c, Célula histiocitaria multinucleada irradiada.* Citoplasma edematoso enorme y múltiples núcleos pequeños y uniformes. El tinte lavándula es característico de las alteraciones por radiación. *d, Célula gigante multinucleada de tipo osteoclástico.* Varios núcleos ovales superpuestos. Los rasgos distintivos son la uniformidad de tamaño y forma, y el citoplasma bien delineado.

células malignas. Muchas veces también hay un halo perinuclear. Otro rasgo característico es la abundancia de citoplasma con un borde nítido (véase fig. 60).

Células epiteliales benignas multinucleadas

La multinucleación de células epiteliales benignas ocurre como reacción inflamatoria benigna; es frecuente que participen células columnares bronquiales, células columnares endocervicales y células transicionales del tracto urinario. Todos los núcleos son redondos u ovales y no tan numerosos como los de las células histiocitarias. El borde nuclear no aparece engrosado, pero se delinea bien. Cuando esto se asocia con un proceso degenerativo, la cromatina se condensa en el borde nuclear o se aglomera en gruesos cordones y la trama reticular desaparece. El citoplasma conserva la forma del epitelio original y su índole epitelial se caracteriza por los bordes citoplasmáticos bien netos. Las células epiteliales sincitiales, como las del mesotelio, poseen múltiples núcleos dispersos en un citoplasma fusionado (fig. 75). Este cuadro difiere del que exhiben las células epiteliales gigantes multinucleadas con núcleos múltiples aglomerados.

Células multinucleadas por herpesvirus

Los núcleos múltiples producidos por la infección del herpesvirus son centrales y exhiben un moldeamiento característico. La red de cromatina desaparece y el núcleo es nuboso como vidrio esmerilado y se halla marginado (fig. 76). Un rasgo que también distingue a esto de los otros tipos de células multinucleadas es la inclusión intranuclear que semeja un nucléolo prominente.

Células gigantes de Langhans

Las células gigantes de Langhans ocurren junto con muchas células epitelioides que presentan rasgos nucleares similares en casos de tuberculosis, sarcoidosis y, raras veces, otros granulomas, como fiebre por arañazo de gato, tularemia, goma sifilítico, etc. En la periferia de la célula se congrega una multiplicidad de núcleos ovales a elípticos (más de 30). Los rasgos característicos son la forma de los núcleos y la trama de la cromatina; los núcleos elongados son curvos y reniformes, pero de bordes delicados y nítidos. La red de cromatina es finamente granular o acintada. Existen

Cuadro 25. Alteraciones celulares que simulan malignidad

	Alteraciones sospechosas	*Rasgos diferenciales*
Hiperplasia y reparación textural	Núcleo: hipertrofia e hipercromía con variación de tamaño Nucléolo: hipertrofia	Cromatina: uniforme y delicada Relación N/C: no muy aumentada Variación de la forma nuclear: no es prominente
Crecimiento inflamatorio	Núcleo: hipertrofia e hipercromía Borde nuclear: engrosado	Cromatina: uniforme y delicada Relación N/C: no muy alterada Citoplasma: eosinofilia borrosa con halo e invasión leucocitaria
Radiación	Núcleo: agrandamiento y multinucleación con deformidad grotesca Nucléolo: hipertrofia	Cromatina: condensada y licuada Citoplasma: agrandamiento, vacuolización y tinción anómala (eosinofilia)
Metaplasia pavimentosa	Núcleo: hipertrofia y cromocentro prominente	Cromatina: uniforme y delicada Relación N/C: no muy aumentada Citoplasma: en empedrado
Anemia perniciosa	Núcleo: hipertrofia e hipercromía	Cromatina: uniforme y delicada (leucocitos multilobulados)
Infección herpética	Núcleo: agrandamiento y multinucleación con inclusión de tipo nucleolar	Núcleo: moldeamiento y aspecto en vidrio esmerilado Cromatina: marginación

uno o dos nucléolos distintivos. El citoplasma es abundante, bien definido y se colorea de verde azulado, con un tinte eosinófilo en torno de los núcleos aglomerados (fig. 77).

Células gigantes por cuerpo extraño

Los núcleos múltiples son redondos u ovales, del mismo tamaño y de situación central, con superposiciones. Las cromatinas son finamente granulares y presentan algunos grumos punteados. Los bordes nucleares son delicados, pero nítidos. El citoplasma es abundante, a menudo de aspecto espumoso y bordes borrosos (fig. 78). Muchas veces, dentro de la célula se ven variables cantidades de restos celulares y leucocitos.

Células epiteliales multinucleadas por irradiación

La multinucleación posirradiación se debe a mitosis anormal. La forma de los núcleos es anómala y la cromatina está condensada con irregularidad (fig. 79). El rasgo distintivo es un citoplasma agrandado enorme, con vacuolización, fibrilación e ingestión de leucocitos. A raíz de la irradiación puede ocurrir una reacción tintorial anómala, como un tinte eosinófilo o lavándula (fig. 81c).

Trofoblastos sincitiales

Las células trofoblásticas de tipo sincitial aparecen en raras ocasiones en los extendidos vaginales o en la secreción sanguinolenta del aborto incompleto. Los núcleos son uniformemente redondos u ovales, contienen una cromatina punteada y se hallan dispersos con escasa superposición. El citoplasma es cilíndrico, grueso y de bordes nítidos. En el interior del citoplasma se observa un tinte eosinófilo (véase fig. 81a).

Células gigantes de Touton

Las células multinucleadas de tipo Touton se acompañan de células xantomatosas en los extendidos aspirados o impresiones de los xantomas cutáneos. Los núcleos son más redondos que los de las células gigantes de Langhans y se agrupan en el centro. En ocasiones se reconocen plegamientos hendidos de la membrana nuclear que semejan granos de café (véase fig. 80). El interior del citoplasma es opaco y no tan espumoso como el de los histiocitos comunes, si no fuese porque es borroso en la periferia.

Células gigantes de tipo osteoclástico

En los extendidos aspirados o impresiones de tumores gigantocelulares benignos de hueso y sinovia, y del épulis gingival, se reconocen unas células gigantes multinucleadas que poseen los mismos rasgos morfológicos. Los núcleos son múltiples, redondos a ovales, centrales y de bordes nítidos. El citoplasma es denso y bien definido; este rasgo citoplasmático difiere respecto del de las células histiocitarias multinucleadas.

9 Selección preliminar práctica

1. Observación y descripción de los rasgos celulares

En el capítulo precedente describimos las estructuras finas de las células y sus significados funcionales. Para detectar células anormales y determinar su malignidad en citología oncológica, la observación con el microscopio óptico se concentra en los rasgos nucleares, con exclusión de todos los otros detalles de las células, incluso la interrelación entre ellas. En los exámenes de selección preliminar existen puntos de observación importantes y términos descriptivos para evaluar las alteraciones morfológicas (fig. 82).

Tamaño del núcleo

La evaluación de la anormalidad del tamaño nuclear se basa en compararlo con el tamaño de una célula normal del mismo tipo de tejido, y no en el tamaño absoluto. El tamaño nuclear de las células somáticas normales es distinto de un tejido a otro y la relación nuclear-citoplasmática depende del grado de maduración de la célula. Las células basales del epitelio pavimentoso estratificado tienen una relación nuclear-citoplasmática mayor que las superficiales. Las relaciones nucleares citoplasmáticas aumentadas o disminuidas se comparan con las del tejido originario normal.

Forma del núcleo

Las células epiteliales normales poseen núcleos redondos u ovales de membranas nucleares lisas y delicadas. Los núcleos pueden deformarse por una alteración patológica, que puede ser neoplásica o degenerativa, o a causa de un artificio. Las anormalidades morfológicas son poliédricas con muchas caras, poligonales con angulaciones múltiples y núcleos multilobulillares con varios lobulillos que dan la impresión de ser varios núcleos fusionados entre sí.

A las células multinucleadas se las define como células que poseen múltiples núcleos aglomerados en el centro (tipo Touton), en la periferia (tipo Langhans) o en grupos irregulares (tipo por cuerpo extraño). Las irregularidades del contorno nuclear son indentaciones o plegamientos irregulares, engrosamiento anormal y condensación despareja de la cromatina en el borde del núcleo.

Cromatina

Se observan y se describen 1) la cantidad (contenido de DNA), 2) el tamaño y 3) el tipo de distribución. Las cantidades aumentadas o disminuidas de cromatina se conocen como hipercromatismo o hipocromatismo, respectivamente.

Los tipos de cromatina se clasifican así:

1. Cromatina acintada cuyo retículo es parejo y delicado.
2. Cromatina finamente granular con partículas granulares finas distribuidas con uniformidad.
3. Cromatina reticular gruesa que exhibe una red de riendas gruesas.
4. Cromatina reticular gruesa con dispersión gruesa de gránulos de cromatina condensados.

Además del tipo de distribución de la cromatina, la descripción del fondo se expresa en términos como espacio intercromatínico y halo de paracromatina, que significa un espacio claro en torno de la heterocromatina.



Fig. 82. Terminología para describir las figuras nucleares.

Nucléolo

El nucléolo se observa en lo tocante a 1) cantidad, 2) tamaño, 3) localización, 4) reacción tintorial, sea basófila o acidófila, y 5) forma. Las diversas formas de los nucléolos se reconocen a la microscopia óptica y se describen como redondas o en gota, estrelladas, en maza, en cuentas de rosario, anulares, etc. La deformación se exagera por la cromatina asociada con el nucléolo.

Citoplasma

Los rasgos del citoplasma no son tan elocuentes como los del núcleo porque los organoides sólo se ven a la microscopia electrónica. La observación del citoplasma se concentra en: 1) cantidad, 2) forma y borde, 3) reacción tintorial y 4) presencia de diferenciación especial.

Ya describimos la cantidad de citoplasma en relación con el tamaño del núcleo. La forma y la densidad de la matriz informan sobre el origen hístico y sobre el grado de maduración; cuanto más maduras son las células pavimentosas, más compacta es la matriz. La forma pavimentosa ancha de las células espinosas, la forma columnar de las células de los epitelios canaliculares y glandulares, y la forma piriforme de las células transicionales son buenos ejemplos para identificar el origen celular. La densidad de la matriz citoplasmática y de la reacción tintorial varía de un tejido a otro. Por ejemplo, los histiocitos presentan una matriz vesiculosa pálida de bordes borrosos y las células endocervicales exhiben un citoplasma acitado traslúcido, en tanto que las células espinosas poseen una matriz densa con algún rasgo laminillar ocasional en torno del núcleo. Tómese nota de la localización de los núcleos en el citoplasma.

Los términos para describir las reacciones tintoriales son eosinofilia, naranjofilia, cianofilia y basofilia. Basofilia es la reacción tintorial azulada con colorantes catiónicos básicos como Giemsa, pero por convención se dice así en la tinción de Papanicolaou para la coloración con verde claro, que es un colorante ácido.

En ocasiones algún fenotipo o diferenciación funcional que caracteriza a la índole u origen de las células, se confirma por la producción de melanina, bilirrubina, queratohialina, gránulos argentafines y proteínas especiales como inmunoglobulina monoclonal, alfa fetoproteína y antígeno carcinoembrionario.

2. Examen preliminar para células malignas

No existiendo ningún criterio único para confirmar la malignidad, el citólogo debe evaluar el grado de atipia y determinar la malignidad de cada célula basándose en los diversos criterios que describimos en el capítulo precedente. Los principiantes deben adquirir mucha experiencia para poder hacer el diagnóstico presuntivo de células atípicas en un extendido total sin obtener resultados negativos falsos. Se recomienda ordenar los criterios de malignidad de manera más apropiada para realizar exámenes de selección preliminar.

Los exámenes preliminares se deben hacer con la lente de bajo aumento × 10. La exploración se puede hacer moviendo los portaobjetos en dirección horizontal o vertical, y para cubrir bien todo el extendido hay que superponer un poco las áreas exploradas (fig. 83).

Este autor recomienda los movimientos horizontales porque así son menos frecuentes los cambios de dirección del movimiento del portaobjeto y porque las células suelen estar distribuidas en dirección horizontal a raíz de la técnica común para separar los dos portaobjetos.

Primer paso de la exploración práctica

Con el objetivo de poco aumento ubíquense las células grandes de núcleos mayores de 10 μ de diámetro. Conviene comparar el tamaño nuclear de las células más notorias con leucocitos que midan 10 μ o un poco más.

Segundo paso de la exploración práctica

Cámbiese por el objetivo × 40 y obsérvense los siguientes criterios: Con gran aumento las figuras nucleares representativas que se observan deben ser pocas, por razones prácticas (fig. 83, recuadro).

1. Hipercromatismo y distribución gruesa e irregular de la cromatina.
2. Aumento de la relación entre volumen nuclear y cito-

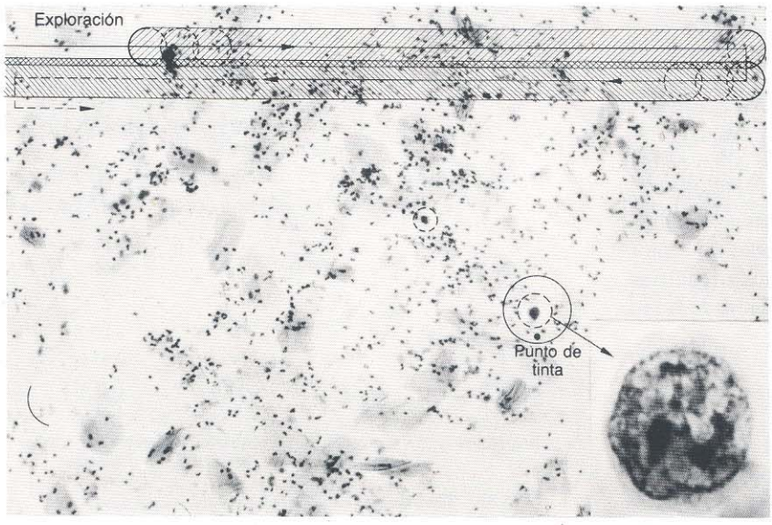


Fig. 83. Exploración de todo el campo del extendido con poco aumento en busca de células de núcleos grandes. El portaobjeto se desplaza en dirección X o Y, según lo prefiera el citólogo. Al encontrar un núcleo grande, se cambia a un aumento mayor para observar los detalles nucleares. Márquese con un punto de tinta detrás de la célula sospechosa.

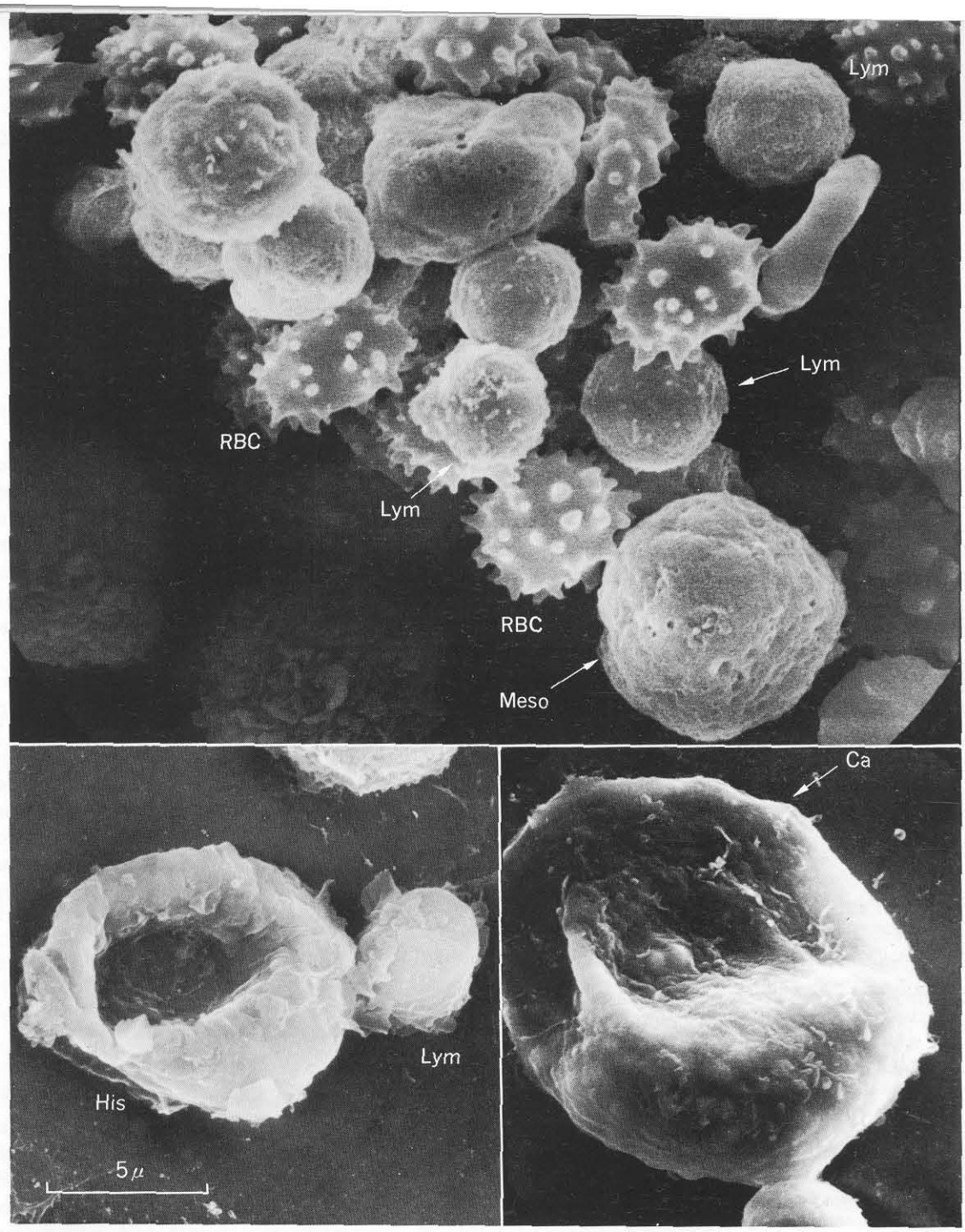


Fig. 84. Aspecto general de diversos tipos de células en la ascitis. Nótese la importancia del tamaño celular en la búsqueda de células cancerosas. *RBC*, eritrocito; *Lym*, linfocito; *Ca*, célula cancerosa; *Meso*, célula mesotelial; *His*, histiocito o macrófago.

plasmático. En caso de regeneración e inflamación crónica, se pueden observar células en actividad con núcleos hipercrómicos grandes y cariosomas prominentes. Préstese atención a la distribución de las cromatinas porque en las células hiperplásicas benignas son finas y de distribución pareja, semejando granos de arena diseminados detrás de unos pocos cariosomas grandes. Las células malignas, en cambio, presentan espacios intercromatínicos sin partículas de cromatina entre las gruesas riendas y grumos de cromatina.

Tercer paso de la exploración práctica

Las células anormales exploradas en el segundo paso son casi conclusivas de malignidad. Los varios otros criterios sólo son útiles para arribar a la decisión final y para tipificar las células. El técnico explorador debe marcar el reverso de estas células atípicas con puntos de tinta para que las examinen los citólogos. El portaobjeto siempre se debe colocar en el bastidor de la misma manera: por ejemplo, con el nombre a la izquierda. Antes de informar sobre los resultados de la exploración, es necesario confirmar si la muestra ha sido bien recogida de la lesión o tejido examinado, y si el extendido contiene suficiente cantidad de células no autolisadas. Téngase en cuenta la variación de los constituyentes celulares de acuerdo con el procedimiento adoptado para muestrear las células. Por ejemplo, la muestra de esputo que contiene muchas células pavimentosas y pocos fagocitos no proviene de una tos profunda y no vale la pena someterla al examen citológico. Como mínimo, un citodiagnóstico completo requiere tres exámenes de tres portaobjetos cada vez.

Para estudiar mejor las células sospechosas después, este autor recomienda marcar con puntos de tinta de distintos colores, o sea que los estudiantes marcan con rojo, los técnicos con azul y los citólogos con negro.

10 Clasificación diagnóstica

1. Informe del citodiagnóstico

El Centro de Referencia Internacional de Nomenclatura en Citología de la OMS intentó clasificar la citología oncológica del tracto genital femenino utilizando términos diagnósticos, en lugar de la clasificación numérica de Papanicolaou. En el prefacio de la ''Clasificación Histológica Internacional de Tumores Nº 8'' se dijo que ''si bien el Centro de Referencia Internacional para la Definición Histológica de Tumores Uterinos y Placentarios todavía no ha puesto a prueba del todo esta clasificación, se consideró conveniente utilizar en la medida de lo posible la clasificación preliminar que el grupo había preparado'' (cuadro 26). Todavía no se han establecido los términos diagnósticos para otros órganos o tejidos y en muchas instituciones se adopta una clasificación sencilla de tres o cuatro categorías, como negativo-sospechoso-positivo o bien negativo-atipia benigna-sospechoso-negativo. En el laboratorio de este autor se adopta la clasificación de cuatro grupos y se comentan los términos histopatológicos, si existen, porque el uso de términos histodiagnósticos solamente se limita a las ocasiones en que los hallazgos citológicos son decisivos desde el punto de vista patológico. Es de extraordinaria importancia que los clínicos entiendan que el informe de citología no siempre significa indicación para operar, sino que es una orientación para emprender procedimientos terapéuticos apropiados.

Cuadro 26. Definición histológica de tumores uterinos y placentarios. (OMS: Citología del Tracto Genital Femenino. Ginebra, 1973.)

I. Células derivadas de lesiones cervicales
  A. Displasia
    1. Leve
    2. Moderada
    3. Severa
  B. Carcinoma epidermoide *in situ*
  C. Carcinoma epidermoide *in situ* con invasión mínima del estroma
  D. Microcarcinoma epidermoide invasor
  E. Carcinoma epidermoide invasor
    1. Carcinoma queratinizante
    2. Carcinoma no queratinizante de células grandes
    3. Carcinoma no queratinizante de células pequeñas
  F. Adenocarcinoma de endocérvix
  G. Carcinoma cervical de células claras (mesonéfrico)
  H. Carcinoma adenopavimentoso (mucoepidermoide)

II. Células derivadas de lesiones epiteliales endometriales
  A. Hiperplasia atípica de endometrio
  B. Adenocarcinoma de endometrio

III. Células derivadas de sarcomas uterinos
  A. Leiomiosarcoma
  B. Sarcoma del estroma endometrial

IV. Células derivadas de tumores mixtos müllerianos
  A. Carcinosarcoma
  B. Tumor mixto mesodérmico

V. Células derivadas de lesiones trofoblásticas
  A. Mola hidatidiforme
  B. Coriocarcinoma

VI. Células derivadas de tumores malignos extrauterinos

2. Reseña histórica de la clasificación de Papanicolaou

La clasificación de Papanicolaou se ha usado mucho para preparar informes de citodiagnóstico, no sólo por razones de conveniencia sino también con fines estadísticos, hasta que los directores de *Acta Cytologica* y el Centro de Referencia Internacional para Nomenclatura en Citología de la OMS aconsejaron que se evite la clasificación numérica de Papanicolaou. En caso necesario, se podría agregar un diagnóstico descriptivo.

Clase I. Ausencia de células atípicas o anormales.
Clase II. Citología atípica sin evidencias de malignidad.
Clase III. Citología sugestiva de malignidad, pero no concluyente.
Clase IV. Citología muy sugestiva de malignidad.
Clase V. Citología concluyente de malignidad.

Algunos citopatólogos emplearon una clasificación similar modificando un poco el significado original y otros emplearon una clasificación propia. De acuerdo con el editorial de *Acta Cytologica* (1964),[151] que alude a la clasificación diagnóstica y al significado de los extendidos de clase III del tracto genital femenino, había tres escuelas de pensamiento representativas que informaban 1) con una terminología similar a la de las muestras histológicas, 2) empleando tres grupos principales, es decir, negativo-sospechoso-positivo, y 3) empleando la clasificación original de Papanicolaou. En la clase III o grupo sospechoso se presentaron diversas ocasiones en que hubo que hacer el diagnóstico con una cantidad inadecuada de células atípicas a pesar de que se sospechaba malignidad y en que se reconoció un fondo histológico de displasia o epitelio atípico. Además, algunos conservadores tendieron a optar por la clase III para no incurrir en positivos falsos. La subclasificación que Papanicolaou introdujo para la clase III está encaminada a eliminar estos casos.

Clase III — Clase IIIa...Clase IIIb...Clase IIIc
Débil III.....Fuerte III

El subgrupo débil III o clase IIIa significaría citología benigna, en tanto que fuerte III o clase IIIb y IIIc significaría citología maligna. Es indudable que muchas veces hay que

Cuadro 27. Lesiones fronterizas en citodiagnóstico

Órgano	*Muestreo*	*Tumor maligno*	*Bulto o tumor benigno*
Encéfalo	Impresión o papillas	Astrocitoma (grado I)	Gliosis reactiva
Tiroides	Punción aspiradora	Adenocarcinoma papilífero	Adenoma papilífero
Mama	Secreción del pezón	Carcinoma papilífero intracanalicular	Papiloma intracanalicular
Pulmón	Punción aspiradora y cepillados	Carcinoma bonquioloalveolar	Hiperplasia adenomatosa bronquiolar
	Esputo y cepillados	Carcinoma espinocelular *in situ*	Metaplasia pavimentosa con atipia
Estómago e intestino	Impresión y cepillados	Carcinoma originado en un pólipo	Pólipo adenomatoso con atipia
Hígado	Punción aspiradora	Carcinoma hepatocelular (grado I)	Hiperplasia nodular
Tracto urinario	Lavados	Carcinoma papilífero (grado I)	Papiloma
Próstata	Masaje o aspiración	Adenocarcinoma diferenciado	Hiperplasia glandular
Pene	Raspajes	Carcinoma epidermoide diferenciado	Eritoplasia de Queyrat
Cuello uterino	Raspajes	Carcinoma espinocelular *in situ* (células grandes) con invasión mínima del estroma o sin ella	Displasia queratinizante severa
		Carcinoma espinocelular *in situ* (células pequeñas)	Hiperplasia de células de reserva
Endometrio	Lavajes	Adenocarcinoma (grado I)	Hiperplasia glandular con atipia
Ganglio linfático	Impresión o aspiración	Linfoma folicular	Hiperplasia reactiva y seudolinfoma
Piel	Raspados o exfoliaciones con cinta Scotch	Carcinoma epidermoide diferenciado	Enfermedad de Bowen y queratosis senil

repetir los exámenes para establecer si una muestra es benigna o maligna. De este modo algunos casos de clase III se resuelven pasando a la clase II o IV.

3. Lesiones fronterizas en citodiagnóstico y sus fondos histológicos

En el extendido del cuello uterino el experto puede deducir los estados histológicos de displasia, carcinoma *in situ* y carcinoma invasor prestando detenida atención a los extendidos buenos. Dicen Okagaki y col.[463] que la clase III sugiere displasia, la clase IV carcinoma *in situ* y la clase V carcinoma invasor. Los extendidos bronquiales son similares a los del cuello uterino porque no es infrecuente que el epitelio atípico o la metaplasia atípica se asocie con carcinoma broncógeno y exfolie muchas células atípicas con disqueratosis que se clasifican en la clase III. En la categoría III, la significación positiva que sugiere malignidad biológica en una lesión fronteriza, es aplicable a la citología del tracto urinario, tiroides, sistema nervioso central, etc.

Al papiloma de células transicionales, que suele recidivar, se lo considera tumor maligno (carcinoma de células transicionales grado I) por su patología. Como las células tumorales que se descaman del papiloma de células transicionales son de tamaño y forma uniformes, a este tumor se lo puede clasificar en el grupo atípico o sospechoso (clase III). En esencia, la citología exfoliativa es paralela a los grados de Broders de los cánceres.[77] El carcinoide bronquial o cilindroma (cistadenocarcinoma), que había sido agrupado en la misma categoría que el adenoma bronquial, se sitúa en la profundidad de la cubierta intacta del epitelio bronquial, y por esta razón sus células tumorales no aparecen en el esputo, sino que sólo se obtienen mediante cepillados bronquiales o punción aspiradora con aguja. Como las células adenomatosas son de tamaño y forma bastante uniformes, también se pueden clasificar en un grupo sospechoso o atípico (clase III). El cilindroma es un tumor que crece con lentitud, pero muchas veces da metástasis a distancia y se lo considera maligno. El adenocarcinoma papilífero de tiroides es un tumor de aspecto benigno que consiste en delicados tallos vasculares ramificados cubiertos por células cancerosas cuboides o columnares bajas bastante uniformes. El patólogo puede determinar su malignidad por la invasión vascular o capsular de las células cancerosas, así como por su cuadro histológico. Por lo tanto, al carcinoma papilífero de aspecto benigno se lo sitúa en el grupo sospechoso (clase III) en los estudios citológicos. Al astrocitoma encefálico de los grados I y II también se lo puede agrupar en la categoría citológica atípica o sospechosa. Para reconocer las lesiones benignas hay que prestar mucha atención a la escasa celularidad, a los fondos claros de los extendidos, a la ausencia de diátesis tumoral y a la regularidad del ordenamiento celular (mantenimiento de la polaridad).

Además los citólogos deben recordar que en diversos órganos existen algunos estados patológicos que desde el punto de vista citológico están dentro de los límites de benignidad, pero se los debe considerar malignos por su comportamiento biológico y clínico.

4. Objetivo del citodiagnóstico

El citodiagnóstico no es un simple informe de malignidad, sino una interpretación resumida de alteraciones patológicas en diversos tipos de células. Es necesario interpretar las alteraciones degenerativas, progresivas, neoplásicas e inflamatorias concomitantes (fig. 85).

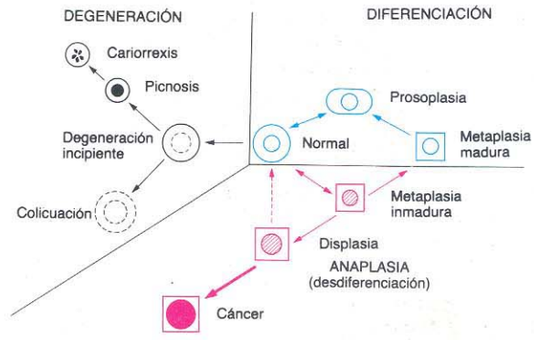


Fig. 85. Interpretación citopatológica.

11

Degeneración celular en citología exfoliativa

1. Alteraciones celulares degenerativas

Las células cancerosas en crecimiento activo tienden a degenerar y pueden lesionarse durante su fase de crecimiento. Caspersson y Santesson[97] dividieron a las células cancerosas en los tipos A y B, de acuerdo con su estado metabólico. Las células tipo A están en las zonas externas de nidos celulares masivos, donde el cáncer se halla en proliferación activa y crecimiento infiltrativo dentro del estroma. Estas células cancerosas en dinámico crecimiento son menos diferenciadas que las del interior, y se caracterizan por un citoplasma más escaso, múltiples nucléolos basófilos, múltiples bandas de carioplasma y cromatina, y una membrana nuclear nítida pero delicada. Las células funcionantes del interior de los nidos de células cancerosas poseen un citoplasma abundante, macronucléolos acidófilos y finas bandas de cromatina.[180] Como el interior de las masas de células cancerosas recibe escasa nutrición, las células tienden a degenerar y exhiben mitosis anormales como consecuencia de su estado anóxico. Las células tipo B experimentan un proceso degenerativo durante la maduración de las células cancerosas. Como en citología clínica trabajamos con células exfoliadas más o menos degeneradas, lo que denominamos atipia celular podría comprender un polimorfismo degenerativo, además del polimorfismo neoplásico. En la etapa inicial de la degeneración se exageran bastante los rasgos de malignidad, como la condensación de cromatina en el borde nuclear, llamada engrosamiento de la membrana nuclear, seguida por aclaramiento nuclear, agrandamiento nuclear e ingurgitación de los nucléolos. Mientras que Mizuno y col.[421] observaron que disminuye la cantidad de lisosomas y aparecen gotitas de fosfolípidos en el citoplasma, Novikoff notó la aparición de lisosomas agrandados, que para él es un signo incipiente de

Cuadro 28. Alteraciones celulares degenerativas

Etapa inicial ⟶	*Etapa final*
Agrandamiento nuclear	Cariorrexis
Engrosamiento del borde nuclear	Cariopicnosis
Clarificación nuclear	Cariólisis
Tumefacción nucleolar	Coagulación (acidofilia) o licuefacción del citoplasma
Mitosis anormales (multinucleación)	
Vacuolización y agrandamiento del citoplasma	

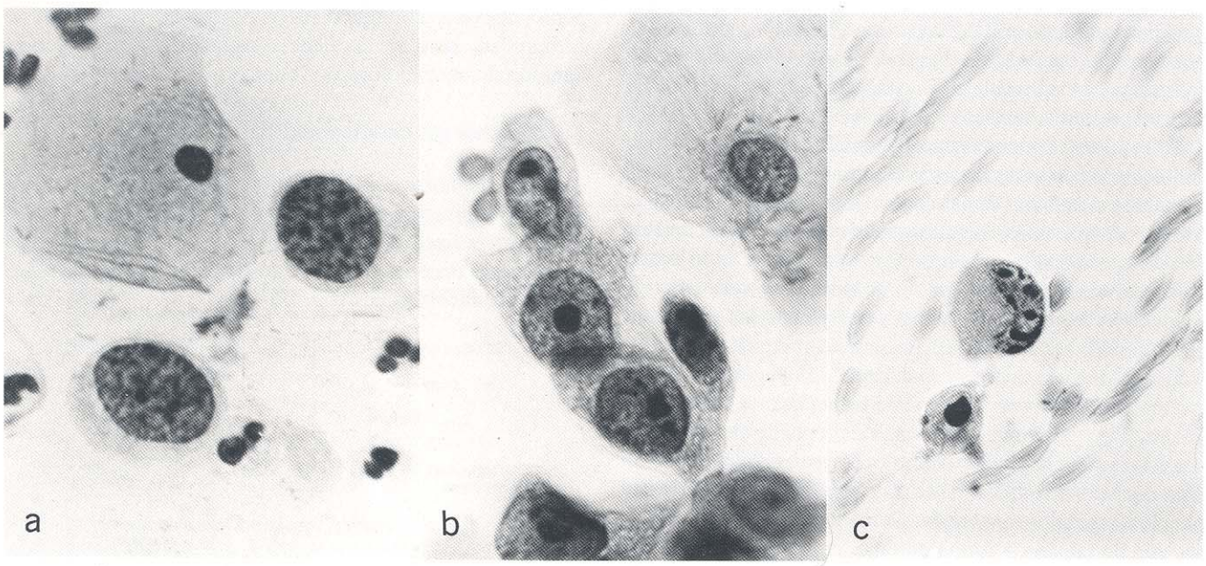


Fig. 86. Degeneración celular. *a*, Células tipo A en un carcinoma epidermoide. Nótense la membrana nuclear delicada y las cromatinas granulares gruesas, pero distribuidas con uniformidad. *b*, Células tipo B en un carcinoma epidermoide, caracterizadas por tumefacción nucleolar, disminución del contenido de cromatina (núcleos grandes y suaves) y engrosamiento de la membrana nuclear. *c*, Células necrobióticas con cariorrexis incipiente. Nótense las masas de cromatina aglomeradas en el borde del núcleo.

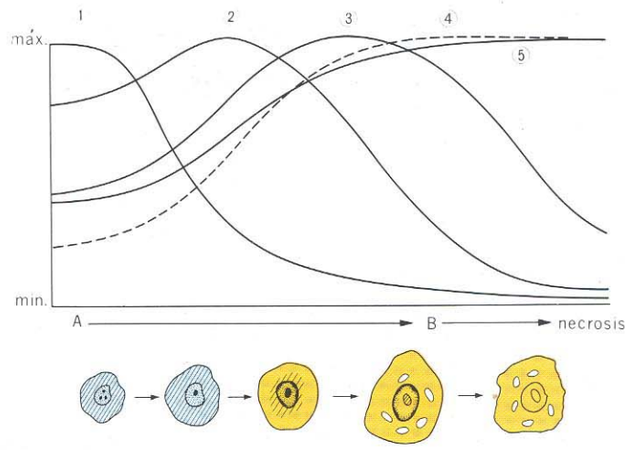
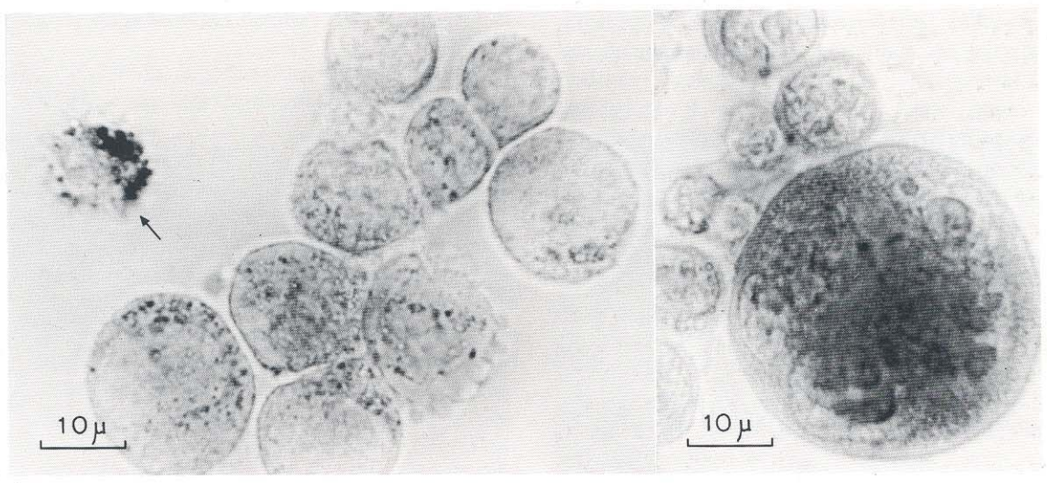
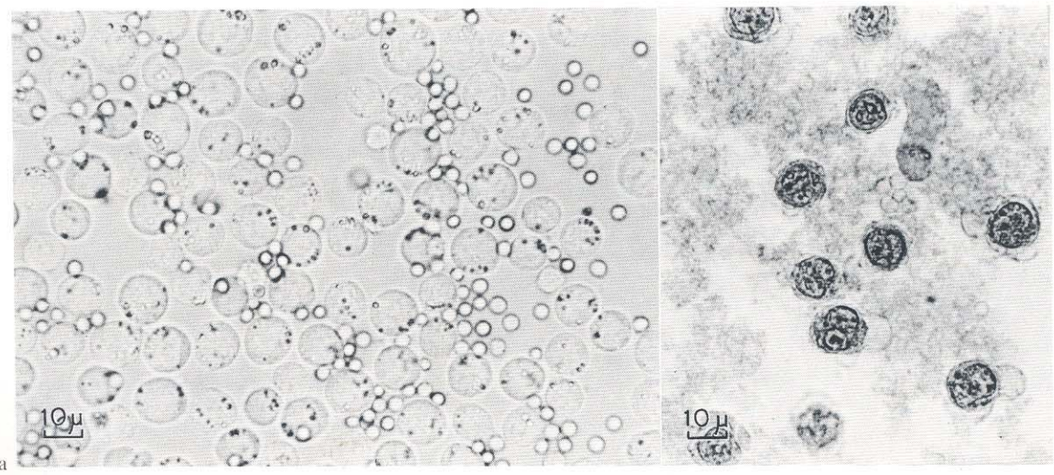


Fig. 87. Representación diagramática aproximada de la transición de célula A a célula B. Las curvas sólo representan la *evolución general* y sus puntos no indican cifras exactas. (Caspersson, T., y Santesson, L.: Acta Radiol. Suppl. *46*: 1942; algo modificado respecto de la figura original.) *1)* Ácido nucleico nuclear; *2)* ácido nucleico citoplasmático; *3)* proteína citoplasmática; *4)* volumen nucleolar; *5)* volumen citoplasmático.



88a 88b

Fig. 88. Coloración supravital con rojo neutro de células cancerosas ascíticas de Ehrlich. *a*, En el citoplasma de las células viables sólo se ven finos gránulos de rojo neutro. Un histiocito presenta gránulos muy teñidos (*flecha*). *b*, En las células desvitalizadas la tinción es difusa en el núcleo y en el citoplasma.



89a 89b

Fig. 89. Coloración supravital con eosina de células cancerosas ascíticas de Ehrlich. *a*, Las células viables no son tingibles, salvo por algunas vacuolas finas en el citoplasma. *b*, Las células muertas por coagulación térmica exhiben tinción difusa de todos sus componentes.

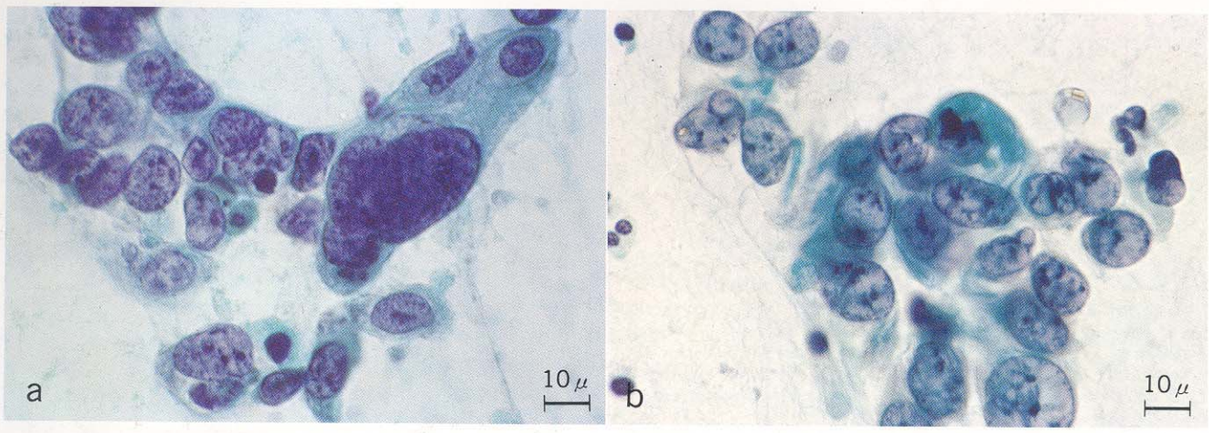


Fig. 90. Células de un cáncer epidermoide del maxilar superior bien preservadas y degeneradas. *a*, Aspecto de un extendido de la pieza quirúrgica. El citoplasma se tiñe de azul y su contorno es nítido. Nótese la distribución compacta de las cromatinas granulares y su cantidad aumentada en las células cancerosas bien preservadas. *b*, Frotis de un hisopado antes de la operación. Estas células están casi denudadas. Los núcleos aparecen ingurgitados y exhiben engrosamiento del borde por condensación de las cromatinas a causa de la degeneración. Nótese la colicuación de las cromatinas y los restos de algunos cariosomas.

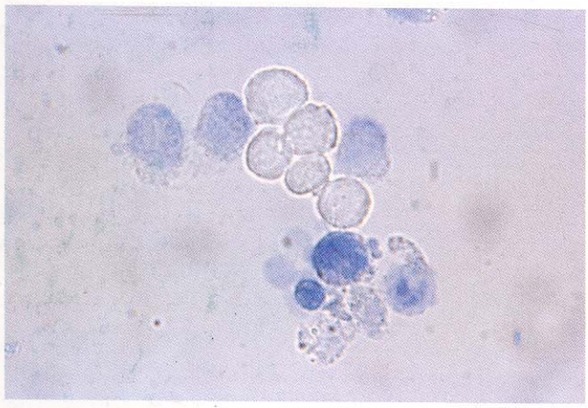


Fig. 91. Viabilidad de células cancerosas cultivadas y sometidas a tinción supravital con azul trípano. El colorante (solución al 0,3 %) tiñe difusamente al instante las células licuadas o retraídas.

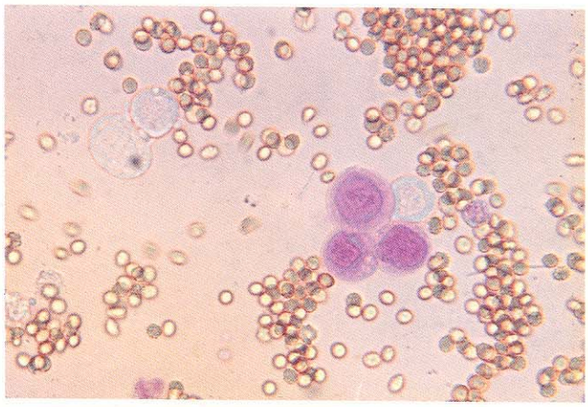


Fig. 92. Viabilidad de células cancerosas de un cepillado esofágico sometidas a tinción supravital con eosina. Las células no viables adquieren una coloración difusa con la solución de eosina al 0,1 %. Nótese que una célula viable no se ha teñido.

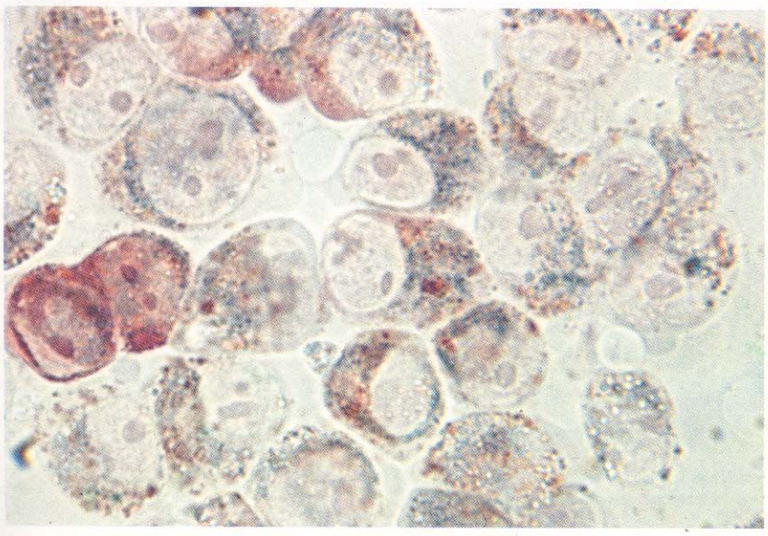


Fig. 93. Tinción supravital con verde Janus B y rojo neutro tras la diferenciación de células cancerosas inducida con dbc-AMP. La cantidad de gránulos teñidos por ambos colorantes es mayor. El verde Janus B es un colorante clásico para mitocondrias, pero no tan cuantitativo como la citocromo oxidasa, succinato deshidrogenasa, etc. La solución de rojo neutro (0,01 %) muchas veces se combina con la solución de verde Janus B (0,001 %). Los gránulos de rojo neutro corresponderían a la actividad lisosómica.

alteración degenerativa de la célula. Estas alteraciones lisosómicas previas a la muerte celular serían responsables de la activación de la fosfatasa ácida,[451,452] que es una de las enzimas que se liberan.

En consecuencia, a medida que el proceso degenerativo avanza, las tumefacciones nucleares y nucleolares se tornan más pronunciadas, los nucléolos se marginan por condensación de la cromatina asociada con el nucléolo, y el aclaramiento nuclear progresa de conformidad con la condensación de la cromatina en el borde del núcleo. El citoplasma se torna indefinido y vacuolado o vesiculado. En la microscopia electrónica se reconoce a menudo dilatación quística del retículo endoplasmático y degeneración quística más grande, lo cual en microscopia óptica se conoce como degeneración vacuolar y vesicular. Aunque es frecuente la ingurgitación de las mitocondrias, con la técnica ordinaria de Papanicolaou no se la puede discernir.[224]

2. Final de la degeneración celular

El punto final de la degeneración, es decir, la muerte celular, conduce a tres acontecimientos: cariopicnosis, cariorrexis y cariólisis.

La cariólisis es un estado inespecífico[701] en que las cromatinas que contienen DNA están disminuidas y condensadas hacia el borde nuclear. El contorno celular se torna esférico. Las cromatinas condensadas en la periferia persisten como unas masas de cromatina aglomerada después de haber desaparecido el borde nuclear (cariorrexis). Otra forma de muerte celular que se observa con frecuencia es la cariopicnosis, en que hay retracción y condensación de la cromatina en el núcleo, el cual se convierte en una masa sólida y amorfa.

El citoplasma exhibe disminución de la basofilia por pérdida de ribonucleoproteína, intensa eosinofilia y fragmentación. Las células muertas son digeridas por los leucocitos polimorfonucleares o macrófagos como fenómeno de heterólisis; en este proceso intervienen la endocitosis, en que se fagocitan células muertas, y la exocitosis, en que intervienen enzimas hidrolíticas liberadas.

3. Viabilidad celular

Tal como se describe en el capítulo sobre microscopia fluorescente, la tinción supravital con naranja de acridina es útil para verificar la viabilidad de las células.[307, 594] Las células sanas emiten una fluorescencia verde o verde amarillenta (tinción ortocromática). El daño celular irreversible, en cambio, puede dar metacromasia citoplasmática completa[719] como consecuencia de un mecanismo de apilamiento del colorante,[70, 226] seguido por disociación del complejo proteína-ácido ribonucleico. Algunos colorantes básicos, el verde de lisamina, el azul de toluidina, el azul de metileno y el rojo neutro (0,01 %) también son útiles para establecer la viabilidad celular.[288] En lugar de los colorantes básicos, algunos investigadores emplearon con el mismo fin colorantes ácidos como eosina (0,1 %)[150, 576] y azul trípano (0,2-0,5 %).[407, 503, 550] La prueba de la permeabilidad del azul trípano es la que más se usa para establecer la viabilidad celular porque este colorante no es tóxico hasta una concentración del 0,2 %.[503, 648] Las células viables sólo exhiben una tinción finamente granular en el citoplasma, pero las desvitalizadas dan coloración difusa del citoplasma y de los núcleos. La prueba de viabilidad que describimos arriba concierne a la permeabilidad de la membrana, que es una forma de función celular. La prueba de la digestión con tripsina se basa en la aptitud de ésta para digerir a las células dañadas o muertas y es útil para estimar el estado biológico celular. A continuación describimos el método de Plesničar y col.[503] La coloración vital se hace con verde Janus B, cuya molécula es grande y posee un diámetro de 25,2 Å. En una concentración baja (0,01 %) el verde Janus B exhibe afinidad específica por las mitocondrias, que se tiñen como estructuras granulares o filamentosas de color azul verdoso por acción de la citocromo oxidasa que contienen. La observación de los preparados coloreados con verde Janus B debe terminarse a los 30 minutos.

El negro Sudán B, que se empleó para identificar monocitos, tiñe a las lipocondrias distribuidas en el aparato de Golgi. Los macrófagos mononucleares derivados de los monocitos sanguíneos que se hallan en las cavidades corporales, son positivos para esta tinción y se pueden distinguir así de las células mesoteliales y de los histiocitos texturales.[34]

Addendum I. Prueba de la permeabilidad con azul trípano:

1. Prepárese una suspensión celular en solución de Hanks.
2. Añádase a la suspensión celular igual cantidad de solución de Hanks con azul trípano al 0,5 % y mézclese con suavidad pipeteando.
3. Cuéntense las células coloreadas a los 3 minutos en la cámara de Bürker.

Addendum II. Prueba de la digestión con tripsina:

1. Prepárense suspensiones celulares que contengan 2000 a 3000 células por microlitro mediante dilución con solución de Türk (1:10) y cuéntese en la cámara de Bürker.
2. Incúbense tres muestras de 1,5 ml con volúmenes iguales de tripsina al 0,0002 %, 0,002 y 1 % durante 30 minutos a 22° C.
3. Las células resistentes a la suspensión se toman como viables y se cuentan en la cámara de Bürker.

12 Tipificación de células malignas

Desde el punto de vista histológico, los cánceres se clasifican en tres tipos principales: carcinoma epidermoide o espinocelular, adenocarcinoma y carcinoma indiferenciado. Las células exfoliadas también exhiben rasgos distintivos que concuerdan con estos tipos histológicos. Otro tipo, el carcinoma de células transicionales, no es tan característico como estos tres principales, porque las células son más o menos similares a las del tipo epidermoide no queratinizante (véase el capítulo sobre tracto urinario). En cuanto a la concordancia entre las tipificaciones citológica e histológica, recordemos que las características citológicas no indican siempre los tipos histológicos, excepto en determinados cánceres que tienen una distribución hística uniforme en todo el tumor.

Puede ocurrir discordancia entre los tipos citológicos e histológicos porque la clasificación histológica se basa en la diferenciación extrema de las células cancerosas, en tanto que la tipificación citológica refleja inevitablemente el tipo de célula cancerosa predominante.

No es raro ver una diferenciación característica, que puede ser epidermoide o glandular, en nidos de células cancerosas anaplásicas. Por ejemplo, podemos encontrar una diferenciación epidermoide abrupta en un carcinoma de pulmón de células pequeñas, que se designaría con diversos términos diagnósticos: carcinoma epidermoide, carcinoma de células pequeñas en parte epidermoide y carcinoma combinado de células pequeñas y epidermoide.

Lo mismo que el hemograma, el "citograma" que se emplea para estudiar la distribución de las células malignas de acuerdo con los tipos celulares, es un intento encaminado a reconstruir la histología del cáncer. Si no hay suficiente cantidad de células malignas, el citograma puede carecer de significación.

1. Tipo glandular (adenocarcinoma)

Rasgos generales. Un rasgo distintivo de este tipo es la descamación en grumos de células. Las células están superpuestas a modo de una distribución glandular (acinosa) o de formaciones papilíferas.

Características del citoplasma

1. Es frecuente la vacuolización del citoplasma. Aunque la célula cancerosa mal diferenciada puede ir a la vacuolización degenerativa, ésta es vesicular y borrosa.
2. La formación de anillos de sello es una forma extrema de vacuolización citoplasmática. El núcleo hipercrómico está desplazado hacia la periferia del citoplasma, que se halla cargado de material mucinoso. La vacuola opaca muchas veces es PAS positiva y resistente a la digestión con diastasa.
3. La aparición de inclusiones secretorias citoplasmáticas es un fenómeno raro, pero reviste importancia para tipificar las células. Se piensa que las secreciones de las células adenocarcinomatosas se concentran, formando unas concreciones redondas que son eosinófilas o cianófilas y PAS positivas.

Características del núcleo

1. Los núcleos están en la periferia del citoplasma. Son más bien redondos u ovoides y de contornos lisos, en compa-

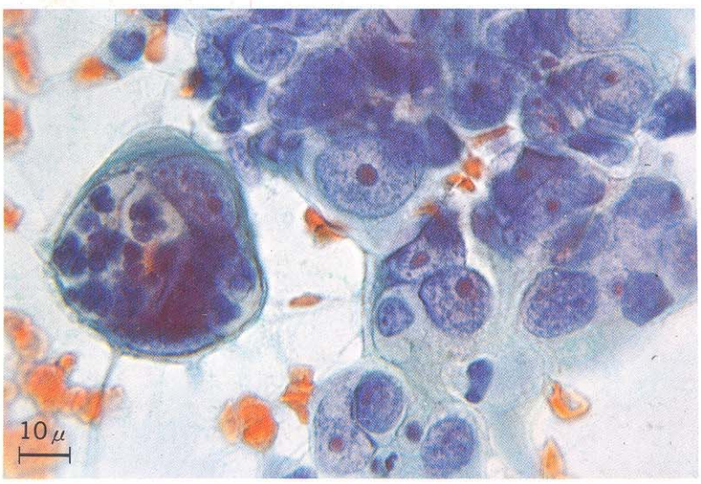


Fig. 94. Células malignas de tipo glandular en raspados cervicales. La formación de un denso grumo celular con superposición nuclear y los nucléolos prominentes centrales acidófilos son rasgos distintivos de adenocarcinoma. De un caso de adenocarcinoma del cuello uterino.

ración con los de otros tipos de células cancerosas, en que los contornos son irregulares.

2. Los nucléolos son escasos, por lo general uno o dos, pero muy prominentes, con una forma redondeada en gota, y a veces eosinófilos. Tienden a ser centrales. El contorno nucleolar está bien delineado.

3. La cantidad de cromatinas es mayor, pero no tanto como en los otros tipos; la distribución de las cromatinas es granular bastante fina, por tratarse de células malignas.

4. Los rasgos accesorios específicos de alguna variedad de adenocarcinoma son los cuerpos psamomatosos y las inclusiones intranucleares. Los cuerpos psamomatosos son frecuentes en los adenocarcinomas papilíferos de tiroides, ovario, pulmón, endometrio, etc. Las inclusiones intranu-



Fig. 95. Células malignas de tipo glandular en raspados cervicales. La formación de un denso grumo celular con superposición nuclear, distribución acinosa o tubular de las células y vacuolización citoplasmática indica adenocarcinoma. De un caso de adenocarcinoma gástrico que dio metástasis en el cuello uterino.

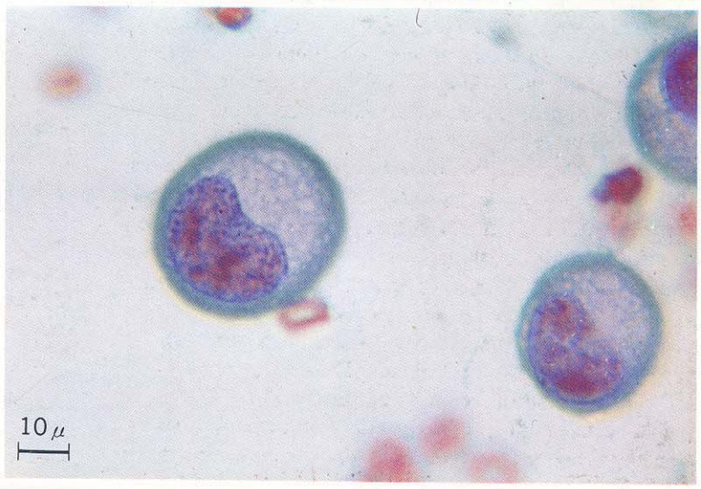


Fig. 96. Células malignas individuales de tipo glandular en el líquido ascítico. Los grandes núcleos hipercromáticos son excéntricos y el citoplasma es finamente vesicular. De un caso de peritonitis carcinomatosa por adenocarcinoma gástrico.

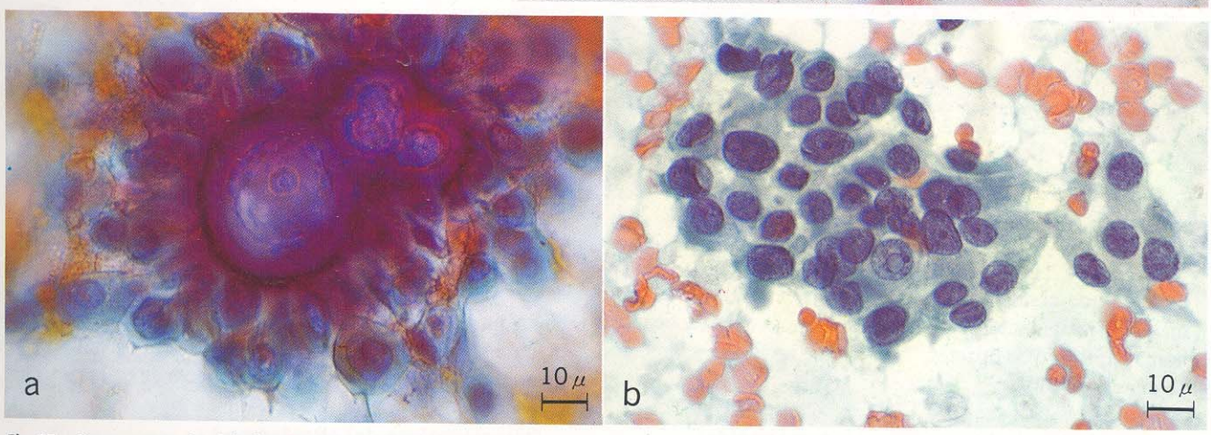


Fig. 97. Rasgos accesorios del adenocarcinoma papilífero. *a*, Cuerpo psamomatoso en un adenocarcinoma papilífero de endometrio. En el centro de los nidos de adenocarcinoma se forman unos cuerpos calcificados laminillares. *b*, Inclusión citoplasmática intranuclear con un contorno semejante a una membrana nuclear. De un extendido impreso de adenocarcinoma papilífero de tiroides. El interior es finamente granular y tiene la misma textura que el citoplasma.

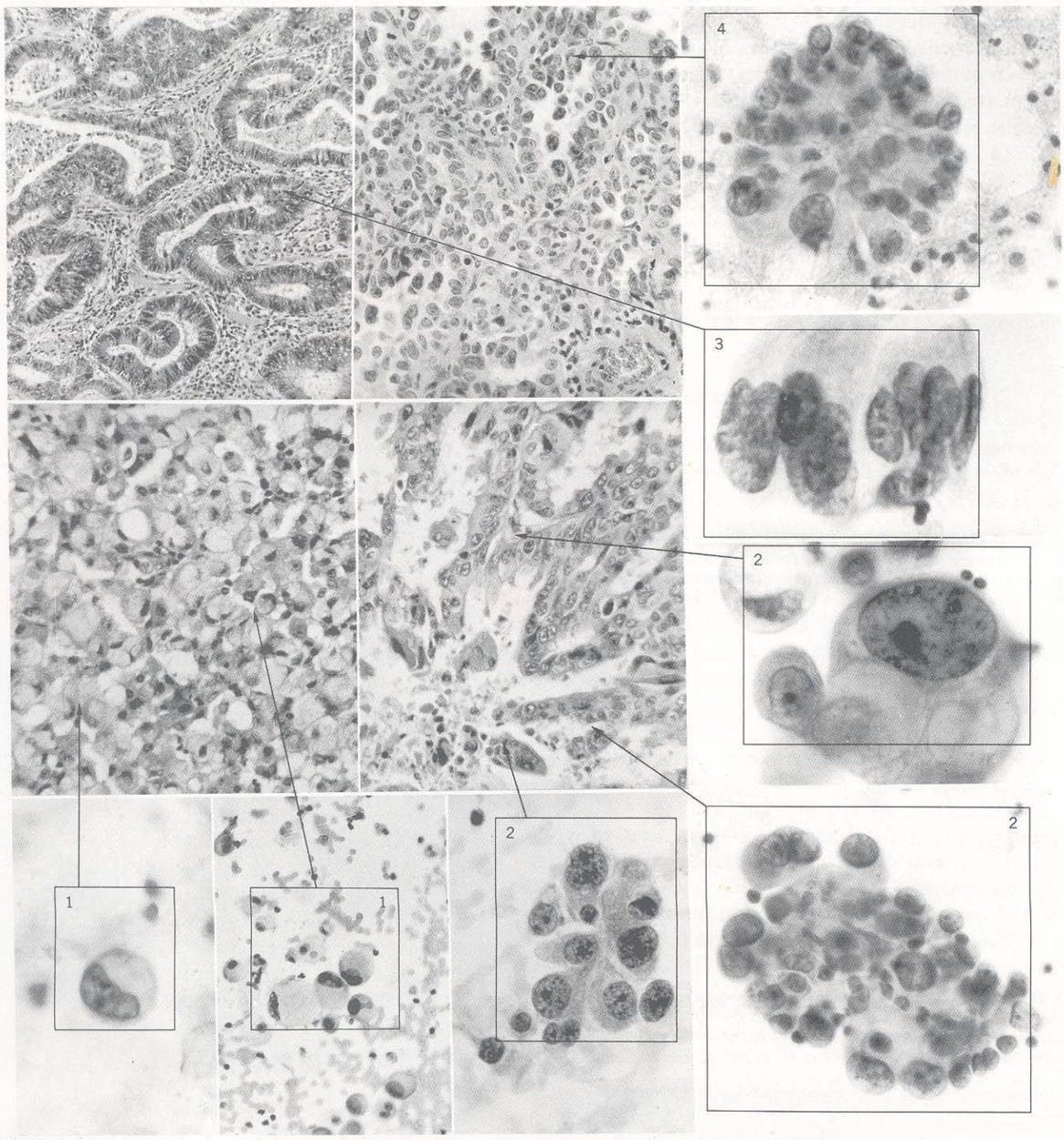


Fig. 98. Rasgos característicos de las células malignas de tipo glandular. *1)* Célula en anillo de sello sugestiva de carcinoma mucocelular. *2)* La aglomeración acinosa constituida por células columnares, haya o no secreción de moco, corresponde al adenocarcinoma tubular. *3)* Las aglomeraciones celulares con núcleos en empalizada corresponden al adenocarcinoma tubular. *4)* Las aglomeraciones celulares de distribución pediculada son sugestivas de carcinoma papilífero.

cleares, que contienen organoides citoplasmáticos, se forman por invaginación y son muy específicas del adenocarcinoma papilífero de tiroides,[734, 747] aunque no se ha esclarecido su génesis.[734]

2. Tipo epidermoide (carcinoma epidermoide)

Rasgos generales. Las células cancerosas epidermoides o espinocelulares tienden a exfoliarse en forma individual y a degenerar, de modo que la diátesis tumoral es más pronunciada que en los otros tipos. Sin embargo, cuando hay descamación de células cancerosas en láminas o grumos, están dispuestas en un plano y tienen el aspecto de un empedrado.

Características del citoplasma

1. El citoplasma se presenta grueso, en ocasiones de aspecto céreo, y su borde está bien definido.

china''. La picnosis oscurece la presencia de los nucléolos y los detalles nucleares. La condensación local de cromatinas hacia el borde nuclear alterna con espacios intercromatínicos claros. Esta imagen en mosaico significa necrobiosis de células cancerosas y es frecuente en el carcinoma epidermoide.

3. Tipo indiferenciado (carcinoma de células grandes indiferenciadas)

Rasgos generales. En este tipo muchas veces están el adenocarcinoma y el carcinoma epidermoide poco diferenciados; la desdiferenciación extrema es el prototipo del carcinoma de células grandes indiferenciadas. Aunque no existe ningún rasgo distintivo que caracterice a este tipo, la débil tingibilidad, la escasez de citoplasma y la interrelación laxa entre las células de un grumo, abonan a favor de este tipo.

Características del citoplasma

El citoplasma es tan escaso que la relación N/C es la más alta de los tres tipos principales de células malignas.

1. Las células cancerosas indiferenciadas suelen descamar en forma individual o en aglomeraciones celulares sueltas; los núcleos están dispuestos en una lámina plana sin imágenes de organoides. No hay formaciones tubulares ni cornificación celular.
2. El borde citoplasmático es borroso y la reacción tintorial es débilmente basófila o cianófila.

Características del núcleo

1. Los núcleos predominan y exhiben considerable pleomorfismo, anisonucleosis, hipercromía y grumos de cromatina gruesos. Los contornos nucleares son irregulares y por lo general poliédricos.
2. Los nucléolos son variables; van desde uno solo hasta muchos y presentan contornos irregulares y basofilia.

4. Tipo de células pequeñas indiferenciadas (carcinoma indiferenciado de células pequeñas)

Este tipo específico de células malignas indiferenciadas se caracteriza por núcleos pequeños y citoplasma escaso, de modo que es problemático diferenciar a estas células de los linfocitos grandes. El carcinoma anaplásico de células pequeñas del pulmón es un tumor representativo que exfolia este tipo de célula maligna. El tipo fusocelular (tipo basocelular) de carcinoma del cuello uterino también desprende estas células pequeñas indiferenciadas (véase fig. 408).

Rasgos generales. Las células pequeñas anaplásicas aparecen como núcleos individuales dispersos y desnudos, o en aglomeraciones celulares sueltas. Un rasgo común es la asociación con la ''diátesis tumoral''.

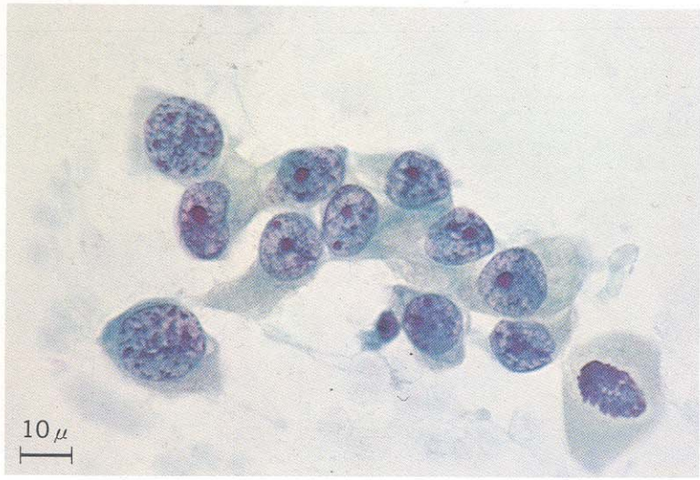


Fig. 105. Células malignas de tipo indiferenciado grande en aspirados de punción pulmonar. El escaso citoplasma con cianofilia pálida, los bordes celulares borrosos y la alta relación nuclear citoplasmática son característicos del carcinoma indiferenciado.

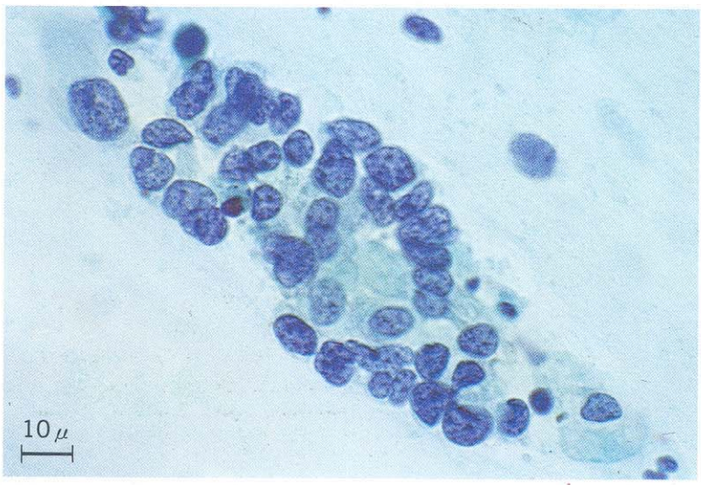


Fig. 106. Células malignas de tipo indiferenciado pequeño en cepillados bronquiales. El tipo indiferenciado pequeño se caracteriza por el citoplasma muy escaso, la figura de tipo linfocitario casi denudada y el gran hipercromatismo nuclear con una trama granular gruesa.

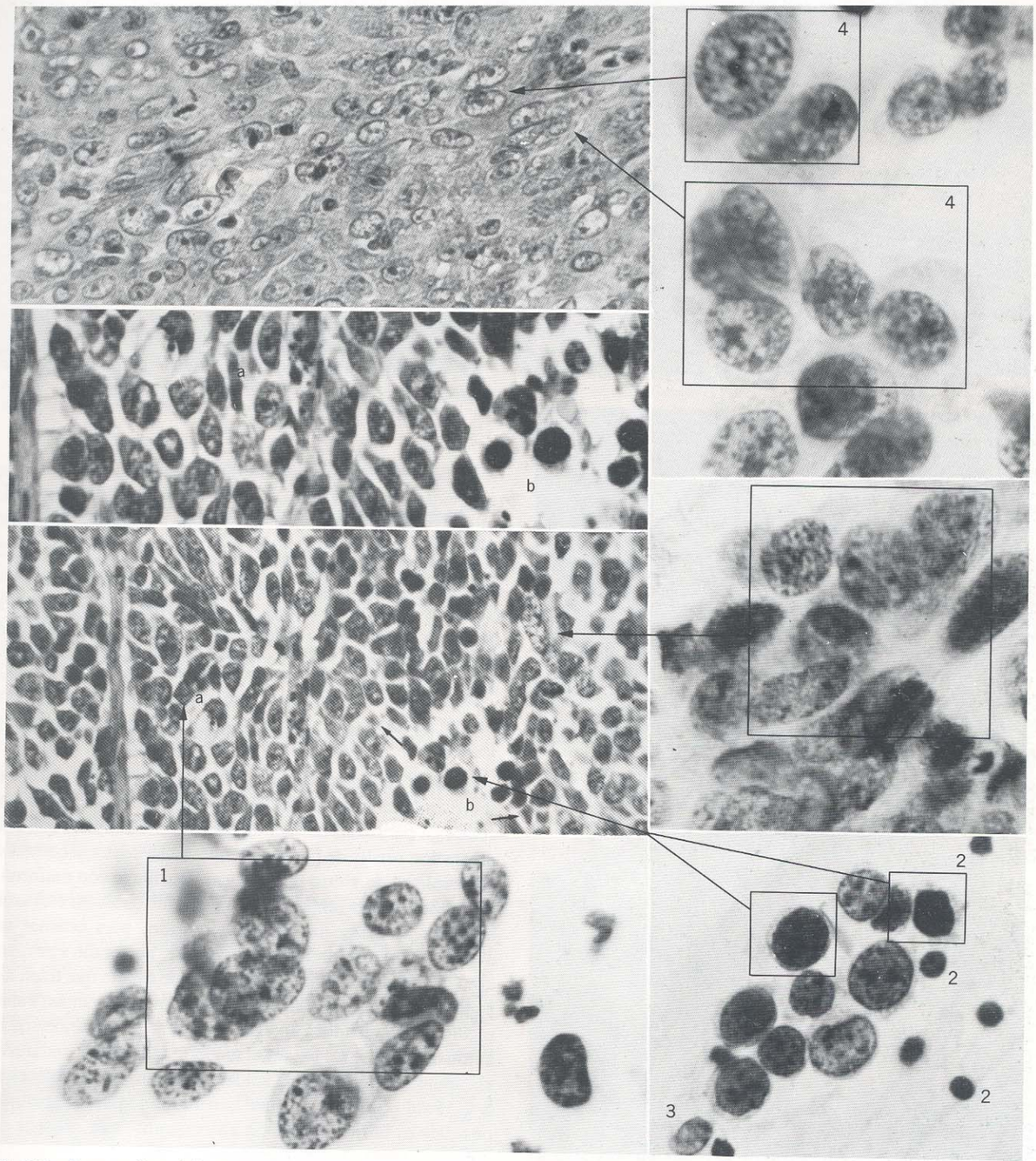


Fig. 107. Rasgos malignos de las células malignas de tipo indiferenciado. *1)* Células indiferenciadas bien preservadas que exhiben cromatinas granulares gruesas. Son distintivos de este tipo los nucléolos múltiples de tipo cariosómico y el citoplasma sombrío y muy escaso. *2)* Las células cancerosas en necrobiosis son picnóticas y semejan linfocitos. *3)* Células cancerosas en colicuación necrobiótica. Las células fantasmas representan el fin de la colicuación (*flecha*). *4)* Células poco diferenciadas de cáncer epidermoide que corresponden al carcinoma simple histológico. Nótese el citoplasma escaso y mal definido como en las células descriptas antes. En las células cancerosas indiferenciadas grandes, muchas veces hay nucléolos prominentes. *a)* Células cancerosas en crecimiento activo. *b)* Células cancerosas en vías de degeneración, con núcleos picnóticos.

Características del citoplasma

1. El citoplasma es inadecuado en cantidad y sólo se ve como una orla angosta en torno del núcleo.
2. La reacción tintorial es levemente basófila, o sea verde azulada tenue con la coloración de Papanicolaou, y el borde celular es borroso.

Características del núcleo

1. Los núcleos son pequeños, redondos u ovoides, y a menudo picnóticos, semejando células linfoides, pero se destacan por exhibir anisonucleosis, un contorno nuclear irregular y una distribución gruesa de la cromatina.
2. Los nucléolos son múltiples, indistinguibles de los cariosomas y basófilos, y diseminados en todo el núcleo.

13 Preparación de extendidos y fijación

1. Instrumentos

1. Portaobjetos de vidrio limpios.
2. Ovoalbúmina de Mayer; se utiliza a veces para evitar que se produzca pérdida de células al realizar el preparado húmedo.
3. Lápiz marcador para identificación.
4. Pequeñas pipetas con casquete de goma o pequeñas espátulas.
5. Frascos para fijación.

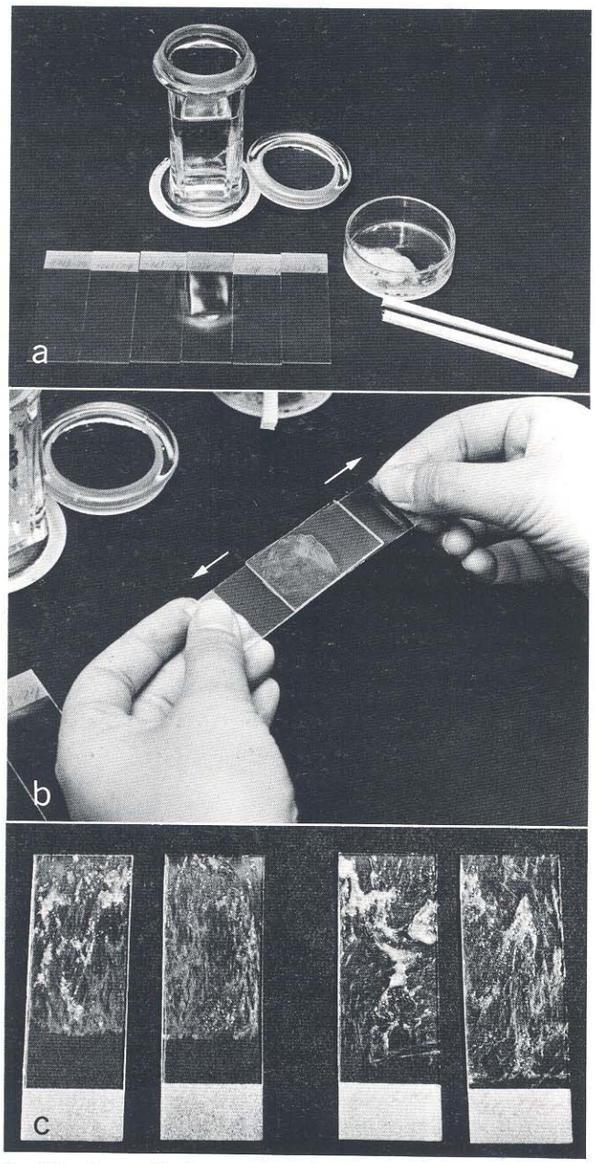


Fig. 108. Preparación de una muestra de esputo. *a*, Frasco para fijación que contiene alcohol absoluto y portaobjetos limpios. *b*, Se deposita un poco de esputo en un portaobjeto de vidrio limpio y se preparan extendidos finos cubriendo con otro portaobjeto y separando ambos por deslizamiento. *c*, Extendidos preparados.

2. Preparación de los extendidos

Técnicas para raspajes directos de las lesiones

Como del raspaje de las lesiones y de la punción aspiradora se suelen encargar los médicos, se deben entregar portaobjetos de vidrio limpios y frascos fijadores o aerosoles para dejar en las salas o en los consultorios externos. Préstese cuidadosa atención a los montajes mojados para hacer tinciones de Papanicolaou.

Técnicas para muestras traídas al laboratorio

Esputo. El esputo se inspecciona iluminando el frasco sobre un fondo oscuro. Toda área manchada de sangre o que contenga partículas sólidas nubosas se debe aspirar con una pipeta con perilla de goma. La muestra se deposita entre dos portaobjetos de vidrio limpios y se distribuye con uniformidad desplazando ambos portaobjetos el uno sobre el otro mientras se ejerce un poco de presión, para obtener un extendido fino. Es preferible el esputo expectorado a primera hora de la mañana. Para las muestras de esputo que traen los pacientes mismos o se envían desde clínicas distantes, Papanicolaou recomendaba agregar alcohol al 70 % para evitar la autólisis celular. En lugar del alcohol, que podría endurecer el esputo, es preferible la solución de Ringer con formol al 2 %. Para preservar las células para citología de esputo de tres días es útil el líquido de Saccomanno, que consiste en polietilenglicol al 2 % y etanol al 50 %.

Muestra líquida. Las muestras líquidas, como de líquido pleural o peritoneal, orina, lavados gástricos y líquido cefalorraquídeo, se centrifugan 5 minutos a 1500 rpm. El sedimento se extiende de la misma manera que el esputo, presionando muy poco con los dedos. Si el sedimento es escaso, hágase el extendido sólo en el centro del portaobjeto. Justo después de la aspiración se debe agregar una pequeña cantidad de anticoagulante, que pueden ser 10 mg de EDTA o 1 mg de heparina sódica por cada 100 ml de derrame. Cuando el borde del extendido empieza a secarse, se debe colocar rápidamente el portaobjeto en el fijador de éter y alcohol. Para preparar extendidos de orina o de líquido cefalorraquídeo, que contienen muy poca proteína, se requieren por-

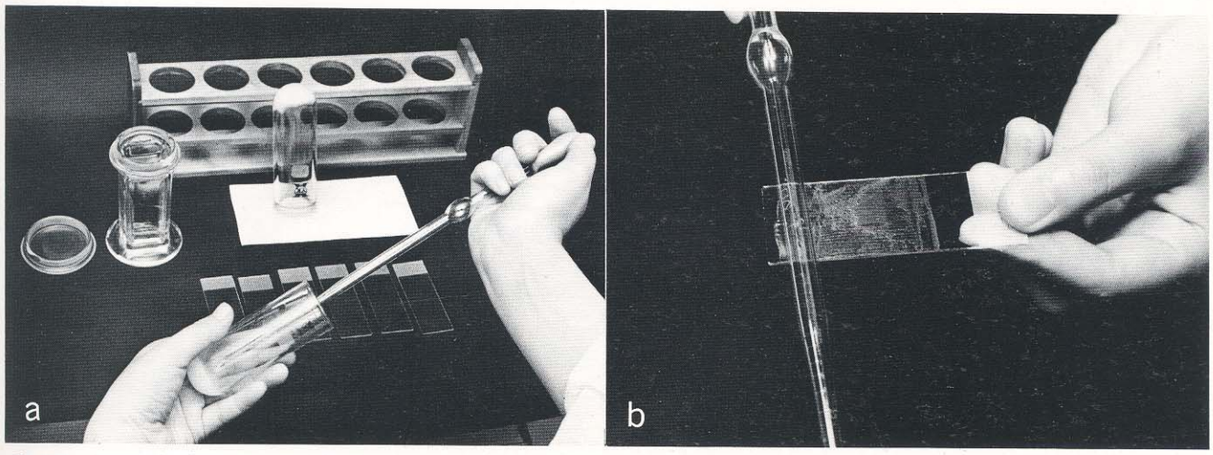


Fig. 109. Preparación de una muestra de líquido. *a*, Se centrifuga con un tubo de 50 ml si la cantidad de líquido es grande. *b*, Los extendidos se hacen con la pared de la pipeta. También se pueden preparar deslizando dos portaobjetos.

taobjetos de vidrio albuminizados, porque de lo contrario las células extendidas se pueden perder al fijar los preparados húmedos. Aunque conviene preparar las muestras cuanto antes, se pueden guardar varias horas en el refrigerador para hacer después el examen citológico. Papanicolaou recomendaba agregar cantidades iguales de alcohol etílico al 90 % a los lavados gástricos y de alcohol etílico al 50 % a los líquidos pleurales o peritoneales. Sin embargo, el añadido de alcohol etílico al 50 % puede hacer que la proteína de los exudados ricos en ella precipite. Este autor recomienda agregar una baja concentración de alcohol con solución de formol y Ringer o de formol y solución fisiológica (30 ml de alcohol al 95 % + 68 ml de solución de Ringer + 2 ml de formol) para evitar la autólisis. El agregado de alcohol puede acentuar la tinción nuclear; por lo tanto, se debe prestar atención para no teñir de más.

3. Técnica de la filtración con membrana

Esta técnica de concentración celular es muy útil en particular cuando hay pocas células en grandes volúmenes de líquido y cuando la cantidad de líquido de la suspensión es demasiado escasa como para procesarlo mediante centrifugación común. La filtración directa sin tratamiento especial es un método aceptable para líquidos corporales de baja viscosidad como orina, lavados gástricos, ascitis y líquido pleural. Para los lavados bronquiales y nasofaríngeos y para los líquidos de las bolsas sinoviales, en cambio, es probable que haya que digerir las mucoproteínas con enzimas mucolíticas. Los filtros Millipore consisten en ésteres de celulosa puros y los fabrica la Millipore Filter Corporation. El Nuclepore es una película de plástico de policarbonato fabricada por General Electric Company. Ambos filtros se usan en todo el mundo.[532, 583]

Técnica del filtro Millipore. Se usa la membrana tipo SM cuyos poros tienen un tamaño medio de 5 μ o el tipo SC con poros de 8 μ. El instrumento se conecta con el agua corriente. El filtro se humedece con un poco de solución fisiológica y las muestras líquidas, de alrededor de 20 ml, se filtran a presión negativa de 20 a 50 mm Hg. Si las muestras son de pocos mililitros, se deben diluir con solución fisiológica hasta 20 ml o más. La filtración cesa cuando queda un poco de líquido en el vaso del filtro todavía. Recórtese la membrana filtrante para que quepa en un portaobjeto y fíjese a éste con clipes para papel al hacer la fijación y tinción. La fijación se debe hacer con alcohol etílico al 95 % por unos 30 a 60 minutos. Se puede usar un vaso metálico para filtro con un filtro que tenga exactamente el tamaño del portaobjeto (17 ×

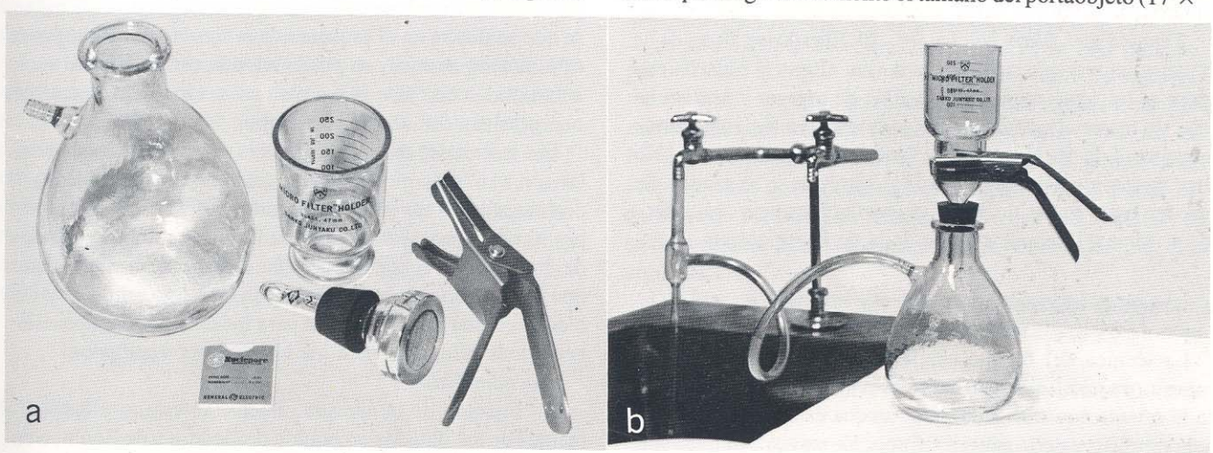
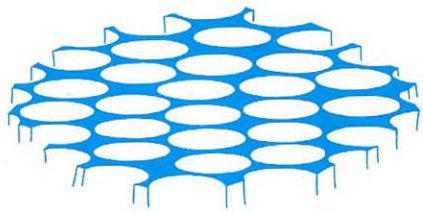


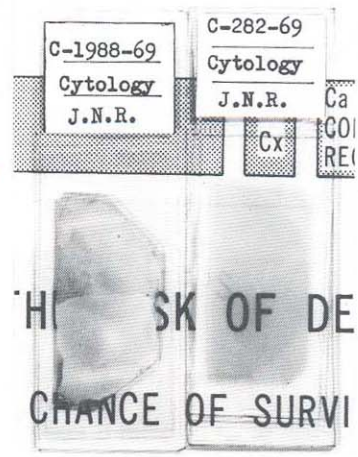
Fig. 110. Técnica del filtrado con membrana. *a*, Equipos para filtrar: embudo, frasco, abrazadera y filtro. *b*, Instrumento conectado con una bomba de agua corriente.



Tipo de FM	Tamaño de los poros
SC	$8.0\mu \pm 1.4\mu$
SM	$5.0\mu \pm 1.2\mu$

111

Fig. 111. Porosidad del filtro Millipore. La matriz de celulosa ocupa del 10 al 20 % de todo el volumen del filtro.



112

Fig. 112. Portaobjetos preparados con el método del filtrado con Millipore. Si la cantidad de medio de montaje es insuficiente el filtro se opacifica por las burbujas de aire (*izq.*). Con un montaje apropiado el filtro conserva su trasparencia (*der.*).

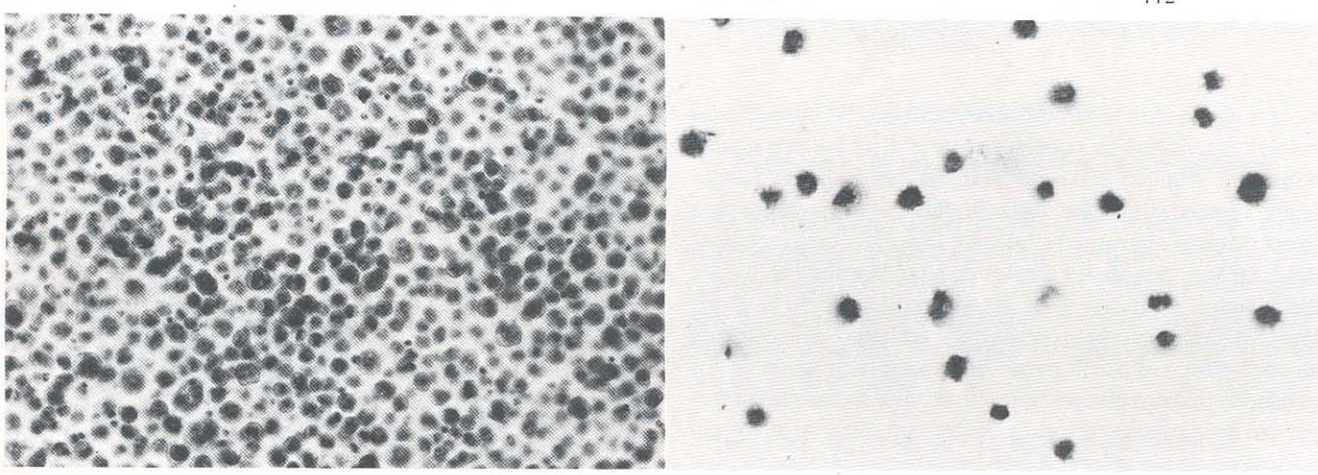


Fig. 113. Eficacia de la concentración de células con la membrana filtrante (izq.), en comparación con el método de centrifugado (der.). Células cancerosas ascíticas de Ehrlich tras su dilución con líquido ascítico 8000 veces. Originariamente la cantidad de células cancerosas era 90.000.000 por mm^3. En este experimento la preparación de la película secada al aire con tinción de Giemsa se hizo para el método de centrifugación ordinario con el fin de evitar la pérdida de células durante la centrifugación.

40 mm). La membrana se colorea con Papanicolaou casi de la misma manera, pero con la diferencia de que se usa alcohol n-propílico absoluto (2 minutos) y una mezcla de alcohol n-propílico absoluto y xilol (1:1), pasando por alcohol etílico al 95 % después del alcohol al 50 o 65 %.

Para montar el filtro de 130 ± 10 μ de espesor, se usa una cantidad de medio apropiado para evitar las burbujas de aire que opacificarían el filtro.

Técnica del filtro Nuclepore. El filtrado se hace de la misma manera que en el caso anterior. Como el filtro Nuclepore es transparente y de unos 10 μ de espesor y está hecho con un material químicamente resistente, es fácil hacer todo el proceso de tinción, desde la filtración hasta el montaje. No hay limitaciones sobre el tipo de alcohol que se ha de usar. Se pueden hacer varias tinciones, como fluorescencia con naranja de acridina y Giemsa, además de la de Papanicolaou.

4. Técnica del bloque celular

La técnica del bloque celular, consistente en incluir la muestra en parafina y hacer cortes de 4 o 5 μ, es prácticamente la misma que en histología. Aunque este proceso parece ser complejo y demandar su tiempo, los rasgos celulares son similares a los de los cortes histológicos y se reconoce bien el ordenamiento de las células. La exfoliación de células provenientes de tumores malignos, epitelio regenerado y epitelio atípico o metaplásico puede producirse con aglomeraciones celulares tan grandes y compactas que las células individuales no se disciernen a la microscopia común. El preparado del bloque celular, en cambio, revela una trama organoide y detalles nucleares nítidos similares a los histológicos (fig. 114), y en esto radican las ventajas de esta técnica. Todo el procedimiento se hace con rapidez centrifugando de la manera que se ilustra en el esquema de la figura 115. En lugar de este método manual, se puede adoptar un sistema de vacío automático con calor suave para procesar muchas muestras con gran rapidez al mismo tiempo.

Los materiales apropiados para la técnica del bloque celular son el esputo cuyas células están en un moco denso,[234] derrames de las cavidades corporales,[103, 714] en que las células proliferan como si estuviesen en un cultivo celular, y lavados de órganos que contienen grandes aglomeraciones celulares que se exfolian mecánicamente. Sin embargo, el método del bloque celular no es aplicable para los materiales que contienen pocas células ni para los hisopados y cepillados.

Procedimiento:

1. Fijación de la muestra. Fíjense el esputo y los sedimentos de los líquidos en líquido de Gendre o de Bouin, o en solución de ácido pícrico y alcohol. Esta última se prepara disolviendo 13 g de ácido pícrico en alcohol etílico al 70 %.

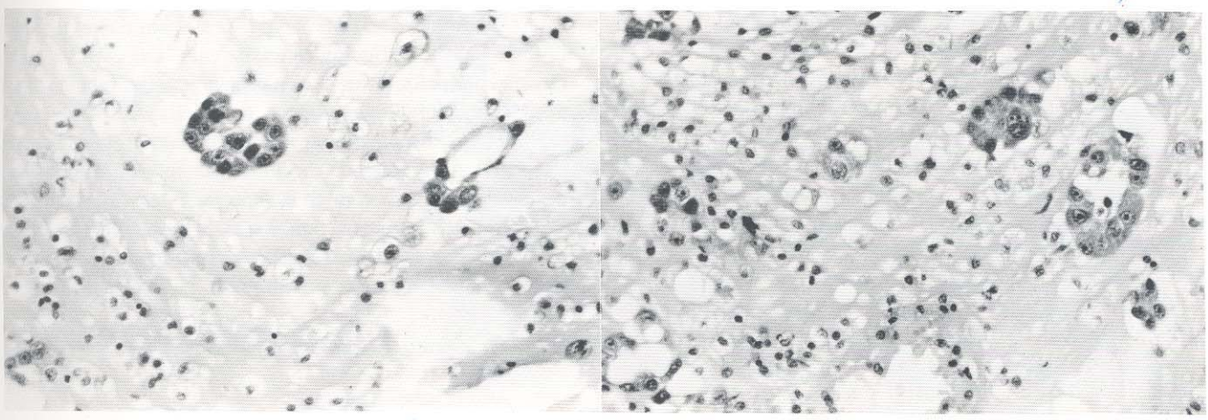


Fig. 114. Racimos de células malignas preparadas con el método del bloque a partir de líquido ascítico por adenocarcinoma de ovario. Los rasgos celulares son similares a los de los cortes histológicos; se reconoce una trama glandular distintiva, con luces. Hematoxilina y eosina.

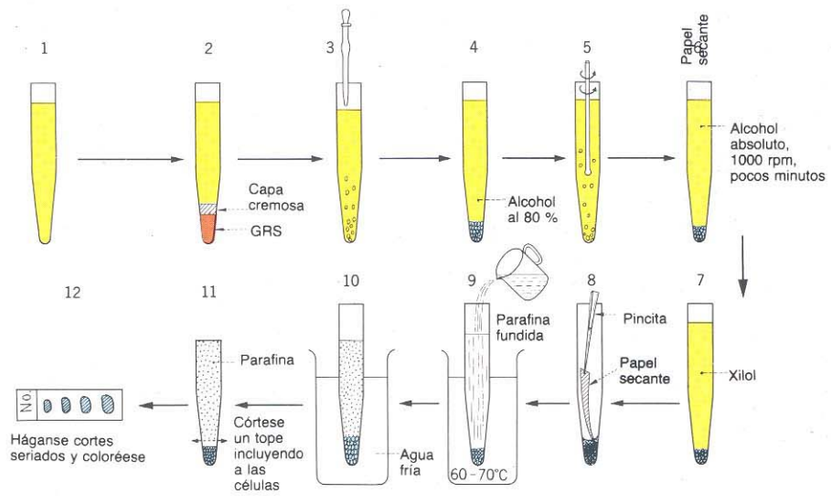


Fig. 115. Método rápido del bloque celular. *1* y *2)* Centrifúguese 5 minutos a 1500 rpm. *3)* Pipetéese la capa cremosa, deposítese en el fijador y déjese 5 minutos. *4)* Decántese el fijador y viértase alcohol al 80 %. *5)* Revuélvase con una varilla de vidrio y cámbiese el alcohol (80-95-100 %). *6)* Complétese la deshidratación. *7)* Aclárese con xilol. *8)* Decántese y absórbase el resto de xilol. *9)* Viértase parafina fundida. *10)* Deposítese el tubo en agua fría. *11)* Córtese el tope de la barra de parafina. para hacer los cortes. (Gentileza del doctor Fukushima, N., Doai Memorial Hospital, Tokio.)

La fijación se completa en 30 minutos para las muestras líquidas y en una hora para el esputo. En cambio, el procesado rápido del bloque celular con tubos de centrífuga permite completar la fijación en 5 minutos.

2. Deshidratación. Envuélvase el esputo con gasa y colóquese en una pequeña cesta de alambre para que se deshidrate. El sedimento se debe deshidratar en tubos de centrífuga en cada paso hasta hacer la inclusión, de la siguiente manera: 5 minutos de centrifugación a 1000 rpm; fijación de la capa cremosa por unos 10 minutos en un tubo de centrífuga que contiene el fijador; alcohol al 80 %, revolviendo de vez en cuando con una varilla de vidrio; alcohol al 80 %; alcohol absoluto y, por último, alcohol absoluto.
3. Límpiese con xilol.
4. Inclúyase en parafina.

5. Fijación

Las células vivas toman poco los colorantes porque los componentes moleculares del protoplasma están hidratados y han fijado agua, pero se hacen tingibles después de desnaturalizar y deshidratar la porción "gelificada" del protoplasma.

La microscopia de contraste de fase es lo más indicado para estudiar el estado vital de las células, como las membranas celular y nuclear, cromatinas o cromosomas, y componentes citoplasmáticos como mitocondrias, gránulos de Nissl y cuerpos de inclusión. Sin embargo, el contraste de fase tiene sus desventajas porque constituye una forma imperfecta de contraste de interferencia y porque, además, no es conveniente para la realización de exámenes de selección en masa.

Los buenos fijadores que preservan bien a los componentes celulares, penetran en el interior de las células y las tornan más tingibles.

En la actualidad la fijación se hace con una sola inmersión en alcohol etílico al 95 % porque el éter es muy inflamable y de todas maneras no mejora la fijación. En vez de etanol, también se acepta el metanol al 100 %, que produce menos encogimiento celular que el etanol.

Fijador para la coloración de Papanicolaou

El fijador más popular en citología exfoliativa consistía en partes iguales de alcohol etílico y éter etílico, de acuerdo con la recomendación de Papanicolaou. Los extendidos se fijan 30 minutos o más. Si hay urgencia se obtienen detalles nucleares satisfactorios fijando 10 minutos.

Los extendidos dejados en el fijador una semana o más también se prestan para citología. Además de la solución de éter y alcohol, son excelentes fijadores el líquido de Gendre, que consiste en ácido pícrico saturado en alcohol etílico (85 partes), formol (10 partes) y ácido acético glacial (5 partes), y el líquido de Carnoy, que consiste en etanol al 95 % (60 partes), cloroformo (30 partes) y ácido acético glacial (10 partes).

El prerrequisito de una tinción excelente es el llamado "preparado mojado", en que el extendido se fija inmediatamente antes de que se seque. Aunque el extendido se fije en éter y alcohol después de secarlo, no se obtienen los detalles nucleares ni la diferenciación de color del citoplasma. En la práctica se dejan secar un poco los bordes para que las células no se despeguen del portaobjeto. Esta precaución es muy necesaria para las muestras líquidas.

Addendum: Advertencia para los preparados mojados. A pesar de esta precaución, los extendidos de muestras líquidas que contienen escaso material proteináceo o mucinoso, como líquido cefalorraquídeo u orina, pueden perder muchas células durante la fijación de la película mojada. Para evitar esta falla técnica se recomienda preparar por lo menos una película secada al aire para teñirla con Giemsa.

Fijadores de revestimiento

Los fijadores de revestimiento* consisten en su mayoría en polietilenglicol y alcohol etílico, y se rocían sobre los extendidos mojados justo después de prepararlos. En las muestras líquidas conviene más esperar que la superficie del extendido empiece a secarse en el borde para que las células no sean desplazadas por el rocío. Los fijadores de revestimiento hidrosolubles se deben retirar antes de teñir con hematoxilina para evitar la contaminación. Este tipo de fijación es satisfactorio para células y mantiene una buena tingibilidad por una semana, más o menos. Por lo tanto, no sólo conviene para despachar muestras por correo y para realizar exámenes de selección en masa, sino también para uso diario.

6. Tinción

Coloración de Papanicolaou

El método que propuso Papanicolaou es el que da los resultados más satisfactorios. Aunque requiere una larga serie de pasos, el procedimiento es muy sencillo y se completa en 20 minutos. Hasta se pueden examinar extendidos gruesos porque la tinción es trasparente. Las características de esta coloración consisten en la acción policromática por la mezcla de colorantes catiónicos, aniónicos y anfóteros. Cada capa del epitelio pavimentoso estratificado produce una gama de colores gradual desde el verde intenso en la capa basal hasta el anaranjado vivo en la superficial. La diferenciación cromática del citoplasma también es útil para tipificar células malignas. Por ejemplo, las células cancerosas tienden a ser naranjófilas de acuerdo con su grado de queratinización.

Procedimiento 1. Método original de Papanicolaou

1. Alcohol etílico al 80 %
2. Alcohol etílico al 70 %
3. Alcohol etílico al 50 %
4. Agua destilada
5. Hematoxilina de Harris (6 minutos)
6. Agua destilada
7. Solución de ClH al 0,25 % (6 inmersiones)
8. Agua corriente (6 minutos)
9. Agua destilada
10. Alcohol etílico al 50 %
11. Alcohol etílico al 70 %
12. Alcohol etílico al 80 %
13. Alcohol etílico al 95 %
14. Naranja G 6 (1½ minutos)
15. Alcohol etílico al 95 %
16. Alcohol etílico al 95 %
17. Eosina-azur 50 (1½ minutos)
18. Alcohol etílico al 95 %
19. Alcohol etílico al 95 %
20. Alcohol etílico al 95 %
21. Alcohol etílico absoluto
22. Alcohol etílico absoluto-xilol
23. Xilol
24. Montaje en Permount

Procedimiento 2. Método un tanto modificado del Hospital del Ejército Walter Reed

1. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
2. Alcohol etílico al 80 % (5 inmersiones)
3. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
4. Agua corriente
5. Agua destilada (5 inmersiones)
6. Hematoxilina alumbre de Harris (3 minutos)
7. Agua corriente (enjuague)
8. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
9. ClH al 1 %-alcohol etílico al 70 % (blanquear hasta que el extendido azul adquiere color salmón)
10. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
11. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
12. Amoníaco al 3 %-alcohol etílico al 70 % (cerca de un minuto, hasta que el extendido vira al azul)
13. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
14. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
15. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
16. Naranja G 6 (2 minutos)
17. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
18. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
19. Ácido acético glacial-alcohol etílico al 95 % 1:99 (enjuague)
20. Ácido fosfotúngstico-alcohol etílico al 95 % 1:99 (enjuague)
21. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
22. Eosina-azur 50 (equivalente a EA 36) o EA 65 (3 minutos)
23. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
24. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
25. Alcohol etílico absoluto (5 inmersiones)
26. Alcohol etílico absoluto (5 inmersiones)
27. Xilol

* Cytotac: International Reagents Corp., Kobe, Japan.
Cyto-Dri Fix: Paragon C & C Co., Inc., New York, N. Y., U.S.A.
Cyto-Fixer: Lab-Tex Plastic Co., Westmont, Ill., U.S.A.
Pap-Spray: Harleco Division, A.H.S.C., Philadelphia, Pa., U.S.A.
Pro-Fix: Scientific Products, Evanston, Ill., U.S.A.
Spray-Cyte: Clay-Adams, New York, N. Y., U.S.A.



Fig. 116. Serie de colorantes de Papanicolaou. Para las soluciones tintoriales evaporables se usan bandejas cubiertas.

28. Xilol
29. Xilol
30. Montaje en Permount

Nota: Este procedimiento, que incluye el paso 20, produce una excelente diferenciación de color del citoplasma y es preferible.

Procedimiento 3. Método rápido un tanto modificado del laboratorio de este autor

1. Alcohol etílico al 95 % (3 inmersiones)
2. Alcohol etílico al 70 % (3 inmersiones)
3. Agua destilada (5 inmersiones)
4. Hematoxilina de Harris (3 minutos)
5. Agua destilada (3 inmersiones)
6. Alcohol etílico al 70 % (3 inmersiones)
7. ClH al 1 %-alcohol etílico al 70 % (3 inmersiones), blanquear hasta color salmón
8. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
9. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
10. Amoníaco al 3 %-alcohol etílico al 70 % (30 segundos)
11. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
12. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
13. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
14. Naranja G 6 (2 minutos)
15. Alcohol etílico al 95 % (3 inmersiones)
16. Alcohol etílico al 95 % (3 inmersiones)
17. Eosina-azur (2½ minutos)
18. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
19. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
20. Alcohol etílico absoluto (5 inmersiones)
21. Xilol
22. Xilol
23. Montaje en Permount

Soluciones. Se prefieren las soluciones colorantes comerciales preparadas, excepto la solución de hematoxilina, pero ésta se puede preparar de la siguiente manera:

Hematoxilina y alumbre de Harris*

Cristales de hematoxilina	1 g
Alcohol absoluto	10 ml
Sulfato de aluminio y amonio o de aluminio y potasio	20 g
Agua destilada	200 ml
Óxido mercúrico (rojo)	0,5 g

* **Nota:** Como la hematoxilina de Harris contiene óxido mercúrico, conviene usar otras hematoxilinas, como las soluciones de Carazzi y de Gill.

La solución de hematoxilina de Harris se prepara con facilidad en cualquier laboratorio. Disuélvanse la hematoxilina en alcohol y el alumbre en agua caliente. Mézclense ambas soluciones y llévese rápidamente a ebullición. Retírese del calor y agréguese el óxido mercúrico con mucha lentitud. Repítase más o menos por un minuto hasta que la solución vira al púrpura oscuro. Sáquese el vaso de la llama inmediatamente y déjese en una pileta con agua fría hasta que se enfríe. El colorante está listo para usar apenas se enfría. La precisión de la tinción nuclear mejora agregando 2 a 4 ml de acético glacial por 100 ml de solución. Fíltrese antes de usar.

Hematoxilina de Gill (original) N° 1

Hematoxilina anhidra (en polvo)	2 g
Agua destilada	730 ml
Sulfato de aluminio y amonio	17,6 g
Yodato de sodio (IO_3Na)	0,2 g
Etilenglicol	250 ml
(Ácido acético glacial	20 ml)*

Hematoxilina de Gill (modificada) N° 2

Hematoxilina anhidra (en polvo)	4 g
Agua destilada	710 ml
Sulfato de aluminio y amonio	35,2 g
Yodato de sodio	0,4 g
Etilenglicol	250 ml
(Ácido acético glacial	40 ml)*

* **Nota:** Conviene omitir el ácido acético. La hematoxilina de Gill modificada da buen resultado.

Naranja G 6

Naranja G 6, solución al 0,5 % en alcohol etílico al 95 %	100 ml
Ácido fosfotúngstico	0,015 g

Eosina-azur 50 (equivalente a EA 36)

Verde claro S.F. amarillento, solución al 0,5 % en alcohol etílico al 95 %	45 ml
Pardo Bismark, solución al 0,5 % en alcohol etílico al 95 %	10 ml
Eosina amarillenta, solución al 0,5 % en alcohol etílico al 95 %	45 ml
Ácido fonfotúngstico	0,2 ml
Carbonato de litio, solución acuosa saturada	1 gota

La EA 65 se prepara de la misma manera que la EA 50, pero con la diferencia de que se usa la mitad de verde claro. La EA 50 y la EA 65 se pueden preparar en el laboratorio, pero en el comercio se pueden obtener contratinciones satisfactorias (Ortho Pharmaceutical Corporation, Raritan, N.J.; Harleco Division, A.H.S.C., Filadelfia; Wako Pure Chemical Industries Ltd., Tokio).

Precaución. A causa de su composición alcohólica, las soluciones de Naranja G 6 y Eosina-azur 50 se guardan en frascos con tapón de vidrio cuando no están en uso. Los colorantes y otras soluciones deben filtrarse antes de usar para que no se contaminen con células. La contaminación celular se descubre cuando al hacer una cuidadosa exploración microscópica, algunas células aparecen fuera de foco en un nivel distinto. Evítese cuidadosamente la sobretinción con hematoxilina y el blanqueado excesivo con ácido clorhídrico alcohólico. Las soluciones colorantes se deben cambiar cuando el núcleo no se tiñe bien con hematoxilina y cuando el verde claro de la EA 50 es débil. Para que las soluciones colorantes se puedan usar más tiempo se deben enjuagar bien los portaobjetos, en particular después de los pasos con el alcohol y ácido clorhídrico y el alcohol amoniacal. Cuando se usan bastidores, el técnico debe escurrir bien el líquido antes de sumergir el bastidor en el baño siguiente.

Coloración con hematoxilina y eosina

Aplicación. El diagnóstico de células malignas depende en particular de las anormalidades nucleares; en consecuencia, en citología oncológica no siempre es esencial que se haga la contratinción del citoplasma. Es probable que los patólogos prefieren la tinción con hematoxilina y eosina, en lugar de la de Papanicolaou.

Fijación. El preparado mojado es absolutamente necesario.

Fíjese el extendido con partes iguales de éter etílico y alcohol etílico durante 30 minutos o más.

Procedimiento:

1. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
2. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
3. Alcohol etílico al 50 % (5 inmersiones)
4. Agua destilada (5 inmersiones)
5. Hematoxilina de Harris (3 minutos)
6. Agua corriente (enjuague)
7. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
8. ClH al 1 %-alcohol etílico al 70 %
9. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
10. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
11. Amoníaco al 3 %-alcohol etílico al 70 %
12. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
13. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
14. Alcohol etílico al 90 % (5 inmersiones)
15. Eosina Y alcohólica (30 segundos)
16. Alcohol etílico al 95 %
17. Alcohol etílico absoluto (5 inmersiones)
18. Xilol
19. Xilol
20. Xilol
21. Montaje en Permount

Coloración con azul de toluidina

Aplicación. El azul de toluidina es un colorante basófilo que tiñe al núcleo ortocromáticamente de azul.

Los gránulos de los mastocitos, el ácido ribonucleico, los mucopolisacáridos y el moco pueden teñirse metacromáticamente de púrpura.

Procedimiento:

1. Alcohol etílico al 95 % (5 inmersiones)
2. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
3. Agua destilada (enjuague)

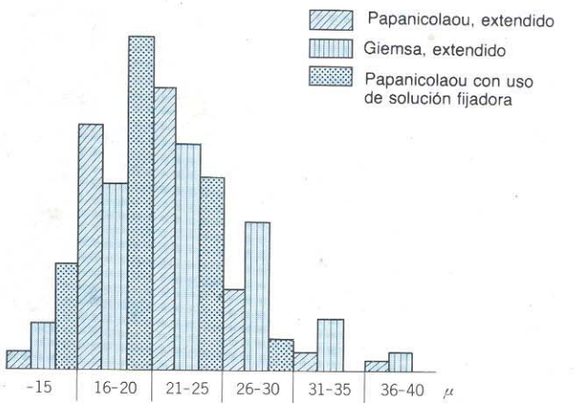


Fig. 117. Diámetros del citoplasma con distintos métodos de coloración. Tumor ascítico de Ehrlich.

4. Solución de toluidina O al 0,05-0,1 % regulada a pH 3-4 (10 minutos)
5. Agua destilada (enjuague)
6. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
7. Alcohol etílico absoluto (2 minutos)
8. Alcohol etílico absoluto (2 minutos)
9. Xilol
10. Xilol
11. Montaje en Permount

Coloración con Giemsa, coloración de May-Grünwald-Giemsa

Aplicación. Esta técnica tintorial se presta para citología de impresión o para impresión de extendidos de ganglios linfáticos u otros tejidos hematopoyéticos. Los hematólogos podrían preferir la coloración de Papanicolaou porque muestra rasgos celulares similares a los del hemograma. En las neoplasias de los tejidos hematopoyéticos, como linfoma y leucemia, esta coloración ofrece resultados excelentes. Los extendidos finos de muestras líquidas, como derrames pleurales o peritoneales, orina y lavados gástricos, se tiñen muy bien. Recuérdese que para citodiagnóstico preliminar, sin embargo, la gran diferencia de esta coloración respecto de la de Papanicolaou es la monocromasia del citoplasma, la distribución fina de la cromatina y el aumento del tamaño celular y nuclear (figs. 117-119).

Fijación. Los preparados secados al aire que se extienden de la misma manera que con el método de Papanicolaou, deben fijarse con alcohol metílico absoluto por unos 30 minutos. Después de fijar, séquese al aire.

Procedimiento

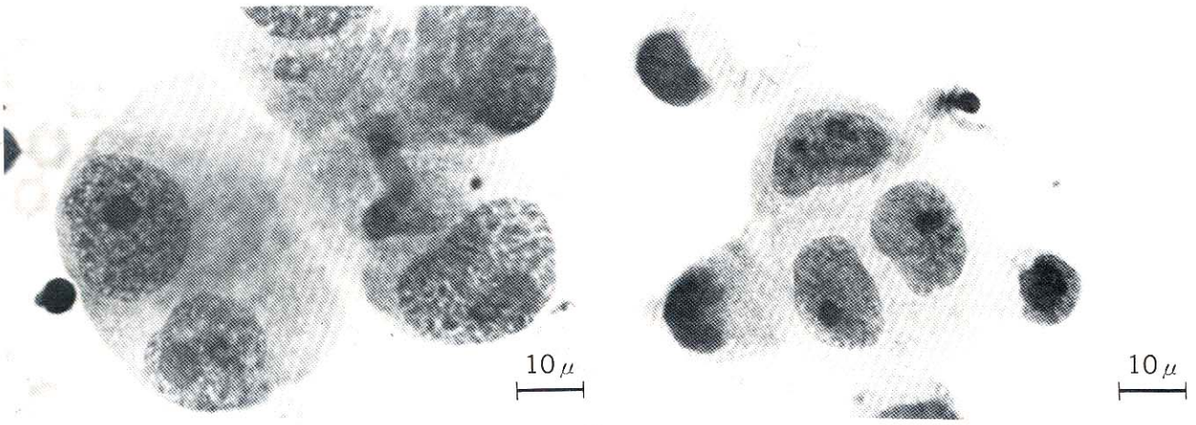
1. Coloración de Giemsa (15-20 minutos)
2. Agua destilada (enjuague)
3. Secar al aire (por completo)
4. Xilol
5. Montaje en Permount

Soluciones

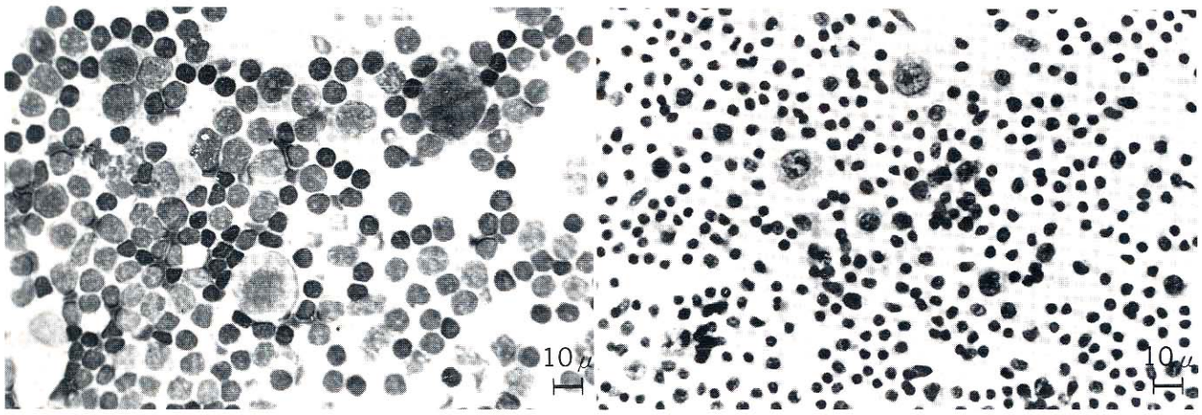
Colorante Giemsa madre: Disuélvase el colorante Giemsa (National Aniline Nº 561) en el diluyente, que consiste en partes iguales de alcohol metílico absoluto y glicerina.

Solución de trabajo:

Solución madre	1 ml
Buffer de fosfato 15 M a pH 6,5	2 ml
Agua destilada	47 ml



118



119

Figs. 118 y 119. Comparación de los rasgos celulares para distintas fijaciones y tinciones. Método de Giemsa (*izq.*) y método de Papanicolaou (*der.*).
Fig. 118. Líquido pleural en el adenocarcinoma pulmonar. Nótese la gran diferencia del tamaño celular entre las tinciones de Giemsa y de Papanicolaou.
Fig. 119. Impresión de un ganglio linfático en el granuloma de Hodgkin. El núcleo es más grande y la cromatina se halla más finamente distribuida en la tinción de Giemsa (*a*) que en la de Papanicolaou (*b*).

Método de May-Grünwald-Giemsa

Solución de May-Grünwald. 1) Mézclense dos soluciones y déjese en reposo varios días: eosina Y 10 g/L y azul de metileno 10 g/L. 2) Fíltrese y enjuáguese el colorante a través del filtro con agua destilada hasta que el agua sale clara. 3) Séquese el filtro. 4) Disuélvase el precipitado con alcohol metílico calentado a 50° C, en una proporción de 1 g en 500 ml; para esto agréguese una minúscula porción de colorante y agítese con energía cada vez. 5) Déjese en reposo la solución 24 horas y fíltrese dentro de un frasco oscuro que se guarda frío.

Procedimiento de la tinción. 1) Fíjense los extendidos secos 5 minutos con alcohol metílico. 2) Enjuáguese con agua corriente y pásese a través de agua destilada. 3) Tíñase depositando 5 a 7 gotas de solución de May-Grünwald durante 10 minutos. 4) Enjuáguese con agua corriente y pásese a través de agua destilada. 5) Tíñase depositando 5 a 7 gotas de solución de Giemsa durante 10 minutos. 6) Diferénciese moviendo los portaobjetos en solución de ácido acético al 10 % por unos 7 minutos. 7) Enjuáguese bien, séquese y móntese pasando por xilol.

Coloración supravital con azul de cresilo brillante

Aplicación. Este método se adoptó en un principio para los gránulos reticulares de los eritrocitos y también se usa para demostrar los nucléolos en azul.

Procedimiento

1. Prepárese una película fina de azul de cresilo brillante al 0,5 % en alcohol etílico absoluto en un portaobjeto de vidrio limpio.
2. Deposítese una gota del sedimento de los derrames o de los lavados de órganos en el portaobjeto preparado de la manera que se indica arriba.

Coloración supravital con rojo neutro

Aplicación. Las células cancerosas exhiben aglomeraciones en rosetas y/o una distribución dispersa de finos gránulos de rojo neutro a los 10 a 15 minutos. Las células histiocitarias, en cambio, se tiñen con mucha rapidez en unos 30 segundos y se distinguen por sus gránulos gruesos. Los gránulos de rojo neutro en el citoplasma, por lo menos algunos de ellos, representarían el aparato de Golgi porque su distribución es idéntica.[207, 254] La distribución dispersa de los gránulos correspondería a mitocondrias[697] o representaría algún tipo de vacuolas independientes de todo organoide citoplasmático.[431] La forma de distribución no es característica de las células malignas, pero sí se relaciona con la tipificación celular.[303]

Procedimiento

1. Mézclese una gota de la muestra con unas pocas gotas de rojo neutro al 0,01 % en solución fisiológica con el canto de un cubreobjeto.
2. Aplíquese el cubreobjeto y obsérvese el tiempo de tinción.

Reacción nuclear de Feulgen

Aplicación. La reacción de Feulgen es una de las más específicas para demostrar DNA (véase fig. 30). Aunque se dice que ciertos lípidos del citoplasma reaccionan con el reactivo de Schiff para presentar una reacción plasmática

simultánea,[177] esto se evitaría dejando los extendidos en alcohol etílico al 95 %.

Procedimiento

1. Alcohol etílico al 95 %
2. Enjuáguese con agua destilada
3. Ácido clorhídrico normal a temperatura ambiente (1 minuto)
4. Ácido clorhídrico normal precalentado a 60° C (10 minutos)
5. Ácido clorhídrico normal a temperatura ambiente (2 minutos)
6. Agua corriente (2 minutos)
7. Reactivo de Schiff (10 minutos)
8. Enjuáguese en 3 baños sucesivos de metabisulfito 0,05 M (cada vez 2 minutos). Los baños de sulfito deben cambiarse todos los días.
9. Agua corriente (15 minutos)
10. Contratinción con verde claro (1-2 inmersiones)
11. Enjuáguese con agua corriente
12. Alcohol etílico al 95 %
13. Alcohol etílico absoluto
14. Xilol, 2 cambios
15. Móntese en Permount

Soluciones

Solución de ácido clorhídrico normal*

Ácido clorhídrico concentrado (densidad 1,19)	8,4 ml
Agua destilada	91,6 ml

Reactivo de Schiff: Disuélvase 1 g de fucsina básica (National Aniline N° 434) en 200 ml de agua destilada caliente. Llévese a ebullición y enfríese a 50° C. Fíltrese y agréguense 20 ml de solución de ácido clorhídrico 1 N. Enfríese más y agréguese 1 g de bisulfito de sodio anhidro (SO_3NaH) o de metabisulfito de sodio. Manténgase en la oscuridad 48 horas hasta que la solución adquiere un color pajizo. Guárdese en el refrigerador.

* **Nota:** En cuanto al efecto de la hidrólisis sobre la pérdida de masa seca nuclear, Gaub y col.[740] recomiendan hidrolizar en ClH 5N a 22° C durante 60 minutos, en vez de hidrolizar en caliente. Este procedimiento se usó para medir al mismo tiempo el DNA y la proteína teñida *con Amarillo Naftol S.*

Contratinción con verde claro

Cristales de verde claro	0,2 g
Agua destilada	100 ml
Ácido acético glacial	0,2 ml

Reacción del ácido peryódico de Schiff (coloración PAS)

Aplicación. Este método se destina a demostrar componentes hísticos caracterizados por grupos glicol o aminohidroxi adyacentes. Dan reacción positiva, de color rosa a rojo púrpura, las sustancias como glucógeno, mucina, ácido hialurónico, coloide, material amiloide, reticulina, fibrina, hialina y otras.

Procedimiento

1. Alcohol etílico al 95 %
2. Enjuáguese con agua destilada
3. Solución de ácido peryódico (5 minutos)
4. Enjuáguese con agua destilada (si se requiere digestión, pónganse los cortes 20 minutos en solución de diastasa al 0,5 %)
5. Reactivo de Schiff (15 minutos)
6. Agua corriente (10 minutos)
7. Hematoxilina de Harris (6 minutos)
8. Enjuáguese con agua corriente
9. Diferénciese en alcohol ácido (3 a 5 gotas)
10. Enjuáguese con agua corriente
11. Sumérjase en agua amoniacal hasta que los cortes o extendidos viran al azul
12. Enjuáguese con agua corriente
13. Alcohol etílico al 95 %
14. Alcohol etílico absoluto, 2 cambios
15. Xilol, 2 cambios
16. Móntese en Permount

Soluciones

Solución de ácido peryódico al 0,5 %

Cristales de ácido peryódico	0,5 g
Agua destilada	100 ml

Solución de diastasa

Diastasa	0,5 g
Agua destilada estéril	100 ml

Coloración con azul alciano (pH 2,5)

Aplicación. Como el azul alciano es basófilo y se fija a los radicales ácidos de los mucopolisacáridos ácidos, los mucopolisacáridos ácidos adquieren un color azul intenso. La doble tinción con azul alciano y PAS permite discriminar a los mucopolisacáridos neutros, que se tiñen de rojizo.

Solución

Solución de azul alciano-ácido acético (pH 2,5)

Azul alciano	1 g
Ácido acético al 3 % (3 partes de ácido acético glacial y 97 partes de agua destilada)	100 ml
Ajústese el pH	

Procedimiento

1. Ácido acético al 3 % (3 minutos)
2. Azul alciano al 1 %-ácido acético al 3 % (10 minutos)
3. Agua corriente (10 minutos)
4. Enjuáguese con agua destilada
5. Solución de amaranto nuclear (5 minutos)
6. Alcohol etílico al 70, 80 y 95 %
7. Alcohol etílico absoluto
8. Xilol (2 cambios)
9. Móntese en Permount

Coloración de Shorr

El procedimiento de la coloración de Shorr es sencillo y permite diferenciar células pavimentosas, aunque esta tinción es inferior a la de Papanicolaou para demostrar detalles nucleares y trasparencia celular.

Solución

Alcohol etílico al 50 %	100 ml
Escarlata de Biebrich (hidrosoluble)	0,5 g
Naranja G	0,25 g
Verde luz F.C.F.	0,075 g
Ácido fosfotúngstico	0,5 g
Ácido fosfomolíbdico	0,5 g
Ácido acético glacial	1 ml

Procedimiento

1. Es preferible teñir los núcleos con hematoxilina de Harris como en la coloración de Papanicolaou
2. Tíñase 2 minutos con solución colorante de Shorr
3. Alcohol etílico al 70 %
4. Alcohol etílico al 90 %
5. Alcohol etílico absoluto, 2 cambios
6. Xilol, 2 cambios
7. Móntese en Permount

14

Alteraciones celulares por radiación

La irradiación suele causar lesiones localizadas, como brechas y roturas; las brechas significan un compromiso leve que ha de repararse mediante polimerización del DNA. Aunque el grado de alteración depende de la dosis irradiada, para considerar el efecto de la radiación son importantes el método de irradiación, si es continuo o intermitente, y el momento en que se irradian las células tumorales, es decir, presintético o premitótico.

Los daños celulares por radiación se resumen así:

1. Muerte celular en la fase intermitótica (en interfase).
2. Atraso de la mitosis o inhibición de la mitosis.
3. Alteraciones cromosómicas.
4. Cambios en uno o más genes, con alteraciones detectables o no en la función celular.

Las alteraciones celulares morfológicas severas en la fase intermitótica que progresan hasta la muerte celular (muerte en interfase)[292] consisten en pronunciado aumento del tamaño nuclear (edema nuclear), condensación de cromatina en la periferia y picnosis seguida por cariorrexis.[665] También se reconoce otra forma de muerte celular, el aglobamiento y vacuolización del núcleo, seguido por colicuación. Los efectos de la radiación sobre los organoides del citoplasma son un tanto tardíos en comparación con los que ocurren en el núcleo,[235, 236] y se manifiestan con degeneración vesicular y desintegración de mitocondrias,[382, 573] destrucción del aparato de Golgi[181] y dilatación del retículo endoplasmático, junto con desintegración de su membrana limitante. Estas alteraciones aparecen a la microscopia óptica como vacuolización del citoplasma. Las alteraciones estructurales de los cromosomas se dividen en varios tipos, según aparezcan antes o después de la replicación cromosómica.[45, 163] Cuando las células son irradiadas durante la etapa presintética (G_1), aparecen roturas de cromosomas no divididos (aberración cromosómica). Después de la replicación de los cromosomas, en la etapa de premitosis (G_2) y mitosis, pueden ocurrir roturas de cromátides en una o ambas (aberración de cromátide). Existen muchos experimentos *in vitro* que demuestran que la radiación ionizante inhibe la síntesis de DNA y hace que disminuya la cantidad de DNA.[280, 465] Se sabe que una pequeña dosis de irradiación puede producir un bloqueo de G_2 seguido por interrupción de la mitosis normal, pero puede no inhibir la replicación del DNA.[95, 335, 471, 472, 518, 692, 708] Esto explicaría en parte el mecanismo de la formación de células gigantes multinucleadas. Se propusieron otras teorías para explicar la acción de la radiación ionizante. Por ejemplo, a la desnaturalización o desintegración de la nucleoproteína por una dosis de irradiación grande, se la puede considerar una destrucción del lisosoma seguida por descarga de diversas enzimas, incluso DNAasa.[8, 225, 352, 462, 507] En la práctica se demuestra aneuploidia cromosómica en cultivos de sangre periférica de pacientes cancerosos sometidos a radioterapia, cualquiera que sea la dosis. Se dice que la aneuploidia persiste hasta años después de la radioterapia.[691] También ocurren aberraciones estructurales con creciente frecuencia en función de la dosis durante la radioterapia.

1. Alteraciones por radiación de células epiteliales normales

Alteraciones agudas

1. Puede ocurrir un pronunciado agrandamiento del núcleo y citoplasma casi en la misma proporción, de manera que la relación nuclear-citoplasmática no varía.
2. Junto con el agrandamiento del núcleo se observa rugosidad y engrosamiento del borde nuclear a causa de la intensa condensación de cromatina. Por otra parte, la distribución de la cromatina dentro del núcleo es finamente granular y uniforme en la etapa inicial, pero después se torna homogénea, pálida y/o vacuolada. A medida que las alteraciones severas se acentúan, el núcleo entra en picnosis y se fragmenta, mientras al mismo tiempo ocurre invasión leucocitaria del citoplasma.
3. El citoplasma presenta un agrandamiento enorme y se deforma. Pueden aparecer células grotescas en gemelo de camisa o formas amiboides.
4. Un rasgo descollante es la vacuolización del citoplasma.
5. La reacción tintorial del citoplasma se modifica, virando a veces al pardo amarillento o a la eosinofilia.
6. Puede ocurrir multiplicación y multilobulación de los núcleos por mitosis anormales.

Alteraciones persistentes

Las alteraciones de las células irradiadas que persisten mucho después de la radioterapia son el agrandamiento nuclear y citoplasmático, y las formas aberrantes de células parabasales.[399] Muchas veces se ve hipercromía nuclear y policromasia o acidofilia citoplasmática. No suele ocurrir multinucleación ni vacuolización citoplasmática (Koss).[349] Se publicaron algunas observaciones notables de que las alteraciones por irradiación persistente indican mejores perspectivas de recuperación.[102, 231]

2. Alteraciones por radiación de células malignas

En esencia, la radiación surte sobre las células malignas los mismos efectos que sobre las células normales. En la



Fig. 120. Alteraciones por radiación de células intermedias en un extendido vaginal. Estas aglomeraciones de células intermedias que exhiben aumento del tamaño nuclear y citoplasmático pueden ser de una displasia. La diferenciación respecto de una neoplasia maligna se hace por: 1) la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos, 2) la ausencia de anormalidad en la cromatina y 3) los límites benignos de la relación N/C.

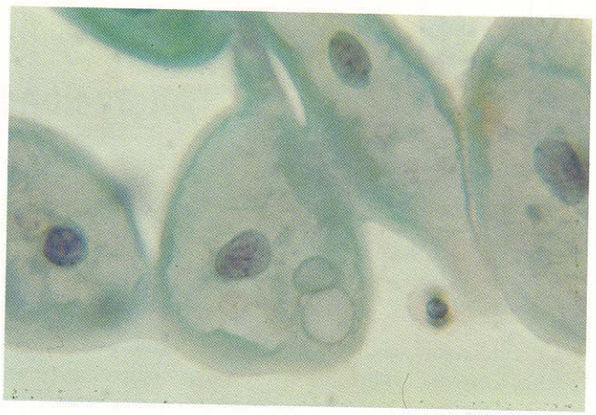


Fig. 121. Alteraciones por radiación de células parabasales externas en un extendido vaginal. Vacuolización y elongación grotesca del citoplasma, y borde citoplasmático engrosado. La mota amarillenta pálida que rodea al núcleo se debería al edema y colicuación. Esto no es específico, pero se ve a menudo después de la irradiación.

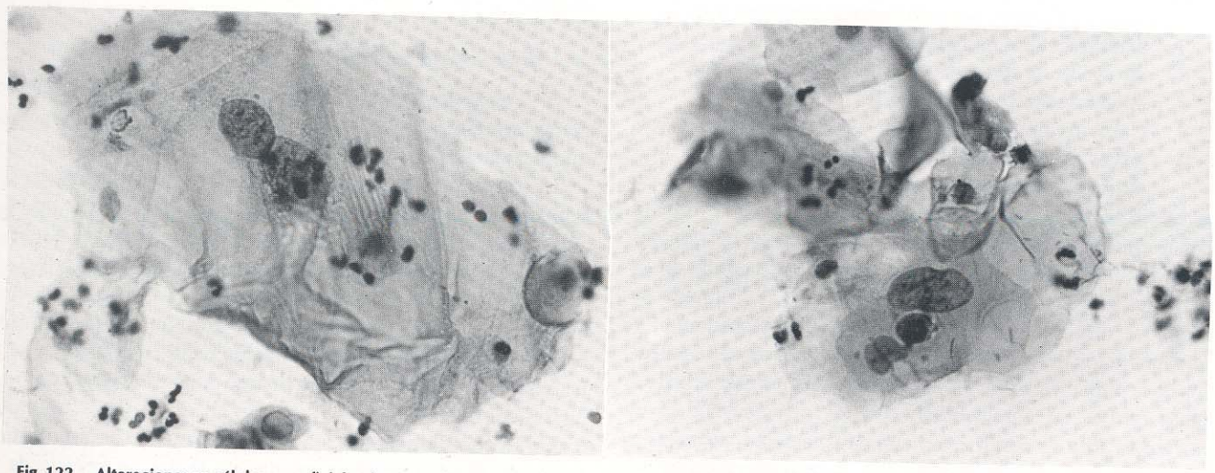


Fig. 122. Alteraciones en células superficiales de un carcinoma de esófago al comienzo de la radioterapia. La dosis tumoral de la teleterapia con cobalto 60 fue 1000 roentgens. Nótese el agrandamiento de los núcleos y del citoplasma de las células pavimentosas superficiales o intermedias en asociación con cuerpos celulares arrugados.

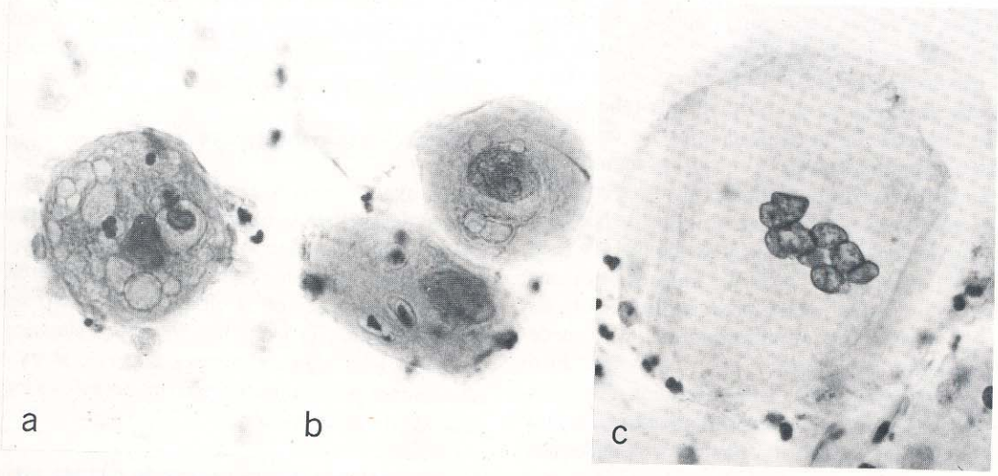
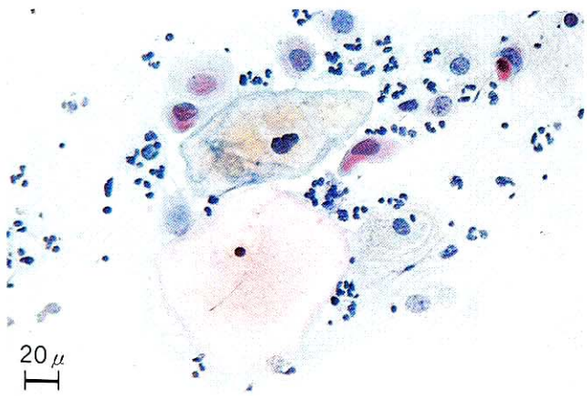
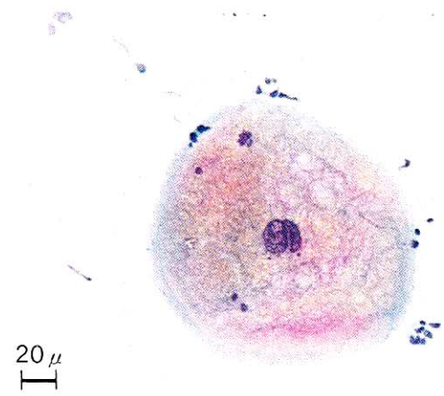


Fig. 123. Alteraciones por radiación de células normales de un extendido vaginal. Se administraron 3000 roentgens de radiumterapia. *a* y *b*, Citoplasma agrandado y vacuolado de células parabasales en el cual se infiltran leucocitos. *c*, Cantidad anormal de núcleos cuyo tamaño es bastante uniforme. Nótense la tumefacción y vacuolización del citoplasma, distintivas de la influencia de la radiación.



124



125

Figs. 124 y 125. Alteraciones persistentes por radiación a los 4 meses de la teleterapia con cobalto 60. Enorme agrandamiento citoplasmático, elongación grotesca de las células y policromasia del citoplasma.

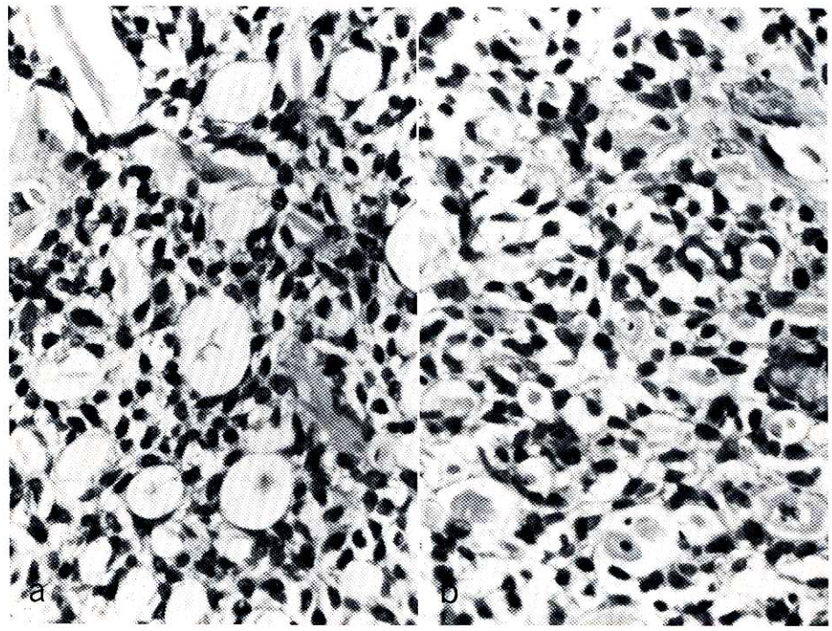


Fig. 126. Radiorresistencia del cistadenocarcinoma de hipofaringe. A pesar de la teleterapia con cobalto 60, en que se administró una dosis tumoral total de 3000 roentgens, las células cancerosas no muestran ningún efecto de la radiación. *a*, Antes y, *b*, después de la irradiación.

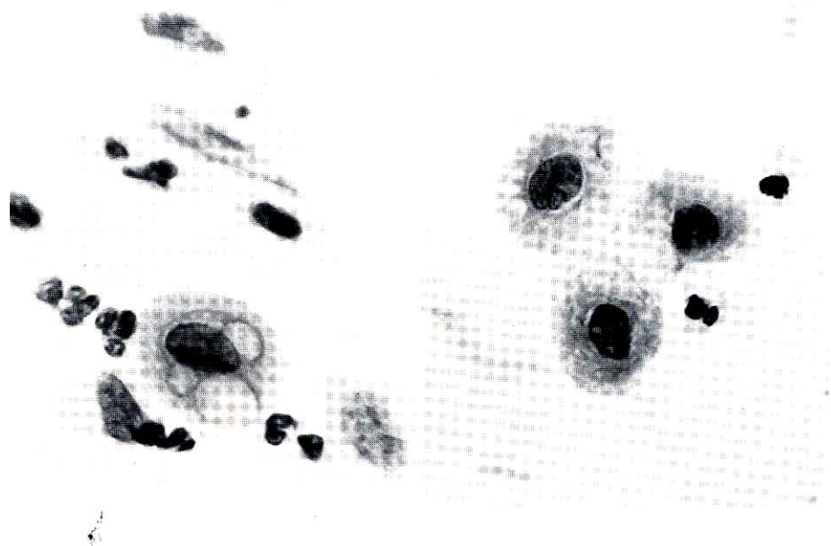


Fig. 127. Célula RS en un extendido vaginal. Nótese la vacuolización del citoplasma en una célula parabasal.

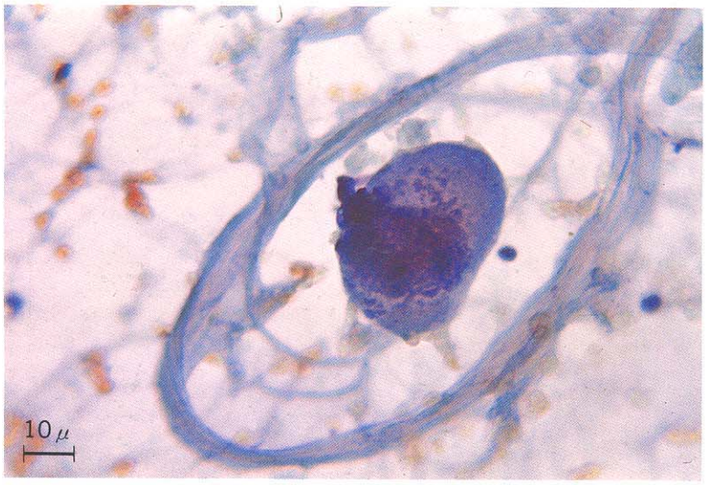


Fig. 128. Pronunciadas alteraciones por radiación en una célula maligna. El núcleo se ha desintegrado y las cromatinas están dispersas con irregularidad. Se hizo citología de un cepillado a la semana de una intensa irradiación local (5000 roentgens). De un caso de carcinoma espinocelular poco diferenciado de pulmón.

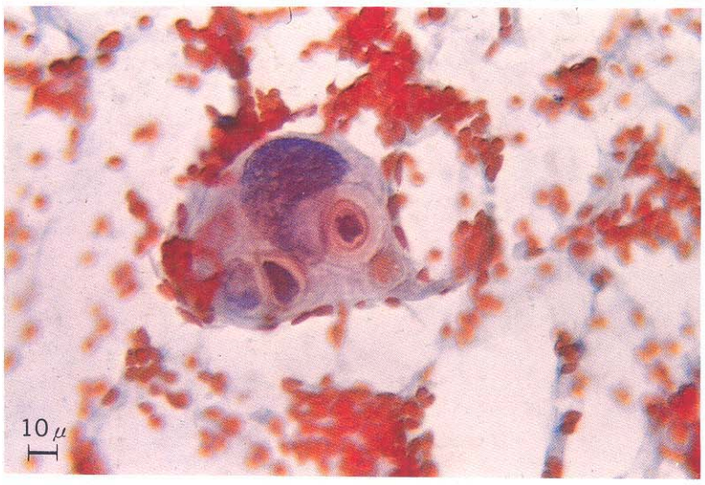


Fig. 129. Pronunciadas alteraciones por radiación de células malignas que exhiben alteración nuclear y diferenciación parcial. Aunque existe un agrandamiento nuclear enorme, con condensación de cromatinas, se reconoce la diferenciación citoplasmática con inclusiones celulares. Se hizo citología del cepillado a las 2 semanas de una intensa irradiación. Caso de la figura 128.

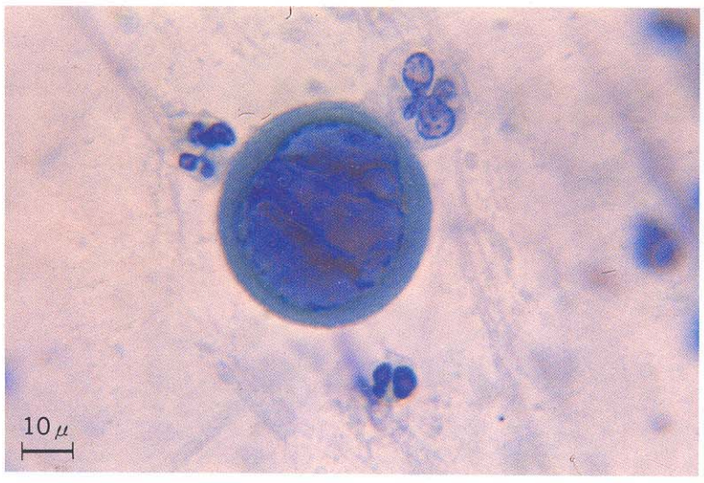


Fig. 130. Pronunciadas alteraciones por radiación en una célula maligna. Gran agrandamiento del núcleo, con multinucleación y colicuación de la cromatina. Las cromatinas se han condensado en el borde nuclear. Este rasgo se parece al de la infección herpética. Se hizo citología del cepillado a las 2 semanas de una intensa irradiación. Caso de la figura 128.

etapa inicial, cuando el tumor está recibiendo unos 1000 roentgens como dosis tumoral, algunos rasgos de malignidad parecen exagerarse, como hipercromía, aglomeración gruesa seguida por extrusión de cromatina, prominencia de nucléolos y alta relación N/C.

En la etapa final de la irradiación no se puede distinguir bien entre las células benignas y las malignas.

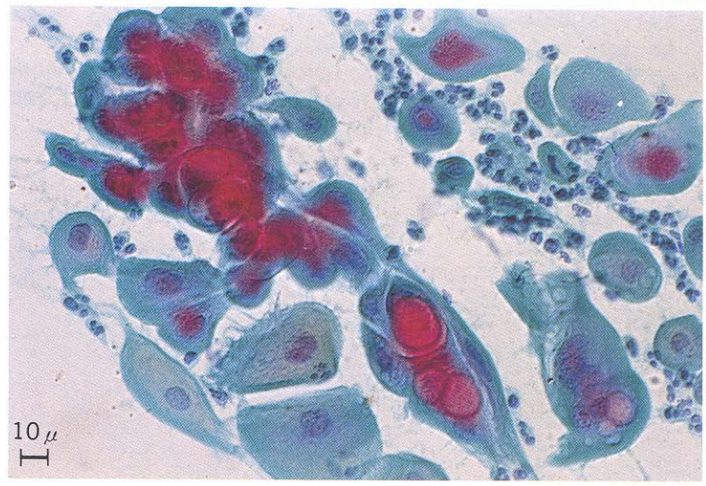
1. El agrandamiento nuclear puede ser mucho mayor que el del citoplasma. Hay un conspicuo aumento de la relación N/C y considerable anisonucleosis.
2. La cromatina está densamente aglomerada y concentrada en la periferia del núcleo. No pocas veces el núcleo se vacuoliza. Con posterioridad el material se homogeniza y el núcleo se desintegra.
3. En ocasiones ocurre agrandamiento y vacuolización de los nucléolos.

Las células embrionarias y las inmaduras en metabolismo

131



132



Figs. 131 y 132. Considerable alteración por radiación en células epiteliales benignas de extendidos cervicales. La dosis de 5730 roentgens tras una histerectomía originó alteraciones citoplasmáticas grotescas. Los cambios son más prominentes en el citoplasma que en los núcleos. El aumento de la relación N/C es menos pronunciado en las células benignas que en las malignas. La intensa eosinofilia se debe a la radiación.

Cuadro 29. Efectos de la radiación ionizante sobre el carcinoma

Neoplasia		*Estroma*	
Núcleo	*Citoplasma*	*Tejido conectivo*	*Vasos sanguíneos*
1. Agrandamiento 2. Trastorno de la mitosis 3. Aglomeración de cromatina 4. Vacuolización 5. Formación de células gigantes multinucleadas 6. Tumefacción y alteración de los nucléolos	1. Vacuolización 2. Colicuación 3. Homogenización eosinófila 4. Queratinización (formación de perlas)	1. Maceración edematosa 2. Tumefacción hialina de fibras colágenas 3. Tumefacción y vacuolización de núcleos del tejido conectivo 4. Aparición de grandes células conjuntivas estrelladas de núcleos grotescos 5. Degeneración elastoide	1. Dilatación de la luz 2. Tumefacción endotelial 3. Tumefacción y engrosamiento de la capa subendotelial 4. Proliferación de la íntima con abundancia de fibras y células

(Traducido al inglés de Lelbach, W.K.: Histologische Veränderungen an bestrahlten Karzinomen. *En* Grundlagen und Praxis der Bewegungsbestrahlung. Hrsg. von Janker, R. Verlag W. Girardet, Wuppertal-Elberfeld, Bd. II, 1955)

activo y división rápida suelen ser más sensibles que las células adultas (ley de Bergonié y Tribondeau[49]). Las células malignas también son más sensibles que las normales de las cuales deriva el tumor. En radioterapia práctica del cáncer uterino, se obtienen tasas de sobrevida desalentadoras para el carcinoma anaplásico, a pesar de que se anticiparía una buena respuesta a la irradiación.[530] La radiosensibilidad de las células difiere de un tejido a otro y de un órgano a otro en el siguiente orden:

1. Radiosensibles (muchas células destruidas o muy lesionadas con 2500 r).
   a) Linfocitos y linfoblastos.
   b) Médula ósea (células mieloblásticas y eritroblásticas).
   c) Epitelio de intestino y estómago.
   d) Células germinativas (ovario y testículo).
2. Responden a la radioterapia (muchas células destruidas o muy lesionadas con 2000 a 5000 r).

a) Epitelio de los anexos de la piel.
b) Endotelio de los vasos sanguíneos.
c) Glándulas salivales.
d) Hueso y cartílago en crecimiento.
e) Conjuntiva, córnea y cristalino.
f) Tejido colágeno y elástico (los fibroblastos en sí son muy resistentes).

3. Radiorresistentes (se requieren más de 5000 r para destruir o lesionar muchas células).
a) Riñón
b) Hígado
c) Tiroides, páncreas, hipófisis, suprarrenal y paratiroides.
d) Hueso y cartílago maduros
e) Músculo (todos los tipos).
f) Encéfalo y otro tejido nervioso (el tejido nervioso embrionario puede lesionarse con dosis bastante pequeñas).

La radiosensibilidad tumoral no sólo se estima por la respuesta directa de las células tumorales a la irradiación, sino por la diferencia del efecto de la radiación entre el tumor y los tejidos normales que lo circundan. Ellinger (1957) clasificó así la radiosensibilidad tumoral:

1. Tumor radiosensible es el que desaparece sin exceder la dosis de tolerancia cutánea. En esta categoría figuran seminoma, carcinoma de tiroides, tumor de glándulas salivales, timoma, tumor gigantocelular de hueso, tumor de Ewing, carcinoma basocelular y linfoma maligno.

2. Los tumores moderadamente radiosensibles están representados por los carcinomas espinocelulares de diversos órganos.

3. Los tumores moderadamente radiorresistentes son los que no se curan con dosis menores que la tolerancia cutánea. A este grupo pertenecen los adenocarcinomas de diversos órganos.

4. Los tumores radiorresistentes están representados por fibrosarcoma, sarcoma osteógeno, condrosarcoma, teratoma y melanoma.

Cuadro 30. Resumen de las respuestas en 125 casos irradiados

	Respuesta buena (más del 75 % de las células epiteliales alteradas)		*Respuesta mala (menos del 65 % de las células epiteliales alteradas)*	
	Nº de casos	*Sobrevidas a los 5 años*	*Nº de casos*	*Sobrevida a los 5 años*
Etapa I	11	8 (72,7 %)	3	0
Etapa II	31	22 (70,9 %)	22	0
Etapa III	16	6 (37,5 %)	26	1 (3,8 %)
Etapa IV	4	0	12	1 (8,3 %)
Totales	62	36 (58,1 %)	63	2 (3,2 %)

(GRAHAM, J. B. y GRAHAM, R. M.: Cancer, 6: 68, 1953)

3. Respuesta de radiación y respuesta de sensibilización

Para prever los resultados de la radioterapia en el cáncer del cuello uterino, Ruth Graham y John Graham describieron la respuesta de radiación (RR) y la respuesta de sensibilización (RS).[228, 233]

La RR se calculó como el porcentaje de células pavimentosas benignas que exhibían alteraciones características como vacuolización del citoplasma, aumento de tamaño, nú-

Cuadro 31. Respuesta de radiación (RR) y tasa de sobrevidas

Autores	*Nº de casos*	*Seguimiento (años)*	*Vivos*	
			Buena RR	*Mala RR*
KJELLGREN (1958)	241	5	85 (74 %)	46 (37 %)
JONES y col. (1959)	68	2	17 (63 %)	27 (66 %)
AGNEW y col. (1960)	107	5	53 (70 %)	8 (26 %)
MERRILL (1961)	99	2-4	62 (76 %) *	8 (47 %) *
SHIER (1961)	272	5	122 (55 %)	20 (41 %)
ZERNE y MORRIS (1962)	146	3-8	66 (63 %) *	23 (56 %)
FEINER y GARIN (1963)	50	3-5	6 (14 %)	2 (25 %)
MOORE y col. (1963)	87	1-5	44 (77 %)	8 (27 %)
RAURAMO y KANGAS (1964)	132		31 (86 %)	71 (74 %)
RUBIO y col. (1965)	438	5-8	110 (60 %)	162 (63 %)
SUGIMORI y TAKI (1972)	129	5	70 (61 %)	43 (21 %)

* Tasa de curaciones

Cuadro 32. Respuesta de sensibilización (RS) y tasa de sobrevidas

Autores	*Nº de casos*	*Seguimiento (años)*	*Vivos*	
			Buena RS	*Mala RS*
ÖSTBERG y DARCIS (1956)	200	2-4	44 (92 %)	82 (54 %)
LANIER y WIKLE (1959)	96	5-8	15 (58 %)	33 (48 %)
COLEMAN y col. (1960)	133	5	18 (67 %)	55 (52 %)
MERRILL (1961)	101	2-4	28 (55 %)	36 (72 %)
SHIER (1961)	182	5	26 (44 %)	57 (46 %)
ZERNE y MORRIS (1962)	127	3-8	29 (57 %)	48 (63 %)
RUBIO y col. (1965)	449	5-8	54 (57 %)	224 (63 %)
SUGIMORI y TAKI (1972)	129	5	43 (51 %)	70 (43 %)

cleos dobles o múltiples, rugosidad o plegamiento del borde nuclear, etc. Cuando el 75 % o más de las 100 células pavimentosas benignas exhibían alteraciones por radiación, se podían anticipar resultados buenos de la radioterapia, y Graham y Graham consideraron que la RR era buena. Si, en cambio, menos del 65 % de las células presentaban efectos de la radiación, se consideraba que el paciente era radiorresistente (RR mala). Observaron una gran diferencia en la tasa de curaciones de cáncer de cuello uterino a los 5 años entre ambos grupos, es decir, 59 % en el grupo con RR buena y 3 % en el grupo con RR mala.[228] En la aplicación de rutina de este método los extendidos para examinar se recogen a los 14 días de la primera inserción del rádium o al final de la radioterapia con rayos.

Los estudios de Nielsen[450] y Morton,[437] en que se comparó a ambos grupos en lo tocante a las etapas clínicas, arrojaron resultados similares, pero también se presentaron comunicaciones que ponen en tela de juicio la utilidad de esta prueba citopronóstica (cuadro 31).

Graham y Graham consideraron que la presencia de un citoplasma denso, cianófilo (de intensa tinción lavándula) y vacuolado en las células pavimentosas parabasales de ciertos extendidos, representa la respuesta del huésped correspondiente a la sensibilidad a la radiación (RS). Si había un 10 % o más de este tipo de células parabasales, se anticipaba una respuesta favorable a la radioterapia (RS buena), pero si estas células RS representaban el 9 % o menos de cada 100 células parabasales antes de la radioterapia, la respuesta a la radioterapia se clasificaba como desfavorable (RS mala). Aunque Graham y Graham señalaron que la respuesta de sensibilización es útil en la selección y pronóstico de la radioterapia,[233] pocas investigaciones se hicieron que corroboren este fenómeno (cuadro 32).

4. Observación de alteraciones celulares directas después de la radioterapia

En lo tocante al efecto directo de la irradiación sobre las células cancerosas, existen tres fases perceptibles de perturbación de la mitosis, además del daño celular directo en la fase de reposo. La perturbación de la actividad mitótica empieza con 1) una repentina disminución de las figuras

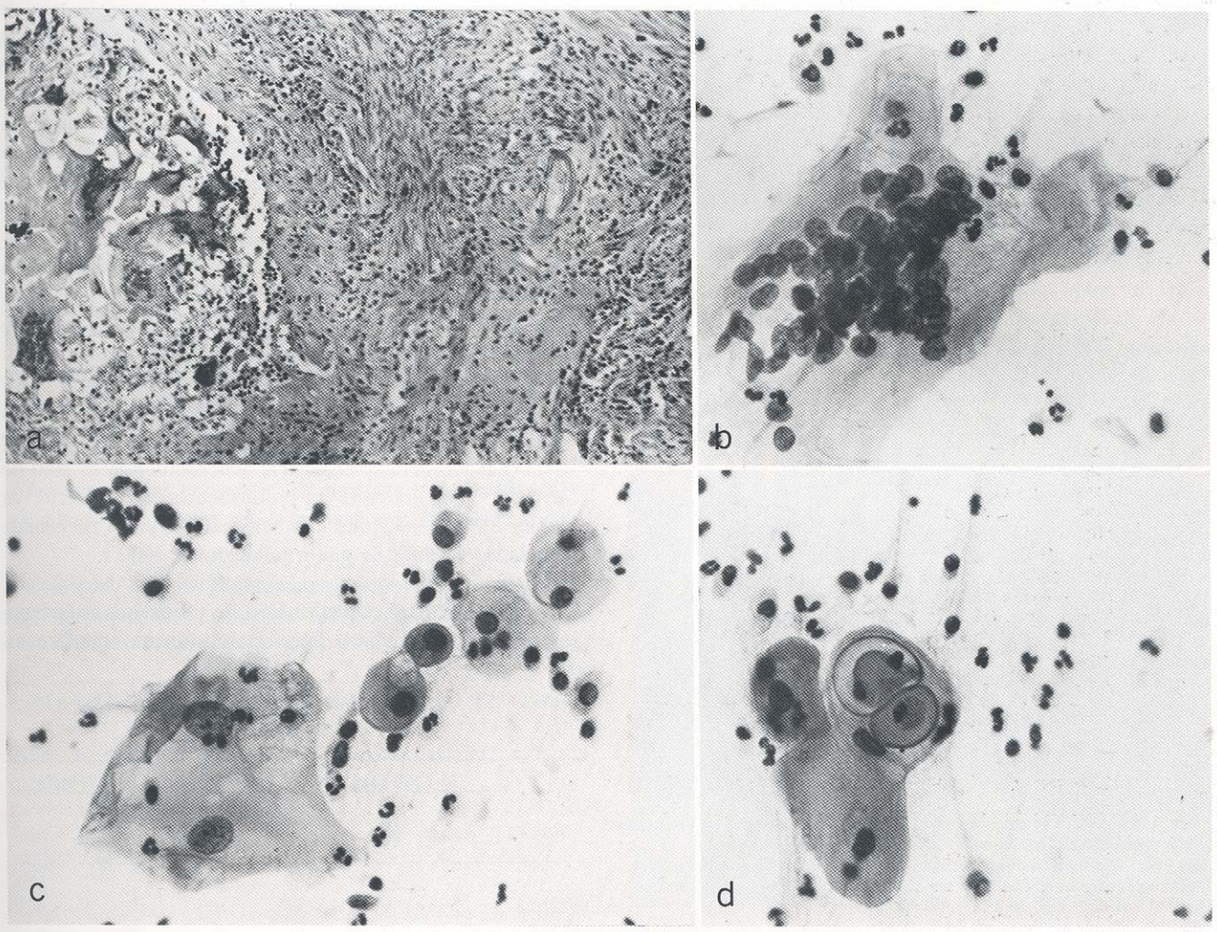
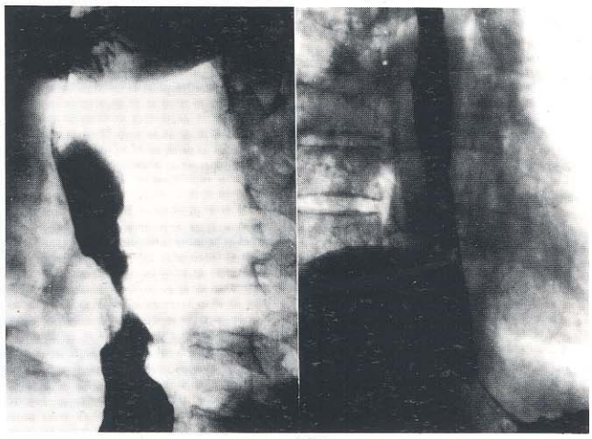
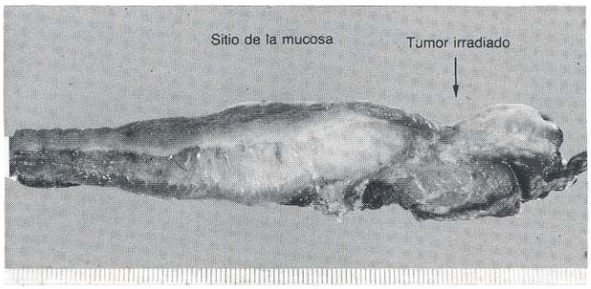


Fig. 133. Etapa tardía de la radioterapia en que se dejan de detectar células cancerosas. De un caso de carcinoma epidermoide del cuello uterino tratado con una dosis tumoral total de 3000 roentgens de rádium. *a*, Área necrótica de tejido canceroso que responde bien, junto con una llamativa eosinofilia e infiltración de células gigantes por cuerpo extraño. A la derecha se aprecian fibrosis y dilatación capilar, pero no se detectan células cancerosas. *b*, Multiplicación anormal de núcleos de tamaño y forma bastante uniformes. *c*, Considerable agrandamiento de núcleos y vacuolización del citoplasma en células pavimentosas. *d*, La inclusión de células dentro de otra célula se llama "imagen en ojo de pájaro". También hay un halo perinuclear.

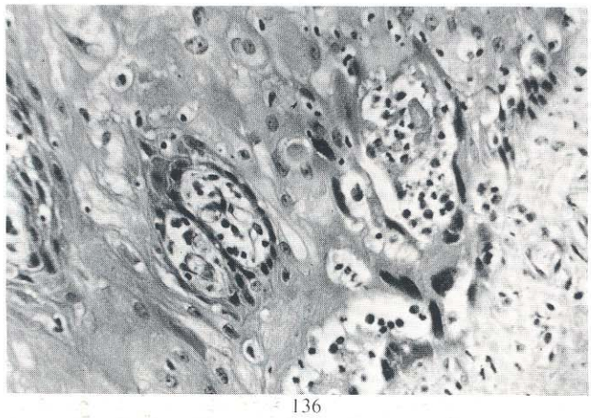
mitóticas seguida por una mayor cantidad de células picnóticas, y esto conduce a 2) un aumento de las mitosis atípicas y, por último, a 3) la desaparición de las mitosis normales y de las atípicas. Otra evidencia interesante es el proceso de maduración o diferenciación del tumor mismo, de acuerdo con la descripción de Dominici y Barcat.[145] Se considera que la inhibición de las mitosis conduciría a la diferenciación de las células tumorales y no a su proliferación persistente.[215]



134



135



136

Figs. 134 a 136. Pronunciados efectos de la radiación sobre un carcinoma epidermoide de esófago sometido a teleterapia con cobalto 60.
Fig. 134. Radiografías de un carcinoma esofágico antes y después de la radioterapia. Está estenosada la porción media del esófago (*izq.*). La estenosis desapareció tras una dosis total de 4020 roentgens (*der.*).
Fig. 135. Pieza quirúrgica que exhibe la retracción cicatrizal del tumor merced a la radioterapia preoperatoria. La túnica muscular ha sido sustituida por una fibrosis densa.
Fig. 136. Importantes alteraciones por radiación en el epitelio pavimentoso estratificado normal del esófago. De la pieza quirúrgica de la figura 135. Nótense las formas aberrantes de los núcleos picnóticos de las células basales y el agrandamiento y vacuolización del citoplasma de las células espinosas. Estos rasgos son similares a los del tejido canceroso.

Glücksmann y col.[214, 217, 218] también notaron este fenómeno y consideraron que los tejidos neoplásicos que exhiben disminución de las células tumorales en reposo y en mitosis, junto con un aumento de células tumorales necróticas y/o diferenciadas, como células queratinizantes o mucosecretantes, son radiosensibles (fig. 137). Glücksmann señaló la utilidad de anticipar el pronóstico de la radioterapia realizando biopsias seriadas[218] del borde de crecimiento del tumor. En los estudios histológicos realizados por Glücksmann en 234 casos de carcinoma de cuello uterino, el grupo con pronóstico favorable exhibió una tasa de sobrevidas del 86 % a los 5 años (74 de 86 casos), mientras que el grupo con pronóstico desfavorable sólo tuvo una tasa de sobrevidas del 12 %.[216]

Sugimori y Taki[631] comunicaron hace poco un resultado similar basado en los cambios histológicos observados en 5 a 6 biopsias: 1) tumefacción nuclear y celular, 2) vacuolización nuclear y citoplasmática, 3) picnosis y cariorrexis, 4) necrosis, 5) reacción desmoplásica y 6) reacción celular inflamatoria. En el grupo que respondió bien la tasa de sobrevidas fue mucho mejor que en el que respondió mal. La estimación del pronóstico por la respuesta histológica (RH) es muy confiable en la etapa II, como se comprueba por la respuesta de radiación (RR) (cuadro 33). Una consideración importante con este método es que se debe prestar atención a la obtención de muestras de biopsia apropiadas en los tejidos tumorales en crecimiento activo.

Otro recurso valioso para prever el efecto de la radioterapia es el que describe Seydel,[593] quien coloreó con naranja de acridina las células exfoliadas de lesiones cancerosas. Consideró que el viraje de la fluorescencia citoplasmática del rojo intenso al rojo pardusco o verde, indica daño celular directo por radiación. La disminución de la fluorescencia y los virajes de color de ésta obedecieron a la menor concentración de RNA[679, 711] y/o a cambios fisioquímicos en las moléculas de RNA (despolimerización).[719] De acuerdo con el estudio de Seydel,[593] cabe anticipar un pronóstico bueno sin recidivas locales en pacientes que exhiben más del 40 % de células lesionadas después de una irradiación de 4000 r.

El *efecto tardío de la irradiación X* sobre la inducción de neoplasias en los sitios muy irradiados y leucemia es un tema importante. Smith y Doll describen un aumento significativo

Cuadro 33. Respuesta histológica (RH) y sobrevidas a los 5 años

	RH buena		*RH moderada*		*RH mala*	
Etapa	*N° de casos*	*Sobrev.*	*N° de casos*	*Sobrev.*	*N° de casos*	*Sobrev.*
I	4	4	0	0	1	1
II	11	10	6	4	8	1
III	41	19	17	5	20	4
IV	3	1	0	0	3	0
	59	34 (58%)	23	9 (39%)	32	6 (19%)

(SUGIMORI, H., y TAKI, I.: Acta Cytol. *16:* 331, 1972. © 1972 International Academy of Cytology)

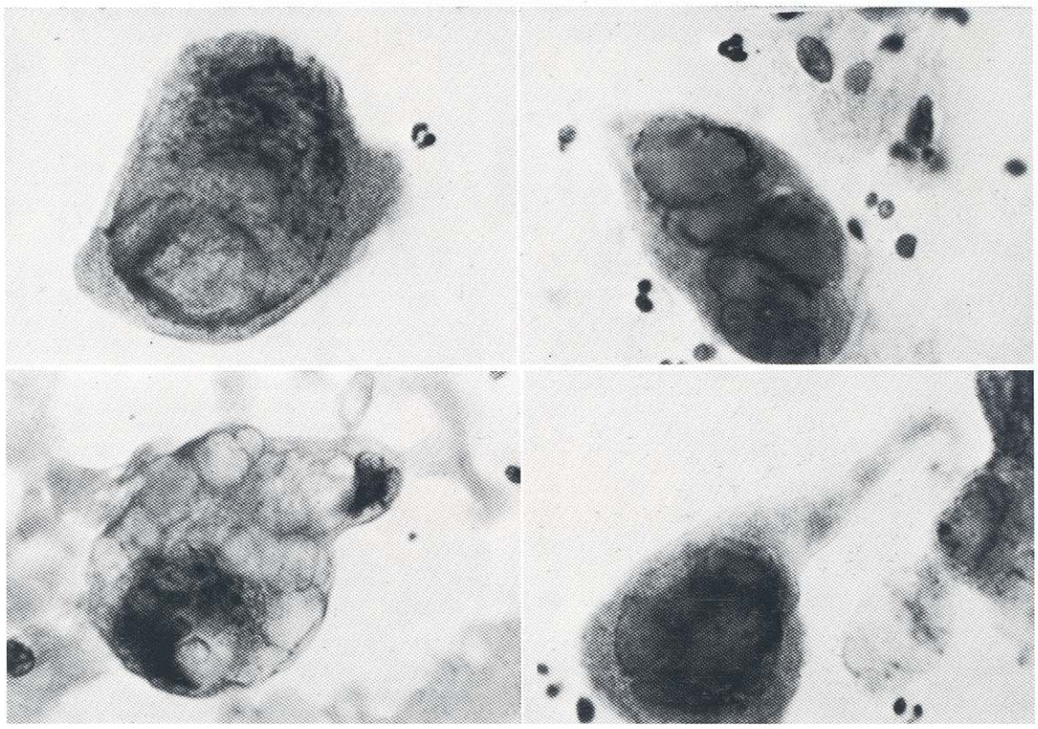


Fig. 137. Enormes cambios por radiación en extendidos de los cepillados esofágicos antes de la resección. La etapa tardía de la radioterapia es idéntica a la de las células cancerosas. Caso de la figura 135, que recibió una dosis tumoral total de 4020 roentgens. Los rasgos típicos de los pronunciados efectos de la radiación son las formas grotescas y el aspecto nuboso de los núcleos, con condensación irregular de cromatinas, multinucleación o multilobulación y vacuolización del citoplasma. En esta etapa con una respuesta avanzada a la radiación, no se puede saber si estas células son benignas o malignas.

de la mortalidad por cancerización de los sitios muy irradiados, en comparación con la cantidad de muertes en una población de edades y sexos similares; el efecto de la radiación sobre la carcinogénesis fue considerable a partir de los 5 años desde la radioterapia. Es necesario realizar una observación citológica de las alteraciones persistentes crónicas (fig. 138).

Los agentes quimioterápicos ejercen diversas acciones sobre las células tumorales. La mostaza nitrogenada es un alquilante común que produce degeneración inespecífica y origina una cantidad aumentada de fagosomas y cuerpos residuales. La mostaza nitrogenada actúa sobre el DNA formando enlaces cruzados. La acción principal de los siguientes agentes antitumorales consiste en inhibición de la síntesis de DNA: bleomicina, 5-fluorouracilo, vincristina y 6-mercaptopurina.

Cuadro 34. Muertes por cánceres de sitios muy irradiados, 5 o más años después de la irradiación X de los ovarios por metropatía hemorrágica en 2068 mujeres*

Sitio del cáncer primario (código I.C.D.)	*Cantidad de muertes*		*Obs./Prev.*
	Observadas	*Previstas***	
Intestino (152-153)	24	13,86	1,73
Recto (154)	8	5,23	1,53
Útero (171-174)	16	10,34	1,55
Ovario (175)	8	7,66	1,04
Otros sitios pelvianos (176)	0	0,85	0,00
Vejiga urinaria (181)	3	2,15	1,40
Todos los sitios muy irradiados	59	40,08	1,47

*SMITH, P.G. y DOLL, R.: Late effect of X irradiation in patients treated for metropathia haemorrhagica. Br. J. Radiol. 49:224, 1976.
**Cantidad de muertes previstas en una población de edades y sexos similares.

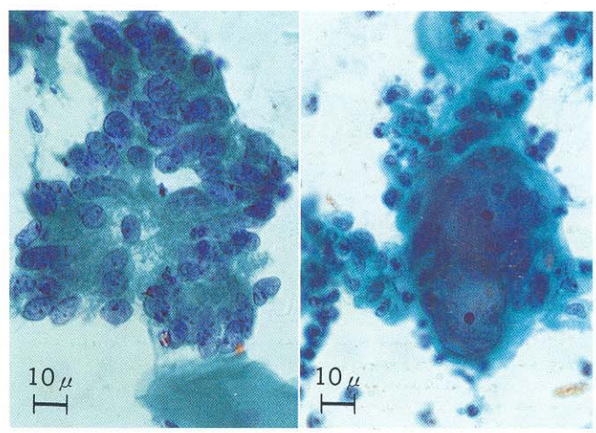


Fig. 138. Adenocarcinoma instalado como probable efecto tardío en un recto-sigmoide muy irradiado. Este tumor apareció en una mujer de 56 años, histerectomizada por adenocarcinoma uterino 7 años antes y tratada en el posoperatorio con 4500 R de cobalto en la pelvis y 5000 R entregados con ovoides de rádium. (Gentileza del Prof. William W. Johnston, Dep. de Patología, Centro Médico de la Universidad Duke, EE.UU.)

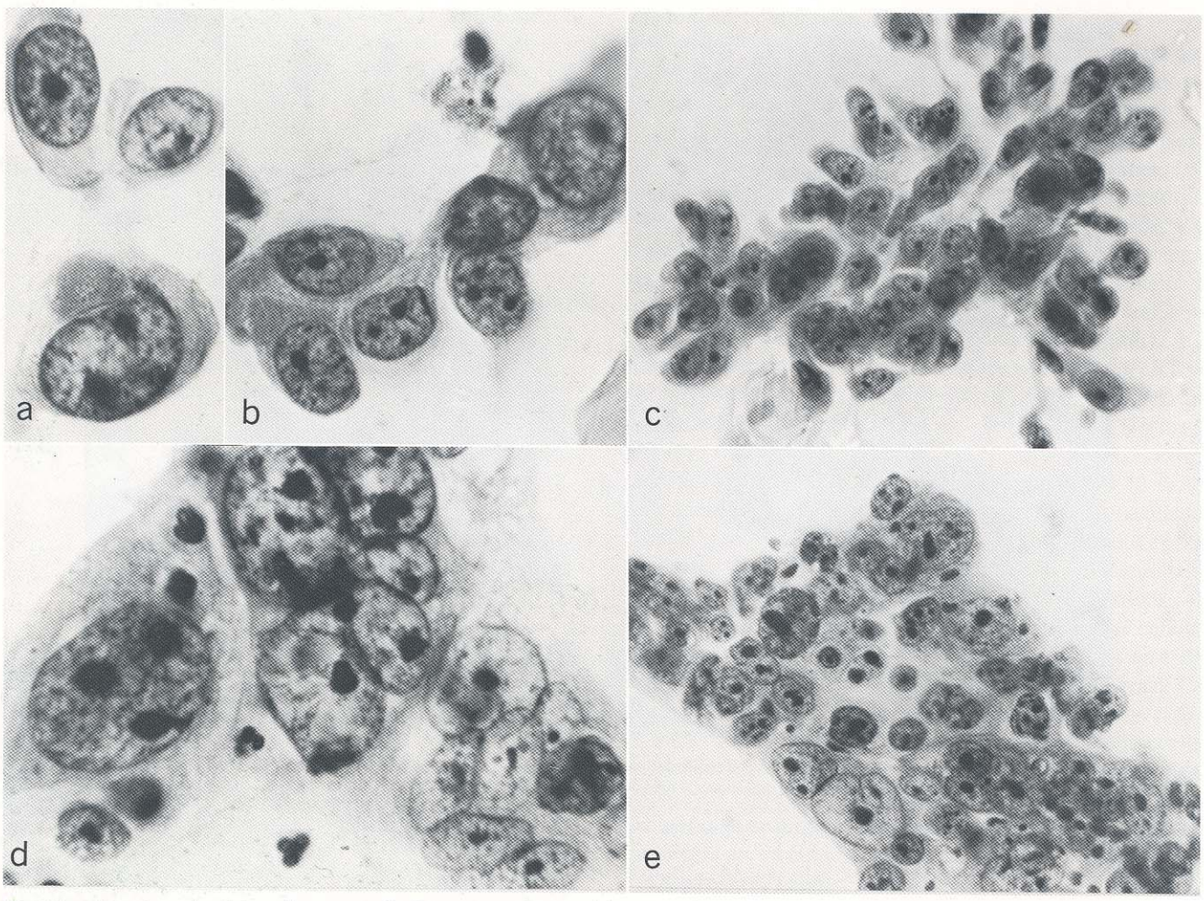


Fig. 139. Alteraciones de células malignas por radiación preoperatoria. Extendidos preparados con los cepillados esofágicos en un caso de carcinoma epidermoide de esófago. *a*, *b* y *c*, Alteraciones leves a raíz de la irradiación con cobalto 60 (1500 roentgens). La cromatina se ha aglomerado en el borde nuclear y los núcleos y nucléolos se han agrandado un poco. El citoplasma no aparece mayormente alterado. Estos cambios leves podrían exagerar los rasgos citológicos de malignidad. *d* y *e*, Alteraciones prominentes por irradiación de 3980 roentgens de cobalto 60. Compárese el considerable agrandamiento nuclear y nucleolar con el grado leve en *a-c*. Los núcleos parecen vacíos, salvo por los bordes nucleares bien nítidos.

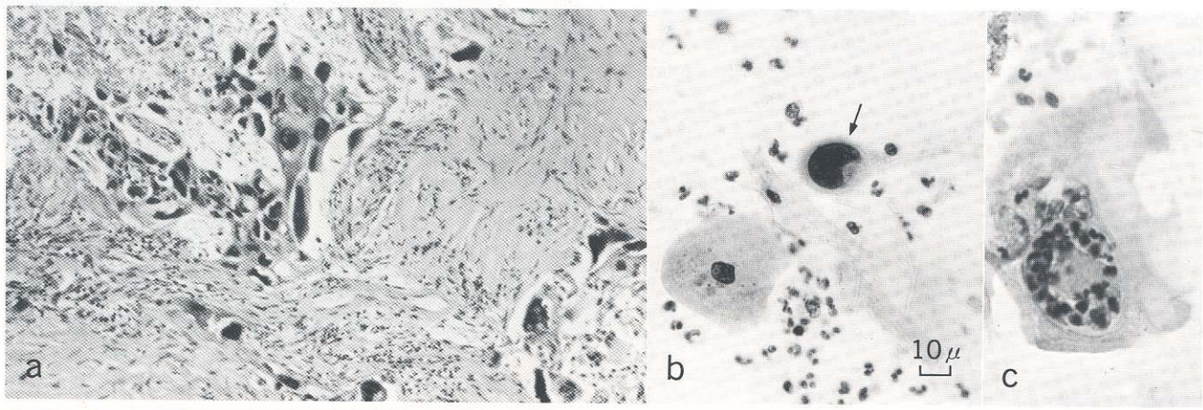


Fig. 140. Radioterapia preoperatoria y citología de un carcinoma epidermoide de pulmón. *a*, Avanzada alteración por radiación en un carcinoma epidermoide de pulmón. Las formas aberrantes de los núcleos, la picnosis nuclear y la eosinofilia citoplasmática de las células cancerosas se interpretan como una buena respuesta a la irradiación. *b*, Célula cancerosa en renacuajo con una alta relación N/C y un núcleo intensamente coloreado (*flecha*). *c*, Célula anucleada con eosinofilia e infiltración leucocitaria en el citoplasma.



Fig. 141. Efecto del agente anticanceroso bleomicina sobre un carcinoma epidermoide de esófago. Citología del cepillado tras la administración de 300 mg de bleomicina: hay considerable agrandamiento nucleolar. Llaman la atención la multinucleación, los halos perinucleares y la condensación irregular de la cromatina. Este agente degrada el DNA, inhibe la síntesis de DNA e interrumpe la mitosis normal. Tinción de Papanicolaou.

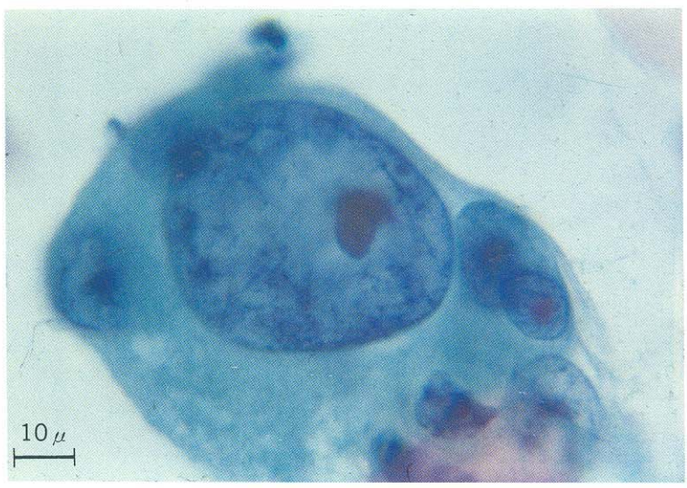


Fig. 142. Extendido de la figura 141 visto con mayor aumento. Llamativo agrandamiento del núcleo y nucléolo. Hay colicuación de la cromatina, seguida por la formación de un halo perinucleolar. La cromatina se ha condensado con irregularidad en el borde del núcleo. Tinción de Papanicolaou.

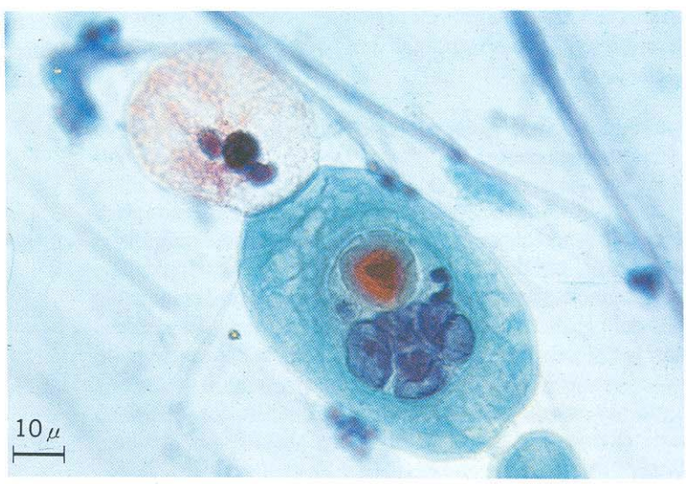


Fig. 143. Efecto de la bleomicina sobre células cancerosas epidermoides de pulmón. La citología del esputo reveló una considerable respuesta a la citoterapia; se produjo multinucleación con inclusiones celulares tras la administración de 60 mg después de la radioterapia. El citoplasma también está ingurgitado y vacuolado.

15 Microscopia de fluorescencia

Con la microscopia de fluorescencia se estudian objetos microscópicos que emiten fluorescencia primaria o secundaria. Entre las sustancias moleculares que emiten fluorescencia primaria figuran clorofila, porfirina, pterina y vitamina A. Los preparados histológicos sin colorear y fijados con alcohol, formol y otros fijadores, exhiben diversos grados de fluorescencia. Los lípidos emiten una fluorescencia anaranjada, el miocardio verde azulada, el hueso azul lechoso, las grasas neutras amarilla pálida o amarilla azulada, las fibras colágenas celeste, las fibras elásticas azul blancuzca y el cartílago hialino azul.

La fluorescencia secundaria ocurre por absorción de colorantes fluorescentes por los componentes celulares. En bacteriología, hematología, patología y citología exfoliativa existen muchos fluorocromos de utilidad práctica. El carbol-auramina O (0,1 %) y el carbol-tioflavina (0,1 %) imparten a los bacilos acidorresistentes una fluorescencia amarilla intensa y verde azulada clara, respectivamente.[122, 432, 534] Para demostrar tripanosomas, el carbol-auramina O (0,1 %), que produce fluorescencia amarilla, es útil en los extendidos de sangre,[415, 630] y la acriflavina (0,1 %) lo es para los cortes histológicos.[415, 534] Los parásitos del paludismo se demuestran con berberina (0,1 %), primulina (0,1 %) y rivanol (0,1 %).

Friedman (1950) introdujo varios colorantes fluorescentes para estudiar células exfoliadas, como sulfato de berberina, fucsina ácida y amarillo de acridina.[196] De Bruyn y col.[133] describieron diaminoacridinas que poseen afinidad por las nucleoproteínas.

1. Principios de la citología de fluorescencia con naranja de acridina

Los ácidos nucleicos y los mucopolisacáridos ácidos poseen gran afinidad por el fluorocromo anaranjado de acridina básica.[133, 577] Las diferencias de intensidad y coloración de la fluorescencia dependen 1) de la concentración del colorante y 2) del pH de la solución colorante. *In vitro* se demuestra bien la coloración distinta de acuerdo con la concentración del colorante (metacromasia de concentración), desde el verde (en solución al 0,001 %) y el amarillo (al 0,01 %) hasta el rojo anaranjado (al 0,1 %). A baja concentración (0,01 %) y acidez apropiada (pH 3 a 5), el naranja de acridina es muy específico para los ácidos nucleicos e imparte colores distintos a los ácidos ribonucleico y desoxirribonucleico, con una longitud de onda de excitación de 360 a 400 nm. La especificidad del naranja de acridina para los ácidos nucleicos se verifica con RNAasa y DNAasa respectivamente (figs. 145 y 146).[74, 678] A medida que el pH de la solución se aproxima a la neutralidad, la intensidad de la fluorescencia citoplasmática rojiza aumenta, o sea que el RNA y algunos componentes texturales, como los mucopolisacáridos ácidos, emiten una fluorescencia roja anaranjada distintiva, en tanto que el núcleo, que es rico en DNA, produce una fluorescencia verde a amarilla verdosa.[490, 577] Al hacer una evaluación crítica de la intensidad de la fluorescencia del naranja de acridina en relación con la cantidad de DNA, se observó que las moléculas de naranja de acridina intercaladas en el interior de la doble hélice del DNA, emiten una fluorescencia verde específica que es máxima a 540 nm, hasta llegar a un límite de unos 10^{-6} g/ml, que es la concentración mínima de colorante que se emplea en microscopia fluorescente convencional.[664]

Los distintos investigadores recomendaron diversos pH para el uso práctico del naranja de acridina: Dart y Turner[129] pH 3,8, Sani[562] pH 4,5 y von Bertalanffy[679] pH 6. A pH 2 la fluorescencia vira del verde al amarillo.[651] La diferencia de afinidad del colorante por el DNA y el RNA dependería de la estructura molecular distinta de los ácidos nucleicos (arrollamientos de doble hélice, coloración ortocromática; arrollamientos aleatorios, metacromática)[539] y/o del grado de polimerización del complejo colorante-ácido nucleico.[730] En lo tocante a la fijación del naranja de acridina a los componentes de los tejidos, se considera más probable un enlace electrostático entre los cationes básicos del colorante y los radicales fosfóricos con carga negativa.[36,48,634]

Sin embargo, también se postularon estos otros mecanismos: 1) Enlaces de hidrógeno. El hidrógeno de un grupo

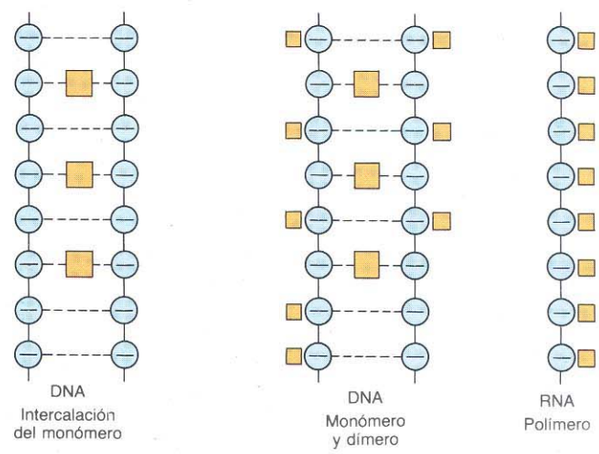


Fig. 144. Fijación del naranja de acridina al ácido nucleico.

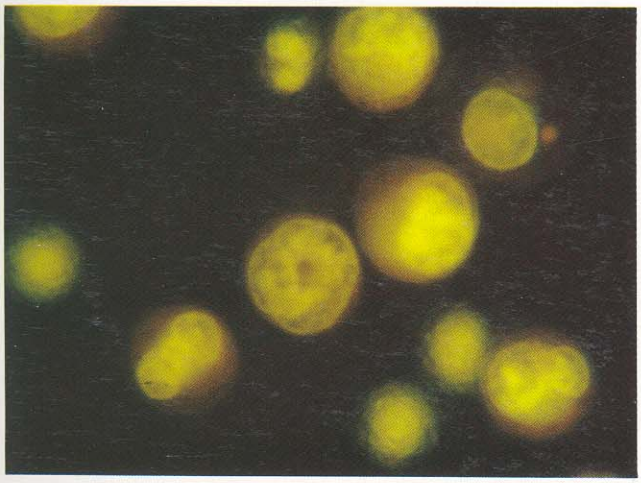


Fig. 145. Afinidad específica del naranja de acridina por el DNA tras la digestión con ribonucleasa. El DNA de los núcleos de células cancerosas de Ehrlich emite una intensa fluorescencia amarillo-verdosa a la excitación luminosa de 360 a 400 nm de longitud de onda.



Fig. 146. Afinidad específica del naranja de acridina por el RNA tras la digestión con desoxirribonucleasa. Los sitios de RNA, el nucléolo y el citoplasma, emiten una fluorescencia rojo-anaranjada con una excitación luminosa de 360 a 400 nm de longitud de onda.

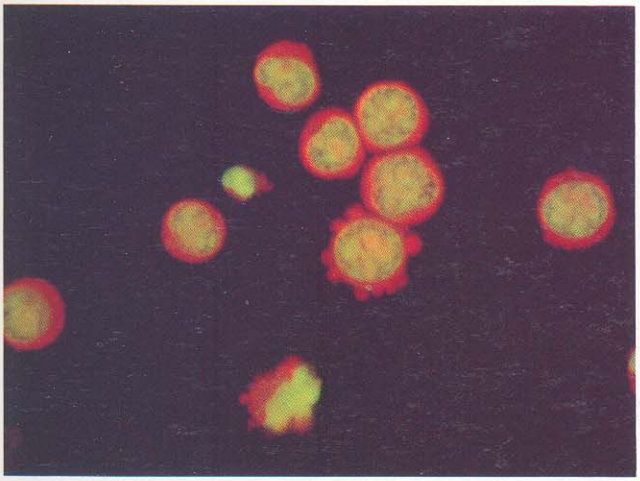


Fig. 147. Afinidad del naranja de acridina por células cancerosas de Ehrlich teñidas con el método de von Bertalanffy. Intensa fluorescencia rojo-anaranjada del citoplasma y fluorescencia amarillo-dorada de los núcleos.

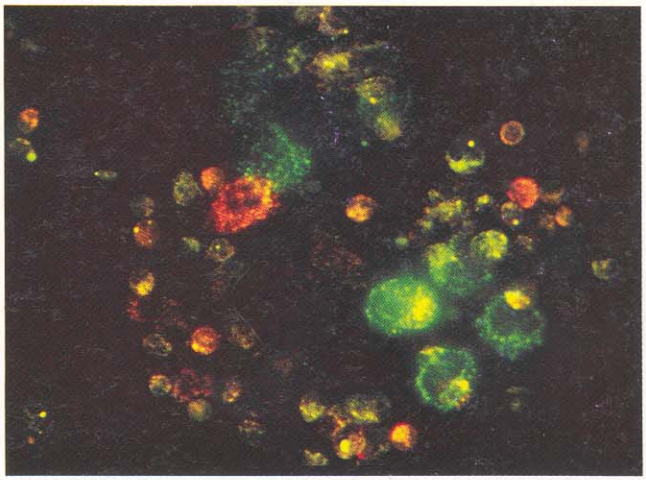


Fig. 148. Tinción vital con naranja de acridina de células cancerosas de Ehrlich. Microscopia fluorescente a las 3 horas de la administración intravenosa de naranja de acridina (10 mg/kg). Las células tumorales de Ehrlich están muy degeneradas al undécimo día de la inoculación. Las células viables presentan unos gránulos finos de color amarillo-verdoso en el citoplasma, los cuales corresponderían a lisosomas.

peptídico se liga al nitrógeno ionizado de una molécula de naranja de acridina. Los grupos aminados dobles reforzarían la ionización básica. 2) Fuerzas de van der Waal. Estas fuerzas actúan entre el naranja de acridina y las moléculas de nucleoproteínas a distancias de varios angstroms. 3) Aglomeraciones de colorante en sitios donde ya se ha fijado colorante a los componentes celulares.

Debemos señalar que la desnaturalización física y química puede liberar grupos de ácido fosfórico que se tornan accesibles para los cationes del colorante.

En las células vivas el naranja de acridina tiñe al núcleo de verde o amarillo verdoso, mientras que el citoplasma queda sin colorear, con excepción de unos gránulos anaranjados intensos o rojizos en sitios que concuerdan con los de los colorantes de rojo neutro.[309] Aunque antes se pensaba que estos gránulos correspondían a los gránulos basófilos que aparecen con azul de toluidina[678] o a mitocondrias,[62, 719] los estudios recientes con tinciones vitales indican que los sitios donde se capta el colorante vital en el citoplasma son lipocondrias[35, 37, 677] o lisosomas.[41, 135, 457] Los lisosomas están rodeados por lipoproteína y son ricos en fosfatasa ácida y en varias otras hidrolasas que poseen actividad lítica en relación con la fagocitosis, pinocitosis y degradación de componentes celulares.[22] Sobre la base de los estudios de cultivos de tejidos, se postuló que los gránulos citoplasmáticos[143] que contienen mucopolisacáridos ácidos corresponden por su distribución a los lisosomas.[455, 456] En suma, los sitios de captación de naranja de acridina, lo mismo que los de rojo neutro, poseen actividades lisosómicas relacionadas con la pinocitosis y también con la pinocitosis invertida.[358]

La *observación de fluorescencia macroscópica* es un ensayo interesante si se consigue definir específicamente a las lesiones neoplásicas que emiten alguna fluorescencia. Pero todavía se discute su aplicación vital, porque mientras Kyriazis y col.[359] evaluaron los derivados de la hematoporfirina para la lesión cervical incipiente, incluso displasia y carcino-

ma *in situ*, Wilbanks y Richart[715] no pudieron delinear neoplasias intraepiteliales administrando tetraciclina parenteral ni haciendo aplicaciones locales de naranja de acridina.

2. Equipos y técnicas

1. Microscopio para fluorescencia con una fuente luminosa fluorescente rica en radiaciones ultravioletas y violetas azuladas de longitudes de onda excitantes apropiadas. Se emplean lámparas de mercurio o xenón de alta presión o arcos voltaicos.
2. Un filtro excitador montado delante del condensador del microscopio. Como el haz de luz proveniente de la lámpara comprende todas las radiaciones, el filtro debe seleccionar una luz casi monocromática que sea apropiada para el sistema de fluorescencia.
3. Sobre la muestra se coloca un filtro bloqueador (barrera) para que absorba la radiación ultravioleta y violeta azulada. Este filtro sólo permite el paso de la radiación fluorescente.

Método de von Bertalanffy

Fijación. Fíjese el extendido con partes iguales de alcohol etílico y éter etílico. También se puede usar líquido de Carnoy o alcohol y ácido acético (3:1).

Preparación de las soluciones

Solución madre: naranja de acridina al 0,1 % en agua destilada

Buffer de fosfato a pH 6: PO_4KH_2 1/15 M, 1 parte, y PO_4Na_2H 1/15 M, 2½ partes.

Solución de trabajo de naranja de acridina: Mézclese la solución madre con el buffer de fosfato (1:9) antes de usar.

Solución de cloruro de calcio 1/10 M: Disuélvanse 11,1 g de Cl_2Ca en 1000 ml de agua destilada.

Procedimiento

1. Alcohol etílico al 80 % (5 inmersiones)
2. Alcohol etílico al 70 % (5 inmersiones)
3. Alcohol etílico al 50 % (5 inmersiones)
4. Agua destilada (enjuague)
5. Ácido acético al 1 % (4 inmersiones rápidas)
6. Agua destilada (enjuague)
7. Solución de naranja de acridina al 0,01 % regulada a pH 6 (3 minutos)
8. Buffer de fosfato (1 minuto)*
9. Diferénciese con solución de Cl_2Ca ½ M (1 minuto)*
10. Buffer de fosfato (enjuáguese bien)
11. Móntese con buffer de fosfato

Método de Dart y Turner

Fijación. Fíjense los portaobjetos con partes iguales de alcohol etílico y éter.

Preparación de las soluciones. Igual que en el método de von Bertalanffy, excepto que se usa buffer de McIlvaine a pH 3,8 (13,55 g de ácido cítrico monohidratado + 10,08 g de PO_4Na_2H + 1000 ml de agua destilada. El buffer citratado de McIlvaine se mantiene estable por alrededor de una semana y se debe almacenar en el refrigerador.

Procedimiento. Los pasos 1 a 6 son iguales que en el método de von Bertalanffy.

7. Buffer de ácido cítrico (3 minutos)
8. Solución colorante de naranja de acridina al 0,01 % regulada a pH 3,8 (3 minutos)
9. Diferénciese con buffer de ácido cítrico (4 minutos)
10. Móntese con buffer de ácido cítrico

Resultados. Los sitios de RNA, los nucléolos y el citoplasma emiten una fluorescencia amarilla anaranjada o amarilla rojiza. Los sitios de DNA, el material de cromatina en las células en reposo y los cromosomas en las células en mitosis, producen una fluorescencia verde o amarilla verdosa. La intensidad de la fluorescencia del núcleo y del citoplasma es proporcional al contenido de DNA y RNA, respectivamente. Los mucopolisacáridos ácidos también despliegan una fluorescencia amarilla rojiza.

* Si el extendido se pone más tiempo la fluorescencia roja puede disminuir.

Método de la tinción vital

Procedimiento. Dos días antes del examen citológico adminístrense 0,5 g diarios de Atebrina (quinacrina). La Atebrina se usaba como antipalúdico y es un derivado de la diaminoacridina. Prepárense los extendidos de diversos órganos al tercer día y examínense con el microscopio para fluorescencia.

Resultados. Las células normales no suelen teñirse, aunque a veces aparece en el citoplasma una fluorescencia granular fina. Las células malignas muestran unos gránulos gruesos muy fluorescentes de color amarillo dorado o amarillo anaranjado en el citoplasma.

Método de la tinción supravital

Procedimiento. Deposítese la muestra fresca en un portaobjeto de vidrio limpio y, con el borde de un portaobjeto, mézclese con una gota de solución de trabajo de naranja de acridina al 0,01 % regulada a pH 4. Todo el procedimiento insume 10 segundos.

Resultados. Los núcleos de las células normales emiten una fluorescencia verde o amarilla verdosa. Las células malignas tienen una fluorescencia amarilla oro mucho más intensa. La fluorescencia más intensa se debe a la mayor cantidad de DNA. También se reconoce la distribución gruesa del material cromatínico. En consecuencia, en la microscopia fluorescente los criterios representativos de malignidad se demuestran por la intensidad de la fluorescencia y la distribución de la cromatina en los núcleos. El citoplasma de los diversos tipos de células exhibe unos gránulos amarillos anaranjados dispersos.

Los leucocitos polimorfonucleares y los histiocitos son ricos en gránulos fluorescentes citoplasmáticos. La fluorescencia del citoplasma no sólo indica el contenido de RNA, sino que también refleja las condiciones vitales de la célula. Las células desvitalizadas o desnaturalizadas adquieren un color amarillo anaranjado o amarillo rojizo difuso de manera parecida a un extendido fijo. Esta reacción tintorial se atribuye a la disociación del completo proteína-RNA, seguida por la formación de un complejo polimérico con el colorante.

3. Reacción de Feulgen fluorescente

El mecanismo de la reacción de Feulgen depende de la liberación de grupos aldehído a partir de la desoxipentosa del DNA mediante hidrólisis suave con ácido clorhídrico 1 N. En lugar de la leucofucsina básica, también son útiles algunos colorantes fluorescentes básicos.[124]

Preparación de la solución

Reactivo fluorescente de Schiff	
Dihidrocloruro de acriflavina	1 g
Metabisulfito de potasio	2 g
Agua destilada	200 ml
Ácido clorhídrico 1 N	20 ml

Procedimiento

1. Trátense los extendidos o los cortes histológicos con ClH 1 N precalentado a 60° C. Déjense en reposo los extendidos 3 minutos y los cortes histológicos 10 minutos.
2. Lávese brevemente con agua destilada.
3. Pásese al reactivo fluorescente de Schiff 20 minutos.
4. Lávese con alcohol acidulado (1 % de ClH en alcohol etílico al 70 %) 5 minutos
5. Déjese en alcohol acidulado fresco 10 minutos
6. Pásese a alcohol absoluto 1 minuto.
7. Blanquéese con xilol y móntese en un medio no fluorescente.

De acuerdo con la comunicación reciente de Cornelisse y Ploem,[119] el reactivo de acriflavina y Schiff se prepara en

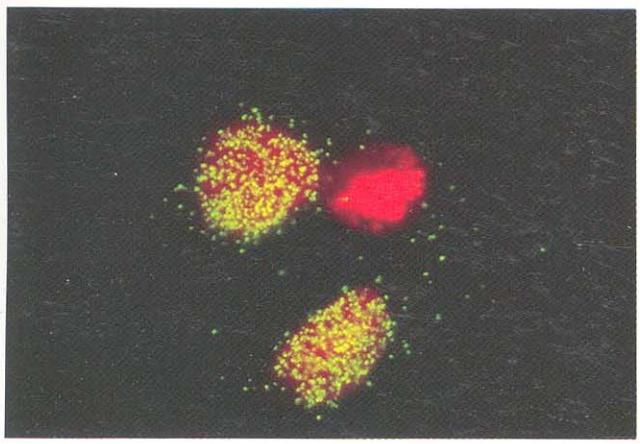


Fig. 149. Observación simultánea de fluorescencia rojiza del DNA con pararrosanilina-Feulgen y granos reflectivos de autorradiografía mediante incorporación de timidina marcada con ^3H. Células HA-1 de criceto chino. Los granos plateados se pueden contar como cantidad de reflejos verdes brillantes con el microfluorómetro digital (Olympus MMSP-FR). Hay una célula mitótica con fluorescencia cromosómica roja y dos células sintéticas con numerosos granos de plata. (Gentileza del doctor Shima, A., Universidad de Ciencias Médicas Shiga, Otsu, Japón.)

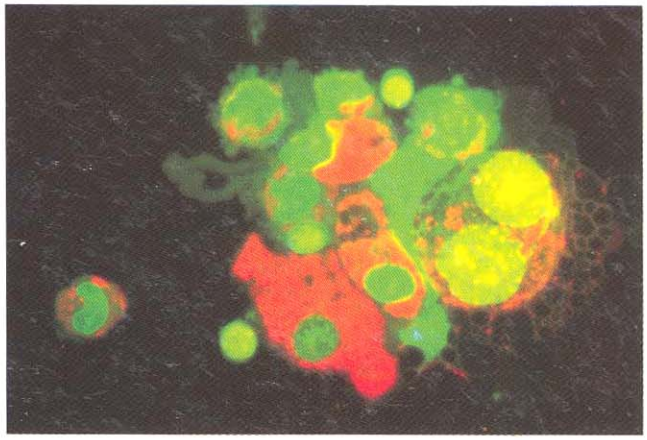


Fig. 150. Tinción supravital con naranja de acridina de células de cáncer gástrico en ascitis. Las células cancerosas de la derecha se caracterizan por núcleos grandes que emiten una intensa fluorescencia amarillo-dorada y algunos gránulos rojo-anaranjados en el citoplasma. El citoplasma de los histiocitos está cargado de gránulos de color rojo anaranjado.

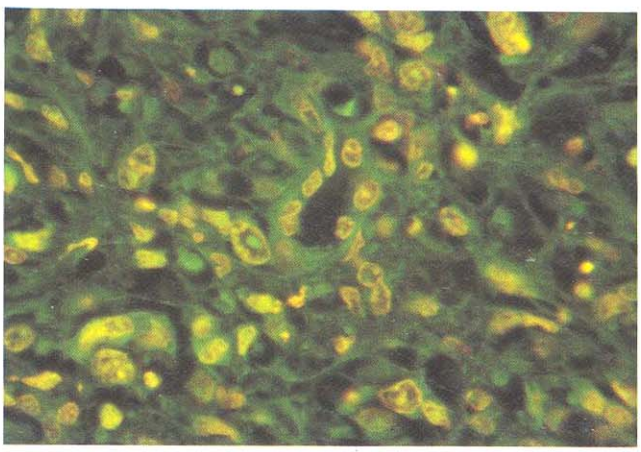


Fig. 151. Reacción fluorescente de Feulgen en un carcinoma de células grandes de pulmón. Corte histológico. Los núcleos polimórficos emiten una fluorescencia verde amarillenta específica del DNA. Reacción acriflavina-Schiff Feulgen.



Fig. 152. Reacción acriflavina-Schiff Feulgen de un carcinoma de células grandes: citología de aspiración. Grandes núcleos polimórficos intensamente fluorescentes. La intensidad de la fluorescencia concuerda con la cantidad de DNA.

distintas composiciones: se disuelve 0,1 g de acriflavina (Chroma Gesellschaft Schmidt) en una solución que contiene 10 g de $S_2O_5Na_2$, 150 ml de ClH 1 N y 850 ml de agua destilada. Los extendidos fijados con solución de Carnoy se hidrolizan 30 minutos con ClH 5 N a temperatura ambiente, se enjuagan con tres cambios de agua destilada y se colorean 15 minutos a temperatura ambiente con el reactivo acriflavina-Schiff descripto arriba. A continuación se hace el enjuague seriado: tres cambios de una solución de 5 g de $S_2O_5K_2$ en 1000 de agua destilada que contiene 50 ml de ClH 1 N (agua con SO_2) durante 15 segundos, agua con SO_2 durante 5 minutos y dos cambios de ácido cítrico 0,1 M con buffer 0,2 M de $PO_4NaH_2.2H_2O$ (pH 5,6) durante un minuto.

Además de la acriflavina-Feulgen, la pararrosanilina-Feulgen convencional se puede medir mediante citofluorometría una vez estabilizada la fluorescencia iluminando con intensa luz verde (λ 543 nm) después de la tinción. Fujita y su escuela[735,736,739] desarrollaron la citofluorometría Feulgen y la cuantificación de granos de autorradiografía con timidina ^3H como el recurso más avanzado para determinar el ciclo celular; la población de células en G_1 y G_2 se identifica como células no marcadas.

4. Estado actual del método de la fluorescencia

Al principio este método citoquímico capaz de estimar los ácidos nucleicos era muy apreciado por el personal no experimentado por su sencillez y rapidez para hacer exámenes presuntivos en busca de células cancerosas, pero al aplicar el método cuantitativo fluoroespectrofotométrico a la citología vaginal no aparecieron diferencias netas entre los casos anormales como displasia, carcinoma *in situ* y carcinoma invasor.[712] Además, la exactitud del citodiagnóstico puede resentirse por la variabilidad de la disipación de la fluorescencia nuclear durante la microscopia y por la fluorescencia rojiza inconstante del citoplasma. La microscopia fluorescente también depende de los criterios morfológicos y requiere una fijación exacta para que al secar los extendidos no

Cuadro 35. Comparación entre fluorescencia con naranja de acridina (NA) y el método de Papanicolaou

a) Sensibilidad para malignidad

Muestras	*Casos de malignidad*	*Método NA*		*Método de Papanicolaou*	
		Positivos	*Exactitud*	*Negativos*	*Exactitud*
Extendido cervical	27	21	77,7 %	23	85,1 %
Esputo	160	69	43,1 %	72	45,1 %
Orina	27	24	88,8 %	23	85,1 %

b) Confiabilidad de benignidad

Muestras	*Casos de malignidad*	*Método NA*		*Método de Papanicolaou*	
		Positivos	*Exactitud*	*Negativos*	*Exactitud*
Extendido cervical	3.053	2.845	91,8 %	3.033	99,3 %
Esputo	283	205	72,4 %	261	92,2 %
Orina	97	71	73,2 %	91	93,8 %

(STEVENSON, J.: Acta Cytol., *8*:224, 1964. © 1964 International Academy of Cytology)

se pierdan los detalles nucleares. De acuerdo con muchas publicaciones,[18, 376, 619] el método convencional de Papanicolaou es mejor que la fluorescencia para realizar los exámenes preliminares de rutina.

Otras investigaciones sobre fluorocromos fijadores de DNA revelan que la actinomicina[221] y la cloroquina[251, 454] son específicos para la guanina y que la nogalamicina lo es para intercalarse en los enlaces A-T.[51] También se investigan mejor el bromuro de etidio y el yoduro de propido, que se fijan al DNA,[122] y el isotiocianato de fluoresceína y el azul de bromofenol, que se fijan a la proteína.[98] Crissman y col. mencionan que el bromuro de etidio y el yoduro de propidio se pueden emplear como colorantes fluorescentes cuantitativos para DNA después de tratar las células fijadas con etanol; se aplica RNAasa (1 mg/ml, pH 7) a 37° C durante 30 minutos. Una vez enjuagadas con agua destilada, las células deben teñirse con estos colorantes (0,05 mg/ml) en solución regulada con fosfato durante 20 minutos. Se recomienda el Hoechst 33258 como un fluorocromo estable que posee afinidad específica por el enlace A-T y se presta para cuantificar el DNA.[733]

Un antibiótico antitumoral, la mitramicina (Pfizer), 100 µg/ml en etanol al 20 % y Cl_2Mg 15 mM por un período de 20 minutos, tiñe específicamente al DNA.[123]

Addendum 1: Fluorescencia con tetraciclina. En los últimos años se ha discutido la importancia de la microscopia de fluorescencia con tetraciclina para distinguir entre células malignas y benignas,[83, 281, 495] pero la acumulación de esta droga no es específica y se relaciona con la afinidad por las mitocondrias.[287]

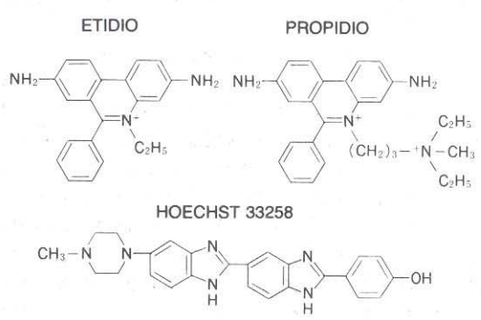


Fig. 153. Fluorocromos específicos para DNA.

Addendum 2: Citofluorometría. Con la introducción reciente de la técnica citofluorométrica se emprendió una determinación citoquímica cuantitativa del DNA. No sólo se aplicó la medición del DNA, sino también el análisis de imágenes, a una citología automatizada con la finalidad de realizar exámenes preliminares en masa para lesiones cervicales de útero. Wheeless y Patten[705, 706] desarrollaron una técnica de rastreo hendido que registra la fluorescencia secundaria a una longitud de onda de 540 nm emitida a través de una pequeña hendidura de 5 µ de ancho. Además, la medición a 540 nm y a 655 nm ofrece una información que permite determinar los contornos verde del núcleo y rojo del citoplasma.[704] La elección de colorantes fluorescentes específicos para citofluorometría del DNA es tan importante como el instrumental y la medición exacta del DNA con el Feulgen fluorescente, y los fluorocromos fijadores de DNA son el principal tema de investigación en la actualidad.[119] Se señaló que la relación lineal entre el DNA Feulgen y la intensidad de la fluorescencia persiste hasta un determinado valor de extinción.[60] En la práctica, esta falla se subsana haciendo un breve tratamiento con reactivo de pararrosanilina-Schiff muy frío.[200]

Desde el Quinto Congreso Internacional de Citología (1974), Beyer-Boon y Ploem publicaron una aplicación de las excitaciones de dos longitudes de onda para realizar estudios microfluorométricos cuantitativos; para el DNA se usa la reacción de pararrosanilina-Feulgen y para la proteína el isotiocianato de fluoresceína. Fukuda y col.[737] combinan la reacción de la ninhidrina-Schiff (acriflavina-Schiff) y la reacción de la pararrosanilina-Feulgen para determinar la proteína total y el DNA en la misma célula (fig. 154). En su método se hace la irradiación postintorial del extendido con intensas luces excitadoras (lámpara de mercurio de alta presión) en verde (λ 543 nm) y azul (λ 405 nm) durante 10 horas para eliminar la fluorescencia primaria. El extendido fijado con alcohol metílico absoluto o con fijador de Böhm (1 hora a 18° C) debe llevarse primero a la

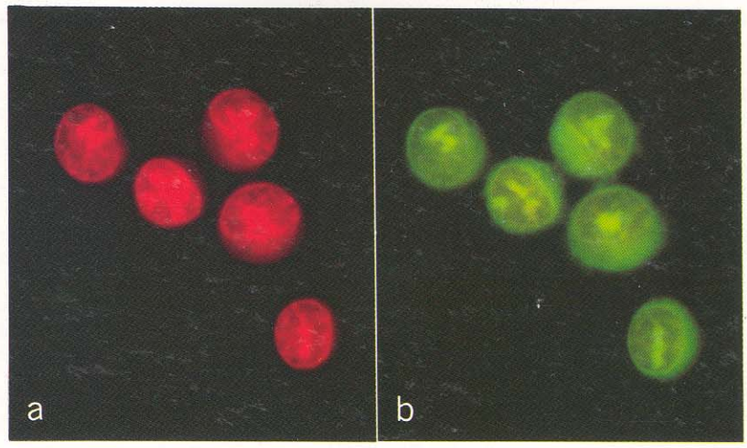


Fig. 154. Micrografías fluorescentes con excitaciones de dos longitudes de onda para DNA nuclear y proteína citoplasmática. Línea cultivada de un carcinoma espinocelular poco diferenciado de pulmón (PC 1). Ambas fluorescencias se pueden cuantificar al mismo tiempo con el microscopio fluorométrico (véase p. 44). *a*, La fluorescencia roja de los núcleos proviene de la pararrosanilina-Feulgen. *b*, La fluorescencia verde amarillenta del citoplasma pertenece a la ninhidrina acriflavina.

solución de pararrosanilina-Feulgen y después a la solución acriflavina-Schiff durante 10 minutos a 8° C. Esta técnica citofluorométrica es valiosa por su sistema de alta resolución empleando portaobjetos de vidrio.

MÉTODOS DE LOS ANTICUERPOS INMUNOFLUORESCENTES

1. Aplicación a la citología oncológica

El método de la inmunofluorescencia, que es útil para demostrar ciertos antígenos, halló adopción en microbiología, inmunología y patología desde 1941, cuando Coons y col.[115] describieron la técnica. En esta técnica, los anticuerpos específicos a los cuales se acopla un colorante fluorescente actúan como indicador del antígeno en los tejidos y en las células individuales. El anticuerpo marcado con la fluorescencia, que no se fija de modo específico al antígeno, se lava para que demuestre el sitio donde está el antígeno.

Este método se puede aplicar al citodiagnóstico siempre que una célula cancerosa o sus componentes celulares revelen especificidad antigénica. Plesca y col.[502] sugirieron que con las técnicas inmunológicas hasta se disciernen diferencias moleculares minúsculas en los nucleótidos. En los últimos años se publicaron numerosos trabajos en los cuales se describían métodos que empleaban diversos componentes celulares, como ribonucleoproteína,[620] desoxirribonucleoproteína[495] y fracciones mitocondriales.[635]

Antiguamente los estudios sobre antígenos distintivos del cáncer se concentraban en los haptenos lipídicos y en las glucoproteínas: lípido isoantigénico extraído del sarcoma murino por Kandutsch y Stimpfling;[325] citolipina H, que es un glucoesfingolípido, aislada por Rapport y col. de la fracción mitocondrial del linfosarcoma de Murphy-Sturm y del cáncer espinocelular humano;[227,521,522] malignolipina (Kosaki),[347,348] que es un extracto de tejidos cancerosos que contiene espermina, colina, ácidos fosfóricos y ácidos grasos, y kanalipina (Ishikawa),[306] lipoglucopéptido separado de las membranas de las células cancerosas. Tillack y col.[655] aislaron de las membranas celulares de células cancerosas de pulmón una glucoproteína tumoroasociada que se halla inmunológicamente emparentada con el antígeno carcinoembrionario (CEA). Se dice que una fracción glucoproteica purificada por Wolf[718] a partir de derrames pleurales por carcinoma pulmonar empleando técnicas de intercambio iónico, cromatografía de afinidad e inmunoabsorción, está combinada con N-acetil-D-glucosamina. Algunos fenómenos convincentes sugieren la presencia de una antigenicidad distintiva para el cáncer en las membranas limitantes.[82, 279, 422, 687] Por ejemplo, la gran carga negativa de la superficie celular, debida quizás a los radicales fosfóricos,[14] se demostró mediante electroforesis rápida de células cancerosas.[13, 15] Cormack[118] demostró algunas diferencias en la actividad enzimática de las membranas celulares entre células tumorales y células normales. Las propiedades superficiales distintas obedecerían a la pérdida de la inhibición de contacto[3, 4] en los cultivos de células cancerosas.

Estos hechos sugieren que en las células cancerosas existe alguna desviación molecular en la membrana limitante plasmática. Se sabe que los límites entre el citoplasma y las mitocondrias son unas membranas dobles constituidas por moléculas de lípidos y proteínas.

La fracción mitocondrial soluble en desoxicolato de sodio (DOC) separada de tejidos cancerosos frescos, se aplicó al antígeno en la técnica inmunofluorescente. Sodani obtuvo resultados eficaces con el uso del antígeno separado de cánceres gástricos humanos para hacer el citodiagnóstico práctico de cáncer de estómago. Takahashi (1968)[635] demostró, además, que los antisueros preparados con adenocarcinoma gástrico también son útiles para diagnosticar cánceres de otros órganos, en particular los cánceres de tipo histológico similar.

Con el método de la doble difusión en gel de agar se confirmó que el suero anticarcinoma gástrico y el anticarcinoma pulmonar despliegan la misma banda de precipitación frente a la fracción mitocondrial del carcinoma de estómago soluble en DOC. Mediante inmunoelectroforesis con "antisuero de conejo contra suero humano" se comprobó que los constituyentes del antígeno son las fracciones albúmina, gammaglobulina y lipoproteína. Se considera que el antígeno más distintivo es la fracción lipoproteica que quedó tras la absorción del suero anticarcinoma gástrico con polvo de tejido gástrico y acetona.

2. Aislamiento de componentes celulares

Los tejidos cancerosos frescos se cortan en rodajas pequeñas y se los homogeniza en nueve veces su volumen de solución de sacarosa 0,25 M en un mortero de Teflon a motor. En la primera centrifugación de 10 minutos a 700 G los núcleos y las células intactas sedimentan respecto de los componentes del citoplasma. En la segunda centrifugación de 10 minutos a 5000 G sedimenta la fracción mitocondrial, que se puede purificar redispersando en solución de sacarosa 0,25 M y volviendo a centrifugar. La fracción microsómica se obtiene con una última centrifugación de 60 minutos a 54.000 G.

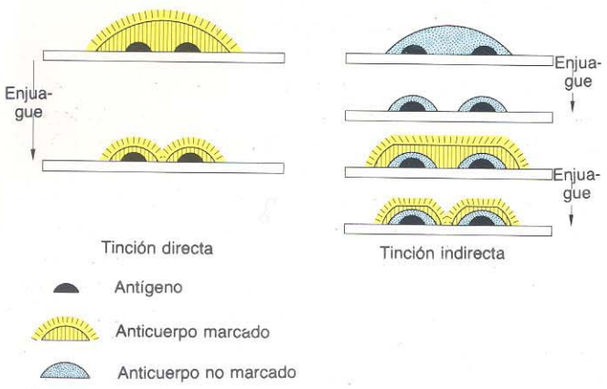


Fig. 155. Principio de la tinción directa e indirecta en la técnica de anticuerpos inmunofluorescentes.

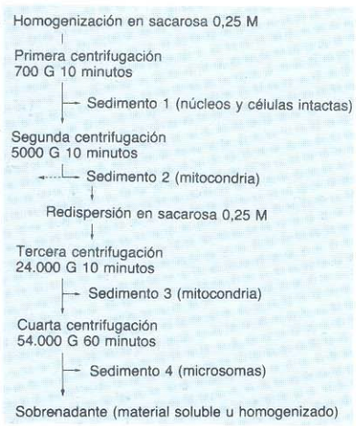


Fig. 156. Aislamiento de componentes celulares.

3. Preparación del antisuero

A la fracción mitocondrial se le agregó desoxicolato de sodio (0,2 %) para ajustar la concentración proteica final al 0,5 % (50 mg/10 ml). Después de tenerla en reposo en el refrigerador dos horas, la fracción soluble en DOC se separó centrifugando 120 minutos a 105.000 G. Esta fracción, que tenía unos 50 mg de proteína, se emulsificó con igual volumen de adyuvante completo de Freund, que es una mezcla de 9 partes de Bayol F, una parte de emulsificador Arlacel A y *Mycobacterium butyricum* muertos (5 mg/ml). La emulsión de antígeno se inoculó en el músculo de un conejo macho adulto una vez por semana durante 3 semanas. Después de períodos de reposo de 2 y 3 semanas, se inyectaron 40 mg de antígeno por vez por vía intramuscular sin el adyuvante de Freund, para obtener buenos títulos de antisuero. El conejo se desangró a los 10 días de la última inoculación.

Fraccionamiento de antisuero (Coons[114]):

1. Dilúyase el antisuero con igual cantidad de solución fisiológica.
2. Agréguese poco a poco igual cantidad de solución de sulfato de amonio saturada fría (4° C) al antisuero diluido de arriba, y revuélvase. Sígase revolviendo a 4° C media hora o más, para que la glubolina precipitada flocule.
3. Centrifúguese la suspensión a 4° C en una centrífuga refrigerada (1000 G 30 minutos).
4. Descártese el sobrenadante, resuspéndase y lávese el precipitado en un volumen medido de solución fisiológica a 4° C. Agréguese el mismo volumen de solución fría de sulfato de amonio a media saturación. Recentrifúguese de la manera que se describe en el paso 3.
5. Dialícese la globulina resuspendida a 4° C contra una solución salina preenfriada regulada con fosfato a pH 7,5, cambiando con frecuencia la solución dializante.

4. Conjugación

Los marcadores más comunes son los derivados de la fluoresceína, isocianato de fluoresceína (ICF)[116] e isotiocianato de fluoresceína (ITCF).[538] El pico de la intensidad de la fluorescencia del ITCF se puede medir a la longitud de onda de 500 nm empleando el espectro de fluorescencia.

1. Ajústese la concentración proteica al 1 o 2 % (10-20 mg/ml) diluyendo con solución de cloruro de sodio al 0,85 % o dializando con soluciones de peso molecular más alto (polietilenglicol, p.m. 4000 o más).
2. Agréguese buffer de carbonato, 10 % en volumen, ajustado a pH 9,1 para la solución proteica enfriada.
3. Disuélvase el ITCF en la solución proteica regulada, una parte en 50 a 100 partes de proteína.
4. La mezcla se coloca en un frasco de Erlenmeyer de 50 ml y se agita con un agitador magnético 10 horas en el refrigerador (4° C).

Purificación de los conjugados:

1. El colorante que no ha reaccionado se elimina con tamices moleculares de Sephadex G 50 o G 25.[508] Tras haber apisonado la columna con gel de

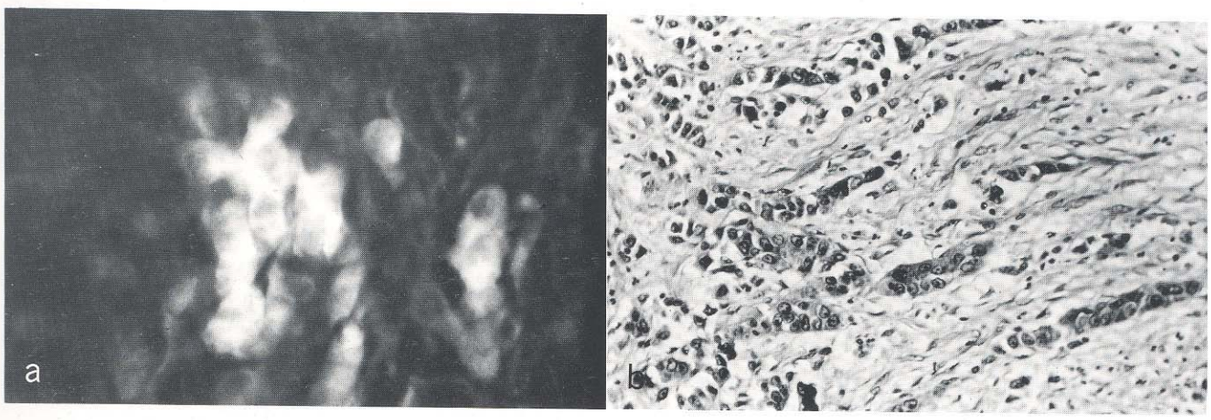


Fig. 157. Carcinoma escirroso de estómago. *a*, Observación con la técnica de los anticuerpos inmunofluorescentes. Las células cancerosas que infiltran el denso estroma fibroso son francamente fluorescentes. *b*, Preparado histológico teñido con HE que muestra infiltración difusa de células cancerosas y considerable desmoplasia.

Sephadex, cárguese la mezcla de fluoresceína y proteína en la columna con una pipeta, e iníciese la elución empleando solución buffer de fosfato 0,01 M (pH 7,2).

2. Con posterioridad el conjugado se debe liberar de los componentes tingibles inespecíficos filtrando en una columna de celulosa DEAE, activada de antemano con NaOH 1N (500 ml) y bien lavada con agua destilada, y después con buffer de fosfato 0,05 M (pH 8,4). Ajústese el pH del conjugado (pH 7,2) a 8,4 mediante diálisis, antes de procesar con cromatografía en columna de celulosa DEAE. Como primer paso, se hace una elución del conjugado a través de la columna de celulosa DEAE con 100 a 200 ml del buffer inicial (pH 8,4). En esta elución se puede eliminar el colorante que no ha reaccionado y la proteína libre. Cuando está casi eluido el buffer inicial, se emplea buffer de fosfato 0,05 M ajustado a pH 6,4 y se recoge la primera fracción en el colector de fracciones. Como el conjugado se diluye mediante purificación cromatográfica, se debe hacer la concentración con polietilenglicol hasta que llega a haber 4-5 mg/ml de proteína. Después se dializa con el buffer de tinción (solución salina regulada con fosfato a pH 7,2) durante 24 horas.

3. La absorción del conjugado con polvos de tejido también es un método importante para colorear extendidos o cortes. Aunque es preferible hacer la absorción con un tejido normal homólogo al de la muestra que se ha de teñir, por lo común se usa polvo de hígado de ratón para absorber las sustancias marcadas inespecíficas. En nuestro experimento hicimos la absorción con mucosa gástrica normal. El polvo de tejido se prepara así: a) homogenícense 50 a 100 g de tejido fresco con igual volumen de solución de cloruro de sodio 0,15 M, b) agréguense 4 volúmenes de acetona preenfriada al homogenizado, c) agítese 10 minutos a 4° C, d) centrifúguese 10 minutos a 1200 G y descártese el sobrenadante, e) lávese el precipitado con solución fisiológica y repítase la centrifugación hasta que el sobrenadante se aclara, f) repítanse los pasos b, c y d, g) séquese el precipitado con 4 volúmenes de acetona. El polvo de tejido se guarda en la heladera a 4° C.

Para la absorción, se agregan 10 mg de polvo de tejido a 1 ml de solución de conjugado purificado. La suspensión se agita 60 minutos y se centrifuga 30 minutos a 2000 rpm (4° C). El sobrenadante esta listo para colorear.

5. Procedimiento de tinción

La fijación se debe hacer lo antes posible después de haber secado los extendidos con acetona enfriada o alcohol etílico enfriado.

Tinción directa:

1. Enjuáguese con buffer colorante frío y séquese con un paño el portaobjeto, excepto el área que se ha de teñir. El buffer colorante (pH 7,2) se prepara de la siguiente manera:

Disuélvanse 4,5 g de $PO_4NaH_2.2H_2O$, 32,27 g de $PO_4Na_2H.12H_2O$ y 80 g de ClNa en 3000 ml de agua destilada, y llévese exactamente a 10.000 ml con agua destilada.

2. Depositense en el área a teñir unas pocas gotas de solución de un anticuerpo específico marcado con fluoresceína. Después déjese el portaobjeto en un ambiente húmedo más o menos una hora.

3. Enjuáguese el portaobjeto en la solución de buffer colorante.

4. Móntese en solución salina regulada con glicerina al 10 %.

Hágase la microscopia de fluorescencia.

Tinción indirecta (Weller y Coons[698]):

1. Enjuáguese bien con buffer colorante frío y límpiese con un paño el portaobjeto, salvo el área que se ha de teñir.

2. Pipetéense sobre el antígeno unas pocas gotas de antisuero sin marcar diluido e incúbese por unos 30 a 60 minutos.

3. Lávese lo suficiente el buffer colorante frío y séquese con un paño el portaobjeto, excepto el área del extendido.

4. Agréguense unas pocas gotas de antiglobulina fluorescente correspondiente a la especie de animal que proveyó el suero no marcado. Incúbese 30 a 60 minutos.

5. Lo mismo que los pasos 3 y 4 descriptos para la tinción directa.

El método directo es relativamente insensible, pero su reacción tintorial es muy específica y requiere un mínimo de reacciones de control porque sólo se emplea un solo reactivo tintorial.

El método indirecto posee una sensibilidad mucho mayor porque la capa intermedia de anticuerpo no marcado multiplica la cantidad de sitios a los cuales se fijan los anticuerpos marcados con la fluoresceína. La capa intermedia hace las veces de antígeno para la segunda capa de anticuerpos antigammaglobulina marcados con fluorescencia.

6. Alfafetoproteína y hepatoma

La seroproteína alfa$_1$ fetoespecífica (fetuina,[494] sustancia X,[50] fetoglobulina α_1), que existe en el suero del feto humano, empieza a desaparecer después de la vigésima semana de la vida fetal y se torna indetectable una a dos semanas después de nacer.[213, 398] Se confirma que la globulina específica del feto pertenece a la fracción α_1 mediante electroforesis, así como con inmunoelectroforesis. Abelev describió la síntesis de una seroglobulina α embrionaria por el hepatoma trasplantable del ratón. En años recientes aparecieron muchas comunicaciones sobre la inmunoprecipitación específica del suero del adulto por el hepatoma primario, tratando con antisuero de conejo o de caballo contra la fetoproteína.[1, 11, 397, 519] Alpert y col.[11] describieron los resultados de una gran encuesta inmunoserológica de pacientes con hepatoma primario, carcinoma secundario de hígado, cirrosis hepática, hepatitis viral, absceso hepático, etc. Para examinar la inmunoprecipitación con la técnica de difusión en doble gel de Ouchterlony, se utilizó el antisuero de conejo monoespecífico contra una fetoproteína humana. El 50 % de 40 casos con hepatomas histológicamente confirmados dieron precipitación positiva. En sus estudios hubo un solo resultado positivo falso sobre 29 casos de cirrosis hepática y también uno en 24 casos de hepatitis. La síntesis de globulina específica inmunológicamente idéntica a la fetoglobulina α_1 por células hepatomatosas, se explicaría como una reversión antigénica del tejido hepatomatoso. El concepto de la reversión antigénica se corroboraría por el hecho de que se detectó la ocurrencia de alfafetoproteína, aunque todavía en muy pocos casos,[2, 290] en algunos pacientes con carcinoma embrionario de testículo y ovario.

Nosotros intentamos aplicar esta especificidad inmunológica a la citología con la técnica de los anticuerpos fluorescentes.[638,641] El diagnóstico de hepatoma es casi terminante si hay células cancerosas con especificidad positiva para la inmunofluorescencia, pero es necesario tener en cuenta los resultados histoquímicos que indican que no todas las células hepatomatosas producen alfafetoproteína, ni siquiera en el enfermo de hepatoma que exhibe niveles séricos de alfafetoproteína mayores de los límites normales.

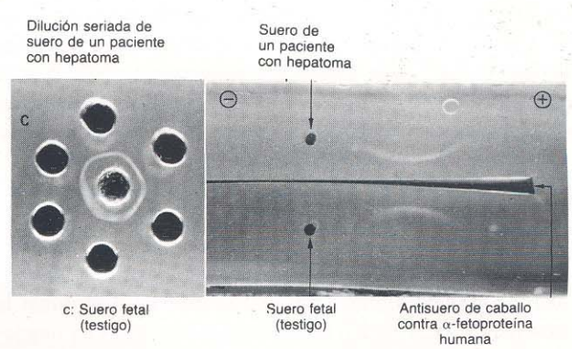


Fig. 158. Electroforesis del suero de un adulto con hepatoma.



Fig. 159. Células hepatomatosas que producen alfafetoproteína, demostradas con la técnica de los anticuerpos inmunofluorescentes. Aunque en esta fotografía aparece una infiltración masiva de células cancerosas, se localizan nidos cancerosos específicos para alfafetoproteína. Las células pequeñas de tinte pardusco son aglomeraciones de eritrocitos.

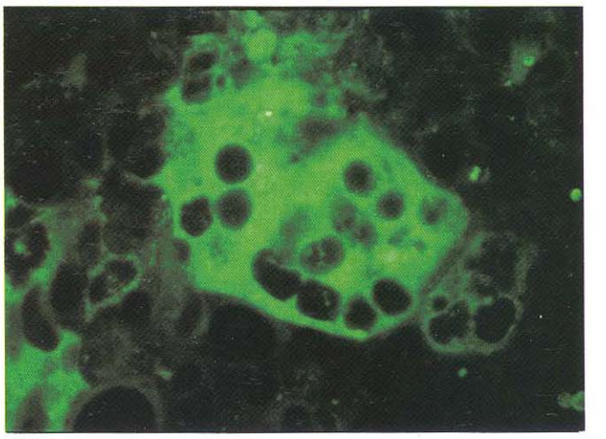


Fig. 160. Células de un coriocarcinoma pulmonar primario que elaboran hCG. La fluorescencia específica se observa en células tumorales de sincitiotrofoblasto.

Procedimiento. El antisuero empleado para la conjugación con ITCF fue el antisuero de caballo contra la alfafetoproteína humana producido por la Green Cross Corporation, Osaka, Japón. La conjugación se hizo con el método inmunológico ordinario que se describió arriba. La solución colorante se diluyó a su concentración proteica de 3-5 γ/ml antes de hacer la microscopia fluorescente. Los extendidos preparados con sedimentos ascíticos y obtenidos directamente del tejido hepatomatoso fueron fijados sin pérdida de tiempo con acetona fría.

Resultados. El caso de hepatoma reveló una fluorescencia verde amarillenta de las células malignas en los extendidos y cortes histológicos, cuya especificidad se pudo probar con la prueba del bloque. Aunque se requieren estudios adicionales sobre la sensibilidad y especificidad de la técnica inmunofluorescente para las células hepatomatosas, la detección de estas células en la ascitis y su diferenciación respecto de las otras células malignas revisten importancia clínica.

7. Cánceres que producen hormonas ectópicas

La técnica de los anticuerpos inmunofluorescentes se aplica para identificar la neoplasia que produce hormonas ectópicas. Hace poco se verificó que neoplasias originadas en tejido no endocrino causan síndromes humorales ectópicos por producción de hormonas convencionales de diversos tipos; se poseen pruebas relacionadas con la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), hormona melanocitoestimulante (MSH), hormona paratiroidea (PTH), hormona luteinizante (LH), hormona foliculoestimulante (FSH), hormona antidiurética (ADH), gonadotrofina coriónica humana (hCG), etc. Como un buen ejemplo, se mencionó síndrome por gonadotrofina ectópica en casos de carcinoma hepatocelular[400] y de carcinoma pulmonar.[42, 120] Se postula que la propiedad del tumor para producir hCG se debe a la diferenciación trofoblástica de la neoplasia. Según la comunicación de Hayakawa y Takahashi[265] sobre el carcinoma de pulmón productor de hCG, esta producción se limita a áreas focales del tumor, en particular en los trofoblastos diferenciados (fig. 160) donde se observa la inmunofluorescencia específica. En consecuencia, la sensible técnica de los anticuerpos inmunofluorescentes es valiosa para determinar la presencia y localización de las células tumorales en funcionamiento activo.

8. Antígeno carcinoembrionario (ACE)

El antígeno carcinoembrionario constituido por un complejo de proteína y polisacárido, sería específico del carcinoma colorrectal, según Gold y col.[219, 220] También se mencionaron relaciones significativas entre los niveles séricos de ACE y la extensión del carcinoma colónico, el grado de diferenciación histológica y la respuesta a los quimioterápicos.[384] Desde que se desarrolló una técnica de radioinmunoensayo sensible, en investigaciones ulteriores se comprobó que el ACE no es específico para el carcinoma de colon porque se detectó un ACE sérico mayor de 2,5 ng/ml en el 79 % de 57 pacientes con carcinoma del tracto digestivo extracolónico, en el 56 % de 98 pacientes con carcinoma fuera del tracto digestivo y en el 12 % de los pacientes del grupo testigo.[377] Van Nagell y col.[675] confirmaron esto en neoplasias malignas ginecológicas, pues obtuvieron niveles de este antígeno mayores de 2,5 ng/ml en el 81 % de las pacientes con carcinoma del tracto genital femenino y en el 18 % de las testigos con enfermedades benignas.

Addendum: Se informó que una ferroproteína, la globulina H, que ocurre en el suero fetal, se detecta en niños y en adultos que tienen neoplasias malignas.[80, 154]

9. Plasmocitos neoplásicos y proteínas M

Las discrasias plasmocitarias son diversos trastornos de proliferación neoplásica de células plasmocitoides, que afectan en forma sistémica a los tejidos linforreticulares. La producción concomitante de inmunoglobulinas monoclonales o sus constituyentes (cadenas livianas o pesadas) es objeto de investigaciones con métodos inmunoserológicos o inmunocitológicos (fig. 161). Con el método de anticuerpos inmunofluorescentes se determina qué células tumorales producen inmunoglobulinas monoclonales con una cadena liviana respectiva en el mieloma múltiple, una cadena liviana monoclonal en la enfermedad de cadena liviana, macroglobulina IgM en la macroglobulinemia de Waldenström y

cadena gamma o cadena alfa en la enfermedad de cadena pesada, etc.

El mieloma múltiple, que es la más común de las discrasias plasmocitarias, no sólo afecta a la médula ósea en diversas localizaciones, sino también al tracto gastrointestinal, ganglios linfáticos, bazo y oronasofaringe. Inmunoserológicamente el mieloma múltiple se asocia con hiperglobulinemia con espigas monoclonales, aparición de bandas onduladas características de proteína M en electroforesis sobre acetato de celulosa y una viscosidad aumentada del suero que a menudo produce formación de pilas de monedas de los eritrocitos. La inmunoelectroforesis con diversos antisueros permite determinar el tipo de mieloma ensayando el suero (fig. 164).

Citología del mieloma múltiple. La enfermedad sistémica del mieloma múltiple se caracteriza por el predominio de plasmocitos atípicos que elaboran más del 20 % de proteína monoclonal M en los extendidos de la médula ósea. Mientras que las cadenas livianas –kappa o lambda– son antigenéticamente idénticas en todas las inmunoglobulinas, las cadenas pesadas (γ en la IgG, α en la IgA, μ en la IgM y δ en la IgD) se caracterizan por su especificidad antigénica. En consecuencia, la técnica de la inmunofluorescencia con antisuero específico para la cadena pesada, hace el diagnóstico de gammopatía monoclonal. La frecuencia de los diversos tipos de mieloma múltiple es la siguiente: IgG, 60 %; IgA, 20 %; Bence Jones (enfermedad de cadena liviana), 10 %, y los tipos IgD, IgM e IgE son raros.[333]

10. Inmunofluorescencia cromosómica

En bandeado de cromosomas se emplearon con buen éxito antisueros antinucléosidos específicos. Existen antisueros monovalentes como antiadenosina, anticitidina, antitimidina y antiguanosina. De acuerdo con el estudio de Miller y col.,[417] con el antisuero de conejo antiadenosina, empleando un método indirecto con antisuero anticonejo de ovino, se demostraron más rasgos de bandeado distintivos que con los otros antisueros. La imagen fue similar a la de un bandeado Q porque este último tiñe intensamente la región de los cromosomas rica en A-T, que se manifiesta con mayor nitidez que la región G-C. Como estos sueros antinucleósidos no reaccionan frente al DNA nativo, los preparados cromosómicos deben desnaturalizarse antes de colorearlos. Miller y col. describieron una exposición de 30 minutos a 65° C con una solución de formamida en SSC consistente en cloruro de sodio 0,15 M y citrato trisódico 0,015 M; conviene usar formaldehído al 0,25 % para que el DNA no se desnaturalice.

Cuadro 36. Población de células mielomatosas en aspirados de médula ósea examinados con la técnica de anticuerpos inmunofluorescentes

Antisuero fluorescente	*F/P*	*Caso 1 A.M. (F) 56 años Mieloma IgA kappa Células mielomatosas 25%*				*Caso 2 S.G. (F) 65 años Mieloma Bence Jones lambda Células mielomatosas 18%*				*Caso 3 K.G. (M) 50 años Mieloma IgG kappa Células mielomatosas 12%*			
		Fluorescencia celular			*Fluorescencia plasmática*	*Fluorescencia celular*			*Fluorescencia plasmática*	*Fluorescencia celular*			*Fluorescencia plasmática*
		–	+	++		–	+	++		–	+	++	
Gamma	1,7	56 (93%)	1 (2%)	3 (5%)	–	5 (50%)	3 (30%)	2 (20%)	–	2 (7%)	3 (11%)	22 (82%)	+
Alfa	2,0	7 (5%)	12 (9%)	114 (86%)	+	8 (80%)	2 (20%)	0	–				
Mu	0,9	9 (90%)	1 (10%)	0	–	3 (60%)	2 (40%)	0	–	10 (91%)	1 (9%)	0	–
Kappa	1,7	8 (15%)	10 (19%)	35 (66%)	+	12 (60%)	6 (30%)	2 (10%)	–	6 (20%)	8 (27%)	16 (53%)	+
Lambda	2,2	8 (50%)	6 (38%)	2 (12%)	–	6 (22%)	5 (19%)	16 (59%)	+	7 (70%)	3 (30%)	0	–

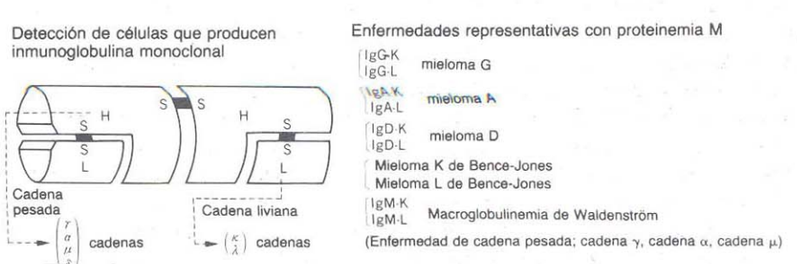


Fig. 161. Molécula de inmunoglobulina (IgG). (Modificado de Fougereau, M., y Edelman, G. M.: J. Exp. Med. *121*: 388, 1965.)

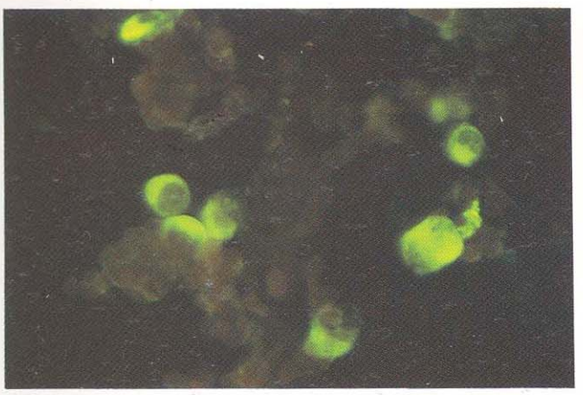


Fig. 162. Extendido de médula ósea de un mieloma de IgA coloreado con antisuero de cabra anti IgA marcado con ITCF. El predominio de células mielomatosas productoras de IgA (específicas para la cadena alfa) se demuestra con la técnica de los anticuerpos fluorescentes.

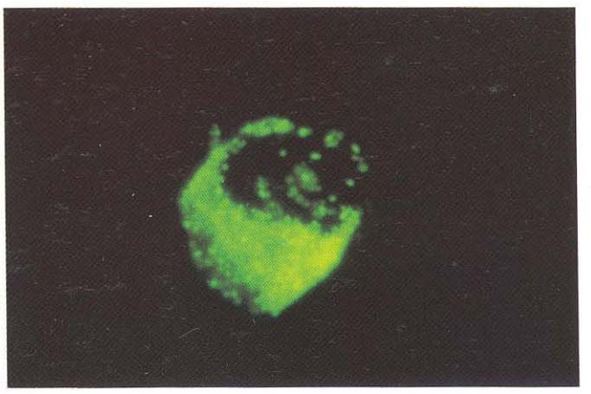


Fig. 163. Célula mielomatosa de IgA vista con mayor aumento. El gran núcleo excéntrico está desprovisto de inmunofluorescencia.

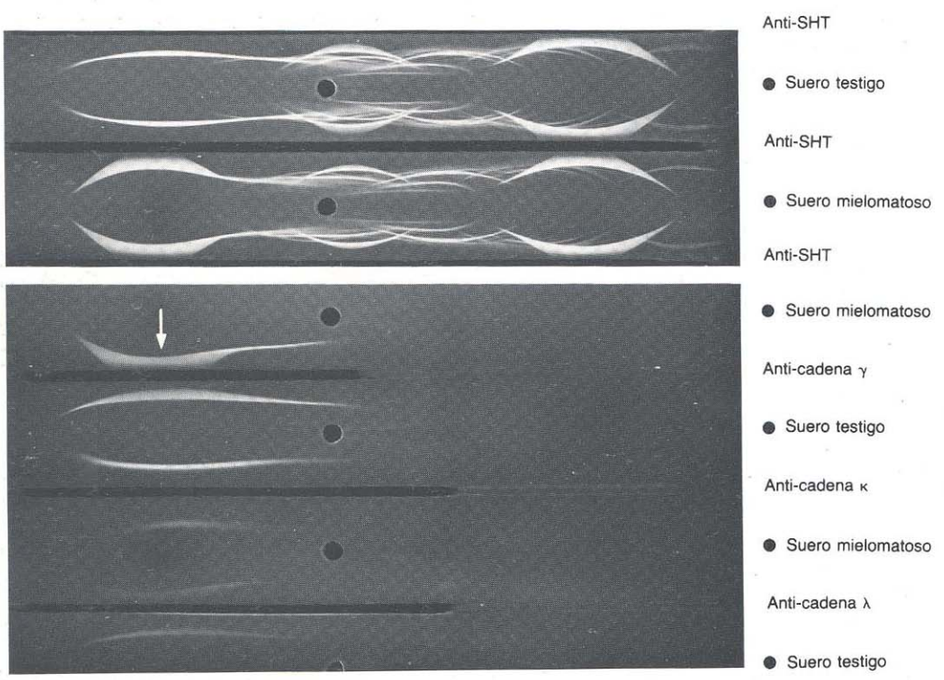


Fig. 164. Determinación inmunoelectroforética del tipo de gammopatía monoclonal en un caso de mieloma IgG. Nótese el arco M anormalmente ancho, demostrado con antisuero contra la cadena γ (*flecha*). SHT, suero humano total. (Gentileza del doctor Ohtani, H., Escuela de Medicina de la Universidad Kitasato, Sagamihara, Japón.)

16 Microscopia de contraste de interferencia diferencial

La microscopia de contraste de fase permite acentuar un contraste y visualizar una estructura que tiene un índice de refracción similar al de su ambiente. Por ejemplo, un cilindro hialino de la orina que difícilmente se identificaría a la microscopia óptica porque su refringencia es muy similar a la de la orina, se ve en la microscopia de contraste de fase. Stoll[624] señaló su utilidad para "diagnósticos rápidos en el consultorio", pero el contraste acentuado puede producir imágenes exageradas en caso de existir interferencia aditiva o destructiva, y los halos pueden conducir a configuraciones falsas.

La microscopia de interferencia diferencial es útil para hacer la observación rápida de células no fijadas con una imagen en relieve muy nítida y buen contraste de diferencia de coloración. En la microscopia óptica ordinaria las células fijadas aparecen bidimensionales y en la de interferencia puede haber una figura tridimensional.[248,249]

Además, determinando el peso seco de las células se puede diferenciar entre células benignas y malignas; los núcleos de las células cancerosas tienen un peso seco más grande que los de las células normales.[560] Las células fijas también se pueden examinar si se emplea un medio apropiado cuyo índice de refracción no sea similar al del tejido.*

* Índice de refracción: tejido, 1,54; agua, 1,33; bálsamo, 1,53; glicerina, 1,46; suero sanguíneo, 1,35; yoduro de metilo, 1,76; monobromonaftaleno, 1,66.

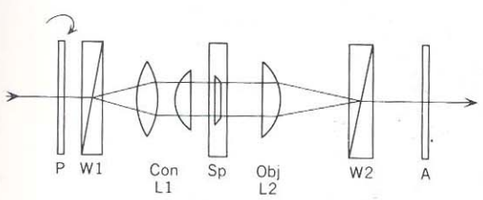


Fig. 165. Principio de la microscopia de interferencia tipo Nomarski. *P*, polarizador; *W*, prisma de Wollaston; *A*, analizador; *Con*, condensador; *Obj*, objetivo; *Sp*, muestra.

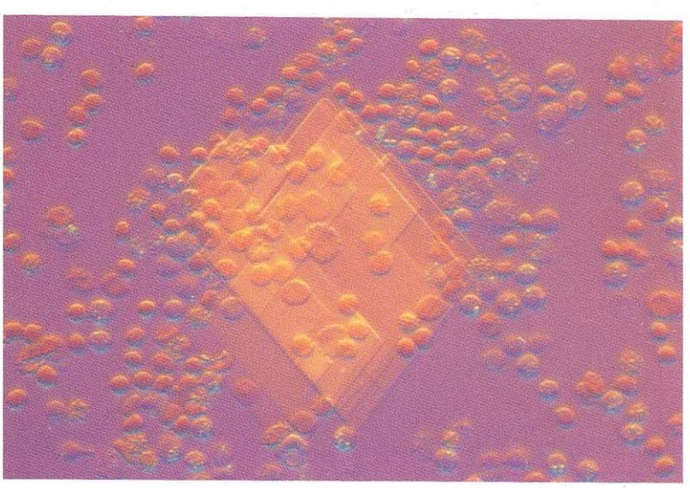


Fig. 166. Cristales de colesterol en aspirados de líquido peritoneal. Nótense las aglomeraciones de finos cristales a modo de placas (× 165).

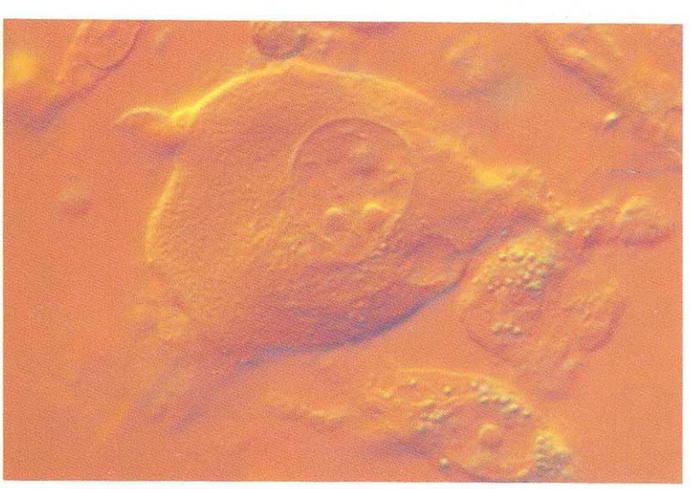


Fig. 167. Célula de un cáncer epidermoide de pulmón. El citoplasma voluminoso y muy engrosado, pero de superficie plana, es característico del carcinoma epidermoide diferenciado (× 250).

El principio de esta microscopia es incorporar un par de prismas birrefrigentes de cristal para que desplieguen el haz y produzcan un corte entre dos haces que se intersectan, dentro del límite de resolución del objetivo del microscopio. La luz polarizada lineal que entra en el prisma de Wollaston se divide en dos rayos que corren paralelamente después de salir del condensador; la separación de los rayos está en el límite de resolución que describimos arriba. Después de la iluminación, los rayos que han pasado a través del objeto observado se recombinan en el plano de localización marginal del segundo prisma de Wollaston en el lado del objetivo. Detrás de éste, para observar los márgenes de interferencia, se coloca un analizador "en posición de un filtro cruzado" respecto a la dirección de transmisión del polarizador.

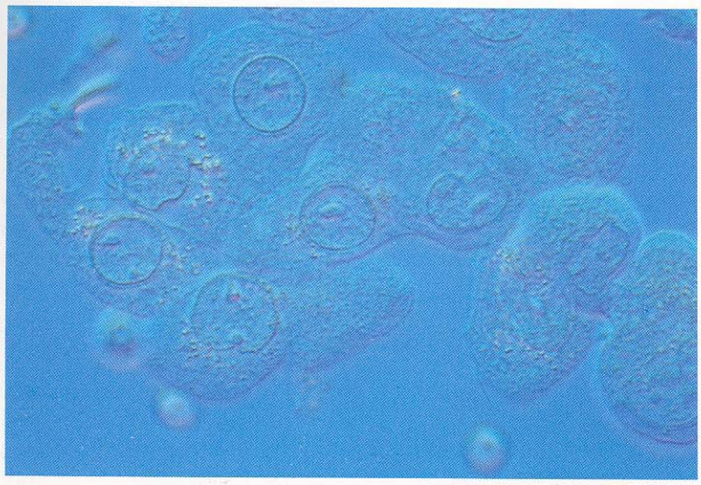


Fig. 168. Células aglomeradas de un adenocarcinoma de pulmón. La superficie celular finamente granular, con gránulos refringentes en torno de los núcleos, es más distintiva en el adenocarcinoma que en el carcinoma espinocelular. Nótense los nucléolos prominentes y los contornos nucleares lisos (× 250).



Fig. 169. Cáncer gigantocelular de pulmón que elabora hCG. Nótense los grandes núcleos redondos dobles de nucléolos prominentes y el citoplasma plano cargado de abundantes gránulos refringentes (× 250).

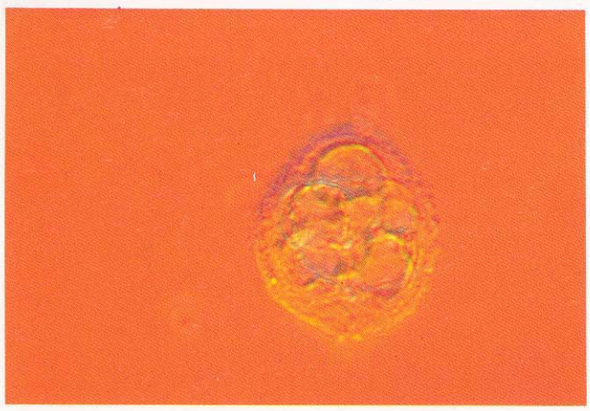


Fig. 170. Célula epitelial multinucleada de una vesícula varicelósica. La microscopia diferencial revela marginación característica de núcleos múltiples (× 165).

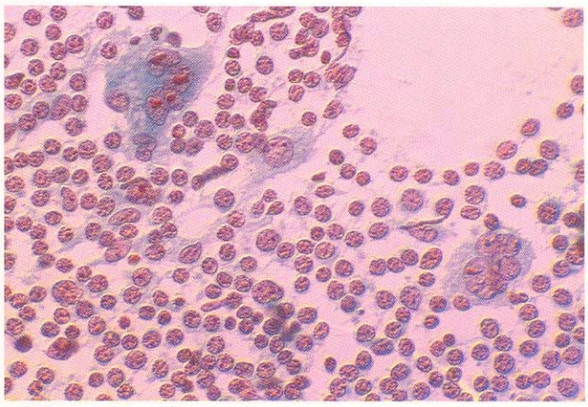


Fig. 171. Célula multinucleada de Reed-Sternberg coloreada con Papanicolaou y examinada con microscopia de interferencia diferencial. De una enfermedad de Hodgkin a predominio linfocitario. Los detalles nucleares se demuestran en tres dimensiones (× 165).

17

Cromosomas humanos

1. Identificación de cromosomas

En un principio se pensó que la cantidad de cromosomas humanos era 48 (de Winiwarter,[144] Painter[473, 474]), hasta que Tjio y Levan (1956)[658] establecieron que el número correcto es 46 en las mitosis de cultivos de tejidos, valiéndose del tratamiento con colchicina y solución hipotónica.

Las células somáticas normales de los varones tienen 22 pares de autosomas homólogos y los cromosomas sexuales X e Y (heterosomas) (fig. 173). Las mujeres tienen dos cromosomas X, además de los 22 pares de autosomas (fig. 174).

Los cromosomas que se ven en la metafase consisten en dos cromátides longitudinales unidas en un punto pálido llamado centrómera. Cada cromátide consiste en un cordón espiral, firmemente arrollado, de ácido desoxirribonucleico (ADN), histona y una proteína incompleta (fig. 172). Este cordón de desoxirribonucleoproteína (DNP) se llama cromonema. Cada cromátide es dividida en dos brazos por la centrómera (constricción primaria). La tinción de la cromátide no es uniforme en su longitud, porque existen dos partes, una región eucromática que se tiñe con uniformidad y una región heterocromática condensada. En ocasiones hay otra constricción, además de la centrómera verdadera, que se denomina constricción secundaria. Muchas veces el cromosoma acrocéntrico presenta la inserción de un botón heteropicnótico en el extremo del brazo corto. Cada par de autosomas son idénticos, con excepción de los cromosomas sexuales.

Los autosomas se clasifican de acuerdo con su tamaño y su forma, pero, como la longitud de los autosomas difiere según la preparación, como se aprecia por el considerable acortamiento de los cromosomas por la colchinización, se suelen emplear mediciones relativas.

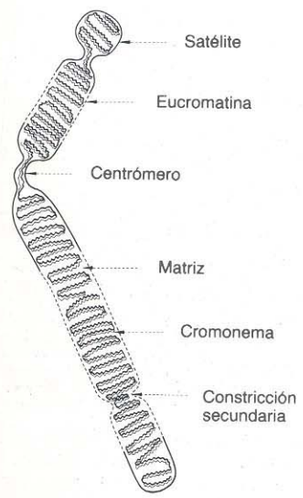


Fig. 172. Esquema de una cromátide.

La identificación de los cromosomas se estandarizó en la Conferencia de Denver (1960).[140] Los criterios fundamentales para identificarlos se basan en el largo relativo del cromosoma, en la relación entre el brazo largo y el corto, y en el índice centromérico.

1. La longitud relativa de los cromosomas se mide con la fórmula: [largo de cada autosoma/largo total (22A + X)] × 1000*
2. Relación de los brazos: brazo largo/brazo corto

* De acuerdo con el Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (1978), el largo relativo se expresa como porcentaje del largo total de un juego haploide normal, es decir, la suma de las longitudes de los 22 autosomas y del cromosoma X.

Cada cromosoma se puede dividir en dos brazos por la centrómera y su relación de los brazos es constante. Los

Cuadro 37. Cromosomas humanos (valores medios de las dimensiones de los brazos)

Grupo	*N°*	*Brazo largo*	*Brazo corto*	*Relación de los brazos*
A	1	4,72	4,36	1,08
	2	5,15	3,30	1,56
	3	3,82	3,24	1,18
B	4	4,74	1,81	2,62
	5	4,45	1,68	2,65
C	6	3,64	2,20	1,65
	7	3,31	1,97	1,68
	8	3,18	1,78	1,79
	9	3,22	1,61	2,00
	10	3,22	1,46	2,21
	11	2,98	1,65	1,81
	12	3,08	1,38	2,23
D	13	3,10	0,54	5,74
	14	3,00	0,55	5,45
	15	2,86	0,50	5,72
E	16	1,92	1,31	1,47
	17	2,16	0,99	2,18
	18	2,04	0,72	2,83
F	19	1,14	1,08	1,33
	20	1,29	1,04	1,24
G	21	1,36	0,47	2,89
	22	1,26	0,42	3,00
	Total	65,94	34,06	
	X	3,66	2,14	1,71
	Y	1,64	0,32	5,13

(Informe combinado de las conferencias de Denver [1960] y Londres [1963])

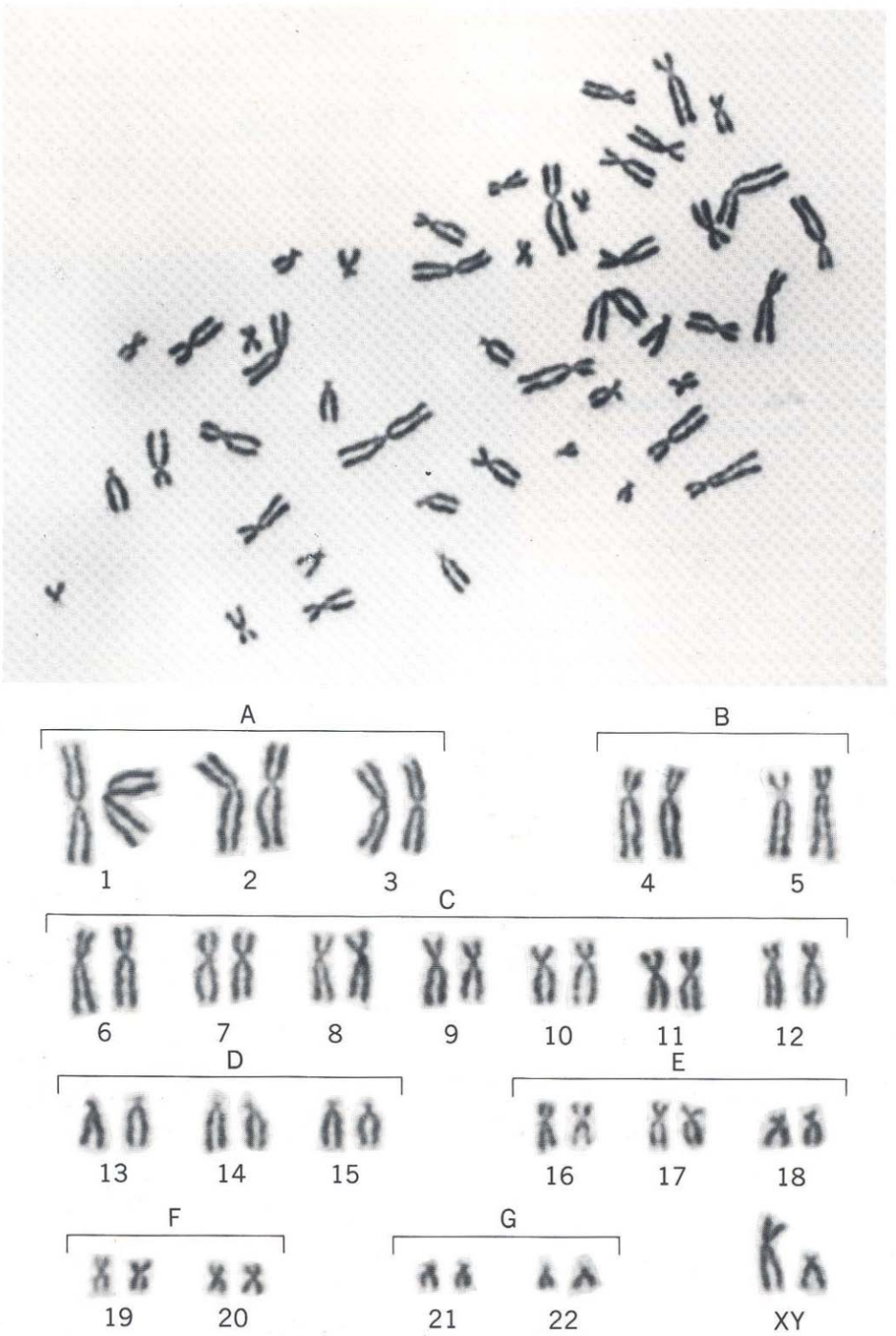


Fig. 173. Cariotipo normal de un varón, con sus cromosomas XY.

valores medios de la relación de los brazos se consignan en el cuadro 37.

3. El índice centromérico es un método para representar la posición de la centrómera con la fórmula:

$$\frac{\text{brazo corto}}{\text{longitud de cada cromosoma}}$$

Otros criterios adoptados para hacer la identificación son la presencia de satélites y constricciones secundarias,[553, 564] y autorradiografía. La trama de marcación de los cromosomas por incorporación de timidina tritiada indica el tipo específico de cromosoma (Patau[486, 488]).

Los 22 pares de autosomas se clasifican en siete grupos:

Grupo A. Comprende los pares 1 a 3, que son los más grandes de todos los cromosomas. Sus centrómeras son medianas. El cromosoma 1 es el más grande de este grupo y tiene una centrómera metacéntrica. En ocasiones la constricción secundaria se ve en el brazo largo, más o menos a un tercio de la distancia desde la centrómera. El cromosoma 2 tiene una centrómera un tanto excéntrica. El cromosoma 3 es el más corto de este grupo y presenta una centrómera casi metacéntrica.

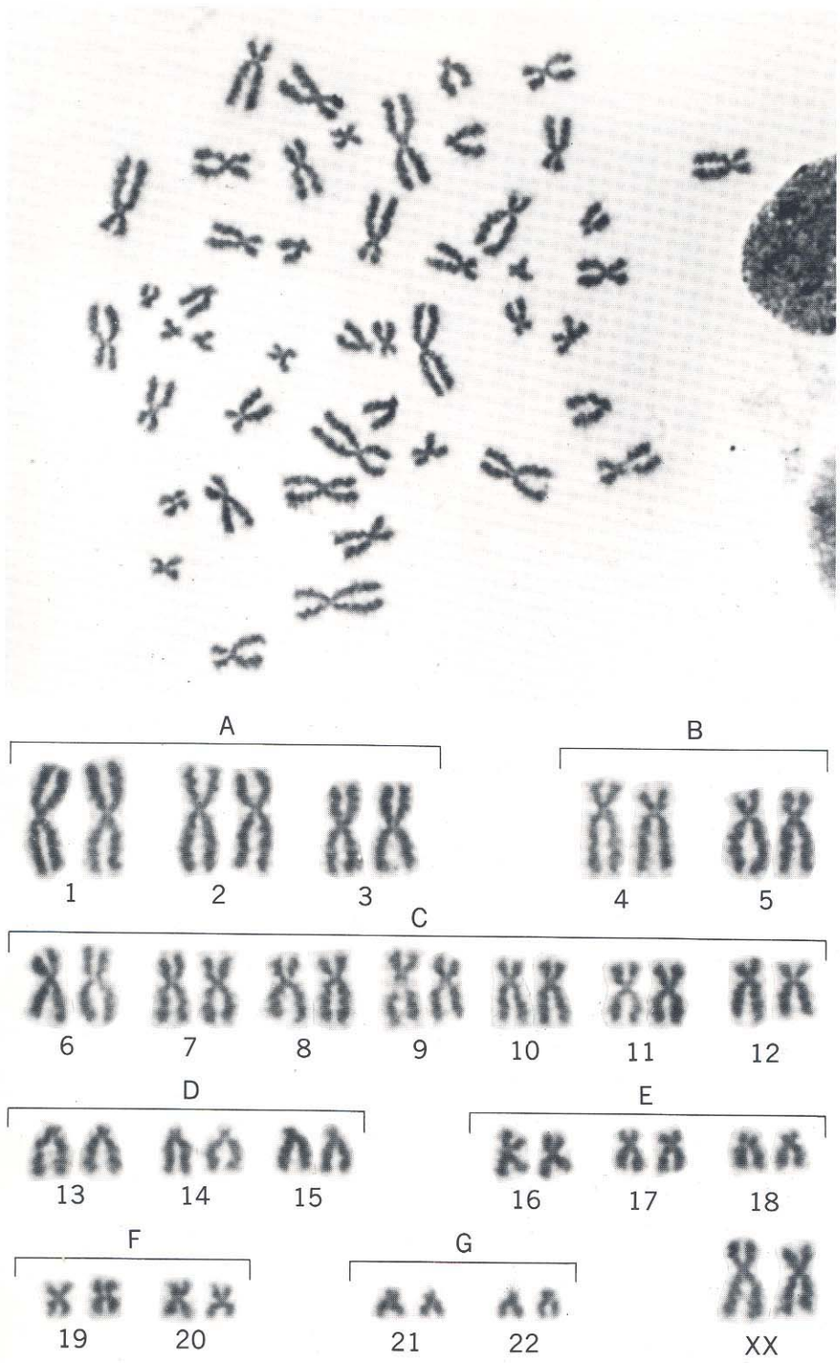


Fig. 174. Cariotipo normal de una mujer, con sus cromosomas XX.

Grupo B. Los pares de cromosomas 4 y 5 poseen centrómeras metacéntricas. El cromosoma 4 es un poco más largo que el cromosoma 5.

Grupo C. Los pares de cromosomas 6 a 12 y el cromosoma X, que integran este grupo, son más o menos de igual tamaño y de centrómeras submedianas, de modo que es difícil identificar a cada cromosoma. El cromosoma 6 constituye el par más grande y su tamaño es similar al del cromosoma X. En ocasiones el cromosoma 9 presenta una constricción secundaria distintiva en su brazo largo. El cromosoma 11 exhibe a menudo una constricción en su brazo largo.

Grupo D. Los pares de cromosoma 13 a 15 tienen casi el mismo tamaño y sus centrómeras son acrocéntricas.

Grupo E. Los pares de cromosomas 16 a 18 se identifican porque el cromosoma 16 posee una centrómera submediana y existe una constricción en el brazo largo, cerca de la centrómera, mientras que las centrómeras de los cromosomas 17 y 18 son más excéntricas.

Grupo F. Los pares 19 y 20 pertenecen a este grupo y tienen centrómeras medianas.

Grupo G. Este grupo consiste en los cromosomas 21 y 22 y en el cromosoma Y. Son muy cortos y acrocéntricos, y muchas

veces se comprueba que tienen satélites, con excepción del cromosoma Y.

En la Conferencia de Chicago (1966)[105] se adoptó un sistema de notaciones de una o tres letras para representar las alteraciones de las estructuras cromosómicas (cuadro 38.I). La Conferencia de París (1971)[483] completó el método descriptivo sobre las alteraciones morfológicas de los cromosomas introduciendo símbolos de nomenclatura, como en el cuadro 38.II. Los signos (+) y (−) significan adición o pérdida de cromosomas y se colocan antes del símbolo para la alteración de un cromosoma completo y después del símbolo para designar el aumento o disminución de la longitud de los cromosomas.

Bandeado Q

Entre ciertos fluorocromos que se fijan al DNA, se introdujeron la mostaza quinacrínica o el dihidrocloruro de quinacrina para demostrar imágenes de bandeado constantes y reproducibles;[96] se reconocen así unas estriaciones cruzadas fluorescentes a lo largo de los cromosomas, que se denominan bandas Q. La tingibilidad específica del método Q se basa en el mecanismo de la intercalación de quinacrina en los pares de bases del DNA; mientras que el contenido alto de A-T acrecienta la fluorescencia, el contenido grande de G-C tiene un efecto atenuante. El procedimiento de tinción es exactamente el mismo que para la cromatina Y, salvo la técnica para la preparación en la metafase.

La designación para indicar la intensidad aproximada de la fluorescencia es la siguiente:

negativo: fluorescencia escasa o nula
pálido: como en 1p distal
mediano: como las dos bandas anchas de 9q
intenso: como en la mitad distal de 13q
brillante: como en Yq distal

Método de tinción Q

1. Háganse preparados secados al aire (véase pág. 117).
2. Tíñase con mostaza quinacrínica (0.05 ug/ml, pH 7, 20 min) o dihidrocloruro de quinacrina (0,5 %, pH 4,5, 15 min) a 20° C.
3. Enjuáguese y móntese en agua desyodada de pH 5,5-6.

Bandeado G

Las tinciones con solución de Giemsa después de diversos tratamientos previos se denominan métodos de bandeado G. Estos métodos producen unas bandas constantes que se denominan bandas G y tienen la ventaja de que los portaobjetos coloreados se pueden guardar como preparados permanentes y se puede hacer una nueva tinción después de haber analizado el bandeado G. Muchas veces como tratamiento previo se hace una incubación y digestión enzimática. Un prerrequisito del bandeado G es determinar las condiciones de tinción en el propio laboratorio; se dice que los portaobjetos se pueden dejar 2 o 3 días en un ambiente bien seco después de haber preparado los portaobjetos con los cromosomas, pero no se pueden almacenar más de dos meses. Es más fácil obtener resultados constantes si los portaobjetos se calientan de antemano una hora a 37° C.

Cuadro 38. Notaciones de los cromosomas

*I. Conferencia de Chicago**

A-G	Grupos de cromosomas
1-22	Números de los autosomas
X, Y	Cromosomas sexuales
diagonal (/)	Separa a las líneas celulares para describir mosaicismo
?	Identificación dudosa de cromosomas o de la estructura cromosómica
*	Cromosoma explicado en el texto o nota al pie
ace	Acéntrico
cen	Centrómera
dic	Dicéntrico
end	Endorreduplicación
h	Constricción secundaria o región de tinción negativa
i	Isocromosoma
inv	Inversión
mar	Cromosoma marcador
mat	Origen materno
p	Brazo corto de un cromosoma
pat	Origen paterno
q	Brazo largo de un cromosoma
r	Cromosoma anular
s	Satélite
t	Translocación
símbolos repetidos	Duplicación de la estructura cromosómica

* BERGSMA, D. (dir.): "Chicago Conference: Standardization in Human Cytogenetics." White Plains: The National Foundation-March of Dimes, BD: OAS II (2), 1966.

*II. Conferencia de París***

A. Cambios recomendados en la nomenclatura de la Conferencia de Chicago
1. Los signos + o − se colocan *antes* del signo respectivo, donde significan cromosomas enteros adicionales o faltantes. Se colocan *después* de un símbolo para denotar aumento o disminución de longitud. Los aumentos o disminuciones de la longitud de los estrechamientos secundarios o las regiones con tinción negativa, se distinguen de los aumentos o disminuciones de la longitud del brazo por otras alteraciones estructurales, colocando el símbolo *h* entre el símbolo del brazo y el signo + o − (p. ej., 16qh +).
2. Todos los símbolos para los reordenamientos van antes de la designación del o los cromosomas afectados en el ordenamiento, y el o los cromosomas reordenados siempre se colocan entre paréntesis, p.ej., r (18), i (Xq), dic (Y).

B. Símbolos de nomenclatura adicionales recomendados

del	Borramiento
der	Cromosoma derivativo
dup	Duplicación
ins	Inserción
inv ins	Inserción invertida
rcp	Translocación recíproca†
rec	Cromosoma recombinante
rob	Translocación robertsoniana † ("fusión céntrica")
tan	Translocación en tándem†
ter	Terminal o final ("pter" para final de brazo corto; "qter" para final de brazo largo)
:	Rotura (no reunión, como en un borramiento terminal)
: :	Rotura y unión
→	Desde arriba

** BERGSMA, D. (dir.): "Paris Conference (1971): Standardization in Human Cytogenetics." White Plains: The National Foundation-March of Dimes, BD: OAS VIII (7), 1972.

† Optativo cuando se desea mayor precisión que la que proporciona el uso de la *t* que recomienda la Conferencia de Chicago.

Método de digestión con tripsina (Seabright)[582]

1. Preparación. Los preparados de cromosomas secados al aire se pasan 3 a 4 minutos por solución hipotónica de ClK 0,075 M a 37° C.

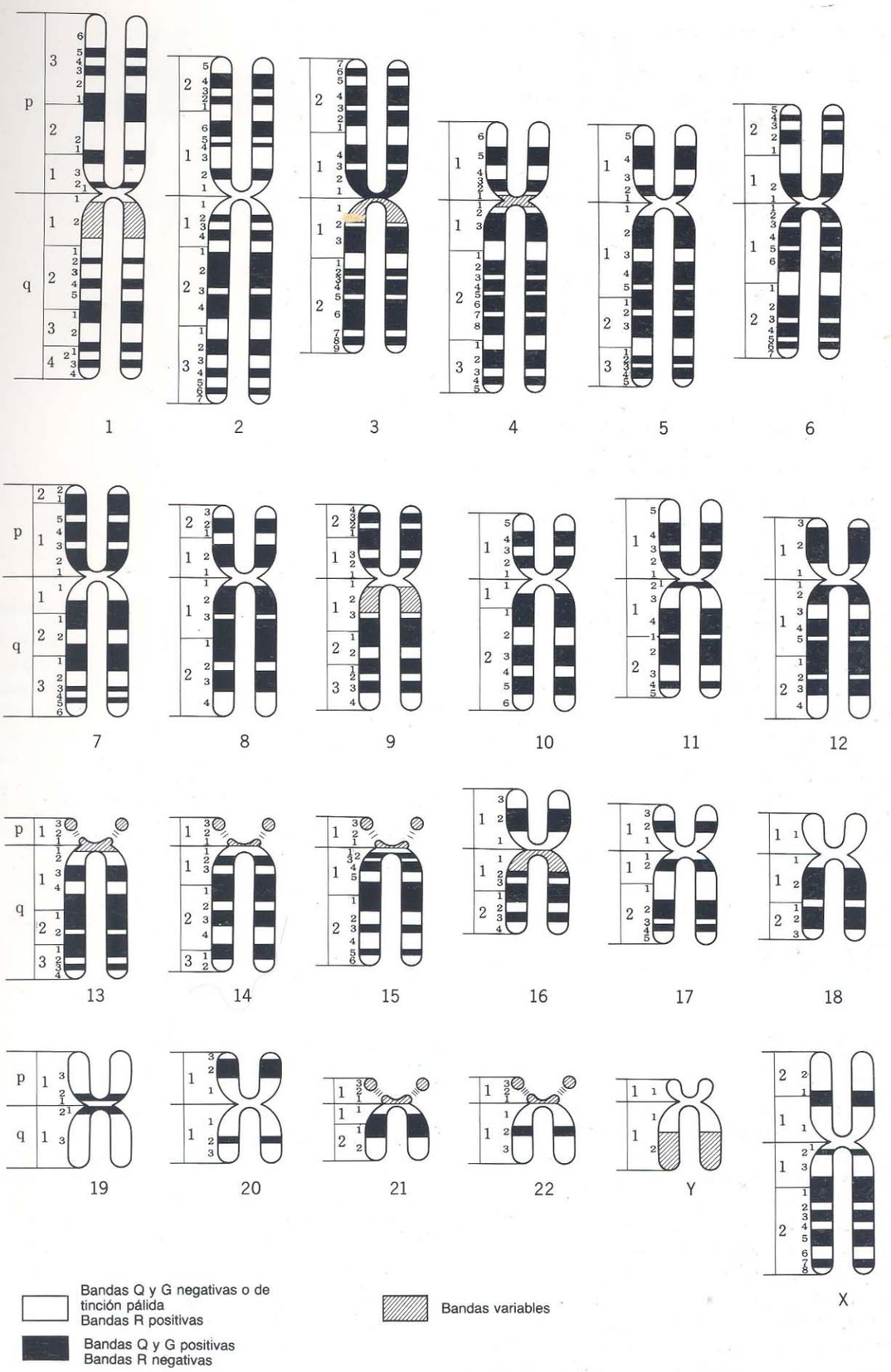


Fig. 175. Representación diagramática de las bandas de los cromosomas observadas con los métodos de tinción Q, G y R; la centrómera sólo es representativa del método de tinción Q. (Bergsma, D. (dir.): "Paris Conference (1971): Standardization in Human Cytogenetics". White Plains: The National Foundation-March of Dimes, BD: OAS VIII (7), 1972.)

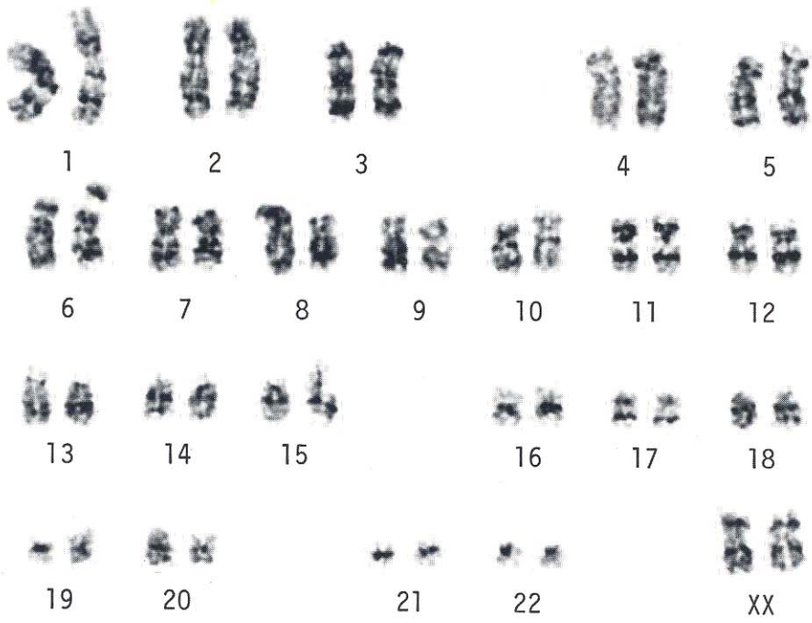


Fig. 176. Cariotipo femenino normal. Bandeado G.

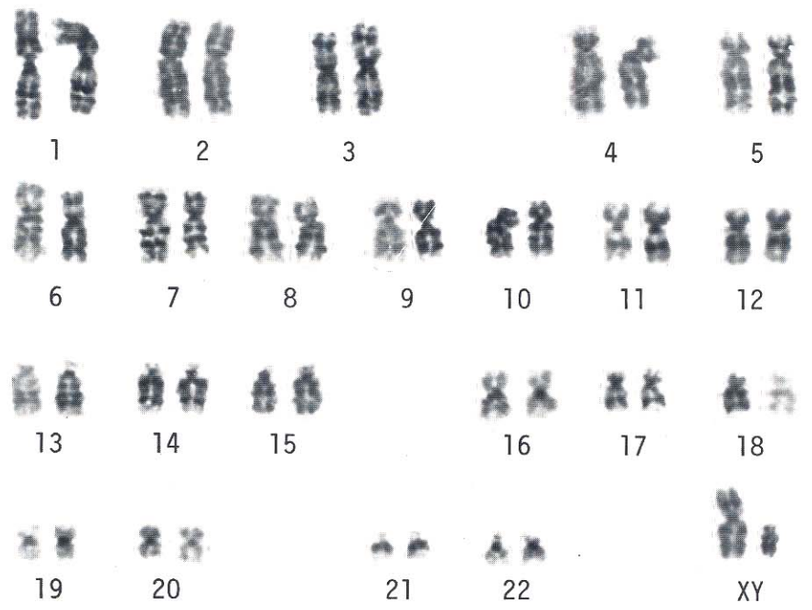


Fig. 177. Cariotipo masculino normal. Bandeado G.

2. Tratamiento con tripsina.* Digestión en solución isotónica de cloruro de sodio con tripsina (Difco) al 0,25 % 10 a 60 segundos a temperatura ambiente o hasta 37° C.
3. Tinción. Colorante de Leishman (BDH) diluido con buffer a pH 6,8 (1:4)** durante 3 a 4 minutos.
4. Lavado en buffer, secado, enjuague en xilol y montaje.

* Se puede usar tripsina cruda disuelta en solución de Hanks sin Ca^{++} ni Mg^{++}. La solución de Hanks también se usa para enjuagar.

La duración del tratamiento depende de las preparaciones; cuanto más tiempo estén almacenados los portaobjetos, más durará el tratamiento. Con temperatura más baja, el tratamiento será más prolongado.

** Solución de Giemsa al 2 % (5 a 10 minutos) diluida con buffer de fosfato a pH 6,4. Se obtienen buenos resultados.

Método de incubación: "técnica ASG" (Summer y col.)[633]

1. Preparación. Los preparados de cromosomas secados al aire se pasan 3 a 4 minutos por solución hipotónica de ClK 0,075 a 37° C.
2. Incubación. Incúbese en 2 × SSC (ClNa 1,5 M, 87,7 g/litro + citrato trisódico 0,15 M, 44,1 g/litro, ajústese a pH 7 con NaOH 1N y luego dilúyase a la concentración que se desee con agua destilada) una hora a 60° C. Con posterioridad enjuáguese en agua destilada.
3. Tinción. Una hora y media con solución Gurr's Giemsa R 66 regulada (Gurr's Giemsa T66, 1 ml para 50 ml de buffer de pH 6,8 preparado con los comprimidos de buffer de Gurr).

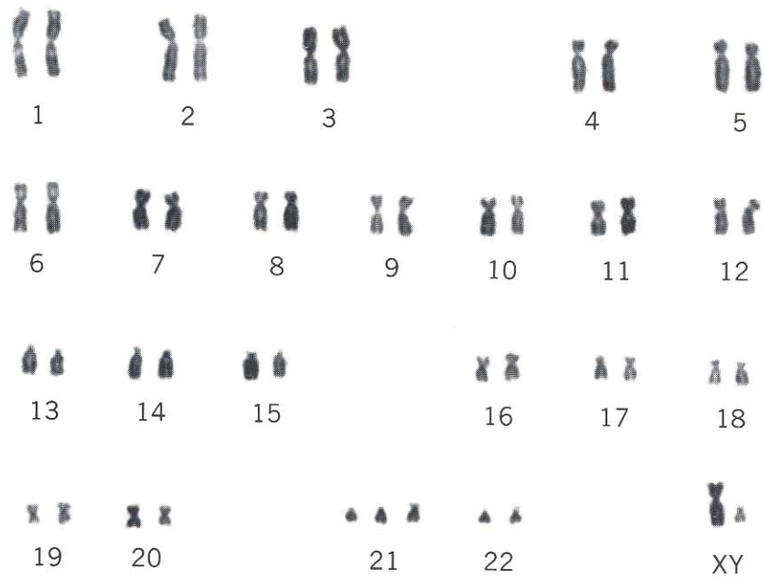


Fig. 178. Cariotipo de un varón con síndrome de Down. Nótese la trisomía 21.

Bandeado R

Dutrillaux y Lejeune[149] idearon una tinción peculiar con Giemsa que presenta imágenes de bandeado invertidas, en comparación con las bandas G; las bandas oscuras pertenecen a las regiones de los cromosomas donde los métodos G producen áreas claras. La única excepción es el 9qh, que se tiñe poco con los métodos de tinción R y G. Esta es una técnica sencilla en que se hace tratamiento previo incubando en buffer de fosfato (pH 6,5) calentado 10 minutos a 87° C, antes de hacer la coloración de Giemsa.

Bandeado C

Los métodos de tinción C que describieron Arrighi y Hsu[20] y Yunis y col.[729] son para demostrar la heterocromatina centromérica y sus constituyentes haciendo tinción de Giemsa. Las bandas C ofrecen un buen criterio para identificar varios cromosomas humanos, como A1, C9, E16 y los acrocéntricos, aunque no en forma individual.

Método de Arrighi y Hsu

1. Trátense los portaobjetos con ClH 0,2N a temperatura ambiente 15 minutos y después enjuáguese 3 veces con agua destilada.
2. Trátense los portaobjetos 2 minutos con NaOH 0,07 N.
3. Enjuáguese con alcohol etílico (70 %-95 %-absoluto 3 veces 5 minutos cada uno) y séquese al aire.
4. Colóquese el portaobjeto horizontalmente con el lado de las células arriba en una cámara húmeda, y agréguese 2× o 6×SSC al área celular del portaobjeto. Cúbrase la solución con cubreobjeto.
5. Incúbese en la cámara húmeda 16 a 20 horas de 60 a 65° C.
6. Enjuáguese en 2× o 6×SSC (3 veces, 5 minutos cada vez), alcohol etílico al 70 % (3 veces, 5 minutos cada vez), al 95 % (3 veces, 5 minutos cada vez) y después séquese al aire.
7. Tíñase con solución de Giemsa regulada a pH 6,8.

2. Uso del análisis cromosómico en clínica

El análisis cromosómico se usa mucho en clínica médica desde que Lejeune y col.[364] demostraron en 1959 el cariotipo anormal específico del mongolismo. El análisis cromosómico es útil para resolver el origen de las anomalías sexuales porque se sabe que las pacientes con síndrome de Turner negativas para la cromatina sexual tienen una constitución de cromosomas sexuales XO y que los pacientes con síndrome de Klinefelter, que es positivo para cromosomas sexuales, tienen un cariotipo XXY. También se detectan anormalidades de los cromosomas autosómicos. Entre las aplicaciones clínicas amplias figuran el diagnóstico diferencial del intersexo, las investigaciones de la infertilidad masculina y femenina, el diagnóstico diferencial de las discrasias sanguíneas, el diagnóstico diferencial de la disproteinemia sanguínea y la detección de células malignas.

Anormalidades autosómicas

Síndrome de Down (mongolismo esporádico, trisomía 21). Langdon-Down describió un retardo mental (mongolismo) asociado con estrabismo, cataratas, talla escasa, braquicefalia, occipucio plano, epicanto, fisuras palpebrales oblicuas, lengua fisurada, paladar estrecho y alto, nariz corta, meñique corto y curvo, y lóbulos de las orejas anormales. Además son frecuentes las cardiopatías congénitas, la atresia duodenal y la leucemia. Los pacientes con este síndrome tienen 47 cromosomas, con un cromosoma acrocéntrico muy pequeño que pertenece a G_1 (cromosoma 21) (fig. 178). Desde el punto de vista etiológico, lo más probable es una no disyunción primaria en las gónadas de progenitores normales, en particular en madres mayores de 35 años.

Síndrome de trisomía D (síndrome de Patau). Este síndrome raro por no disyunción primaria de cromosomas del grupo D fue descripto por Patau y col.[487, 489] en 1960. El síndrome consiste en retardo mental, arrinencefalia, frente inclinada, defectos oculares, orejas de implantación baja y malformadas, paladar y labio hendidos, polidactilia y/o sindactilia, malformaciones cardíacas, hemangiomatosis capilar, etc.

Síndrome de trisomia E (síndrome de Edwards). Edwards y col. (1960)[153] describieron el complejo de anomalías congénitas que se asocia con trisomía de uno de los cromosomas del grupo E. Los rasgos clínicos representativos son cabalgamiento de los dedos de las manos, orejas malformadas de implantación baja, mandíbula pequeña, defecto del tabique interventricular, malformaciones renales, divertículo de Meckel, etc. Este síndrome se atribuye a una no disyunción primaria en las gónadas de los padres.

Cromosomas en las neoplasias malignas

Los cromosomas de las neoplasias malignas son distintos a los normales, no sólo en cuanto a cantidad sino a constitución. Puede ocurrir aneuploidia por un error de la mitosis[557] y estas células se consideran no viables. La irradiación produce con facilidad anomalías transitorias del cariotipo.*

El análisis estadístico de aneuploidia y poliploidia corrobora el diagnóstico de neoplasia maligna hasta con una pequeña cantidad de cromosomas si se descubre una aberración cromosómica evidente. En algunos casos con células seudodiploides, las diferencias en la distribución del cariotipo pueden indicar malignidad. Para la aplicación práctica del análisis cromosómico en clínica medica son útiles los derrames corporales[305, 310] y las células de la sangre periférica o de la médula ósea.[554, 659]

Neoplasias malignas. En las mitosis anormales ocurren aberraciones importantes en la cantidad y estructura de los cromosomas, como translocaciones, roturas, no disyunciones, endorreplicación, inversión, fusión anormal, borramiento, etc. Las clonas de células malignas[388] varían desde la hipodiploidia hasta la hipertetraploidia. Las anormalidades estructurales de los cromosomas no son características para tumores individuales, pero cada tumor puede tener un tipo de proliferación singular y representar la línea clonal predominante mediante selección de algún número modal.[263, 381] En la carcinogénesis, la neoplasia maligna primaria se caracteriza por poseer muchos tipos de células tumorales que tienen cariotipos distintos. De conformidad con las alteraciones ambientales del huésped, interviene el mecanismo de selección adaptativa y así se establecen las células clonales.[389] La selección de líneas clonales puede relacionarse con el tratamiento[304, 563] y/o con la ecología. No es infrecuente que los tumores malignos produzcan cromosomas anómalos excepcionales, como cromosomas anulares, cromosomas extraordinariamente grandes y cromosomas con varias centrómeras, que se llaman cromosomas marcadores (fig. 180) (Hsu, 1962; Moorhead, 1962). A pesar de la fluctuación numérica, en ocasiones los marcadores se mantienen.[558]

Los estudios cromosómicos de los derrames corporales revisten utilidad práctica en citología clínica. Los cultivos de algunos derrames malignos exhiben el modo diploide, pero también aparecen los modos secundarios que individualizan al tumor.[308, 724] La distribución del número modal de cromosomas varía en los cánceres primarios humanos entre la hipodiploidia y la seudotetraploidia, pero en los derrames es frecuente encontrar células de ploidias altas mayores de 92 cromosomas[305,391] por endomitosis o endorreduplicación. En general, la aneuploidia de los tumores secundarios tiende a ser más llamativa que la de los tumores primarios. La aparición de cromosomas marcadores es característica de los tumores malignos.[370]

Aunque en las neoplasias humanas no se determinaron anormalidades cromosómicas persistentes en el análisis cromosómico convencional, excepto la depleción de los grupos D y G y la adición del grupo C, con las técnicas de bandeado recientes se demostraron cambios adicionales como pérdida o borramiento de tipo Ph¹ del N° 22 en el meningioma, iso 17q en el linfoma maligno, banda terminal adicional del N° 14 y translocación entre el N° 8q − y 14q + en el linfoma de Burkitt.[371]

Cromosomas en la leucemia

En la leucemia es preferible estudiar directamente la médula ósea porque los cultivos *in vitro* no representan siempre células leucémicas[424, 556] y se prestan para el desarrollo selectivo de determinadas células no malignas. La médula ósea normal tiene modos diploides bien distintivos que contienen alrededor del 12,2 ± 0,8 % de metafases aneuploides.[264] Los estudios cromosómicos de Sandberg y col., basados en cuatro tipos histológicos de leucemia, revelaron que en la leucemia mieloblástica aguda el cuadro cromosómico se agrupa justo en torno de la diploidia, mientras que en la leucemia linfoblástica aguda se halla muy extendido.[555] En la leucemia mielógena crónica, Nowell y Hungerford (1961) hicieron la primera descripción de un borramiento de una parte del brazo largo de un "cromosoma G" y le dieron el nombre de "cromosoma Filadelfia" (Ph¹).[453] Este Ph¹ peculiar ocurre en la mayoría de los casos de leucemia mielógena,[703] aunque ésta sea tratada, pero falta en la reacción leucemoide y en los trastornos mieloproliferativos.[555] Merced a un reciente método de tinción Q se comprobó que el Ph¹ no pertenece al cromosoma 21, sino al 22, y se asocia con translocación de G 22 a C 9. Rowley[546] demostró translocación entre G 22 y G 9 en 9 pacientes con leucemia mielógena crónica (LMC), pero la translocación del segmento faltante de G 22 no es específica y puede ocurrir con otros autosomas.[266]

Además de la alteración de un solo cromosoma clave en la LMC, haciendo técnicas de bandeado en la fase blástica de la LMC se comprobó que ocurren anormalidades adicionales, en particular 1) cromosomas Ph¹ dobles, 2) C 8 adicional y 3) sustitución de uno de los E 17 por un iso 17q.

Sin embargo, recuérdese que la radioterapia o el tratamiento con drogas radiomiméticas reduce la incidencia del cromosoma Ph¹ [662, 663] y también induce anomalías cromosómicas. La incidencia del cromosoma Ph¹ debe determinarse mediante el análisis cromosómico directo de la médula ósea, y se dice que en los casos no tratados llega a ser del 95 % (Eggen, 1965).[155] La rara variedad Ph¹ negativa seguiría una evolución clínica bastante benigna. Una vez establecido el análisis cromosómico, la variación repentina del cariotipo puede anunciar una crisis blástica aguda.[649] En la leucemia mielógena aguda se ven a veces cromosomas extras en el

* El método del hemocultivo, en que los linfocitos son útiles como células atacadas, exhibe una mayor incidencia de aberraciones cromosómicas a mayor exposición a la radiación ionizante. También es notable que las aberraciones cromosómicas estables, como cromosomas monocéntricos anormales, persistiesen hasta varios años después de completarse la radioterapia.



Fig. 179a. Cromosoma Ph¹ en la leucemia mielógena crónica. Éste es un cromosoma acrocéntrico pequeño y se lo considera una forma agotada de cromosoma 22 (*flecha*).

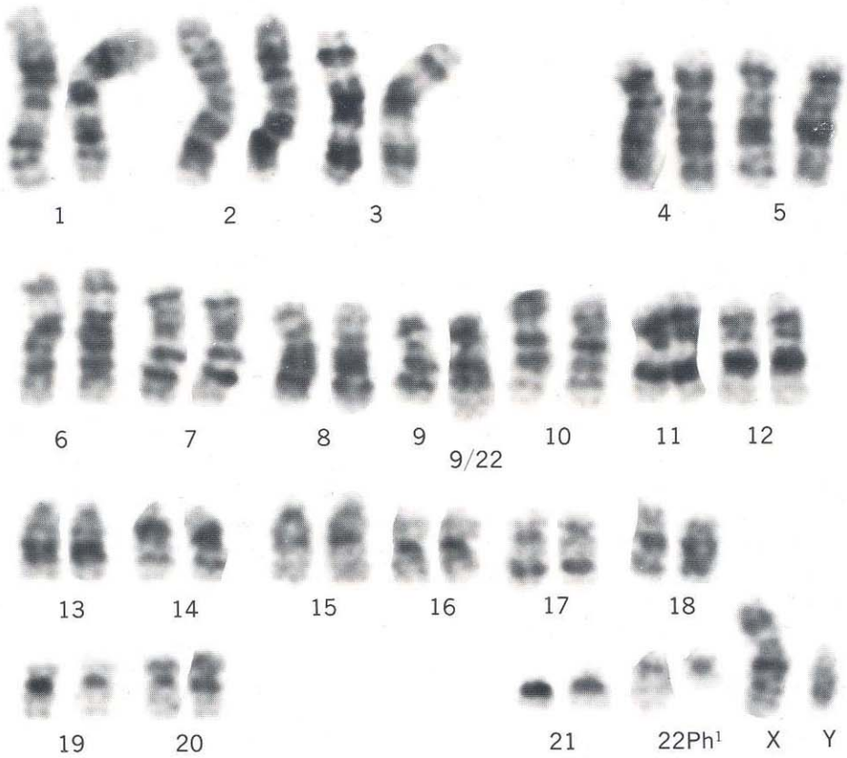


Fig. 179b. Cariotipo de un varón con leucemia mielógena crónica. Nótese el cromosoma Ph¹ y su traslocación con C 9. Método del bandeado G. (Gentileza del doctor Michiko Okada, Dep. de Medicina Interna, Colegio Médico de Mujeres de Tokio, Tokio.)

grupo C.[32, 296, 557] La ocurrencia de cromosomas faltantes en el grupo C se mencionó con mucho menos frecuencia,[647] pero no hay evidencias de que estos casos representen un subgrupo distinto desde el punto de vista clínico. Las células sin Ph¹ se explican así:

En términos citogenéticos, pueden formarse tres tipos de células: 1) seudodiploides con un Ph¹, 2) seudodiploides con dos Ph¹ y 3) diploides normales sin Ph¹. En raros casos estas últimas derivan de la doble no disyunción del grupo de pares G y fusión de células diploides, seguida por mitosis tetrapolar.[649]

A diferencia de la LMC, la leucemia mielógena aguda



Fig. 180. Cariotipo anormal que contiene 78 cromosomas en un caso de derrame peritoneal por adenocarcinoma de ovario. La mayoría de las células analizadas están distribuidas en la gama triploide desde 65 hasta 84 (78,7 %). Hay cromosomas marcadores de tipo submediano (*flechas*).

(LMA) no exhibe aberraciones cromosómicas constantes. Cerca de la mitad de los pacientes con LMA presentan un cariotipo normal. Los restantes se caracterizan por anormalidades en uno o más de los cromosomas 7, 8, 9 y 21. Según los datos recogidos en 279 pacientes con leucemia no linfocitaria aguda en el Primer Congreso Internacional sobre Cromosomas en la Leucemia, se detectaron +8 (22 casos), –7 (20 casos), t (8q–; 21q+) (11 casos), t (15q+; 17q–) (9 casos) y t (9q+; 22q–) (5 casos).[674] En la leucemia aguda no es inusual la falta de un cromosoma X[467] o del Y.[574]

La macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad proliferativa sistémica del tejido reticular asociada con macroglobulinemia (monoclonal en los componentes M de γG y γA), exhibe un cromosoma grande extra,[173, 210, 291, 485] según se confirmó desde la primera descripción de Bottura y col. (1961).[67] Parece ser que es un isocromosoma de los brazos largos del cromosoma 1 o del cromosoma 2. Benirschke[46] denominó a los cromosomas "marcadores" anormales cromosomas "W".

Habrá que investigar mejor esta cuestión porque se propu-



Fig. 181. Célula con 154 cromosomas demostrados en el mismo caso. Alrededor del 15 % de las células exhiben una cantidad muy grande de cromosomas (> 150). Esto se debería a endomitosis o endorreduplicación, que es frecuente en los derrames malignos.

sieron algunas observaciones confirmatorias y también aparecieron publicaciones negativas. En pacientes con mieloma múltiple se presentaron escasas evidencias de anomalías cromosómicas.[291]

3. Técnica del análisis cromosómico

Análisis cromosómico directo a partir de derrames

Técnica del secado al aire

Procedimiento:

1. Centrifúguense los derrames frescos a 1000 rpm 5 a 10 minutos y descártese el sobrenadante.

2. Agréguese medio TC 109 o 199 (Difco Lab. Detroit, Mich.) 3 a 5 veces al sedimento celular.

3. Añádase suero de bovino, alrededor del 10%, al volumen total del medio.

4. Colchicinícese el material para que no se formen husos y promover la dispersión de los cromosomas en metafase. Viértanse 1 o 2 gotas de colchicina cada 3 a 5 ml de medio. En el método directo, pásese el sedimento celular a 2 ml de solución salina balanceada con colchicina (concentración final: 0,1-0,2 μg/ml). En lugar de colchicina se puede usar colcemid (0,05 μg/ml).

Solución madre de colchicina: Prepárese colchicina al 0,001% en solución salina balanceada estéril (10 μg/ml) y almacénese a 4°C.

5. Incúbese 2 horas a 37°C.

6. Centrifúguese a 800-1000 rpm 5 minutos.

7. Suspéndase el sedimento celular 15 minutos en solución hipotónica en un volumen 2 a 5 veces mayor.

a) Solución hipotónica de cloruro de sodio (0,4%)
b) Solución de citrato de sodio al 0,5%
c) Agua destilada

Nota: La elección de la solución hipotónica es cuestión de preferencias personales. En el laboratorio de este autor se usa una solución hipotónica consistente en 0,1 g de ClK, 0,1 g de glucosa, 0,2 g de ClNa y 0,5 g de citrato de sodio en 100 ml de agua destilada. Esto se almacena en el refrigerador a 4°C.

8. Vuélvase a centrifugar 5 minutos a 1000 rpm y descártese el sobrenadante.

9. Fíjese el sedimento celular con 3 a 5 ml de solución de Carnoy (1 parte de ácido acético glacial y 3 partes de alcohol metílico absoluto) del siguiente modo:

Primer paso. Viértase solución de Carnoy con lentitud a lo largo de la pared del tubo y déjese en reposo 10 minutos. Luego centrifúguese 5 minutos a 800 rpm.

Segundo paso. Agréguese solución de Carnoy y déjese en reposo 30 minutos. Vuélvase a centrifugar 5 minutos a 800 rpm y descártese el sobrenadante.

Tercer paso. Repetir el segundo paso.

10. Agréguese una pequeña cantidad de solución de Carnoy –unos 0,2 a 0,5 ml– para que la solución quede un poco turbia, y revuélvase con suavidad.

11. Deposítense 3 o 4 gotas de la suspensión celular así obtenida en un portaobjeto de vidrio preparado en alcohol frío al 50%. Pásese el portaobjeto con rapidez por una pequeña llama para evaporar el alcohol.

12. Séquese por unas 12 horas. Coloréese con el método de Giemsa o con la reacción de Feulgen.

Nota: Los pasos 2 y 3 se pueden abreviar.

Técnica del aplastamiento

Procedimiento: Makino y Nishimura (1952)[390] introdujeron la técnica combinada del tratamiento con agua y aplastamiento.

En lugar de agua, Hsu recomienda la solución hipotónica de cloruro de sodio (1952).[295] La técnica del tratamiento salino es exactamente la misma que en el método secado al aire.

1-8. Véase la técnica del secado al aire.

9. Agréguese una gota de solución colorante de dalia acética a una gota del sedimento celular depositado en un portaobjeto de vidrio.

La solución colorante de dalia acética se prepara disolviendo violeta dalia al 0,75% en solución de ácido acético al 30%. Se hierve por 1 o 2 minutos, se enfría y se filtra.

10. Presiónese con suavidad el portaobjeto con el pulgar para aplastar los cromosomas.

11. Ciérrese el borde del cubreobjeto con bálsamo parafinado o con cemento Krönig (Fisher Scientific Co., Pittsburgh, Pa.).

Análisis cromosómico directo a partir de médula ósea

Como las células de la médula ósea presentan abundantes mitosis es preferible hacer un preparado directo[185] para estudiar la leucemia. No hace falta tratar con tripsina y tampoco esterilización absoluta.



Fig. 182. Cromosoma en metafase preparado con la técnica del aplastamiento.

Procedimiento:

1. Aspírense unos 0,2 a 0,5 ml de médula esternal, de cresta ilíaca o tibial con una jeringa que contenga 1 ml de heparina y deposítese en 2 ml de solución salina balanceada con colchicina (0,3-0,5γ/ml).
2. Pásense las células de médula ósea al segundo cambio de solución de colchicina tras un centrifugado suave (5 minutos a 500 rpm). Déjese una hora a temperatura ambiente.
3. Recentrifúguese 5 minutos a 500 rpm. Retírese el sobrenadante, agréguense 2 a 3 ml de solución hipotónica (citrato de sodio al 1% en agua destilada) y déjese 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Centrifúguese 5 minutos a 500 rpm y retírese todo el sobrenadante. Agréguense 5 ml de solución de Carnoy (alcohol-ácido acético 3:1), resuspéndanse las células agitando con suavidad y déjese 5 minutos. Repítase el procedimiento.
5. Tras retirar el sobrenadante, agréguense 0,5 ml de solución de Carnoy para que la suspensión de las células quede turbia.
6. Deposítense 3 o 4 gotas de esta suspensión celular en un portaobjeto de vidrio limpio preparado de antemano con alcohol frío al 50%. Pásese el portaobjeto a través de una pequeña llama.
7. Séquese unas 12 horas y coloréese con Giemsa.

Nota: Antes del tratamiento con colchicina, se puede cultivar unas 18 horas en medio TC 109 que contenga suero de bocino al 10% y 0,1 mg de heparina. Sin embargo, el cultivo *in vitro* puede dar resultados no representativos a causa del desarrollo no selectivo de ciertos tipos de células.

Técnica del cultivo de leucocitos de sangre periférica

Los leucocitos mononucleares separados de la sangre periférica poseen actividad mitótica en el cultivo de gradiente; en consecuencia, para estudiar los cromosomas humanos se puede hacer el análisis del cariotipo de los leucocitos de la sangre periférica. Esta técnica fue ideada por Moorhead y col. en 1960.[430]

Procedimiento:

1. Extráiganse en condiciones asépticas 10 ml de sangre venosa con una jeringa estéril cargada con 0,1-0,2 ml de heparina. La sangre total heparinizada se puede almacenar 12 a 24 horas a 5°C antes de separar los leucocitos. El paciente debe estar en ayunas porque de lo contrario las muestras no producen cultivos satisfactorios.
2. Déjese la sangre a temperatura ambiente 1 a 2 horas. El sobrenadante que contiene los leucocitos se puede separar de los eritrocitos mediante decantación.
3. Agréguese TC 109 o 199 (Difco) al sobrenadante en una proporción de 3 a 1. El sobrenadante contiene alrededor de 1-2 × 10^6 GBS por ml. Agréguense 0,02 ml de penicilina (100.000 unidades/ml) y 100 mg/ml de estreptomicina.
4. Agréguese el 10% de suero de bovino al medio de cultivo.
5. Agréguense 0,2 ml de PHA (fitohemaglutinina) tipo M por cada 10 ml de medio de cultivo.
6. Incúbense los cultivos 72 horas a 37°C en un frasco de cultivo TD-15 con tapón. Al tercer día, cuando se cumplen las 68 horas, añádanse unas 3 gotas de solución de colchicina por cada ml de medio de cultivo, para obtener una concentración final de 0,4 γ/ml.
7. Colóquese el medio de cultivo en un tubo de centrífuga y centrifúguese 5 minutos a 800 rpm.
8. Agréguese al sedimento celular 3 a 5 veces su volumen de solución hipotónica y déjese en reposo 20 minutos a temperatura ambiente. La solución hipotónica se prepara disolviendo en 100 ml de agua destilada 0,1 g de ClK, 0,1 g de glucosa, 0,2 g de ClNa y 0,5 g de citrato de sodio.

Los pasos siguientes, como la adición de fijador de Carnoy, la fijación sobre una pequeña llama y la tinción, son idénticos a los del método directo para médula ósea y derrames.

4. Tinción de las regiones organizadoras del nucléolo

Método del bandeado N

Matsui y Sasaki[745] desarrollaron una nueva técnica tintorial para demostrar las regiones organizadoras de los nucléolos tras la extracción de ambos ácidos nucleicos e histonas. Los extendidos secados al aire se incuban 30 minutos a 85-90°C en ácido tricloroacético al 5%, se enjuagan brevemente con agua corriente y se reincuban 30 a 45 minutos a 60°C en ClH 0,1 N. Los extendidos bien enjuagados se colorean con Giemsa regulado con fosfato (diluido 1:10) (pH 7). En las regiones satélites de los cromosomas acrocéntricos se demuestran unos puntos rojos purpúreos distintivos. Los nucléolos en interfase también son positivos para esta tinción (fig. 33).

Método de tinción argéntica

Hace poco se desarrolló una técnica de impregnación argéntica como tinción específica para las regiones organizadoras de nucléolos.[750,751] No se sabe con claridad si el material argéntico positivo es el componente ácido de la proteína ribonucleica del ribosoma del nucléolo y concuerda con exactitud con el material que se demuestra con el bandeado N; el material teñido con plata no es un componente del cromosoma propiamente dicho, sino que está en las regiones circundantes del organizador del nucléolo en actividad. Se pondrían de manifiesto los organizadores nucleolares que trascribirían el RNAr junto con la síntesis de RNAr. La sustancia argéntica acumulada en la profase se dispersaría hacia los organizadores nucleolares de los cromosomas acrocéntricos en la metafase. Schwarzacher y col.[752] mencionan que la tingibilidad argéntica del nucléolo de los núcleos en interfase, concuerda con la función de los organizadores nucleolares.

Método tintorial de Howell y Black

1. Deposítense en el portaobjeto 4 gotas de solución argéntica I, consistente en 4 g de NO_3Ag y 8 ml de agua desyodada, y cúbrase con un cubreobjeto.
2. Déjese el portaobjeto 3 a 5 minutos a 68°C en un calentador para portaobjetos.
3. Sáquese el portaobjeto, retírese el cubre y enjuáguese con agua corriente desyodada.
4. Absórbase con papel secante y séquese.
5. Deposítense 2 gotas de formol al 3% neutralizado con cristales de acetato de sodio y dejado en reposo por lo menos 3 días antes de usar, y también deposítense 2 gotas de solución argéntica II (4 g de NO_3Ag disueltos en 5 ml de agua desyodada y 7,5 ml de NH_4OH).
6. Colóquese un portaobjeto y obsérvese hasta que aparece una tinción apropiada.
7. Sáquese el cubreobjeto y enjuáguese bien con agua corriente desyodada.

18

Cromatina X

Barr y Bertram (1949)[39,40] encontraron un cromocentro grande en las células ganglionares de la gata. Aunque en un principio se lo consideró un satélite nucleolar vinculado con el nucléolo, en investigaciones ulteriores se confirmó que este elemento, denominado cromatina sexual, se halla íntimamente emparentado con la cara interna de la envoltura nuclear y se reconoce en la hembra humana. Así se introdujo la técnica del extendido bucal como recurso útil para establecer el sexo genético (Moore y Barr, 1955).[426] Desde 1969 se comprobó que los cromosomas Y con heteropicnóticos en los núcleos masculinos en interfase y se reconocen como unos puntos brillantes a la tinción con quinacrina. En consecuencia, se puede establecer el sexo nuclear genético empleando colorantes para cromatina X y cromatina Y. Es conveniente usar el término cromatina X o cuerpo X en vez del de cromatina sexual al referirse a las células somáticas femeninas.

1. Configuración de la cromatina X

La cromatina X (cromatina sexual, cuerpo de Barr) mide unos 0,7 × 1,2 μ, es planoconvexa o triangular, y su base ancha está aplicada contra el borde nuclear (fig. 183). Por lo general su configuración es sólida, pero a la observación detallada se reconoce una estructura bipartita[342,416] consistente en dos masas hemisféricas íntimamente adosadas entre sí. Sato[565] observó una detallada estructura de cromatina sexual que forma dobles anillos con un lado abierto o figuras semicirculares. Aunque no ha descripto con detalle la índole de esta estructura cromatínica, las ilustraciones originales son sugestivas de una configuración de un cromosoma X plegado (fig. 187).

En lo tocante al origen de la cromatina X se han postulado ciertas conjeturas de que en los varones el único cromosoma X es demasiado pequeño como para verse o es inhibido en su condensación heteropicnótica por la presencia del cromosoma Y. Ahora se acepta en forma universal la postulación[621] de que un cromosoma X de la hembra es metabólicamente inactivo y se ve durante la fase intermitótica.[106,418,420] Ohno y col.[459-461] confirmaron la índole cromosómica X única del cuerpo de Barr y señalaron que uno de los dos cromosomas X de la hembra o el único cromosoma X del macho se comportan funcionalmente de la misma manera que un autosoma, o sea que es isopicnótico o eucromático, mientras que el segundo cromosoma X de la hembra se condensa mucho formando la cromatina X.

En un recuento práctico, la cromatina X debe leerse como positiva cuando está en el borde nuclear sin espacio entre medio y mide alrededor de 1 μ como tamaño normal. Se deben elegir células pavimentosas intermedias o parabasales bien preservadas. La tingibilidad basófila exactamente idéntica a la de la membrana nuclear es de suma importancia para su identificación. Cuando se estudian extendidos atípicos o malignos no se deben evaluar los núcleos picnóticos ni degenerativos que presentan considerable condensación de cromatina junto al borde nuclear.

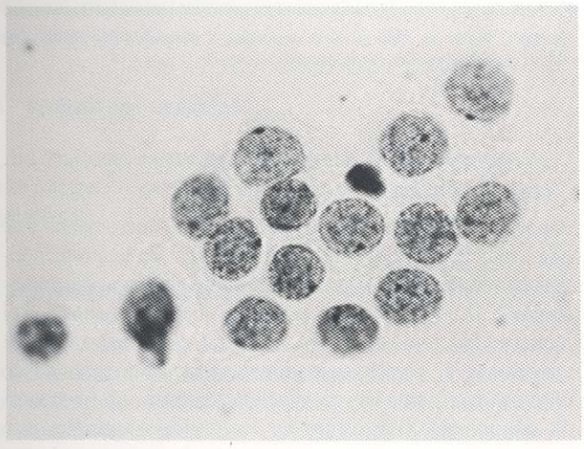


Fig. 183. Racimo de células endocervicales normales que presentan cromatinas X de la misma tingibilidad y forma. En la práctica, las heterocromatinas que exhiben figuras similares y están dentro de los núcleos no se cuentan como positivas. Tinción con tionina.

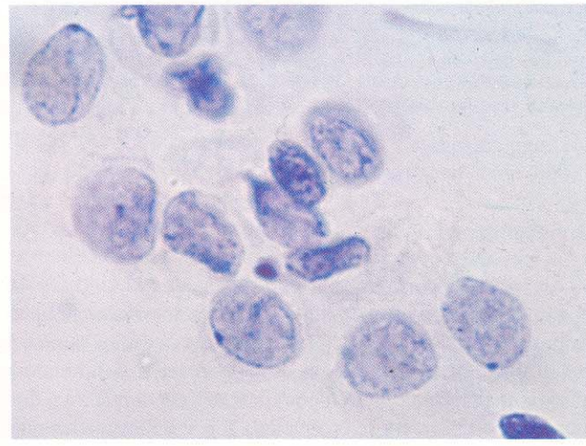


Fig. 184. Cromatinas X en células somáticas normales. Nótense las cromatinas X triangulares uniformes a lo largo del borde nuclear. Tinción con tionina. Células endocervicales vistas con mayor aumento.

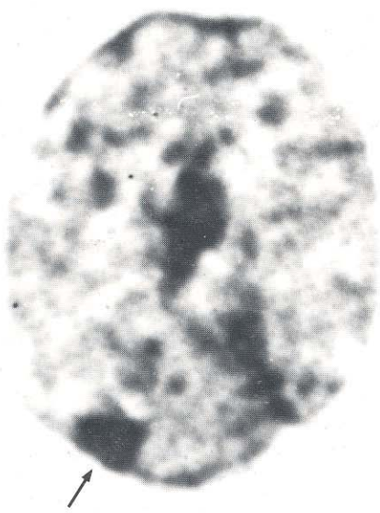


Fig. 185. Núcleo de una célula superficial cianófila normal de la pared vaginal. Nótese una cromatina X condensada, vista con el campo muy iluminado (*flecha*). Tinción de Papanicolaou (× 6000).



Fig. 186. Cromatina X en el borde nuclear con una estructura sugestiva de dobles anillos semicirculares. Núcleo de la figura 185. Observación con iluminación oblicua polarizada sobre fondo oscuro (× 6000).

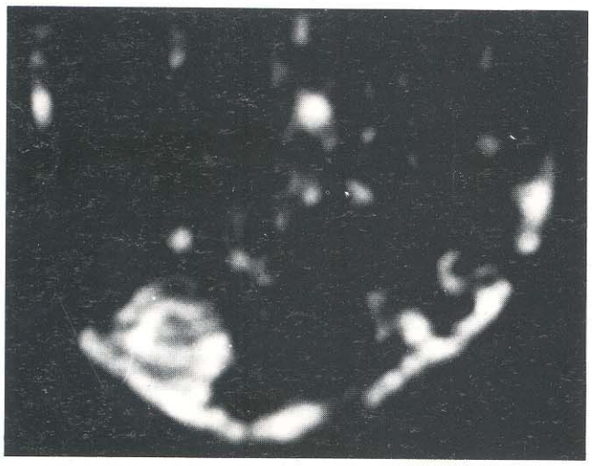


Fig. 187. Parte ampliada de la cromatina X del mismo núcleo. Además de la estructura anular doble, parte del cromosoma X aparece aplicada sobre la membrana nuclear (× 10.000). (Gentileza del señor Sato, A., Departamento de Investigaciones Técnicas de Nichimen Co., Osaka.)

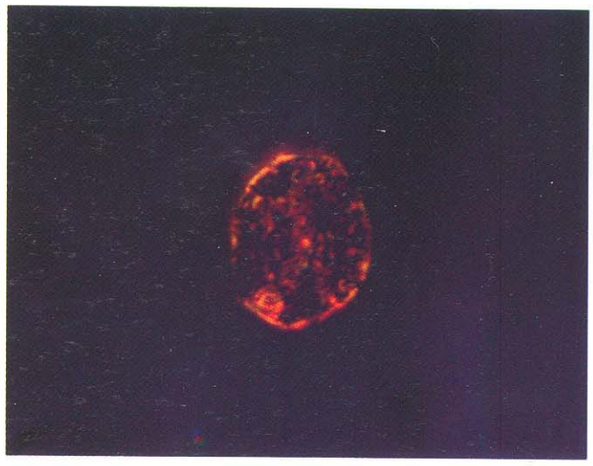


Fig. 188. Figura en colores de la cromatina X observada con iluminación oblicua polarizada sobre fondo oscuro. Núcleo de la figura 185.

2. Significación de la prueba de la cromatina X

La técnica del análisis cromosómico de los cultivos de médula ósea ha mejorado tanto que en la actualidad se hace como rutina para estimar los cromosomas X o Y, y también los autosomas. Sin embargo, el método sigue siendo complejo e insume mucho tiempo. El sexo genético se expresa por la presencia o no de cromatinas X e Y en los núcleos de las células somáticas. La prueba del sexo nuclear o cromatina X es sencilla y se hace con facilidad en el laboratorio del consultorio del médico. La evidencia de que un cromosoma X por cada juego cromosómico diploide es eucromático y de que todos los cromosomas X remanentes son heteropicnóticos, es valedera para detectar cantidades anómalas de cromosomas X. La cantidad de cromatinas X es una menos que el número de cromosomas X, mientras que la cantidad de cromatinas Y corresponde directamente a la cantidad de cromosomas Y que hay en la célula somática. La frecuencia de cromatinas X positivas en las mujeres normales está comprendida entre el 25 y el 45 %; el valor testigo normal se debe establecer en el propio laboratorio utilizando siempre el mismo procedimiento de fijación y tinción.

3. Hermafroditismo

Intersexo significa que el sexo fenotípico no es el mismo que el sexo genético verdadero. El intersexo se clasifica en hermafroditismo verdadero, en que hay gónadas mixtas como ovotestículos, fenotipo femenino de seudohermafroditismo femenino con ovarios solamente. La mayoría de los casos de hermafroditismo verdadero son positivos para cromatina sexual (hermafroditismo verdadero XX). El seudohermafroditismo femenino sin causa evidente, es decir, descartando virilización hormonal, es una gran rareza y es cromatina sexual positivo.[299] El seudohermafroditismo masculino, en cambio, es más frecuente que el seudohermafroditismo femenino. Las grandes diferencias en la incidencia se deducirían de las influencias hormonales durante el desarrollo de los genitales. En general, la diferenciación sexual se divide en tres etapas: 1) diferenciación genética y gonadal, que depende de la constitución genética; 2) diferenciación somática intrauterina y 3) maduración al llegar a la pubertad, o sea establecimiento del sexo legal. La diferenciación somática intrauterina se explica bien por el efecto de Jost (1947). La atrofia de los conductos de Müller y el desarrollo de los conductos de Wolff, responsables de la producción de la anatomía masculina, se inducen por el estímulo de los testículos del embrión. Es probable que el seudohermafroditismo masculino ocurra por una falla parcial de la función de los testículos embrionarios.

Los seudohermafroditas masculinos (mujeres XY) tienen 46 cromosomas con una constitución de cromosomas sexuales XY y exhiben cromatina X negativa. Estos seudohermafroditas producen un estado hormonal más o menos masculino y pertenecen a una forma de feminización testicular incompleta.[434,499]

4. Intersexo endocrino

El intersexo endocrino deriva de diversos tumores endocrinos o de otros trastornos hormonales que causan virilización de la hembra o feminización del macho. La virilización suprarrenal congénita es, por mucho, la causa más importante de intersexo evidenciable en clínica. En este caso no cabe duda de que la determinación del sexo nuclear es positiva para cromatina X.

5. Inversiones sexuales

En ocasiones existe discrepancia entre el sexo externo y el sexo nuclear. A esta categoría pertenecen tres estados representativos:

Feminización testicular

La feminización testicular (Morris, 1953)[433] es la forma extrema de seudohermafroditismo masculino en que el fenotipo es femenino a pesar de la presencia de testículos, pero no se nota hasta la pubertad. El estado hormonal femenino sugiere que las hormonas inapropiadas provienen de un trastorno metabólico de las células de Leydig. La prueba de la cromatina sexual es negativa y el estudio cromosómico arroja una constitución cromosómica XY.[313] La inteligencia es normal.

Síndrome de Turner

El síndrome de Turner (disgenesia gonadal pura), descrito por Turner (1938)[669] en mujeres con inversión sexual, se caracteriza por enanismo, infantilismo sexual, cuello membranoso congénito y cubitus valgus.[506] Además de este síndrome, a veces se observa coartación de la aorta y linfedema periférico. La mayoría de estas pacientes carecen de cromatina sexual[240,716] y tienen una constitución cromosómica XO, con un número modal de 45 como prototipo.[186]

Puede haber algunas excepciones con mosaicos,[366] como 45XO/46XY,[505] o 45XO/46XY/47XYY.[81] En los pacientes cromatina X negativos de esta categoría se dice que ocurre mosaicismo con un cromosoma Y en una proporción de alrededor de un caso de cada 20 sujetos con ovarios disgenésicos.[389]

Disgenesia gonadal cromatinopositiva. La disgenesia ovárica cromatinopositiva por mosaicismo se caracteriza por talla escasa, atrofia mamaria y amenorrea, lo cual es similar a los síntomas del síndrome de Turner verdadero, pero se diferencia por la falta de cuello membranoso, de linfedema periférico y de coartación de la aorta. Los principales mosaicos posibles son 45XO/46XX,[138,602] 45XO/47XXX[132] y 45XO/46XX/46XXr.[283] Esto último es el mosaicismo que tiene el X anular (Xr), con una replicación tardía característica.

Síndrome de Klinefelter

Klinefelter y sus colaboradores describieron el síndrome de disgenesia testicular, que se caracteriza por aspermia primaria con atrofia de los túbulos seminíferos y prominencia de las células de Leydig, ginecomastia y diversos grados de eunuquismo. La investigación hormonal puede arrojar altas concentraciones de gonadotrofina y bajas de 17-cetoesteroides urinarios. El síndrome representa una disgenesia gonadal asociada con aberración cromosómica. En la actualidad se cree que el síndrome se produce por un defecto en la diferenciación del sexo genético, o sea por una no disyunción meiótica en uno de los gametos. La mayoría de estos pacientes son positivos para cromatina X y también para cromatina Y,[174,504] y tienen 47 cromosomas con una configuración de cromosomas sexuales XXY.

En lo tocante a la frecuencia, German[209] menciona que la anormalidad 47XXY ha ocurrido una vez en cada 800 varones fenotípicos nacidos vivos.

De acuerdo con los estudios de Makino y col. sobre anormalidades cromosómicas en sujetos con síndrome de Klinefelter, 53 casos fueron cromosómicamente anormales sobre 56 pacientes que tenían el síndrome. De estos casos, 43 tuvieron el prototipo 47XXY y los 10 restantes exhibieron polisomía del cromosoma X y/o mosaicismo: 2 casos con 48XXXY, 1 con 49XXXXY, 3 con 48XXYY, 2 con mosaicismo 46XX/47XXY y 2 con 46XY/47XXY.

La presencia de un cromosoma X extra acrecienta la severidad de la disgenesia testicular y el retardo mental. Se pueden reconocer algunas otras variantes polisómicas

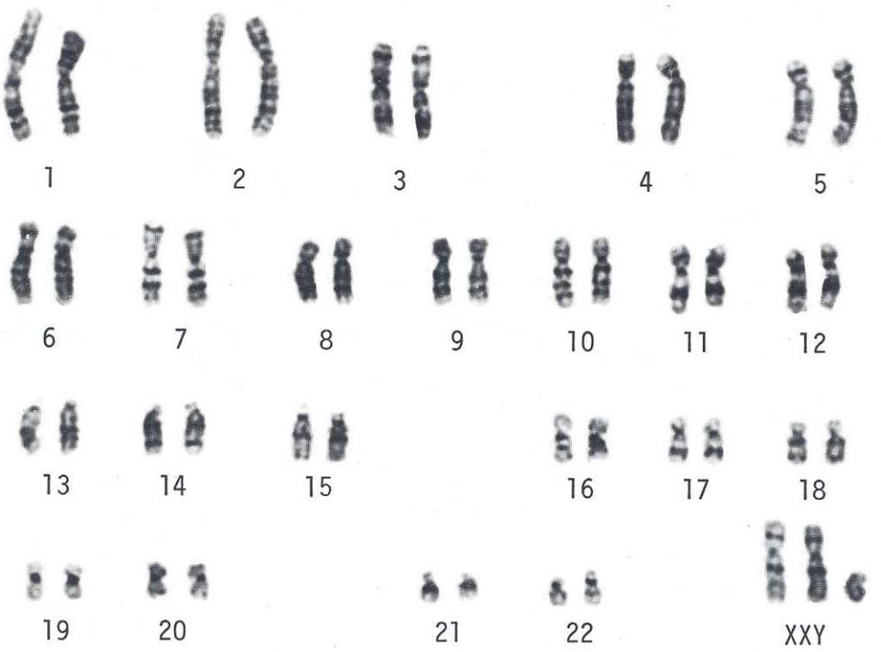


Fig. 189. Cariotipo del síndrome de Klinefelter, bandeado G.

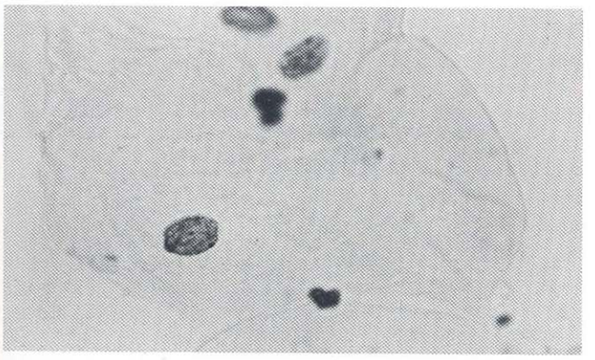


Fig. 190. Cromatina de nítido contorno triangular en una célula pavimentosa intermedia. De un caso con síndrome de Klinefelter que también es positivo para cromatina Y en el bandeado Q.

(XXXY,[92,175] XXYY,[93] XXXXY[191,194]) o complejos de mosaicos (XXY/XY).[380]

6. Supermujer

La supermujer[314] es un fenotipo con múltiples cromosomas X; este estado exhibiría retardo mental, amenorrea e hipoplasia de los órganos genitales, asociado con una constitución de cromosomas X polisómica. La constitución XXX, en que hay dos cuerpos X en los núcleos, es, por mucho, la anormalidad de los cromosomas sexuales más común en niñas recién nacidas.

De acuerdo con el estudio estadístico de Maclean[387] sobre la incidencia de anormalidades de los cromosomas sexuales, en neonatos varones la constitución XXY es la más común (1,1/1000), mientras que la variante polisómica XXYY (0,09/1000) y el complejo mosaico XXY/XY (0,28/1000) son muy raros. En lo tocante a las anomalías de los cromosomas sexuales en niñas neonatas, la supermujer (XXX) es más común (0,9/1000) que la constitución XO (0,4/1000).

7. Técnica para determinar la cromatina sexual

Aunque no puede sustituir a la cariotipificación cromosómica, la prueba de la cromatina X reviste utilidad práctica en medicina de laboratorio. La cromatina X se demuestra bien en los extendidos de piel,[394,429] membrana mucosa de la boca,[426] mucosa vaginal y uretral,[91] etc. Los cortes histológicos de los órganos parenquimatosos de las mujeres también revelan la cromatina X con la técnica del aplastamiento con acetocarmín. Se requiere una evaluación estricta de la configuración de la cromatina X[458] (fig. 196). En las mujeres los núcleos de los granulocitos presentan unos anexos nucleares que en un principio Davidson y Smith (1954)[131] denominaron "palillos de tambor". El palillo de tambor normal mide unos 1,5 μ de diámetro y aparece suspendido del lóbulo nuclear por un fino filamento. El método de los neutrófilos posee la misma utilidad diagnóstica que el recuento de la cromatina X, aunque se deben contar grandes cantidades de granulocitos para eliminar errores, porque la diferencia entre los porcentajes masculino y femenino no es muy grande. Se hallaron palillos de tambor en alrededor del 3% de los granulocitos en la mujer, pero son raros (menos del 0,2%) en el varón.

Los palillos de tambor son más frecuentes en los extendidos de neonatos y de pacientes que tienen el recuento diferencial desviado a la derecha; la menor frecuencia en pacientes con síndrome de Klinefelter y de Down se explica por la correlación entre la frecuencia de los palillos de tambor y la madurez o segmentación que se observa en los leucocitos polimorfonucleares.[419,660]

Preparación de extendidos

Extendidos yugales:

1. Ráspese la mucosa yugal con una espátula de madera y descártese la primera muestra.
2. Vuélvase a raspar cuidadosamente la misma área y extiéndase el material sobre un portaobjeto de vidrio limpio.
3. Fíjese inmediatamente el extendido en partes iguales de alcohol etílico al 95% y éter etílico por unos 30 minutos.

Extendidos vaginales:

Ráspese la pared vaginal con una espátula de madera. Tómese la precaución de obtener células de los estratos más profundos.

Schwarzacher recomienda como buen fijador una mezcla de 1 parte de ácido acético y 3 partes de alcohol etílico (96%), en lugar de alcohol etílico al 96% o éter y alcohol. La fijación se debe hacer antes de secar al aire.[578]

Procedimiento de tinción

Tinción de Guard[244]

1. Sáquense los portaobjetos del fijador y pásense por alcohol al 90% primero y al 70% después.
2. Coloréese el extendido con escarlata de Biebrich y verde rápido 2 minutos.
3. Enjuáguese 5 minutos en alcohol al 50%.
4. Diferénciese en verde rápido FCF durante 1 a 4 horas, observando el grado de diferenciación hasta que el citoplasma y el núcleo se tiñen de verde, mientras los núcleos picnóticos conservan su color rojo vivo.
5. Enjuáguese 5 minutos en alcohol al 50%
6. Deshidrátese y móntese en Permount.

Escarlata de Biebrich

Escarlata de Biebrich hidrosoluble (Harleco)	1 g
Ácido fosfotúngstico purísimo	0,3 g
Ácido acético glacial	5 ml
Alcohol etílico al 50 %	100 ml

Verde rápido FCF

Verde rápido FCF	0,5 g
Ácido fosfomolíbdico	0,3 g
Ácido fosfotúngstico	0,3 g
Ácido acético glacial	5 ml
Alcohol etílico al 50 %	100 ml

Tinción de tionina

1. Sáquense los portaobjetos del fijador y pásense por alcohol al 90%, alcohol al 70% y agua destilada.
2. Hidrolícese en CIH 1 N no más de 5 minutos a 56°C para eliminar las bacterias.
3. Colóquese en dos cambios de agua destilada 5 minutos cada vez.
4. Coloréese 5 minutos con solución de tionina.
5. Diferénciese y deshidrátese en alcohol al 70% y móntese en Permount.

Solución madre de tionina

Tionina	1 g
Alcohol etílico al 50%	1000 ml

Solución de trabajo de tionina

CIH 0,1 N	32 ml
Buffer madre: 9,7 g de acetato de sodio, 14,7 g de barbiturato de sodio y 500 ml de agua destilada	
Solución madre de tionina	40 ml

También existen otros colorantes, como hematoxilina eosina, acetoorceína fucsina carbólica,[94] y la reacción de Feulgen.

Resultados de la prueba para cromatina X

Se examinan con inmersión en aceite cien células normales. Los hombres exhiben menos del 10% de cromatina X y las mujeres más del 25 al 45%. La correlación entre las

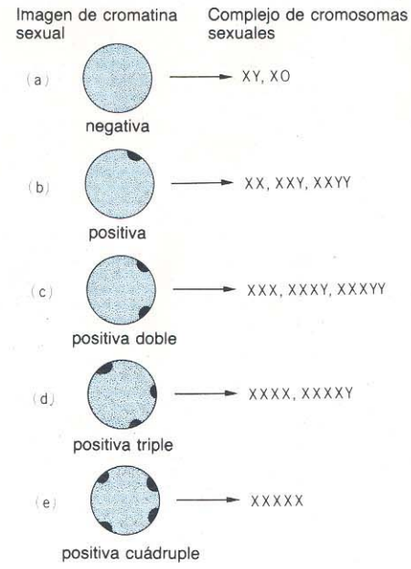


Fig. 191. Cromatina X y complejos de cromosomas X. (Barr, M. L.: Sex chromatin techniques. *En* Yunis, J. J. (dir.): Human Chromosome Techniques. Nueva York y Londres, Academic Press, 1965.)

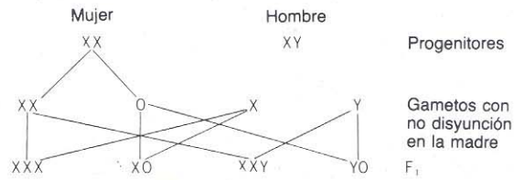


Fig. 192. Ocurrencia de anormalidades de los cromosomas sexuales por no disyunción del cromosoma X materno.

pautas de cromatina X y los complejos de cromosomas sexuales se puede resumir en un esquema (fig. 191).[38]

En general, la cantidad de células con cromatina X positiva que contienen los extendidos y las biopsias de piel varían de un laboratorio a otro; según Eggen,[155] los extendidos de las mujeres exhiben del 60 al 65% y las biopsias de piel un 80%. En consecuencia, cada laboratorio debe establecer su propia técnica para obtener las muestras y preparar los extendidos. Recuérdese que en la práctica un solo recuento no alcanza para determinar el valor de la cromatina X porque los recuentos varían en una misma persona de un día para otro y de acuerdo con distintos estados médicos; según Platt y Kailin,[501] los recuentos fueron bajos en la glomerulonefritis, síndrome de reacción química, atopia y recién nacido, y altos en la artritis reumatoidea, hemorragia gastrointestinal, etc. En pacientes cancerosos se mencionaron resultados discordantes, pues los recuentos fueron altos,[501] normales o bajos.[614,683] Platt interpreta que la variación se debe a la discrepancia en la etapa del cáncer.

8. Cromatina X en células cancerosas

En lo referente a las frecuencias de las cromatinas X en las neoplasias intraepiteliales de las lesiones cervicales, en la displasia severa y en el carcinoma *in situ* la cantidad de cromatinas X positivas está disminuida, mientras que entre la

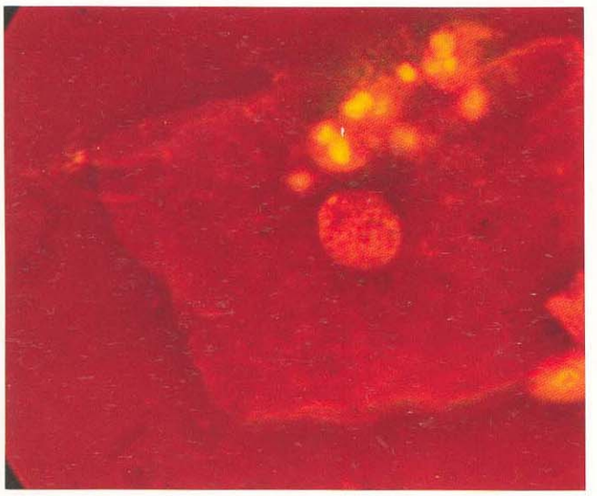


Fig. 193. Cromatina X en una célula pavimentosa intermedia. Microscopia de contraste de fase de interferencia diferencial.



Fig. 194. Cromatina X grande en una célula muy displásica. Nótese una gran cromatina X triangular en el borde nuclear.

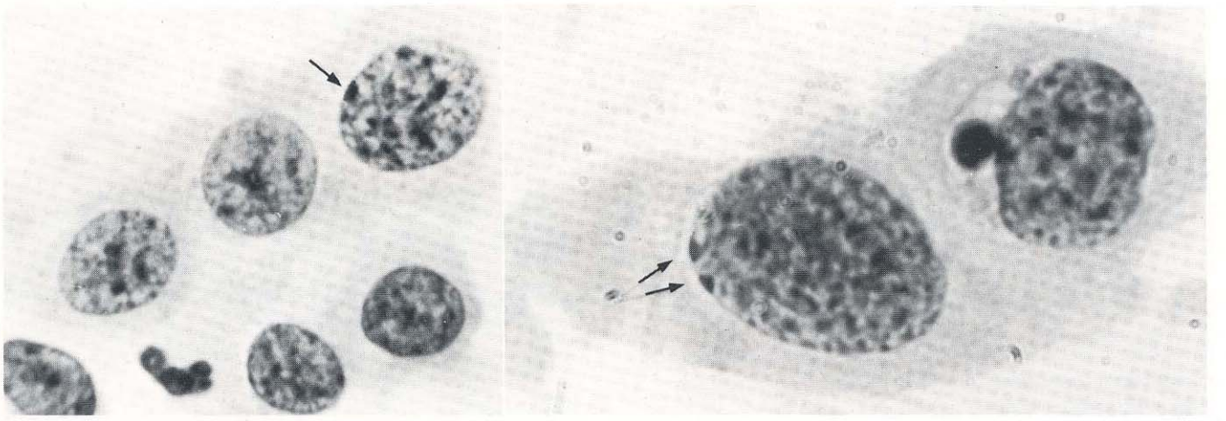


Fig. 195. Gran cromatina X y dobles cromatinas X en células cancerosas del cuello uterino. Aunque se diferencian poco respecto de las heterocromatinas, los puntos claves para identificarlas son la situación característica y la forma (*flechas*).

displasia leve y el epitelio normal no se detecta ninguna diferencia significativa. La frecuencia global de cromatinas X positivas de las células cancerosas disminuye a medida que la neoplasia intraepitelial cervical avanza; en nuestro estudio con pacientes que tenían carcinoma *in situ* y carcinoma invasor del cuello uterino, las cromatinas X positivas estuvieron disminuidas ($P<0,01$) (cuadro 39), aunque no existe ninguna concordancia importante con la etapa del cáncer. Se señaló la ocurrencia de dobles cromatinas X o de cromatinas X anormalmente grandes en las células cancerosas del cuello uterino (cuadro 40),[187,458] aunque una gran proporción de células cancerosas, en particular las anaplásicas, son cromatina X negativas.[427,604] La pauta de la cromatina X estudiada por Atkin en células cancerosas del cuello uterino, exhibió dobles cromatinas X en alrededor del 10%, triples cromatinas X en un 0,6% y cromatina negativa en el 40%.[27] Naujoks[448] investigó la distribución limitada al carcinoma *in situ* y observó prácticamente la misma incidencia de cuerpos de cromatina sexual múltiples. El estudio de Atkin[24,26] sobre la correlación entre la cromatina X y su valor modal de DNA, reveló que la célula que tiene una sola cromatina X pertenece casi a la diploidia, mientras que la célula con múltiples cromatinas X pertenece casi a la tetraploidia, que es un rasgo común de las células cancerosas.[381,611]

El agrandamiento de la cromatina X es progresivo durante la síntesis de DNA en la interfase y culmina antes de la mitosis (G_2). Es comprensible que muchas veces se observe agrandamiento de la cromatina X en las células cancerosas que se hallan en proliferación activa, en comparación con las células benignas que tienen un intervalo G_1 más o menos prolongado. Una descripción interesante es la ausencia de cromatina sexual, que sugiere escasa diferenciación del cáncer y es de mal pronóstico. El comportamiento de la cromatina X en las neoplasias malignas varía y todavía suscita discusiones.

Todavía no se ha esclarecido el mecanismo de la inactivación del X y/o de la heterocromatización del X. La sencilla explicación de que la pérdida del cromosoma X hace que

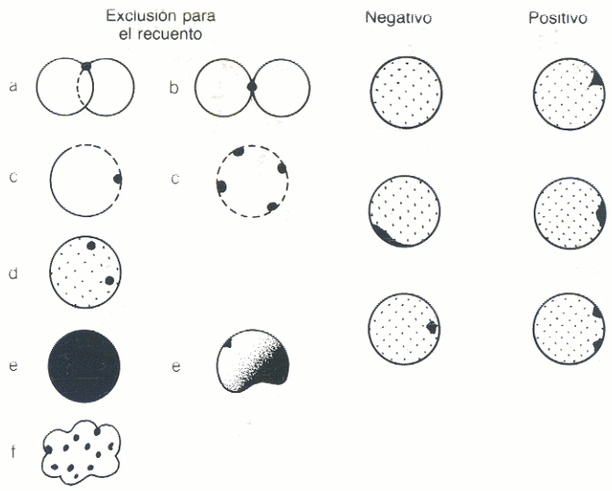


Fig. 196. Criterios para hacer el recuento de la cromatina X. Para no sobreestimar las cromatinas X conviene excluir las células superpuestas (*a*) o las células adosadas (*b*), las células degenerativas que han perdido membranas nucleares (*c*), las células cuya heterocromatina es semejante al cuerpo X separada de la membrana nuclear (*d*), las células picnóticas (*e*) y las células retraídas (*e'*). (Algo modificado de Ohashi, H., y Takahashi, M.: J. Jap. Soc. Clin. Cytol. *17*: 19, 1978.)

desaparezca el cuerpo X, no es apropiada para los tumores malignos que no exhiben pérdida de los cromosomas del grupo C+X. Straub y col.[629] sugirieron una reversión del estado citogenético de algunos tumores a la etapa embrionaria, en que la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa ligada al X en las mujeres revela una actividad del doble que en los varones.

Importancia de la cromatina X en el pronóstico

La utilidad de la incidencia de la cromatina X para establecer el pronóstico de las neoplasias, se utilizó en casos de cáncer de mama desde que Moore y Barr[428] aludieron a una variación de los recuentos de cromatina sexual en las células cancerosas de la mama: se dice que un grupo con una alta incidencia de cuerpos de cromatina X exhibió un buen tiempo de sobrevida o una buena respuesta terapéutica, cualquiera que fuese la diferenciación histológica del tumor.[58,323,324,686] Para evaluar el pronóstico, los casos con recuentos de cromatina X mayores del 20% son importantes porque constituyen un grupo cromatina X positivo de pronóstico favorable.[569]

Otros anexos nucleares

A los palillos de tambor se los debe distinguir respecto de varias otras protrusiones o anexos nucleares. En varones y en mujeres ocurren por igual unas pequeñas mazas pequeñas, de menos de 1 μ de diámetro, a veces múltiples, ligeramente basófilas y de pedículos finos. En cambio, a los nódulos sésiles se los considera variantes de los palillos de tambor. Los lóbulos accesorios o menores se pueden distinguir de los palillos de tambor por la presencia de dos tallos que se unen con los lóbulos principales. Además existen unas excrecencias nucleares filamentosas o espigas que brotan de los lóbulos en forma individual o en grupos (fig. 201).

Cuadro 39. Frecuencia de núcleos cromatina X positivos

Lesión	*Casos*	*Porcentaje (media ± D.E.)*	*Significación*
Normal	30	25,1 ± 6,4	
			No significativo
Displasia leve	13	22,7 ± 4,7	
			P<0,05
Displasia considerable	11	18,1 ± 4,5	
			No significativo
Carcinoma *in situ*	30	15,9 ± 6,1	
			P<0,01
Carcinoma invasor	27	11,3 ± 4,5	
Etapa 1	12	12,9 ± 4,5	
Etapa 2	9	11,9 ± 2,8	
Etapa 3	6	8,8 ± 4,0	

Johnson y col.[316] señalaron que muchas veces las excrecencias filamentosas atípicas se asocian con neoplasia maligna y se pueden producir en condiciones experimentales en animales preceptores de trasplantes tumorales. Consideraron que los casos en que la frecuencia de estas excrecencias excede del 20% son positivos. Este rasgo podría pertenecer a una categoría que Nieburgs definió como alteraciones asociadas con malignidad (AAM). Clausen y von Haam[109] confirmaron mediante microscopia electrónica que las prolongaciones nucleares fijadas a membranas de unos 400 Å de espesor son un rasgo peculiar que se relaciona con malignidad. Préstese atención al hecho de que el secado al aire de los extendidos de sangre produce una retracción irregular, de modo que los cuerpos inespecíficos y los contornos irregulares de los núcleos se prestan a confusión con alteraciones asociadas con malignidad.[470]

Cuadro 40. Frecuencia de la multiplicación de cromatinas X

	Casos	*Células cromatina X positivas*	*Células con doble cromatina X positiva*	*Células con triple cromatina X positiva*
Displasia	24	219	6/219 (2,7%)	0
Carcinoma *in situ*	30	221	27/221 (12,2%)	0
Carcinoma invasor	27	179	29/179 (16,2%)	1/179 (0,5%)

(Ohashi, H. y Takahashi, M.:J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *17*:19, 1978.)



Fig. 197. Prolongación acicular atribuible a una alteración vinculada con malignidad. De una mujer con carcinoma avanzado de estómago.

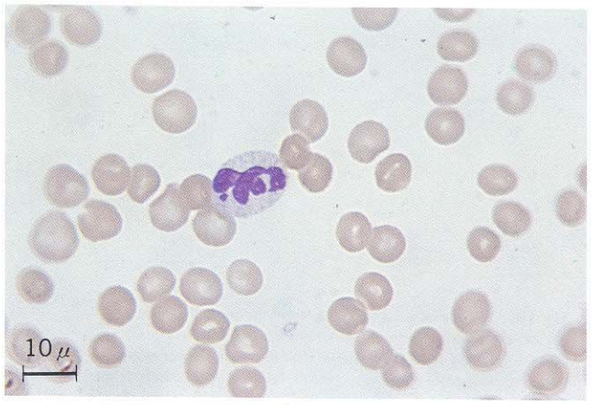


Fig. 198. Palillo de tambor en un leucocito neutrófilo. El palillo de tambor está unido a un lóbulo por medio de un filamento.

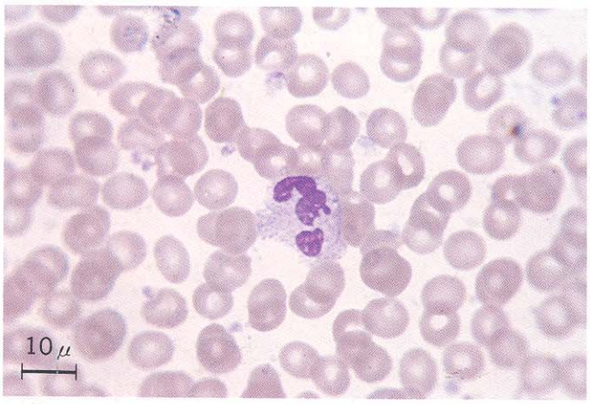


Fig. 199. Nódulo sésil en un leucocito neutrófilo. Se considera que reviste la misma significación que el palillo de tambor.

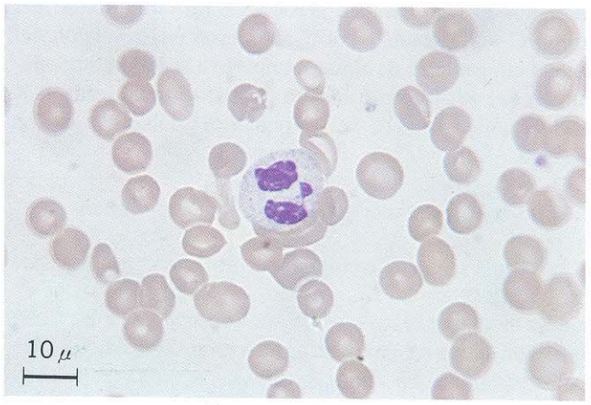


Fig. 200. Seudolóbulo de un leucocito neutrófilo.

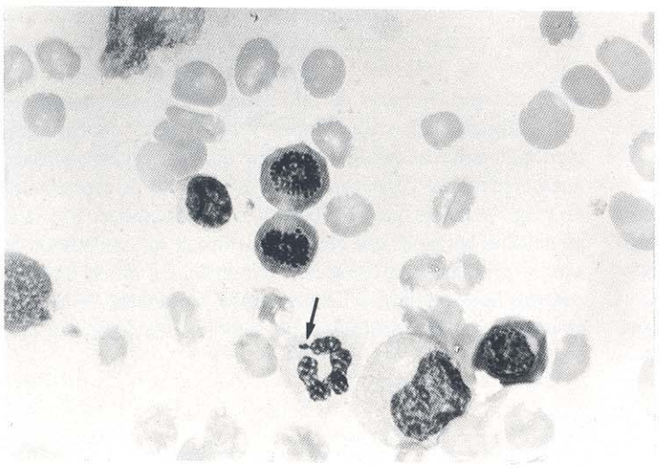


Fig. 201. Anexo nuclear formado como artificio en un leucocito. La flecha señala el anexo nuclear. En el medio de esta figura aparecen eritroblastos en la telofase de la mitosis.

19

Cromatina Y

La aplicación de fluorocromos de quinacrina a los estudios citogenéticos se ha convertido en una nueva técnica para demostrar bandeados cromosómicos reproducibles. La fluorescencia brillante en el segmento distal de los brazos largos del cromosoma Y se reconoce como un punto luminoso en el núcleo en interfase.

1. Configuración de la cromatina Y

La cromatina Y o cuerpo Y, es un punto fluorescente brillante de unos 0,3-1 μ de diámetro (fig. 202). En algunos núcleos consiste en una doble estructura de cuerpos gemelos de dos mitades separadas (fig. 203).[493,578]

Se dice que esta estructura se observa en la fase G_1 y también en la G_2.[580] El núcleo grande en crecimiento activo revela cierta dispersión de la cromatina Y en la fase intermitótica (Schwarzacher). Mientras que la cromatina X está radicada en el borde nuclear, la cromatina Y exhibe una relación espacial con el nucléolo; Bobrow y col. describieron una posición paranucleolar de la cromatina Y en alrededor del 59% de las células somáticas y Litton y col. en un 37% de las células malignas.[59,375] Therkelsen y Petersen[650] ofrecieron una interesante interpretación de la posición del cuerpo Y porque consideran que la frecuencia de cuerpos Y centrales aumenta durante la fase de crecimiento. Se supone que el segmento distal del brazo largo del cromosoma Y contiene una forma especializada de material genético que interviene en la organización del nucléolo.[59]

2. Evaluación de la prueba para cromatina Y

La cantidad de cromatinas Y concuerda directamente con la cantidad de cromosomas Y. El recuento de la cromatina Y es útil para buscar anormalidades numéricas de los cromosomas Y, porque puede sugerir síndrome YY, síndrome de Klinefelter, seudohermafroditismo masculino (mujer XY) y sus mosaicos, combinándolo con la prueba para cromatina X. En algún caso excepcional aparece un cariotipo con un cromosoma Y extremadamente pequeño y de muy poca fluorescencia, que carece de cuerpo Y en el núcleo en interfase.[63,579] Al aplicar el recuento de palillos de tambor a la determinación del sexo nuclear, la fluorescencia con quinacrina de los leucocitos polimorfonucleares posee la misma utilidad diagnóstica. Hale y col.[252] describieron un cuerpo Y positivo en el 79 ± 5,2% de los leucocitos polimorfonucleares masculinos y lo hallaron principalmente en el borde nuclear. Dada la baja frecuencia de cuerpos fluorescentes positivos en los leucocitos femeninos, pues no llega al 9%, es suficiente explorar una pequeña cantidad de leucocitos para establecer el sexo nuclear.

Un punto importante para evitar interpretaciones erróneas es la presencia de unos minúsculos puntos fluorescentes similares a los cuerpos Y; se considera que estos puntos derivan de segmentos de otros autosomas que emiten mucha fluorescencia, como la centrómera del cromosoma 3, el satélite del cromosoma 13 y otros (cromosomas acrocéntricos de los grupos D y G). En consecuencia, no se debe interpretar que un minúsculo punto fluorescente sea un cuerpo Y verdadero. En cambio, la ausencia del cuerpo Y no significa necesariamente que el cromosoma Y no exista. En ocasiones se ve la cromatina X al hacer la tinción Q, pero no se la debe tomar por un cuerpo Y porque es más grande, su fluorescencia es más débil y está en el borde nuclear.[300]

3. Técnica de la determinación de la cromatina Y

Como fluorocromo para estudiar la cromatina Y, se emplea mostaza quinacrínica y dihidrocloruro de quinacrina. La mostaza quinacrínica emite una fluorescencia 10 veces más intensa que el dihidrocloruro de quinacrina, y por esta razón se presta para realizar estudios cuantitativos.[96]

Preparación de los extendidos

Después de enjuagar la boca, ráspese con firmeza varias veces la mucosa yugal con una espátula y disemínese la muestra sobre portaobjetos de vidrio limpios. Fíjense los portaobjetos inmediatamente en alcohol etílico al 96% o en ácido acético y alcohol por una hora.

Para una muestra raspada de la lesión o de la superficie de corte de un tumor, suspéndase el material en solución fisiológica para centrifugarlo. Disemínese el pellet de células con uniformidad sobre portaobjetos de vidrio limpios y fíjese antes de secar.[590]

Addendum: Para no contar erróneamente la heterocromatina de los autosomas, se recomienda suspender 15 minutos la muestra raspada del tumor en solución de citrato de sodio al 0,9% (Takahashi). También conviene hacer una hidrólisis suave (ClH 5N a temperatura ambiente 3 minutos) para evitar interpretaciones erróneas.[493]

Procedimiento de tinción

Para extendidos:

1. Sáquense los portaobjetos del fijador y pásense por alcoholes de concentración decreciente hasta agua.

Cuadro 41. Cuerpos Y en células cancerosas de pulmón

Caso	Sexo	Edad	Histodiagnóstico	Células contadas	Cuerpos Y 1+	2+	3+	4+	%
Mi.G.	M	53	Ca. epidermoide	78	16	0	0	0	20,5
Ta.K.	M	68	Ca. epidermoide	120	37	16	1	0	45,0
Ig.R.	M	45	Ca. células grandes	151	18	2	0	0	13,2
Oh.K.	M	45	Ca. células pequeñas	156	5	1	0	0	3,8
Ok.T.	M	38	Ca. células pequeñas	280	12	1	0	0	4,6
Sh.I.	M	48	Ca. células pequeñas	474	175	6	0	0	38,2
Ki.J.*	M	57	Ca. células pequeñas	211	5	0	0	0	2,4
			Adenocarcinoma	153	34	3	0	0	24,2
Sa.T.	M	53	Adenocarcinoma	321	105	15	19	0	43,3
Ta.T.	M	48	Adenocarcinoma	204	58	44	12	2	56,9
Ta.N.	M	38	Adenocarcinoma	300	115	130	20	0	88,3
Og.S.	M	45	Coriocarcinoma	101	53	25	13	0	90,1
Testigos		n = 20	Linfocitos	2.000					77,6 ± 5,4
			Células bronquiales	159	130				81,8

* Este caso tenía carcinoma de células pequeñas en el pulmón derecho y adenocarcinoma en el izquierdo.
(TAKAHASHI, M.: Acta Cytol. *21*:132, 1977. © 1977 International Academy of Cytology)

Cuadro 42. Cuerpos Y en células cancerosas del tracto gastrointestinal

Caso	Sexo	Edad	Histodiagnóstico	Células contadas	Cuerpos Y 1+	2+	3+	4+	%
Ka.S.	M	59	Adenoca. gástrico	65	15	0	0	0	23,1
Na.T.	M	47	Adenoca. gástrico	68	10	2	0	0	17,6
Ya.R.	M	43	Adenoca. gástrico	109	11	3	0	0	12,8
Ta.M.	M	51	Adenoca. gástrico	199	7	1	0	0	4,0
Oh.K.	M	49	Adenoca. gástrico	300	26	0	0	0	8,7
Ya.T.	M	52	Adenoca. gástrico	88	41	4	1	0	52,3
Ko.M.	M	70	Ca. gástrico incip.	281	115	75	1	0	68,0
Ts.H.	M	49	Ca. gástrico escirr.	35	23	1	0	0	68,6
			Mucosa benigna	104	90	1	0	0	87,5
Ha.B.	M	76	Adenoca. gástrico	71	5	0	0	0	7,0
			Mucosa benigna	70	52	0	0	0	74,3
Ta.Z.	M	48	Adenoca. rectal	351	40	21	16	2	22,5
En.R.	M	48	Adenoca. rectal	289	105	65	2	0	59,5
Ho.R.	M	39	Adenoca. sigmoideo	120	5	1	0	0	5,0
			Mucosa benigna	235	190	0	0	0	80,9
Ta.N.	M	47	Adenoca. rectal	67	2	0	0	0	3,0
			Mucosa benigna	230	172	0	0	0	74,8
Se.T.	M	49	Adenoca. rectal	104	21	1	0	0	21,2
Ki.S.	M	49	Adenoca. pancr.	105	5	2	0	0	6,7
Og.W.	M	47	Úlcera gástrica	87	70	0	0	0	80,5
Ok.T.	M	40	Gastritis crónica	25	20	0	0	0	80,0
Na.M.	M	48	Gastritis crónica	38	30	0	0	0	78,9

(TAKAHASHI, M.: Acta Cytol., *21*:132, 1977. © 1977 International Academy of Cytology)

Cuadro 43. Cuerpos Y y cromosomas Y en células cancerosas cultivadas

Línea celular	Sexo	Histodiagnóstico del tumor primario	Pases en subcult.	Cuerpo Y o cromosoma Y	Cantidades contadas	Fluorescencia positiva 1+	2+	3+	4+	%
PC4	M	Adenocarcinoma de pulmón	45	Cuerpo Y	526	44	13	0	0	10,8
PC5	M	Ca. epidermoide de pulmón	47	Cuerpo Y	497	22	1	0	0	4,6
			73	Cuerpo Y	163	7	1	0	0	4,9
PC6	M	Ca. cél. avena de pulmón	25	Cuerpo Y	520	330	78	16	3	82,1
			25	Cromosoma Y	112	54	14	1	0	61,6
PC7	M	Adenocarcinoma de pulmón	72	Cuerpo Y	606	53	10	1	0	10,6
			72	Cromosoma Y	63	4	0	0	0	6,3
PC8	M	Adenocarcinoma de pulmón	62	Cuerpo Y	200	28	1	0	0	14,5
			115	Cuerpo Y	263	43	5	0	0	18,3
			115	Cromosoma Y	12	1	0	0	0	8,3
RH1	M	Ca. de células renales	25	Cuerpo Y	307	16	3	0	0	6,2
PC3	F	Adenocarcinoma de pulmón	92	Cuerpo Y	540	0	0	0	0	0

(TAKAHASHI, M.: Acta Cytol. *21*:132, 1977. © 1977 International Academy of Cytology)

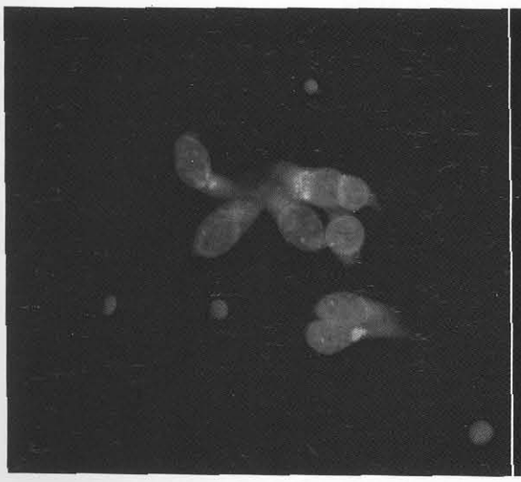


Fig. 202. Células columnares ciliadas normales que exhiben cuerpos Y muy fluorescentes únicos en sus núcleos. Las partículas amarillentas son compatibles con gránulos de fucsina.

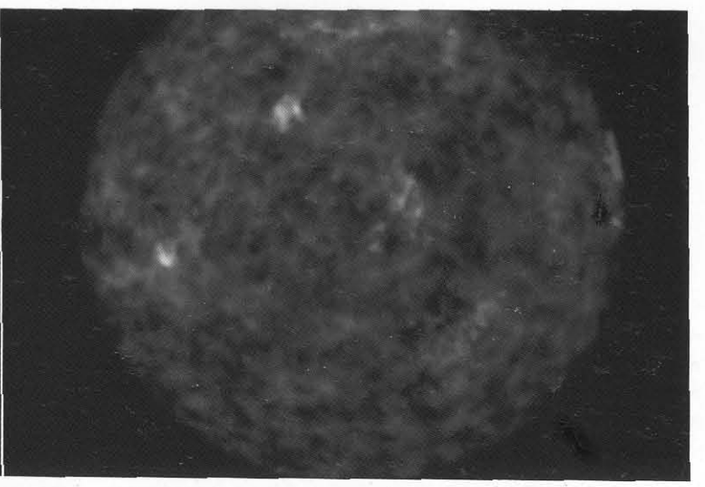


Fig. 203. Célula de adenocarcinoma pulmonar que exhibe dobles cuerpos Y con una estructura constituida por cuerpos gemelos. Las minúsculas partículas fluorescentes no son cuerpos Y.

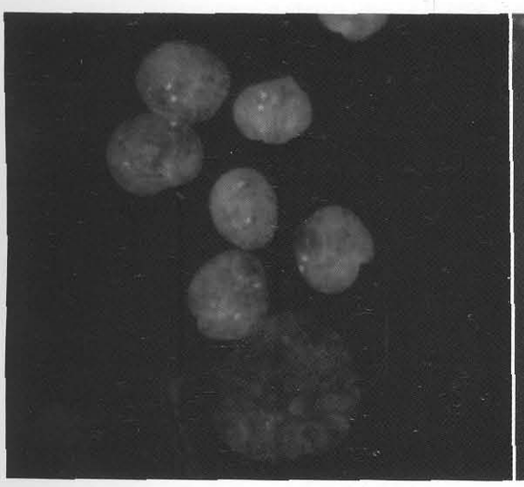


Fig. 204. Pequeñas células adenocarcinomatosas con muchos cuerpos Y dobles. De un caso de adenocarcinoma pulmonar.

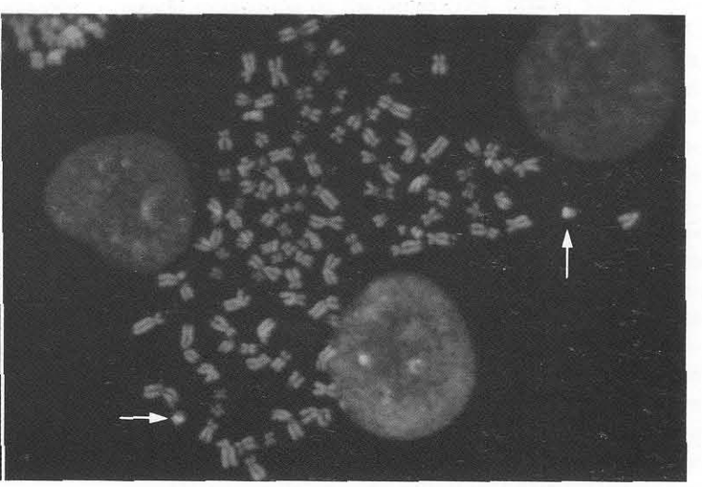


Fig. 205. Cromosomas en metafase de un carcinoma de células en avena en cultivo. Nótense los dobles cromosomas Y que emiten una fluorescencia brillante en el segmento distal de los brazos largos (*flechas*).



Fig. 206. Célula de adenocarcinoma con cuerpos Y cuádruples. De un hombre con adenocarcinoma de recto.

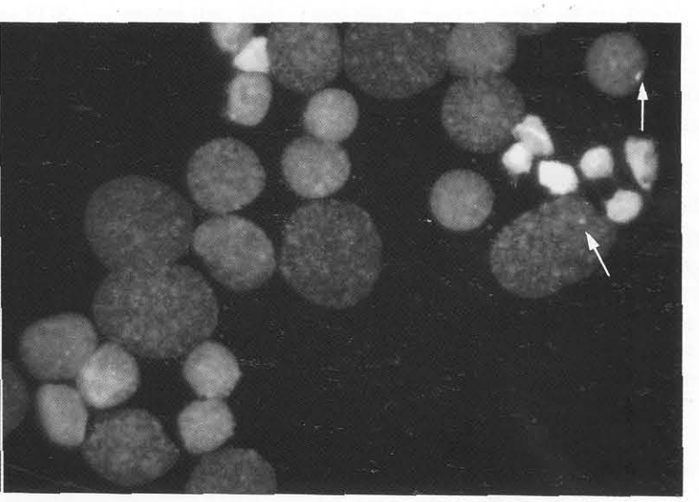


Fig. 207. Carcinoma de células de avena con baja frecuencia de cuerpos Y. Los minúsculos puntos débilmente fluorescentes indican cromatinas Y (*flechas*). La mayoría de las células cancerosas no tienen cuerpos Y fluorescentes.

2. Tíñase con solución acuosa de mostaza quinacrínica al 0,005% (o con dihidrocloruro de quinacrina al 0,5%) 20 minutos a 20°C.
3. Colóquense los portaobjetos 5 minutos en solución de buffer de fosfato (pH 6).
4. Móntese con solución buffer.

Para cortes de tejidos (Kovács y col.)[351]:

1. Desparafinícense cortes de tejidos seccionados a unos 4 μ de espesor.
2. Pásense por soluciones graduadas de alcohol.
3. Colóquense los cortes en tripsina al 0,25% (Difco) en solución salina balanceada 30 minutos a 37°C y después lávese con agua destilada.
4. Sumérjase en ácido acético al 2%.
5. Coloréese 5 minutos con solución de ácido acético al 2% que contenga el 0,5% de dihidrocloruro de quinacrina.
6. Lávense los cortes con 2 cambios de agua destilada.
7. Móntese con agua destilada.

4. Cromatina Y en las células cancerosas

Las anormalidades de la cromatina X en las neoplasias cervicales han suscitado considerable polémica y se ensayó la detección de cromatinas X faltantes, duplicadas y/o triplicadas a la búsqueda preliminar del carcinoma incipiente del cuello uterino,[223] vejiga urinaria,[30] etc. En lo tocante al comportamiento de las cromatinas Y en las neoplasias malignas del varón, han aparecido publicaciones contradictorias (cuadros 41 y 42).

Atkin encontró cromatinas Y en las células de la mayoría de los tumores de los varones.[28] Litton y col.[375] aceptan esto porque observaron frecuencias muy grandes de cuerpos fluorescentes, desde el 78,1% en un caso de ganglioneuroblastoma hasta el 100% en un caso de reticulosarcoma (figs. 204 y 206). En cambio, no fue infrecuente encontrar neoplasias Y negativas; se encontró cromatina Y con una frecuencia del 10% o menos, que se consideró negativa para el cuerpo Y, en alrededor del 21%[591] al 27%[636] de todas las neoplasias malignas (fig. 207). Sandberg y Sakurai[746] observaron ausencia de cromosomas Y en 4 de 103 pacientes con leucemia mielógena crónica; aunque no se pudo verificar ninguna evidencia sugestiva franca que tuviese importancia pronóstica, se mencionó el hecho de que estos pacientes nunca entraron en la fase blástica.

La diferencia del comportamiento de la cromatina Y entre las células benignas y malignas no sólo consiste en la frecuencia, sino también en la multiplicidad. Según los estudios de Litton y col., ocurrieron duplicaciones y triplicaciones muy frecuentes, además de altas tasas positivas en los recuentos celulares totales de neoplasias malignas del varón.

Vale la pena señalar que la aparición de múltiples cromatinas Y hasta se observó en casos con frecuencia de cromatina Y relativamente baja. No se han ofrecido explicaciones fáciles de entender sobre las variaciones numéricas de las cromatinas Y. Pueden plantearse varias incógnitas: 1) aunque se mencionó que ocurre pérdida de los cuerpos Y en las neoplasias incipientes o en el estado precanceroso,[591] falta esclarecer si estas evidencias se relacionan o no con la iniciación o promoción del tumor; 2) un punto práctico importante es que junto con las células tumorales se pueden leer erróneamente células epiteliales y estromales benignas en las piezas quirúrgicas, aunque el tumor sea sólido y esté localizado, y 3) no se sabe con seguridad si en realidad los cuerpos Y aumentados y faltantes significan adiciones y pérdidas de cromosomas Y. Un estudio comparativo sobre los núcleos de células cancerosas cultivadas en metafase e interfase, ha arrojado cierta luz sobre estas cuestiones (fig. 205, cuadro 43). Peterson y col. señalaron que después de unos 30 pasajes los cromosomas Y disminuyen,[496] y también en nuestros estudios con cultivos la frecuencia de cuerpos Y fue muy baja, pues no llegó al 18% en cinco de seis líneas celulares y se mantuvo bastante constante en los subcultivos continuos. Una línea celular derivada de un carcinoma pulmonar de células de avena poseía múltiples cuerpos Y, así como cromosomas Y dobles y triples. A pesar de que las cromatinas Y múltiples mayores de tres, son frecuentes, la rareza de los cromosomas Y triples y cuádruples no se puede explicar por el mero aumento numérico de los cromosomas Y. Es importante contar cuidadosamente los cuerpos Y de configuración y fluorescencia constantes en extendidos bien preservados y bien coloreados, porque algunos autosomas pueden emitir fluorescencia heteropicnótica con alteración o no de la relación entre el contenido de A-T y G-C.

20 Enfoque citoquímico de isoenzimas vinculadas con malignidad

Se hicieron varias investigaciones enzimológicas encaminadas a detectar marcadores para distinguir entre células malignas y sus equivalentes benignos. Las diferencias son cuantitativas y cualitativas. La bioquímica de las células malignas se simplifica, cualesquiera que sean sus tejidos originarios, al mismo tiempo que se pierde la diferenciación morfológica. Con la carcinogénesis, las isoenzimas específicas para los diversos órganos se simplifican y se tornan similares a las del tejido fetal.[237]

Las actividades enzimáticas que intervienen en la glucólisis están aumentadas en las neoplasias malignas porque la glucólisis produce una gran energía metabólica para el acelerado ciclo mitótico y para la intensa síntesis de DNA.

Se comprueba doble actividad enzimática para los tejidos neoplásicos, en comparación con los normales, de aldolasa, gliceraldehído fosfato deshidrogenasa, fosfoglicerato cinasa, piruvato cinasa[165] y lactato deshidrogenasa.[600]

1. Aldolasa

Algunas isoenzimas exhiben reacciones reguladoras reversibles y la aldolasa es un ejemplo de ellas; una isoenzima favorece el clivaje del fructosa-1,6-difosfato a dihidroxiacetona y D-gliceraldehído-3-fosfato (glucólisis), y otra se presta para la síntesis de fructosa-1,6-difosfato (gluconeogénesis). Estas aldolasas ocurren en diversas proporciones en distintos tejidos. En la actualidad, la aldolasa, que se conoce como fructosa difosfato aldolasa y fructosa-1,6-difosfato D-gliceraldehído-3-fosfato liasa (EC 4.1.2.13), tiene tres tipos de isoenzimas que exhiben distintas relaciones FDP/F-1-P; el tipo A (músculo) que actúa para la glucólisis, revela la relación más alta, de alrededor de 50, mientras que el tipo B (hígado), que interviene en la gluconeogénesis, exhibe la relación 1 y el tipo C (encéfalo) la relación 10. Todavía no se demostró ninguna función fisiológica especializada para el tipo C. Se confirmó que los tejidos cancerosos tienden a desviarse hacia el tipo A.[567,578,668] Como se sabe que el ATP es un inhibidor de la aldolasa muscular,[610] se puede hacer un estudio citoquímico.

2. Lactato deshidrogenasa

La lactato deshidrogenasa o deshidrogenasa láctica, que pertenece al grupo de las enzimas glucolíticas, es un tetrámero controlado por dos genes. Se sabe que en cinco formas tetraméricas de lactato deshidrogenasa los genes A y B caracterizan a distintos tipos celulares y expresan distintas etapas de la diferenciación celular.[166] La tipificación celular de acuerdo con la "teoría aeróbica y anaeróbica" es útil para examinar la función fisiológica porque los tejidos que dependen de la glucólisis anaeróbica, como el músculo esquelético, son ricos en "subunidades A", mientras que los que metabolizan en aerobiosis, con alta tensión de oxígeno, son ricos en "unidades B".[88,164] Las cinco variedades de deshidrogenasa láctica se denominan A_0B_4, A_1B_3, A_2B_2, A_3B_1 y A_4B_0, pero Kaplan (1963)[326] también las designa H_4, MH_3, M_2H_2, M_3H y M_4.

Una excepción que no concuerda con esta teoría es el estado metabólico de los hepatocitos, porque los que son ricos en mitocondrias contienen pocas subunidades B o H. Además de la mayor actividad de LDH, se piensa que la desviación del zimograma de LDH hacia un predominio del tipo puro A o M* y la mayor relación entre LDH-4 y LDH-2 en los tejidos cancerosos,[222,360,517] son responsables del aumento de la glucólisis anaeróbica. En la carcinogénesis inducida con sustancias químicas se registró un aumento de la actividad enzimática, asociada con una desviación hacia la subunidad M, empezando en la atipia precancerosa y aumentando hasta la cancerización manifiesta.[212,362] En carcinogénesis experimentales de la vejiga urinaria de ratas machos, inducidas mediante el ingreso oral de N-butil-N (4-hidroxibutil) nitrosamina al 0,05% en el agua de bebida, observamos una gran elevación de la actividad de LDH con desviación hacia las subunidades M al comienzo de la décima semana, en cuyo momento aparecieron hiperplasia y papiloma. También fue notable que en la orina se detectasen subunidades de tipo muscular, aunque un poco tarde en comparación con la alteración histoquímica incipiente, mientras se instalaba el cáncer (fig. 208). También se observó la desviación isoenzimática a partir de la etapa precancerosa en otros experimentos, como en el cáncer pulmonar inducido con 4-nitroquinolina-1-óxido en ratones A/J[212] y cáncer mamario inducido con 7,12-dimetilbenz [a] antraceno en ratas Sprague-Dawley.[362]

Las tinciones citoquímicas de aldolasa y lactato deshidrogenasa no son muy elocuentes para establecer la actividad enzimática total en citología oncológica porque también reaccionan las células benignas, pero la distinción de las isoenzimas de LDH para caracterizar diversos tipos celulares y reconocer estados metabólicos halla aplicación en citodiagnóstico porque en la práctica se pueden aprovechar las distintas propiedades fisicoquímicas de las isoenzimas para diferenciar las subunidades H y M (figs. 209 a 211).

* La relación entre las subunidades M y las subunidades H se calcula por sus fracciones electroforéticas (zimogramas) del siguiente modo:

$$M/H = \frac{LDH\text{–}5 \times 4 + LDH\text{–}4 \times 3 + LDH\text{–}3 \times 2 + LDH\text{–}2 \times 1}{LDH\text{–}1 \times 4 + LDH\text{–}2 \times 3 + LDH\text{–}3 \times 2 + LDH\text{–}4 \times 1}$$

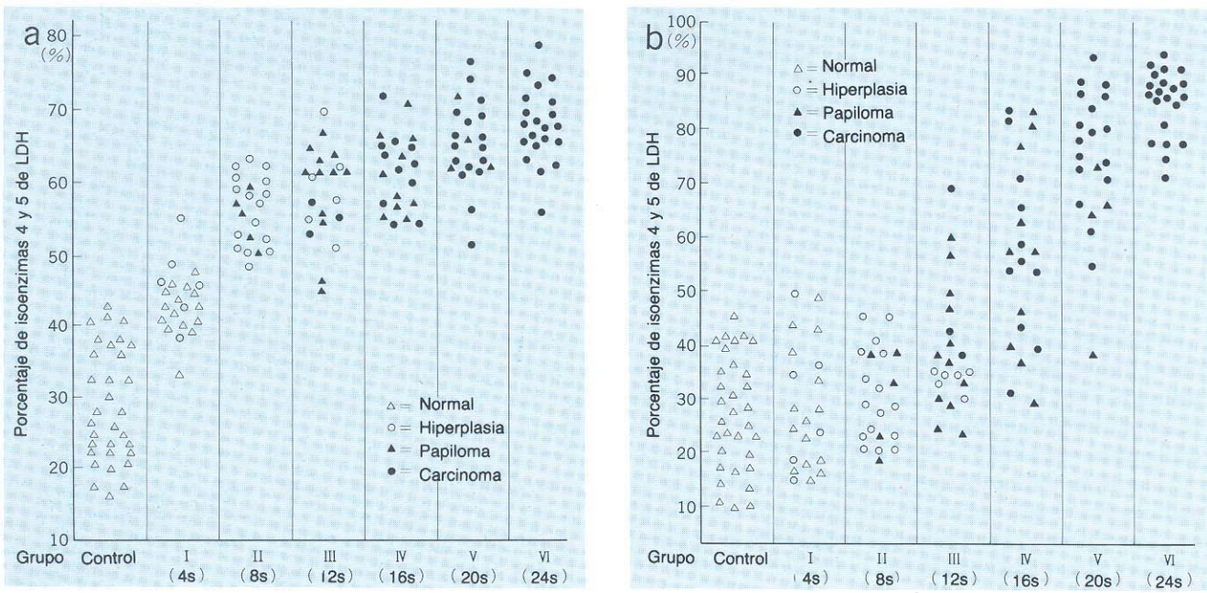


Fig. 208. Proporción de subunidades M de LDH en el carcinoma vesical (ratas ACI) inducido con N-butil-N-(4-hidroxibutil)nitrosamina. *a*, Extractos del epitelio vesical. *b*, Orina. *Nota*: Cada grupo fue sacrificado por orden de semanas experimentales. La NBN se administró todos los días al 0,05 % en el agua de bebida.

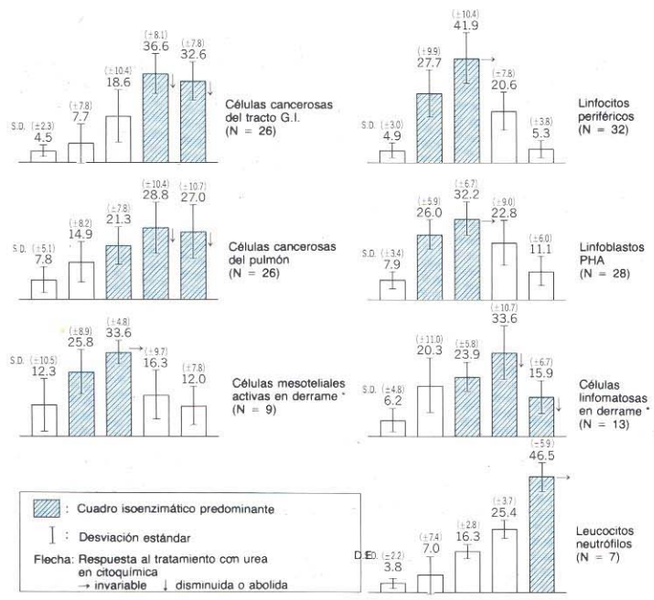


Fig. 209. Isoenzimas de LDH en los extractos de diversas células. Los derrames son de casos limitados en que la mayoría de las células exfoliadas eran monomórficas.

3. Determinación citoquímica de las subunidades H y M de LDH

Las distintas propiedades bioquímicas y físicas de las isoenzimas de LDH se pueden aplicar a la citoquímica. En la tinción citoquímica se puede inhibir la actividad enzimática para las subunidades M mediante tratamiento con urea o calentamiento, y para las subunidades H haciendo tratamiento con oxalato (figs. 210 y 211).

Tinción de LDH mediante inhibición con urea para identificar las subunidades M

1. Prepárense los extendidos, déjense secar y manténganse 30 minutos a 4°C.
2. Fíjese con acetona fría 5 segundos.
3. Agréguese urea hasta una concentración final de 2,6 M en la siguiente solución tintorial antes de colorear.

Solución regulada Tris-ClH a pH 7,4	10 ml
H_2O	20 ml
CNK 0,4 g/100 ml	4 ml
Lactato de sodio al 60%	0,8 ml
NAD	30 mg
NBT	20 mg
Cl_2Mg	trazas

4. Coloréese con urea y sin ella 30-60 minutos a 37°C, respectivamente, e interrúmpase la reacción con formol al 10%.
5. Enjuáguese bien con agua destilada.
6. Hágase una postinción nuclear con solución de safranina al 1% o sulfato de aluminio al 5% y rojo rápido nuclear al 0,1%.
7. Móntese en Permount.

Nota: Para identificar las subunidades M de LDH se debe hacer una tinción para LDH total con fines comparativos.

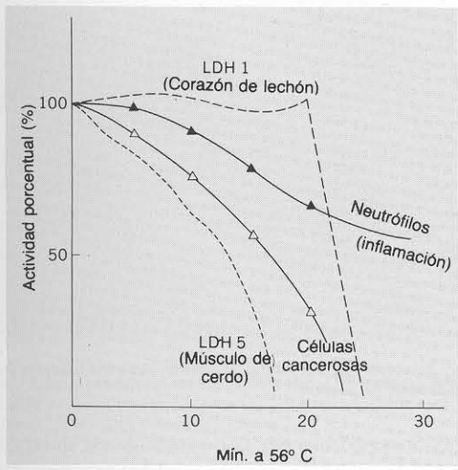


Fig. 210. Termosensibilidad de las isoenzimas purificadas LDH-1 y LDH-5, y de extractos de células cancerosas.

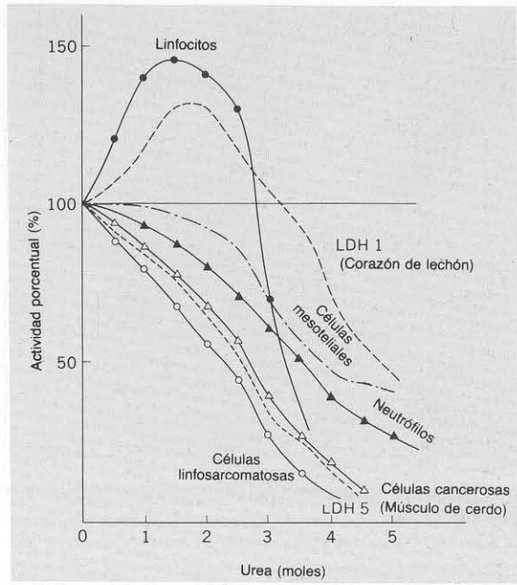


Fig. 211. Sensibilidad a la urea de las isoenzimas LDH-1 y LDH-5, y de extractos celulares. La concentración de 2,6 M de urea se presta para hacer tinción citoquímica discriminativa para estabilidad o sensibilidad a la urea.

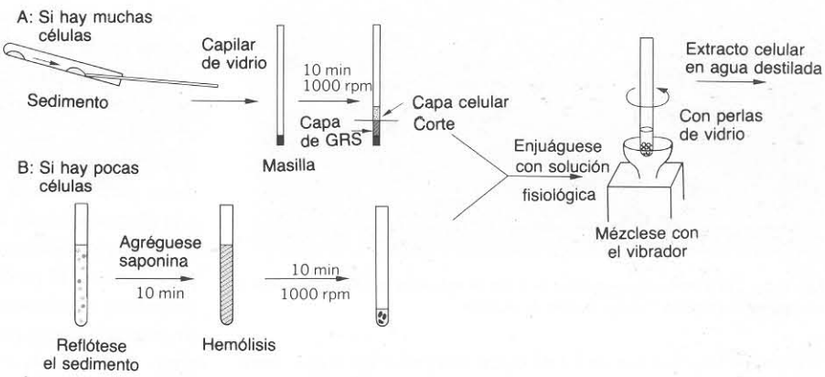


Fig. 212. Procedimiento para obtener extractos celulares en citología diagnóstica.

Determinación semicuantitativa de isoenzimas de LDH en extractos celulares

Principio. En los extractos celulares se puede realizar una determinación cuantitativa de cinco tetrámeros midiendo la actividad total y haciendo electroforesis. Las muestras celulares de los líquidos y raspados de lesiones neoplásicas o benignas se deben enjuagar bien con solución fisiológica hasta que no se detecte actividad enzimática en el sobrenadante. En lo sucesivo la muestra se procesa hasta la extracción celular mediante tratamiento con una solución hipotónica.

Procedimiento (fig. 212):

1. Centrifúguense el líquido ascítico, el líquido pleural y otros líquidos* 5 minutos a 1000 rpm.
2. Colóquense los sedimentos celulares en tubos capilares de vidrio de 110 mm de longitud y 1,5 mm de espesor, y ciérrese una abertura con masilla.

* Los raspados de los tejidos de las lesiones se preparan como muestras líquidas con 10 ml de solución de Ringer.

3. Centrifúguese 10 minutos a 1000 rpm y obténganse sedimentos celulares de un volumen más o menos igual cortando los capilares; las capas de eritrocitos que están en el fondo se pueden excluir con facilidad.
4. Enjuáguense las muestras de células con solución fisiológica y centrifúguese 3 veces.
5. Colóquese el sedimento en 0,2 ml de agua destilada agregando 10 perlas de vidrio de 2 mm y mézclese con el vibrador 5 minutos. Repítase el mezclado vibrátil después de un intervalo de 5 minutos.
6. Determínese la actividad de LDH total y hágase la separación electroforética de las isoenzimas en el sobrenadante.

Aplicación diagnóstica. Además de medir la actividad total de LDH, para diagnosticar neoplasias malignas se hacen determinaciones semicuantitativas de isoenzimas con extractos celulares y tinciones citoquímicas cualitativas de las células exfoliadas. Es evidente que las células cancerosas contienen menos subunidades H (LDH-1 y LDH-2) que sus equivalentes normales. La preponderancia de la subunidad M (LDH-4 y LDH-5), cualesquiera que sean los sitios primarios y los tipos histológicos (figs. 213 y 214), se puede aplicar al diagnóstico citoquímico porque las unidades M de las neoplasias malignas se inhiben con facilidad mediante tratamiento con urea. Los estudios experimentales sobre carcinogénesis química[212,362] también revelan que la determi-

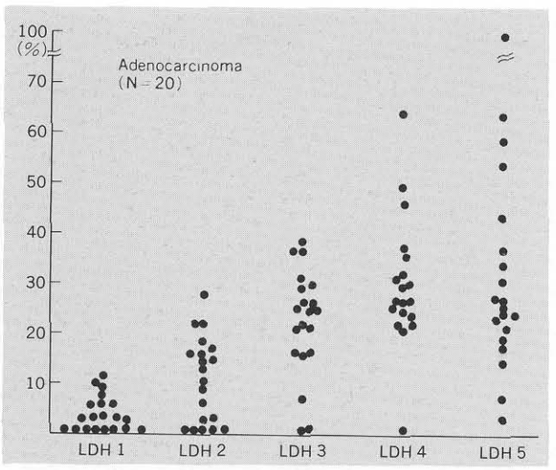


Fig. 213. Fracciones de isoenzimas de LDH en extractos de células de adenocarcinoma de pulmón.

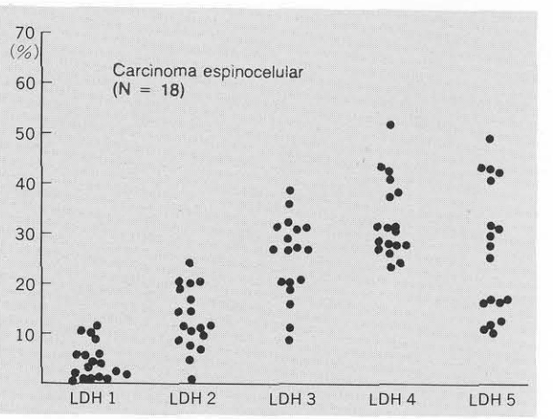


Fig. 214. Fracciones de isoenzimas de LDH de extractos celulares de carcinoma espinocelular de pulmón.

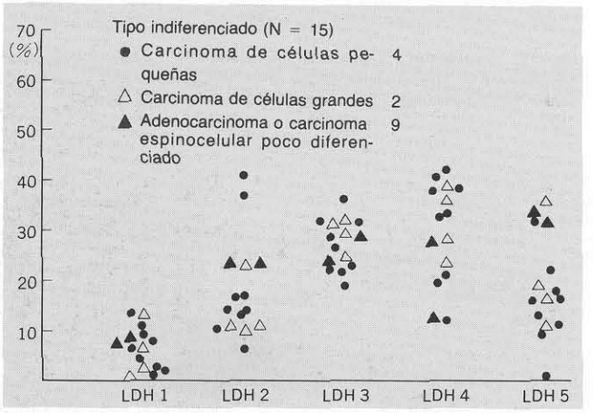


Fig. 215. Fracciones de isoenzimas de LDH de extractos celulares limitados a un tipo de carcinoma indiferenciado de pulmón.

nación de isoenzimas de LDH es un marcador biológico para distinguir entre los tejidos benignos y neoplásicos (fig. 208). En este estudio una excepción fue el carcinoma poco diferenciado (fig. 215), en el que se obtuvo predominio de la fracción LDH-3 y no de LDH-4 ni de LDH-5. Este fenómeno es sugestivo de fetalismo.

4. Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina es una de las fosfohidrolasas que hidrolizan a los monoésteres fosfóricos en medio alcalino. Esta enzima se halla ampliamente distribuida en diversos órganos y tejidos, como vellosidades intestinales, ribetes en cepillo de los túbulos renales, hígado, hueso, etc. Habiéndose comprobado que esta enzima se radica en las membranas celulares y en las paredes de los capilares, se le atribuye el importante papel de realizar el trasporte activo vinculado con la absorción y difusión, pero su función fisiológica no ha sido elucidada del todo todavía. Los estudios de Sela y Sachs[588] con cultivos celulares, destacan el importante papel relacionado con la regulación del crecimiento celular, o sea el mantenimiento de los mononucléotidos óptimos[168,169,412] que participan en la síntesis del DNA; aunque las células embrionarias fosfatasa alcalina positivas del criceto se negativizaron tras la trasformación por cancerígenos químicos, una pequeña proporción de colonias celulares trasformadas por el polioma fueron fosfatasa alcalina positivas y se habrían distinguido de las colonias fosfatasa alcalina negativas por la menor incorporación de timidina ^{3}H. Aunque con el método del colorante azoico no se demuestra fosfatasa nuclear, varios investigadores [127,239] consiguieron localizar fosfatasa alcalina en la fracción nuclear.

En condiciones experimentales se comprobó la inducción de actividad de fosfatasa alcalina en células trasformadas por el polioma[588] mediante prednisolona en líneas de células cancerosas cultivadas y por el dbc-AMP: estas células inducidas para producir fosfatasa alcalina fueron proporcionales a la disminución de la síntesis de DNA[588] o a la diferenciación morfológica celular.[638] La fosfatasa alcalina sería importante para evaluar la proliferación o diferenciación celular en los pacientes leucémicos; la actividad de fosfatasa alcalina muy disminuida como manifestación de leucemia mielógena crónica, podría volver a normalizarse al ocurrir la remisión clínica.[55,545]

5. Isoenzimas de fosfatasa alcalina

La separación de isoenzimas de fosfatasa alcalina ha sido muy investigada con electroforesis en acetato de celulosa, agarosa, almidón y geles de poliacrilamina, y con tratamientos fisicoquímicos con calor, urea, L-homoarginina, L-leucina y L-fenilalanina. Se pueden separar tres fracciones principales específicas para placenta, intestino y hueso o hígado. También se puede subdividir la tercera fracción en el tipo hepático y el óseo, pero la diferencia no es tan nítida como respecto de los dos primeros tipos. En lo que concierne a la fosfatasa alcalina identificada en los homogenizados o extractos de células cancerosas, esta enzima no suele ser específica del cáncer, sino que presenta características de procedencia orgánica.

Sin embargo, Fishman y col. (1968)[178] detectaron en el suero de un paciente con carcinoma broncógeno una fracción peculiar que semejaba el tipo placentario, y se le dio el nombre de isoenzima de Regan (cuadro 44). Las izoenzimas similares específicas para el cáncer que se mencionaron son la isoenzima Nagao (Nakayama[443]) y la fosfatasa alcalina

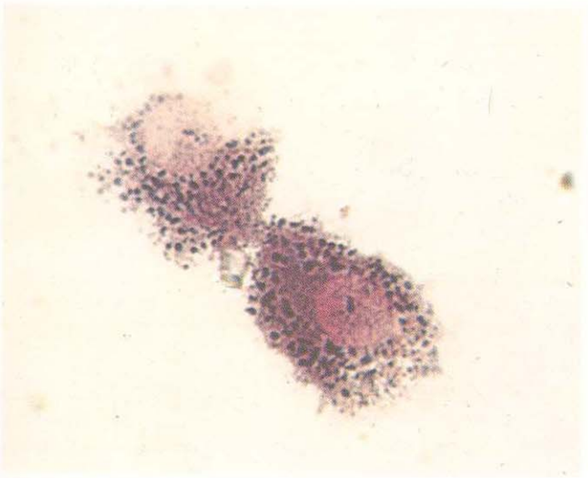


Fig. 216. Células cancerosas apocrinas de la mama que exhiben intensa actividad de LDH. El zimograma de los extractos celulares arrojó LDH-1 0 %, LDH-2 0 %, LDH-3 10 %, LDH-4 16,7 % y LDH-5 73,3 %.



Fig. 217. Pérdida de subunidades M de LDH en células cancerosas apocrinas de mama mediante inhibición con urea (2,6 M). Las subunidades M se identifican en esta tinción comparativa con la figura 216 para establecer la actividad total.

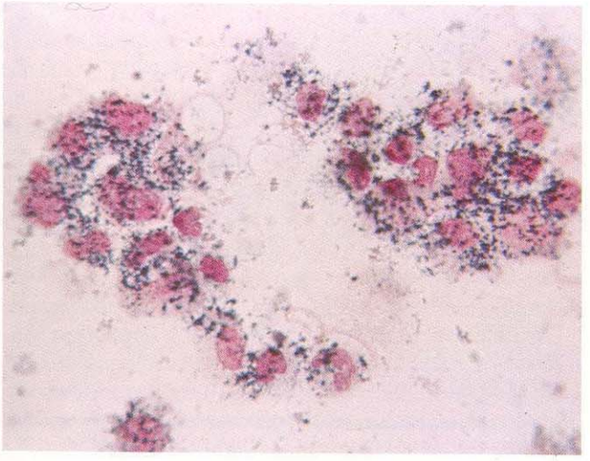


Fig. 218. Células de leucemia mielógena aguda que exhiben una intensa actividad total de LDH.

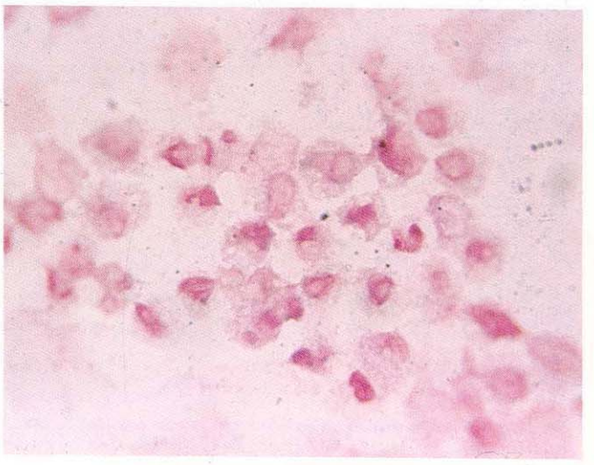


Fig. 219. Pérdida de subunidades M de LDH en células de leucemia mielógena aguda mediante inhibición con urea (2,6 M).

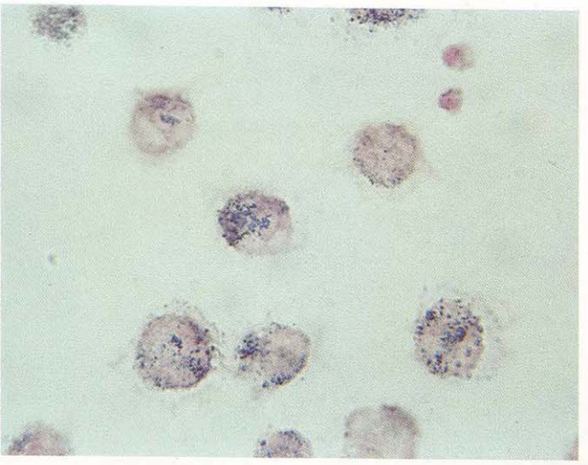


Fig. 220. Células linfosarcomatosas que exhiben intensa actividad total de LDH.

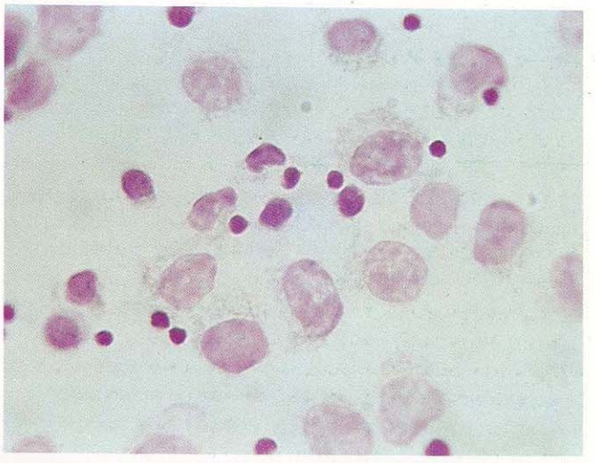


Fig. 221. Pérdida de las subunidades M de LDH en células linfosarcomatosas mediante inhibición con urea (2,6 M).

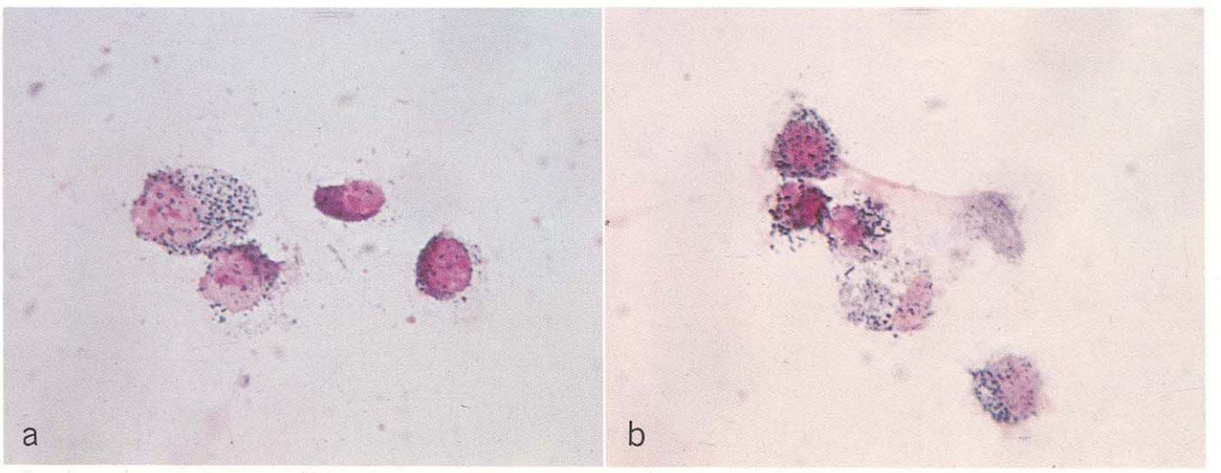


Fig. 222. Citoquímica de la LDH y su isoenzima en células linfoblastoides estimuladas con fitohemaglutinina. *a*, Intensa actividad total de LDH. El predominio de las subunidades H se demuestra por la resistencia a la urea (compárese con b). *b*, Resistencia a la urea (2,6 M) de la actividad de LDH. Nótese la diferencia de la propiedad citoquímica entre las células blastoides estimuladas con PHA que simulan malignidad y las células linfosarcomatosas de las figuras 220 y 221.

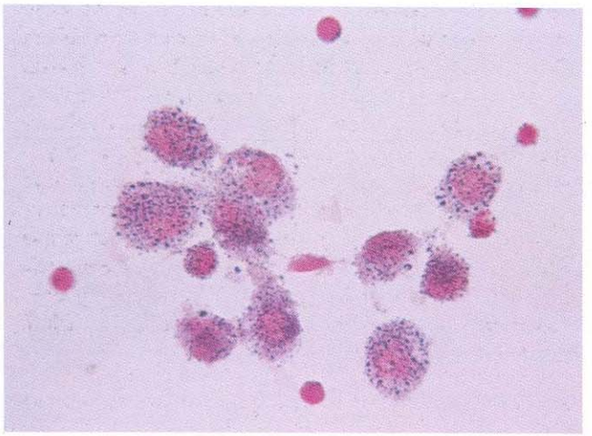


Fig. 223. Células mesoteliales y linfocitos con intensa actividad de LDH. La resistencia de la actividad enzimática frente a la inhibición con urea (2,6 M) sugiere predominio de subunidades H.

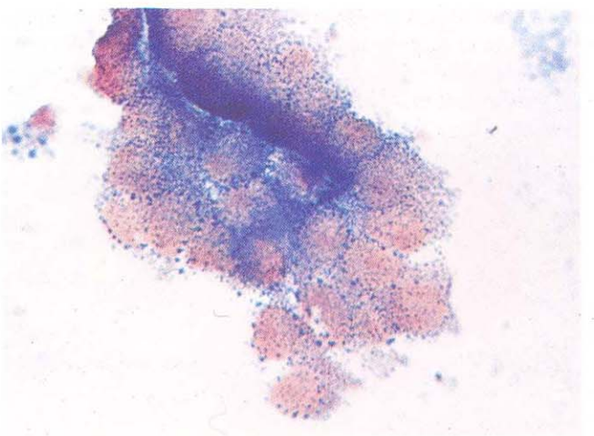


Fig. 224. Fosfatasa alcalina termolábil de un adenocarcinoma pulmonar. Nótese la intensa tinción en el borde celular. La coloración desapareció calentando 10 minutos a 65° C, pero fue resistente a la L-fenilalanina.

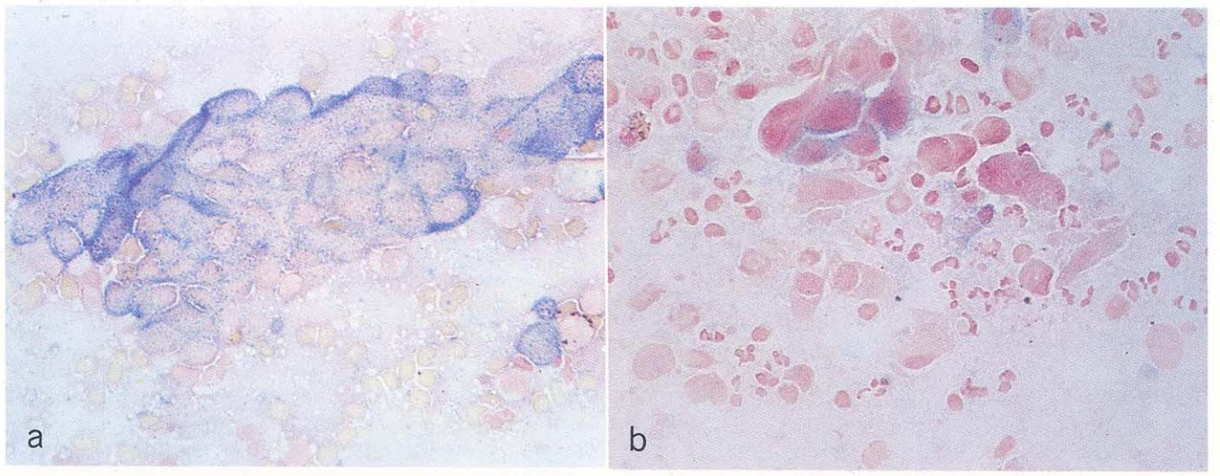


Fig. 225. Citoquímica de la fosfatasa alcalina placentaria en un carcinoma espinocelular poco diferenciado de pulmón. *a*, Fosfatasa termorresistente. La tinción se mantiene focalmente después de calentar 10 minutos a 65° C. *b*, Fosfatasa L-fenilalaninasensible. La tinción desaparece por inhibición con L-fenilalanina.

Cuadro 44. Diferencias en las propiedades químicas de las isoenzimas de fosfatasa alcalina

Propiedades	*Fosfatasa alcalina de Regan*	*Fosfatasa alcalina placentaria*	*Fosfatasa alcalina intestinal*	*Fosfatasa alcalina hepática y ósea*
Inhibición por L-fenilalanina 5 mM	inhíbese	inhíbese	inhíbese	resistente
Inhibición por L-homoarginina 5 mM	resistente	resistente	resistente	inhíbese
Inactivación térmica				
56°C 15 minutos	estable	estable	moderada inactivación (un 60%)	mucha inactivación (un 80-90%)
65°C 5-10 minutos	estable	estable	inactívase	inactívase
Efecto de la neuraminidasa sobre la electroforesis	retárdase	retárdase	ninguno	retárdase

variante (Warnock y Reisman[690]). La isoenzima Nagao difiere de la isoenzima de Regan en la gran inhibición de la actividad enzimática por la L-leucina 5 mM, mientras que las otras propiedades son casi idénticas. El último grupo al que se considera una fosfatasa alcalina variante es sensible a la L-fenilalanina y a la L-leucina, lo mismo que la isoenzima Nagao, pero es un tanto distinta respecto de la isoenzima de Regan y de la Nagao porque su termostabilidad es más o menos la misma que la de la isoenzima intestinal. Se dijo que la tasa positiva de producción de la isoenzima de tipo placentario en el suero de pacientes con diversos tipos de cáncer ascendió al 12% de los 323 casos de Nathanson y Fishman,[446] aunque en algunos casos positivos se observó inespecificidad.[87]

Principio de la aplicación al citodiagnóstico

La producción de la isoenzima de tipo placentario en una categoría de antígenos tumoroasociados (ATA) se atribuye a una depresión del genoma de las células cancerosas. El caso en que se producía ATA en el mismo tumor fue publicado por Belliveau y col.[44] La detección de isoenzima de tipo placentario es decisiva para malignidad, pero se limita a una pequeña proporción de neoplasias malignas. La mayoría de los cánceres poco diferenciados son citoquímicamente negativos para fosfatasa alcalina, sea placentaria o no. La potenciación de la actividad de fosfatasa alcalina inducida por el dbc-AMP[639] en cultivos de células cancerosas y por la hidrocortisona[603] en las células del sarcoma osteógeno, se atribuye al proceso de diferenciación celular; se sabe que la hidrocortisona contribuye a la diferenciación celular en concordancia con el dbc-AMP.[294] En estas observaciones de que las fosfatasas alcalinas termolábil[639] y termostábil[603] fueron inducidas con estos experimentos, no se interpretó con claridad qué papel desempeña cada isoenzima en el metabolismo celular (véase p. 44). Es necesario investigar mejor la especificidad de la isoenzima de Regan o de tipo placentario para las células cancerosas y la importancia biológica de la isoenzima no placentaria en las neoplasias. También es importante para este fin la tinción diferencial citoquímica.

Significación citológica

En la actualidad la citoquímica de la fosfatasa alcalina se aplica prácticamente a la actividad de la enzima total y no de sus isoenzimas. La pérdida de tingibilidad de los leucocitos neutrófilos en la leucemia mielógena crónica permite diferenciar a ésta de la reacción leucemoide, en la cual la tinción se potencia. Se mencionaron bajos niveles de actividad enzimática en neutrófilos de enfermos de hemoglobinuria nocturna paroxística, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia infecciosa y anemia perniciosa. En lo que respecta a la mayor actividad enzimática en algunos tipos de células cancerosas, para interpretar los resultados es importante tener en cuenta la tipificación de las células cancerosas y su diferenciación, y la especificidad orgánica: nuestros estudios recientes sobre cánceres de pulmón sólo revelaron isoenzima termostábil en 4 de 41 casos, cualquiera que fuese el tipo histológico (fig. 226). Se consideró que la considerable potenciación de la actividad enzimática es una propiedad característica del adenocarcinoma. Además, en el adenocarcinoma del tracto genital femenino se encontró un factor histogenético, porque, si bien el adenocarcinoma endometrial hormonodependiente, en particular la forma bien diferenciada, fue positivo a la tinción para fosfatasa alcalina, la mayoría de los adenocarcinomas endocervicales fueron negativos, excepto una pequeña proporción de casos en los que apareció la isoenzima termostábil.

Método del colorante azoico

1. Fíjense los extendidos en acetona fría o alcohol metílico frío 5 segundos.
2. Enjuáguese 15 segundos con agua destilada.
3. Ajústense las soluciones colorantes una hora antes de teñir y manténganse en el refrigerador; antes de colorear mézclense estas dos soluciones.

Solución A: Disuélvanse 5 mg de Naphthol AS-BI ácido fosfórico (disódico) en 0,5 ml de N-dimetil-formamida y agréguense 30 ml de buffer Tris-ClH 0,2 M (pH 8,8).

Solución B: Disuélvase sal de azul rápido B, 15 mg en 30 ml de agua destilada.

4. Tíñase una hora a 37°C y enjuáguese con agua destilada.
5. Colóquese el extendido 10 minutos en formol al 10%.
6. Enjuáguese con agua destilada.
7. Hágase la contratinción un segundo con safranina al 1%.
8. Enjuáguese con agua destilada.
9. Séquese y móntese con jalea de glicerina.

Procedimiento con Naphthol AS-MX

En lugar del Naphthol AS-BI, también es útil el Naphthol AS-MX. Sólo se sustituye el paso 3, para preparar la solución de colorante.

Solución colorante madre A (útil por un mes si se almacena en el refrigerador): Disuélvanse 10 mg de Naphthol AS-MX fosfato de Na (Sigma) en 4 ml de N-dimetil formamida y 76 ml de propanediol 0,2M* en 120 ml de agua destilada.

* La solución regulada de propanediol 0,2 M (pH 8,6) se prepara con 2,1 g de 2-amino-2-metil-1,3-propanediol, 14 ml de ClH 1N y 86 ml de agua destilada.

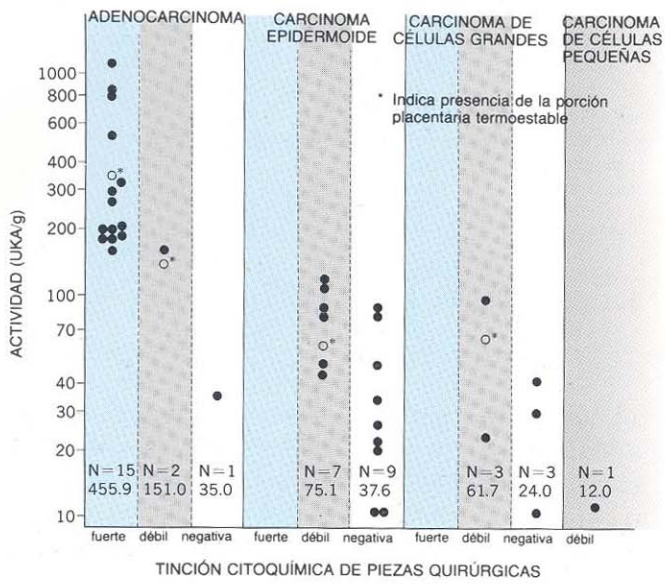


Fig. 226. Actividad de fosfatasa alcalina de células cancerosas de pulmón en comparación con la tinción citoquímica. Las actividades enzimáticas de los homogeneizados de tejido se midieron ensayando la tasa de producción y se contaron como UKA por gramo de proteína textural. La citoquímica se analizó con el método del azocolorante.

Solución colorante B: Prepárese antes de colorear disolviendo 10 mg de azul rápido RR (Sigma) en 10 ml de la solución madre A.

Procedimiento para determinar isoenzima de Regan o placentaria

a) Tíñase con la prueba de inactivación calórica. El procedimiento de tinción es el mismo que se describió arriba, salvo el tratamiento previo. Los extendidos se colocan en una cámara húmeda precalentada a 65°C, donde se dejan 10 minutos antes de colorear.

b) Tíñase tratando con L-fenilalanina. Se agrega L-fenilalanina a la solución colorante (solución A + solución B) en la concentración final de 5 mM antes de teñir. Para los cortes congelados de tejidos está bien 30 a 50 mM de L-fenilalanina. Los otros pasos son idénticos a los que se describieron arriba.

6. Fosfatasa ácida

La fosfatasa ácida es una enzima representativa del lisosoma cuya actividad se emplea para evaluar la función lisosómica. Se comprobó que la actividad aumentada de fosfatasa ácida significa presencia de carcinoma de próstata (Gutman y Gutman, 1938).[246] Mientras que en la etapa incipiente del cáncer de próstata la actividad total está dentro de los límites normales, hay una elevación específica de la isoenzima prostática, que se inhibe con el L(+)tartrato. La determinación de la isoenzima de fosfatasa ácida reviste utilidad práctica en el diagnóstico de cáncer de próstata. Se ha progresado en el estudio de isoenzimas de las células leucémicas, porque estas células circulantes de la sangre se prestan como población celular bastante pura. Según la comunicación de Li y col.,[374] quienes emplearon α-naftil fosfatasa ácida sódica 0,005 M como sustrato para la reacción de 10^7 células a pH 5, en la leucemia linfocitaria crónica se encontró prominencia de la isoenzima 3. A esta fracción se la consideró vinculada de modo directo con los linfocitos.[723] En la leucemia granulocítica aguda los blastocitos revelaron una banda prominente en el área de la isoenzima 3, con cierta movilidad distinta en la electroforesis en gel de discos de acrilamida. A esta fracción específica se la designó isoenzima 3b. Un hallazgo importante es la presencia de isoenzima 5, que es más aniónica que la isoenzima 4 en casos de reticuloendoteliosis leucémica o de leucemia de células en cepillo. Los reticulocitos de la leucemia maligna se caracterizan por poseer unos núcleos excéntricos ovales o reniformes, y un citoplasma abundante y ligeramente basófilo. Citoquímicamente la isoenzima 5 es resistente al L(+)tartrato y se la distingue en los extendidos. Los extendidos sanguíneos de las personas normales exhiben una actividad prominente en los monocitos, moderada a débil en los neutrófilos, eosinófilos y linfocitos, y débil en las células leucémicas linfocitarias. Estas actividades son inhibidas por el tratamiento con L(+)tartrato y fluoruro.[723]

Procedimiento del azocolorante

1. Fíjense los extendidos 5 segundos con acetona fría.*
2. Ajústense las soluciones colorantes del siguiente modo: Solución A: 10 mg de Naphthol AS-BI ácido fosfórico (disódico) en 10 ml de buffer de acetato y veronal 0,2M (pH 5); agréguense 9,5 ml de agua destilada y almacénece en el refrigerador.

Solución B: Disuélvase 1 g de hexazonio pararrosanilina en 20 ml de agua destilada y caliéntese con suavidad a 50°C. Agréguense 5 ml de ClH concentrado, déjese enfriar y fíltrese. Almacénese en el refrigerador.

Solución C: Prepárese nitrito de sodio (NO_3Na) al 4% con agua destilada.

Solución colorante de trabajo: Mézclense las soluciones B y C antes de colorear. Agréguese esta mezcla a la solución A en una proporción de 0,5 ml en 19,5 ml.

3. Coloréese 60 minutos a 37°C.
4. Colóquense los extendidos 10 minutos en formol al 10% a temperatura ambiente.
5. Hágase la contratinción nuclear.
6. Móntese en jalea de glicerina.

*En lugar de acetona fría, Ianckila y col.[297] recomiendan usar metanol y acetona fría con buffer: Se agregan 10 ml de metanol y 60 ml de acetona a 30 ml de una solución acuosa que contenga 0,63 g de ácido cítrico y mézclese bien. Ajústese a pH 5 con solución concentrada de NaOH y almacénese en el refrigerador. Este fijador se mantiene estable un mes.

Procedimiento para determinar fosfatasa ácida resistente al L(+)tartrato

La tinción citoquímica con L(+)tartrato es útil para identificar reticulocitos en la reticuloendoteliosis leucémica y, a veces, en la enfermedad de Hodgkin.[332] En la práctica se agregan 75 mg de ácido L(+)tartárico a una alícuota de 10 ml de la solución colorante de trabajo, para obtener una concentración final de tartrato de 0,05 M, antes de colorear.

Bibliografía de la primera parte

1. ABELEV, G. I.: Production of embryonal serum α-globulin by hepatomas: Review of experimental and clinical data. Cancer Res., *28*: 1344, 1968.
2. ABELEV, G. I., ASSECRITOVA, I. V., KRAEVSKY, N. A., PEROVA, S. D., and PEREVODCHIKOVA, N. I.: Embryonal serum α-globulin in cancer patients: diagnostic value. Int. J. Cancer, *2*: 551, 1967.
3. ABERCROMBIE, M., and AMBROSE, E. J.: Interference microscope studies of cell contacts in tissue culture. Exp. Cell Res., *15*: 332, 1958.
4. ABERCROMBIE, M., and AMBROSE, E. J.: The surface properties of cancer cells: A review. Cancer Res., *22*: 525, 1962.
5. ADAMS, L. R., and DAHLGREN, S. E.: Cytophotomertic measurements of the DNA content of lung tumours. Acta Path. Microbiol. Scand., *72*: 561, 1968.
6. AFZELIUS, B. A.: The occurrence and structure of microbodies: A comparative study. J. Cell Biol., *26*: 835, 1965.
7. AGNEW, A. M., FIDLER, H. K., and BOYES, D. A.: Evaluatian of radiation response. Am. J. Obstet. Gynec., *79*: 698, 1969.
8. ALDRIDGE, W. G., HEMPELMANN, L. H., and EMMEL, V. M.: A histochemical study of deoxyribonuclease II in lymphoid tissues of normal and irradiated rats. Rad. Res., *12*: 49, 1960.
9. ALLEGRA, S. R., BRODERICK, P. A., and CORVESE, N.: Oral cytology: Seven year oral cytology screening program in the State of Rhode Island: Analysis of 6,448 cases. Acta Cytol., *17*: 42, 1973.
10. ALLEGRA, S. R., FANNING, J. P., STREKER, J. F., and CORVESE, N. M.: Cytologic diagnosis of occult and "in-situ" carcinoma of the urinary system. Acta Cytol., *10*: 340, 1966.
11. ALPERT, M. E., URIEL, J., and DE NECHAUD, B.: Alpha feto-globulin in the diagnosis of human hepatoma. N. Engl. J. Med., *278*: 984, 1968.
12. ALTMANN, H. W.: Über den Funktionsformwechsel des Kernes im exokrinen Gewebe des Pankreas. Zschr. Krebsforsch., *58*: 632, 1952.
13. AMBROSE, E. J.: Biological Interactions in Normal and Neoplastic Growth. Boston, Little, Brown and Co., 1962.
14. AMBROSE, E. J., EASTY, D. M., and JONES, P. C.: Specific reactions of polyelectrolytes with the surfaces of normal and tumor cells. Br. J. Cancer, *12*: 439, 1958.
15. AMBROSE, E. J., JAMES, A. M., and LOWICK, J. H. B.: Differences between the electrical charge carried by normal homologous tumour cells. Nature, *177*: 576, 1956.
16. ANDERSON, G. H., and KRAKAUER, K.: The irrigation smear in office and clinic patients: A preliminary study. Acta Cytol., *10*: 418, 1966.
17. ANDERSON, H. A., MCDONALD, J. R., and OLSEN, A. M.: Cytologic diagnosis of the esophagus and cardia of the stomach. Proc. Staff Meet. Mayo Clinic, *24*: 245, 1949.
18. ANDERSON, W. A. D., and GUNN, S. A.: Cytologic detection of cancer—consideration for its future: a comparative examination of the Papanicolaou and acridine-orange technics. Acta Cytol., *6*: 468, 1962.
19. ANDERSON, W. A. D., and GUNN, S. A.: A critical evaluation of the vaginal irrigation kit as a screening method for the detection of cancer of the cervix. Acta Cytol., *10*: 149, 1966.
20. ARRIGHI, F. E., and HSU, T. C.: Localization of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics, *10*: 81, 1970.
21. ARRIGHI, F. E., and HSU, T. C.: Staining constitutive heterochromatin and Giemsa crossbands of mammalian chromosomes. *In* YUNIS, J. J. (Ed.): Human Chromosome Methodology, 2nd ed. pp. 59–71. New York, Academic Press, 1974.
22. ASHFORD, T. P., and PORTER, K. R.: Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. J. Cell Biol., *12*: 198, 1962.
23. ASHTON, P. R., and LAMBIRD, P. A.: Cytodiagnosis of malakoplakia: Report of a case. Acta Cytol., *14*: 92, 1970.
24. ATKIN, N. B.: Die chromosomale Basis von Sexchromatinabweichungen in menschlichen Tumoren. Wien. Klin. Wschr., *76*: 859, 1964.
25. ATKIN, N. B.: Nuclear size in carcinoma of the cervix: Its relation to DNA content and to prognosis. Cancer, *17*: 1391, 1964.
26. ATKIN, N. B.: Sex chromatin abnormalities in carcinoma of the cervix uteri. Acta Cytol., *10*: 392, 1966.
27. ATKIN, N. B.: Variant nuclear types in gynecologic tumors: Observations on squashes and smears. Acta Cytol., *13*: 569, 1969.
28. ATKIN, N. B.: Y chromosomes and quinacrine fluorescence technique. Br. Med. J., *4*: 118, 1970.
29. ATKIN, N. B., and BAKER, M. C.: A nuclear protrusion in human tumor associated with an abnormal chromosome. Acta Cytol., *8*: 431, 1964.
30. ATKIN, N. B., and PETKOVIC, I.: Variable sex chromatin pattern in an early carcinoma of the bladder. J. Clin. Path., *26*: 126, 1973.
31. AUERBACH, O., GERE, J. B., PAWLOWSKI, J. M., MUEHSAM, G. E., SMOLIN, H. J., and STOUT, A. P.: Carcinoma-in-situ and early invasive carcinoma occurring in the tracheobronchial trees in cases of bronchial carcinoma. J. Thorac. Surg., *34*: 298, 1957.
32. BAIKE, A. G., COURT BROWN, W. M., JACOBS, P. A., and MILNE, J. S.: Chromosome studies in human leukaemia. Lancet, *2*: 425, 1959.
33. BAJER, A., and MOLE-BAJER, J.: Architecture and function of the mitotic spindle. Adv. Cell Molecul. Biol., *1*: 213, 1971.
34. BAKALOS, D., CONSTANTAKIS, N., and TSICRICAS, T.: Distinction of mononuclear macrophages from mesothelial cells in pleural and peritoneal effusions. Acta Cytol., *18*: 20, 1974.
35. BAKER, J. R.: The Golgi controversy. Symp. Soc. Exp. Biol., *10*: 1, 1957.

36. BAKER, J. R.: Principles of Biological Microtechnique. New York, John Wiley and Sons, Inc., 1958.
37. BAKER, J. R.: New developments in the Golgi controversy. J. Roy. Micr. Soc., *82*: 1, 1963.
38. BARR, M. L.: Sex chromatin techniques. *In* YUNIS, J. J. (Ed.): Human Chromosome Methodology. New York, Academic Press, 1965.
39. BARR, M. L., and BERTRAM, E. G.: A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature, *163*: 676, 1949.
40. BARR, M. L., BERTRAM, L. F., and LINDSAY, H. A.: The morphology of the nerve cell nucleus according to sex. Anat. Rec., *107*: 283, 1950.
41. BASTOS, A. L.: Intravital fluorescence in tumor cells. Acta Cytol., *10*: 187, 1966.
42. BECK, J. S., PORTEOUS, I. B., and ULLYOT, J. L.: Gonadotrophin-secreting bronchial carcinoma: Aberrant endocrine activity or trophoblastic differentiation? J. Path., *101*: 59, 1970.
43. BEDROSSIAN, C. W. M., and RYBKA, D. L.: Bronchial brushing during fiberoptic bronchoscopy for the cytodiagnosis of lung cancer: Comparison with sputum and bronchial washings. Acta Cytol., *20*: 446, 1976.
44. BELLIVEAU, R. E., WIERNIK, P. H., and SICKLES, E. A.: Blood carcinoembryonic antigen, Regan isoenzyme, and human chorionic gonadotrophin in a man with primary mediastinal choriocarcinoma. Lancet, *1*: 22, 1973.
45. BENDER, M. A.: Somatic chromosomal aberrations: Use in the evaluation of human radiation exposures. Arch. Environ. Health, *16*: 556, 1968.
46. BENIRSCHKE, K., BROWNHILL, L., and EBAUGH, F. G.: Chromosomal abnormalities in Waldenström's macroglobulinaemia. Lancet, *1*: 594, 1962.
47. BERES, P., PASK, B. A., and SPIRO, H. M.: Clinical usefulness of gastric cytologic examination in the evaluation of diseases of the stomach. N. Engl. J. Med., *263*: 643, 1960.
48. BERGERON, J. A., and SINGER, M.: Metachromasy: An experimental and theoretical reevaluation. J. Biophys. Biochem. Cytol., *4*: 433, 1958.
49. BERGONIÉ, J., and TRIBONDEAU, L.: Interprétation de quelques résultats de la radiothérapie et essai de fixation d'une technique radionelle. Compt. Rend. Acad. Sci., *143*: 983, 1906.
50. BERGSTRAND, C. G., and CZAR, B.: Demonstration of a new protein fraction in serum from the human fetus. Scand. J. Clin. Lab. Invest., *8*: 174, 1956.
51. BHUYAN, B. K., and SMITH, C. G.: Differential intraction of nogalamycin with DNA of varing base composition. Proc. Nat. Acad. Sci., *54*: 566, 1966.
52. BIBBO, M., FENNESSY, J. J., LU, C.-T., STRAUS, F. H., VARIAKOJIS, D., and WIED, G. L.: Bronchial brushing technique for the cytologic diagnosis of peripheral lung lesions: A review of 693 cases. Acta Cytol., *17*: 245, 1973.
53. BIBBO, M., RICE, A. M., WIED, G. L., and ZUSPAN, F. P.: Comparative specificity and sensitivity of routine cytologic examinations and the Gravlee jet wash technic for diagnosis of endometrial changes. Obstet. Gynec., *43*: 253, 1974.
54. BICKERMAN, H. A., SPROUL, E. E., and BARACH, A. L.: An aerosol method of producing bronchial secretions in human subject: A clinical technic for the detection of lung cancer. Dis. Chest, *33*: 347, 1958.
55. BLOCK, J. B., CARBONE, P. P., OPPENHEIM, J. J., and FREI, E., III: The effect of treatment in patients with chronic myelogenous leukemia: Biochemical studies. Ann. Int. Med., *59*: 629, 1963.
56. BLOOM, W., and FAWCETT, D. W.: A textbook of Histology, 10th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1974.
57. BLUME, A., GILBERT, F., WILSON, S., FARBER, J., ROSENBERG, R., and NIRENBERG, M.: Regulation of acetylcholinesterase in neuroblastoma cells. Proc. Nat. Acad. Sci., *67*: 786, 1970.
58. BLUMEL, G., TURCIC, G., REGELE, H., and VAGACS, H.: Zur Frage des Geschlechtsdimorphismus der Tumorzellen beim Mammakarzinom. II. Teil, Oertliches Rezidiv und zellkernmorphologisches Tumorgeschlecht. Wien. Klin. Wschr., *75*: 41, 1963.
59. BOBROW, M., PEARSON, P. L., and COLLACOTT, H. E. A. C.: Para-nucleolar position of the human Y chromosome in interphase nuclei. Nature, *232*: 556, 1971.
60. BOHM, N.: Fluorescence cytophotometric determination of DNA. *In* GLICK, D., and ROSENBAUM, R. M. (Eds.): Techniques of Biochemical and Biophysical Morphology. Vol. 1, pp. 89–141. New York, Wiley-Interscience, 1972.
61. BOQUOI, E., KREBS, S., and KREUZER, G.: Feulgen-DNA-cytophotometry on mammary tumor cells from aspiration biopsy smears. Acta Cytol., *19*: 326, 1975.
62. BORCHERT, R., and HELMCKE, J.-G.: Bemerkungen zur Fluorochromierung lebender und toter Zellen mit Akridinorange. Naturwissenschaften, *37*: 565, 1950.
63. BORGAONKAR, D. S., and HOLLANDER, D. H.: Quinacrine fluorescence of the human Y chromosome. Nature, *230*: 52, 1971.
64. BOSCHANN, H. W.: Cytochemistry of dyskaryotic cells. Acta Cytol., *1*: 30, 1957.
65. BOTHMANN, G., RUMMEL, H., and KUBLI, F.: Zur Stellung der Aspirationszytologie bei der Frühdiagnostik des Mammakarzinoms. Geburtsh. Frauenheilk., *34*: 287, 1974.
66. BOTS, G. TH. A. M., WENT, L. N., and SCHABERG, A.: Results of a sedimentation technique for cytology of cerebrospinal fluid. Acta Cytol., *8*: 234, 1964.
67. BOTTURA, C., FERRARI, I., and VEIGA, A. A.: Chromosome abnormalities in Waldenström's macroglobulinaemia. Lancet, *1*: 1170, 1961.
68. BOUTEILLE, M., KALIFAT, S. R., and DELARUE, J.: Ultrastructural variations of nuclear bodies in human diseases. J. Ultrastruct. Res., *19*: 474, 1967.
69. BOYD, D. P., SMEDAL, M. I., KIRTLAND, H. B., Jr., KELLEY, G. E., and TRUMP, J. G.: Carcinoma of the lung: A report of 403 cases. J. Thorac. Surg., *28*: 392, 1954.
70. BRADLEY, D. F., and WOLF, M. K.: Aggregation of dyes bound to polyanions. Proc. Nat. Acad. Sci., *45*: 944, 1959.
71. BRANDBORG, L. L., TANIGUCHI, L., and RUBIN, C. E.: Exfoliative cytology in non-malignant conditions of the upper intestinal tract. Acta Cytol., *5*: 187, 1961.
72. BRANDBORG, L. L., TANIGUCHI, L., and RUBIN, C. E.: Is exfoliative cytology practical for more general use in the diagnosis of gastric cancer? Cancer, *14*: 1074, 1961.
73. BRAUN, W., ISHIZUKA, M., WINCHURCH, R., and WEBB, D.: On the role of cyclic AMP in immune responses. Ann. N. Y. Acad. Sci., *185*: 417, 1971.
74. BRAUTIGAM, F., and GRABNER, A.: Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie. Wien, Verlag, G. Fromme & Co., 1949.
75. BREDAHL, E., KOCH, F., and STAKEMANN, G.: Can-

cer detection by cervical scrapings. Vaginal pool smears and irrigation smears: A comparative study. Acta Cytol., *9*: 189, 1965.

76. BRENNER, S. A., LAMBERT, R. L., and PABLO, G. E.: Superheated aerosol induced sputum in the cytodiagnosis of lung cancer. Acta Cytol., *6*: 405, 1962.
77. BRODERS, A. C.: Epithelioma of the genitourinary organs. Ann. Surg., *75*: 574, 1922.
78. BROWN, J. B., KELLAR, R., and MATTHEW, G. D.: Preliminary observations on urinary estrogen excretion in certain gynaecological disorders. J. Obstet. Gynaec. Br. Empire, *66*: 177, 1959.
79. BRUNI, C., and RUST, J. N.: Fine structure of dividing cells and of nondividing, differentiating cells of nickel sulfide-induced rhabdomyosarcomas. J. Nat. Cancer Inst., *54*: 687, 1975.
80. BUFFE, D., RIMBAUT, C., LEMERLE, J., SCHWEISGUTH, O., and BURTIN, P.: Présence d'une ferroprotéine d'origine tissulaire, l'α_2H, dans le sérum des enfants proteurs de tumeurs. (Presence of a ferroprotein of tissular origin, the α_2H globulin, in sera of children with tumours.) Int. J. Cancer, *5*: 85, 1970.
81. BUHLER, E. M., MULLER, H., MULLER, J., and STALDER, G. R.: Variant of the fluorescence pattern in an abnormal human Y chromosome. Nature, *234*: 348, 1971.
82. BURGER, M. M., and GOLDBERG, A. R.: Identification of a tumor-specific determination on neoplastic cell surfaces. Proc. Nat. Acad. Sci., *57*: 359, 1967.
83. BURTON, P. A., and CUNLIFFE, W. J.: A comparison of tetracycline fluorescence and exfoliative cytology in the detection of malignancy. Lancet, *1*: *1002*, 1966.
84. BUSCH, H., BYVOET, P., and SMETANA, K.: The nucleolus of the cancer cell: A review. Cancer Res., *23*: 313, 1963.
85. BUSCH, H., and SMETANA, K.: The Nucleolus. New York, Academic Press, 1970.
86. CABRÉ FIOL, V., and GARCIA, R. O.: Citodiagnóstico de las neoplasias gástricas malignas por biopsia exfoliativa. Rev. Espan. Enferm. Apar. Digest., *21*: 571, 1962.
87. CADEAU, B. J., BLACKSTEIN, M. E., and MALKIN, A.: Increased incidence of placenta-like alkaline phosphatase activity in breast and genitourinary cancer. Cancer Res., *34*: 729, 1974.
88. CAHN, R. D., KAPLAN, N. O., LEVINE, L., and ZWILLING, E.: Nature and development of lactic dehydrogenases. Science, *136*: 962, 1962.
89. CALLAN, H. G., and TOMLIN, S. G.: Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. Proc. Roy. Soc., Biol., *137*: 367, 1950.
90. CARO, L. G.: Electron microscopic radioautography of thin sections: The Golgi zone as a site of protein in pancreatic acinar cells. J. Biophys. Biochem. Cytol., *10*: *37*, 1961.
91. CARPENTIER, P. J., STOLTE, L. A. M., and VISSCHERS, G. P.: Sexing nuclei. Lancet, *2*: 874, 1955.
92. CARR, D. H., BARR, M. L., PLUNKETT, E. R., GRUMBACH, M. M., MORISHIMA, A., and CHU, E. H. Y.: An XXXY sex chromosome complex in Klinefelter subjects with duplicated sex chromatin. J. Clin. Endocrinol., *21*: 491, 1961.
93. CARR, D. H., BARR, M. L., and PLUNKETT, E. R.: A probable XXYY sex determining mechanism in a mentally defective male with Klinefelter's syndrome. Canad. Med. Assoc. J., *84*: 873, 1961.
94. CARR, D. H., and WALKER, J. E.: Carbol fuchsin as a stain for human chromosomes. Stain Technol., *36*: 233, 1961.
95. CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G. E., KILLANDER, D., and ZETTERBERG, A.: Cytochemical evaluation on metabolic inhibitors in cell culture. Exp. Cell Res., *39*: 365, 1965.
96. CASPERSSON, T., LOMAKKA, G., and ZECH, L.: The 24 fluorescence patterns of human metaphase chromosomes: Distinguishing characters and variability. Hereditas, *67*: 89, 1971.
97. CASPERSSON, T., and SANTESSON, L.: Studies on the protein metabolism on the epithelial tumors. Acta Radiol., Suppl. 46, 1942.
98. CASPERSSON, T., ZECH, L., MODEST, E. J., FOLEY, G. E., WAGH, U., and SIMONSSON, E.: DNA-binding fluorochromes for the study of the organization of the metaphase nucleus. Exp. Cell Res., *58*: 141, 1969.
99. CATTERALL, R. D.: Influence of gestogenic contraceptive pills on vaginal candidosis. Br. J. Ven. Dis., *47*: 45, 1971.
100. CAWSON, R. A.: The cytological diagnosis of oral cancer. Br. Dent. J., *108*: 294, 1960.
101. CEELEN, G. H.: The cytologic diagnosis of ascitic fluid. Acta Cytol., *8*: 175, 1964.
102. CEELEN, G. H.: Persistent radiation changes in vaginal smears and their meaning for the prognosis of squamous cell carcinoma of the cervix. Acta Cytol., *10*: *350*, 1966.
103. CHAPMAN, C. B., and WHALEN, E. J.: The examination of serous fluids by the cell block technic. N. Engl. J. Med., *237*: 215, 1947.
104. CHI, C. H., RUBIO, C. A., and LAGERLÖF, B.: The frequency and distribution of mitotic figures in dysplasia and carcinoma in situ. Cancer, *39*: 1218, 1977.
105. Chicago Report: Standardization in human cytogenetics. Birth Defects, Orig. Art. Ser. II(2): 1–11, 1966.
106. CHILDS, B.: Genetic origin of some sex differences among human beings. Pediatrics, *35*: 798, 1965.
107. CHRISTOPHERSON, W. M.: The control of cervix cancer. Acta Cytol., *10*: *6*, 1966.
108. CHRISTOPHERSON, W. M., and SCOTT, M. A.: Trends in mortality from uterine cancer in relation to mass screening. Acta Cytol., *21*: 5, 1977.
109. CLAUSEN, K. P., and VON HAAM, E.: Fine structure of malignancy-associated changes in peripheral human leukocytes. Acta Cytol., *13*: 435, 1969.
110. COLEMAN, D. V.: The cytodiagnosis of human polyomavirus infection. Acta Cytol., *19*: 93, 1975.
111. COLEMAN, S. A., RUBE, I. F., CARROLL, D. S., SCHREIER, P. C., SPRUNT, D. H., KAISER, R. F., and ERICKSON, C. C.: An evaluation of the sensitization response as a method for determining radiation sensitivity. Am. J. Clin. Path., *33*: 20, 1960.
112. CONN, H. J., DARROW, M. A., and EMMEL, V. M.: Staining Procedures Used by the Biological Stain Commission, 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1960.
113. COOK, G. B., and MARGULIS, A. R.: The use of silicon-foam for examining the human sigmoid colon. Am. J. Roentgenol., *87*: 633, 1962.
114. COONS, A. H.: Fluorescent antibody methods. *In* DANIELLI, J. F. (Ed.): General Cytochemical Methods. New York, Academic Press, 1958.
115. COONS, A. H., CREECH, H. J., and JONES, R. N.: Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *47*: 200, 1941.
116. COONS, A. H., CREECH, H. J., JONES, R. N., and BERLINER, E.: The demonstration of pneumococcal an-

tigen in tissues by the use of fluorescent antibody. J. Immunol., *45*: 159, 1942.

117. COPLAN, M. M., WOODS, F. M., MELVIN, P. D., GUNN, S. A., and AYRE, J. E.: A clinical, cytological, and serological approach to early detection of prostatic cancer: Preliminary report. J. Urol., *73*: 393, 1955.
118. CORMACK, D. H., EASTY, G. C., and AMBROSE, E. J.: Interaction of enzymes with normal and tumor cells. Nature, *190*: 1207, 1961.
119. CORNELISSE, C. J., and PLOEM, J. S.: A new type of two-color fluorescence staining for cytology specimen. J. Histochem. Cytochem., *24*: 72, 1976.
120. COTTRELL, J. C., BECKER, K. L., and MOORE, C. F.: Immunofluorescent studies in gonadotropin-secreting bronchogenic carcinoma. Am. J. Clin. Path., *50*: 422, 1968.
121. CRABBE, J. G. S.: Cytology of voided urine with special reference to "benign" papilloma and some of the problems encountered in the preparation of smears. Acta Cytol., *5*: 233, 1961.
122. CRISSMAN, H. A., OKA, M. S., and STEINKAMP, J. A.: Rapid staining methods for analysis of deoxyribonucleic acid and protein in mammalian cells. J. Histochem. Cytochem., *24*: 64, 1976.
123. CRISSMAN, H. A., and TOBEY, R. A.: Cell-cycle analysis. Science, *21*: 1297, 1974.
124. CULLING, C., and VASSAR, P.: Desoxyribose nucleic acid. Arch. Path., *71*: 76, 1961.
125. DAHLIN, D. C., RANDALL, L. M., SOULE, E. H., and DOCKERTY, M. B.: Smears in the detection or preclinical carcinoma of uterine cervix: Further studies with emphasis on the significance of the negative "repeats". Surg. Gynec. Obstet., *100*: 463, 1955.
126. DALTON, A. J.: Golgi apparatus and secretion granules. *In* BRACHET, J., and MIRSKY, A. E. (Eds.): The Cell. Vol. 2, pp. 603–619. New York, Academic Press, 1961.
127. DANIELLI, J. F.: Alkaline phosphatase of cell nuclei. *In* Cytochemistry: A Critical Approach. pp. 50–63. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1953.
128. DANOS, M. L.: Fixatives for cytologic use. *In* KEEBLER, C. M. et al. (Eds.): Compendium on Cytopreparatory Techniques. Chicago, Tutorials of Cytology, 1974.
129. DART, L. H., and TURNER, T. R.: Fluorescence microscopy in exfoliative cytology. Lab. Invest., *8*: 1513, 1959.
130. DAVID, H., and VELHAGEN, K. H.: Zur Pigmentbildung in den Zellen des malignen melanoblastoms des menschlichen Auges. Vehr. Dtsch. Path. Ges., *45*: 214, 1961.
131. DAVIDSON, W. M., and SMITH, D. R. A morphological sex difference in the polymorphonuclear neutrophil leucocytes. Br. Med. J., *2*: 6, 1954.
132. DAY, R. W., LARSON, W., and WRIGHT, S. W.: Clinical and cytogenetic studies on a group of females with XXX sex chromosome complements. J. Pediat., *64*: 24, 1964.
133. DE BRUYN, P. P. H., FARR, R. S., BANKS, H., and MORTHLAND, F. W.: In vivo and in vitro affinity of diaminocridines for nucleoproteins. Exp. Cell Res., *4*: 174, 1953.
134. DEDEN, C.: Cancer cells in urinary sediment. Acta Radiol. Suppl. Stockh., *115*: 1, 1954.
135. DE DUVE, C.: Lysosomes: A few group of cytoplasmic particles. *In* Subcellular Particles. New York, Ronald Press, 1959.
136. DE DUVE, C., PRESSMAN, B. C., GIANETTO, R., WATTIAUX, R., and APPELMANS, F.: Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. Biochem. J., *60*: 604, 1955.
137. DEE, A. L., and HANSSEN, B.: An experience in the cytopathologic diagnosis of carcinoma of the esophagus. Acta Cytol., *7*: 236, 1963.
138. DE GROUCHY, J., LAMY, M., FREZAL, J., and RIBIER, J.: XX/XO mosaics in Turner's syndrome: Two further cases. Lancet, *1*: 1369, 1961.
139. DELARUE, N. C., PEARSON, F. G., THOMPSON, D. W., and BOXEL, P. V.: Sputum cytology screening for lung cancer. Geriatrics, *26*: 130, 1971.
140. Denver Report: A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. Lancet, *1*: 1063, 1960.
141. DE PETRILLO, A. D., DISAIA, P. J., MORROW, C. P., and TOWNSEND, D. E.: Gravlee jet washer effectiveness as performed by obstetric/gynecologic paramedical personnel. Am. J. Obstet. Gynec., *117*: 371, 1973.
142. DEROBERTIS, E. D. P., NOWINSKI, W. W., and SAEZ, F. A.: Cell Biology, 5th ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1970.
143. DEWEY, M. M., KAHN, R. H., and CONKLIN, J. L.: Cytochemical evidence for synthesis of mucopolysaccharide in the L cell (929) fibroblast. Anat. Rec., *139*: 221, 1961.
144. DE WINIWARTER, H.: Etudes sur la spermatogenese humaine. (I. Cellule de Sertoli. II. Hétérochromosome et mitoses de lépithélium seminal). Arch. Biol., *27*: 91, 1912.
145. DOMINICI, H., and BARCAT, J.: Des modifications histologiques déterminées par le rayonnement du radium. Arch. Electric Méd., *15*: 835, 1907.
146. DOUGHERTY, C. M.: Cervical cytology and sequential birth control pills. Obstet. Gynec., *36*: 741, 1970.
147. DUDGEON, L. S., and WRIGLEY, C. H.: On the demonstration of particles of malignant growth in the sputum by means of the wet-film method. J. Laryng. Otol., *50*: 752, 1935.
148. DURYEE, W. R., and MCKELWAY, W. P.: Possible mechanisms for nuclear nucleolar changes in early cervical carcinoma. Acta Cytol., *5*: 211, 1961.
149. DUTRILLAUX, B., and LEJEUNE, J.: Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. C. R. Acad. Sci. (Paris), Serie D, *272*: 2638, 1971.
150. EATON, M. D., SCALA, A. R., and JEWELL, M.: Methods for measuring viability of ascites cells, dye exclusion and respiration as affected by depletion, poisons, and viruses. Cancer Res., *19*: 945, 1959.
151. Editorial of Acta Cytologica: The meaning of class 3 of the Papanicolaou classification of specimens from the female genital tract. Acta Cytol., *8*: 99, 1964.
152. EDSTRÖM, J.-E.: Composition of ribonucleic acid from various parts of spider oocytes. J. Biophys. Biochem. Cytol., *8*: 47, 1960.
153. EDWARDS, J. H., HARNDEN, D. G., CAMERON, A. H., CROSSE, V. M., and WOLFF, O. H.: A new trisomic syndrome. Lancet, *1*: 787, 1960.
154. EDYNAK, E. M., OLD, L. J., VRANA, M., and LARDIS, M.: A fetal antigen in human tumors detected by an antibody in the serum of cancer. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., *11*: 22, 1970.
155. EGGEN, R. R.: Chromosome Diagnostic in Clinical Medicine. Springfield, Ill., Charles C Thomas Publisher, 1965.
156. ENEROTH, C.-M., and ZETTERBERG, A.: Microspectrophotometric DNA analysis of malignant salivary gland tumours. Acta Otolaryng., *77*: 289, 1974.
157. EPSTEIN, M. A.: The fine structure of the cells in mouse sarcoma 37 ascites fluids. J. Biophys. Biochem.

Cytol., *3*: 567, 1957.

158. ERICKSON, C. C.: Early uterine cancer detection by cytologic screening. Ann. N. Y. Acad. Sci., *63*: 1054, 1956.
159. ESPOSTI, P. L., MOBERGER, G., and ZAJICEK, J.: The cytologic diagnosis of transitional cell tumors of the urinary bladder and its histologic basis. Acta Cytol., *14*: 145, 1970.
160. ESPOSTI, P. L., and ZAJICEK, J.: Grading of transitional cell neoplasms of the urinary bladder from smears of bladder washings: A critical review of 326 tumors. Acta Cytol., *16*: 529, 1972.
161. ESSNER, E., and NOVIKOFF, A. B.: Cytological studies on two functional hepatomas: Interrelations of endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and lysosomes. J. Cell Biol., *15*: 289, 1962.
162. ESTABLE, C., and SOTELO, J. R.: Una neuva estructura celular; el nucleolonema. Publ. Inst. Invest. Ciencias Biol. Publ., *1*: 47, 1951.
163. EVANS, H. J.: Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. Int. Rev. Cytol., *13*: 221, 1962.
164. EVERSE, J., and KAPLAN, N. O.: Mechanisms of action and biological functions of various dehydrogenase isozymes. *In* MARKERT, C. L. (Ed.): Isozymes. Vol. 2, Physiological Function. New York, Academic Press, 1975.
165. FARINA, A., SHATTON, J. B., and MORRIS, H. P.: Isoenzymes of pyruvate kinase in liver and hepatomas of the rat. Cancer Res., *34*: 1439, 1974.
166. FARRON, F., HSU, H. H. T., and KNOX, W. E.: Fetal-type isoenzymes in hepatic and nonhepatic rat tumors. Cancer Res., *32*: 302, 1972.
167. FAWCETT, D. W.: On the occurrence of a fibrous lamina on the inner aspect of the nuclear envelope in certain cells of vertebrates. Am. J. Anat., *119*: 129, 1966.
168. FEIGIN, I., and WOLFE, A.: The alkaline phosphomonoesterase activity of cell nuclei: Activation by 0.16M magnesium. J. Histochem. Cytochem., *5*: 53, 1957.
169. FEIGIN, I., WOLFE, A., and KABAT, E. A.: Histochemical studies on tissue enzymes. VI. A difficulty in the histochemical localization of alkaline phosphatase in nuclei. Am. J. Path., *26*: 647, 1950.
170. FEINER, L. L., and GARIN, A.: Cytological response to radiation in non-cervical cancers of the female genital tract. Cancer, *16*: 166, 1963.
171. FENNESSY, J. J.: A method for obtaining cytologic specimens from the periphery of the lung. Acta Cytol., *10*: 413, 1966.
172. FENNESSY, J. J., FRY, W. A., MANALO-ESTRELLA, P., and FRIAS HIDVEGI, D. V. S.: The bronchial brushing technique for obtaining cytologic specimens from peripheral lung lesions. Acta Cytol., *14*: 25, 1970.
173. FERGUSON, J., and MACKAY, I.: Macroglobulinemia with chromosomal anomaly. Austl. Ann. Med., *12*: 197, 1963.
174. FERGUSON-SMITH, M. A.: Chromatin positive Klinefelter's syndrome. Primary microorchidism in a mental-deficiency hospital. Lancet, *1*: 928, 1958.
175. FERGUSON-SMITH, M. A., JOHNSTON, A. W., and HANDMAKERS, S. D.: Primary amentia and microorchidism associated with an XXXY sex-chromosome constitution. Lancet, *2*: 184, 1960.
176. FEUGHELMAN, M., LANGRIDGE, R., SEEDS, W. E., STOKES, A. R., WILSO, H. R., HOOPER, C. W., WILKINS, M. H. F., BARCLAY, R. K., and HAMILTON, L. D.: Molecular structure of deoxyribose nuclei and nucleoprotein. Nature, *175*: (No. 4463), 834, 1955.
177. FEULGEN, R., and BERSIN, T.: Zur Kenntnis des Plasmalogens. IV. Eine neuartige Gruppe von Phosphatiden. Ztschr. f. physiol. Chem., *260*: 217, 1939.
178. FISHMAN, W. H., INGLIS, N. I., STOLBACH, L. L., and KRANT, M. J.: A serum alkaline phosphatase isoenzyme of human neoplastic cell origin. Cancer Res., *28*: 150, 1968.
179. FITZGERALD, N. W., and LUDBROOK, J.: Cytological diagnosis of prostatic cancer. Br. J. Urol., *34*: 326, 1962.
180. FLAXMAN, B. A.: Growth in vitro and induction of differentiation in cells of basal cell cancer. Cancer Res., *32*: 462, 1972.
181. FOGG, L. C., and WARREN, S.: A comparison of the cytoplasmic changes induced in the Walker rat carcinoma 256 by different types and dosages of radiation. I. The Golgi apparatus. Am. J. Cancer, *31*: 567, 1937.
182. FONTANA, R. S., SANDERSON, D. R., WOOLNER, L. B., MILLER, W. E., BERNATZ, P. E., PAYNE, W. S., and TAYLOR, W. F.: The Mayo Lung Project for early detection and localization of bronchogenic carcinoma: A status report. Chest, *67*: 511, 1975.
183. FOOT, N. C.: The identification of neoplastic cells in serous effusions. Critical analysis of smears from 2,029 persons. Am. J. Path., *32*: 961, 1956.
184. FOOTE, F. W., Jr., and STEWART, F. W.: The anatomical distribution of intraepithelial epidermoid carcinomas of the cervix. Cancer, *1*: 431, 1948.
185. FORD, C. E., JACOBS, P. A., and LAJTHA, L. G.: Human somatic chromosomes. Nature, *181*: 1565, 1958.
186. FORD, C. E., JONES, K. W., POLANI, P. E., DE ALMEIDA, J. C., and BRIGGS, J. H.: A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). Lancet, *1*: 711, 1959.
187. FORNI, A., and MILES, C. P.: Sex chromatin abnormalities in carcinoma of the cervix uteri. Acta Cytol., *10*: 200, 1966.
188. FOUGEREAU, M., and EDELMAN, G. M.: Corroboration of recent models of the γ G immunoglobulin molecule. J. Exp. Med., *121*: 373, 1965.
189. FOUSHEE, J. H. S., KALNINS, Z. A., DIXON, F. R., GIRSH, S., MOREHEAD, R. P., O'BRIEN, T. F., PRIBOR, H., and TATTORY, C.: Gastric cytology: Evaluation of methods and results in 1,670 cases. Acta Cytol., *13*: 399, 1969.
190. FOX, C. H., TURNER, F. G., JOHNSON, W. L., and THORNTON, W. W., Jr.: Endometrial cytology: A new technique. Am. J. Obstet. Gynec., *83*: 1582, 1962.
191. FRACCARO, M., KLINGER, H. P., and SCHULT, W.: A male with XXXXY sex chromosomes. Cytogenetics, *1*: 52, 1962.
192. FRANZEN, S., GIERTZ, G., and ZAJICEK, J.: Cytological diagnosis of prostatic tumors by transrectal aspiration biopsy. Br. J. Urol., *32*: 193, 1960.
193. FRANZEN, S., and ZAJICEK, J.: Aspiration biopsy in diagnosis of probable lesions of the breast—critical review of 3,479 consecutive biopsies. Acta Radiol., *7*: 241, 1968.
194. FRASER, J. H., BOYD, E., LENNOX, B., and DENNISON, W. M.: A case of XXXXY Klinefelter's syndrome. Lancet, *2*: 1064, 1961.
195. FREMONT-SMITH, M., GRAHAM, R. M., and MEIGS, J. V.: Early diagnosis of cancer by study of exfoliated cells. J.A.M.A., *138*: 469, 1948.
196. FRIEDMAN, H. P.: The use of ultraviolet light and fluorescent dyes in the detection of uterine cancer by vaginal smear. Am. J. Obstet. Gynec., *59*: 852, 1950.
197. FROST, J. K.: Clinical cytology. *In* NOVAK, E. R., and JONES, G. E. S. (Eds.): Novak's Textbook of Gy-

necology, 6th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1961.
198. FROST, J. K., WOOD, D. A., and KEARNEY, J. V.: Vaginal smear hormonal patterns in adenocarcinoma of the breast. Trans. Third Annual Meet., Inter-Society Cytology Council, p. 93, 1955.
199. FUERTES-DE LA HABA, A., PELEGRINA, I., BANGDIWALA, I. S., and HERNANDEZ-CIBES, J. J.: Changing patterns in cervical cytology among oral and non-oral contraceptive users. J. Reproductive Med., *10*: 3, 1973.
200. FUJITA, S.: DNA cytofluorometry on large and small cell nuclei stained with pararosaniline Feulgen. Histochemie, *36*: 193, 1973.
201. FUKUDA, T., SHIDA, S., TAKITA, T., and SAWADA, Y.: Cytologic diagnosis of early gastric cancer by the endoscope method with gastrofiberscope. Acta Cytol., *11*: 456, 1967.
202. FULLMER, C. D., and ALLEN, A. R.: The practical importance and possible basic mechanism in hypochronic cells in malignancy. Acta Cytol., *14*: 464, 1970.
203. FURMANSKI, P., SILVERMAN, D. J., and LUBIN, M.: Expression of differentiated functions in mouse neuroblastoma mediated by dibutyryl-cyclic adenosine monophosphate. Nature, *233*: 413, 1971.
204. GABE, M., and MARTOJA-PIÉRSON, M. M.: Localisation histochimique des groupements: SH (sulfhydryl) dans quelques nucleoles. Ann. Histochemie, *1*: 230, 1956.
205. GARDNER, A. F.: An investigation of the use of exfoliative cytology in the diagnosis of malignant lesions of the oral cavity. Acta Cytol., *8*: 436, 1964.
206. GARRET, M., and JASSIE, M.: Cytologic examination of postprostatic massage specimens as an aid in diagnosis of carcinoma of the prostate. Acta Cytol., *20*: 126, 1976.
207. GATENBY, J. B.: The prozymogen granules ("vacuome") of R. R. Bensley in the Pseudotriton pancreas, and the modern neutral-red cytology. Am. J. Anat., *48*: 421, 1931.
208. GEPHART, T., and GRAHAM, R. M.: The cellular detection of carcinoma of the esophagus. Transact. First Intern. Cancer Cytol. Congress, Chicago, p. 159, 1956.
209. GERMAN, J.: Sex chromosomal abnormalities. South. Med. J., *64*: 73, 1971.
210. GERMAN, J. L., BIRO, C. E., and BEARN, A. G.: Chromosomal abnormalities in Waldenström's macroglobulinaemia. Lancet, *2*: 48, 1961.
211. GESCHICKTER, C. F.: Diseases of the Breast. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1945.
212. GHOSH, B. C., GHOSH, L., NEWSON, B. L., and GUPTA, T. K. D.: Histological and ultrastructural study of lactic dehydrogenase in chemically induced lung cancer. Cancer Res., *38*: 2790, 1978.
213. GITLIN, D., and BOESMAN, M.: Serum α-fetoprotein, albumin, and γG-globulin in the human conceptus. J. Clin. Invest., *45*: 1826, 1966.
214. GLÜCKSMANN, A.: Preliminary observation on the quantitative examination of human biopsy material taken from irradiated carcinomata. Br. J. Radiol., *14*: 187, 1941.
215. GLÜCKSMANN, A.: The response of human tissue to radiation with special reference to differentiation. Br. J. Radiol., *25*: 38, 1952.
216. GLÜCKSMANN, A.: Prognosis in cancer of the uterine cervix as determined by histologic methods. Transact. First Intern. Cancer Cytol. Congress, Chicago, p. 307, 1956.
217. GLÜCKSMANN, A., and SPEAR, F. G.: The qualitative and quantitative histological examination on biopsy material from patients treated by radiation for carcinoma of the cervix uteri. Br. J. Radiol., *18*: 313, 1945.
218. GLÜCKSMANN, A., and WAY, S. T.: On the choice of treatment of individual carcinomas of the cervix based on the analysis of serial biopsies. J. Obstet. Gynec., *55*: 573, 1948.
219. GOLD, P., and FREEDMAN, S. O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. J. Exp. Med., *121*: 429, 1965.
220. GOLD, P., and FREEDMAN, S. O.: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J. Exp. Med., *122*: 467, 1965.
221. GOLDBERG, I. H.: Mode of action of antibiotics: II. Drugs affecting nucleic acid and protein synthesis. Am. J. Med., *39*: 722, 1965.
222. GOLDMAN, R. D., KAPLAN, N. O., and HALL, T. C.: Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. Cancer Res., *24*: 389, 1964.
223. GOLDSTEIN, A. I., KENT, D., and KETCHUM, M.: A new method of screening for malignancy of the cervix. Lancet, *1*: 146, 1973.
224. GONDAS, B.: Cell degeneration: Light and electron microscopic study of ovarian germ cells. Acta Cytol., *18*: 504, 1974.
225. GORDON, E. R., GASSNER, E., OKADA, S., and HEMPLEMANN, L. H.: Deoxyribonuclease II activity in lymphoid tissues of rats. Rad. Res., *10*: 545, 1959.
226. GÖSSNER, W.: Zur Histochemie des Strugger-Effektes. Verh. Deutsch Ges. Path., *38*: 102, 1949.
227. GRAF, L., and RAPPORT, M. M.: Immunochemical studies of organ and tumor lipids. VII. The reactivity of anti-human tumor sera with cytolipin H, cardiolipin, and Forssman haptens. Cancer Res., *20*: 546, 1960.
228. GRAHAM, J. B., and GRAHAM, R. M.: A method of enhancing the effectiveness of radiotherapy in cancer of the uterine cervix. Cancer, *6*: 68, 1953.
229. GRAHAM, J. B., and GRAHAM, R. M.: Cul-de-sac puncture in the diagnosis of early ovarian carcinoma. J. Obstet. Gynaec. Br. Commonw., *74*: 371, 1967.
230. GRAHAM, R. M.: Symposium on premalignant cervical lesions. IV. Reserve cell hyperplasia, basal cell hyperplasia and dysplasia. Acta Cytol., *5*: 150, 1961.
231. GRAHAM, R. M.: The Cytologic Diagnosis of Cancer, 2nd ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1963.
232. GRAHAM, R. M.: *In* Symposium on the comparative diagnostic accuracy, discussion of efficiency and specificity of technics for the detection of malignancy. Acta Cytol., *8*: 161, 1964.
233. GRAHAM, R. M., and GRAHAM, J. B.: A cellular index of sensitivity to ionizing radiation: The sensitization response. Cancer, *6*: 215, 1953.
234. GRAY, B.: Sputum cytodiagnosis in bronchial carcinoma: A comparative study of two methods. Lancet, *2*: 549, 1964.
235. GRAY, L. H.: Cellular radiobiology. Radiation Res. Suppl., *1*: 73, 1959.
236. GRAY, L. H.: *In* WOLSTENHOLME, G. E. W., and O'CONNOR, C. M. (Eds.): Ciba Foundation Symposium, "Ionizing Radiations and Cell Metabolism". p. 255. London, J. & A. Churchill, 1956.
237. GREENSTEIN, J. P.: Biochemistry of Cancer, 2nd ed. New York, Academic Press, 1954.
238. GREISEN, O.: Deoxyribonucleic acid content in bronchogenic carcinoma with special reference to polypoid

cell nuclei. Acta Path. Microbiol. Scand., *77*: 177, 1969.

239. GRIFFIN, M. J., COX, R. P., and GRUJIC, N. J.: A chemical method for the isolation of the HeLa cell nuclear localization of HeLa cell alkaline phosphatase. J. Cell Biol., *33*: 200, 1967.
240. GRUMBACH, M. M., VAN WYK, J. J., and WILKINS, L.: Chromosomal sex in gonadal dysgenesis (ovarian agenesis): Relationship to male pseudohermaphroditism and theories of human sex differentiation. J. Clin. Endocrinol., *15*: 1161, 1955.
241. GRUNDMANN, E., and BACH, G.: Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach partieller Hepatektomie. Beitr. Path. Anat., *123*: 144, 1960.
242. GRUNZE, H.: The comparative diagnostic accuracy, efficiency and specificity of cytologic technics used in the diagnosis of malignant neoplasm in serous effusions of the pleural and pericardial cavities. Acta Cytol., *8*: 150, 1964.
243. GRZYBOWSKI, S., and COY, P.: Early diagnosis of carcinoma of the lung: Simultaneous screening with chest X-ray and sputum cytology. Cancer, *25*: 113, 1970.
244. GUARD, H. R.: A new technic for differential staining of the sex chromatin, and the determination of its incidence in exfoliated vaginal epithelial cells. Am. J. Clin. Path., *32*: 145, 1959.
245. GUSBERG, S. B.: The relative efficiency of diagnostic techniques in the detection of early cervical cancer: A comparative study with a survey of 1,000 normal women. Am. J. Obstet. Gynec., *65*: 1073, 1953.
246. GUTMAN, A. B., and GUTMAN, E. B.: An "acid" phosphatase occurring in the serum of patients with metastasizing carcinoma of the prostate gland. J. Clin. Invest., *17*: 473, 1938.
247. HAAGENSEN, C. D.: Diseases of the Breast. Philadelphia, W. B. Saunders, 1956.
248. HABER, M. H.: Interference contrast microscopy for identification of urinary sediments. Am. J. Clin. Path., *57*: 316, 1972.
249. HABER, M. H.: Interference contrast microscoy in the laboratory. Am. J. Clin. Path., *59*: 747, 1973.
250. HAGUENAU, F.: The ergastoplasm: Its history; ultrastructure and biochemistry. Int. Rev. Cytol., *7*: 425, 1958.
251. HAHN, F. E., O'BRIEN, R. L., CIAK, J., ALLISON, J. L., and OLENICK, J. G.: Studies on modes of action of chloroquine, quinacrine, and quinine and on chloroquine resistance. Milit. Med., *131* (Suppl.): 1071, 1966.
252. HALE, M. T., VAUGHN, W. K., and ENGEL, E.: Fluorescent male sex chromatin in white blood cells. South. Med. J., *66*: 340, 1973.
253. HAMMOND, E. C., and MACHLE, W.: Environmental and occupational factors in the development lung cancer. *In* MAYER, E., and MAIER, H. C. (Eds.): Pulmonary Carcinoma. New York, New York University Press, 1956.
254. HANAOKA, M.: Collected lectures, 8th Symposium on Cellular Chemistry, 1955.
255. HANCKE, S., HOLM, H. H., and KOCH, F.: Ultrasonic guided percutaneous fine needle biopsy of the pancreas. Surg. Gynec. Obstet., *140*: 361, 1975.
256. HARMER, M. H. (Ed.): TNM Classification of Malignant Tumours, 3rd ed. Geneva, Union International Contre le Cancer (UICC), 1978.
257. HARRIS, C. C., KAUFMAN, D. G., JACKSON, F., SMITH, J. M., DEDICK, P., and SAFFIOTTI, U.: Atypical cilia in the tracheobronchial epithelium of the hamster during respiratory carcinogenesis. J. Path., *114*: 17, 1974.
258. HARRISON, J. H., BOTSFORD, T. W., and TUCKER, M. R.: The use of the smear of the urinary sediment in the diagnosis and management of neoplasm of the kidney and bladder. Surg. Gynec. Obstet., *92*: 129, 1951.
259. HASTRUP, J., THOMMESEN, P., and FREDERIKSEN, P.: Pancreatitis and pancreatic carcinoma, diagnosed by preoperative fine needle aspiration biopsy. Acta Cytol., *21*: 731, 1977.
260. HATFIELD, A. R. W., SMITHIES, A., WILKINS, R., and LEVI, A. J.: Assessment of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and pure pancreatic juice cytology in patients with pancreatic disease. Gut, *17*: 14, 1976.
261. HATTORI, S., MATSUDA, M., SUGIYAMA, T., and MATSUDA, H.: Cytologic diagnosis of early lung cancer: Brushing method under X-ray television fluoroscopy. Dis. Chest, *45*: 129, 1964.
262. HATTORI, S., MATSUDA, M., SUGIYAMA, T., TERAZAWA, T., and WADA, A.: Some limitation of cytologic diagnosis of small peripheral lung cancers. Acta Cytol., *9*: 431, 1965.
263. HAUSCHKA, T. S.: The chromosomes in ontogeny and oncogeny. Cancer Res., *21*: 957, 1961.
264. HAUSCHKA, T. S.: Chromosome patterns in primary neoplasia. Exp. Cell Res. Suppl., *9*: 86, 1963.
265. HAYAKAWA, K., TAKAHASHI, M., SASAKI, K., KAWAOI, A., OKANO, T., OSADA, H., OTSUKA, T., and MUROTA, Y.: Primary choriocarcinoma of the lung: Case report of two male subjects. Acta Path. Jap., *27*: 123, 1977.
266. HAYATA, I., KAKATI, S., and SANDBERG, A. A.: A new translocation released to the Philadelphia chromosome. Lancet, *2*: 1385, 1973.
267. HAYATA, Y., OHO, K., ICHIBA, M., GOYA, Y., and HAYASHI, T.: Percutaneous pulmonary puncture for cytologic diagnosis: Its diagnostic value for small peripheral pulmonary carcinoma. Acta Cytol., *17*: 469, 1973.
268. HAYATA, Y., OHO, K., ICHIBA, M., TOGO, T., and TAKAHASHI, M.: Percutaneous needle biopsy in the diagnosis of lung carcinoma. Lung Cancer (Japanese Lung Cancer Society), *9*: 3, 1969.
269. HAZARD, J. B.: The present-day scope of clinical cytology. Transact. First Intern. Cancer Cytol. Congress, Chicago, p. 101, 1956.
270. HECHT, E. L.: The endometrial aspiration smear; research status and clinical value. Am. J. Obstet. Gynec., *71*: 819, 1956.
271. HEIBERG, K. A.: Variation von Geschwulstmitosen. Virchows Arch. Path. Anat., *281*: 73, 1931.
272. HEIBERG, K. A., and KEMP, T.: Über die Zahl der Chromosomen in Carcinomzellen beim Menschen. Virchows Arch. Path. Anat., *273*: 693, 1929.
273. HENNING, N., WITTE, S., and BRESSEL, D.: The cytologic diagnosis of tumors of the upper gastrointestinal tract (esophagus, stomach, duodenum). Acta Cytol., *8*: 121, 1964.
274. HERBST, A. L.: Carcinoma and exposure to stilbestrol in utero. Contemp. Obstet. Gynec., *1*: 19, 1973.
275. HERBUT, P. A.: Cytologic diagnosis of carcinoma of the prostate. Am. J. Clin. Path., *19*: 315, 1949.
276. HERMAN, L., and FITZGERALD, P. J.: The fine structure of the Golgi body following thyroid stimulation and pancreatic regeneration. Trans. N. Y. Acad. Sci., *23*: 332, 1961.
277. HERSHENSON, L. M., and HERSHENSON, M. A.: Esophageal cytology by a gauze-sponge smear technique. J.A.M.A., *168*: 1871, 1958.
278. HERTL, M.: Zum Nucleolus-Ploblem. Zschr. Zell-

forsch., *46*: 18, 1957.

279. HERZENBERG, L. A., and HERZENBERG, L. A.: Association of H-2 antigens with the cell membrane fraction of mouse liver. Proc. Nat. Acad. Sci., *47*: 762, 1961.
280. HEVESY, G.: Radioactive Indicators. New York and London, Interscience Publ., 1948.
281. HICUCHENKO, K.: Tetracycline induced flourescence. A possible diagnostic tool in bronchogenic carcinoma. Am. Rev. Resp. Dis., *91*: 610, 1965.
282. HIDVEGI, D., NIEMAN, H. L., DEMAY, R. M., and JANES, W.: Percutaneous transperitoneal aspiration of pancreas guided by ultrasound. Acta Cytol., *23*: 181, 1979.
283. HIGURASHI, M.: Application of autoradiography technique on the chromosome analysis. Acta Paediat. Jap., *72*: 1291, 1968.
284. HILL, E. C.: Clear cell carcinoma of the cervix and vagina in young women. Am. J. Obstet. Gynec., *116*: 470, 1973.
285. HIRSCH, G. C.: Die Fliessbandarbeit in der exocrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen. Mit einem Exkurs über Ergastoplasma und Golgi-körper. Naturwissenschaften, *47*: 25, 1960.
286. HOBIK, H. P., and GRUNDMANN, E.: Quantitative Veränderungen der DNS und der RNS in der Rattenleberzelle während der Carcinogenese durch Diäthylnitrosamin. Beitr. Path. Anat., *127*: 25, 1962.
287. HOLLAND, P., and SLEAMAKER, K.: A cytologic evaluation of intracellular tetracycline fluorescence in normal and neoplastic lymphocytes. Acta Cytol., *13*: 246, 1969.
288. HOLMBERG, B.: On the permeability to lissamine green and other dyes in the course of cell injury and cell death. Exp. Cell Res., *22*: 406, 1961.
289. HOLT, S. J., and HICKS, R. M.: The localization of acid phosphatase in rat liver cells as revealed by combined cytochemical staining and electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol., *11*: 47, 1961.
290. HOUSTEK, J., MASOPUST, J., KITHIER, K., and RADL, J.: Hepatocellular carcinoma in association with a specific fetal α_1-globulin, fetoprotein. J. Pediat., *72*: 186, 1968.
291. HOUSTON, E. W., RITZMANN, S. E., and LEVIN, W. C.: Chromosomal aberrations common to three types of monoclonal gammopathies. Blood, *29*: 214, 1967.
292. HOWARD, A.: *In* WOLSTENHOLME, G. E. W., and O'CONNOR, C. M. (Eds.): Ciba Foundation Symposium, "Ionizing Radiations and Cell Metabolism." London, J. & A Churchill, 1956.
293. HRUBAN, Z., SLESERS, A., and HOPKINS, E.: Drug-induced and naturally occurring myeloid bodies. Lab. Invest., *27*: 62, 1972.
294. HSIE, A. W., and PUCK, T. T.: Morphological transformation of Chinese hamster cells by dibutyryl adenosine cyclic 3′:5′-monophosphate and testosterone. Proc. Nat. Acad. Sci., *68*: 358, 1971.
295. HSU, T. C.: Mammalian chromosomes in vitro. 1. The karyotype of man. J. Heredity, *43*: 167, 1952.
296. HUNGERFORD, D. A., and NOWELL, P. C.: Chromosome studies in human leukemia. III. Acute granulocytic leukemia. J. Nat. Cancer Inst., *29*: 545, 1962.
297. IANCKILA, A. J., LI, C-Y., LAM, K-W., and YAM, L. T.: The cytochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase. Am. J. Clin. Path., *70*: 45, 1978.
298. ICHIHARA, A.: Isozyme patterns of branched-chain amino acid transaminase during cellular differentiation and carcinogenesis. Ann. N. Y. Acad. Sci., *259*: 347, 1975.
299. IFFY, L., ANSELL, J. S., and BRYANT, J. S.: Non-adrenal female pseudohermaphroditism: An unusual case of fetal masculinization. Obstet. Gynec., *26*: 59, 1965.
300. IINUMA, K., and NAKAGOME, Y.: Fluorescence of Barr body in human amniotic-fluid cells. Lancet, *1*: 436, 1973.
301. INGRAM, R. C., KRANTZ, S., MENDELOFF, J., and LESLIE, H.: Exfoliative cytology and the early diagnosis of oral cancer. Cancer, *16*: 160, 1963.
302. INUI, N., and OOTA, K.: DNA content of human tumor cell nucleus: A study on gastric carcinoma, with special reference to its histological features. GANN, *56*: 567, 1965.
303. ISHIDATE, M., and KAWAZU, R.: Comparative studies on Yoshida sarcoma and ascites hepatoma cells by supravital staining with neutral red. GANN, *55*: 341, 1964.
304. ISHIHARA, T.: Cytological studies of tumors-XXXI. A chromosome study in a human gastric cancer carcinoma. GANN, *50*: 403, 1959.
305. ISHIHARA, T., KIKUCHI, Y., and SANDBERG, A. A.: Chromosomes of twenty cancer effusions: Correlation of karyotypic, clinical, and pathologic aspects. J. Nat. Cancer Inst., *30*: 1303, 1963.
306. ISHIKAWA, T., and INOUE, K.: Molecular structure of tumor cell surface. Symposia Society for Cellular Chemistry (Tokyo), *14*: 123, 1964.
307. JACKSON, J. F.: Supravital blood studies, using acridine orange fluorescence. Blood, *17*: 643, 1961.
308. JACKSON, J. F.: Chromosome analysis of cells in effusions from cancer patients. Cancer, *20*: 537, 1967.
309. JACKSON, S. F.: Cytoplasmic granules in fibrinogenic cells. Nature, *175*: 39, 1955.
310. JACOB, G. F.: Diagnosis of malignancy by chromosome counts. Lancet, *2*: 724, 1961.
311. JACOBJ, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdopplung ihres Volumens. Arch. Entwickl.-Mech. Org., *106*: 124, 1925.
312. JACOBJ, W.: Die verschiedenen Arten des gesetzmassigen Zellwachstums und ihre Beziehungen zu Zellfunktion, Umwelt, Krankheit, maligner Geschwulstbildung und innerem Bauplan. Arch. Entwickl.-Mech. Org., *141*: 584, 1942.
313. JACOBS, P. A., BAIKIE, A. G., COURT BROWN, W. M., FORREST, H., ROY, J. R., STEWART, J. S. S., and LENNOX, B.: Cnromosomal sex in the syndrome of testicular feminization. Lancet, *2*: 591, 1959.
314. JACOBS, P. A., BAIKIE, A. G., COURT BROWN, W. M., MACGREGOR, T. N., MACLEAN, N., and HARNDEN, D. G.: Evidence for the existence of the human "super female". Lancet, *2*: 423, 1959.
315. JACOBSON, R. A., and BONNER, J.: Studies of the chromosomal RNA and of the chromosomal RNA-binding protein of higher organisms. Arch. Biochem. Biophys., *146*: 557, 1971.
316. JOHNSON, B., and BRADY, J. M.: Malignancy related changes in the peripheral blood of animals following transplant of tumors. Acta Cytol., *13*: 443, 1969.
317. JOHNSON, G. S., FIEDMAN, R. M., and PASTAN, I.: Cyclic APM-treated sarcoma cells acquire several morphological characteristics of normal fibroblasts. Ann. N. Y. Acad. Sci., *185*: 413, 1971.
318. JOHNSON, W. D.: The cytological diagnosis of cancer in serous effusions. Acta Cytol., *10*: 161, 1966.
319. JOHNSON, W. D., KOSS, L. G., PAPANICOLAOU, G. N., and SEYBOLT, J. F.: Cytology of esophageal washings, an evaluation of 364 cases. Cancer, *8*: 951, 1955.
320. JOHNSTON, D. G.: Cytoplasmic : nuclear ratios in

the cytological diagnosis of cancer. Cancer, *5*: 945, 1952.

321. JONES, H. W., Jr., GOLDBERG, B., DAVIS, H. J., and BURNS, B. C., Jr.: Cellular changes in vaginal and buccal smears after radiation: An index of the radiocurability of carcinoma of the cervix. Am. J. Obstet. Gynec., *78*: 1083, 1959.
322. JORDAN, M. J., BADER, G. M., and NEMAZIE, A. S.: Comparative accuracy of preoperative cytologic and histologic diagnosis in endometrial lesions. Obstet. Gynec., *7*: 646, 1956.
323. KALLENBERGER, A.: Geschlechtschromatin bei Mammakarzinomen. Schweiz. Med. Wschr., *94*: 1450, 1964.
324. KALLENBERGER, A., HAGMANN, A., and DESCOEUDRES, C.: The interpretation of abnormal sex chromatin incidence in human breast tumors on the basis of DNA measurements. Europ. J. Cancer, *3*: 439, 1968.
325. KANDUTSCH, A. A., and STIMPFLING, J. H.: Partial purification of tissue isoantigens from a mouse sarcoma. Transplantation, *1*: 201, 1963.
326. KAPLAN, N. O., and WHITE, S.: Immunological characteristics of dehydrogenases. Ann. N. Y. Acad. Sci., *103*: 835, 1963.
327. KASPER, T. A., SMITH, E. S. O., COOPER, P., CLAYTON, J., and TODD, D.: An analysis of the prevalence and incidence of gynecologic cancer cytologically detected in a population of 175,767 women. Acta Cylol., *14*: 261, 1970.
328. KASTNER, H., and HOLZER, E.: Zytologische Portiofunde unter ovulationshemmender Medikation. (Cervical cytology in women using oral contraceptives) Wien. Klin. Wschr., *85*: 175, 1973.
329. KASUGAI, T.: Evaluation of gastric lavage cytology under direct vision by the fibergastroscope employing Hanks' solution as a washing solution. Acta Cytol., *12*: 345, 1968.
330. KASUGAI, T.: Gastric lavage cytology and biopsy for early gastric cancer under direct vision by the fibergastroscope. Gastrointestinal Endoscopy, *14*: 205, 1968.
331. KASUGAI, T.: Gastric lavage cytology under direct observation with the fibergastroscope. Gann Monograph on Cancer Research, *11*: 207, 1971.
332. KATAYAMA, I., LI, C. Y., and YAM, L. T.: Histochemical study of acid phosphatase isoenzyme in leukemic reticuloendotheliosis. Cancer, *29*: 157, 1972.
333. KAWAI, T.: Clinical Aspect of the Plasma Proteins. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1973.
334. KESSLER, I. I.: Perspectives on the epidemiology of cervical cancer with special reference to the herpesvirus hypothesis. Cancer Res., *34*: 1091, 1974.
335. KIM, J. H., and EVANS, T. C.: Effects of X-irradiation on the mitotic cycle of Ehrlich ascites tumor cells. Rad. Res., *21*: 129, 1964.
336. KING, O. H., Jr., and COLEMAN, S. A.: Analysis of oral exfoliative cytologic accuracy by control biopsy technique. Acta Cytol., *9*: 351, 1965.
337. KJELLGREN, O.: The radiation reaction in the vaginal smear and its prognostic significance; studies on radiologically treated cases of cancer of the uterine cervix. Acta Radiol. Suppl., *168*: 1, 1958.
338. KLAYMAN, M. I.: The diagnosis of esophageal carcinoma by exfoliative cytology, including two cases of cardiospasm associated with carcinoma of the esophagus. Ann. Int. Med., *43*: 33, 1955.
339. KLAYMAN, M. I., MASSEY, B. W., PLETICKA, S., GALAMBOS, J. T., BRANDBORG, C., KIRSNER, J. B., and PALMER, W. L.: The cytologic diagnosis of gastric cancer by chymotrypsin lavage. Gastroenterology, *29*: 849, 1955.
340. KLINE, T. S.: Cytological examination of the cerebrospinal fluid. Cancer, *15*: 591, 1962.
341. KLINE, T. S., and NEAL, H. S.: Needle aspiration of the breast—Why bother? Acta Cytol., *20*: 324, 1976.
342. KLINGER, H. P.: The fine structure of the sex chromatin body. Exp. Cell Res., *14*: 207, 1958.
343. KNAPE, M.: The cytological diagnosis of gastric carcinoma. Arch. Chir. Neerland., *10*: 1, 1958.
344. KNOERNSCHILD, H. E., and CAMERON, A. B.: Mucosal smear cytology in the detection of colon carcinoma. Acta Cytol., *7*: 233, 1963.
345. KOLLER, P. C.: The nucleus of the cancer cells, A historical review. Exp. Cell Res. Suppl., *9*: 3, 1963.
346. KOLLER, P. C.: The Role of Chromosomes in Cancer Biology. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1972.
347. KOSAKI, T., IKEDA, T., KOTANI, Y., NAKAGAWA, S., and SAKA, T.: A new phospholipid, malignolipin in human malignant tumors. Science, *127*: 1176, 1958.
348. KOSAKI, T., SAKA, T., NAKAGAWA, S., and MURAKI, K.: Studies on malignolipin-IX. Histological detection of malignolipin by means of fluorescent antibody. Mie Med. J., *11*: 149, 1961.
349. KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1968.
350. KOSS, L. G., MELAMED, M. R., and GOODNER, J. T.: Pulmonary cytology: A brief survey of diagnostic results from July 1st 1952 until December 31st, 1960. Acta Cytol., *8*: 104, 1964.
351. KOVÁCS, M., VASS, L., and SELLYEI, M.: Detection of Y chromatin and Barr bodies in histological sections by quinacrine fluorescence. Stain Technol., *48*: 94, 1973.
352. KOWLESSAR, O. D., ALTMAN, K. I., and HEMPELMANN, L. H.: The effect of ionizing radiation on deoxyribonuclease activities of body fluids. II. The plasma DNase after total body irradiation. Arch. Biochem. Biophys., *54*: 355, 1955.
353. KREUZER, G., and BOQUOI, E.: Aspiration biopsy cytology, mammography and clinical exploration: A modern set up in diagnosis of tumors of the breast. Acta Cytol., *20*: 319, 1976.
354. KRUSZYNSKI, J., and OSTROWSKI, K.: Golgi structure of mouse intestinal epithelium examined by refractometry and interferometry. Exp. Cell. Res., *16*: 358, 1959.
355. KURNICK, N. B.: Methyl-green-pyronin: I. Basis of selective staining of nucleic acids. J. Gen. Physiol., *33*: 243, 1950.
356. KURNICK, N. B., and MIRSKY, Q. E.: Methyl-green-pyronine: II. Stoichiometry of reaction with nucleic acids. J. Gen. Physiol., *33*: 263, 1950.
357. KUROKAWA, T., SAITO, T., FUJITA, J., ONODERA, H., ISHIOKA, K., and KITAOKA, H.: A comparative study of results of radiological and cytological tests. Tohoku J. Exp. Med., *71*: 225, 1960.
358. KUROSUMI, K.: Electron microscopic analysis of the secretion mechanism. Int. Rev. Cytol., *11*: 1, 1961.
359. KYRIAZIS, G. A., BALIN, H., and LIPSON, R. L.: Hematoporphyrin-derivative-fluorescence test colposcopy and colpophotography in the diagnosis of atypical metaplasia, dysplasia, and carcinoma in situ of the cervix uteri. Am. J. Obstet. Gynec., *117*: 375, 1973.
360. LANGVAD, E.: Lactate dehydrogenase isoenzyme

patterns in the tumour-bearing colon. Int. J. Cancer, *3*: 17, 1968.

361. LANIER, R. R., and WIKLE, W. T.: The clinical significance of "SR" (sensitization response to radiation) in normal vaginal mucosa. Radiology, *72*: 217, 1959.
362. LEE, C., OLIVER, L., COE, E. L., and OYASU, R.: Lactate dehydrogenase in normal mammary glands and in 7, 12-Dimethylbenz (a) authracene-induced mammary tumors in Sprague-Dawley rats. J. Nat. Cancer Inst., *62*: 193, 1979.
363. LEHNINGER, A. L.: The mitochondrion: Molecular organization. Excerpta Medica Int. Cong. Ser., *166*: 3, 1968.
364. LEJEUNE, J., GAUTHIER, M., and TURPIN, R.: Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, *248*: 1721, 1959.
365. LELBACH, W. K.: Histologische Veränderungen an bestrahlten Karzinomen. *In* JANKER, R.(Ed.): Grundlagen und Praxis der Bewegungsbestrahlung. Bd. II. Wuppertal-Elberfeld, Verlag W. Girardet, 1955.
366. LENNOX, B.: Nuclear sexing and the intersexes. *In* HARRISON, C. V. (Ed.): Recent Advance in Pathology. London, J. & A. Churchill, 1960.
367. LEUCHTENBERGER, C.: Changes in the DNA content in an Ehrlich ascites tumor from 1952 to 1956, as determined by Feulgen microspectrophotometry. Exp. Cell Res., *11*: 506, 1957.
368. LEUCHTENBERGER, C., and LEUCHTENBERGER, R.: Quantitative cytochemical studies on the relation of deoxyribonucleic acid of cells to various pathological conditions. Biochem. Pharm., *4*: 128, 1960.
369. LEUCHTENBERGER, C., LEUCHTENBERGER, R., and DAVIS, A. M.: A microspectrophotometric study of the desoxyribose nucleic acid (DNA) content in cells of normal and malignant human tissues. Am. J. Path., *30*: 65, 1954.
370. LEVAN, A.: Chromosome patterns in tumors. *In* Novel Symposia Chromosome Identification. pp. 217–229, 1973.
371. LEVAN, A., LEVAN, G., and MITELMAN, F.: Chromosomes and cancer. Hereditas, *86*: 15, 1977.
372. LEVI, P. E., COOPER, E. H., ANDERSON, C. K., PATH, M. C., and WILLIAMS, R. E.: Analyses of DNA content, nuclear size and cell proliferation of transitional cell carcinomas in man. Cancer *23*: 1074, 1969.
373. LEVINTHAL, C.: The mechanism of DNA replication and genetic recombination in phage. Proc. Nat. Acad. Sci., *42*: 394, 1956.
374. LI, C. Y., YAM, L. T., and LAM, K. W.: Acid phosphatase isoenzyme in human leukocytes in normal and pathologic conditions. J. Histochem. Cytochem., *18*: 473, 1970.
375. LITTON, L. E., HOLLANDER, D. H., BORGAONKAR, D. S., and FROST, J. K.: Y-chromatin of interphase cancer cells: A preliminary study. Acta Cytol., *16*: 404, 1972.
376. LIU, W.: Fluorescence microscopy in exfoliative cytology. Arch. Path., *71*: 286, 1961.
377. LOGERFO, P., KRUPEY, J., and HANSEN, H. J.: Demonstration of an antigen common to several varieties of neoplasia: Assay using zirconyl phosphate gel. N. Engl. J. Med., *285*: 138, 1971.
378. LOMBARDO, V., and SARACCO, C.: La diagnosi citologica nei tumori dello stomacho. Minerva Medica, *49*: 3252, 1958.
379. London Report: The normal human karyotype. Cytogenetics, *2*: 264, 1963.
380. LUBS, H. A., Jr.: Testicular size in Klinefelter's syndrome in men over fifty. Report of a case with XXY/XY mosaicism. N. Engl. J. Med., *267*: 326, 1962.
381. LUBS, H. A., Jr., and CLARK, R.: The chromosome complement of human solid tumors. I. Gastrointestinal tumors and technic. N. Engl. J. Med., *268*: 907, 1963.
382. LUDFORD, R. J.: Cytological changes after irradiation of malignant growths. Tenth Sc. Report. London, Imp. Cancer Res. Fund, 1932.
383. LUKEMAN, J. M.: An evaluation of the negative pressure "jet washing" of the endometrium in menopausal and postmenopausal patients. Acta Cytol., *18*: 462, 1974.
384. LUPOINI, G., FRASCHINI, P., LABIANCA, R., and MANGIAROTTI, F.: Carcinoembryonic antigen revisited. Lancet, *1*: 756, 1977.
385. MACFARLANE, E. W. E.: Some pathologic conditions affecting urine cytology. Acta Cytol., *7*: 196, 1963.
386. MACGREGOR, J. E., FRASER, M. E., and MANN, M. F.: Improved prognosis for cervical cancers due to comprehensive screening. Acta Cytol., *16*: 14, 1972.
387. MACLEAN, N., HARNDEN, D. G., COURT BROWN, W. M., BOND, J., and MANTLE, D. J.: Sex-chromosome abnormalities in newborn babies. Lancet, *1*: 286, 1964.
388. MAKINO, S.: The concept of stem-line cells as progenitors of a neoplastic population. Cytologia, Suppl. 177, 1957.
389. MAKINO, S.: Human Chromosomes. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1975.
390. MAKINO, S., and NISHIMURA, I.: Water-pretreatment squash technic. Stain Technol., *27*: 1, 1952.
391. MAKINO, S., SASAKI, M. S., and TONOMURA, A.: Cytological studies of tumors. Chromosome studies in fifty two human tumors. J. Nat. Cancer Inst., *32*: 741, 1964.
392. MANDLEBAUM, F. S.: The diagnosis of malignant tumors by paraffin sections of centrifuged exudates. J. Lab. Clin. Med., *2*: 580, 1917.
393. MANSFIELD, R. E.: An improved method for the fluorochrome staining of mycobacteria in tissues and smears. Am. J. Clin. Path., *53*: 394, 1970.
394. MARBERGER, E., and NELSON, W.: Geschlechtsbestimmung in der menschlichen Haut. Bruns' Beitr. Klin. Chir., *190*: 103, 1955.
395. MASON, M. K.: The cytological diagnosis of carcinoma of the prostate. Acta Cytol., *11*: 68, 1967.
396. MASON, M. K., and POWLEY, J. M.: Exfoliative cytology in the diagnosis of cancer of the prostate. Br. J. Urol., *36*: 82, 1964.
397. MASOPUST, J., KITHIER, K., RADL, J., KOUTECKY, J., and KOTAL, L.: Occurrence of fetoprotein in patients with neoplasms and non-neoplastic diseases. Int. J. Cancer, *3*: 364, 1968.
398. MASOPUST, J., and KOTAL, L.: Fetoprotein: immunochemical behaviour of an autonomous fetal component in sera from human fetuses. Ann. Paediat. (Basel), *204*: 138, 1965.
399. MASUBUCHI, K., KUBO, H., TENJIN, Y., ONO, M., and YAMAZAKI, M.: Follow-up studies by cytology on cancer of the cervix uteri after treatment. Acta Cytol., *13*: 323, 1969.
400. MCARTHUR, J. W., TOLL, G. D., RUSSFIELD, A. B., REISS, A. M., QUINBY, W. C., and BAKER, W. H.: Sexual precocity attributable to ectopic gonadotropin secretion by hepatoblastoma. Am. J. Med., *54*: 390, 1973.
401. MCCORMACK, L. J., HAZARD, J. B., EFFLER, D. B., GROVES, L. K., and BELOVICH, D.: Experiences with the cytologic examination of bronchial swabbings in

the diagnosis of cancer of the lung: A study of 602 cases. J. Thorac. Surg., *29*: 277, 1955.

402. McCormick, W. F., and Coleman, S. A.: A membrane filter technic for cytology of spinal fluid. Am. J. Clin. Path., *38*: 191, 1962.
403. McDonald, J. R.: Exfoliative cytology in genitourinary and pulmonary diseases. Am. J. Clin. Path., *24*: 684, 1954.
404. McGowan, L.: The current efficacy of the cervical-vaginal cytosmear to detect endometrial cancer. Acta Cytol., *8*: 434, 1964.
405. McKay, D. G., Ware, P. F., Atwood, D. A., and Harken, D. A.: The diagnosis of bronchogenic carcinoma by smears of bronchoscopic aspirations. Cancer, *1*: 208, 1948.
406. McLennan, M. T., and McLennan, C. E.: Prognostic value of the cornification index in patients treated for gynecologic cancer. Obstet. Gynec., *18*: 131, 1961.
407. McLimans, W. F., Davis, E. V., Glover, F. L., and Pake, G. W.: The submerged culture of mammalian cells: The spinner culture. J. Immunol., *79*: 428, 1957.
408. Meisels, A.: Cytology of carcinoma of the kidney. Acta Cytol., *7*: 239, 1963.
409. Melamed, M. R.: The urinary sediment cytology in a case of malakoplakia. Acta Cytol., *6*: 471, 1962.
410. Melamed, M. R., Koss, L. G., Flehinger, B. J., Kelisky, R. P., and Dubrow, H.: Prevalence rates of uterine cervical carcinoma in situ for women using the diaphragm or contraceptive oral steroids. Br. Med. J., *3*: 195, 1969.
411. Melamed, M. R., Koss, L. G., Ricci, A., and Whitmore, W. F.: Cytohistological observations on developing carcinoma of the urinary bladder in man. Cancer, *13*: 67, 1960.
412. Melynkovych, G., Bishop, C. F., and Swayze, M. B.: Function of alkaline phosphatase activity in synchronized heteroploid cell cultures: Effects of prednisolone. J. Cell Physiol., *70*: 231, 1968.
413. Messelt, O. T.: Cytological diagnosis of esophagus cancer. Acta Chir. Scand., *103*: 440, 1952.
414. Messelt, O. T., and Höeg, K.: Mass screening of cancer and precancerous conditions of cervix uteri. Acta Cytol., *11*: 39, 1967.
415. Metcalf, R. L., and Patton, R. L.: Fluorescence microscopy applied to entomology and allied fields. Stain Technol., *19*: 11, 1944.
416. Miles, C. P.: Sex chromatin in cultured normal and cancerous human tissues. Cancer, *12*: 299, 1959.
417. Miller, O. J., Schreck, R. R., Beiser, S. M., and Erlanger, B. F.: Immunofluorescent studies of chromosome binding with anti-nucleoside antibodies. *In* Caspersson, T., and Zech, L. (Eds.): Chromosome Identification. pp. 43–48. New York & London, Academic Press, 1973.
418. Mittwoch, U.: Sex chromatin. J. Med. Genet., *1*: 50, 1964.
419. Mittwoch, U.: Frequency of drumsticks in normal women and in patients with chromosomal abnomalities. Nature, *201*: 317, 1964.
420. Mittwoch, U.: Sex chromosomes and sex chromatin. Nature, *204*: 1032, 1964.
421. Mizuno, N., Ogawa, K., and Okamoto, M.: Changes of lysosomes in fibroblasts cultured anaerobically. Arch. Histol. Jap., *21*: 455, 1961.
422. Möller, G.: Demonstration of mouse isoantigens at the cellular level by the fluorescent antibody technique. J. Exp. Med., *114*: 415, 1961.
423. Moore, C.: Cigarette smoking and cancer of the mouth, pharynx and larynx. J.A.M.A., *218*: 553, 1971.
424. Moore, G. E., Ito, E., Ulrich, K., and Sandberg, A. A.: Culture of human leukemia cells. Cancer, *19*: 713, 1966.
425. Moore, J. G., Chang, N. H., Scott, E., and Morton, D. G.: The early assessment of irradiation therapy in cervical cancer. Am. J. Obstet. Gynec., *86*: 677, 1963.
426. Moore, K. L., and Barr, M. L.: Smears from the oral mucosa in the detection of chromosomal sex. Lancet, *2*: 57, 1955.
427. Moore, K. L., and Barr, M. L.: The sex chromatin in benign tumors and related conditions in man. Br. J. Cancer, *9*: 246, 1955.
428. Moore, K. L., and Barr, M. L.: The sex chromatin in human malignant tissues. Br. J. Cancer, *11*: 384, 1957.
429. Moore, K. L., Graham, M. A., and Barr, M. L.: The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from a skin biopsy. Surg. Gynec. Obstet., *96*: 641, 1953.
430. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Battips, D. M., and Hungerford, D. A.: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res., *20*: 613, 1960.
431. Morgan, W. S.: Affinity of neutral red for cells with basophilic cytoplasm. Nature, *181*: 1132, 1958.
432. Morita, T.: Fluorescence microscopic study on the oral exfoliated cells. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *2*: 107, 1963.
433. Morris, J. M.: The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites. Am. J. Obstet. Gynec., *65*: 1192, 1953.
434. Morris, J. M., and Mahesh, V. B.: Further observations on the syndrome "testicular feminization". Am. J. Obstet. Gynec., *87*: 731, 1963.
435. Morrison, L. F., Hopp, E. S., and Wu, R.: Diagnosis of malignancy of the nasopharynx. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., *58*: 18, 1949.
436. Morton, D. G.: Ovarian carcinoma. Am. J. Obstet. Gynec., *95*: 359, 1966.
437. Morton, D. G., Chang, N., and Moore, J. G.: Radiation responce as an aid in the treatment of cervical cancer. Pacific Med. Surg., *73*: 157, 1965.
438. Muenzer, R. W., Girgis, Z. A., Rigal, R. D., and Bennett, A. D.: An acceptable yearly screening device for endometrial carcinoma. Am. J. Obstet. Gynec., *119*: 31, 1974.
439. Müller, M., and Törö, I.: Studies on feeding and digestion in protozoa. III. Acid phosphatase activity and food vacuoles of Paramecium multimicronucleatum. J. Protozool., *9*: 98, 1962.
440. Munger, B. L.: The ultrastructure and histophysiology of human eccrine sweat glands. J. Biophys. Biochem. Cytol., *11*: 385, 1961.
441. Murakami, T.: Memorandum on early gastric cancer. *In* Murakami, T., et al. (Eds.): Lectures on Diagnosis of Early Gastric Cancer. Vol. 5, Chapter XV. Tokyo, Bunkodo, 1967.
442. Muramatsu, M., Smetana, K., and Busch, H.: Quantitative aspects of isolation of nucleoli of the Walker carcinosarcoma and liver of the rat. Cancer Res., *23*: 510, 1963.
443. Nakayama, T., Yoshida, M., and Kitamura, M.: L-leucine sensitive, heat-stable alkaline-phosphatase isoenzyme detected in a patient with pleuritis carcinomatosa. Clin. Chim. Acta, *30*: 546, 1970.
444. Nasiell, M.: Diagnosis of lung cancer by aspiration biopsy and a comparison between this method and exfoliative cytology. Acta Cytol., *11*: 114, 1967.

445. NASSONOV, D.: Das Golgische Binnennetz und seine Beziehungen zu der Sekretion. Morphologische und experimentelle Untersuchungen an einigen Säugetierdrüsen. Arch. mikr. Anat., *100*: 433, 1924.
446. NATHANSON, L., and FISHMAN, W. H.: New observation on the Regan isoenzyme of alkaline phosphatase in cancer patients. Cancer, *27*: 1388, 1971.
447. National Health Education Committee: Survival experience of patients with malignant neoplasms: The end-results group for the 4th National Cancer Conference, Mineapolis 1960, in facts on the major killing and crippling diseases in the United States today. New York, National Health Education Committee, Inc., 1961.
448. NAUJOKS, H.: Sex chromatin in exfoliated cells of cervical carcinoma in situ. Acta Cytol., *13*: 634, 1969.
449. NAYLOR, B.: The cytologic diagnosis of cerebrospinal fluid. Acta Cytol., *8*: 141, 1964.
450. NIELSEN, A. M.: Cytological changes in vaginal smears in radium and roentgen irradiation of uterine carcinoma and their prognostic significance. Acta Radiol., *37*: 479, 1952.
451. NOVIKOFF, A. B.: Biochemical and staining reactions of cytoplasmic constituents. *In* RUDNICK, D. (Ed.): Developing Cell Systems and Their Control. Austin, Ronald Press, 1960.
452. NOVIKOFF, A. B.: Lybosomes and related particles. *In* BRACHET, J., and MISAKY, A. E. (Eds.): The Cell. Vol. II. New York, Academic Press, 1961.
453. NOWELL, P. C., and HUNGERFORD, D. A.: Chromosome studies in human leukemia. II. Chronic granulocytic leukemia. J. Nat. Cancer Inst., *27*: 1013, 1961.
454. O'BRIEN, R. L., OLENICK, J. G., and HAHN, F. E.: Reactions of quinine, chloroquine, and quinacrine with DNA and their effects on the DNA and RNA polymerase reactions. Proc. Nat. Acad. Sci., *55*: 1511, 1966.
455. OGAWA, K.: Cytoplasmic granules of astrocytes cultivated in vitro. Ann. Histochem., *6*: 363, 1961.
456. OGAWA, K., MIZUNO, N., HASHIMOTO, K., FUJII, S., and OKAMOTO, M.: Cytochemistry cultured neural tissue. (III) Additional staining technics with special reference to lysosomes. Proc. Dept. Anat., Kyoto Univ. Sch. Med., *4*: 1, 1960.
457. OGAWA, K., MIZUNO, N., and OKAMOTO, M.: Lysosomes in cultured cells. J. Histochem. Cytochem., *9*: 202, 1961.
458. OHASHI, H., and TAKAHASHI, M.: The behavior of sex chromatin in the uterine cervical lesions. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *17*: 19, 1978.
459. OHNO, S.: The origin of the sex chromatin body. Acta Cytol., *7*:147, 1963.
460. OHNO, S., and HAUSCHKA, T. S.: Allocycly of the X-chromosome in tumors and normal tissues. Cancer Res., *20*: 541, 1960.
461. OHNO, S., and MAKINO, S.: The single-X nature of the sex chromatin in man. Lancet, *1*: 78, 1961.
462. OKADA, S., GORDON, E. R., KING, R., and HEMPELMANN, L. H.: The effect of X-ray exposure on deoxyribonuclease II activity in lymphoid tissues. Arch. Biochem. Biophys., *70*: 469, 1957.
463. OKAGAKI, T., LEACH, V., YOUNGE, P. A., MCKAY, D., and KEVORKIAN, A. Y.: Diagnosis of anaplasia and carcinoma in situ by differential cell counts. Acta Cytol., *6*: 343, 1962.
464. O'KEEFE, J. J.: The cytologic diagnosis of primary bronchogenic carcinoma. Laryngoscope, *60*: 931, 1950.
465. ORD, M. G., and STOCKEN, C. A.: *In* ERRERA, M., and FORSSBERG, A. (Eds.): Mechanisms in Radiobiology. Vol. 1, p. 259. New York, Academic Press, 1961.
466. OSCARSON, J., STORMBY, N., and SUNDGREN, R.: Selective angiography in fine needle aspiration cytodiagnosis of gastric and pancreatic tumours. Acta Radiol., *12*: 737, 1972.
467. OSHIMURA, M., and SANDBERG, A. A.: Chromosomes and caution of human cancer and leukemia. Cancer, *40*: 1149, 1977.
468. ÖSTBERG, H., and DARCIS, L.: Study on sensitization response on 200 patients with carcinoma of the cervix treated at the Radiumhemmet by the current Stockholm technique. Acta Obstet. Gynec. Scand., *35*: 25, 1956.
469. OSWALD, N. C., HINSON, K. F. W., CANTI, G., and MILLER, A. B.: The diagnosis of primary lung cancer with special reference to sputum cytology. Thorax, *26*: 623, 1971.
470. PAEGLE, R. D.: Ultrastructural alterations induced by air drying, Wright's and PAS staining and their relationship to malignancy associated changes (MAC) in leukocytes. Acta Cytol., *16*: 466, 1972.
471. PAINTER, R. B.: Nucleic acid metabolism in HeLa S3 cells after X-ray induced mitotic delay. Rad. Res., *13*: 726, 1960.
472. PAINTER, R. B., and ROBERTSON, J. S.: Effect of irradiation and theory of role of mitotic delay on the time course of labeling of HeLa S3 cells with tritiated thymidine. Rad. Res., *11*: 206, 1959.
473. PAINTER, T. S.: The Y chromosome in mammals. Science, *53*: 503, 1921.
474. PAINTER, T. S.: Studies in mammalian spermatogenesis. II. The spermatogenesis of man. J. Exp. Zool., *37*: 291, 1923.
475. PALADE, G. E.: A small particulate component of the cytoplasm. J. Biophys. Biochem. Cytol., *1*: 59, 1955.
476. PALADE, G. E.: The endoplasmic reticulum. J. Biophys. Biochem. Cytol., *2* (Suppl.): 85, 1956.
477. PAPANICOLAOU, G. N.: Survery of actualities and potentialities of exfoliative cytology in cancer diagnosis. Ann. Int. Med., *31*: 661, 1949.
478. PAPANICOLAOU, G. N.: Diagnostic value of exfoliated cells from cancerous tissues. J.A.M.A., *131*: 372, 1946.
479. PAPANICOLAOU, G. N.: Atlas of Exfoliative Cytology. Cambridge, Mass., Harvard Univ. Press, 1954.
480. PAPANICOLAOU, G. N., and COOPER, W. A.: The cytology of the gastric fluid in the diagnosis of carcinoma of the stomach. J. Nat. Cancer Inst., *7*: 357, 1947.
481. PAPANICOLAOU, G. N., and KOPROWSKA, I.: Carcinoma in situ of the right lower bronchus: A case report. Cancer, *4*: 141, 1951.
482. PAPANICOLAOU, G. N., and TRAUT, H. F.: Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear. New York, The Commonwealth Fund, 1943.
483. Paris Report: Standardization in human cytogenetics. Birth Defects, Orig. Art. Ser. VIII (7): 1–46, 1972.
484. PARSONS, D. F.: Recent advances correlating structure and function in mitochondria. Int. Rev. Exp. Path., *4*: 1, 1965.
485. PATAU, K.: Chromosomal abnomalities in Waldenström's macroglobulinaemia. Lancet, *2*: 600, 1961.
486. PATAU, K.: Identification of chromosomes. *In* YUNIS, J. J. (Ed.): Human Chromosome Methodology. New York, Academic Press, 1965.
487. PATAU, K., SMITH, D. W., THERMAN, E., INHORN, S. L., and WAGER, H. P.: Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome. Lancet, *1*: 790, 1960.
488. PATAU, K., THERMAN, E., and INHORN, S. L.: The

identification of certain clinically important autosomes by autoradiography with tritiated thymidine. Abstr. Ann. Meeting, Am. Soc. Human Genet. p. 20, 1964.

489. PATAU, K., THERMAN, E., SMITH, D. W., and INHORN, S. L.: Tow new cases of D_1 trisomy in man. Hereditas, *47*: 239, 1961.
490. PEARSE, A. G. E.: Histochemistry, Theoretical and Applied, 2nd ed. Boston, Little, Brown and Company, 1960.
491. PEARSE, A. G. E.: Common cytochemical properties of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and carcitonin. Proc. Roy. Soc., Biol., *170*: 71, 1968.
492. PEARSE, A. G. E., and POLAK, J. M.: Endocrine tumours of neural crest origin: Neurolophomas, apudomas and the APUD concept. Med. Biol., *52*: 3, 1974.
493. PEARSON, P. L., BOBROW, M., and VOSA, C. G.: Technique identifying Y chromosomes in human interphase nuclei. Nature, *226*: 78, 1970.
494. PEDERSEN, K. O.: Fetuin: A new globulin isolated from serum. Nature, *154*: 575, 1944.
495. PEREZ-CUADRADO, S., HABERMAN, S., and RACE, G. J.: Fluorescent antibodies to human cancer-specific DNA and nuclear proteins. Cancer, *18*: 193, 1965.
496. PETERS, H.: The prostatic smear and its clinical usefulness. J. Urol., *66*: 770, 1951.
497. PETERSON, W. D., Jr., SIMPSON, W. F., ECKLUND, P. S., and STULBERG, C. S.: Diploid and heteroploid human cell lines surveyed for Y chromosome fluorescence. Nature New Biol., *242*: 22, 1973.
498. PFITZER, P., and PAPE, H. D.: Characterization of tumor cell populations by DNA-measurements. Acta Cytol., *17*: 18, 1973.
499. PHILIP, J., and TROLLE, D.: Familiar male hermaphroditism with delayed and partial masculinization. Am. J. Obstet. Gynec., *93*: 1076, 1965.
500. PINET, F., AMIEL, M., WOEHRLE, R., POIZAT, J. P., and BONNEVIE, R.: Les techniques de bronchographie sélective et de prélèvements bronchiques associees au cours des cancers bronchiques. J. Radiol., *49*: 87, 1968.
501. PLATT, L. I., and KAILIN, E. W.: Buccal X-chromatin frequency in numerous diseases. Acta Cytol., *13*: 700, 1969.
502. PLESCA, O. J., PALCZUK, N. C., BRAUN, W., and CORA-FIGUEROA, E.: Antibodies to DNA and a synthetic polydeoxyribonucleotide produced by oligodeoxyribonucleotides. Science, *148*: 1102, 1965.
503. PLESNIČAR, S., RUBIO, C., SIGURDSON, A., and ZAJICEK, J.: Studies of the effect of aspiration biopsy on aspirated cells. Acta Cytol., *12*: 454, 1968.
504. PLUNKETT, E. R., and BARR, M. L.: Testicular dysgenesis affecting the seminiferous tubules principally, with chromatin-positive nuclei. Lancet, *2*: 853, 1956.
505. POLANI, P. E.: Chromosome phenotypes—Sex chromosome. *In* FRAZER, F. C., and MCKUSICK, V. A. (Eds.): Congenital Malformations. pp. 233-250. Amsterdam, Excerpta Medica, 1970.
506. POLANI, P. E., HUNTER, W. F., and LENNOX, B. Chromosomal sex in Turner's syndrome with coarctation of the aorta. Lancet, *2*: 120, 1954.
507. POLLARD, E. C., and ACHEY, P. M.: The action of ionizing radiation on postirradiation synthesis and degradation of DNA in Escherichia coli 15 TL. Rad. Res., *27*: 419, 1966.
508. PORATH, J., and FLODIN, P.: Gelfiltration: A method for desalting and group separation. Nature, *183*: 1657, 1959.
509. PORTER, K. R., CLAUDE, A., and FULLAM, E. F.: A study of tissue culture cells by electron microscopy. Methods and preliminary observations. J. Exp. Med., *81*: 233, 1945.
510. PORTER, K. R., and KALLMAN, F. L.: Significance of cell particulates as seen by electron microscopy. Ann. N. Y. Acad. Sci., *54*: 882, 1952.
511. PRASAD, K. N., and HSIE, A. W.: Morphological differentiation of mouse neuroblastoma cells induced in vitro by dibutyryl adenosine 3′:5′-cyclic monophosphate. Nature New Biol., *223*: 141, 1971.
512. PRASAD, K. N., and KUMAR, S.: Role of cyclic AMP in differentiation of human neuroblastoma cells in culture. Cancer, *36*: 1338, 1975.
513. PRASAD, K. N., KUMAR, S., GILMAR, K., and VERNADAKIS, A.: Cyclic AMP-induced differentiated neuroblastoma cells — changes in total nucleic acid and protein contents. Biochem. Biophys. Res. Commun., *50*: 973, 1973.
514. PRASAD, K. N., and MANDAL, B.: Choline acetyltransferase level in cyclic AMP and X-ray induced morphologically differentiated neuroblastoma cells in culture. Cytobios, *8*: 75, 1973.
515. PRASAD, K. N., and VERNADAKIS, A.: Morphological and biochemical study in X-ray and dibutyryl cyclic AMP-induced differentiated neuroblastoma cells. Exp. Cell Res., *70*: 27, 1972.
516. PRESCOTT, D. M.: Relations between cell growth and cell division. Exp. Cell Res., *9*: 328, 1955.
517. PROCHAZKA, B., JIRÁSEK, V., BARTA, V., KOHOUT, J., KORBOVA, L., SCHLUPEK, A., and SLEZÁK, Z.: Differences in lactate dehydrogenase isoenzyme patterns in various parts of the stomach and in gastritis, peptic ulcer, and gastric carcinoma. Gastroenterology, *54*: 65, 1968.
518. PUCK, T. T., and STEFFEN, J.: Life cycle analysis of mammalian cells. I. A method for localizing metabolic events within the life cycle, and its application to the action of colcemide and sublethal doses of X-irradiation. Biophys. J., *3*: 379, 1963.
519. PURVES, L. R., BERSOHN, I., and GEDDES, E. W.: Serum alpha-fetoprotein and primary cancer of the liver in man. Cancer, *25*: 1261, 1970.
520. RAGULA, B. D., and MARKS, R. F.: Proliferating of Pap test's value. Med. World News, *14*(30): 60E, 1973.
521. RAPPORT, M. M., and GRAF, L.: Immunological studies of organ and tumor lipids. I. The production of antibodies against a lipid hapten by injection of the mitochondrial fraction of rat lymphosarcoma. Cancer, *8*: 538, 1955.
522. RAPPORT, M. M., and GRAF, L.: Cancer antigens: How specific should they be? Cancer Res., *21*: 1225, 1961.
523. RASCOE, R. R.: Endometrial aspiration smear in diagnosis of malignancy of the uterine corpus. Am. J. Obstet. Gynec., 87: 921, 1963.
524. RASKIN, H. F., KIRSNER, J. B., and PALMER, W. L.: Role of exfoliative cytology in the diagnosis of cancer of the digestive tract. J.A.M.A., *169*: 789, 1959.
525. RASKIN, H. F., KIRSNER, J. B., and PALMER, W. L.: Selected practical tests of gastrointestinal function. Med. Clin. North. Am., *43*: 341, 1959.
526. RAURAMO, L., and KANGAS, S.: Radiation response and its significance in patients with cancer of the cervix. Ann. Chir. Gynaec. Fenn., *53*: 120, 1964.
527. REAGAN, J. W., and LIN, F.: An evaluation of the vaginal irrigation technique in the detection of uterine cancer. Acta Cytol., *11*: 374, 1967.
528. REAGAN, J. W., SEIDEMANN, I. L., and SARACUSA, Y.:

The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. Cancer, *6*: 224, 1953.

529. REAGAN, J. W., and SOMMERVILLE, R. L.: A cellular study of uterine aspirations. Am. J. Obstet. Gynec., *68*: 781, 1954.
530. REAGAN, J. W., and WENTZ, W. B.: Genesis of carcinoma of the uterine cervix. Clin. Obstet. Gynec., *10*: 883, 1967.
531. REICHER, N. B., MASSEY, B. W., and BECHTOLD, E.: A clinical evaluation of 3,500 vaginal cytologic studies. Am. J. Obstet. Gynec., *59*: 860, 1950.
532. REYNAUD, A. J., and KING, E. B.: A new filter for diagnostic cytology. Acta Cytol., *11*: 289, 1967.
533. RICHARDS, B. M., and ATKIN, N. B.: The differences between normal and cancerous tissues with respect to the ratio of DNA content to chromosome number. Acta Un. Int. Cancer, *16*: 124, 1960.
534. RICHARDS, O. W.: Microscopy fluorescence. *In* GLASSER, O. (Ed.): Medical Physics. pp. 530–533. Chicago, Year Book Publishers, 1950.
535. RICHARDSON, H. L., QUEEN, F. B., and BISHOP, F. H.: Cytopathologic diagnosis of material aspirated from stomach. Am. J. Clin. Path., *19*: 328, 1949.
536. RICHART, R. M., and VAILLANT, H. W.: The irrigation smear. False-negative rates in a population with cervical neoplasia. J.A.M.A., *192*: 199, 1965.
537. RICHELSON, E.: Stimulation of tyrosine hydroxylase activity in an adrenergic clone of mouse neuroblastoma by dibutyryl cyclic AMP. Nature New Biol., *242*: 175, 1973.
538. RIGGS, J. L., SEIWALD, R. J., BURCKHALTER, J. H., DOWNS, C. M., and METCALF, T. G.: Isothiocyanate compounds as fluorescent labeling agents for immune serum. Am. J. Path., *34*: 1081, 1958.
539. RIGLER, R., Jr.: Microfluorometric characterization of intracellular nucleic acids and nucleoproteins by acridine orange. Acta Physiol. Scand., *67*: Suppl., *267*: 1, 1966.
540. RIS, H.: Chromosome structure. *In* Chemical Basis of Heredity. Baltimore, Johns Hopkins Univ. Press, 1957.
541. ROBBINS, G. F., BROTHERS, J. H., EBERHART, W. F., and QUANS, H. Q.: Is aspiration biopsy of breast cancer dangerous to patient? Cancer, *7*: 774, 1954.
542. RODRIGUES, M. A., RUBIN, A., KOSS, L. G., and HARRIS, J.: Evaluation of endometrial jet wash technic (Gravlee) in 303 patients in a community hospital. Obstet. Gynec., *43*: 392, 1974.
543. ROME, D. S.: Discussion in Symposium on the comparative diagnostic acuuracy, efficience and specificity of technics for the detection of malignancy. Acta Cytol., *8*: 159, 1964.
544. ROSE, G. G., and STEHLIN, J. S.: The Golgi complex and melanin elaboration of human melanomas in tissue culture. Cancer Res., *21*: 1455, 1961.
545. ROSNER, F., SCHREIBER, Z. R., and PARISE, F.: Leukocyte alkaline phosphatase: Fluctuations with disease status in chronic granulocytic leukemia. Arch. Int. Med., *130*: 892, 1972.
546. ROWLEY, J. D.: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. Nature, *243*: 290, 1973.
547. RUBIN, C. E., and BENDITT, E. P.: A simplified technique using chymotrypsin lavage for the cytological diagnosis of gastric cancer. Cancer, *8*: 1137, 1955.
548. RUBIN, D. K., and FROST, J. K.: The cytologic detection of ovarian cancer. Acta Cytol., *7*: 191, 1963.
549. RUBIO, C. A., HERTZBERG, O., KOTTMEIER, H.-L., OLSSON, E., and ZAJICEK, J.: Sensitization and radiation response in cases with carcinoma of the uterine cervix. Investigation in 720 cases treated at Radiumhemment, 1954–1961. Acta Radiol., *3*: 241, 1965.
550. RUBIO, C. A., SIGURDSON, A., and ZAJICEK, J.: Viability tests in exfoliated cells from vaginal and oral epithelia. Acta Cytol., *17*: 32, 1973.
551. SABURI, R., ANDO, T., KAKIHANA, M., TABAYASHI, A., and YAMADA, T.: A selective proteolytic lavage method for the cytodiagnosis of early gastric cancer. Acta Cytol., *11*: 473, 1967.
552. SACCOMANNO, G., SAUNDERS, R. P., ELLIS, H., ARCHER, V. E., WOOD, B. G., and BECKLER, P. A.: Concentration of carcinoma or atypical cells in sputum. Acta Cytol., *7*: 305, 1963.
553. SAKSELA, E., and MOORHEAD, P. S.: Enhancement of secondary constrictions and the heterochromatic X in human cells. Cytogenetics, *2*: 225, 1962.
554. SANDBERG, A. A., ISHIHARA, T., and CROSSWHITE, L. H.: Chromosomal dichrotomy in blood and marrow of acute leukemia. Cancer Res., *22*: 748, 1962.
555. SANDBERG, A. A., ISHIHARA, T., CROSSWHITE, L. H., and HAUSCHKA, T. S.: Comparison of chromosome consitution in chronic myelocytic leukemia and other myeloproliferative disorders. Blood, *20*: 393, 1962.
556. SANDBERG, A. A., ISHIHARA, T., MIWA, T., and HAUSCHKA, T. S.: The in vivo chromosome consititution of marrow from 34 human leukemias and 60 nonleukemic controls. Cancer Res., *21*: 678, 1961.
557. SANDBERG, A. A., KOEPF, G. F., CROSSWHITE, L. H., and HAUSCHKA, T. S.: The chromosome constitution of human marrow in various developmental and blood disorders. Am. J. Human Genet., *12*: 231, 1960.
558. SANDBERG, A. A., and YAMADA, K.: Chromosomes and caution of human cancer and leukemia. I. Karyotypic diversity in a single cancer. Cancer, *19*: 1869, 1966.
559. SANDLER, H. C.: The cytologic diagnosis of tumors of the oral cavity. Acta Cytol., *8*: 114, 1964.
560. SANDRITTER, W.: Advantages and disadvantages of the interference microscopic procedure in exfoliative cytology. Acta Cytol., *2*: 321, 1958.
561. SANDRITTER, W., CARL, M., and RITTER, W.: Cytophotometric measurements of the DNA content of human malignant tumors by means of the Feulgen reaction. Acta Cytol., *10*: 26, 1966.
562. SANI, G., CITTI, U., and CARAMAZZ, A. G.: Fluorescence Microscopy in the Cytodiagnosis of Cancer. p. 28. Springfield, Ill., Charles C Thomas, 1964.
563. SASAKI, M. S.: Cytological effect of chemicals on tumors. XII. A chromosome study in a human gastric tumor following radioactive colloid gold (^{198}Au) treatment. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. (Sapporo), *14*: 566, 1961.
564. SASAKI, M. S., and MAKINO, S.: The demonstration of secondary constrictions in human chromosomes by means of a new technique. Am. J. Human Genet., *15*: 24, 1963.
565. SATO, A.: Fine structure of human nuclear chromatin in interphase as observed by polarized dark-field oblique-illumination microscope. Acta Cytol., *13*: 218, 1969.
566. SATO, S., SHIMIZU, K., SUGIMURA, T., TAKAOKA, T., and KATSUTA, H.: Aldolase C in cultured mouse glioblastoma cells. Cancer Res., *32*: 1290, 1972.
567. SATO, S., SUGIMURA, T., TE, C. C., and TAKAKURA, K.: Aldolase isozyme patterns of human brain tumors. Cancer, *27*: 223, 1971.

568. SATO, S., SUGIMURA, T., YODA, K., and FUJIMURA, S.: Morphological differentiation of cultured mouse glioblastoma cells induced by dibutyryl cyclic adenosine monophosphate. Cancer Res., *35*: 2494, 1975.
569. SAVINO, A., and KOSS, L. G.: The evaluation of sex chromatin as a prognostic factor in carcinoma of the breast: A preliminary report. Acta Cytol., *15*: 372, 1971.
570. SCARPELLI, D. G., and VON HAAM, E.: A study of mitosis in cervical epithelium during experimental inflammation and carcinogenesis. Cancer Res., *17*: 880, 1957.
571. SCHADE, R. O. K.: Gastric Cytology. Principles, methods and Results. London, Edward Arnold Ltd., 1960.
572. SCHAPIRA, F., DREYFUS, J. C., and SCHAPIRA, G.: Fetal-like patterns of lactic-dehydrogenase and aldolase isozymes in some pathological conditions. Enzymol. Biol. Clin., *7*: 98, 1966.
573. SCHERER, E.: Morphologische und fermenthistochemische Studien zur Strahlenwirkung auf den Organismus. 1. Untersuchungen an isolierten Mitochondrien der Rattenleber. Strahlentherapie, *99*: 230, 1956.
574. SCHMIDT, R., DAR, H., SANTORNEOU, M., and SEKINE, I.: Ph^1 chromosome and loss and reappearance of the Y chromosome in acute lymphocytic leukemia. Lancet, *1*: 1145, 1975.
575. SCHNAITMAN, C. V., and GREENAWALT, J. W.: Enzymatic properties of the inner and outer membranes of rat liver mitochondria. J. Cell Biol., *38*: 158, 1968.
576. SCHREK, R.: Studies in vitro on the physiology of normal and of cancerous cells. II. The survival and the glycolysis of cells under aerobic and anaerobic conditions. A.M.A. Arch. Path., *37*: 319, 1944.
577. SCHÜMMELFEDER, N.: Histochemical significance of the polychromatic fluorescence induced in tissues stained with acridine orange. J. Histochem. Cytochem., *6*: 392, 1958.
578. SCHWARZACHER, H. G.: Analysis of interphase nuclei. *In* SCHWARZACHER, H. G., and WOLF, U. (Eds.): Methods in Human Cytogenetics. pp. 207–234. Belrin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1974.
579. SCHWINGER, E.: Non-fluorescent Y chromosome. Lancet, *1*: 437, 1973.
580. SCHWINGER, E., and PERA, F.: On the splitting of the Y-fluorescent body in man. Humangenetik, *14*: 107, 1972.
581. SCHWINN, C. P., SARGENT, E. N., TURNER, A. F., GORDONSON, J., and PASHKY, O.: Cytopathology of percutaneous pulmonary needle aspiration biopsy. *In* WIED, G. L. et al. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology. pp. 517–543. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
582. SEABRIGHT, M.: A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet, *2*: 971, 1971.
583. SEAL, S. H.: A sieve for the isolation of cancer cells and other large cells from the blood. Cancer, *17*: 637, 1964.
584. SEDLIS, A., WEINGOLD, A. B., WILSEY, D. H., and STONE, M. L.: Cytology screening for cervical cancer in a municipal hospital. Cancer, *17*: 152, 1964.
585. SEGI, M.: Age-adjusted Death Rates for Cancer for Selected Sites (A-Classification) in 51 Countries in 1974. Nagoya, Segi Institute of Cancer Epidemiology, 1979.
586. SEGI, M., NOYE, H., and SEGI, R.: Age-adjusted Death Rates for Cancer for Selected Sites (A-Classification) in 43 Countries in 1972. Nagoya, Segi Institute of Cancer Epidemiology, 1977.
587. SEGI, M., and TOMATSU, K.: Age-adjusted Death Rates for Cancer for Selected Sites (A-Classification) in 43 Countries in 1971. Nagoya, Segi Institute of Cancer Epidemiology, 1976.
588. SELA, B-A., and SACHS, L.: Alkaline phosphatase activity and the regulation of growth in transformed mammalian cells. J. Cell. Physiol., *83*: 27, 1974.
589. SELBACH, G. J., and VON HAAM, E.: The clinical value of oral cytology. Acta Cytol., *7*: 337, 1963.
590. SELLYEI, M., and VASS, L.: Absence of fluorescent Y bodies in some malignant epithelial tumours in human males. Europ. J. Cancer, *8*: 557, 1972.
591. SELLYEI, M., and VASS, L.: Sex-chromosome loss in human tumors. Lancet, *1*: 1041, 1975.
592. SEYBOLT, J. F., and PAPANICOLAOU, G. N.: The value of cytology in the diagnosis of gastric cancer. Gastroenterology, *33*: 369, 1957.
593. SEYDEL, H. G.: Radiation-induced changes in the cytoplasmic acridine orange staining of exfoliated cells. Cancer, *18*: 937, 1965.
594. SEYDEL, H. G., and LAWSON, N. S.: The acridine orange and dye exclusion viability tests appilied to irradiated Ehrlich tumor cells. Int. J. Rad. Biol., *10*: 567, 1966.
595. SHERMAN, H. H., CHRYSSANTHOU, C., SUKOFF, M. H., MININBERG, D., BECKMAN, E. M., and WEINGARTEN, M.: Tetracycline fluorescence in the diagnosis of gastric carcinoma. Gastroenterology, *45*: 84, 1963.
596. SHIDA, S.: Biopsy smear cytology with the fibergastroscope for direct observation. Gann Monog. Cancer Res., *11*: 223, 1971.
597. SHIER, C. B.: Prognosis in carcinoma of the cervix as determined by vaginal smear. Am. J. Obstet. Gynec., *82*: 37, 1961.
598. SHIMKIN, M. B., CONNELLY, R. R., MARCUS, S. C., and CUTLER, S. J.: Pneumonectomy and lobectomy in bronchogenic carcinoma. A comparison of end results of the Overholt and Ochsner Clinics. J. Thorac. Surg., *44*: 503, 1962.
599. SHOJANIA, A. M., HORNADY, G. J., and BARNES, P. H.: The effect of oral contraceptives on folate metabolism. Am. J. Obstet. Gynec., *111*: 782, 1971.
600. SHONK, C. E., ARINSON, R. N., KOVEN, B. J., MAJIMA, H., and BOXER, G. E.: Enzyme patterns in human tissues. III. Glycolytic enzymes in normal and malignant tissues of the colon and rectum. Cancer Res., *25*: 206, 1965.
601. SILVERMAN, S., Jr., and GRIFFITH, M.: Smoking characteristics of patients with oral carcinoma and risk for second oral primary carcinoma. J. Am. Dent. Assoc., *85*: 637, 1972.
602. SIMPSON, J. L., ALLEN, F. H., and GERMAN, J.: Abnormalities of human sex chromosomes. II. Turner's syndrome associated with the mosaicism 45, X/46, XXp−. Ann. Génét., *14*: 105, 1971.
603. SINGH, I., TSANG, K. Y., and BLAKEMORE, W. S.: Placenta-like alkaline phosphatases from human osteosarcoma cells. Cancer Res., *38*: 193, 1978.
604. SIRACKY, J.: Sex chromatin in cancer of the uterine cervix. Acta Cytol., *11*: 486, 1967.
605. SKITARELIC, K., and VON HAAM, E.: Bronchial brushings and washings: A diagnostically rewarding procedure. Acta Cytol., *18*: 321, 1974.
606. SMITH, E. H., BARTRUM, R. J., CHANG, Y. C., D'ORSI, C. J., LOKRICH, J., ABBRUZZESE, A., and DANTONO, J.: Percutaneous aspiration biopsy of the pancreas under ultrasonic guidance. N. Engl. J. Med., *292*: 825, 1975.
607. SONNESCHEIN, R.: The effectiveness of transrectal aspiration cytology in the diagnosis of prostatic cancer. Eur. Urol., *1*: 189, 1875.

608. SPJUT, H. J., FIER, D. J., and ACKERMAN, L. V.: Exfoliative cytology and pulmonary cancer: A histopathologic and cytologic correlation. J. Thorac. Surg., *30*: 90, 1955.

609. SPJUT, H. J., MARGULIS, A. R., and COOK, G. B.: The silicone-foam enema. A source for exfoliative cytological specimens. Acta Cytol., *7*: 79, 1963.

610. SPOLTER, P. D., ADELMAN, R. C., and WEINHOUSE, S.: Distinctive properties of native and carboxypeptidase-treated aldolase of rabbit muscle and liver. J. Biol. Chem., *240*: 1327, 1965.

611. SPRIGGS, A. I., BODDINGTON, M. M., and CLARKE, C. M.: Carcinoma-in-situ of the cervix uteri. Some cytogenetic observations. Lancet, *1*: 1383, 1962.

612. SPROUL, E. E., HUVOS, A., and BRITSCH, C.: A two-year follow up study of 261 patients examined by use of superheated aerosol induced sputum. Acta Cytol., *6*: 409, 1962.

613. STAFL, A., and MATTINGLY, R. F.: Vaginal adenosis: A precancerous lesion? Am. J. Obstet. Gynec., *120*: 666, 1974.

614. STANLEY, M. A., BIGHAM, D. A., COX, R. I., KIRKLAND, J. A., and OPIT, L. J.: Sex-chromatin anomalies in female patients with breast carcinoma. Lancet, *1*: 690, 1966.

615. STAVRIC, G. D., TEVCEV, D. T., KAFTANDJIEV, D. R., and NOVAK, J. J.: Aspiration biopsy cytologic method in diagnosis of breast lesions: A critical review of 250 cases. Acta Cytol., *17*: 188, 1973.

616. STEINKAMP, J. A., and CRISSMAN, H. A.: Automated analysis of deoxyribonucleic acid protein and nuclear to cytoplasmic relationships in tumor cells and gynecologic specimens. J. Histochem. Cytochem., *22*: 616, 1974.

617. STERN, E., CLARKE, V. A., and COFFELT, C. F.: Contraceptives and dysplasia: Higher rate for pill choosers. Science, *169*: 493, 1970.

618. STERN, E., and NEELY, M. P.: Carcinoma and dysplasia of the cervix: A comparison of rates for new and returning populations. Acta Cytol., *7*: 357, 1963.

619. STEVENSON, J.: The accuracy of fluorescence microscopy for the diagnosis of cancer. Acta Cytol., *8*: 224, 1964.

620. STEVENSON, J. L., and VON HAAM, E.: The application of immunofluorescence techniques to the cytodiagnosis of cancer. Acta Cytol., *10*: 15, 1966.

621. STEWART, J. S. S.: Genetic mechanisms in human intersexes. Lancet, *1*: 825, 1960.

622. STICH, H. F.: The DNA content of tumor cells. II. Alterations during the formation of hepatomas in rats. J. Natl. Cancer Inst., *24*: 1283, 1960.

623. STÖHR, M.: On the correlation of chromosome number and DNA content in HeLa cell clones. Acta Cytol., *19*: 299, 1975.

624. STOLL, P.: Gynecological Vital Cytology. Berlin, Springer Verlag, 1969.

625. STOLL, P., MARTIN, E., and GAULRAPP, E.: Abnorme und atypische Plattenepithelzellen im Vaginalsekret. Geburtsh. Frauenh., *14*., 509, 1954.

626. STORMBY, N.: Aspiration cytology of the pancreas. *In* WIED, G. L. et al. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 3rd ed. p. 423. Chicago, Tutorials of Cytology, 1975.

627. STORMBY, N.: Aspiration cytology of the pancreas. *In* WIED, G. L. et al. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. p. 574. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.

628. STOWELL, R. E.: Histochemical observations on nucleic acids in homologous normal and neoplastic tissues. Symp. Soc. Exp. Biol., *1*: 190, 1947.

629. STRAUB, D. G., LUCAS, L. A., MCMAHON, N. J., PELLETT, O. L., and TEPLITZ, R. L.: Apparent reversal of X-condensation mechanism in tumors of the female. Cancer Res., *29*: 1233, 1969.

630. STRUGGER, S.: Fluorescence microscope examination of trypanosomas in blood. Stain Technol., *24*: 70, 1949.

631. SUGIMORI, H., and TAKI, I.: Radiosensitivity test for cervical cancer. Acta Cytol., *16*: 331, 1972.

632. SUGIMOTO, O.: Diagnostic and Therapeutic Hysteroscopy. Tokyo and New York, Igaku-Shoin Ltd., 1978.

633. SUMNER, A. T., EVANS, H. J., and BUCKLAND, R. A.: New technique for distinguishing between human chromosomes. Nature, *232*: 31, 1971.

634. SYLVEN, B.: Metachromatic dye-substrate interaction. Quart. J. Micr. Sci., *95*: 327, 1954.

635. TAKAHASHI, M.: Pulmonary cytology and its clinicopathological bases. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *7*: 58, 1968.

636. TAKAHASHI, M.: A behavior of Y chromatin in cancer cells of males. Acta Cytol., *21*: 132, 1977.

637. TAKAHASHI, M., HASHIMOTO, K., and OSADA, H.: Parenteral administration of chymotrypsin for the early detection of cancer cells in sputum. Acta Cytol., *11*: 61, 1967.

638. TAKAHASHI, M., KAWAGUCHI, A., KAWAMATA, K., and YASUMA, T.: α-Fetoprotein by the immunofluorescent antibody technique in primary liver carcinoma and its histopathological basis. GANN Monogr. Cancer Res., *14*: 219, 1973.

639. TAKAHASHI, M., MIWA, K., ISHII, K., HAYAKAWA, K., and NAKADAIRA, A.: Isoenzyme alteration in experimentally induced cancer cell differentiation. Jap. J. Clin. Path., *26*: 142, 1978.

640. TAKAHASHI, M., URABE, M., MATSUMOTO, M., and KOBAYASHI, J.: Cytology of brain tumor. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *6*: 22, 1967.

641. TAKAHASHI, M., YANAKA, M., and KAWAGUCHI, A.: Anti-α-fetoglobulin immunofluorescent method for demonstration of hepatoma cells. Medical Postgraduates (Osaka), *8*: 205, 1970.

642. TAKASU, S., IGARI, S., INUI, T., MISU, Y., OTSUKA, Y., KUBOTA, Y., and WATANABE, Y.: A critical evaluation of gastric cytology and its comparison with biopsy. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *14*: 140, 1975.

643. TAKEDA, S.: Cell division. *In* SEO, S., and TAKAGI, Y. (Eds.): Textbook of Cytology. pp. 427–539. Tokyo, Asakura Shoten, 1965.

644. TAO, L.-C., HO, C.-S., MCLOUGHLIN, M. J., and MCHATTIE, J.: Percutaneous fine needle aspiration biopsy of the pancreas: Cytodiagnosis and pancreatic carcinoma. Acta Cytol., *22*: 215, 1978.

645. TATEISHI, R.: Distribution of argyrophil cells in adult human lungs. Arch. Path., *96*: 198, 1973.

646. TATEISHI, R., WADA, A., HAYAKAWA, K., HONGO, J., ISHII, S., and TERAKAWA, N.: Argyrophil cell carcinomas (apudomas) of the uterine cervix — light and electron microscopic observations of 5 cases. Virchows Arch. Anat. Path. Histol., *366*: 257, 1975.

647. TEASDALE, J. M., WORTH, A. J., and COREY, M. J.: A missing group C chromosome in the bone marrow cells of three children with myeloproliferative disease. Cancer, *25*: 1468, 1970.

648. TENNANT, J. R.: Evaluation of the trypan blue technique for determination of cell viability. Transplantation, *2*: 685, 1964.

649. TEPLITZ, R. L.: Cytogenetics. *In* AMROMIN, G. W. (Ed.): Pathology of Leukemia. New York and Lon-

don, Harper & Row, 1968.

650. THERKELSEN, A. J., and PETERSON, G. B.: Frequency of "Y chromatin body" in human skin fibroblasts in tissue culture, and its relation to growth phase. Exp. Cell Res., *65*: 473, 1971.
651. THOMPSON, S. W.: Selected Histochemical and Histopathological Methods. Springfield, Ill., Charles C Thomas, 1966.
652. THORARINSSON, A., JENSSON, O., and BJARNASON, O.: Screening for uterine cancer in Iceland. Acta Cylol., *13*: 304, 1969.
653. THRASHER, J. D.: Analysis of renewing epithelial cell populations. *In* PRESCOTT, D. M. (Ed.): Methods in Cell Physiology. Vol. 2. New York, Academic Press, 1966.
654. TIECKE, R. W., CALANDRA, J. C., and KENDRICK, F. J.: Use of Papanicolaou technic in diagnosis of oral cancer. J. Dent. Res., *39*: 702, 1960.
655. TILLACK, T., ROSAI, J., and VERVYNCK, D. J.: Immunologic studies of glycoproteins isolated from cell membranes of human lung carcinoma. J. Natl. Cancer Inst., *52*: 1059, 1974.
656. TIMONEN, S.: Mitosis in normal endometrium and genital cancer. Acta Obstet. Scand. (Stockholm) *31*: Suppl., 2, 1950
657. TIMONEN, S., and THERMAN, E.: The changes in the mitotic mechanism of human cancer cells. Cancer Res., *10*: 431, 1950.
658. TJIO, J. H., and LEVAN, A.: The chromosome number of man. Hereditas, *42*: 1, 1956.
659. TJIO, J. H., and WHANG, J.: Chromosome preparations of bone marrow cells without prior in vitro culture or in vitro colchicine administration. Stain Technol., *37*: 17, 1962.
660. TOLKSDORF, M.: The diagnosis of X-chromatin by the leukocyte test. *In* ACHWARZACHER, H. G., and WOLF, U. (Eds.): Methods in Human Cytogenetics. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1974.
661. TORRES, J. E., HOLMQUIST, N. D., and DANOS, M. L.: The endometrial irrigation smear in the detection of adenocarcinoma of the endometrium. Acta Cytol., *13*: 163, 1969.
662. TOUGH, I. M., COURT BROWN, W. M., BAIKIE, A. G., BUCKTON, K. E., HARDEN, D. G., JACOBS, P. A., and WILLIAMS, J. A.: Chronic myeloid leukemia: Cytogenetic studies before and after splenic irradiation. Lancet, *2*: 115, 1962.
663. TOUGH, I. M., JACOBS, P. A., COURT BROWN, W. M., BAIKIE, A. G., and WILLIAMSON, E. R. D.: Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia. Lancet, *1*: 844, 1963.
664. TRAGANOS, F., ADAMS, L. R., KAMENTSKY, L. A., and MELAMED, M. R.: Letters to editors: Critical effect of dye concentration on acridine orange fluorescence of fixed thymocytes. Acta Cytol., *16*: 281, 1972.
665. TROWELL, O. A.: The sensitivity of lymphocytes to ionising radiation. J. Path. Bact., *64*: 687, 1952.
666. TSUBOI, E.: Studies on an early diagnosis of lung cancer, especially cytological diagnosis of bronchial cells obtained by a direct scrape-off method. Nippon Acta Radiol. (Tokyo), *19*: 1029, 1959.
667. TSUBOI, E., IKEDA, S., TAJIMA, M., SHIMOSATO, Y., and ISHIKAWA, S.: Transbronchial biopsy smear for diagnosis of peripheral pulmonary carcinomas. Cancer, *20*: 687, 1967.
668. TSUNEMATSU, K., and SHIRAISHI, T.: Aldolase isozymes in human tissue and serum with special reference to cancer diagnosis. Cancer, *24*: 637, 1969.
669. TURNER, H. H.: A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus. Endocrinology, *23*: 566, 1938.
670. ULFELDER, H., GRAHAM, R. M., and MEIGS, J. V.: Further studies on the cytologic method in the ploblem of gastric cancer. Ann. Surg., *128*: 422, 1948.
671. UMIKER, W., YOUNG, L., and WAITE, B.: The use of chymotrypsin for the concentration of sputum in the cytologic diagnosis of lung cancer. Univ. Michigan Med. Bull., *24*: 265, 1958.
672. UMIKER, W. O., LAMPE, I., RAPP, R., and HINIKER, J. J.: Oral smears in the diagnosis of carcinoma and premalignant lesions. Oral Surg., *13*: 897, 1960.
673. VALERI, V., CRUZ, A. R., BRANDAO, H. J. S., and LISON, L.: Relationship between cell nuclear volume and deoxyribonucleic acid of cells of normal epithelium, of carcinoma in situ acid of invasive carcinoma of the uterine cervix. Acta Cytol., *11*: 488, 1967.
674. VAN DEN BERGHE, H., et al (in "Meeting Report"): First International Workshop on Chromosomes in Leukemia. Cancer Res., *38*: 867, 1978.
675. VAN NAGELL, J. R., Jr., MEEKER, W. R., PARKER, J. C., Jr., and HARRALSON, J. D.: Carcinoembryonic antigen in patients with gynecologic malignancy. Cancer, *35*: 1372, 1975.
676. VINCENT, W. S.: Structure and chemistry of nucleoli. Int. Rev. Cytol., *4*: 269, 1955.
677. VINEGAR, R.: Metachromatic differential fluorochroming of living and dead ascites tumor cells with acridine orange. Cancer Res., *16*: 900, 1956.
678. VON BERTALANFFY, L., and BICKIS, I.: Identification of cytoplasmic basophilia (ribonucleic acid) by fluorescence microscopy. J. Histochem. Cytochem., *4*: 481, 1956.
679. VON BERTALANFFY, L., MASIN, M., and MASIN, F.: A new and rapid method for diagnosis of vaginal and cervical cancer by fluorescence microscopy. Cancer, *11*: 873, 1958.
680. VON BODNER, E., and LEDERER, B.: Weitere Erfahrungen mit der Feinnadelsaugbiopsie und Zytodiagnostik von Pankreastumoren. Zbl. Chir., *100*: 533, 1975.
681. VON HAAM, E.: Symposium on premalignant cervical lesions. IV. Reserve cell hyperplasia, basal cell hyperplasia and dysplasia. Acta Cytol., *5*: 151, 1961.
682. VON HAAM, E.: A comparative study of the accuracy of cancer cell detection by cytological methods. Acta Cytol., *6*: 508, 1962.
683. VON YAMANA, K.: Geschlechtschromatin unter Verschiedenen Endokrinen Funktionen: Klinische und Tierexperimentelle Untersuchungen. Endokrinologie, *47*: 63, 1964.
684. WACHTEL, E.: The cytology of tumors of the ovary and fallopian tubes. Clin. Obstet. Gynec., *4*: 1159, 1961.
685. WACHTEL, E., GORDON, H., and WYCHERLEY, J.: The cytological diagnosis of endometrial pathology using a uterine aspiration technique. J. Obstet. Gynec. Br. Commonw., *80*: 164, 1973.
686. WACKER, B., and MILES, C. P.: Sex chromatin incidence and prognosis in breast cancer. Cancer, *19*: 1651, 1966.
687. WALLACH, D. F. H., and HAGER, E. B.: Association of cell surface antigens with microsomal membrane fractions derived from Ehrlich ascites carcinoma cells. Nature, *196*: 1004, 1962.
688. WALLGREN, A., and ZAJICEK, J.: Cytologic presentation of mammary carcinoma on aspiration biopsy smears. Acta Cytol., *20*: 469, 1976.
689. WANDALL, H. H.: A study on neoplastic cells in spu-

tum as a contribution to the diagnosis of primary lung cancer. Acta Chir. Scand., *91*: 1 (Suppl. 93), 1944.

690. WARNOCK, M. N., and REISMAN, R.: Variant alkaline phosphatase in human hepatocellular cancers. Clin. Chim. Acta, *24*: 5, 1969.
691. WARREN, S., and MEISNER, L.: Chromosomal changes in leukocytes of patients receiving irradiation therapy. J.A.M.A., *193*: 351, 1965.
692. WATANABE, I., and OKADA, S.: Study of mechanisms of radiation-induced reproductive death of mammalian cells in culture. Rad. Res., *27*: 290, 1966.
693. WATSON, J. D., and CRICK, F. H. C.: Molecular structure of nucleic acids. Nature, *171*: 737, 1953.
694. WATSON, J. D., and CRICK, F. H. C,: Genetical implication of the structure of deoxyribonucleic acid. Nature, *171*: 964, 1953.
695. WATSON, M. L.: The nuclear envelope: Its structure and relation to cytoplasmic membranes. J. Biophys. Biochem. Cytol., *1*: 257, 1955.
696. WATSON, W. L.: The James Ewing Lecture looking at lung cancer. Cancer, *31*: 6, 1973.
697. WEISS, J. M.: Intracellular changes due to neutral red as revealed in the pancreas and kidney of the mouse by the electron microscope. J. Exp. Med., *101*: 213, 1955.
698. WELLER, T. H., and COONS, A. H.: Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *86*: 789, 1954.
699. WENDEL, R. G., HOEGG, U. R., and ZAVON, M. R.: Benzidine: A bladder carcinogen. J. Urol., *111*: 607, 1974.
700. WENDLER-DEANE, H., and PORTER, K. R.: A comparative study of cytoplasmic basophilia and the population density of ribosomes in the secretory cells of mouse seminal vesicle. Zschr. Zellforsch., *52*: 697, 1960.
701. WENDT, E.: Lebendbeobachtungen an bestrahlten Interphaskernen. Zschr. Zellforsch., *49*: 677, 1959.
702. WERTALIK, L. F., METZ, E. N., LOBUGLIO, A. F., and BALCERZAK, S. P.: Decreased serum B_{12} levels with oral contraceptive use. J.A.M.A., *221*: 1371, 1972.
703. WHANG, J., FREI, E., III, TJIO, J. H., CARBONE, P. P., and BRECHER, G.: The distribution of the Philadelphia chromosome in patients with chronic myelogenous leukemia. Blood, *22*: 664, 1063.
704. WHEELESS, L. L., HARDY, J. A., and BALASUBRAMANIAN, N.: Slit-scan flow system for automated cytology. Acta Cytol., *19*: 45, 1975.
705. WHEELESS, L. L., and PATTEN, S. F.: Slit-scan cytofluorometry. Acta Cytol., *17*: 333, 1973.
706. WHEELESS, L. L., and PATTEN, S. F.: Slit-scan cytofluorometry: Basis for an automated cytopathology prescreening system. Acta Cytol., *17*: 391, 1973.
707. WHITE, A. J., BUCHSBAUM, H. J., and RODMAN, N. F.: Accuracy of the Gravlee Jet Washer in detecting endometrial adenocarcinoma. Am. J. Obstet. Gynec., *16*: 1169, 1973.
708. WHITFIELD, J. F., and RIXON, R. H.: Effects of x-radiation on multiplication and nucleic acid synthesis in cultures of L-strain mouse cells. Exp. Cell Res., *18*: 126, 1959.
709. WHO International Reference Centre for Nomenclature in Cytology: Cytology of the Female Genital Tract. Geneve, 1973.
710. WIED, G. L., BIBBO, M., HARRIS, M. J., and RAO, C.: Endometrial jet wash technique. *In* WIED, G. L., et al. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology. p. 178. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
711. WIED, G. L., and MANGLAND, J. I.: A comparative study of the Papanicolaou technique and the acridine orange fluorescence method. Acta Cytol., *6*: 554, 1962.
712. WIED, G. L., MESSINA, A. M., MEIER, P., and BLOUGH, R. R.: Fluorospectrophotometric analysis on cervical epithelial cells. Acta Cytol., *8*: 61, 1964.
713. WIGGISHOFF, C. C., and MCDONALD, J. H.: Urinary exfoliative cytology in the diagnosis of bladder tumors. Acta Cytol., *16*: 139, 1972.
714. WIHMAN, G.: A contribution to the knowledge of the cellular content in exudates and transudates. Acta Med. Scand. (Stockholm), *130*: Suppl. 205, 1948.
715. WILBANKS, G. D., and RICHART, R. M.: Fluorescence of cervical intraepithelial neoplasia induced by tetracycline and acridine orange. Am. J. Obstet. Gynec., *106*: 726, 1970.
716. WILKINS, L., GRUMBACH, M. M., and VAN WYK, J. J.: Chromosomal sex in "ovarian agenesis". J. Clin. Endocrinol., *14*: 1270, 1954.
717. WISCHNITZER, S.: The submicroscopic morphology of the interphase nucleus. Int. Rev. Cytol., *36*: 171, 1973.
718. WOLF, A.: A tumour-associated antigen from pleural effusion of patients with squamous-cell carcinoma of lung. Br. J. Cancer, *36*: 1046, 1978.
719. WOLF, M. K., and ARONSON, S. B.: Growth, fluorescence and metachromasy of cells cultured in the presence of acridine orange. J. Histochem. Cytochem., *9*: 22, 1961.
720. WOLLMAN, S. H., SPICER, S. S., and BURSTONE, M. S.: Localization of esterase and acid phosphatase in granules and colloid droplets in rat thyroid epithelium. J. Cell Biol., *21*: 191, 1964.
721. WOOLF, N.: Cell, Tissue and Disease. The Basis of Pathology. London, Bailliere Tindall, 1977.
722. WOOLNER, L. B., and MCDONALD, J. R.: Carcinoma cells in sputum and bronchial secretions; study of 150 consecutive cases in which results were positive. Surg. Gynec. Obstet., *88*: 273, 1949.
723. YAM, L. T., LI, C. Y., and LAM, K. W.: Tartrate-resistant acid phosphatase isoenzyme in the reticulum cells of leukemic reticuloendotheliosis. N. Engl. J. Med., *284*: 357, 1971.
724. YAMADA, K., TAKAGI, N., and SANDBERG, A. A.: Chromosomes and caution of human cancer and leukemia. II. Karyotypes of human solid tumors. Cancer, *19*: 1879, 1966.
725. YAMADA, T.: Basic study of the proteolytic enzyme lavage method in the gastric diagnosis, especially in the comparative analysis of the exfoliative tendency of malignant and benign gastric epithelial cells. Acta Cytol., *8*: 19, 1964.
726. YAMADA, T., MATSUMOTO, S., SANKAWA, H., and SEINO, Y.: Clinical evaluation of proteolytic enzyme lavage method in the gastric cytodiagnosis, especially in the detection of early cancer of the stomach. Acta Cytol., *8*: 27, 1964.
727. YASUZUMI, G., SUGIHARA, R., NAKANO, S., KISE, T., and TAKEUCHI, H.: Submicroscopic structure of cell necrobiosis of Yoshida sarcoma as revealed by electron microscopy. Cancer Res., *20*: 339, 1960.
728. YOKOYAMA, Y., KISHIGAMI, T., NODA, S., TAKAHASHI, Y., HONGO, J., ISHII, S., HAYAKAWA, K., KITADA, A., HASHIMOTO, H., and TAKETANI, S.: The sponge-cytocylinder smear: A cytologic method for mass screening. Am. J. Obstet. Gynec., *109*: 119, 1971.
729. YUNIS, J. J., ROLDAN, L., YASMINEH, W. G., and LEE,

J. C.: Staining of satellite DNA in metaphase chromosomes. Nature, *231*: 532, 1971.

730. ZANKER, V.: Über den Nachweis definierter reversibler Assoziate ("reversible Polymerisate") des Acridinorange durch Absorptions-und Fluoreszenzmessungen in wässriger Lösung. Zschr. Physik. Chem., *199*: 225, 1952.
731. ZERVAKIS, M., HOWDON, W. M., and HOWDON, A.: Cul-de-sac needle aspiration: Its normal and abnormal cytology and its value in the detection of ovarian cancer. Acta Cytol., *13*: 507, 1969.
732. ZETTERBERG, A., and ESPOSTI, P.-L.: Cytophotometric DNA-analysis of aspiration cells from prostatic carcinoma. Acta Cytol., *20*: 46, 1976.

Addendum

733. BONTEMPS, J., HOUSSIER, C., and FREDERICQ, E.: Physico-chemical study of the complexes of "33258 Hoechst" with DNA and nucleohistone. Nucl. Acids Res., *2*: 971, 1975.
734. CHRIST, M. L., and HAJA, J.: Intranuclear cytoplasmic inclusions (invaginations) in thyroid aspirations. Acta Cytol., *23*: 327, 1979.
735. FUJITA, S.: Recent progress in quantitative fluorescence histochemistry. Acta Histochem. Cytochem., *13*: 40, 1980.
736. FUKUDA, M., NAKANISHI, K., and FUJITA, S.: Multicolour fluorescence method in cytofluorometry. Acta Histochem. Cytochem., *12*: 257, 1979.
737. FUKUDA, M., NAKANISHI, K., BOHM, N., KIMURA, J., HARADA, K., and FUJITA, S.: Combined protein and DNA measurements by the Ninhydrin-Schiff and Feulgen techniques. Histochemistry, *63*:, 35, 1979.
738. FUKUDA, M., NAKANISHI, K., SAWAMURA, I., and FUJITA, S.: Standardization of the post-irradiation method to eliminate primary fluorescence in cytofluorometry. Histochemistry, *52*: 119, 1977.
739. FUKUDA, M., NAKANISHI, K., SHIMA, A., BOHM, N., and FUJITA, S.: Cytofluorometric quantitation of DNA repair in Ehrlich ascites cancer cells after UV-irradiation. Exp. Cell Res., *110*: 47, 1977.
740. GAUB, J., AUER, G., and ZETTERBERG, A.: Quantitative cytochemical aspects of a combined Feulgen-Naphthol S staining procedure for the simultaneous determination of nuclear and cytoplasmic proteins and DNA in mammalian cells. Exp. Cell Res., *92* 323, 1975.
741. GRANNER, D. K.: Restóration of sensitivity of cultured hepatoma cells to cyclic nucleotides shows permissive effect of dexamethasone. Nature, *259*: 572, 1976.
742. GRANNER, D. K., LEE, A., and THOMPSON, E. B.: Interaction of glucocorticoid hormones and cyclic nucleotides in induction of tyrosine aminotransferase in cnltured hepatoma cells. J. Biol. Chem., *252*: 3891, 1977.
743. IVARIE, R. D., and O'FARRELL, P. H.: The glucocorticoid domain: Steroidmediated changes in the rate of synthesis of rat hepatoma. Cell, *13*: 41, 1978.
744. MANGANIELLO, V., and VAUGHAN, M.: An effect of dexamethasone on adenosine 3′, 5′-monophosphate content and adenosine 3′, 5′-monophosphate phosphodiesterase activity of cultured hepatoma cells. J. Clin. Invest., *51*: 2763, 1972.
745. MATSUI, S., and SASAKI, M.: Differential staining of nucleolus organisers in mammalian chromosomes. Nature, *246*: 148, 1973.
746. SANDBERG, A. A., and SAKURAI, M.: The missing Y chromosome and human leukaemia. Lancet, *1*: 375, 1973.
747. SÖDERSTRÖM, N., and BIÖRKLUND, A.: Intranuclear cytoplasmic inclusions in some types of thyroid cancer. Acta Cytol., *17*: 191, 1973.
748. TAKAHASHI, M.: Present scope of clinical cytology with advanced applicability to cancer. Jap. J. Cancer Clin., *21*: 595, 1980.
749. THOMPSON, E. B.,: IN BAXTER, J. D., and ROUSSEAU, G. G. (Eds): Mechanism of action of glncocorticoid hormones. pp. 213–211, Berlin, Springer-Verlag, 1979.

SEGUNDA PARTE

Citología práctica de órganos

21 Tracto genital femenino

1. Preparación de los extendidos

Para preparar los extendidos existen varios métodos, todos los cuales tienen su valor específico para determinados fines en el examen preliminar y diagnóstico de cánceres o en la evaluación hormonal.

Extendido del contenido vaginal

Método. Aspírense las secreciones del fondo de saco posterior con una pipeta y disemínese en una fina película sobre un portaobjeto de vidrio limpio con la pipeta. Las secreciones vaginales también se pueden tomar con una espátula de madera o con un hisopo.

Componentes celulares. En su mayoría son células pavimentosas superficiales e intermedias, con una pequeña cantidad de células parabasales y endocervicales, y muy de vez en cuando algunas células endometriales. A menudo se ven histiocitos. Los bacilos de Döderlein aparecen con frecuencia en la flora vaginal normal y producen degeneración citoplasmática de las células intermedias y superficiales.

Aplicación. Este extendido se puede destinar a la evaluación hormonal, pero sólo se puede hacer una citología exacta con el frotis del raspado de la pared lateral superior de la vagina. También se hace en exámenes de rutina para detectar cáncer, pero puede ser que el carcinoma cervical pase inadvertido si no se estudia al mismo tiempo un extendido del raspaje cervical.

Extendido del raspaje cervical

Método. Introdúzcase un hisopo de algodón o una espátula de madera de Ayre, y ráspese la porción vaginal del cuello en torno del orificio externo, incluyendo una parte del conducto cervical. Prepárense los extendidos haciendo rodar el hisopo de algodón prehumedecido y no absorbente sobre los portaobjetos de vidrio limpios. No se debe frotar. El hisopo de algodón apretado se presta para obtener la muestra del endocérvix (*extendido endocervical*). Por lo común la muestra del ectocérvix en torno del orificio externo se recoge con un bajalengua de madera común o con una espátula de madera de Ayre,[6] en particular alrededor del orificio externo (fig. 227).

Componentes celulares. La cantidad de células descamadas y el tamaño de las aglomeraciones celulares varía de acuerdo con el procedimiento de muestreo. Las células endocervicales se desprenden en grandes cantidades, en particular en aglomeraciones celulares cuando se pasa la espátula de madera. Hay una cantidad sustancial de células pavimentosas superficiales, intermedias y parabasales. En ocasiones aparecen histiocitos.

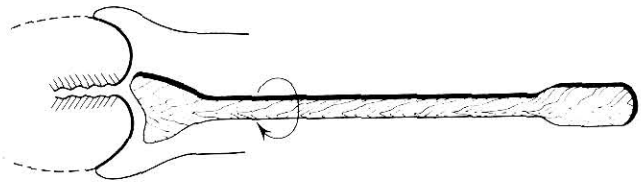


Fig. 227. Espátula de madera utilizada por Ayre para hacer raspados cervicales.

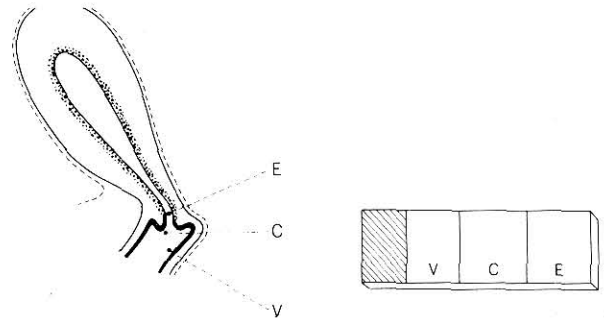


Fig. 228. Preparación del extendido VCE.

Aplicación. Este método se presta para detectar el cáncer cervical, que puede ser adenocarcinoma o carcinoma espinocelular, incluso *in situ*. En citología de rutina conviene utilizar el extendido del contenido vaginal, además del cervical, para detectar carcinoma de endometrio.

Extendido VCE

Wied[212] ideó los preparados VCE para las muestras recogidas de tres partes y extendidas en el mismo portaobjeto de vidrio (fig. 228). El preparado VCE es útil para exámenes citológicos preliminares de rutina en mujeres adultas, cualesquiera que sean los signos o síntomas clínicos. Se divide al portaobjeto en tres partes, V para la muestra de la pared superoexterna de la vagina obtenida con un bajalengua de madera, C para la muestra del ectocérvix en torno del orificio externo obtenida con otro bajalengua de madera, y E para la muestra del conducto endocervical obtenida con un hisopo de algodón humedecido de antemano. En la práctica, en seguida después de haber dispersado la muestra endocervical en la porción E, se hace la diseminación de las muestras C y V para que el preparado no se seque mientras tanto.

Extendido de la irrigación vaginal

Método. Éste es un método nuevo, despachable por correo, en que se emplea una pipeta de plástico para que la paciente misma se haga la irrigación vaginal (fig. 229). La pipeta se carga con alcohol etílico al 20% en solución fisiológica. El principio es más o menos el mismo que el de la

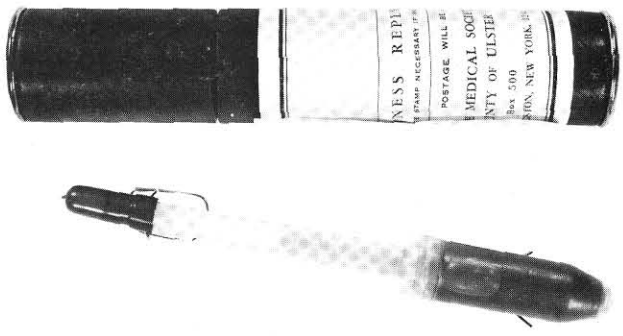


Fig. 229. Irrigador de Davis para despachar por correo. La solución rojiza con rojo fenol se decolora después de haber irrigado bien la flora vaginal acidófila.

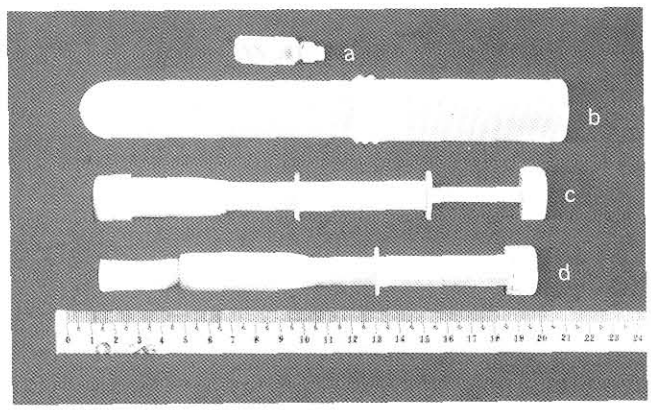


Fig. 230. Autorraspador cervical. *a*, Fijador que se deposita en la esponja después del raspado. *b*, Tubo de plástico para enviar por correo. *c*, Raspador completo, con un casquete de goma que se coloca antes y después de usar. *d*, Esponja sacada, con la varilla interna colocada.

aspiración vaginal. Esta irrigación también la puede hacer el médico o la enfermera en el consultorio.

Componentes celulares. La mayoría de las células son pavimentosas superficiales o intermedias diseminadas en forma individual. Como no existe ninguna interrelación estructural entre estas células, para detectar células malignas se debe obrar con suma minuciosidad.

Aplicación. Aunque este método es menos exacto que el raspaje cervical, es conveniente para realizar exámenes preliminares en masa.[30] Los resultados negativos del método de la autoirrigación no aseguran la ausencia de lesiones cancerosas o precancerosas. Los casos positivos y sospechosos que se detectan con esta técnica requieren investigación adicional.

Extendido del autorraspaje cervical

Método. El método de la autoirrigación vaginal adolece de la falla de la poca exactitud para enjuagar el orificio cervical y recoger la solución de enjuague. A los efectos de reducir al mínimo esta falla se diseñaron diversos tipos de aparatos para autorraspaje; el de Kato, por ejemplo, consiste en un doble tubo de plástico, una camisa externa y una varilla interna que tiene en la punta una esponja elástica firme (fig. 230). La misma mujer se coloca este aparato en el inodoro. El orificio cervical se raspa de manera satisfactoria empujando la varilla interna y rotándola. Apenas sacada la varilla, se depositan unas gotas de fijador (1 parte de glicerina y 5 partes de etanol al 50%) en la esponja y se cubre con un capuchón de goma para que no se seque. Los extendidos se hacen mediante impresión poco después de recibir el tubo.

Componentes celulares. Además de las células superficiales y/o intermedias, también se pueden obtener las parabasales. Los componentes celulares son numerosos y están bien preservados; se presentan en forma individual, lo mismo que en el extendido de la secreción vaginal. Sólo de vez en cuando aparecen células endocervicales.

Aplicación. Este método se presta para realizar exámenes preliminares en masa en distritos donde los servicios médicos son escasos y para mujeres que vacilan en visitar al ginecólogo. Las ventajas para este fin son la posibilidad del envío postal y la preservación de las células. De acuerdo con un estudio de metodología comparada para exámenes preliminares en masa realizado por Arata y col.,[2] la tasa de

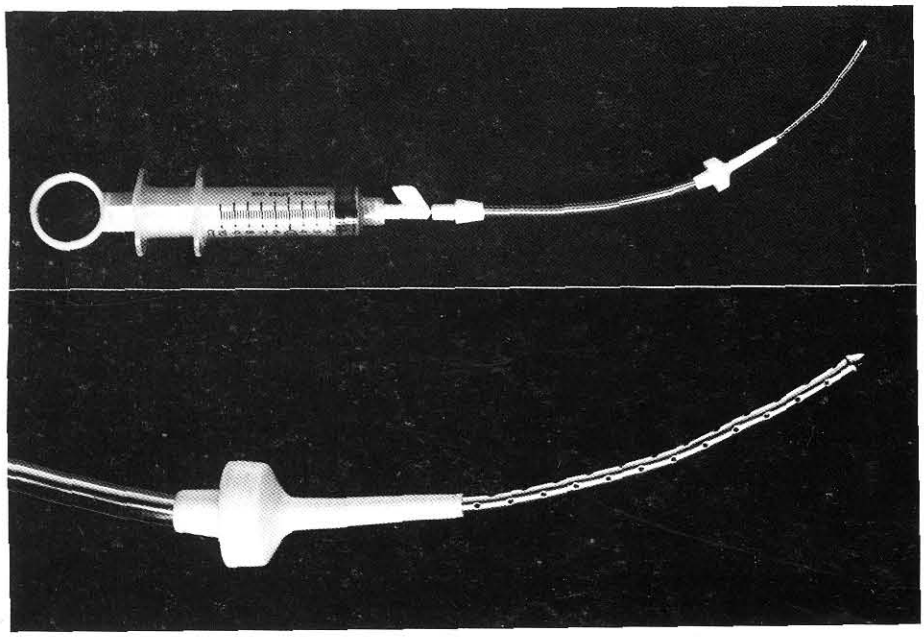


Fig. 231. Muestreador de Curity-Isaacs para células endometriales. Nótese la punta con muchos orificios bilaterales.

diagnósticos con el método del autorraspaje fue casi la misma que la obtenida con el extendido VCE convencional realizado por el médico.

Aspiración endometrial

Método. Sin dilatar de antemano, insértese en el conducto cervical una cánula de 4 mm de diámetro que presenta 4 o 5 pequeños orificios en su extremo. Aspírense las secreciones o enjuáguese con unos pocos mililitros de solución fisiológica. Deposítese una gota de las secreciones aspiradas en un portaobjeto de vidrio limpio y extiéndase. Se puede usar un cepillo especial dentro de una cánula. Los intrumentos y las soluciones de enjuague deben ser estériles.

Técnica del lavaje a chorro de Gravlee. Para no diseminar células cancerosas con un lavaje enérgico por las trompas de Falopio hacia la cavidad peritoneal, Dowling y Gravlee diseñaron una sonda de polietileno descartable de doble luz, que tiene orificios en el extremo distal de ambos tubos y permite enjuagar la cavidad endometrial a presión negativa; como el líquido que baña la cavidad endometrial se aspira, la irrigación se puede hacer con cualquier cantidad de líquido. Para citología se suelen usar 40 a 50 ml de solución isotónica de cloruro de sodio.[35]

Muestreador de células endometriales de Curity-Isaacs. A pesar del reciente aumento de la frecuencia del carcinoma de endometrio, todavía se discute la manera práctica y exacta de hacer el citodiagnóstico endometrial. Debemos mencionar que en el Séptimo Congreso Internacional de Citología (1980) varios expertos informaron sobre el uso de un nuevo muestreador de células endometriales para hacer exámenes preliminares en busca de hiperplasia precancerosa y carcinoma de endometrio (fig. 231), que ofrece resultados lo suficientemente exactos como para hacer citodiagnósticos.[1,37,96,111]

Componentes celulares. Muchas veces la muestra contiene histiocitos. Existen células epiteliales y del estroma del endometrio.

Aplicación. La aspiración endometrial permite detectar carcinoma endometrial y es un coadyuvante del curetaje de endometrio. Conviene hacer la aspiración endometrial si en los extendidos cervicales aparecen células atípicas con estructura glandular o restos celulares necróticos y no hay manifestaciones de lesiones cervicales. Aunque a los 10 a 12 días del ciclo menstrual aparezcan células endometriales de aspecto benigno, lo mismo que en la posmenopausia, se deben realizar estudios adicionales para investigar carcinoma de endometrio.

2. Histología del útero y vagina

Histología del útero

El útero consta de dos partes principales: el cuello y el cuerpo. Anatómicamente el cuello se divide en i) endocérvix y ii) porción vaginal. El endocérvix mide 2 a 3 mm de espesor y está tapizado por un solo estrato de epitelio columnar alto; existen células columnares ciliadas y células mucíparas de núcleos basales. Las glándulas racemosas compuestas del cuello, secretan un moco viscoso en la edad de procrear. Este moco es influido por los cambios cíclicos de las hormonas ováricas. En la fase estrogénica aumenta la secreción alcalina y el moco es menos viscoso. Después de la ovulación el moco se torna denso por influencia de la progesterona. La porción vaginal, que es más externa que la unión pavimentosocolumnar (orificio externo), está recubierta por epitelio pavimentoso estratificado.

El cuerpo uterino consiste en endometrio y miometrio. El primero es importante en citología exfoliativa y su estructura varía de acuerdo con el ciclo menstrual. En la fase estrogéni-

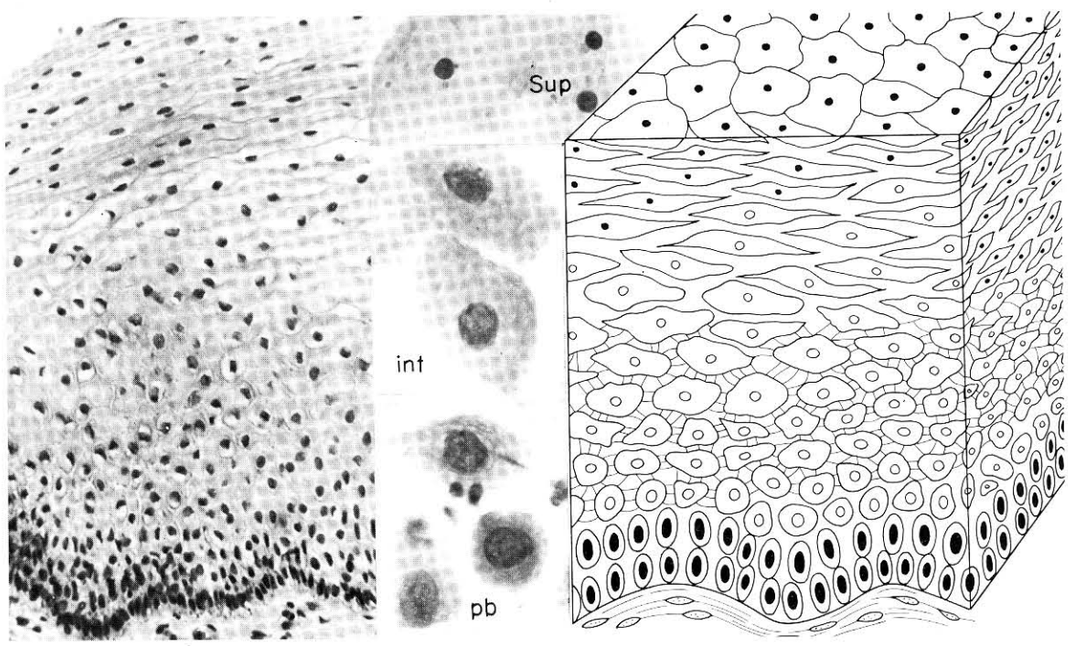


Fig. 232. Histología de la porción vaginal del cuello uterino y sus rasgos citológicos comparativos: células superficiales (Sup), células intermedias (int) y células parabasales (pb).

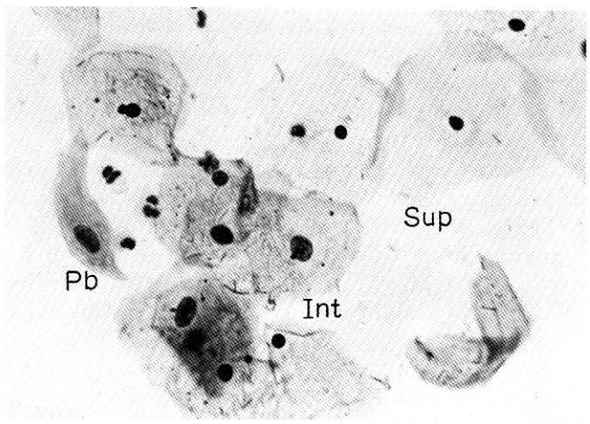


Fig. 233. Extendido vaginal normal que muestra células superficiales (Sup), células intermedias (Int) y una célula parabasal externa (Pb).

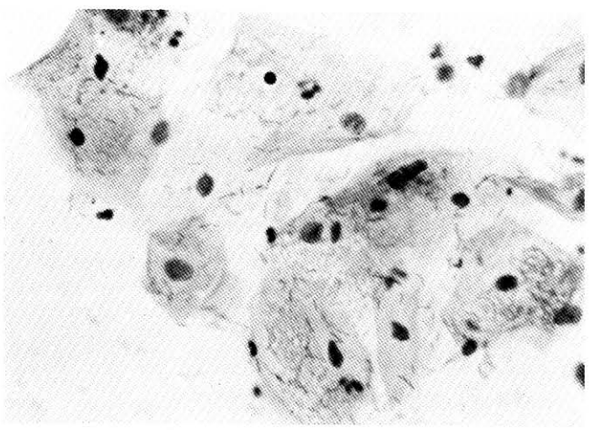


Fig. 234. Degeneración citoplasmática de células superficiales e intermedias por los bacilos de Döderlein.

ca o folicular, las glándulas endometriales proliferan y su epitelio de revestimiento adquiere mayor altura y produce una fosfatasa alcalina que participaría en la síntesis proteica y en la glucogénesis. En la superficie celular lindante con la luz glandular se observa intensa tinción de fosfatasa alcalina (véase fig. 263). El epitelio glandular en proliferación también posee mayor actividad de glucosa-6-fosfatasa y β-glucuronidasa.

En la fase luteínica o progestágena, las glándulas endometriales dejan de ser ovoides y se convierten en unas formaciones indentadas que inician la secreción. Hay considerable formación de glucógeno. El estrato funcional del endometrio se desprende al llegar la menstruación, dejando la fina capa basal. El epitelio superficial del endometrio está tapizado por un sólo estrato de células columnares bajas que a veces son ciliadas. La actividad de fosfatasa alcalina es hormonodependiente y se negativiza hacia el final de la fase secretoria (véase fig. 264); en cambio, aumenta la actividad de otras enzimas, como fosfatasa ácida, lactato deshidrogenasa, DPNH, etc.[33]

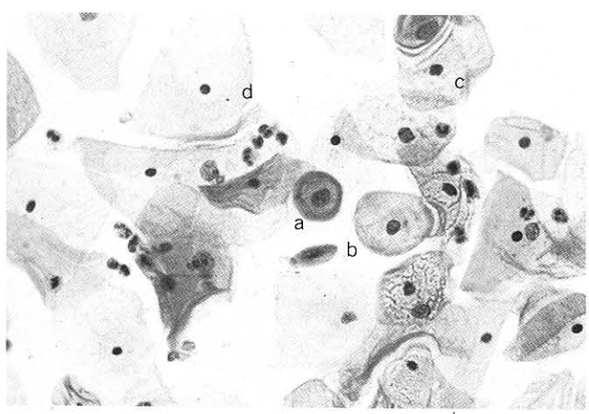


Fig. 235. **Tipos variables de células epiteliales pavimentosas.** *a*, Célula parabasal interna de citoplasma redondo y borde nítido, y núcleo vesiculoso oval. *b*, Célula parabasal externa de citoplasma esférico un tanto más grande y un núcleo vesiculoso pequeño. *c*, Célula intermedia de citoplasma ancho y trasparente, y pequeño núcleo vesiculoso. *d*, Célula superficial de citoplasma eosinófilo ancho y un minúsculo núcleo picnótico.

Histología de la vagina

La vagina presenta unos pliegues prominentes y se halla tapizada por un epitelio pavimentoso estratificado que responde a los estrógenos, los cuales estimulan la proliferación epitelial en los años de la procreación. La progesterona ejerce una considerable influencia sobre el depósito de glucógeno durante la fase lútea previa a la menstruación, cuando la glucogénesis disminuye considerablemente. Como los cambios citológicos del epitelio pavimentoso reflejan el estado hormonal, la evaluación hormonal se hace mediante citología vaginal, a menos que la paciente tenga vaginitis.

3. Células normales del tracto genital femenino

Células pavimentosas

1) Células superficiales. Se originan en la capa superficial del epitelio pavimentoso estratificado no queratinizante. Éstas son las células epiteliales más comunes en la fase preovulatoria de las mujeres en edad de procrear.

Citoplasma. El citoplasma es fino, ancho (45 a 50 μ de diámetro) y poliédrico. Los bordes citoplasmáticos son irregulares pero bien definidos, y presentan unos pequeños arrollamientos. La reacción tintorial suele ser naranjófila o eosinófila, y a veces cianófila. En ocasiones se ven en torno del núcleo unos pequeños gránulos puntiformes de queratohialina.

Núcleo. El núcleo es pequeño (5 a 7 μ), retraído, redondo u oval, y presenta cromatina condensada. La mayoría de las células superficiales contienen núcleos picnóticos. El criterio decisivo para la célula superficial es la picnosis de los núcleos, cualquiera que sea la reacción tintorial del citoplasma.

2) Células intermedias. Se originan en el estrato medio de células espinosas del epitelio pavimentoso estratificado. Estas células son las más comunes en la fase posovulatoria o progestágena de las mujeres en edad de procrear.

Citoplasma. El citoplasma es adecuado (40 a 50 μ de diámetro), fino, trasparente y poligonal. Su reacción tintorial es verde azulada pálida. Su borde está plegado.

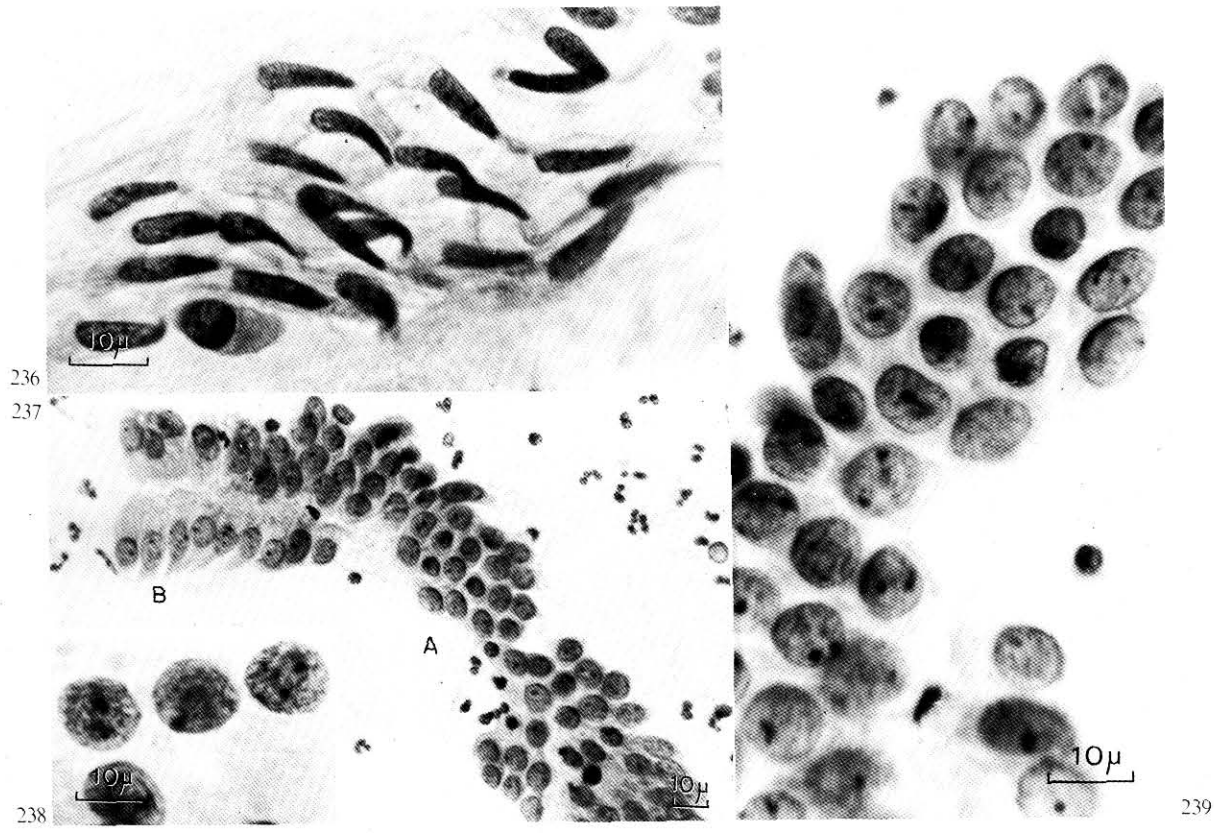


Fig. 236. Vista lateral de células endocervicales. El citoplasma columnar ha degenerado, pero se ve. Los núcleos son elongados y sus cromatinas se hallan distribuidas con uniformidad y son finamente granulares.
Fig. 237. Gran lámina de células endocervicales bien preservadas. Un grupo de células endocervicales visto de canto revela una imagen en panal de abejas (*A*), mientras que otro grupo visto de costado exhibe una evidente configuración columnar (*B*).
Fig. 238. Núcleos endocervicales denudados. La hipertrofia de los núcleos y la cromatina punteada un tanto gruesa no se deben tomar como criterios de malignidad. Aunque aparecen algunos cariosomas, nótense la uniformidad de la morfología y tamaño de los núcleos y la distribución pareja de cromatina.
Fig. 239. Células endocervicales normales vistas en racimos. Nótense la uniformidad morfológica de los núcleos y la distribución pareja de la trama de cromatina. Más ampliado de una parte de la figura 237.

Núcleo. El núcleo es redondo u oval, más grande (9 a 11μ) que el de las células superficiales y de aspecto vesicular. Se caracteriza por un borde nuclear delicado y nítido, por una cromatina finamente granular y por algunos cariosomas perceptibles. En los bordes nucleares se distinguen las cromatinas sexuales.

Células naviculares. Éstas son variantes de las células intermedias que tienen un citoplasma navicular de tinte amarillento por mayor contenido de glucógeno. El borde celular parece ser grueso porque tiene arrugas. La exfoliación de este tipo de célula, en particular en grupos, ocurre en ciertos estados como embarazo y determinados tipos de menopausia.

En general, las células intermedias tienden a exhibir citólisis en la fase luteínica por la presencia de los bacilos de Döderlein.

3) Células parabasales. La descamación de células parabasales provenientes de la capa profunda es infrecuente en mujeres normales en edad de procrear. Es fisiológica en la prepubertad, posmenopausia y período lactacional.

Citoplasma. Estas células tienen un citoplasma más pequeño que las células superficiales e intermedias (15 a 30 μ) y de borde bien definido. Las células parabasales externas son trasparentes, adquieren un color verde azulado claro con Papanicolaou y su forma es poliédrica. Las células parabasales internas son elípticas, densas y se tiñen de verde azulado intenso.

Núcleo. Es redondo u oval (8 a 12 μ) y un tanto hipercrómico. La cromatina es finamente granular y de distribución pareja.

4) Células basales. Estas células provienen de una sola capa basal y no aparecen en los raspados ordinarios, a menos que haya hiperplasia basocelular. El citoplasma es escaso y muy basófilo, y el núcleo relativamente grande e hipercromático.

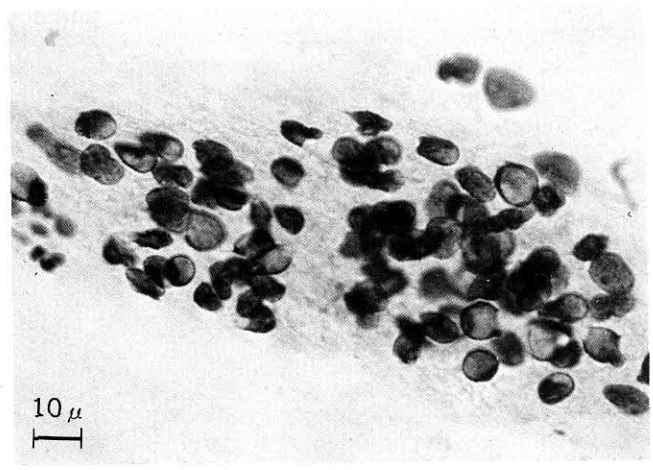


Fig. 240. Células endocervicales libres en degeneración avanzada. Véanse los núcleos libres que exhiben condensación del material cromatínico hacia el borde nuclear. Existe moderada variación en el tamaño de los núcleos.

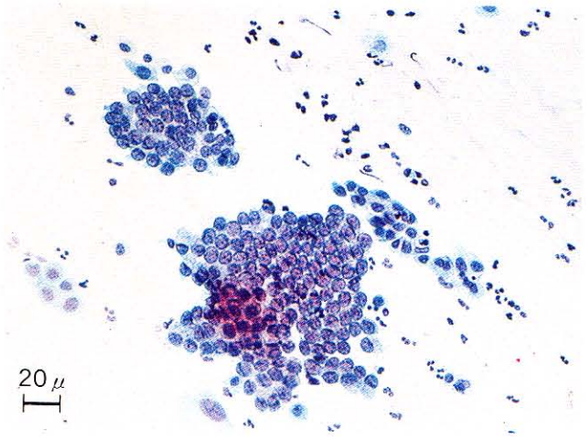


Fig. 241. Racimos de células endocervicales con su característico aspecto en panal de abejas. Los núcleos son redondos a ovales y de tamaño uniforme. El citoplasma columnar se reconoce en el borde de los grupos celulares.

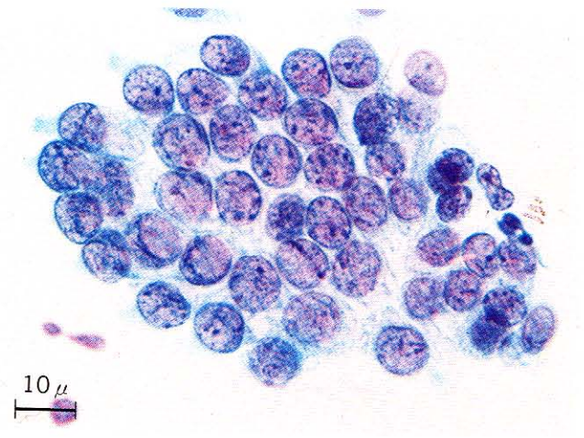


Fig. 242. Células endocervicales de tipo secretorio vistas con mayor aumento. El citoplasma es trasparente y columnar, pero mal definido. El contorno nuclear aparece nítido. La cromatina es finamente granular y de distribución pareja.

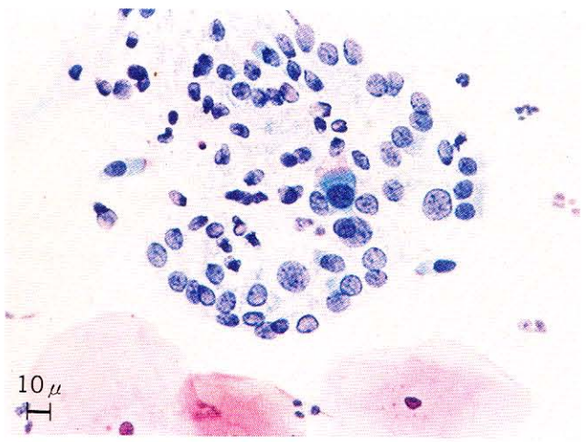


Fig. 243. Células endocervicales libres que comprenden células ciliadas bien preservadas. Las células bien preservadas poseen núcleos redondos con una fina red de cromatina, mientras que las degenerativas están denudadas y tienen núcleos picnóticos o licuados.

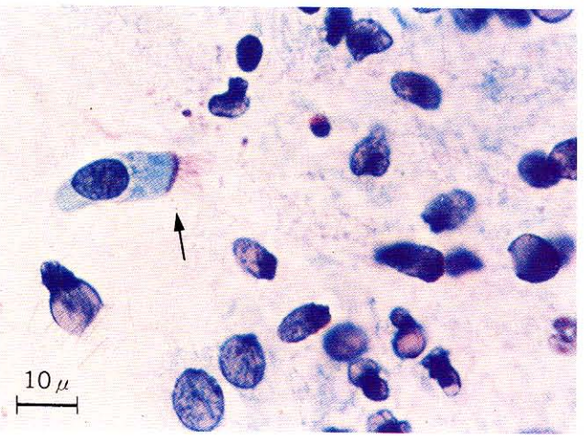


Fig. 244. Células endocervicales degeneradas vistas con mayor aumento. Las cromatinas nucleares se han licuado y exhiben condensación hacia el borde nuclear. Véanse las papilas de cromatina que sobresalen de los núcleos. Una célula ciliada bien preservada exhibe cilias y una placa terminal notable (*flecha*).

Células endocervicales

Las células endocervicales tienden a degenerar y muchas veces se presentan como unos núcleos individuales denudados. La condensación de cromatina en el borde nuclear forma unas protrusiones a modo de perillas o pezones (fig. 240 y 244). Si están bien preservadas, se distinguen los tipos ciliado y secretante.

Citoplasma. La forma y la cantidad varían mucho según los distintos estados y el grado de degeneración. Están mejor preservadas en los raspados cervicales que en los extendidos vaginales. Las células endocervicales bien preservadas tienen un citoplasma columnar de colas delgadas y sus núcleos son excéntricos. Vistas las células endocervicales desde arriba, se reconoce una imagen franca en panal de abejas con un citoplasma claro. Enfocando arriba y abajo se distinguen los bordes citoplasmásticos nítidos. En ocasiones se ven cilias en los anchos bordes celulares de las células endocervicales ciliadas. Aunque las cilias delicadas no se ven, en las células bien preservadas de la forma ciliada se distinguen las láminas terminales de color lavándula. Las células endocervicales no ciliadas tienen un citoplasma semitrasparente, finamente vacuolado o acintado. En el estado de hipersecreción el citoplasma está distendido por la secreción de moco (forma secretoria).

Núcleo. Es redondo u oval y excéntrico. En las células bien preservadas se reconoce un borde nuclear delicado pero bien definido. La cromatina es fina y de distribución pareja.

Cuadro 45. Exfoliación endometrial en diferentes fases

Fase	*Nº de mujeres*	*Células endometriales en los extendidos*	
		Francas	*Probables*
Menstrual	258	90 (35%)	5
Proliferativa	990	54 (5%)	11
Secretoria	726	9 (1%)	7
Premenstrual	449	5 (1%)	4
	2.423		27

(Liu, W. y col.: Acta Cytol. 7:212, 1963. © 1963 International Academy of Cytology)

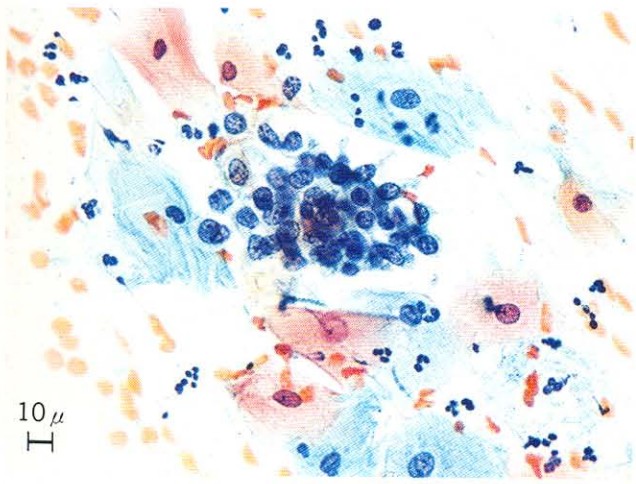


Fig. 245. Racimo de células glandulares de endometrio emitidas al 10º día del ciclo menstrual. Los núcleos son uniformes, por lo general redondos, y tienden a superponerse.

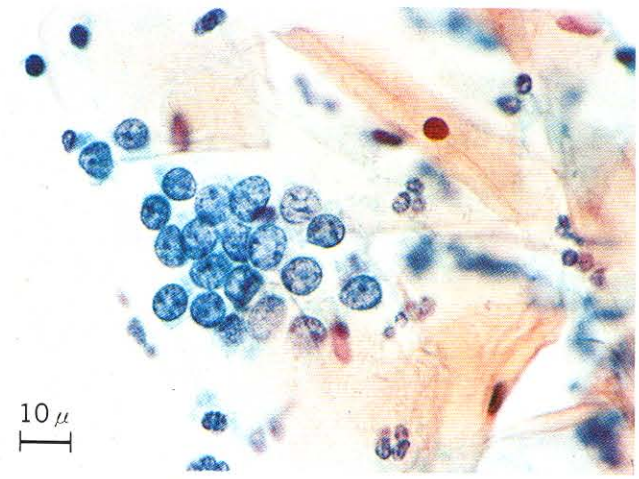


Fig. 246. Células glandulares de endometrio bien preservadas que se emitieron aglomeradas. Las células endometriales que aparecen en los extendidos cervicales suelen carecer de citoplasma. Los núcleos son más pequeños que los de las células endocervicales y sus cromatinas están dispuestas en unos grupos que pueden dar una impresión de actividad.

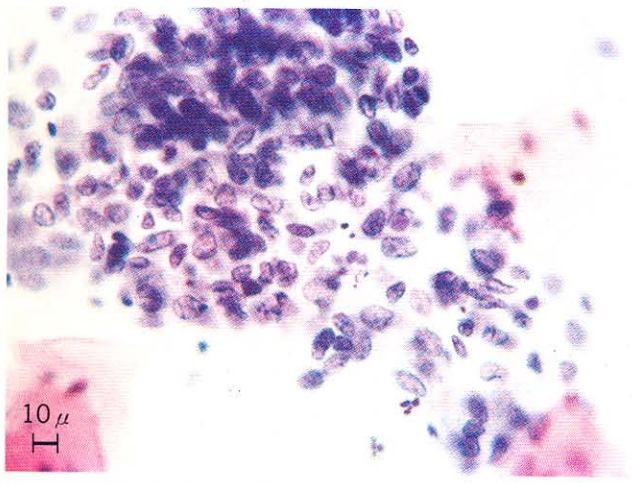


Fig. 247. Células del estroma endometrial en un extendido cervical. Nótese la descamación característica de células estromales en aglomeraciones sueltas. Los núcleos denudados son ovales o elípticos y de contornos delicados.

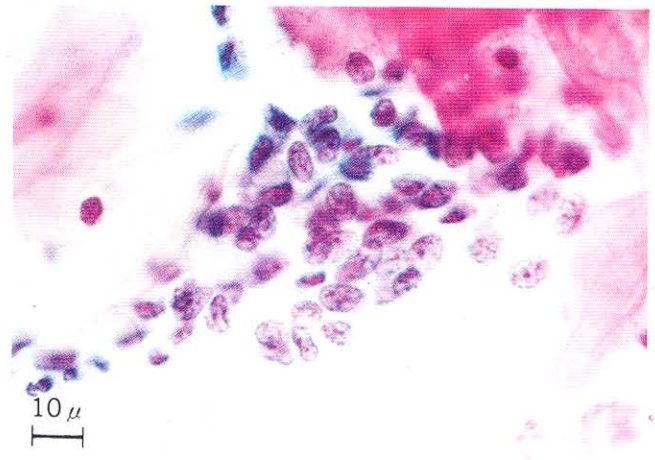
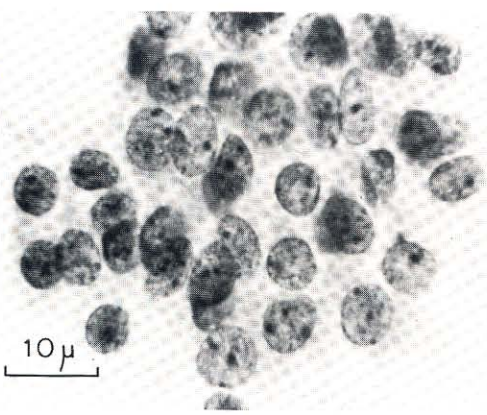
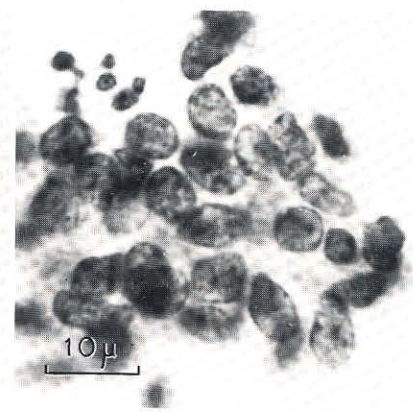


Fig. 248. Células del estroma endometrial en un extendido cervical, vistas con mayor aumento. Las células del estroma se distinguen de las células glandulares por: 1) la distribución celular en una lámina sincitial laxa, 2) la elongación oval de los núcleos, 3) los delicados contornos nucleares y 4) la fina malla acintada de cromatina.



249



250

Figs. 249 y 250. Células endometriales bien preservadas en extendidos de un raspado de endometrio. Núcleos de tamaño bastante uniforme y con escasas variaciones morfológicas. La cromatina es fina y se halla distribuida con uniformidad. El borde nuclear es delicado pero se define con nitidez. La degeneración rápida del citoplasma es común en las células endometriales, pero todavía se ve como un fondo tenue.

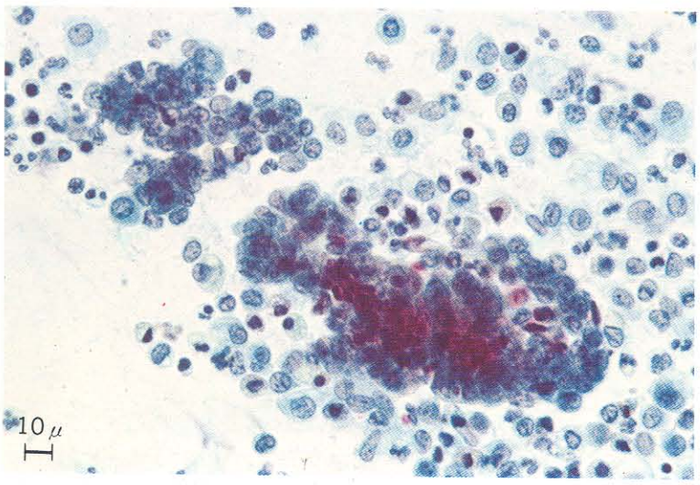


Fig. 251. "Éxodo" de células endometriales en un extendido cervical. Las densas aglomeraciones de células glandulares endometriales rodeadas de histiocitos con una trama de cromatina pálida se llaman "éxodos".

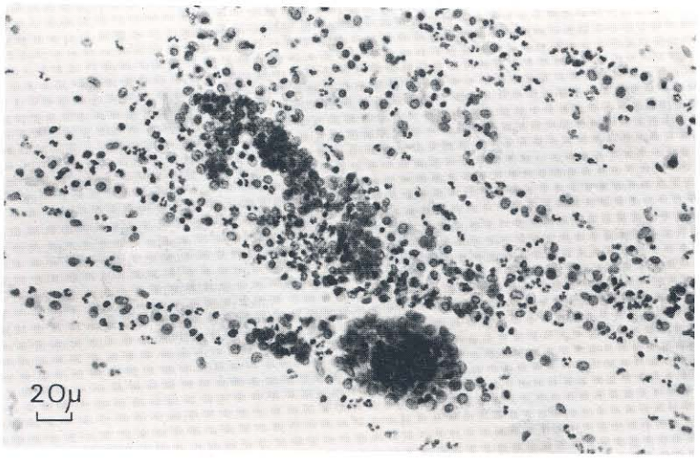


Fig. 252. "Éxodo" de células endometriales en un extendido cervical al 7° día del ciclo menstrual.

A medida que las células degeneran, el citoplasma se pierde y se pueden observar núcleos denudados que conservan su cromatina bastante intacta. Al completarse la degeneración, la cromatina se licua y al mismo tiempo se condensa en el borde nuclear.

Células endometriales

Las células endometriales aparecen en los extendidos vaginales o cervicales durante la menstruación y justo después.[146] En general, la presencia de células endometriales después de los 10 primeros días del ciclo significa que hay algún estado patológico en el endometrio.[93] Una excepción importante es el uso de dispositivos anticonceptivos intrauterinos, en que pueden emitirse células endometriales en la mitad del ciclo.[84] Aunque es necesario distinguir los tipos glandular y estromal de células endometriales, por lo general es difícil identificarlos en los extendidos vaginales o cervicales. Las células bien preservadas provenientes de las glándulas endometriales vienen muy aglomeradas y presentan superposición nuclear. Las células endometriales provenientes del estroma están dispuestas en láminas planas o en filas simples. Los núcleos de las células estromales son un tanto elongados.

1) Células epiteliales. Las células bien preservadas se aglomeran en densos grumos o bolas. La diferenciación respecto de las células endocervicales se basa en la regularidad del tamaño nuclear (más pequeño que el de las células endocervicales) y en la escasez y borrosidad del citoplasma.

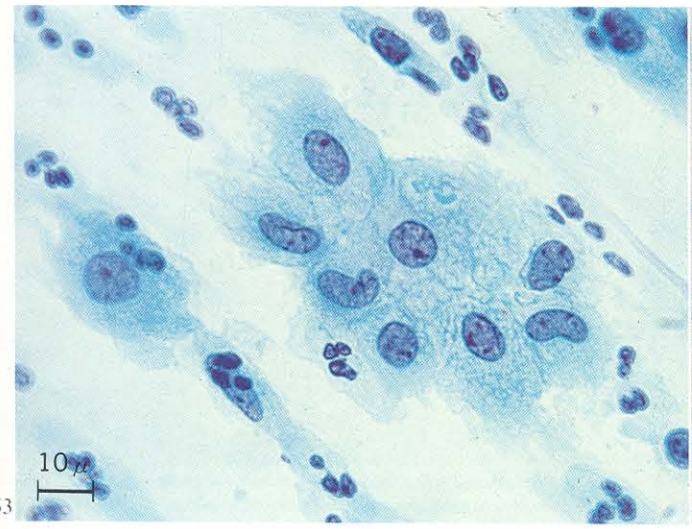
Citoplasma. En los extendidos vaginales ordinarios el citoplasma se pierde a causa de la rápida degeneración. Cuando el citoplasma está bien preservado, se lo ve como un fondo tenue en torno del núcleo. La reacción tintorial es débilmente basófila.

Núcleo. Como las células aparecen aglomeradas, los núcleos denudados tienden a adherirse entre sí y a superponerse. Las células endometriales bien preservadas exhiben unos núcleos redondos u ovales de bordes delicados y partículas de cromatina dispersas con uniformidad, pero un tanto condensadas. Por lo tanto, las células endometriales tienen un aspecto más oscuro y más activo que las endocervicales.

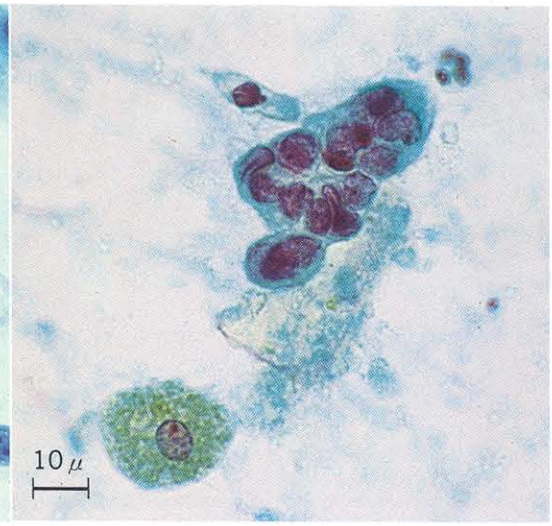
Las células en vías de degenerar, en cambio, exhiben variaciones de la forma y no tanto del tamaño de los núcleos. La cromatina puede estar condensada hacia el borde nuclear.

2) Células estromales. Las células estromales del endometrio se desprenden en láminas irregulares, con menos superposición que las del epitelio glandular. En las células estromales es característica la borrosidad del citoplasma y la forma elongada de los núcleos (figs. 247 y 248).

Addendum: Éxodo. Éxodo es la exfoliación de grupos de células endometriales al final de la fase menstrual o en la posmenstrual, junto con una cantidad de histiocitos (figs. 251 y 252).[98]

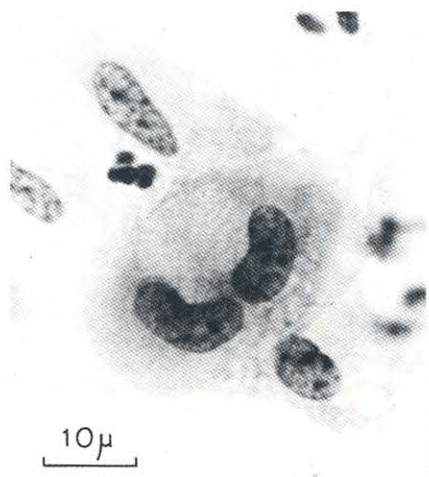


253

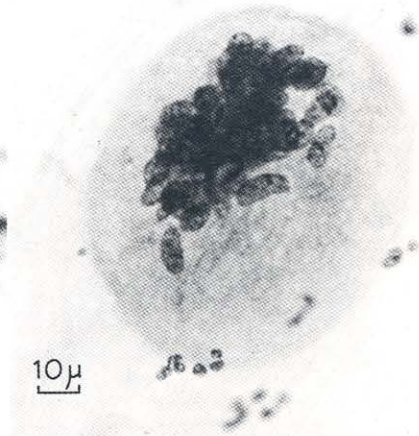


254

Fig. 253. Histiocitos en aglomeración laxa de raspados cervicales. No están bien delimitados entre sí; los núcleos son excéntricos, ovales o elípticos, y de contornos delicados.
Fig. 254. Histiocito en un aspirado de un quiste vaginal. Puntos que establecen el diagnóstico: 1) citoplasma vesiculoso de borde difuminado, 2) fagocitosis de material pigmentado y 3) núcleo oval paracentral. Las células cuboides aglomeradas significan quiste del conducto de Gartner.



255



256

Fig. 255. Histiocitos de dobles núcleos reniformes y excéntricos. La cromatina se halla distribuida con uniformidad, con excepción de algunos cariosomas. El citoplasma es espumoso y de borde borroso.
Fig. 256. Histiocito gigante multinucleado de tipo por cuerpo extraño. Hay varios núcleos ovales o elípticos aglomerados en el centro de un citoplasma abundante y acintado, cuyos bordes son borrosos. Compárese esto con la célula gigante de Langhans, cuyos núcleos están en la periferia.

Histiocitos

Los histiocitos no aparecen normalmente en los extendidos cervicales ni vaginales después del 10º día del ciclo menstrual, a menos que el epitelio mucoso que reviste al tracto genital femenino esté erosionado o inflamado. Existen dos tipos de histiocitos de núcleos únicos o múltiples.

1) Histiocitos mononucleares comunes

Citoplasma. Suele ser redondo u oval, pero de forma muy variable. Su aspecto es espumoso o finamente vacuolado. Suele colorearse de verde grisáceo pálido. Contiene partículas extrañas fagocitadas, pigmentos sanguíneos y gotitas de grasa. Los histiocitos degenerados poseen un citoplasma borroneado y bordes celulares indistintos. El citoplasma puede faltar en la degeneración avanzada. No es infrecuente que se superpongan leucocitos.

Núcleo. Los núcleos son ovales, redondos o reniformes y excéntricos. El borde nuclear es delicado pero bien definido. La cromatina es finamente granular.

2) Histiocitos multinucleados

Citoplasma. El citoplasma es enorme y de forma variable. Con bordes indefinidos. A veces se superponen leucocitos.

Núcleo. Cada uno de los núcleos múltiples presenta rasgos similares caracterizados por una forma oval con ligera variación de tamaño, una cromatina finamente granular y situación periférica, con superposiciones.

Leucocitos

La presencia de leucocitos polimorfonucleares es común en los extendidos vaginales. Aunque no se puede vincular la cantidad de leucocitos con la inflamación, sí reflejan mucho el ciclo menstrual. El extendido que indica un alto nivel estrogénico aparece limpio, pero después de la ovulación se acompaña de abundantes leucocitos. Los plasmocitos de núcleos ovales periféricos que contienen una cromatina excéntrica y en grumos gruesos, significan cervicitis crónica. Un rasgo distintivo de los plasmocitos es su halo perinuclear claro.

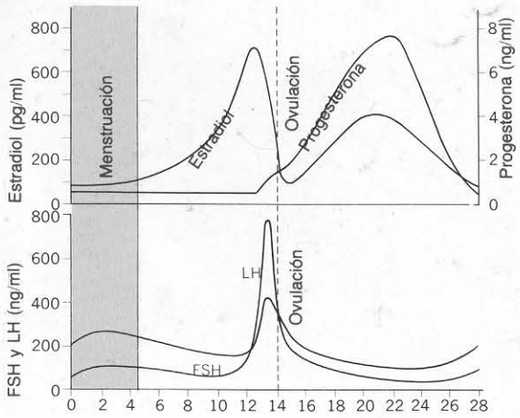


Fig. 257. Cambios hormonales cíclicos en la menstruación. (Guyton, A. C.: Basic Human Physiology, 2ª ed. W. B. Saunders Company, 1977.)

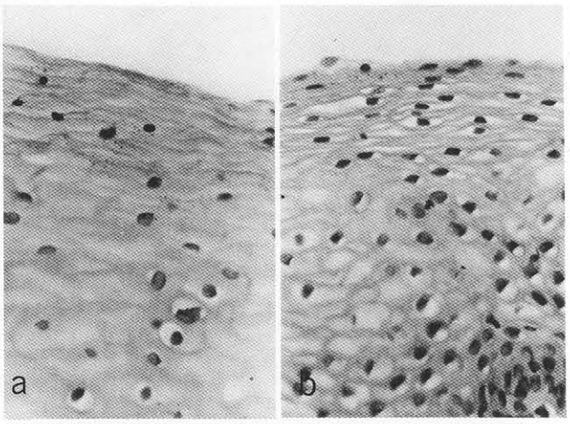
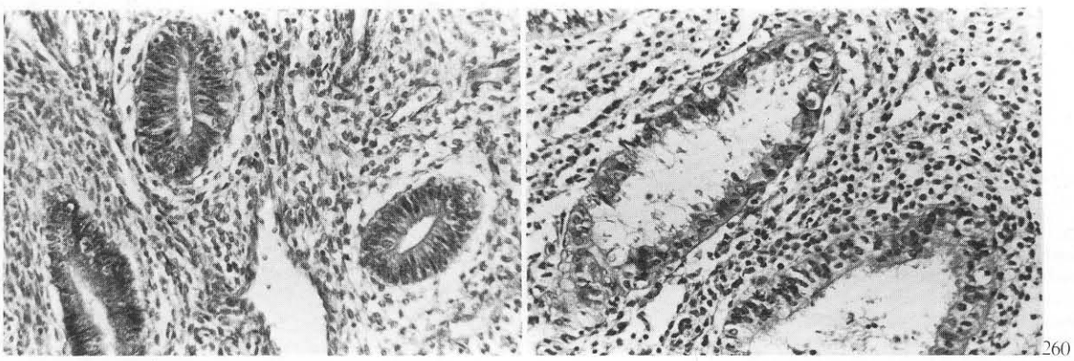


Fig. 258. Cambio cíclico del epitelio vaginal. *a, Fase estrogénica.* Se evidencia engrosamiento y maduración del epitelio mucoso a raíz de la estimulación estrogénica. Véase el citoplasma abundante de las células superficiales. *b, Fase progestágena.* El predominio de células intermedias del epitelio mucoso aparece como una aglomeración de núcleos.



Figs. 259 y 260. Cambios histológicos del endometrio en el ciclo menstrual.
Fig. 259. Fase proliferativa o estrogénica. Pequeñas glándulas ovoides con frecuentes mitosis y estroma compacto.
Fig. 260. Fase secretoria o progestágena. Secreción evidente dentro de la luz de las glándulas endometriales elongadas. El estroma es un tanto edematoso.

4. Cambios hormonales cíclicos en la edad de procrear

Secreción cíclica de hormonas

La función reproductiva de las hembras es regulada por las neuronas del hipotálamo. La secreción de las gonadotrofinas hormona foliculoestimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), liberadas del lóbulo anterior de la glándula hipófisis, es regida por el sistema porta hipotalamohipofisario. El ciclo sexual o menstrual de la mujer es controlado por la interacción entre el ovario y las hormonas hipotalamohipofisarias. A continuación resumimos los cambios rítmicos de la interacción entre los diversos órganos[53] (fig. 257):

1. Entre la ovulación y la menstruación ocurre secreción posovulatoria de hormonas ováricas y depresión de las gonadotrofinas. La producción de grandes cantidades de progesterona y estrógeno da lugar a una retroalimentación negativa que inhibe la secreción de las gonadotrofinas LH y FSH.

2. A medida que el cuerpo amarillo involuciona, se induce el crecimiento folicular. La depresión de estrógenos y progesterona liberaría al hipotálamo del efecto de retroalimentación del estrógeno, estimulándose la secreción de FSH y LH. La secreción de estrógeno aumenta entonces en forma gradual y llega a su primer pico hacia el 13° día.

3. La ovulación tiene lugar tras un aumento repentino de la producción de LH y FSH hacia el 11° día, y se la atribuye a la retroalimentación positiva del alto nivel estrogénico.

Cambios citológicos

Los cambios cíclicos de las hormonas ováricas estrógeno y progesterona se reflejan en la maduración del epitelio de la porción vaginal del cuello uterino y de la porción superior de la vagina. Aunque se pueden emplear extendidos de la secreción vaginal para hacer citología hormonal, muchas veces son influidos por degeneración e inflamación, es decir, citólisis, picnosis y/o eosinofilia citoplasmática. Si ocurre esto, no se puede hacer una evaluación citológica hormonal correcta con el extendido de las secreciones. En consecuencia, se prefieren los extendidos raspados con suavidad de la pared lateral del tercio posterior de la vagina, en lugar de los extendidos de las secreciones. Para que no haya contaminación con células de la porción inferior de la vagina, que exhiben cornificación, los extendidos se recogen con una espátula de madera[152,211] o con un hisopo de algodón[54] después de introducir un espéculo seco.[147] Los estrógenos producidos por las células de la granulosa y la teca de los folículos de de Graaf pueden estimular la proliferación continua del endo-

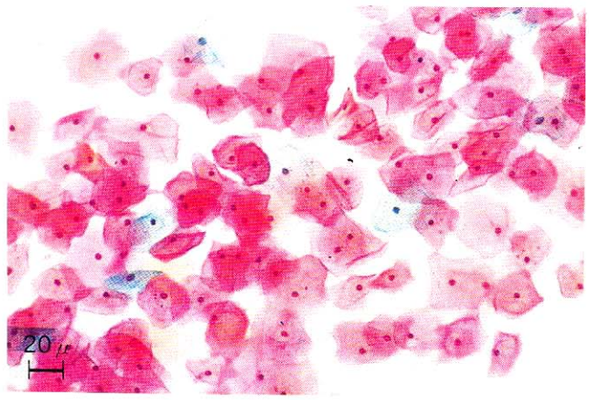


Fig. 261. Extendido vaginal con efecto estrogénico. El cuadro estrogénico se caracteriza por preponderancia de células superficiales con eosinofilia y cariopicnosis, y un fondo claro con escaso moco y pocos leucocitos.

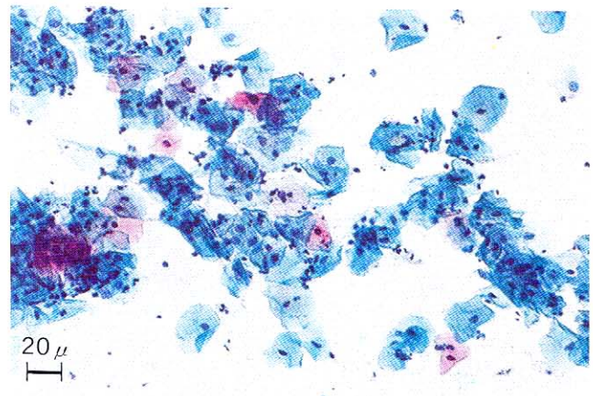


Fig. 262. Extendido vaginal con efecto progestágeno. La influencia de la progesterona se caracteriza por preponderancia de células intermedias, con hacinamiento y arrollamiento.

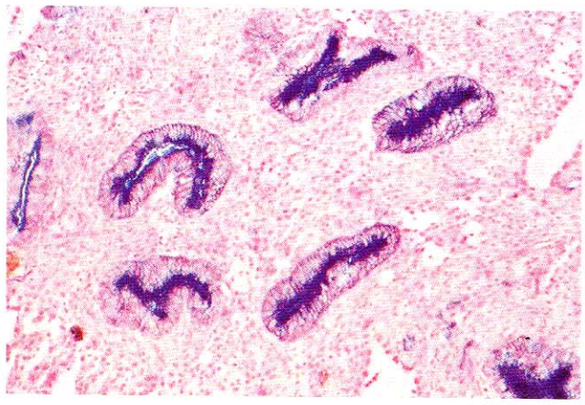


Fig. 263. Fosfatasa alcalina hormonodependiente en la fase estrogénica. Esta isoenzima es termolábil (10 minutos a 65° C). El endometrio proliferativo normal es positivo hacia el momento de la ovulación.

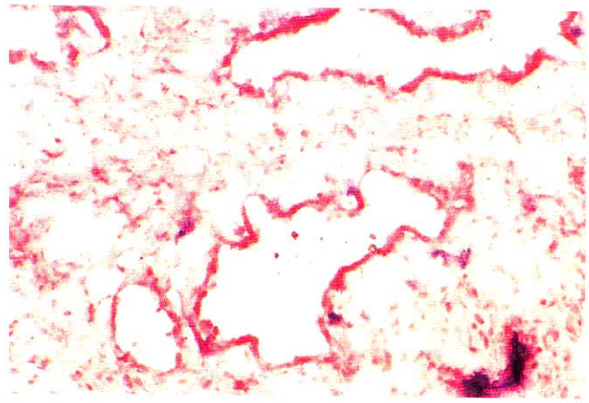


Fig. 264. Pérdida de la actividad de fosfatasa alcalina en la fase progestágena. La fosfatasa alcalina se negativiza después del 20º día del ciclo menstrual, aunque a partir de la ovulación la imagen en mosaico consiste en glándulas positivas y negativas.

metrio hasta la ovulación. La parte superior del epitelio vaginal también responde a los estrógenos, que hacen las veces de una hormona del crecimiento, engrosándose. El componente principal de las células exfoliativas de la vagina son las células superficiales. Después de la ovulación, el folículo se metamorfosea a cuerpo amarillo, que además de estrógeno produce progesterona. La rápida secreción de progesterona origina una respuesta secretoria de las glándulas endometriales y exfoliación de las células intermedias de la porción vaginal del cuello uterino.[157] Hacia el final de la fase de secreción, las células intermedias se aglomeran y se pliegan, y esto se acompaña de infiltración leucocitaria y secreción de moco. En condiciones fisiológicas, la progesterona exhibe un efecto antiestrogénico cuando actúa con estrógeno; así, en la fase secretoria se ve el cese de maduración del epitelio vaginal y descamación masiva de células intermedias.

Fase proliferativa inicial. Predominan las células intermedias, con un citoplasma ancho y plegado, y también se ven a veces células parabasales externas, células endometriales e histiocitos.

Fase proliferativa tardía. Aumenta la cantidad de células superficiales de citoplasma ancho y eosinófilo y núcleos picnóticos, hasta hacerse más numerosas al ocurrir la ovulación. La mayoría de estas células son planas y se presentan en forma individual. El pico del efecto estrogénico se reconoce por un alto índice cariopicnótico. En torno de los núcleos de las células superficiales aparecen gránulos queratohialinos. Los leucocitos son pocos y el moco es escaso, de modo que el fondo del extendido es limpio.

Fase secretoria inicial. A medida que se desarrolla el

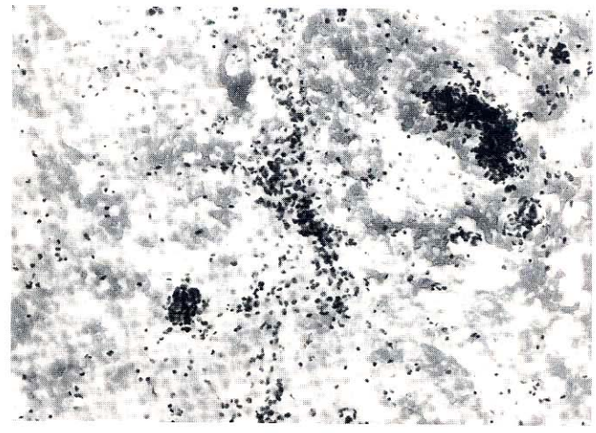


Fig. 265. Células del endometrio durante la menstruación. La secreción sanguinolenta contiene densas aglomeraciones celulares de glándulas endometriales y láminas sincitiales sueltas del estroma.

cuerpo amarillo, empiezan a hacerse prominentes las células intermedias de citoplasma plegado, junto con infiltración leucocitaria y producción de moco. Las células tienden a aglomerarse en grumos.

Fase secretoria tardía. Predominan las células intermedias, con pliegues pronunciados y arrollamientos del citoplasma. Aumenta mucho la cantidad de bacilos de Döderlein y de leucocitos, los cuales pueden acarrear degeneración citoplasmática (citólisis).[145,170,211]

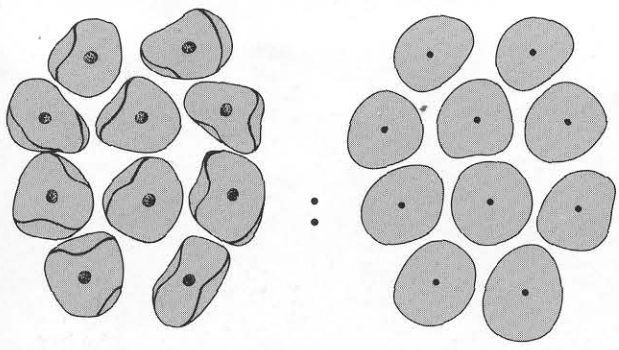
Fase menstrual. Además de los numerosos hematíes, también se emiten grandes cantidades de leucocitos y de células endometriales con núcleos denudados (fig. 265).

Índices citológicos

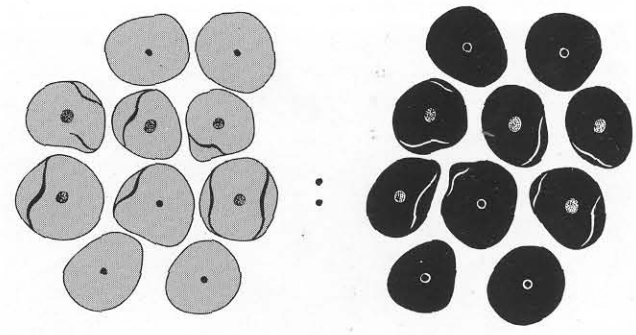
En el Panel sobre Citología Hormonal del Segundo Congreso Internacional de Citología se presentaron varios índices para describir los cuadros citohormonales,[214] a saber (fig. 266):

a) Índice cariopicnótico[216]
b) Índice eosinófilo
c) Índice de maduración[43]
d) Índice de plegamiento[216]
e) Índice de hacinamiento[216]

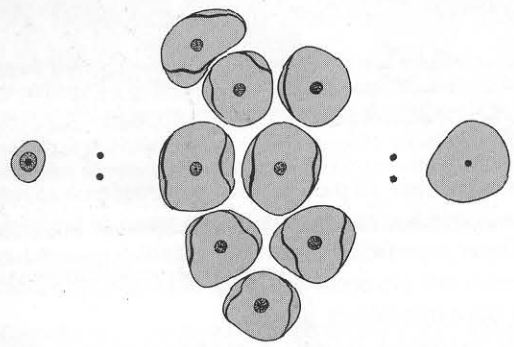
Meisels[101] introdujo un valor numérico para estimar el nivel de maduración celular. Se hicieron recuentos celulares diferenciales en un mínimo de 200 células pavimentosas bien preservadas, a las cuales se les asignaron valores específicos de acuerdo con sus cinco tipos celulares. Estos tipos celulares, representados como porcentajes, fueron multiplicados por sus propios valores y después se sumaron: células eosinófilas superficiales 1, células cianófilas superficiales 0,8,



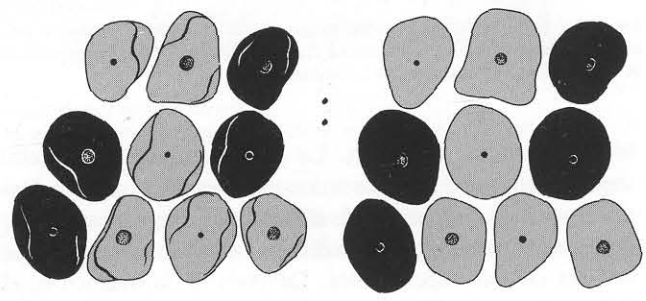
a, Índice cariopicnótico. Relación entre células superficiales maduras y células intermedias maduras, cualquiera que sea la reacción tintorial.



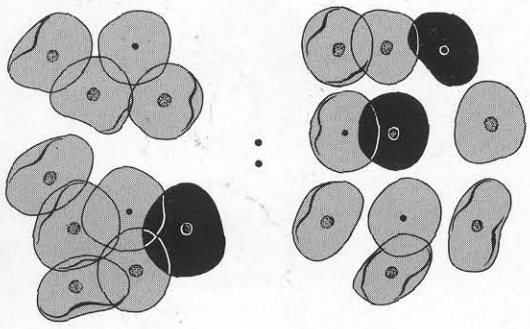
b, Índice eosinófilo. Relación entre células pavimentosas maduras eosinófilas y células pavimentosas maduras cianófilas, cualquiera que sea el aspecto de los núcleos.



c, Índice de maduración. Relación entre células superficiales, células intermedias y células parabasales, expresada en porcentajes y designada así, por ej.: 10/80/10.



d, Índice de células plegadas. Relación entre células pavimentosas maduras plegadas y células pavimentosas maduras planas, cualesquiera que sean la reacción tintorial y el aspecto de los núcleos.



e, Índice de aglomeración celular. Relación entre células pavimentosas maduras en aglomeraciones de cuatro o más células y células solas o en aglomeraciones de menos de cuatro células, cualesquiera que sean la reacción tintorial, el aspecto de los núcleos y el plegamiento o aplanamiento de las células.

Fig. 266a-e. Índices citológicos para la evaluación citohormonal. (Wield, G. L., y Bibbo, M.: Evaluation of the endocrinologic condition of the patient by means of vaginal cytology. *En* Compendium on Diagnostic Cytology, 4ª ed. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.)

células intermedias grandes 0,6, células intermedias pequeñas 0,5 y células parabasales 0. Para facilitar el cálculo, Meisels[102] asignó los siguientes valores: células superficiales 1, células intermedias 0,5 y células parabasales 0. Para hacer una determinación exacta del efecto estrogénico, el índice cariopicnótico es más seguro que el índice eosinófilo, el cual varía de acuerdo con las técnicas de fijación y tinción.

5. Citología en la menopausia

La actividad estrogénica se refleja en la proliferación y maduración del epitelio pavimentoso estratificado de la vagina. En la menopausia, la insuficiencia de la secreción de estrógenos puede inhibir la proliferación del epitelio y retardar la maduración de la capa de células intermedias. Las células exfoliadas son células parabasales y células intermedias. El comienzo de la menopausia es gradual e indefinido; la actividad estrogénica, al disminuir, origina primero una menor cantidad de células superficiales, con predominio de células intermedias. En el período perimenopáusico, la etapa en que existe un espesor protector proliferativo del epitelio con maduración de células intermedias se llama *estatrofia* (falta de efecto estrogénico, Frost). En lo sucesivo, la instalación gradual de la atrofia del epitelio vaginal se caracteriza en el examen citohormonal por una desviación hacia el predominio de células parabasales; la teleatrofia (Frost) es la etapa atrófica extrema, como consecuencia de la falta de sustancias maduradoras. Los cuadros citohormonales están representados del siguiente modo:

Comienzo de la menopausia

La moderada depresión de la actividad estrogénica produce aglomeración de células intermedias profundas y/o células parabasales externas. A raíz del depósito de glucógeno, estas células imparten al citoplasma un tinte amarillento.

Menopausia avanzada

Con la atrofia de la porción vaginal del cuello uterino en la menopausia avanzada, las células exfoliadas son escasas y consisten en su mayoría en células parabasales (fig. 267). El epitelio cervical también se atrofia y es revestido por un epitelio columnar bajo o cuboide. La secreción de moco de las glándulas cervicales disminuye. Este estado es susceptible a la inflamación, es decir, a la colpitis y cervicitis senil (fig. 268). Muchas veces, como consecuencia de las alteraciones inflamatorias de las células, se ve una intensa eosinofilia de las células parabasales con cariopicnosis, que no se debe confundir con disqueratosis. A la célula disqueratósica se la reconoce porque su núcleo es de aspecto normal. En caso de proceso inflamatorio, hay abundantes leucocitos polimorfonucleares y algunos histiocitos, a veces multinucleados, en los extendidos. Este cuadro citológico es característico y la actividad estrogénica disminuye en forma gradual a medida que avanza la edad, hasta que se llega a la etapa de la atrofia epitelial. Algunas mujeres ancianas en posmenopausia conservan niveles moderados de actividad estrogénica y pueden exhibir descamación de células superficiales. Stone y col. mencionan un alto valor de maduración en el 8,9% de las mujeres, todavía a los 20 años de la posmenopausia.[187] La evidencia de que la ooforectomía no produce un cuadro de atrofia corrobora el concepto de que la actividad estrogénica tiene que provenir de la corteza suprarrenal.[34,43,99,113,143,151,187]

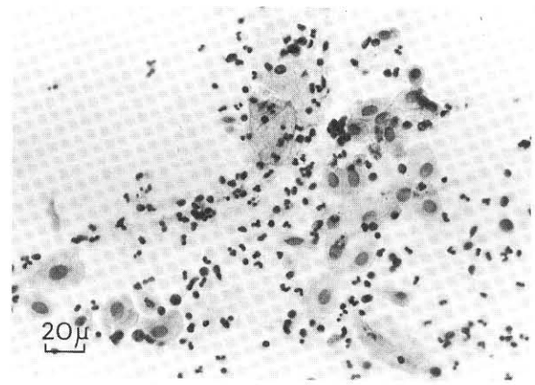


Fig. 267. Tipo atrófico de menopausia. Extendido con escasas células. Los principales constituyentes celulares del extendido atrófico son las células parabasales internas y externas.



Fig. 268. Epitelio atrófico de la porción vaginal del cuello en una mujer anciana que tiene vaginitis senil. El epitelio pavimentoso estratificado sólo está revestido por algunas capas de células y exhibe infiltración local de leucocitos. La capa subepitelial manifiesta intensa inflamación con reacción gigantocelular por cuerpo extraño.

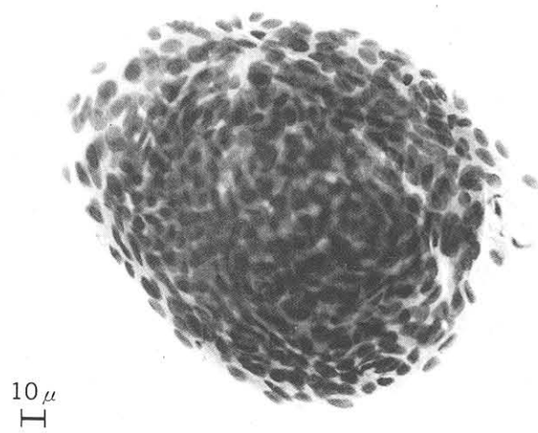


Fig. 269. Células parabasales aglomeradas en un extendido cervical de teleatrofia. Esta bola de células parabasales no se debe confundir con una aglomeración de células cancerosas ni con células endometriales en éxodo.

Meisels y otros investigadores[187] clasificaron los niveles de actividad estrogénica (valor de maduración) del siguiente modo: actividad ausente o muy baja, 0-49; actividad moderada, 50-64; actividad grande, más de 65.

6. Citología antes de la pubertad

Cuadro en la niña recién nacida

Las niñas recién nacidas se hallan bajo el efecto de la progesterona que recibieron de la madre antes del parto. Por lo tanto, las células principales de los extendidos vaginales son intermediarias y no hay mezcla de leucocitos. No existen bacilos de Döderlein. Esto persiste hasta la cuarta semana, más o menos.

Cuadro en la niña prepúber

Una vez que se disipa la influencia de la progesterona materna, el cuatro citológico mantiene un predominio de células parabasales hasta la pubertad, cuando la función ovárica empieza a actuar sobre los extendidos vaginales. Por lo tanto, antes de la *menarquia* las niñas tienen un cuadro citohormonal similar al atrófico de la posmenopausia, con predominio de células parabasales en un grado tal que el índice de maduración es de 70/30/0 a 100/0/0.

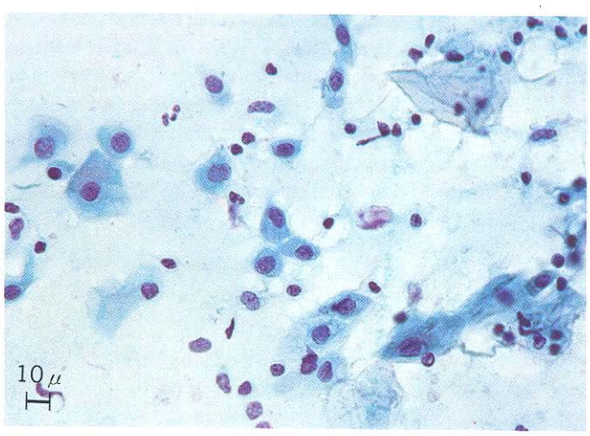
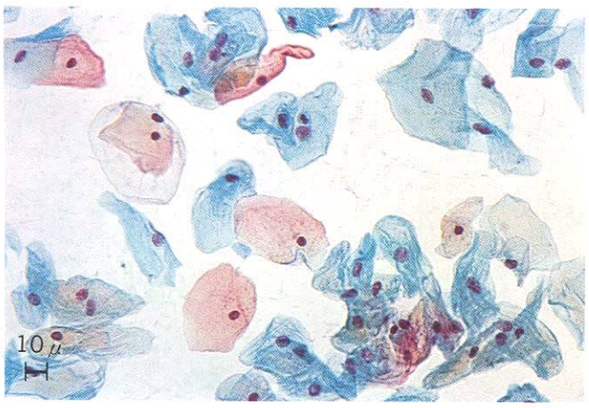
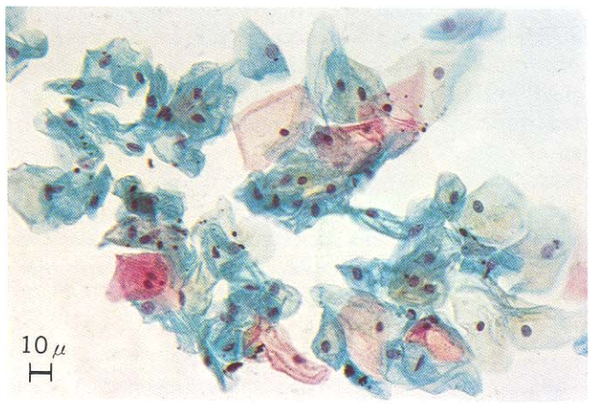


Fig. 270. Citología vaginal de un extendido atrófico en una niña de 3 años. Escasean las células epiteliales pavimentosas y predominan las células parabasales.



271



272

Figs. 271 y 272. Citología vaginal de la pubertad precoz. Esta niña de 8 años llegó a nuestra clínica por tumefacción mamaria y sangrado genital. Los extendidos vaginales exhibían gran celularidad y predominio de células superficiales e intermedias. También se puede observar cierta alteración del cuadro celular realizando estudios citológicos seriados.

7. Estados patológicos que influyen sobre los cuadros citohormonales

Inflamación

Las alteraciones inflamatorias, la infestación por tricomonas en particular, pueden confundirse con disqueratosis por la intensa coloración eosinófila de las células afectadas. Al comienzo de la menopausia, en el proceso de curación de la erosión verdadera, las mujeres pueden exhibir maduración de células pavimentosas. Las mujeres en edad de procrear que tienen erosión real, manifiestan exfoliación de células parabasales, pero esto no se debe interpretar como depresión del efecto estrogénico.

Medicaciones no hormonales

Varios investigadores observaron un alto índice de maduración en mujeres ancianas que estaban en tratamiento con digitálicos desde dos años o más.[22,24,119] El efecto del glucósido digitálico sobre el epitelio pavimentoso estratificado de la porción vaginal del cuello uterino se debería a que su estructura molecular es similar a la de los estrógenos. La carencia de vitamina A puede acarrear desviación del índice de maduración hacia la derecha por hiperqueratosis generalizada (Naib).

8. Citología en la disfunción hormonal

Para hacer la evaluación citohormonal es necesario excluir la medicación exógena con sustancias estrogénicas.

Hiperactividad estrogénica

Los tumores feminizantes que elaboran estrógenos, como el tumor de células de la granulosa y el tecoma, ejercen un

Cuadro 46. Cuadro citológico influido por las hormonas ováricas

Fase	*Principales componentes celulares del extendido vaginal*	*Otros componentes celulares del extendido vaginal y su fondo*
A) Prepuberal		
Neonatal	Células intermedias	
Niñez	Células parabasales	Escasa celularidad
B) Período reproductivo		
Menstrual	Eritrocitos	Células endometriales degeneradas en grumos y leucocitos
Proliferariva inicial	Células intermedias	En ocasiones células endometriales y/o histiocitos
Proliferativa tardía	Células superficiales planas e individuales	Limpio
Secretoria inicial	Células superficiales con plegamientos	Algunas células intermedias y leucocitos
Secretoria tardía	Células intermedias con pliegues y hacinamiento	Abundante moco y muchos leucocitos; degeneración citoplasmática
Embarazo	Células intermedias "naviculares" aglomeradas	
Posparto	Células parabasales con glucógeno, "células posparto"	
C) Menopausia		
Tipo hacinado	Células intermedias y células parabasales externas	Responde a los estrógenos
Tipo atrófico	Pequeña cantidad de células parabasales	Muchas veces se asocia con colpitis senil

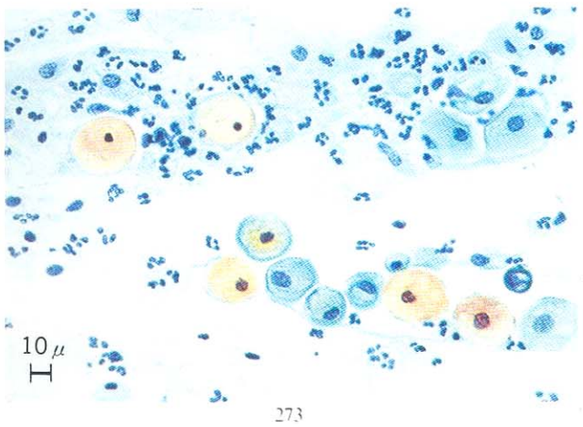
efecto estrogénico intenso persistente sobre la citología, junto con diversos rasgos clínicos. Las niñas prepúberes exhiben pubertad precoz o menstruaciones irregulares o excesivas. Las pacientes posmenopáusicas presentan un retorno de menstruaciones irregulares, mientras que las que están en edad de procrear tienen amenorrea o menstruaciones irregulares.

Ciertos tumores no producen estrógenos, pero a veces se asocian con un nivel de estrógenos anormal. El carcinoma endometrial es un ejemplo típico de este estado, y otros tumores, como carcinoma de la trompa de Falopio, carcinoma de ovario, carcinoma de mama y la hiperplasia glandular del endometrio, pueden elevar la actividad estrogénica.

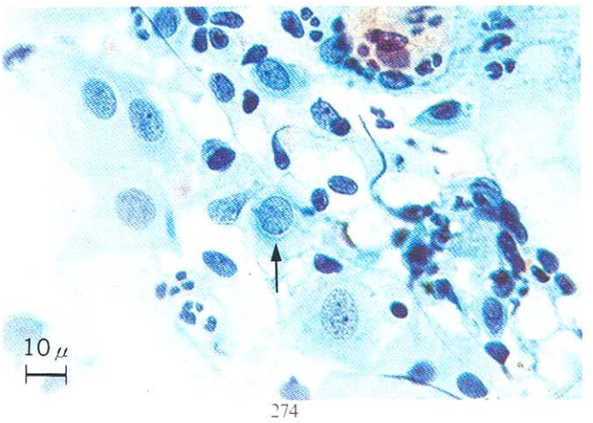
La cirrosis hepática y otras lesiones hepatocelulares pueden acarrear una disfunción que inactiva la destrucción de estrógenos, con aumento relativo del efecto estrogénico.

Hipoactividad estrogénica

El hipoestrogenismo es un trastorno primario por insuficiencia, agenesia, disgenesia o atrofia de los ovarios. Las manifestaciones clínicas son amenorrea, esterilidad y ausencia de madurez sexual. El cuadro citohormonal es atrófico por completo. En la insuficiencia ovárica primaria, síndrome de Turner y disgenesia ovárica se observa ausencia completa de maduración, atrofia de endometrio y cuerpos de cromatina X negativos. La insuficiencia ovárica secundaria o hipogonadismo hipofisario se caracteriza por amenorrea o menarquia tardía y órganos genitales infantiles, también con un extendido vaginal atrófico y endometrio atrófico. Otros trastornos endocrinos que manifiestan maduración sexual insuficiente y pérdida del efecto estrogénico sobre los extendidos vaginales son síndrome de Sheehan y enfermedad de Simmonds; el índice de maduración arroja una desviación progresiva a la izquierda. La enfermedad poliquística de ovario (síndrome de Stein-Leventhal) es una insuficiencia ovárica que se manifiesta con agrandamiento poliquístico bilateral de los ovarios, amenorrea u oligomenorrea y esterilidad, pero su cuadro citológico es inconstante[10] porque predominan los efectos estrogénicos bajos o de tipo progesterona en general y a veces hasta se ven moderados efectos estrogénicos. La ausencia de cambios cíclicos normales en los extendidos



273



274

Figs. 273 y 274. Extendido atrófico por disgenesia gonadal en una mujer de 20 años con mosaicismo 45X/46XXqi. Seis de 200 células parabasales son cromatina X positivas. En ocasiones se ve un gran cuerpo X; el gran cuerpo X provendría del cromosoma iso-X.
Fig. 273. Extendido atrófico con escasa celularidad.
Fig. 274. Es raro que se vea alguna célula con cuerpo X positivo (*flecha*).

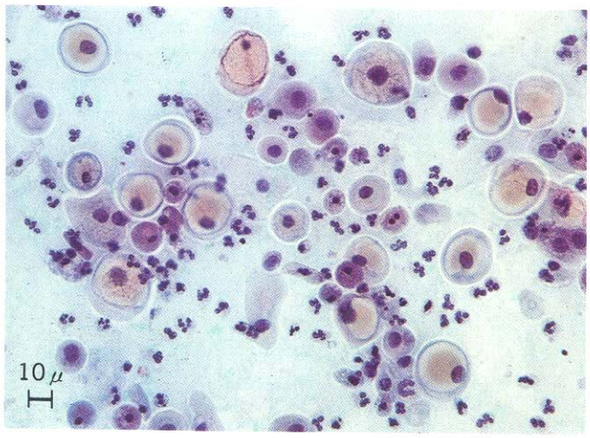


Fig. 275. Hiperactividad androgénica. Hiperactividad androgénica relativa en un extendido vaginal, causada por intenso tratamiento con testosterona tras una mastectomía por carcinoma mamario. Predominan las células parabasales con un citoplasma de tinte amarillento. Los andrógenos exógenos causan proliferación de células parabasales y células intermedias de bordes engrosados.

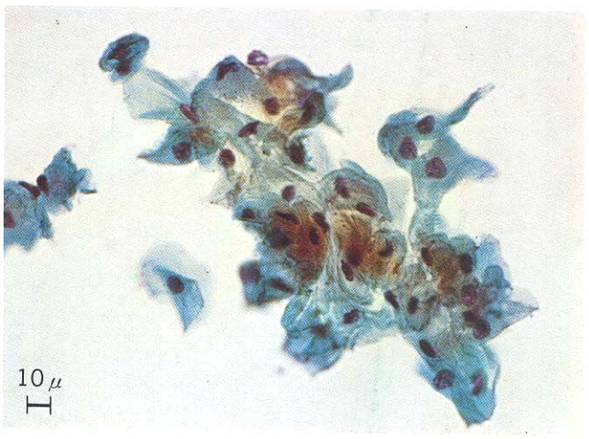


Fig. 276. Cuadro citohormonal con predominio de células intermedias y parabasales en un caso de arrenoblastoma. La preponderancia de la secreción de testosterona sobre los estrógenos se refleja en una citología sin atrofia. De una mujer de 36 años que tuvo amenorrea, voz cada vez más gruesa y aplanamiento de las mamas. El tumor era unilateral y consistía en túbulos testiculares imperfectos y células mesenquimáticas inmaduras. Valores antes de la operación: 17-cetoesteroides urinarios 9,57 mg/día, testosterona sérica 2,67 ng/ml y testosterona urinaria 6,16 ng/l.

seriados es un hallazgo notable que abona a favor del diagnóstico de síndrome de Stein-Leventhal.

Hiperactividad de progesterona

En condiciones fisiológicas la progesterona endógena se elabora en el cuerpo amarillo o en la placenta. El luteoma ovárico y los quistes luteínicos pueden producir un alto nivel de progesterona con atraso clínico de la menstruación. Mientras que el hiperestrogenismo se detecta con facilidad con pruebas citohormonales, la hiperactividad de progesterona no es tan fácil de detectar mediante investigación citológica. El efecto de progesterona se interpreta por los siguientes rasgos:[216]

1. Hacinamiento de células intermedias de citoplasma ancho y cianófilo.
2. Plegamiento del citoplasma de las células individuales.
3. Desaparición de los límites de las células individuales.

Hiperactividad androgénica

El exceso de andrógenos se ve en los tumores virilizantes, como arrenoblastoma,[107,128] tumor de células hiliares virilizante y tumor de restos suprarrenales (masculinovoblastoma),[166] y se caracteriza por la presencia de amenorrea, desfeminización, atrofia vaginal y excreción aumentada de 17-cetosteroides.

El efecto de los andrógenos sobre los extendidos vaginales[18,49,144] consiste en la presencia de una cantidad de pequeñas células intermedias y/o células parabasales con núcleos pequeños centrales y bordes citoplasmáticos condensados.

Estas células exhiben un tinte amarillento en torno del núcleo por depósito de glucógeno. Este cuadro no se distingue con facilidad respecto de una actividad estrogénica deprimida que impide los cambios cíclicos.

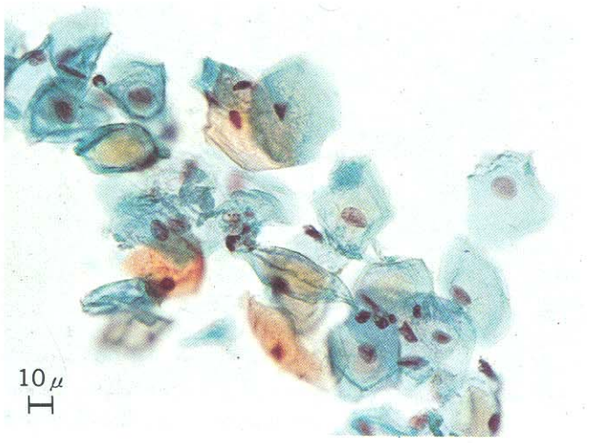


Fig. 277. Tipo navicular ordinario en el embarazo. Las células parabasales e intermedias se trasforman en células naviculares, que se caracterizan por un borde celular grueso y doblado, y por depósitos intracelulares de glucógeno.

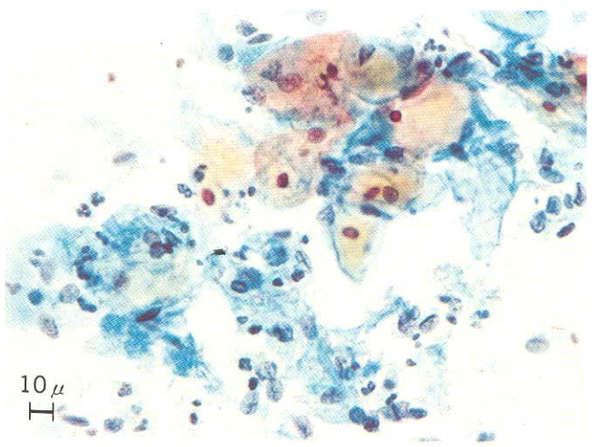


Fig. 278. Tipo citolítico en el embarazo. Los bordes citoplasmáticos de las células intermedias y parabasales se borronean a causa de la citólisis. Quedan varias células naviculares con depósitos pardo-amarillentos de glucógeno.

9. Citología del embarazo y sus cambios respectivos

En el primer trimestre del embarazo las hormonas sexuales femeninas se secretan en el cuerpo amarillo y después en la placenta (trofoblasto). La moderada actividad estrogénica que se venía manteniendo en el primer trimestre disminuye poco a poco y es sustituida por el efecto progestágeno originado en la placenta.

Cuadro citohormonal en el embarazo

Tipo navicular común. Este cuadro citológico[66,100,103,153,199] se caracteriza por células intermedias profundas hacinadas en grumos al final del primer trimestre. La célula de este tipo se llama "navicular" porque tiene la forma de una nave, con un borde celular engrosado y un núcleo excéntrico *(célula en concha de ostra)*.[135] De vez en cuando el citoplasma de estas células intermedias presenta un tinte amarillento por depósito de glucógeno. Las células naviculares no siempre hacen el diagnóstico de embarazo, pero se ven en los estados en que la actividad estrogénica está disminuida o hay mayor actividad progestágena, incluso embarazo.[202]

Tipo citolítico. Éste es otro cuadro citohormonal de tipo común. Muchas veces se observan citólisis y núcleos libres, asociados con considerable predominio de bacilos de Döderlein[145,210,215] aunque no haya signos inflamatorios.

Tipo inflamatorio. Las embarazadas son más susceptibles a las infecciones que las no embarazadas. En cierta proporción de extendidos aparece un cuadro inflamatorio asociado con numerosos leucocitos, abundante moco y flora bacteriana. Se cree que con la aplicación local de antibióticos reaparece el cuadro navicular usual.[179]

Tipo estrogénico. Este cuadro se caracteriza por predominio de células superficiales eosinófilas. Este extendido ocurre en las seis primeras semanas de la gestación, pero su persistencia refleja un grave trastorno hormonal. Por ejemplo, Nesbitt y col.[120] mencionan un 27,5% de abortos en pacientes con índice cariopicnótico mayor de 20, pero si el extendido era normal para embarazo, sólo se registró un 0,3% de abortos. Koller y Artner[78] dividieron al tipo estrogénico en precornificado y cornificado, según el tipo de células predominantes, que pueden ser superficiales eosinófilas o superficiales cianófilas. Sus estudios hormonales en 725 mujeres embarazadas arrojaron los siguientes porcentajes de los diversos tipos celulares característicos:

1. Navicular	63,4%
2. Citolítico	15,6%
3. Inflamatorio	5 %
4. Precornificado	13,1%
5. Cornificado	2,9%

Estos cuadros citológicos no tienen valor absoluto para diagnosticar embarazo.[46,150] Se mencionaron diversos porcentajes de diagnósticos basados en la citología: 72% por Pundel,[150] 68% por Meyer y von Haam[106] y 96 a 98% por Hopman.[66]

Citología del embarazo de término

La citología del embarazo de término[91,92,179] se caracteriza por disminución de las células naviculares y aumento del índice eosinófilo o cariopicnótico. Además, las células naviculares y también las superficiales tienden a ser aisladas e individuales. Una gran proporción de mujeres tiene en el preparto un extendido inflamatorio con abundantes leucocitos y moco;[110] por lo tanto, conviene administrar antibióticos locales para hacer una evaluación citohormonal exacta.

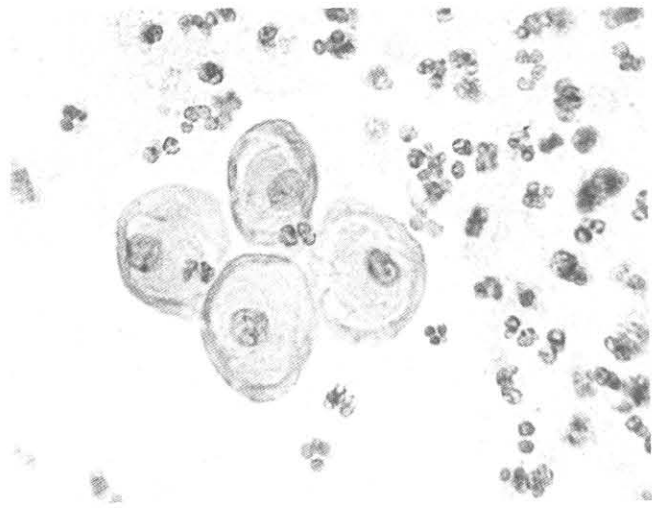


Fig. 279. Células de un extendido cervical poco después del parto. El extendido cervical se caracteriza por predominio de células parabasales redondas, que se llaman "células posparto". Nótense las células parabasales redondas u ovales de bordes citoplasmáticos engrosados y con depósitos de glucógeno.

Citología en el posparto

Citología del posparto inmediato. Hasta unos 10 días después del parto el cuadro citológico se caracteriza por la aparición de leucocitos polimorfonucleares e histiocitos, seguidos por predominio de células parabasales redondas u ovales que se llaman "células posparto" y tienen mucho glucógeno, bordes citoplasmáticos engrosados y núcleos picnóticos. Después de la segunda semana, esta citología característica del posparto retorna a las células parabasales normales.

Citología del posparto prolongado. Durante la lactación y hasta unos 4 meses antes del retorno de la menstruación, el cuadro citológico arroja predominio de células parabasales por supresión de la maduración de las células pavimentosas.

Citología de la amenaza de aborto. Este cuadro se caracteriza por un aumento mayor del 10% del índice eosinófilo o cariopicnótico, asociado con desaparición de las células naviculares.[32,184] Si con la hormonoterapia el cuadro citohormonal se normaliza, la gestación continúa y debe llegar el parto, pero si a esta citología le sigue el reemplazo de la mayor cantidad de células superficiales por células parabasales y por las llamadas células posparto[38] sin respuesta al tratamiento, esto significaría muerte fetal.[153,181]

La aparición de sincitiotrofoblastos multinucleados y/o citotrofoblastos, además de numerosos eritrocitos y leucocitos neutrófilos, sugiere aborto incompleto.[179] Estos elementos no aparecen en los extendidos vaginales de los partos normales. Aunque en raros casos aparecen citotrofoblastos, se los debe distinguir de las células cancerosas (Naib[117]) (cuadro 47).

En algunos casos de aborto incompleto se obtienen células

Cuadro 47. Características diferenciales de las células trofoblásticas individuales respecto de células malignas de tercer tipo e indiferenciadas en los extendidos vaginales

Criterios	*Célula*		
	Trofoblástica individual	*Maligna de tercer tipo*	*Maligna indiferenciada*
Tamaño de la célula	Grande (variable)	Pequeño	Mucha variación
Forma de la célula	Redonda	Redonda	Muy irregular
Relación nuclear/citoplasmática	Aumentada	Aumentada	Aumentada
Borde celular	Indistinto	Nítido	Variable
Membrana nuclear	Gruesa, nítida, regular	Fina, nítida, algo irregular	Gran variación, irregular
Trama de cromatina	Suave	Granular, grumos irregulares	Grumos y distribución punteada
Cantidad de núcleos	1 a 3, apilados	Por lo general simples	Por lo general simples

(NAIB, Z.M.: Cancer *14*:1183, 1961.)

deciduales[82] mediante aspiración o curetaje endometrial. Estas células aparecen como células individuales o aglomeraciones celulares dispuestas en un empedrado plano. Como regla, el tejido decidual del aborto incompleto está más o menos degenerado, de modo que los bordes de un citoplasma bastante abundante y homogéneo son indistintos y el núcleo es de aspecto nuboso.

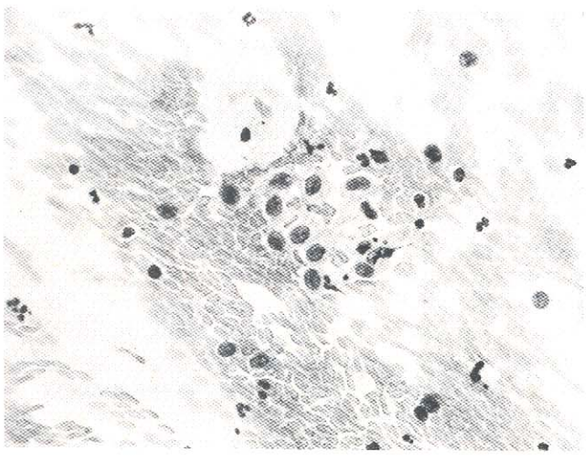


Fig. 280. Células deciduales en una hemorragia anormal. En el curetaje se encontraron células deciduales desprendidas por separado o en grupos. Las células deciduales individuales con arrugas nucleares aparecen diseminadas (× 100).

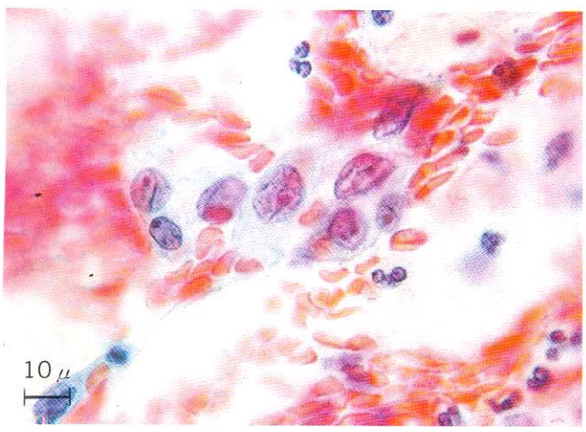


Fig. 281. Células deciduales de un extendido tras un aborto incompleto. Nótese la lámina suelta de células indefinidas que poseen una moderada cantidad de citoplasma y núcleos poliédricos u ovales; la cromatina es finamente granular y de distribución uniforme. La membrana nuclear es delicada pero está arrugada.

Fenómeno de Arias-Stella

En un principio se observó en el embarazo ectópico reacción de Arias-Stella con atipia endometrial.[223,224] Se piensa que la hiperplasia de tipo adenocarcinomatoso se debe a la influencia de la progesterona. Los citólogos deben tener en cuenta que el fenómeno de Arias-Stella de las glándulas endometriales puede ocurrir en el aborto; los núcleos son grandes e hipercromáticos (fig. 282).

Células de la vérnix caseosa

En caso de rotura de la membrana fetal se ven células características de la vérnix caseosa provenientes de las células pavimentosas degeneradas de la piel fetal en el líquido vaginal. Estas células son anucleadas, poligonales, traslúcidas y se tiñen de amarillo claro. Como técnica práctica para examinar las células de la vérnix caseosa, el extendido se debe recoger lo más cerca posible del orificio cervical externo (Hopman[64]). Dicen Hopman y col.[67] que estas células son de utilidad diagnóstica después de las 28 semanas de la gestación.

Citología de los tumores coriónicos

El coriocarcinoma es el más maligno de los tumores coriónicos que tienden a metastasizar con rapidez al pulmón. Por lo tanto, a veces se lo diagnostica por el esputo. Los indicios

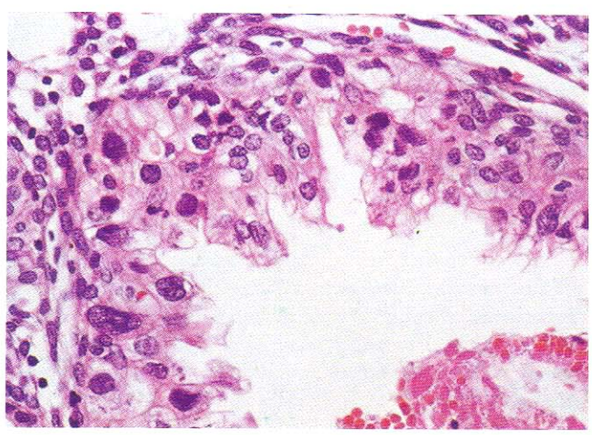


Fig. 282. Fenómeno de Arias-Stella de las glándulas endometriales. Las células del epitelio de revestimiento tienen unos núcleos grandes e hipercromáticos. Esto puede prestarse a un diagnóstico exagerado erróneo.

que orientan hacia el diagnóstico de coriocarcinoma son la aparición de trofoblastos malignos en las impresiones de los curetajes endometriales o de los productos de la concepción, y la ausencia de vellosidades coriónicas en el examen macroscópico de la muestra. Mientras que los sincitiotrofoblastos benignos del aborto incompleto poseen múltiples núcleos uniformes y suficiente cantidad de citoplasma, los sincitiotrofoblastos malignos exhiben unos núcleos muy agrandados y polimórficos, y un citoplasma escaso. Los citotrofoblastos malignos que aparecen solos o en aglomeraciones sueltas, poseen grandes núcleos redondos de cromatinas gruesas y nucléolos prominentes. Los nucléolos suelen ser únicos y centrales. El diagnóstico exacto de tumores coriónicos basado en los componentes celulares, atipia celular, invasión de trofoblastos en tejidos normales y presencia o no de vellosidades coriónicas, sólo se puede establecer mediante examen histológico. El citodiagnóstico se limita a la atipia celular, pero cierta cantidad de casos que descaman trofoblastos anormales son sugestivos de la presencia de tumores coriónicos; la diferenciación entre mola destructiva y coriocarcinoma por el cuadro citológico es discutible.[191] Para arribar al diagnóstico de certeza también se deben hacer exámenes inmunocitoquímicos o bioquímicos para gonadotrofina coriónica humana.

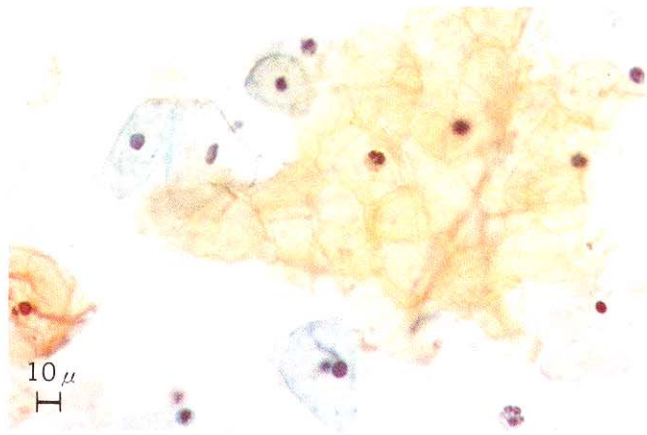


Fig. 283. Células de vérnix caseosa del líquido amniótico. Las células anucleadas en escamas, con citoplasma trasparente y amarillento, provienen de la vérnix caseosa del feto. Si esto aparece en un extendido cervical significa rotura de las membranas fetales.

Efectos de los anticonceptivos sobre la citología

El cuadro citohormonal de mujeres en edad de procrear que han estado tomando anticonceptivos orales, se parece al de la etapa inicial del embarazo, con predominio de células

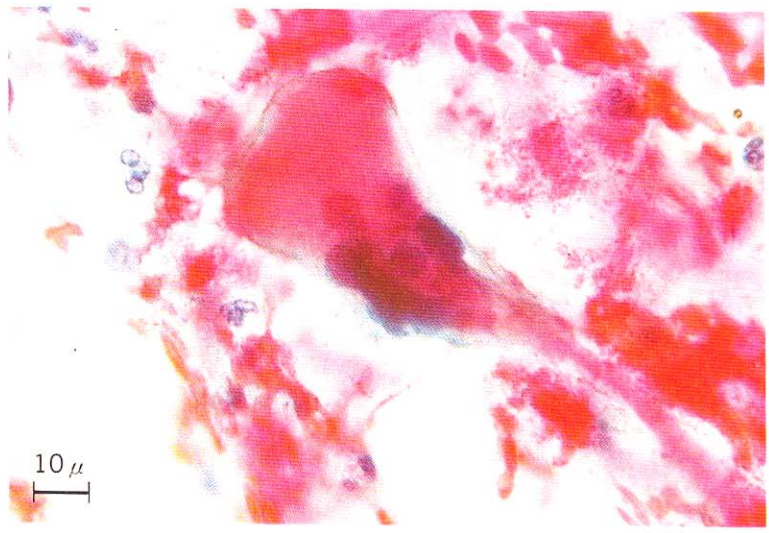


Fig. 284. Sincitiotrofoblasto en la impresión de un curetaje endometrial. Mola hidatidiforme a las 16 semanas de la gestación. Dentro de un citoplasma muy eosinófilo aparecen muchos núcleos picnóticos con superposición.

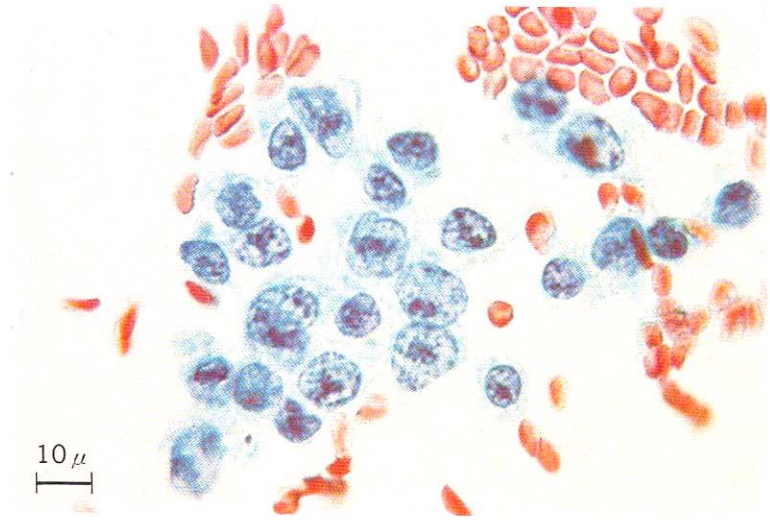
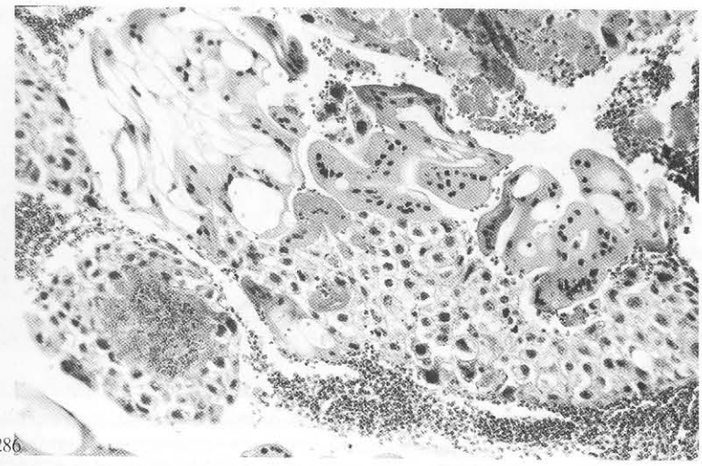


Fig. 285. Citotrofoblastos en una aglomeración suelta proveniente de una mola hidatidiforme. Extendido de la figura 284. Los núcleos son redondos y vesiculosos, y contienen nucléolos prominentes. El citoplasma es escaso y poco definido.



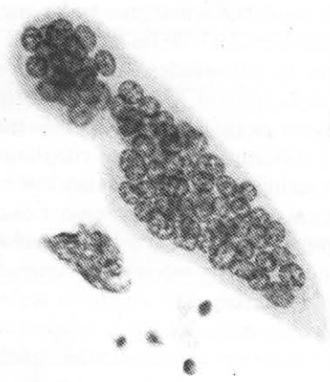


Fig. 286. Histología de una mola destructiva que se caracteriza por láminas sólidas de citotrofoblastos y sincitiotrofoblastos.
Fig. 287. Sincitiotrofoblasto bien preservado que contiene múltiples núcleos superpuestos. Los núcleos son de tamaño y morfología uniformes. Cromatina agrupada en grumos gruesos, pero de distribución pareja. Las superposiciones nucleares difieren del moldeamiento que se ve en la infección herpética.

intermediarias plegadas semejantes a células naviculares, pero el cuadro es tan variable que no se puede definir la citología inducida por los anticonceptivos.

10. Cambios benignos de las células epiteliales

Varios estados patológicos pueden producir células sospechosas que se deben distinguir de las células cancerosas.

Reparación textural

Las células regenerativas o de reparación de las lesiones cervicales se presentan por el proceso de reparación hística consecutivo a la solución de continuidad de las membranas mucosas; existen diversos estados causales, como cervicitis crónica, pólipo cervical, criocirugía, electrocauterización e irradiación. La reparación textural se modifica de acuerdo con los diversos factores causales que originaron la alteración morfológica. En la reparación textural intervienen células epiteliales y mesenquimáticas, y esto plantea problemas citológicos para trazar la diferencia respecto de las células cancerosas.

Aspecto general. Las células de reparación se exfolian como grandes aglomeraciones laminares al hacer el raspaje mecánico. Los límites celulares son oscuros en los grupos de células. La distribución de los núcleos es regular y dentro de la aglomeración se observa polaridad nuclear. Es difícil determinar el origen endocervical o ectocervical de las células de reparación porque las endocervicales se metaplasian.

Rasgos celulares. El agrandamiento nuclear es moderado, y está entre 10 y 15 μ de diámetro. Aunque esto se acompaña de ligera anisocitosis, los núcleos son de forma pareja, redondos u ovoides y poseen membranas nucleares delicadas. La cromatina es finamente granular y de distribución uniforme. Los rasgos característicos son unos macronucléolos eosinófilos, por lo general simples pero a veces múltiples.

Otras particularidades. La reparación textural consecutiva a la criocirugía se caracteriza por una pronunciada hiper-

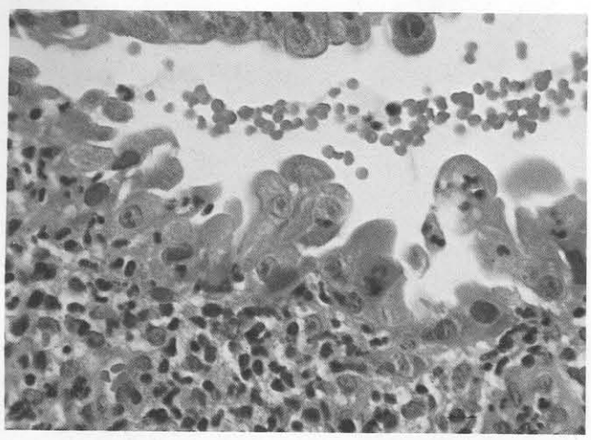


Fig. 288. Hipertrofia asociada con reparación textural. El agrandamiento, la binucleación ocasional, la hipertrofia nucleolar y la eosinofilia se deben a regeneración e inflamación.

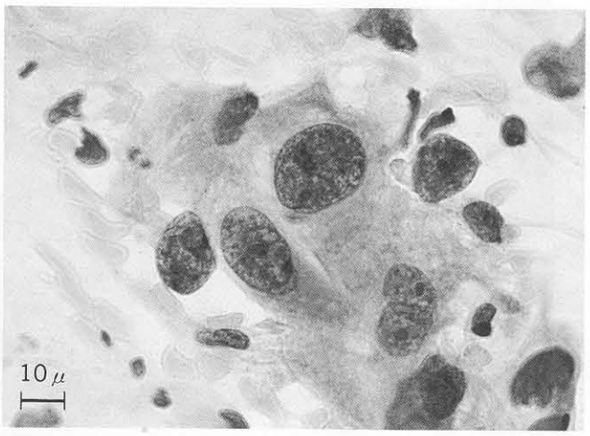


Fig. 289. Células de reparación textural hipertróficas en una aglomeración laxa. Los núcleos exhiben un agrandamiento enorme y nucléolos grandes, pero el citoplasma, mal definido, también está aumentado de tamaño. La trama de cromatina es suave.

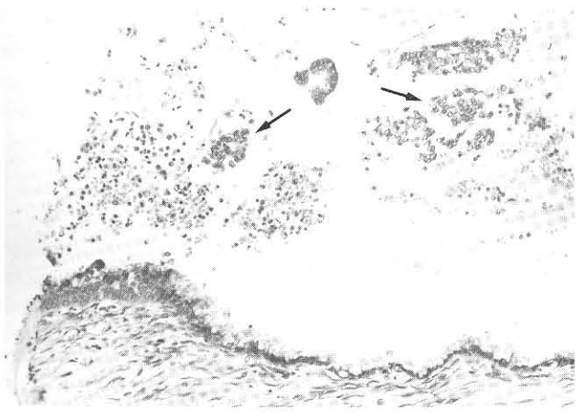


Fig. 290. Hiperplasia de células de reserva tras la criocirugía del cuello uterino. En el exudado se ven aglomeraciones de células de reserva descamadas.

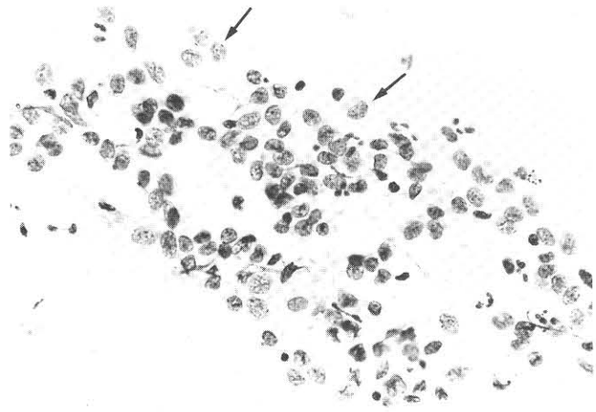


Fig. 291. Células de reserva hipertróficas en un raspado cervical tras la criocirugía del cuello uterino. Los núcleos aparecen casi denudados y se tiñen intensamente, pero son de tamaño y morfología uniformes. Nótese la presencia de la cromatina X (*flechas*).

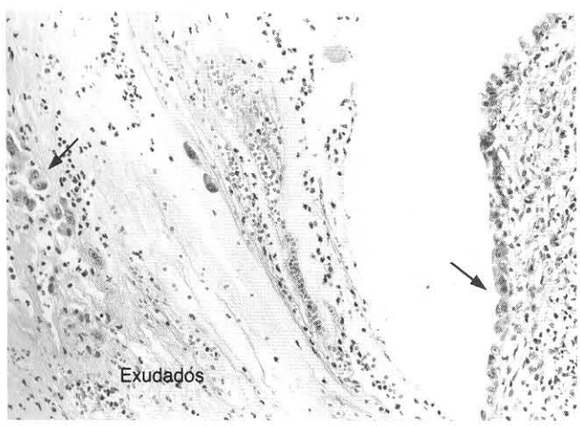


Fig. 292. Hiperplasia regenerativa de células endocervicales tras la criocirugía. El epitelio de revestimiento en regeneración se asocia con metaplasia (*flechas*).

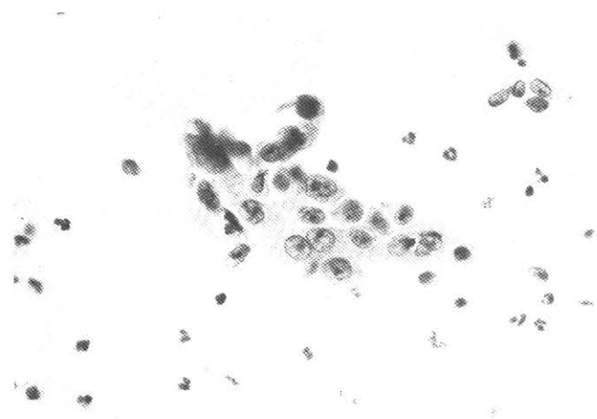


Fig. 293. Hiperplasia reparadora hística con metaplasia pavimentosa. Puntos para establecer el diagnóstico: 1) agrandamiento nuclear con núcleos de morfología uniforme, 2) prominencia de nucléolos con eosinofilia y 3) imagen en empedrado atribuible a la metaplasia pavimentosa.

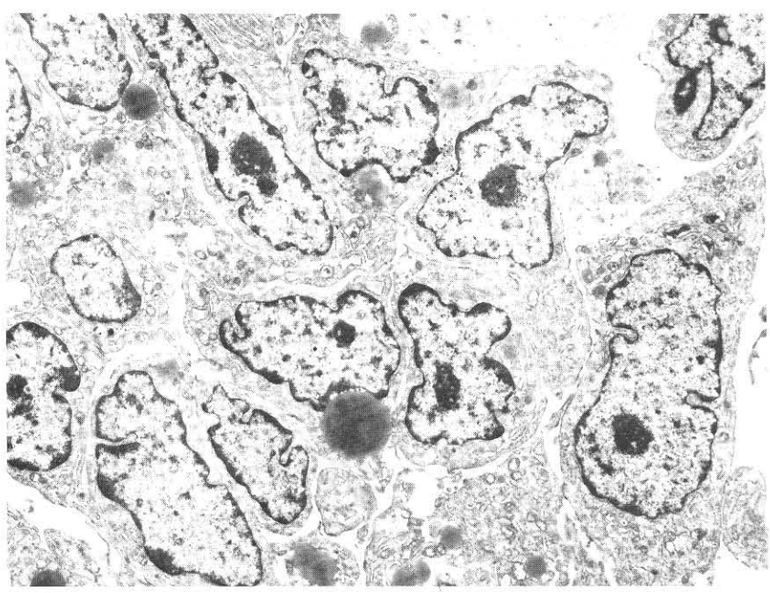


Fig. 294. Micrografía electrónica de la hiperplasia de células de reserva en la reparación textural. Caso de las figuras 290 a 293. Nótense la gran relación N/C, la condensación de la cromatina en las envolturas nucleares y la prominencia del nucléolo. Obsérvese la diferencia de la trama de cromatina respecto de las células cancerosas (fig. 394).

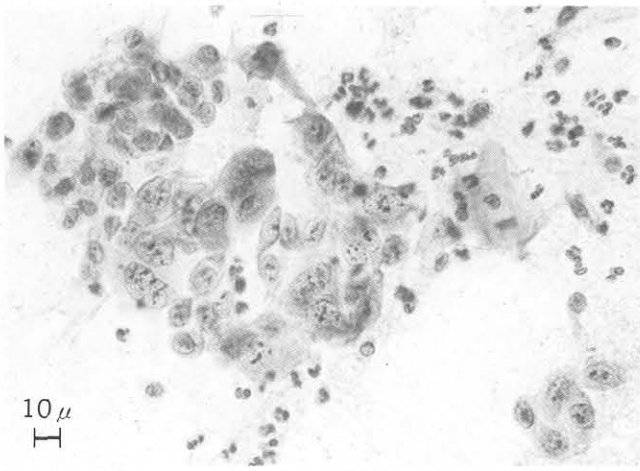


Fig. 295. Hiperplasia reparadora hística de un epitelio originado en células de reserva. Los núcleos son grandes y se destacan los nucléolos, pero su morfología es uniforme. También se observa un comienzo de metaplasia pavimentosa.

plasia de las células de reserva y células basales tras la crionecrosis, seguida por metaplasia pavimentosa (figs. 290 a 293). Esta proliferación reparadora se presenta hacia las 3 semanas de la criocirugía. En vista de que estas células de reserva hiperplásica se acompañan de hipercromatismo, irregularidad de la membrana nuclear y cromatinas gruesas, procúrese no confundirlas con carcinoma *in situ* (figs. 291 y 294).

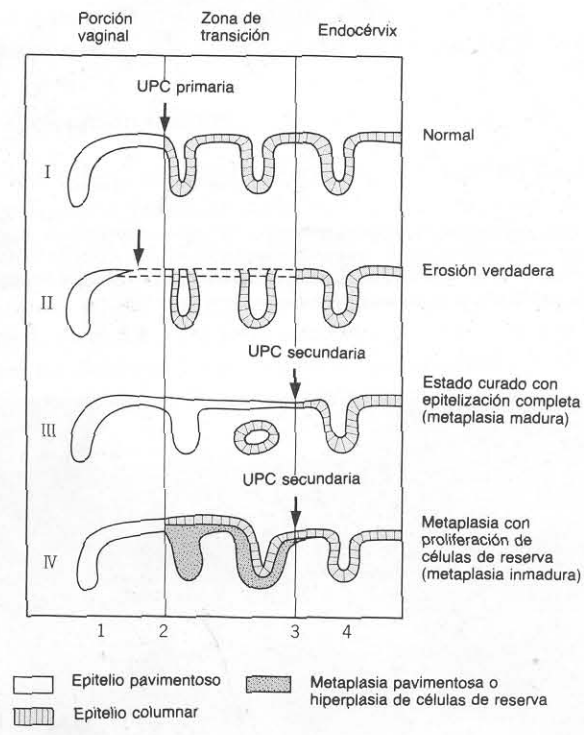


Fig. 296. Unión pavimentosocolumnar (UPC) y su significado. Desde el punto de vista histológico el cuello se divide en tres zonas: 1) una porción vaginal cubierta por epitelio pavimentoso estratificado, 2) un endocérvix tapizado por una superficie columnar y epitelios glandulares, y 3) una zona de transición. Esta zona de transición, que antes estaba cubierta por epitelio columnar, tiende a ir a la hiperplasia de células de reserva, metaplasia pavimentosa y displasia. En consecuencia, la UPC puede desplazarse hacia adentro como resultado de la epidermización. (Algo modificado de Johnson, L. D., y col.: Cancer *17*: 231, 1964. El concepto de la UPC secundaria fue introducido por Masubuchi, K.)

La reparación textural asociada con cervicitis crónica o pólipo cervical varía de un caso a otro porque se superponen las alteraciones inflamatorias y metaplásicas. En los casos irradiados se observa cierto efecto persistente de la radiación (véanse pp. 83 y 202).

Metaplasia pavimentosa

Metaplasia es la producción de un tipo de tejido adulto por células que normalmente se diferencian hacia otro tipo de tejido. Las causas principales de metaplasia pavimentosa del epitelio columnar son inflamación crónica y estimulación persistente. Muchas veces se asocian con metaplasia pavimentosa la seudoerosión acompañada de cervicitis crónica, el pólipo endocervical y la eversión del endocérvix. Por ejemplo, en la seudoerosión del cuello uterino* que se ve a menudo en mujeres en edad de procrear, después de la erosión verdadera ocurre *hiperplasia de células de reserva* y eventual estratificación y diferenciación a células pavimentosas maduras (etapa de metaplasia inmadura).

Después de la diferenciación a epitelio pavimentoso estratificado, una sola capa de células columnares, que muchas veces queda aplicada sobre la capa de células de reserva que han proliferado, se esfacela (etapa de metaplasia madura). La metaplasia afecta al epitelio de las glándulas endocervicales, así como al epitelio superficial (figs. 302, 303 y 306).

Citología. No existe ningún criterio definido para distinguir entre células metaplásicas maduras y células parabasales normales. Por lo general se exfolian en grupos celulares o en láminas planas a modo de un empedrado. Las células metaplásicas son poligonales, de citoplasma bastante abundante y bordes celulares indistintos y poliédricos o irregulares. Muchas veces la metaplasia pavimentosa se acompaña de cervicitis crónica, en cuyo caso el borde celular es más borroso y ocurre vacuolación vesicular o un halo perinuclear en el citoplasma.

La reacción tintorial del citoplasma, cianófila y pálida al comienzo de la etapa inmadura (figs. 301 y 304), tiende a ser intensa al producirse la maduración (figs. 305 a 308).

Los núcleos son ovoides, un tanto agrandados y más o menos hipercromáticos. La cromatina se halla distribuida con uniformidad, excepto por algunos cariosomas prominentes. Uno de los rasgos más importantes que diferencian a la metaplasia pavimentosa de la displasia es el contorno nuclear liso y delicado.

Alteraciones celulares inflamatorias

La inflamación puede desempeñar un papel causal en la exfoliación de diversas células anormales. La maduración

* En lo tocante a la reparación de las erosiones, se solía aceptar la teoría de R. Meyer. Primero el epitelio pavimentoso se erosiona y es sustituido por epitelio columnar (primera etapa de la curación). A medida que la inflamación cede, la invasión regenerativa del epitelio pavimentoso estratificado cubre toda la lesión como si se insinuase a lo largo de la membrana basal (segunda etapa de la curación). El epitelio columnar más superficial se esfacela y se completa la epidermización. Luego las glándulas cervicales se cubren de epitelio pavimentoso estratificado (tercera etapa de la curación).

Una explicación más probable que se acepta en la actualidad es que la metaplasia indirecta originada en células indiferentes (células de reserva) que están en la profundidad del epitelio columnar, desempeña el papel principal de convertirlo en epitelio pavimentoso estratificado.

insuficiente del epitelio pavimentoso estratificado en los períodos prepuberal y posmenopáusico o en la deficiencia de estrógenos, puede ser susceptible a la infección por diversas bacterias, como estreptococos, estafilococos, gonococos y *Neisseria catarrhalis*. La mucosa presenta un cuadro histológico edematoso y puede ocurrir erosión verdadera.

La inflamación productiva crónica, en que a veces ocurre proliferación de células epiteliales, es más importante que la

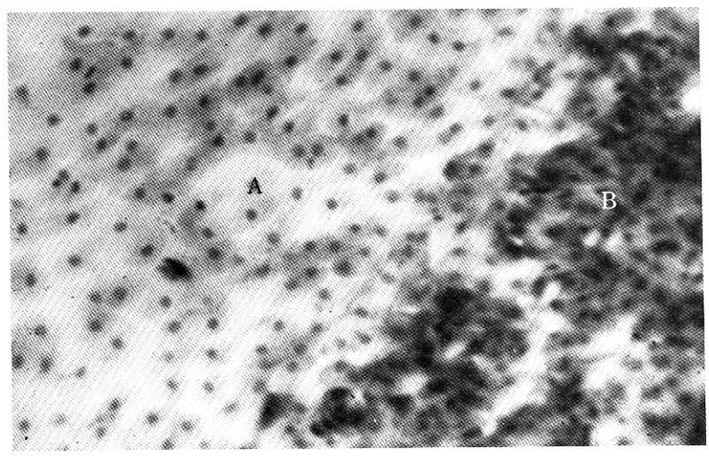


Fig. 297. Colpomicroscopia de la unión pavimentosocolumnar. Zona pavimentosa (*A*) y zona columnar (*B*). Como las células pavimentosas superficiales poseen un citoplasma escamoso ancho, la zona pavimentosa aparece con un punteado disperso de núcleos pequeños y redondos y se distingue de la zona columnar, que es aglomerada. La colpomicroscopia es una técnica valiosa para definir la distribución de la neoplasia intraepitelial *in vivo*. El cuello debe limpiarse con ácido acético al 2 % antes de hacer la observación. Con un hisopo de algodón se aplica azul de toluidina al 1 %.

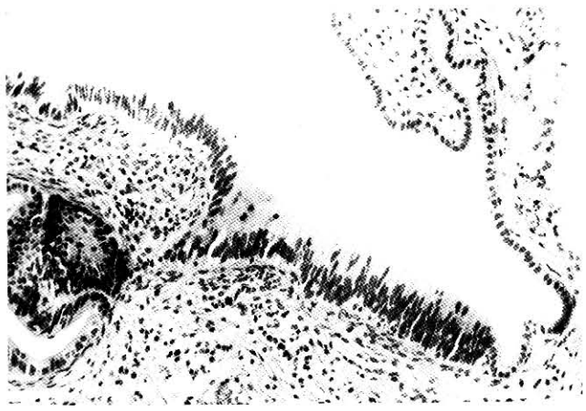


Fig. 298. Hiperplasia de células de reserva del cuello uterino. La mucosa endocervical aparece cubierta por estratos múltiples de células de reserva de núcleos fusiformes. Estos núcleos son de situación basal y conservan su polaridad.

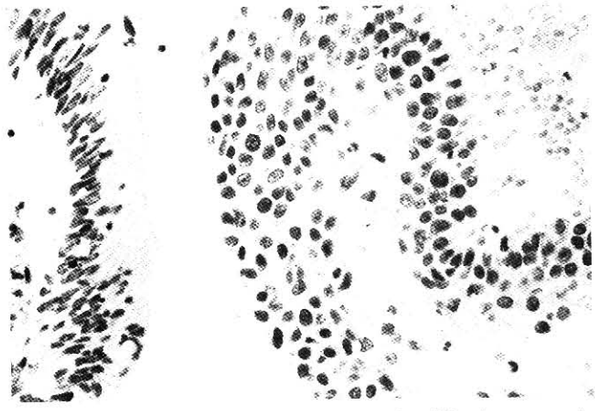


Fig. 299. Preparado histológico de la hiperplasia de células de reserva más ampliado. Tienden a aparecer franjas de células de reserva en láminas o aglomeraciones. Véase la citología exfoliativa (fig. 300), aunque al hacer el corte se acentúa la anisocitosis.

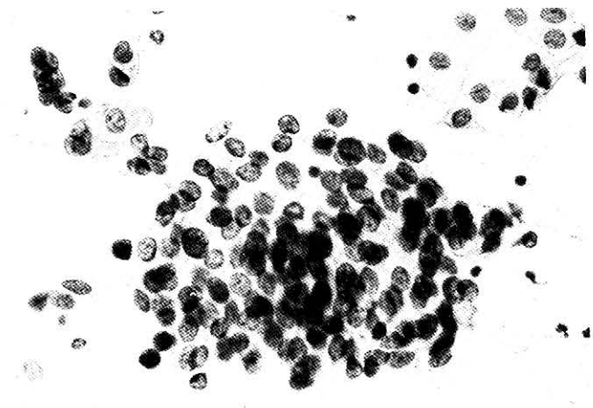


Fig. 300. Aglomeración de células de reserva en un extendido cervical de un caso con hiperplasia de las células de reserva. Estas células parecen ser denudadas por su escaso citoplasma. Puntos diferenciales respecto del carcinoma *in situ*: 1) tamaño y morfología uniformes de los núcleos, 2) partículas de cromatina hipercromáticas pero compactas y parejas, 3) no se ven nucléolos y 4) distribución regular de los núcleos, con conservación de la polaridad.

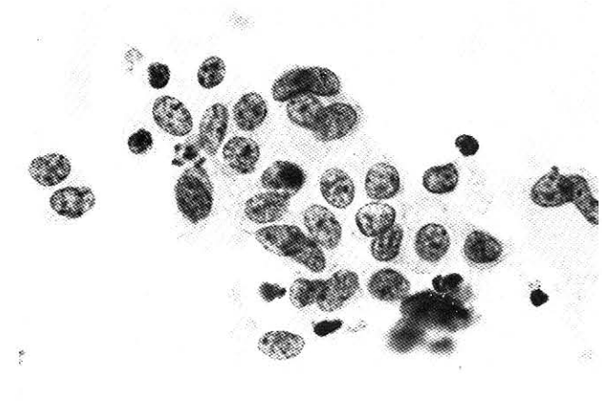
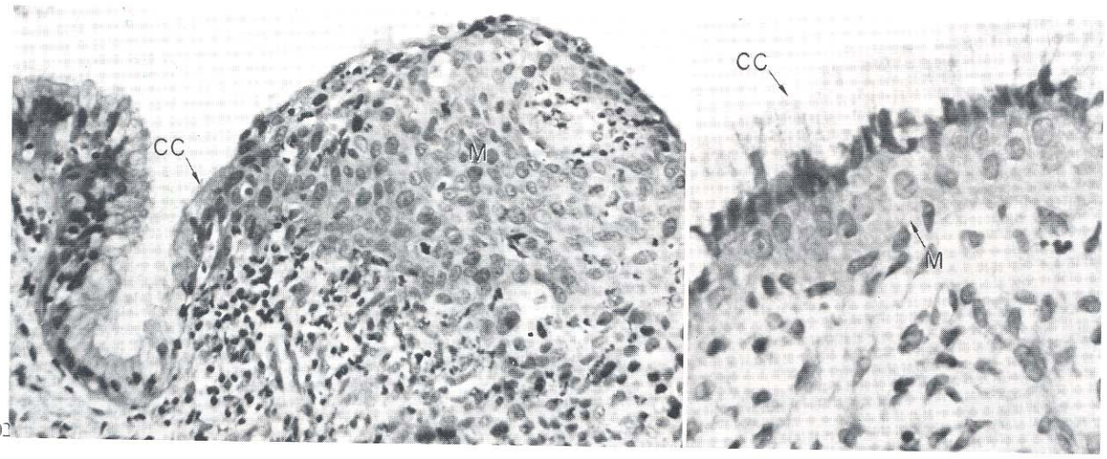


Fig. 301. Células metaplásicas pavimentosas inmaduras en un extendido cervical. Hay una aglomeración celular suelta en empedrado o tejado, surcada por hendiduras; esto se denomina epidermización.



302 303

Figs. 302 y 303. Metaplasia pavimentosa o epidermización del endocérvix junto al epitelio columnar.
Fig. 302. Las láminas sólidas de células epiteliales que exhiben diferenciación pavimentosa (*M*) provendrían de células de reserva indiferenciadas que están en la profundidad de las células columnares (*CC*).
Fig. 303. Al comienzo de la metaplasia pavimentosa se observa multiplicación de las células de reserva (*M*) en la base, de modo que levantan a las células columnares preexistentes (*CC*).

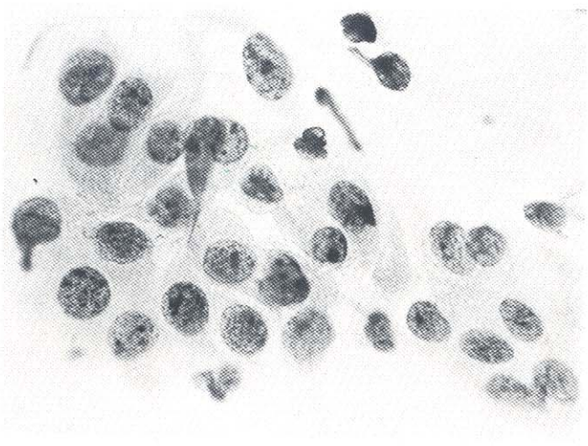


Fig. 304. Lámina de células metaplásicas pavimentosas inmaduras vista con mayor aumento. Los núcleos son grandes e hipercrómicos, pero la trama de cromatina es finamente granular y de distribución pareja. El citoplasma es indefinido a causa de la inmadurez.

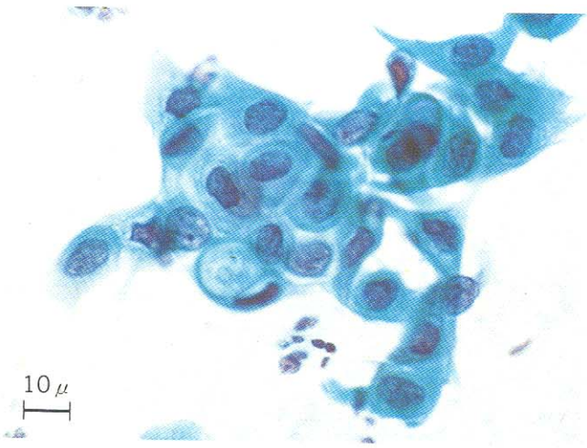


Fig. 305. Células metaplásicas pavimentosas maduras. Las células parabasales se hallan distribuidas en tejado y su abundante citoplasma indica metaplasia madura. Se disciernen puentes intercelulares. Véase la histología en la figura 306.

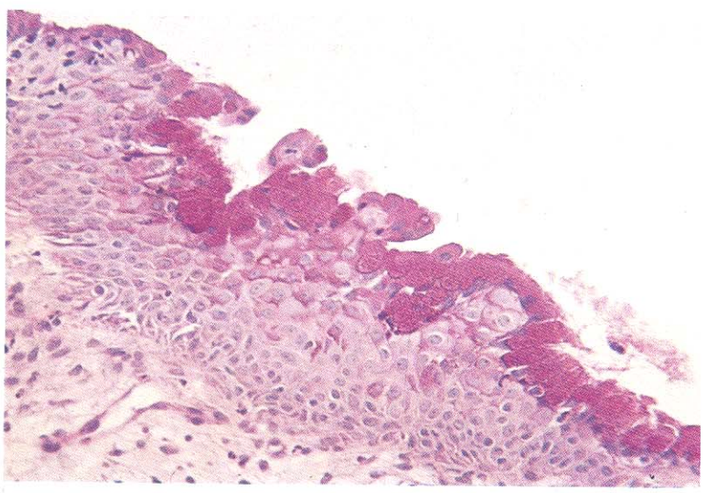


Fig. 306. Metaplasia pavimentosa madura con extrema diferenciación y estratificación bien desarrollada. El epitelio pavimentoso estratificado bien diferenciado aparece como si se insinuase debajo del epitelio columnar preexistente, que da reacción PAS positiva.

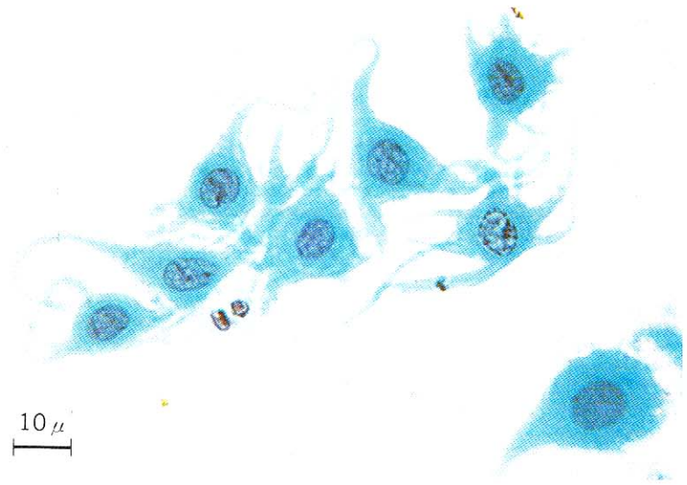


Fig. 307. Células metaplásicas pavimentosas maduras en un extendido cervical. Los núcleos son ovales, un poco grandes y de cromatinas algo ásperas. El citoplasma está engrosado, se tiñe bien y exhibe prolongaciones protoplasmáticas a modo de un pez estrella.

10 μ

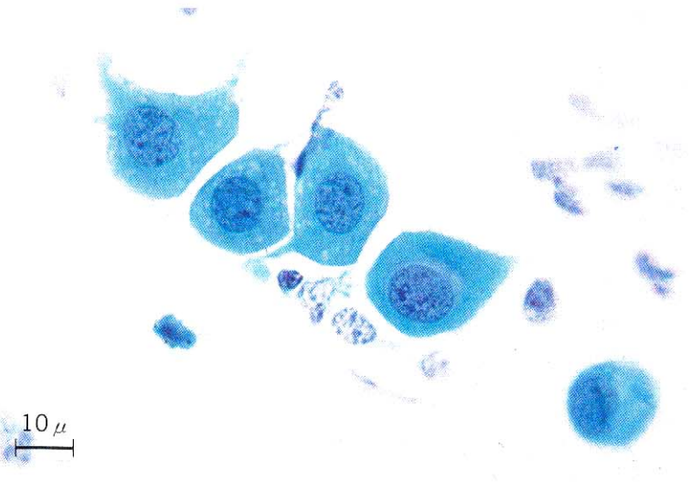


Fig. 308. Células metaplásicas pavimentosas maduras en un extendido cervical. El citoplasma es adecuado en cuanto a cantidad, opacidad y grosor. Puntos para el diagnóstico: 1) borde celular angulado o en cola, 2) citoplasma finamente vesicular, aunque de aspecto engrosado, y 3) distribución plana en empedrado.

10 μ

inflamación aguda desde el punto de vista del citodiagnóstico. Es muy probable que se deba a la complejidad de la alteración inflamatoria crónica, en la que intervienen factores que estimulan la proliferación epitelial, que producen desmoplasia y los de la resistencia del huésped.

Citología

1. Inflamación aguda y subaguda: El extendido es empastado por la preponderancia de leucocitos neutrófilos, células degeneradas o necrosadas, detritos celulares y microorganismos o protozoarios causales. En la etapa subaguda muchas veces se ven histiocitos de núcleos simples y a veces múltiples. Aunque suele haber células superficiales e intermedias, en la erosión verdadera es frecuente encontrar células parabasales. No se debe confundir la inflamación con los extendidos posmenopáusicos (Koss). Las alteraciones celulares fidedignas en la inflamación se caracterizan por citólisis, que se reconoce por vesiculación, vacuolización, migración leucocitaria dentro del citoplasma, y reacción tintorial eosinófila. También existen llamativas alteraciones nucleares, a menudo con picnosis y agrandamiento de los núcleos, que contienen una cromatina tenue y borrosa. En lo referente a la citólisis, recuérdese que también puede ocurrir citólisis bacteriana aunque no exista ninguna evidencia de inflamación. Un buen ejemplo es la glucólisis de las células bacterianas por los bacilos de Döderlein, que forman parte de la flora vaginal normal.

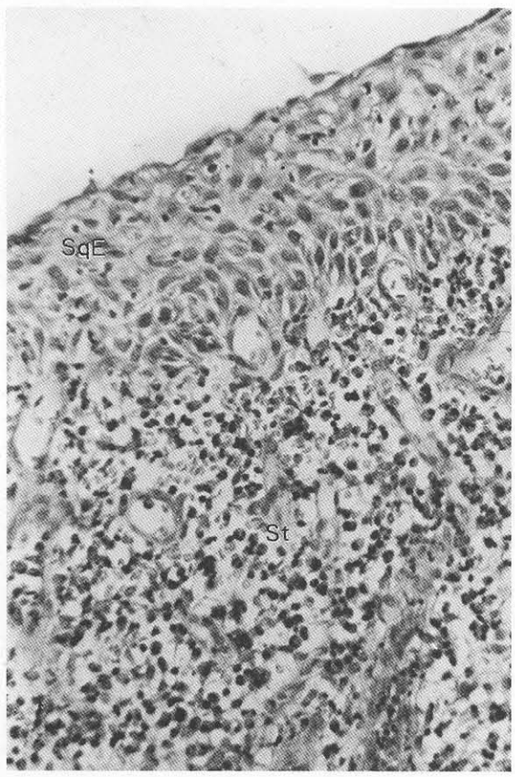
2. Inflamación crónica: La inflamación crónica no exhibe rasgos citológicos peculiares. Muchas veces se observan hipertrofia, hipercromatismo y cariosomas prominentes en los núcleos, con multinucleaciones ocasionales que pueden simular malignidad (figs. 313 a 316 y 318).

La benignidad de estos cambios se establece con facilidad porque la relación N/C está dentro de los límites benignos y porque la trama de cromatina es de distribución uniforme, a pesar de la prominencia de algunos cariosomas. Recuérdese que el acompañamiento más común de la inflamación crónica son las células metaplásicas.

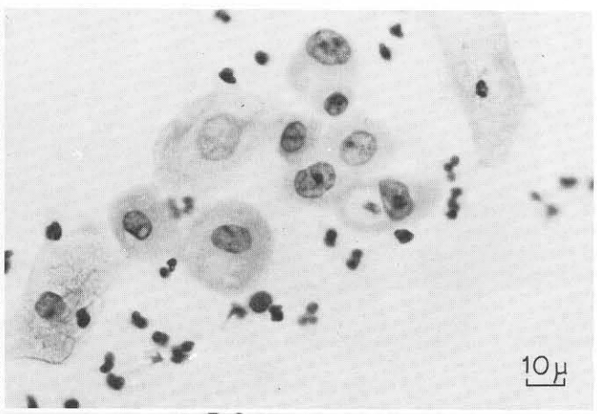
Carencia de ácido fólico con alteraciones que simulan displasia

Las anormalidades morfológicas celulares de la deficiencia de folato no sólo se confinan a células hematopoyéticas como glóbulos rojos macrocíticos e hipersegmentación de

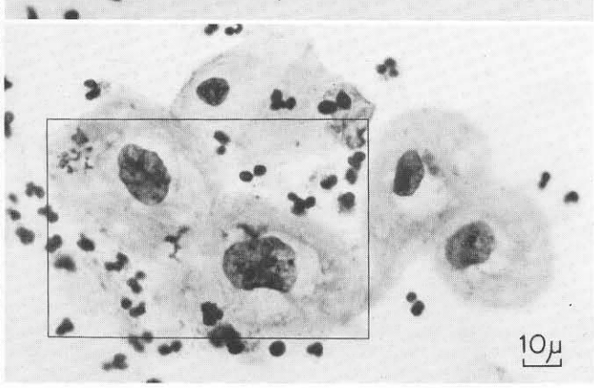
los neutrófilos, sino que también afectan a diversas células epiteliales. Las alteraciones epiteliales cervicales[75,76,198] se caracterizan por binucleación, aumento de la relación nuclear/citoplasmática y vacuolización del citoplasma. La carencia de vitamina B_{12} origina una citología similar. La carencia de folato atenta contra la síntesis de DNA y esto se refleja en el núcleo celular. En la serie eritrocitaria se observa una maduración asincrónica que se reconoce por el retardo de la síntesis de DNA nuclear y por la maduración normal del citoplasma. Las mujeres embarazadas que han dejado de



309



310



311

Fig. 309. Cervicitis severa asociada con tricomoniasis y respuesta epitelial hiperplásica inflamatoria. Nótese la llamativa infiltración de células inflamatorias en el epitelio pavimentoso estratificado de la mucosa (*SqE*) y en su estroma subyacente (*St*). El edema intraepitelial y la infiltración leucocitaria deforman la distribución de las células epiteliales.

Figs. 310 y 311. Discariosis como respuesta a la inflamación. No pocas veces los procesos inflamatorios crónicos y subagudos suscitan una respuesta reactiva hiperplásica como agrandamiento nuclear, hipercromatismo y prominencia de cariosomas. Nótese la vacuolización del citoplasma como consecuencia del edema intraepitelial.

Criterios generales para interpretar los cambios celulares inflamatorios: 1) Hipercromatismo de los núcleos, aunque en ocasiones de aspecto granular grueso, en gran medida por condensación de la cromatina. 2) Relación nuclear-citoplasmática no muy alterada. 3) Frecuente vacuolización citoplasmática y halos perinucleares (*recuadro*). 4) Infiltración fagocitaria de leucocitos polimorfonucleares frecuente dentro del citoplasma.

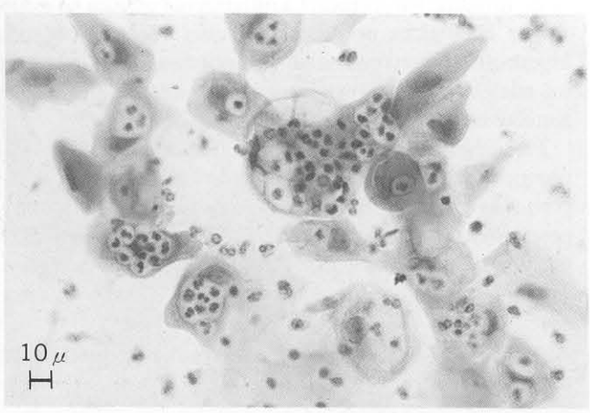


Fig. 312. Alteraciones citológicas inflamatorias de las células parabasales. La inflamación produce englobamiento de muchos leucocitos, vacuolización citoplasmática y reacción tintorial eosinófila (seudoeosinofilia).

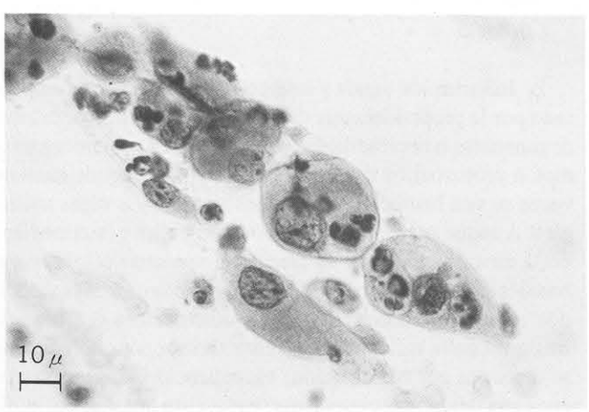


Fig. 313. Alteraciones citológicas inflamatorias de las células parabasales. Se observa infiltración leucocitaria intracelular y ligera hipertrofia nuclear.

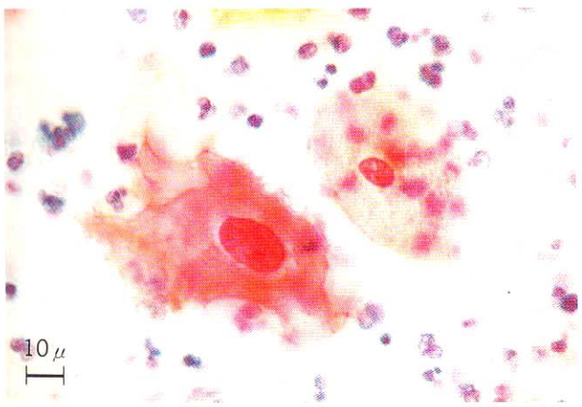


Fig. 314. Alteraciones citológicas inflamatorias en una célula intermedia. La intensa reacción tintorial eosinófila, la citólisis apolillada, el agrandamiento nuclear sin cromatina anormal y el halo perinuclear son rasgos característicos de inflamación.

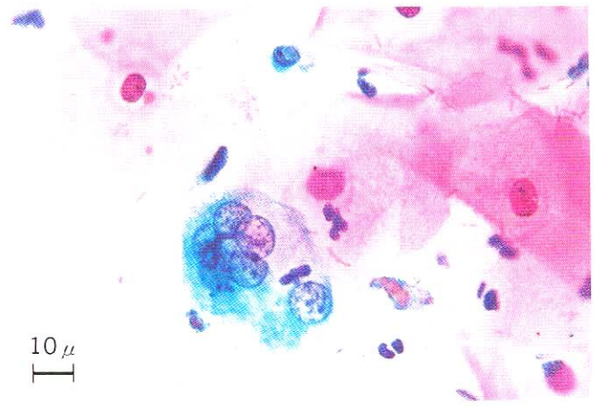


Fig. 315. Multinucleación de células epiteliales. Nótese la uniformidad de la morfología y tamaño de los núcleos. La cromatina es granular un tanto gruesa. Nótense las membranas nucleares lisas de los núcleos muy superpuestos.

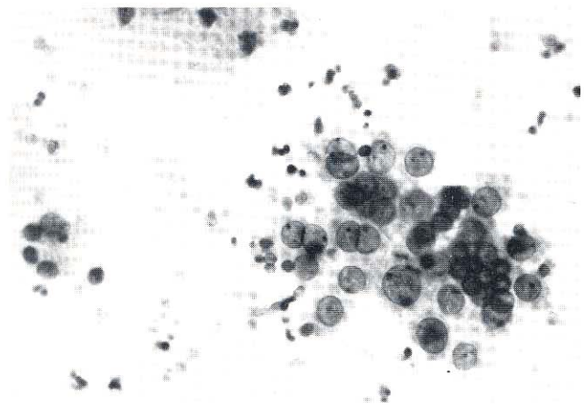


Fig. 316. Células endocervicales con multinucleación. Los núcleos son redondos y se delinean con nitidez. La multinucleación constituida por muchos núcleos pequeños ocurre como respuesta a la inflamación crónica. La ausencia de moldeamiento de los núcleos y/o del halo perinuclear difiere de la multinucleación en la infección herpética.

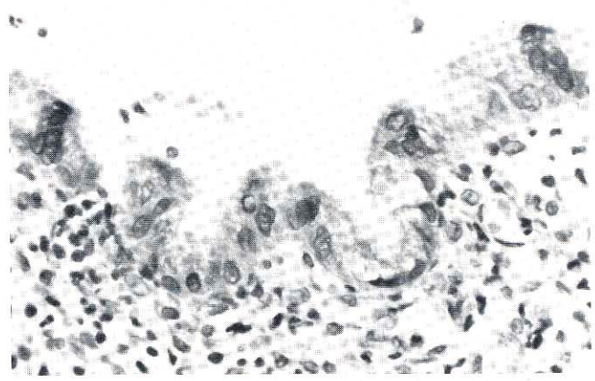


Fig. 317. Multinucleación del endocérvix asociada con cervicitis crónica. Nótense la aglomeración de núcleos ovales y la superposición del epitelio superficial de la mucosa. El estroma subepitelial se halla infiltrado por células inflamatorias y es rico en capilares sanguíneos.

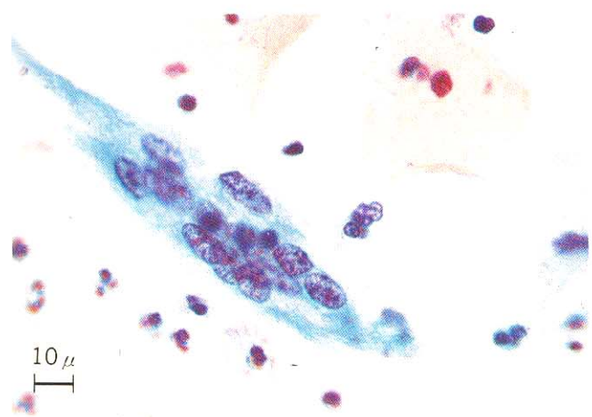


Fig. 318. Multinucleación de células epiteliales. Multinucleación con formación de un sincitio de citoplasma en el endocérvix, asociada con cervicitis crónica y reparación. Esto se diferencia de la multinucleación maligna en la uniformidad del tamaño nuclear y en el citoplasma ancho. El borde nuclear rígido se debe a la condensación de cromatina en la periferia por degeneración.

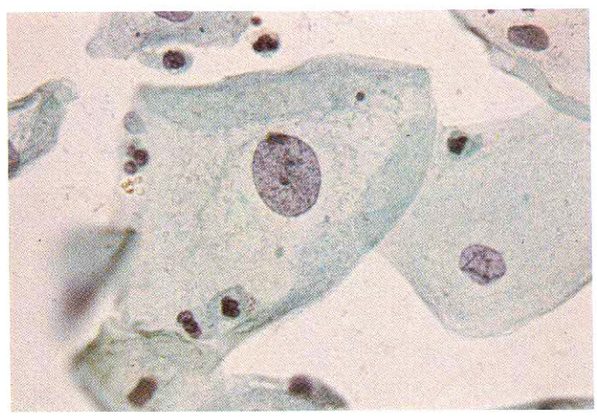


Fig. 319. Alteraciones de la citología vaginal por carencia de ácido fólico. Nótese el agrandamiento de los núcleos y de toda la célula, lo cual es uno de los rasgos más importantes en la carencia de ácido fólico. (Gentileza del Prof. van Niekerck, W. A., Universidad de Stellenbosch, Stellenbosch, Sudáfrica.)

tomar anticonceptivos orales combinados justo antes de embarazarse, corren riesgo de sufrir carencia de folato. Se informó que cerca de la quinta parte de las mujeres que tomaban anticonceptivos orales exhibieron alteraciones citológicas similares a las de la carencia de folato o de vitamina B_{12} por trastorno del metabolismo del folato, aunque cuantitativamente menos importantes. Se sabía que el grupo que tomaba anticonceptivos orales tuvo menor concentración sérica y eritrocitaria de folato y una mayor excreción urinaria de ácido formiminoglutámico que el grupo testigo normal.[174] Es llamativo que las anormalidades celulares respondan bien al tratamiento con folato.[209] Hay evidencias sugestivas de que la alteración displásica que tiene lugar en la paciente que ha estado tomando anticonceptivos orales mucho tiempo,[4,23] sería una reacción idéntica a la anemia megaloblástica o una complicación de la anemia megaloblástica.[180,188]

Flora vaginal. Renkonen y col.[161] publicaron sus estudios bacteriológicos sobre la secreción vaginal de 200 pacientes.

Cuadro 48. Microorganismos aislados en abundancia del tracto genital femenino

	Extendido vaginal		*Extendido cervical*	
Microorganismos	*N° 70*	*%*	*N° 70*	*%*
Bacterias acidorresistentes	54	77	43	61
(lactobacilos típicos)	(38)	(44)	(29)	(41)
Staphylococcus aureus	6	9	4	6
Especies de *Staphylococcus*	24	34	13	19
Estreptococos fecales	15	21	12	17
Estreptococos anaeróbicos	24	34	16	23
Otros estreptococos	6	9	6	9
Difteroides	33	49	29	41
Haemophilus vaginalis	11	16	11	16
Especies de *Bacteroides*	13	19	11	16
Coliformes	12	17	8	11
Especies de *Proteus*	2	3	1	1
Otras enterobacteriáceas	4	6	2	3
Candida albicans	4	6	3	4

Nota: Medios utilizados, 1) agar sangre de caballo al 5%, 2) agar de MacConkey con sales biliares, 3) agar de Sabouraud con glucosa y peptona, 4) agar sangre de neomicina al 0,0075%, 5) agar jugo de tomate (Oxoid). (Corbishley, C. M.: Clin. Path. *30*:745, 1977.)

Los resultados fueron tricomoniasis 18,5%, candidiasis 32,5%, infección por *Haemophilus vaginalis* 30,5% e infección por enterococos 52,5%. El *Haemophilus vaginalis* nunca es el único microorganismo que causa vaginitis, sino que se asocia con infección por cocos. Bibbo y col.[13] describieron una flora vaginal general estudiada en los extendidos de Papanicolaou de 14.212 mujeres: bacilos de Döderlein 18,3%, bacterias mixtas 36,1%, cocos o bacterias cocoides 11,1%, *Haemophilus vaginalis* 5,2%, *Leptothrix* 2,4%, *Trichomonas vaginalis* 16,7%, hongos 6,3% y ninguno 3,9%.

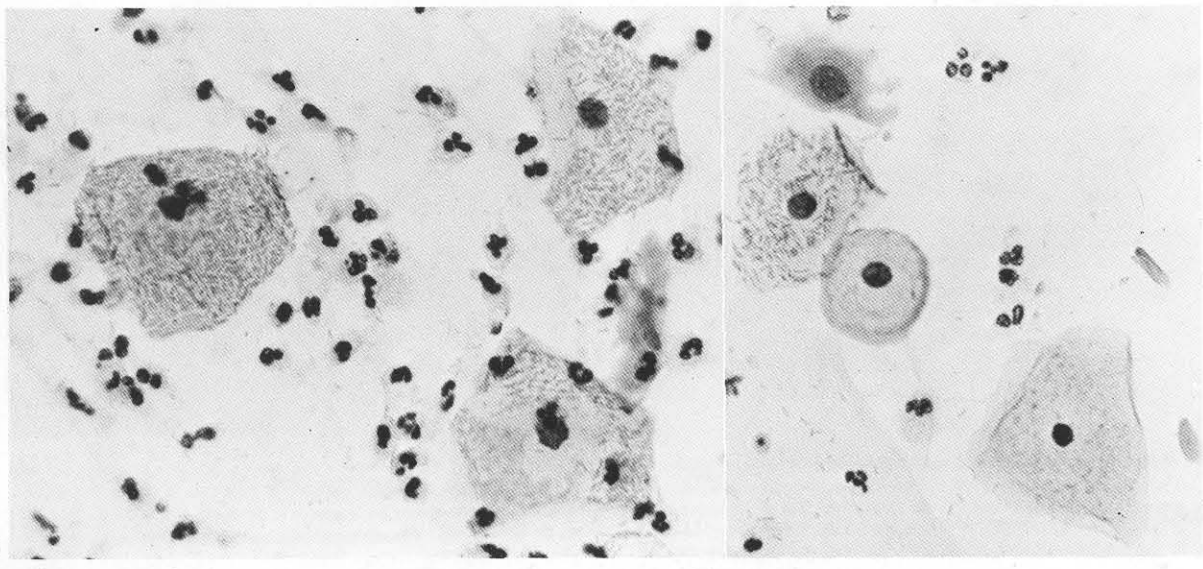
Téngase en cuenta que la sensibilidad para detectar infecciones microbiológicas no se puede evaluar de la misma manera con la tinción de Papanicolaou, porque la tricomoniasis se detecta igual que con una película mojada, pero a la candidiasis hay que estudiarla con una técnica de cultivo.[195]

La flora microbiana de la vagina y cuello uterino investigada con medios de cultivo[28] arrojó mayor diversidad de microorganismos y una incidencia más frecuente que la estudiada con extendidos (cuadro 48). No se describió ninguna variación perceptible en el cuadro de la flora microbiana de acuerdo con las distintas fases del ciclo sexual ni con el uso de anticonceptivos.[28]

Vaginitis por *Haemophilus*. La vaginitis por *Haemophilus* se caracteriza por la aparición de las llamadas células "delatoras", que están densamente aglomeradas y marginadas por unos pequeños bacilos gramnegativos; este rasgo característico fue denominado "granoso" por Bibbo.[13] El fondo de los extendidos vaginales también tiene valor diagnóstico porque 1) no hay lactobacilos, 2) los leucocitos son escasos y 3) es común encontrar una mezcla con pequeños bastones o cocos.

Infestación por *Leptothrix*. *Leptothrix* no es un habitante patognomónico y se lo identifica en el examen microscópico como unos bastones piliformes o filamentosos con ramificaciones ocasionales.

Recuérdese que las bacterias llamadas leptothrix comprenden lactobacilos y actinomicetos. Al lactobacilo no se lo puede diferenciar del bacilo de Döderlein en el extendido de Papanicolaou. De acuerdo con la comunicación de Bibbo,[12]



320 321

Figs. 320 y 321. Bacilos de Döderlein sobre células intermedias, en las que originan citólisis.

la frecuencia de actinomicetos fue 2,2% en pacientes de las Clínicas de la Universidad de Chicago y fueron frecuentes las asociaciones simbióticas con otros microorganismos: en el 74,9% de las pacientes los leptothrix se asociaron con infestación por tricomonas y bacilos de Döderlein, y en el 21,7% con infestación por tricomonas y bacterias cocoides.

Moniliasis. La vaginitis micótica suele deberse a *Candida albicans*. La candidiasis es una respuesta inflamatoria leve que se acompaña de un flujo vaginal líquido. *Candida albicans*, que pertenece a la flora bacteriana de la vagina, es condicionada por la depresión de la acidez normal, de modo que invade los tejidos a través del epitelio. La invasión se favorece en la diabetes sacarina, embarazo y administración de antibióticos de amplio espectro.[171] La morfología consiste en un seudomicelio con constricciones a las cuales están adheridos unos esporos levaduriformes. En la candidiasis las alteraciones de las células pavimentosas se caracterizan por una distribución en grumos radiales, citoplasma vacuolado, halos perinucleares y anormalidades nucleares, como contornos irregulares, hipercromasia y tumefacción. Estas alteraciones son más notorias cuando hay hifas y blastosporos (Heller y Hoyt).[59]

Aspergillus. Las especies de *Aspergillus* ocurren a menudo en los extendidos vaginales, pero se las considera un contaminante, lo mismo que *Alternaria* (fig. 325).[13]

Alternaria. *Alternaria* no es patognomónica, sino que muchas veces aparece como uno de los contaminantes de laboratorio. Los conidios pardos oscuros son muriformes y presentan unas paredes cruzadas trasversas y longitudinales.

Tricomoniasis. Las tricomonas son un microorganismos relativamente grande que mide 10 a 30 μ de longitud y tiene un citoplasma piriforme. Posee cuatro flagelos anteriores, un flagelo posterior y una membrana ondulante. El citoplasma es grisáceo o verde grisáceo tenue, y contiene un núcleo excéntrico oval, junto con gránulos eosinófilos.

Como causa de alteraciones celulares inflamatorias, la mayoría de las veces la tricomoniasis se acompaña de atipia celular por inflamación. *Trichomonas vaginalis* es un protozoario flagelado que tiende a proliferar al deprimirse la acidez normal de la vagina. Es la causa más común de leucorrea en mujeres en edad de procrear. La incidencia de infecciones está entre el 13 y el 50%;[15,19,77] en las mujeres de 30 a 35 años la incidencia general de tricomoniasis es de un 13%.[114] La mucosa congestionada presenta unas lesiones

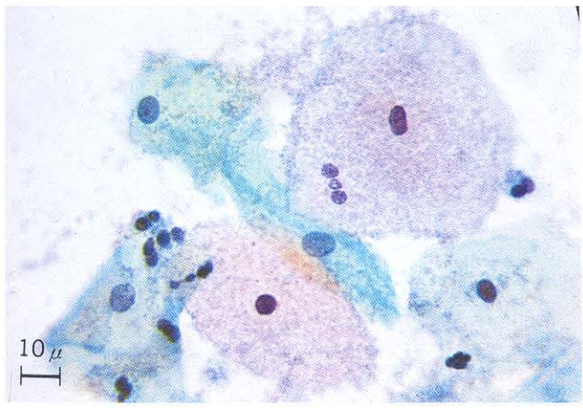


Fig. 322. ***Haemophilus vaginalis*** **en un extendido cervical.** Los cocobacilos en bastones oscurecen las células epiteliales pavimentosas. La presencia de estas células "delatoras" de aspecto granulado y la ausencia de lactobacilos en el fondo hacen el diagnóstico de vaginitis por *Haemophilus*.

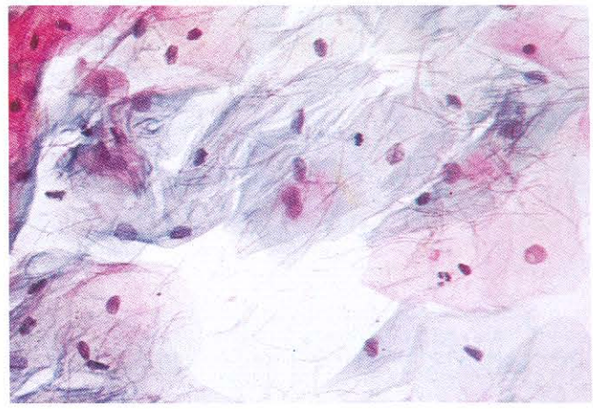


Fig. 323. ***Leptothrix vaginalis*** **en un extendido vaginal.** Estos microorganismos son elementos gris-rosados, poco tingibles y filamentosos o piliformes.

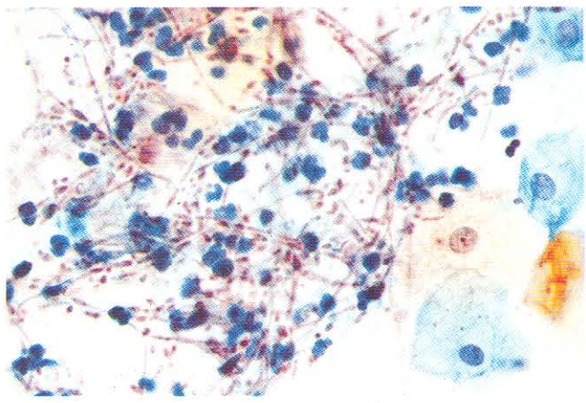


Fig. 324. Candidiasis en un extendido cervical. Se ven filamentos tabicados (hifas) y conidios un tanto eosinófilos.

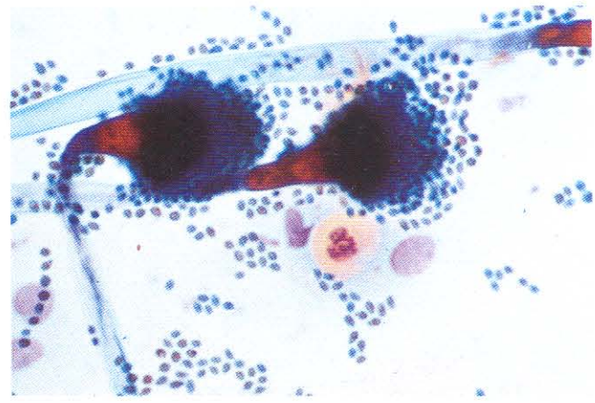


Fig. 325. ***Aspergillus*** **como contaminante de un extendido vaginal.** Este microorganismo no es patognomónico.

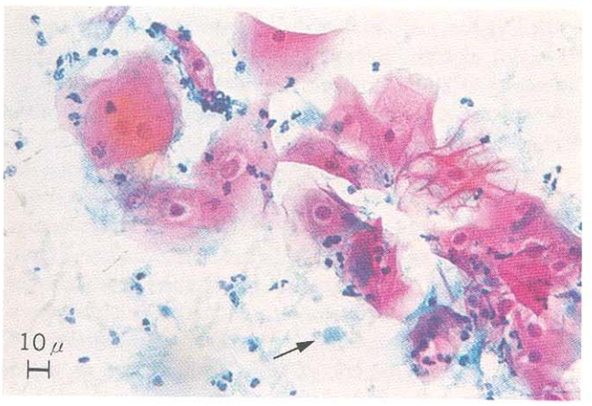


Fig. 326. Alteración celular inflamatoria asociada con infestación por tricomonas. Intensa eosinofilia del citoplasma, aspecto apolillado de los bordes celulares por la citólisis y halos perinucleares. Se ven unas tricomonas verde-grisáceas (*flechas*).

hiperémicas punteadas visibles a simple vista y pueden ocurrir erosiones superficiales en los casos severos. El epitelio pavimentoso de la lesión revela engrosamiento edematoso, pronunciada citólisis y atipia nuclear variada. En la etapa de infección florida predomina la inflamación inespecífica, mientras que en la infección latente la hiperplasia epitelial atípica origina alteraciones grotescas de los núcleos.

Citología. La citología de la infestación tricomoniásica es una forma extrema de alteración inflamatoria. Los núcleos presentan diversas alteraciones mixtas de hiperplasia y degeneración, como una hipertrofia grotesca asociada con hipercromatismo, picnosis y desintegración. A raíz de la citólisis, el borde del citoplasma es borroso y tiene un aspecto apolillado. La reacción tintorial del citoplasma es muy acidófila.

Infección por herpesvirus. El herpes genital se debe la mayoría de las veces al virus tipo II del grupo poxvirus y se adquiere mediante contacto sexual, pero a veces ocurre por el herpesvirus tipo I, que afecta a la membrana mucosa de la

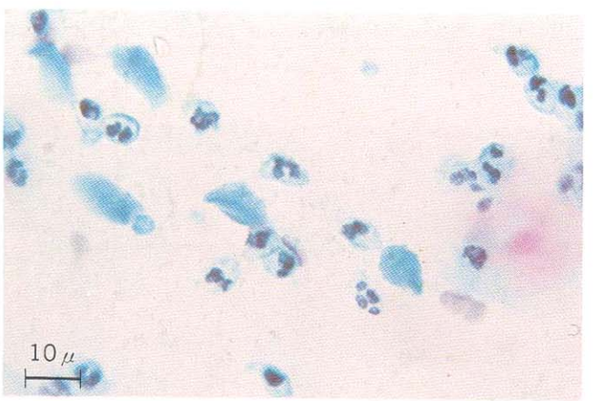


Fig. 327. Tricomonas verde-grisáceas en un extendido vaginal. El citoplasma es nuboso y mal definido. Se reconoce un pequeño núcleo pero en el extendido coloreado con Papanicolaou no se ven flagelos.

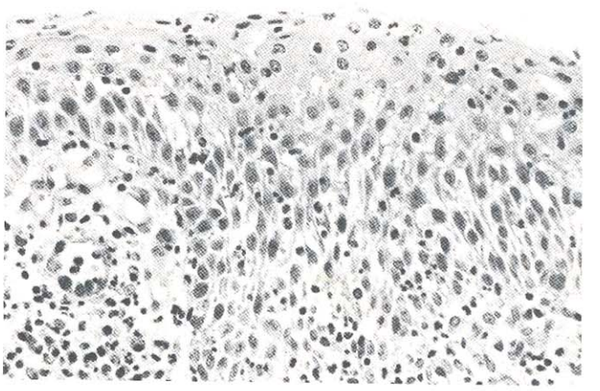
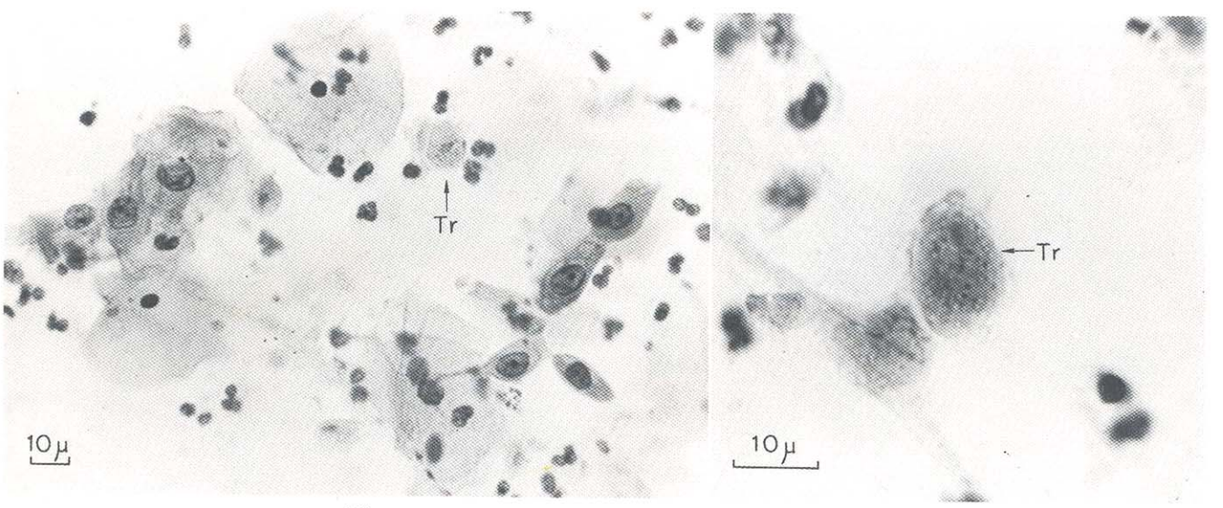


Fig. 328. Cervicitis tricomoniásica con infiltración por células inflamatorias en el epitelio mucoso y su estroma. La desintegración citoplasmática que se observa en la citología obedece al considerable edema intercelular.



329 330

Figs. 329 y 330. *Trichomonas vaginalis* identificadas en extendidos vaginales. Son unos elementos borrosos de color verde-grisáceo, de forma ovoide o de pera (*Tr*).

orofaringe.[116] La incidencia de infecciones del tracto genital femenino por herpesvirus tipo II es relativamente baja, pues está entre 0,6 y 4,3 por 1000. Los estudios comparativos de Jordan y col.[72,118,218] en infecciones herpéticas detectadas mediante citología en distintos grupos étnicos, arrojó una frecuencia similar en los indios norteamericanos y los caucásicos, es decir, 0,9 y 0,6 por 1000, respectivamente, pero, en cambio, se halló una tasa mucho mayor (10,9 casos por 1000) entre los negros, aunque la cantidad fue estadísticamente pequeña.[5,115,158] Varias comunicaciones recientes mencionan tasas positivas más altas de anticuerpos para el herpesvirus II en pacientes con carcinoma cervical, en comparación con las mujeres testigos del mismo grupo socieconómico.[73,118,141,158,159,226] La relación entre infección por herpesvirus y carcinoma cervical también es sugestiva desde el punto de vista epidemiológico, porque la diferencia estadística de la edad afectada entre la infección primaria por herpesvirus (10 a 30 años) y el carcinoma cervical (30 a 50 años) sindicaría como factor cancerígeno a la infección viral. Tras un período de incubación de 2 a 7 días se forman unas vesículas herpéticas que se ulceran en la superficie, la mayoría de las veces en los genitales externos y no en el cuello uterino. Es frecuente que las lesiones, que causan una sintomatología mínima, pasen inadvertidas a pesar de que suelen tomar los genitales externos. Los estudios citológicos e inmunoserológicos son importantes para descartar sífilis y enfermedades granulomatosas.

Citología. Los núcleos de las células afectadas son grandes y multinucleados; cada núcleo marginado que está frente a otro se llama núcleo moldeado. El núcleo se margina por condensación de la cromatina en la envoltura nuclear. La trama de cromatina se pierde y se caracteriza por un aspecto empastado en vidrio esmerilado grisáceo. Un rasgo importante para hacer el diagnóstico es el cuerpo de inclusión intranuclear eosinófilo o cianófilo rodeado por un halo. El citoplasma toma mucho el verde claro y su borde es borroso.



Fig. 331. Infección por herpes simple. La célula afectada se caracteriza por: 1) multinucleación por moldeamiento, 2) pérdida de la granularidad de la cromatina, con aspecto de vidrio esmerilado, 3) marginación y 4) engrosamiento del citoplasma.

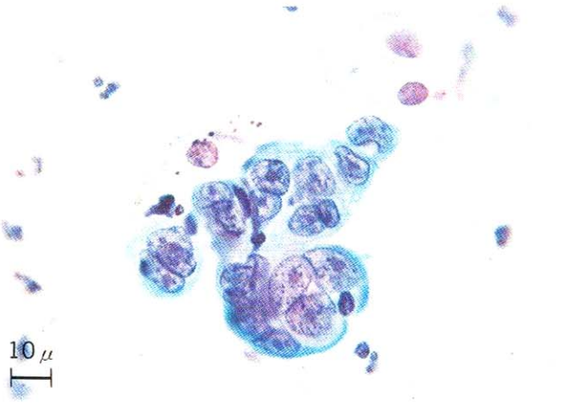
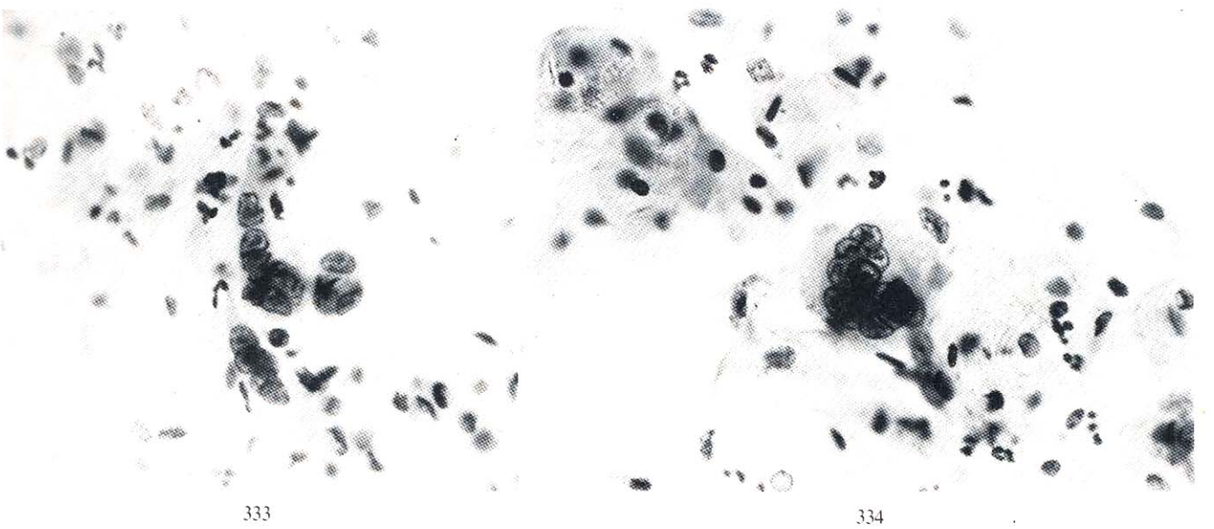


Fig. 332. Infección por herpes simple. Además de la multinucleación con moldeamiento, se observan cuerpos de inclusión acidófilos solitarios dentro de los núcleos. La inclusión intranuclear no se debe confundir con el nucléolo.



333 334

Figs. 333 y 334. Multinucleación característica por infección herpética. Puntos de importancia para hacer el diagnóstico: 1) moldeamiento de los núcleos, que son de forma irregular, y 2) cuerpos de inclusión semejantes a nucléolos en el centro de los núcleos.

cuerpos calcificados el adenocarcinoma papilífero de endometrio (fig. 97a).[36, 44, 58] Los cuerpos psamomatosos que han pasado por la trompa de Falopio se presentan en un fondo bastante limpio. Las células que los acompañan orientan sobre si hay malignidad o benignidad (véase fig. 431); los cuerpos psamomatosos ocurren en raros casos de salpingitis crónica o en usuarias de dispositivos anticonceptivos intrauterinos.

11. Lesiones fronterizas y cambios afines

Las anormalidades histológicas o la atipia, que se solían denominar lesiones fronterizas o precancerosas, se observan a menudo en el epitelio adyacente del carcinoma *in situ*[97, 160] y del carcinoma microinvasor. A este estado se le asignaron diversos nombres (cuadro 49), pero el término "displasia" (Palmer y de Brux), que significa anormalidad del desarrollo, ha hallado aceptación universal para designar la histología de las lesiones fronterizas o precancerosas del cuello uterino (en Viena, 1961).

Clasificación de la displasia

En lo referente a la subclasificación morfológica de la displasia o estado preinvasivo, la mayoría de los histopatólogos o citopatólogos han empleado la clasificación de acuerdo con la etapa de desarrollo o gravedad. Patten propuso una singular subclasificación citomorfológica que comprende el concepto de la morfogénesis o neoplasia intraepitelial,[136] como displasia queratinizante, no queratinizante y metaplásica (fig. 342). La displasia queratinizante ocurre en el sitio

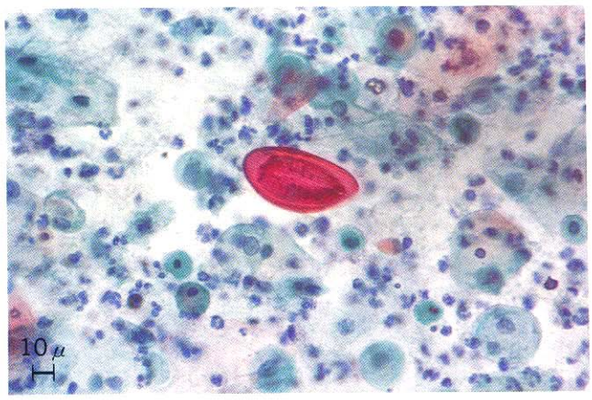


Fig. 337. Huevo de *Enterobius vermicularis* en un extendido vaginal. Un huevo embrionado que contiene la larva plegada es plano en el lado ventral y convexo en el otro. Mide unos 50 a 60 μ por 20 a 30 μ.

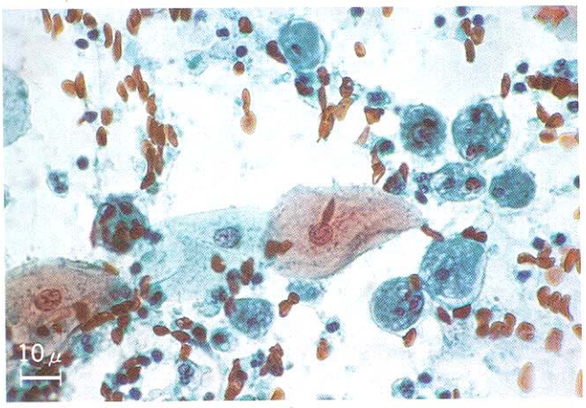


Fig. 338. Amibiasis vaginal en un extendido cervicovaginal. Esta *Entamoeba histolytica* se parece a un histiocito, pero se distingue por su núcleo pequeño y excéntrico. (Gentileza del doctor Vieira e Silva, C. R., São Paulo, Brasil.)



Fig. 339. Polen semejante a un huevo en un extendido vaginal. El polen se caracteriza por su pared muy refringente y por una estructura interna distinta de la del miracidio.



Fig. 340. Polvo de almidón proveniente del guante utilizado para examinar la pelvis.



Fig. 341. Espermatozoides en un extendido vaginal. Todos tienen su cola larga y una cabeza piriforme.

ectocervical, junto con hiperqueratosis y paraqueratosis como consecuencia de la prosoplasia con atipia. Las displasias metaplásica y no queratinizante se atribuyen a la reacción displásica en el sitio endocervical, a continuación o durante el proceso de metaplasia pavimentosa inmadura y madura, respectivamente (fig. 344). Este autor considera probable que antes de la displasia queratinizante ocurra una hiperplasia atípica de células espinosas de la mucosa ectocervical (fig. 344); la hiperplasia de células espinosas es compatible con acantosis asociada con hipertrofia nuclear y se caracteriza por engrosamiento de la capa de células espinosas, cualquiera que sea la atipia nuclear. En cuanto a la morfogénesis de la displasia metaplásica y no queratinizante del concepto de Patten, parece que pertenecen a la misma entidad patológica pero estarían en diferente etapa de desarrollo; la displasia metaplásica también puede progresar a la displasia no queratinizante como así también a un estado avanzado de metaplasia pavimentosa atípica en la zona transicional del endocérvix.

Atipia coilocitósica

La atipia coilocitósica (AC) fue definida por Koss como una atipia fronteriza que presenta anormalidades nucleares asociadas con una curiosa vacuolización perinuclear del citoplasma.[85] Como la AC abarca todo un espectro de alteraciones del epitelio pavimentoso, desde el condiloma sin atipia nuclear hasta la displasia con considerable atipia nuclear, los casos de AC se agrupan en tres grados, según la atipia nuclear. Komorowski y Clowry[79] estudiaron 858 biopsias cervicales en 217 casos de AC y hallaron que el grado CA I es mucho más frecuente (17 %) que el CA II (6,2 %) y que el CA III (2,1 %). Hallazgo digno de mención en la AC es la presencia de atipia nuclear (discariosis) en los dos tercios superficiales del epitelio estratificado, porque esta alteración no se ve en los estratos parabasal profundo y basal. La formación ocasional de vesículas[79] y el reconocimiento de partículas virales[62, 90] sugieren relación causal con una infección virósica.

Cuadro 49. Terminología del epitelio patológico del cuello uterino, desde grado leve hasta severo

Wespi	Epitelio atípico simple	Epitelio irregular (inquieto)	Carcinoma superficial
Galvin y Telinde	Hiperplasia basocelular (etapa I)	Hiperplasia basocelular (etapas II y III)	Cáncer *in situ*
Glatthaar y Müller	Epitelio anormal	Hiperplasia atípica - Epitelio atípico	Carcinoma superficial
Reagan y col.	Ligera hiperplasia atípica	Hiperplasia atípica (moderada y pronunciada)	Carcinoma *in situ*
Palmer y de Brux	Displasia regular	Displasia irregular	Carcinoma intraepitelial
Borst	Epitelio atípico	Epitelio muy atípico	
Held	Epitelio anormal	Epitelio irregular (inquieto)	Epitelio pavimentoso atípico no invasor
Fluhmann	Displasia (etapa I)	Displasia (etapas II y III)	Carcinoma *in situ*
Nieburgs	Displasia benigna	Displasia atípica	Carcinoma incipiente
Friedell y col.	Hiperplasia espinocelular	Anaplasia (leve y pronunciada)	Carcinoma epidermoide *in situ*
Acuerdo Internacional sobre Terminología Histológica para Lesiones de Cuello Uterino (Viena, 1961)	Displasia de grado bajo	Displasia de grado alto	Carcinoma *in situ*
	Neoplasia intraepitelial cervical		
Richart	(CIN grado I)	(CIN grados II y III)	(CIN grado IV)
Patten	Displasia leve; metaplásica no queratinizante queratinizante	Displasia moderada y pronunciada; metaplásica no queratinizante queratinizante	Carcinoma *in situ*; células pequeñas intermedio células grandes
Koss	Lesión fronteriza incipiente	Lesión fronteriza avanzada	Carcinoma *in situ*; anaplásico de células pequeñas queratinizante moderadamente bien diferenciado

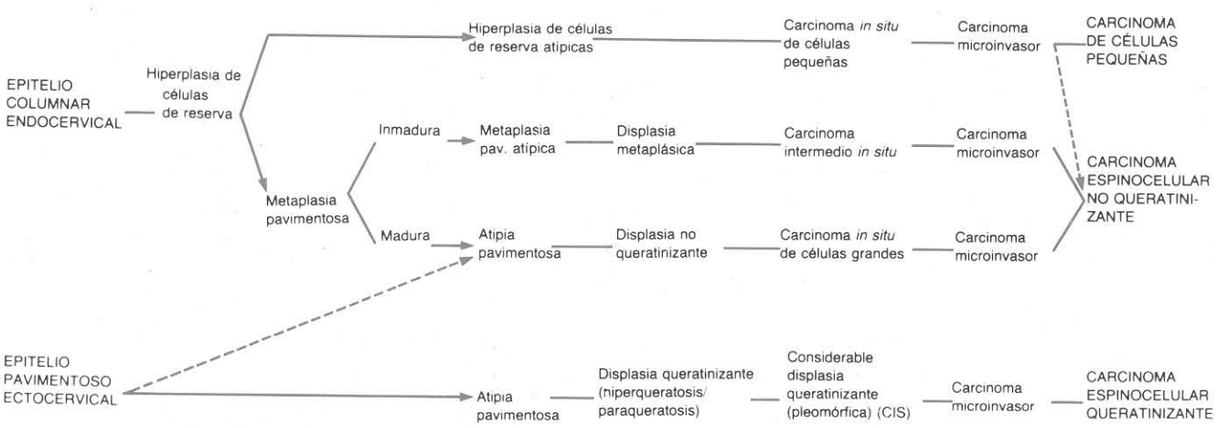


Fig. 342. Morfogénesis del carcinoma del cuello uterino. (Patten, S. F. [h.]: Diagnostic Cytopatology of the Uterine Cervix. Monographs in Clinical Cytology, Vol. 3, 2ª edición revisada. Basilea, S. Karger, 1978.)

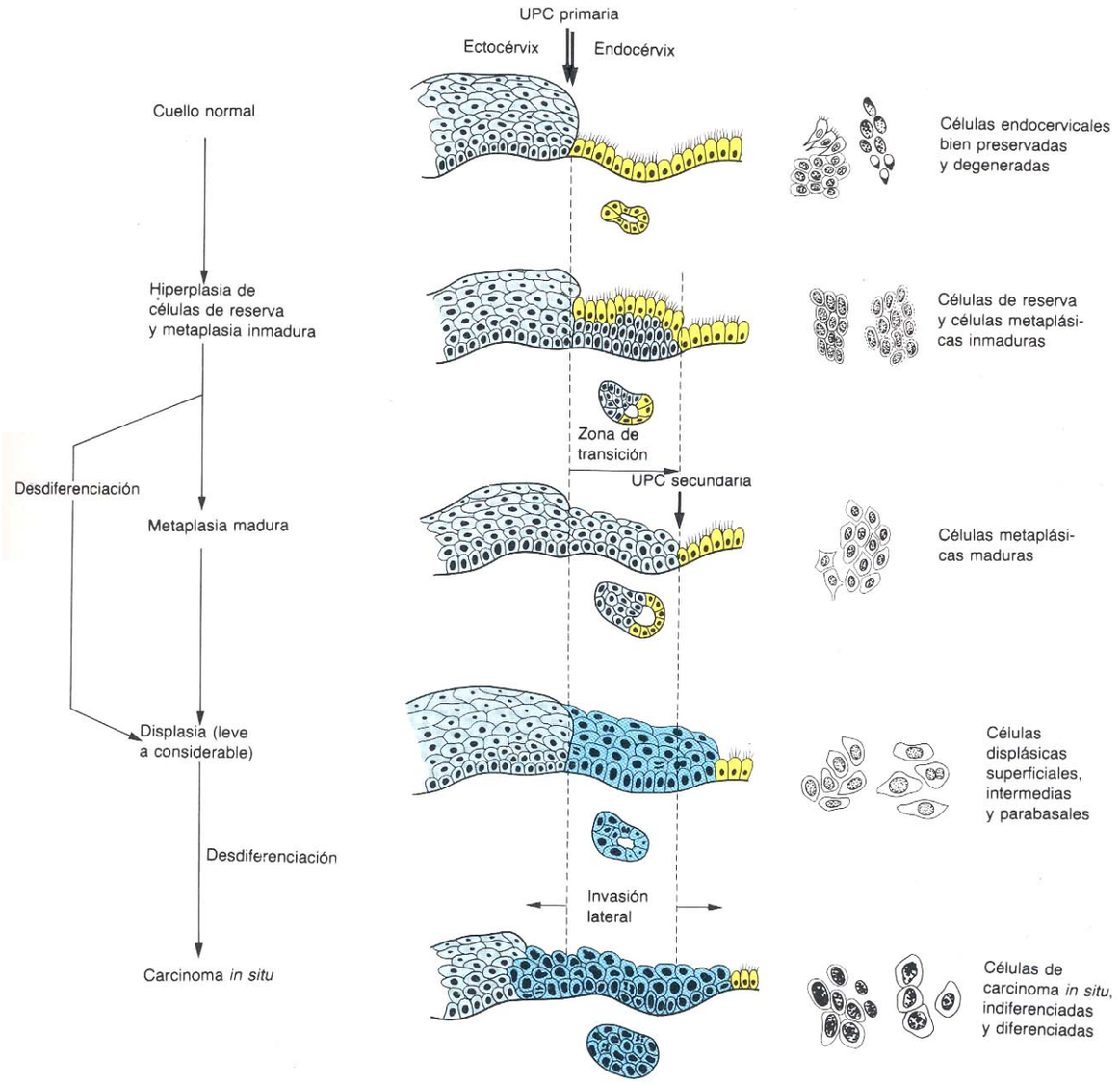


Fig. 343. Morfogénesis del carcinoma del cuello uterino.

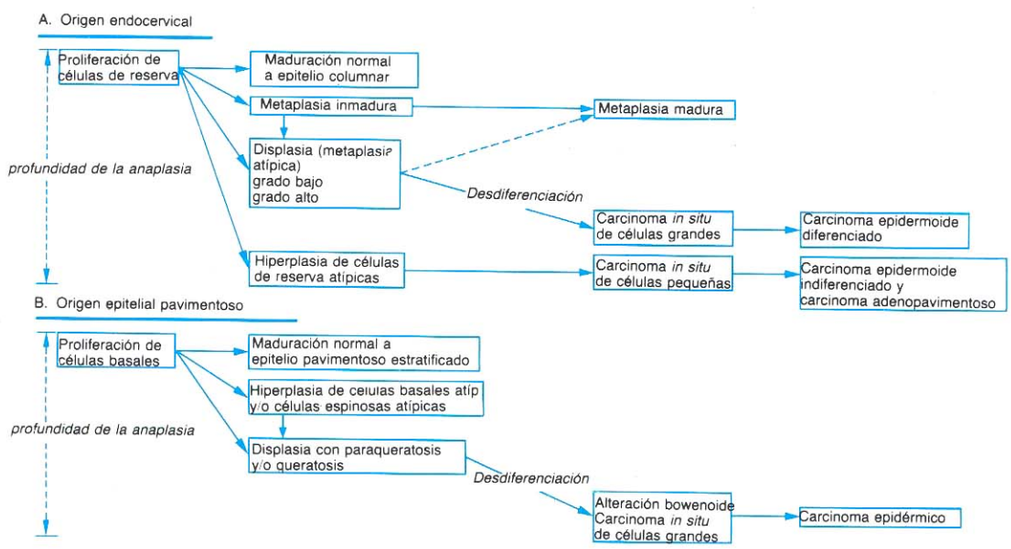


Fig. 344. Esquema hipotético de la morfogénesis del carcinoma del cuello uterino.

Cuadro 50. Histología y citología de las lesiones fronterizas y carcinoma

Clasificación	*Histología*	*Citología*
Displasia leve	Ligera hiperplasia de células basales Interrupción parcial de la estratificación Leve perturbación de la maduración celular Estado aglucógeno Mitosis ocasionales en la capa profunda	Células disqueratósicas leves y maduras Pequeña cantidad de células discarióticas Predominio de células superficiales discarióticas (bajo índice discariótico) Cromatina X preservada normalmente
Displasia severa	Hiperplasia de células basales Estratificación irregular y distorsión de la polaridad Gran perturbación de la maduración celular Mitosis confinadas a dos tercios del epitelio	Células muy discarióticas e inmaduras Gran cantidad de células discarióticas Predominio de células parabasales discarióticas (alto índice discariótico) Menor incidencia de cromatina X
Carcinoma *in situ* A. Indiferenciado, células pequeñas	Reemplazo total del epitelio por células cancerosas pequeñas Pérdida de polaridad y estratificación Mitosis frecuentes y anormales en más de dos tercios del epitelio Ausencia de invasión del estroma	Predominio de células malignas de tipo basal y parabasal con escaso citoplasma, aisladas o en aglomeraciones sueltas Cuadro monótono de células malignas sin diátesis tumoral Menor incidencia de cromatina X y aparición de cromatinas X dobles.
Carcinoma *in situ* B. Diferenciado, células grandes	Reemplazo total del epitelio por células cancerosas grandes Pérdida de polaridad y estratificación Ligera tendencia a la diferenciación en la superficie Mitosis frecuentes y anormales en más de un tercio del epitelio Ausencia de invasión estromal	Predominio de células malignas de tipo parabasal y cantidad pequeña a moderada de citoplasma A veces, células malignas disqueratósicas pequeñas Cuadro un tanto polimorfo de células malignas, se acompañe o no de células displásicas Ausencia de diátesis tumoral Menor incidencia de cromatina X y aparición de cromatinas X dobles
Carcinoma invasor	Nidos sólidos fusocelulares consistentes en células cancerosas semejantes a las células más superficiales de la mucosa El tipo de células transicionales se caracteriza por nidos indefinidos consistentes en células cancerosas indiferenciadas semejantes a células basales Tipo celular espinoso que es una variedad de célula indiferenciada sin formación de perlas	Aspecto general del carcinoma invasor: 1) sanguinolento y empastado por presencia de células necróticas (diátesis tumoral), 2) exfoliación de células cancerosas individuales (a menudo degeneradas) o en una lámina grande (como fragmento de tejido) Predominan las células malignas fusiformes indiferenciadas, solas o en grandes aglomeraciones Células malignas de los tipos tercero e intermedio sin queratinización. Células malignas variables, tipos tercero, intermedio, en víbora, en fibra y en renacuajo como diferenciadas, y a veces células malignas indiferenciadas

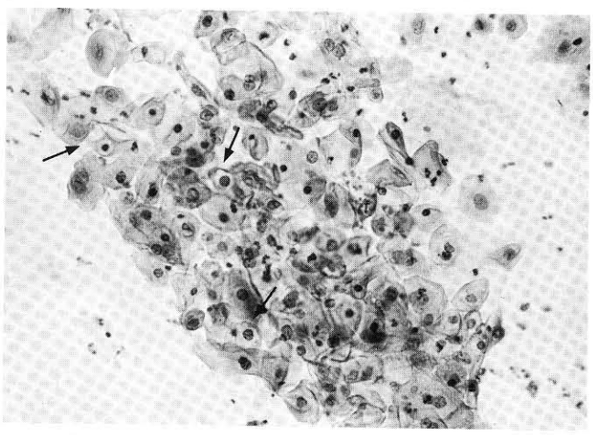


Fig. 345. Hiperplasia de células espinosas del ectocérvix. El hacinamiento de células maduras intermedias o parabasales externas de núcleos grandes y a veces binucleadas se conoce como hiperplasia de células espinosas. La presencia de halos perinucleares se debe a hiperplasia coilocítica (*flechas*) (× 66).

Displasia leve

El cuadro histológico de la displasia leve se caracteriza por atipia nuclear en las células espinosas maduras y no en las basales profundas, estado aglucógeno, maduración desordenada e interrupción parcial de la estratificación por neoformaciones celulares anormales. Aunque puede haber cierta proliferación de células basales, están dispuestas con regularidad y conservan su polaridad. La membrana basal y la polaridad epitelial se mantienen intactas. La tinción con PAS es la técnica más sencilla y segura para reconocer el grado de maduración epitelial. A medida que la maduración progresa con anormalidad, la tingibilidad para el PAS aumenta hacia el epitelio superficial.[65, 122] El material tingible con PAS puede desaparecer en la displasia y en el carcinoma *in situ* (fig. 351).

Citología: Aspecto general del extendido. La displasia leve se caracteriza por predominio de células discarióticas superficiales e intermedias y por un fondo claro sin restos

necróticos, aunque puede coexistir con eritrocitos y neutrófilos. El índice discariótico –relación entre células discarióticas inmaduras y maduras– es bajo. En la displasia leve la exfoliación de células discarióticas es menos pronunciada que en la displasia severa y en el carcinoma *in situ*. Cuando las células discarióticas se desprenden en aglomeraciones mediante raspaje, la distribución de los núcleos se presenta en láminas regulares.

Rasgo celular. Los núcleos exhiben un agrandamiento moderado, aunque el citoplasma es maduro y está bien preservado. Son redondos u ovoides. El borde nuclear es delicado y liso, pero en la displasia son notables las arrugas fisuradas que se ven en las células intermedias normales. La cromatina está un poco aumentada, pero su distribución es finamente granular y de tinción pareja. Se ven varios cariosomas, pero el aspecto en vidrio esmerilado es un rasgo característico de la trama de cromatina. Los nucléolos no son prominentes. Los cuerpos X a lo largo de la membrana

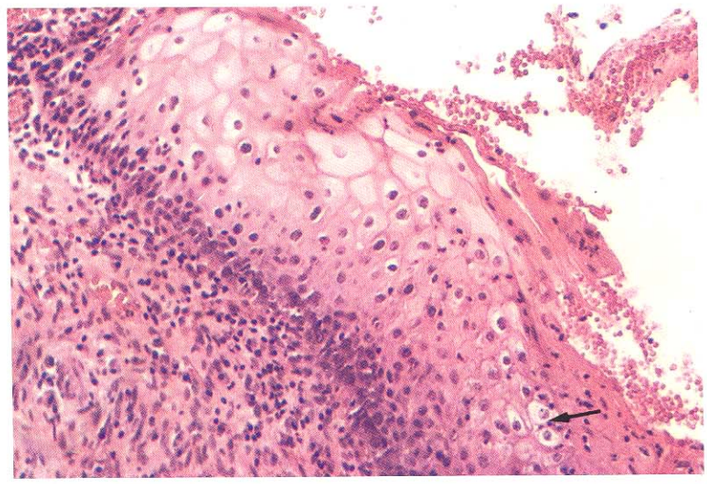


Fig. 346. Histología de la atipia coilocítica leve que exhibe vacuolización perinuclear. Como señala la flecha, esto ocurre en la mitad superior del epitelio displásico.

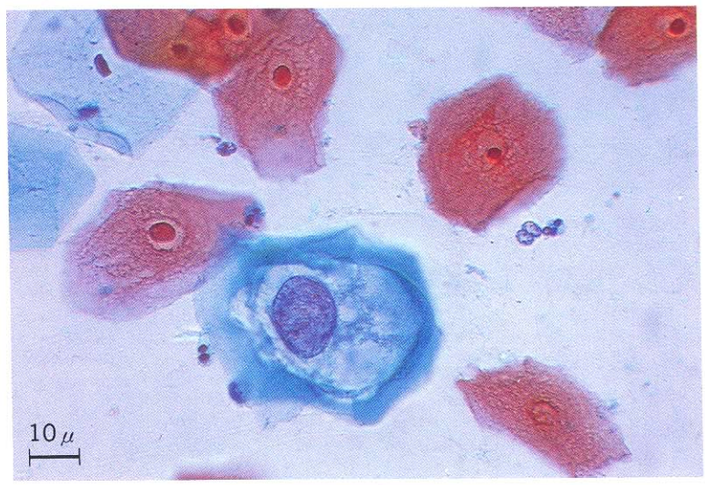


Fig. 347. Leve atipia coilocítica del cuello uterino. Nótese la zona clara en torno del núcleo agrandado de una célula intermedia. En el citoplasma aparecen algunos precipitados. Extendido coloreado con Papanicolaou observado bajo microscopia de interferencia diferencial.



Fig. 348. Células intermedias discarióticas con coilocitosis. La asociación de hipertrofia nuclear con vacuolización perinuclear es compatible con atipia coilocitósica. En la displasia es frecuente encontrar núcleos dobles.

nuclear se hallan preservados con normalidad; en la displasia leve, la incidencia de cuerpos X es más o menos la misma que en las células epiteliales normales.

Displasia moderada

La displasia moderada es un tipo intermedio de displasia que se sitúa arbitrariamente entre las formas leve y severa, y está representada por una población de células discarióticas con una atipia de severidad intermedia.

Displasia severa

Las alteraciones histológicas representativas son 1) hiperplasia basocelular con distorsión de la distribución celular (distorsión de la polaridad), 2) anormalidad de la maduración del epitelio con distorsión de la estratificación, 3) presencia de figuras mitóticas, por lo general en la mitad inferior del epitelio, 4) aumento del grado de discariosis y 5) menor incidencia de cromatinas X. El hacinamiento de células epiteliales es considerable en el estrato de células basales, así como en la capa profunda de células espinosas, y estas células están dispuestas de manera irregular y apiladas. En consecuencia, existe una importante desviación de la polaridad. A raíz de la anormalidad de la maduración celular, se observa mucha variación en el tamaño y forma de los núcleos. Las mitosis no son infrecuentes, pero se confinan al estrato profundo de células espinosas, y no llegan por encima de los dos tercios inferiores del epitelio. Las figuras mitóticas son de forma regular; en el preparado histológico se discernen metafases regulares y anafases simétricas.

Citología. Predominan las células discarióticas de tipo

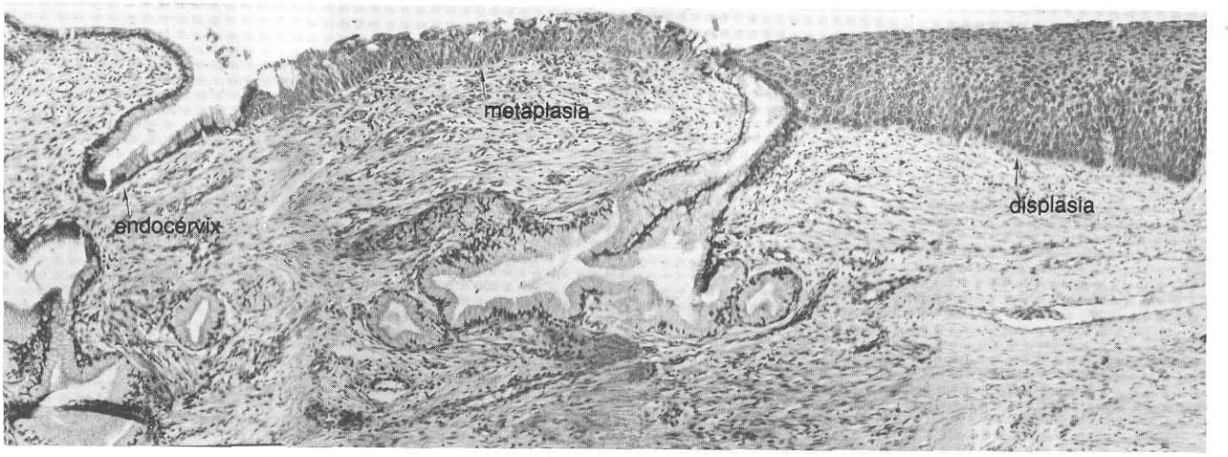


Fig. 349. Desarrollo de metaplasia pavimentosa y displasia en la zona de transición del endocérvix. Se sabe que el cambio metaplásico se inicia con una proliferación de las células de reserva, que aparece en el centro. Todavía queda un solo estrato de células columnares aplicado sobre el epitelio metaplásico. Junto a la metaplasia se está instalando una displasia moderada, que se caracteriza por falta de glucógeno, estratificación distorsionada y proliferación de células parabasales hipercromáticas. La distribución de estas células displásicas es bastante regular. Se conserva la diferenciación en la superficie. Véase el diagrama de la unión pavimentosocolumnar en la figura 296.

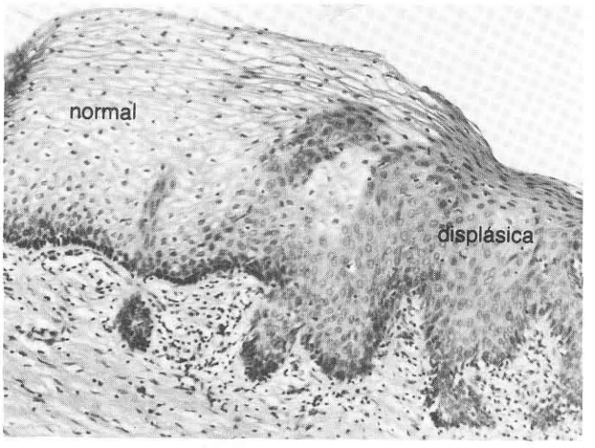


Fig. 350. Displasia leve con proliferación de células epiteliales profundas de núcleos fusiformes u ovales. La zona displásica en el estado aglucogénico se tiñe de oscuro y está repleta de células hipercromáticas. Nótese la tendencia del epitelio de la zona displásica a crecer hacia la profundidad en el momento en que empieza a formarse un sobrecrecimiento voluminoso.

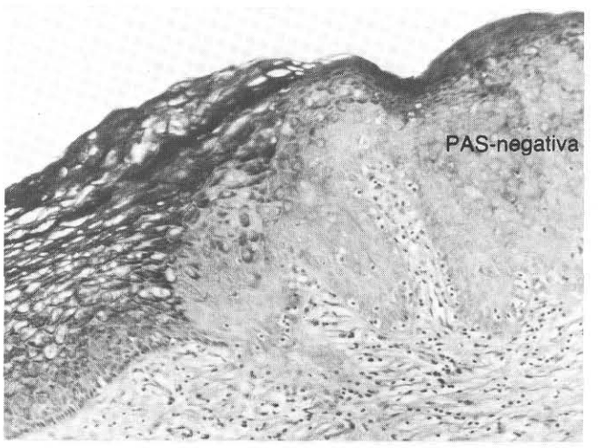


Fig. 351. Estado aglucogénico en la displasia. Este estado se halla representado por la pérdida de tingibilidad con PAS. La zona displásica PAS negativa concuerda con el área teñida de oscuro con hematoxilina y eosina en la figura 350.

parabasal, además de las células discarióticas superficiales e intermedias. La discariosis con relación N/C aumentada, hipercromía y trama de cromatina anormal, es mucho más severa y más inmadura que en la displasia leve; en consecuencia, el índice discariótico es alto.

Addendum: Distinción entre displasia severa y carcinoma in situ (véanse también figs. 385 a 389). Las células discarióticas superficiales e intermedias son fáciles de identificar. Es importante distinguir entre células discarióticas parabasales y células cancerosas de tipo parabasal (tercer tipo de

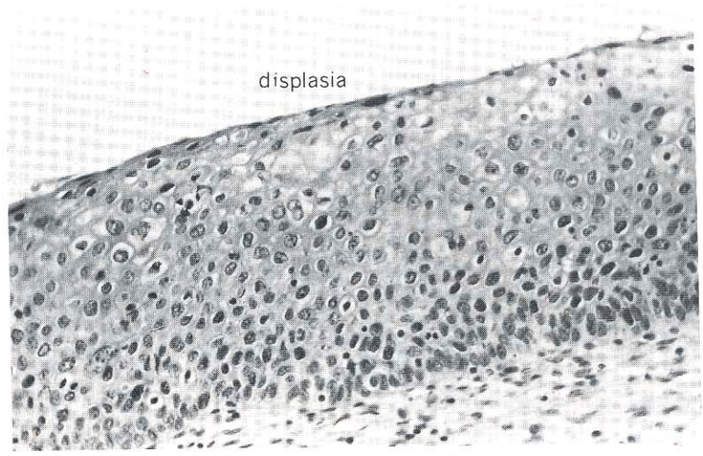
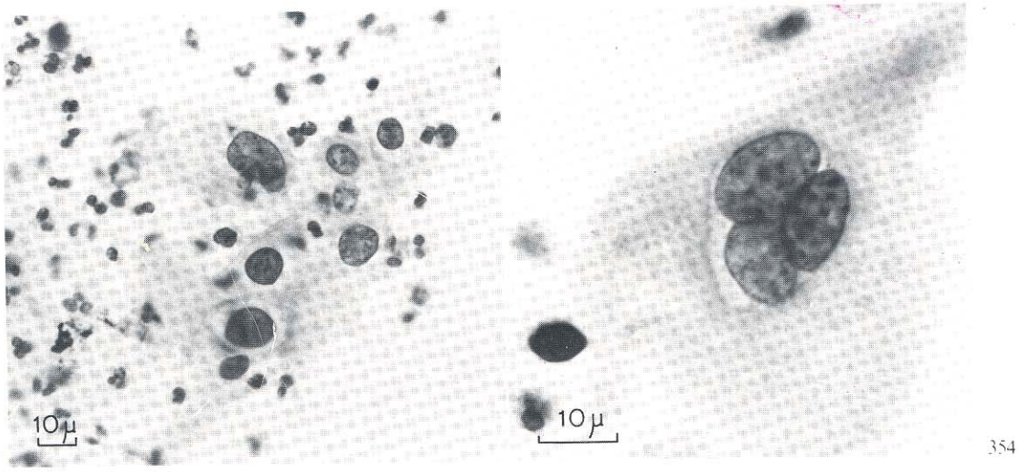


Fig. 352. Displasia moderada del cuello uterino. Están distorsionadas la estratificación y la polaridad de las células epiteliales. El tamaño y la forma de los núcleos son variables. La diferenciación superficial y la polaridad celular remanente en la capa basal confirmarían la benignidad de esta alteración epitelial.



353 354

Figs. 353 y 354. Células parabasales e intermedias discarióticas. Los núcleos son grandes, de tamaño variable y un tanto indentados. Como el citoplasma es bastante abundante, la relación nuclear-citoplasmática no está muy alterada. Hay grupos de cromatina que se distinguen como cariosomas; el fondo muestra un aspecto en "vidrio esmerilado" con distribución homogénea de la cromatina. En ocasiones se ve multiplicación de los núcleos en las lesiones displásicas.

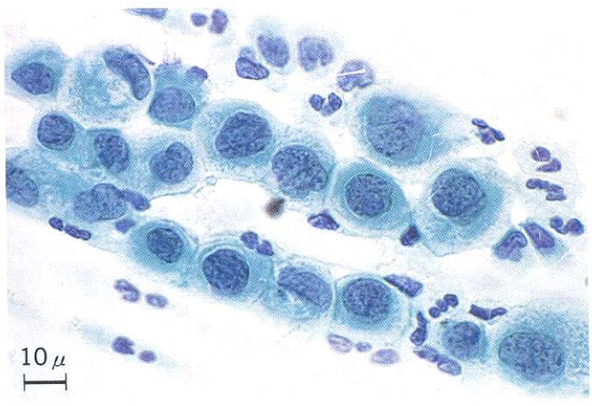


Fig. 355. Células parabasales discarióticas inmaduras. Los núcleos son grandes e hipercromáticos, pero su trama de cromatina es suave. En la displasia son frecuentes las indentaciones de la membrana nuclear, a modo de circunvoluciones. El citoplasma es inmaduro y poco tingible. Éste es un caso de displasia metaplásica.

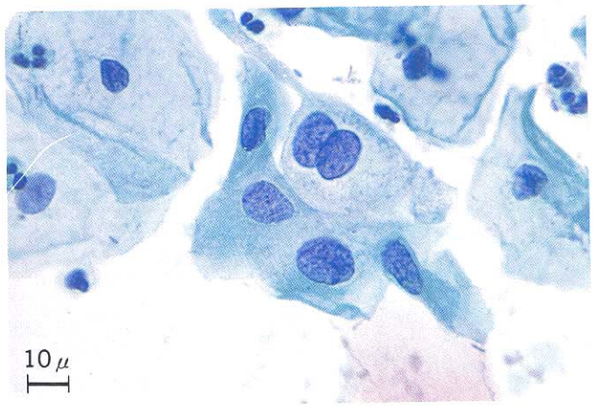
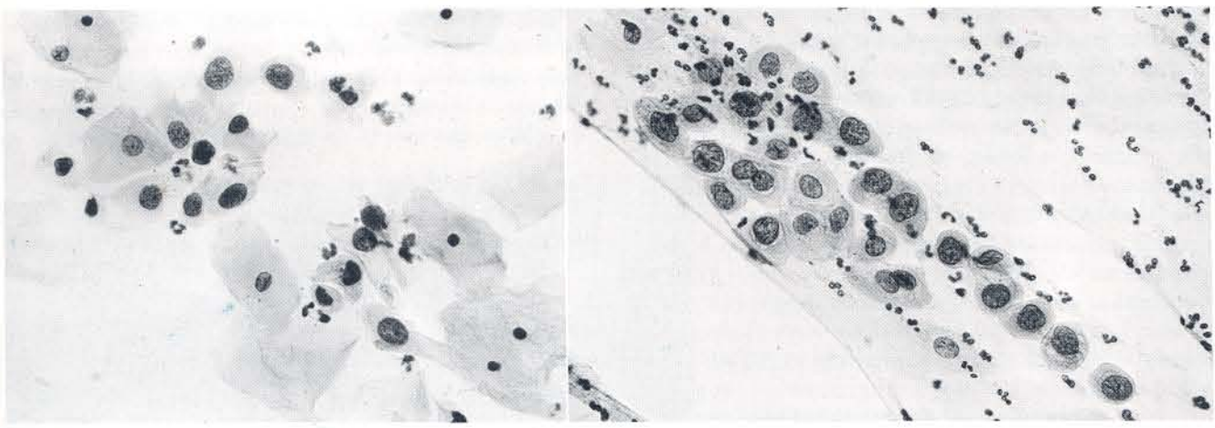


Fig. 356. Discariosis moderada de células intermedias originada en moderada displasia. Nótese la moderada atipia nuclear, desproporcionada respecto del citoplasma adecuado de las otras células normales. Las cromatinas están aumentadas, pero son finas y de distribución pareja. Caso de displasia no queratinizante.



Figs. 357 y 358. Discariosis leve a moderada originada en una displasia leve. Los núcleos son desproporcionadamente grandes e hipercromáticos para ser células parabasales, pero estos cambios se ven en forma pareja. La cromatina está constituida por unas partículas finas y compactas, aunque en cantidad aumentada. El rasgo metaplásico del citoplasma (fig. 357) y la uniformidad de la discariosis parabasal (fig. 358) indican displasia metaplásica.

Graham[50]) para trazar la diferencia entre displasia severa y carcinoma *in situ*.

1. El citoplasma de las células discarióticas está bien preservado y su cantidad es más variable que en las células del cáncer *in situ*.
2. Las cromatinas nucleares de las células discarióticas se hallan distribuidas con uniformidad y son densamente homogéneas, con excepción de los cromocentros; ésta es la trama de cromatina en vidrio esmerilado. En cambio, en las células del cáncer *in situ* existen espacios intercromatínicos claros, o sea zonas claras de paracromatina desprovistas de heterocromatinas.
3. En las células con discariosis severa, muchas veces los bordes nucleares son rígidos y exhiben unas arrugas fisuradas o circunvoluciones a modo de nueces. Las células del cáncer *in situ* tienen unos bordes nucleares con contornos bastante lisos.
4. En ocasiones se ve en la displasia multinucleación doble o triple.
5. La pérdida de la cromatina X y/o la aparición de dobles cromatinas X es más frecuente en el carcinoma *in situ* que en la displasia.

Displasia metaplásica

Aunque en la nomenclatura publicada por la OMS no se utilizan los términos displasia metaplásica, displasia no queratinizante ni displasia queratinizante sobre la base de la diferenciación del citoplasma (Patten), estos términos son excelentes para entender la morfogénesis de un amplio espectro de displasias. La displasia no queratinizante es el tipo ordinario más frecuente. La displasia metaplásica se define como un trastorno celular metaplásico en que pueden aparecer ciertas anormalidades nucleares en la zona transicional del endocérvix uterino.

Los constituyentes celulares principales son unas células discarióticas redondas, aisladas o en láminas, cuyas cromatinas se hallan distribuidas con uniformidad y son finamente granulares (fig. 358).

Displasia queratinizante

La displasia queratinizante es una variedad de displasia que exhibe paraqueratosis y/o hiperqueratosis y ocurre en el ectocérvix.[232] Esta displasia difiere de la originada en la zona transicional del endocérvix porque la metaplasia pavimentosa se asocia con grados viables de anormalidades nucleares. La exfoliación de las células discarióticas superficiales queratinizantes se presta a equivocaciones en el diagnóstico de carcinoma *in situ* de tipo diferenciado o de carcinoma epidermoide diferenciado invasor incipiente. 1) Es necesario distinguir a las células discarióticas hiperqueratósicas con núcleos picnóticos, respecto de las células cancerosas diferenciadas que exhiben rasgos fibroides similares; las células displásicas son más pequeñas y de morfología más uniforme que las células cancerosas. 2) Además se debe prestar atención a la ausencia de diátesis tumoral en todo el extendido. 3) Mientras que en la displasia queratinizante las células discariósicas bien preservadas provenientes de la capa profunda están mezcladas con células hiperqueratósicas pequeñas, en el carcinoma *in situ* y también en el invasor incipiente se detectan evidentes células malignas de tipo parabasal.

Displasia posirradiación

La displasia posirradiación, definida por Zimmer[221] y por Patten y col.[138] como un cambio epitelial anormal consecutivo a un largo período de latencia después de la irradiación, se caracteriza por núcleos agrandados, aumento de la relación nuclear-citoplasmática, considerable hipercromatismo de textura finamente granular o densamente uniforme, y presencia de diferenciación superficial (hiperqueratosis y paraqueratosis); su morfología es similar a la displasia de origen natural. Estos cambios citológicos difieren de los efectos agudos de la radiación, como formación gigantocelular, halos perinucleares y fagocitosis. El comportamiento biológico de la displasia posirradiación no está bien elucidado, pero posee potencial biológico para progresar,[137] en particular cuando ocurre antes de los tres años desde la radioterapia.[206]

A los efectos de distinguir entre displasia posirradiación y displasia clásica coexistente, Patten[137] destacó varios puntos citológicos: 1) aparición de células anormales en láminas y no en forma individual, 2) prominencia de la eosinofilia citoplasmática y 3) prominencia de configuraciones celulares ovales e "irregulares" en otros sentidos.

Displasia gestacional

En el ambiente hormonal del embarazo la citología se caracteriza por proliferación de la mucosa y también por eversión del epitelio endocervical, seguida por metaplasia pavimentosa.

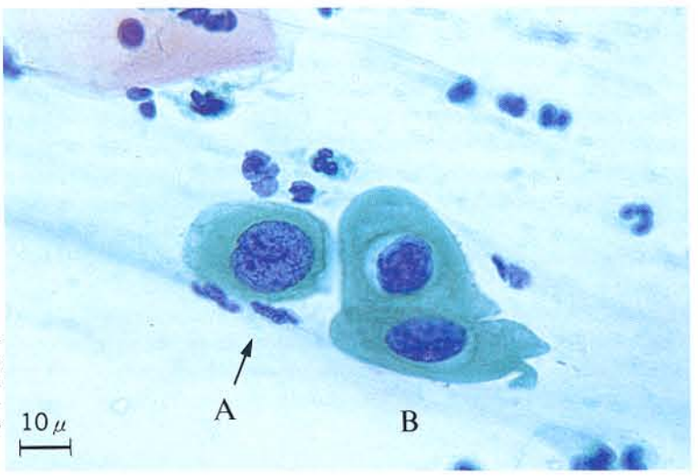


Fig. 359. Considerable discariosis por displasia severa. Puntos diferenciales: la alta relación N/C y la considerable hipercromía (*A*) abonan en favor de un carcinoma *in situ*, pero la fina red de cromatina y la indentación difieren del cáncer. No se debe establecer el diagnóstico por la atipia de una sola célula. Al lado (*B*) aparecen células displásicas más maduras con halos perinucleares.

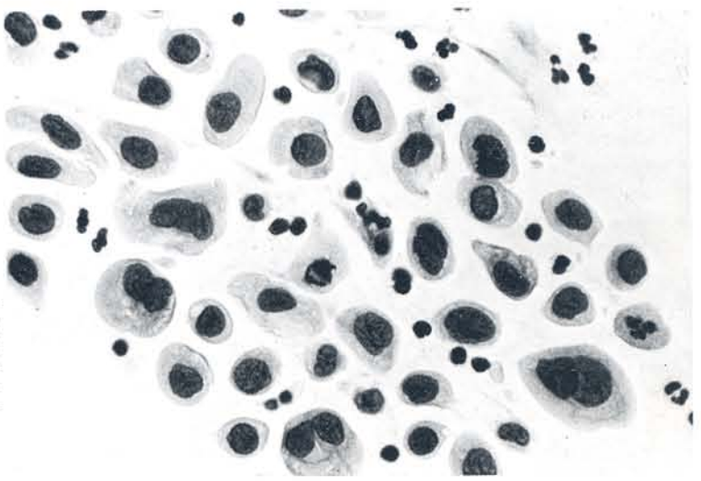


Fig. 360. Considerable discariosis por displasia severa (no queratinizante). Los criterios de displasia severa están dados por la gran atipia nuclear, que es desproporcionada para un citoplasma maduro de tipo parabasal, y por la ausencia de un fondo maligno. Puntos diferenciales: 1) trama de cromatina densamente hipercromática pero homogénea, 2) binucleaciones frecuentes, 3) indentación y plegamiento de las membranas nucleares y 4) nucléolos invisibles.

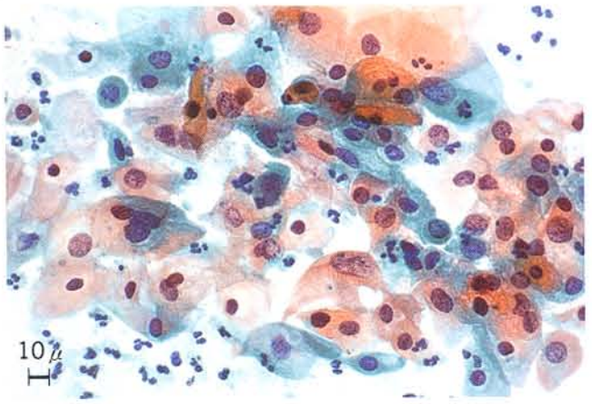


Fig. 361. Aspecto general de la displasia queratinizante. La preponderancia de células superficiales discarióticas y de células superficiales eosinófilas en un extendido cervical es un rasgo característico de displasia queratinizante. Nótese el fondo limpio.

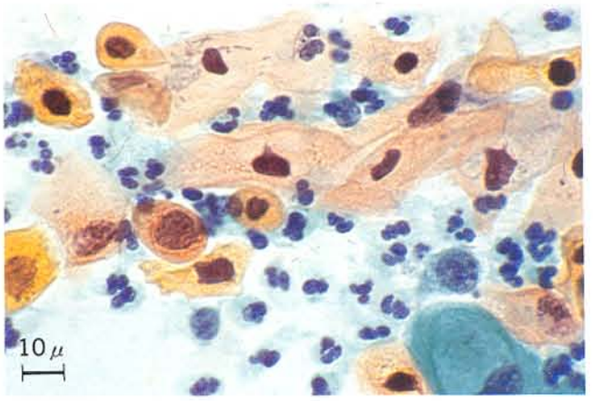


Fig. 362. Células discarióticas superficiales de la displasia queratinizante vistas con mayor aumento. Las células picnóticas con núcleos ovales o fusiformes en gotitas de tinta china pertenecen al estrato superficial asociado con queratosis. Aparecen algunas células discarióticas parabasales con disqueratosis.

Aunque los epidermólogos señalan influencia cancerígena del embarazo sobre el carcinoma cervical[17] y las evidencias de regresión de la displasia, así como del carcinoma *in situ*, después del parto[175] sugerirían carcinogénesis gestacional, la incidencia de carcinoma *in situ* y de carcinoma invasor en embarazadas es más o menos la misma que en las no embarazadas.[16, 178] La importancia de la citología radica en seguir la alteración epitelial mediante colposcopia, porque los estudios quirúrgicos con punciones biopsias múltiples o conizaciones frías a bisturí acarrean graves complicaciones, como infección, hemorragia y aborto. La citología no es específica, pero conserva el cuadro gestacional representado por la configuración navicular característica. Los núcleos son discarióticos, con una cantidad regular de citoplasma que exhibe bordes engrosados o plegados (fig. 364).

Condiloma acuminado (papiloma pavimentoso)

Aspecto general. El condiloma acuminado es una formación verrugosa que se instala en la vulva, la vagina y, a veces, en el cuello uterino, y exhibe considerable papilomatosis, acantosis y elongación de las crestas papilares. Es muy probable que sea inducido por una infección viral[90, 136] y que se transmita por contacto sexual, pero al papiloma de células pavimentosas que ocurre como tumor benigno solitario no se lo puede distinguir del condiloma por los rasgos histológicos solamente. Meisels y col.[104, 105] incluyen una alteración acantósica plana como condiloma plano y también el condiloma invertido endofítico en el concepto amplio de "lesión condilomatosa", junto con el condiloma acuminado clásico, aluden a la frecuente asociación del cuadro citológico con la displasia leve en mujeres jóvenes y señalan una relación potencial con la neoplasia intraepitelial. La localización en los genitales externos puede acompañarse de hiperqueratosis. Es frecuente que ocurra vacuolización del citoplasma en las células del estrato de Malpighi.

Citología. Pueden descamarse de la superficie células fusiformes disqueratósicas con paraqueratosis e hiperqueratosis. Las células espinosas, en particular las intermedias profundas y las parabasales externas redondeadas, son uno de los principales constituyentes citológicos de la acantosis. En consecuencia, el condiloma se caracteriza por predominio de células intermedias profundas un tanto disqueratósicas que Purola y Savia[154] denominaron "células intermedias con-

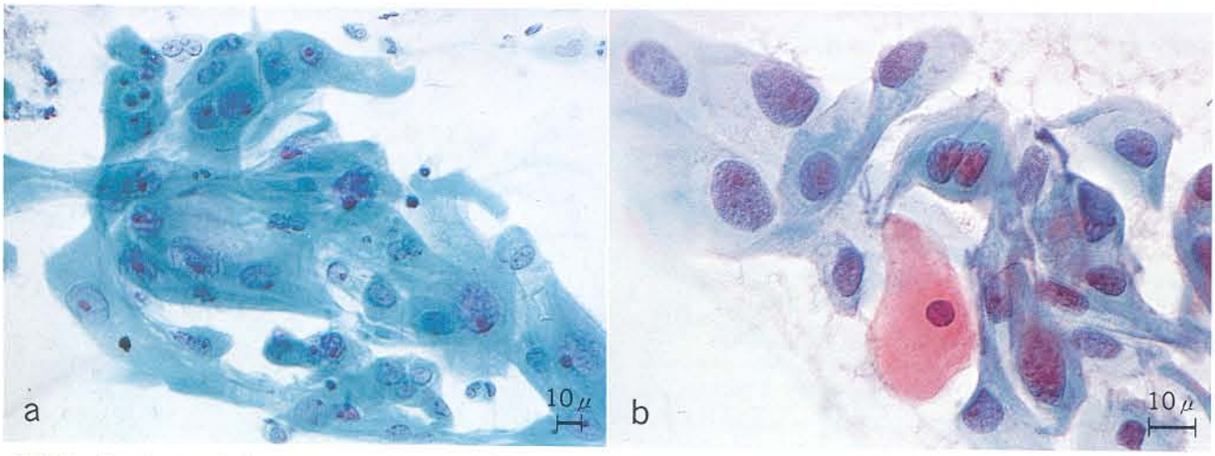


Fig. 363. Alteraciones cervicales posirradiación en extendidos cervicales (displasia posirradiación). *a*, Mujer de 60 años a los 50 días de la irradiación con ^{60}Co (dosis tumoral 8100 r). Núcleos grandes y prominencia nucleolar, junto con células de formas grotescas y estructura fibrilar en el citoplasma. *b*, Mujer de 51 años a los 100 días de la irradiación con ^{60}Co (dosis tumoral 9280 r). Núcleos grandes y binucleados; citoplasma fibrilar e ingurgitado en formas grotescas. También es notable una eosinofilia abrupta.

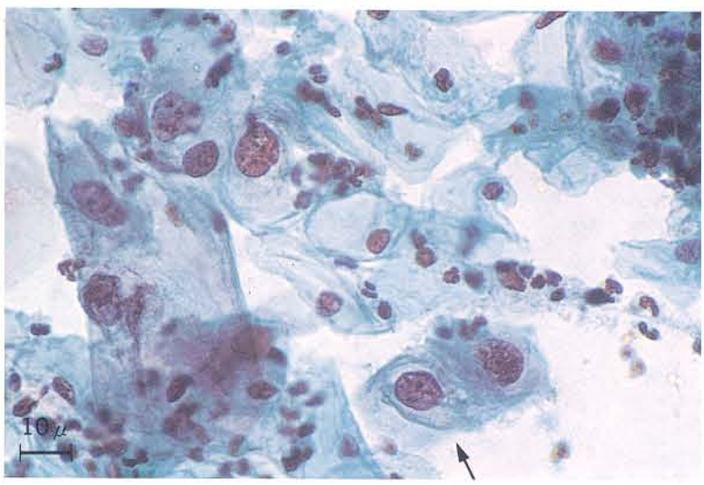


Fig. 364. Displasia moderada en el embarazo. En las células parabasales hay discariosis y forma navicular (*flecha*). Aunque no existe relación directa entre el embarazo y la progresión de la displasia, la citología reviste particular importancia para manejar a la paciente embarazada.

dilomatosas''. Sus núcleos desprovistos de degeneración sólo están apenas agrandados y tienen una trama de cromatina suave. Muchos núcleos son degenerativos y tienden a exhibir picnosis. También es característico ver binucleación y, en ocasiones, multinucleación. Además de estas células intermedias y superficiales disqueratósicas, se señala que la aparición de células intermedias con un halo perinuclear distintivo, las llamadas células coilocitósicas, es típica del condiloma acuminado (fig. 365).[154]

Addendum: Efecto de los agentes inmunosupresivos. En los receptores de homoinjertos renales la incidencia de carcinomas intraepiteliales es mucho mayor.[142] La terapia inmunosupresiva con drogas como busulfán, ciclofosfamida y azatioprina también origina unas alteraciones displásicas que se caracterizan por configuraciones grotescas y agrandamiento de las células.[83]

Leucoplasia de la porción vaginal

La leucoplasia no es una enfermedad específica, sino una entidad patológica macroscópica que se manifiesta con una placa gris blancuzca de la mucosa.[8, 20, 204] La leucoplasia hipertrófica localizada por queratosis o paraqueratosis se comentó en relación con la cancerización. Varios autores sugirieron que la leucoplasia es precursora del carcinoma cervical porque no pocas veces se asocia con cáncer o éste aparece después.[9, 42, 60, 63]

También se hicieron estudios similares sobre la génesis del cáncer de otros órganos, como esófago, lengua y labios de la boca. Corscaden, por el contrario, sostiene que no se puede vincular la leucoplasia con el cáncer, porque muchas veces se forma en áreas más distales que la unión pavimentosocolumnar, donde es común que se instale el carcinoma cervical.[29] A la leucoplasia no se la considera un fenómeno causal sino una mera consecuencia de la prosoplasia del estrato superficial (queratosis o paraqueratosis), que excede los límites fisiológicos, no importa que la lesión sea benigna o maligna.[190]

Citología. La citología varía según la atipia. En ocasiones la leucoplasia que está dentro de límites benignos se combina con hiperplasia de las células espinosas, de modo que puede producir células atípicas disqueratósicas, además de escamas anucleadas. Por el contrario, en la leucoplasia asociada con carcinoma espinocelular pueden aparecer células malignas

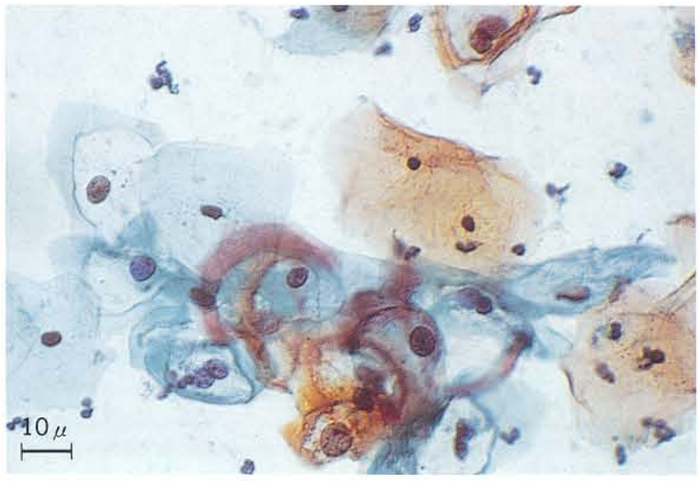


Fig. 365. Extendido vaginal del condiloma acuminado. La mayor cantidad de células espinosas hipertróficas (células parabasales externas o intermedias) proviene de las frondas papilares. Nótese la característica vacuolación perinuclear coilocítica.

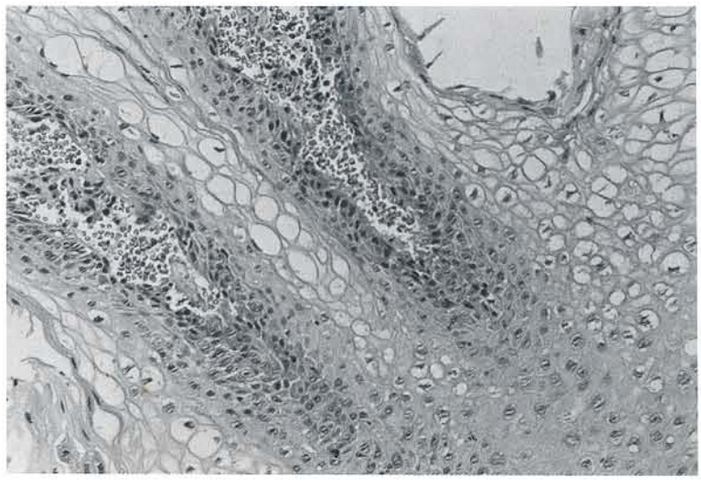


Fig. 366. Histología del condiloma acuminado clásico. Papilomatosis y engrosamiento del epitelio por la mayor cantidad de células espinosas.

de citoplasma naranjófilo, es decir, células cancerosas queratinizantes.[3]

12. Carcinoma *in situ*

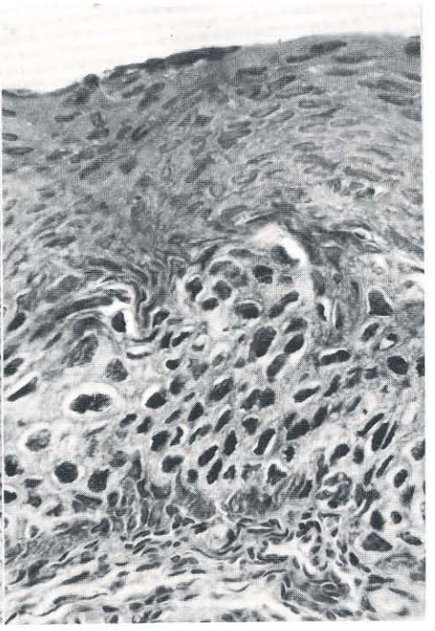
Concepto de carcinoma *in situ*

En el carcinoma *in situ* o carcinoma intraepitelial, el cáncer se confina estrictamente al epitelio de la mucosa, cualquiera que sea el compromiso de las glándulas cervicales, pero las autoridades no se han puesto de acuerdo sobre la entidad del carcinoma *in situ*. Algunas opiniones conservadoras[14, 21, 55, 57, 80] postulan que su morfogénesis es una etapa transitoria del cáncer, es decir, una alteración displásica severa, y se basan en los siguientes hechos: 1) En ocasiones se obtienen curas o regresiones tras la escisión simple de tejido para biopsia o después del parto,[57, 89, 121, 139, 172] 2) no todos los casos de carcinoma *in situ* se convierten en carcinoma invasor,[87, 140, 219] 3) la diferencia entre la edad media de las pacientes con carcinoma *in situ* y con carcinoma invasor parece ser demasiado grande y 4) es raro ver carcinoma *in situ* clásico en los márgenes del carcinoma microinvasor de tipo espinocelular bien diferenciado.

En cambio, muchas otras publicaciones indican que el carcinoma *in situ* es un cáncer verdadero desde los puntos de vista clínico y biológico: 1) La edad media de las pacientes con carcinoma *in situ* siempre es, estadísticamente, varios años menor que la de las pacientes con carcinoma invasor



367



368

Fig. 367. Leucoparaqueratosis de la porción vaginal asociada con considerable hiperplasia de células espinosas.
Fig. 368. Leucoparaqueratosis de la porción vaginal asociada con carcinoma *in situ* queratinizante. Nótese un estrato queratósico más grueso en el cual se han perdido los detalles nucleares.

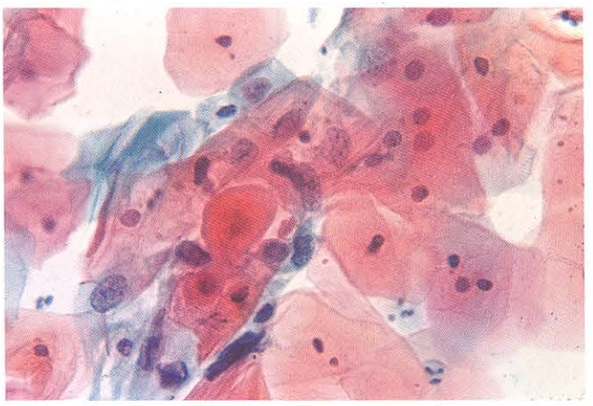


Fig. 369. Queratinización de células individuales en la displasia queratinizante. En el centro se ven células desnucleadas con intensa queratinización. También hay preponderancia de células superficiales eosinófilas.

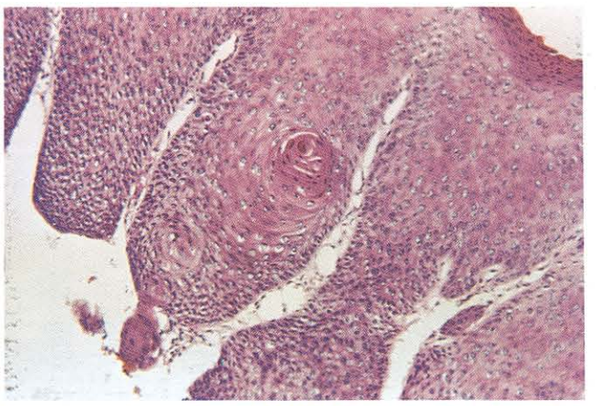


Fig. 370. Histología de la leucoplasia (leucoqueratosis). Caso de la figura 369. Nótense la hiperqueratosis, la considerable hipertrofia del estroma espinoso y la queratinización en cuernos quísticos.

incipiente[25, 39, 74, 208] (véase fig. 2). 2) El carcinoma *in situ* y el carcinoma invasor son menos comunes en mujeres judías que en las blancas no judías. 3) De acuerdo con el estudio de Michalkiewicz y col.[108] la tasa de recidivas del carcinoma *in situ* después de varios procedimientos terapéuticos es baja (3,8 %), pero es casi ocho veces mayor que la de la displasia (0,5 %). 4) La observación a largo plazo del carcinoma *in situ*, realizada por Koss y col.,[86] confirma que es un precursor del carcinoma invasor, sin que exhiba manifestaciones de involución espontánea.

No cabe duda de que el carcinoma *in situ* que se origina en un campo amplio de epitelio anormal, emite después prolongaciones que invaden el estroma.

Bangle y col.[11] señalaron que el carcinoma espinocelular bien diferenciado saltearía la etapa de displasia o de carcinoma *in situ* porque el carcinoma invasor de células grandes queratinizantes se forma junto al epitelio superficial de aspecto normal o apenas displásico. Sin embargo, en algunas ocasiones el epitelio normal aparece nítidamente bordeado por carcinoma porque es reemplazado por el crecimiento de éste;[56, 133] en consecuencia, no siempre es correcto comentar la morfogénesis del carcinoma sólo por las alteraciones del epitelio contiguo a las invasiones estromales. Además, muchos estudios básicos, como la determinación del contenido nuclear de DNA con el método microespectrofotométrico,[68, 168, 169, 200] el comportamiento en cultivos de tejidos,[222] la anormalidad en el análisis cromosómico[182, 203] y el valor de la glucólisis anaeróbica, indican las características malignas del carcinoma *in situ*.

En lo referente a la terminología de las lesiones precancerosas y cancerosas del cuello uterino, ha prevalecido la nomenclatura que se adoptó en el editorial de *Acta Cytologica*, en que a la displasia se la agrupa en dos clases, carcinoma *in situ* y carcinoma invasor (1962). Richart[163, 164] propuso el término histogenético *neoplasia intraepitelial* (CIN), basándose en el concepto de que la entidad patológica de la displasia y carcinoma *in situ* es de una índole continua: "Se designa CIN a un espectro de anormalidades intraepiteliales que empieza como una neoplasia intraepitelial bien diferenciada que por tradición se clasificaba como displasia leve y conduce al carcinoma invasor pasando por el carcinoma *in situ*." A la CIN se la subclasifica de acuerdo con el grado de diferenciación: CIN grado I corresponde a displasia leve, grado II a displasia moderada, grado III a displasia severa y grado IV al carcinoma *in situ*.

Detección del carcinoma incipiente del cuello uterino

El procedimiento para detectar y encarar la manera de proceder en el carcinoma del cuello uterino se debe desarrollar con ordenada exactitud en el consultorio del ginecólogo (fig. 371). La colposcopia se ha venido a aplicar ampliamente para descubrir anormalidades cervicales y localizar la lesión que se ha de biopsiar. En las pacientes con un amplio espectro de CIN es importante ubicar los sitios que se deben biopsiar o escindir, para establecer si se ha de hacer conización o no. Aunque la colposcopia no compite con la citología, en ocasiones las neoplasias cervicales preclínicas que pasan inadvertidas con la citología se detectan mediante colposcopia.

1) Colposcopia. La colposcopia, que ofrece una magnificación estereoscópica de la membrana mucosa, es tan útil como la citología; mientras que la citología puede hacer el diagnóstico en las lesiones fronterizas, no se puede establecer con ella su localización ni su extensión. La tinción con yodo de Schiller se hacía para reconocer el epitelio anormal aglucógeno. La colposcopia permite apreciar el área anormal en la zona de transformación* y ubicar el punto exacto donde realizar la punción biopsia. El crecimiento anormal hacia arriba de las papilas vasculares del estroma, que ocurre en las lesiones fronterizas, es responsable de la imagen en mosaico característica. Si las papilas estromales se hallan comprimidas por el voluminoso sobrecrecimiento del epitelio, los vasos superficiales se reconocen como puntuaciones. El engrosamiento del epitelio en la zona transicional, junto con disqueratosis y paraqueratosis, es el que origina el epitelio blanco. La citología y la colposcopia no compiten entre sí para diagnosticar la patología cervical, sino que se complementan mutuamente.

2) Colpomicroscopia. La colpomicroscopia para visualizar alteraciones del epitelio superficial, como variaciones del tamaño y forma de los núcleos, la densidad celular y el aumento de la relación N/C, es una técnica valiosa para definir la distribución de la lesión intraepitelial *in vivo*.[162] Antes de la observación se limpia el cuello con ácido acético al 2 % y después se aplica azul de toluidina al 1 % con un hisopo de algodón (figs. 376 y 377).

Histología del carcinoma *in situ*

1) Todo el espesor del epitelio mucoso aparece sustituido por una aglomeración irregular de pequeñas células cancerosas redondas o fusiformes que presentan considerable hipercromatismo nuclear y una alta relación N/C (tipo indiferenciado o de células pequeñas). En el carcinoma *in situ* figuran casos que tienden a ir a la diferenciación superficial. Aunque el citoplasma es un tanto ancho y poligonal, los núcleos que están en los estratos superficiales son hipercrómicos, de morfología irregular y de evidente malignidad (tipo diferenciado o de células gandes). 2) Se han perdido la polaridad y la estratificación. La desaparición de la polaridad en el estrato basal es un criterio seguro para diferenciar entre carcinoma *in situ* y displasia severa. 3) Las mitosis son frecuentes, no sólo en el estrato basal, sino también en los estratos intermedios y

* A la zona de transición histopatológica que está en la unión pavimentoso-columnar y que es capaz de transformarse, los colposcopistas la denominan zona de transformación.

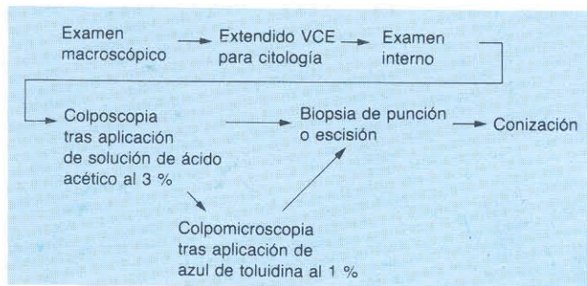


Fig. 371. Procedimiento de diagnóstico práctico.

superficiales de más de las dos terceras partes de todo el espesor. La dirección axil de los husos no es siempre perpendicular a la membrana basal. 4) Se observan frecuentes mitosis anormales. Se destacan mucho las mitosis multipolares, en especial las tripolares. También son signos de mitosis anormales los cromosomas asimétricos en anafase y los cromosomas polares en metafase, que se conocen como metafases de dos grupos y de tres grupos.

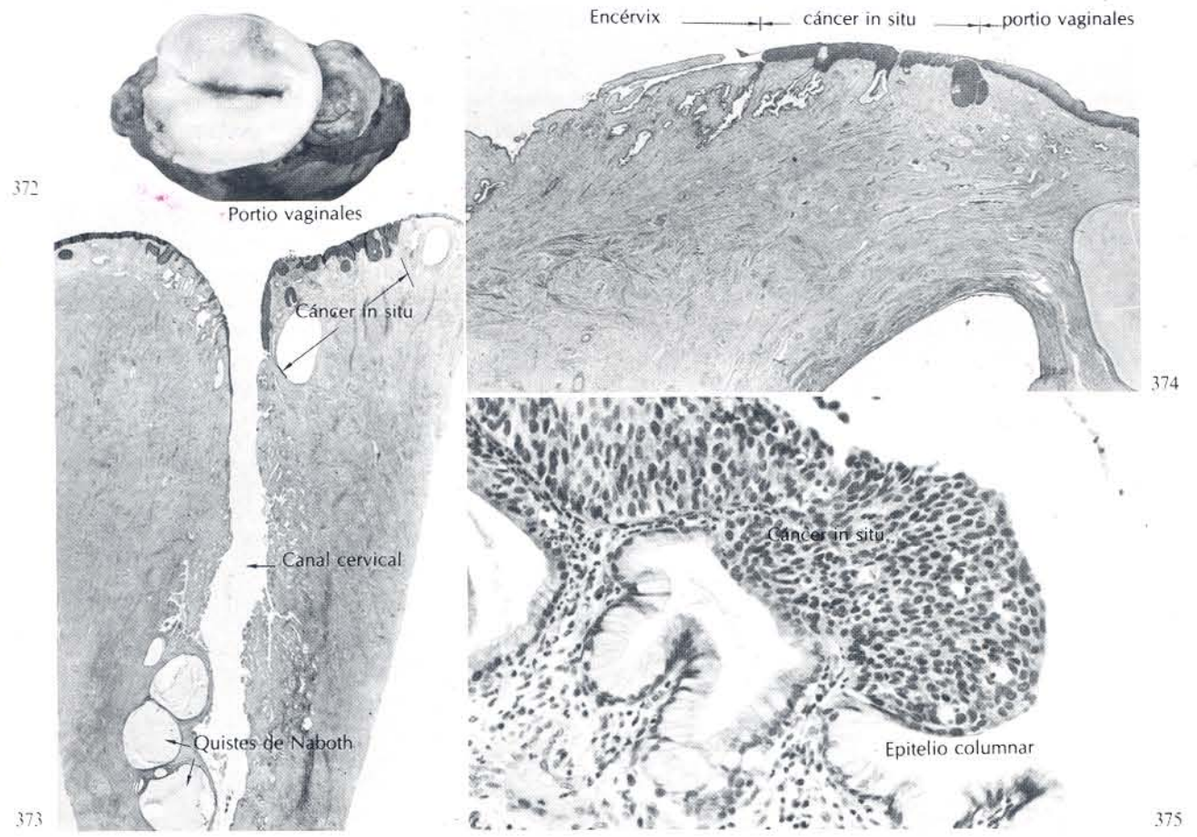
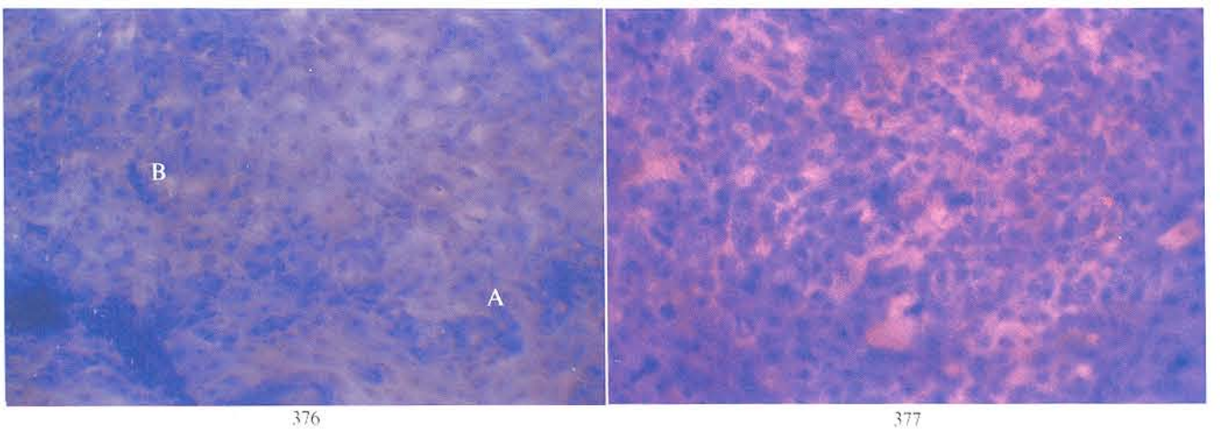


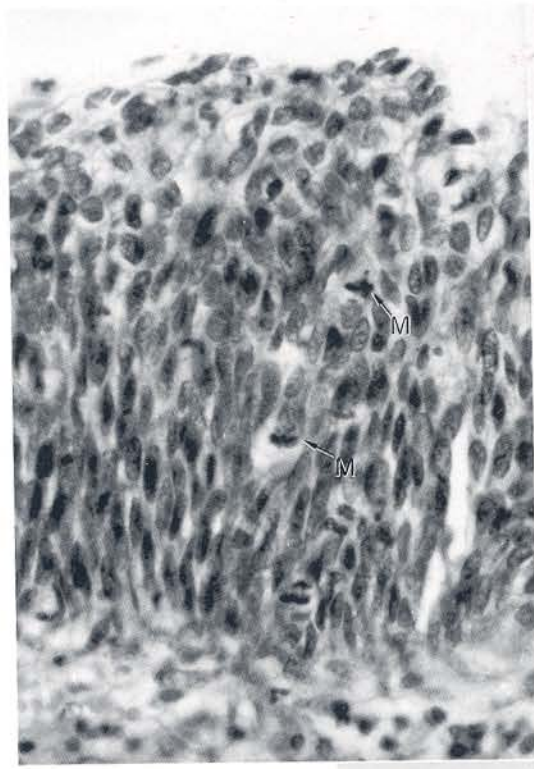
Fig. 372. Aspecto macroscópico de la membrana mucosa que no exhibe anormalidades en un caso de carcinoma *in situ*.
Figs. 373 a 375. Carcinoma *in situ* del cuello uterino. La cancerización se limita al epitelio, cualquiera que sea el ancho de la diseminación superficial en el área de la unión pavimentosocolumnar. Hasta cierto punto, es más probable una cancerización de todo el campo por conversión neoplásica progresiva del epitelio, que una simple neoformación de reemplazo de origen unicéntrico. La posibilidad de detectar carcinoma *in situ* mediante citología exfoliativa es comprensible por esta propagación intraepitelial, si se adopta una técnica de muestreo apropiada.



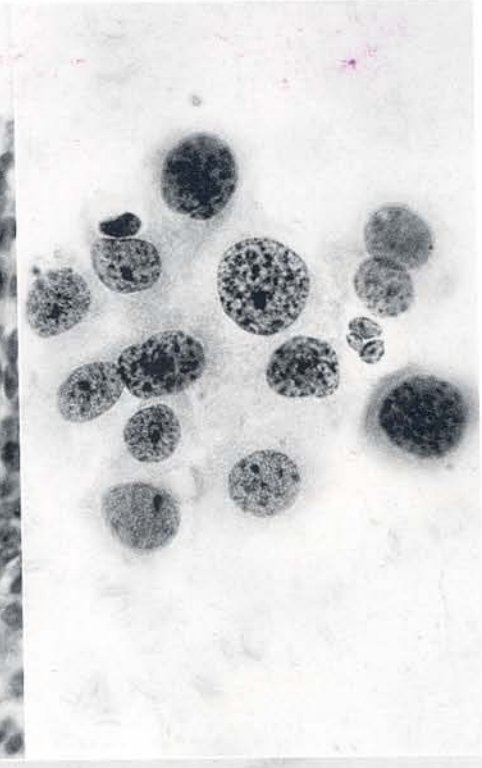
Figs. 376 y 377. Colpomicroscopia en la displasia (fig. 376) y en el carcinoma *in situ* (fig. 377). (Gentileza del doctor Noda, S., Centro para Enfermedades de Adultos, Osaka.)
Fig. 376. El hacinamiento de pequeñas células hipercromáticas (*A*) es sugestivo de carcinoma *in situ*, mientras que la celularidad relativamente escasa con citoplasma abundante significa lesión displásica (*B*).
Fig. 377. Esta figura, perteneciente a un carcinoma *in situ*, se caracteriza por la celularidad aumentada, la alta relación N/C y la hipercromía nuclear.

Citología

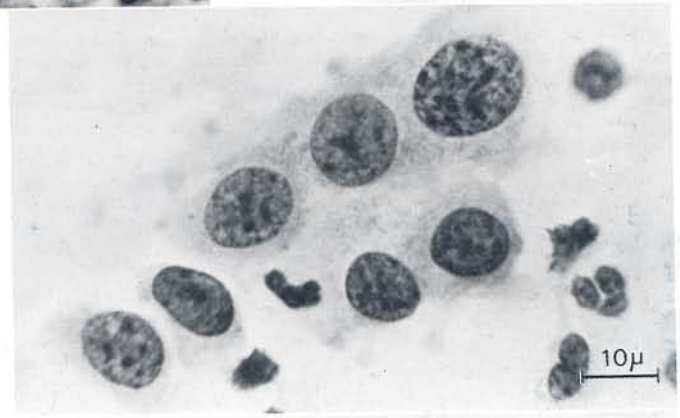
La citología del carcinoma *in situ*, en particular el de células pequeñas, se caracteriza por predominio de células cancerosas de tipo basal, dotadas de un citoplasma escaso que da una reacción tintorial cianófila pálida. Los núcleos son hipercromáticos y poseen una cromatina densamente granular. Esta cromatina compacta repleta de gránulos finos a medianos y la borrosidad de la prominencia nucleolar, son rasgos importantes de las células cancerosas *in situ;* la cromatina granular gruesa se presentaría en el proceso degenerativo. Okagaki y col.[132] mencionaron que los extendidos cervicales que contienen más del 30 % de células cancerosas de tipo basal en los recuentos diferenciales de células malig-



378



379



380



381

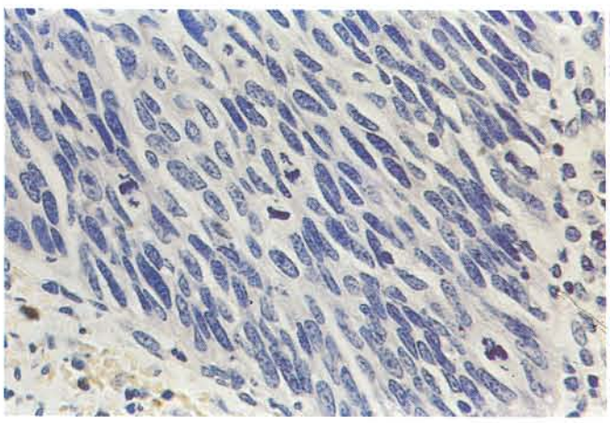
Figs. 378 a 381. Histología y citología del carcinoma *in situ* de células pequeñas o indiferenciado.

Fig. 378. La histología del carcinoma *in situ* se caracteriza por reemplazo de todo el espesor del epitelio por células cancerosas indiferenciadas de núcleos hipercromáticos fusiformes. Nótese que en el tercio superior del epitelio hay figuras mitóticas (M).

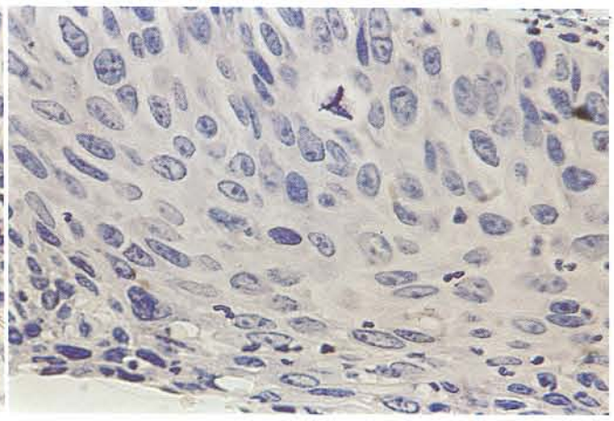
Figs. 379 a 381. En el preparado citológico los núcleos son bastante pequeños, pero su forma y su tamaño son variables. El material cromatínico está aumentado y es granular grueso. El citoplasma escaso y basófilo pálido es uno de los rasgos más característicos de las células malignas indiferenciadas.

Nótese la monotonía celular en los recuentos celulares diferenciales o citograma del extendido del carcinoma *in situ*: casi todas las células son pequeños elementos malignos indiferenciados sin evidencias de necrosis.

nas, tienen mayor probabilidad de ser carcinoma *in situ*. Un rasgo general de estas células cancerosas es que son solitarias o tienden a aglomerarse en forma inconexa; las células cancerosas se orientan de acuerdo con la dirección en que se hizo el extendido. La imagen en *fila india* es un buen ejemplo de carcinoma *in situ* (fig. 384). En el extendido no se reconoce *diátesis tumoral*. La presencia de hematíes y leucocitos depende de la coexistencia de erosión verdadera.



382



383

Figs. 382 y 383. Mitosis anormales en el carcinoma *in situ*. Los cromosomas polares, que se conocen como metafases de dos y tres grupos, son comunes en el carcinoma *in situ*. La mitosis tripolar de la figura 383 es más rara que los cromosomas polares. Las mitosis anormales son uno de los criterios histológicos importantes de carcinoma *in situ* porque son mucho más frecuentes que en la displasia.

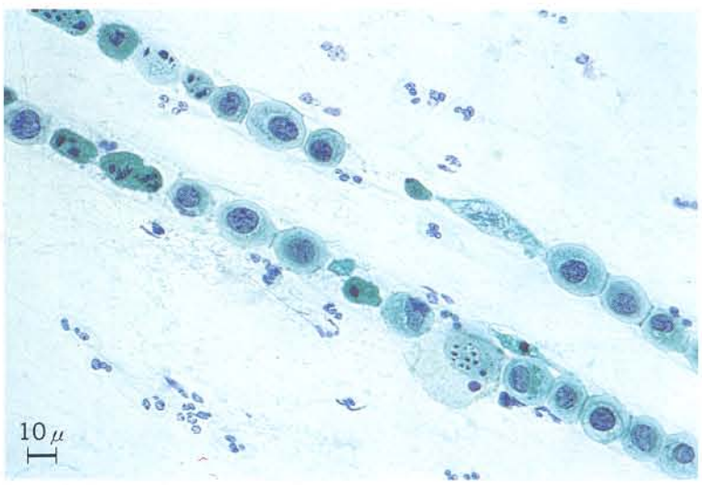


Fig. 384. Aspecto general del carcinoma *in situ*. El ordenamiento lineal de las células malignas de tipo parabasal se llama "imagen en fila india" y es un rasgo característico del carcinoma *in situ*. No existe diátesis tumoral.

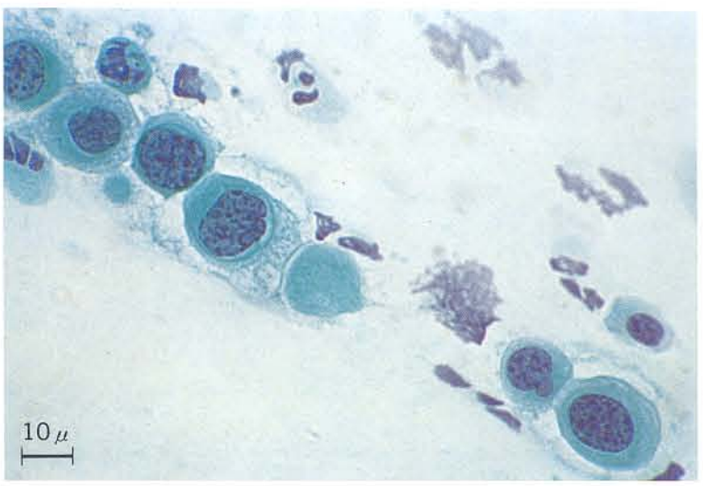


Fig. 385. Carcinoma *in situ* indiferenciado. Los núcleos son redondos u ovales e hipercromáticos, y poseen una cromatina granular densa. El citoplasma es escaso y mal delineado. Nótese la imagen en fila india. No se observa diátesis tumoral.

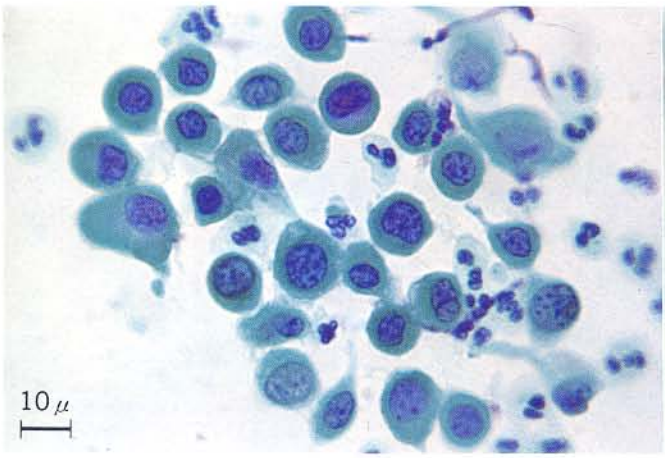
El carcinoma *in situ* de células grandes exhibe predominio de elementos celulares parabasales cuyo citoplasma es más abundante que el de las células cancerosas basales del carcinoma *in situ* de células pequeñas (figs. 386-389). Además, a veces se ven escasas células malignas de núcleos picnóticos y citoplasma disqueratósico; la descamación de estas células se relaciona con la diferenciación superficial del carcinoma *in situ*. Estas células disqueratósicas difieren de las células en renacuajo o fibrosas del carcinoma invasor, por su tamaño y su polimorfismo. Muchas veces la aparición ocasional de células disqueratósicas de los tipos parabasal y/o intermedio, hace que el principiante se confunda y no pueda diferenciar bien entre displasia queratinizante y carcinoma de células grandes combinado con displasia* (véase fig. 376). La clasificación del carcinoma *in situ* y de sus respectivas alteraciones se basa en los constituyentes celulares anormales y en el predominio de células cancerosas de tipo basal o parabasal, pero también es importante el aspecto general del extendido. En el carcinoma *in situ* y en la displasia, el extendido es limpio porque no hay detritos celulares necróticos (véanse figs. 361 y 384). También merece señalarse que las células malignas del mismo tipo basal o parabasal están diseminadas en la misma dirección que el extendido (fig. 384).

13. Carcinoma del cuello uterino

Carcinoma epidermoide

Alrededor del 95 % de los carcinomas del cuello uterino son epidermoides. Las células cancerosas aparecen dispues-

* No es raro ver extendidos con células muy discarióticas (células displásicas) mezcladas con células de cáncer *in situ*. Los estudios histológicos con piezas de conización también revelan la coexistencia o transición de displasia severa y carcinoma *in situ*. Este autor considera que estas observaciones corroboran la importancia del concepto de CIN (cuadro 49).

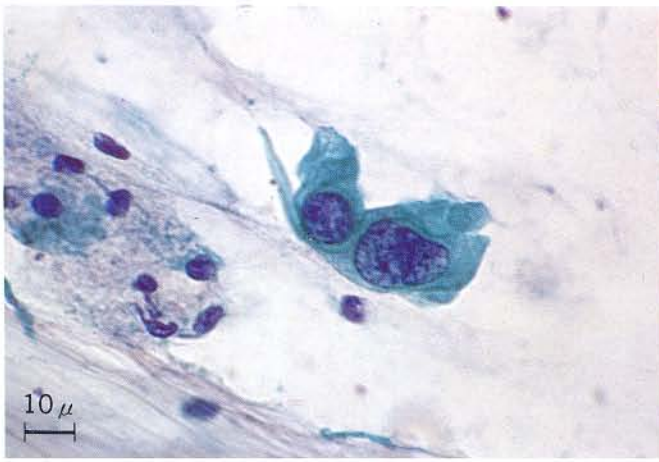


386

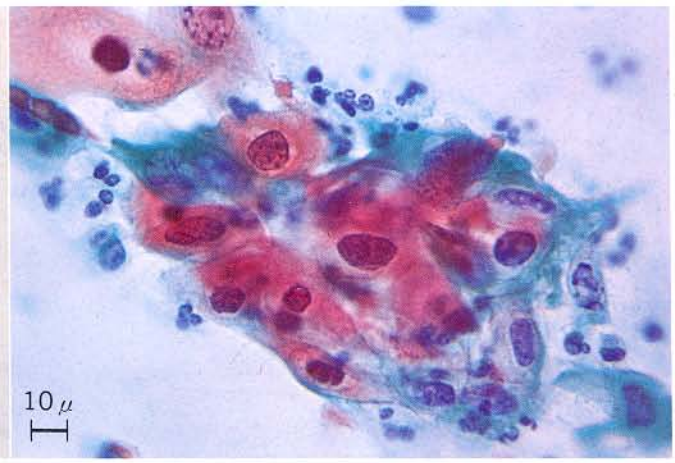


387

Figs. 386 y 387. Carcinoma *in situ* de tipo intermedio. La citología muestra unas células cancerosas de tipo parabasal con una cantidad de citoplasma pequeña a moderada. El citoplasma se tiñe bien y está bien preservado porque hay ciertos grados de diferenciación. Este cuadro citológico es distinto del del carcinoma *in situ* de células pequeñas (basocelular) clásico de las figuras 378 a 381, y corresponde al carcinoma *in situ* de tipo intermedio, que es común. La trama de cromatina es granular gruesa y exhibe espacios claros entre las partículas de cromatina.



388

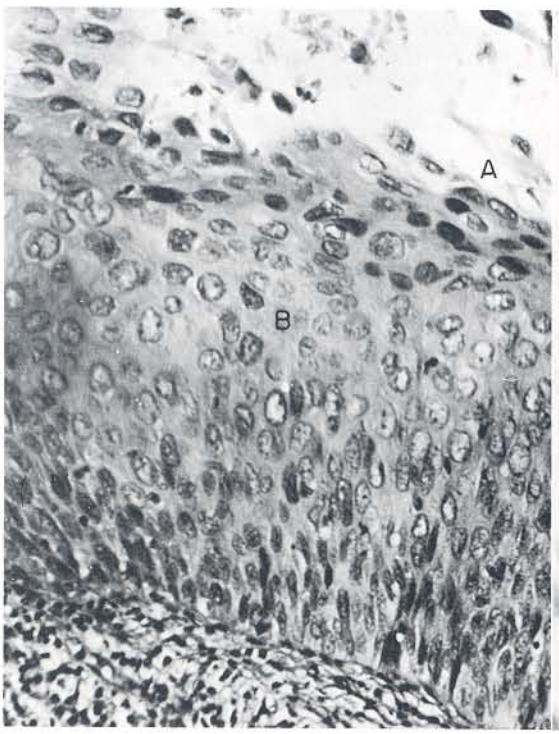


389

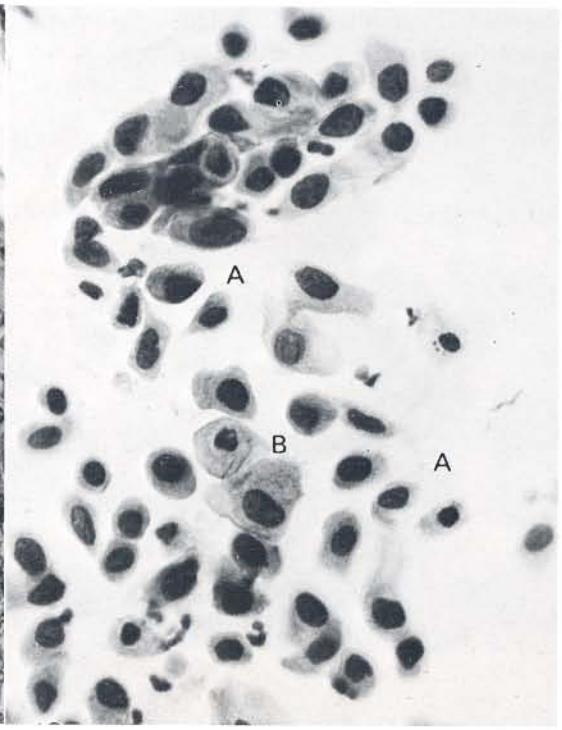
Figs. 388 y 389. Carcinoma *in situ* de tipo diferenciado. La mayoría de las células cancerosas son poliédricas y su cantidad de citoplasma es variable. Las células cancerosas derivadas de la capa profunda revelan un citoplasma bien coloreado por el verde claro, pero las células cancerosas queratinizantes de la capa superior son naranjófilas o eosinófilas, con tendencia a la picnosis. Este cuadro citológico se conoce como carcinoma *in situ* espinocelular queratinizante. Las cromatinas bien preservadas son granulares densas y presentan espacios intercromatínicos claros distintivos. No hay diátesis tumoral.

tas en láminas y columnas anastomosadas que forman una imagen en tejado. La clasificación histológica está dada por la diferenciación de las células cancerosas. Martzloff[94] sugirió tres grados representativos: espinocelular, de células transicionales y fusocelular. El espinocelular es el más diferenciado y está constituido por células cancerosas dotadas de un abundante citoplasma eosinófilo. Muchas veces se ven perlas epiteliales en los nidos de células cancerosas. El tipo más común, que es el de células transicionales consiste en células cancerosas intermedias de citoplasma poliédrico. El tipo fusocelular o basocelular es anaplásico y carece de diferenciación celular.

Citología. Los extendidos de la etapa avanzada son sucios por la gran cantidad de eritrocitos, leucocitos y células malignas degeneradas o necrosadas (diátesis tumoral). Se ven células picnóticas con núcleos en gotitas de tinta china y citoplasma eosinófilo o células colicuadas de núcleos borrosos y citoplasma indefinido. El tipo espinocelular, en particular, se caracteriza por diversos tipos de células malignas, como células en renacuajo, células en víbora y células en



390



391

Figs. 390 y 391. Histología y citología del carcinoma *in situ* de células grandes o diferenciado.
Fig. 390. Hacia la superficie se observa tendencia a la diferenciación epidermoide. La capa superficial es paraqueratósica con acidofilia citoplasmática y picnosis nuclear (*A*), en tanto que la capa intermedia se presenta similar al estrato espinoso con citoplasma poligonal (*B*). La mitad inferior del epitelio está constituida por células pequeñas indiferenciadas, con núcleos fusiformes o elípticos.
Fig. 391. El extendido cervical está ocupado principalmente por células malignas diferenciadas del tercer tipo, con citoplasma poligonal (*B*). Algunas células malignas presentan picnosis en gotitas de "tinta china" y disqueratosis, junto con naranjofilia citoplasmática (*A*). El extendido es limpio en general y no exhibe diátesis tumoral.

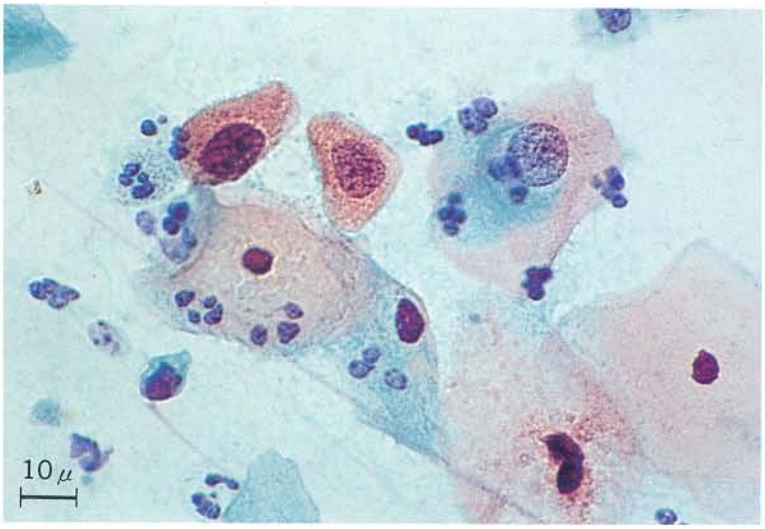


Fig. 392. Células paraqueratósicas de carcinoma *in situ* vistas con gran aumento. Arriba, a la izquierda, nótese una célula maligna de tipo parabasal, con su gran núcleo densamente coloreado y un citoplasma muy naranjófilo. No hay diátesis tumoral.

fibra. El carcinoma de células transicionales exhibe preponderancia de células del tercer tipo y de tipo intermedio, dotadas de una cantidad pequeña a moderada de citoplasma cianófilo o naranjófilo, con formas poliédricas.

¿El carcinoma microinvasor posee rasgos citológicos distintivos? En la invasión muy incipiente del estroma, el cuadro celular se parece al del carcinoma *in situ*, pero muchas veces presenta unas células malignas no queratinizantes más grandes y más pleomórficas. El carcinoma microinvasor tiende a exfoliar células cancerosas en grumos más grandes o láminas en los raspados. Los detritos celulares necróticos faltan o son escasos (fig. 398a).

El *carcinoma de células vidriadas*, descripto por Glücksmann y Cherry[227] en 1956 como un adenoacantoma poco diferenciado del cuello uterino, es un carcinoma de extraordinaria malignidad que sigue una evolución inexorable con extensa infiltración y metástasis, y es resistente a la radioterapia. Reviste interés que este tumor se asocie muchas veces con un embarazo reciente.[234] La frecuencia del carcinoma de células vidriadas se estimó en un 1,2 %[229] o 1,3 %[234] de todos los carcinomas cervicales, y la edad media de las pacientes fue 36 años menor que en las pacientes con carcinoma epidermoide.[234] La histología de este tumor exhibe unas láminas sólidas de células cancerosas separadas por finos tabiques fibrosos con intensa infiltración de plasmocitos, eosinófilos y otras células inflamatorias. En el preparado citológico las células cancerosas se ven grandes y redondeadas, y poseen moderada cantidad de un citoplasma acitado con aspecto de vidrio esmerilado. Los núcleos exhiben unos nucléolos prominentes y una membrana nuclear gruesa. La exfoliación

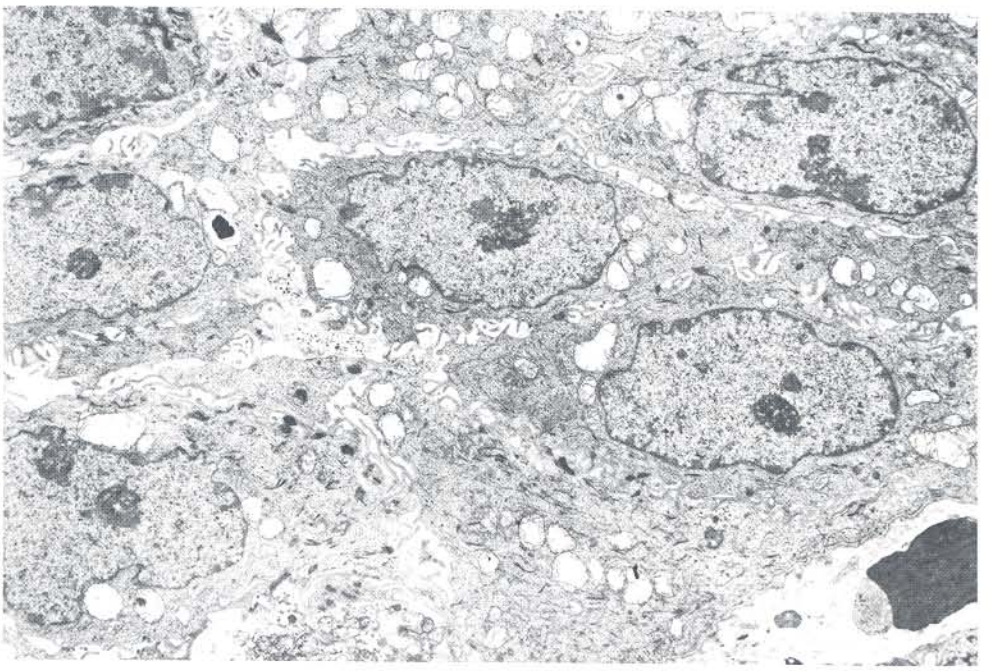


Fig. 393. Micrografía electrónica de un carcinoma epidermoide diferenciado del cuello uterino. Las células moderadamente diferenciadas exhiben un buen desarrollo de los desmosomas y tonofibrillas, lo cual es el parámetro de diferenciación del carcinoma epidermoide. También está aumentada la cantidad de digitaciones intercelulares. Existe moderada cantidad de un citoplasma que contiene abundantes mitocondrias y retículo endoplasmático. Se ven nucléolos (× 4000).

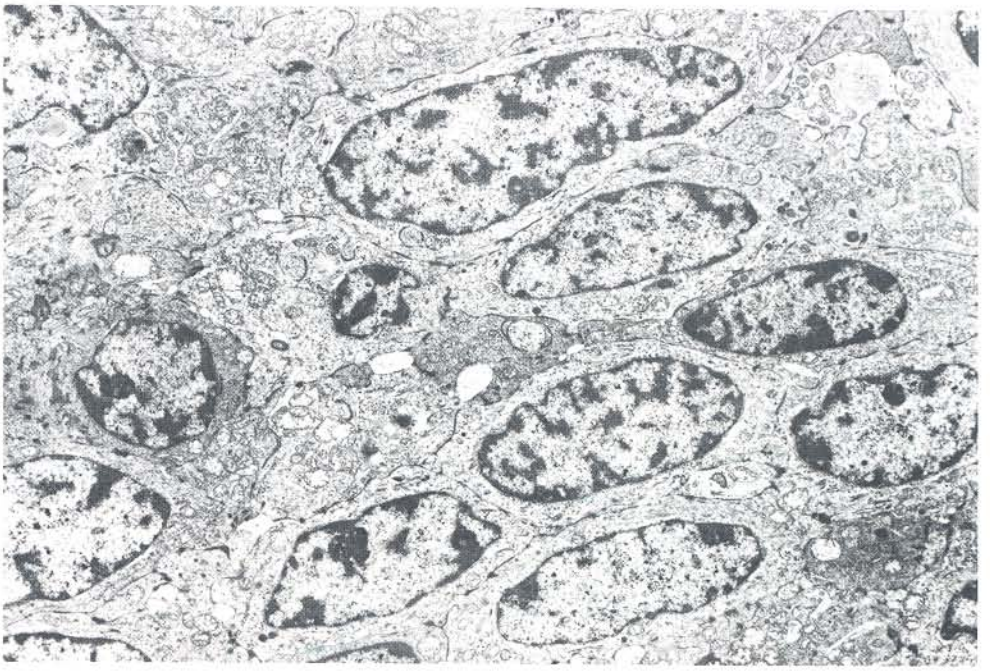


Fig. 394. Micrografía electrónica de células cancerosas indiferenciadas que exhiben una interrelación más simple entre las células, con excepción de los desmosomas. Los organoides del citoplasma están mal desarrollados. Nótense la distribución condensada en motas de las heterocromatinas, el borde nuclear recto y simple, y los nucléolos indistinguibles (× 4000).

de las células tumorales en láminas planas difiere de la aglomeración del carcinoma de células claras (fig. 399a y b).

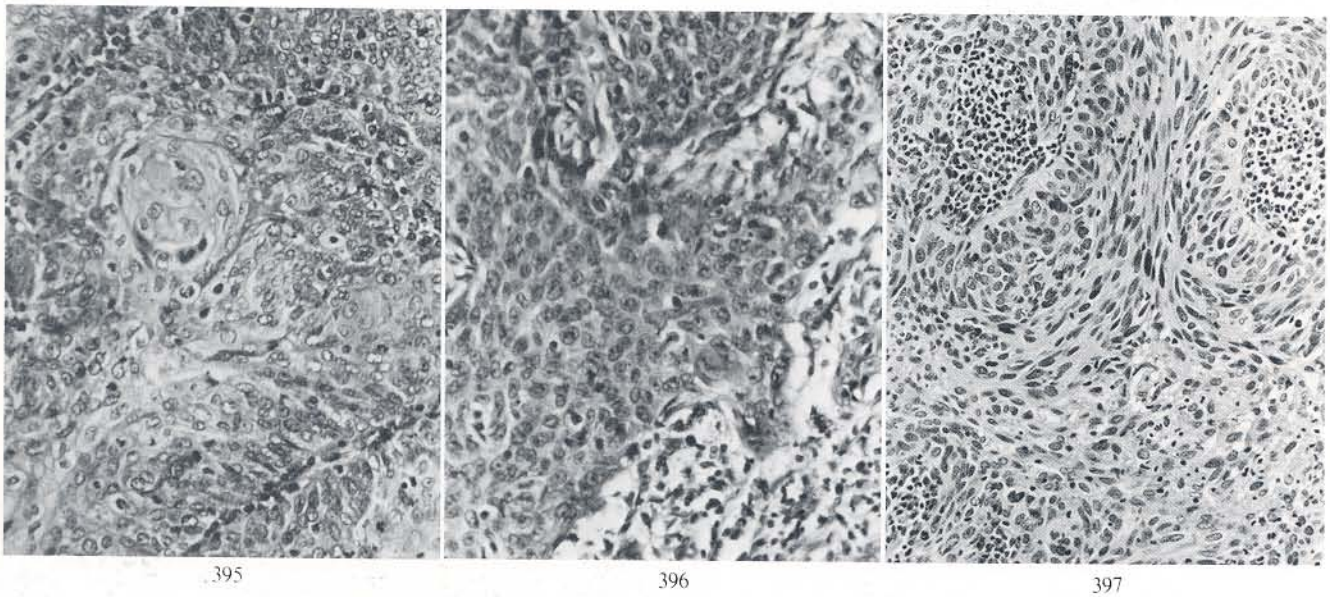
Al *carcinoma de células grandes* (carcinoma gigantocelular) se lo considera una variedad del carcinoma pavimentoso indiferenciado. La citología muestra unas células cancerosas grotescas características de núcleos gigantes polimorfos y a menudo gigantes. A estas células se las debe diferenciar de las células mesenquimáticas del tumor mesodérmico de células mixtas, que tienen un aspecto similar (véase fig. 409).

Carcinoma de células pequeñas (apudoma)

Este raro tumor del cuello uterino, parecido al carcinoma de células de avena del pulmón, pertenecería al sistema APUD[231, 235] y derivaría de células argirófilas[225] originadas en la cresta neural. Se trata de un tumor agresivo que da metástasis generalizadas.[236] La citología de las células tumorales se caracteriza por el citoplasma escaso y el aspecto casi denudado. Aparecen dispersas como células individuales, pero se reconoce una fijación epitelial; son notables las inclusiones celulares y la tendencia a adosarse lado a lado. Los núcleos son hipercromáticos, con cromatinas punteadas gruesas. Los bordes son irregulares, pero no engrosados (fig. 402).

Adenocarcinoma

1) Aspecto general. El adenocarcinoma del cuello uterino representa el 5 a 7 % de los cánceres de esta



395 396 397

Fig. 395. Carcinoma epidermoide de tipo espinocelular en el cuello uterino. Aunque los nidos de células cancerosas contienen perlas, sus zonas externas consisten en células cancerosas menos diferenciadas y de citoplasma escaso; por lo tanto, la histología puede concordar con la frecuente ocurrencia de células malignas de tipo parabasal en los extendidos cervicales.

Fig. 396. Carcinoma epidermoide de células de transición en el cuello uterino. Las zonas exteriores de nidos de células en activa proliferación consisten en su mayoría en los tipos basal y parabasal. Es comprensible, por la histología, que en los extendidos de los raspados cervicales se exfolien algunas células malignas parabasales menos diferenciadas.

Fig. 397. Carcinoma epidermoide fusocelular en el cuello uterino. El tipo más indiferenciado consiste en bandas de células cancerosas basales o fusiformes. (Compárese con la figura 408.)

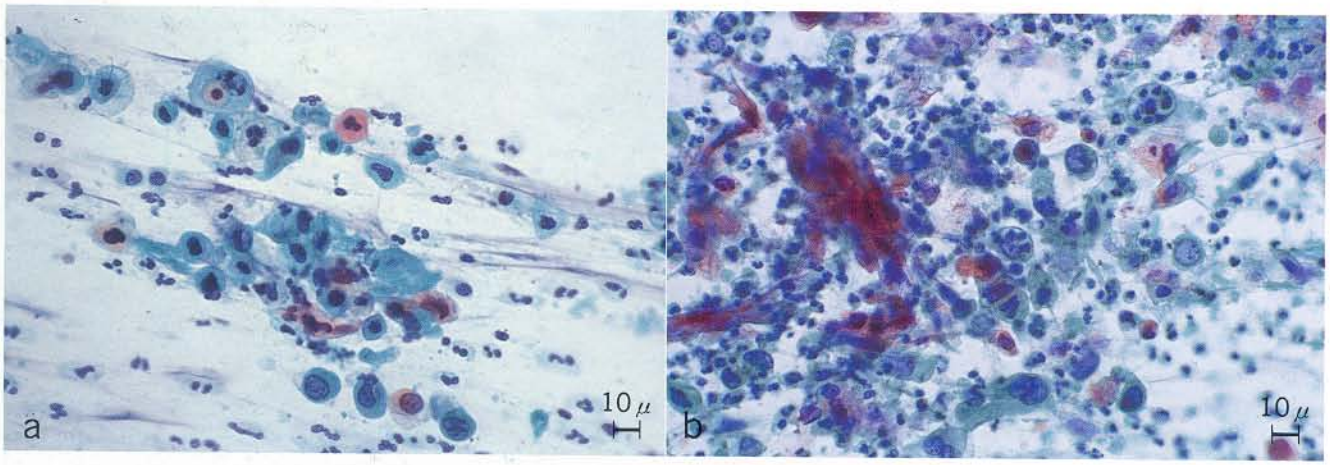


Fig. 398. Carcinoma epidermoide invasivo del cuello uerino. *a*, Carcinoma invasor incipiente. La citología se caracteriza por células cancerosas epidermoides bien preservadas de formas variables. El polimorfismo y la atipia celulares son más notables que en la displasia queratinizante. Nótese un núcleo maligno evidente. No hay diátesis tumoral obvia. *b*, Carcinoma invasor avanzado. Las características citológicas son: 1) exfoliación de un sinnúmero de células cancerosas individuales y en láminas, 2) considerable polimorfismo celular y nuclear y 3) presencia de "diátesis tumoral" o "fondo maligno".

localización.[109, 193] Aunque la incidencia de carcinoma del cuello uterino está disminuyendo en los últimos años, la proporción de adenocarcinomas cervicales sigue en aumento.

Hay una diferencia importante en la tasa de sobrevidas entre el adenocarcinoma y el carcinoma epidermoide, aunque la mayoría de los adenocarcinomas son morfológicamente diferenciados; Tasker y Collins[193] informaron que la sobrevida acumulativa a los 5 años en las etapas I y II fue $61 \pm 6{,}4$ % para el adenocarcinoma y $73{,}9 \pm 5{,}7$ % para el carcinoma epidermoide.

En el manejo citológico del adenocarcinoma cervical, los

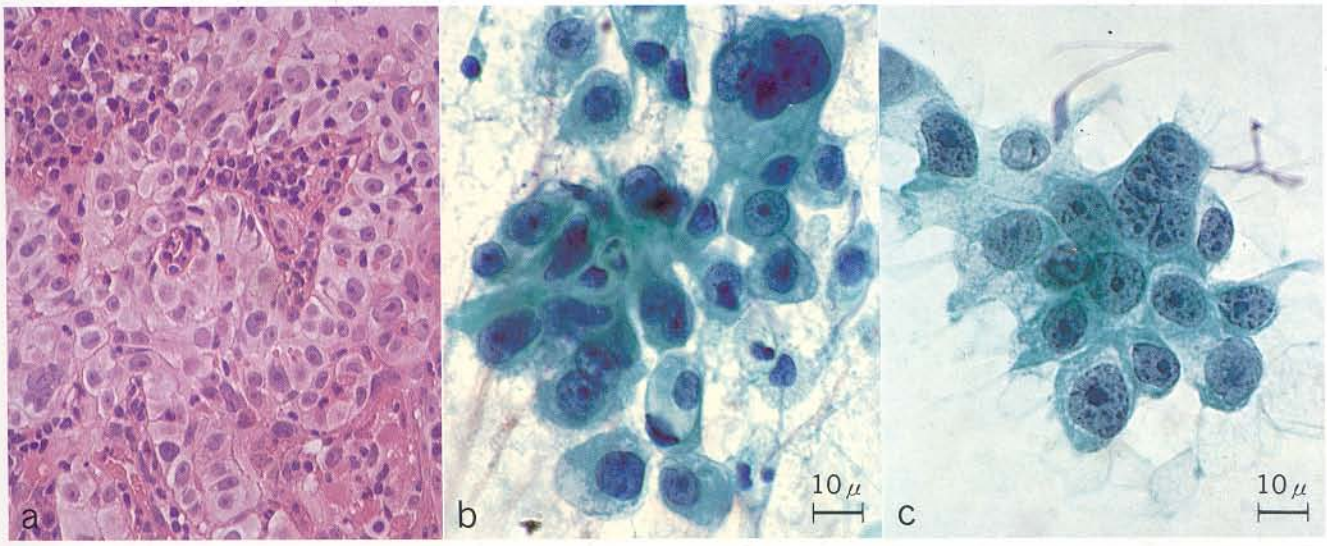
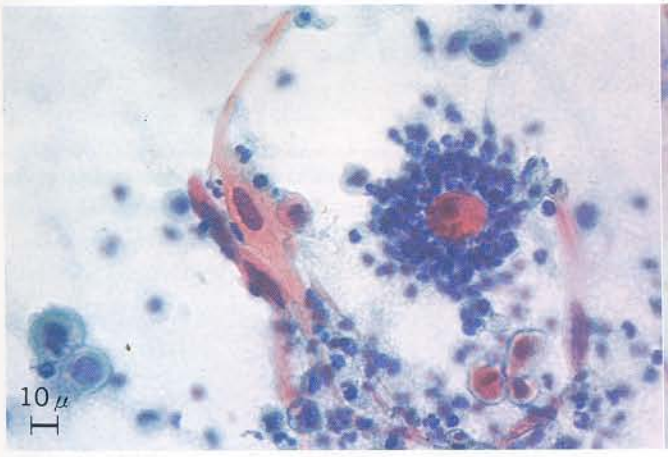
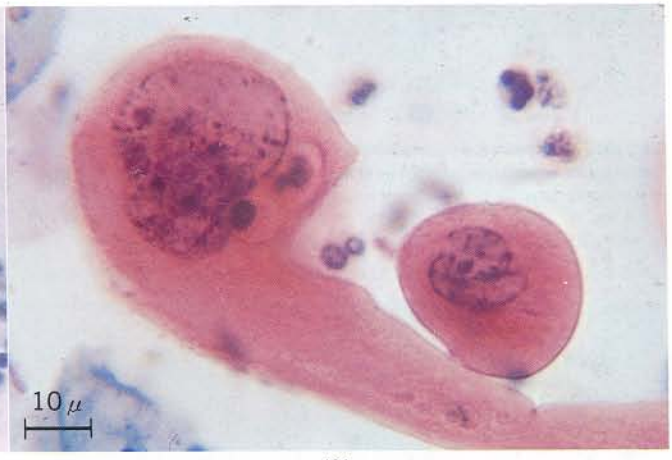


Fig. 399. Carcinoma de células vidriadas del cuello uterino en una mujer de 31 años. *a*, La histología muestra unas láminas sólidas anastomosadas de células cancerosas poliédricas. La moderada cantidad de citoplasma acintado produce un aspecto en vidrio esmerilado. Nótese el estroma fino, densamente infiltrado por linfocitos y plasmocitos. *b*, Lámina de células cancerosas con membranas nucleares nítidas y macronucléolos centrales. *c*, Células cancerosas bien preservadas en impresiones de la pieza biopsiada. La distribución en lámina plana suele ser de origen pavimentosocelular, pero el citoplasma celeste y acintado y los núcleos redondos con macronucléolos centrales indican que se trata de un adenocarcinoma.



400



401

402

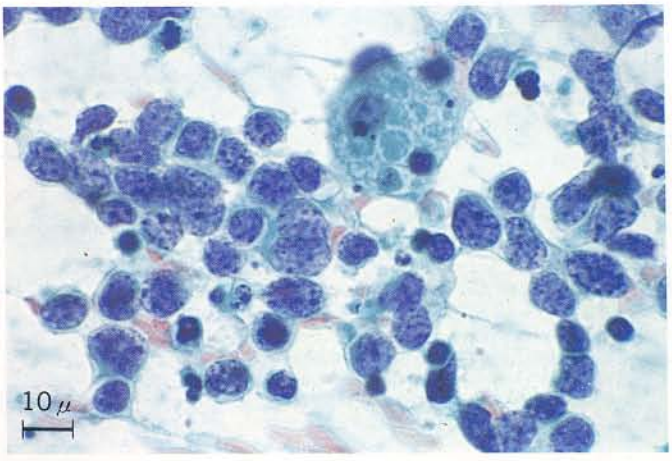


Fig. 400. Bala de cañón y células fibrosas en un extendido de carcinoma epidermoide invasor. Nótese la densa aglomeración de leucocitos polimorfonucleares en torno de la célula cancerosa degenerada. Se ven células fibrosas diferenciadas que poseen intensa naranjofilia.

Fig. 401. Célula en renacuajo y célula del tercer tipo en un carcinoma epidermoide diferenciado, vistas con mucho aumento. La cabeza del "renacuajo" contiene un gran núcleo degenerado y el citoplasma de la cola es finamente fibrilar. Graham denomina célula del tercer tipo a la célula cancerosa diferenciada que semeja una célula parabasal; nótese la intensa naranjofilia por la queratinización.

Fig. 402. Carcinoma de células pequeñas en un extendido cervical. De una mujer de 31 años. Nótese la semejanza con el carcinoma de células de avena del pulmón. Las células tumorales difieren del carcinoma pavimentoso poco diferenciado en sus rasgos nucleares y en su distribución, porque son muy hipercromáticas y poseen cromatinas punteadas gruesas, con tendencia a desintegrarse.

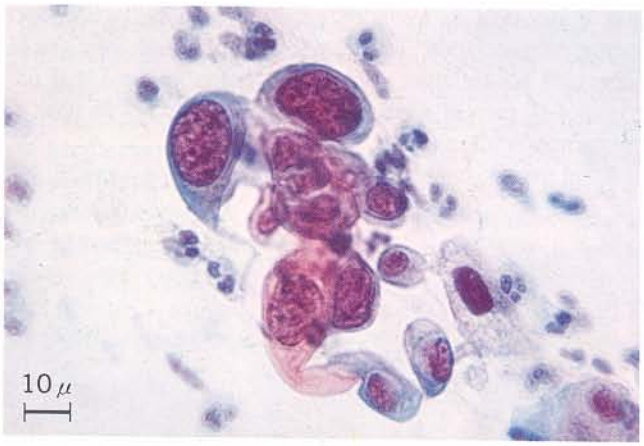


Fig. 403. Invasión incipiente por células carcinomatosas epidermoides queratinizantes diferenciadas. Nótese el polimorfismo del citoplasma, con reacción tintorial cianófila o acidófila, alta relación N/C y aglomeración gruesa de la cromatina. El fondo es limpio en el carcinoma invasor incipiente.

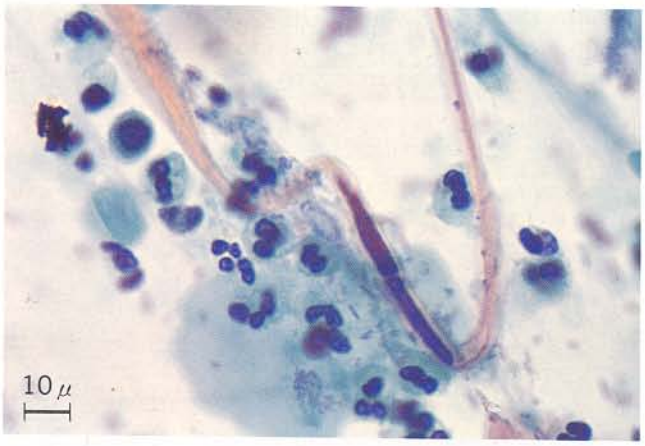


Fig. 404. Células fibrosas de un carcinoma epidermoide diferenciado. El citoplasma es elongado a modo de una fibra y bien definido. La naranjofilia del citoplasma se debe a la queratinización del carcinoma epidermoide.

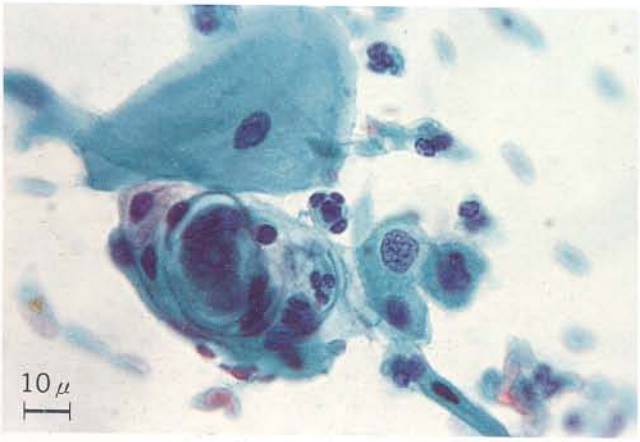


Fig. 405. Formación de perlas en un carcinoma epidermoide diferenciado. Nótese el remolino característico que forman los núcleos malignos picnóticos. En el centro de la perla hay núcleos densos aglomerados.

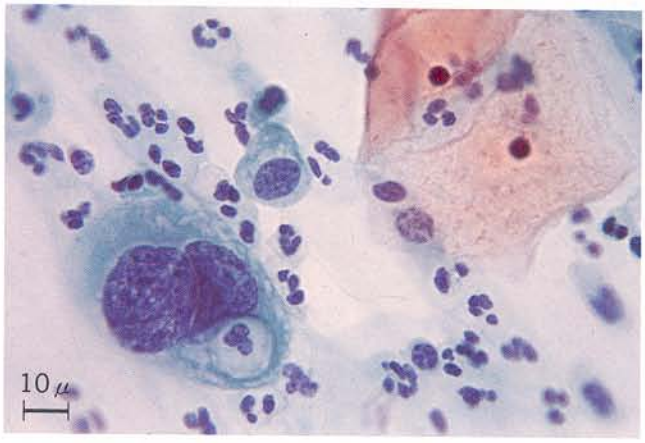


Fig. 406. Células de carcinoma epidermoide no queratinizante con binucleación. Estas células enormes con cromatinas granulares gruesas pertenecen a un carcinoma invasor.

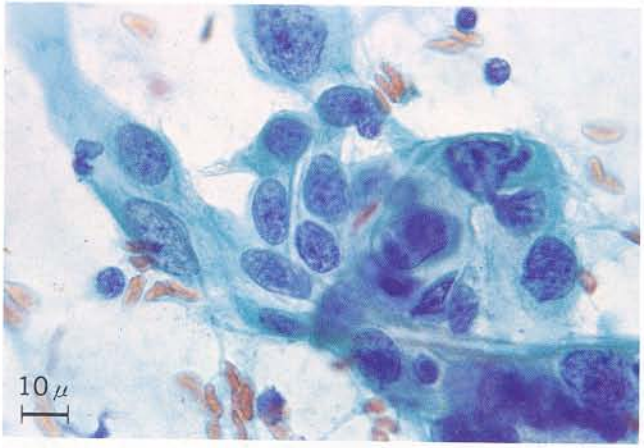


Fig. 407. Células de carcinoma epidermoide no queratinizante de tipo transicional. Este carcinoma epidermoide común se conoce como transicional o intermedio. La citología se caracteriza por: 1) moderada cantidad de citoplasma, 2) aglomeraciones celulares en empedrado y 3) espacios intercelulares hendidos.

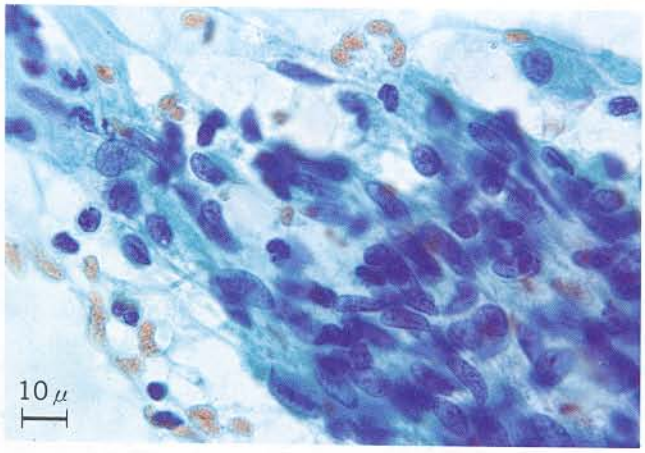


Fig. 408. Células cancerosas fusiformes de un carcinoma epidermoide poco diferenciado. Estas células cancerosas poco diferenciadas se deben distinguir de las células en fibra o en víbora del carcinoma epidermoide diferenciado y de las células sarcomatosas. Puntos diferenciales: 1) citoplasma mal preservado, 2) engrosamiento de los bordes nucleares por una condensación de cromatina que no ocurre en el sarcoma y 3) exfoliación de células malignas en una gran aglomeración, lo cual no sucede en el carcinoma *in situ*.

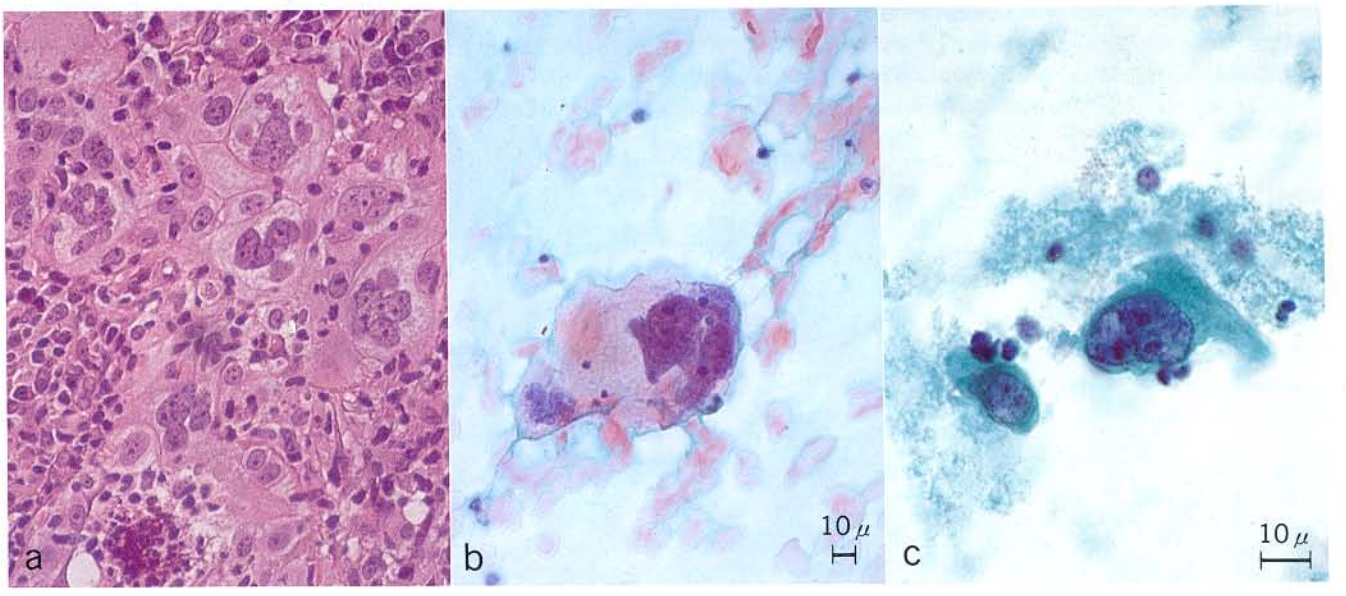


Fig. 409. Carcinoma gigantocelular indiferenciado del cuello uterino. *a*, La histología muestra unos nidos sólidos constituidos por células cancerosas polimórficas de núcleos grotescos. *b*, Célula gigante con núcleo caprichoso. *c*, Célula gigante multinucleada con citoplasma indistinto.

citólogos deben prestar atención a 1) la distinción respecto de la discariosis endocervical o de la displasia glandular, 2) decidir la malignidad en el caso de adenocarcinoma bien diferenciado y 3) diferenciar el adenocarcinoma de acuerdo con su origen, como endocervical, endometrial y extrauterino.

La *discariosis endocervical*, conocida como displasia glandular endocervical, sería un derivado de la *hiperplasia de células de reserva* de las glándulas endocervicales; su citología se caracteriza por hipertrofia nuclear, hipercromatismo simple sin anormalidad de la trama de cromatina y alta relación N/C.

2) Adenocarcinoma *in situ*. Los estudios sobre la entidad del adenocarcinoma *in situ*, análoga a la del carcinoma espinocelular *in situ*, vienen apareciendo en forma esporádica desde que Helper y col. (1952) y Friedell y McKay (1953) describieron el adenocarcinoma endocervical preinvasor. Es frecuente la coexistencia de adenocarcinoma *in situ* (AIS) con carcinoma espinocelular *in situ;* Weisbrot y col.[155, 205] lo describieron en 6 de 8 casos y Qizilbash en 5 de 14 casos. En consecuencia, es probable que la citología sea oscurecida por la extensión del carcinoma espinocelular *in situ*.

Histología. Los elementos glandulares están revestidos por células columnares seudoestratificadas bien diferenciadas; los núcleos son de tamaño y morfología bastante uniformes, y están dispuestos en empalizadas con polaridad. Es muy difícil determinar la microinvasión si no se demuestra atipia estructural, como confluencia de glándulas, la llamada "lesión espalda con espalda" y brotes neoformados irregulares.

Citología. Es característica la exfoliación de grupos y láminas constituidas por células columnares hipercromáticas

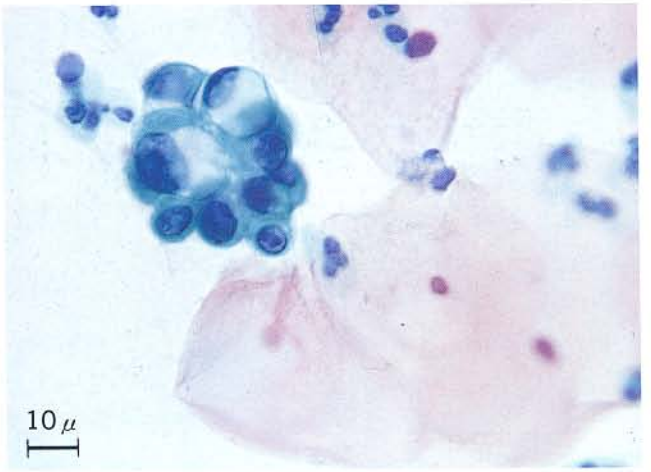


Fig. 410. Discariosis endocervical. Estas células endocervicales están dispuestas en túbulos, los núcleos son pequeños pero de tamaño variable y hay hipercromía. Puntos diferenciales: 1) distribución regular en torno de la luz, 2) nucléolo invisible y 3) ausencia de cromatinas gruesas.

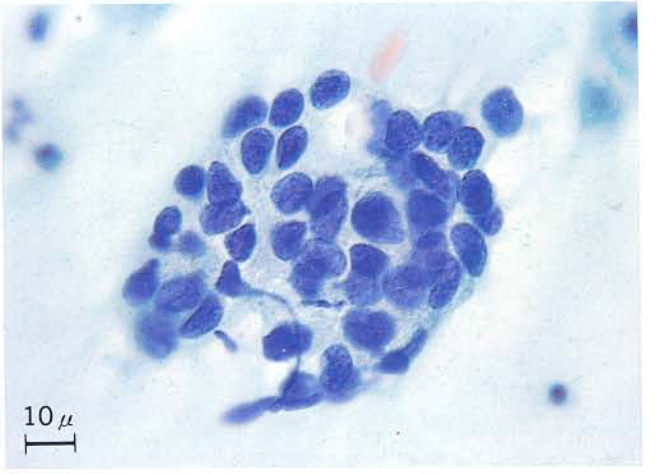


Fig. 411. Hiperplasia de células de reserva en un extendido cervical. El racimo y la estratificación de células denudadas con núcleos ovales o elípticos hipercromáticos significan hiperplasia de células de reserva. Los nucléolos no se ven y las cromatinas exhiben una condensación homogénea.

sobre un fondo claro. Las células tumorales de la aglomeración están apiladas, pero son seudoestratificadas y exhiben polaridad; un lado del borde, que corresponde a la superficie de la luz glandular, exhibe a veces la placa terminal nítida desprovista de núcleos. Estas aglomeraciones celulares se disponen en rosetas[88] (vistas de frente) o tubulares (vista lateral). Las láminas desprendidas de la superficie endocervical transformada en AIS se parecen a las del epitelio

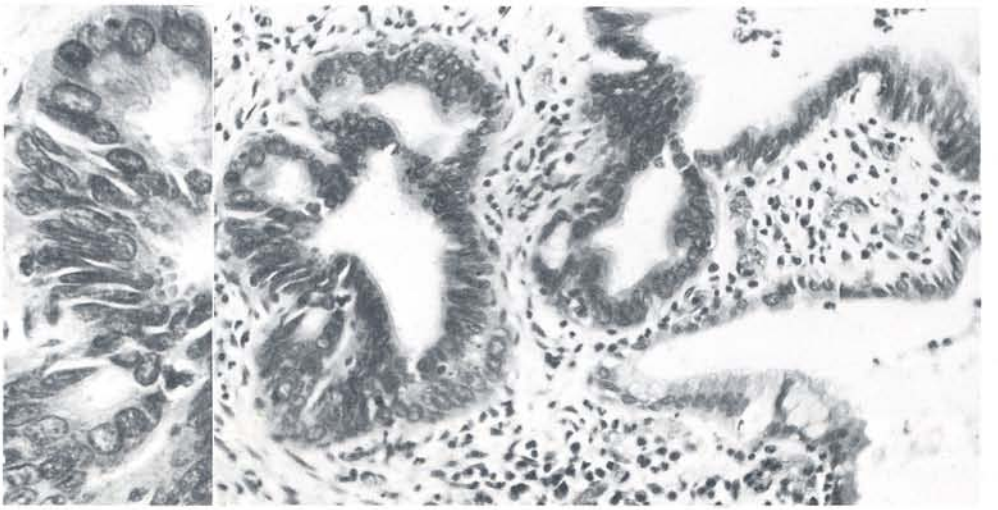
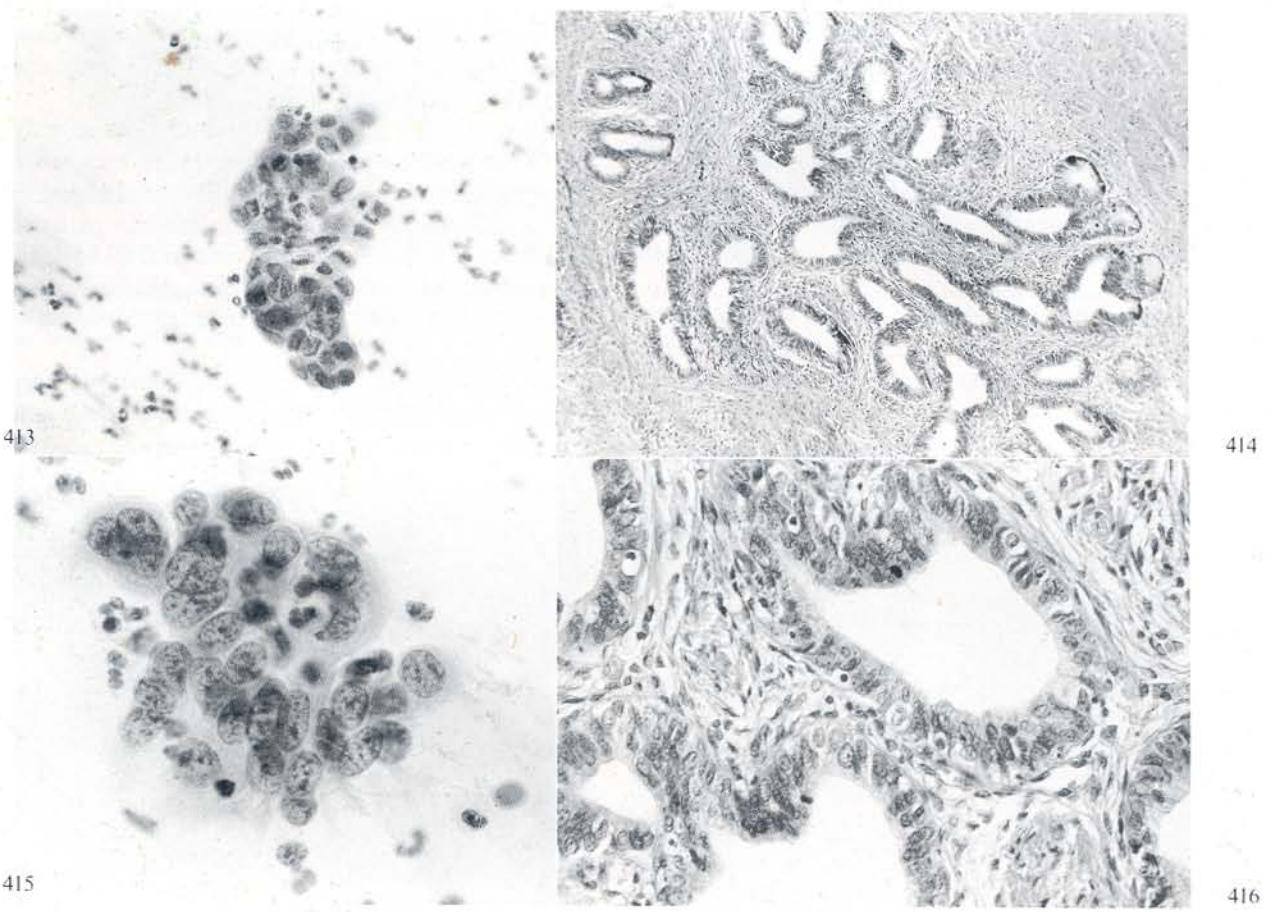


Fig. 412. Discariosis del epitelio endocervical. La discariosis se distingue del epitelio columnar normal por la multiplicación de las células epiteliales de revestimiento, cuyos núcleos son hipercromáticos y grandes, pero la trama racemosa normal de las glándulas endocervicales no está distorsionada y la polaridad celular se mantiene intacta.



Figs. 413 a 416. Adenocarcinoma incipiente de cuello uterino compatible con adenocarcinoma *in situ*.
Figs. 413 y 414. El extendido se caracteriza por muchos grupos de células malignas pequeñas. Los núcleos son ovales o elípticos y están dispuestos en empalizada. Nótense las cromatinas granulares gruesas y los nucléolos visibles, que no ocurren en la hiperplasia de células de reserva. No hay diátesis tumoral.
Figs. 415 y 416. Glándulas atípicas en la submucosa que conservan sus rasgos y su localización preexistentes. La imagen ampliada muestra el polimorfismo y la distribución irregular de los núcleos. Nótese que los núcleos están más cerca de la superficie del epitelio de revestimiento. Abundan las mitosis.

endocervical, pero son más grandes y de morfología irregular. Las células tumorales que comprenden la glándula o la lámina conservan su forma columnar. Los núcleos se hallan agrandados con uniformidad y su tamaño y su morfología varían menos de una célula a otra que en el caso del adenocarcinoma invasor. Las cromatinas, consistentes en gránulos de mediano tamaño, se hallan dispersas con uniformidad. Se disciernen uno o dos nucléolos, pero no son prominentes; la prominencia de los nucléolos es más sugestiva de carcinoma invasor.

3) Adenocarcinoma invasor. Además de la clasificación por etapas, al adenocarcinoma cervical se lo divide de acuerdo con el grado de diferenciación histológica. Mientras que el adenocarcinoma poco diferenciado consiste en masas sólidas de células cancerosas con estructuras glandulares poco definidas, el adenocarcinoma diferenciado exhibe modalidades de crecimiento variadas, como los tipos giriforme, papilífero y glandular cervical ordinario.

Histología. El tipo giriforme presenta unos elementos glandulares ramificados con plegamientos a modo de helechos, que están cubiertos por unas células cancerosas columnares altas y claras. El tipo glandular cervical ordinario se caracteriza por una armazón de tipo glandular preexistente, excepto que hay mayor celularidad y atipia (*adenoma maligno*). El tipo endometrioide consiste en unas glándulas densamente aglomeradas, cubiertas por un citoplasma columnar bajo y muy eosinófilo. El tipo cistadenoideo es una neoformación rara que ilustra unas estructuras cribiformes consis-

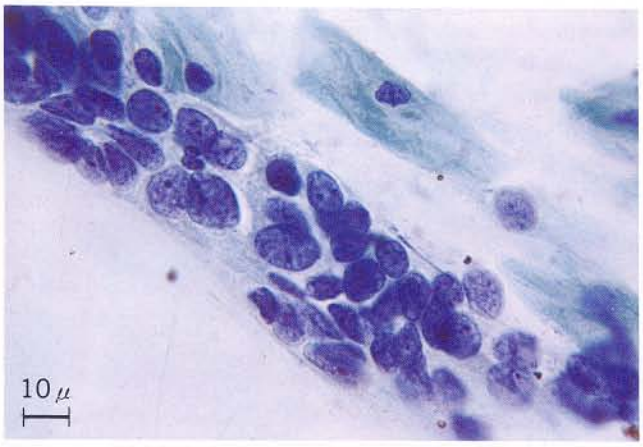


Fig. 417. Adenocarcinoma *in situ* en un extendido cervical. Las células cancerosas de origen endocervical tienden a carecer de citoplasma. Puntos diferenciales: 1) aglomeración irregular de núcleos elípticos y fusiformes, 2) hipercromatismo repleto de partículas de cromatina compactas, 3) presencia de nucléolos y 4) falta de diátesis tumoral.

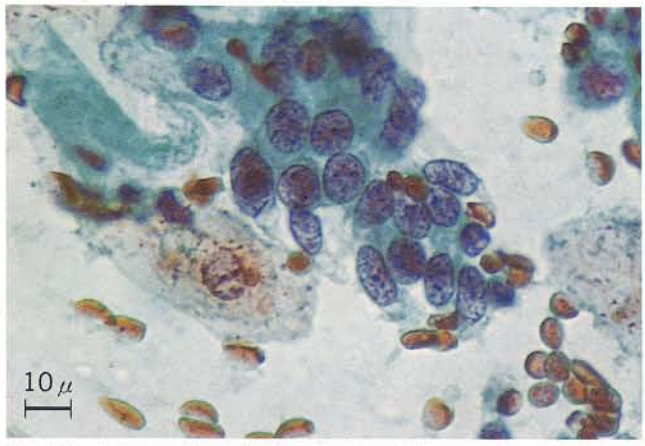


Fig. 418. Adenocarcinoma *in situ* en un extendido cervical. Aglomeración de células elongadas que tienen unos núcleos hipercromáticos elípticos. Se ven los nucléolos.

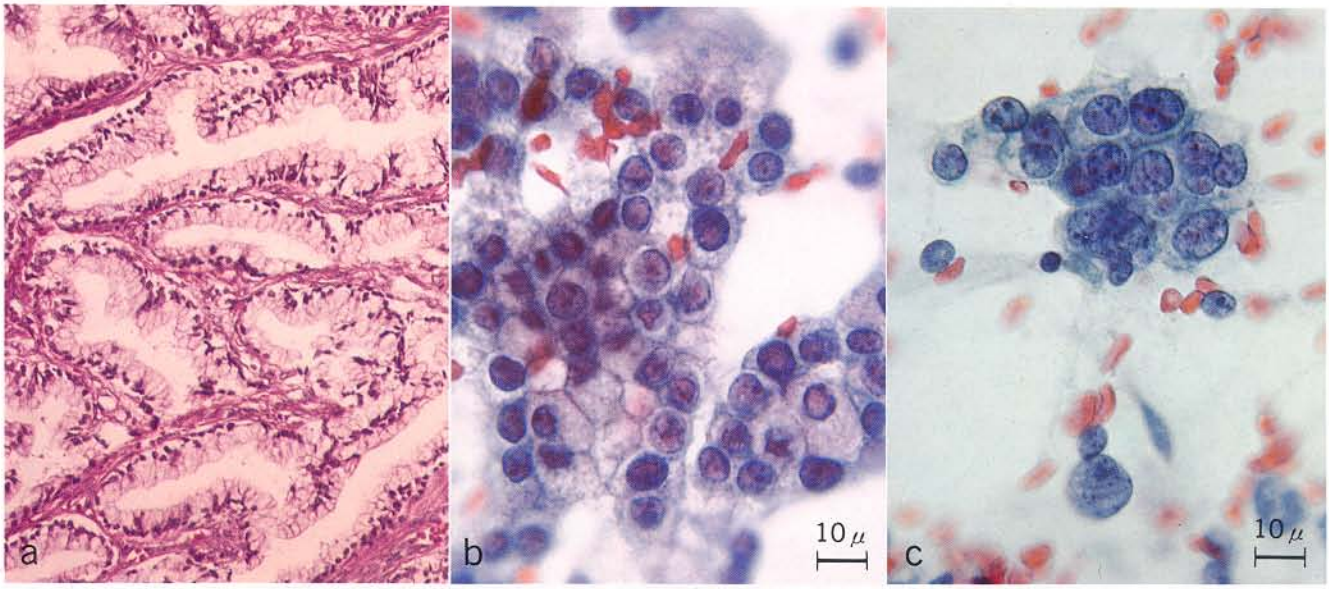


Fig. 419. Células de adenocarcinoma diferenciado en una gran lámina o aglomeración densa. *a*, Histología. El tipo giriforme muestra las glándulas cervicales dispuestas en hojas de helecho. El epitelio de revestimiento consiste en células columnares altas de núcleos basales. *b* y *c*, Citología. Núcleos redondos y de tamaño y morfología uniformes. El citoplasma es abundante y claro, y contiene mucha mucina. Además de estas células, nótese un denso racimo celular con núcleos redondos e hipercromáticos superpuestos, que hace el diagnóstico de adenocarcinoma cervical.

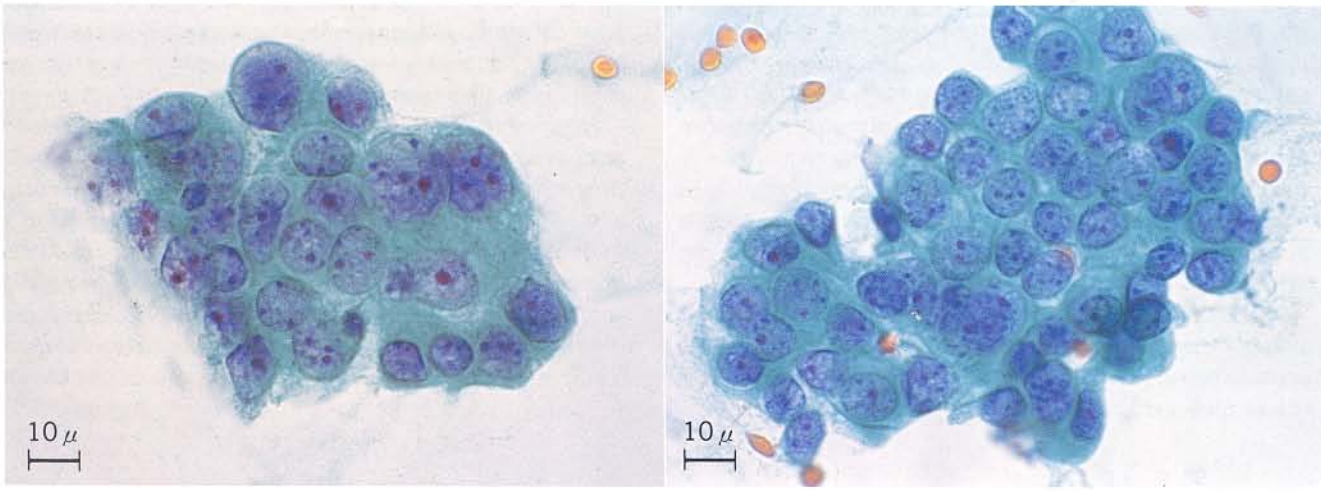


Fig. 420. Adenocarcinoma diferenciado del cuello uterino. Gran lámina con rasgos distintivos de adenocarcinoma cervical. Puntos diferenciales: 1) grandes láminas de tamaño variable, 2) macronucléolos eosinófilos múltiples, 3) bordes nucleares delicados y lisos y 4) partículas de cromatina dispersas con uniformidad, pero compactas. Las células bien preservadas poseen moderada cantidad de citoplasma bien coloreado, pero de bordes irregulares.

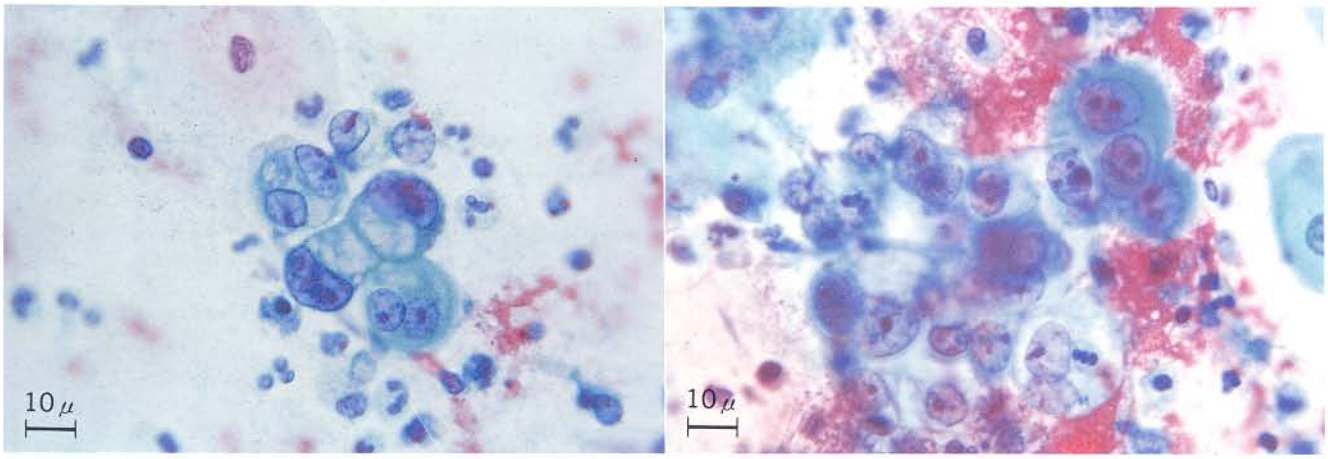


Fig. 421. Células adenocarcinomatosas que elaboran mucina y metaplasia pavimentosa del cuello uterino. Estas células aglomeradas son típicas de adenocarcinoma cervical y exhiben vacuolas excretorias, núcleos excéntricos de bordes lisos y macronucléolos eosinófilos. Nótese una metaplasia pavimentosa focal que se caracteriza por un citoplasma opaco intensamente teñido por el verde claro, bordes celulares nítidos y macronucléolos eosinófilos persistentes.

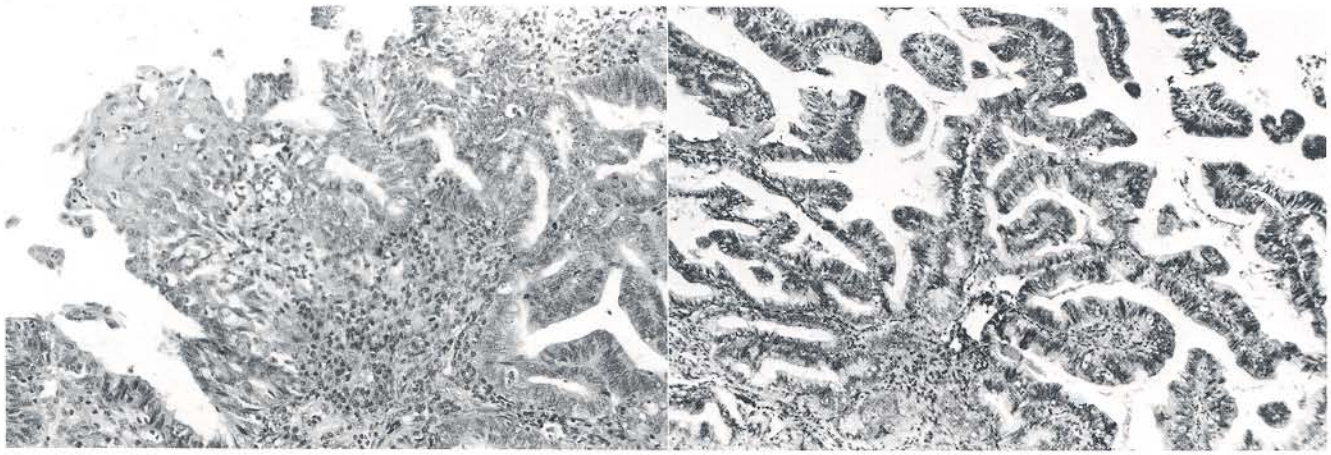


Fig. 422. Histología del adenocarcinoma del cuello uterino. Las partes principales del cáncer consisten en adenocarcinoma papilotubular; los túbulos papilares están tapizados por varios estratos de células cancerosas columnares. Hay transición de adenocarcinoma a carcinoma pavimentoso metaplásico. El citoplasma es ancho y grueso, y tiene un aspecto céreo. Los núcleos son picnóticos o se han colicuado.

tentes en células cancerosas intensamente coloreadas que semejan células basales. El estroma es escaso como en el carcinoma endometrioide (fig. 445). Este tipo puede aparecer en la etapa incipiente del carcinoma cervical endometrioide (fig. 442).

Citología. En general, las células del adenocarcinoma cervical aparecen aglomeradas y con superposiciones. Los rasgos distintivos son la distribución irregular (polaridad distorsionada), las distancias variables de núcleo a núcleo y la variación del tamaño nuclear. Los núcleos están mejor preservados y son más grandes que los del carcinoma endometrial, pero, en cambio, las variaciones de la morfología nuclear son inconspicuas y los núcleos son redondos u ovales y de contornos lisos. Los rasgos importantes para determinar malignidad, cualquiera que sea la diferenciación citoplasmática, son la prominencia de los nucléolos, en particular en presencia de macronucléolos acidófilos, y la variación de su cantidad. La producción de moco detectada mediante tinción con PAS y/o azul alciano,[31] orienta hacia la variedad mucinosa de adenocarcinoma cervical diferenciado. Muchas veces hasta en la forma poco diferenciada se observan tinciones punteadas en el citoplasma.

Carcinoma combinado

No es infrecuente encontrar una combinación de adenocarcinoma y carcinoma espinocelular. Se mencionó una mayor incidencia de carcinoma combinado en mujeres embarazadas.[47, 185] En vista de que la morfogénesis del carcinoma combinado es distinta, se debe interpretar con exactitud su subclasificación. En la clasificación de tumores del cuello uterino de la OMS sólo se usa el término carcinoma adenopavimentoso como un tumor en que aparecen entremezclados los elementos adenocarcinomatosos y carcinomatosos pavimentosos. También se propusieron diversos términos, como carcinoma mixto (Skinner y McDonald,[176] Glücksmann y Cherry[48]), carcinoma adenopavimentoso (Ng,[124] Steiner y Friedell[185]), carcinoma basocelular cistadenoideo (Moss y Collins[112]) y adenoacantoma (Ayre,[7] Novak y Nalley[131]). No se debe confundir el carcinoma mixto con el tumor mixto mülleriano, que es un carcinosarcoma.

1. Los cánceres dobles, metacrónicos o sincrónicos, son los que se originan en sitios distintos del endocérvix y ectocérvix.
2. El carcinoma adenopavimentoso constituido por dos componentes de células cancerosas distintos es el tipo que exhibe diferenciación hacia elementos pavimentosos y glandulares de células neoplásicas bipotentes, que pueden provenir de las células de reserva que están en la profundidad del epitelio endocervical columnar.
3. El adenoacantoma es una variedad de adenocarcinoma que exhibe metaplasia pavimentosa madura *in situ* (figs. 421b y 422); los elementos pavimentosos metaplásicos aparentan estar bien diferenciados y existen dentro de las glándulas.
4. El carcinoma mucoepidermoide se caracteriza por aglomeraciones de células mucíparas dentro de nidos sólidos de células cancerosas epidermoides. Este carcinoma mixto no es tan común en el cuello uterino como en la glándula salival o bronquio. A este grupo pertenecería la "variante de

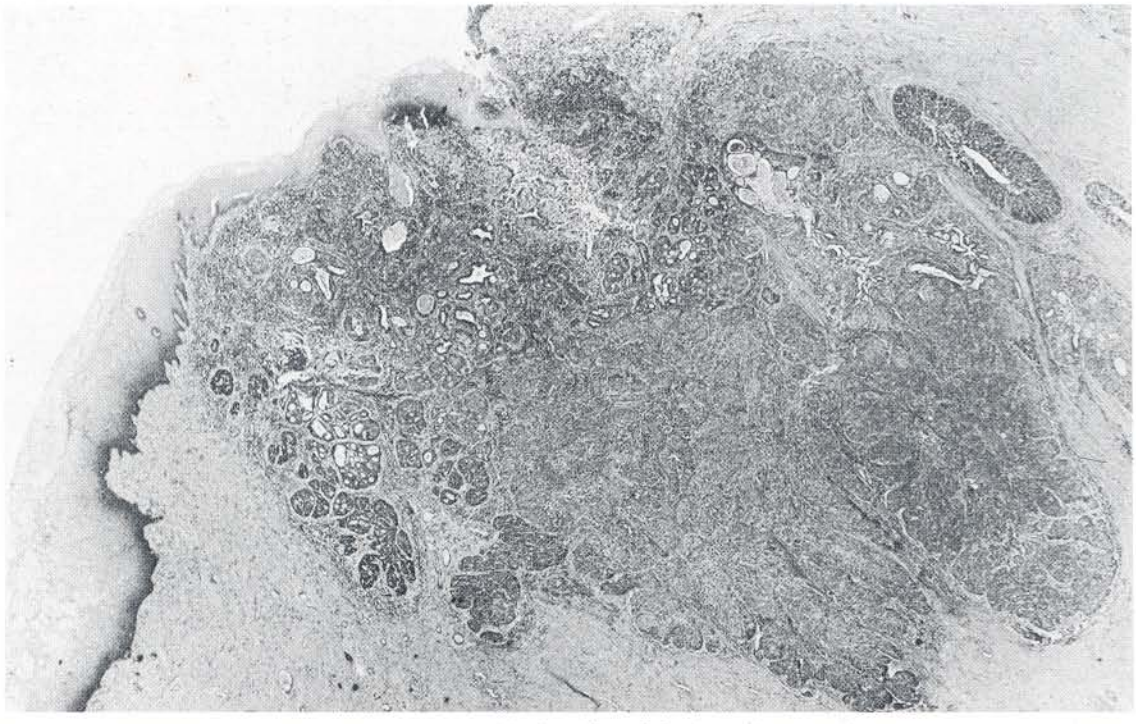


Fig. 423. Vista con poco aumento de un carcinoma adenopavimentoso originado en el área de la unión pavimentosocolumnar. La mayor parte del tumor consiste en masas sólidas de pequeñas células cancerosas anaplásicas de tipo basal, pero la diferenciación adenocarcinomatosa aparece en las áreas focales superficiales del tumor. La amplia extensión del carcinoma *in situ* (fig. 424a) a lo largo del endocérvix es un hallazgo digno de mención, que explica la morfogénesis de este carcinoma adenopavimentoso. Es probable que el carcinoma *in situ* existiese antes de la invasión y quedase en el endocérvix (fig. 424b), derivado quizá de la hiperplasia de células de reserva, o sea de células indiferenciadas multipotenciales. Es muy posible que, al cancerizarse, las células cancerosas indiferenciadas vayan a la diferenciación glandular, así como a la diferenciación pavimentosa.

carcinoma mixto en anillo de sello'' que describieron Glücksmann y Cherry (1956).[48]

Citología. El cuadro citológico del carcinoma adenopavimentoso mixto se caracteriza por una mezcla de células malignas de origen epidermoide y glandular, pero estas células son distintas entre sí. La cantidad de cualquiera de los tipos de células malignas depende del predominio histológico. El adenoacantoma sólo se sospecha cuando aparecen células metaplásicas pavimentosas en continuidad con aglomeraciones celulares de origen adenocarcinomatoso. Las células cancerosas metaplásicas pavimentosas poseen núcleos con rasgos de tipo glandular, a pesar de la diferenciación epidermoide del citoplasma; los bordes nucleares son lisos y hay nucléolos prominentes, con eosinofilia.

Carcinoma extrauterino

Es raro que se detecte un carcinoma extrauterino en los extendidos cervicales. Ng y Reagan[123] encontraron células malignas de origen extrauterino en 66 de unos 600.000 preparados citológicos; el sitio primario más común fue el ovario (42,1 %), seguido por el tracto gastrointestinal

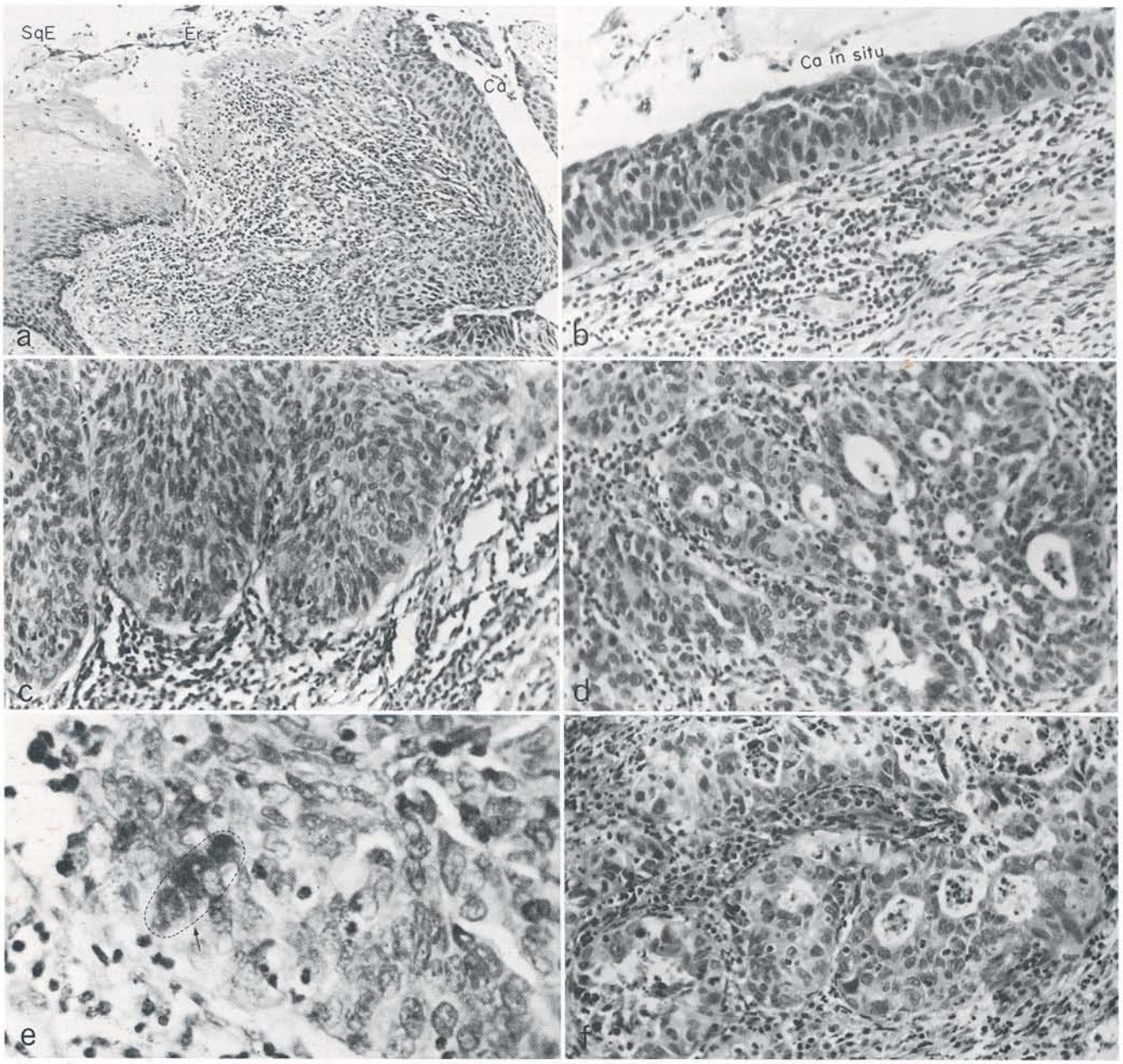


Fig. 424. Detalles de diversas partes de un carcinoma adenopavimentoso invasor vistos con gran aumento. *a*, El área superficial exhibe una erosión cerca del epitelio pavimentoso. Es muy común que la erosión de la superficie se asocie con carcinoma microinvasor. La punción biopsia o el raspado incorrecto del área erosiva puede dar resultado negativo falso. *Er*, erosión; *SqE*, epitelio pavimentoso estratificado; *Ca*, carcinoma *in situ*. *b*, Carcinoma *in situ* propagado en dirección proximal a lo largo del endocérvix. *c*, Perfil del tumor, con una voluminosa neoformación constituida por nidos sólidos de células fusiformes anaplásicas. *d* a *f*, Componente adenocarcinomatoso del tumor. Nótense la distribución glandular de las células cancerosas y los gránulos PAS positivos en los nidos celulares sólidos (*flecha*).

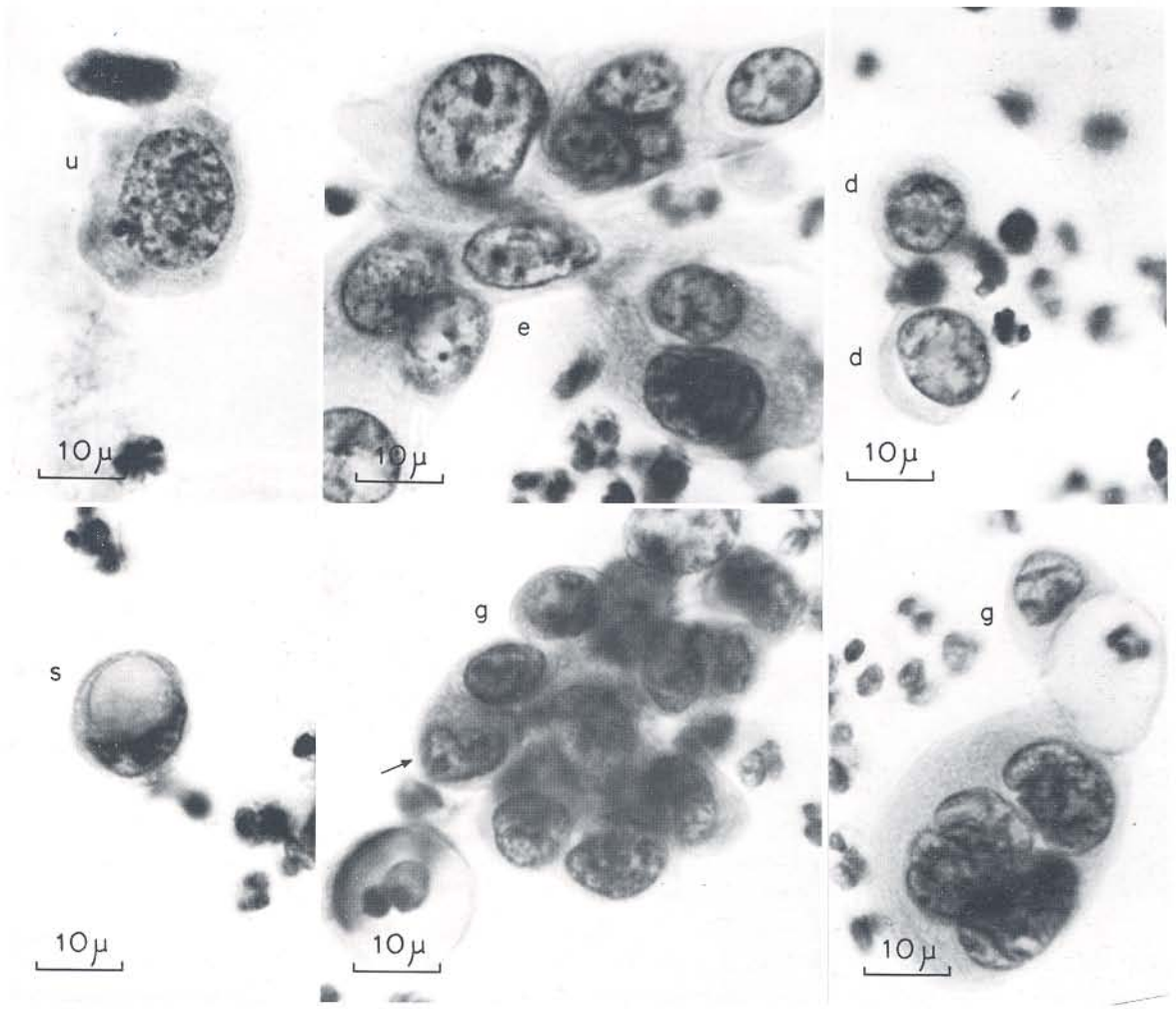


Fig. 425. Células representativas de carcinoma adenopavimentoso en los extendidos cervicales. Caso de las figuras 423 y 424. Hay diversas células malignas, que comprenden los tipos epidermoide y glandular. Las células cancerosas indiferenciadas se identifican por su citoplasma basófilo escaso y por los bordes celulares indefinidos (*u*). Las células cancerosas epidermoides sólo se reconocen por su distribución en empedrado (*e*). El tipo glandular de células malignas se caracteriza por superposiciones nucleares (*g*) y por anillos de sello (*s*). También hay células discarióticas con núcleos blandos (*d*).

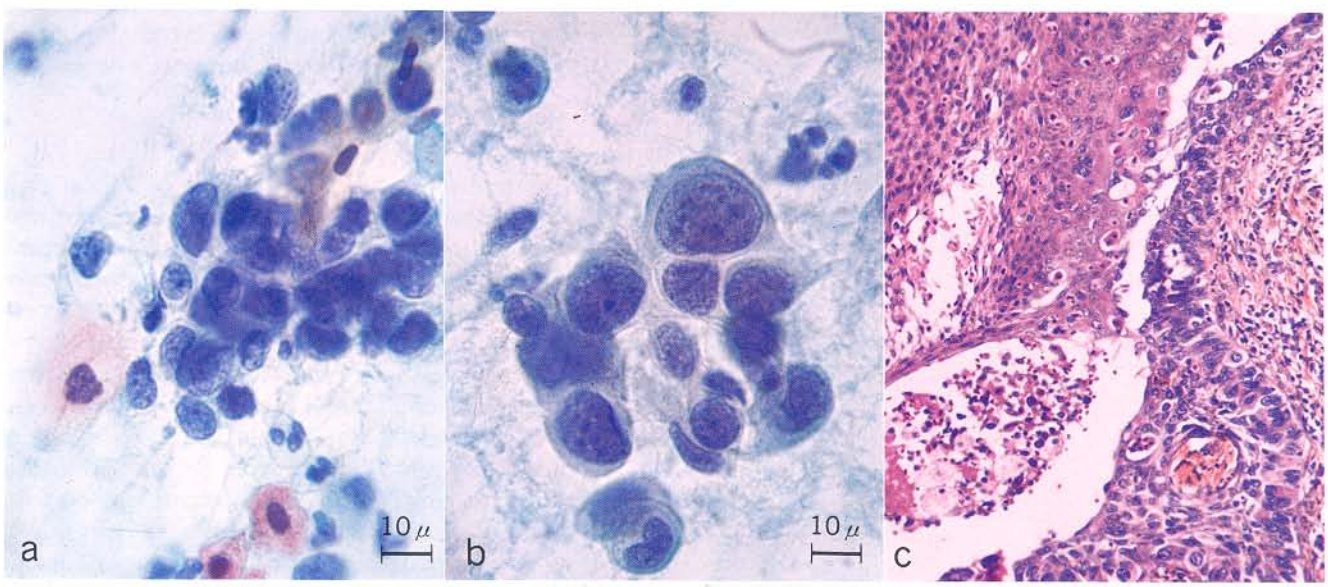


Fig. 426. Células malignas de un carcinoma adenopavimentoso constituido por células cancerosas con diferenciación hacia los tipos glandular y epidermoide. *a*, Células adenocarcinomatosas endocervicales aglomeradas, que se consideran provenientes de un adenocarcinoma incipiente. *b*, Células carcinomatosas epidermoides de tipo parabasal. *c*, El corte histológico muestra diferenciación hacia adenocarcinoma (incipiente) y hacia carcinoma epidermoide al mismo tiempo.

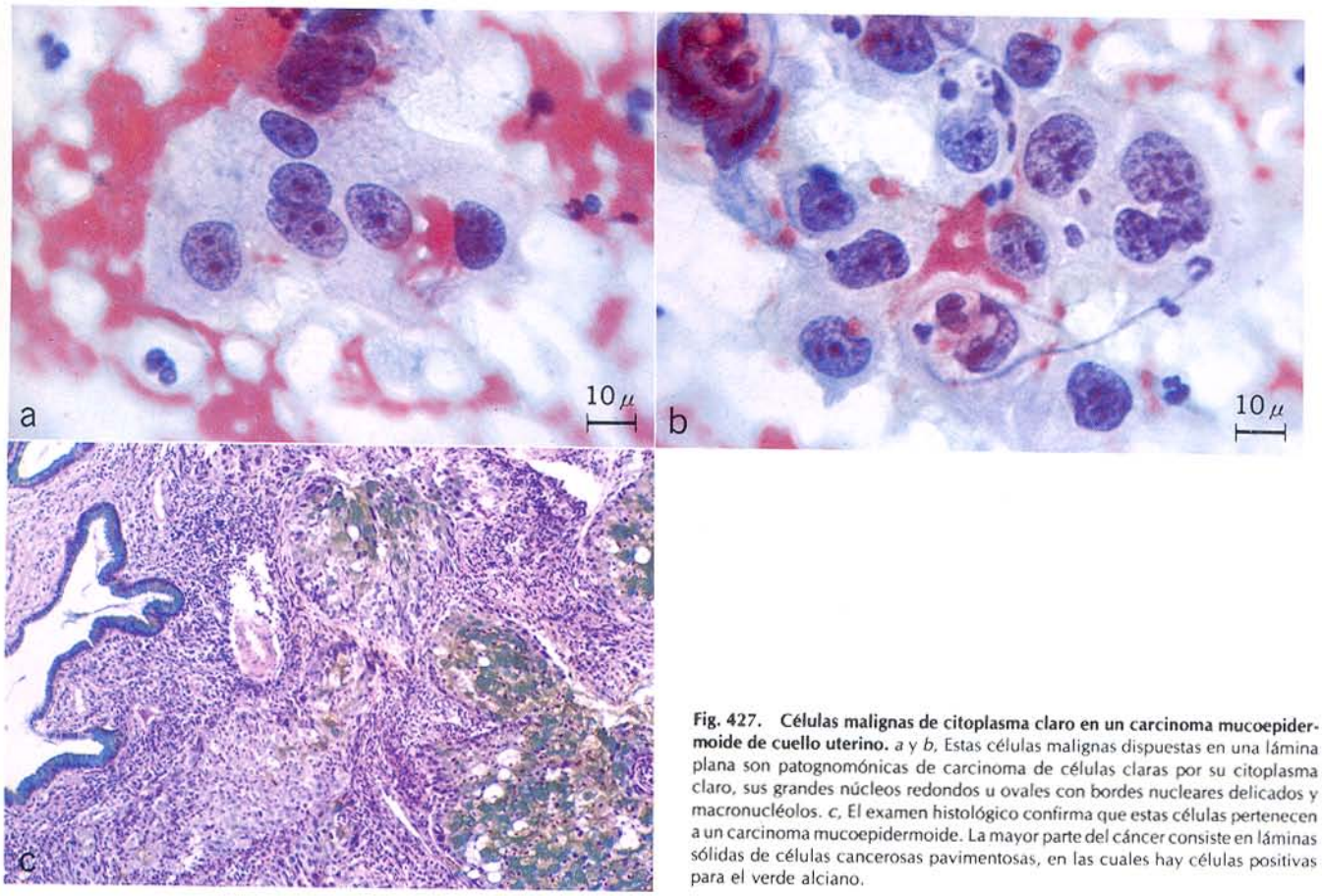


Fig. 427. Células malignas de citoplasma claro en un carcinoma mucoepidermoide de cuello uterino. *a* y *b*, Estas células malignas dispuestas en una lámina plana son patognomónicas de carcinoma de células claras por su citoplasma claro, sus grandes núcleos redondos u ovales con bordes nucleares delicados y macronucléolos. *c*, El examen histológico confirma que estas células pertenecen a un carcinoma mucoepidermoide. La mayor parte del cáncer consiste en láminas sólidas de células cancerosas pavimentosas, en las cuales hay células positivas para el verde alciano.

(19,8 %), trompa uterina (7,5 %), páncreas (6,1 %), etc. También existe la posibilidad de una propagación cancerosa directa desde órganos adyacentes, como recto y vejiga urinaria. Es difícil determinar por los rasgos citológicos solamente si las células malignas de los extendidos cervicales pertenecen a un tumor primario o metastásico. Las evidencias sugestivas del origen extrauterino se resumen así:

1) No hay diátesis tumoral o ésta es inconspicua, no importa que exista hemorragia o no; 2) las células tumorales provenientes de los adenocarcinomas de otros sitios suelen ser glandulares o papilíferas y en ocasiones aparecen aisladas; 3) no existe ninguna alteración atípica concomitante ni afín (alteración displásica) en las células del epitelio cervicoendometrial; 4) pueden ocurrir rasgos específicos que son inusuales en los tumores uterinos, como cuerpos psamomatosos, enormes aglomeraciones papilíferas y blastocitos a modo de mórulas. Los cuerpos psamomatosos y las aglomeraciones celulares papilíferas enormes son peculiares del carcinoma de ovario, en tanto que las bolas celulares morulares son comunes en el carcinoma de mama y de páncreas.

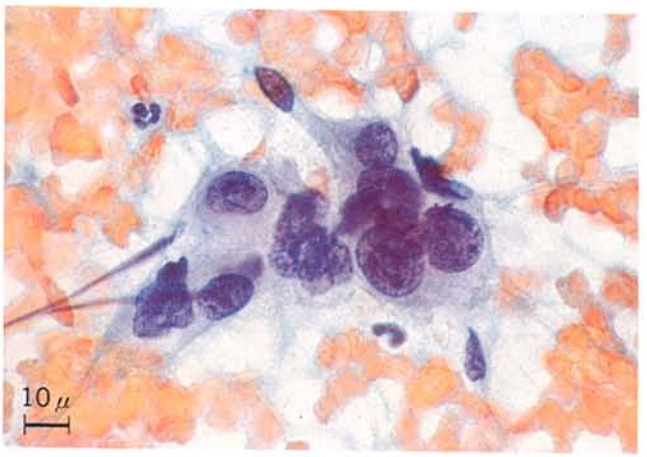


Fig. 428. Adenocarcinoma extrauterino propagado por contigüidad al cuello uterino desde el recto. En un extendido hemorrágico aparecen células cancerosas bien preservadas en una aglomeración densa. El apilamiento de los núcleos en empalizada sugiere carcinoma tubular. No se ve diátesis tumoral.

14. Carcinoma de células claras

En un sentido amplio, el carcinoma de células claras comprende el carcinoma de células claras paramesonéfrico y el carcinoma mesonéfrico. Además se incluye a veces al carcinoma endometrioide y al cistadenocarcinoma seroso, que exhibe imágenes de células claras similares.[170] No cabe duda de que en el endosálpinx, endometrio y endocérvix existen células claras originadas en el conducto paramesonéfrico o conducto de Müller. El conducto mesonéfrico o de Wolff, del cual se forman el epidídimo, el conducto deferente y el conducto eyaculador común en el varón, involuciona en las mujeres y no participa en su sistema reproductivo.

Carcinoma de células claras paramesonéfrico. Este tumor sólido o quístico está constituido por láminas o cordones de grandes células claras que poseen núcleos hipercromáticos redondos. La distinción histoquímica es la reacción positiva para mucopolisacáridos neutros y mucicarmín.[69]

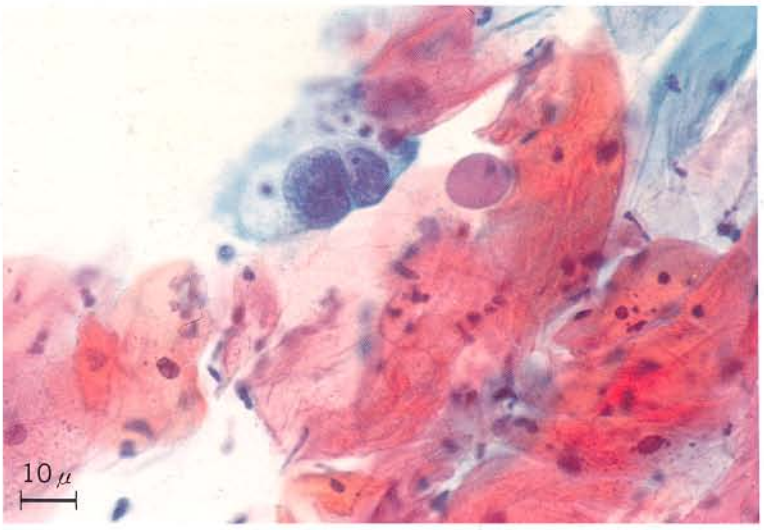


Fig. 429. Células de carcinoma extrauterino provenientes de un carcinoma de ovario. La alta relación nuclear citoplasmática, el pronunciado hipercromatismo nuclear y la vacuolización del citoplasma sugieren células cancerosas de probable tipo glandular. La ausencia de diátesis tumoral es un rasgo característico del carcinoma extrauterino.

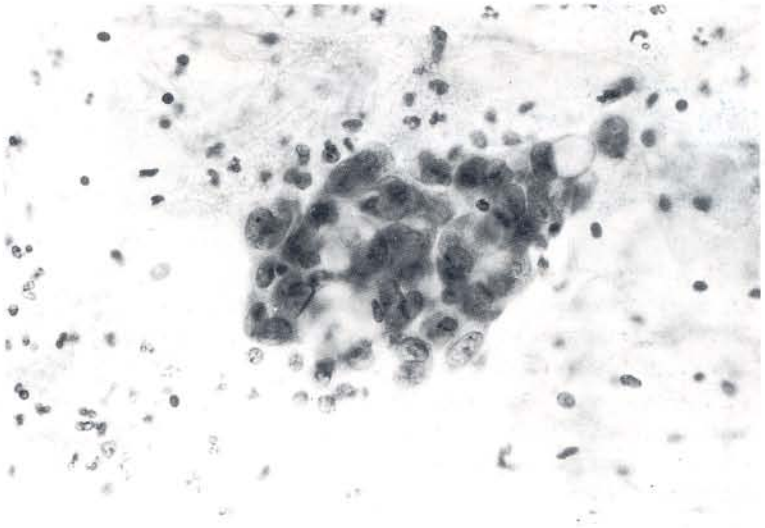


Fig. 430. Adenocarcinoma metastásico de endometrio en un extendido vaginal. Células cancerosas de origen gástrico dispuestas en un racimo con superposición celular. No hay diátesis tumoral en este extendido de una mujer con carcinoma extrauterino.

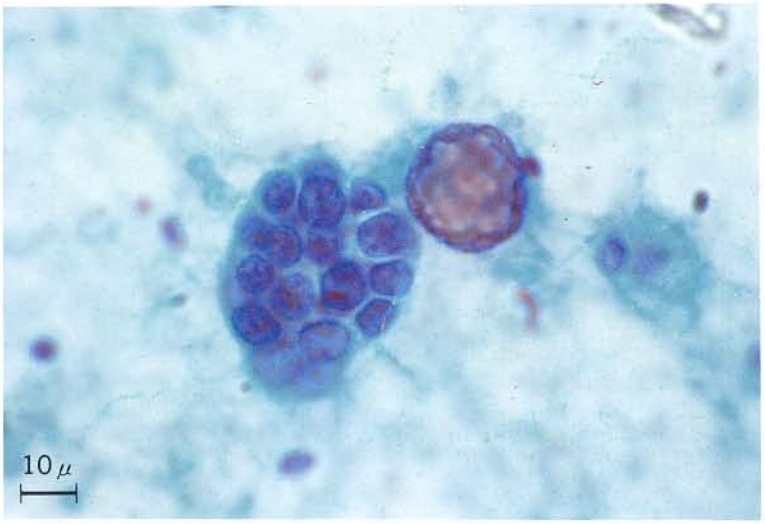


Fig. 431. Carcinoma extrauterino asociado con cuerpos psamomatosos en un aspirado endometrial. Esta aglomeración de células cancerosas con núcleos hipercromáticos bastante pequeños pertenece a una metástasis de carcinoma mamario. Se observan muchos cuerpos psamomatosos aislados o junto con las células cancerosas. (Gentileza del doctor Fujimoto, I., y del doctor Masubuchi, M., Hospital del Instituto del Cáncer, Tokio.)

Mesonefroma. El tumor maligno originado en restos del mesonefros, llamado mesonefroma (Schiller, 1939), se caracteriza por formaciones glandulares (glomerulares) y papilíferas de células columnares claras que exhiben unas vacuolas piriformes secretadas dentro de las luces (imagen en clavos de bellota). Las células tumorales son ricas en glucógeno y a veces son tingibles para grasas,[129] pero negativas para mucicarmín.

Adenosis y adenocarcinoma de células claras en niñas. En los últimos años se reconoció que la exposición prenatal al consumo materno de dietilestilbestrol y otros estrógenos sintéticos no esteroides, produce adenosis y adenocarcinoma de células claras del cuello uterino y la vagina en mujeres jóvenes después de la menarquia y se lo sindicó en la evolución del carcinoma de células claras.[64, 196, 201] La relación entre la frecuencia de este tumor en la vagina y en el cuello uterino es 1,6 a 1 en el registro de adenocarcinomas de células claras del tracto genital en mujeres jóvenes.[189] De acuerdo con el estudio de Sherman y col.,[173] quienes examinaron 487 mujeres de 13 a 25 años con antecedentes de exposición *in utero* a los estrógenos sintéticos (5 a 25 mg diarios), el 71 % tuvo un epitelio vaginal no glucogenado a la tinción con yodo. Aunque la asociación de adenosis vaginal con el uso prenatal de dietilestilbestrol es muy frecuente, se dice que el riesgo de adenocarcinoma es escaso, pues está comprendido entre el 0,1 % (Ulfelder[197]) y el 5 % (Stafl[183]). La adenosis se caracteriza por un solo estrato de células columnares mucinosas de tipo endocervical por disgenesia mülleriana. Estas células columnares mucinosas no sólo sustituyen al epitelio pavimentoso de la vagina, sino que se introducen en el estroma subyacente como un islote glandular.

Citología del carcinoma de células claras. Muchas veces es difícil identificar el carcinoma de células claras por su semejanza con las células benignas del endocérvix. Las células cancerosas se distinguen de las endocervicales en que son más grandes y de núcleos más polimórficos. El tumor se diagnostica por la presencia de uno o más nucléolos eosinófilos prominentes y por un citoplasma claro que contiene glucógeno. En caso de metrorragia inexplicable en niñas, es importante confirmar el antecedente materno de consumo de estilbestrol durante el embarazo y también realizar un examen citológico.

Addendum: Tumor del seno entodérmico. Aunque la mayoría de los tumores germinativos se forman en las gónadas, algunos ocurren en el mediastino anterior, región sacrococcígea, glándula pineal, etc. Teilum[194] define al tumor del seno entodérmico como un derivado extraembrionario del entodermo del saco vitelino. Éste es un tumor de células germinativas muy maligno que elabora α-fetoproteína. Antiguamente a este tumor se lo clasificaba en forma incorrecta en el grupo del mesonefroma (Schiller). La red vacuolada laxa con microquistes en panal de abejas de este tumor, se conoce como *magma reticulare* del mesodermo exocelómico o extraembrionario. Las células tumorales son anaplásicas pequeñas de núcleos hipercromáticos redondos, y pueden tapizar los espacios quísticos sinusoidales exhibiendo una imagen papilífera o papilotubular. Puede haber unos glóbulos hialinos eosinófilos positivos a la tinción PAS resistente a la digestión con diastasa. El estroma circundante es laxo y reticular. Desde el punto de vista embriológico, reviste interés la coexistencia de este tumor con otros carcinomas embrionarios o con el teratoma maligno, que se asocia con la producción de α-fetoproteína. Esta evidencia abona muy a favor de que este tumor deriva de las células germinativas.[40, 127, 192]

15. Hiperplasia y carcinoma de endometrio

Hiperplasia endometrial

El carcinoma endometrial de tipo diferenciado se debe distinguir de la hiperplasia endometrial con atipia; la hiperplasia endometrial despliega unas aglomeraciones compactas de núcleos basales, hipertróficos y de morfología redonda u oval uniforme, que miden unos 10 μ de diámetro. La reacción tintorial es más o menos pareja. Es infrecuente encontrar micronucléolos. La hiperplasia endometrial atípica de la lesión fronteriza de endometrio se caracteriza por una imagen papilífera de estratos múltiples con alteración de la

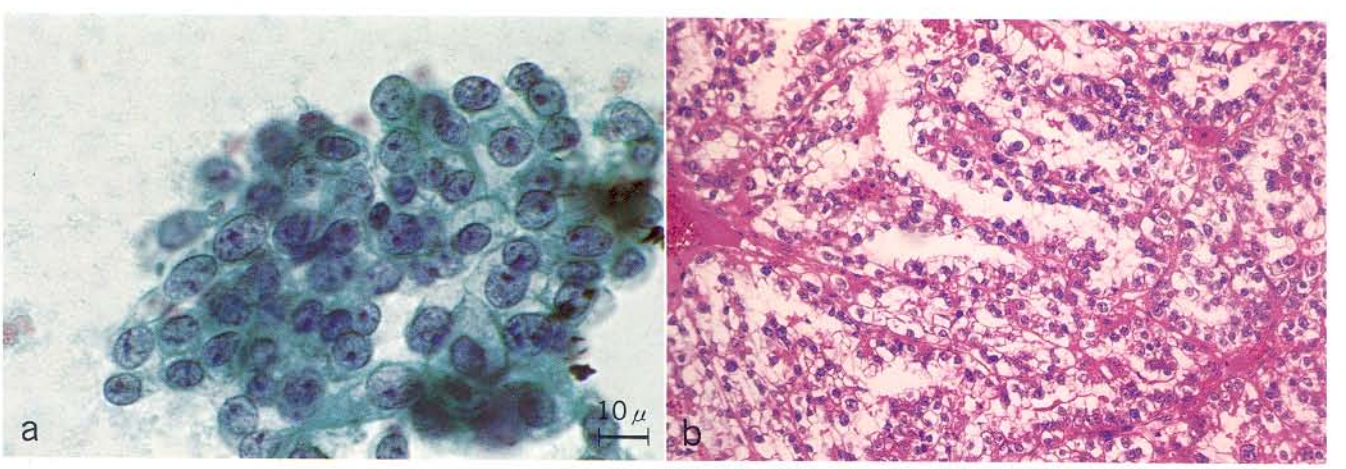


Fig. 432. Carcinoma de células claras del cuello uterino, sugestivo de origen mesonéfrico. *a*, La citología se caracteriza por un citoplasma claro y traslúcido y por núcleos redondos bastante pequeños, con uno o dos nucléolos prominentes, y no acusa nada que indique el origen mesonéfrico. *b*, En el preparado histológico aparecen columnas o cordones ramificados de células claras con núcleos redondos uniformes. Nótese la imagen característica en clavo calamón.

polaridad. Los núcleos son hipertróficos y poseen pocos micronucléolos.

El carcinoma endometrial es menos frecuente que el cervical en una relación de 1 a 7 u 8. En los últimos años esta proporción ha aumentado en forma gradual. El carcinoma del cuerpo del útero afecta a mujeres de mayor edad que el carcinoma del cuello, pues la incidencia culmina después de los 55 años.

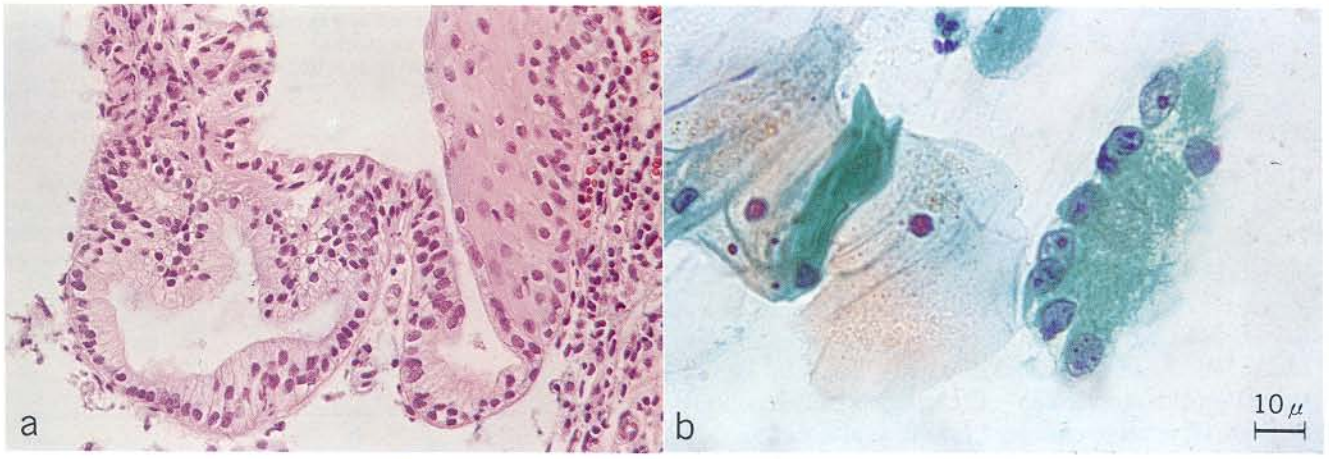


Fig. 433. Histología y citología de la adenosis vaginal. *a*, Histología. Vagina tapizada por células columnares altas en una joven de 18 años. En este caso no se pudo elucidar bien el antecedente de consumo prenatal de dietilestilbestrol. *b*, Citología. Mezcla de células columnares altas de núcleos hipertróficos basales, con células pavimentosas.

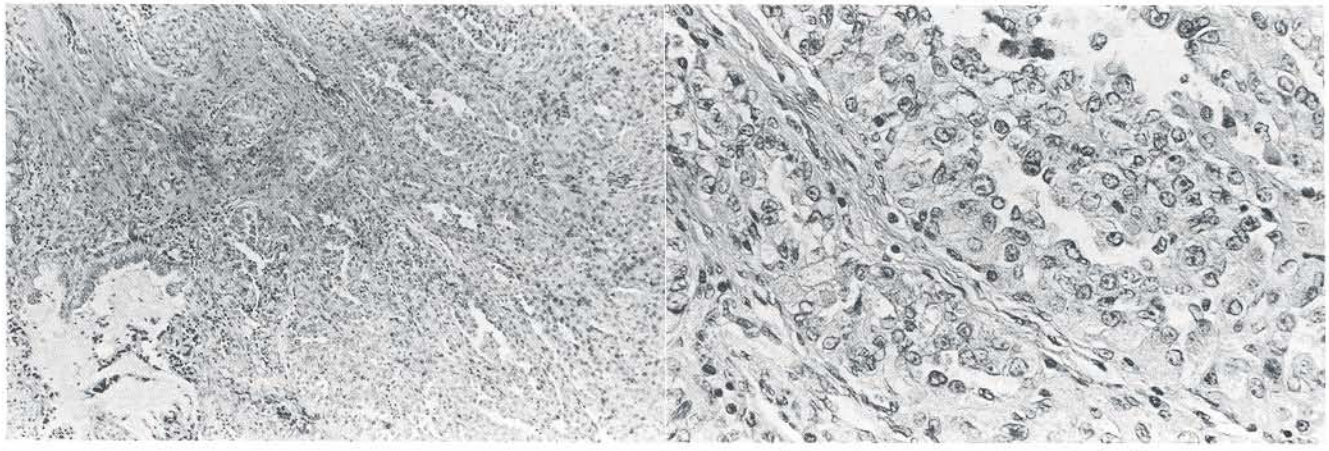


Fig. 434. Carcinoma de células claras originado en una adenosis vaginal en una niña. El tumor prolifera en láminas sólidas de estructuras glandulares. Los núcleos son redondos o poligonales, y no están muy agrandados. El citoplasma es abundante y poco tingible. (Gentileza del doctor Ohyasu, R., Escuela de Medicina de la Universidad Northwestern, Chicago.)

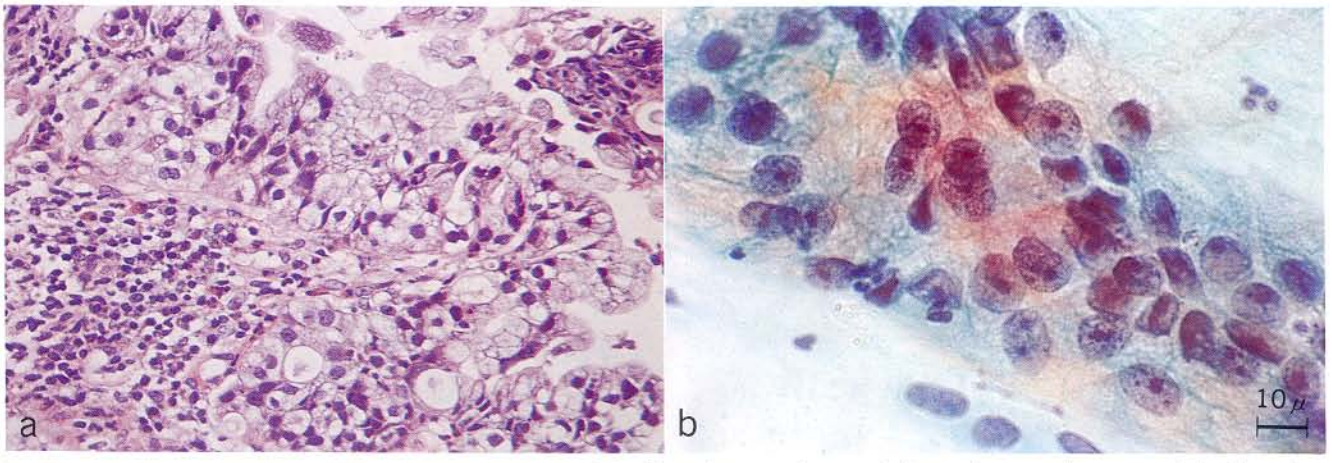


Fig. 435. Histología y citología de un adenocarcinoma de células claras del cuello uterino. *a*, Muchas veces el adenocarcinoma mucinosecretante del cuello uterino tiene un aspecto claro acuoso. La tinción PAS con digestión resistente a la diastasa revela la mucina contenida en el citoplasma. *b*, El extendido cervical muestra un abundante citoplasma claro mal definido. Nótese el tinte pardusco por el contenido de mucina en el citoplasma traslúcido.

Se observa un alto riesgo de carcinoma endometrial en mujeres que han tomado estrógenos conjugados.[51,177,220] Se sabe que los estrógenos influyen sobre los tejidos müllerianos iniciando o promoviendo el carcinoma. Llama la atención que muchas veces en la citología vaginal se compruebe un importante efecto estrogénico.

En vista de que la mayoría de los carcinomas de endometrio se ven en mujeres quintuagenarias y mayores, el cuadro citológico de alto efecto estrogénico obliga a buscar tumores feminizantes y carcinoma endometrial.

Adenocarcinoma

Aspecto general del carcinoma endometrial. Al adenocarcinoma diferenciado o carcinoma grado I también se lo denomina *adenoma maligno*. Las glándulas atípicas, tapizadas por unas pocas capas de células columnares altas, se hallan íntimamente adosadas entre sí y tienen un aspecto típico "espalda con espalda". El carcinoma indiferenciado o de grado III se caracteriza por unas masas alveolares sólidas de células columnares anaplásicas. Al trabajar con extendidos cervicovaginales de casos de carcinoma endometrial, pueden aparecer restos necróticos atrapados por muchos neutrófilos y sangre fibrinada. No es infrecuente encontrar en mujeres posmenopáusicas con carcinoma endometrial un cuadro citohormonal de alto índice de maduración, aunque no específico.

Citología. Las células malignas de tipo indiferenciado se presentan como unas aglomeraciones celulares densas con superposiciones nucleares. Los núcleos son excéntricos y bastante pequeños, en comparación con los del carcinoma cervical. Los bordes celulares son nítidos por la formación de bolas celulares y a menudo el citoplasma es vacuolado; puede observarse infiltración de leucocitos neutrófilos en el citoplasma vacuolado.

Las células malignas de tipo indiferenciado se disponen en aglomeraciones laxas con apilamientos nucleares irregulares. El borde citoplasmático no está bien definido.

Adenoacantoma

En el adenocarcinoma con grados de diferenciación mayores ocurre a veces metaplasia pavimentosa, de modo que dentro de la estructura glandular pueden aparecer unas masas sólidas de células cancerosas con metaplasia pavimentosa (figs. 448 a 450). Aunque las células muy diferenciadas son de aspecto benigno, estos componentes pavimentosos son malignos.

Citología. Las células cancerosas metaplásicas pavimentosas poseen propiedades híbridas, con diferenciación epidermoide así como glandular. El ensanchamiento y engrosamiento del citoplasma, con intensa tingibilidad para el verde claro, refleja una metaplasia pavimentosa cuyos núcleos conservan las características glandulares, como configuración redonda u oval y prominencia de los nucléolos (fig. 438).

Cuadro 51. Diferenciación entre células adenocarcinomatosas endocervicales y endometriales

Rasgo	*Carcinoma endometrial*	*Carcinoma endocervical*
Aspecto general	1) Pequeña cantidad 2) Bola celular o aglomeración en racimo 3) Fondo sucio y sanguinolento	1) Gran cantidad 2) Lámina irregular con células adosadas "lado a lado" 3) Puede haber un fondo sanguinolento fresco, pero relativamente limpio
Citoplasma	1) Escaso 2) Translúcido, acintado o vesiculoso y muchas veces vacuolado	1) Moderada cantidad 2) Granular, bien teñido y muchas veces mucinoso
Núcleos	1) Bastante pequeños 2) Muy hipercromáticos	1) Grandes 2) Poco hipercromáticos
Nucléolos	1) Bastante pequeños 2) Cantidad variable 3) Eosinófilos o basófilos	1) Prominentes 2) Uno o dos, a veces múltiples 3) Eosinófilos

16. Melanoma maligno

Aspecto general. El melanoma primario del tracto genital femenino es una rareza, excepto el que se origina en la vulva.[26] En ocasiones se afectan las membranas mucosas yuxtacutáneas como vagina, mucosa oral, nasofaringe y mucosa anorrectal.

Gupta[52] describió 26 pacientes con melanoma maligno de

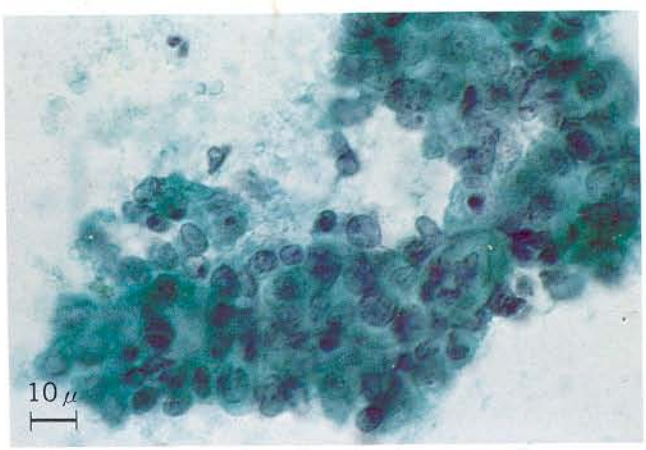


Fig. 436. Células endometriales hiperplásicas aglomeradas por metropatía. Los núcleos son pequeños, de tamaño y morfología uniformes y situación basal, y están dispuestos en forma ordenada. Su trama de cromatina es suave.

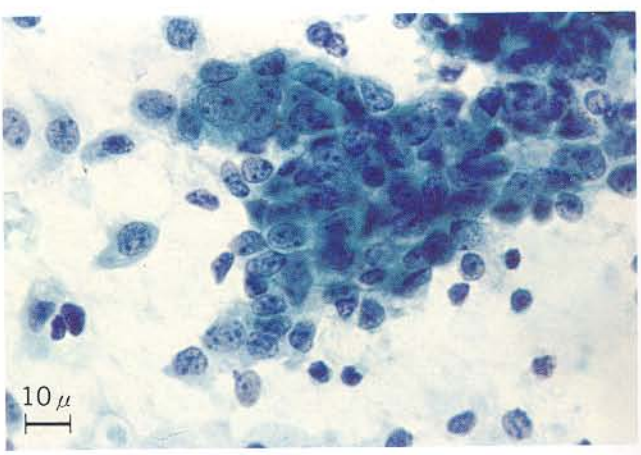


Fig. 437. Aglomeración de células atípicas de un adenoma maligno en un curetaje endometrial. Los núcleos son de tamaño bastante uniforme, pero contienen algunos micronucléolos. Nótense la trama papilífera y la distribución desordenada de los núcleos.

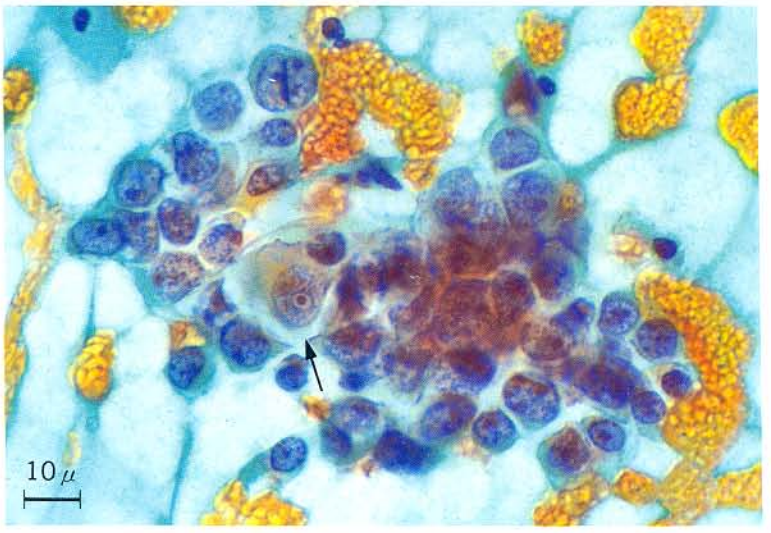


Fig. 438. Adenoacantoma de endometrio bien preservado en el extendido de un raspado cervical. Mujer de 52 años con carcinoma de endometrio propagado al cuello uterino. Los núcleos no son tan grandes como los del adenocarcinoma cervical (compárese con la fig. 420a). El adenoacantoma se diagnostica por una célula que posee un citoplasma ancho y opaco y un núcleo eosinófilo (*flecha*), dentro de la aglomeración celular.

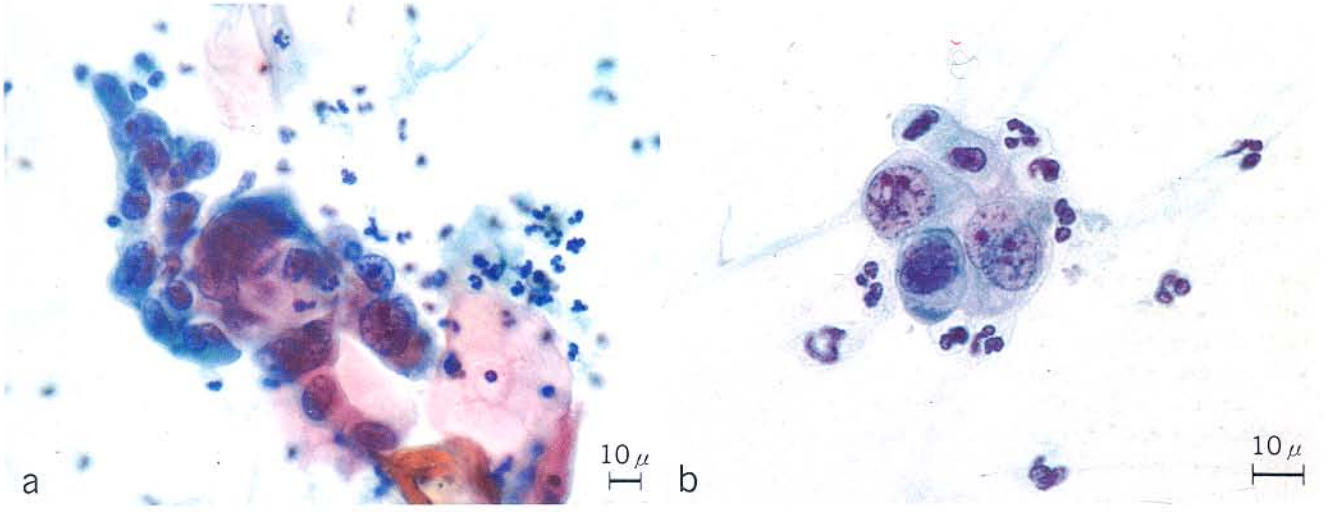


Fig. 439. Células adenocarcinomatosas de endometrio que exhiben una distribución papilar. *a*, La vista con poco aumento muestra una columna papilar de células cancerosas columnares con núcleos hipercromáticos y apilados. Un rasgo importante de malignidad también es la brotación desordenada de los núcleos dentro de la aglomeración. *b*, En la vista con mayor aumento aparecen células cancerosas bien preservadas, con alta relación nuclear-citoplasmática y dos o tres nucléolos múltiples.

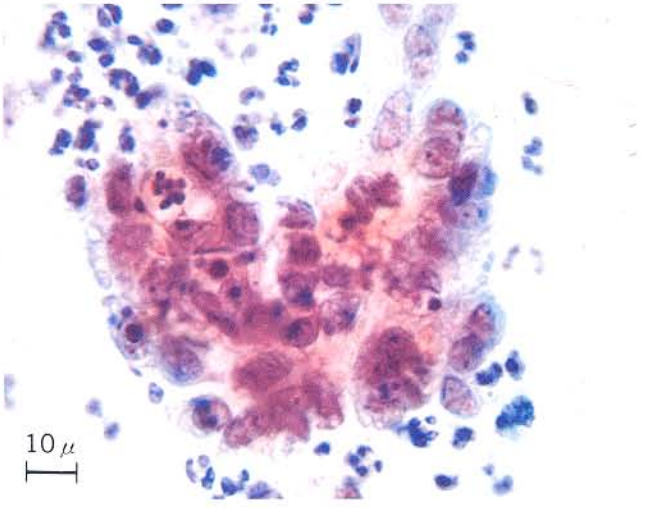


Fig. 440. Aglomeración de células adenocarcinomatosas de endometrio degeneradas. Las células adenocarcinomatosas endometriales de este extendido cervical están más o menos degeneradas; en esta aglomeración suelta e irregular los núcleos se hallan mal preservados.

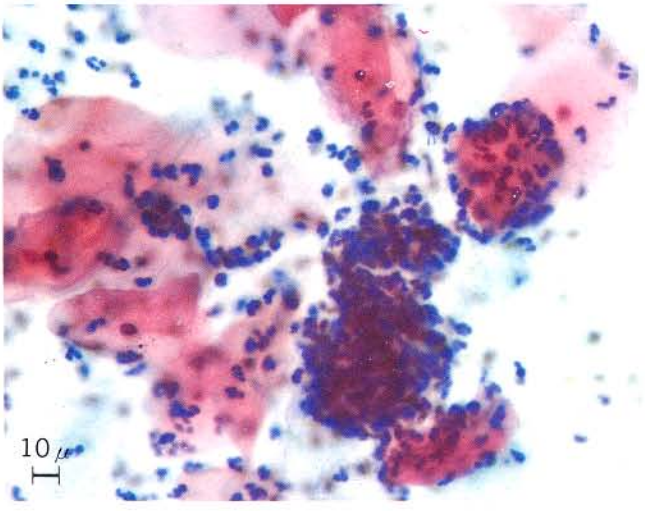


Fig. 441. Balas de cañón en un extendido de carcinoma endometrial. En el carcinoma avanzado suelen verse densas aglomeraciones de leucocitos polimorfonucleares en torno de las células degeneradas. Se sugiere quimiotactismo de leucocitos.

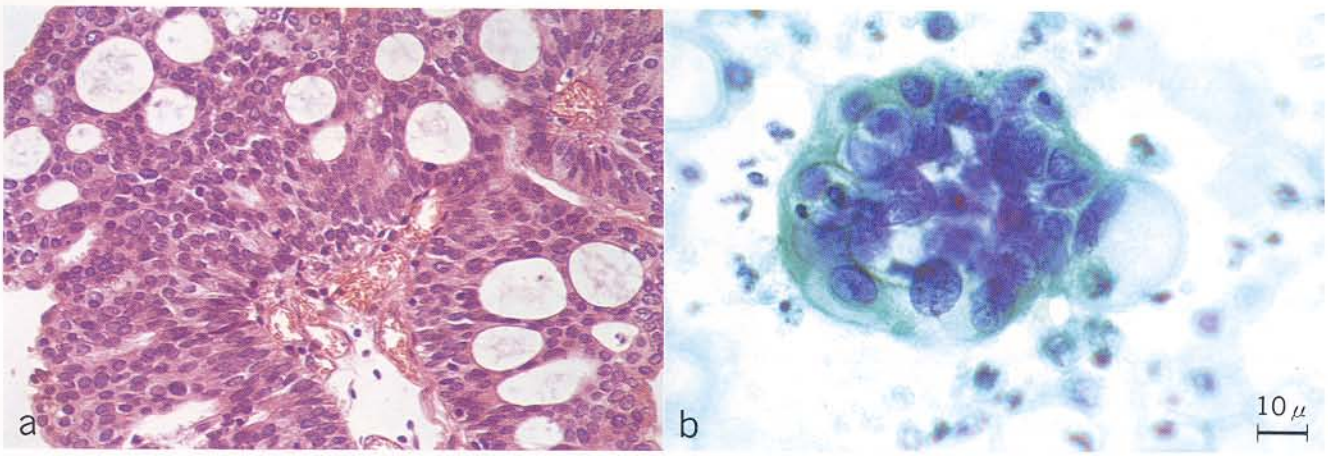


Fig. 442. Citología e histología de un cistadenocarcinoma del cuello uterino semejante a un carcinoma endometrioide en una mujer de 52 años. *a*, Histología. Este raro tumor de las glándulas endocervicales consiste en células cancerosas ovoides hipercromáticas que semejan células basales. Nótense las luces cribiformes ocupadas por material fibrilar. El estroma es tan escaso como en el carcinoma endometrial. *b*, Citología. Núcleos ovales uniformes e hipercromáticos. Células tumorales dispuestas de manera característica en una agrupación densa, con tendencia a formar una luz o vacuolización. El nucléolo es indistinto como en el carcinoma *in situ*. Esta bola de células cancerosas derivada del cuello uterino está bien preservada y el fondo no es sucio.

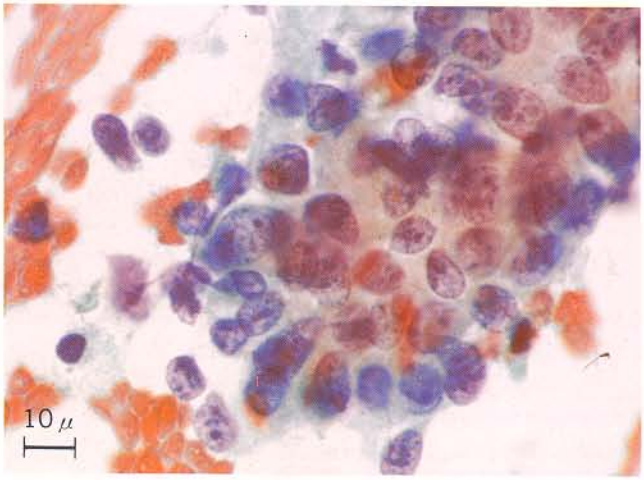


Fig. 443. Racimo de células carcinomatosas en un aspirado endometrial. Los núcleos bien preservados son de tamaño mediano y poseen pocos micronucléolos. Nótense las anormalidades de los núcleos en cuanto a tamaño, trama de cromatina y distribución, en comparación con las células endometriales benignas de las figuras 436 y 437.

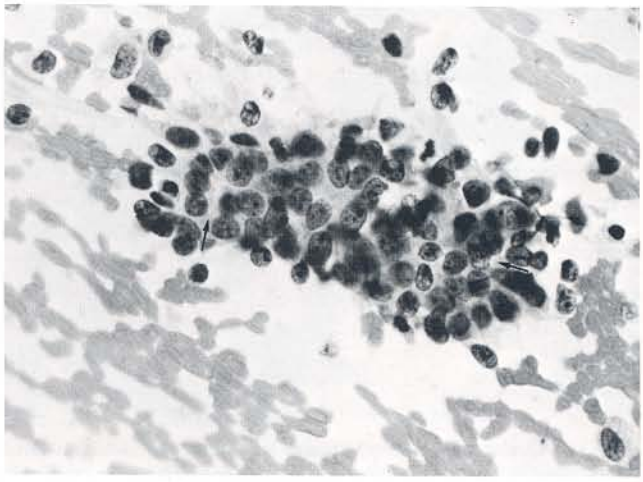


Fig. 444. Células de adenocarcinoma endometrial en un extendido cervical. Gran aglomeración celular constituida por células bastante pequeñas pero hipercromáticas, que exhiben cromatinas granulares compactas. Compárese el tamaño de los núcleos con el de los leucocitos polimorfonucleares adyacentes. En ocasiones los nucléolos son prominentes, pero únicos. La superposición de células en torno del espacio a modo de una luz sugiere adenocarcinoma tubular (*flechas*).

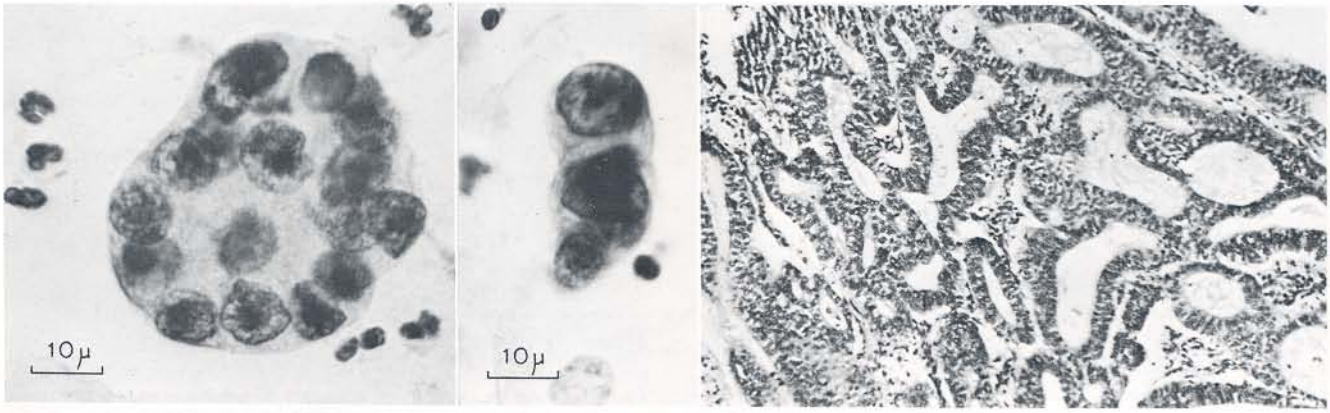
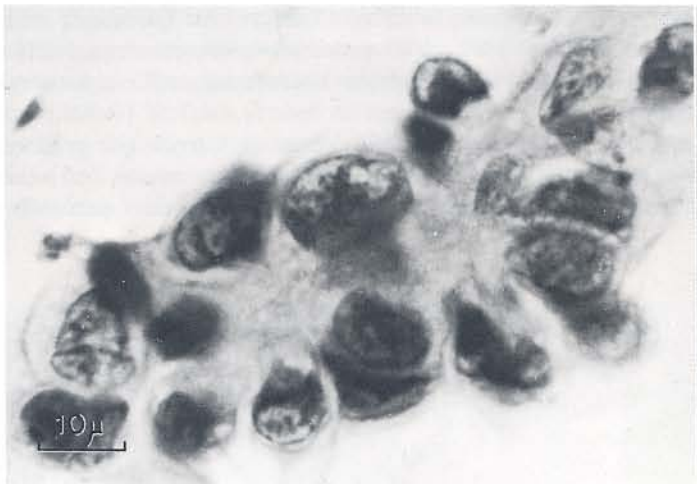


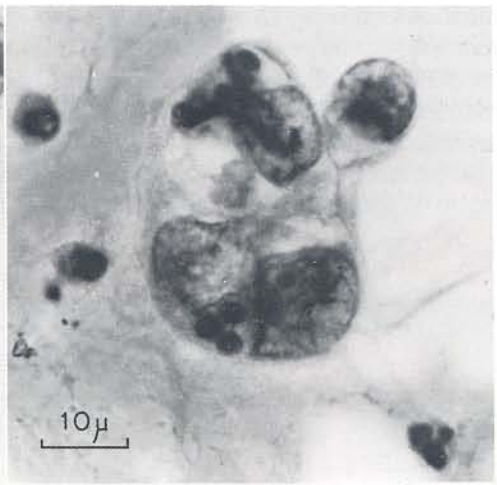
Fig. 445. Histología y citología de carcinoma endometrial en un extendido cervical. Bola celular con superposición de núcleos y una trama acinosa, indicativa de adenocarcinoma endometrial. Los núcleos son un tanto pequeños para ser células cancerosas, pero revelan considerable hipercromatismo, una distribución gruesa de la cromatina y nucléolos prominentes.

vulva y vagina que fueron tratadas en el Memorial Center for Cancer and Allied Diseases; los 23 casos de melanoma vulvar representaron el 3,1 % de todos los melanomas cutáneos. El melanoma del cuello uterino es la forma menos común, porque Jones[71] sólo reseñó 9 casos. Se considera que la morfogénesis del melanoma maligno se relaciona con la actividad de los melanocitos que están en el epitelio de la mucosa,[126] no importa que provengan de la cresta neural o del epitelio.

Citología. En vista de que algunas lesiones de melanoma



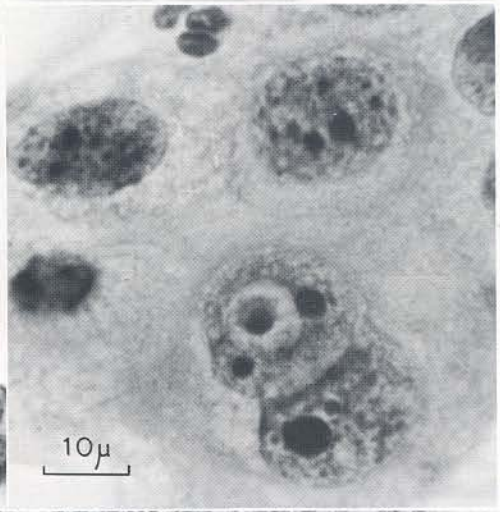
446



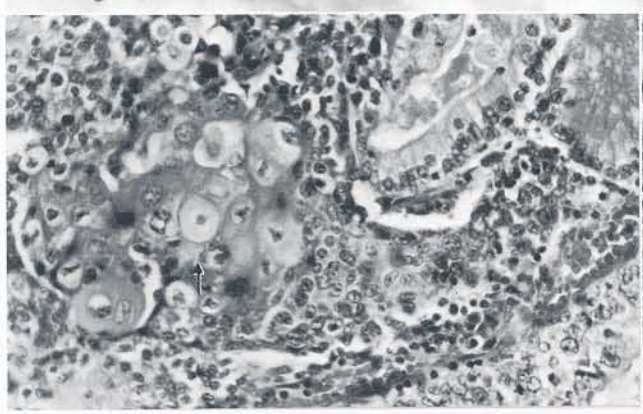
447



448



449



450



451

Figs. 446 a 451. Adenoacantoma de endometrio que contiene elementos pavimentosos y adenocarcinomatosos.
Figs. 446 y 447. Aglomeración de células malignas diferenciadas que exhiben vacuolización del citoplasma y una trama acinosa con núcleos excéntricos.
Figs. 448 y 449. El componente metaplásico pavimentoso de las células cancerosas posee un citoplasma ancho y grueso, con una distribución en empedrado.
Figs. 450 y 451. La histología del adenoacantoma muestra unas estructuras glandulares bien diferenciadas y alteración metaplásica directa de adenocarcinoma a carcinoma pavimentoso (*flechas*).

maligno son amelánicas o poseen escasa melanina tumoral se prestan para interpretaciones erróneas como carcinoma o sarcoma; Masubuchi y col.[95] encontraron melanoma amelánico en uno de cuatro casos de melanoma vaginal y Norris y Taylor[130] hicieron el mismo descubrimiento en 2 de 13 casos.

El tipo epitelioide amelánico de melanoma es similar al adenocarcinoma y el fusocelular se parece al fibrosarcoma o leiomiosarcoma. Muchas veces a la variedad epitelioide, constituida por células pequeñas, se la confunde con carcinoma anaplásico o con linfoma maligno. El pigmento melánico escaso se detecta con mayor facilidad con Giemsa que con el Papanicolaou ordinario. La reacción Dopa específica, que convierte a la tirosina en 3,4-dihidroxifenilalanina, se presta para identificar las células del melanoma amelánico. Además indican melanina la reacción positiva de la impregnación argéntica de Fontana-Masson y el blanqueado total del pigmento pardusco mediante oxidación con solución de permanganato de potasio al 0,25 % durante más de 30 minutos.

17. Hiperplasia linfoide y linfoma

Cervicitis linfocitaria crónica

Ésta es una variedad de cervicitis crónica que se caracteriza por severa infiltración del estroma subepitelial por células linfoides que pueden ser maduras o inmaduras. En vista de que muchas veces este estado se asocia con formación de folículos, también se lo denomina *cervicitis folicular*. Según el estudio de Roberts y Ng, se observan folículos linfoides en alrededor del 37 % de las cervicitis linfocitarias crónicas (cervicitis folicular). La cervicitis linfocitaria es bastante rara y se ve en mujeres posmenopáusicas. La frecuencia global de cervicitis linfocitarias crónicas estudiadas con muestras celulares ascendería a 4,7 de 10.000 casos.[165]

El cuadro citológico se caracteriza por predominio de linfocitos maduros e inmaduros mezclados con histiocitos y plasmocitos. En particular, los histiocitos que exhiben fago-



Fig. 452. Melanoma maligno primario de la mucosa endocervical.

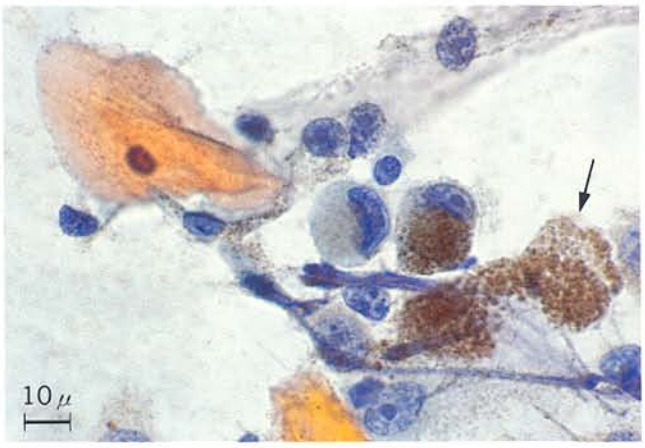


Fig. 453. Células de melanoma maligno en el extendido de un raspado cervical. Los núcleos redondos u ovales grandes poseen unos nucléolos prominentes característicos. Nótese la variación del pigmento melánico de una célula a otra. También se ve un fagocito cargado de pigmento (*flecha*).

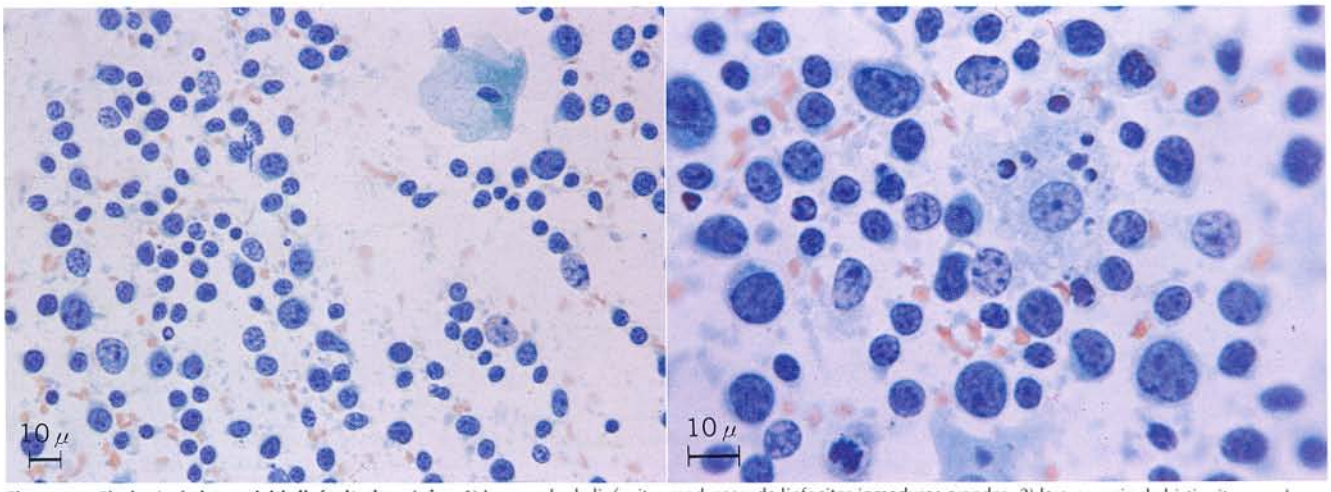


Fig. 454. Citología de la cervicitis linfocitaria crónica. 1) La mezcla de linfocitos maduros y de linfocitos inmaduros grandes, 2) la presencia de histiocitos que han fagocitado detritos celulares y 3) la ausencia de fondo maligno diferencian a esta lesión respecto del linfoma maligno.

citosis derivan de centros germinativos activados. Los linfocitos inmaduros se identifican por sus grandes núcleos redondos, que a menudo presentan indentación o plegamiento del borde nuclear y un citoplasma escaso y muy pálido. La cromatina exhibe una trama punteada con muy pocos cariosomas.

Linfoma maligno

La mayoría de los linfomas extraganglionares son casos de compromiso secundario, pero es poco frecuente que tomen los órganos genitales y es raro que den síntomas ginecológicos. El linfoma primario de los órganos genitales femeninos es una gran rareza. En una numerosa serie de 1467 linfomas extraganglionares, Freeman y col.[41] sólo encontraron 6 de útero y 2 de ovario. En una paciente operada en el Hospital Ferroviario de Tokio se encontró un tumor del cuello uterino del tamaño de un huevo de gallina que no se había diseminado a otros órganos. El tumor era elástico, firme, de color gris rosado a blanco y homogéneo por infiltración masiva de toda la pared del cuello por células linfosarcomatosas. Los rasgos citológicos de los raspados cervicales fueron en esencia idénticos a los del linfoma maligno originado en ganglios linfáticos.

18. Sarcoma uterino

Tumor mixto mülleriano

Concepto general de sarcoma uterino. La citopatología del sarcoma uterino no ha sido bien esclarecida por la rareza de estas lesiones y porque es fuera de lo común que se exfolien células mesenquimáticas en el extendido cervical; aunque el leiomiosarcoma es el segundo tumor más común, su citología exfoliativa no reviste importancia práctica. Son interesantes, en cambio, el tumor mesodérmico mixto y el

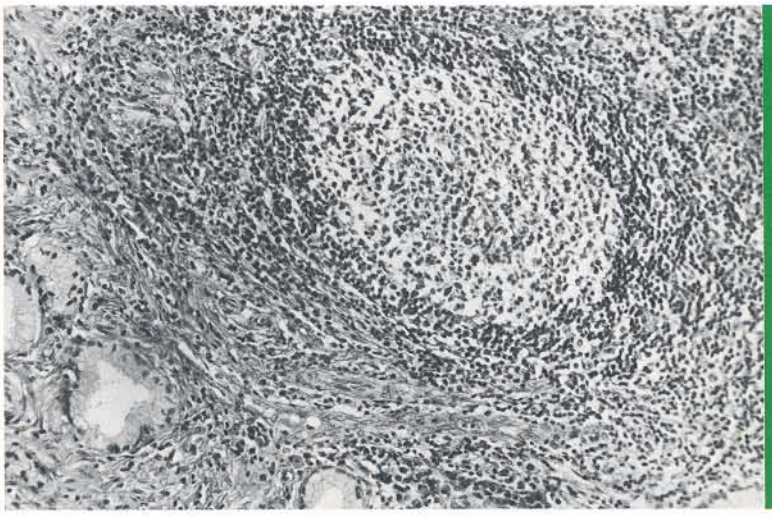


Fig. 455. Histología de la cervicitis linfocitaria crónica. Gran infiltración linfocitaria e hipertrofia de un centro germinativo del cual provienen los linfocitos inmaduros (linfogonias) y los fagocitos histiocitarios.

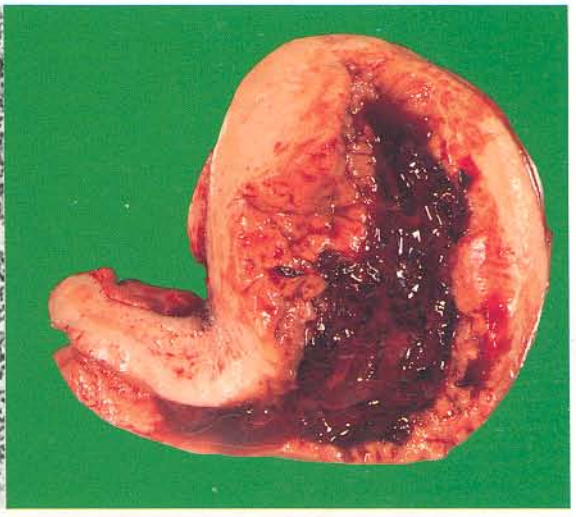


Fig. 456. Aspecto macroscópico de un linfoma primario de útero. Este tumor homogéneo blanco-grisáceo del cuello se propaga dentro del cuerpo del útero. El endocérvix está erosionado y puede desprender células linfomatosas al hacer el raspado cervical.

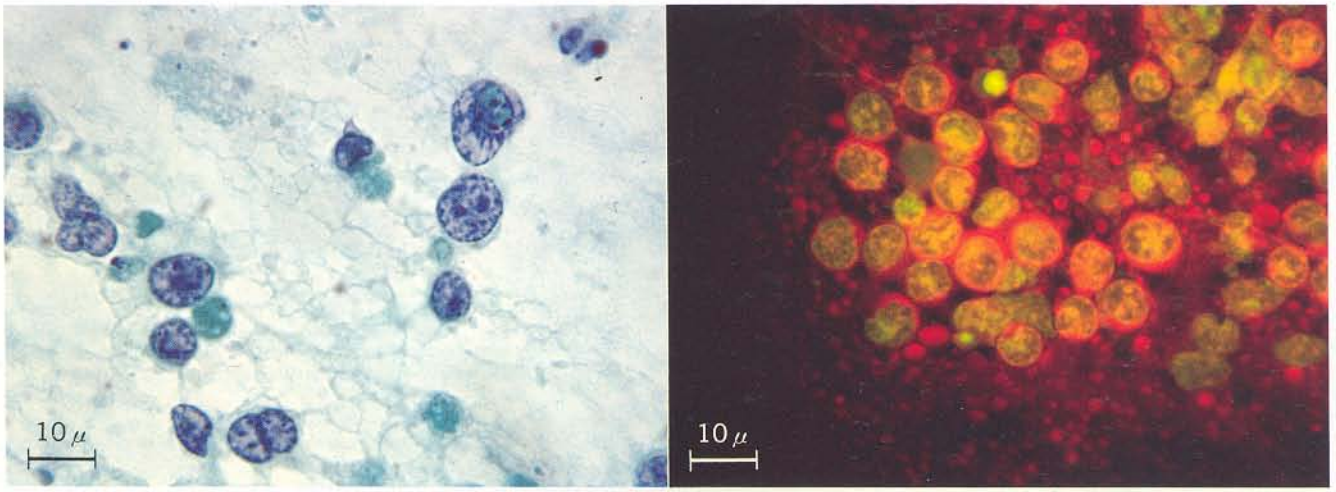


Fig. 457. Células linfosarcomatosas en un extendido cervical. Raro caso de linfoma maligno que afecta el cuello uterino como lesión primaria. La citología se caracteriza por un sinnúmero de células linfosarcomatosas junto con restos celulares necróticos. Puntos diferenciales: 1) grandes células linfoblastoides redondas junto con una trama de cromatina punteada gruesa, 2) citoplasma casi ausente o muy escaso, 3) nucléolos prominentes ocasionales y 4) diátesis tumoral. Tinción de Papanicolaou (*a*) y fluorescencia con naranja de acridina (*b*).

sarcoma de endometrio. Patten y col.[233] describieron la frecuencia de sarcomas uterinos en sus 26 casos: tumor mesodérmico mixto maligno 65,4 %, leiomiosarcoma 15,4 %, sarcoma del estroma endometrial 7,7 %, rabdomiosarcoma 7,7 % y fibroxantosarcoma 3,8 %, de acuerdo con la clasificación de Kempson y Bari[228] (cuadro 52).

1) Carcinosarcoma. El carcinosarcoma consta de dos componentes, carcinoma y sarcoma homogéneo (figs. 458-461).

Citología. El componente carcinomatoso suele ser glandular y forma aglomeraciones celulares. Los componentes mesodérmicos se descaman en forma individual o en una aglomeración suelta, sin trama organoide. Los núcleos del sarcoma estromal son elongados o fusiformes, y exhiben unos bordes nucleares delicados y varían de tamaño. La

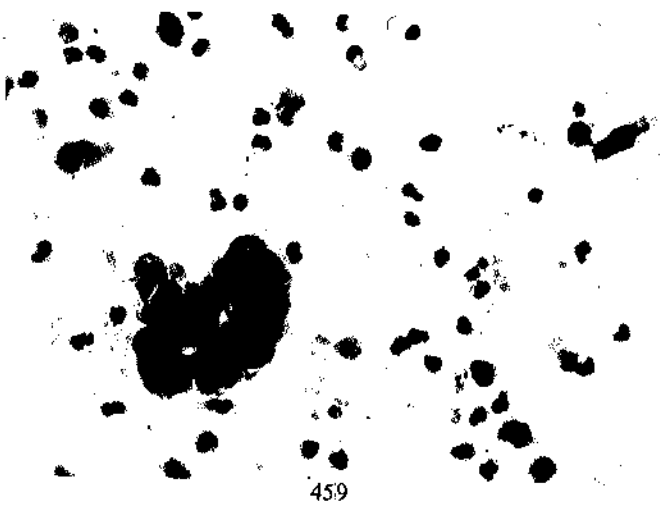
Cuadro 52. Clasificación histopatológica del sarcoma uterino

I. Sarcoma puro
  A. Homólogo puro
    1. Leiomiosarcoma
    2. Sarcoma estromal
    3. Miosis estromal endolinfática
    4. Angiosarcoma
  B. Heterólogo puro
    1. Rabdomiosarcoma (incluso sarcoma botrioides)
    2. Condrosarcoma
    3. Osteosarcoma
    4. Liposarcoma
II. Sarcoma mixto
  A. Homólogo mixto
  B. Heterólogo mixto (con elementos homólogos o no)
III. Tumores müllerianos mixtos malignos (tumores mesodérmicos mixtos)
  A. Tipo homólogo (carcinoma más leiomiosarcoma, sarcoma o fibrosarcoma estromal, o una mezcla de estos sarcomas)
  B. Tipo heterólogo (carcinoma más sarcoma heterólogo junto con sarcoma homólogo o no)
IV. Sarcoma no clasificado
V. Linfoma maligno

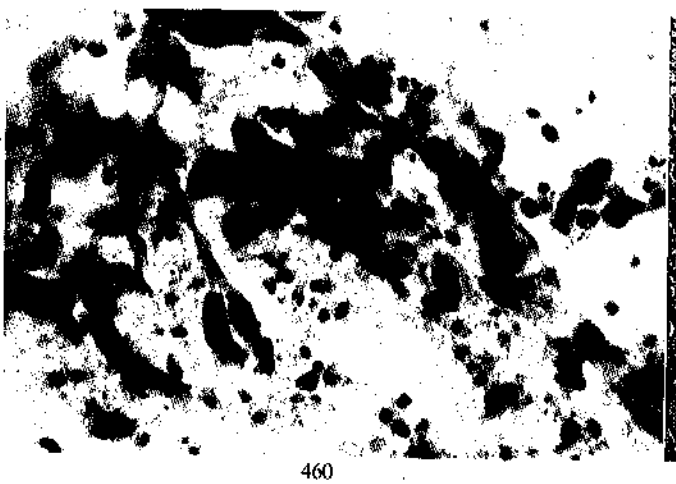
(KEMPSON, R. L. y BARI, W.: Human Path. *1*:373, 1970.)



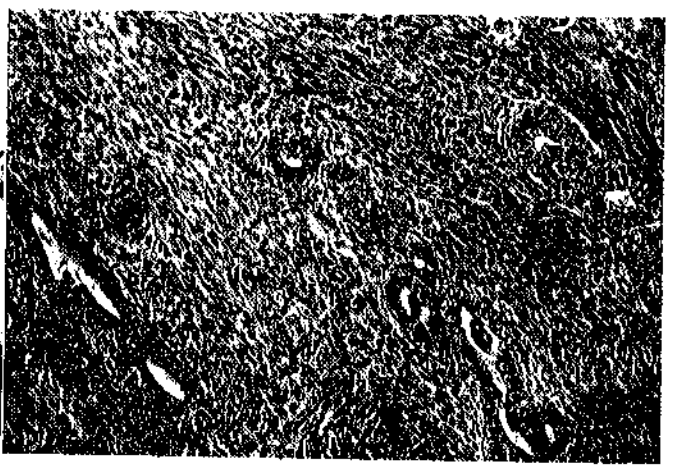
458



459



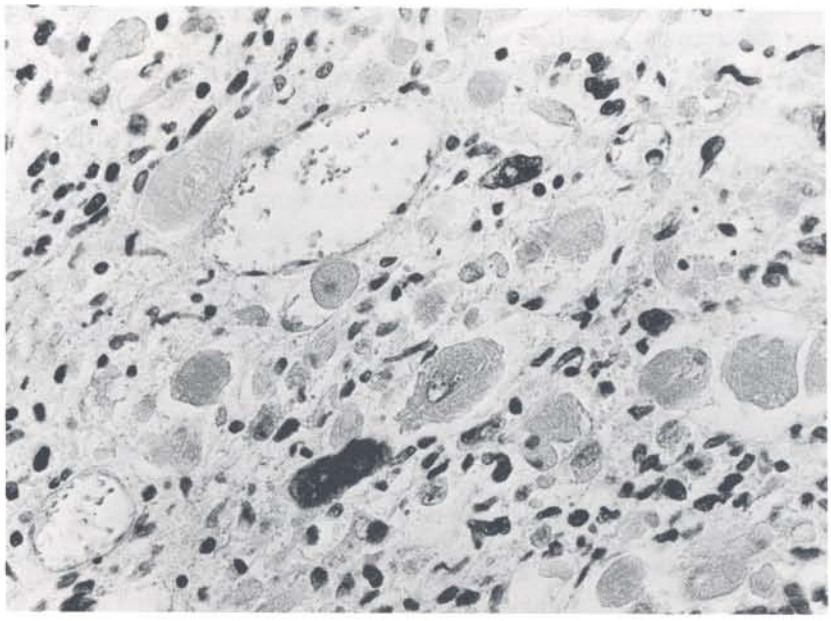
460



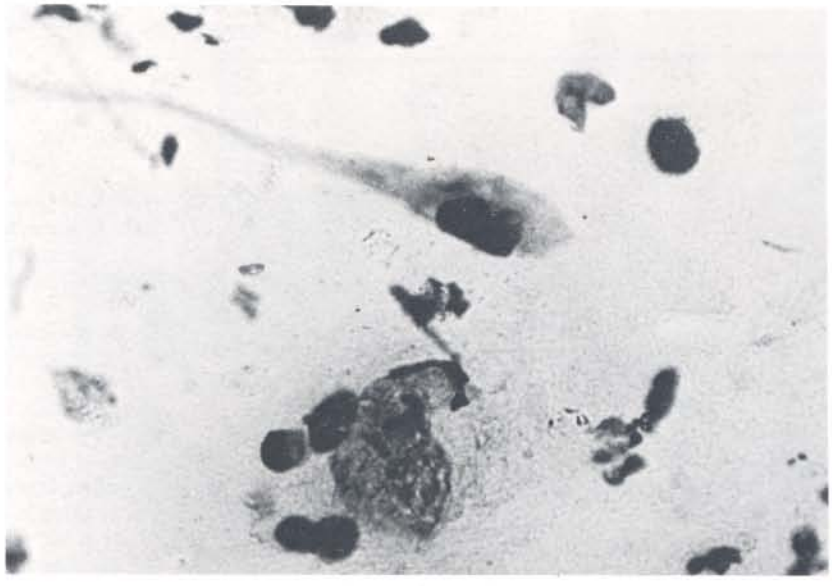
461

Figs. 458 a 461. Carcinoma constituido por un componente sarcomatoso y por otro carcinomatoso.
Fig. 458. El componente sarcomatoso exhibe unos núcleos ovales o elípticos con bordes nucleares delicados. La cromatina está aumentada, pero sus granulaciones son más finas que las de las células cancerosas, aunque los núcleos picnóticos semejan células cancerosas fusiformes. La distribución celular parece ser laxa, en comparación con la del componente carcinomatoso.
Fig. 459. Componente carcinomatoso constituido por una densa aglomeración celular que exhibe una trama glandular. Los núcleos son bastante pequeños y de morfología uniforme, de modo que la atipia celular no es suficiente para los criterios de malignidad. Sin embargo, esta estructura no se ve en la citología de la lesión benigna del endocérvix.
Fig. 460. Componente sarcomatoso. Núcleos fusiformes o elípticos. Las células bien preservadas se caracterizan por una delicada membrana nuclear y una distribución fina de la cromatina, aunque las células picnóticas no se pueden distinguir de las células cancerosas fusiformes.
Fig. 461. Cuadro histológico de carcinosarcoma con colisión de adenocarcinoma y sarcoma. Nótese la gran semejanza de este preparado histológico con el blastoma pulmonar, que consiste en adenocarcinoma de células cuboides en hendidura y denso sarcoma.

Figs. 462 a 464. Tumor mixto mesodérmico del cuello uterino.
Fig. 462. Infiltración difusa de células anucleadas degeneradas y de células sarcomatosas polimórficas de núcleos picnóticos y grotescos en un preparado histológico.
Figs. 463 y 464. Citología. Las células polimórficas en fibra o en víbora se identifican aisladas en el extendido cervical. Las células picnóticas tienden a ser en renacuajo o en fibra, y provienen de un carcinoma epidermoide, pero la detección de estriaciones cruzadas en el citoplasma significa un componente rabdomiosarcomatoso.



462



463



464

cantidad de cromatina no está muy aumentada, pero su distribución es gruesa.

2) Tumor mixto mesodérmico. La histología de este tumor varía de un caso a otro; además de los componentes sarcomatosos homólogos, como sarcoma estromal, leiomiosarcoma y fibrosarcoma, suele haber mezcla de rabdomiosarcoma y condrosarcoma heterólogos. Se señaló que es muy probable que la presencia y malignidad de los componentes epiteliales se relacione con el pronóstico del tumor.[167] Dos de 20 casos de tumores mesodérmicos mixtos que no contenían elementos epiteliales y 4 casos que contenían estructuras glandulares benignas, tuvieron una sobrevida favorable.

Citología. Este tumor se reconoce por la diferenciación específica a rabdomioblastos con estriaciones cruzadas y a condroblastos u osteoblastos, además de la presencia de células carcinomatosas. El tumor botrioides, variante del tumor mixto mesodérmico mülleriano, es un tumor polipoide, arracimado y maligno que ocurre en particular en la vagina de lactantes y con menos frecuencia en el cuello o cuerpo del útero en mujeres adultas. El tumor consiste en diversos componentes de tejido mesodérmico, como células musculares estriadas, tejidos cartilaginosos u óseos, y también en elementos epiteliales glandulares; en particular predominan los tejidos fibromixomatosos y las células musculares estriadas (figs. 462 a 464).

19. Sarcoma estromal de endometrio

El sarcoma del estroma endometrial (miosis estromal endolinfática) es un tumor raro que pertenece al sarcoma homólogo puro. Su citología se caracteriza por unas células fusiformes originadas en las células estromales del endometrio (fig. 465). Los núcleos son elongados y a duras penas se distinguen de las células leiomiosarcomatosas, cuyos polos son un tanto redondeados.

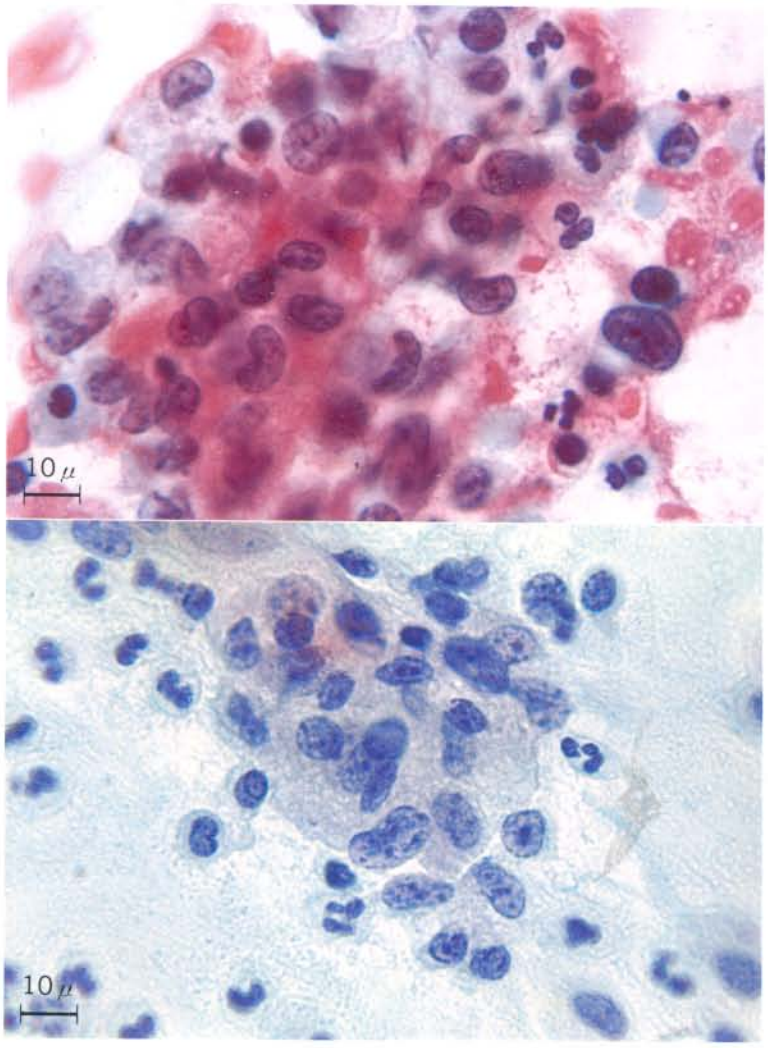


Fig. 465. Células sarcomatosas de endometrio. Los núcleos son elongados y curvos. Los rasgos distintivos de sarcoma son: 1) membrana nuclear delicada, 2) cromatinas finamente granulares y 3) grandes variaciones en la forma y tamaño de los núcleos.

*Apéndice: Clasificación TMN de los tumores genitales femeninos**

CUELLO UTERINO

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

Tiene que haber verificación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Se recomienda que más de un examinador realice un examen bimanual bajo anestesia.

Los siguientes son los requisitos mínimos para evaluar las categorías T, N y M. Si no se los puede satisfacer, agréguese el símbolo X, como TX, NX o MX.

Categorías T. Examen clínico, cistoscopia y radiografías, incluso urografía

Categorías N. Examen clínico y radiografías, incluso urografía y linfografía para estudiar los ganglios linfáticos yuxtarregionales

Categorías M. Examen clínico y radiografías

SITIOS ANATÓMICOS

Endocérvix (180.0)
Exocérvix (180.1)

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Categorías UICC	Etapas FIGO	
Tis	0	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*)
T0	–	Sin evidencias de tumor primario
T1	I	Carcinoma confinado al cuello. Descártese propagación al cuerpo
T1a	Ia	Carcinoma microinvasor (casos que sólo se pueden diagnosticar por la histología)
T1b	Ib	Carcinoma invasor clínico
T2	II	Carcinoma que excede el cuello pero no llega a la pared pelviana *y/o* carcinoma que toma la vagina pero no el tercio inferior
T2a	IIa	El carcinoma no ha infiltrado el parametrio
T2b	IIb	El carcinoma ha infiltrado el parametrio
T3	III	Carcinoma del tercio inferior de la vagina *y/o* propagado a la pared pelviana (no hay espacio libre entre ésta y el tumor).
T3a	IIIa	Carcinoma del tercio inferior de la vagina
T3b	IIIb	Carcinoma propagado a la pared pelviana *y/o* hidronefrosis o riñón no funcional por estenosis ureteral causada por el tumor
T4	IVa	Carcinoma que toma la mucosa de la vejiga o recto *y/o* se extiende más allá de la pelvis verdadera. Nota: La presencia de edema bulloso no es prueba suficiente para clasificar un tumor como T4. El agrandamiento del útero solo no es base para asignar T4
M1	IVb	Propagación a órganos distantes
TX	–	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario

N – Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Los ganglios regionales son los parametriales, hipogástricos (obturadores), ilíacos externos, ilíacos primitivos y presacros.

Los ganglios yuxtarregionales son los paraaórticos.

N0 Sin evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales
N1 Evidencia de compromiso de ganglios linfáticos regionales
Nota: Las categorías N2 y N3 no son aplicables
N4 Evidencia de compromiso de los ganglios linfáticos yuxtarregionales
NX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales *y/o* yuxtarregionales

M – Metástasis a distancia

M0 Sin evidencias de metástasis a distancia
M1 Evidencia de metástasis a distancia
MX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar la presencia de metástasis a distancia

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT – Tumor primario
Las categorías pT corresponden a las categorías T
pN – Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales
Las categorías pN corresponden a las categorías N
pM – Metástasis a distancia
Las categorías pM corresponden a las categorías M

AGRUPAMIENTOS POR ETAPAS

Etapa "0"	Tis		
Etapa Ia	T1a	N0	M0
Etapa Ib	T1b	N0	M0
Etapa IIa	T2a	N0	M0
Etapa IIb	T2b	N0	M0
Etapa IIIa	T3a	N0	M0
Etapa IIIb	T1, T2, T3a, T3b	N1 N0, N1	M0 M0
Etapa IVa	T4 Cualquier T	N0, N1 N4	M0 M0
Etapa IVb	Cualquier T	Cualquier N	M1

RESUMEN

UICC	*Cuello uterino*	*FIGO*
Tis	Carcinoma *in situ*	0
T1	Confinado al cuello	I
T1a	Microinvasor	Ia
	Invasor	Ib
T2	Propagación a la vagina (no el tercio inferior) o al parametrio (no la pared pelviana)	II
T2a	Vagina (no el tercio inferior)	IIa
	Parametrio	IIb
T3	Propagación al tercio inferior de la vagina, al parametrio o a la pared pelviana	III
T3a	Vagina, tercio inferior	IIIa
T3b	Parametrio, pared pelviana	IIIb
T4	Propagación a la vejiga, recto o más allá de la pelvis verdadera	IVa
M1	Órganos distantes	IVb

CUERPO UTERINO

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

Tiene que haber verificación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben denunciar por separado.

Para la importancia del cuadro histológico, se debe consignar el grado de diferenciación.

* Harmer, M. H.: TNM Classification of Malignant Tumours, 3ª ed., Génova, UICC, 1978.

El diagnóstico se debe basar en el examen de muestras recogidas mediante curetajes fraccionados.

Los siguientes son los requisitos mínimos para evaluar las categorías T, N y M. Si no se los puede satisfacer, adóptese el símbolo TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico, cistoscopia y radiografías, incluso urografías.
Categorías N: Examen clínico y radiografías, incluso urografías.
Categorías M: Examen clínico y radiografías.

SITIOS ANATÓMICOS

Cuerpo uterino 182.0
Istmo uterino 182.1

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Categorías UICC	Etapas FIGO	
Tis	0	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*)
T0	–	Sin evidencias de tumor primario
T1	I	Carcinoma confinado al cuerpo
T1a	Ia	Cavidad uterina de longitud mayor de 8 cm o menos
T1b	Ib	Cavidad de longitud mayor de más de 8 cm Nota: La etapa I de la FIGO se subdivide en grados
T2	II	Carcinoma que toma el cuello pero no excede del útero
T3	III	Carcinoma que excede el útero y se propaga a la vagina pero se mantiene dentro de la pelvis verdadera
T4	IVa	Carcinoma que toma la mucosa de la vejiga o recto *y/o* se propaga más allá de la pelvis verdadera Nota: La presencia de edema bulloso no es prueba suficiente como para clasificar a un tumor como T4
M1	IVb	Propagación a órganos distantes
TX	–	No se satisficieron los requisitos mínimos para estimar el tumor primario

N - Ganglios linfáticos regionales

Los ganglios linfáticos regionales son los hipogástricos (obturadores), ilíacos externos, ilíacos primitivos, presacros y paraaórticos.

N0 Sin signos de compromiso de ganglios linfáticos regionales.
N1 Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales.
NX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

M - Metástasis a distancia

M0 Sin evidencias de metástasis a distancia
M1 Evidencias de metástasis a distancia
MX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar la presencia de metástasis a distancia

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT - Tumor primario

Las categorías pT corresponden a las categorías T

G - Graduación histopatológica
G1 Grado alto de diferenciación
G2 Grado mediano de diferenciación
G3 Grado bajo de diferenciación *o* carcinoma indiferenciado
GX No se puede establecer el grado

pN - Ganglios linfáticos regionales
Las categorías pN corresponden a las categorías N

pM - Metástasis a distancia
Las categorías pM corresponden a las categorías M

AGRUPAMIENTOS POR ETAPAS

Etapa "0"	Tis		
Etapa Ia	T1a	N0	M0
Etapa Ib	T1b	N0	M0
Etapa II	T2	N0	M0
Etapa III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Etapa IVa	T4	N0, N1	M0
Etapa IVb	Cualquier T	Cualquier N	M1

RESUMEN

UICC	*Cuerpo uterino*	*FIGO*
Tis	Carcinoma *in situ*	0
T1	Confinado al cuerpo	I
T1a	Cavidad ≤ 8 cm	Ia
T1b	Cavidad > 8 cm	Ib
T2	Propagación al cuello	II
T3	Propagación más allá del útero dentro de la pelvis verdadera	III
T4	Propagación a la vejiga o recto, más allá de la pelvis verdadera	IVa
M1	Órganos distantes	IVb

BIBLIOGRAFÍA

1. AN-FORAKER, S. H., KAWADA, C. Y., and MCKINNEY, D.: Endometrial aspiration studies on Isaacs cell sampler with cytohistologic correlation. Acta Cytol., *23*: 303, 1979.
2. ARATA, T., SEKIBA, K., and KATO, K.: Appraisal of self-collected cervical specimens in cytologic screening of uterine cancer. Acta Cytol., *22*: 150, 1978.
3. ARRIGHI, A. A.: Exfoliative cytology of leukoplakia. Acta Cytol., *5*: 108, 1961.
4. ATTWOOD, M. E.: Cytology and the contraceptive pill. J. Obstet. Gynaec. Br. Commonw., *73*: 662, 1966.
5. AURELIAN, L., ROYSTON, I., and DAVIS, H. J.: Antibody to genital herpes simplex virus: Association with cervical atypia and carcinoma in situ. J. Nat. Cancer Inst., *45*: 455, 1970.
6. AYRE, J. E.: Selective cytology smear for diagnosis of cancer. Am. J. Obstet. Gynec., *53*: 609, 1947.
7. AYRE, J. E.: Adenoacanthoma of the uterus. Am. J. Obstet. Gynec., *49*: 261, 1945.
8. BAJARDI, F.: Histomorphology of leukoplakia. Acta Cytol., *5*: 103, 1961.

9. BAJARDI, F.: Interrelationship: Leukoplakia and cervical carcinoma. Acta Cytol., *5*: 129, 1961.
10. BAMFORD, S. B., MITCHELL, G. W., Jr., BARDAWIL, W. A., and CASSIN, C. M.: Vaginal cytology in polycystic ovarian disease. Acta Cytol., *9*: 322, 1965.
11. BANGLE, R., Jr., BERGER, M., and LEVIN, M.: Variations in the morphogenesis of squamous carcinoma of the cervix. Cancer, *16*:1151, 1963.
12. BIBBO, M., and HARRIS, M. J.: Leptothrix. Acta Cytol., *16*: 2, 1972.
13. BIBBO, M., HARRIS, M. J., and WIED, G. L.: Microbiology and inflammation of the female genital tract. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed., pp. 61–75. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
14. BICKENBACH, W., and SOOST, H.-J.: Nomenclature of the atypical epithelium. Acta Cytol., *5*: 348, 1961.
15. BLAND, P. B.: Gynecology, Medical and Surgical, 3rd ed. Philadelphia, F. A. Davis Co., 1939.
16. BOUTSELIS, J. G.: Intraepithelial carcinoma of the cervix associated with pregnancy. Obstet. Gynec., *40*: 657, 1972.
17. BOYD, J. T., and DOLL, R.: A study of the aetiology of carcinoma of the cervix uteri. Br. J. Cancer, *18*: 419, 1964.
18. BOSCHANN, H. W.: Effect of administered androgens on the vaginal epithelium of women exhibiting the atrophic menopausal cell type. Acta Cytol., *1*: 87, 1957.
19. BREDLAND, R.: Trichomoniasis. Tskr. Norske Laegeforg., 441, 1962.
20. BRET, J.-A., and COUPEZ, R.: Symposium on premalignant cervical lesions. III. Leukoplakia. Acta Cytol., *5*: 117, 1961.
21. BRET, J.-A., and COUPEZ, R.: *In* Probable percentage of regression of carcinoma in situ (symposium). Acta Cytol., *6*: 195, 1962.
22. BRUNORI, I. L.: Estrogenic effect produced by digitalis preparations on the vaginal epithelium of women of very advanced age. Riv. Ital. Ginec., *49*: 261, 1965.
23. CHAI, M. S., JOHNSON, W. D., and TRICOMI, V.: Five year's experience with contraceptive pills: Cervical epithelial changes. N. Y. State J. Med., *70*: 2663, 1970.
24. CHARLES, D., Van LEEUWEN, L., and TURNER, J. H.: Significance of cornified cells in the vaginal smear of postmenopausal women. Am. J. Obstet. Gynec., *94*: 527, 1966.
25. CHRISTOPHRSEN, W. M., and PARKER, J. E.: Microinvasive carcinoma of the uterine cervix. Cancer, *17*: 1123, 1964.
26. CHUNG, A. F., WOODRUFF, J. M., and LEWIS, J. L., Jr.: Malignant melanoma of the vulva: A case report of 44 cases. Obstet. Gynec., *45*: 638, 1975.
27. COHEN, C.: Three cases of amoebiasis of the cervix uteri. J. Obstet. Gynaec. Br. Commonw., *80*: 476, 1973.
28. CORBISHLEY, C. M.: Microbial flora of the vagina and cervix. J. Clin. Path., *30*: 745, 1977.
29. CORSCADEN, J. A.: Gynecologic Cancer, 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1956.
30. DAVIS, H. J.: The irrigation smear. A cytologic method for mass population screening by mail. Am. J. Obstet. Gynec., *84*: 1017, 1962.
31. DAVIS, J. R., and MOON, L. B.: Increased incidence of adenocarcinoma of uterine cervix. Obstet. Gynec., *45*: 79, 1975.
32. DELLEPIANE, G.: Vaginal cytology in abortion. Acta Cytol., *3*: 282, 1959.
33. DEMOPOULOS, R. I.: Normal endometrium. *In* BLAUSTEIN, A. (Ed.): Pathology of the Female Genital Tract. pp. 211–242. New York, Springer-Verlag, 1977.
34. DE WAARD, F., and SCHWARZ, F.: Weight reduction and postmenopausal estrogenic effect. Acta Cytol., *8*: 449, 1964.
35. DOWLING, E. A., GRAVLEE, L. C., and HUTCHINS, K. E.: A new technique for the detection of adenocarcinoma of the endometrium. Acta Cytol., *13*: 469, 1969.
36. FACTOR, S. M.: Papillary adenocarcinoma of the endometrium with psammoma bodies. Arch. Path., *98*: 201, 1974.
37. FEICHTER, G. E., TAUBER, P. F., and LANDOWSKI, J.: Clinical experience with a new endometrial cell sampling kit in early detection of endometric cancer. Read in the 7th International Congress of Cytology, Munich, 1980.
38. FERREIRA, C. A.: Vaginal cytology in abortion. Acta Cytol., *3*: 283, 1959.
39. FIDLER, H. K., and BOYES, D. A.: Symposium on probable persentage of invasive carcinoma passing through the stage of carcinoma in situ. Acta Cytol., *6*: 188, 1962.
40. FORNEY, J. P., DISAIA, P. J., and MORROW, C. P.: Endodermal sinus tumor—A report of two sustained remissions treated postoperatively with a combination of actinomycin D, 5-fluorouracil, and cyclophosphamide. Obstet. Gynec., *45*: 186, 1975.
41. FREEMAN, C., BERG, J. W., and CUTLER, S. J.: Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas. Cancer, *29*: 252, 1972.
42. FRIEDELL, G. H., HERTIG, A. T., and YOUNGE, P. A.: The problem of early stromal invasion in carcinoma in situ of the uterine cervix. Arch. Path., *66*: 494, 1958.
43. FROST, J. K.: Gynecologic and obstetric cytopathology. *In* NOVAK, E. R., and WOODRUFF, J. D. (Eds.): Novak's Gyneocologic and Obstetric Pathology, 7th ed. pp. 634–728. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1974.
44. FUJIMOTO, I., MIWA, H., MASUBUCHI, S., TSUZUKU, M., HIRATA, M., and MASUBUCHI, K.: Psammoma bodies found in cervico-vaginal and/or endometrial cytology. Read in 7th International Congress of Cytology, Munich, 1980.
45. GALVIN, G. A., and TELINDER, R. W.: The present-day status of noninvasive cervical carcinoma. Am. J. Obstet. Gynec., *57*: 15, 1949.
46. GAUDEFROY, M.: Diagnosis of pregnancy by means of cytology. Acta Cytol., *3*: 294, 1959.
47. GLÜCKSMANN, A.: Relationships between hormonal changes in pregnancy and the development of "mixed carcinoma" of the cervix. Cancer, *10*: 831, 1957.
48. GLÜCKSMANN, A., and CHERRY, C. P.: Incidence, histology and response to radiation of mixed carcinomas (adenoacanthomas) of the uterine cervix. Cancer, *9*: 971, 1956.
49. GOMPEL, C.: Is there a physiological cell type which may be defined as "androgenic cell type"? Acta Cytol., *1*: 83, 1957.
50. GRAHAM, R. M.: The Cytologic Diagnosis of Cancer, 3rd ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1972.
51. GRAY, L. A., CHRISTOPHERSON, W. M., and HOOVER, R. N.: Estrogens and endometrial carcinoma. Obstet. Gynec., *49*: 385, 1977.
52. GUPTA, T. D., and D'URSO, J.: Melanoma of female genitalia. Surg. Gynec. Obstet., *119*: 1074, 1964.

53. GUYTON, A. C.: Basic Human Physiology; Normal Function and Mechanisms of Disease. pp. 852–867. Philadelphia, W. B. Saunders, 1977.
54. HAMMOND, D. O.: Vaginal cytolopy at the end of pregnancy. Acta Cytol., *10*: 230, 1966.
55. HAMPERL, H.: Definition and classification of the so-called carcinoma is situ. *In* Cancer of the Cervix, Ciba Foundation Study Group, London, J. & A. Churchill Ltd., 1959.
56. HAMPERL, H.: Über das infiltrierende (invasive) Tumorwachstum. Virchows Arch. Path. Anat., *340*: 185, 1966.
57. HAMPERL, H., KAUFMANN, C., and OBER, K. G.: Histologische Untersuchungen an der Cervix schwangerer Frauen; die Erosion und das Carcinoma in situ. Arch. Gynäk., *184*: 181, 1954.
58. HAMUD, K., and MORGAN, D. A.: Papillary adenocarcinoma of endometrium with psammoma bodies. Cancer, *29*: 1326, 1972.
59. HELLER, C., and HOGT, V.: Squamous cell changes associated with the presence of candida sp. in cervical-vaginal Papanicolaou smears. Acta Cytol., *15*: 379, 1971.
60. HENDERSON, P. H., Jr., and BUCK, C. E.: Cervical leukoplakia. Am. J. Obstet. Gynec., *82*: 887, 1961.
61. HERBST, A. L., ULFEDER, H., and POSKARZER, D. C.: Adenocareinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol with tumor appearance in going women. N. Engl. J. Med., *284*: 878, 1971.
62. HILLS, E., and LAVERTY, C. R.: Electron microscopic detection of papilloma virus in selected koilocytotic cells in a routine cervical smear. Acta Cytol., *23*: 53, 1979.
63. HINSELMANN, H.: Die Diagnose des Uterus carcinoms. Klin. Wschr., *9*: 1507, 1930.
64. HOPMAN, B. C.: A method for the detection of ruptured membranes through examination of vaginal cytology. Am. J. Obstet. Cynec., *63*: 1342, 1952.
65. HOPMAN, B. C.: Histochemistry of carcinoma in situ. Acta Cytol., *5*: 361, 1961.
66. HOPMAN, B. C.: The Cytologic Diagnosis of Pregnancy. Miami, Miami Post Publishing Co., 1963.
67. HOPMAN, B. C., WARGO, J. D., and WERCH, S. C.: Cytology of vernix caseosa cells. Obstet. Gynec., *10*: 656, 1957.
68. HRUSHOVETZ, S. B., and LAUCHLAN, S. C.: Comparative DNA content of cells in the intermediate and parabasal layers of cervical intraepithelial neoplasia studied by two-wavelength feulgen cytophotometry. Acta Cytol., *14*: 68, 1970.
69. JANOVSKI, N. A., and PARAMANDHAN, T. L.: Ovarian Tumors. Stuttgart, Georg Thieme, 1973.
70. JOHNSON, L. D., EASTERDAY, C. L., GORE, H., and HERTIG, A. T.: The histogenesis of carcinoma in situ of the uterine cervix: A preliminary report of the origin of carcinoma in situ in subcylindrical cell anaplasia. Cancer, *17*: 213, 1964.
71. JONES, H. W., DROEGEMUELLER, W., and MAKOWSKI, E. L.: A primary melanocarcinoma of the cervix. Am. J. Obstet. Gynec., *111*: 959, 1971.
72. JORDAN, S. W., EVANGEL, E., and SMITH, N. L.: Ethnic distribution of cytologically diagnosed herpes simplex genital infections in a cervical cancer screening program. Acta Cytol., *16*: 363, 1972.
73. JOSEY, W. E., NAHMIAS, A. J., NAIB, Z. M., UTLEY, P. M., MCKENZIE, W. J., and COLEMAN, M. T.: Genital herpes simplex infection in the female. Am. J. Obstet. Gynec., *96*: 493, 1966.
74. KASPER, T. A., SMITH, E. S. O., COOPER, P., CLAYTON, J., and TODD, D.: An analysis of the prevalence and incidence of gynecologic cancer cytologically detected in a population of 175, 767 women. Acta Cytol., *14*: 261, 1970.
75. KITAY, D. Z., and WENTZ, W. B.: Cervical cytology in folic acid deficiency of pregnancy. Am. J. Obstet. Gynec., *104*: 931, 1969.
76. KLAUS, H.: Quantitative criteria of folate deficiency in cervico vaginal cytograms with a report of a new parameter. Acta Cytol., *15*: 50, 1971.
77. KOELSCH, R., and TSUTSULOPULOS, G.: Fortschritte in der Fluortherapie. Die Trichomonaskolpitis und ihre Behandlung mit Devegan. Münch. med. Wschr., *80*: 1538, 1933.
78. KOLLER, A., and ARTNER, J.: Die Cytologie der normalen Schwangerschaft. Gynaecologia, *136*: 137, 1953.
79. KOMOROWSKI, R. A., and CLOWRY, L. J., Jr.: Koilocytotic atypia of the cervix. Obstet. Gynec., *47*: 540, 1976.
80. KÖRTE, W.: Discussion in symposium on probable or possible premalignant cervical lesions. Acta Cytol., *5*: 280, 1961.
81. KOSHINO, M: Detection of herpes virus infection of the female genitalia by cytosmear and its incidence. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *16*: 77, 1977.
82. KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1968.
83. KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology, 3rd ed. p. 529. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1979.
84. KOSS, L. G.: The role of the vaginal pool smear in the diagnosis of endometrial carcinoma. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 176–177. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
85. KOSS, L. G., and DURFEE, G. R.: Unusual patterns of squamous epithelium of uterine cervix: Cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. Ann. N. Y. Acad. Sci., *63*: 1245, 1956.
86. KOSS, L. G., STEWART, F. W., FOOTE, F. W., JORDAN, M. J., BADER, G. M., and DAY, E.: Some histological aspects of behavior of epidermoid carcinoma in situ and related lesions of the uterine cervix. Cancer, *16*: 1160, 1963.
87. KOTTMEIER, H. L.: Carcinoma of the Female Genitalia. Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1953.
88. KRUMINS, I., YOUNG, Q., PACY, F., BOUSFIELD, L., and MULHEARN, L.: The cytologic diagnosis of adenocarcinoma in situ of the cervix uteri. Acta Cytol., *21*: 320, 1977.
89. LANGE, P.: Clinical and histological studies on cervical carcinoma; precancerosis, early metastases and tubular structures in the lymph nodes. Acta Path. Microbiol. Scand., *50* (Suppl. 143): 1, 1960.
90. LAVERTY, C. R., RUSSELL, P., HILLS, E., and BOOTH, N.: The significance of noncondylomatous wart virus infection of the transformation zone: A review with discussion of two illustrative cases. Acta Cytol., *22*: 195, 1978.
91. LEMBERG-SIEGFRIED, S., and STAMM, O.: Der Vaginalabstrich am Schwangerschaftsende und seine diagnostische Verwendung zur Bestimmung des Geburtstermins. Geburth. u. Frauenheilk., *15*: 885, 1955.
92. LICHTFUS, C., PUNDEL, J. P., and GANDER, R.: Le frottis vaginal à la fin de la grossesse. Gynéc. obstét., *57*: 380, 1958.
93. LIU, W., BARROW, M. J., SPITLER, M. F., and KOCHIS, A. F.: Normal exfoliation of endometrial cells in

premenopausal women. Acta Cytol., 7: 211, 1963.
94. MARTZLOFF, K. H.: Carcinoma of the cervix uteri. A pathologic and clinical study with particular reference to relative malignancy of the neoplastic process as indicated by the predominant type of cancer cell. Bull. Johns Hopkins Hosp., *34*: 141, 1923.
95. MASUBUCHI, S., Jr., NAGAI, I., HIRATA, M., KUBO, H., and MASUBUCHI, K.: Cytologic studies of malignant melanoma of the vagina. Acta Cytol., *19*: 527, 1975.
96. MASUKAWA, T.: Endometrial aspiration cytology in the diagnosis of hyperplasia and carcinoma. Read in the 7th International Congress of Cytology, Munich, 1980.
97. MCKAY, D. G., TERJANIAN, B., POSCHYACHINDA, D., YOUNGE, P. A., and HERTIG, A. T.: Clinical and pathologic significance of anaplasia (atypical hyperplasia) of the cervix uteri. Obstet. Gynec., *13*: 2, 1959.
98. MCLENNAN, M. T., and MCLENNAN, C.: Significance of cervicovaginal cytology after radiation therapy for cervical carcinoma. Am. J. Obstet. Gynec., *121*: 96, 1975.
99. MEISELS, A.: Vaginal smear in the menopause. Acta Cytol., *4*: 151, 1960.
100. MEISELS, A.: Le diagnostic cyto-hormonal durant la grossesse. Laval Medical., *34*: 552, 1963.
101. MEISELS, A.: The menopause: A cytohormonal study. Acta Cytol., *10*: 49, 1966.
102. MEISELS, A.: The maturation value. Acta Cytol., *11*, 249, 1967.
103. MEISELS, A., and DUBREUIL-CHARROIS, M.: Hormonal cytology during pregnancy. Acta Cytol., *10*: 376, 1966.
104. MEISELS, A., and FORTIN, R.: Condylomatous lesions of the cervix and vagina: I. Cytologic patterns. Acta Cytol., *20*: 505, 1976.
105. MEISELS, A., FORTIN, R., and ROY, M.: Condylomatous lesions of the cervix and vagina: II. Cytologic, colposcopic and histopathologic study. Acta Cytol., *21*: 379, 1977.
106. MEYER, I. O., and VON HAAM, E.: cited from VON HAAM, The Cytology of Pregnancy. Acta Cytol., *5*: 320, 1961.
107. MEYER, R.: Tubuläre (testikuläre) und solide Formen des Andreioblastoma ovarii und ihre Beziehung zur Vermännlichung. Beitr. f. path. Anat., *84*: 485, 1930.
108. MICHALKIEWICZ, W., PRZYBORA, L. A., SIMM, S., and WOLNA, M.: Recurrence and therapeutic problems in cervical dysplasia and in situ cancer. Cancer, *16*: 1212, 1963.
109. MIKUTA, J. J., and CELEBRE, J. A.: Adenocarcinoma of the cervix. Obstet. Gynec., *33*: 753, 1969.
110. MONTALVO, L.: Vaginal cytology during delivery. Acta Cytol., *9*: 337, 1965.
111. MORSE, A., and ELLICE, R.: Endometrial aspirate cytology and modern gynecologic practice. Read in the 7th International Congress of Cytology, Munich, 1980.
112. MOSS, L. D., and COLLINS, D. N.: Squamous and adenoid cystic basal cell carcinoma of the cervix uteri. Am. J. Obstet. Gynec., *88*: 86, 1964.
113. MUTH, H.: Vaginal smears in the menopause. Acta Cytol., *4*: 151, 1960.
114. NAGUIB, S. M., COMSTOCK, G. W., and DAVIS, H. J.: Epidemiologic study of trichomoniasis in normal women. Obstet. Gynec., *27*: 607, 1966.
115. NAHMIAS, A. J., JOSEY, W. E., NAIB, Z., LUCE, C. F., and GUEST, B. A.: Antibodies to herpes virus hominis types 1 and 2 in humans. Am. J. Epidem. *91*: 547, 1970.
116. NAHMIAS, A. J., and ROIZMAN, B.: Infection with herpes simplex viruses 1 and 2. N. Engl. J. Med., *289*: 667, 1973; *289*: 719, 1973.
117. NAIB, Z. M.: Single trophoblastic cells as a source of error in the interpretation of routine vaginal smears. Cancer, *14*: 1183, 1961.
118. NAIB, Z. M., NAHMIAS, A. J., JOSEY, W. E., and KRAMER, J. H.: Genital herpetic infection: Association with cervical dysplasia and carcinoma. Cancer, *23*: 940, 1969.
119. NAVAB, A., KOSS, L. G., and LADUE, J. S.: Estrogen-like activity of digitalis. Its effect on the squamous epithelium of the female genital tract. J. A. M. A., *194*: 30, 1965.
120. NESBITT, R. E. L., Jr., GARCIA, R., and ROME, D. S.: The prognostic value of vaginal cytology in pregnancy. Obstet. Gynec., *17*: 2, 1961.
121. NESBITT, R. E. L., Jr., and HELLMAN, L. M.: The histopathology and cytology of the cervix in pregnancy. Surg. Gynec. Obstet., *94*: 10, 1952.
122. NESBITT, R. E. L., Jr., and STEIN, A. A.: Histochemistry of carcinoma in situ. Acta Cytol., *5*: 365, 1961.
123. NG, A. B. P., and REAGAN, J. W.: Cellular manifestations of extrauterine cancer. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 198-203. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
124. NG, A. B. P., REAGAN, J. W., STORAASLI, J. P., and WENTZ, W. B.: Mixed adenosquamous carcinoma of the endometrium. Am. J. Clin. Path., *59*: 765, 1973.
125. NIEBURGS, H. E.: Diagnostic Cell Pathology in Tissue and Smears. New York, Grune & Stratton, 1967.
126. NIGOGOSYAN, G., DELA PAVA, S., and PICKREN, J. W.: Melanoblasts in vaginal mucosa. Cancer, *17*: 912, 1964.
127. NOGALES-FERNANDEZ, F., SILVERBERG, S. G., BLOUSTEIN, P. A., MARTINEZ-HERNANDEZ, A., and PIERCE, G. B.: Yolk sac carcinoma (endodermal sinus tumor): Ultrastructure and histogenesis of gonadal and extragonadal tumors in comparison with normal human yolk sac. Cancer, *39*: 1462, 1977.
128. NORRIS, E. H.: Arrhenoblastoma: A malignant ovarian tumor associated with endocrinological effects. Am. J. Cancer, *32*: 1, 1938.
129. NORRIS, H. J., and ROBINOWITZ, M.: Ovarian adenocarcinoma of mesonephric type. Cancer, *28*: 1074, 1971.
130. NORRIS, H. J., and TAYLOR, G. B.: Melanomas of the vagina. Am. J. Clin. Path., *46*: 420, 1966.
131. NOVAK, E. R., and NALLEY, W. B.: Uterine adenoacanthoma. Obstet. Gynec., *9*: 396, 1957.
132. OKAGAKI, T., LEACH, V., YOUNGE, P. A., MCKAY, D., and KEVORKIAN, A. Y.: Diagnosis of anaplasia and carcinoma in situ by differential cell counts. Acta Cytol., *6*: 343, 1962.
133. OOTA, K., and TANAKA, M.: On histogenesis of cervical cancers of the uterus. A histological study on in situ and early carcinomas. Gann, *45*: 567, 1956.
134. ORIEL, J. D., and ALMEIDA, J. D.: Demonstration of virus particles in human genital warts. Br. J. Vener. Dis., *46*: 37, 1970.
135. PAPANICOLAOU, G. N.: Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear. New York, Commonwealth Foundation, 1943.
136. PATTEN, S. F., Jr.: Morphologic subclassification of

preinvasive cervical neoplasia. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 112–124. Chicago, Tutorials of Cytology, 1976.

137. PATTEN, S. F., Jr.: Postirradiation dysplasia of the uterine cervix: Cytopathology and clinical significance. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 268–274. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
138. PATTEN, S. F., Jr., REAGAN, J. W., OBENAUF, M., and BALLARD, L. A.: Postirradiation dysplasia of uterine cervix and vagina: An analytical study of the cells. Cancer, *16*: 173, 1963.
139. PETERSEN, O.: Precancerous changes of cervical epithelium in relation to manifest cervical carcinoma: Clinical and histological aspects. Acta Radiol., Suppl. *127*: 1, 1955.
140. PETERSEN, O.: Spontaneous course of cervical precancerous conditions. Am. J. Obstet. Gynec., *72*: 1063, 1956.
141. PLUMMER, G., and MASTERSON, J. G.: Herpes simplex virus and cancer of the cervix. Am. J. Obstet. Gynec., *111*: 81, 1971.
142. PORRECO, R., PENN, I., DROEGEMUELLER, W., GREER, B., and MAKOWSKI, E.: Gynecologic malignancies in immunosuppressed organ homograft recipients. Obstet. Gynec., *45*: 359, 1975.
143. PUNDEL, J. P.: Acquisitions récentes en cytologie vaginale hormonale. pp. 56–76; 98–103. Paris, Masson, 1957.
144. PUNDEL, J. P.: Is there a physiological cell type which may be defined as "androgenic cell type"? Acta Cytol., *1*: 82, 1957.
145. PUNDEL, J. P.: Definitions of "cytolysis" and "autolysis". Acta Cytol., *2*: 54, 1958.
146. PUNDEL, J. P.: Are degenerative cell changed in endometrial cells due to inadequate preparation technique of smears? Acta Cytol., *2*: 588, 1958.
147. PUNDEL, J. P.: Normal vaginal cytology during pregnancy. Acta Cytol., *3*: 211, 1959.
148. PUNDEL, J. P.: Incidence of cytolysis in vaginal smear during pregnancy. Acta Cytol., *3*: 219, 1959.
149. PUNDEL, J. P.: Vaginal cytology as prognostic method in pregnancy disorders. Acta Cytol., *3*: 231, 1959.
150. PUNDEL, J. P.: Diagnosis of pregnancy by means of cytology. Acta Cytol., *3*: 295, 1959.
151. PUNDEL, J. P.: Vaginal smears in the menopause. Acta Cytol., *4*: 152, 1960.
152. PUNDEL, J. P.: Vaginal cytology at the end of pregnancy. Acta Cytol., *10*: 228, 1966.
153. PUNDEL, J. P., and VAN MEENSEL, F.: Gestation et Cytologie vaginale. Paris, Masson & Cie, 1951.
154. PUROLA, E., and SAVIA, E.: Cytology of gynecologic condyloma acuminatum. Acta Cytol., *21*: 26, 1977.
155. QIZILBASH, A. H.: In-situ and microinvasive adenocarcinoma of the uterine cervix: A clinical, cytologic and histologic study of 14 cases. Am. J. Clin. Path., *64*: 155, 1975.
156. RAD, M. J., and JEANNOT, A.: Letters to the editors. Enterobius vermicularis in cervical smear. Acta Cytol., *14*: 466, 1970.
157. RAKOFF, A. E.: The vaginal cytology of gynecologic endocrinopathies. Acta Cytol., *5*: 153, 1961.
158. RAWLS, W. E., GARDNER, H. L., and KAUFMAN, R. L.: Antibodies to general herpesvirus in patients with carcinoma of the cervix. Am. J. Obstet. Gynec., *107*: 710, 1970.
159. RAWLS, W. E., TOMPKINS, W. A. F., FIGUEROA, M. E., and MELNICK, J. L.: Herpesvirus type 2: Association with carcinoma of the cervix. Science, *161*: 1255, 1968.
160. REAGAN, J. W., HICKS, D. J., and SCOTT, R. B.: Atypical hyperplasia of uterine cervix. Cancer, *8*: 42, 1955.
161. RENKONEN, O. V., WIDHOLM, O., and VARTIAINEN, E.: Microbiological findings (Vaginal infection, I.). Acta Obstet. Gynec. Scand., *49* (Suppl. 2): 3, 1970.
162. RICHART, R. M.: Colposcopic studies of cervical intraepithelial neoplasia. Cancer, *19*: 395, 1966.
163. RICHART, R. M.: Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. Clin. Obstet. Gynec., *10*: 748, 1967.
164. RICHART, R. M., and BARRON, B. A.: A follow-up study of patients with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynec., *105*: 386, 1969.
165. ROBERTS, T. H., and NG, A. B. P.: Chronic lymphocytic cervicitis: Cytologic and histopathologic manifestations. Acta Cytol., *19*: 235, 1975.
166. ROTTINO, A., and MCGRATH, J. F.: Masculinovoblastoma, primary masculinizing tumor of ovary. Arch. Int. Med., *63*: 686, 1939.
167. SAKAMOTO, A., and SUGANO, H.: Mixed mesodermal tumor of the uterine body: Relationship between histology and survival. Gann, *67*: 263, 1976.
168. SANDRITTER, W., CARL, M., and RITTER, W.: Cytophotometric measurements of the DNA content of human malignant tumors by means of the Feulgen reaction. Acta Cytol., *10*: 26, 1966.
169. SANDRITTER, W., and FISCHER, R.: Über den DNS-Gehalt des normalen Plattenepithels des Carcinoma in situ und des invasiven Karzinoms der Porito. 1. Internationaler Kongress für exfoliative Zytologie, Gynec. Austria, 1961.
170. SAPHIR, O., and LACKNER, J. E.: Adenocarcinoma with clear cells (hypernephroid) of the ovary. Surg. Gynec. Obstet., *79*: 539, 1944.
171. SCHABERG, A., HILDES, J. A., and WILT, J. C.: Disseminated candidiasis. A. M. A. Arch. Int. Med., *95*: 112, 1955.
172. SCHLEIFSTEIN, J.: Changes in the uterine cervix associated with pregnancy and epidermoid carcinoma in situ. N. Y. J. Med., *50*: 2795, 1950.
173. SHERMAN, A. I., GOLDRATH, F. M., BERLIN, F. A., VAKHARIYA, F. V., BANOONI, F. F., MICHAELO, W., GOODMAN, P., and BROWN, S.: Cervical-vaginal adenosis after in utero exposure to synthetic estrogens. Obstet. Gynec., *44*: 531, 1974.
174. SHOJANIA, A. M., HORNADY, G. J., and BARNES, P. H.: The effect of oral contraceptives on folate metabolism. Am. J. Obstet. Gynec., *111*: 782, 1971.
175. SINGER, A.: The uterine cervix from adolescence to the menopause. Br. J. Obstet. Gynec., *82*: 81, 1975.
176. SKINNER, I. C., and MCDONALD, J. R.: Mixed adenocarcinoma and squamous cell cancer of the uterus. Am. J. Obstet. Gynec., *40*: 258, 1940.
177. SMITH, D. C., PRENTICE, R., THOMPSON, D. J., and HERRMANN, W. L.: Association of exogenous estrogen and endometrial carcinoma. N. Engl. J. Med., *293*: 1164, 1975.
178. SMITH, M. R., FIGGE, D. C., and BENNINGTON, J. L.: The diagnosis of cervical cancer during pregnancy. Obstet. Gynec., *31*: 193, 1968.
179. SMOLKA, H., and SOOST, H.-J.: Grundriss und Atlas der Gynäkologischen Zytodiagnostik. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1965.
180. SNYDER, L. M., and NECHELES, T. F.: Malabsorption of folate polyglutamates associated with contraceptive therapy. Clin. Res., *17*: 602, 1969.

181. SOSZKA, S., and WISNIEWSKI, L.: Cytologic evaluation of fetal death and an attempt to determine the time of its occurrence. Acta Cytol., *11*: 403, 1967.
182. SPRIGGS, A. I., BODDINGTON, M. M., and CLARKE, C. M.: Carcinoma-in-situ of the cervix uteri. Some cytogenetic observations. Lancet, *1*: 1383, 1962.
183. STAFL, A., and MATTINGLY, R. F.: Vaginal adenosis: A precancerous lesion? Am. J. Obstet. Gynec., *120*: 666, 1974.
184. STAMM, O., RAWYLER, V., and RIOTTON, G.: Vaginal cytology in abortion. Acta Cytol., *3*: 283, 1959.
185. STEINER, G., and FRIEDELL, G. H.: Adenosquamous carcinoma in situ of the cervix. Cancer, *18*: 807, 1965.
186. STEVENS, L. C.: The biology of teratomas including evidence indicating their origin from primordial germ cells. ANN. Biol., *1*: 585, 1962.
187. STONE, D. F., SEDLIS, A., STONE, M. L., and TURKEL, W. V.: Estrogen-like effects in the vaginal smears of postmenopausal women. Acta Cytol., *11*: 349, 1967.
188. STREIFF, R.: Folate deficiency and oral contraceptives. J. A. M. A., *214*: 105, 1970.
189. TAFT, P. D., ROBBOY, S. J., HERBST, A. L., and SCULLY, R. E.: Cytology of clear-cell adenocarcinoma of genital tract in young females: Review of 95 cases from registry. Acta Cytol., *18*: 279, 1974.
190. TAKAHASHI, M.: *In* TAKAHASHI, M. (Ed.): Early Diagnosis of Uterine Cancer. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1968.
191. TAKI, I.: Cytology of hydatidiform mole, destructive mole and choriocarcinoma. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 210–214. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
192. TALERMAN, A., and HAIJE, W. G.: Alpha-fetoprotein and germ cell tumors: A possible role of yolk sac tumors in production of alpha-fetoprotein. Cancer, *34*: 1722, 1974.
193. TASKER, J. T., and COLLINS, J. A.: Adenocarcinoma of the uterine cervix. Am. J. Obstet. Gynec., *118*: 344, 1974.
194. TEILUM, G.: Classification of endodermal sinus tumor (mesoblastoma vitellinum) and so-called "embryonal carcinoma" of the ovary. Acta Path. Microbiol. Scand., *64*: 407, 1965.
195. THIN, R. N. T., ATIA, W., PARKER, J. D. J., and NICOL, C. S.: Value of Papanicolaou-stained smears in the diagnosis of trichomoniasis, candidiasis, and cervical herpes simplex virus infection in women. Br. J. Vener. Dis., *51*: 116, 1975.
196. TSUKADA, Y., HEWETT, W. J., BARLOW, J. J., and PICKREN, J. W.: Clear cell adenocarcinoma (mesonephroma) of the vagina: Three cases associated synthetic nonsteroid estrogen therapy. Cancer, *29*: 1208, 1972.
197. ULFELDER, H.: Stilbestrol, adenosis, and adenocarcinoma. Am. J. Obstet. Gynec., *117*: 794, 1973.
198. VAN NIEKERK, W. A.: Cervical cytological anbormalities caused by folic acid deficiency. Acta Cytol., *10*: 67, 1966.
199. VON HAAM, E.: The cytology of pregnancy. Acta Cytol., *5*: 320, 1961.
200. VON KOTHER, L., and SANDRITTER, W.: Über den DNS-Gehalt des Carcinoma in situ. Gynaecologia, *157*: 9, 1964.
201. VOOIJS, P. Q., NG, A. B. P., and WENTZ, W. B.: The detecting of vaginal adenosis and clear cell carcinoma. Acta Cytol., *17*: 59, 1973.
202. WACHTEL, E.: *In* Symposium on hormonal cytology. Acta Cytol., *12*: 101, 1968.
203. WAKONIG-VAARTAJA, R., and KIRKLAND, J. A.: A correlated chromosomal and histopathologic study of "pre-invasive" lesions of the cervix. Cancer, *18*: 1101, 1965.
204. WALTZ, W.: Symposium on premalignant cervical lesions. Acta Cytol., *5*: 120, 1961.
205. WEISBROT, I. M., STABINSKY, C., and DAVIS, A. M.: Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. Cancer, *29*: 1179, 1972.
206. WENTZ, W. B., and REAGAN, J. W.: Clinical significance of postirradiation dysplasia of the uterine cervix. Am. J. Obstet. Gynec., *106*: 812, 1970.
207. WESPI, H.: Early carcinoma of the uterine cervix. (Transl. by SCHILLER, M.). New York, N. Y., Grune & Stratton, Inc., 1949.
208. WHEELER, J. D., and HERTIG, A. T.: The pathologic anatomy of the uterus. I. Squamous carcinoma of the cervix. Am. J. Clin. Path., *25*: 345, 1955.
209. WHITEHEAD, N., REYNER, F., and LINDENBAUM, J.: Megaloblastic changes in the cervical epithelium: Association with oral contraceptive therapy and reversal with folic acid. J. A. M. A., *226*: 1421, 1973.
210. WIED, G. L.: Der zytologische Ausstrichtyp der Patientin mit klimakterischen Ausfallsbeschwerden. Zbl. f. Gynäk., *75*: 1578, 1953.
211. WIED, G. L.: Importance of the site from which vaginal cytologic smears are taken. Am. J. Clin. Path., *25*: 742, 1955.
212. WIED, G. L.: Definitions of "cytolysis" and "autolysis". Acta Cytol., *2*: 55, 1958.
213. WIED, G. L.: Techniques for collection and preparation of cytologic specimens from the female reproductive tract. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 9–16. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
214. WIED, G. L., and BIBBO, M.: Evaluation of the endocrinologic condition of the patient by means of vaginal cytology. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 3rd ed. Chicago, Tutorials of Cytology, 1975.
215. WIED, G. L., and CHRISTIANSEN, W.: Die Cytolyse von Epithelien des Vaginalsekretes. Geburtsh. u. Frauenheilk., *13*: 986, 1953.
216. WIED, G. L., DEL SOL, J. R., and DARGAN, A. M.: Progestational and androgenic substances tested on the highly proliferated vaginal epithelium of surgical castrates. I. Progestational substances. Am. J. Obstet. Gynec., 75: 98, 1958.
217. WILBANKS, G. D., CAMPBELL, J. A., and KAUFMANN, L. A.: Cellular changes of normal human cervical epithelium infected in vitro with herpesvirus hominis, type two (herpes simplex). Acta Cytol., *14*: 538, 1970.
218. WOLINSKA, W., and MELAMED, M.: Herpes genitalis in women attending planned parenthood of New York City. Acta Cytol., *14*: 239, 1970.
219. YOUNGE, P. A.: The concervative treatment of carcinoma in situ of the cervix. Proc. Second Nat. Cancer Conf., *1*: 668, 1952.
220. ZIEL, H. K., and FINKLE, W. D.: Increased risk of endometrial carcinoma among users of conjugated estrogens. N. Engl. J. Med., *293*: 1167, 1975.
221. ZIMMER, T. S.: Late irradiation change: A cytological study of cervical and vaginal smears. Cancer, *12*: 193, 1959.
222. ZINSER, H. K.: Tissue culture and carcinoma in situ. Acta Cytol., *6*: 159, 1962.

Addendum

223. ARIAS-STELLA, J.: Atypical endometrial changes associated with the presence of chorionic tissue. AMA. Arch. Path., *58*: 112, 1954.

224. ARIAS-STELLA, J.: On the importance of the atypical endometrial changes associated with the diagnosis of pregnancy. Am. J. Path., *34*: 601, 1958.

225. FOX, H., KAZZAZ, B., and LANGLEY, F. A.: Argyrophil tnd argentaffin cells in the female genital tract and in ovtrian mucinous cysts. J. Path. Bact., *88*: 479, 1964.

226. GILMAN, S. C., DOCHERTY, J. J., CLARKE, A., and RAWLS, W. E.: Reaction patterns of herpes simplex virus type 1 and type 2 proteins with sera of patients with uterine cervical carcinoma and matched controls. Cáncer Res., *40*: 4640, 1980.

227. GLÜCKSMANN, A., and CHERRY, C. P.: Incidence, histology, and response to radiation of mixed carcinomas (adenoacanthomas) of the uterine cervix. Cancer, *9*: 971, 1956.

228. KEMPSON, R. L., and BARI, W.: Uterine sarcomas: Classification, diagnosis and prognosis. Human Path., *1*: 373, 1970.

229. LITTMAN, P., CLEMENT, P. B., HENRIKSEN, B. et al: Glassy cell carcinoma of the cervix. Cancer, *37*: 2238, 1976.

230. LURAIN, J. R., and GALLUP, D. G.: Management of abnormal Papanicolaou smears in pregnancy. Obstet. Gynec., *53*: 484, 1979.

231. MACKAY, B., OSBORNE, B. M., and WHARTON, J. T.: Small cell tumor of cervix with neuroepithelial features. Cancer, *43*: 1138, 1979.

232. PATTEN, S. F., Jr.: Diagnostic Cytopathology of the Uterine Cervix. Monographs in Clinical Cytology, Vol. 3, 2nd revised edition. Basel, S. Karger, 1978.

233. PATTEN, S. F., Jr., WOODWORTH, F. E., and BONFIGLIO, T. A.: Cytopathology of uterine sarcomas. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 204–209. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.

234. SELTZER, V., SALL, S., CASTADOT, M-J., MURADIAN-DAVIDIAN, M., and SEDLIS, A.: Glassy cell cervical carcinoma. Gynecol. Oncol., *8*: 141, 1979.

235. TATEISHI, R., WADA, A., HAYAKAWA, K., HONGO, J., ISHII, S., and TERAKAWA, N.: Argyrophil cell carcinoma (apudomas) of the uterine cervix. Virchows Arch. Path. Anat. Histol., *366*: 257, 1975.

236. VAN NAGELL, J. R., Jr., DONALDSON, E. S., WOOD, E. G., MARUYAMA, Y., and UTLEY, J.: Small cell cancer of the uterine cervix. Cancer, *40*: 2243, 1977.

22 Mama

1. Recolección de las muestras y preparación de los extendidos

Secreción por el pezón

La citología de la secreción del pezón para detectar carcinoma mamario se hace con facilidad, pero tiene la desventaja de que pocas pacientes tienen secreción mamaria. En mujeres normales no se suele detectar secreción del pezón y la incidencia de emisión sanguinolenta en casos de cáncer de mama apenas llegaría a ser del 2 al 5 % (cuadro 53). Sin embargo, de acuerdo con la descripción de Ringrose[18] se obtiene secreción mamaria en el 27 % de las mujeres premenopáusicas nuligrávidas y en el 40 % de las premenopáusicas.

Cuadro 53. Incidencia de secreción sanguinolenta del pezón en casos de cáncer mamario

Autor	*Nº de casos de cáncer de mama*	*% con secr. sang.*
Geschickter (1945)	2.393	4 (%)
Nohrman (1949)	1.042	5
Haagensen (1956)	546	2
Hultborn (1960)	517	2
Sunada (1966)	186	4

Cuadro 54. Incidencia de cáncer de mama en casos de secreción sanguinolenta del pezón

Autor	*Nº con secreción sanguinol.*	*% con cáncer de mama*
Gray (1941)	227	52 (%)
Hinchey (1941)	67	36
Geschickter (1945)	287	36
Campbell (1946)	55	38
Nohrman (1949)	109	39
Kirgor (1953)	103	14
Sunada (1966)	32	22

que han tenido hijos, haciendo una suave compresión bilateral de las mamas. En ocasiones ocurre secreción mamaria en presencia de infección aguda, papiloma canalicular, dilatación quística de los conductos y neoplasias malignas. De todas maneras, se debe hacer el examen macroscópico de la secreción mamaria y se debe describir su aspecto –sanguinolento, purulento o seroso– porque en la secreción sanguinolenta la incidencia de cáncer es mucho mayor, pues asciende al 14 a 52 % (cuadro 54). Además del cáncer, otras causas frecuentes de secreción sanguinolenta son papiloma canalicular y mastopatía o enfermedad fibroquística (cuadro 55).

Procedimiento del masaje. Se acuesta a la paciente en decúbito dorsal y, mientras se sostiene la glándula mamaria con una mano, se toma con suavidad la base del pezón entre el pulgar y el índice de la otra mano. Haciendo rodar el pezón con estos dedos desde la base hacia la punta, se exprime la secreción acinosa que está almacenada en la ampolla. Se aplica un portaobjeto de vidrio limpio sobre el pezón y se hace un extendido fino de la secreción. Es necesario fijar el extendido inmediatamente en partes iguales de éter y etanol o con un fijador de revestimiento.

Aspiración con aguja

Como la secreción del pezón sólo se puede obtener en una limitada cantidad de casos de enfermedades benignas y malignas, la punción aspiradora con aguja fina de 0,7 a 0,9 mm de diámetro externo es muy confiable e inofensiva para determinar malignidad. No vale la pena comentar la exactitud del diagnóstico de la punción aspiradora y de los cortes congelados a cielo abierto. La citología de aspiración con aguja, que es muy confiable, se debe hacer como primer paso del examen en asociación con la mamografía, en caso de que se palpe algún bulto.[4, 24, 26] Se limpia, se esteriliza y se anestesia la piel del sitio de la punción aspiradora y luego se incide la piel que se ha de punzar. Se prepara un juego de

Cuadro 55. Secreción anormal del pezón y sus bases histológicas

	Cáncer	*Papiloma ductal*	*Mastopatía*	*Quiste*	*Mastitis*	*Otras*
Sanguinolenta	28 (85%)	5 (56%)	17 (73%)	2 (18%)	0	0
Serosa	1	1	4	5	0	4
Opaca	1	2	4	3	1	3
Purulenta	0	0	0	0	0	0
Otras	3	1	1	1	0	0
Total	33	9	26	11	1	7

(Misu, Y. y col.: Quinto Congreso sobre Investigaciones de Cáncer de Mama en Japón, Osaka, diciembre 4 de 1966.)

agujas calibre 18 de distintas longitudes y una jeringa de 10 ml. Para citología es preferible tener una jeringa diseñada para manejarla con una sola mano (fig. 1056).[8] Al introducir la aguja se debe fijar el tumor para que no se mueva. Justo antes de retirar la aguja se deja de traccionar el émbolo. El aspirado se extiende inmediatamente sobre un portaobjeto limpio de vidrio y se fija. Con esta técnica el peligro de trasplante tumoral es menor que con la biopsia quirúrgica, que puede seccionar vasos linfáticos o sanguíneos, y desde el punto de vista estadístico es desdeñable.[2, 19] Para evitar la pérdida de células dentro de la jeringa se debe hacer al mismo tiempo suspensión en solución fisiológica y centrifugación, o filtración con membrana.[9]

Impresiones de biopsias

Siendo la mama un órgano en que a menudo se hace diagnóstico con cortes congelados, el citodiagnóstico rápido

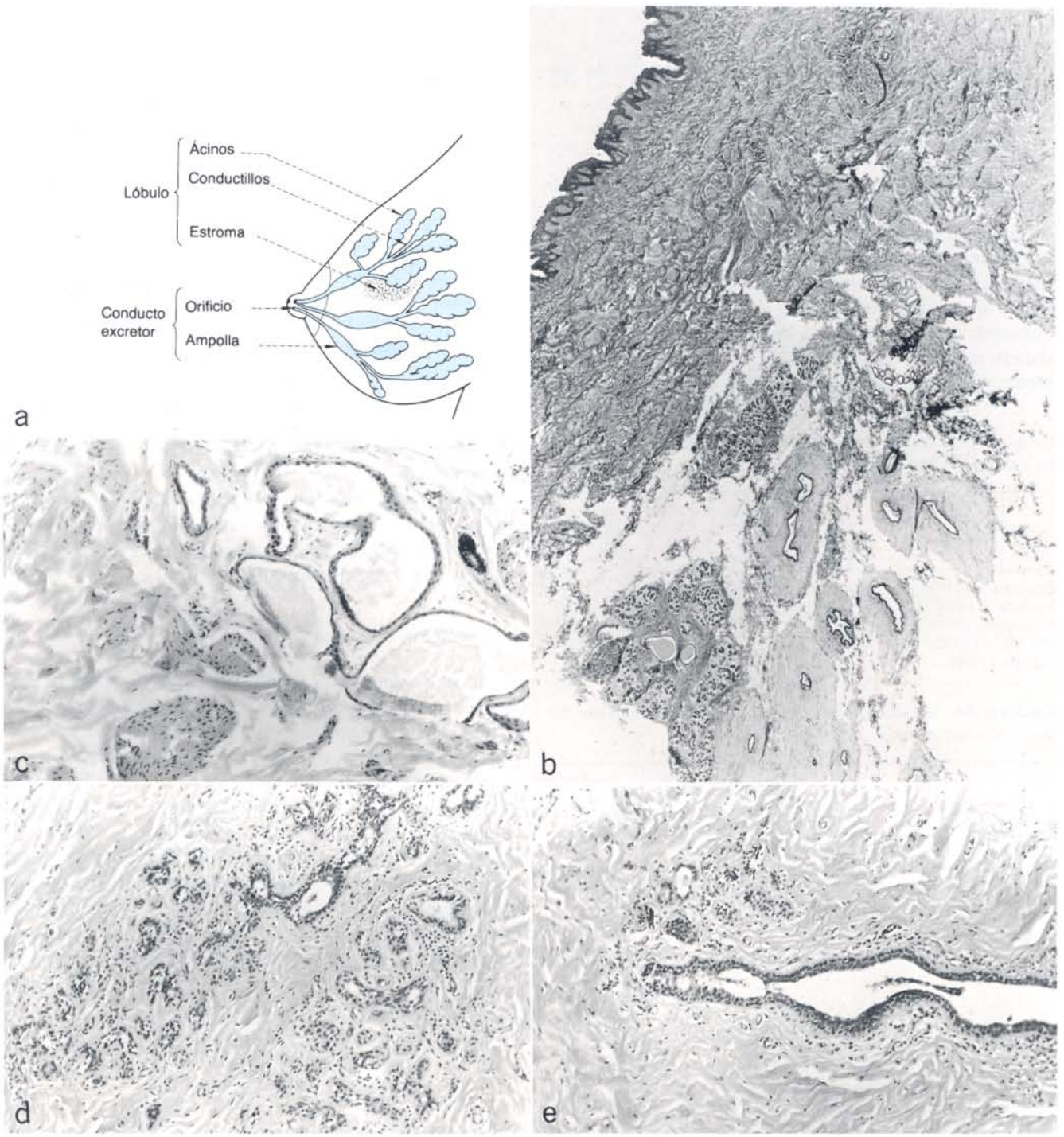


Fig. 466. Histología de la glándula mamaria. *a*, Diagrama. *b*, Glándula vista con poco aumento. Consiste en lóbulos rodeados de tejido fibroadiposo y en conductos galactóforos. *c*, Ampolla dilatada. *d*, Lóbulos mamarios constituidos por alvéolos en reposo y conductillos excretores. *e*, Conducto galactóforo más grande tapizado por unos pocos estratos de células epiteliales columnares bajas.

mediante impresiones es muy útil como coadyuvante de los cortes congelados. El extendido se imprime presionando la superficie de corte fresca contra un portaobjeto de vidrio limpio. Es necesario fijar inmediatamente para evitar el secado. Aunque los rasgos celulares son similares a los de los aspirados con aguja, las células epiteliales tienden a presentarse en aglomeraciones planas a modo de láminas.

2. Histología de la glándula mamaria

La mama femenina consiste en unas glándulas tubuloalveolares ramificadas, organizadas en 15 a 20 lóbulos rodeados de tejido fibroadiposo. La secreción emigra por los conductos alveolares y por los conductos galactóforos y sus dilataciones, llamadas ampollas (senos lactíferos), hasta el orificio del pezón. Los conductillos alveolares están tapizados por células columnares bajas y los senos lactíferos del pezón por células pavimentosas estratificadas. Las glándulas que exhiben actividad funcional contienen grasa en su luz y dentro de las células epiteliales secretantes. Durante la gestación, en particular hacia su final, las células epiteliales que han proliferado empiezan a secretar calostro, que es rico en lactoproteína. Bargmann y Knoop[1] observaron con el microscopio electrónico que las grandes gotitas de lípido se desprenden de una célula rodeadas por una membrana celular y, por lo tanto, se secretan mediante un mecanismo apocrino, mientras que el material proteináceo se concentra en el aparato de Golgi, se transporta hasta la superficie de la célula como gránulos y después se descarga como secreción merocrina. Hasta las glándulas en reposo exhiben cambios cíclicos de actividad funcional durante la edad de procrear. Al comienzo del ciclo las glándulas consisten en trabéculas sólidas de células epiteliales y carecen de luz. Más adelante en el ciclo, las glándulas se revisten de células epiteliales columnares bajas que forman luces evidentes.

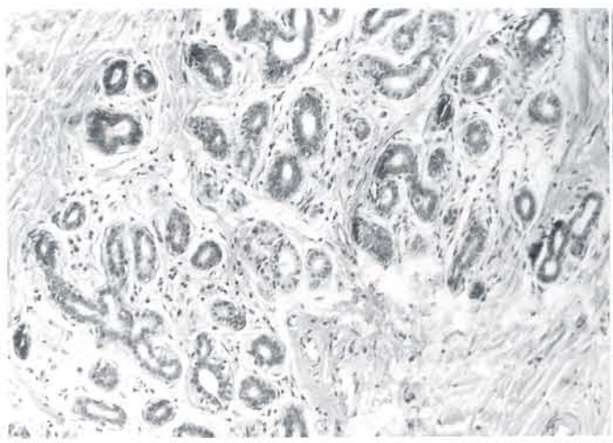
3. Componentes celulares benignos de las secreciones mamarias

Células espumosas

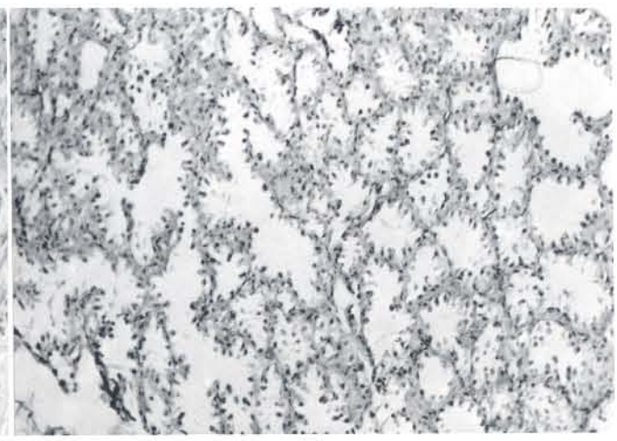
Aunque todavía no se esclareció bien la entidad de las células espumosas de origen histiocitario o epitelial canalicular, por su morfología son células histiocitarias y siempre existen en la secreción del pezón. Muchas veces estas células son positivas para los colorantes para grasas y dan la reacción del ácido peryódico de Schiff. La intensa positividad de las células espumosas para la reacción PAS difiere de los histiocitos ordinarios de otros órganos y corrobora el concepto de que se originan en células secretorias (figs. 470 y 471).

Citoplasma. El citoplasma es abundante, finamente vacuolar y de aspecto espumoso.

Núcleo. El núcleo es pequeño, oval o reniforme, y periférico. La cromatina es finamente granular. Además de las



467



468

469

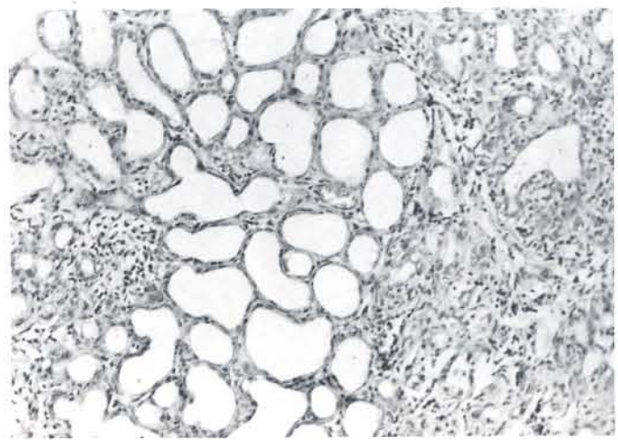


Fig. 467. Glándula mamaria en reposo. Los lóbulos están separados por tejido conectivo denso y poseen conductillos y alvéolos elongados.

Fig. 468. Mama en lactación. Los alvéolos son más numerosos y están distendidos. Las células epiteliales columnares sobresalen dentro de la luz como protrusiones cupuliformes.

Fig. 469. Galactocele de una glándula mamaria en lactación. Los alvéolos están revestidos por epitelio aplanado. Nótese la ligera reacción inflamatoria en el estroma.

células espumosas grandes, también se ven pequeñas células histiocitarias que exhiben fagocitosis de pigmentos sanguíneos o de restos celulares.

Células del epitelio canalicular

Se presentan agrupadas y a veces solas. Las aglomeraciones celulares adoptan una forma trabeculada y son de distintas longitudes y tamaños. Los núcleos suelen ser ovales, bastante pequeños y de tamaño parejo, pero aparecen comprimidos en racimos compactos. La exfoliación de células en tales racimos se debe a la proliferación papilífera benigna de las células epiteliales de los conductos. La metaplasia apocrina de las células del epitelio canalicular se caracteriza por un citoplasma eosinófilo abundante, con finos gránulos y unos núcleos pequeños un tanto picnóticos. La ocurrencia de

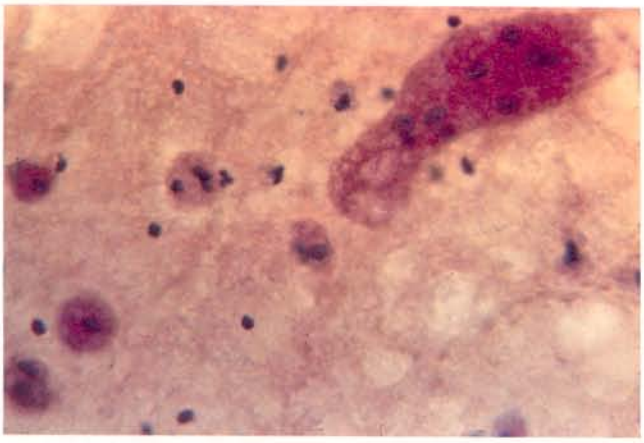


Fig. 470. Células espumosas PAS positivas en la secreción sanguinolenta de un caso de mastopatía. La intensa tingibilidad con PAS difiere del comportamiento de los histiocitos ordinarios.

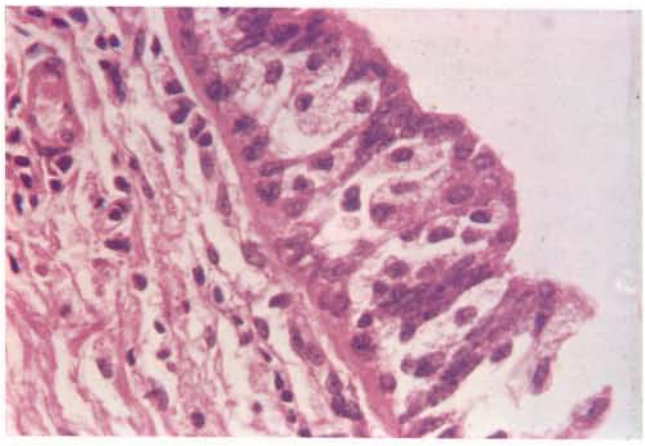


Fig. 471. Aspecto espumoso de las células epiteliales del conducto mamario. En el epitelio canalicular se forma un citoplasma espumoso claro.

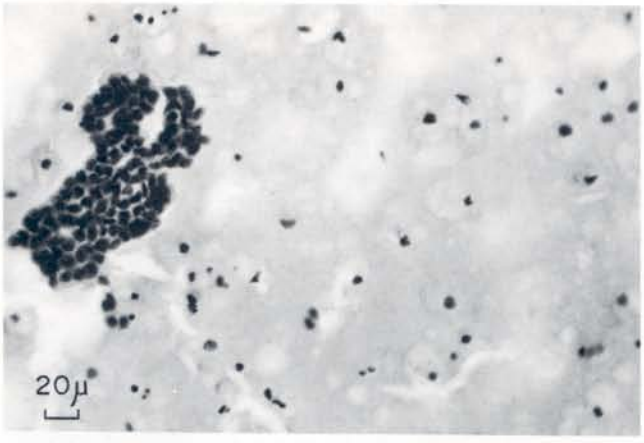


Fig. 472. Calostro rico en lactoproteína con intensa eosinofilia. Las vacuolas lipídicas son relativamente escasas. Nótese una aglomeración de células epiteliales canaliculares benignas. También hay cierta cantidad de células espumosas (fig. 473).

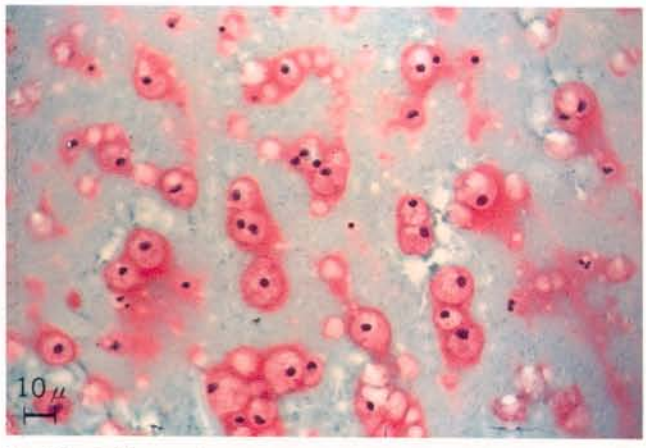


Fig. 473. Células que forman vacuolas de lípidos en el calostro. Los núcleos pequeños son centrales o paracentrales en un amplio citoplasma vacuolado. También es característico el material lipoproteico.

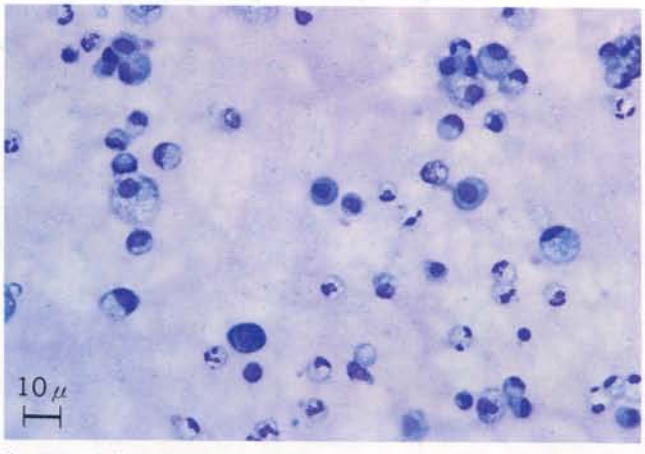


Fig. 474. Calostro teñido con Giemsa. Dentro de un material lipoproteináceo poco coloreado aparecen células espumosas y leucocitos.

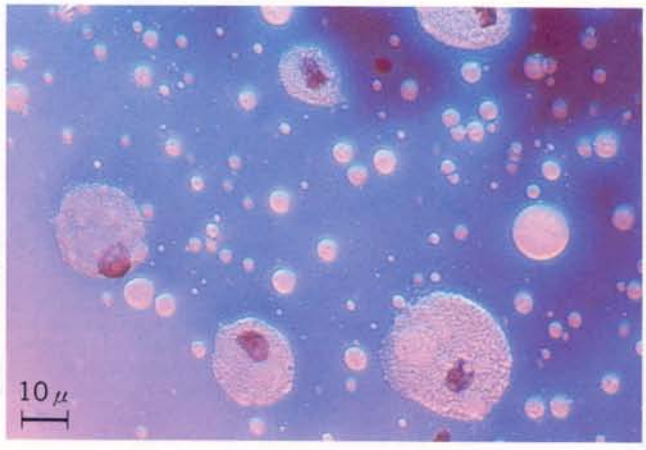
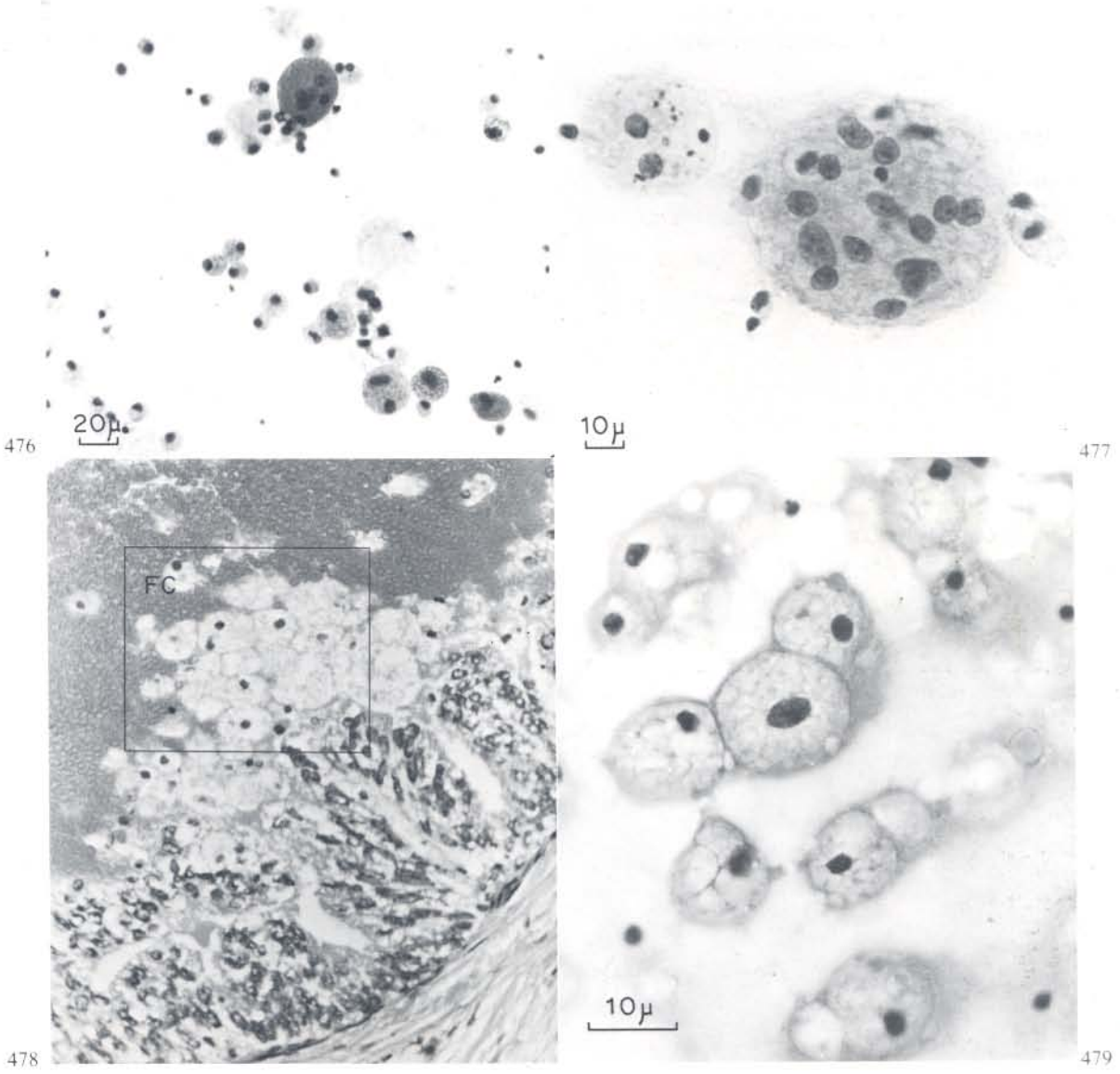


Fig. 475. Microscopia de interferencia diferencial del calostro. Se ven varias células espumosas y muchas gotitas de lípidos.



476 477 478 479

Fig. 476. Células espumosas multinucleadas e histiocitos pequeños.
Fig. 477. Célula espumosa multinucleada. El abundante citoplasma de aspecto espumoso contiene muchos núcleos pequeños diseminados.
Fig. 478. Histología de un caso con secreción sanguinolenta del pezón. Un conducto dilatado presenta una proliferación epitelial papilífera. La luz está ocupada por glóbulos rojos (*RC*) y células espumosas (*FC*).
Fig. 479. Células espumosas en una secreción sanguinolenta. Los núcleos son pequeños, ovoides y excéntricos. El citoplasma es abundante y finamente vacuolado.

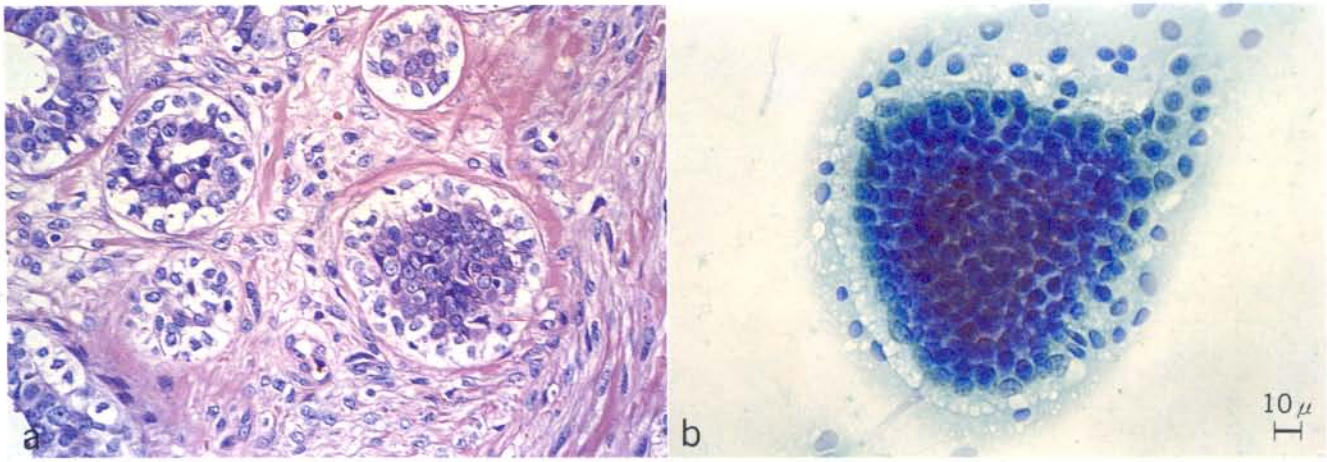


Fig. 480. Histología y citología de los ácinos de la mama. *a*, Células epiteliales acinosas y células mioepiteliales claras por fuera de los ácinos en el corte histológico. *b*, Grupo de células epiteliales uniformes y de células mioepiteliales dispersas en un extendido de impresión. El citoplasma de las células mioepiteliales es claro y de contornos borrosos.

células metaplásicas apocrinas y de células epiteliales canaliculares en una fronda papilífera es *de por sí* patológica y sugiere mastopatía.

Células pavimentosas

En ocasiones se ven algunas células pavimentosas, por lo general queratinizadas, que derivan del pezón o de los conductos galactóforos.

4. Enfermedades benignas

Mastitis aguda

La mujer es susceptible a la infección bacteriana en el posparto y durante la lactación. La inflamación aguda con tumefacción, enrojecimiento y dolor se diagnostica con facilidad por los signos clínicos.

La secreción purulenta del pezón, que no es infrecuente, delata su carácter inflamatorio por la abundancia de piocitos con restos necróticos (fig. 481). Aunque el citodiagnóstico de la mastitis aguda y subaguda no es difícil, la diferenciación entre mastitis aguda y carcinoma inflamatorio es problemática desde el punto de vista clínico.

Addendum: Carcinoma inflamatorio agudo. El carcinoma inflamatorio agudo también se llama carcinoma erisipeloide. Esta no es una entidad patológica específica, sino una variante clínica del carcinoma mamario que se manifiesta con enrojecimiento, sensibilidad y tumefacción difusa. Un rasgo histológico característico es la permeación de los linfáticos subepidérmicos por células cancerosas.

Mastitis plasmocitaria (ectasia de los conductos mamarios)

Este peculiar trastorno benigno de la mama se ve con poca frecuencia en mujeres que han tenido hijos. La lesión es una induración indefinida cuya histología se caracteriza por considerable infiltración plasmocitaria pericanalicular, seguida por dilatación y acumulación de secreciones espesas que contienen plasmocitos, histiocitos cargados de lípidos, células epiteliales degeneradas, leucocitos y detritos celulares necrosados. En el examen citológico la clave del diagnóstico de mastitis plasmocitaria es la preponderancia de plasmocitos. Como a este trastorno que simula neoplasia también se lo denomina ectasia de los conductos mamarios o comedomastitis, los citólogos pueden encontrar restos celulares necrosados, histiocitos y células del epitelio de revestimiento necrosadas (fig. 482).

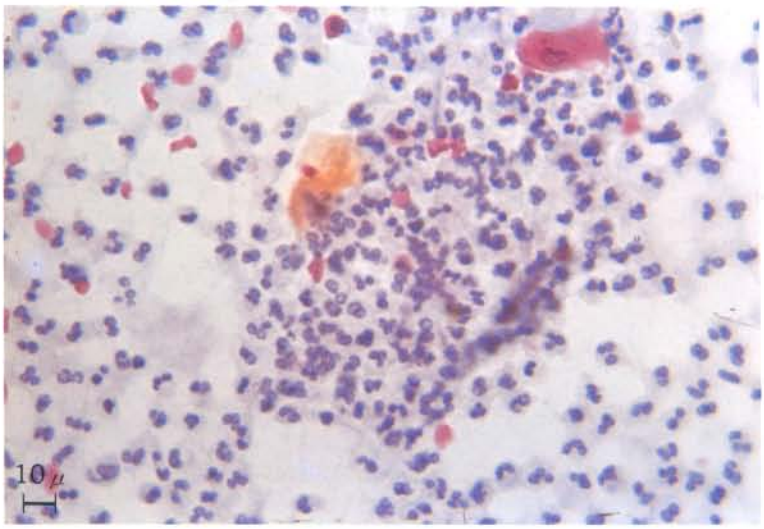


Fig. 481. Secreción purulenta por el pezón en una mastitis aguda de la lactación. Gran cantidad de neutrófilos mezclados con eritrocitos y células epiteliales pavimentosas provenientes del pezón.

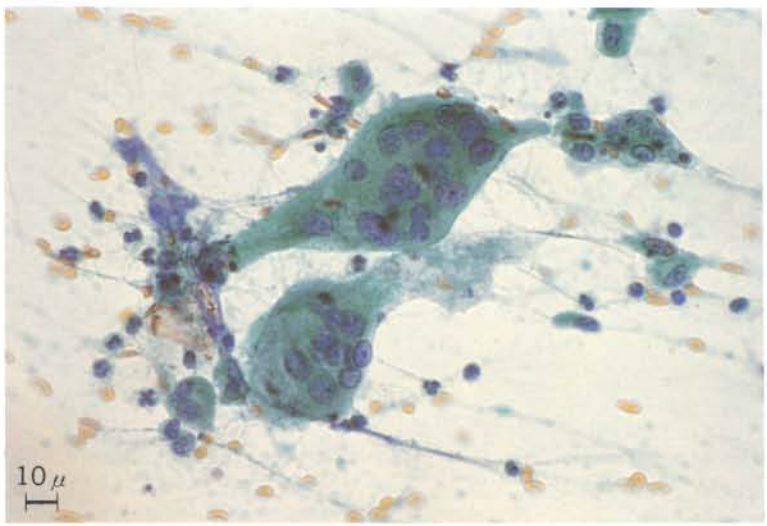
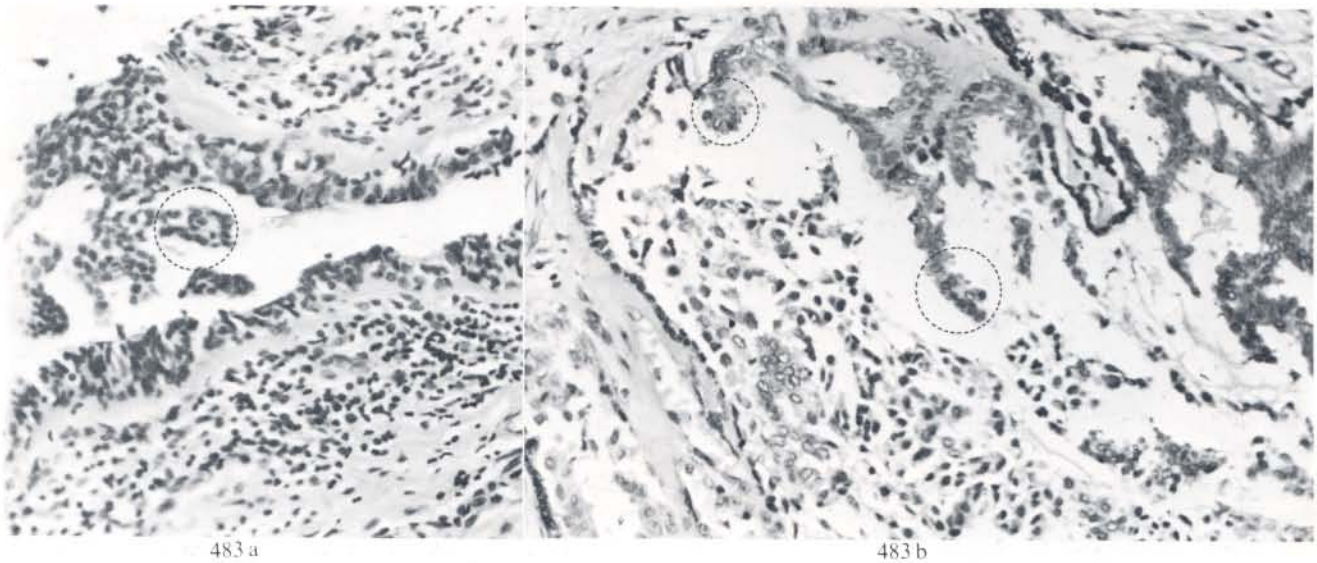
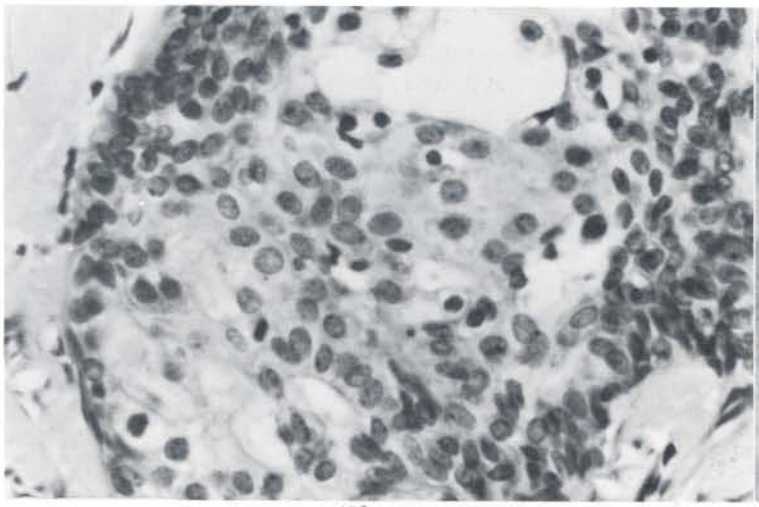


Fig. 482. Células multinucleadas del epitelio de revestimiento, macrófagos y leucocitos en la secreción de un caso con ectasia de los conductos mamarios. Extendido impreso de un bulto resecado que contenía muchos plasmocitos y células espumosas.

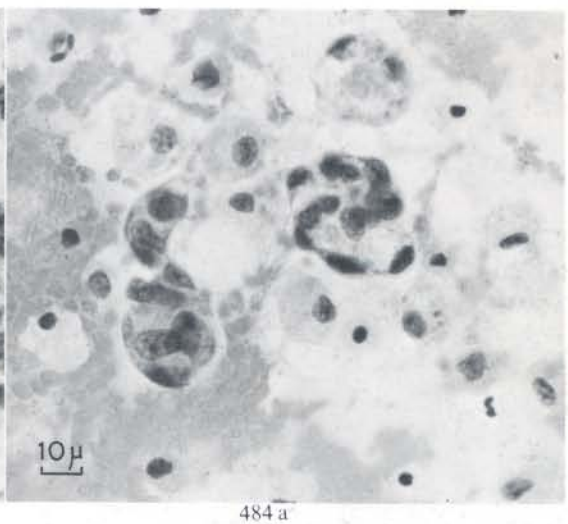


483 a

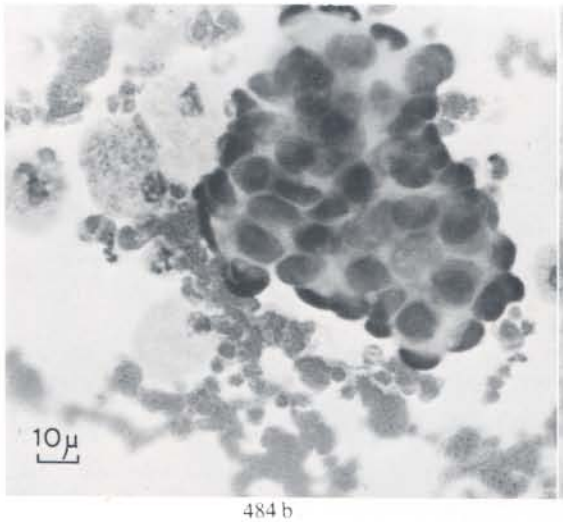
483 b



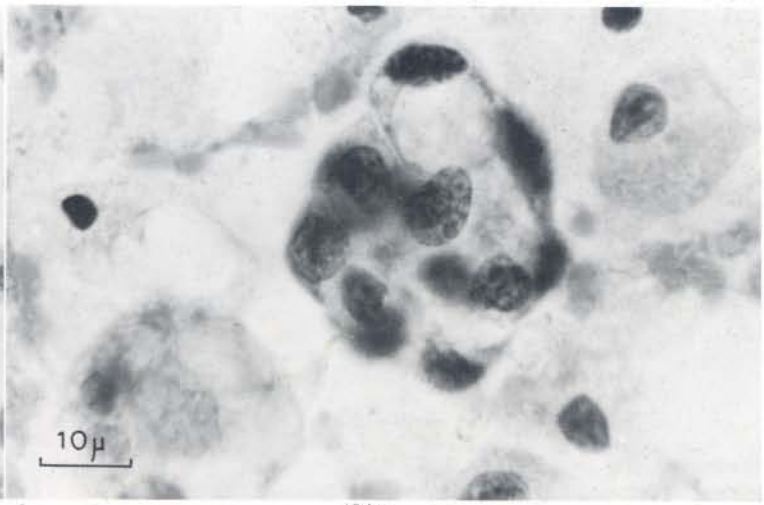
483 c



484 a



484 b

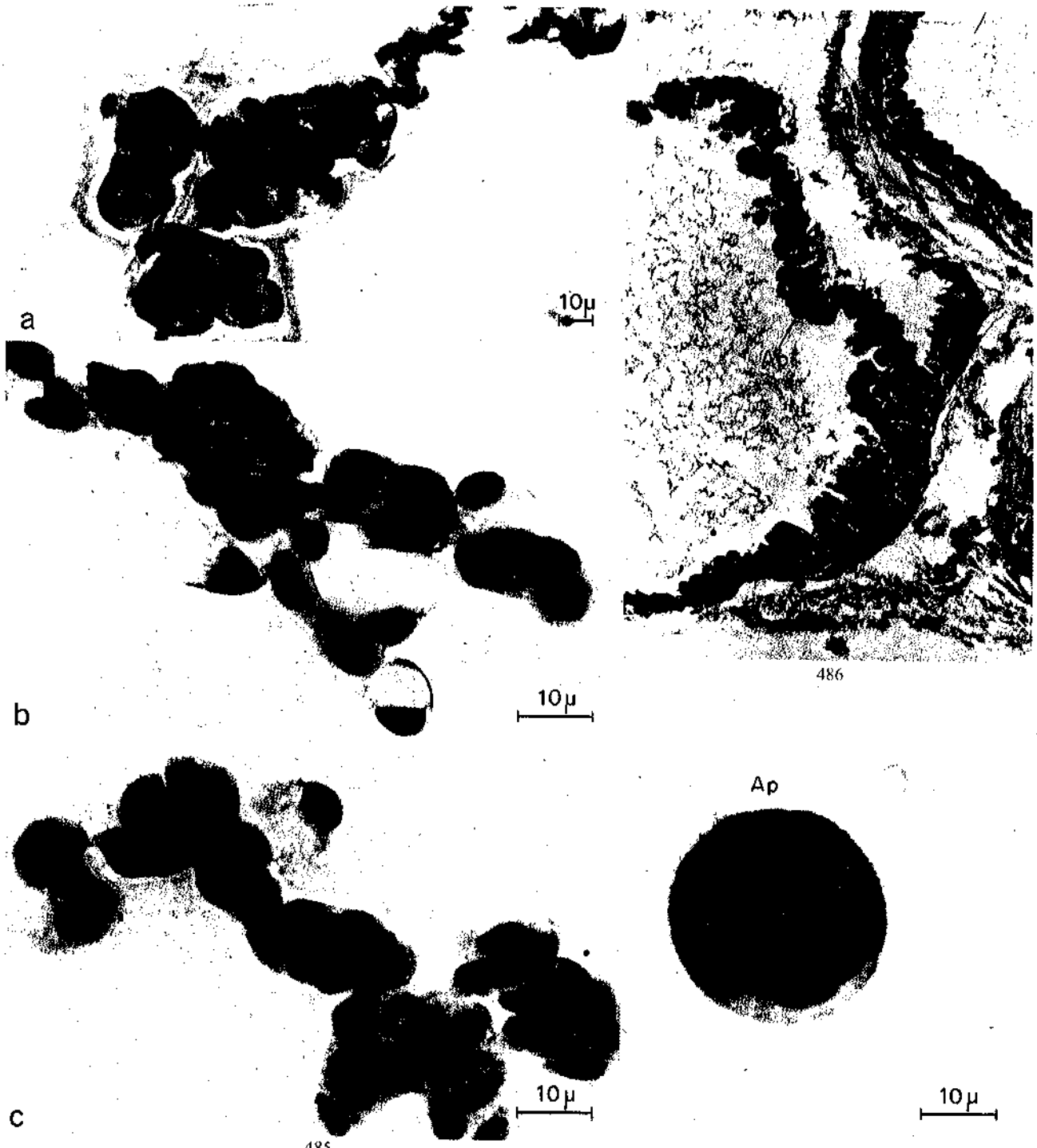


484 c

Fig. 483 (a y b). Papilomatosis canalicular asociada con dilatación quística de los conductos. Los conductos dilatados exhiben proliferación papilífera de las células epiteliales de revestimiento. Estas proliferaciones parecen desprenderse con facilidad (*círculos*).

Fig. 483 (c). Papilomatosis canalicular vista con mayor aumento. Un conducto está casi lleno de células epiteliales proliferadas. Los núcleos aparecen en láminas sólidas de células y son de tamaño y morfología uniformes.

Fig. 484 (a-c). Células epiteliales benignas dispuestas en racimos acinosos o en grandes láminas en los extendidos de una secreción sanguinolenta. Caso de la figura 483. La cantidad de núcleos que forman las aglomeraciones celulares es variable; en consecuencia, no se debe interpretar que las aglomeraciones grandes sean malignas (*b*). Estas aglomeraciones se delinean con nitidez y los núcleos de la periferia aparecen comprimidos. Nótese la vacuolización citoplasmática que se ve a veces en la mastitis quística crónica.



485

486

487

Fig. 485. Células epiteliales benignas en aglomeraciones grandes. La exfoliación de grandes grupos de células dispuestas en columnas largas se debe a la papilomatosis intracanalicular. Aunque las células de la periferia exhiben unos núcleos comprimidos con vacuolización del citoplasma o no, los núcleos son de tamaño parejo en general y exhiben una distribución finamente granular de las cromatinas.

Fig. 486. Dilatación quística de conductos con metaplasia apocrina. Los conductos con dilatación quística están revestidos por células apocrinas de pequeños núcleos picnóticos y citoplasma grueso e intensamente eosinófilo.

Fig. 487. Célula apocrina en la secreción mamaria. El citoplasma es grueso, muy eosinófilo, opaco y de contornos nítidos. Los núcleos, quizá binucleados, son pequeños y están en la periferia. *Ap*, Células apocrinas.

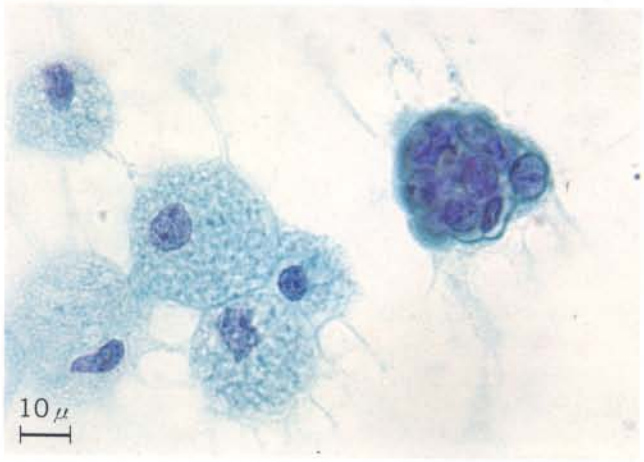


Fig. 488. Células epiteliales hiperplásicas descamadas juntas en la secreción del pezón. Los núcleos están aplanados en una bola celular libre y presentan una trama de cromatina suave. El límite de la bola celular es redondeado.

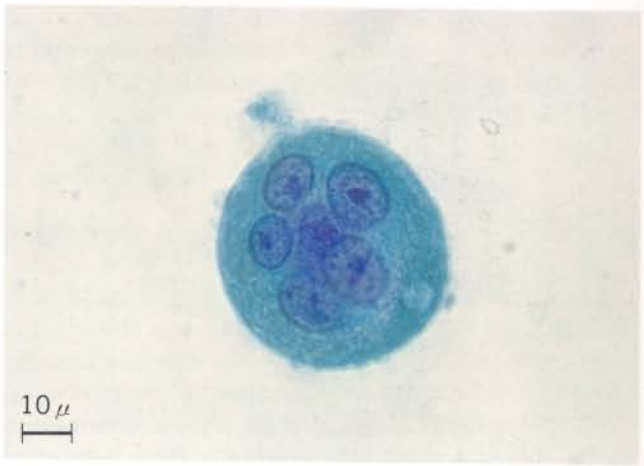


Fig. 489. Célula gigante multinucleada de origen epitelial en la secreción del pezón. Caso de la figura 488 con mastopatía. Los núcleos son redondos u ovales, de tamaño parejo y presentan una trama de cromatina uniforme y delicada. El citoplasma es grueso y bien delineado.

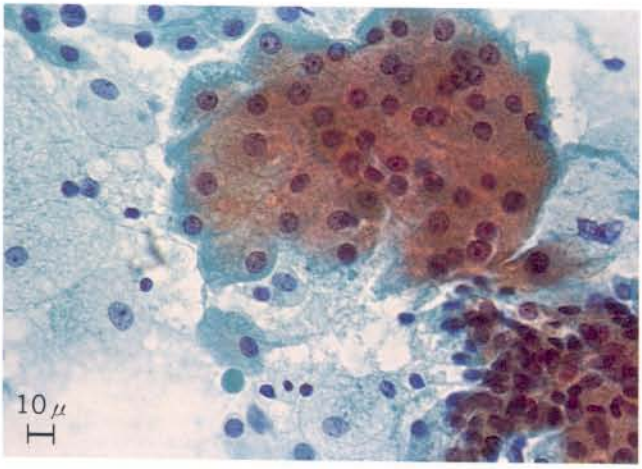


Fig. 490. Metaplasia apocrina de células del epitelio canalicular en impresiones de una paciente con mastopatía. Estas células están dispuestas en una lámina plana con aspecto de empedrado. Nótese el citoplasma finamente granular característico que da reacción tintorial acidófila.

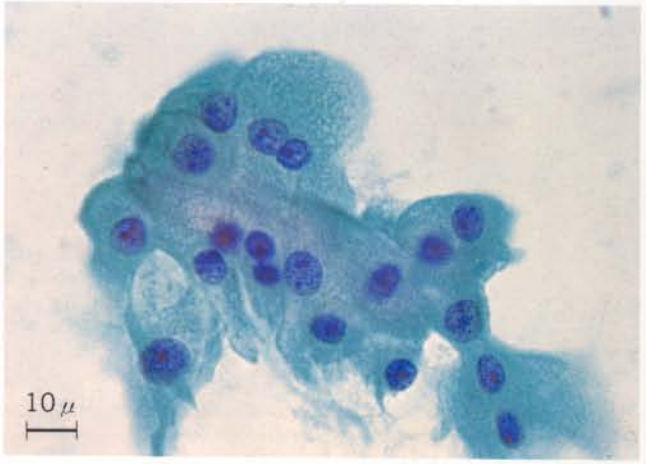


Fig. 491. Células metaplásicas apocrinas vistas con mayor aumento. La identificación de la metaplasia apocrina se basa en los siguientes rasgos: 1) finos gránulos acidófilos en el citoplasma, 2) grueso citoplasma poliédrico con tingibilidad anfótera, 3) núcleos redondos de tamaño parejo y 4) nucléolos únicos y prominentes.

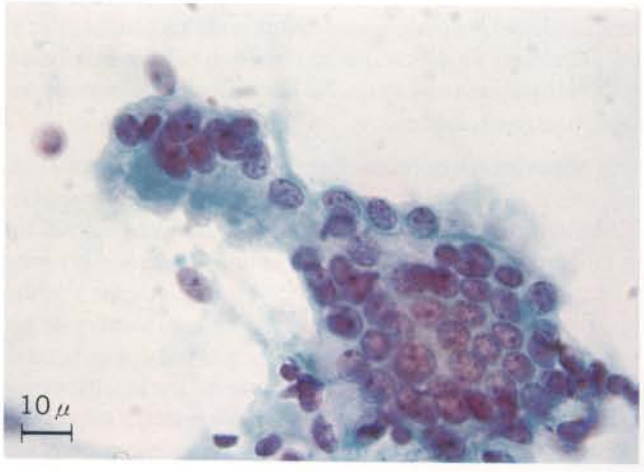


Fig. 492. Hiperplasia benigna del epitelio canalicular en impresiones de un caso de mastopatía. Los núcleos son hipercromáticos, pero de tamaño y morfología uniformes. Estas células con protrusiones citoplasmáticas no bien delineadas se llaman "células en bomba de gasolina" y se ven en la mastopatía.

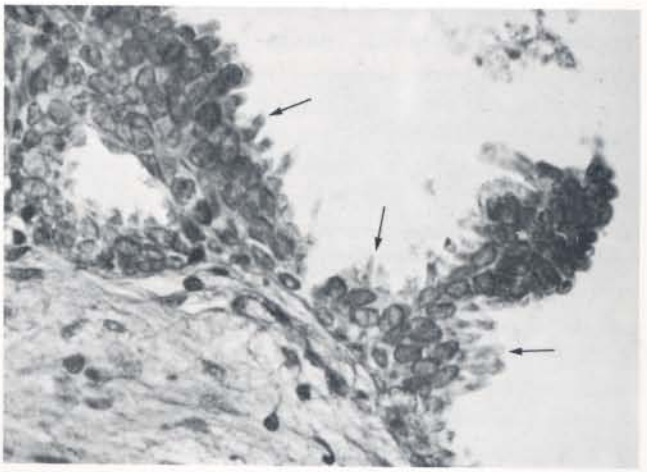


Fig. 493. Células en bomba de gasolina del epitelio hiperplásico en la mastopatía. Nótense las protrusiones citoplasmáticas características (*flechas*).

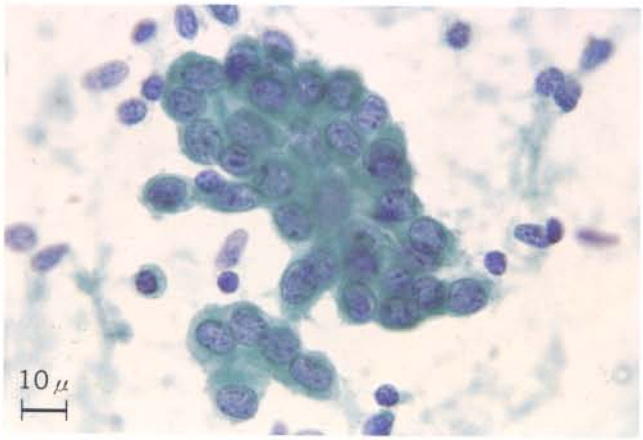


Fig. 494. Hiperplasia benigna en impresiones de un caso de mastopatía. Los núcleos suelen ser grandes e hipercromáticos, pero de tamaño y morfología uniformes. La cromatina es fina y de distribución pareja.

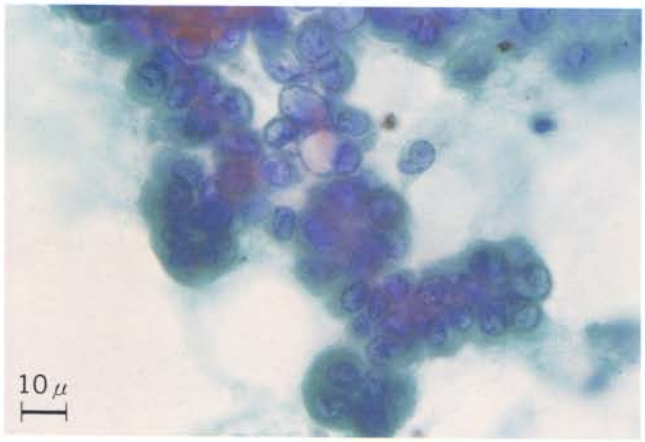


Fig. 495. Células tumorales papilíferas intraquísticas en una aglomeración densa. Los extendidos aspirados del quiste muestran unas células en densos racimos, con núcleos superpuestos pero pequeños y bastante uniformes. La vacuolización citoplasmática abona en favor de la benignidad.

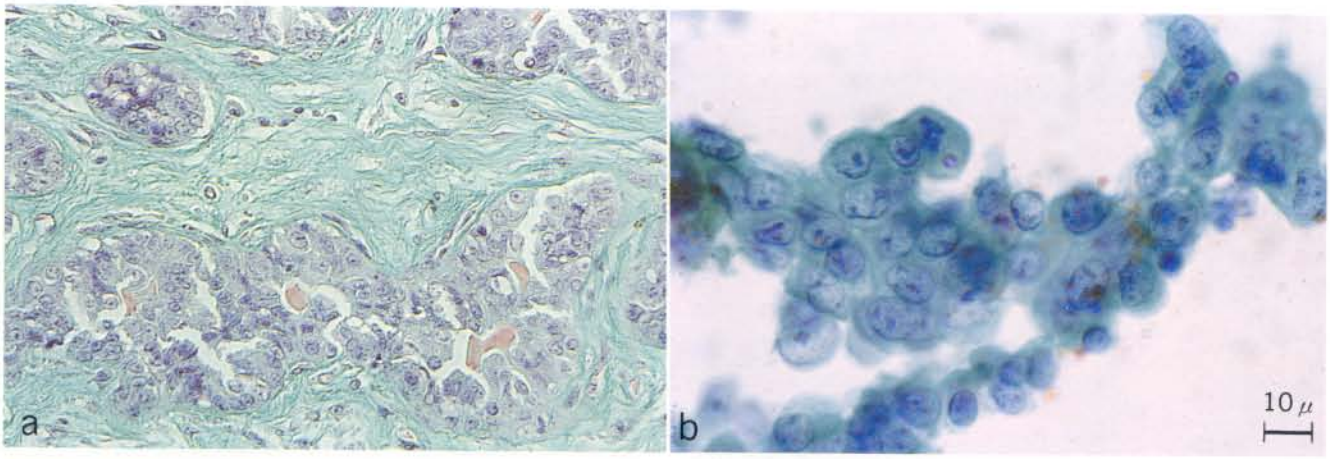


Fig. 496. Hiperplasia lobulillar fronteriza. *a*, Histología. Los ácinos y conductillos hiperplásicos varían de tamaño y se hallan tapizados por múltiples capas de células hipertróficas. *b*, La citología de la punción aspiradora muestra una aglomeración de células canaliculares atípicas. La aglomeración ductal elongada con irregularidad está constituida por células redondas uniformes. Aunque existen uno o dos nucléolos, los núcleos son de contornos lisos y blandos.

Mastopatía fibroquística

La enfermedad o mastopatía fibroquística es el trastorno más común de la mama que se debe distinguir del carcinoma por las siguientes razones: 1) Es una lesión común al final de la cuarta década de la vida, cuando es mayor la incidencia de cáncer; 2) más o menos con igual frecuencia ocurre secreción del pezón, que puede ser sanguinolenta o lechosa; 3) se palpan unos bultos firmes y mal definidos, y 4) es muy frecuente la asociación con carcinoma. En lo tocante a la asociación de la mastopatía fibroquística con carcinoma, se discute si esta lesión es precancerosa o paracancerosa. Aunque muchos autores señalaron la coincidencia de enfermedad fibroquística y cáncer, la incidencia de mastopatía fibroquística en pacientes con cáncer de mama, de acuerdo con Davis y col. (39,1 %)[5] y Silverberg y col. (39,4 %),[21] no difiere mayormente respecto de la hallada en casos de necropsias femeninas sin carcinoma mamario.[7] A los efectos de establecer el diagnóstico diferencial de malignidad en pacientes con un bulto tumoral en la mama, la punción aspiradora es de indudable importancia.

Patología. La enfermedad fibroquística, es decir, displasia mamaria o mastopatía en sentido amplio, comprende diversas formas histológicas como fibroesclerosis, hiperplasia quística y adenosis.

1) Fibroesclerosis. La fibroesclerosis es una variante de la enfermedad fibroquística que exhibe un sobrecrecimiento tan grande del estroma, que se comprimen los conductillos y las glándulas. Es difícil que se obtengan células epiteliales mediante punción con aguja. No hay dificultad para interpretar los rasgos celulares.

2) Hiperplasia quística. Esta alteración patológica es la variante más común de la displasia mamaria y comprende diversas lesiones que se conocen como enfermedad de Schimmelbusch, fibroadenomatosis quística de Semb y proliferación epitelial típica regular de los conductillos y lóbulos. Los rasgos histológicos varían de un caso a otro y de un sitio a otro de la mama: 1) Es frecuente encontrar ectasia quística asociada con proliferación epitelial intraquística (papilomatosis canalicular), 2) la hiperplasia epitelial se presenta como una hiperplasia lobulillar o fibroadenomatosis en miniatura, y 3) en el epitelio de revestimiento se observa metaplasia apocrina. La hiperplasia quística es una de las causas principales de secreción sanguinolenta del pezón y produce muchas aglomeraciones de células epiteliales hiper-

plásicas que los principiantes pueden interpretar erróneamente como malignas.

Citología. Los racimos celulares (frondas celulares) exfoliados de la proliferación papilífera intracanalicular pueden desplegar alteraciones sospechosas de malignidad, como hipertrofia nuclear, hipercromía y nucléolos prominentes. Desde el punto de vista citológico el carcinoma de mama es tema problemático porque es un grupo muy engorroso en citodiagnóstico. Zajicek (1976),[25] en su amplísima investigación, encontró el 11,3 % de casos sospechosos sobre 1068 carcinomas comprobados con histología, mientras que los exámenes citológicos negativos falsos representaron el 9,9 %. Kline[12] también describió el 18,1 % de casos sospechosos. El motivo por el cual el diagnóstico citológico de carcinoma mamario es poco exacto no se pudo elucidar del todo bien, pero en la mama son frecuentes los carcinomas con un grado bajo de atipia celular incluibles en un grupo sospechoso (clase III).

La displasia mamaria benigna se caracteriza por 1) una distribución celular sugestiva de frondas papilíferas, 2) núcleos redondos a ovales, a veces aplanados, situados en la periferia y de borde liso y delicado, y 3) una cromatina de distribución pareja a pesar de que hay uno o dos nucléolos nítidos. La presencia de nucléolos, en caso de que sean uno o dos, no tiene nada que ver con la distinción entre benignidad y malignidad. Además, la asociación con metaplasia apocrina y la exfoliación de muchas células espumosas son sugestivas de displasia de la glándula mamaria.

Si aparecen uno o más de los siguientes rasgos, el diagnóstico diferencial se inclina hacia el cáncer: 1) relación nuclear-citoplasmática muy aumentada, 2) considerable variación de tamaño de los núcleos, 3) macronucléolos múltiples, siempre más de dos, 4) macronúcleos mayores de 15 μ de diámetro, y 5) brotación de los núcleos hacia afuera, más allá del contorno celular en los racimos.

3) Adenosis y adenosis esclerosante. La clasificación histológica de la OMS define a la adenosis como una "celularidad aumentada por proliferación regular del epitelio mamario". Muchas veces esto se acompaña de diversos grados de proliferación mioepitelial y fibrosis. A raíz de la fibrosis, los elementos tubulares proliferados se deforman tanto que simulan neoplasia invasora.

Citología. Los racimos de células dispuestas en túbulos o acinos exhiben núcleos de tamaño y morfología uniformes, con cromatinas de distribución pareja. Lopes Cardozo[14] demostró que unas células mioepiteliales bipolares elongadas unidas al racimo celular, son útiles para confirmar la benignidad. También es importante la ausencia de "diátesis tumoral" en el extendido.

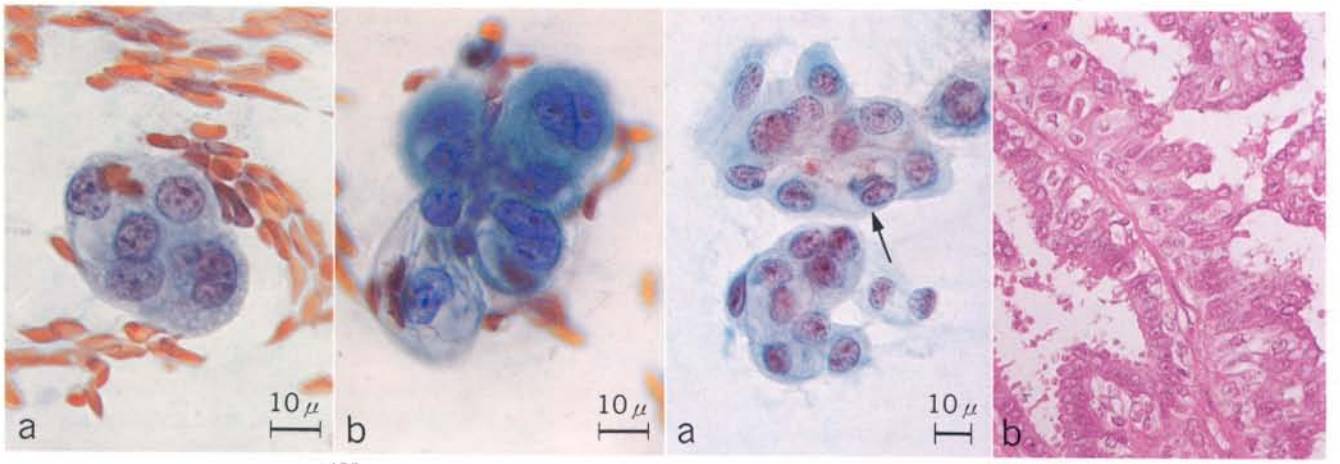
Papiloma intracanalicular

Las columnas elongadas o las aglomeraciones redondeadas de células epiteliales de núcleos ovoides hipertróficos aparecen en las secreciones del pezón sanguinolentas o no, mezcladas con muchas células espumosas. La vacuolización del citoplasma abona a favor de papilomatosis canalicular. Puede haber papilomas intracanaliculares múltiples como uno de los rasgos característicos de la enfermedad fibroquística. Si se detectan metaplasia apocrina (figs. 490 y 491) y células en bomba de gasolina (figs. 492 y 493), no es difícil trazar la diferencia con el carcinoma intracanalicular. En los preparados histológicos se disciernen papilomas con componentes de dos tipos de células epiteliales y carcinoma con una trama cribiforme de un estrato celular monomórfico,[13, 22] pero los citólogos, que no pueden basarse en tales anormalidades estructurales, tropiezan con dificultades; no es raro ver un carcinoma muy diferenciado que consiste en pequeñas células monomórficas. De acuerdo con el estudio de Boquoi y col.,[3] realizado con citofotometría Feulgen en tumores mamarios, los extendidos dudosos del carcinoma bien diferenciado exhiben histogramas de DNA similares a los de los tumores benignos, con picos en los juegos diploides de cromosomas y células tetraploides que sintetizan DNA. Si encontramos un carcinoma diferenciado constituido por núcleos bastante pequeños y uniformes sin atipia obvia, debemos observar cuidadosamente la variación de la distribución de la cromatina; aunque las células cancerosas aparezcan suaves en el preparado histológico, en los extendidos citológicos bien fijados se reconocen unas partículas de cromatina densamente aglomeradas en cada una de las células cancerosas.

Además, la configuración anormal de las aglomeraciones celulares es un rasgo importante sugestivo de malignidad. La cohesión de las células tumorales es menos pronunciada en el



Fig. 497. Epitelio hiperplásico en el papiloma intraquístico. Núcleos hipercromáticos y de tamaño un tanto variable. En el papiloma benigno son notables las "células en bomba de gasolina" (*G*) y la vacuolización intracelular (*V*).



498 499

Fig. 498. Hiperplasia benigna atípica en aspirados de punción de papiloma intraquístico. Estas células son difíciles de distinguir de las cancerosas por el agrandamiento nuclear y la prominencia de los nucléolos (*a*). Préstese atención a la cromatina suave y finamente granular y a la abundancia del citoplasma. Nótese la presencia de un tipo distinto de célula con citoplasma claro que podría provenir del mioepitelio.

Fig. 499. Citología de impresión e histología tras la escisión del papiloma intraquístico. Caso de la figura 498. *a*, La citología muestra núcleos uniformes con cromatinas suaves. La célula de citoplasma vacuolado y núcleo más pequeño podría ser de origen mioepitelial (*flecha*). *b*, La histología muestra un revestimiento de células intensamente teñidas con brotes secretorios y células mioepiteliales vacuoladas e hipertróficas.

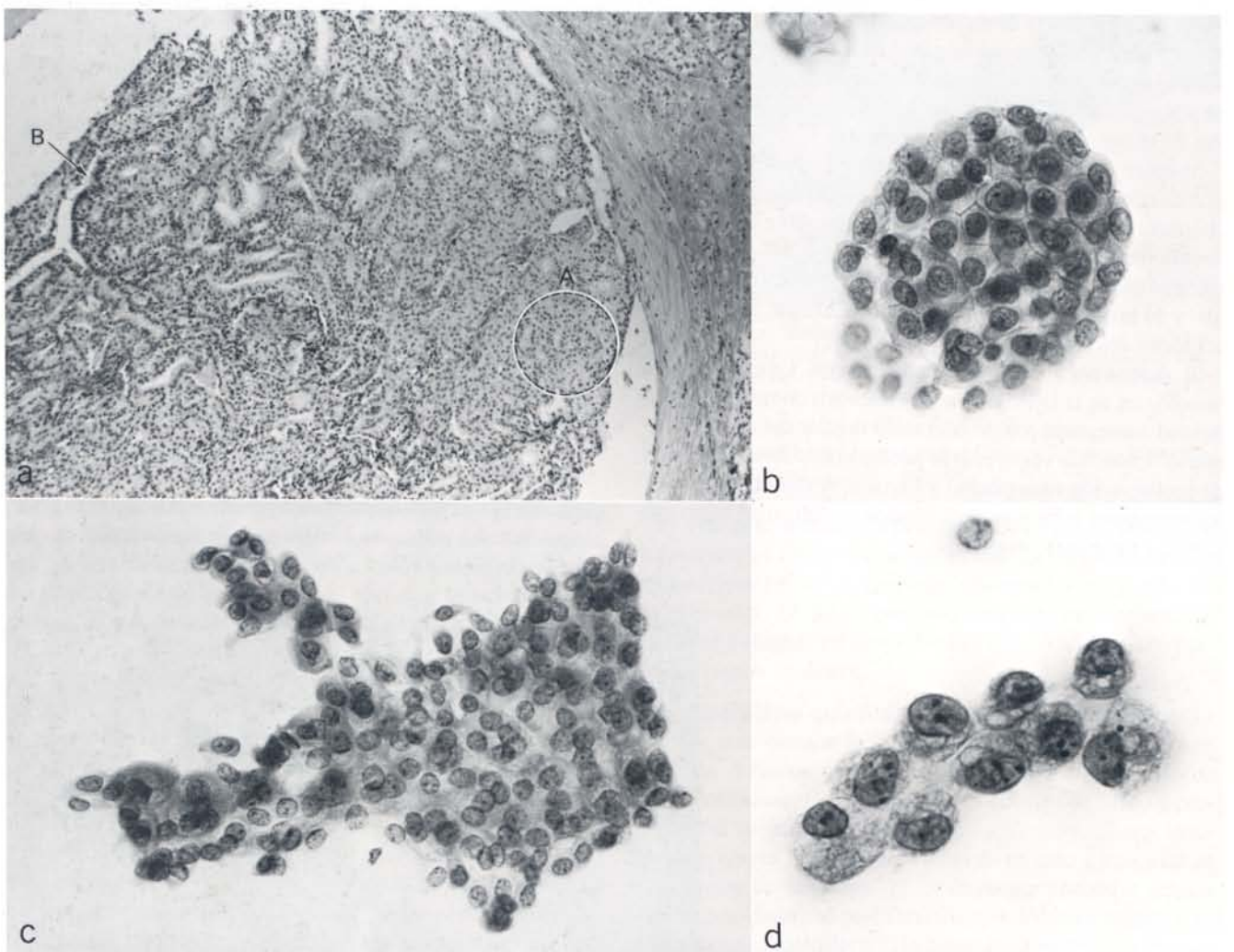


Fig. 500. Papiloma intraquístico. Histología (a) y citología de los aspirados con aguja (b-d). *a*, Histología del papiloma intraquístico. *b*, Bola celular benigna con núcleos redondos uniformes, comparable a las láminas sólidas de células (*flecha A*). Nótense los bordes celulares distintivos. *c* y *d*, Lámina celular papilífera de contornos irregulares o aglomeración tubular de células derivada de la histología con estructura tubular (*flecha B*) (*b* × 132, *c* × 132, *d* × 250).

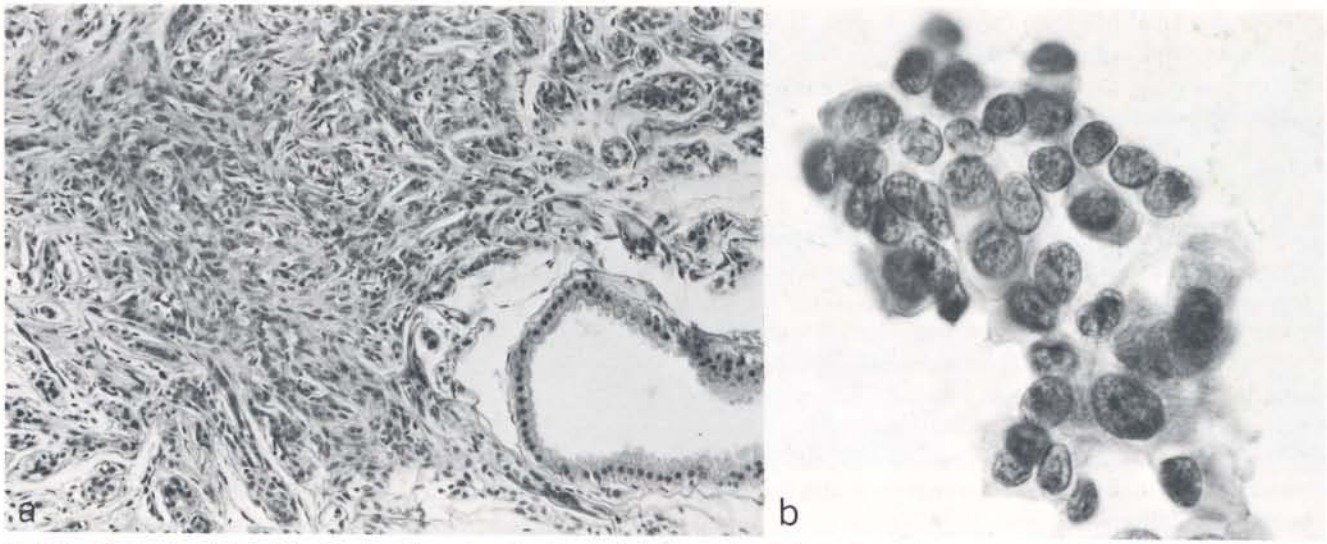


Fig. 501. Histología y citología de la adenosis esclerosante. *a*, En el preparado histológico, las células epiteliales hiperplásicas están distribuidas con irregularidad por la fibrosis. Esta imagen simula carcinoma escirroso. *b*, La citología del aspirado de punción o de la impresión muestra agrandamiento de los núcleos y cantidad aumentada de cromatina, pero la trama de cromatina suave y la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos indican hiperplasia benigna.

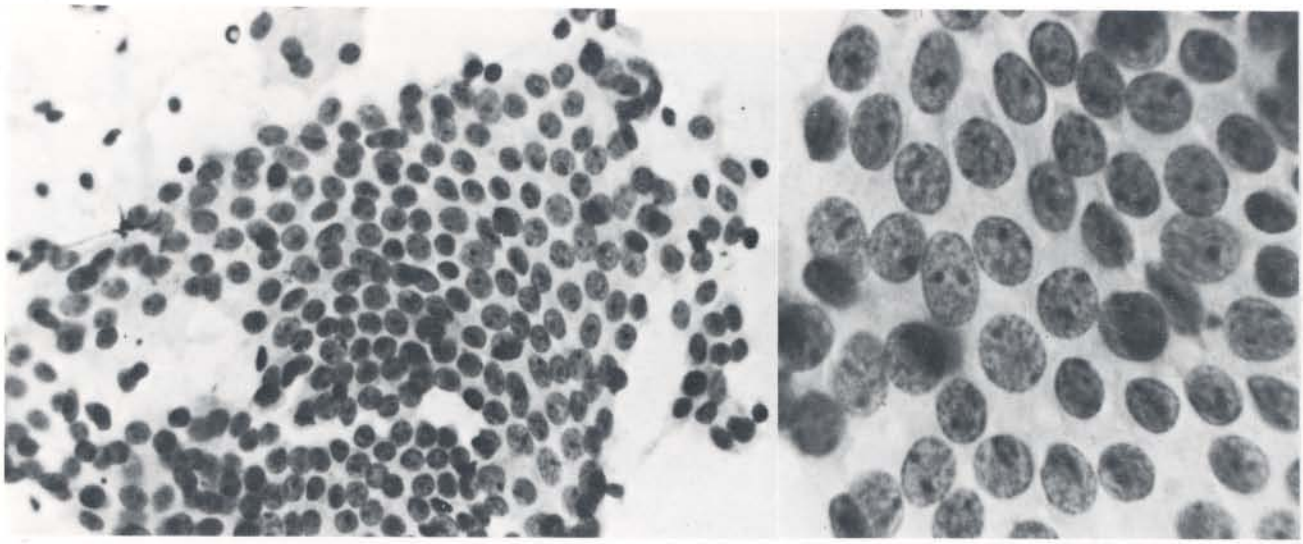


Fig. 502. Extendido impreso de un fibroadenoma. Gran lámina de células epiteliales benignas con aspecto en panal de abejas. Nótense la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos, la distribución nuclear con espacios iguales, la distribución pareja de las cromatinas y los bordes nucleares delicados.

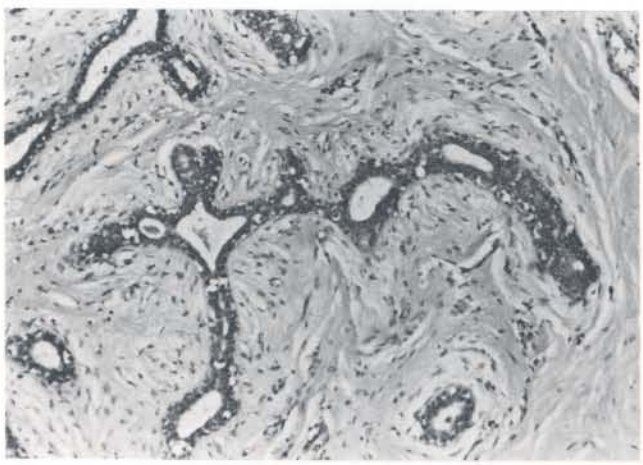


Fig. 503. Histología del fibroadenoma intracanalicular. Los elementos canaliculares hiperplásicos son elongados, incurvados y ramificados, y se acompañan de pronunciado crecimiento del tejido conectivo del estroma.

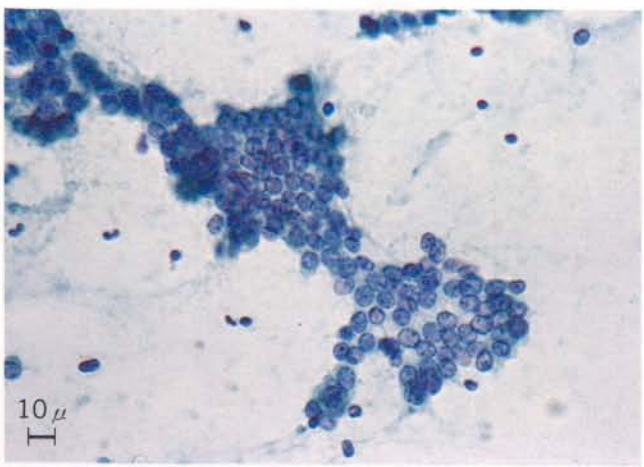


Fig. 504. Fibroadenoma en impresiones. Lámina plana y compacta de núcleos redondos uniformes (imagen en panal de abejas) característica del fibroadenoma.

cáncer que en el papiloma (véanse figs. 499, 513d y 522). Recuérdese que el pronóstico del carcinoma bien diferenciado es favorable aunque haya metástasis en los ganglios linfáticos axilares (Taylor).[22]

Fibroadenoma

El fibroadenoma sólo se puede estudiar con citología mediante punción aspiradora antes de la biopsia escisional. El preparado impreso es tan útil como la aspiración con aguja como coadyuvante del diagnóstico con cortes congelados.

Citología. En el fibroadenoma es característico encontrar unas láminas planas de células epiteliales dispuestas en forma ordenada. Los núcleos son redondos a ovales, de tamaño parejo y poseen una membrana nuclear delicada y lisa. La trama de cromatina es suave, con unas partículas finas distribuidas con uniformidad.

Adenoma

El adenoma es un tipo de fibroadenoma raro, que ocurre en mujeres jóvenes. Se caracteriza por preponderancia de glándulas proliferadas. Las células epiteliales, que están densamente aglomeradas, poseen unos núcleos hipertróficos agrandados con uniformidad, que exhiben uno o dos nucléolos. Las cromatinas están aumentadas, pero son finamente granulares. La membrana nuclear es lisa y delicada.

Cistosarcoma filoides

Una variante rara de fibrosarcoma es la que se conoce como fibroadenoma gigante porque crece con bastante rapidez hasta alcanzar un tamaño de unos 10 cm o más. Este tumor es benigno en esencia, pero su estroma puede malignizarse. Cuando va a la degeneración sarcomatosa, aparecen

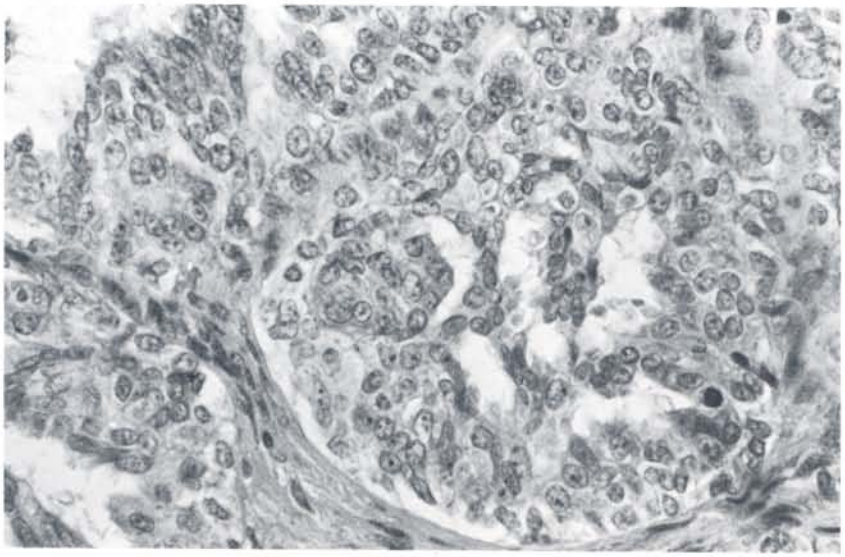


Fig. 505. Histología de un adenoma en una niña de 12 años. Apilamiento de células epiteliales con cierta distribución papilífera.

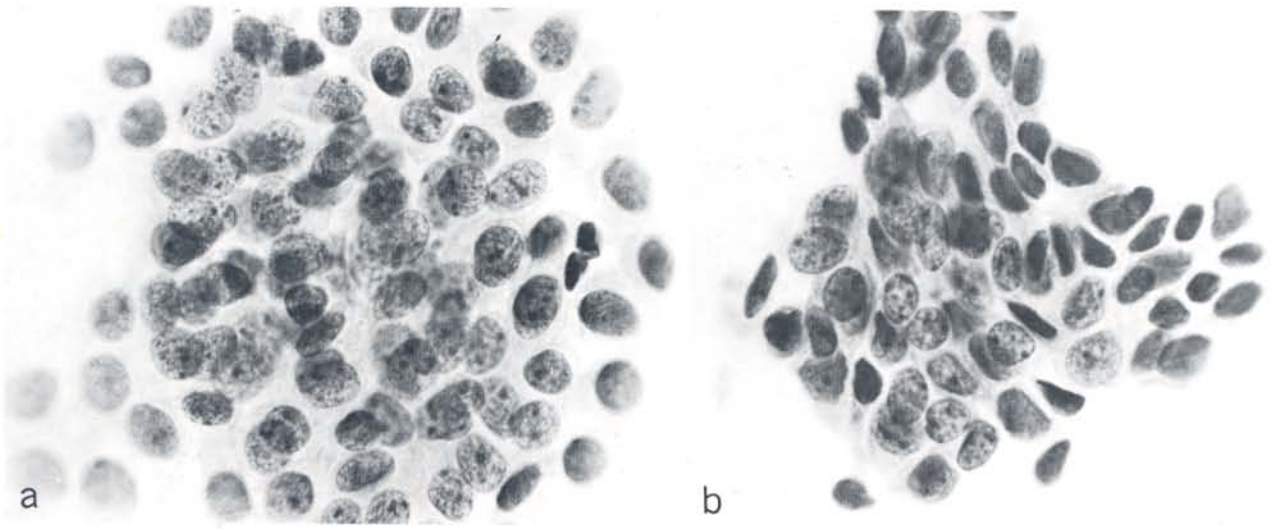
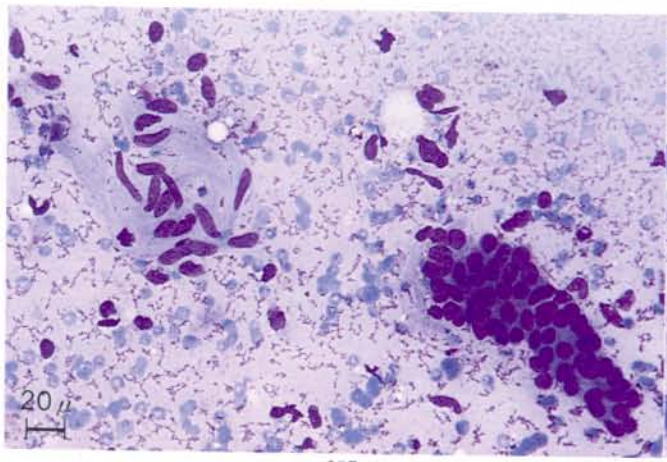
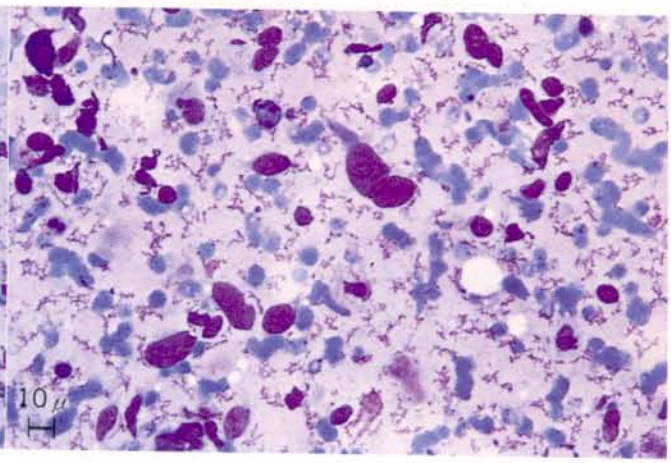


Fig. 506. Células epiteliales hiperplásicas en impresiones de un adenoma. Caso de la figura 505. *a*, Los núcleos son grandes, pero de tamaño y morfología uniformes. La cromatina es finamente granular y pareja. *b*, Las células epiteliales hiperplásicas aparecen mezcladas con células mioepiteliales elípticas.



507



508

Figs. 507 y 508. Citología teñida con Giemsa de un cistosarcoma filoides en impresiones. Hay dos tipos de componentes celulares, los epiteliales y los mesenquimáticos. Se llama cistosarcoma por la gran celularidad del estroma de aspecto sarcomatoso; las células mesenquimáticas polimórficas se caracterizan por la forma grotesca de los núcleos y por el aislamiento como células individuales. Las células del epitelio ductal, con sus núcleos ovales o redondos uniformes, se identifican porque forman aglomeraciones. (Gentileza del doctor Takeda, T., Centro de Enfermedades de Adultos Miyagi, Sendai, Japón.)

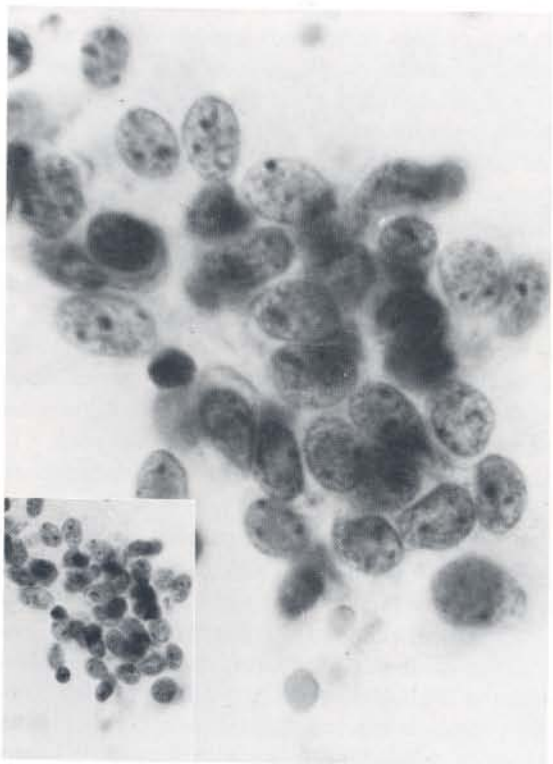


Fig. 509. Extendido impreso en la ginecomastia. Los elementos nucleares son, en esencia, los mismos que en las figuras 502 y 503, pero a menudo se observa una distribución un tanto desordenada por la hiperplasia del epitelio.

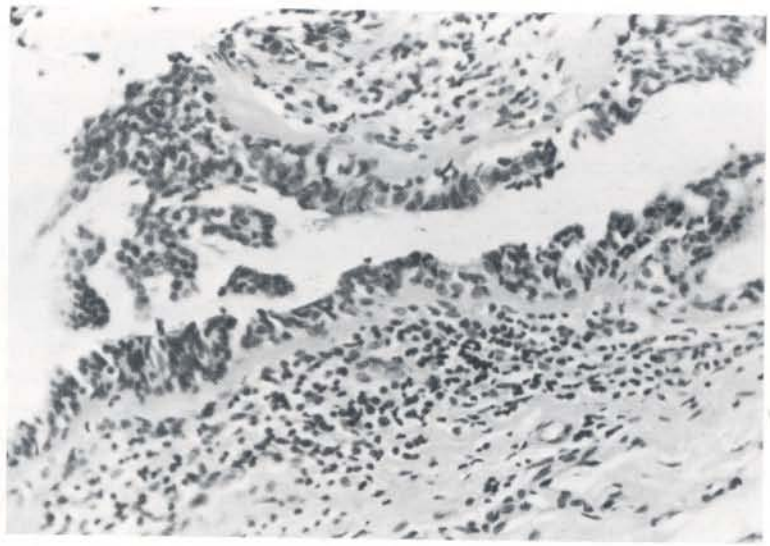


Fig. 510. Ginecomastia con hiperplasia del epitelio canalicular. Existe alteración proliferativa del epitelio ductal; se ven apilamiento de células epiteliales y prolongaciones papilíferas.

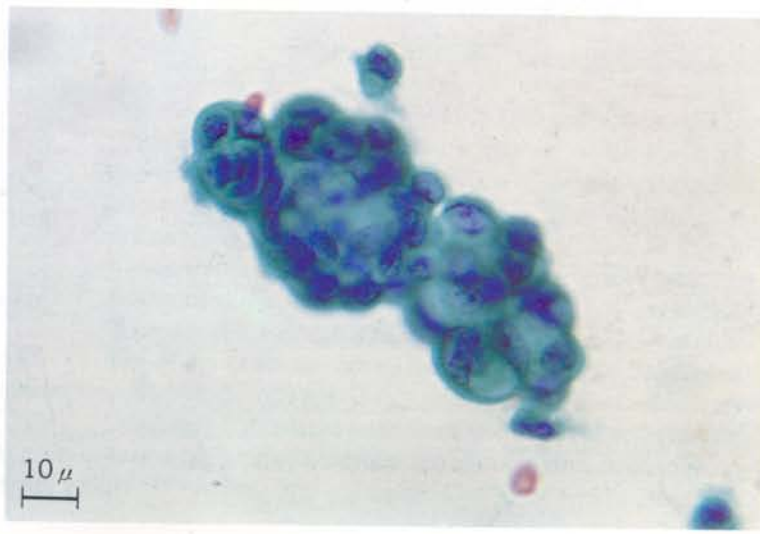


Fig. 511. Células epiteliales hiperplásicas en la secreción del pezón en un hombre de 80 años con ginecomastia. Los núcleos de esta aglomeración celular aparecen comprimidos entre sí. Nótese la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos. Existe una vacuolización citoplasmática como la que se suele ver en la hiperplasia benigna.

células mesenquimáticas malignas en la punción aspiradora (figs. 507 y 508).

Ginecomastia

La hiperplasia mamaria en niños varones y en ancianos puede deberse a elevados niveles de estrógenos por tratamiento con estas hormonas o estilbestrol, por neoplasias que elaboran estrógenos y por inactivación deprimida de los estrógenos, como en la cirrosis hepática. Desde el punto de vista citopatológico, la hiperplasia del epitelio canalicular ocurre en particular en la región subareolar. Las secreciones acumuladas en los conductos aparecen como secreción del pezón.

Addendum: Citología hormonal de la vagina en el manejo del carcinoma avanzado de mama. La evaluación de los estados citohormonales en el carcinoma avanzado de mama sirve para guiar la hormonoterapia. Si el índice de maduración está muy desviado a la izquierda, la estrogenoterapia puede dar una buena respuesta clínica, pero si hay desviación a la derecha por potenciación estrogénica, se puede emprender tratamiento con andrógenos y/o un procedimiento ablativo estrogénico con posibilidad de obtener una buena respuesta clínica. El tratamiento puede ser eficaz si se anticipa que se puede obtener una alteración citohormonal.

5. Células malignas

El Centro de Referencia Internacional para la Clasificación de Tumores de la OMS propuso tres categorías principales para el carcinoma de mama:

1. Carcinoma no infiltrativo intracanalicular e intralobulillar
2. Carcinoma infiltrativo
3. Variantes histológicas especiales de carcinoma
   a) Carcinoma medular
   b) Carcinoma papilífero
   c) Carcinoma cribiforme
   d) Carcinoma mucoso
   e) Carcinoma lobulillar
   f) Carcinoma espinocelular
   g) Enfermedad de Paget de la mama
   h) Carcinoma originado en un fibroadenoma intracanalicular celular.

Adenocarcinoma

Las células malignas de la secreción del pezón provenientes de los conductos exhiben los mismos rasgos citológicos, cualquiera que sea la infiltración más allá de la membrana basal de los conductos. De acuerdo con la clasificación histológica del carcinoma mamario infiltrativo que prepararon McDivitt y col.,[16] el carcinoma canalicular infiltrativo representa el 78,1 % de los casos, el carcinoma lobulillar infiltrativo el 8,7 %, el comedocarcinoma el 4,6 %, el carcinoma medular el 4,3 %, el carcinoma coloide el 2,6 % y el carcinoma papilífero el 1,2 %. Los rasgos citológicos malignos de estos cánceres son similares a los del tipo glandular, excepto carcinoma coloide, comedocarcinoma y enfermedad de Paget.

Citología general. Masukawa[15] ilustró varios puntos distintivos en el citodiagnóstico del carcinoma de mama (fig. 512), además de los criterios de malignidad comunes como hipercromatismo, agrandamiento nuclear, trama de cromatina irregular, relación N/C aumentada, macronucléolo o macronucléolos y rasgos generales de alta celularidad y diátesis tumoral.

Carcinoma coloide. Este carcinoma mucinoso se origina en el epitelio canalicular y se conoce como un carcinoma que da metástasis a los ganglios linfáticos axilares con poca frecuencia y es de una sobrevida más prolongada que cualquier otro carcinoma canalicular. Además del material coloide, en la citología se pueden encontrar células en anillo de sello.

Comedocarcinoma. Los tapones semejantes a comedones se exprimen mediante masaje. Las células cancerosas en sí no poseen una citología peculiar de este tipo, pero en los extendidos puede aparecer una mezcla con detritos celulares necrosados y células malignas picnóticas.

Carcinoma medular. El carcinoma medular forma un tumor circunscripto globoso con escasa capacidad infiltrativa. Las células cancerosas son grandes, redondas o poligonales, y poseen unos núcleos vesiculosos grandes y centrales. Son prominentes los nucléolos. El citoplasma es escaso y mal definido. Las células cancerosas se presentan en grandes láminas o aglomeraciones sin superposición considerable. En una de las formas de este tumor se discierne una mezcla con linfocitos.

Enfermedad de Paget. En la enfermedad de Paget el pezón tiene un aspecto eczematoide. Esta enfermedad no es un cáncer primario de la piel, sino un carcinoma del epitelio de los conductos galactóforos grandes que crece con lentitud. El extenso crecimiento de este cáncer afecta a la epidermis del pezón y de la aréola. La célula de Paget es una célula cancerosa grande que posee un citoplasma abundante opaco o poco tingible, y un gran núcleo redondo u ovoide.[6] La formación de una zona clara perinuclear se debe a la degeneración globosa.

Carcinoma apocrino. El adenocarcinoma con metaplasia apocrina (carcinoma apocrino) es otro tipo peculiar de carcinoma mamario. Este tumor también se llama tumor de glándulas sudoríparas (Ewing) por el concepto de que se origina en glándulas sudoríparas aberrantes. Aunque la similitud histológica con la glándula sudorípara existe, puede ser que ocurra por metaplasia apocrina del carcinoma canalicular, tal como sucede en el epitelio canalicular benigno de la mastopatía. El citoplasma es grueso, opaco y abundante, y puede exhibir una textura granular fina. En la microscopia electrónica los gránulos más próximos al vértice del citoplasma aparecen unidos a la membrana y poseen unos centros osmiófilos homogéneos con formaciones cristaloides ocasionales.[27]

Carcinoma epidermoide

El carcinoma epidermoide o pavimentoso es una variedad rara que representaría una metaplasia del carcinoma canalicular. Si la metaplasia pavimentosa es avanzada y toma un área grande, se pueden desprender células malignas de tipo epidermoide.

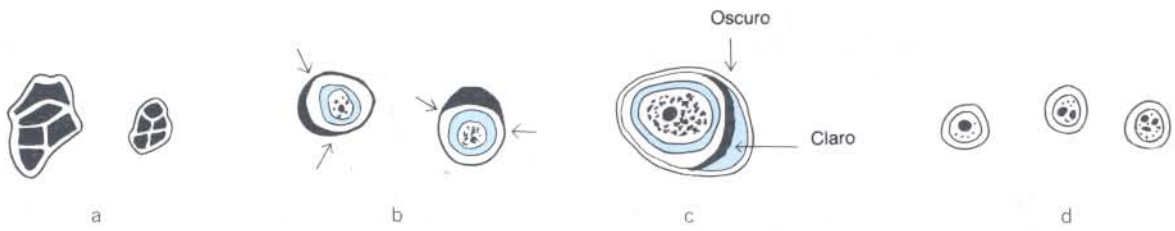


Fig. 512. Diagramas de diversas imágenes celulares en el carcinoma de mama. *a*, Moldeamiento nuclear. Los núcleos están muy cerca entre sí y queda muy poco citoplasma entre medio. El espacio puede formar una "Y" o un "+" entre tres o cuatro núcleos. En este espacio no se suele ver el borde citoplasmático. *b*, Núcleo falciforme. Cuando dos o más células cancerosas se exfolian juntas, el núcleo más externo adopta una forma semilunar y sus dos extremos son aguzados y angulares. *c*, Interior oscuro y exterior claro. Cuando el núcleo falciforme es lo suficientemente grande como para poder estudiar con detalle las aglomeraciones de cromatina, el borde nuclear aplicado contra la célula interna se presenta mucho más oscuro y grueso y en la dirección opuesta hay un espacio más claro. *d*, Nucléolos. Muchas veces los núcleos contienen uno o más nucléolos agrandados y se reconocen diversas cantidades de nucléolos. (Gentileza del doctor Masukawa, T., Dep. de Patología y Medicina de Laboratorio, Universidad de Cincinnati, Ohio.)

Linfoma

El linfoma maligno ocurre como tumor primario en la mama y es difícil que sus rasgos histológicos y citológicos permitan distinguirlo del carcinoma anaplásico. Las células linfomatosas aparecen solas, sin formar aglomeraciones. Estas células son monomorfas y su estructura es la misma que las de otros órganos.

6. Pronóstico basado en la citología

Scarff y Torloni señalaron los grados histológicos de malignidad en relación con la sobrevida.[20] Los grados se basan

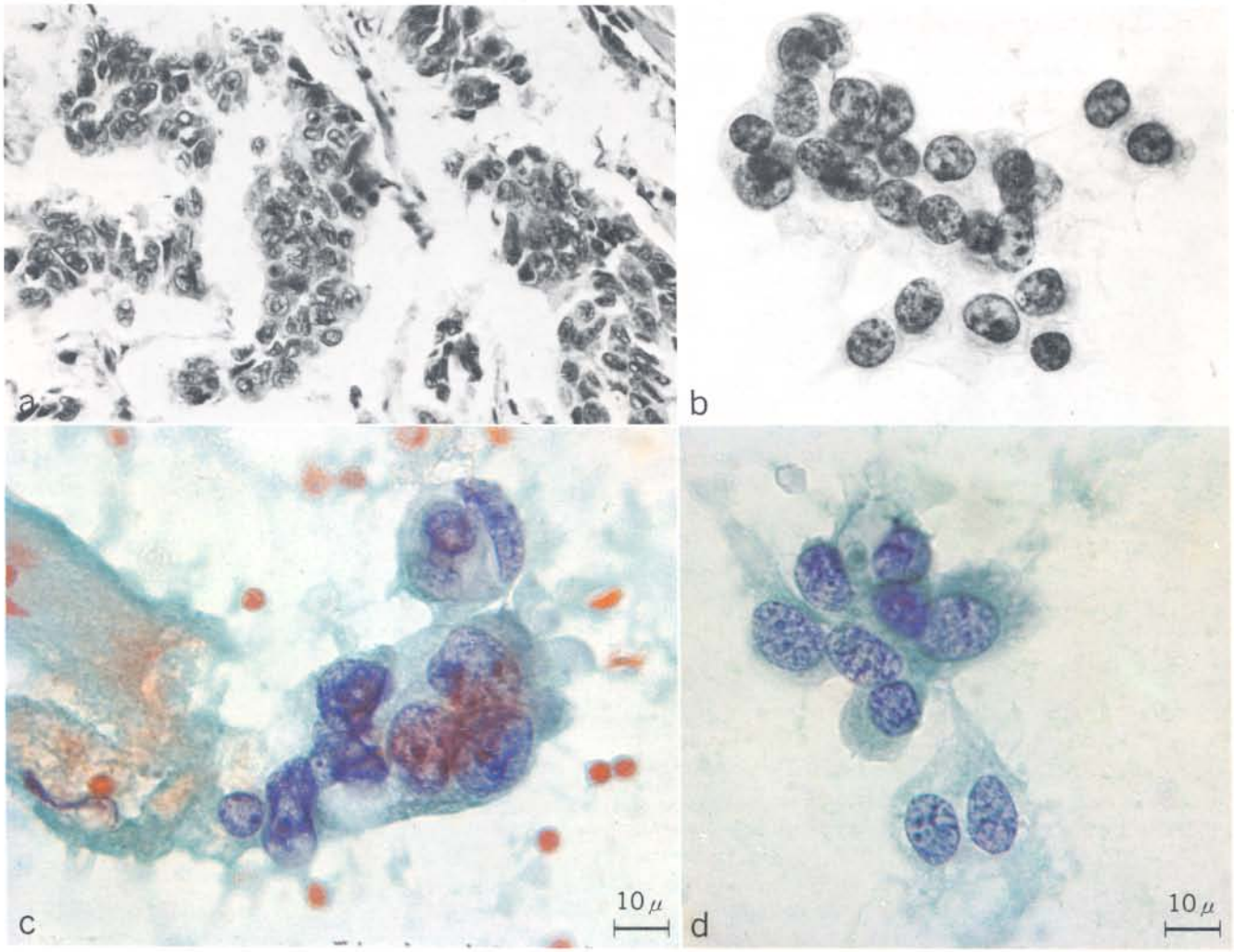


Fig. 513. Histología y citología de una paciente con carcinoma intraquístico. *a*, Cordones de células cancerosas de una formación papilífera que exhiben variación del tamaño y forma de los núcleos. La intensidad de la tinción nuclear es despareja. *b*, Núcleos de mediano tamaño y bastante uniformes, pero su trama de cromatina gruesa difiere de las células papilomatosas benignas. *c* y *d*, Células cancerosas del líquido aspirado de un caso de carcinoma intraquístico. Los núcleos son de mediano tamaño, pero más grandes y de tamaño más variable que los del papiloma intracanalicular. La trama de cromatina granular bastante fina pero compacta, es un rasgo importante para el diagnóstico. Los límites celulares son irregulares y no redondeados.

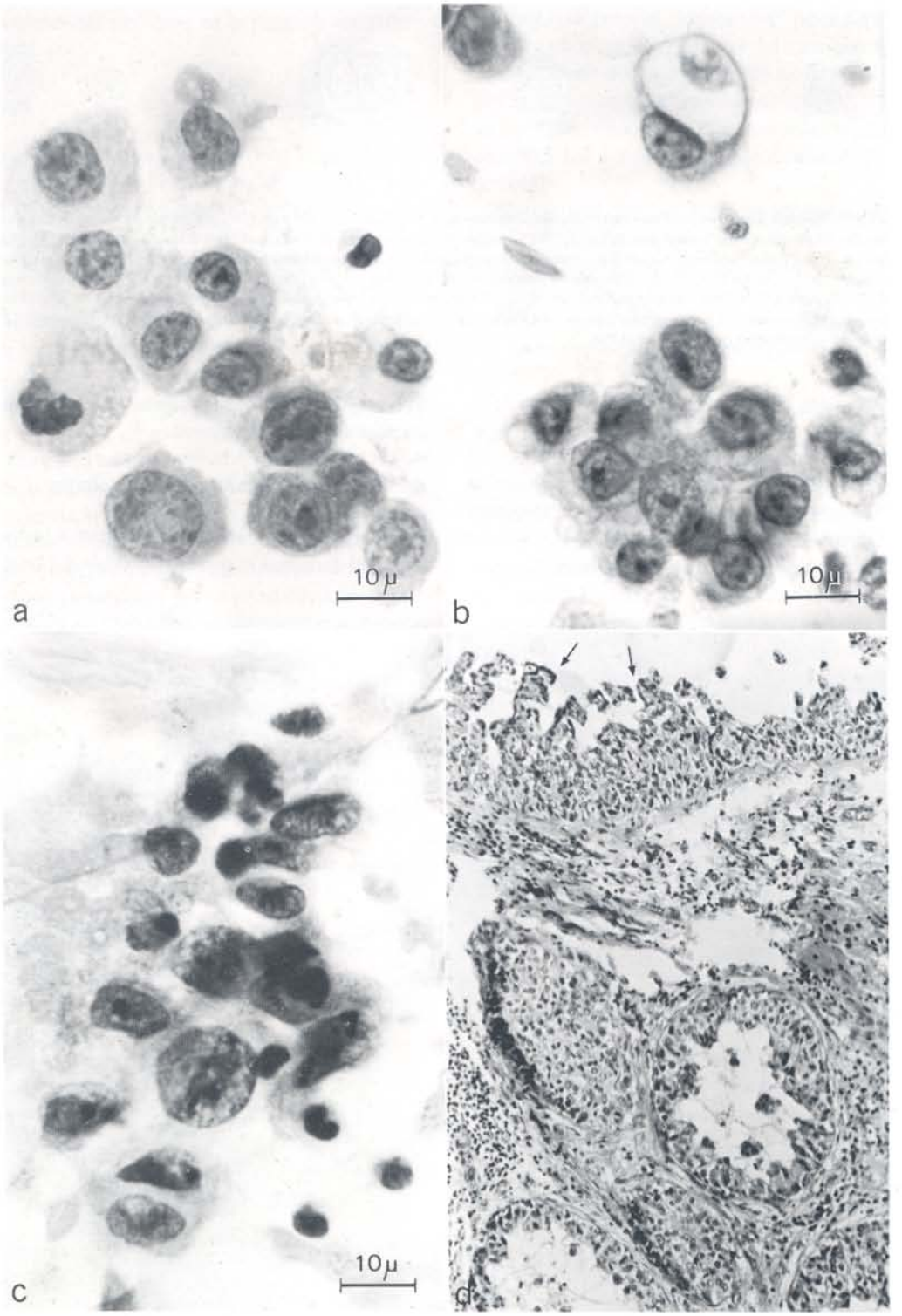


Fig. 514. Carcinoma infiltrativo común. Su histología y citología de la secreción del pezón. *a-c*, Las células malignas aparecen en la secreción mamaria solas o aglomeradas. Los núcleos varían de tamaño y son excéntricos. La cromatina está en grumos gruesos o en condensaciones irregulares. Los nucléolos o cariosomas son prominentes. El citoplasma es columnar, pero de bordes indistintos o vacuolados a causa de la citólisis. *d*, Histología del carcinoma canalicular infiltrativo. Los grupos de células cancerosas exfoliadas dentro de la luz están más o menos degenerados (*flechas*). Es frecuente encontrar citólisis de células malignas en la secreción mamaria (*a-c*).

en 1) formación de túbulos, 2) hipercromatismo y frecuencia de mitosis, y 3) variaciones de tamaño, forma y tingibilidad de los núcleos. A cada uno de estos ítem se le asigna una clase –leve, moderada y considerable– con puntos de 1 a 3. En consecuencia, se emplean tres grados de malignidad junto con los recuentos totales: malignidad baja para los puntos 3 a 5, malignidad intermedia para los puntos 6 o 7 y malignidad alta para los puntos 8 o 9. Se mencionó una correlación significativa entre los grados histológicos y las tasas de sobrevidas.[20] En vista de que estos rasgos se pueden evaluar con citología, es necesario que se confirme la significación estadística para poder ampliar la investigación clínica. Wacker y Miles[23] notaron una correlación lineal entre la incidencia de cuerpos X y las tasas de sobrevida.

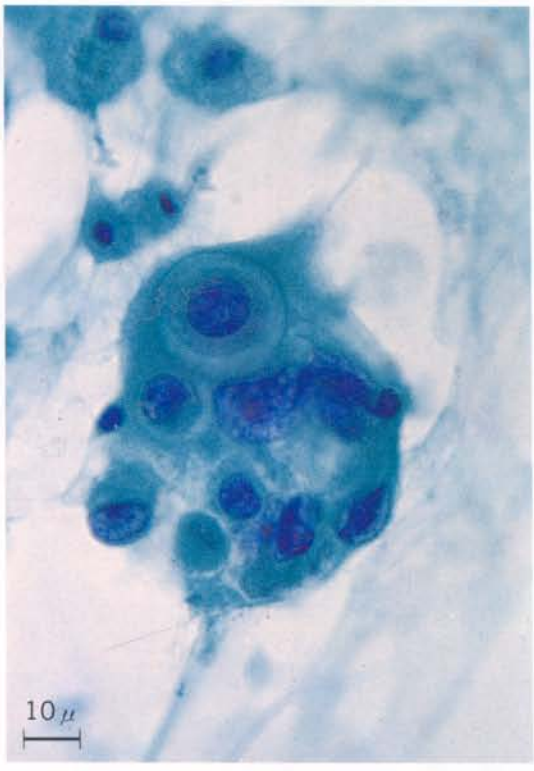


Fig. 515. Aglomeración de células cancerosas en la secreción sanguinolenta de una mujer de 32 años. En las mujeres tan jóvenes la secreción sanguinolenta debe examinarse con sumo cuidado para establecer si es maligna o no. Rasgos del cáncer: 1) variación del tamaño de los núcleos, 2) aglomeraciones con núcleos grandes y redondeados, 3) prominencia de los nucléolos, 4) imágenes de canibalismo y 5) figuras mitóticas.

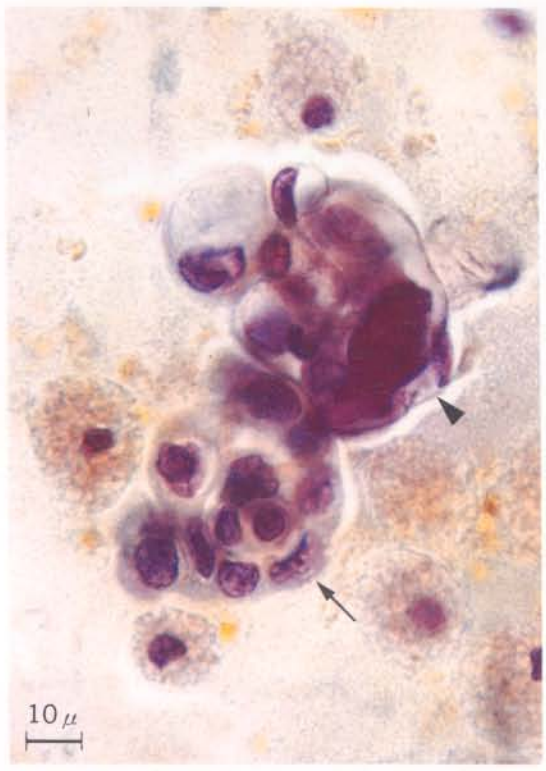


Fig. 516. Aglomeración de células cancerosas en la secreción sanguinolenta de una mujer de 37 años. Estos núcleos polimórficos presentan varios rasgos característicos, como: 1) calcificación (cuerpo psamomatoso, cabeza de flecha), 2) imagen en remolino con moldeamiento nuclear y 3) formación falciforme con interior oscuro y exterior claro (*flecha*) (véase fig. 512).

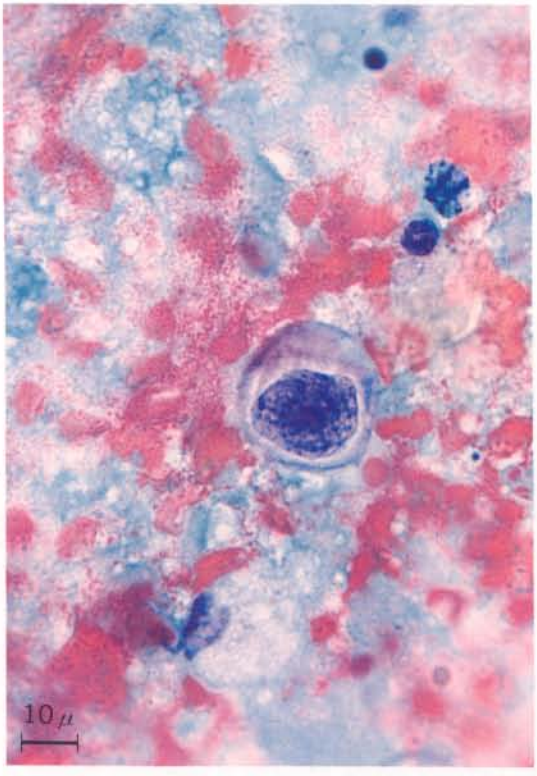


Fig. 517. Célula cancerosa en una secreción sanguinolenta. Basta una sola célula para satisfacer los criterios de malignidad: alta relación N/C, hipercromatismo, aglomeración densa de la cromatina y un nucléolo enorme. Esto es una célula cancerosa con cromatina sexual positiva.

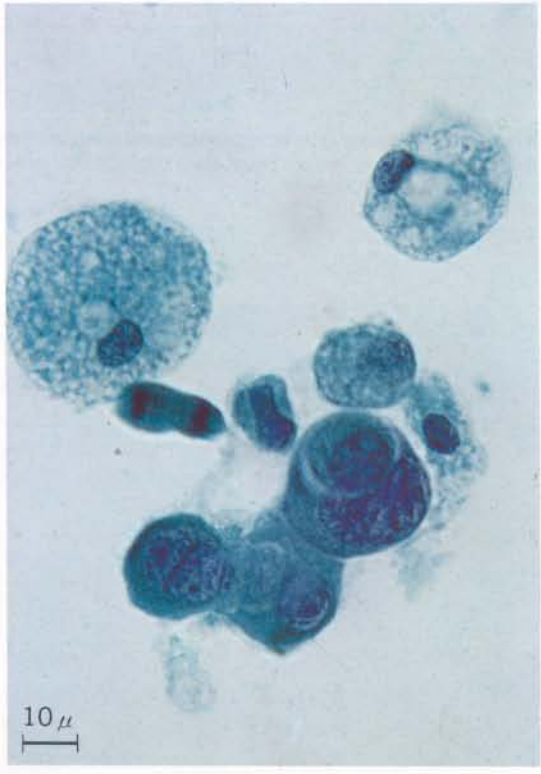


Fig. 518. Células cancerosas aglomeradas en una secreción no sanguinolenta del pezón en un caso de carcinoma canalicular infiltrativo común. Hay rasgos francamente malignos: 1) considerable hipercromatismo con una cromatina granular gruesa, 2) variación del tamaño y forma de los núcleos, y 3) una figura mitótica en anafase.

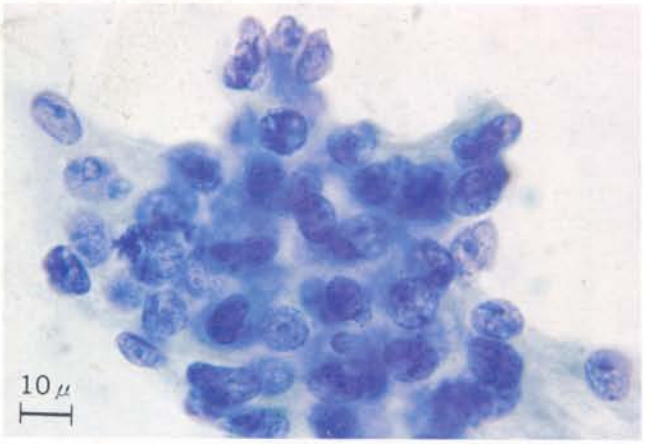


Fig. 519. Carcinoma canalicular diferenciado en aspirados de punción. Estas células aglomeradas son difíciles de distinguir de las células del papiloma intraductal por sus núcleos de mediano tamaño bastante uniformes y por sus nucléolos poco evidentes. Puntos diferenciales que indican malignidad: 1) láminas irregulares y distorsionadas, 2) borde mal definido, 3) variación en el tamaño y forma de los núcleos y 4) distinta tingibilidad de cada núcleo.

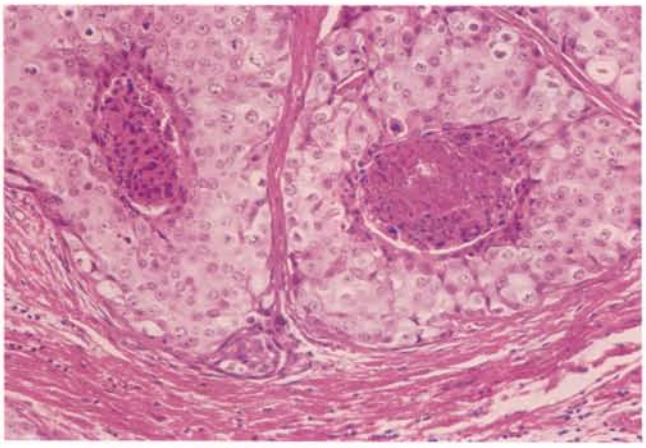


Fig. 520. Comedocarcinoma con nidos sólidos de células cancerosas y necrosis central típica. Las células cancerosas de la neoformación intracanalicular poseen núcleos redondos y moderada cantidad de citoplasma. Hay semejanza con células apocrinas.

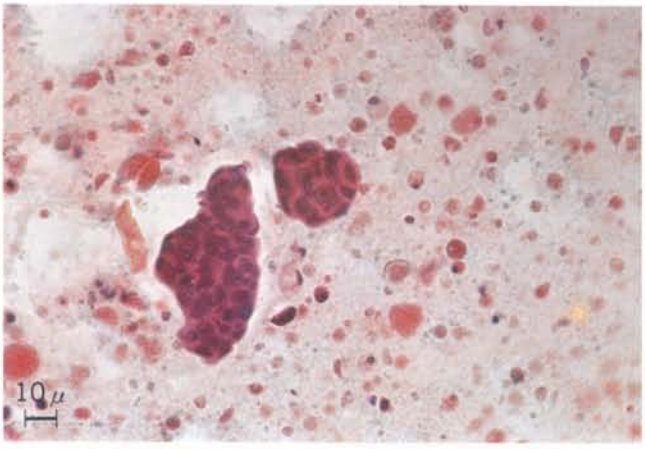


Fig. 521. Comedocarcinoma en la secreción del pezón exprimida mediante palpación. Gran cantidad de detritos necróticos y células cancerosas en una aglomeración que parece provenir del área necrosada.

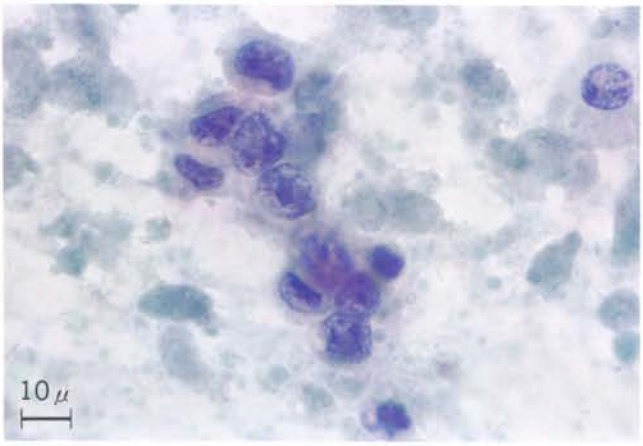


Fig. 522. Comedocarcinoma en una secreción densa del pezón. El comedocarcinoma exhibe varios rasgos distintivos: 1) grandes núcleos redondeados de aspecto vesiculoso, 2) nucléolo central prominente y 3) mezcla con restos necróticos.

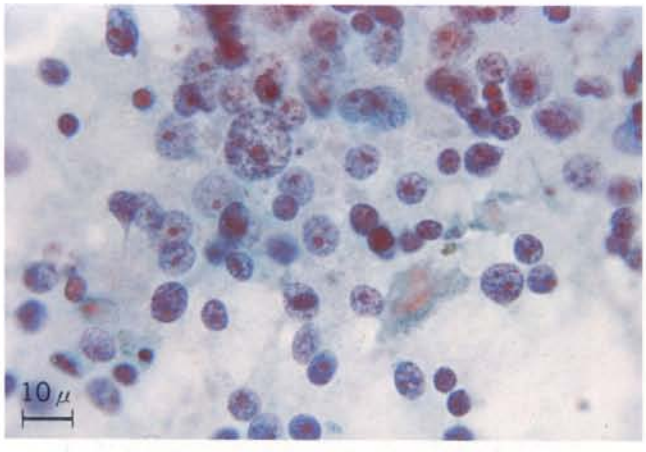


Fig. 523. Carcinoma medular infiltrativo en impresiones. Esta variante especial con mínima cantidad de estroma exhibe rasgos celulares distintivos: 1) grandes núcleos redondos u ovales de tamaño variable, 2) núcleos vesiculosos con un borde nuclear delicado, 3) uno o dos nucléolos prominentes con reacción acidófila y 4) exfoliación como células solitarias o en aglomeración celular suelta.

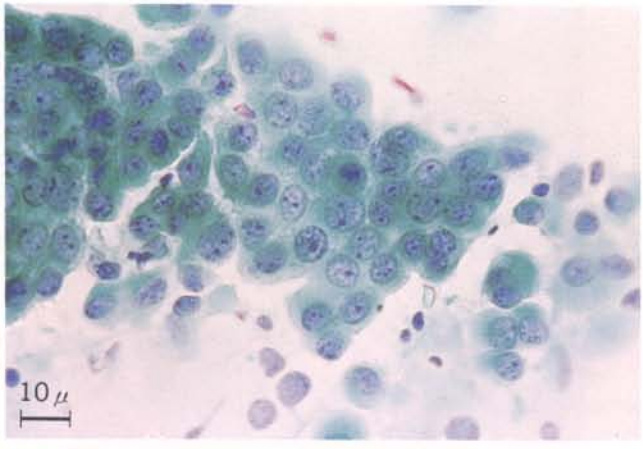


Fig. 524. Carcinoma medular infiltrativo en impresiones dispuesto en una lámina plana característica. También son patognomónicos los núcleos redondeados y vesiculosos. Hay una mezcla con una pequeña cantidad de linfocitos.



Fig. 525. Enfermedad de Paget del pezón. Nótese el pezón eczematoso crónico, con una epidermis engrosada y su cobertura costrosa.

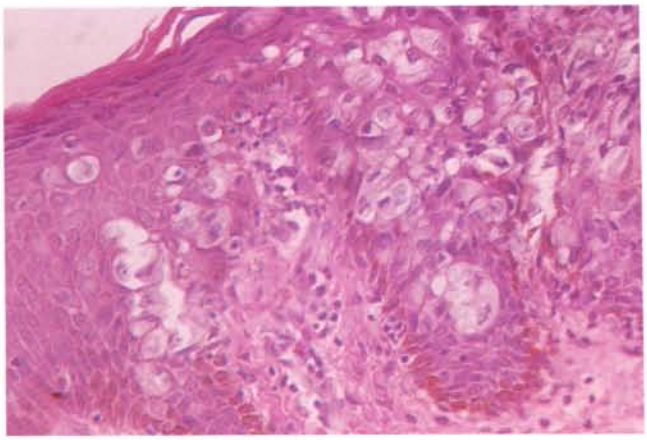


Fig. 526. Histología de la enfermedad de Paget del pezón con infiltración de la epidermis por las células de Paget. Estas células cancerosas son redondas y de citoplasma claro y abundante.

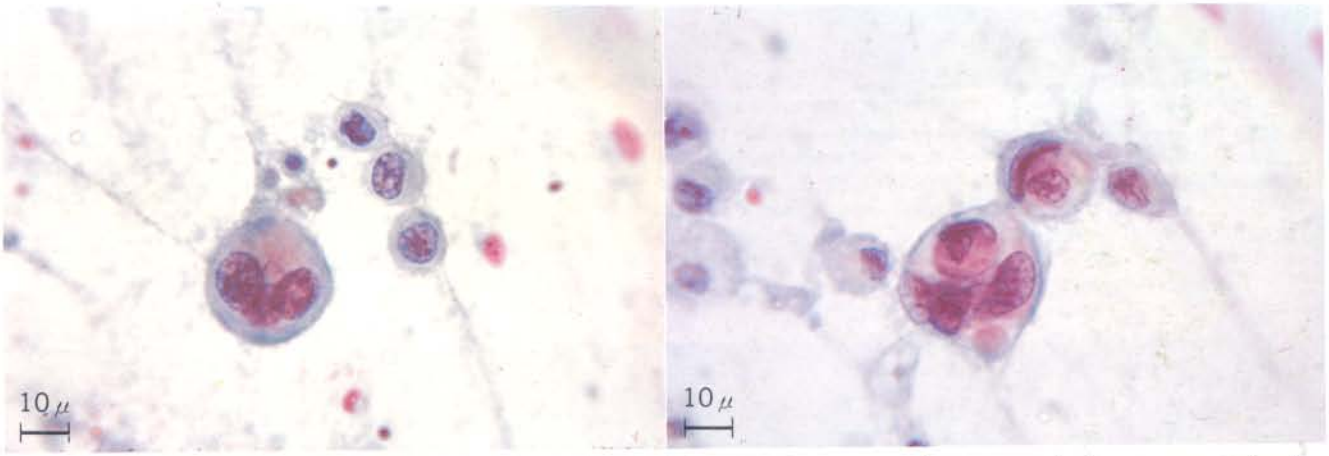


Fig. 527. Células de Paget en la descarga del pezón. La forma de las células redondeadas multinucleares y mononucleares se parece a la de las cancerosas parabasales. La moderada cantidad de citoplasma exhibe una tinción pálida.

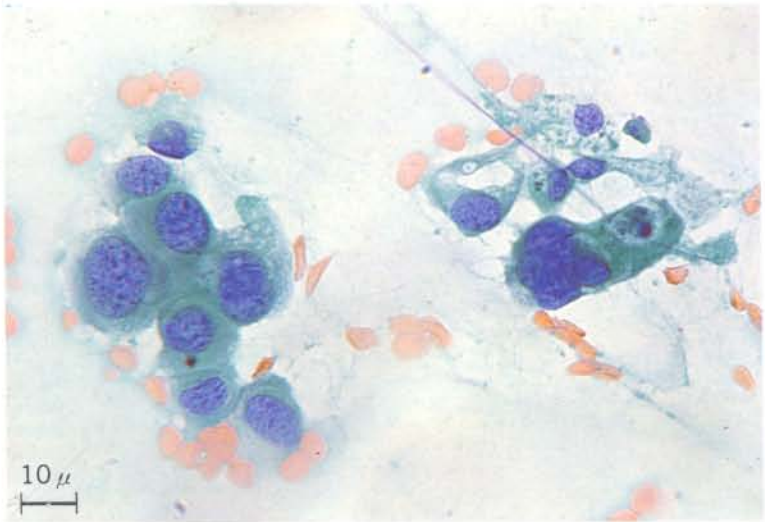


Fig. 528. Células adenocarcinomatosas en una impresión de una enfermedad de Paget resecada. Estas células cancerosas bien preservadas de un conducto grande están dispuestas en una lámina plana. La cantidad de citoplasma es moderada y la tinción es densa.

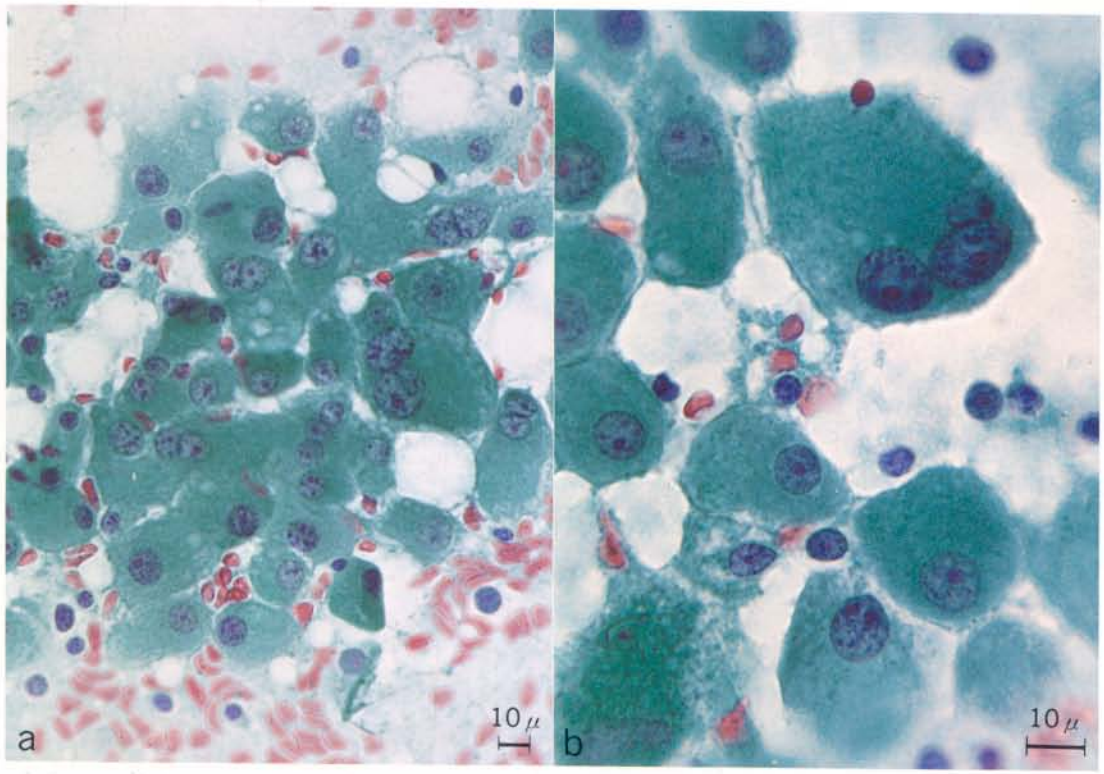


Fig. 529. Carcinoma apocrino en un aspirado de punción. *a*, Células de carcinoma apocrino dispuestas en una lámina plana. Los núcleos son redondos y contienen uno o dos nucléolos. El citoplasma es abundante y opaco. *b*, Carcinoma apocrino visto con mayor aumento. Los núcleos son redondos y de formas iguales, pero de tamaño variable. La gran cantidad de citoplasma exhibe una textura finamente granular característica.

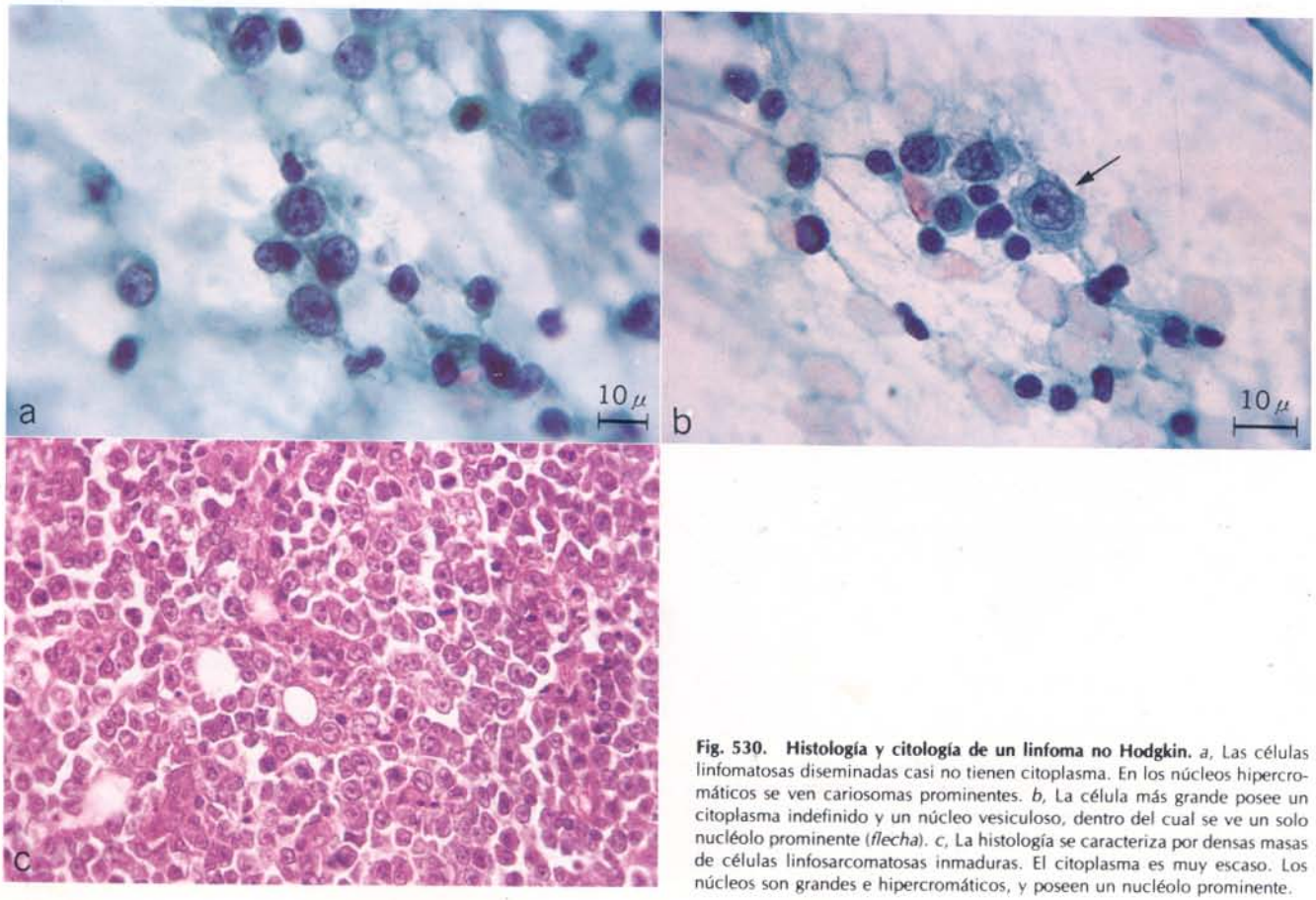


Fig. 530. Histología y citología de un linfoma no Hodgkin. *a*, Las células linfomatosas diseminadas casi no tienen citoplasma. En los núcleos hipercromáticos se ven cariosomas prominentes. *b*, La célula más grande posee un citoplasma indefinido y un núcleo vesiculoso, dentro del cual se ve un solo nucléolo prominente (*flecha*). *c*, La histología se caracteriza por densas masas de células linfosarcomatosas inmaduras. El citoplasma es muy escaso. Los núcleos son grandes e hipercromáticos, y poseen un nucléolo prominente.

*Apéndice. Clasificación TNM de los tumores de mama**

Reglas para la clasificación

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Tiene que haber confirmación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Se debe consignar el sitio de origen anatómico, pero no se lo tiene en cuenta en la clasificación.

En caso de tumores simultáneos múltiples, se debe identificar el tumor que tiene la categoría T más alta.

Los siguientes son los requisitos mínimos para establecer las categorías T, N y M.

Categorías T: Examen clínico. Se aceptan mamografías y procedimientos diagnósticos similares, pero no son obligatorios. La medición mamográfica tiene prioridad sobre la medición con compás; se debe mencionar el método empleado.
Categorías N: Examen clínico.
Categorías M: Examen clínico y radiografías.

Clasificación clínica TNM antes del tratamiento

T - Tumor primario

Tis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ),* carcinoma intracanalicular no infiltrativo o enfermedad de Paget del pezón sin tumor demostrable.
Nota: La enfermedad de Paget asociada con tumor demostrable se clasifica de acuerdo con el tamaño del tumor.
T0 Sin evidencias de tumor primario.
Nota: En T1, T2 o T3, pero no en T4, puede ocurrir piel de naranja, retracción del pezón o cualquier otra alteración cutánea sin que se afecte la clasificación.
T1 Tumor de 2 cm o menos en su dimensión mayor.
T1a Sin fijación a la aponeurosis pectoral *ni* músculo.
T1b Con fijación a la aponeurosis pectoral *y/o* músculo.
T2 Tumor de más de 2 cm pero sin exceder de 5 cm en su dimensión mayor.
T2a Sin fijación a la aponeurosis pectoral *ni* músculo.
T2b Con fijación a la aponeurosis pectoral *y/o* músculo.
T3 Tumor de más de 5 cm en uno de sus diámetros.
T3a Sin fijación a la aponeurosis pectoral *ni* músculo.
T3b Con fijación a la aponeurosis pectoral *y/o* músculo.
T4 Tumor de cualquier tamaño, con propagación directa a la pared torácica o piel.
Nota: La pared torácica comprende costillas, músculos intercostales y músculo serrato mayor, pero no el músculo pectoral.
T4a Con fijación a la pared torácica.
T4b Con edema, infiltración o ulceración de la piel de la mama (incluso piel de naranja) o nódulos cutáneos satélites confinados a la misma mama.
T4c Todo lo procedente.
Nota: Los casos de carcinoma inflamatorio deben declararse como grupo aparte.
TX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales

Los ganglios linfáticos regionales son los axilares, los infraclaviculares y los supraclaviculares.

N0 No se palpan ganglios linfáticos axilares del mismo lado.
N1 Ganglios linfáticos axilares móviles en el mismo lado.
N1a Se considera que los ganglios no contienen neoplasia.
N1b Se considera que los ganglios contienen neoplasia.
N2 Ganglios linfáticos homolaterales fijos entre sí o con otras estructuras y se considera que contienen neoplasia.
N3 Ganglios linfáticos supraclaviculares o infraclaviculares homolaterales que se considera que contiene neoplasia *o bien* edema del brazo.
Nota: El edema del brazo puede deberse a obstrucción linfática, en cuyo caso es probable que no se palpen ganglios.
NX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

M - Metástasis a distancia

M0 Sin signos de metástasis a distancia.
M1 Evidencia de metástasis a distancia.
MX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar la presencia de metástasis a distancia.

La categoría M1 puede subdividirse de acuerdo con la siguiente notación:

Pulmonares:	PUL	Médula ósea:	MAR
Óseas:	OSS	Pleurales:	PLE
Hepáticas:	HEP	Cutáneas:	SKI
Encefálicas:	BRA	Oculares:	EYE
Linfoganglionares:	LYM	Otras:	OTH

Clasificación histopatológica pTNM posquirúrgica

pT - Tumor primario

pTis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ).*
pT0 Sin evidencias de tumor en el examen histológico de la pieza.
pT1a, pT1b corresponden a T1a, T1b y se subdividen así:
i) Tumor de 0,5 cm o menos.
ii) Tumor de más de 0,5 cm pero no más de 1 cm.
iii) Tumor de más de 1 cm pero no más de 2 cm.
pT2a, pT2b corresponden a T2a, T2b.
pT3a, pT3b corresponden a T3a, T3b.
pT4a, pT4b, pT4c corresponden a T4a, T4b, T4c.
pTX No se puede estimar la extensión de la invasión.

G - Grados histopatológicos

G1 Grado alto de diferenciación.
G2 Grado mediano de diferenciación.
G3 Grado bajo de diferenciación o indiferenciado.
GX No se puede establecer el grado.

pN - Ganglios linfáticos regionales

pN0 Sin evidencias de invasión de los ganglios regionales.
pN1 Evidencias de invasión de ganglios linfáticos axilares homolaterales móviles.
pN1a Micrometástasis de 0,2 cm o menos en el o los ganglios.
pN1b Metástasis macroscópicas en el o los ganglios.
i) Metástasis de más de 0,2 cm en uno a tres ganglios linfáticos, pero de menos de 2 cm.
ii) Metástasis de más de 0,2 cm en cuatro ganglios linfáticos o más, pero de menos de 2 cm.
iii) Metástasis que exceden la cápsula de un ganglio linfático pero de menos de 2 cm de tamaño.
iv) Ganglio linfático positivo de 2 cm o más.
pN2 Evidencia de invasión de ganglios linfáticos axilares homolaterales fijados entre sí o con otras estructuras.
pN3 Evidencia de invasión de ganglios linfáticos supraclaviculares o infraclaviculares del mismo lado.

* Harmer, M.H.: TNM Classification of Malignant Tumours, 3ª ed. Ginebra, UICC, 1978.

Nota: La evidencia de invasión de ganglios linfáticos mamarios internos del mismo lado se puede incluir en la categoría pN3, pero haciendo constar esta circunstancia.

pNX No se puede establecer la extensión de la invasión.

pM - Metástasis a distancia

Las categorías pM concuerdan con las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Etapa I	T1a, T1b	N0, N1a	M0
Etapa II	T1a, T1b	N1b	M0
	T2a, T2b	N0, N1a	M0
	T2a, T2b	N1b	M0
Etapa IIIa	T3a, T3b	N0, N1	M0
	T1a, b, T2a, b, T3a, b	N2	M0
Etapa IIIb	T1a, b, T2a, b, T3a, b	N3	M0
	T4a, b, c	Cualquier N	M0
Etapa IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

RESUMEN

T1	⩽2 cm	a) Sin fijación a la aponeurosis ni músculo
T2	>2–5 cm	
T3	>5 cm	b) Con fijación a la aponeurosis o músculo

Propagación a la pared torácica o piel
a) Pared torácica
b) Edema, infiltración o ulceración de la piel
c) Ambas cosas

N1 Axilares móviles
a) No se consideran metastásicos
b) Se consideran metastásicos

N2 Axilares fijos

N3 Supraclaviculares o edema del brazo

BIBLIOGRAFÍA

1. BARGMANN, W., and KNOOP, A.: Über die Morphologie der Milchsekreiton. Licht und elektronmikroskopische Studien an der Milchdrüse der Ratte. Zeitschr. f. Zellforsch., *49*: 344, 1959.
2. BERG, J. W., and ROBBINS, G. F.: A late look at the safety of aspiration biopsy. Cancer, *15*: 826, 1962.
3. BOQUOI, E., KREBS, S., and KREUZER, G.: Feulgen-DNA-cytophotometry on mammary tumor cells from aspiration biopsy smears. Acta Cytol., *19*: 326, 1975.
4. BOTHMANN, G., RUMMEL, H., and KUBLI, F.: Zur Stellung der Aspirationszytologie bei der Frühdiagnostik des Mammakarzinoms. Geburtsh. u. Frauenheilk., *34*: 287, 1974.
5. DAVIS, H. H., SIMONS, M., and DAVIS, J. B.: Cystic disease of the breast: Relationship to carcinoma. Cancer, *17*: 957, 1964.
6. EISEN, M. J., and TAFT, R. H.: Cytologic diagnosis of mammary cancer associated with incipient Paget's disease of the nipple. Cancer, *4*: 150, 1951.
7. FRANTZ, V. K., PICKREN, J. W., MELCHER, G. W., and AUCHINCLOSS, H., Jr.: Incidence of chronic cystic disease in so-called "normal breast": Study based on 225 postmortem examinations. Cancer, *4*: 762, 1951.
8. FRANZEN, S., GIERTZ, G., and ZAJICEK, J.: Cytological diagnosis of prostatic tumours by transrectal aspiration biopsy: A preliminary report. Br. J. Urol., *32*: 193, 1960.
9. FURNIVAL, C. M., HUGHES, H. E., HOCKING, M. A., REID, M. M. W., and BLUMGART, L. H.: Aspiration cytology in breast cancer. Its relevance to diagnosis. Lancet, *2*: 446, 1975.
10. GESCHICKTER, C. F.: Diseases of the Breast. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1945.
11. HAAGENSEN, C. D.: Diseases of the Breast. Philadelphia, W. B. Saunders, 1956.
12. KLINE, T., and NEAL., H. S.: Needle aspiration of the breast—why bother. Acta Cytol., *20*: 324, 1976.
13. KRAUS, F. T., and NEUBECKER, R. D.: The differential diagnosis of papillary tumors of the breast. Cancer, *15*: 444, 1962.
14. LOPES CARDOZO, P.: Atlas of Clinical Cytology. Netherlands, Targa b. v. 's-Hertogenbosch, 1976.
15. MASUKAWA T.: Breast cytology. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 497–508. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
16. MCDIVITT, R. W., STEWART, F. W., and BERG, J. W.: Tumors of the Breast, Fascicle 2 in Atlas of Tumor Pathology. Washington D. C., AFIP, 1968.
17. MISU, Y., WATANABE, H., and FUJITA, K.: Abnormal nipple discharge. Fifth Breast Cancer Research Congress in Japan, Osaka, December 4, 1966.
18. RINGROSE, C. A. D.: The role of cytology in the early detection of breast disease. Acta Cytol., *10*: 373, 1966.
19. ROBBINS, G. F., BROTHERS, J. H., III, EBERHART, W. F., and QUAN, S.: Is aspiration biopsy of breast cancer dangerous to the patient? Cancer, *7*: 774, 1954.
20. SCARFF, R. W., and TORLONI, H.: Histological typing of breast tumours. Geneva, WHO, 1968.
21. SILVERBERG, S. G., CHITALE, A. R., and LEVITT, S. H.: Prognostic implications of fibrocystic dysplasia in breasts removed for mammary carcinoma. Cancer, *29*: 574, 1972.
22. TAYLOR, H. B., and NORRIS, H. J.: Well-differentiated carcinoma of the breast. Cancer, *25*: 687, 1970.
23. WACKER, B. A., and MILES, C. P.: Sex chromatin incidence and prognosis in breast cancer. Cancer, *19*: 1651, 1966.
24. ZAJDELA, A., GHOSSEIN, N. A., PILLERON, J. P., and ENNUYER, A.: The value of aspiration cytology in the diagnosis of breast cancer: Experience at the Fondation Curie. Cancer, *35*: 499, 1975.
25. ZAJICER, J.: Aspiration biopsy in the diagnosis of palpable mammary lesions. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. p. 555. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.

Addendum

26. BLACK, M. M.: Fine needle aspiration and breast disease. Lancet, *1*: 284, 1981.
27. MOSSLER, J. A., BARTON, T. K., BRINKHOUS, A. D., MCCARTY, K. S., MOYLAN, J. A., and MCCARTY, K. S., Jr.: Apocrine differentiation in human mammary carcinoma. Cancer, *46*: 2463, 1980.

23 Tracto respiratorio

1. Aspecto general

La cantidad de secreciones bronquiales que produce normalmente una superficie del árbol bronquial que equivale a 70 metros cuadrados en el adulto[49] es tan pequeña, que se deglute sin darse cuenta. El esputo es una muestra apropiada para hacer citología de rutina. Explíquese al paciente que sólo se debe recoger el material expectorado proveniente del árbol bronquial y que este material no debe contaminarse con saliva ni con secreciones nasofaríngeas. Como el carcinoma broncógeno se forma en el epitelio superficial de los bronquios o bronquíolos, es más fácil que las células cancerosas se detecten relativamente temprano que en una etapa avanzada, en que puede ocurrir obstrucción bronquial seguida por atelectasia.

En otras palabras, aunque haya un cáncer en el pulmón, no se debe anticipar una citología del esputo positiva si no se dan las siguientes condiciones: 1) Tumor expuesto a la luz bronquial, 2) ausencia de atelectasia en el parénquima más distal que el bronquio afectado y 3) no tiene que haber obstrucción de las vías aéreas más proximales que el bronquio afectado.

En el Proyecto Pulmonar Mayo se destacó la importancia de los exámenes preliminares para cáncer mediante citología del esputo, a los efectos de detectar cánceres incipientes curables o cánceres radiológicamente ocultos en los fumadores de cigarrillos mayores de 45 años. La singularidad de este estudio estadístico consiste en recoger y procesar las muestras de esputo acumulando las expectoraciones de tres días consecutivos y fijándolas con fijador de Saccomanno, constituido por alcohol al 50 % y carbowax al 2 %. El "Grupo Cooperativo para Cáncer Incipiente", programado por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos, ha obtenido buenos resultados en la detección de cánceres incipientes de pulmón empleando un método similar. Mientras que Melamed y col.[98] administran un aerosol de propilenglicol al 15 y 20 % para obtener muestras apropiadas de esputo, el grupo de la Universidad Johns Hopkins nebuliza solución de Hanks.[9]

2. Pasos de la citología pulmonar

En citología pulmonar se trabaja con muchos métodos, cada cual con su utilidad diagnóstica, sea para exámenes de rutina o para algún propósito específico, como localizar los tumores y evaluar el efecto terapéutico.

a) Primer paso. Citología del esputo mediante:
1. Esputo expectorado espontáneamente a la mañana. La citología convencional del esputo se completa con una serie de tres muestras matinales individuales o más. Es necesario preparar extendidos con más de 3 partes de cada muestra.
2. Esputo de expectoración profunda de tres días, mezclado y sometido a concentración celular.
3. Citología del esputo inducido mediante inhalación de aerosol.

b) Segundo paso. Citología transbronquial o percutánea mediante cepillado o punción aspiradora, después de haber establecido el sitio del tumor.
1. Citología del cepillado con el fibroscopio flexible.
2. Lavado o cepillado bronquial selectivo con catéter de Metras.
3. Punción aspiradora percutánea con aguja fina.

c) Tercer paso. Citología terapéutica:
1. Coadyuvante de la biopsia de pulmón a cielo abierto durante la toracotomía.
2. Evaluación del efecto citológico mediante irradiación y agentes antitumorales.

3. Examen del esputo

Observación macroscópica

Es necesario hacer un examen macroscópico muy cuidadoso del esputo porque así se reconocen a veces procesos patológicos en el árbol bronquial.

El esputo mucoide, blanco grisáceo y traslúcido puede ocurrir en la etapa catarral de la traqueobronquitis aguda.

El esputo purulento es amarillo o verde amarillento y proviene de abscesos pulmonares.

El esputo mucopurulento es común en la bronquitis, bronconeumonía, tuberculosis y bronquiectasias. En la tuberculosis la expectoración diaria no suele exceder de 25 ml, excepto si hay una complicación como cavitación o bronquiectasia. En ocasiones las bronquiectasias producen un volumen de esputo mayor de 100 ml diarios.

El esputo seroso de aspecto espumoso hace el diagnóstico de edema de pulmón.

El esputo mucoide y sanguinolento se ve en casos de tuberculosis pulmonar, neumonía de todos los tipos, bronquiectasias y tumores malignos.

Recolección del esputo

Conviene recoger la primera expectoración de la mañana después de enjuagar la boca con agua. Los recipientes para

Cuadro 56. Citología del esputo en relación con la cantidad de muestras

Nº de muestras por paciente	*Pacientes examinados*	*Cantidad de casos positivos*	*Cantidad de casos negativos*
1	2.035	832 (41%)	1.203
2	1.812	1.012 (56%)	800
3	1.640	1.126 (69%)	514
4 o más	1.422	1.209 (85%)	213

(OSWALD, N. C. y col.: Thorax, 26:623, 1971.)

recoger el esputo deben ser frascos poco profundos y de boca ancha, o cápsulas de Petri. En los casos en que se requieren cultivos bacterianos, se preparan recipientes estériles. Se recomienda examinar la muestra sin pérdida de tiempo. Si se examinan varias muestras al mismo tiempo, es preferible guardarlas en el refrigerador hasta que se preparan los extendidos. Según Farber,[37] los componentes celulares del moco tardan varias horas en degenerar y se puede hacer el examen citológico hasta 10 horas después de la expectoración.

Para que los elementos celulares no se autolisen, Papanicolaou recomendó que se coloque la muestra en alcohol al 70 %, pero con esta concentración el esputo se endurece y es difícil extenderlo con finura y uniformidad. En vez del alcohol al 70 %, para evitar la autólisis es preferible el formol al 2 % en solución de Ringer.[151]

La exactitud del citodiagnóstico es mayor si se examinan más muestras por paciente (cuadro 56). Siendo difícil elegir el sitio de cada muestra para preparar los extendidos, en citología pulmonar de rutina se hacen selecciones aleatorias múltiples.

En el laboratorio de este autor se hacen exámenes seriados en tres oportunidades, preparando más de tres extendidos con cada muestra de cada paciente.

Método de concentración celular

Los intentos encaminados a mejorar la exactitud del diagnóstico citológico pulmonar se orientaron en dos direcciones: cómo examinar satisfactoriamente las muestras y cómo obtener muestras buenas. Para este fin se ensayó el muestreo de las áreas sospechosas del esputo, la repetición de los exámenes y diversas técnicas de concentración celular. Como la técnica citológica de rutina se limita al muestreo aleatorio de un solo esputo, es probable que no se detecten células malignas aunque las haya. Se intentaron diversos métodos para examinar todas las células que contiene el esputo, como la licuefacción mediante digestión enzimática o el mezclado de alta velocidad.

1) Digestión enzimática

a) *Método de Pharr y Farber.*[177] Justo antes del procedimiento se mezcla para cada muestra 10 mg de tripsina cristalina (Takamine Lab., Clifton, New Jersey) con 10 ml de Isolyte E., que es una solución electrolítica balanceada (Don Baxter Inc., Glendale, California). La solución de enzima y electrólitos se vierte en un tubo que contiene el esputo y se introduce una cinta de acero inoxidable de 2,5 cm. A continuación se agita el tubo 30 minutos en una agitadora manteniendo la temperatura de 35 a 45° C con lámparas infrarrojas desde lo alto. Al finalizar la digestión se saca la cinta metálica y se la descarta. Se centrifuga la muestra 15 minutos a 2500 rpm. Luego se extiende el sedimento con el método de la separación de dos portaobjetos mediante deslizamiento.

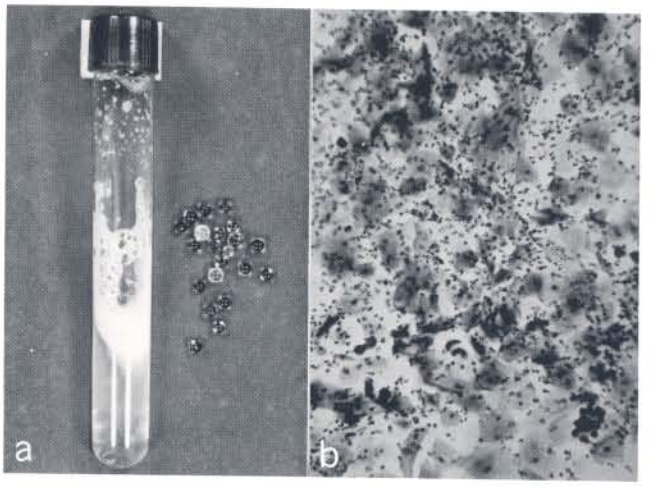


Fig. 531. Digestión tríptica del esputo. *a*, La licuación se hace con facilidad agitando con pequeñas bolas de vidrio. Para este fin también es fácil hacer pipeteados repetidos. *b*, El extendido de la digestión tríptica exhibe una gran celularidad y una diseminación pareja de las células.

b) *Método de Takahashi y Urabe.*[151] Recójase el esputo en un frasco que contenga unos 20 ml de formol al 2 % en solución electrolítica balanceada (0,85 g de cloruro de sodio, 0,02 g de cloruro de potasio, 0,2 g de bicarbonato de sodio, 98 ml de agua destilada y 2 ml de formol neutro). Antes de iniciar el procedimiento, disuélvanse en 5 ml de la solución balanceada 10 mg de tripsina (Difco Lab., Detroit, Michigan) y fíltrese. Esta solución de tripsina se vierte en una mezcla del esputo con 16 ml de solución electrolítica con formol al 2 %. La licuefacción se hace repitiendo los pipeteados por unos 10 minutos. La licuefacción se acelera agitando un tubo con tapón de goma que contenga la muestra con la tripsina y la solución electrolítica, y varias bolitas de vidrio (fig. 531). Después se concentran las células mediante centrifugación común a 2000 rpm durante 5 minutos.

c) El esputo también se puede licuar con otras enzimas, como hialuronidasa (Knudtson[74]) y quimiotripsina (Umiker y col.[158]). Liu[83] describió un nuevo ensayo encaminado a aislar células malignas mediante fraccionamiento.

2) Emulsificación mecánica

a) *Método de Chang y Russell.*[27] Se recoge el esputo en un frasco de boca ancha que contenga 35 ml de formol al 10 %. El esputo se puede emulsionar con un agitador helicoidal a 2000 rpm por unos 10 segundos. Los componentes celulares se recogen con la técnica del filtro Millipore, seguida por disolución de la membrana con acetato de etilo o tetrahidrofurano.

b) *Método de Saccomanno y col.*[134] Recójase esputo en un frasco de boca ancha lleno hasta la mitad con alcohol etílico o isopropílico al 50 % que contenga el 2 % de polietilenglicol. A continuación añádase cantidad suficiente de alcohol etílico al 50 % hasta un volumen total de 50 a 100 ml, que ahora se presta para la emulsificación mecánica. La mezcla de la



Fig. 532. Centrífuga de Saccomanno y su tubo de repuesto.

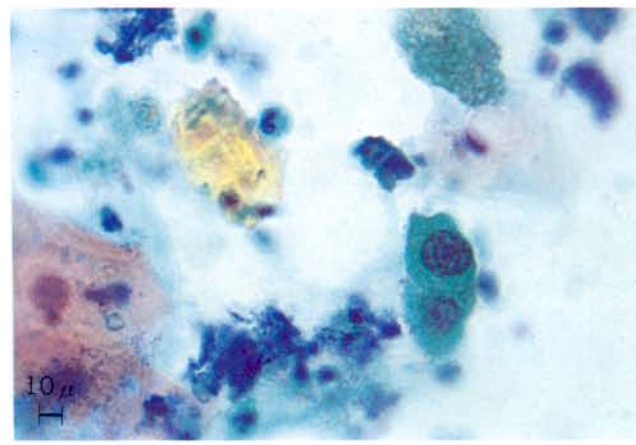


Fig. 533. Citología del esputo con el método de Saccomanno que muestra una célula cancerosa pavimentosa no queratinizante. Las células cancerosas pavimentosas no suelen estar deformadas.

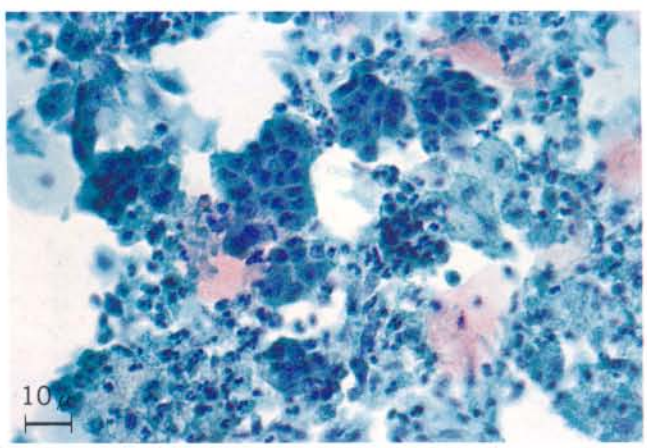


Fig. 534. Citología del esputo con el método de Saccomanno que muestra muchas células adenocarcinomatosas en aglomeraciones. De un caso de carcinoma broncoalveolar. Las células cancerosas son deformes y se ha perdido la trama fina de cromatina.

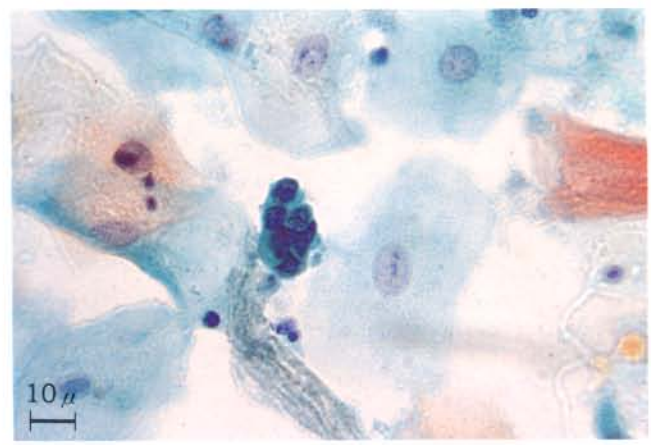


Fig. 535. Citología del esputo con el método de Saccomanno que muestra células de avena aglomeradas. Los grupos sueltos de células de avena aparecen retraídos y sus núcleos son picnóticos. Nótese que la aglomeración es indistinguible respecto de los linfocitos.

muestra y el diluyente se procesa para emulsificarla con una licuadora común de alta velocidad unos 6 a 25 segundos a 21.000 rpm (fig. 532). La muestra emulsificada se coloca en un tubo de centrífuga y se centrifuga 5 minutos a 1500 rpm. Por último, deposítense una o dos gotas del sedimento entre dos portaobjetos y sepárense éstos mediante deslizamiento para hacer el extendido.

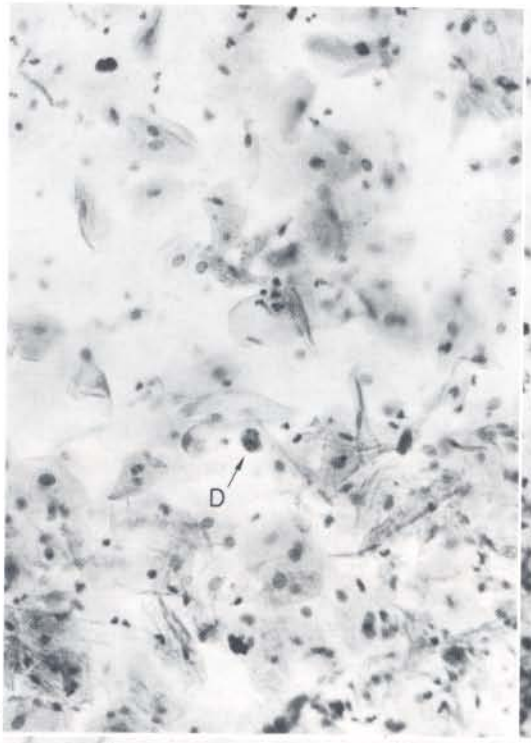
Este método tiene la ventaja de que se reúnen todas las muestras de esputo en una muestra común y en que el extendido se deja secar hasta el momento de colorearlo. Como la fijación dura un mes o más, los portaobjetos se pueden despachar a un laboratorio de citología por correo.

Esputo inducido con aerosol

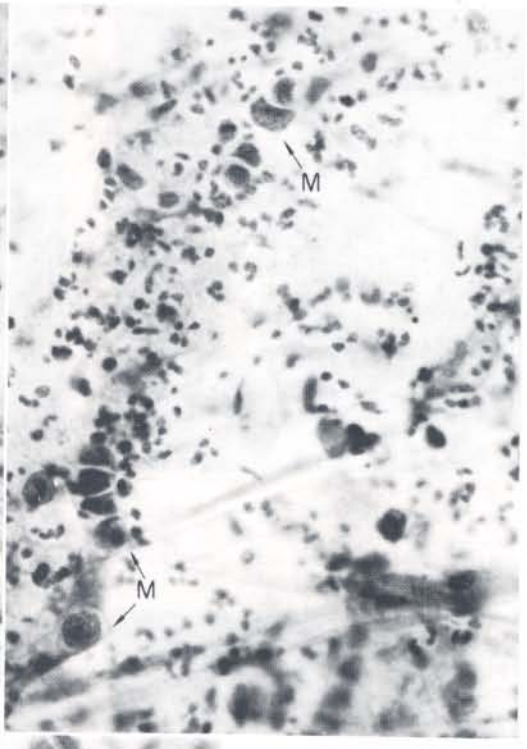
La finalidad de la citología exfoliativa es detectar cáncer de pulmón en la fase incipiente o temprana curable, cuando el paciente muchas veces no tiene síntomas o no produce expectoración. El problema radica en idear una técnica para obtener muestras satisfactorias en esta fase. El esputo inducido con aerosol[21, 121, 122, 144] puede bastar en estos casos (véase cuadro 8, página 7).

Bickerman y col.[17] hicieron la primera expectoración inducida provocando la tos del paciente mediante la inhalación de propilenglicol al 20 % en solución de cloruro de sodio al 15 %. Por lo común se usa el tosedor mecánico diseñado por Barach y col.[7] como nebulizador de alto flujo sobrecalentado.

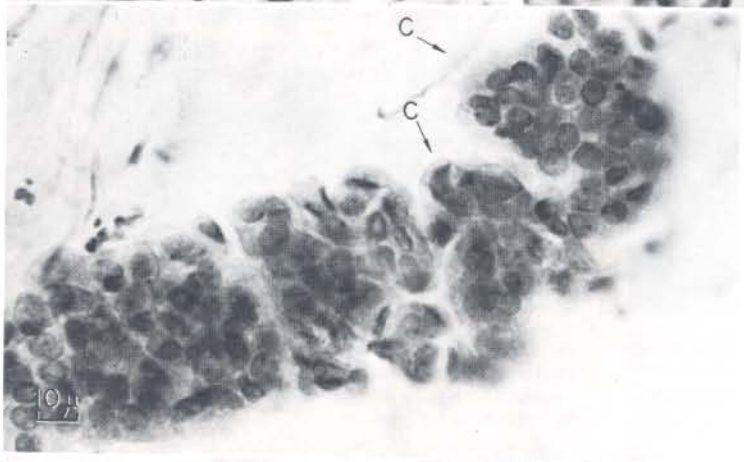
Takahashi y col.[150] agregaron 5 a 7 mg de α-quimiotripsina a la misma solución inhalante consistente en propilenglicol al 20 % y cloruro de sodio al 10 %, con la finalidad de forzar la exfoliación de las células cancerosas. Para provocar la tos utilizaron el respirador Bird Mark 3 ITPC (Bird Corporation, Palm Springs, Calif., U.S.A.). En vez de solución hipertónica, el grupo del Johns Hopkins emplea acetilcistina al 1 % en solución de Hanks. Después del procedimiento, el efecto de la solución clorurada hipertónica inhalada con la quimiotripsina puede persistir e inducir una expectoración muy útil para citología. El esputo inducido tardío, obtenido varias horas después de la inducción con el aerosol, se debe examinar con sumo cuidado.



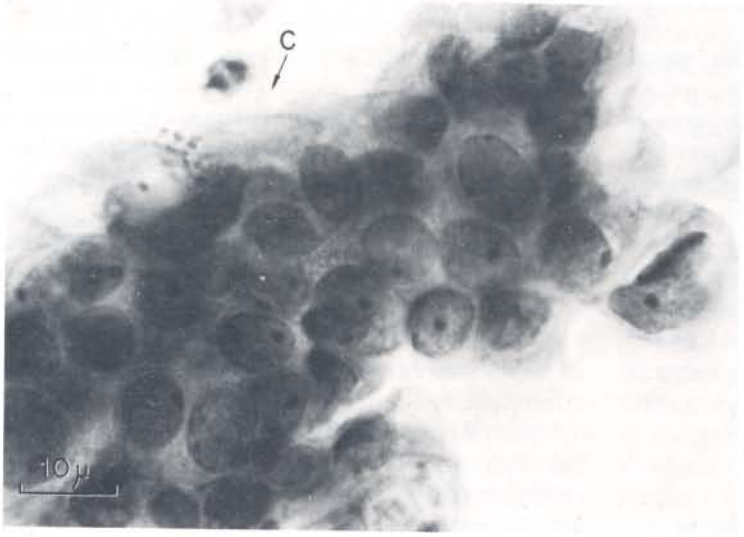
536



537



538 a

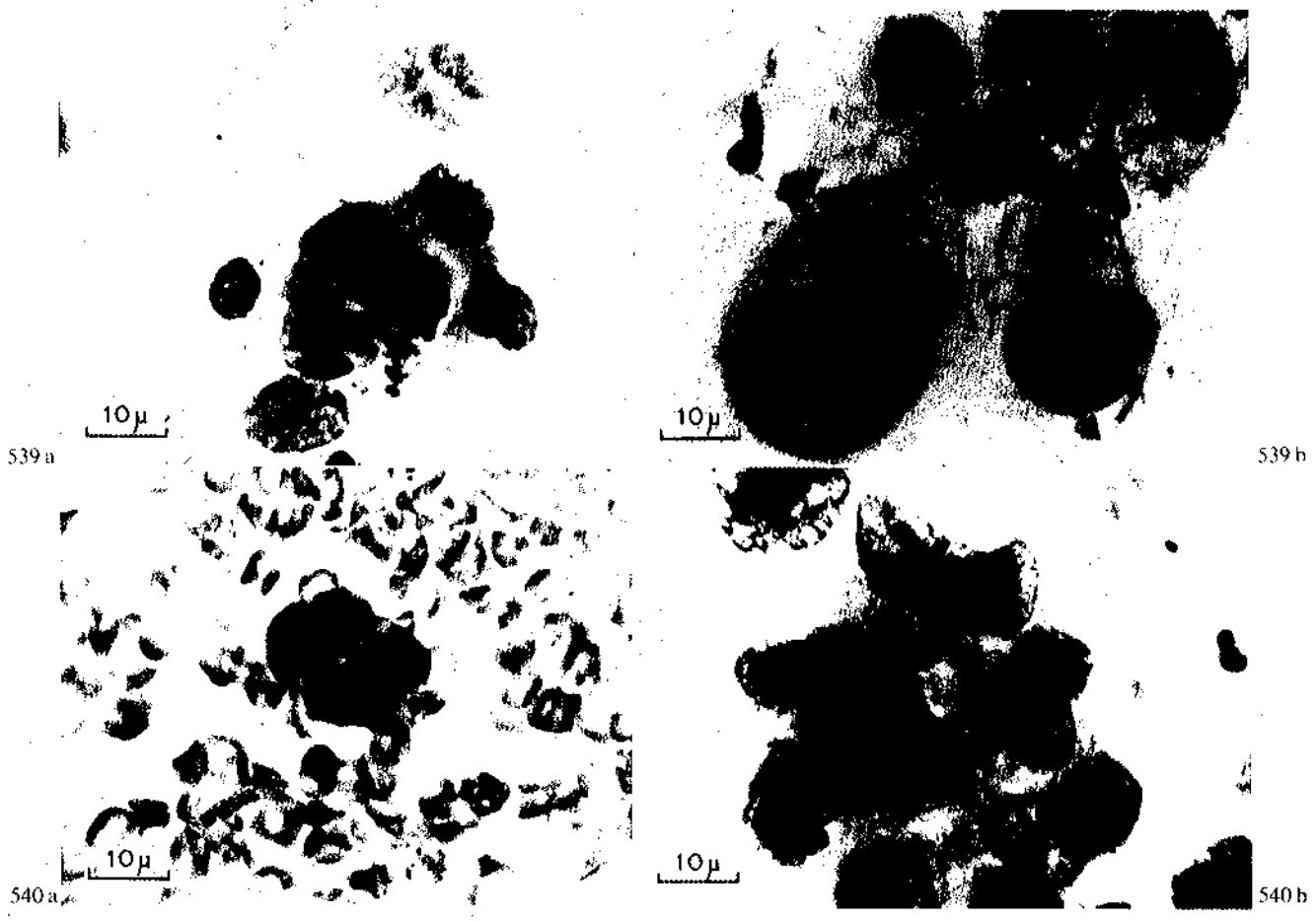


538 b

Fig. 536. Esputo expectorado espontáneamente antes de la inducción con aerosol. La muestra es insuficiente y consiste en su mayor parte en saliva. Abundan las células pavimentosas y sólo se reconocen unos pocos fagocitos alveolares (*D*).

Fig. 537. Esputo expectorado justo después de la inducción con aerosol de quimiotripsina. Han aparecido células malignas dispuestas en filas (*M*).

Fig. 538. Aglomeraciones de células columnares ciliadas obtenidas con el método del aerosol de quimiotripsina. Estas aglomeraciones celulares recién descamadas presentan cilias bien preservadas (*C*).



Figs. 539 y 540. Efecto de la provocación con quimiotripsina.
Fig. 539. Caso de adenocarcinoma bronquiolar.
Fig. 540. Caso de adenocarcinoma papilífero. *a*, El primer esputo sólo contenía células anormales degeneradas, de modo que no se pudo obtener una citología positiva definitiva. *b*, Al hacer la provocación con quimiotripsina, se detectaron células malignas con rasgos celulares inequívocos.

4. Raspados bronquiales selectivos

Citología broncoscópica

Se recomendaron mucho los lavados bronquiales realizados al hacer la broncoscopia porque la muestra se obtiene directamente de la lesión sin que se contamine con saliva ni con secreciones nasofaríngeas,[61, 95, 96, 110] pero esto tiene la desventaja de que el campo visual se limita mucho durante el examen.

La muestra se obtiene tras la aspiración o lavaje con una pequeña cantidad de solución fisiológica. Introduciendo una cánula aspiradora especial se pueden lavar los bronquios distales. Los raspados directos se pueden hacer con un trocito de gasa o con un cepillo de nilón. Si con el lavado se obtiene escasa cantidad de líquido, conviene agregar suficiente solución fisiológica como para centrifugar o filtrar con membrana.

La utilidad de este procedimiento en citología ha mejorado mucho con la reciente introducción de instrumentos como el broncofibroscopio flexible. El endoscopio de fibra óptica flexible permite visualizar los bronquios de cuarto o quinto orden y también los del lóbulo superior. Introduciendo bajo control radioscópico una pinza para biopsias o un cepillo, se llega con facilidad hasta la lesión y se mejora la exactitud del diagnóstico en los carcinomas periféricos; Solomon y col. informan que 30 de 36 cánceres periféricos arrojaron citología positiva.[141] La utilidad del lavado y/o cepillado bronquial también se confirma porque se obtuvo una exactitud diagnóstica del 91,67 % en 72 casos.[139]

Curetaje y cepillado bronquial selectivo

El esputo o los aspirados bronquiales se obtienen raras veces en los casos de carcinomas minúsculos, en particular

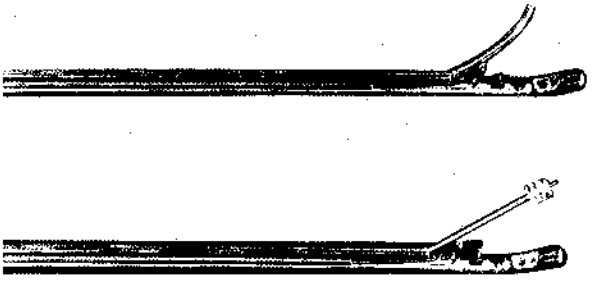


Fig. 541. Periscopio con una cánula para aspiración o un cepillito.

los radicados en los bronquios segmentarios o en los más periféricos. Tsuboi[155, 156] y Hattori[53, 54] emplearon con buenos resultados un dispositivo para obtener las muestras directamente de la lesión por medio de un catéter de Metras.

1) Biopsia transbronquial (Tsuboi).[155] Después de la broncografía se elige un catéter de Metras que mejor se preste para el bronquio donde está el tumor (fig. 542). Es preferible aplicar 1 ml de aceite de oliva en toda la luz del catéter antes de usarlo. Para introducir el catéter de Metras, se recomienda anestesiar la mucosa de las vías aéreas superiores con Xilocaína al 4 %. En el bronquio segmentario o subsegmentario enfermo se puede introducir un catéter de Metras apropiado bajo radioscopia televisada, modificando de vez en cuando la posición del paciente. Después se avanza el catéter hacia la periferia lo más cerca posible de la lesión.

La cureta pasada por dentro del catéter se debe avanzar con suavidad bajo control radioscópico, hasta que llega al tumor (fig. 543). La lesión se raspa dos o tres veces manipulando el mango del instrumento. La muestra del curetaje se extiende con uniformidad en portaobjetos. Si se dispone de suficiente muestra, conviene hacer el extendido deslizando dos portaobjetos.

2) Cepillado TV (Hattori). Hattori y col.[53] emplean dos tipos de cepillitos de nilón, en lugar de la cureta para biopsias: un cepillo lineal y otro flexible controlado a mano, que se puede insertar en la lesión por medio de un catéter de Metras. A continuación la muestra que sale con el cepillo se extiende directamente en portaobjetos de vidrio limpios y se fija enseguida con solución de éter y etanol. Es necesario hacer un buen extendido empujando el cepillo sobre un portaobjeto de vidrio limpio y describiendo un movimiento circular dentro de un área de unos 2 cm de diámetro. Para evitar interpretaciones erróneas no se debe dejar que el cepillo se seque.

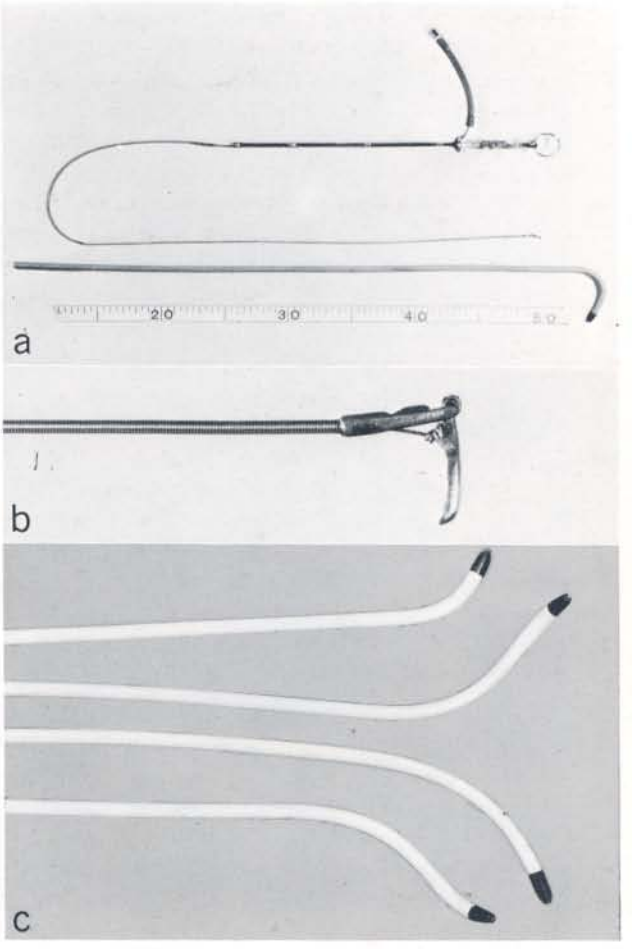


Fig. 542. Instrumento para biopsia transbronquial (Tsuboi). *a*, Instrumento completo y catéter de Metras. *b*, Objetivo de gran aumento en la punta del instrumento. La cureta está hecha de modo que sea fácil manejarla. *c*, Catéteres de Metras. Se debe elegir el que entre mejor en el bronquio donde está la lesión.

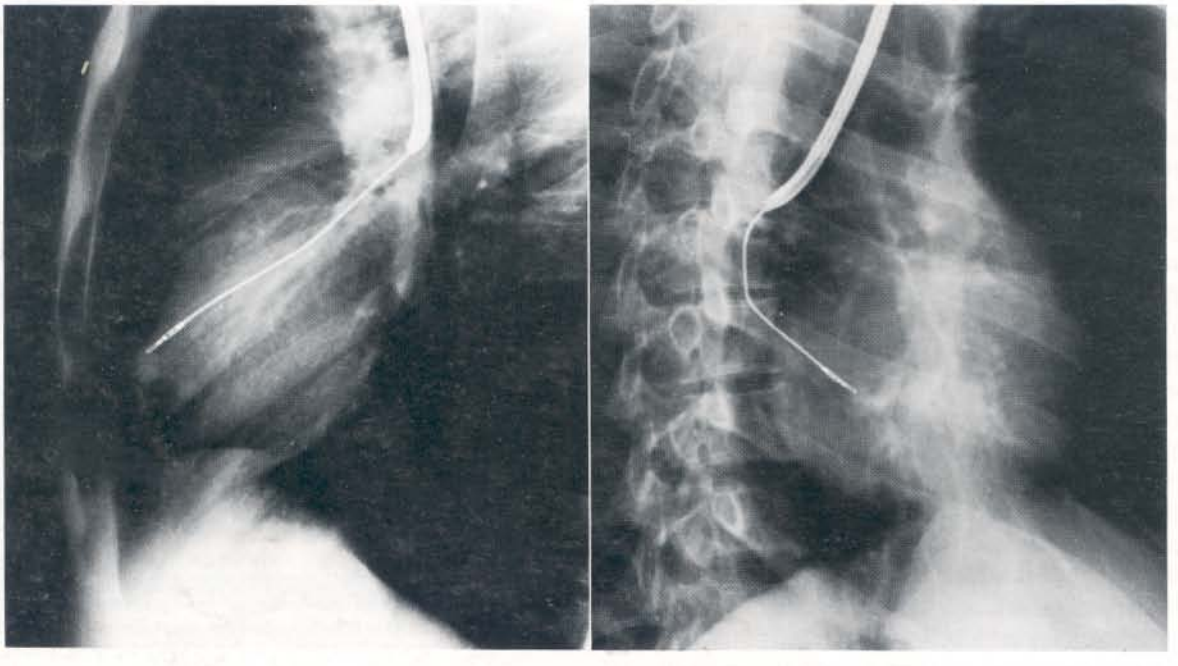


Fig. 543. Biopsia transbronquial con el Tsuboi. La cureta se orienta hacia la lesión numular opaca por medio del catéter de Metras. Para elegir el catéter de Metra apropiado es necesario localizar de antemano la lesión numular.

Fennessy[38, 39] describió una técnica similar de cepillado transbronquial en la que se emplea un catéter vascular radioopaco bajo control radioscópico. La ventaja de esta técnica radica en que se introduce un catéter de polietileno con ayuda de un alambre de resorte flexible.[43, 103, 109] La manipulación del catéter y su cepillo no acarrea complicaciones graves, excepto accidentes como neumotórax y pérdida del cepillo. La inserción del catéter es menos efectiva para las lesiones del lóbulo superior, aunque se la guíe con radioscopia, que para las que están en el lóbulo medio o inferior.[82]

5. Aspiración con aguja

Generalidades

A medida que los métodos radiológicos progresan, los tumores se localizan con mayor exactitud. En consecuencia, día a día se usa más la punción aspiradora del tumor con aguja. Algunas objeciones a este método son el temor de complicaciones por neumotórax, piotórax, hemorragia, embolia gaseosa e implantación de metástasis.[29, 32, 46, 116, 145] Dada la rareza de estas complicaciones,[102, 131, 152] en la actualidad se prefiere la punción aspiradora en casos de tumor metastásico o de tumor periférico en que no se produce expectoración.[58, 72, 79, 108] La aspiración con aguja se puede hacer sin peligro mediante radioscopia con el intensificador de imágenes y monitoreo televisado. Nordenström diseñó para este fin una aguja fina de 0,6 mm de diámetro. Nasiell también emplea una aguja hipodérmica de 0,6 a 0,8 mm.[108]

Este autor utiliza una fina aguja mellada de 9,5 cm de largo por 0,8 mm de diámetro, diseñada por Hayata y col. del Colegio Médico de Tokio[58] (figs. 544a y 545). La aguja mellada junto con su camisa se maneja de la misma manera que la de Vim-Silverman. La aguja y su camisa se avanzan gradualmente bajo control radioscópico televisado hasta que llega al tumor, lo cual a menudo se reconoce por la ligera resistencia que opone la aguja al llegar a la lesión. Esta aguja tiene las ventajas de su facilidad y seguridad para obtener muestras para citología al rotar la aguja mellada interna, en lugar de aspirar; cuando se usa el equipo de Franzen, se debe hacer una aspiración cuidadosa mientras se desplaza la aguja fina hacia adelante y atrás.[41] El tejido obtenido, que queda unido a las finas saliencias de la punta de la aguja, se extiende sobre portaobjetos de vidrio limpios.

Citodiagnóstico

En estudios comparativos sobre la exactitud del citodiagnóstico en cánceres periféricos minúsculos, la aspiración con aguja produjo mejores resultados que el cepillado bronquial.[19, 57] La superioridad de la aspiración con aguja sobre el cepillado bronquial (cuadro 57) radica en la accesibilidad de las lesiones apicales, como tumor de Pancoast,[163] y en que se puede obtener una buena muestra para bacteriología. Sin embargo, con estas muestras es bastante más difícil interpretar las células malignas y tipificarlas que con el esputo, porque en el extendido aspirado no se distinguen los rasgos representativos de malignidad de la citología del esputo, como aglomeración gruesa de la cromatina, engrosamiento y/o irregularidad de las membranas nucleares. Además es oscura la trama celular que ilustra sobre el tipo histológico de carcinoma. Muchas veces no se puede detectar la exfoliación de células cancerosas en densas aglomeraciones celulares tridimensionales en el adenocarcinoma y de células individuales en el carcinoma epidermoide, en caso de que los tumores sean poco diferenciados; en todos los tipos de carcinoma pulmonar ocurre descamación de células en láminas, con mayor o menor superposición. El carcinoma de células pequeñas, que en el esputo aparece como células

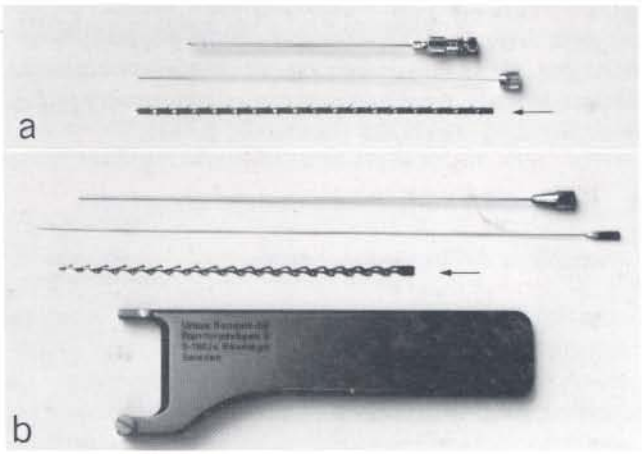


Fig. 544. Agujas para aspiración transcutánea y detalle muy ampliado de cada una (*flechas*). *a*, De Hayata y Oho. *b*, De Nordenström.

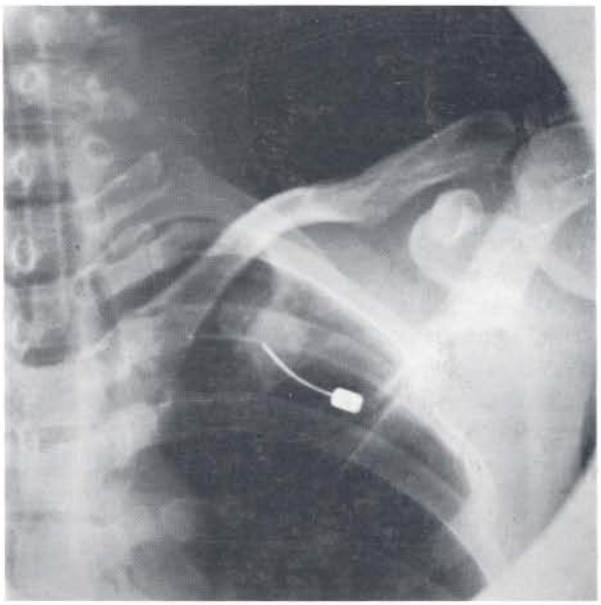


Fig. 545. Aguja insertada desde el sitio ventrolateral hacia la lesión opaca nodular.

Cuadro 57. Resultado comparativo de procedimientos para diagnóstico

Método	*Tamaño del tumor*	
	Más de 2 cm	*2 cm o menos*
Citología del esputo	58/126 (46,0%)	5/23 (21,7%)
Broncoscopia rígida	10/37 (27,0%)	0/3
Broncofibroscopia	25/34 (73,5%)	0/7
Citología de cepillado TV	34/57 (59,6%)	14/21 (66,7%)
Punción biopsia	60/67 (89,6%)	12/16 (75,0%)

(HAYATA, Y. y col.: Acta Cytol. 17:469, 1973. © 1973 International Academy of Citology.)

picnóticas dispersas que semejan linfocitos, también presenta rasgos distintos; el carcinoma de células pequeñas indiferenciadas o de células de avena puede poseer una membrana nuclear delicada, gránulos de cromatina compactos y pequeña cantidad de citoplasma (cuadro 62, p. 301).

6. Histología y componentes celulares normales

Histología del tracto respiratorio

Las vías aéreas del tracto respiratorio que interesan en citología pulmonar son laringe, tráquea, bronquios, bronquíolos, conductos alveolares y alvéolos (fig. 546a). La superficie anterior de la mitad superior de la epiglotis y las cuerdas vocales están cubiertas por un epitelio pavimentoso estratificado. Desde la base de la epiglotis hasta los bronquios, la mucosa consiste en un epitelio columnar ciliado seudoestratificado que contiene algunas células caliciformes (figs. 547b y 549). Las glándulas mucoserosas desembocan en la superficie epitelial por medio de sus conductos (fig. 546b). Estas glándulas son más mucíparas y más escasas a medida que las vías aéreas se ramifican, y pueden persistir hasta el nivel de los bronquíolos. Las células basales indiferenciadas o células de reservas aplicadas contra la membrana basal son pequeñas, se tiñen de oscuro y poseen competencia para la diferenciación multipotente (fig. 546b).

Los bronquíolos son vías aéreas de 1 mm de diámetro o menos que carecen de células caliciformes y de glándulas mucíparas. Mientras que los prebronquíolos están tapizados por una sola capa de células columnares ciliadas, los bronquíolos terminales exhiben un epitelio columnar bajo con pocas cilias o ninguna. Los bronquíolos respiratorios conservan el epitelio cuboide hasta que se comunican con los conductos alveolares. Se pensaba que las paredes alveolares carecían de revestimiento y que los capilares sanguíneos estaban en contacto directo con el aire alveolar, hasta que Low[86, 87] y Karrer[69] establecieron la existencia de un estrato epitelial atenuado. El epitelio de la superficie alveolar es una capa pavimentosa simple de 0,1 μ de espesor, que descansa sobre la membrana de reticulina superficial[80, 86] (fig. 551).

Las células del epitelio de revestimiento de los alvéolos son de dos tipos. Las células alveolares tipo I (Campiche, 1960[180]) o células tipo A (Takagi y Yasuda, 1958[199]) son muy atenuadas y tapizan las paredes alveolares con un citoplasma membranoso en el cual es raro ver organoides. Debajo de los núcleos hay unas pocas mitocondrias (fig. 551). En vista de que estas células ocupan las grandes áreas de la barrera hematoaérea, se las denominó células epiteliales alveolares[195] y se considera que intervienen en el intercambio gaseoso. Las células tipo II o B son cuboides y poseen unas cortas microvellosidades en su superficie libre. Son ricas en organoides como cuerpos de Golgi, retículo endoplasmático áspero y mitocondrias, y se caracterizan por poseer una gran cantidad de cuerpos laminillares osmiófilos que se conocen como gránulos secretorios, en los que abundan la fosfatidilcolina y la fosfatidiletamina.[204] Los cuerpos multilaminillares elaboran surfactante, que es importante para reducir la tensión superficial y estabilizar los sacos alveolares (fig. 552).

Las *células de Clara*, que intervendrían en la producción de surfactante (Azzopardi, Nagaishi) o moco (Hayek), se observan con el microscopio electrónico. Se considera que los gránulos electrondensos (0,3 a 0,6 μ de diámetro) que están en el citoplasma apical, se secretan por un mecanismo apocrino. Aunque todavía no se elucidó del todo bien la función de las células secretorias de Clara, parece ser que producen fosfolípidos.[197] Estas células sobresalen en el espacio bronquiolar como si estuviesen intercaladas entre células columnares ciliadas. El citoplasma abunda en retículo endoplasmático de superficie lisa y en grandes mitocondrias redondeadas (fig. 550). En investigaciones recientes con mi-

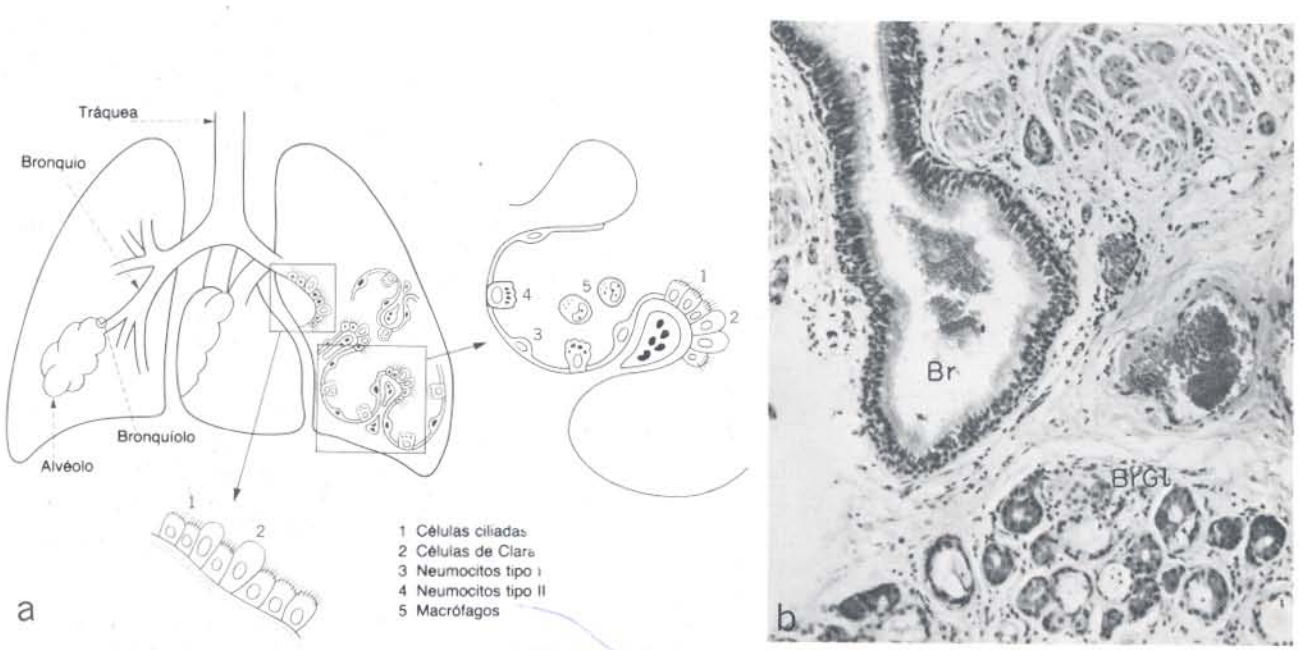


Fig. 546. Histología del árbol bronquial normal. *a*, Diagrama junto con la representación histológica del bronquíolo terminal y conducto alveolar. *b*, Bronquio con un revestimiento de epitelio columnar ciliado seudoestratificado. Debajo del epitelio mucoso de un bronquio (*Br*) se ven las glándulas seromucinosas mixtas (*BrGl*).

croscopia electrónica se comprobó la presencia de un adenocarcinoma bronquioloalveolar originado en células de Clara que se caracteriza por células cancerosas columnares procidentes, con una pequeña cantidad de microvellosidades apicales y cuerpos de Golgi bien desarrollados.[192]

Células normales del tracto respiratorio

1) Células columnares ciliadas

Citoplasma. Las células bien preservadas exhiben un citoplasma columnar con un extremo ancho y cola corta. Se ven

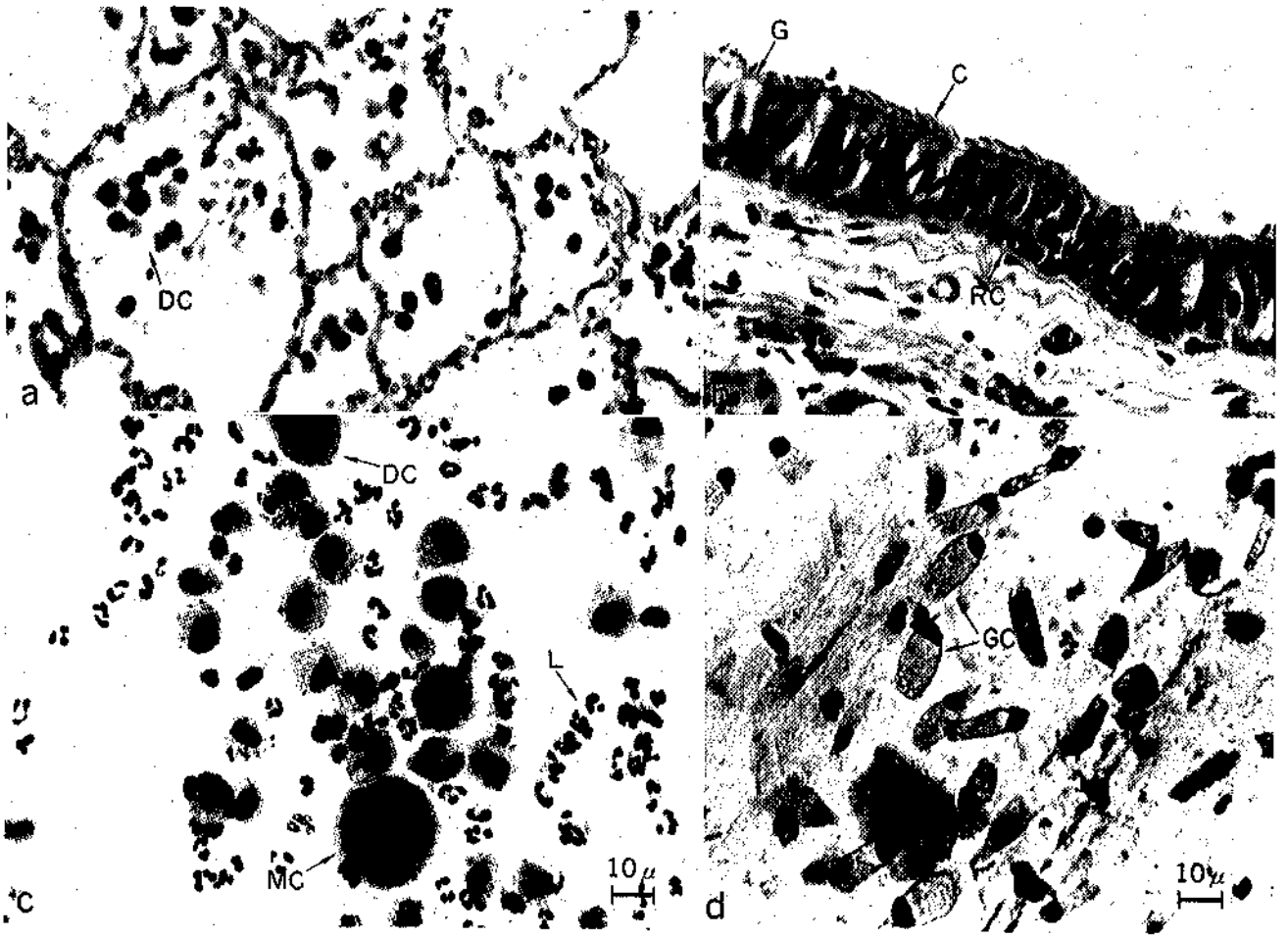


Fig. 547. Histología y citología del árbol bronquial. *a*, Alvéolos que contienen fagocitos alveolares (*DC*), que son uno de los componentes celulares normales del esputo. *b*, Gran ampliación del epitelio bronquial, consistente en células ciliadas (*C*) y unas pocas células caliciformes (*G*). En el fondo del epitelio columnar ciliado seudoestratificado hay células de reserva (*RC*) multipotentes. *c*, Histiocito multinucleado (*MC*), fagocitos alveolares (*DC*) y leucocitos (*L*) en el esputo. *d*, Células columnares ciliadas y células caliciformes (*GC*) en el esputo.

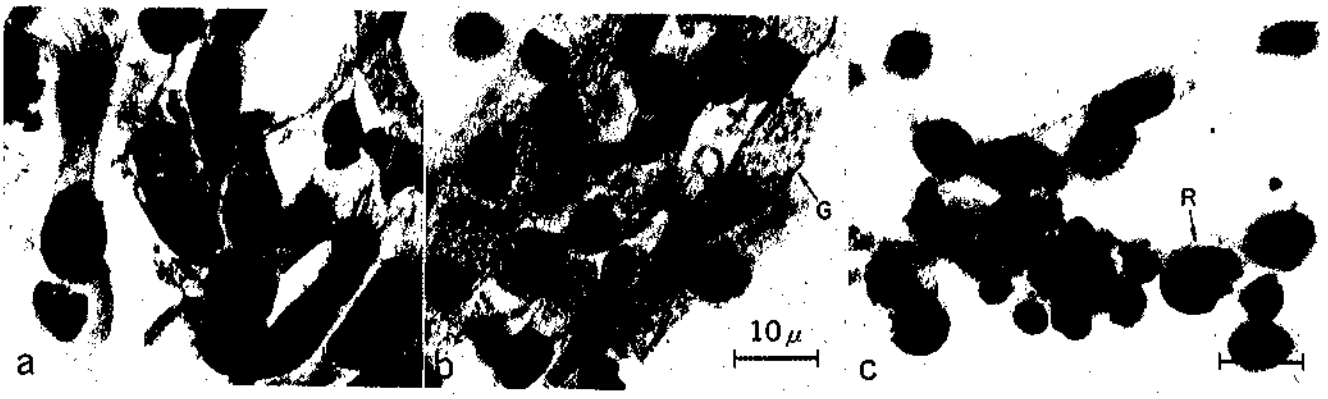


Fig. 548. Componentes celulares benignos en el extendido de un cepillado visto con gran aumento. *a*, Células columnares ciliadas. Las cilias están bien preservadas (*C*). Los núcleos son ovales y de tamaño y morfología uniformes. *b*, Aglomeraciones de células caliciformes (*G*). El citoplasma está distendido por acumulación de moco y los núcleos son muy excéntricos. *c*, Células basales o de reserva en el esputo (*R*). Nótense los pequeños núcleos ovoides y el citoplasma pálido y escaso. La cromatina es de distribución pareja y lisa.

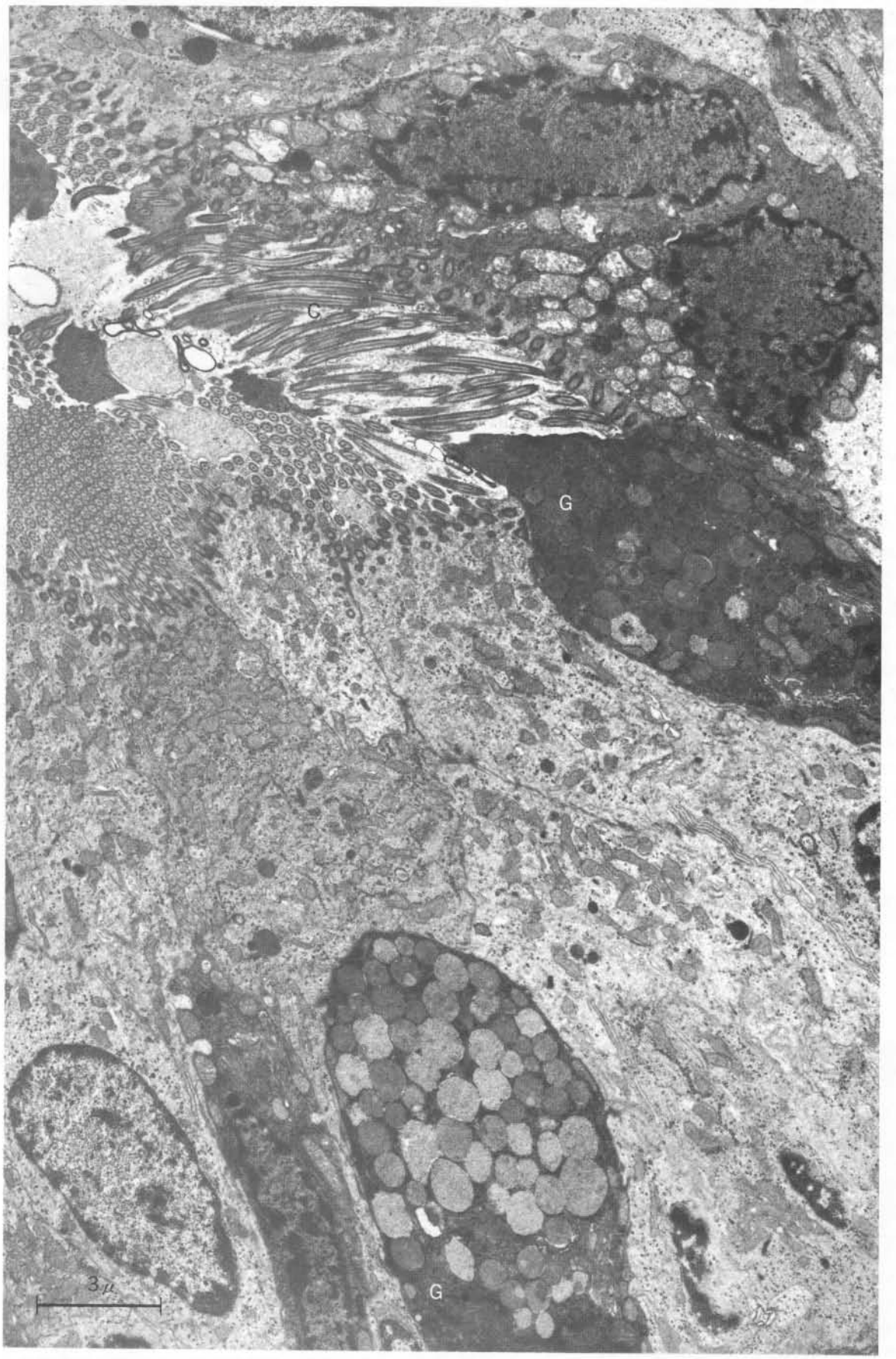


Fig. 549. Micrografía electrónica del epitelio bronquial. Revestimiento epitelial de un bronquio. Entre muchas células columnares ciliadas se reconocen unas pocas células caliciformes mucíparas (*G*). En la luz aparecen varias cilias (*C*) en cortes trasversos u oblicuos.

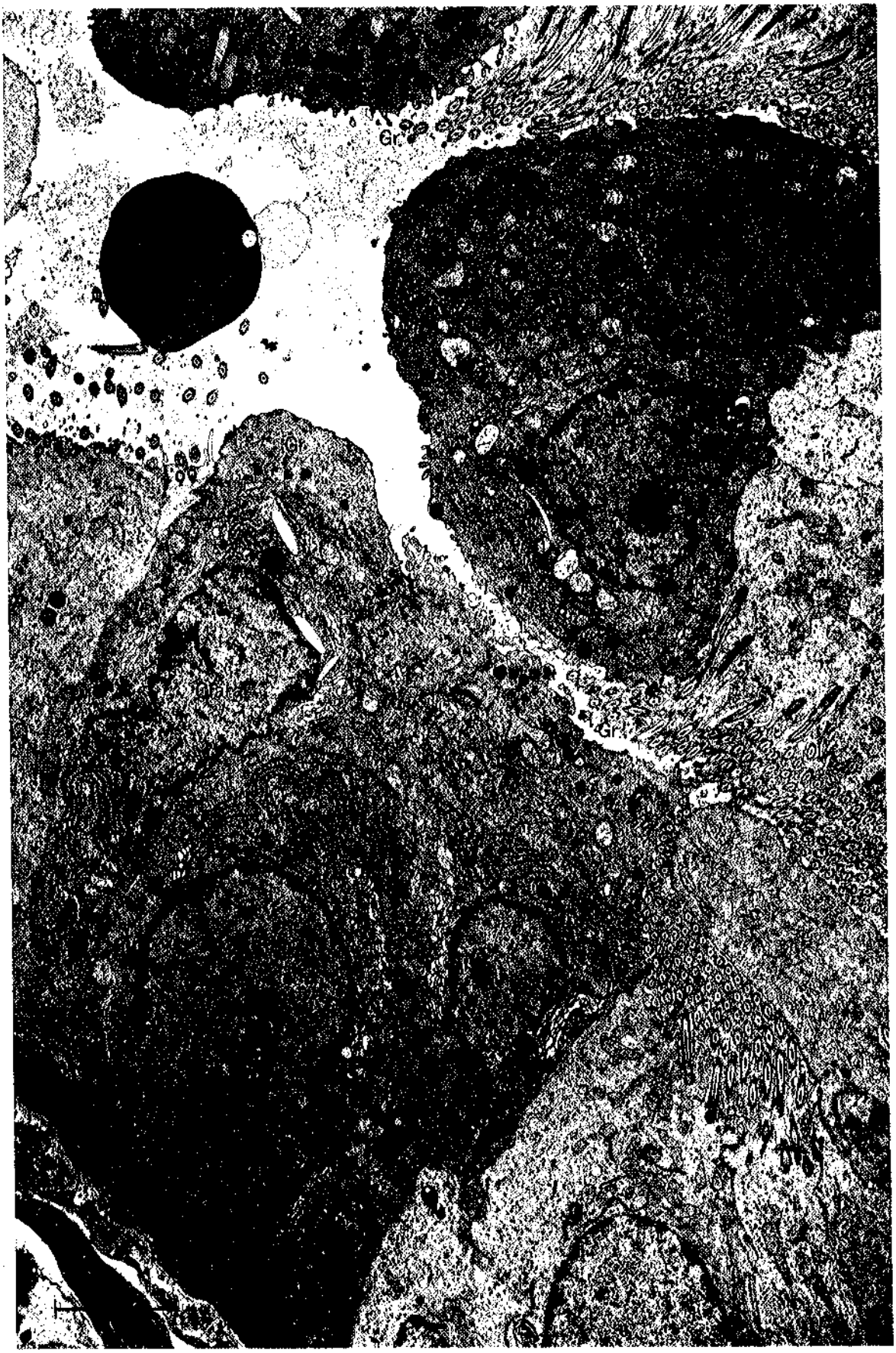
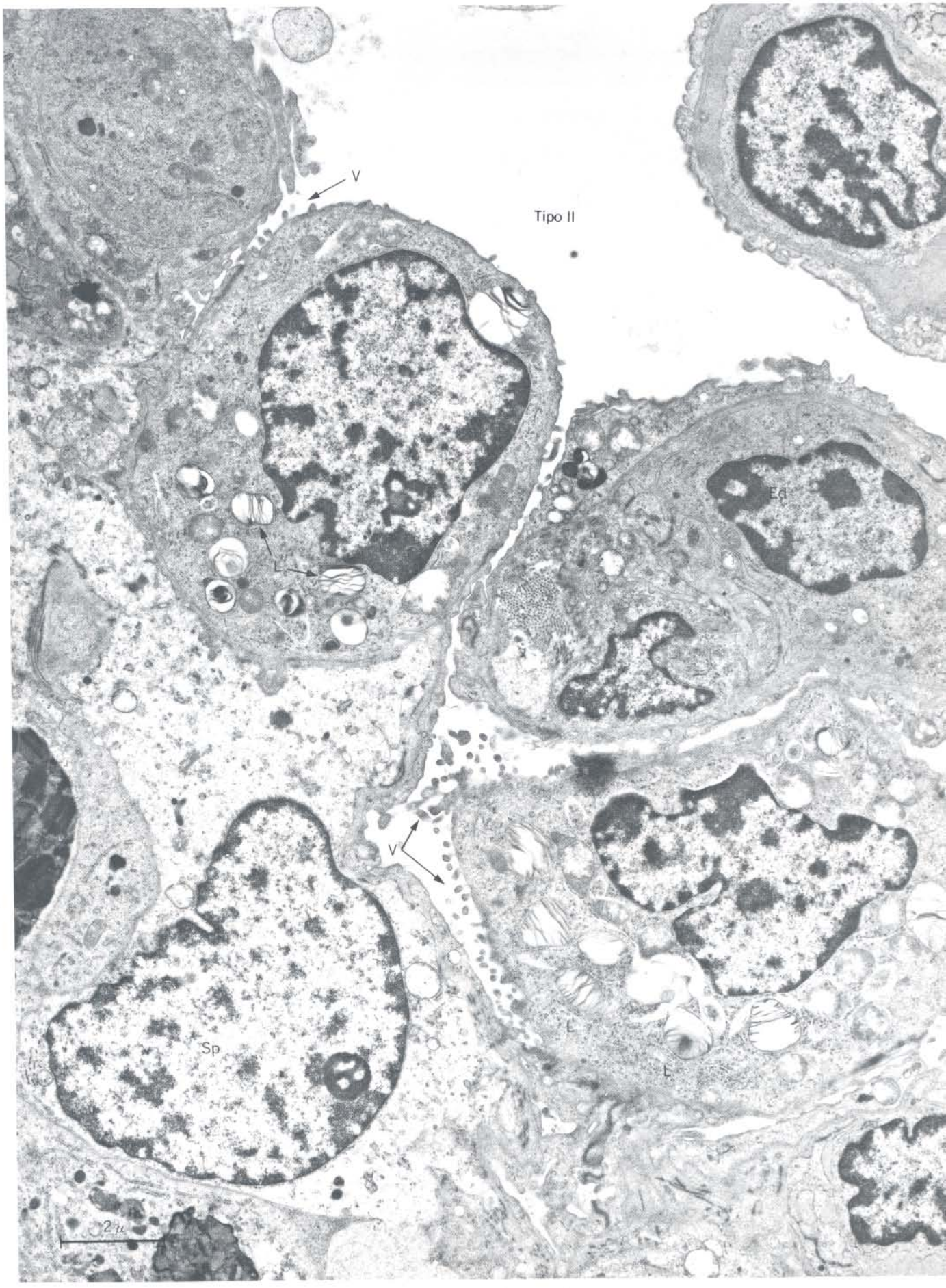


Fig. 550. Micrografía electrónica del epitelio bronquiolar. Revestimiento epitelial del bronquíolo terminal. Las células no ciliadas (células de Clara) sobresalen dentro de la luz y son más altas que las ciliadas. En el ápice de las células no ciliadas hay moderada cantidad de gránulos densos (*Gr*).



Fig. 551. Micrografía electrónica de una célula tipo I. El citoplasma elongado que reviste a la pared alveolar posee escasos organoides.

Fig. 552. Micrografía electrónica de células tipo II que se caracterizan por cuerpos laminillares osmiófilos (*L*) y microvellosidades cortas (*V*). Hay un fibroblasto o célula septal (*Sp*). *Ed*, Célula endotelial.


V
Tipo II
Ed
L
V
Sp
L
L
2μ

cilias y una placa terminal en el extremo ancho. La reacción tintorial es verde azulada o verde pardusca. Las células columnares ciliadas degeneran y a menudo pierden sus colas subnucleares.

Núcleo. Los núcleos ovales son excéntricos y las células bien preservadas, que exhiben apilamiento de núcleos, están dispuestas en paralelo y en posición unipolar. La distribución celular podría designarse como seudoestratificación del epitelio con polaridad.

La cromatina es de distribución pareja y lisa, excepto por unos pocos cariosomas. La variación entre los núcleos es más de tamaño que de forma. En ocasiones se observa multinucleación.

2) Células caliciformes

Citoplasma. El tipo caliciforme de célula columnar es recio y en forma de linterna. Suele ser poco tingible por el moco que contiene (fig. 548b). Da tinción positiva con la reacción del ácido peryódico-Schiff con el método del hierro coloidal de Hale. No hay cilias.

Núcleo. A menudo es picnótico y de posición muy excéntrica.

3) Células profundas (células basales). Las pequeñas células redondas que están en la capa basal del epitelio bronquial corresponden a las células de reserva (Halper) que se describen en el capítulo sobre el tracto genital femenino (fig. 548c). Siendo infrecuente que descamen células profundas solas en el esputo, resulta difícil identificarlas. Cuando están, es relativamente fácil reconocerlas si se hallan adheridas a células columnares ciliadas en los grupos celulares obtenidos mediante raspados.

Citoplasma. El citoplasma es escaso y sólo se ve a lo largo de un lado, en torno del núcleo. La reacción tintorial es basófila y verde azulada con el método de Papanicolaou (fig. 555).

Núcleo. Los núcleos son pequeños y ovales, y de tamaño y morfología uniformes. La distribución de la cromatina es pareja.

4) Células epiteliales pavimentosas. En la muestra de esputo es inevitable encontrar células del epitelio pavimentoso de la boca y la faringe. Como las células pavimentosas profundas exfolian cuando hay alguna ulceración o erosión en la boca y la faringe, no se las debe confundir con células columnares metastásicas pavimentosas ni con células de carcinoma espinocelular. Las células pavimentosas del esputo son similares a las del extendido vaginal. Las células superficiales de citoplasma transparente ancho y núcleo picnótico oscuro o vesiculoso oval, son, por mucho, las que más abundan en los extendidos de esputo.

5) Macrófagos. Los macrófagos son los llamados histiocitos alveolares o células de polvillo alveolares, y representan el sistema reticuloendotelial del pulmón. Estos fagocitos se encargan de limpiar las vías aéreas (fig. 547a). La presencia de estas células en el esputo significa que la muestra ofrece material suficiente para el estudio citológico. En otras palabras, una muestra que sólo contiene células pavimentosas y ningún histiocito, no sirve para realizar el examen.

Citoplasma. Es ancho, finamente vacuolado y contiene partículas de polvillo fagocitadas. Por este motivo a los histiocitos alveolares muchas veces se los conoce como *"células de polvillo"*. La reacción tintorial es verde azulada a verde pardusca.

Núcleo. Es oval o reniforme, y se halla en situación excéntrica. La cromatina es fina y de distribución pareja, salvo algunos grumos (cromocentros). La prominencia ocasional del nucléolo no se debe tomar como rasgo maligno. No es infrecuente la multinucleación de los macrófagos (fig. 558).

Macrófagos cargados de hemosiderina. En la insuficiencia cardíaca pueden extravasarse eritrocitos por congestión crónica de la circulación pulmonar y esto acarrea movilización de macrófagos cargados de hemosiderina, también llamados *"células de la insuficiencia cardíaca"*. Sin embargo, estas células no son específicas de insuficiencia cardíaca solamente porque también se ven en las hemorragias pulmonares de diversas causas. Como a menudo el cáncer pulmonar produce hemorragia oculta, la presencia de macrófagos cargados de hemosiderina es uno de los criterios indirectos de malignidad.

Tinción de Gomori para demostrar hierro. 1) Sumérjanse los portaobjetos 20 minutos en partes iguales de ácido clorhídrico al 20 % y ferrocianuro de potasio al 10 %. Esta mezcla se debe hacer justo antes de usarla. 2) Lávese en agua destilada. 3) Hágase la contratinción con una solución de rojo rápido nuclear constituida por 0,1 g de rojo rápido nuclear y 100 ml de solución de sulfato de aluminio al 5 %. 4) Enjuáguese en agua destilada. 5) Deshidrátese y móntese en Permount.

Lipofagocitos. El citoplasma es abundante y finamente vacuolado por el contenido lipídico. La identificación del lipofagocito tiene que depender de colorantes específicos para la grasa como Sudán III o rojo oleoso O. Resumiremos dos formas de lipofagocitos: 1) Lipofagocitos que fagocitan lípidos exógenos, como el aceite de oliva de las gotas nasales y el lipiodol que se emplea como medio de contraste en broncografías. 2) Lipofagocitos que fagocitan a lípidos endógenos, en su mayor parte colesterol procedente del suero sanguíneo o extruido de los tejidos necróticos. En consecuencia, la presencia de lipofagocitos en el esputo no sólo podría sugerir neumonía lipídica, sino también necrobiosis de tejidos tumorales malignos o de tejidos inflamatorios. Desde el punto de vista citológico, los lipofagocitos de abundante citoplasma espumoso exhibirían fagocitosis de pocas partículas de polvillo o ninguna; la fagocitosis exclusiva de lípidos por los macrófagos se conoce como bloqueo con lípidos (fig. 557).

Diferencias de los rasgos citológicos entre el esputo y los raspados bronquiales

Las células columnares sometidas a raspados mecánicos como curetaje, cepillado e hisopado, pueden aparecer agrupadas. El citoplasma se preserva bien y conserva sus cilias en el ancho borde celular. Los núcleos son un poco más grandes en los extendidos de los raspados que en los de esputo; además, la trama de cromatina es finamente granular o reticular y los contornos nucleares son lisos. Los elementos celulares suelen ser simples y consisten en células columnares ciliadas, células caliciformes y algunas células fagocitarias alveolares. A menudo hay abundantes eritrocitos como

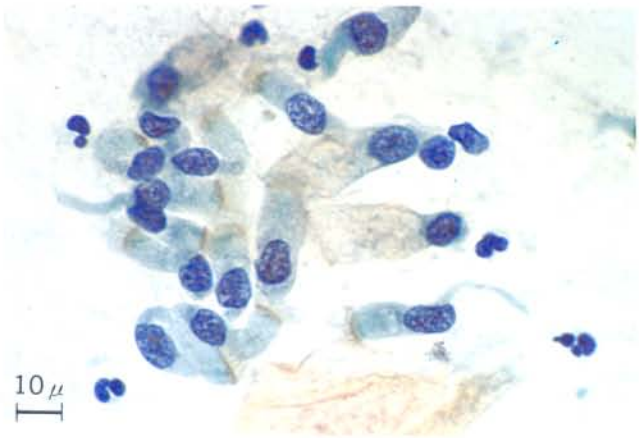


Fig. 553. Células columnares ciliadas y células caliciformes bien preservadas en el extendido de un raspado bronquial. Se distinguen bien las cilias y las placas terminales. Los núcleos son de morfología uniforme y poseen cromatinas finamente granulares y de distribución pareja. Las células caliciformes tienen la forma de linternas, con un citoplasma ancho y claro, y núcleos situados en el lado basal.

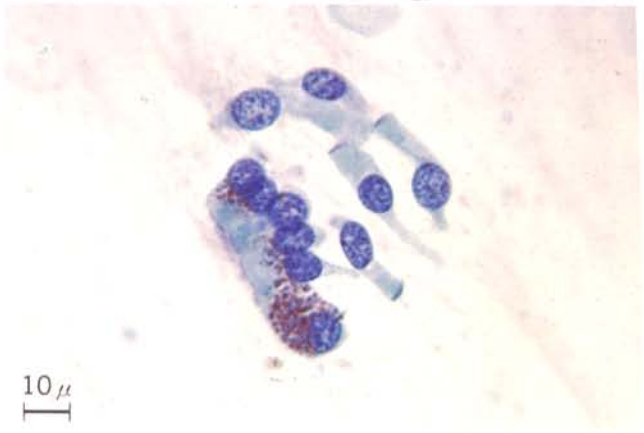


Fig. 554. Células columnares ciliadas que contienen gránulos de lipofucsina. Los núcleos son ovales y están dispuestos con regularidad lado con lado. Nótese el depósito de gránulos parduscos en la porción supranuclear del citoplasma.

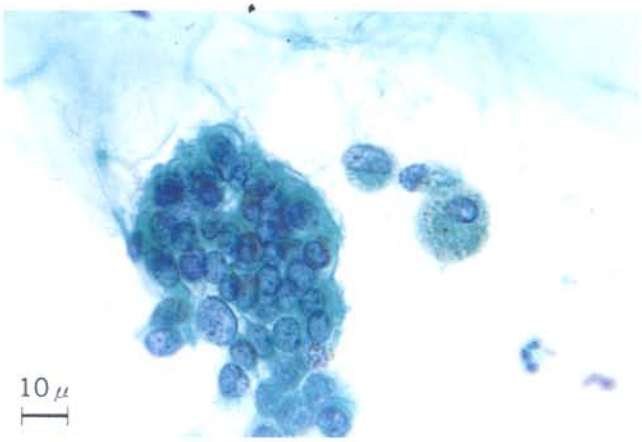


Fig. 555. Células columnares ciliadas aglomeradas y algunos fagocitos alveolares en un esputo inducido con aerosol. La densa superposición de pequeños núcleos se atribuye a hiperplasia de células basales. Los rasgos de benignidad, a pesar de la densa aglomeración de los núcleos, son: 1) uniformidad de las formas nucleares, 2) una trama de cromatina blanda y 3) preservación de la placa terminal.

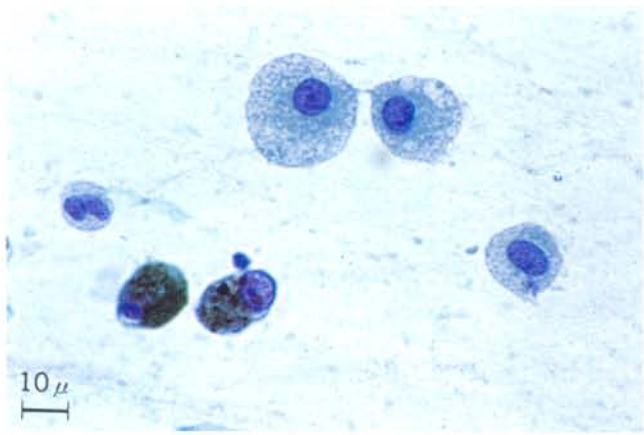


Fig. 556. Fagocitos alveolares y lipófagos en el esputo. Un fagocito alveolar contiene minúsculas partículas de polvillo, en tanto que un lipófago aparece ocupado por gotitas sudanófilas de diverso tamaño. La presencia de gran cantidad de macrófagos cargados de lípidos significa neumonía lipídica.

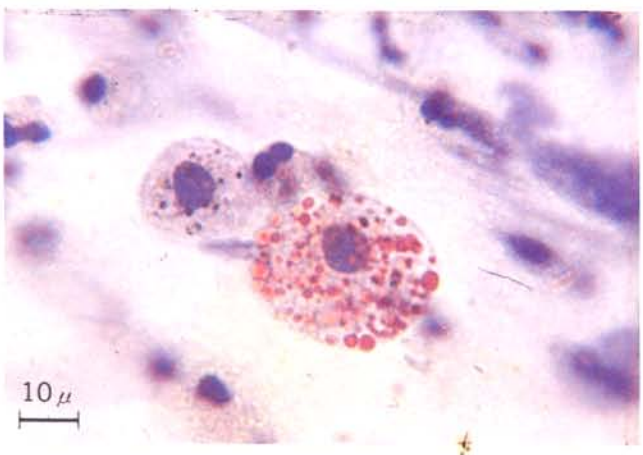


Fig. 557. Lipófagos en la neumonía lipídica. El corte histológico muestra un espacio alveolar lleno de lipófagos sudanófilos.

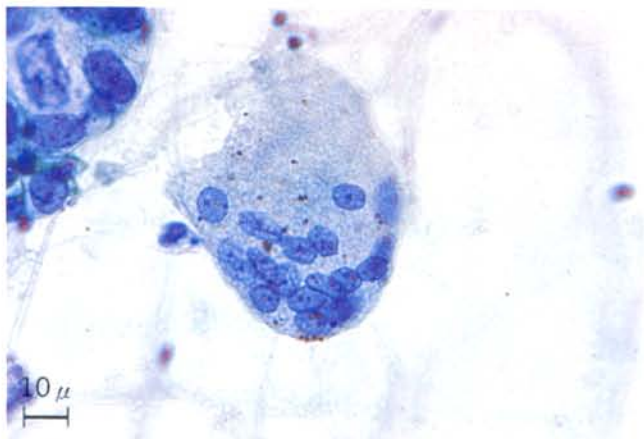
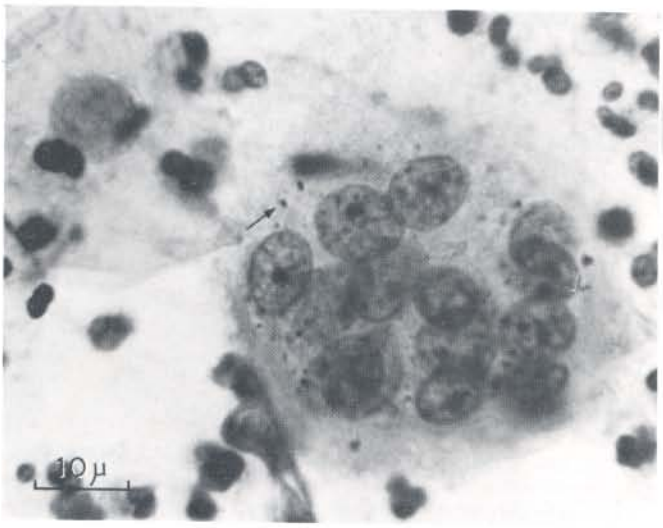
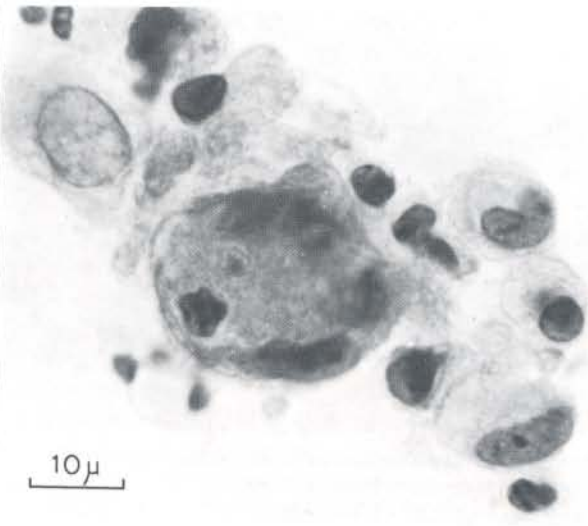


Fig. 558. Histiocito multinucleado por cuerpo extraño en el esputo. El citoplasma abundante, de borde celular mal definido, contiene múltiples núcleos ovales o redondos. En el citoplasma hay varias partículas minúsculas de polvillo.



559



560

Fig. 559. Histiocito multinucleado por cuerpo extraño. Los núcleos múltiples de este tipo tienden a localizarse en el centro. Son redondos u ovales y de tamaño bastante uniforme. El citoplasma presenta partículas de carbón o de polvillo ingeridas (*flecha*).
Fig. 560. Histiocito multinucleado de tipo Langhans en el esputo de un caso de sarcoidosis. Los núcleos elípticos dispuestos en la periferia de la célula sugerirían que este histiocito es del tipo llamado de Langhans.

consecuencia del raspado directo de la membrana mucosa.

Las alteraciones histológicas *in situ* se reflejan en los extendidos de los raspados con un cambio de las proporciones de elementos celulares y de su morfología. La metaplasia de células caliciformes se manifiesta con una población de numerosas células caliciformes y la metaplasia pavimentosa se ejemplifica por una alteración de las células columnares, que se aglomeran en láminas que simulan células parabasales.

En cambio, los componentes no celulares del esputo revisten utilidad diagnóstica porque son consecuencia de alteraciones patológicas de las vías aéreas; se considera que las espirales de Curschmann provienen de secreciones espesadas de los bronquíolos y la presencia de lipofagocitos se atribuye a la neumonitis lipídica. Las masas proteináceas amorfas ocurren por proteinosis alveolar. Las células columnares del esputo están dispersas en forma individual y están más o menos degeneradas. Las cilias suelen ser poco nítidas o faltar. Los núcleos aparecen más pequeños y su trama de cromatina es más áspera o picnótica. Los elementos celulares son variables por la contaminación con saliva y secreciones nasofaríngeas; puede ser que haya gran cantidad de células pavimentosas superficiales e intermedias, junto con histiocitos alveolares y algunas células columnares altas provenientes de la cavidad nasal.

7. Alteraciones citológicas epiteliales benignas

Células basales hiperplásicas

La hiperplasia basocelular[5] se caracteriza por proliferación de las células basales subcolumnares (fig. 561). Debajo de las células columnares se reconocen estratos múltiples de células pequeñas. Los núcleos son redondos a ovales y de morfología bastante uniforme. La variación del tamaño nuclear es escasa a moderada. La cantidad de cromatina está un poco aumentada y es un tanto granular pero de distribución pareja, con excepción de unos pocos cariosomas. El citoplasma es escaso y cianófilo, y sólo existe justo alrededor del núcleo. Las células bien preservadas pueden exhibir un citoplasma cuboide con núcleos un tanto excéntricos. Si junto a las células ciliadas hay aglomeración de estas células, es fácil identificarlas como células basales hiperplásicas.

Células metaplásicas pavimentosas

La metaplasia pavimentosa del epitelio bronquial es frecuente en diversos estados patológicos,[183] como neumonitis en vías de organización, infarto, bronquiectasia, absceso en vías de curación, tuberculosis, tabaquismo intenso, enfisema y carcinoma. Lindberg (1935) no sólo observó metaplasia precancerosa –estado patológico que puede preceder a la cancerización– en la membrana mucosa adyacente al carcinoma, sino también en bronquios distantes. La metaplasia pavimentosa anormal que se conoce como metaplasia precancerosa o metaplasia atípica (displasia), exhibe distorsión de la distribución celular y variaciones de tamaño de los núcleos. La denominación de metaplasia precancerosa surgió de la frecuencia mucho mayor de metaplasia atípica en los casos de cáncer, en particular de los tipos histológicos pavimentoso e indiferenciado, que en los casos testigos.[107, 130, 159] Saccomanno y col.[133] corroboraron esta teoría en un estudio a largo plazo con muestras de esputo de mineros de uranio que adquirieron carcinoma de pulmón; la atipia de las células metaplásicas pavimentosas tornóse cada vez más pronunciada hasta el momento en que se declaró la neoplasia maligna clínica.

A medida que la metaplasia regular avanza, puede madurar al tipo de célula metaplásica espinocelular. Sin embargo, la mayoría de las alteraciones metaplásicas del tracto respiratorio pertenecen a la etapa de transición (fig. 568). Es difícil identificar células metaplásicas maduras en un esputo que viene mezclado con saliva y secreciones nasofaríngeas. Koss[75] señala que es imposible hacer la identificación citológica de las células metaplásicas, salvo en determinados casos en que las células problemáticas aparecen asociadas con

Cuadro 58. Cambios citológicos en la metaplasia pavimentosa

Citología / *Histología*		*Metaplasia regular*		*Metaplasia atípica*	
		Metaplasia inmadura	*Metaplasia madura*	*Metaplasia atípica leve*	*Metaplasia atípica considerable*
	Distribución	Células en láminas		Células en láminas y a veces solitarias	Predominan las solitarias
Citoplasma	Forma	Esférica	Poliédrica	Poligonal	Irregular
	Cantidad	Moderada	Abundante	Moderada	Moderada
	Tinción	Basófila o cianófila	Cianófila y acidófila	Acidófila	Acidófila (naranjatrófila) con refringencia
	Densidad	Fino y borroso	Distintiva	Distintiva	Engrosado
Núcleos	Forma	Redondos a ovales		Poligonales	Variables
	Tamaño	Uniforme		Algo agrandados	Muy agrandados
	Cromatina	Fina y pulverulenta		Finalmente granular y en mayor cantidad	Condensación áspera o picnosis, muy aumentada

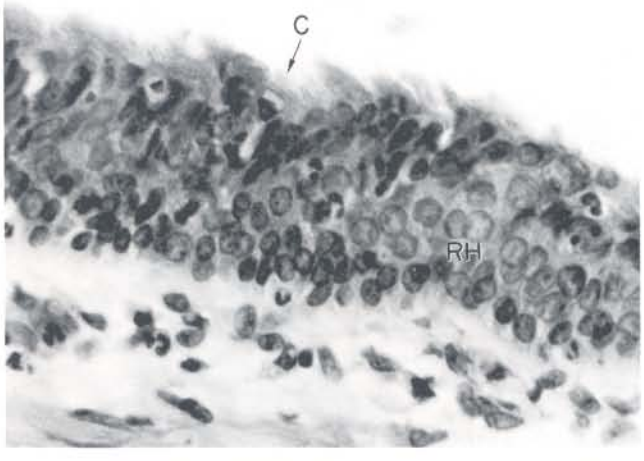


Fig. 561. Hiperplasia basocelular sin atipia. La etapa inicial de la metaplasia empieza con proliferación de las células basales multipotentes (células de reserva), que poseen núcleos ovoides y escaso citoplasma (*RH*). Estos núcleos son de tamaño y morfología uniformes y están distribuidos con irregularidad. En la superficie persisten las células columnares ciliadas (*C*).

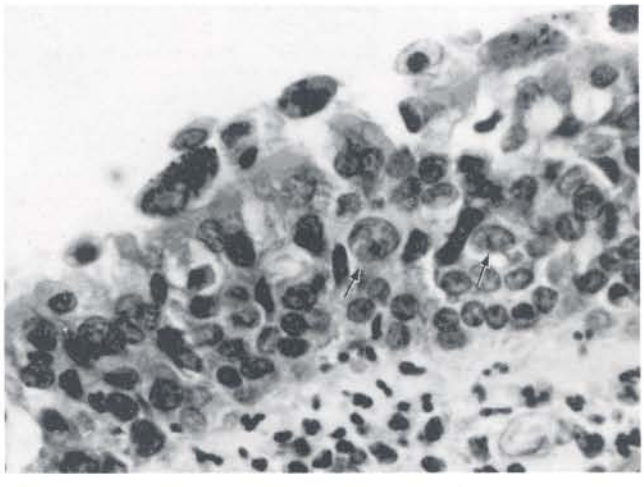


Fig. 562. Hiperplasia basocelular con atipia. La proliferación de las células basales o de reserva se acompaña de variaciones de tamaño de los núcleos (*flechas*) y de distorsión de la polaridad.

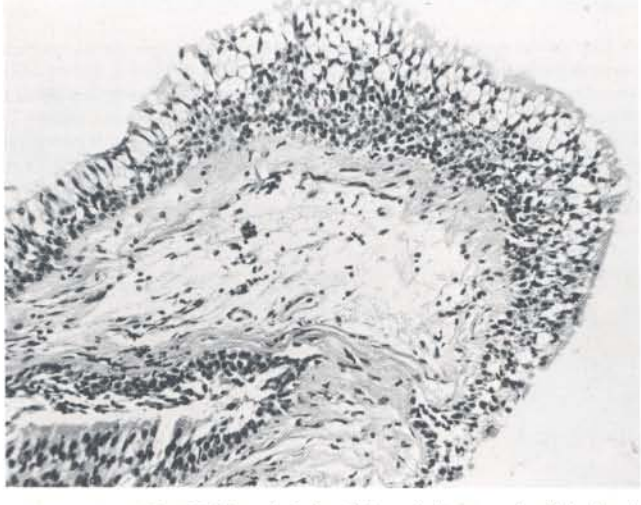


Fig. 563. Considerable hiperplasia de células caliciformes y de células basales del epitelio bronquial de un gran fumador. El epitelio ciliado de la mucosa ha sido reemplazado en gran medida por células caliciformes y se asocia con moderada hiperplasia basocelular. El aumento de las células caliciformes no es específico, pero se ve con frecuencia en los grandes fumadores.

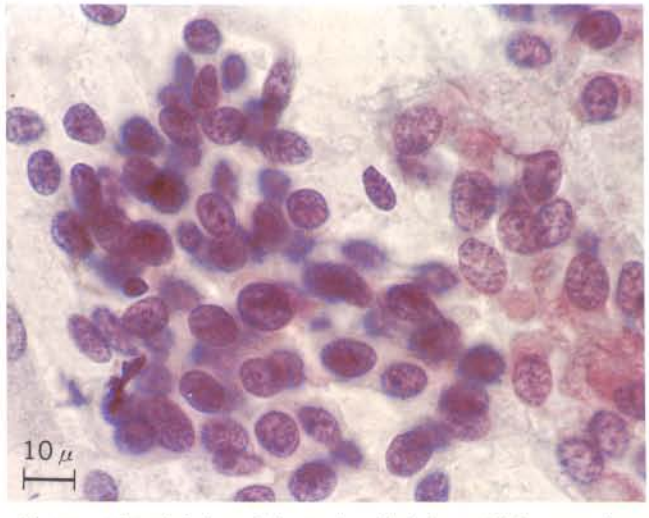


Fig. 564. Hiperplasia basocelular en el cepillado bronquial de un gran fumador. Esta gran aglomeración de núcleos redondos uniformes con una trama de cromatina suave indica hiperplasia de células basales. No hay variación de la forma y tamaño de los núcleos. A la derecha se ven células ciliadas.

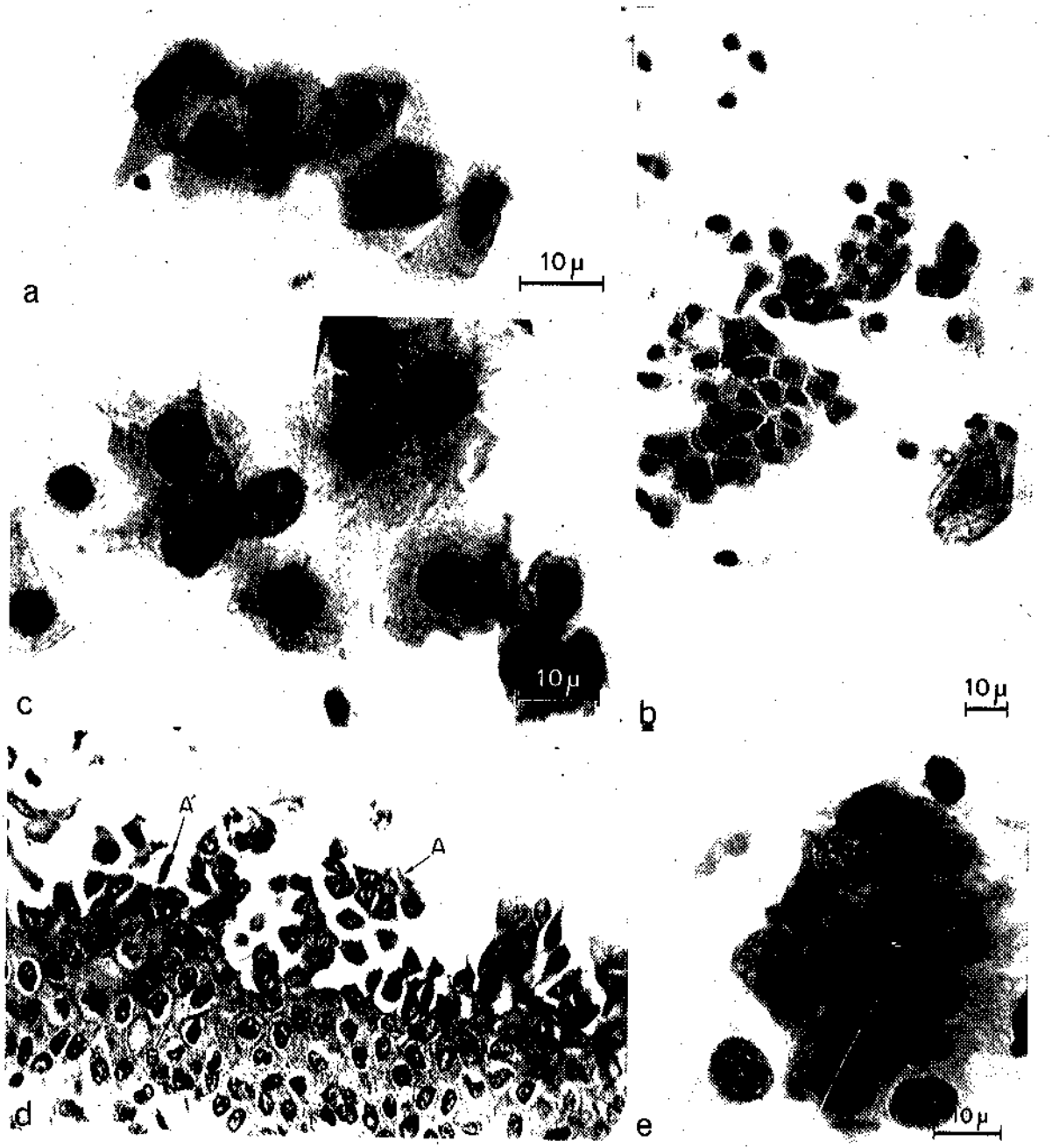


Fig. 565. Histología de la metaplasia pavimentosa y su citología exfoliativa. *a* y *b*, Estas células metaplásicas del esputo se habrían descamado de la superficie paraqueratósica del epitelio metaplásico (*flechas A* y *A'* en *d*). La cantidad de citoplasma es moderada, su forma es poligonal y su tinción naranjófila. Los espacios intercelulares en hendiduras sugieren puentes intercelulares en el epitelio pavimentoso. La picnosis de los núcleos significaría que se descamaron de la superficie epitelial paraqueratósica. *c*, Células metaplásicas del esputo que provendrían del epitelio metaplásico (*flecha B* en *d*). El citoplasma está ensanchado y es cianófilo. La fina trama de cromatina bien distribuida está bien preservada. Apenas se diferencian de las células intermedias normales derivadas de la boca, a menos que la muestra se obtenga directamente del bronquio. *d*, Histología de una metaplasia pavimentosa típica que muestra el desarrollo de puentes intercelulares y cierta paraqueratosis. *e*, Células metaplásicas en el extendido de un raspado bronquial. Los rasgos citológicos generales son casi los mismos que los descriptos antes, pero el detalle nuclear es más nítido en el extendido de los raspados que en el del esputo. Nótese la cromatina finamente granular y de distribución pareja.

Figs. 566 a 568. Histología de la metaplasia pavimentosa.



Fig. 566. Metaplasia pavimentosa de tipo transicional muy extendida. Como las células columnares ciliadas (*CC*) todavía permanecen aplicadas en la superficie de las células metaplásicas (*MC*), esto también se podría denominar epitelio pretransicional como precursor de la metaplasia transicional.

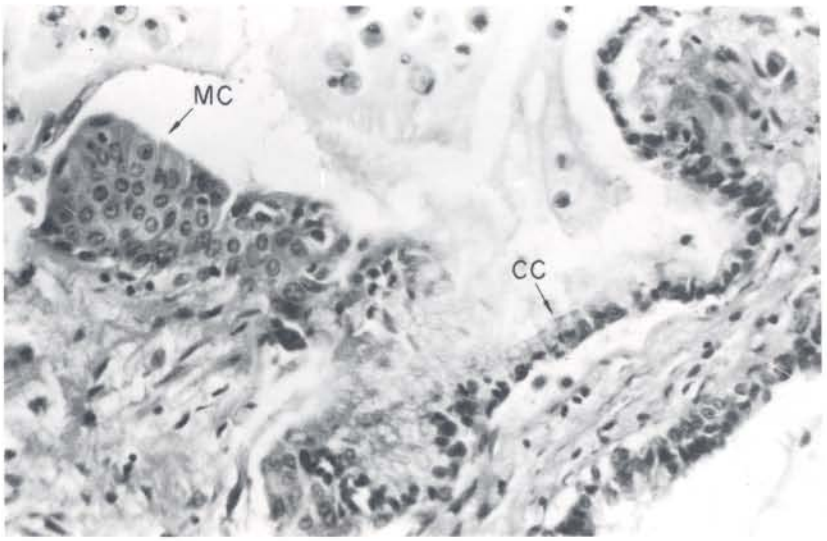


Fig. 567. Tipo transicional de metaplasia pavimentosa (*MC*) bordeado por células ciliadas columnares normales (*CC*). El epitelio metaplásico está constituido por varios estratos de células poligonales.

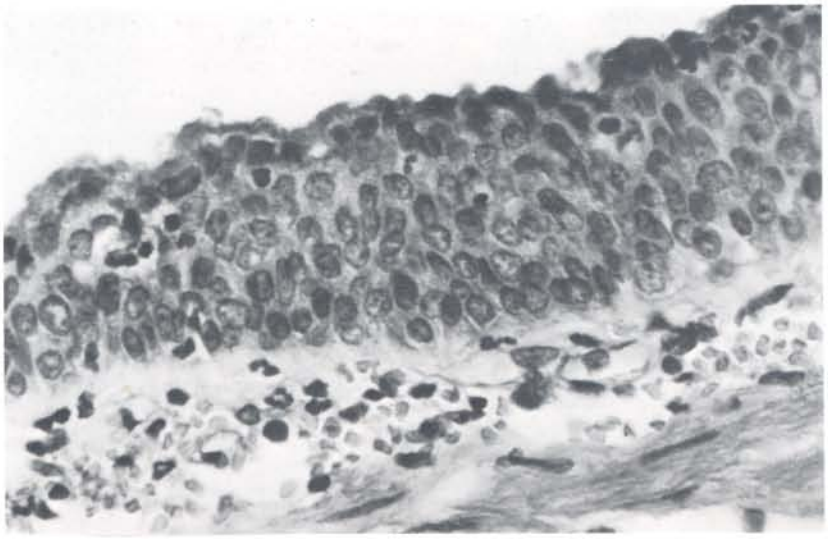


Fig. 568. Metaplasia pavimentosa transicional vista con mayor aumento. Se caracteriza por pronunciada proliferación de células ovoides con escaso citoplasma. Las células superficiales son planas y sin cilias. La diferenciación o maduración a células espinosas no es completa.

células columnares bronquiales, pero es raro que ocurra esto. Como las alteraciones metaplásicas son histológicamente extensas, no cabe duda de que algunas de estas células metaplásicas se pueden expectorar al toser. Se puede determinar metaplasia pavimentosa del bronquio cuando encontramos un extendido de un esputo expectorado de la profundidad, que contiene constituyentes celulares como grupos de células metaplásicas y células columnares, que pueden ser ciliadas o caliciformes, en cantidades razonablemente grandes. En cambio, los extendidos de los raspados bronquiales exhiben los rasgos citológicos confirmatorios de las células metaplásicas pavimentosas (fig. 565).

Citología. El citoplasma es escaso y poliédrico, cúbico o rectangular. El borde celular es borroso. La reacción tintorial es entre cianófila y naranjófila. Las células metaplásicas vistas en grupos exhiben un aspecto característico en empedrado.

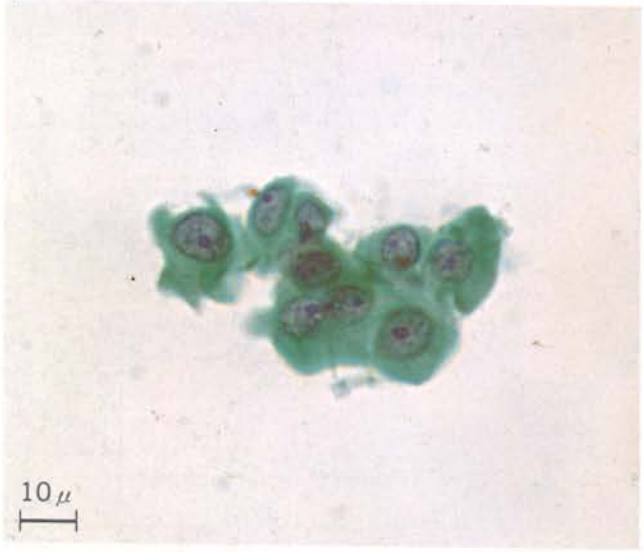


Fig. 569. Células metaplásicas pavimentosas en el esputo. Cambio metaplásico regular incipiente, con pequeña cantidad de citoplasma. La metaplasia pavimentosa se distingue por: 1) el citoplasma denso con contornos poliédricos irregulares, 2) la morfología nuclear uniforme, aunque existe variación de tamaño, y 3) la distribución en empedrado.

Los núcleos son ovales y de tamaño bastante uniforme, y poseen una cromatina finamente granular. Como a menudo las células metaplásicas del esputo han degenerado, los núcleos son picnóticos y de intenso color azul, como si fuesen pintados (fig. 565a). La metaplasia pavimentosa atípica se suele clasificar en dos o tres grados, leve y considerable, o bien leve, moderada y considerable.[132] La metaplasia atípica se acompaña de agrandamiento nuclear, anisocariosis e hipercromatosis de los núcleos, junto con intensa naranjofilia del citoplasma; los grados de disqueratosis del citoplasma, junto con refringencia y atipia nuclear asociada con relación N/C aumentada, llegan a un punto en que se puede diferenciar entre metaplasia precancerosa y carcinoma *in situ* (véase p. 321). En el esputo, las células metaplásicas disqueratósicas con atipia tienden a exfoliarse en forma individual y no en láminas.

Las "células Pap" son pequeñas y elípticas, de núcleos picnóticos y citoplasma eosinófilo.[115] Papanicolaou denominó así a un tipo celular observado en una muestra de esputo que él mismo expectoró cuando sufría una infección respiratoria aguda. Las células Pap suelen ser células profundas picnóticas con un proceso metaplásico (fig. 571).

Células hiperplásicas bronquiales y bronquiolares atípicas

La hiperplasia atípica de las células epiteliales bronquiales y bronquiolares no es un rasgo específico, pero se ve a menudo en el carcinoma broncógeno.[10, 11, 59, 70, 99, 106, 142] Este término equivale a la discariosis que se suele mencionar en citopatología del cuello uterino. La histología de la hiperplasia atípica del epitelio bronquial se caracteriza por una proliferación de células bronquiales dispuestas en forma irregular, como en la micropapilomatosis (figs. 575 y 576), y con moderada variación en el tamaño de los núcleos. En el preparado citológico, las células epiteliales aparecen agrupa-

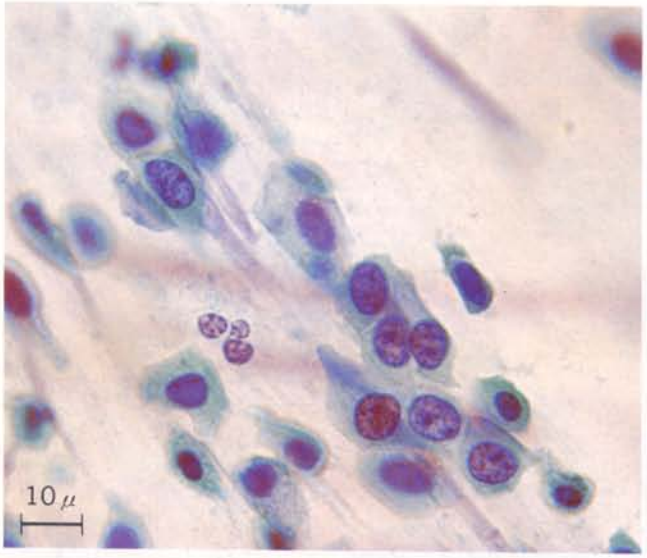


Fig. 570. Células metaplásicas pavimentosas en el esputo. Cambio metaplásico regular maduro, con gran cantidad de citoplasma. Puntos diferenciales: 1) citoplasma poliédrico denso, 2) acidofilia focal y 3) núcleos uniformes dispuestos en empedrado.

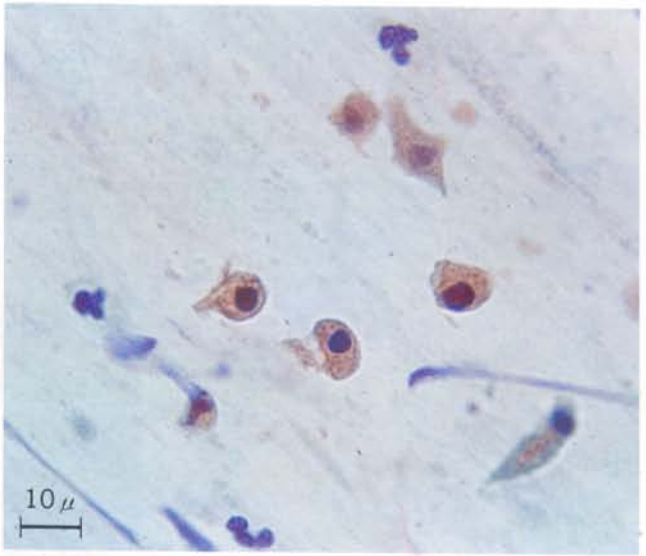


Fig. 571. Células Pap en el esputo. Núcleos picnóticos con citoplasma eosinófilo en un caso de bronquitis prolongada.

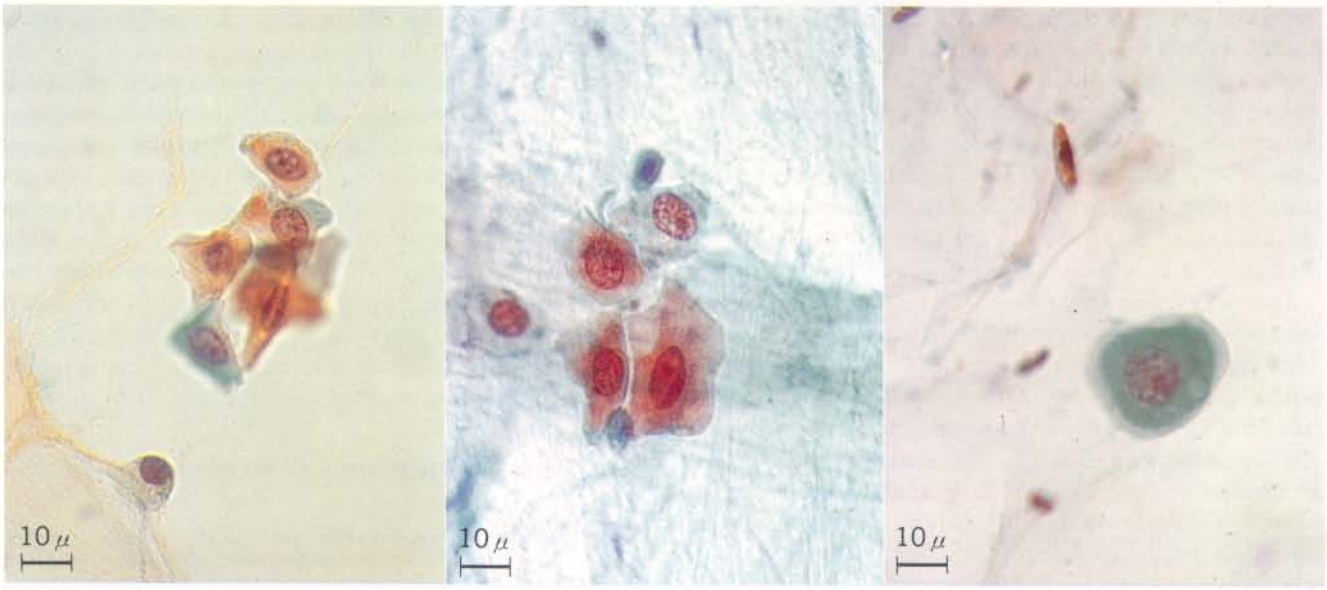


Fig. 572. Células metaplásicas pavimentosas con considerable atipia y disqueratosis en el esputo de un gran fumador. Los núcleos son grandes y contienen más cromatina, pero de distribución pareja y fina. La relación N/C no está muy alterada. A medida que la metaplasia madura, el citoplasma se torna más abundante y más grueso. La policromasia de la reacción tintorial depende del grado de disqueratosis.

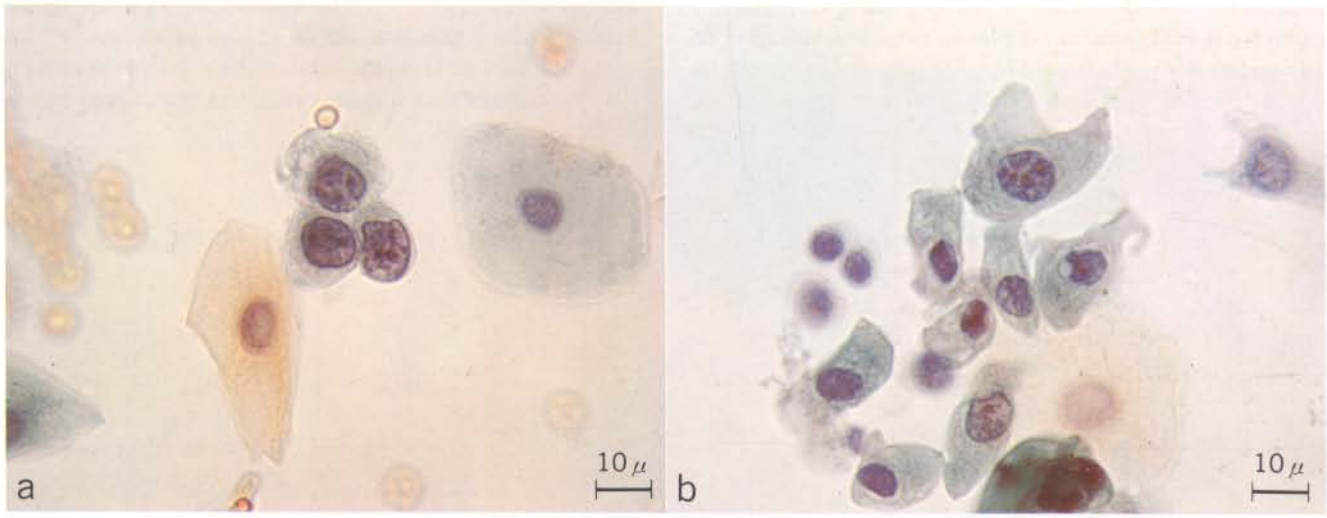


Fig. 573. Considerable atipia (displasia) sospechosa de carcinoma *in situ* en el esputo de un gran fumador. Las pequeñas células atípicas con escaso citoplasma provienen de la capa profunda (*a*) y las polimórficas de citoplasma poliédrico provienen de la capa superficial del epitelio displásico (*b*). Puntos diferenciales: 1) Aunque todavía persiste la forma columnar del citoplasma, el abundante citoplasma poliédrico significa metaplasia pavimentosa. 2) La tinción cianófila pálida refleja una etapa transicional de la metaplasia pavimentosa. 3) La hipercromasia y la variación de tamaño de los núcleos se refieren a considerable atipia sugestiva de carcinoma *in situ*.

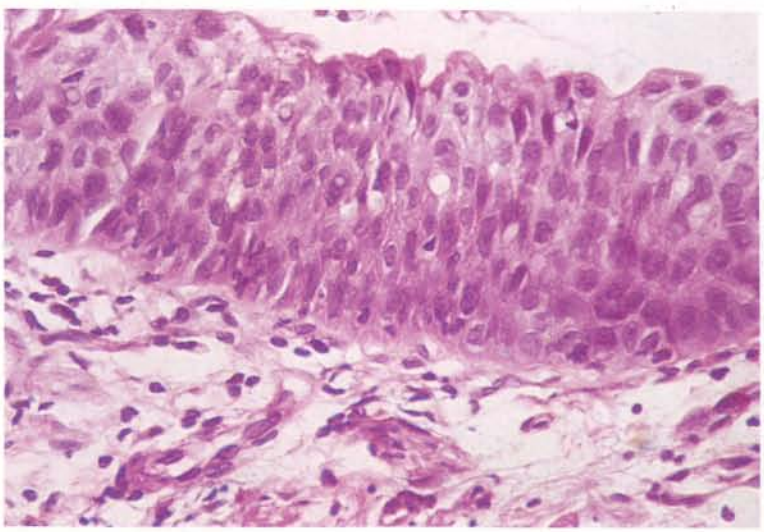


Fig. 574. Histología de la atipia pronunciada (displasia) en un gran fumador. Nótese la considerable celularidad con pérdida de las cilias y de la diferenciación superficial. La capa celular profunda exhibe mucho hipercromatismo, polimorfismo y distribución irregular.



Fig. 577. Aglomeración de células columnares hiperplásicas con metaplasia incipiente. Los núcleos están un poco agrandados y son hipercromáticos, pero su trama de cromatina es blanda. La distribución en empedrado significa alteración metaplásica incipiente.

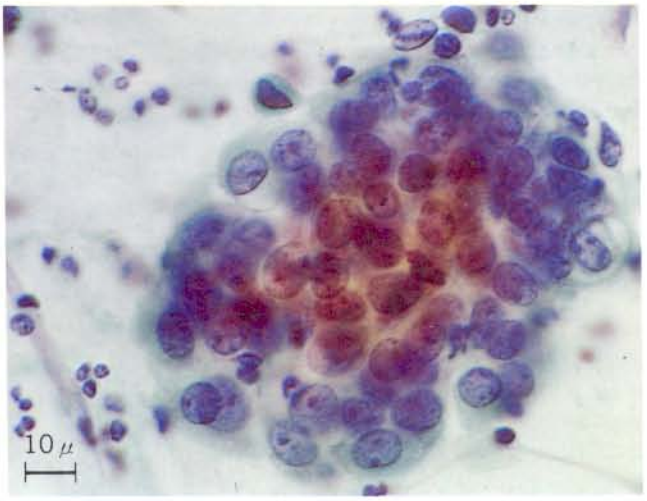


Fig. 578. Aglomeración de células columnares hiperplásicas exfoliadas en un paciente que tiene neumonitis crónica en vías de organización. Esta gran bola celular constituida por células hipercromáticas puede confundirse con adenocarcinoma. Se las denomina células asmáticas porque muchas veces las expectoran los asmáticos. Los núcleos están superpuestos, pero son de tamaño y forma parejos. La placa terminal se reconoce modificando el foco.

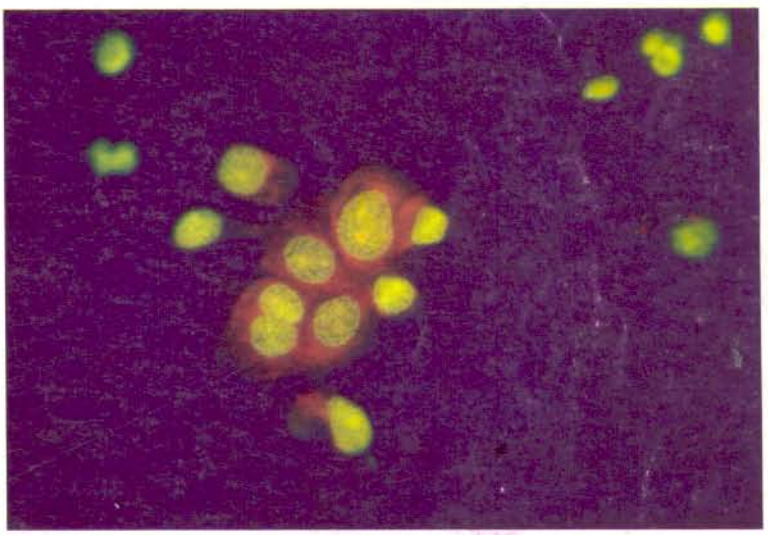


Fig. 579. Células columnares hiperplásicas con ligera atipia. El agrandamiento de los núcleos con variación de tamaño y los nucléolos prominentes se deben a hiperplasia benigna. Los rasgos característicos de benignidad son los bordes nucleares lisos y delicados y las cromatinas granulares finas. Fluorescencia con naranja de acridina.

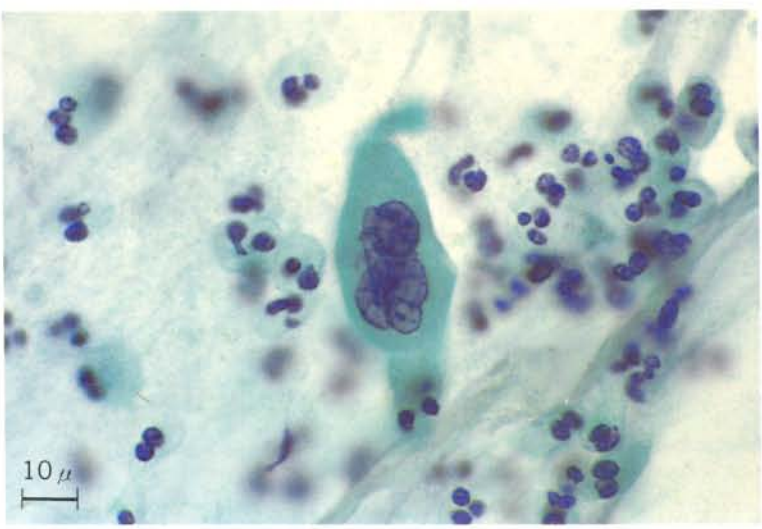
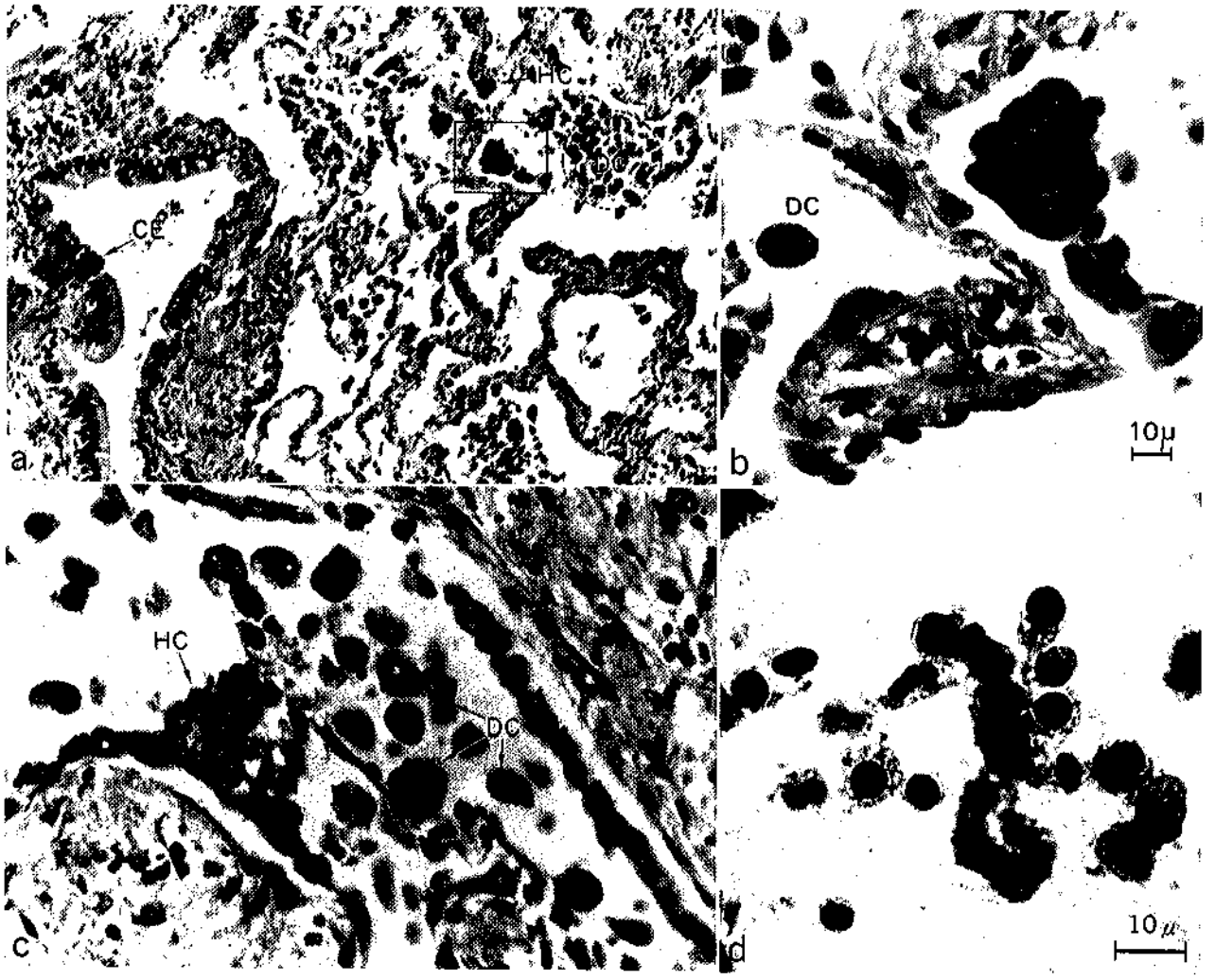
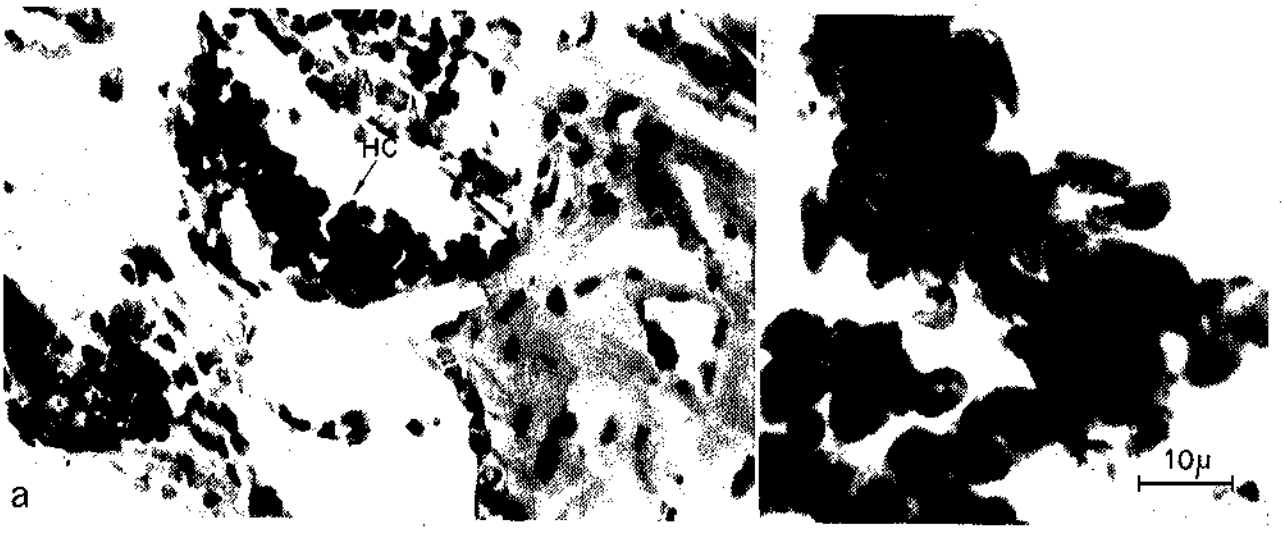


Fig. 580. Células columnares multinucleadas con metaplasia pavimentosa en el esputo de un paciente con neumonitis crónica en vías de organización. La densa aglomeración de núcleos hipercromáticos y la alteración metaplásica pavimentosa se prestan para hacer un diagnóstico erróneo de malignidad. Puntos diferenciales: 1) El hecho de que la aglomeración de los núcleos sólo se debe a superposición se demuestra modificando el foco. 2) La cantidad de cromatina aparece aumentada, pero es homogénea. 3) El contorno citoplasmático nítido indicaría la placa terminal.



581



582

Figs. 581 y 582. Proliferación bronquiolar atípica y su citología.

Fig. 581. *a* y *b*, Bronquio revestido de epitelio columnar ciliado seudoestratificado (*CE*) y conductos alveolares con focos de células cuboides hiperplásicas (*HC*). Dentro de los espacios alveolares hay fagocitos alveolares (*DC*). *c*, Aglomeración sólida de células cuboides hiperplásicas (*HC*) en el epitelio de revestimiento del bronquíolo. *d*, Grupo de células bronquiolares hiperplásicas en el esputo. No se reconocen cilias. Nótense la ausencia de cromatina gruesa y el aspecto de vidrio esmerilado de los núcleos; estos rasgos son suficientes para confirmar su benignidad.

Fig. 582. *a*, Proliferación atípica focal del bronquíolo terminal. Es muy probable que se trate de un "tumorcillo". *b*, Gran aglomeración de pequeñas células hipercromáticas que se parecen mucho a las linfoides, excepto por la densa aglomeración celular y la indentación irregular de los bordes nucleares.

rio, carcinoma metastásico, infección bacteriana y bronquiectasias[128] (cuadro 59). También debemos señalar que la ciliocitoftoria es mucho más frecuente en el esputo que en los raspados o lavados bronquiales (cuadro 60).

Las observaciones citológicas comparativas limitadas al cáncer curable, exhiben una incidencia distinta de ciliocitoftoria en el esputo y en los raspados bronquiales. Esto corroboraría la presunción de que la ciliocitoftoria se debe a degeneración de las células del epitelio bronquial. Existen las siguientes alteraciones celulares representativas, entre las cuales se reconocen formas de transición:

1) Picnosis y cariorrexis. Las cromatinas se condensan como un material compacto y densamente tingible (picnosis) o se aglomeran como unos gránulos gruesos en el borde nuclear (cariorrexis). La membrana nuclear se desintegra y desaparece.

2) Inclusiones eosinófilas. Una porción subnuclear del citoplasma a modo de cola, desaparece. En ocasiones el citoplasma degenerado contiene cuerpos de inclusión eosinófilos positivos al ácido peryódico-Schiff.

Cuadro 59. Incidencia de ciliocitoftoria (CCF) en las neumopatías

Neumopatía	*N° de casos*	*N° de CCF positivos*	*% de CCF positivos*
Tuberculosis pulmonar crónica	62	6	9,7
Bronquiectasias	10	1	10,0
Absceso crónico de pulmón	4	0	0
Bronquitis crónica y enfisema	28	2	8,0
Insuficiencia cardíaca congestiva	6	0	0
Asma bronquial alérgica	4	0	0
Neumonía bacteriana	26	3	11,5
Infección de vías aéreas superiores (viral)	52	13	25,0
Neumonía viral	41	11	26,8
Cáncer pulmonar metastásico	8	4	50,0
Carcinoma broncógeno	44	25	57,0
Bronquitis aguda (viral)	16	12	75,0
Total	301	77	25,6

(ROSENBLATT, M. B. y col.: Dis. Chest., *43*:605, 1963.)

3) Formación de penachos. Los manojos de cilias brotan de una orla estrecha de citoplasma degenerado y parecen penachos. El citoplasma remanente consiste en la porción proximal anucleada que se forma como consecuencia del proceso de pinzamiento.

Multinucleación

Masugi y Minami (1938)[93] descubrieron multinucleación del epitelio bronquial en el sarampión. Se piensa que la binucleación y multinucleación ocurriría como fenómeno reactivo en enfermedades como tuberculosis, bronquiectasias, neumonía, carcinoma y también en la irradiación.[63] En lo tocante a la entidad de la multinucleación, se considera más probable que sea una fusión de células y no una división mitótica activada o una duplicación amitótica de los núcleos. La multinucleación del epitelio columnar seudoestratificado está en el estrato superficial, donde no suele haber actividad mitótica. Dos o tres núcleos se disponen a lo largo del eje mayor de las células, son redondos u ovales, de morfología bastante uniforme, y aparecen bordeados por membranas lisas y nítidas. La cromatina es fina y de distribución pareja. En ocasiones estos núcleos múltiples no se distinguen a causa de la picnosis. Parece que la multinucleación se debería a un proceso degenerativo.

Cuadro 60. Comparación entre citología del esputo y de los raspados bronquiales en casos de cáncer curable solamente

Citología \ *Casos*		*26 cánceres curables*	
		Esputo	*Raspados selectivos*
Hiperplasia	leve	4 (15,4%)	10 (38,5%)
(discariosis)	severa	0	3 (11,5%)
Metaplasia	sin atipia	4 (15,4%)	6 (23,1%)
	con atipia	0	2 (7,7%)
Multinucleación		1 (3,8%)	8 (30,7%)
Ciliocitoftoria		13 (50,0%)	2 (7,7%)
Espirales de Curschmann		2 (7,7%)	0
Citología positiva		9 (34,6%)	23 (88,5%)



Fig. 583. Ciliocitoftoria de una célula columnar ciliada. Nótese el penacho de cilias. Se ven cariorrexis con condensación de la cromatina en el borde nuclear y una llamativa eosinofilia en el citoplasma. Tinción de Papanicolaou.

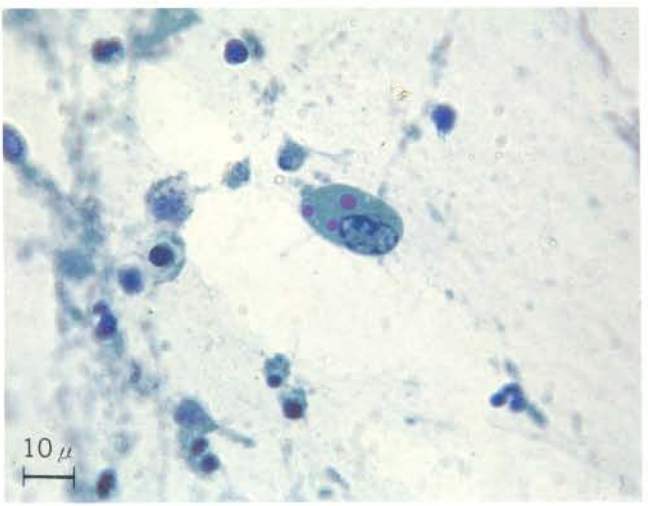


Fig. 584. Ciliocitoftoria de una célula columnar ciliada. El citoplasma contiene inclusiones muy eosinófilas. Se han perdido las cilias y las cromatinas están condensadas en el borde nuclear. Tinción de Papanicolaou.

Pigmentación

En ocasiones las células columnares ciliadas contienen unos gránulos pardos amarillentos en la porción supranuclear del citoplasma. La sustancia de estos gránulos difiere de la hemosiderina y de la melanina por su citoquímica y es probable que se trate de una lipofucsina que también se conoce como pigmento de desecho. El pigmento no se disuelve en ácidos, álcalis ni en diversos disolventes para lípidos, pero toma la fucsina básica, el azul de metileno, el sulfato de azul Nilo y diversos colorantes para lípidos. También da reacción positiva con PAS y negativa para hierro. Con los métodos de Schmorl[138] y de Mallory[89] se demuestra el pigmento, pero su especificidad no es absoluta porque la lipofucsina no es una sustancia pura. Estos gránulos se relacionarían con una perturbación del metabolismo de los lípidos y proteínas. En cuanto a su origen, podrían ser mezclas de lípidos insaturados, lipoproteínas y algunos carbohidratos. Aunque no se ha elucidado si los pigmentos del epitelio bronquial son patógenos, son notorios en personas de avanzada edad que tienen carcinoma broncógeno y después de la radioterapia.

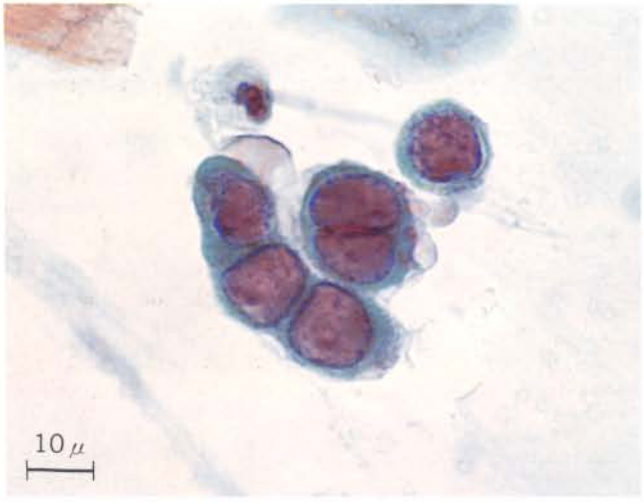


Fig. 585. Alteración epitelial bronquial en la infección herpética. Los núcleos son grandes y tienen un aspecto en vidrio esmerilado. Se observa doble nucleación.

Alteraciones epiteliales en las infecciones virales

La *traqueobronquitis herpética* no es rara en niños y en adultos con deficiencias inmunitarias. En ocasiones los pacientes debilitados por carcinoma avanzado adquieren compromiso herpético en otras vísceras.[76, 124] Es necesario diferenciar a las células epiteliales columnares agrandadas por infección herpética simple, respecto de las células malignas. También hay que prestar atención a otros rasgos distintivos, como inclusiones intranucleares eosinófilas, multinucleación y aspecto en vidrio esmerilado.

La mayoría de los casos de *neumonitis citomegalovirósica* fetal en lactantes se debe a infección intrauterina. El adulto en tratamiento inmunosupresivo también sufre infecciones oportunistas por citomegalovirus. Puede ocurrir asociación con *neumonía por Pneumocystis carinii* y otras infecciones oportunistas, como micosis sistémicas. Los núcleos de las células epiteliales bronquiolares y bronquiales afectadas se agrandan cuatro a seis veces y contienen inclusiones intranucleares anfóteras con halos. El cuerpo de inclusión consiste en unos gránulos aglomerados a modo de mórulas al principio, que después se convierten en un gran cuerpo condensado. También se forman unas inclusiones citoplasmáticas intensamente positivas al PAS.

En la *infección por adenovirus* la formación de inclusiones intranucleares difiere un poco según el tipo de virus; los tipos 1, 2, 5 y 6, que producen infección leve de las vías aéreas superiores, pueden originar primero una inclusión pequeña, que da reacción acidófila, y después una gran inclusión basófila conectada con el borde nuclear por medio de riendas de cromatina. El tipo 3 o 4, que a veces origina inflamación aguda del tracto respiratorio inferior, produce varios cuerpos de inclusión dispersos que son basófilos.

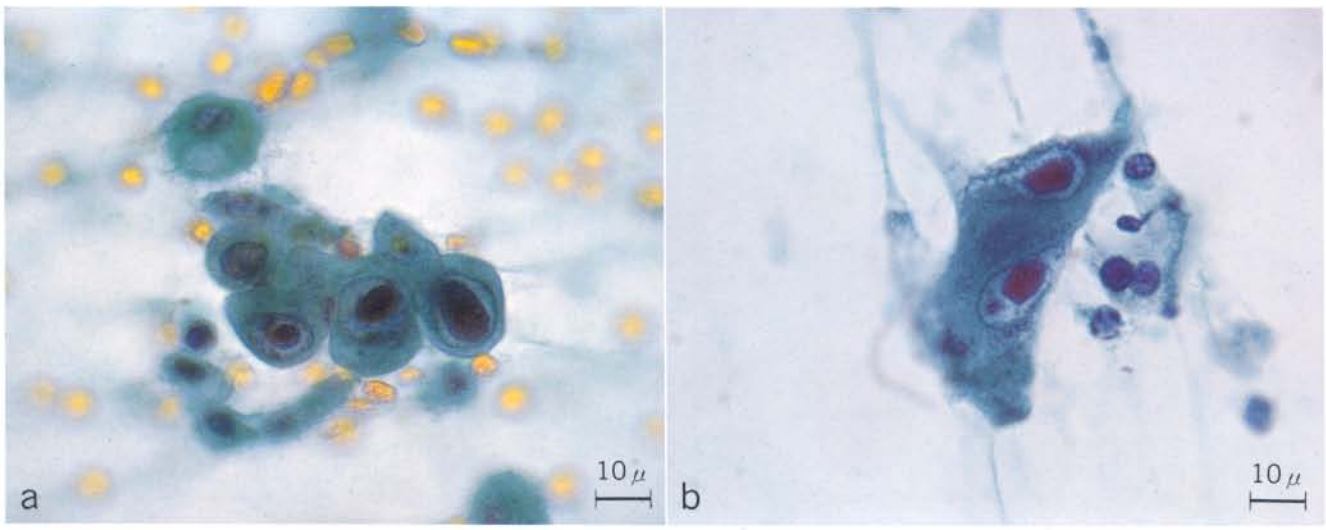


Fig. 586. Infección de células epiteliales columnares por citomegalovirus. Las células afectadas están agrandadas y toman más el colorante (son más azules) que las epiteliales no infectadas. El núcleo agrandado, que contiene una inclusión anfótera oscura rodeada de un halo, presenta la imagen característica en ojo de búho. *a*, Aspirado bronquial. *b*, Impresión de lesiones pulmonares.

9. Alteraciones de los histiocitos

Los diversos tipos de sustancias fagocitadas por los macrófagos pueden sugerir el estado patológico del tracto respiratorio. Un ejemplo es la llamada "célula de la insuficiencia cardíaca", que es un macrófago cargado de hemosiderina que se ve en la cardiopatía congestiva crónica.

Lipofagocitos

En la neumonía lipídica se expectora gran cantidad de macrófagos cargados de lípidos (fig. 557), pero no son específicos de esta neumonía; la producción de los lipofagocitos se debe al proceso inflamatorio inespecífico y a la necrobiosis de los tejidos, haya malignidad o no.

Macrófagos cargados de hemosiderina

Los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva y los trabajadores industriales expuestos a polvillos de óxido de hierro, expectoran macrófagos cargados de hemosiderina, consistente en unos pigmentos granulares parduscos. Este pigmento es positivo para el azul de Prusia, muchas veces da la reacción del PAS y se distingue con facilidad de la lipofuc-sina, que es sudanófila.

Macrófagos cargados de melanina

A veces se observan melanófagos en casos de compromiso primario o secundario del pulmón por un melanoma. Aunque no haya células melanomatosas, la presencia de melanófagos es sospechosa de un melanoma maligno del tracto respiratorio. Es importante distinguir entre los melanófagos y las células melanomatosas neoplásicas. Se dijo que este raro tumor primario se forma en los bronquios grandes como un tumor polipoide de color pardusco oscuro.[127,135] Para las células pigmentadas es de uso práctico la técnica del blanqueado, mientras que la reacción Dopa permite identificar al melanoma amelánico. Las células melanomatosas son de forma variable, pues varían de poligonales a fusiformes, y poseen unos grandes nucléolos en gotitas. El pigmento melánico debe confirmarse con la impregnación argéntica de Fontana y con el método del blanqueamiento.

Macrófagos cargados de pigmento biliar

En raros casos de carcinoma hepatocelular metastásico que elabora pigmento biliar, pueden verse macrófagos que han fagocitado un pigmento biliar que se reconoce como unas gotitas amarillas verdosas. El pigmento biliar se demuestra con la reacción de Gmelin.

Células gigantes multinucleadas

En citología pulmonar se ven dos tipos de histiocitos multinucleares. El tipo de Langhans exhibe el mismo rasgo nuclear que la célula epitelioide que describimos más abajo. Las células gigantes por cuerpo extraño aparecen en la vecindad de los subproductos metabólicos y de los cuerpos extraños. Un buen ejemplo es el de los histiocitos multinucleados que se ven muchas veces en torno de los focos necróticos de los tejidos cancerosos en la respuesta favorable a la radiación. Préstese atención al material fagocitado por las células gigantes multinucleadas, que puede consistir en sustancias inorgánicas o en microorganismos. Los microorganismos importantes que originan neumonitis son *Paracoccidioides brasiliensis, Blastomyces dermatitidis, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum*, etc. La blastomicosis se debe tener muy en cuenta cuando en las regiones endémicas aparecen muchas células gigantes multinucleadas en el esputo.

La citología se caracteriza por un citoplasma abundante, espumoso y mal definido. Muchas veces las células contienen leucocitos o detritos celulares ingeridos. Los núcleos son ovales o un tanto elongados y de contorno reniforme. El borde nuclear es delicado pero nítido. Las cromatinas son finamente granulares o reticulares. Cada núcleo suele tener un solo nucléolo. La diferenciación entre las células gigantes histiocitarias y las células gigantes epiteliales se basa en particular en los rasgos citoplasmáticos. Las células gigantes epiteliales poseen un borde celular nítido, a menudo con una placa terminal en el borde ancho y una reacción tintorial densa en el citoplasma. En el tipo epitelial no se observa fagocitosis.

Células epitelioides y células gigantes de Langhans

Las células epitelioides no se suelen expectorar espontáneamente pero se reconocen en los aspirados de las punciones con aguja y en los cepillados bronquiales. Se trata de macrófagos trasformados que se caracterizan por tener unos núcleos elípticos un tanto curvos, con una red de cromatina vesiculosa pálida y una membrana nuclear delicada. Las células gigantes de Langhans multinucleadas tienen sus núcleos en la periferia, dispuestos en un semicírculo. Los rasgos nucleares son idénticos a los de las células epitelioides.

Debemos tener en cuenta la formación de diversos granulomas de células epitelioides en estados como tuberculosis, sarcoidosis y beriliosis, para poder hacer su interpretación patológica. La reacción sarcoide raras veces se asocia con neoplasia maligna, pero puede ocurrir. La necrosis caseosa de la tuberculosis se caracteriza por una mezcla de detritos necróticos con escasa reacción de células inflamatorias.

Los cuerpos asteroides típicos y los cuerpos de Schaumann sugieren sarcoidosis, pero son raros, incluso en histología. Una comunicación reciente de Aisner y col.[2] sobre citología del esputo en pacientes con sarcoidosis menciona rasgos citológicos significativos en 6 de 16 pacientes, los cuales se resumen a continuación: 1) células epitelioides con uno o con muchos núcleos, 2) fondo claro con poco moco e inflamación y, en raros casos, 3) cuerpo de Schaumann y cuerpo asteroide en células gigantes. En nuestra experiencia con estudios histológicos de biopsias broncoscópicas obtenidas con trócar, 16 de 39 casos (41%) con manifestaciones clínicas de sarcoidosis exhibieron un granuloma de células epitelioides característico junto con un manto de infiltración linfocitaria en la mucosa bronquial; el extendido del raspado broncoscópico que se caracteriza por células epitelioides y linfocitos junto con un fondo claro, abona a favor de la sarcoidosis.

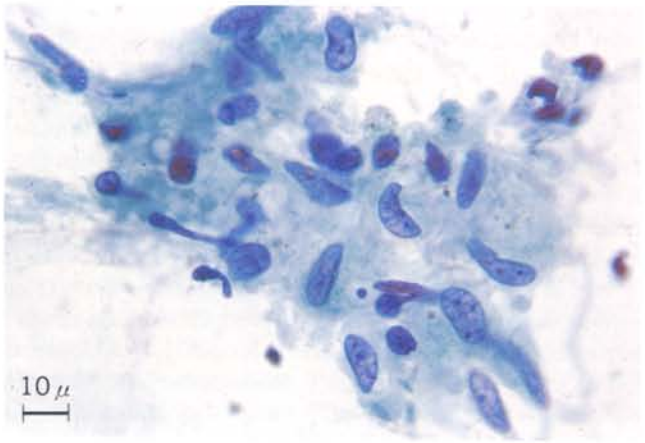


Fig. 587. Células epitelioides en un aspirado de punción. El aspirado de una punción transcutánea con aguja de la lesión pulmonar que producía una sombra nodular en las radiografías revela muchas células epitelioides de núcleos elongados y curvos. Su trama de cromatina es blanda. Los bordes celulares son oscuros. Si esto se asocia con restos necróticos sugiere caseificación tuberculosa.

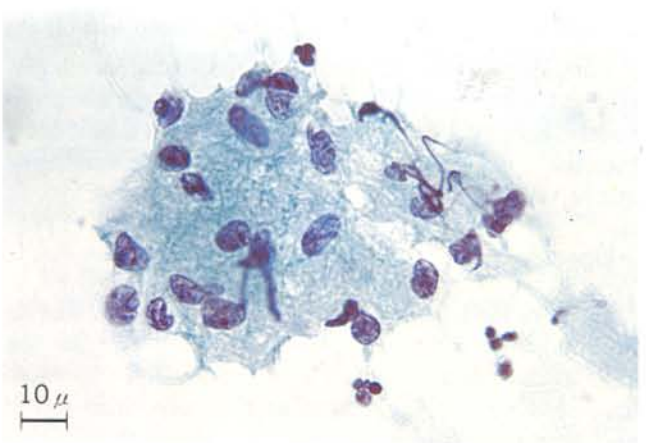


Fig. 588. Células epitelioides teñidas con el método de Shorr en cepillados bronquiales de una mujer de 41 años que tenía linfadenopatía hiliar bilateral. Los núcleos son elongados y un poco curvos, y exhiben cromatinas finas. La ocurrencia de células epitelioides en la profundidad de la membrana mucosa y la ausencia de necrosis son sugestivas de sarcoidosis. Esto requiere una investigación clínica para diagnosticar sarcoidosis.

10. Elementos no celulares

Espirales de Curschmann

Los pacientes que sufren trastornos bronquiales crónicos, en particular con obstrucción bronquial incompleta y considerable producción de moco, pueden expectorar unos moldes bronquiolares de moco espeso que se denominan espirales de Curschmann. Se trata de una estructura arrollada constituida por un eje que toma intensamente la hematoxilina y por un manto mucoso o vaina semitraslúcida. Esto último es francamente positivo para la reacción con ácido peryódico-Schiff y también a la tinción con azul alciano. Recuérdese que la expectoración de espirales de Curschmann es frecuente en el carcinoma broncógeno por obstrucción incompleta de los bronquios y bronquíolos afectados.

Sustancia fibroide

No es raro encontrar unas estructuras parecidas a fibras en los extendidos de esputo de pacientes que tienen trastornos bronquiales supurados como bronquitis, bronquiectasias y absceso pulmonar. Son más frecuentes en el esputo purulento que en el mucoso o seroso. Las estructuras toman intensamente la hematoxilina y son positivas para la reacción de Feulgen. Suelen orientarse en la misma dirección en que se hizo el extendido y exhiben unas protrusiones nudosas correspondientes a los núcleos de leucocitos polimorfonucleares. No cabe duda de que estos elementos derivan de la nucleoproteína de leucocitos polimorfonucleares degenerados.

Concreciones de calcio

Es raro encontrar concreciones calcáreas en el esputo. En los aspirados con aguja y en los cepillados bronquiales pueden aparecer unas concreciones calcificadas constituidas por estructuras laminillares basófilas (fig. 592). El centro de estos elementos suele teñirse más que la periferia. Los estados que pueden formar concreciones calcáreas son adenocarcinoma papilífero, tuberculosis y microlitiasis alveolar. Esto último es un estado raro que fue descrito por Harbitz[52] en

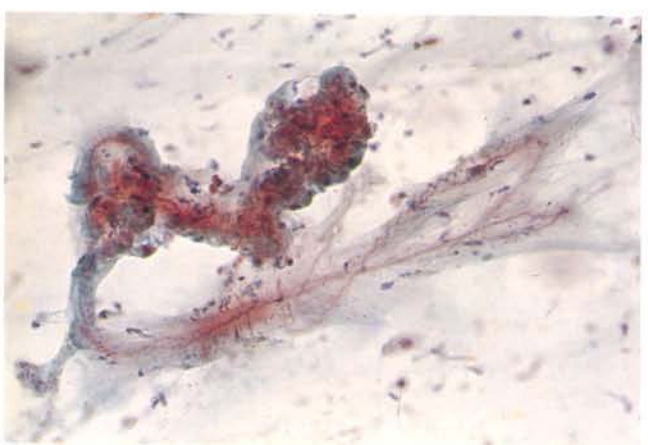


Fig. 589. Espirales de Curschmann en el esputo. Masas de moco retorcidas en espiral, con un eje arrollado que toma intensamente la hematoxilina. La reacción PAS confirma que la vaina semitrasparente que envuelve el eje consiste en material mucoide.

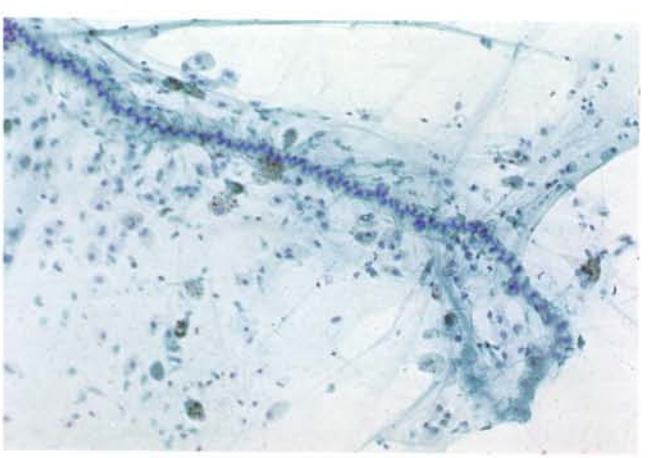


Fig. 590. Espirales de Curschmann en el esputo de un paciente con carcinoma pulmonar. Nótese el eje espiralado central que se tiñe intensamente con la hematoxilina. La vaina mucoide es traslúcida.

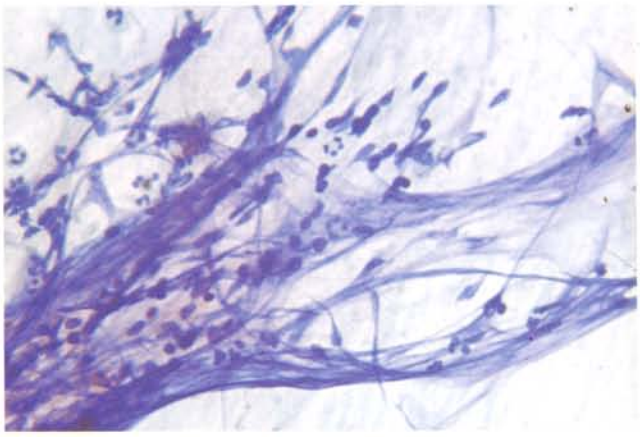


Fig. 591. Estructura fibroide en un esputo mucopurulento. Esto se ve a menudo en los extendidos de esputos purulentos como una estructura fibrinosa que se tiñe mucho con la hematoxilina.

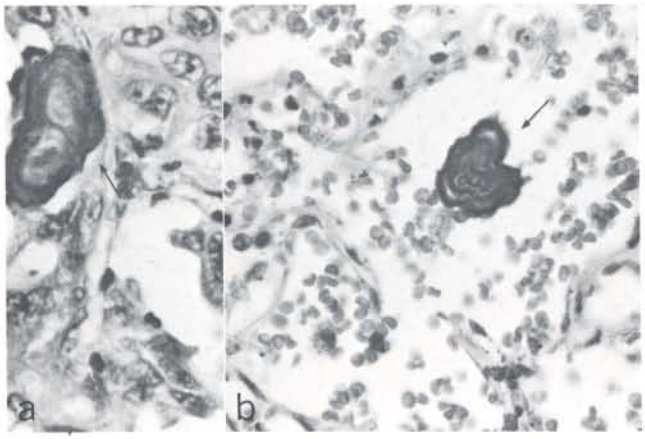


Fig. 592. Cuerpo psamomatoso del conducto alveolar en un caso de adenocarcinoma papilífero broncógeno. Esta concreción calcificada laminillar estaba en el conducto alveolar (*b*), lejos del tumor primario. Se ilustra una parte del adenocarcinoma papilífero con un cuerpo psamomatoso (*a*).

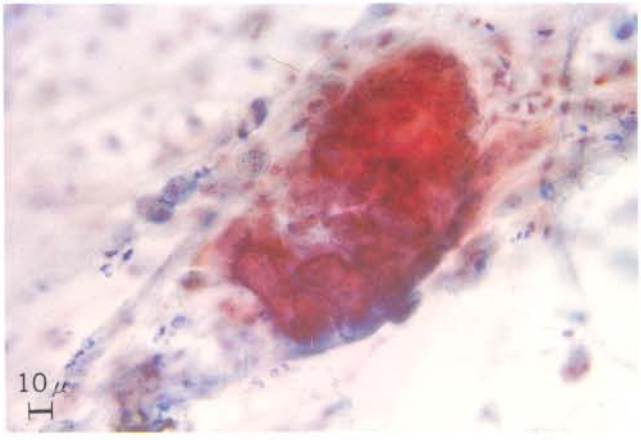


Fig. 593. Cuerpo psamomatoso en el esputo de un paciente con adenocarcinoma broncógeno. Nótense los cuerpos calcificados aglomerados con irregularidad y sus contornos engrosados a modo de conchas. La coloración parda azulada oscura en el borde se debe al depósito de calcio.

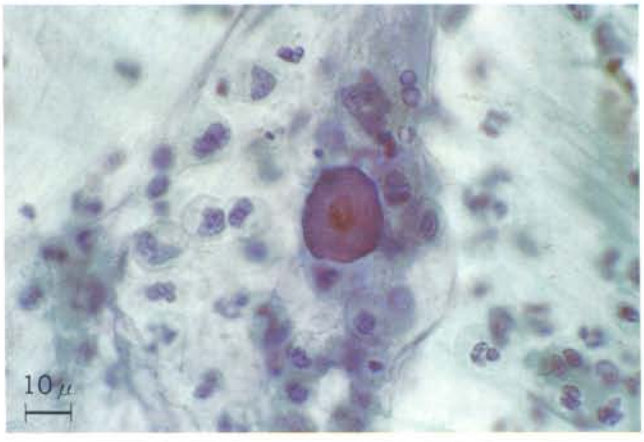


Fig. 594. Cuerpo psamomatoso en el esputo de un enfermo de tuberculosis. El corpúsculo laminillado que se tiñe con hematoxilina y eosina no es específico de la tuberculosis. Lo fundamental de la observación es descartar un adenocarcinoma papilífero.

1918; se caracteriza por el relleno de los alvéolos y bronquíolos por unos cuerpos psamomatosos que se denominan calcioesferitas. Se considera que la microlitiasis alveolar se puede asociar con estenosis mitral crónica y fibrosis pulmonar.[51,143]

Cuerpos amiláceos

Los cuerpos amiláceos son unas estructuras laminillares de 60 a 100 μ de diámetro. Friedrich los reconoció en el esputo en 1856. Las líneas anulares concéntricas miden 100 a 150 Å de espesor a la microscopia electrónica. Esta sustancia homogénea, que semeja concreciones de calcio, toma poco la eosina porque no contiene calcio y es negativa para la reacción con PAS. En los preparados histológicos aparecen dentro de los alvéolos y dan escasa reacción hística. Todavía no se conoce el origen de los cuerpos amiláceos.

Cuerpos de amianto

El alto riesgo ocupacional de carcinoma pulmonar y mesotelioma pleural de la asbestosis[170] se relaciona con la dosis, forma y tamaño de las fibras de amianto y con el tiempo que haya durado la exposición.[45] Se señaló como cofactor de la carcinogénesis el efecto potenciador del hábito de fumar cigarrillos.[16] De acuerdo con la tipificación de los cánceres por asbestosis realizada por Whitwell y col.,[169] las partículas de amianto alojadas en las partes distales del árbol bronquial coexisten con mayor frecuencia con adenocarcinoma que con carcinomas de todos los otros tipos citológicos. Los cuerpos de amianto aparecen en el esputo como agujas elongadas revestidas por una túnica ferruginosa amarillenta de sal de hierro y proteína que tiene la forma de una mostacilla.

Hace poco a los cuerpos de amianto revestidos de una matriz ferroproteica se los denominó cuerpos ferruginosos porque una variedad de fibras microscópicas inhaladas se pueden convertir de manera inespecífica en cuerpos perlados. En sentido estricto, sólo se debe hablar de cuerpos de amianto cuando las fibras centrales consisten en este material.[125] En condiciones experimentales se comprobó que las fibras de vidrio inhaladas por los cobayos se revisten de una ferroproteína fragmentada y perlada que semeja cuerpos de amianto.[20] Los cuerpos ferruginosos se pueden estimar cuantitativamente en el parénquima pulmonar mediante di-



Fig. 595. Cuerpo de amianto en el esputo. La larga estructura arrollada es amarilla a parda oscura; el color varía según la cantidad de ferroproteína depositada.

gestión química con líquido blanqueador doméstico (hipoclorito de sodio al 5,25%).[140] El residuo, que se suspende en partes iguales de cloroformo y etanol al 50%, se concentra mediante centrifugación. El sedimento se vuelve a suspender en etanol al 95% y se filtra con un Nuclepore de 5 μ. Así se puede hacer el recuento a la microscopia óptica común, sin necesidad de colorear.

Citología. De acuerdo con la descripción de diversos tipos de cuerpos ferruginosos que hiciera Lopes Cardozo, el filamento ferruginoso que tiene unos pocos depósitos amarillos en la etapa incipiente, se convierte en un cuerpo cilíndrico que tiene una fijación amarilla en uno o en ambos extremos. Por último sobre este filamento se depositan cristales hemáticos amarillentos y se forma un cuerpo con estriaciones o perlas trasversales.[84]

Material proteináceo

Esta sustancia del esputo ha sido sometida a estudios citoquímicos[25,92] desde que Rosen y col.[126] describieron una enfermedad peculiar y progresiva que denominaron proteinosis alveolar. A la inspección macroscópica el esputo es tenaz, amorfo y acelular como gelatina y de aspecto gris tizáceo. Microscópicamente es rico en una sustancia granular, amorfa y acelular que es acidófila, sudanófila y positiva para la reacción del PAS tras la digestión con diastasa. Las tinciones del violeta cristal y del mucicarmín de Meyer para amiloide y mucina son negativas.

Cristales de Charcot-Leyden

Los llamados cristales de Charcot-Leyden son octaédricos, eosinófilos y se ven, aunque raras veces, junto con una cantidad de leucocitos eosinófilos en el esputo de los asmáticos. Se piensa que se forman por cristalización de la sustancia disuelta de los gránulos de los eosinófilos.

Fibra elástica

Las fibras elásticas muy refringentes y delicadas pueden expectorarse en casos de destrucción aguda del parénquima pulmonar, como en la cavitación.

Otros elementos no celulares e infecciones

En vista de que en la boca y en la nasofaringe existen diversos tipos de flora microbiana, el contenido bacteriano del esputo no es inusitado ni orienta sobre el microorganismo causal de la inflamación. La gran cantidad de *neumococos, estreptococos hemolíticos* y *Klebsiella pneumoniae* puede

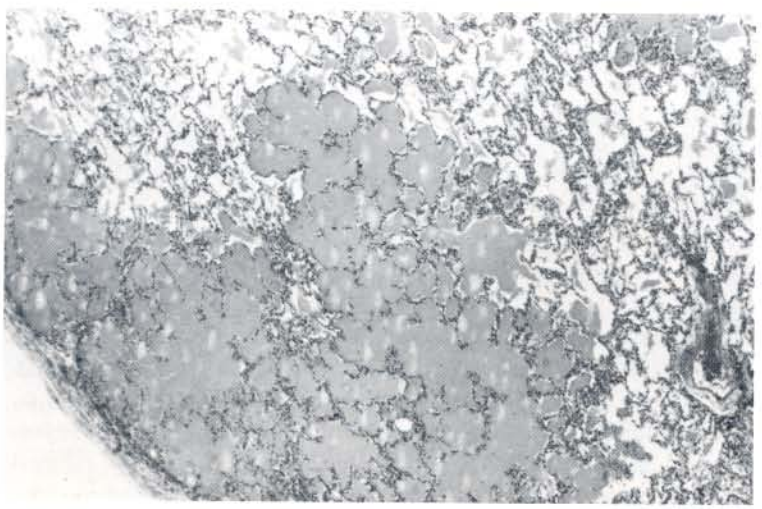


Fig. 596. Proteinosis alveolar. Los conductos alveolares están ocupados por un material proteináceo amorfo PAS positivo. En este varón de 16 años se encontraron unos flecos anormales bilaterales en las radiografías de tórax. Los lavados bronquiales revelaron un material amorfo débilmente eosinófilo, sin elementos celulares.

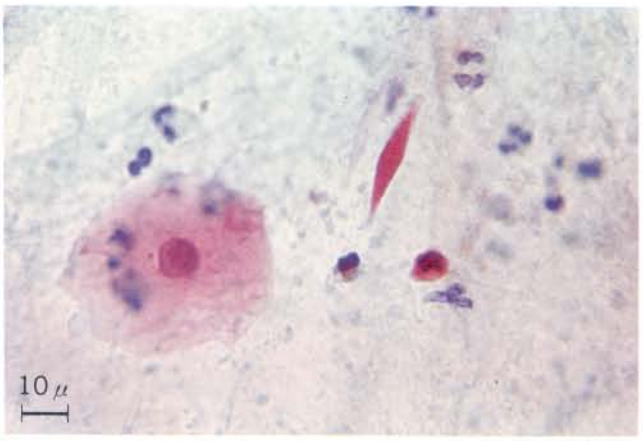


Fig. 597. Cristal de Charcot-Leyden en el esputo de un asmático. Muchas veces en los pacientes alérgicos y asmáticos se ve un cristal octaédrico que sería acidófilo.

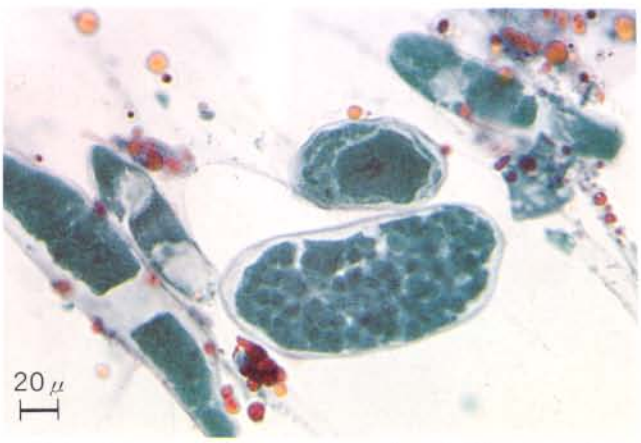
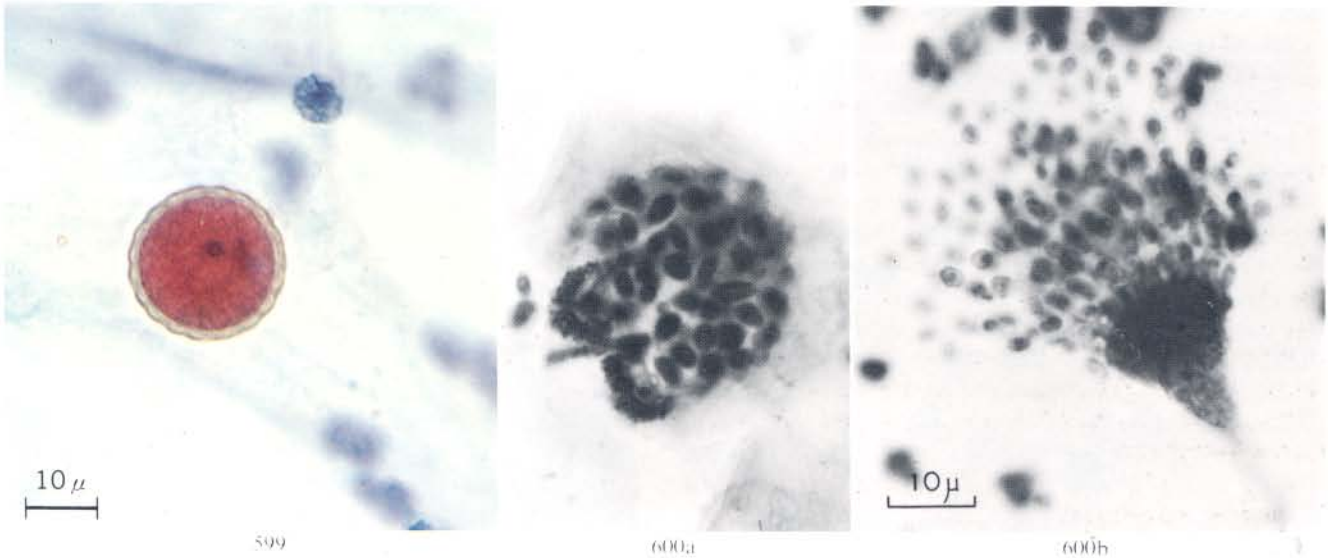


Fig. 598. Restos vegetales expectorados con el esputo. Nótese la pared celular gruesa y refringente. Las formas grotescas y los tamaños variables de estas sustancias con interiores extraños significan contaminación con alimentos.



599 600a 600b

Fig. 599. Polen en un extendido de esputo. Los pólenes son contaminantes frecuentes del esputo que exhiben diversas formas, pero la pared celular es gruesa y refringente. Aunque el interior es granular, no se observa miracidio.

Fig. 600. Conidios de *Aspergillus fumigatus* en un extendido de esputo. De vez en cuando el *Aspergillus fumigatus* produce infección pulmonar. Nótese un conidiosporo característico con su esterigma, que exhibe cadenas de conidios globosos unicelulares. Esta estructura de cuerpo fructificante bulbar es similar al conidiosporo de los hongos penicillium que contaminan los extendidos de los esputos.

ser patognomónica. En ocasiones el esputo de pacientes con absceso pulmonar, gangrena y bronquiectasia antigua contiene *Borrelia vincentii* y *bacilos fusiformes*. Un contaminante común del esputo es el polen. Algunos pólenes que semejan huevos de parásitos se reconocen por sus paredes celulares refringentes y por la ausencia del miracidio en su interior. Muchas veces las células vegetales provenientes de los alimentos vienen mezcladas con el esputo si los pacientes no hacen gárgaras antes de expectorar.

Actinomicosis. La actinomicosis pulmonar se debe a la aspiración del microorganismo residente en la boca. La detección de los hongos en el esputo puede ser útil para hacer el diagnóstico. La infección por *Actinomyces bovis* puede producir "gránulos de azufre" que se ven a simple vista en el esputo. En el examen microscópico del material fresco aparece una masa de delicados filamentos en el centro del gránulo de azufre y "mazas" en la periferia.

Candidiasis. La detección de *Candida albicans* en el esputo no es suficiente para establecer su patogenicidad porque muchas veces este microorganismo habita en la boca. Las muestras transbronquiales se deben enviar para su estudio micológico adicional si las investigaciones reiteradas para tuberculosis y cáncer son infructuosas. Las células levaduriformes y los filamentos de *Candida albicans* se identifican con la tinción de Gram y también con la reacción del PAS (fig. 601).

Este microorganismo se caracteriza por unas hifas largas amarillentas a parduscas y por unos conidios brotados redondos y de gruesas paredes. Su proliferación en el parénquima pulmonar ocurre durante la antibioticoterapia de amplio espectro. Como segunda infección oportunista se debe tener en cuenta la aspergilosis. En la aspergilosis el esputo puede exhibir fragmentos de hifas tabicadas, conidios y, a veces, conidióforos (fig. 600).

Criptococosis. La criptococosis pulmonar es una infección oportunista secundaria en pacientes debilitados por en-

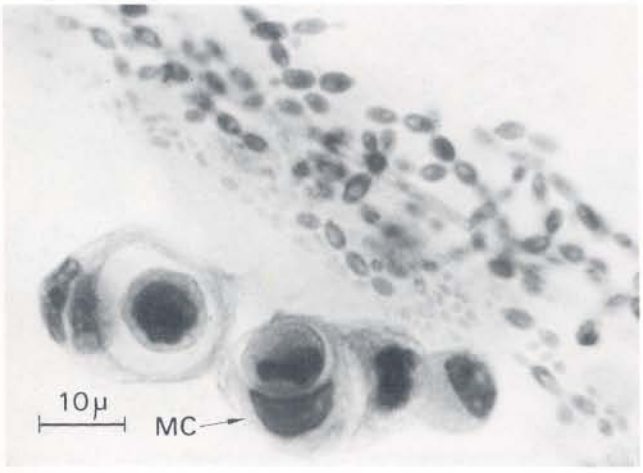


Fig. 601. Hongos levaduriformes que exhiben blastosporos y seudohifas en un extendido de esputo. También se ven células malignas con canibalismo y picnosis nuclear (*MC*).

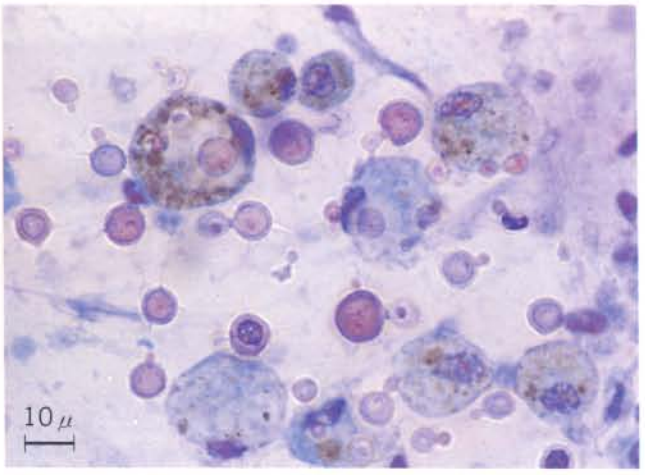


Fig. 602. Criptococosis en el esputo de un paciente que estuvo en tratamiento inmunosupresivo. Nótense los cuerpos esféricos rosados a azulados. En el citoplasma de un fagocito se ve una cápsula mucinosa trasparente en torno del cuerpo esférico.

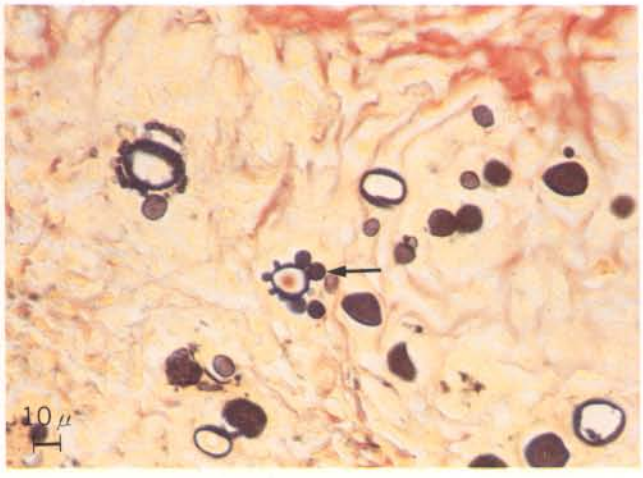


Fig. 603. Brotes simples o desgarrados de la superficie de las células de gruesas paredes de *Blastomyces brasiliensis*, que miden 10 a 60 μ de diámetro. Los brotes miden 1 a 2 μ. Nótese la imagen característica en rueda de timón (*flecha*). Tinción de Gomori.

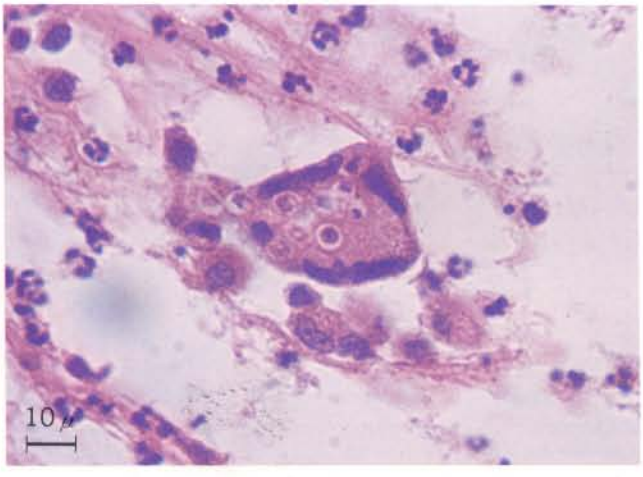


Fig. 604. Histiocito multinucleado del esputo que ha fagocitado muchos microorganismos en una infección por *Blastomyces brasiliensis*. El paciente produce un esputo purulento. Las lesiones nodulares de las radiografías de tórax deben diferenciarse de la tuberculosis. Tinción HE. (Gentileza del doctor Tani, E. M., Facultad de Medicina de Botucatu, São Paulo, Brasil.)

fermedad de Hodgkin o alguna otra anormalidad similar del reticuloendotelio. El paciente emite un esputo escaso, mucoide y, en raros casos, mucosanguinolento que contiene unos microorganismos ovoides o esféricos de paredes gruesas, a veces con brotaciones simples. Es característica la cápsula apenas cianófila positiva para el azul alciano o el PAS.[189]

Blastomicosis norteamericana. El causante de la blastomicosis norteamericana es *Blastomyces dermatitidis*, que se presenta como una levadura un tanto naranjófila de unos 5 a 20 μ de diámetro. La capa externa consiste en una gruesa pared celular refringente. Es característica la brotación simple con una inserción ancha en la célula madre, formándose pares de células. *Blastomyces dermatitidis* produce neumonitis supurada y granulomatosa por inhalación, y puede propagarse a los órganos abdominales, encéfalo y esqueleto lo mismo que las metástasis de las neoplasias malignas.

Blastomicosis sudamericana. El organismo causal es *Paracoccidioides brasiliensis*, que es un poco más grande que *Blastomyces dermatitidis* y mide 5 a 30 μ de diámetro. Un rasgo característico son las brotaciones múltiples en rueda de timón. El órgano que más se afecta por inhalación es el pulmón. Las lesiones granulomatosas confluentes pueden ir a la inflamación supurada. La identificación microscópica de la paracoccidioidomicosis es fácil de reconocer si se encuentra el núcleo del hongo. A falta del núcleo, en el citoplasma de las células gigantes multinucleadas se detecta la forma levaduriforme, que semeja una vacuola de pared refringente. La técnica de Papanicolaou para esputo y cepillados o lavados bronquiales es apropiada para detectar blastomicosis pulmonar,[67] pero los preparados en bloques celulares[64] son de particular utilidad para el esputo por su exactitud y por la existencia de métodos específicos como las tinciones de Gomori, Grocott y PAS.

Paragonimiasis. En la infección humana por *Paragonimus westermani*, muy frecuente en Lejano Oriente, los vermes adultos se alojan en elementos quísticos encapsulados peribronquiales. La pared del quiste consiste en tejido fibroso granulomatoso con infiltración leucocitaria. Si se llega a formar una comunicación entre el quiste y el tracto respirato-

rio, se expectoran los huevos junto con una tos productiva. Muchas veces el esputo es sanguinolento.[91] Esta expectoración hemorrágica se llama "hemoptisis endémica"; la extrusión de los huevos dentro de los bronquíolos tras la rotura del quiste peribronquial, causa tos, dolor torácico y hemoptisis.[171] Puede haber cierta cantidad de eosinófilos y cristales de Charcot-Leyden. La paragonimiasis también se diagnostica mediante lavado bronquial o biopsia broncoscópica.[171] El huevo es amarillo dorado y mide unos 82 a 86 μ de longitud por 46 a 52 μ de ancho. Su extremo más ancho es operculado.

Esquistosomiasis. Los huevos de los esquistosomas pueden alojarse en el pulmón, donde forman granulomas. Los de *Schistosoma japonicum*, por ejemplo, miden 70 a 80 × 50 a 65 μ y presentan una fina cubierta sin opérculo ni espina, pero contienen un miracidio bien discernible en su interior. Debemos señalar que en la época de las flores los esputos suelen venir contaminados con diversos pólenes. Los pólenes son de pared celular gruesa y refringente con gránulos en su interior, y muchas veces se confunden con los huevos de ciertos parásitos.

Strongyloides stercoralis. Las *larvas filariformes* infectantes que han penetrado en los vasos de la piel, van al pulmón, donde se fertilizan las hembras. Las hembras adolescentes son deglutidas, llegan al tracto intestinal, allí maduran y producen autoinfección sin abandonar al huésped. Las larvas recién nacidas vuelven a infectar a los pacientes que tienen disminuidas las resistencias y las *larvas rabditoides* pueden entrar en la circulación venosa. Esto produce una expectoración hemorrágica en la que aparecen *larvas rabditoides* y, en ocasiones, *larvas filariformes*.

Hidatidosis pulmonar. Los quistes equinococócicos pueden formarse en el hígado, pulmones y encéfalo del hombre y de los huéspedes intermediarios durante la etapa de cisticerco del ciclo vital de *Echinococcus granulosus*. El quiste consiste en una gruesa túnica laminada (ectocisto) y una fina capa germinativa (endocisto), a partir de la cual se pueden formar cápsulas prolígeras que contienen escólex. En ocasiones se rompe dentro de un bronquio un quiste hidatídico que contiene antígeno. Si el paciente cuyo quiste hidatídico se rompe no sucumbe al shock anafiláctico, los escólex hidatídicos expulsados con la tos se pueden diagnosticar mediante citología. Tomb y Matossian[154] destacan la utilidad de la citología del esputo porque los pacientes con hidatidosis pulmonar exhiben una positividad un tanto baja de hemaglutinación[3] y fijación del complemento.[85]

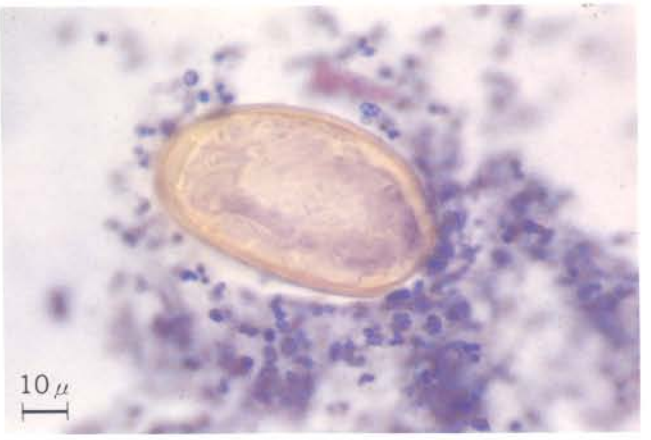


Fig. 605. Huevo de *Paragonimus westermani* en el esputo. El huevo presenta una cubierta gruesa y un miracidio. La confluencia de los abscesos, asociada con destrucción de la pared bronquial, puede causar una tos productiva que contiene los huevos.

Pneumocystis carinii. Este microorganismo produce neumonía plasmocitaria intersticial en lactantes y en adultos que están en tratamiento inmunosupresivo o con antibióticos de amplio espectro. Aunque los conductos alveolares aparecen llenos de un material fibrilar a modo de panal de abejas, el esputo espontáneo no contiene el microorganismo. Los extendidos de la punción aspiradora o las impresiones realizadas durante la biopsia del pulmón a cielo abierto, revelan la presencia de estos minúsculos microorganismos, que miden unos 0,5 μ, dentro de los quistes (fig. 607).

11. Tipificación citológica del cáncer de pulmón

En citodiagnóstico se consiguió designar el tipo celular de los tumores. Tal como se describe en el capítulo sobre tipificación celular, se clasifican tres tipos representativos –epidermoide, glandular e indiferenciado– lo mismo que en otros órganos. El último tipo también se subdivide en carci-

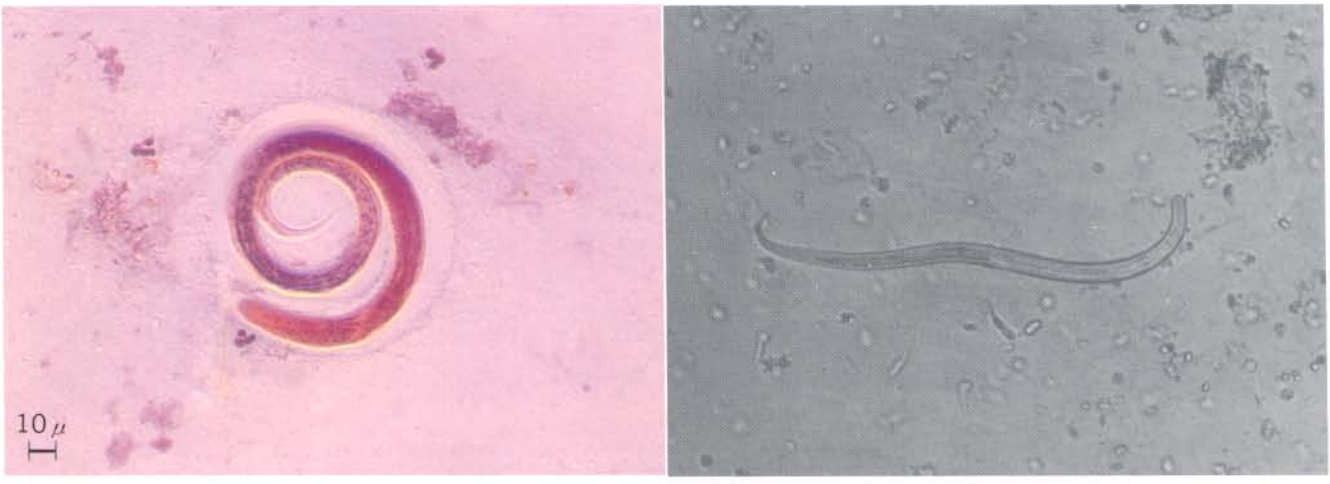


Fig. 606. *Strongyloides stercoralis* expectorado. Las larvas filariformes infectantes horadan la piel y van a los pulmones con el torrente sanguíneo, donde emigran de los capilares, penetran en los conductos alveolares y pueden causar hemorragias y neumonitis.

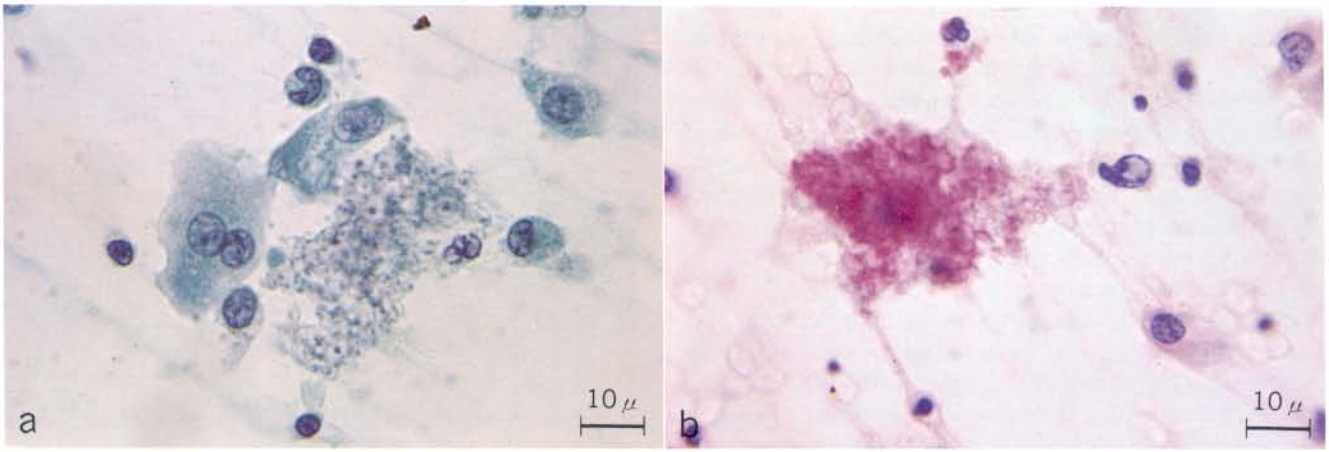


Fig. 607. ***Pneumocystis carinii*** **en un aspirado del pulmón.** *a*, El microorganismo que afectaba a este paciente sometido a intensa terapia inmunosupresiva exhibe un minúsculo núcleo puntiforme que se rodea de un material mucoso espumoso. *b*, El moco espumoso se tiñe de púrpura rosado con PAS.

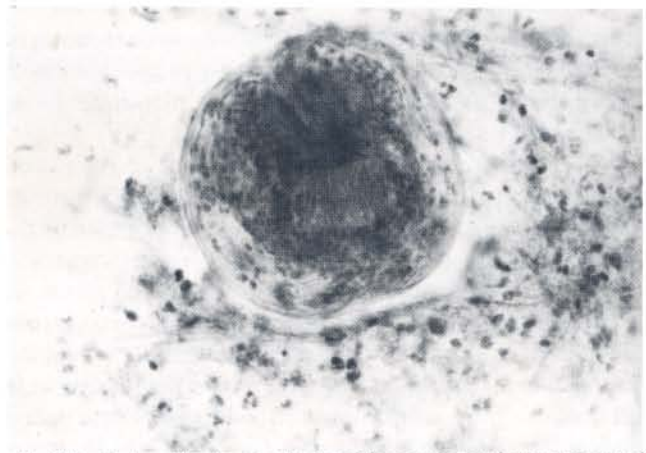


Fig. 608. Protoescólex invaginado de ***Echinococcus granulosus*** **en un extendido de esputo.** Su diámetro mayor mide unos 150 μ. (Gentileza del doctor Tomb, J. A., American University, Beirut, Líbano.)

noma pulmonar de células grandes indiferenciadas y de células pequeñas indiferenciadas (cuadros 61 y 62). Aunque en el pronóstico de una enfermedad neoplásica pueden intervenir varios factores, como presencia de metástasis en los ganglios linfáticos y órganos regionales y distantes, resecabilidad del tumor y tipificación histológica con referencia al grado de diferenciación, esto último se comenta en citología exfoliativa.

En general se acepta que el carcinoma epidermoide es el que tiene el pronóstico más favorable, mientras que el peor de todos es el carcinoma de células de avena, según se desprende del estudio clínico de la tasa de sobrevidas a los 5 años o más.[23,34,104,161,165] En vista de que la histología del cáncer de pulmón es muy variable y hasta difiere en el mismo tumor de un sitio a otro, algunos investigadores son conservadores al hacer la tipificación celular y sólo se pronuncian con seguridad en ciertos tipos de carcinoma espinocelular bien

Cuadro 61. Tipificación de las células malignas del esputo*

	Tipo epidermoide	*Tipo glandular*	*Tipo indiferenciado*	
			Células pequeñas	*Células grandes*
Aglomeraciones				
Rasgo específico	Queratinización	Glanduliforme	Núcleos poligonales denudados	Ninguno
Distribución	Plana en empedrado	Superposiciones	Grupo laxo o individual	Grupo laxo
Anisocitosis	Considerable	Moderada	Leve a moderada	Leve a moderada
Citoplasma				
Forma	Variable y grueso	Elíptico u oval	Escaso o invisible	Indistinto
Tinción	Variable, verde o anaranjada	Verde azulado	Celeste	Celeste
Relación N/C	Relativamente pequeña	Mediana	La más grande	Grande
Núcleo				
Localización	Central	Periférica	Central	Por lo común central
Forma	Variable (pleomorfismo)	Redonda u oval	Poligonal, algo redonda	Redonda u oval, algo poliédrica
Trama de cromatina	Grumos gruesos y a menudo picnosis	Granular o de moderado tamaño	Granular gruesa	Granular de moderado tamaño
Nucléolo				
Localización	Indefinida	Central	Dispersa	Indefinida
Tamaño y forma	Variable, irregular	Grande, redondo	Pequeño, irregular	Variable, irregular
Cantidad	Pocos, a menudo invisibles	Único o pocos	Múltiples	A veces múltiples

* Estos criterios no son decisivos, pero sí afirmativos en general. Para tratar de tipificar células malignas se debe observar cuidadosamente todo el campo del extendido.

Cuadro 62. Características de la tipificación de células cancerosas en los aspirados de punción con aguja

Tipo epidermoide	*Tipo glandular*	*Células pequeñas*	*Células grandes*
A menudo aglomeradas con ligera superposición, pero tienden a disponerse paralelamente	Aglomeradas con superposición, pero la trama tubular no es tan nítida como en el esputo	Aglomeraciones laxas, a veces en tándem	Aglomeraciones laxas sin mucha superposición ni trama organoide
Existe borde celular, pero indefinido	Borde celular bien delineado	Borde celular mal definido	Borde celular mal definido
Moderada cantidad de citoplasma con tinción variable según los grados de queratinización	Moderada cantidad de citoplasma, buena tinción con verde claro	Citoplasma escaso, pálido y cianótico	Citoplasma escaso a moderado, pálido y cianótico
Bordes nucleares irregulares pero no tan gruesos como en el esputo	Bordes nucleares delicados y lisos	Bordes nucleares nítidos, pero no tan rígidos como en el esputo	Bordes nucleares nítidos pero no engrosados y relativamente lisos
Uno o dos nucléolos visibles y de forma irregular	Nucléolos centrales, redondeados y en gotitas	Nucléolos múltiples y diseminados	Nucléolos múltiples y prominentes

diferenciado y carcinoma de células pequeñas indiferenciado.[65,173] Sin embargo, muchos investigadores opinan que la mayoría de los cánceres de pulmón se pueden tipificar correctamente.[40,73,118,157]

Es fácil comprender la discordancia entre las tipificaciones histológicas y citológicas porque la clasificación histológica depende del tipo celular más diferenciado, mientras que la identificación citológica se hace de acuerdo con el tipo celular predominante. Un buen ejemplo aparece en "Histological Typing of Lung Tumours" de Kreyberg y col.:[77] algunos focos del tumor despliegan un alto grado de diferenciación, es decir, maduración al tipo espinocelular con formación de perlas, mientras que la mayor parte del tumor consiste en pequeñas células cancerosas anaplásicas. De acuerdo con la clasificación convencional, se podría hacer la designación de carcinoma epidermoide.

Sin embargo, en citología exfoliativa la perspectiva de obtener células pavimentosas bien diferenciadas en un caso así es muy rara y es obvio que la tipificación citológica de las células tiene que basarse en el tipo de célula tumoral predominante.

Carcinoma epidermoide

Aunque en el carcinoma epidermoide existen diversos grados de diferenciación, su histología se caracteriza por una diferenciación de tipo epidérmico con queratinización y/o puentes intercelulares. El interior de los nidos de células cancerosas, donde están las formaciones perladas, tiende a ser necrótico y a cavitarse. Si la cavitación se comunica con las vías aéreas, puede producir una cantidad de células cancerosas picnóticas con eosinofilia citoplasmática y deformidades extrañas, como células en fibra, en renacuajo y en víbora (fig. 612).

Citología. Las células epidermoides expectoradas espontáneamente exhiben distintas formas y reacciones tintoriales de acuerdo con su grado de diferenciación y queratinización. Las células en fibra y en renacuajo son el prototipo de la diferenciación extrema. Las células cancerosas de formas parabasales o intermedias que se tiñen de verde azulado, provienen de la zona externa no queratinizante de los nidos de células cancerosas y se identifican con facilidad. En cambio, las células exfoliadas con fuerza mediante aspira-

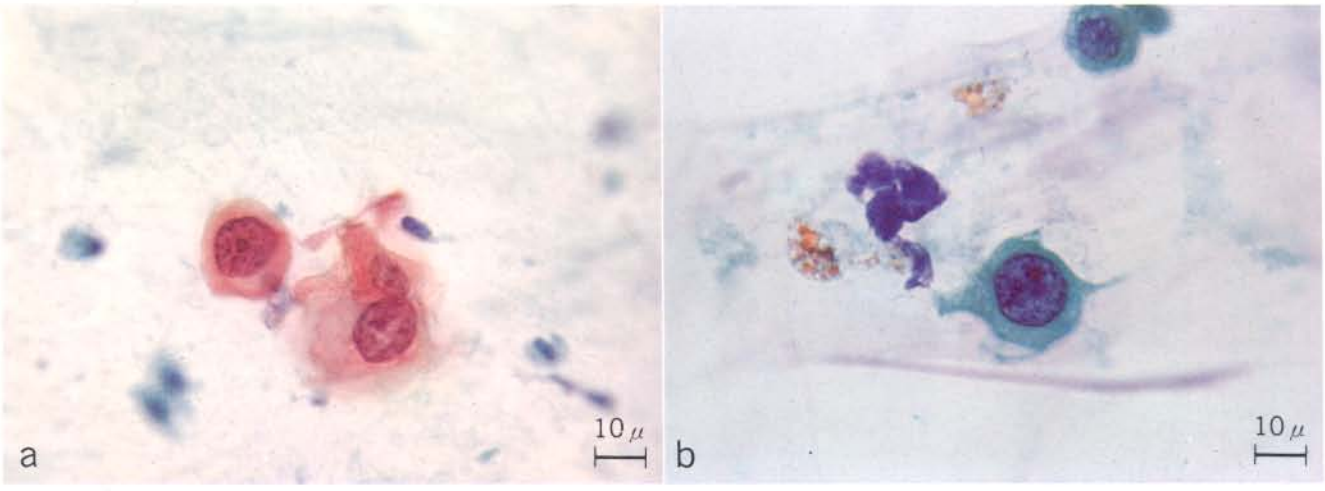


Fig. 609. Células de carcinoma epidermoide en el esputo de un paciente con carcinoma invasor incipiente de tipo central. *a*, Tipo parabasal queratinizante. *b*, Tipo parabasal no queratinizante. Los rasgos que distinguen a esta neoplasia de las células metaplásicas son aglomeración de cromatinas, presencia de nucléolos y alta relación N/C. Puntos sugestivos de carcinoma epidermoide incipiente de tipo central: 1) predominio de células cancerosas pequeñas de tipo parabasal, 2) ausencia de células cancerosas polimórficas grandes, 3) asociación frecuente con pequeñas células discarióticas y 4) fondo relativamente limpio.

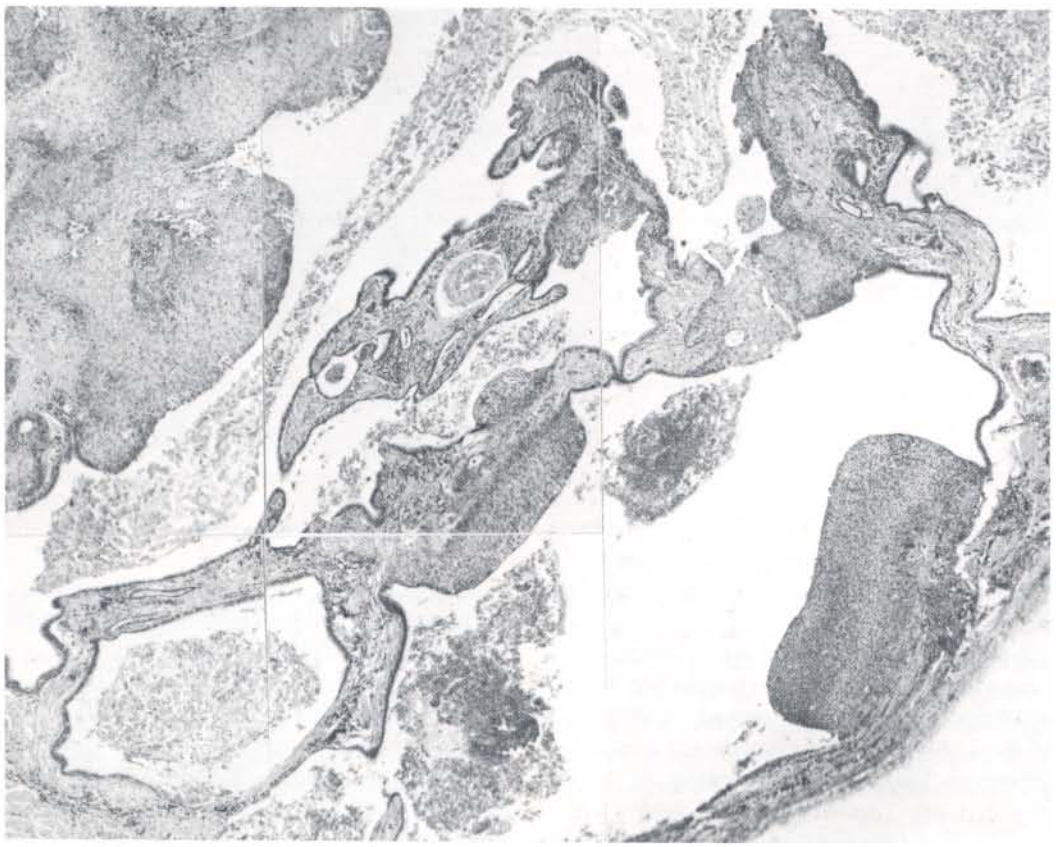


Fig. 610. Carcinoma pavimentoso invasor incipiente y carcinoma *in situ* originado en una mucosa bronquiectásica. Bronquiectasia sacular difusa en el lóbulo inferior derecho asociada con cancerización multicéntrica. En la radiografía de tórax sólo aparece una sombra focal que simula neumonitis. Lo único eficaz para detectar este cáncer fue el lavado bronquial selectivo.

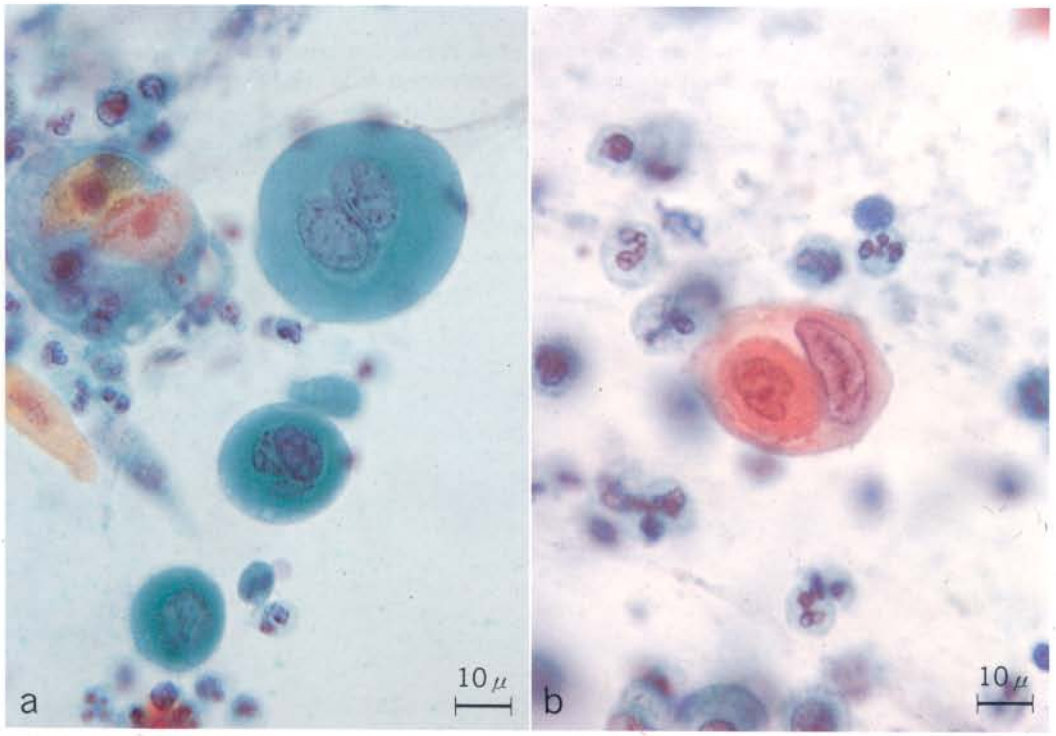


Fig. 611. Células de carcinoma epidermoide no queratinizante y queratinizante en un lavado bronquial. Caso de la figura 610. *a*, El carcinoma epidermoide no queratinizante se caracteriza por un citoplasma verde azulado grueso, por núcleos centrales con multiplicaciones ocasionales y considerable variación del tamaño y forma. *b*, Canibalismo en el tipo epidermoide queratinizante. La intensa naranjofilia sugiere queratinización de las células cancerosas. La inclusión de una célula cancerosa en otra se llama canibalismo y no es infrecuente en el carcinoma epidermoide.

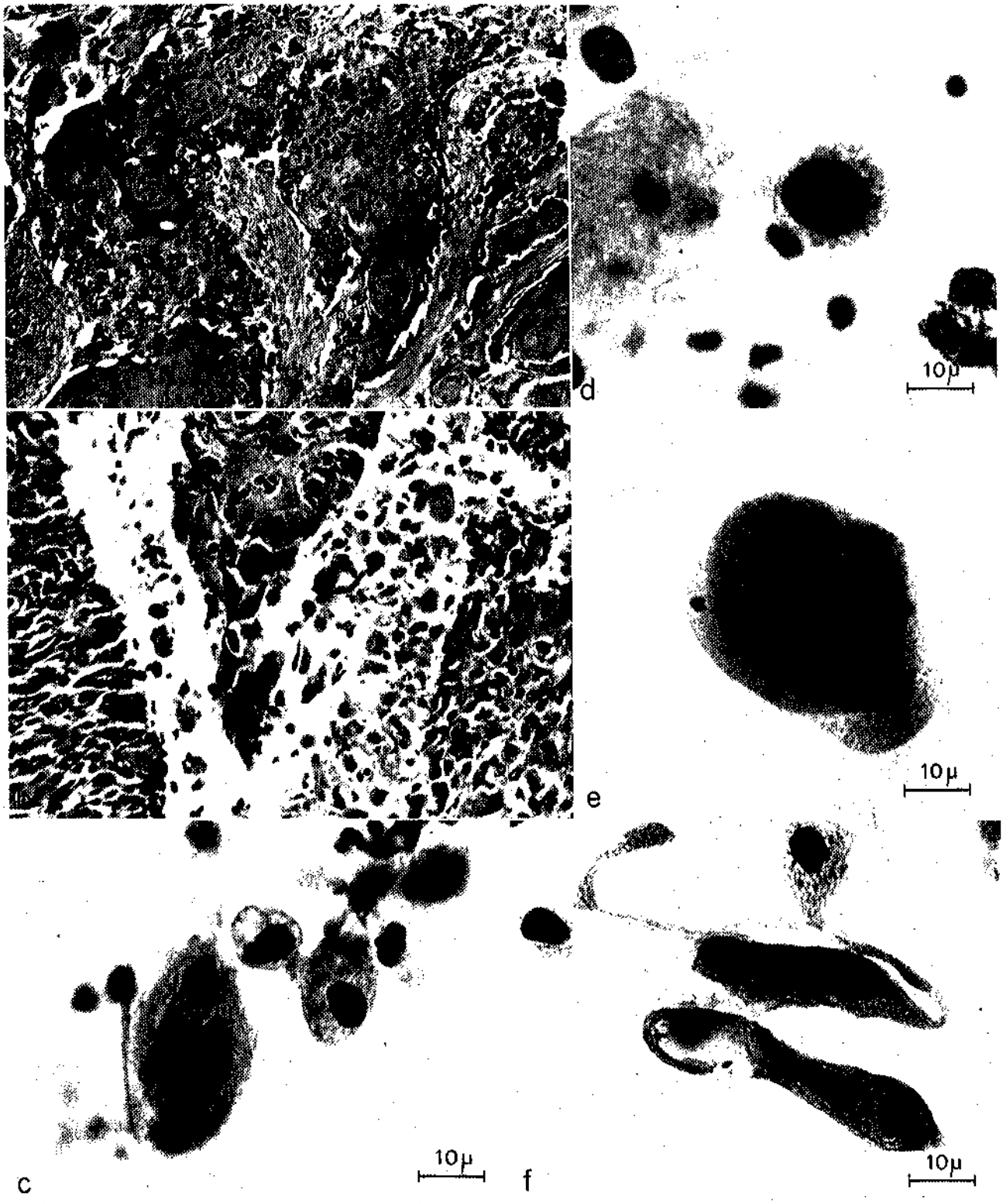


Fig. 612. Carcinoma epidermoide diferenciado y sus células malignas. *a*, Carcinoma epidermoide muy diferenciado que exhibe formaciones perladas en el centro de nidos de células cancerosas (*p*). *b*, Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado expuesto a las vías aéreas. Las células cancerosas en vías de degenerar revelan picnosis en "gotitas de tinta china". *c*, Tipo epidermoide diferenciado que exhibe un citoplasma muy naranjófilo y cromatina condensada en la periferia. *d*, Célula maligna menos diferenciada proveniente de un carcinoma epidermoide. Puede originarse en zonas exteriores de los nidos de células cancerosas, que están en proliferación activa. El núcleo es hipercromático y presenta un nucléolo prominente. El citoplasma es escaso, tenuemente basófilo y mal definido. *e*, Célula maligna de carcinoma epidermoide diferenciado. Cromatina en grumos gruesos y citoplasma bien definido, opaco y muy eosinófilo. *f*, Células en renacuajo diferenciadas que exhiben un citoplasma grotesco, bien definido y muy naranjófilo, con una cola larga. Los núcleos son deformes y muy tingibles.

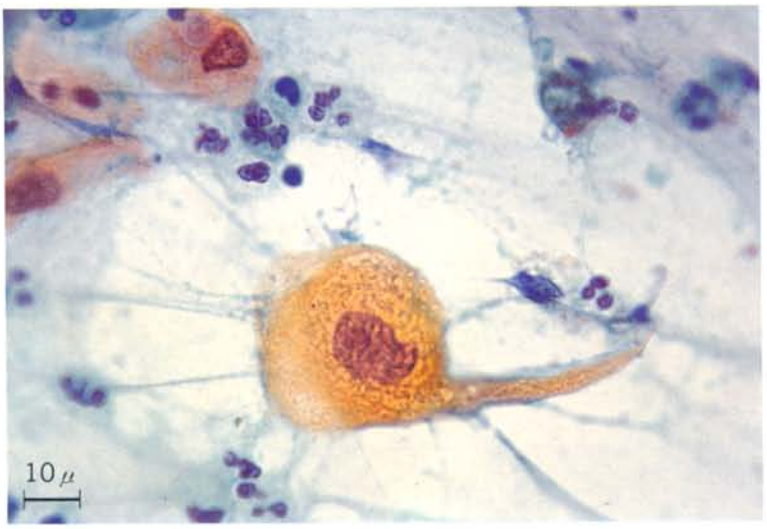


Fig. 613. Célula de carcinoma epidermoide queratinizante diferenciado en el esputo. Nótese el citoplasma grueso bien preservado y muy naranjófilo, que presenta queratinización.

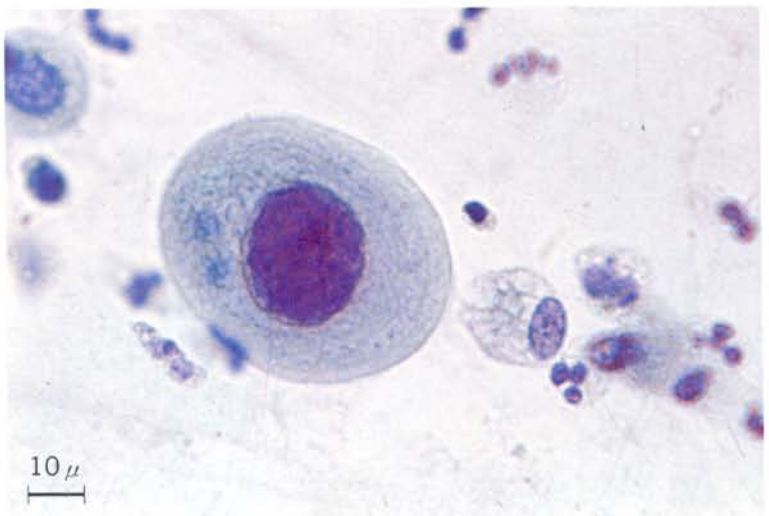


Fig. 614. Carcinoma epidermoide no queratinizante diferenciado en el esputo. Esta célula de tipo epidermoide bien preservada se caracteriza por un citoplasma de estructura fibrilar, cromatina condensada, un contorno nuclear rígido y un nucléolo irregular.

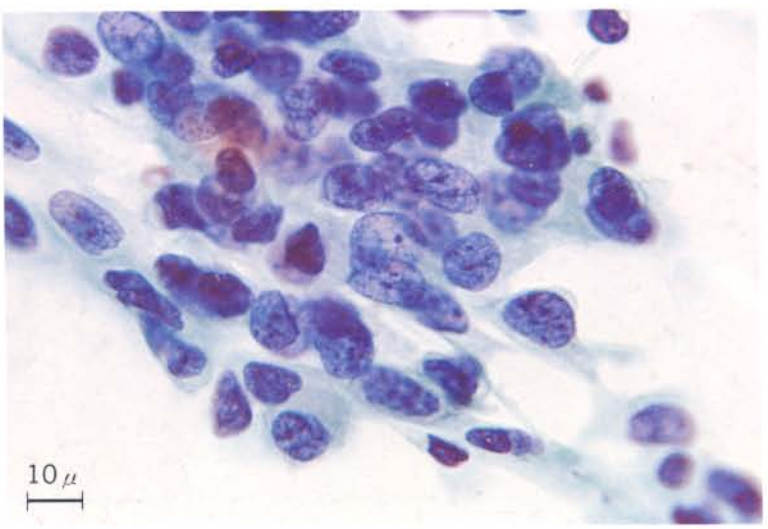


Fig. 615. Células de carcinoma epidermoide poco diferenciado aglomeradas en un aspirado de punción con aguja. La tipificación celular de los aspirados de punción sugiere carcinoma epidermoide poco diferenciado en presencia de los siguientes rasgos: 1) láminas mal definidas de células sin trama organoide, 2) citoplasma borroso mal preservado y 3) contorno irregular de los núcleos.

ción con aguja plantean dificultades para diferenciarlas de los otros tipos (cuadro 62).

Adenocarcinoma

Como regla general, el adenocarcinoma se origina en el epitelio bronquial superficial y se caracteriza por unas estructuras glandulares que a veces son papilíferas. Recuérdese que, aunque apenas una pequeña porción exhiba diferenciación glanduliforme y el resto, la mayoría del tumor, consista en bultos sólidos de células cancerosas indiferenciadas, se lo designa adenocarcinoma lo mismo. Una pequeña proporción de adenocarcinomas se origina en la glándula bronquial y en el epitelio de su conducto. Este tumor se radica en un sitio relativamente central y presenta rasgos característicos, como el tipo cistadenoideo o el mucoepidermoide, que suele verse

en los carcinomas de las glándulas salivales mayores. La mayoría de los adenocarcinomas son periféricos porque están más allá de los bronquios segmentarios. En consecuencia, es raro ver alteraciones patológicas por obstrucción de bronquios grandes. El adenocarcinoma periférico se propaga por contigüidad siguiendo la pleura visceral, donde produce una desmoplasa de tipo mesoteliomatoso. En cambio, la invasión de la pared torácica no es tan frecuente como en un carcinoma epidermoide como el tumor de Pancoast. Muchos investigadores señalaron con insistencia la íntima relación etiológica con la fibrosis cicatrizal, como infartos viejos, tuberculosis y fibrosis inespecífica de larga data.

Histología. Los rasgos característicos del adenocarcinoma son una proliferación tubular y glandular (acinosa) o papilífera, elabore mucina o no. El adenocarcinoma poco diferenciado está constituido en particular por nidos sólidos de células cancerosas polimórficas con considerable hipercromatosis y alta relación N/C. El tipo poco diferenciado se distingue apenas del carcinoma de células grandes cargado de mucina que antes figuraba aparte en la clasificación de la OMS (1967). Algunos adenocarcinomas poco diferenciados exhiben unas células gigantes grotescas que no se pueden distinguir del carcinoma gigantocelular si en el resto del tumor no hay trama glandular ni papilar. El tipo central de adenocarcinoma muchas veces incluye un carcinoma originado en una glándula bronquial, en el cual se disciernen focos sugestivos de diferenciación de células serosas claras mucoepidermoides que contienen mucina o PAS negativas.

Citología. La tipificación celular del adenocarcinoma se establece por la formación de aglomeraciones celulares tridimensionales. El adenocarcinoma papilífero se basa en la protrusión papilífera de células con focos de profundidades muy distintas. El adenocarcinoma tubular exhibe una aglomeración celular con superposición de los núcleos. El foco no es tan profundo como en el carcinoma papilífero. Un rasgo valioso en tipificación celular es la posición periférica de los núcleos, pero esto se destaca menos a medida que la diferenciación histológica disminuye. La vacuolación del citoplasma, a menos que se verifique el contenido de mucina, no es específica de adenocarcinoma sino que se debe a degeneración celular.

Carcinoma bronquioloalveolar

El carcinoma bronquioloalveolar o carcinoma bronquiolar es un tipo peculiar de adenocarcinoma que puede crecer sin deformar los elementos alveolares ordinarios. El carcinoma bronquioloalveolar representa el 3 a 6% de todos los carcino-

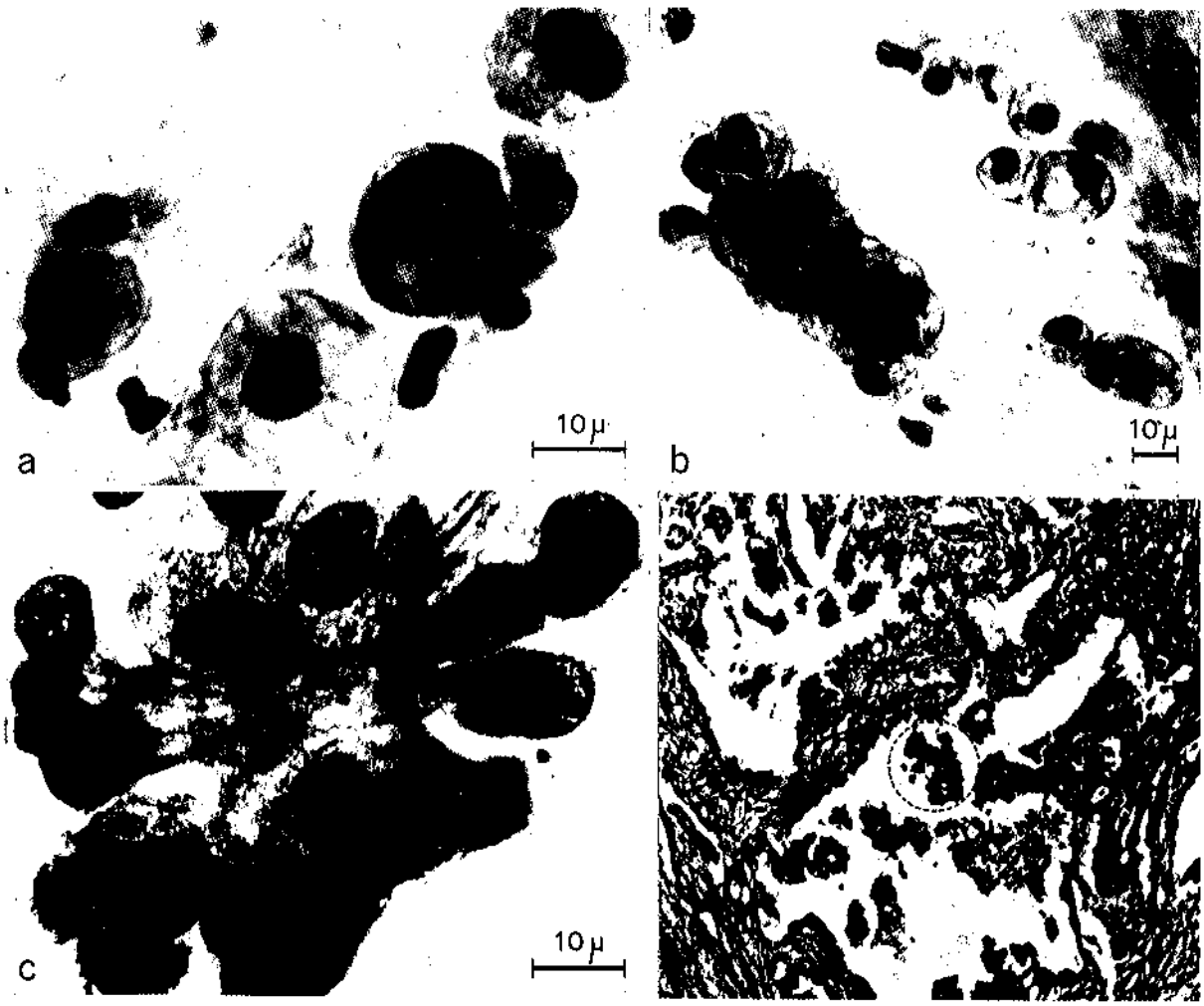


Fig. 616. Características de las células aisladas y aglomeradas del adenocarcinoma diferenciado. *a* y *b*, Vacuolización citoplasmática, contornos celulares nítidos y posición excéntrica de los núcleos en el tipo glandular. *c* y *d*, Aglomeración de células malignas ordenadas en papilas y ácinos, con núcleos muy excéntricos. La histología del adenocarcinoma papilífero confirma la descamación de las células cancerosas en estas aglomeraciones densas (*círculo*).

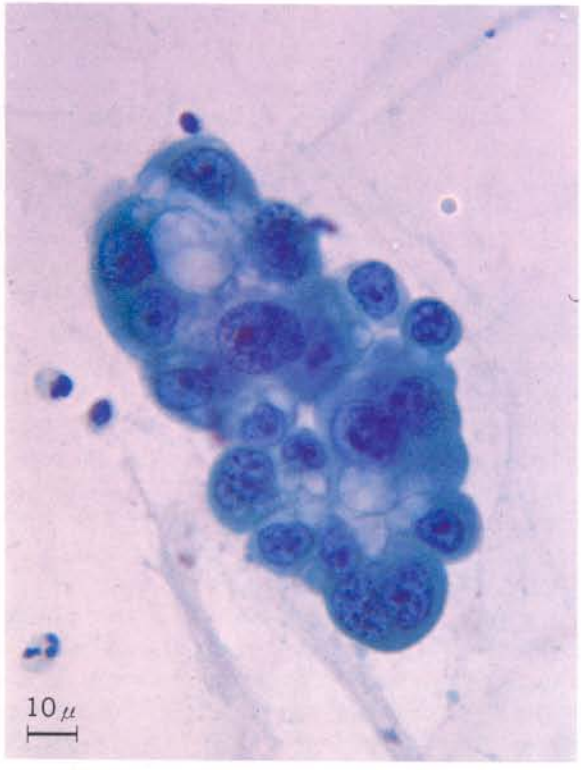


Fig. 617. Células adenocarcinomatosas con su trama tubular característica en el esputo. Densa aglomeración celular dispuesta en torno de un espacio a modo de luz, en un caso de adenocarcinoma tubular diferenciado.

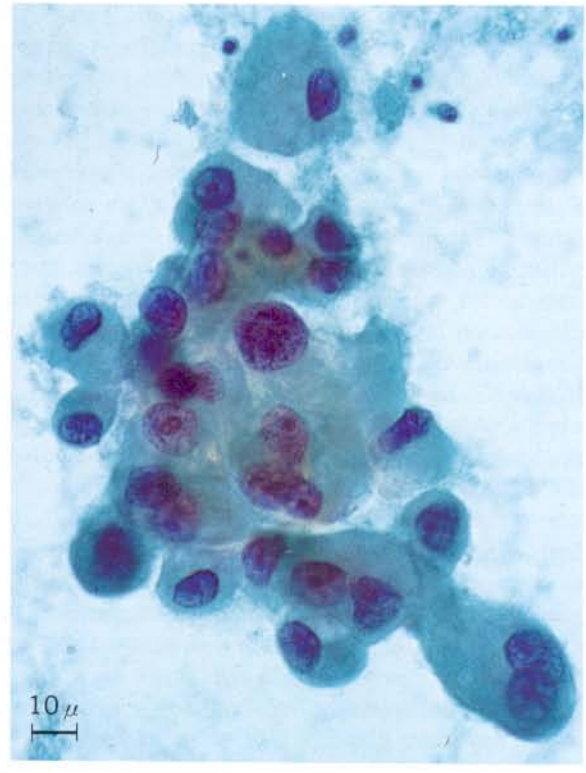


Fig. 618. Aspirado de punción de un adenocarcinoma gigantocelular. Una variedad de adenocarcinoma exhibe considerable agrandamiento nuclear y anisocitosis; esto corrobora la opinión de que el carcinoma gigantocelular es un adenocarcinoma originado en la región periférica.

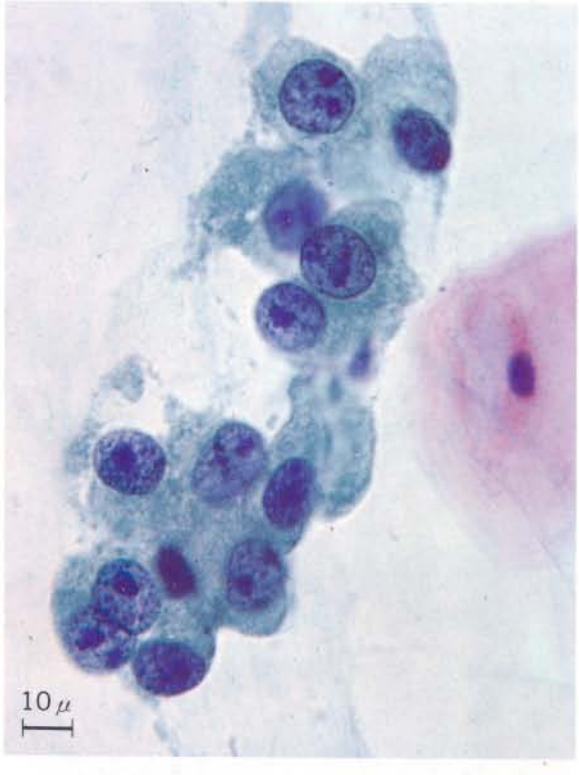


Fig. 619. Células adenocarcinomatosas en el esputo. Aunque estas células no muestran una trama glandular característica, la tipificación celular se puede basar en los siguientes rasgos: 1) prominencia de los nucléolos, 2) núcleos redondos u ovales de contornos lisos y 3) tendencia a aglomerarse.

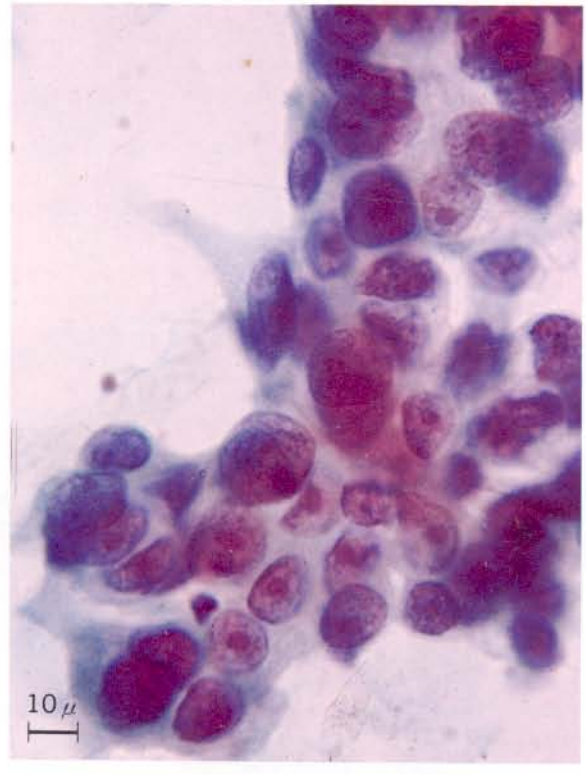


Fig. 620. Células de adenocarcinoma poco diferenciado en un aspirado de punción. El adenocarcinoma poco diferenciado con bordes mal definidos y tingibilidad pálida es difícil de distinguir del carcinoma epidermoide, en especial en el aspirado con aguja. Abonan en favor del adenocarcinoma los siguientes rasgos: 1) considerable superposición de los núcleos, 2) prominencia de los nucléolos, 3) gránulos de cromatina bastante finos y 4) bordes nucleares lisos.

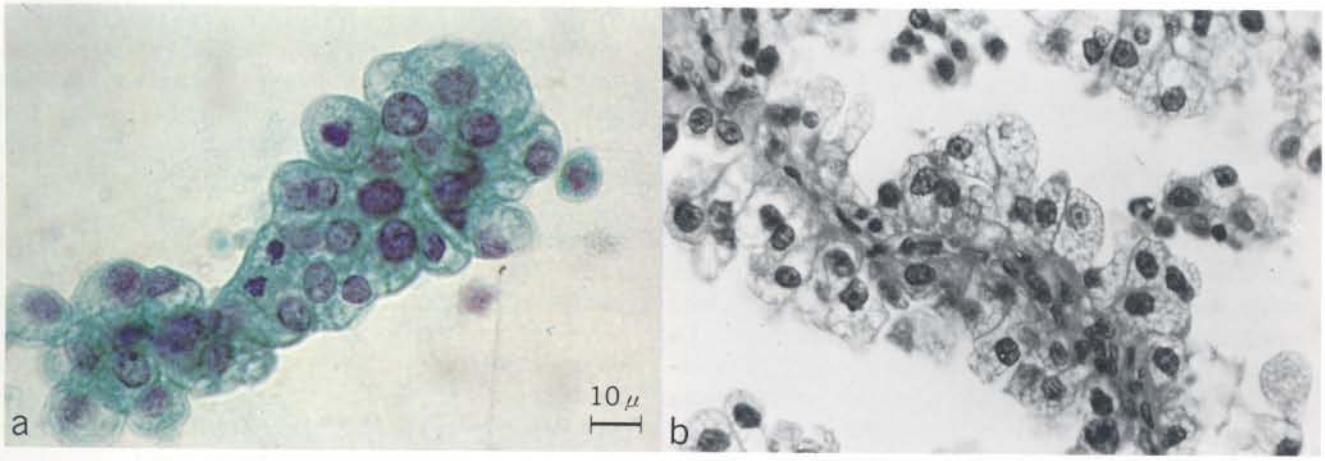


Fig. 623. Carcinoma de células bronquioloalveolares. *a*, Citología del esputo caracterizada por gran cantidad de células aglomeradas en un esputo espumoso. Se ve una figura mitótica. *b*, Histología vista con mayor aumento. Nucléolos prominentes y citoplasma vesiculoso claro.

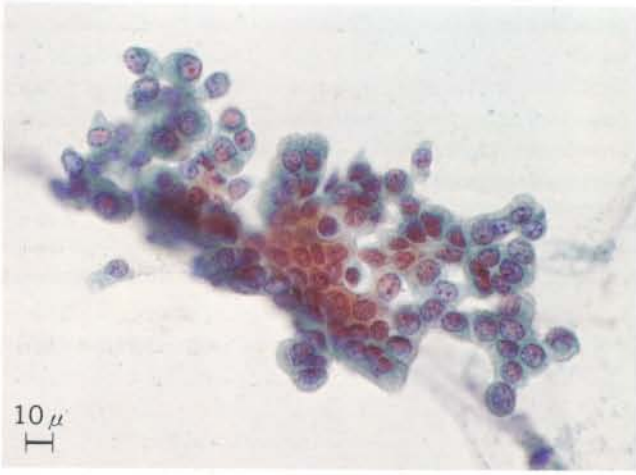


Fig. 624. Aglomeración de células malignas en un aspirado de punción, compatible con carcinoma bronquiolar. Nótese la característica trama papilotubular de la aglomeración de células. Los núcleos son bastante pequeños y de tamaño uniforme.

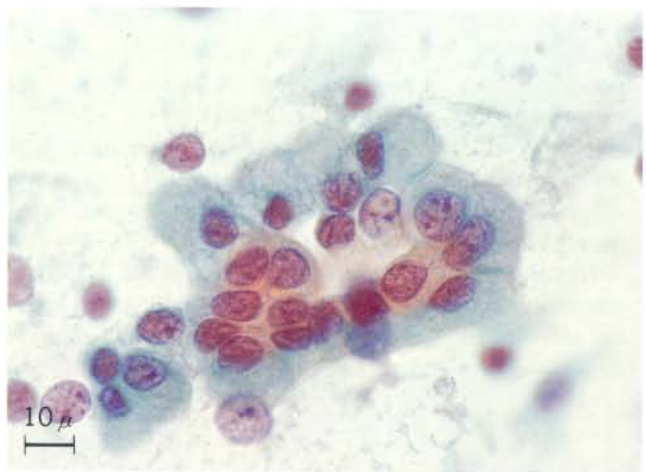


Fig. 625. Células de carcinoma bronquiolar aglomeradas, con su contenido de mucina. Extendido de la figura 624 visto con mayor aumento. Sugieren carcinoma bronquiolar los siguientes detalles: 1) pequeños núcleos en situación basal, 2) abundante citoplasma claro columnar y 3) contenido ocasional de mucina identificable con PAS.

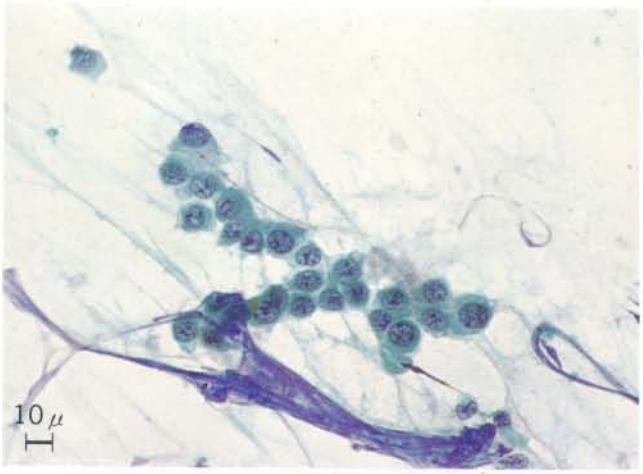


Fig. 626. Aglomeración de células malignas en el aspirado de punción de un carcinoma bronquiolar. Nótese la columna ramificada de pequeñas células cancerosas; esta distribución celular refleja el crecimiento papilífero del carcinoma bronquiolar.

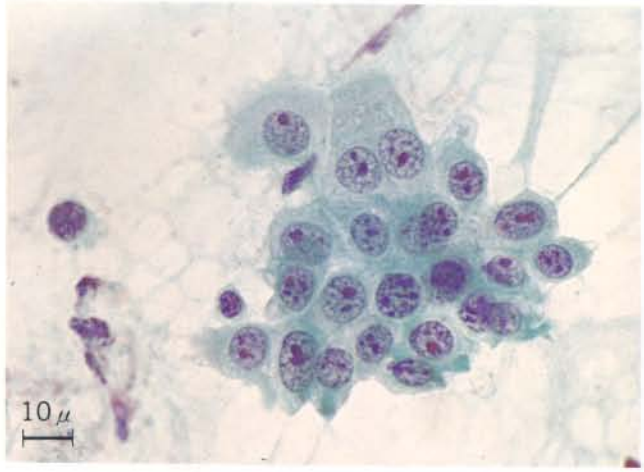


Fig. 627. Lámina sólida de células de carcinoma bronquiolar en un aspirado de punción con aguja. Extendido de la figura 626 visto con gran aumento. Aunque los núcleos son de morfología uniforme y más pequeños que los del adenocarcinoma común, los grumos gruesos de las cromatinas y la prominencia de los nucléolos acidófilos hacen el diagnóstico de malignidad. Nótese la moderada cantidad de citoplasma claro.

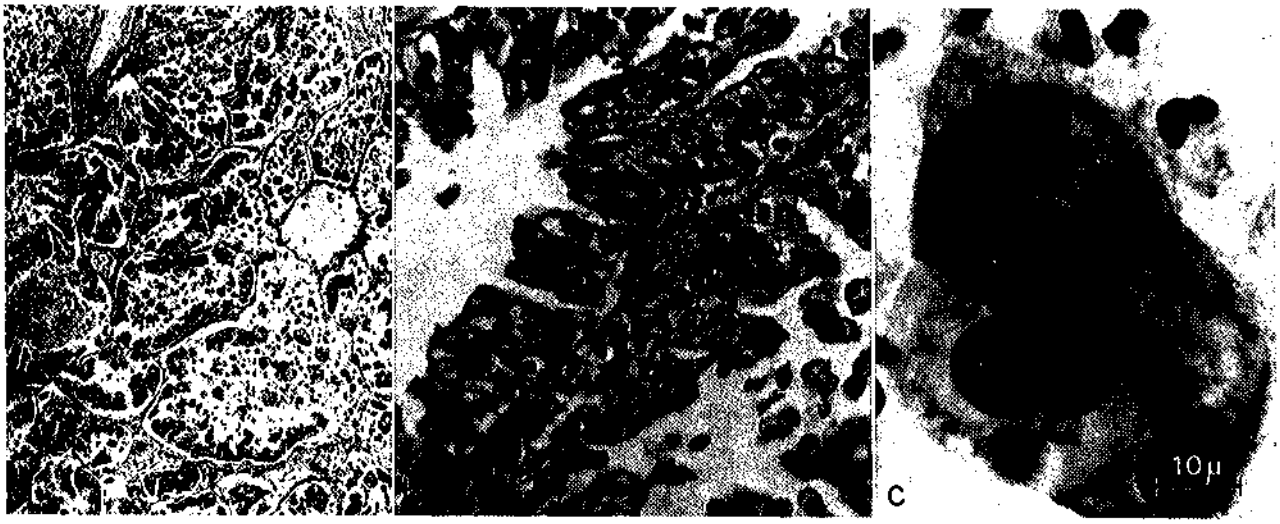


Fig. 628. Carcinoma bronquioloalveolar poco diferenciado y su citología exfoliativa. *a* y *b*, El tumor consiste en células cancerosas columnares polimórficas que se extienden a lo largo de la pared alveolar sin deformar la estructura alveolar fundamental. *c*, Grupo de células cancerosas polimórficas en el esputo. Nótese el abundante citoplasma claro o vacuolado que caracteriza a este tumor.

del carcinoma renal; el citoplasma columnar es tan claro que se lo suele conocer como "carcinoma de células claras".

Carcinoma de células pequeñas

Éste es el más maligno de todos los carcinomas broncógenos y se forma en los bronquios grandes más proximales que los segmentarios. Ocurre con mucha mayor frecuencia en hombres que en mujeres.[202] La mayoría de los pacientes con carcinoma de células claras son grandes fumadores.[176] Auerbach y col. hallaron que el porcentaje de carcinomas de células claras aumenta en relación directa con la intensidad del tabaquismo en hombres menores de 70 años. A pesar de que este tumor predomina en la región hiliar o perihiliar,[179] es raro que algún bronquio grande se obstruya por crecimiento intraluminal, pero, en cambio, ocurre una extensa infiltración del parénquima y también metástasis en órganos distantes. La evidencia de que algunos carcinomas de células pequeñas presentan una trama tubular o una queratinización abrupta suscitó opiniones contradictorias en cuanto a las células originarias. El concepto de que el carcinoma anaplásico de células pequeñas está constituido por células de reserva primitivas, que Marchesani (1924) describiera como "Basalzellenkrebs", ha superado la controversia histológica porque se considera que las células de reserva se pueden diferenciar en células columnares o pavimentosas. Los recientes estudios de microscopia electrónica señalaron la similitud entre las células de avena que poseen gránulos neurosecretorios y las células de Kulchitsky, que están distribuidas en las glándulas bronquiales exocrinas y en las vías aéreas terminales. Bensch y col. son los primeros que mencionan a las células de Kulchitsky como las originarias del carcinoide y del carcinoma de células pequeñas. Hattori y col. destacaron que el carcinoma de células de avena del pulmón era un tipo especial de carcinoide porque posee gránulos argentafines.[177,178,186] Si se presume que el carcinoma de células de avena es una variedad maligna de carcinoide, se deben explicar bien los siguientes hechos: 1) La distribución por edades es más alta para el carcinoma de células de avena que para el carcinoide,[184] 2) la relación entre hombres y mujeres es unas cuatro veces mayor para el carcinoma de células de avena que para el carcinoide, 3) al carcinoma que produce metástasis a distancia no se lo puede considerar carcinoma de células de avena ni una forma intermedia entre carcinoide y carcinoma de células de avena, y 4) el carcinoma de células de avena no contiene gránulos argentafines.

La histología del carcinoma de células pequeñas se caracteriza por una infiltración masiva de células cancerosas anaplásicas intersectadas en nidos o cordones por un tejido estromal fibrovascular. Aunque no se ve ninguna estructura organoide, muchas veces aparece una empalizada en la periferia de los nidos celulares densamente apretados. Aunque a la microscopia se ven cambios degenerativos, es inusual la necrosis en masa que origina cavitación macroscópica. Hay considerable invasión linfática y el compromiso masivo de los ganglios linfáticos regionales es bastante más evidente que el tumor primario. En la actualidad a los subtipos que había propuesto la Comisión de la OMS (1967) –carcinoma fusocelular, carcinoma de células poligonales, carcinoma de tipo linfocitoide y otros– se los clasifica en linfocitoides o de células de avena, y en un tipo intermedio.

a) Tipo linfocitoide (células de avena). Las células cancerosas de tipo linfocitoide poseen unos pequeños núcleos hipercromáticos de tamaño y forma muy variables. El citoplasma es muy escaso. Aunque contienen varios micronucléolos basófilos, a menudo se los interpreta erróneamente como cromocentros.

b) Tipo de células intermedias. Este tipo está constituido por células poligonales de núcleos un tanto más grandes, poliédricos e hipercromáticos en los que se disciernen uno o dos nucléolos acidófilos. Existe regular cantidad de citoplasma basófilo y de bordes indistintos.

c) Tipo combinado. Este tercer subtipo es el carcinoma de células de avena que comprende una diferenciación parcial a carcinoma epidermoide o a adenocarcinoma.

Citología. Las células cancerosas son pequeñas y redondas, semejantes a linfocitos, fusiformes o poligonales. Lo mismo que en la subclasificación histológica del carcinoma

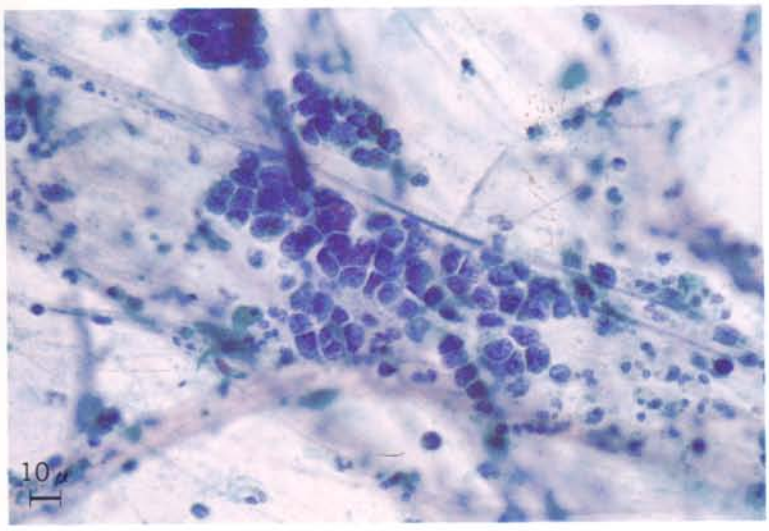


Fig. 629. Células carcinomatosas pequeñas en el esputo, vistas con poco aumento. Las células expectoradas del carcinoma anaplásico de células pequeñas son similares a las linfocitoides. Si aparecen células agrupadas con núcleos poliédricos se debe considerar ante todo el carcinoma de células pequeñas o de células de avena.

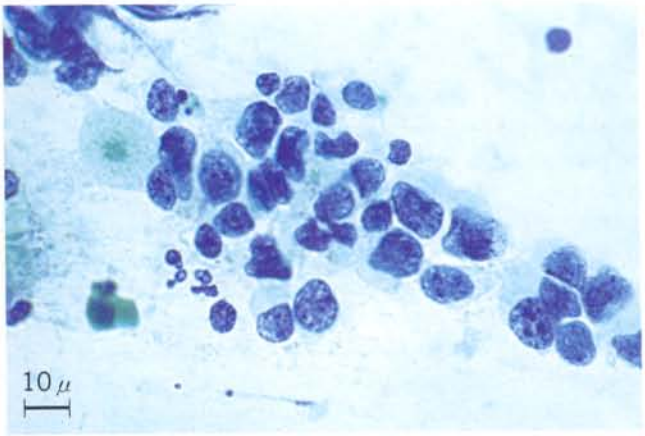


Fig. 630. Células carcinomatosas pequeñas bien preservadas de tipo células de avena en un cepillado bronquial. Los núcleos poliédricos casi denudados exhiben grumos gruesos de cromatina. Es frecuente encontrar formas nucleares irregulares. Los nucléolos son inconspicuos.

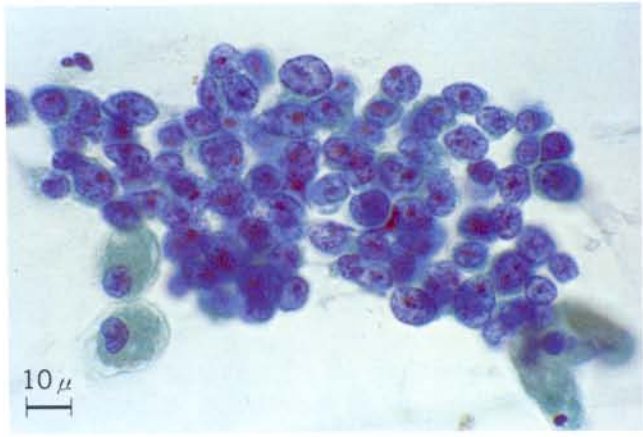


Fig. 631. Células carcinomatosas pequeñas bien preservadas de tipo intermedio en un cepillado bronquial. A pesar de que los núcleos se conservan bien, el citoplasma se ve pocas veces. El tipo intermedio posee núcleos más grandes que el de células de avena y contiene nucléolos identificables. La tendencia a formar aglomeraciones sugiere diferenciación glandular parcial.

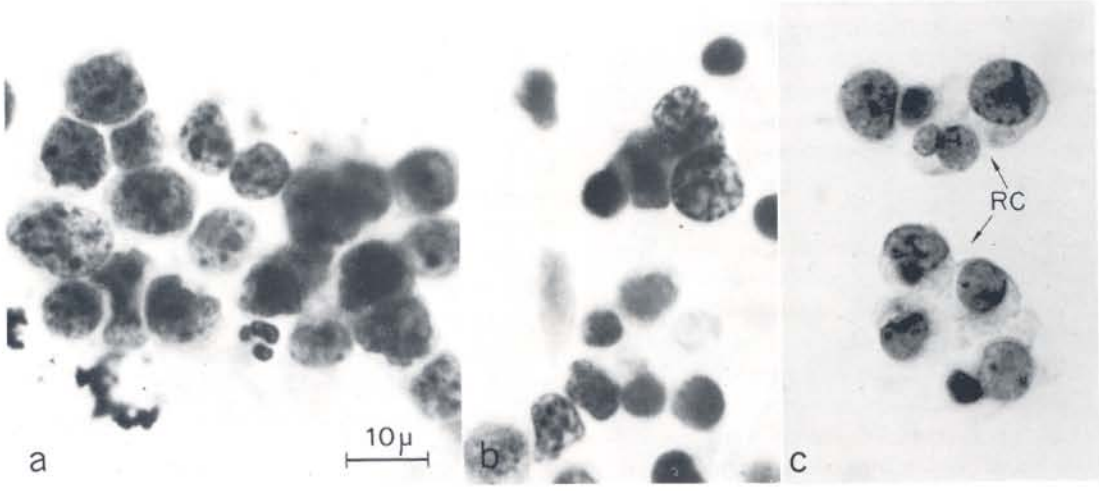


Fig. 632. Criterios para distinguir entre células malignas indiferenciadas y células basales hiperplásicas. En el carcinoma de células de avena (*a* y *b*) el núcleo mide unos 8 a 10 μ de diámetro y es apenas más grande que el de las células de reserva hiperplásicas (*RC*), pero los núcleos de las células malignas pequeñas presentan moderada variación de tamaño y en ocasiones una configuración angular. El criterio más importante es su trama de cromatina: en las células malignas indiferenciadas pequeñas la cromatina en grumos gruesos está separada por espacios claros, mientras que en las células de reserva hiperplásicas con hipercromatismo puede haber una cromatina opaca y de aspecto homogéneo.

de células pequeñas, existen por lo menos dos variedades que se clasifican por su citomorfología de acuerdo con el tamaño de los núcleos y la prominencia de los nucléolos. El tipo intermedio, que corresponde al celular poligonal, se distingue por sus núcleos más grandes y sus nucléolos más prominentes, mientras que el tipo linfocitoide se caracteriza por unos núcleos linfocitoides pequeños que poseen unos nucléolos basófilos que simulan cariosomas. En vista de que el tipo intermedio tiene una sobrevida algo más prolongada que el linfocitoide, es necesario tener en cuenta esta subclasificación para poder establecer el pronóstico.

Las células pueden aparecer en el esputo como una masa similar a la linfoide porque tienen núcleos picnóticos. Es necesario observar las variaciones de tamaño y forma de los núcleos para poder diferenciarlos de las células linfoides (fig. 633).

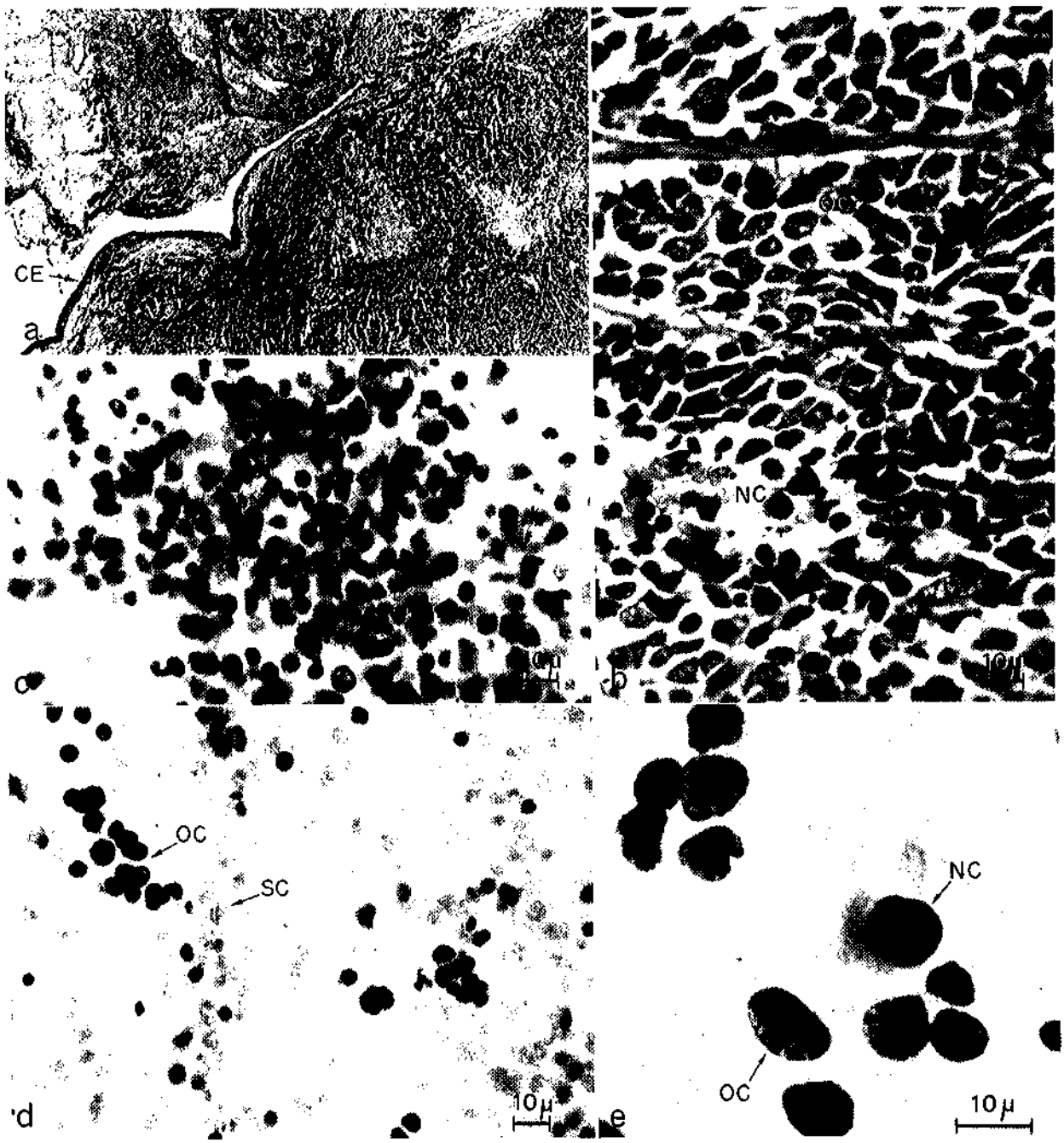


Fig. 633. Histología del carcinoma de células de avena y sus células exfoliadas en el esputo. *a*, El carcinoma de células de avena o de células pequeñas, que suele originarse en un bronquio principal, infiltra con unas láminas masivas de células cancerosas densamente aglomeradas (*Ca*). En ocasiones este tumor se expone dentro de la luz bronquial (*Br*) y desprende abundantes células malignas. *CE*, Epitelio columnar ciliado. *b*, Este tumor muy anaplásico tiende a degenerar y exhibe células necróticas con picnosis nuclear en el centro de los nidos de células cancerosas (*NC*). Estas células son similares a linfocitos grandes y pueden pasar inadvertidas en el esputo. En cambio, las células de avena en proliferación activa presentan unos núcleos angulares o poligonales, con grumos gruesos de cromatina (*OC*). *c*, Masiva cantidad de células de avena en grupos celulares laxos en el esputo. *d* y *e*, Una vez que se sospecha carcinoma de células de avena es relativamente fácil ir seleccionando las células de avena bien preservadas en el campo con poco aumento (*OC*). Las células conservan la trama de cromatina maligna con aglomeraciones gruesas. El diagnóstico no se debe basar en células necróticas similares a células linfoides (*NC*). Las células fantasmas se deben a la degeneración avanzada (*SC*). Nótese la diferencia entre las células de avena que forman aglomeraciones laxas y las células linfomatosas aisladas en forma individual.

Carcinoma de células grandes

Este carcinoma indiferenciado se caracteriza por nidos sólidos de células cancerosas sin evidencias de epidermización ni de formación de estructuras glandulares. Los siguientes subtipos son los que ha clasificado el Centro Internacional de Referencia de la OMS para la Definición y Clasificación Histológica de los Tumores de Pulmón:

i) Tumores sólidos con sustancias mucinoides: Contienen algunas concreciones positivas para la reacción del ácido peryódico-Schiff, mucicarmín y azul alciano o verde alciano.

ii) Tumores sólidos sin sustancias mucinoides.

iii) Carcinoma gigantocelular: Este tipo peculiar se designó primero como un carcinoma indiferenciado (Nash y Stout, 1958) y se sabe que da abundantes metástasis y ocurre en la periferia a edades relativamente menores.[12] La *histología* de este tumor es pleomórfica, pues contiene células gigantes grotescas y se parece al rabdomiosarcoma. En ocasiones el tumor contiene sustancias PAS positivas[60] y su comportamiento clínico es muy similar al del adenocarcinoma broncógeno.[42,77] Aunque este tumor figura en el grupo 4, carcinoma de células grandes de la clasificación de la OMS, por convención se lo distingue del carcinoma de células grandes.

Citología. Las células tumorales gigantes se exfolian solas o en grupos sueltos, y se diagnostican con exactitud por sus rasgos característicos.[22] El tamaño y la morfología de los núcleos son variables, y a menudo se presentan multinucleados o multilobulados. Hay una abundante cromatina distribuida en una trama granular o reticular gruesa. La reacción tintorial del citoplasma es pálida, cianófila y a menudo vesiculosa. En los extendidos citológicos no se observa la presunta actividad fagocitaria del carcinoma gigantocelular, que en los últimos tiempos se interpreta como emperipolesis de una célula tumoral por otra célula tumoral.[164] Recuérdese que la formación gigantocelular ocurre en algunas condiciones ambientales como irradiación, infección viral y tensión disminuida de oxígeno.[164] De vez en cuando, desde que del Castillo (1941) describiera tres pacientes con carcinoma

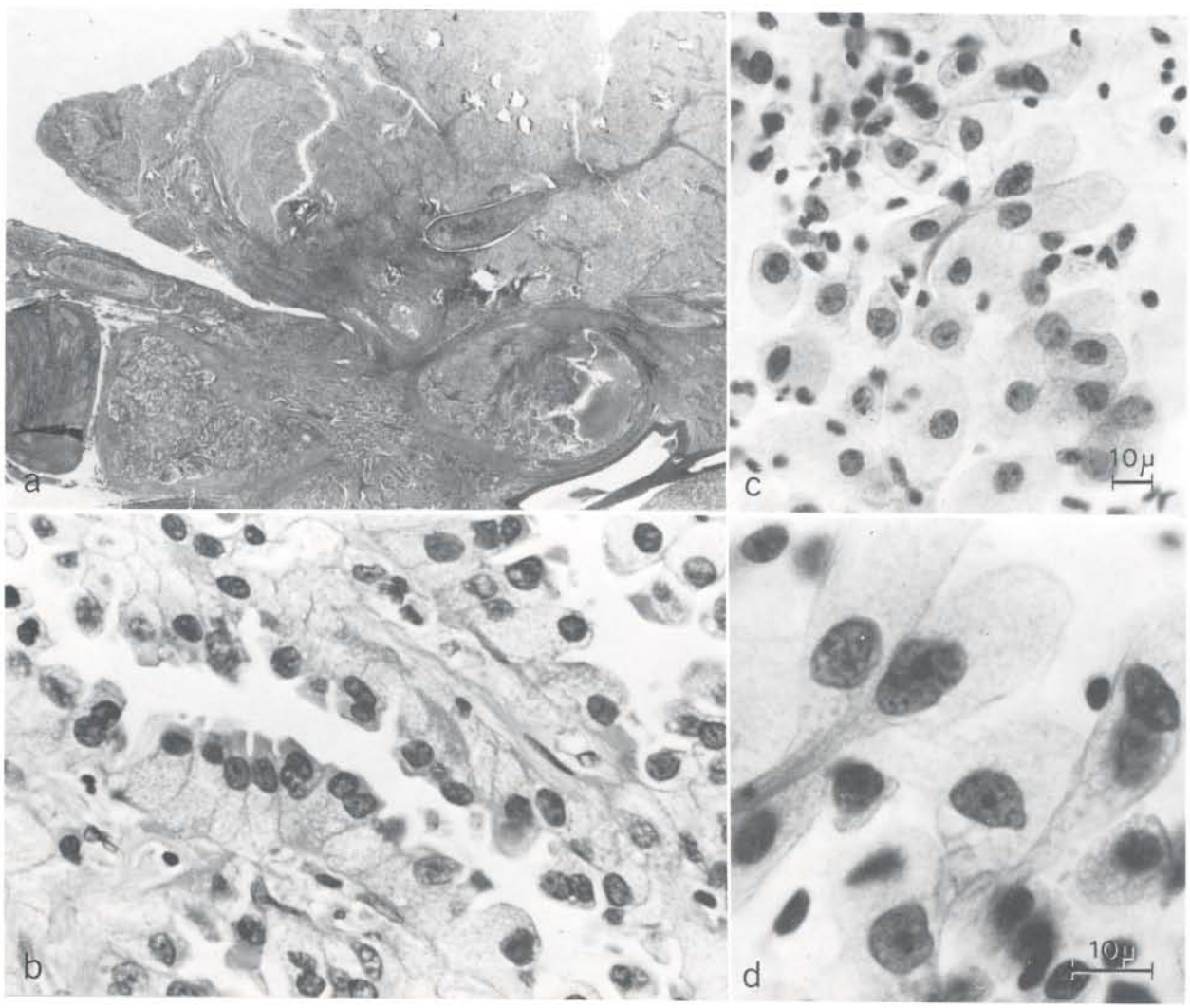


Fig. 634. Adenocarcinoma de células claras y su citología exfoliativa. *a*, Tumor exofítico que sobresale dentro del bronquio principal. Este tumor se originaría en la glándula bronquial o en el epitelio de su conducto. *b*, Visto con mayor aumento, el tumor se caracteriza por células cancerosas claras como agua, dispuestas en trabéculas. *c* y *d*, Células malignas de citoplasma claro en los extendidos del esputo.

broncógeno y ginecomastia, se menciona otro peculiar tumor gigantocelular que secreta gonadotrofina; la histogénesis se atribuye a desdiferenciación de células multipotentes en el bronquíolo distal.[164] Es probable que los rasgos histológicos de estos tumores gigantocelulares que elaboran gonadotrofina correspondan a los de los tumores trofoblásticos.[30,44] Nosotros tuvimos dos casos de tumor de células germinativas extragenitales que primero se había diagnosticado como tumor gigantocelular por sus grotescos núcleos gigantes en el extendido de la punción aspiradora (fig. 641).[56] Para decidir que un carcinoma de pulmón es gigantocelular se deben descartar diversos factores que producen células tumorales gigantes.

iv) Carcinoma de células claras. En vista de que este carcinoma carece de un carácter citológico definido, no se lo puede distinguir del adenocarcinoma poco diferenciado ni del carcinoma pavimentoso poco diferenciado. Algunos criterios confiables para hacer la tipificación celular son la textura suelta de las aglomeraciones celulares, el citoplasma acuoso de contornos celulares indistintos, el rico contenido de glucógeno y la alta relación nuclear-citoplasmática (fig.

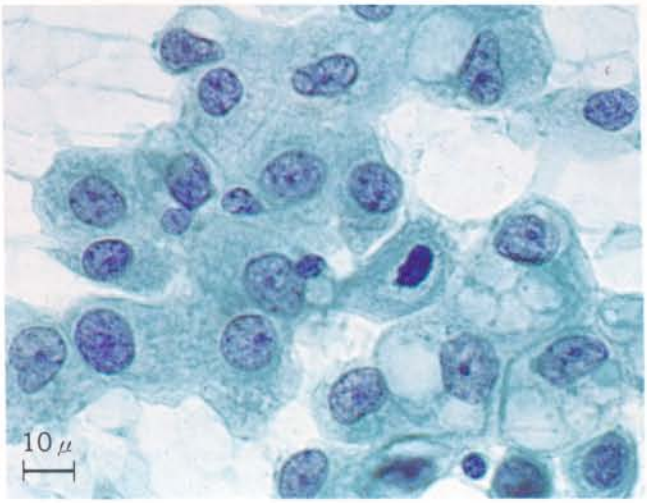
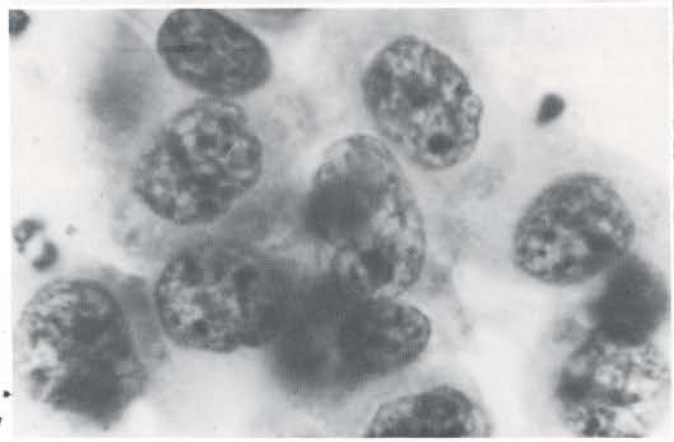


Fig. 635. Impresión de carcinoma de células claras bien preservadas. El citoplasma es abundante y adquiere una coloración tenue con el verde claro. A la microscopia electrónica este citoplasma claro era rico en glucógeno. Para obtener la demostración citoquímica de glucógeno es importante la tinción PAS con digestión con diastasa.

636



637





638

Fig. 636. Células carcinomatosas grandes poco diferenciadas en el extendido de un raspado. Estas células pertenecen a un caso de carcinoma pavimentoso poco diferenciado. El citoplasma es pálido, basófilo, escaso y poco definido. Los núcleos se delinean con irregularidad y son muy tingibles. La cromatina está condensada en gruesas riendas.

Fig. 637. Células malignas grandes poco diferenciadas en el extendido de un raspado. Estas células pertenecen a un caso de adenocarcinoma poco diferenciado. La superposición nuclear y la prominencia de los nucléolos son un tanto sugestivas del tipo glandular, pero se las clasificó como tipo de células grandes indiferenciadas por rasgos como el citoplasma débilmente basófilo, los bordes celulares borrosos y las aglomeraciones celulares sueltas.

Fig. 638. Carcinoma anaplásico de células grandes. Esto es un nido sólido de células tumorales que a veces contiene sustancias intracitoplasmáticas mucinoides que dan reacción PAS positiva. *Nota*: A menudo a las células cancerosas originadas en estos carcinomas pavimentosos y adenocarcinomas tan poco diferenciados se las clasifica en la misma categoría que al tipo de células grandes indiferenciadas. Esta falla es inevitable en tipificación citológica.

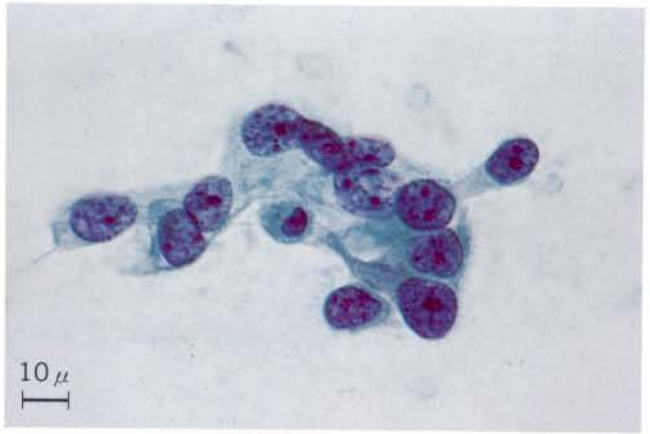


Fig. 639. Grandes células carcinomatosas indiferenciadas en una aglomeración suelta. Los rasgos importantes del carcinoma de células grandes son: 1) moderada cantidad de citoplasma anfótero mal definido, 2) alta relación N/C, 3) cromatinas en grumos gruesos, 4) nucléolos acidófilos prominentes y 5) láminas celulares laxas.

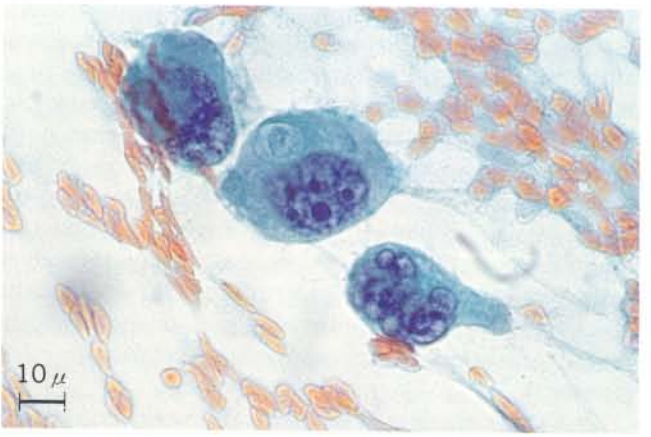


Fig. 640. Carcinoma gigantocelular indiferenciado en aspirados de punción. Puntos diferenciales: 1) gran variación del tamaño nuclear junto con multinucleación, 2) nucléolos múltiples y 3) inclusiones intracitoplasmáticas.

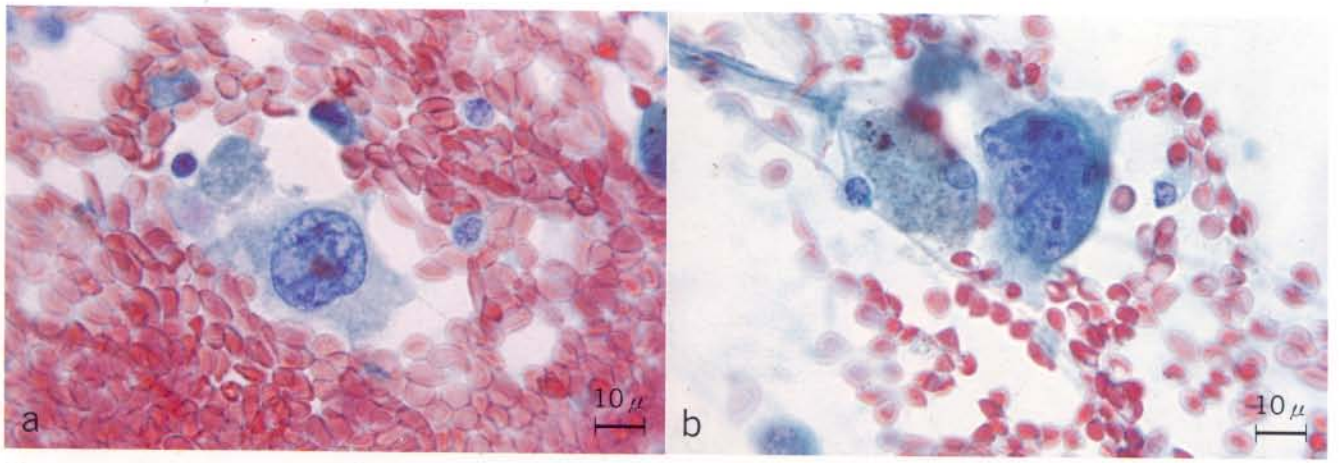


Fig. 641. Grandes células carcinomatosas indiferenciadas en la punción aspiradora de un coriocarcinoma extragenital del pulmón. El citodiagnóstico de carcinoma de células grandes indiferenciado se corrigió por el de coriocarcinoma extragenital productor de hCG al hacerse el examen histológico tras la lobectomía. *a*, Una célula maligna trofoblástica exhibe un nucléolo prominente y un citoplasma mal definido. *b*, Multinucleación en una célula maligna del sincitio trofoblasto. El citoplasma escaso está mal delineado.

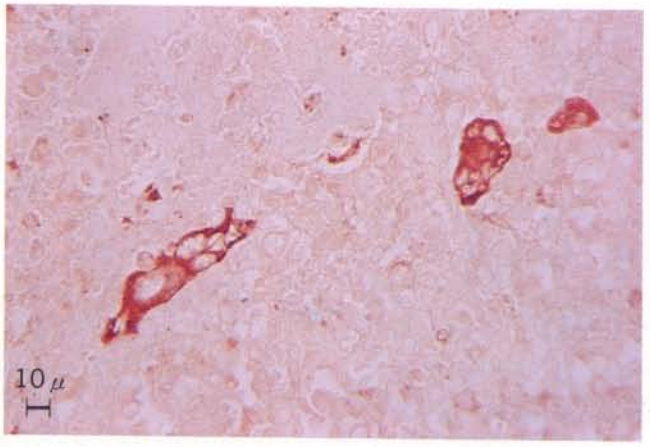


Fig. 642. Demostración de gonadotrofina coriónica humana con la técnica de los anticuerpos enzimáticos en el caso de la figura 641. Debemos señalar que no todas las células cancerosas producen hCG.

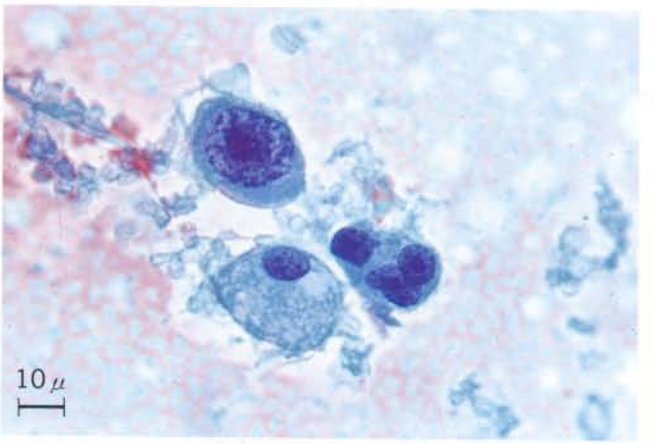


Fig. 643. Célula germinativa maligna en la punción aspiradora de un seminoma metastásico. La célula germinativa mononuclear se caracteriza por un núcleo redondeado enorme y un nucléolo central.

635); esto último es importante para distinguirlo del carcinoma de células renales metastásico.

Linfoma maligno

La propagación del linfoma al pulmón suele ocurrir desde los ganglios linfáticos del mediastino o como metástasis verdaderas.[36,129,160] El linfoma maligno primario se mencionó raras veces[123,167,174] porque es difícil distinguirlo del compromiso pulmonar de la enfermedad sistémica, en que suelen estar tomados los ganglios linfáticos de diversas partes del cuerpo. De los tres tipos de linfoma maligno, el linfosarcoma es el más común en el pulmón[14,136] y sigue una evolución clínica mejor que los otros.[14,35] En vista de que el linfoma maligno se origina en el tejido linfoide peribronquial, la mucosa bronquial puede erosionarse y esto permite hacer la detección citológica mediante citología del esputo o del cepillado. Según Dawe y col.,[31] que estudiaron 82 casos de linfoma maligno comprobados con histología, sólo se diagnosticaron 9 (10,9%), pero no se ofreció ninguna interpretación sobre las características citológicas de las células linfomatosas. De todos los tipos de linfoma, a pesar de que la citología del esputo está fuera del alcance para subclasificar el linfoma no Hodgkin, el de células pequeñas es la variedad más común y comprende el seudolinfoma (Saltzstein[136]) y la neumonía intersticial linfocitaria (Carrington y Liebow[26]), que se asocia con una disproteinemia como macroglobulinemia monoclonal o gammopatía monoclonal.

Linfoma no Hodgkin. Las células linfomatosas descamadas en el esputo aparecen solas y casi denudadas; las membranas nucleares no son gruesas, sino nítidas y plegadas en parte. Existen uno o dos nucléolos paracentrales prominentes con acidofilia. En ocasiones es característico encontrar nucléolos múltiples dispuestos en cuentas de rosario en los casos de neoplasia linforreticular. La trama de cromatina, consistente en partículas de cromatina punteadas, no es tan condensada como la del carcinoma de células pequeñas y se halla dispersa con uniformidad. La cariorrexis y los restos necróticos no son tan pronunciados como en el carcinoma de células pequeñas.

Diferenciación entre seudolinfoma y linfosarcoma. Como en el seudolinfoma se forman folículos linfáticos con centros germinativos verdaderos, la presencia de germinoblastos y de reticulocitos que exhiben fagocitosis (la llamada imagen en cielo estrellado[66]) es un hallazgo digno de mención. La mezcla de variable cantidad de células inflamatorias, entre ellas plasmocitos, eosinófilos e histiocitos, sugiere seudolinfoma, pero esto también se observa en los curetajes transbronquiales y en los aspirados con aguja porque el epitelio bronquial o bronquiolar se preserva intacto a pesar de la compresión que ejerce el infiltrado linfocitario subepitelial. Sobre la base de la investigación de laboratorio, la asociación con disproteinemia sugiere una forma difusa de seudolinfoma o de neumonía intersticial linfocitaria (NIL) (figs. 651 a 653).[81,100,101]

Bronquiectasia folicular infecciosa. Recuérdese que la bronquiectasia folicular se suma a una diversidad de cuadros citopatológicos que simulan linfoma, porque la infiltración subepitelial por células linfoides puede hacer que se exfolien células linfoides que se deben diferenciar de las linfomatosas. La bronquiectasia folicular crónica afecta a los niños antes de la pubertad, cuando sufren un episodio de infección respiratoria. La pared bronquial está engrosada por un infiltrado linfocitario masivo con hiperplasia de los centros germinativos (fig. 651). Al erosionarse la mucosa se descaman células linfoides maduras e inmaduras, mezcladas con neutrófilos.

Enfermedad de Hodgkin. La subclasificación de la enfermedad de Hodgkin en *predominio linfocitario, celularidad mixta, esclerosis nodular* y *depleción linfática*, se basa estrictamente en el cuadro histológico. Suprun y Koss[146] describieron una tasa de diagnósticos del 29,7% y comentaron los rasgos distintivos de esta enfermedad. Las células de Reed-Sternberg que caracterizan a la enfermedad, contienen núcleos multilobulados o multinucleados con nucléolos acidófilos (imagen en ojos de búho). El citoplasma es pequeño a moderado, un tanto basófilo y de bordes borrosos. El diagnóstico de los otros linfomas se debe basar en el cuadro celular en general, en particular en las células predominantes, sean de tipo linfocitario o de tipo histiocitario.

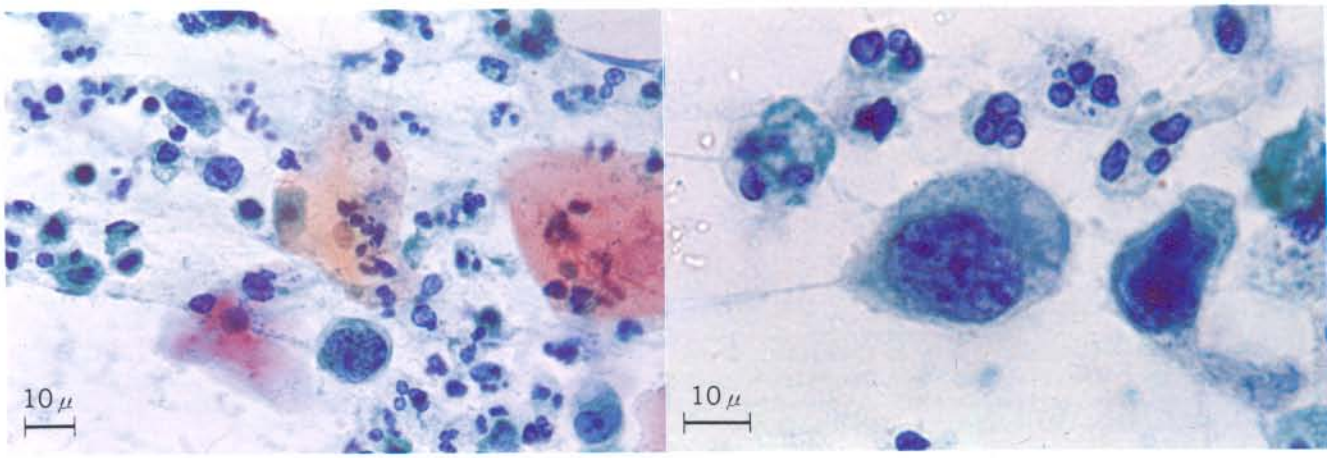


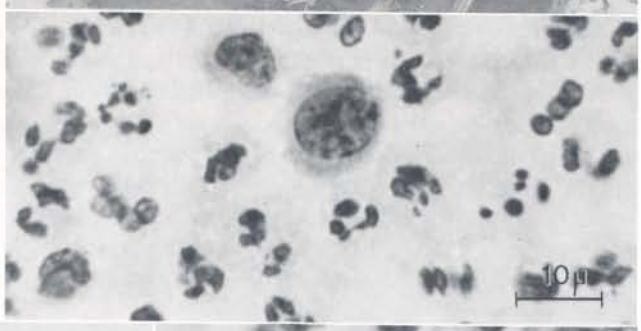
Fig. 644. Células de linfoma histiocitario en el esputo. Células linfomatosas descamadas en forma individual y sin trama organoide. Los grandes núcleos hipercromáticos poseen nucléolos prominentes; éstos parecen abalorios y a menudo son múltiples. El citoplasma, que existe en moderada cantidad, es vacuolado.



645 a



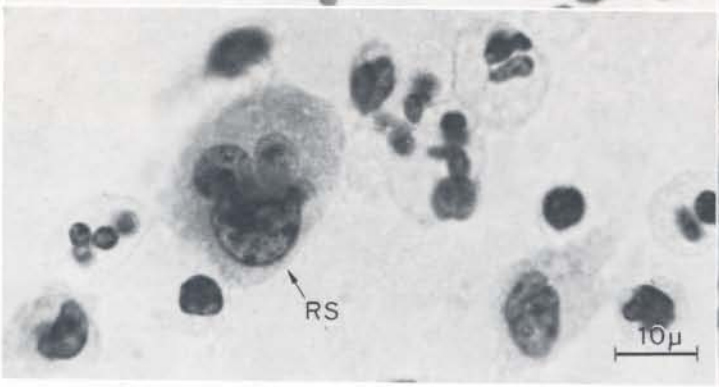
645 b



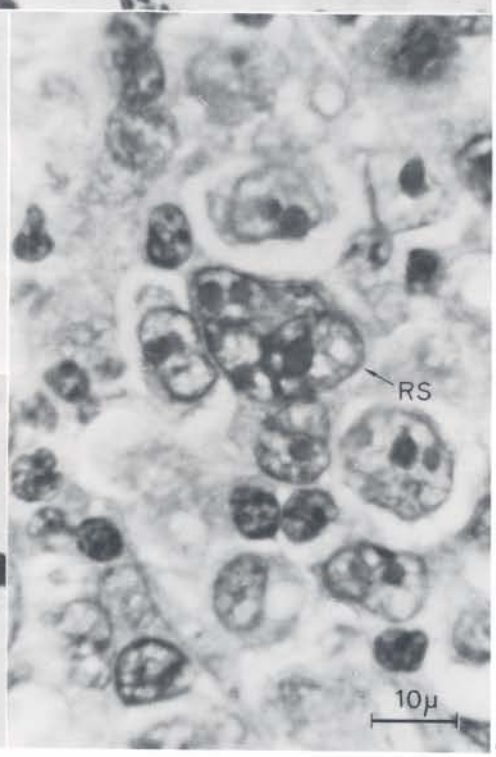
645 c



646 a



646 b



647

Fig. 645 (a y b). Linfoma maligno –linfosarcoma– que crece en torno del bronquio principal. En la pieza macroscópica el tumor es homogéneo, de color gris rosado pálido y de aspecto medular. Este tumor exhibe crecimiento expansivo a simple vista. *c, Célula maligna sugestiva de linfosarcoma.* Esta célula atípica del esputo tiene un núcleo redondo y vesiculoso relativamente pequeño. El citoplasma es escaso y mal definido. Nótense el contorno nuclear nítido y delicado y el punteado grueso de las partículas de cromatina.

Fig. 646 (a y b). Células malignas en el esputo de un caso de enfermedad de Hodgkin. Las células mononucleadas y multinucleadas similares a la célula de Reed-Sternberg de la figura 647 (*RS*) son importantes en citodiagnóstico. Estos núcleos contienen unos nucléolos acidófilos prominentes. El borde nuclear es nítido y moderadamente grueso. Existen espacios claros entre el borde nuclear y las condensaciones de cromatina y/o los nucléolos.

Fig. 647. Histología del granuloma de Hodgkin. Nótense la célula de Reed-Sternberg (*RS*) característica y las células mononucleadas de Hodgkin.



Fig. 648. Células linfomatosas linfoblásticas en el esputo. Las células linfosarcomatosas semejan células cancerosas pequeñas anaplásicas. Estas células no forman aglomeraciones sino que aparecen en grupos simples. Puntos diferenciales: 1) Las células linfomatosas están diseminadas en forma individual. Esta imagen difiere del carcinoma de células de avena, que tiende a formar aglomeraciones laxas. 2) Los contornos nucleares son irregulares; las membranas nucleares clivadas, indentadas o lobuladas son distintivas.

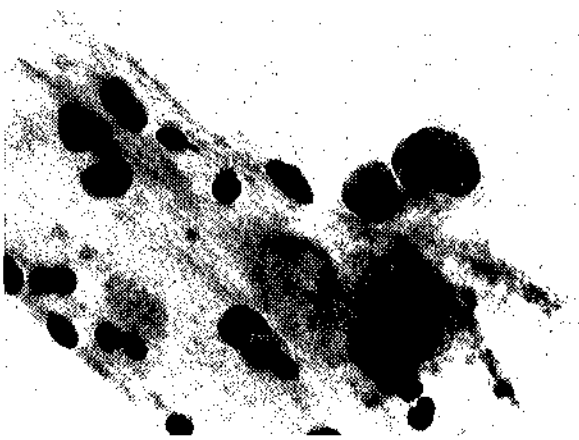


Fig. 649. Célula mononuclear de Hodgkin en un raspado bronquial. Nótese un nucléolo acidófilo prominente y la membrana nuclear fina y delicada. Los detalles nucleares son los mismos que en las células de Reed-Sternberg.

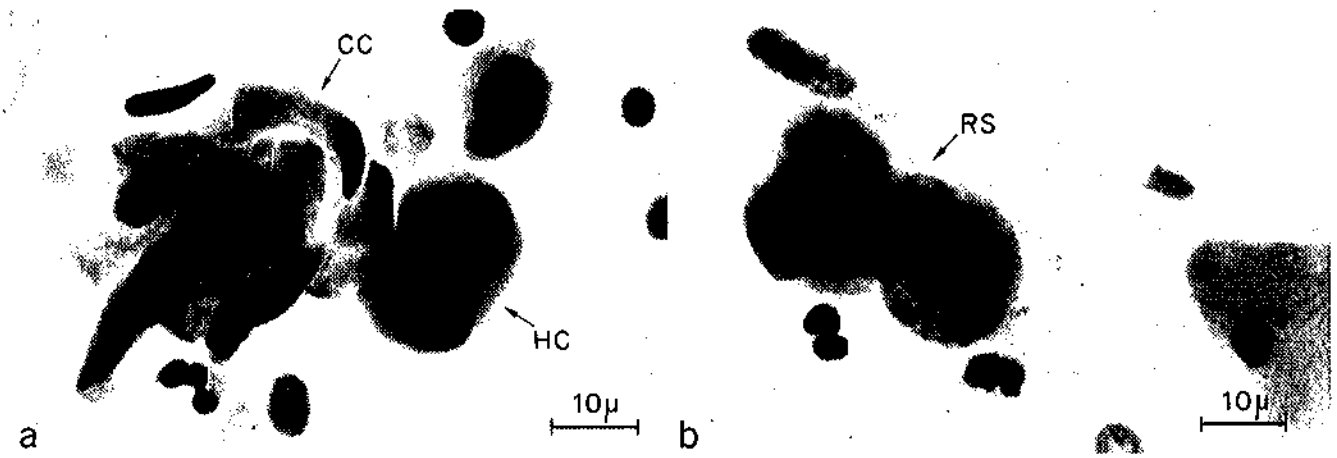


Fig. 650. Células gigantes de Reed-Sternberg en extendidos de un raspado bronquial. *a*, Célula de Reed-Sternberg binucleada con su "imagen especular" típica. *HC*, célula de Hodgkin; *CC*, células columnares ciliadas. *b*, Célula gigante de Reed-Sternberg (*RS*) característica que exhibe multinucleación o multilobulación con nucléolos acidófilos prominentes. Esto hace el diagnóstico de enfermedad de Hodgkin.

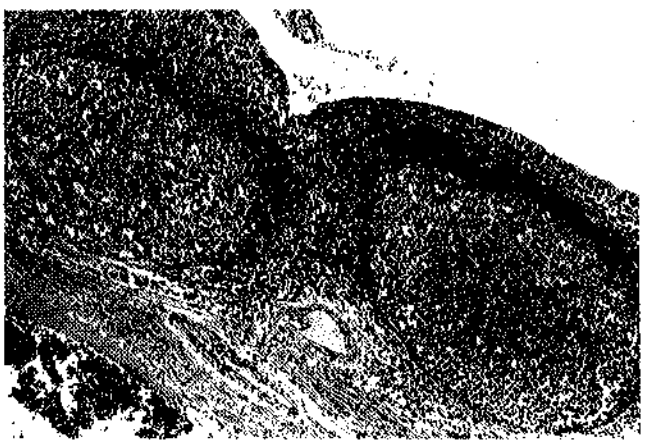


Fig. 651. Bronquiectasia folicular infecciosa que exhibe una pared bronquial engrosada por infiltración masiva de células linfoides. Esta mujer de 37 años se quejaba desde hacía muchos años de tos productiva con esputo sanguinolento por bronquiectasia. Existe considerable hipertrofia de los centros germinativos.

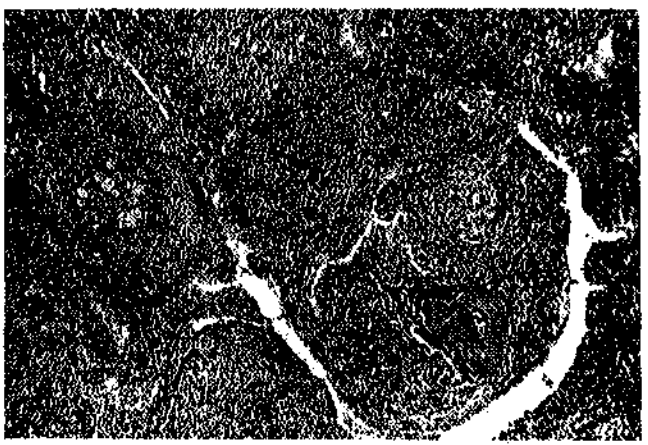


Fig. 652. Neumonitis intersticial linfoide en una biopsia de pulmón a cielo abierto. Este hombre de 49 años que tenía una erupción cutánea desde hacía 3 años presentó unas opacidades nodulares difusas en una radiografía de tórax. El cuadro se asociaba con hiperproteinemia (10,8 g/100 ml) y considerable gammapatía policlonal (IgG 5,54 g/100 ml; IgA 1,38 g/100 ml; IgM 0,96 g/100 ml). En la biopsia a cielo abierto se encontraron abundantes nódulos del tamaño del pulpejo de un meñique. Nótese la infiltración masiva de las paredes peribronquiales y alveolares por linfocitos y plasmocitos, junto con hiperplasia de los centros germinativos.

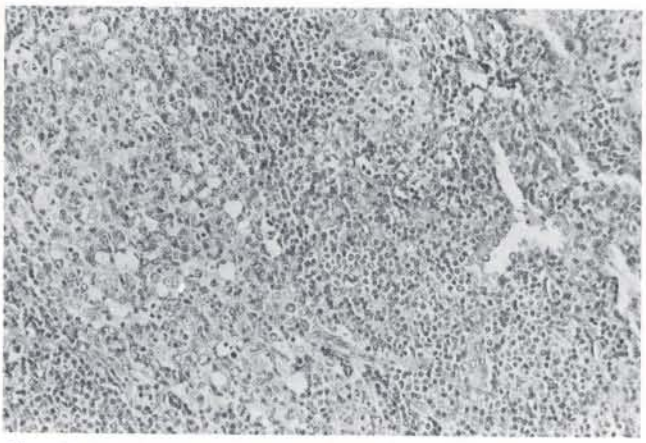


Fig. 653. Neumonitis intersticial linfoide vista con mayor aumento. El infiltrado celular masivo consiste en linfocitos maduros e inmaduros y en plasmocitos. Existe un centro germinativo hiperplásico.

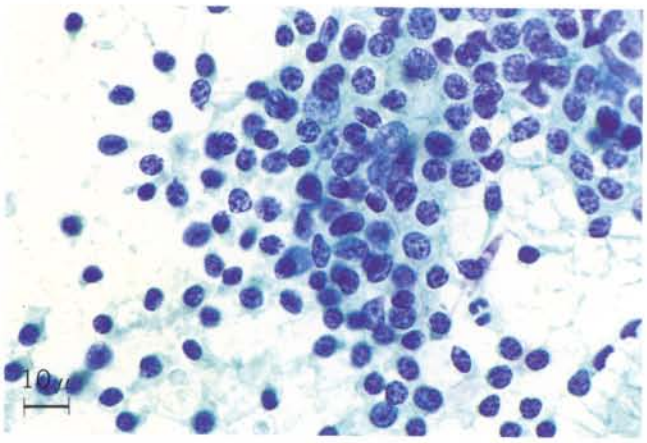


Fig. 654. Linfocitos activados en un cepillado bronquial de un seudolinfoma. La citología se caracteriza por una mezcla de linfocitos grandes con cromatinas punteadas y linfocitos picnóticos maduros.

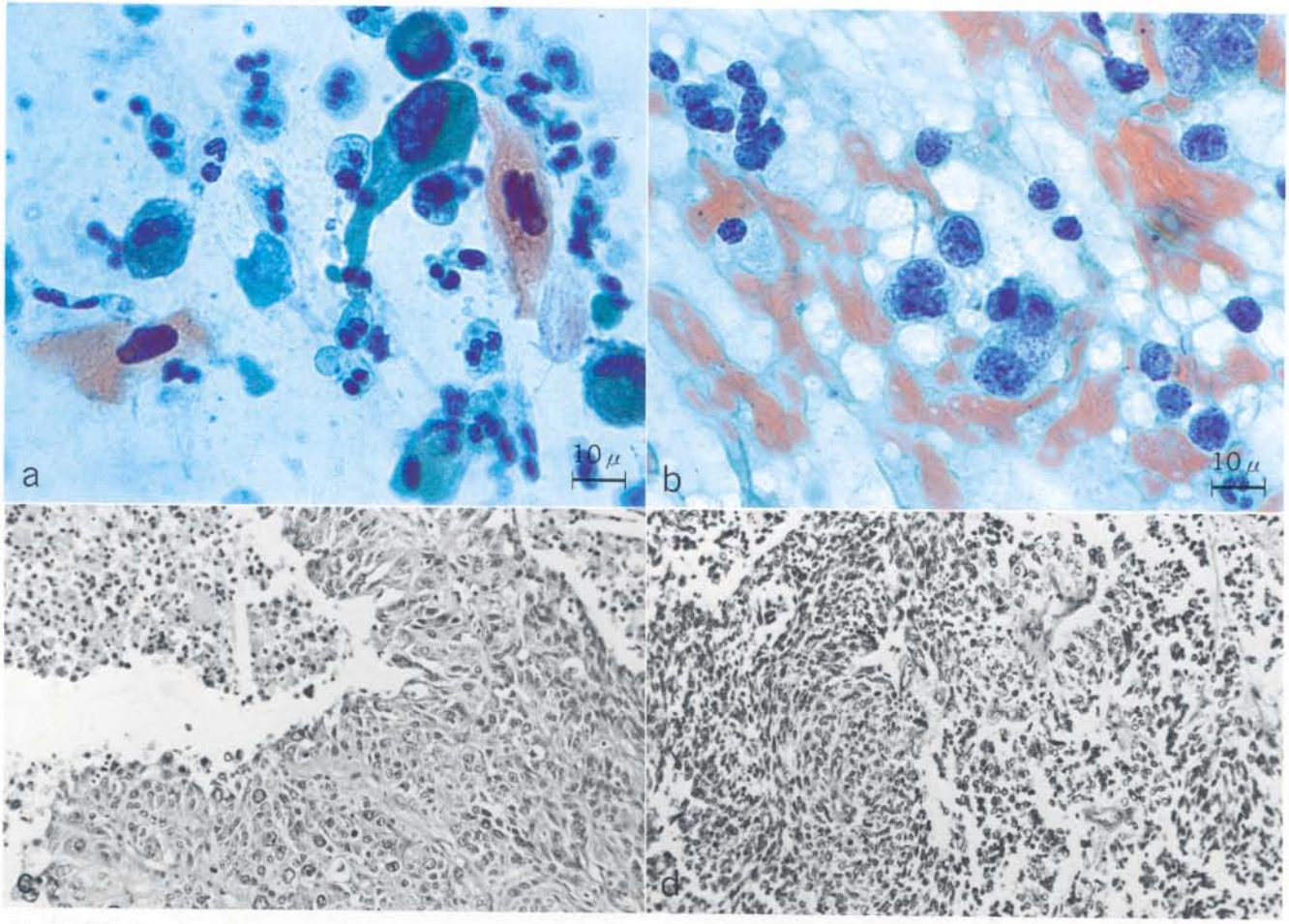


Fig. 655. Triples cánceres con cánceres pulmonares duales y cáncer gástrico sincrónico. *a*, Carcinoma epidermoide en la citología del esputo. *b*, Células de avena metacrónicas en la citología del esputo. *c*, Carcinoma epidermoide sincrónico del pulmón derecho. A este hombre de 57 años se le hizo gastrectomía por adenocarcinoma gástrico intramucoso dos meses antes de una lobectomía curable del lóbulo medio derecho, a partir del cual se expectoraban células de cáncer epidermoide (*a*). *d*, Carcinoma de células de avena metacrónico del pulmón derecho. Al año y medio de las operaciones anteriores (gastrectomía y lobectomía derecha) el paciente empezó a tener expectoración hemoptoica y se descubrieron células de avena (*b*). La punción aspiradora confirmó el tercer carcinoma en el lóbulo superior derecho. En la necropsia se encontraron metástasis en los ganglios linfáticos con los respectivos tipos histológicos distintos.

Carcinoma combinado y carcinoma dual

El epitelio bronquial tiene potencial para experimentar metaplasia. Son fenómenos muy comunes la metaplasia pavimentosa del epitelio superficial y del epitelio canalicular de las glándulas bronquiales y la metaplasia adenomatosa de los neumocitos tipo II en torno de la fibrosis cicatrizal en los bronquíolos terminales. No es infrecuente encontrar diversos grados de diferenciación o distintos tipos de diferenciación en el mismo tumor; a menudo se ve una forma combinada de cáncer, como adenopavimentoso y de células pequeñas junto con epidermoide.

En sentido estricto, los carcinomas duales se definen de acuerdo con los siguientes criterios: 1) tumores bien separados de tipos histológicos distintos, 2) metástasis de cada tipo histológico, 3) ausencia de carcinomas primarios extrapulmonares que poseen tipos histológicos similares, 4) localizaciones anatómicas distintas de carcinomas sincrónicos o metacrónicos, y 5) distintas líneas clonales. Desde el punto de vista citológico, la mezcla de células cancerosas de tipos diferentes en el esputo no basta para distinguir entre carcinoma combinado y carcinoma dual, porque ambos pueden ocurrir al mismo tiempo.[24,120] A los efectos de confirmar los carcinomas duales se debe recoger la muestra de ambas partes mediante cepillado selectivo o aspiración con aguja, para determinar tipos celulares malignos diferentes. La diferencia de las líneas clonales se puede estimar con un análisis cromosómico o midiendo el DNA con microespectrofotometría de Feulgen.

Blastoma y carcinosarcoma de pulmón

Este tumor raro, el blastoma pulmonar, que se origina en células multipotentes primitivas, se caracteriza por un elemento celular epitelial que tiene una trama tubular o glandular primitiva y un componente mesenquimático sarcomatoso masivo de tipo embrionario. Por este rasgo histológico varios autores consideraron que este tumor es un carcinosarcoma.[9]

La microscopia electrónica, que confirmó la existencia de células epiteliales y mesenquimáticas primitivas con potencial para diferenciarse en células del epitelio bronquial y en condrocitos, sería favorable al concepto de carcinosarcoma.[94] Sin embargo, las células epiteliales adenomatosas que están incluidas en hendiduras dentro de un estroma sarcomatoso denso, poseen un citoplasma columnar vacuolado. Este rasgo no se semeja a un carcinosarcoma, sino que se parece a un tejido bronquiolar fetal que se denomina embrioma.[71] El comportamiento biológico del blastoma que ocurre en la periferia y crece con lentitud, también difiere del carcinosarcoma. Spencer[143] invocó el concepto de Waddell[162] (1949) para explicar que la parte respiratoria distal del pulmón se origina en un tejido mesoblástico inducible a partir del equivalente pulmonar del nefroblastoma renal. Aunque estas formas no se critican independientemente de los aspectos clinicopatológicos de la clasificación de la OMS,[190] el carcinosarcoma difiere del blastoma embrionario en que su localización es central, en el hecho macroscópico de que crece como lesión polipoide y en que su pronóstico es peor y da metástasis a distancia. La histología del componente epitelial del carcinosarcoma suele ser pavimentosocelular y el tipo glandular, si ocurre, no difiere del tejido pulmonar fetal. El concepto del cambio sarcomatoso del estroma en el cáncer de este tumor (Willis, 1960[203]) se desvirtúa porque en las metástasis aparecen los componentes carcinomatoso y sarcomatoso al mismo tiempo.

Citología. De acuerdo con la reseña de 21 blastomas pulmonares realizada por Karcioglu y Someren,[68] 15 casos tuvieron

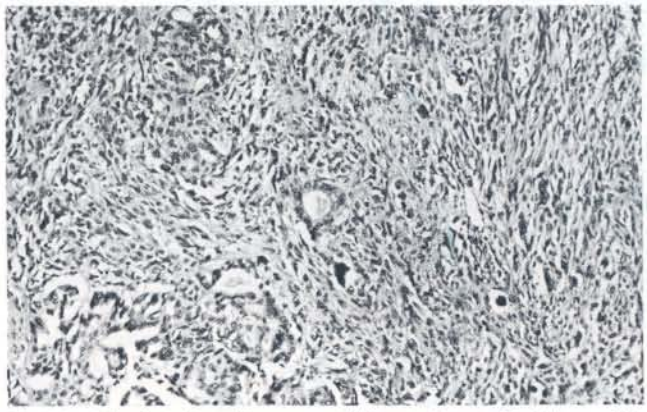


Fig. 656. Histología de un blastoma o embrioma pulmonar. En el denso tejido sarcomatoso se reconoce tejido bronquiolar fetal.

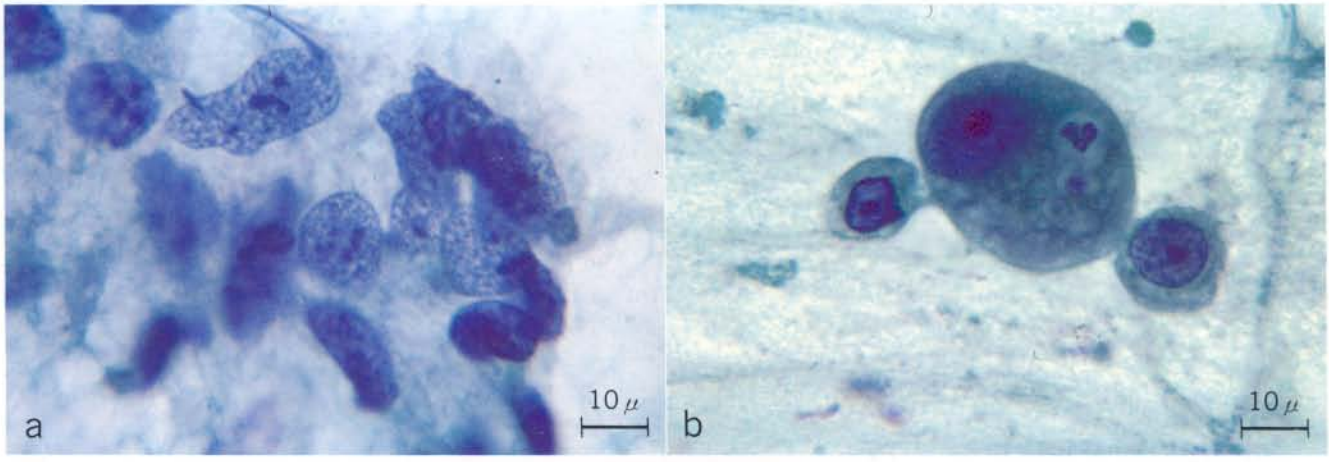


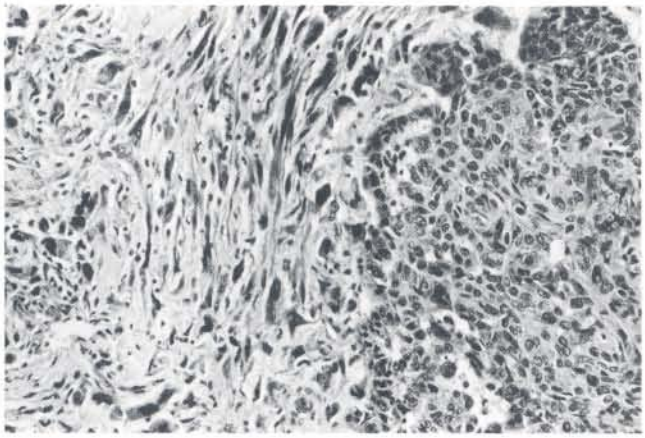
Fig. 657. Citología del blastoma pulmonar en un aspirado de punción. *a*, Componente mesenquimático con núcleos elongados de membranas nucleares finas y delicadas, y una trama de cromatina acintada y suave. Como el componente mesenquimático es un tipo fibroblástico monótono, no se puede hacer con citología el diagnóstico diferencial entre blastoma y carcinosarcoma pulmonar. *b*, Componente glandular con núcleos redondos y nucléolos prominentes.

hemoptisis y/o tos productiva, pero no se describió la respectiva citología del esputo. Mainecke y col.[97] describieron un caso de citología positiva derivado de un componente adenocarcinomatoso. La localización periférica del tumor indica que se lo puede aspirar con aguja fina. La aguja hipodérmica no se presta para obtener suficiente muestra porque predominan los elementos celulares mesenquimáticos. La citología del blastoma pulmonar se caracteriza por la coexistencia de unos núcleos fusiformes como los de los fibroblastos, con una membrana nuclear delicada, y células epiteliales glandulares, aunque en raros casos aparecen células cancerosas. El carcinosarcoma se distingue por dos componentes de células fibrosarcomatosas fusiformes y cancerosas pavimentosas, con queratinización o sin ella. Sólo se puede hacer el diagnóstico de certeza cuando en el extendido aparecen células malignas pavimentosas y mesenquimáticas.

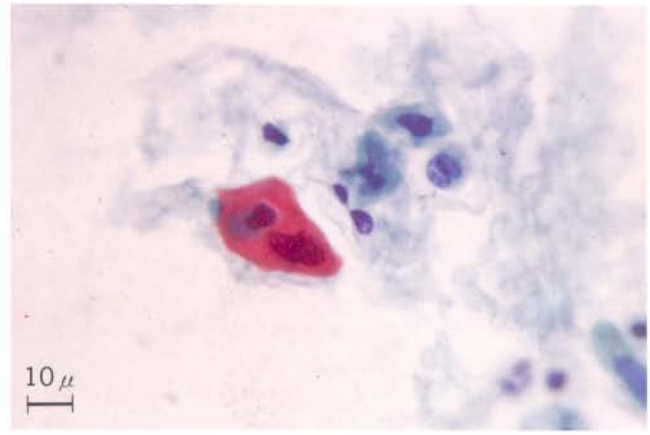
12. Alteraciones citopatológicas en los grandes fumadores

Se sabe que el hábito de fumar cigarrillos induce hiperplasia de células caliciformes, hiperplasia de células basales, metaplasia pavimentosa y displasia del epitelio bronquial (cuadro 63). El grado de estas alteraciones atípicas aumenta de manera proporcional a la intensidad del tabaquismo y el hábito intenso y persistente induciría carcinoma *in situ* del epitelio bronquial.

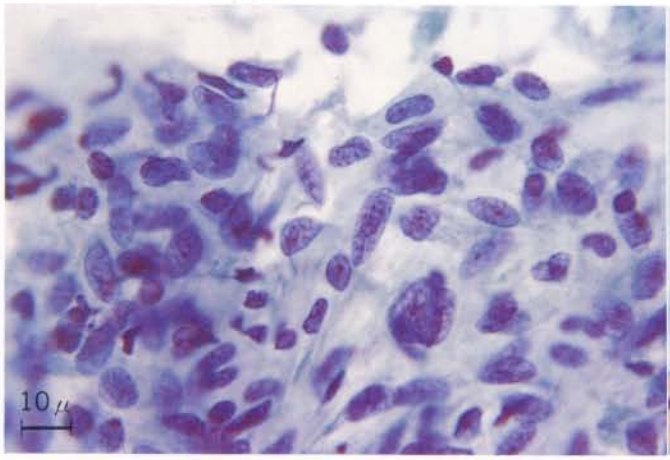
En el tabaquismo intenso también se afecta el epitelio bronquiolar. Ebert y Terracio[33] observaron disminución de las células de Clara, pero un considerable aumento de la cantidad de células caliciformes que elaboran un mucopolisacárido ácido tenaz. Nosotros confirmamos esto en muestras de esputo y también en biopsias realizadas con el broncofibroscopio. Las muestras de esputo pertenecieron a empleados ferroviarios sanos mayores de 40 años y fumadores, que hacían su visita para el control de salud física anual. Los portaobjetos, extendidos directamente con el primer esputo de la mañana, se estudiaron con la tinción de Papanicolaou. El grado de tabaquismo se agrupó de acuerdo con un índice de cigarrillos representado por la cantidad media de cigarrillos fumados por día, multiplicado por los años de tabaquismo. La muestra se pudo obtener bien sin necesidad de inducir la expectoración con aerosol. Cualquiera que fuese el índice de cigarrillos, siempre se encontró aumento de células caliciformes, metaplasia pavimentosa y disquerato-



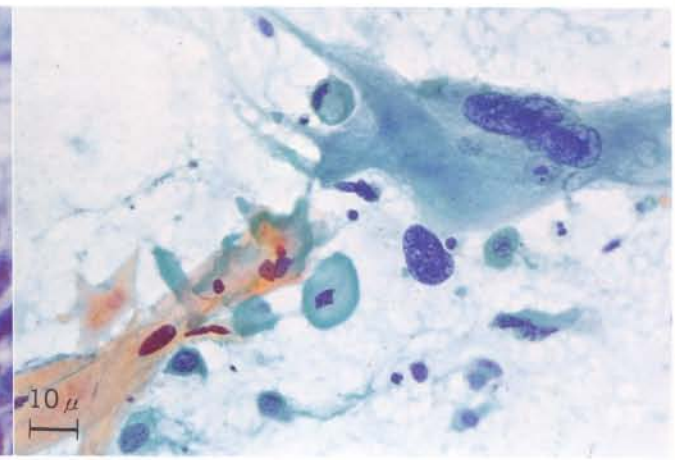
658



659 a



659 b



659 c

Fig. 658. Histología del carcinosarcoma. Dos componentes hísticos consistentes en carcinoma epidermoide poco diferenciado en un nido sólido y en un sarcoma fusocelular.

Fig. 659. Citología del carcinosarcoma en una biopsia transbronquial y citología de impresión. Carcinosarcoma de un tumor polipoide que sobresale dentro del bronquio segmentario B_6 derecho. El tumor consiste en células carcinomatosas epidermoides diferenciadas y células sarcomatosas pleomórficas. *a*, Componente epitelial con una célula cancerosa queratinizante picnótica. *b*, Componente mesenquimático obtenido como fragmento de tejido. Las células tumorales fusiformes están dispuestas con irregularidad. Los finos bordes nucleares y las cromatinas finamente granulares señalan la índole de las células mesenquimáticas. *c*, Aparecen combinadas una célula carcinomatosa pavimentosa queratinizante y células sarcomatosas.

vo de carcinoma *in situ* con invasión incipiente del estroma o no. Aunque la reacción tintorial del citoplasma varía desde el verde azulado hasta el anaranjado intenso, son frecuentes las células disqueratósicas con citoplasma refringente. En vista de que las células cancerosas expectoradas provienen de la frágil capa superficial, muchas aparecen solas y muy teñidas. Antes de emprender la intervención quirúrgica es imprescindible hacer citología del cepillado selectivo 1) para verificar el carcinoma epidermoide incipiente, que se caracteriza por consistir en pequeñas células malignas de tipo parabasal o basal y pequeñas células picnóticas disqueratósicas, y 2) para confirmar la localización de la lesión. La citología reviste particular importancia en los casos en que la lesión no se ve a la broncoscopia y no se pueden hacer punciones biopsias múltiples para localizar la lesión. En consecuencia, a medida que avanza la invasión neoplásica, el polimorfismo celular se destaca más y aparece diátesis tumoral.

14. Carcinoide y cilindroma bronquial

Aspecto general

Existe un grupo de tumores que crecen con lentitud y que era tradicional agruparlos como adenoma bronquial; este grupo consiste en tumores carcinoides, cilindromas, tumores mucoepidermoides, etc. Alrededor del 85 a 90% de los adenomas bronquiales son carcinoides de tipo central. Aunque al carcinoi-

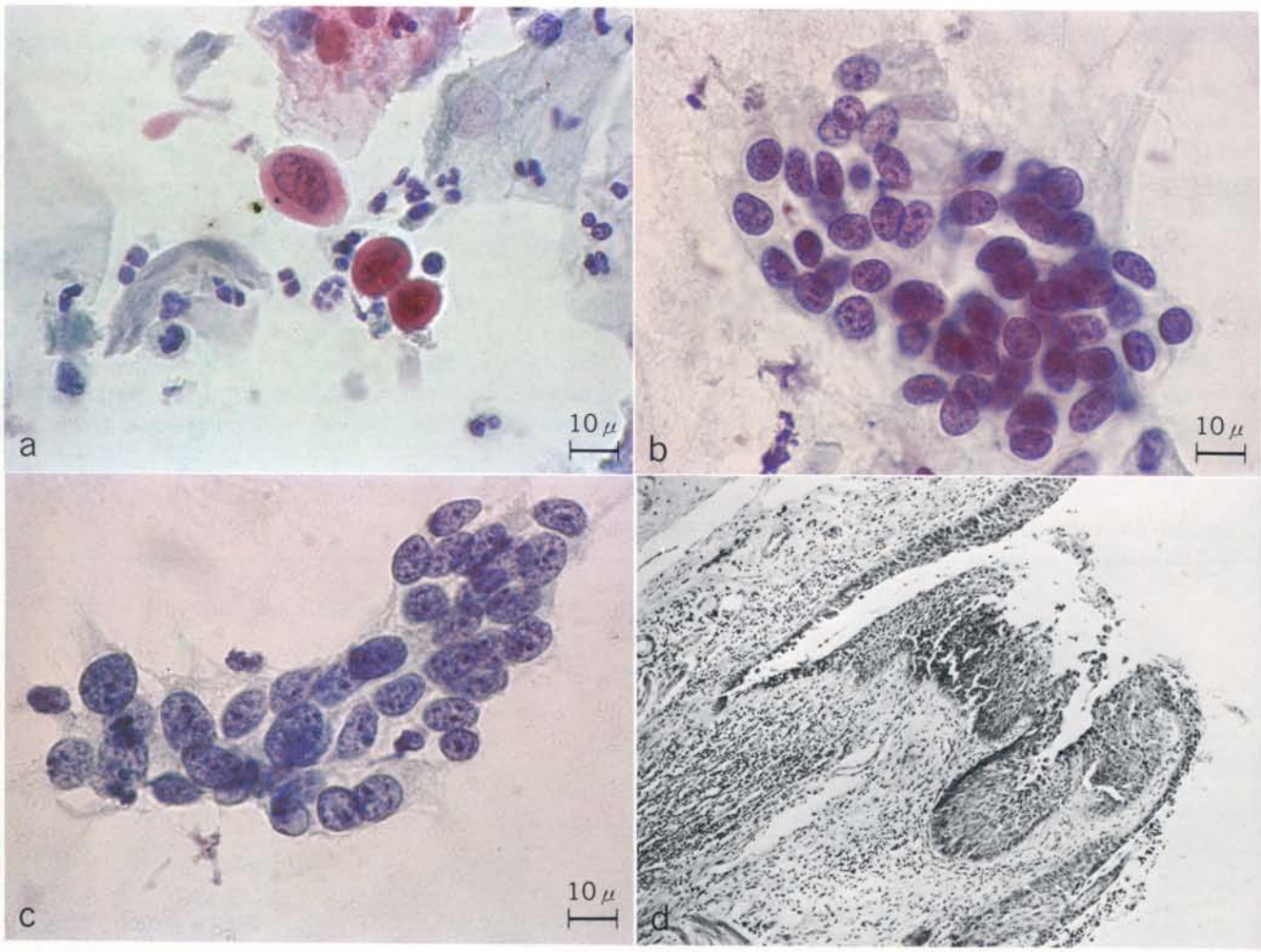


Fig. 660. Carcinoma *in situ* con citología positiva y radiografías negativas en el bronquio subsegmentario B_6 del pulmón derecho. Este hombre de 68 años participaba en el "Programa de Selección Preliminar para Cáncer de Pulmón" por su tos productiva y porque era un gran fumador (índice de cigarrillos: 1125). *a*, Pequeñas células malignas de tipo parabasal demostradas con la técnica citológica para esputo de Saccomanno. *b*, Hiperplasia basocelular en los cepillados bronquiales. Núcleos redondos aglomerados, con mucho contenido de cromatina y de tamaño y morfología uniformes. *c*, Células cancerosas de tipo basal en el cepillado bronquial. La cromatina se presenta en grumos gruesos y está muy aumentada. El citoplasma es escaso y no está bien preservado. *d*, Carcinoma *in situ* con displasia. El epitelio mucoso superficial ha sido sustituido por múltiples capas de células cancerosas de tipo basal pequeñas. El carcinoma *in situ* o el carcinoma invasor muy incipiente se reconoce por: 1) una citología anormal constituida por células cancerosas de los tipos basal y parabasal y 2) la ausencia de la llamada diátesis tumoral.

de se lo comentó en la misma categoría que al cilindroma, en esencia difiere del cilindroma o cistadenocarcinoma, que se radica en un sitio más proximal del árbol traqueobronquial y tiende a dar metástasis con mayor frecuencia que el carcinoide.[153] En vista de que estos tumores que crecen como un nódulo circunscrito con una superficie intacta de epitelio mucoso están en el mismo blanco en la citología transbronquial, los describimos en este mismo apartado.

El síndrome carcinoide y, con menos frecuencia, el síndrome de Cushing sólo se ven en el carcinoide. El síndrome endocrino ectópico producido por los carcinomas broncógenos como carcinoide y carcinoma de células de avena condujo al concepto de que las células argentafines (células de Kulchitsky) que están en las glándulas bronquiales y entre las células de revestimiento de los bronquíolos, se convierten en las células originarias del carcinoide y también del carcinoma de células de avena.[13] Es muy frecuente que un carcinoide que da reacción argentafín negativa, exhiba reacción argirófila positiva. En consecuencia, la reacción argirófila es útil para determinar la función neurosecretoria de este tumor.

Aunque el tumor se radica con preferencia en los bronquios principales y segmentarios, la ocurrencia ocasional del carcinoide periférico (15,7% de 217 tumores[111]) es compatible con la distribución de células neurosecretorias del epitelio bronquiolar que pertenecen al sistema APUD.

Citopatología

1) El *cilindroma* se caracteriza por densos grupos de pequeñas células hipercromáticas con escaso citoplasma. Los rasgos nucleares recuerdan al tumor carcinoide, pero la imagen que establece el diagnóstico es la estructura acinosa en torno de una luz, que a menudo produce una secreción PAS positiva en una aglomeración muy hacinada. Los núcleos son todos redondos, casi idénticos a los del carcinoide y células de avena en cuanto a tamaño, y se tiñen con facilidad, pero sus cromatinas no son tan gruesas por ser células malignas.

2) El *carcinoide* se presenta a la inspección macroscópica como un tumor interbronquial bien circunscrito que está revestido por un epitelio mucoso intacto. Uno de los síntomas descollantes es la hemoptisis (42% en la comunicación de Okike) por su rica vascularidad, pero es raro que se exfolien células tumorales hacia el esputo (5 de 133 casos en la serie de Okike y col.[111]). Estas células, que aparecen en los cepillados o curetajes, son pequeñas, de tamaño y morfología uniformes, y se presentan en láminas planas. Los núcleos son redondos u ovales, un tanto hipercromáticos y se parecen a los de las células cancerosas pequeñas no diferenciadas o a los de las células de avena. El carcinoide se distingue del carcinoma de células pequeñas indiferenciado por la uniformidad de los núcleos, por el borde nuclear liso y por la trama de cromatina finamente granular. El citoplasma se tiñe poco y es indefinido y algo granular cuando está preservado; el citoplasma es un tanto escaso, pero más abundante que el de las células de avena.

Fallas del citodiagnóstico. Algún tipo anaplásico de carcinoide cuya histología consiste en cintas o columnas de pequeñas células hipercromáticas, tiene una citología con rasgos similares a los de las células de avena, como cromatinas gruesas e irregulares, con espacios claros pericromatínicos. Naib,[105] Kyriakos y Rockoff[78] mencionan las fallas en el diagnóstico de carcinoma de células de avena. A causa de las similitudes morfológicas entre las células de avena y las del carcinoide, y debido a la presencia de gránulos neurosecretorios argirófilos en ambos tumores, muchas veces al carcinoma de células de avena se lo considera una variante maligna del carcinoide.[8,55]

3) Al *tumor mucoepidermoide* se lo reconoce como un tumor polipoide con considerable crecimiento exofítico. Cuando se lo describió por primera vez, se pensaba que este tumor era una forma de cistadenocarcinoma (Smetana,[196] Liebow[191]). Heilbrunn y Crosby[187] recomendaron que se lo separase de un grupo de cistadenocarcinomas porque su potencial de malignidad era dudoso; se piensa que el caso de carcinoma mucoepidermoide con crecimiento invasor y metástasis a distancia[193,198,200] es fuera de toda duda una variante del carcinoma epidermoide. *Citológicamente* las células tumorales están congregadas, pero en una lámina plana; la cantidad de citoplasma es moderada y su forma es poliédrica, lo mismo que en las células metaplásicas. Existe una mezcla evidente de células mucosas con abundante citoplasma del tipo de células caliciformes.

Addendum: Tumorcillo pulmonar. El tumorcillo (Whitwell[168]) es una pequeña lesión periférica que se forma en el parénquima pulmonar fibrosado y está constituido por nidos de células hipercromáticas fusiformes o redondas. La cromatina es fina y de distribución pareja. No hay variación importante de tamaño en los núcleos. Aunque semejan células de avena por su forma, los rasgos nucleares blandos difieren respecto de los de éstas. En la práctica es raro encontrar las células del tumorcillo en el parénquima muy fibrosado: las asociaciones más predominantes de los tumorcillos son bronquiectasia y bronquiolectasia.[18,168] Al tumorcillo se lo definió como una hiperplasia simple del epitelio bronquiolar que acompaña a la inflamación crónica y fibrosis,[48,168] pero la detección de gránulos neurosecretorios argirófilos hace que se lo considere una variante del carcinoide periférico.[18,28] El concepto de tumorcillo no se debe descartar hasta que se pueda elucidar su comportamiento biológico inocente, la ausencia de síndrome carcinoide y la preponderancia en el sexo femenino.

15. Sarcoma primario

El sarcoma primario de pulmón es raro. El más común de los sarcomas es el leiomiosarcoma, que ocurre como un tumor globular localizado que sobresale dentro de la luz del bronquio. Como la superficie está cubierta por un epitelio mucoso intacto, la citología del esputo suele ser negativa, a menos que por el raspado vigoroso se produzca una erosión. La citología de impresión de la pieza biopsiada puede revelar unos núcleos elongados de contornos finos y cromatinas delicadas.

16. Carcinoma metastásico

El pulmón es un órgano que muchas veces recibe metástasis hematógenas y linfógenas de tumores malignos radicados en órganos distantes (cuadro 65). Al principio, cuando el tumor alojado en los vasos sanguíneos o linfáticos es microscópico y sólo crece en las áreas perivasculares, no se registra exfoliación de células tumorales hacia las vías aéreas. Los focos metastásicos endobronquiales que forman saliencias intrabronquiales muchas veces provienen de neoplasias de recto (fig. 677) y riñón, y a veces de la mama; por lo tanto, producen esputo positivo en una etapa más tardía. Dado el

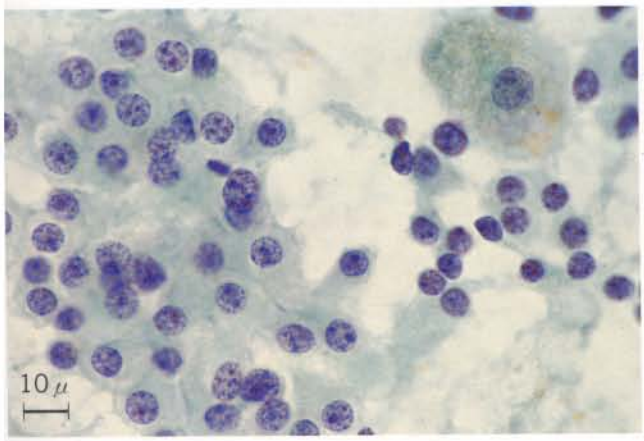


Fig. 664. Carcinoide en un cepillado bronquial. Las células están bien preservadas. Los puntos diferenciales respecto de las células de avena se basan en: 1) la uniformidad del tamaño y morfología de los núcleos, 2) los bordes nucleares lisos y 3) la presencia de moderada cantidad de citoplasma granular fino y pálido.

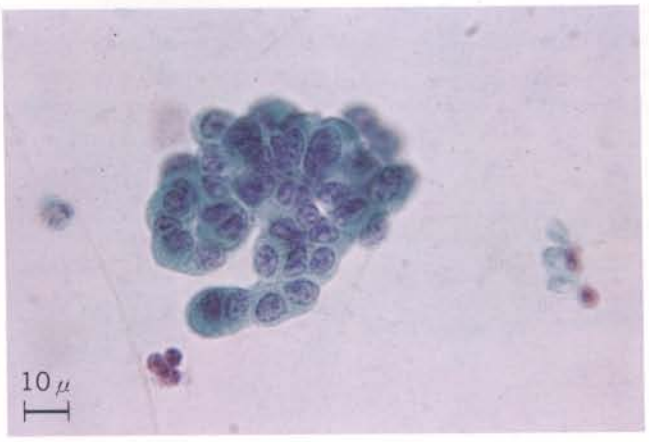


Fig. 665. Células carcinoides en un curetaje transbronquial. Estas células no se exfolian en el esputo porque el carcinoide suele estar cubierto por el epitelio mucoso. Las células tumorales están aglomeradas en una trama trabecular. Los núcleos son uniformemente pequeños, redondos y de contornos lisos.

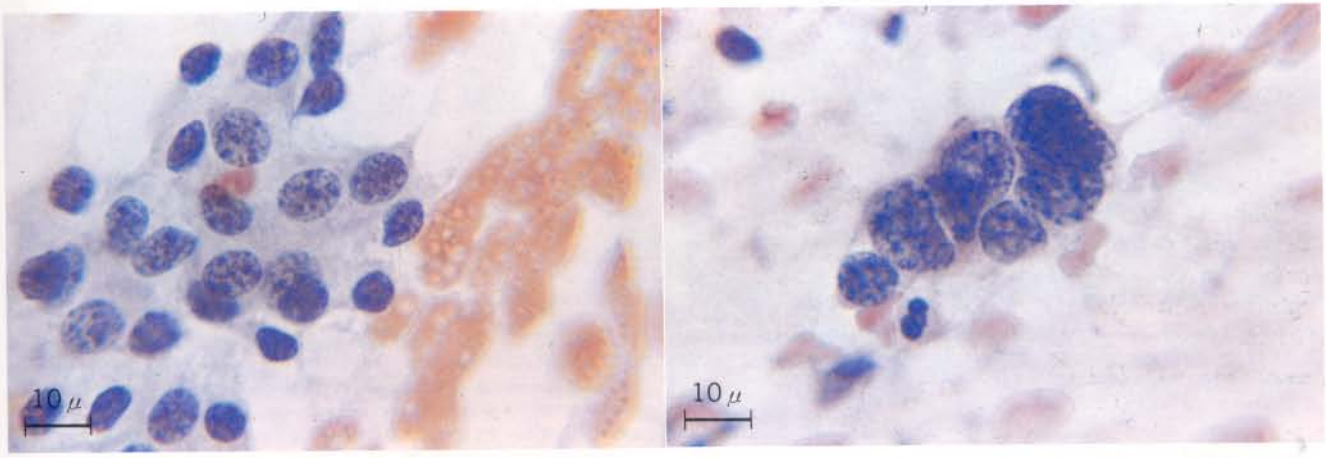


Fig. 666. Comparación entre carcinoide y carcinoma de células de avena. El carcinoide presenta unos núcleos ovales uniformes y cromatinas un tanto gruesas pero de distribución uniforme, mientras que en el carcinoma de células de avena el tamaño nuclear es variable y las cromatinas granulares son mucho más gruesas.

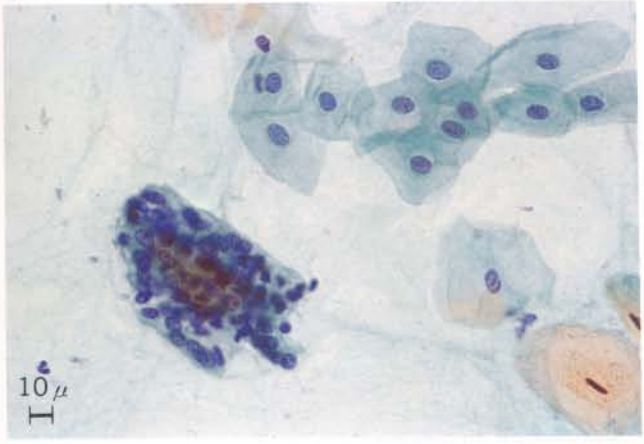


Fig. 667. Cistadenocarcinoma en un cepillado bronquial. Los núcleos son más o menos iguales a los del carcinoide, pero se hallan densamente aglomerados y superpuestos. Se reconoce la estructura acinosa.

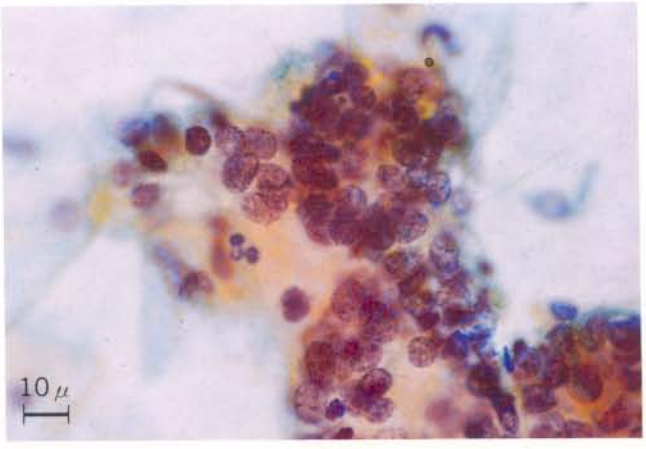


Fig. 668. Cistadenocarcinoma visto con mayor aumento. Cepillado bronquial de un tumor exofítico polipoide que obliteraba el bronquio. Los núcleos son uniformemente ovales y por lo general hipercromáticos, pero de textura fina. Véase la aglomeración densa con una trama acinosa en torno de una luz.

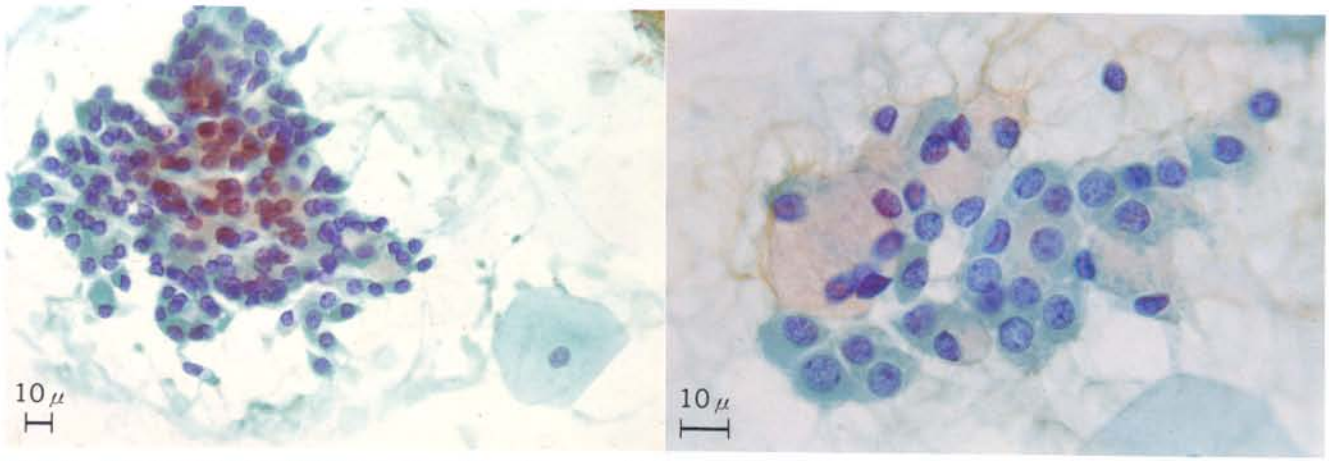


Fig. 669. Células tumorales de un carcinoma mucoepidermoide en un cepillado bronquial. Los núcleos son ovoides y de bordes delicados. La prominencia de los nucléolos y la trama de cromatina finamente granular abonan en favor del tipo glandular, mientras que el citoplasma es poliédrico, opaco y muestra la lámina plana compatible con el tipo epidermoide.

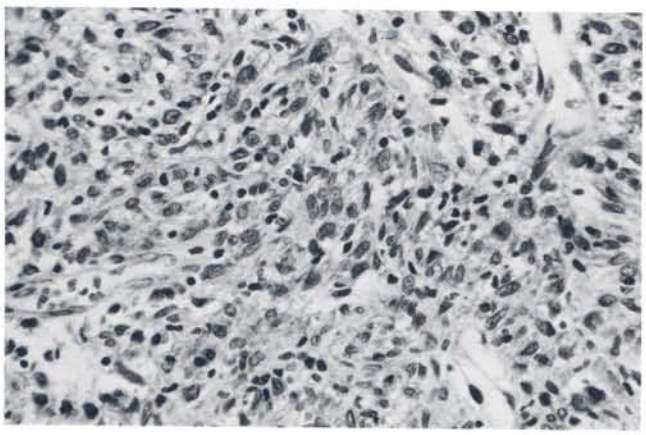


Fig. 670. Leiomiosarcoma que crece como un tumor globular en la submucosa. Nótense los fascículos irregulares de fibras miógenas, cuyos núcleos son de tamaño y morfología variables.

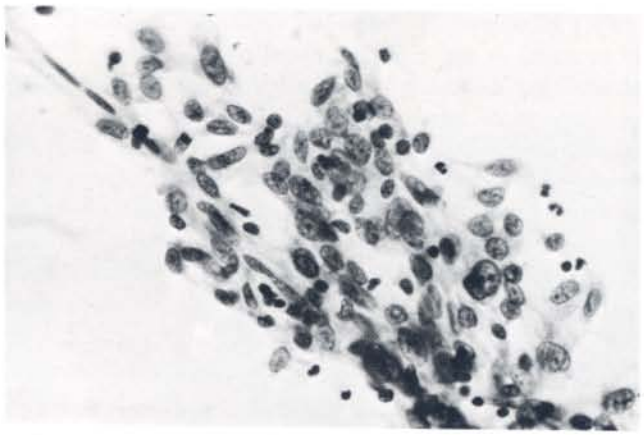


Fig. 671. Citología de un cepillado que exhibe células tumorales mesenquimáticas de un leiomiosarcoma. Los núcleos son ovales o elípticos y de tamaño variable. Aunque es difícil establecer la diferenciación citológica respecto del fibrosarcoma, los polos nucleares redondeados abonan en favor del origen miógeno. (Gentileza del doctor Yamamoto, F., Centro Yamagata de Enfermedades para Adultos, Yamagata, Japón.)

uso común de la citología del aspirado con aguja, se pueden encontrar diversos tipos de carcinoma y sarcoma. Es interesante sugerir el sitio primario del carcinoma metastásico por su aspecto citológico. Las metástasis en el pulmón se sospechan en clínica por imágenes radiográficas como sombras nodulares solitarias o múltiples diseminadas en ambos campos pulmonares. En general, en citología las células metastásicas aparecen sobre un fondo bastante limpio. A pesar de que no hay diátesis tumoral, puede existir hemoptisis. Las células adenocarcinomatosas que forman una aglomeración celular tubular o acinosa y las células de carcinoma epidermoide queratinizante, son comunes en el carcinoma primario y no significan carcinoma metastásico. Según la comunicación de Abrams y col.[1] sobre 1000 casos de carcinoma necropsiados, los carcinomas representativos que dieron metástasis frecuentes al pulmón eran carcinoma renal en un 75% de los casos, melanoma maligno 65%, carcinoma mamario 58%, sarcoma 40%, etc.

Carcinoma de células renales

El carcinoma de células renales que ha dado metástasis endobronquiales muchas veces desprende unas aglomeraciones celulares características en el esputo. La cantidad de citoplasma es regular y su color es claro como el agua, porque contiene mucha sustancia adiposa. Los núcleos son pequeños en relación con el citoplasma, y poseen unos nucléolos únicos distintivos situados en el centro (fig. 672). Estos rasgos citológicos semejan carcinoma bronquioloalveolar, pero en este último el citoplasma claro muchas veces da reacción PAS positiva.

Hepatoma

El carcinoma hepatocelular da metástasis a menudo en el pulmón y es notable en los países asiáticos. Las células redondeadas en una lámina plana semejan células de carcinoma renal por sus núcleos centrales redondos y por los prominentes nucléolos únicos (figs. 674 y 675). Préstese atención al pigmento biliar y a la elaboración de α-fetoproteína.

Carcinoma mamario

Siendo uno de los carcinomas canaliculares infiltrativos comunes, el comedocarcinoma se caracteriza histológicamente por unas masas sólidas de células cancerosas que

ocluyen los conductos dilatados. Se sabe que estas células adoptan la forma característica de una "mórula" en los derrames en las cavidades corporales, y en el esputo aparecen bolas celulares similares (fig. 673). El adenocarcinoma con metaplasia apocrina (carcinoma apocrino) también es un tipo peculiar de carcinoma mamario (véase carcinoma mamario, fig. 529).

Otros tumores malignos

El melanoma maligno es fácil de identificar si se reconoce pigmento melánico (fig. 676). Los sarcomas, como el sarcoma osteógeno y el fibrosarcoma, dan metástasis al pulmón y a menudo aparecen en el esputo. Las células del osteosarcoma se caracterizan por sus núcleos grandes y muy pleomórficos, por la trama de cromatina condensada por picnosis y colicuación, y por unos nucléolos acidófilos prominentes cuando las células no han degenerado del todo (fig. 678). El borde nuclear no se engruesa durante el proceso degenerativo. Las células fibrosarcomatosas poseen unos núcleos fusiformes y a menudo picnóticos, con variación del tamaño nuclear. El polimorfismo nuclear no es tan llamativo como en el sarcoma osteógeno. Las células del leiomiosarcoma son de aspecto similar, pero despliegan unos polos nucleares redondeados (fig. 671). El coriocarcinoma también da metástasis pulmonares con frecuencia, formando unas masas nodulares múltiples, pero sólo se diagnostica mediante punción aspiradora.

17. Alteraciones por radiación

El árbol bronquial es un órgano que se afecta a menudo en la radioterapia de las neoplasias malignas de pulmón, esófago y mediastino. En consecuencia, se puede incurrir en graves errores si a las alteraciones benignas de la mucosa bronquial inducidas por la radiación se las interpreta como carcinoma recurrente o refractario. También es probable que el carcinoma recurrente pase inadvertido si se lo confunde con una alteración benigna por radiación. Las alteraciones de la irradiación que simulan neoplasia maligna son macrocitosis, bi o multinucleación y seudohipercromasia por condensación de las cromatinas. Los puntos diferenciales deben centrarse en 1) la configuración grotesca del citoplasma, 2) el agrandamiento del núcleo y del citoplasma sin alteración perceptible de la relación N/C, 3) la reacción tintorial anfófi-

Cuadro 65. Citodiagnóstico del carcinoma metastásico de pulmón

Tumores primarios	*Hombres*		*Mujeres*		*Total*	
	N° de casos	*Posit.*	*N° de casos*	*Posit.*	*N° de casos*	*Posit.*
Estómago	11	5	5	3	16	8
Colon	8	5	2	1	10	6
Mama	—	—	10	2	10	2
Esófago	7	3	—	—	7	3
Hígado	4	1	1	0	5	1
Páncreas	4	1	1	1	5	2
Tiroides	2	1	2	0	4	1
Riñón	3	2	1	0	4	2
Útero	—	—	4	1	4	1
Próstata	3	0	—	—	3	0
Parótida	2	1	1	0	3	1
Vejiga	1	0	1	1	2	1
Vías biliares	0	0	2	0	2	0
Suprarrenal	2	0	0	0	2	0
Laringe	1	1	0	0	1	1
Timoma	1	0	0	0	1	0
Linfoma	7	2	1	0	8	2
Sarcoma	4	1	1	1	5	2
Mieloma	1	0	0	0	1	0

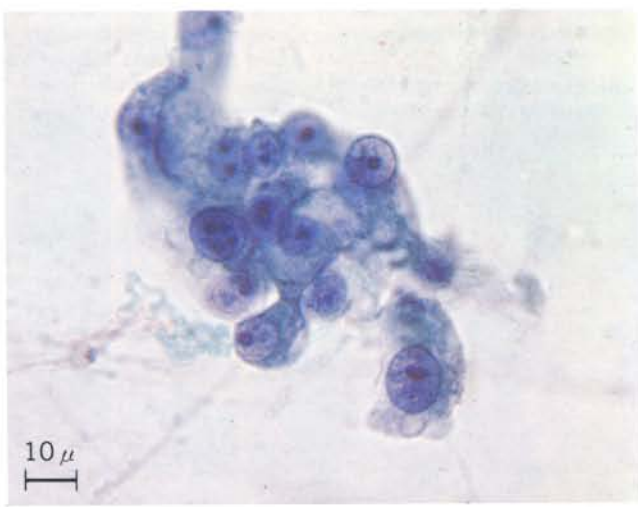


Fig. 672. Esputo con células tumorales malignas provenientes de carcinoma de células renales. Las células del carcinoma renal poseen unos núcleos redondos uniformes y bastante pequeños, con nucléolos centrales prominentes y únicos. La cantidad de citoplasma es moderada y de aspecto claro.

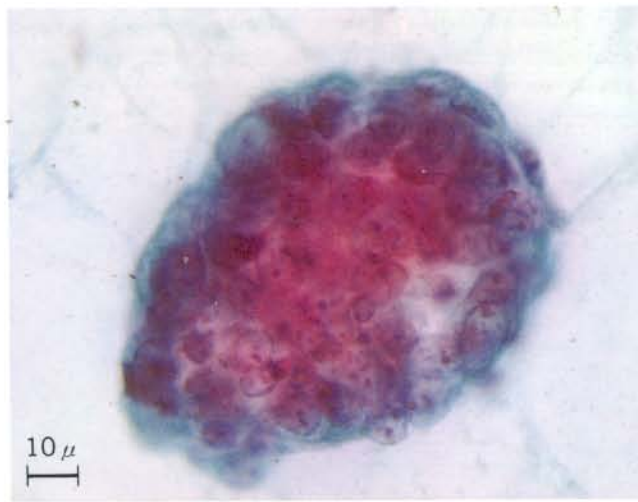


Fig. 673. Células tumorales malignas en el esputo de un caso de metástasis de carcinoma canalicular de mama. Gran cantidad de células firmemente aglomeradas. Esta bola "en mórula" corresponde a nidos sólidos de células de carcinoma canalicular.

la y/o seudoeosinófila y 4) la pérdida de la red de cromatina, es decir, colicuación o picnosis. Las células cancerosas irradiadas que conservan su relación N/C aumentada y exhiben variaciones del tamaño nuclear junto con gran condensación de las cromatinas, se identifican sin dificultad (figs. 679 y 680).

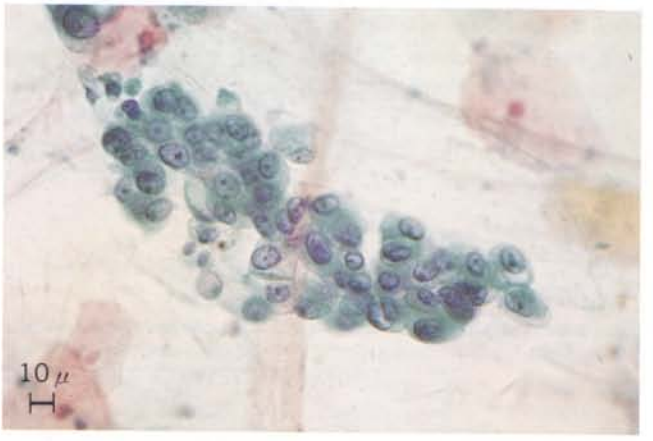


Fig. 674. Esputo con células tumorales de un carcinoma hepatocelular. Nótese la aglomeración trabeculada irregular de células cancerosas poliédricas, con núcleos vesiculosos redondeados y nucléolos centrales. Hay moderada cantidad de citoplasma claro.

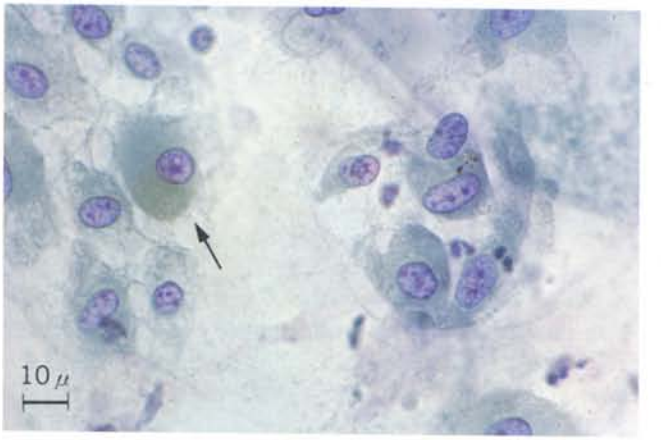


Fig. 675. Esputo con metástasis de células hepatomatosas. El rasgo característico que identifica al carcinoma hepático es la producción de pigmento biliar, que le imparte un tinte verde amarillento (*flechas*). Las células provienen de un hepatoma diferenciado que elabora bilis. (Gentileza del doctor Satake, T., Dep. de Patología Clínica, Hospital Ekisaikai de Nagoya, Nagoya.)

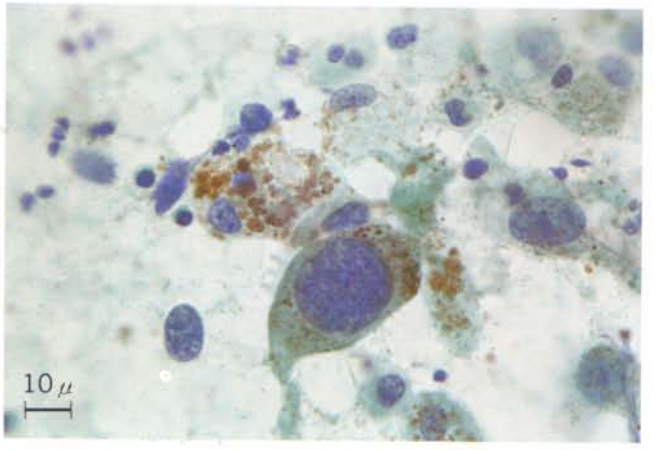


Fig. 676. Esputo con células melanomatosas. Las células del melanoma se distinguen con facilidad por sus grandes núcleos hipercromáticos y los macronucléolos únicos. Los macrófagos han fagocitado pigmento melánico. Es importante hacer la identificación citoquímica mediante blanqueado para diferenciarlos de los macrófagos cargados de hemosiderina.

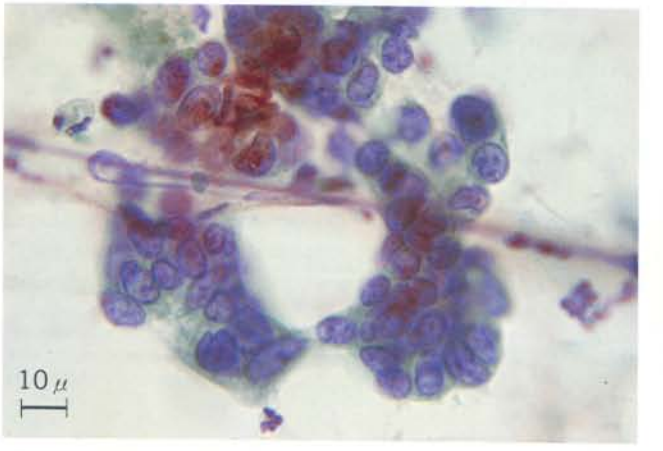


Fig. 677. Esputo con células adenocarcinomatosas provenientes de un carcinoma rectal. Aunque el carcinoma de colon no exhibe rasgos específicos, las empalizadas de núcleos en una aglomeración celular significan adenocarcinoma tubular en estratos múltiples.

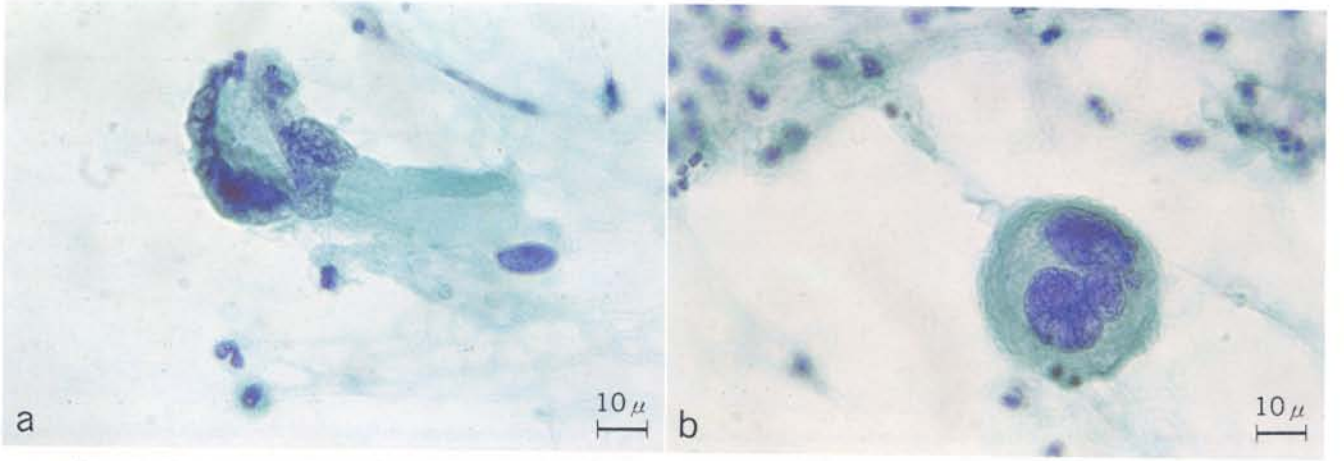


Fig. 678. Esputo con células mesenquimáticas malignas de citoplasma polimórfico con bordes indefinidos en una metástasis de sarcoma osteógeno de fémur. Las células sarcomatosas metastásicas aparecen solas. Los núcleos son de forma irregular, multinucleados y delicadamente delineados.

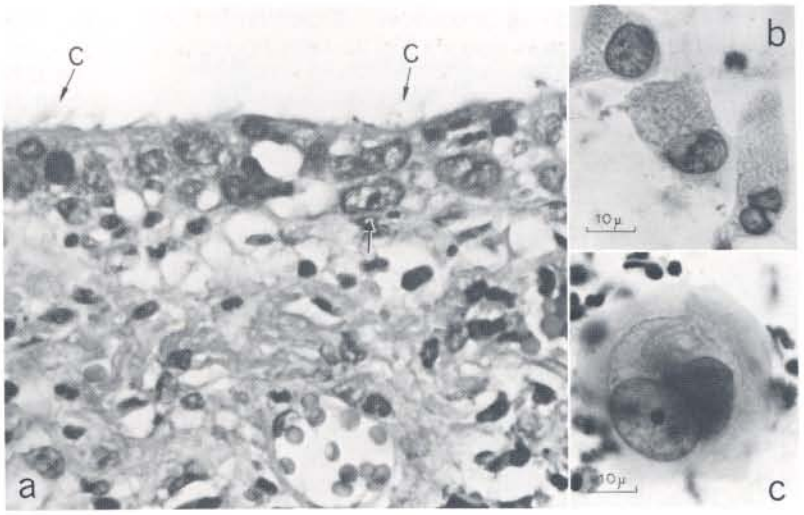


Fig. 679. Error de citodiagnóstico por radioterapia. Efectos de la irradiación sobre el epitelio bronquial y sus células exfoliadas. *a*, En el momento de la operación se había administrado una dosis tumoral media de 3500 r con ^{60}Co en el preoperatorio. El epitelio bronquial carece de cilias casi por completo, excepto en la pequeña porción que señalan las *flechas C*, y exhibe considerable variación en el tamaño nuclear. Estas células epiteliales alteradas con considerable agrandamiento nuclear (*flecha*) son difíciles de identificar si se exfolian. *b* y *c*, Citología cuando se habían administrado 2260 r. Es necesario ser cauteloso para interpretar estos cambios benignos de las células epiteliales: 1) la cromatina se concentra en el borde nuclear, 2) el núcleo presenta un aspecto nuboso pálido y 3) la relación N/C no está muy alterada porque también se ha agrandado el citoplasma.

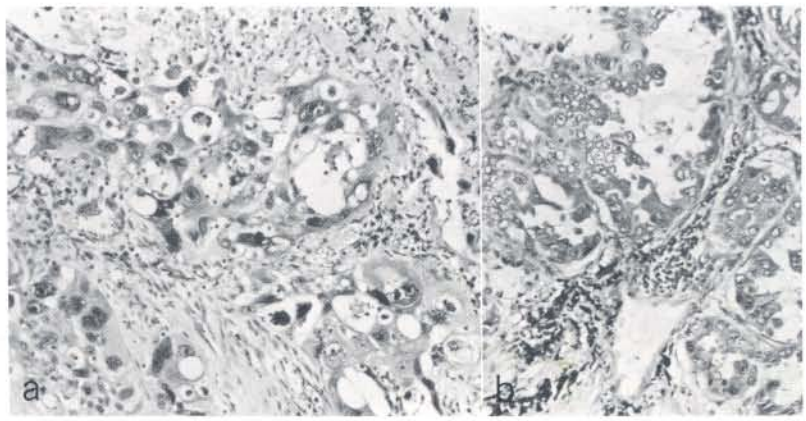


Fig. 680. Efectos de la irradiación preoperatoria con teleterapia de ^{60}Co sobre las células cancerosas. *a*, Carcinoma epidermoide irradiado con 3500 r como dosis tumoral. Nótense el llamativo polimorfismo y las formas grotescas de los núcleos. *b*, Adenocarcinoma tratado con una dosis tumoral de 4200 r. Sólo se ve una vacuolización nuclear moderada. En general, el cuadro histológico del adenocarcinoma responde menos a la radiación que el del carcinoma epidermoide o el del carcinoma de células de avena.

*Apéndice: Clasificación TNM de los tumores del tracto respiratorio**

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Se debe hacer la verificación histológica de la enfermedad para poder dividir los casos por tipo histológico. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Para la clasificación clínica se acepta la información derivada de la exploración quirúrgica previa al tratamiento definitivo, siempre que se haga constar este hecho.

Los siguientes son los requisitos mínimos para estimar las categorías T, N y M. Si no se los puede satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico, radiografías y endoscopia.
Categorías N: Examen clínico, radiografías y endoscopia.
Categorías M: Examen clínico y radiografías.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM PREVIA AL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

- Tis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
- T0 Sin signos de tumor primario.
- T1 Tumor de 3 cm o menos en su dimensión mayor, rodeado por pulmón o por pleura visceral y sin evidencia de invasión más proximal que el bronquio lobular en la broncoscopia.
- T2 Tumor de más de 3 cm en su dimensión mayor o tumor de cualquier tamaño que, junto con su respectiva atelectasia o neumonitis obstructiva, llegue hasta la región hiliar.

En la broncoscopia, la extensión proximal del tumor demostrable debe estar por lo menos 2 cm más allá de la carina. Toda atelectasia o neumonitis obstructiva concomitante debe tomar menos de todo un pulmón y no tiene que haber derrame pleural.

- T3 Tumor de cualquier tamaño con propagación directa a elementos adyacentes como pared torácica, diafragma o mediastino y su contenido, o tumor que en la broncoscopia está a menos de 2 cm de la carina o tumor asociado con atelectasia o neumonitis obstructiva de todo un pulmón o bien derrame pleural.
- TX Todo tumor que no se pueda evaluar o tumor demostrado por la presencia de células malignas en las secreciones broncopulmonares, pero que no se ve en las radiografías ni en la broncoscopia.

N - Ganglios linfáticos regionales

Los ganglios linfáticos regionales son los intratorácicos.

- N0 Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
- N1 Evidencia de compromiso de los ganglios linfáticos peribronquiales y/o hiliares homolaterales, incluso propagación directa del tumor primario.
- N2 Evidencia de compromiso de los ganglios linfáticos mediastinales.
- NX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

M - Metástasis a distancia

- M0 Sin signos de metástasis a distancia.
- M1 Signos de metástasis a distancia.
- MX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar la presencia de metástasis a distancia.

* Harmer, M. H.: TNM Classification of Malignant Tumours, 3ª ed., Génova, UICC, 1978.

La categoría M1 se puede subdividir de acuerdo con la siguiente notación:

Pulmonar:	PUL	Médula ósea:	MAR
Ósea:	OSS	Pleura:	PLE
Hepática:	HEP	Piel:	SKI
Encéfalo:	BRA	Ojo:	EYE
Ganglios linfáticos:	LYM	Otros:	OTH

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA TNM POSQUIRÚRGICA

Pt - Tumor primario

Las categorías pT corresponden a las categorías T.

G - Grados histopatológicos

G1 Grado alto de diferenciación.
G2 Grado mediano de diferenciación.
G3 Grado bajo de diferenciación.
GX No se puede establecer el grado.

pN - Ganglios linfáticos regionales

Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM Metástasis a distancia.

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Cáncer oculto	TX	N0	M0
Etapa Ia	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Etapa Ib	T1	N1	M0
Etapa II	T2	N1	M0
Etapa III	T3	N0, N1	M0
	Cualquier T	N2	M0
Etapa IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

RESUMEN

TX Citología positiva.
T1 ⩽ 3 cm/sin invasión.
T2 > 3 cm/propagación a la región hiliar.
T3 Propagación macroscópica/derrame/atelectasia.
N1 Ganglios hiliares.
N2 Ganglios mediastinales.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABRAMS, H. L., SPIRO, R., and GOLDSTEIN, N.: Metastases in carcinoma. Analysis of 1000 autopsied cases. Cancer, *3*: 74, 1950.
2. AISNER, S. C., GUPTA, P. K., and FROST, J. K.: Sputum cytology in pulmonary sarcoidosis. Acta Cytol., *21*: 394, 1977.
3. APT, W., and KNIERIM, F.: An evaluation of diagnostic tests for hydatid disease. Am. J. Trop. Med. Hyg., *19*: 943, 1970.
4. AUERBACH, O., GARFINKEL, L., and PARKS, V. R.: Histologic type of lung cancer in relation to smoking habits, year of diagnosis and sites of metastases. Chest, *67*: 382, 1975.
5. AUERBACH, O., PETRICK, T. G., STOUT, A. P., STATSINGER, A. L., MUEHSAM, G. E., FORMAN, J. B., and GERE, J. B.: The anatomical approach to the study of smoking and bronchogenic carcinoma: A preliminary report of 41 cases. Cancer, *9*: 76, 1956.
6. BAKER, R. R., MARSH, B. R., FROST, J. K., STITIK, F. P., CARTER, D., and LEE, J. M.: The detection and treatment of early lung cancer. Ann. Surg., *179*: 813, 1974.
7. BARACH, A. L., BICKERNAN, H. A., BECK, G. J., NANDA, K. G. S., and PONS, E. R., Jr.: Induced sputum as a diagnostic technique for cancer of the lungs. A. M. A. Arch. Int. Med., *106*: 230, 1960.
8. BARDEN, R. P.: The "oat-cell" tumors: A medical and biological challenge. Radiology, *112*: 743, 1974.
9. BAUERMEISTER, D. E., JENNINGS, E. R., BELAND, A. H., and JUDSON, H. A.: Pulmonary blastoma, a form of carcinosarcoma. Am. J. Clin. Path., *46*: 322, 1966.
10. BEAVER, O. L., and SHAPIRO, J. L.: A consideration of chronic pulmonary parenchymal inflammation and alveolar cell carcinoma with regard to a possible etiologic relationship. Am. J. Med., *21*: 879, 1956.
11. BELL, E. T.: Hyperplasia of the pulmonary alveolar epithelium in disease. Am. J. Path., *19*: 901, 1943.
12. BENDEL, W. L., Jr., and ISHAK, K. G.: Giant cell carcinoma of the lung; report of two cases. Am. J. Clin. Path., *35*: 435, 1961.
13. BENSCH, K. G.: What is the function of bronchial counterpart of the intestinal argentaffin (Kulchitsky) cell. Ann. Thorac. Surg., *14*: 568, 1972.
14. BERGHUIS, J., CLAGETT, O. T., and HARRISON, E. G., Jr.: The surgical treatment of primary malignant lymphoma of the lung. Dis. Chest, *40*: 29, 1961.
15. BERKHEISER, S. W.: The significance of bronchiolar atypia and lung cancer. Cancer, *18*: 516, 1965.
16. BERRY, G., NEWHOUSE, M. L., and TUROK, M.: Combined effect of asbestos exposure and smoking on mortality from lung cancer in factory workers. Lancet, *2*: 476, 1972.
17. BICKERMAN, H. A., SPROUL, E. E., and BARACH, A. L.: An aerosol method of producing bronchial secretions in human subjects: A clinical technic for the detection of lung cancer. Dis. Chest, *33*: 347, 1958.
18. BONIKOS, D. S., ARCHIBALD, R., and BENSCH, K. G.: On the origin of the so-called tumorlets of the lung. Human Path., *7*: 461, 1976.
19. BORGESKOV, S., and FRANCIS, D.: A comparison between fine-needle biopsy and fiberoptic bronchoscopy in patients with lung lesions. Thorax, *29*: 352, 1974.
20. BOTHAM, S. K., and HOLT, P. F.: The development of glass-fibre bodies in the lung of guinea-pigs. J. Path., *103*: 149, 1971.
21. BRENNER, S. A., LAMBERT, R. L., and PABLO, G. E.: Superheated aerosol induced sputum in the cytodiagnosis of lung cancer. Acta Cytol., *6*: 405, 1962.
22. BRODERICK, P. A., CORVESE, N. L., LACHANCE, T., and ALLARD, J.: Giant cell carcinoma of lung: A cytologic evaluation. Acta Cytol., *19*: 225, 1975.
23. BRUNNER, A.: Der Lungenkrebs. Schweitz. med., Wschr., *81*: 653, 1951.
24. CACERES, J., and FELSON, B.: Double primary carcinomas of the lung. Radiology, *102*: 45, 1972.
25. CARLSON, D. J., and MASON, E. W.: Pulmonary alveolar proteinosis: Diagnosis of probable case by examination of sputum. Am. J. Clin. Path., *33*: 48, 1960.
26. CARRINGTON, C. B., and LIEBOW, A. A.: Lymphocytic interstitial pneumonia. Am. J. Path., *48*: 36 a, 1966.
27. CHANG, S. C., and RUSSELL, W. O.: A simplified and rapid filtration technique for concentrating cancer cells in sputum. Acta Cytol., *8*: 348, 1964.
28. CHURG, A., and WARNOCK, M. L.: Pulmonary tumorlet. A form of peripheral carcinoid. Cancer, *37*: 1469, 1976.

29. CRAVER, L. F.: Diagnosis of malignant lung tumors by aspiration biopsy and by sputum examination. Surgery, *8*: 947, 1940.
30. DAILEY, J. E., and MARCUSE, P. M.: Gonadotropin secreting giant cell carcinoma of the lung. Cancer, *24*: 388, 1969.
31. DAWE, C, J., WOOLNER, L. B., PARKHILL, E. M., and MCDONALD, J. R.: Cytologic studies of sputum secretions and serous fluids in malignant lymphoma. Am. J. Clin. Path., *25*: 480, 1955.
32. DUTRA, F. R., and GERACI, C. L.: Needle biopsy of the lung. J. A. M. A., *155*: 21, 1954.
33. EBERT, R. V., and TERRACIO, M. J.: The bronchiolar epithelium in cigarette smokers. Observations with the scanning electron microscope. Am. Rev. Resp. Dis., *111*: 4, 1975.
34. EFFLER, D. B., and BARR, D.: Five-year survival after surgery of bronchogenic carcinoma. Dis. Chest, *38*: *417*, 1960.
35. EHRENSTEIN, F.: Primary pulmonary lymphoma. Review of the literature and two case reports. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., *52*: 31, 1966.
36. FALCONER, E. H., and LEONARD, M. E.: Pulmonary involvement in lymphosarcoma and lymphatic leukemia. Am. J. Med. Sci., *195*: 294, 1938.
37. FARBER, S. M., ROSENTHAL, M., ALSTON, E. F., BENIOFF, M. A., and MCGRATH, A. K.: Cytologic Diagnosis of Lung Cancer. Springfield, Ill., Charles C Thomas, 1950.
38. FENNESSY, J. J.: Bronchial brushing and transbronchial forceps biopsy in the diagnosis of pulmonary lesions. Dis. Chest, *53*: 377, 1968.
39. FENNESSY, J. J., FRY, W. A., MANALO-ESTRELLA, P., and FRIAS HIDVEGI, D. V. S.: The bronchial brushing technique for obtaining cytologic specimens from peripheral lung lesions. Acta Cytol., *14*: 25, 1970.
40. FOOT, N. C.: The identification of types of pulmonary cancer in cytologic smears. Am. J. Path., *28*: 963, 1952.
41. FRANCIS, D., and BORGESKOV, S.: Progress in preoperative diagnosis of pulmonary lesions. Acta Cytol., *19*: 231, 1975.
42. FRIEDBERG, E. C.: Giant-cell carcinoma of the lung: A dedifferentiated adenocarcinoma. Cancer, *18*: 259, 1965.
43. FRY, W. A., and MANALO-ESTRELLA, P.: Bronchial brushing. Surg. Gynec. Obstet., *130*: 67, 1970.
44. FUSCO, F. D., and ROSEN, S. W.: Gonadotropin producing anaplastic large-cell carcinomas of the lung. N. Engl. J. Med., *275*: 507, 1966.
45. GILSON, J. C.: Asbestos cancer: Past and future hazards. Proc. Roy. Soc. Med., *66*: 395, 1973.
46. GODWIN, J. T.: Aspiration biopsy; technique and application. Ann. N. Y. Acad. Sci., *63*: 1348, 1956.
47. GREENBERG, S. D., SMITH, N. N., and SPJUT, H. J.: Bronchiolo-alveolar carcinoma: Cell of origin. Am. J. Clin. Path., *63*: 153, 1975.
48. GROULS, V.: Über atypische Epithelhyperplasien (sog. "Tumorlets") bei chronischen Lungenerkrankungen. Prax. Pneumol., *26*: 561, 1972.
49. GUYTON, A. C.: Textbook of Medical Physiology. Philadelphia, W. B. Saunders, 1958 (cited from RUSSELL et al, Acta Cytol., *7*: 1, 1963).
50. HACKL, H.: Beobachtungen über eine Typenverschiebung des Lungenkrebses im letzen Jahrzehnt. Med. Welt, *24*: 568, 1973.
51. HANAOKA, M.: Collected lectures, 8th Symposium on Cellular Chemistry, 1955.
52. HARBITZ, F.: Extensive calcification of the lungs as a distinct disease. Arch. Int. Med., *21*: 139, 1918.
53. HATTORI, S., MATSUDA, M., SUGIYAMA, T., and MATSUDA, H.: Cytologic diagnosis of early lung cancer: Brushing method under X-ray television fluoroscopy. Dis. Chest, *45*: 129, 1964.
54. HATTORI, S., MATSUDA, M., SUGIYAMA, T., TERAZAWA, T., and WADA, A.: Some limitations of cytologic diagnosis of small peripheral lung cancers. Acta Cytol., *9*: 431, 1965.
55. HATTORI, S., MATSUDA, M., and TATEISHI, R.: Oat cell carcinoma of the lung. Its origin and relationship to bronchial carcinoid. Cancer, *22*: 1163, 1972.
56. HAYAKAWA, K., TAKAHASHI, M., SASAKI, K., KAWAOI, A., OKANO, T., OSADA, H., OTSUKA, T., and MUROTA, Y.: Primary choriocarcinoma of the lung. Acta Path. Jap., *27*: 123, 1977.
57. HAYATA, Y., OHO, K., ICHIBA, M., GOYA, Y., and HAYASHI, T.: Percutaneous pulmonary puncture for cytologic diagnosis—Its diagnostic value for small peripheral pulmonary carcinoma. Acta Cytol., *17*: 469, 1973.
58. HAYATA, Y., OHO, K., ICHIBA, M., TOGO, T., and TAKAHASHI, M.: Percutaneous needle biopsy in the diagnosis of lung carcinoma. Lung Cancer (Japanese Lung Cancer Society), *9*: 3, 1969.
59. HECK, H.: Alveolarzellkarzinom und Lungenfibrose. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat., *104*: 495, 1963.
60. HELLSTROM, H. R., and FISCHER, E. R.: Giant cell carcinoma of lung. Cancer, *16*: 1080, 1963.
61. HERBUT, P. A., and CLERF, L. H.: Bronchogenic carcinoma. Diagnosis by cytologic study of bronchoscopically removed secretions. J. A. M. A., *130*: 1006, 1946.
62. HERS, L. F. PH.: Histopathology of the Respiratory Tract in Human Influenza. Leiden, H. E. Stenfert Kroese, 1955.
63. HOCH-LIGETI, C., and ELLER, L.: Significance of multinucleated epithelial cells in bronchial washings. Acta Cytol., *7*: 258, 1963.
64. IWAMA DE MATTOS, M. C. F.: Cell-block preparation for cytodiagnosis of pulmonary paracoccidioidomycosis. Chest, *75*: 212, 1979.
65. JACKSON, E., BELTOLI, F., and ACKERMAN, L. V.: Exfoliative cytology: An adjunct in the diagnosis of bronchogenic carcinoma. J. Thorac. Surg., *21*: 7, 1951.
66. JENKINS, B. A. G., and SALM, R.: Primary lymphosarcoma of the lung. Br. J. Dis. Chest., *65*: 225, 1971.
67. JOHNSTON, W. W.: Mycosis in cytopathology. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. pp. 299-314. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
68. KARCIOGLU, Z. A., and SOMEREN, A. O.: Pulmonary blastoma: A case report and review of the literature. Am. J. Clin. Path., *61*: 287, 1974.
69. KARRER, H. E.: An electronmicroscopic study of the fine structure of pulmonary capillaries and alveoli of the mouse. Bull. Johns Hopkins Hosp., *98*: 65, 1956.
70. KERN, W. H.: Cytology of hyperplastic and neoplastic lesions of terminal bronchioles and alveoli. Acta Cytol., *9*: 372, 1965.
71. KERN, W. H., and STILES, Q. R.: Pulmonary blastoma. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., *72*: 801, 1976.
72. KING, E. B., and RUSSELL, W. M.: Needle aspiration biopsy of the lung—technique and cytologic morphology. Acta Cytol., *11*: 319, 1967.
73. KIRSH, M. M., ORVALD, T., NAYLOR, B., KAHN, D. R., and SLOAN, H.: Diagnostic accuracy of exfoli-

in the sputum. Br. J. Cancer, *8*: 67, 1954.
119. PIERCE, C. H., and KNOX, A. W.: Ciliocytophthoria in sputum from patients with adenovirus infections. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *104*: 492, 1960.
120. RAZZUK, M. A., POCKEY, M., URSCHEL, H. C., and PAULSON, D. L.: Dual primary bronchogenic carcinoma. Ann. Thorac. Surg., *17*: 425, 1974.
121. ROBERTS, T. W., POLLAK, A., HOWARD, R., and HOWARD, E.: Tracheobronchial cytology utilizing an improved tussilator (cough machine). Acta Cytol., *7*: 174, 1963.
122. ROME, D. S., and OLSON, K. B.: A direct comparison of natural and aerosol produced sputum collected from 776 asymptomatic men. Acta Cytol., *5*: 173, 1961.
123. ROSE, A. H.: Primary lymphosarcoma of the lung. J. Thorac. Surg., *33*: 254, 1957.
124. ROSEN, P., and HADJU, S. I.: Visceral herpesvirus infections in patients with cancer. Am. J. Clin. Path., *56*: 459, 1971.
125. ROSEN, P., MELAMED, M., and SAVINO, A.: The "ferruginous body" content of lung tissue: A quantitative study of eighty-six patients. Acta Cytol., *16*: 207, 1972.
126. ROSEN, S. H., CASTLEMAN, B., and LIEBOW, A. A.: Pulmonary alveolar proteinosis. N. Engl. J. Med., *258*: 1123, 1958.
127. ROSENBERG, L. M.: Multiple tracheobronchial melanomas with ten-year survival. J. A. M. A., *192*: 717, 1965.
128. ROSENBLATT, M. B., TRINIDAD, S., LISA, J. R., and TCHERTKOFF, V.: Specific epithelial degeneration (ciliocytophthoria) in inflammatory and malignant respiratory disease. Dis. Chest, *43*: 605, 1963.
129. ROTTINO, A., and HOFFMAN, G.: The pathology of the lung in Hodgkin's disease. Am. J. Surg., *89*: 550, 1955.
130. RYAN, R. F., MCDONALD, J. R., and GLAGETT, O. T.: Histopathologic observations on bronchial epithelium with special reference to carcinoma of the lung. J. Thorac. Surg., *33*: 264, 1957.
131. SABOUR, M. S., OSMAN, L. M., LEGOLVAN, P. C., and ISHAK, K. G.: Needle biopsy of the lung. Lancet, *2*: 182, 1960.
132. SACCOMANNO, G., ARCHER, V. E., AUERBACH, O., SAUNDERS, R. P., and BRENNAN, L. M.: Development of carcinoma of the lung as reflected in exfoliated cells. Cancer, *33*: 256, 1974.
133. SACCOMANNO, G., SAUNDERS, R. P., ARCHER, V. E., AUERBACH, O., KUSCHNER, M., and BECKLER, P. A.: Cancer of the lung: The cytology of sputum prior to the development of carcinoma. Acta Cytol., *9*: 413, 1965.
134. SACCOMANNO, G., SAUNDERS, R. P., ELLIS, H., ARCHER, V. E., WOOD, B. G., and BECKLER, P. A.: Concentration of carcinoma or atypical cells in sputum. Acta Cytol., *7*: 305, 1963.
135. SALM, R.: A primary malignant melanoma of the bronchus. J. Path. Bact., *85*: 121, 1963.
136. SALTZSTEIN, S. L.: Pulmonary malignant lymphomas and pseudolymphomas: Classification, therapy, and prognosis. Cancer, *16*: 928, 1963.
137. SALZER, G.: Die chirurgische Behandlung der Lungentumoren. Strahlentherapie, *106*: 96, 1958.
138. SCHMORL, G.: Die pathologisch-histologischen Untersuchungen, 14 Aufl. Leipzig, F. C. W. Vogel, 1925.
139. SKITARELIC, K., and VON HAAM, E.: Bronchial brushings and washings: A diagnostically rewarding procedure? Acta Cytol., *18*: 321, 1974.
140. SMITH, M. J., and NAYLOR, B.: A method for extracting ferruginous bodies from sputum and pulmonary tissue. Am. J. Clin. Path., *58*: 250, 1972.
141. SOLOMON, D. A., SOLLIDAY, N. H., and GRACEY, D. R.: Cytology in fiberoptic bronchoscopy. Comparison of bronchial brushing, washing and post-bronchoscopy sputum. Chest, *65*: 616, 1974.
142. SPAIN, D. M.: The association of terminal bronchiolar carcinoma with chronic interstitial inflammation and fibrosis of the lungs. Am. Rev. Tuberc., *76*: 559, 1957.
143. SPENCER, H.: Pathology of the Lung, 3rd ed. Oxford, Pergamon Press Ltd., 1977.
144. SPROUL, E. E., HUVOS, A., and BRITSCH, C.: A two-year follow up study of 261 patients examined by use of superheated aerosol induced sputum. Acta Cytol., *6*: 409, 1962.
145. STOREY, C. F., and REYNOLDS, B. M.,: Biopsy techniques in the diagnosis of intrathoracic lesions. Dis. Chest, *23*: 357, 1953.
146. SUPRUN, H., and KOSS, L. G.: The cytological study of sputum and bronchial washings in Hodgkin's disease with pulmonary involvement. Cancer, *17*: 674, 1964.
147. SWAN, L. L.: Pulmonary adenomatosis of man. Arch. Path., *47*: 517, 1949.
148. TAKAHASHI, M.: Pulmonary cytology and its clinicopathological bases. J. Jap. Soc. Clin. Cytol. (Tokyo), *7*: 58, 1968.
149. TAKAHASHI, M.: Cytology of pulmonary cancer. *In* IKEDA, S. (Ed.): Atlas of Early Cancer of Major Bronchi. pp. 21–26. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1976.
150. TAKAHASHI, M., HASHIMOTO, K., and OSADA, H.: Parenteral administration of chymotrypsin for the early detection of cancer cells in sputum. Acta Cytol., *11*: 61, 1967.
151. TAKAHASHI, M., and URABE, M.: A new cell concentration method for cancer cytology of sputum. Cancer, *16*: 199, 1963.
152. THEODOS, P. A., ALLBRITTEN, F. F., Jr., and BRECKENRIDGE, R. L.: Lung biopsy in diffuse pulmonary disease. Dis. Chest, *27*: 637, 1955.
153. TOLIS, G. A., FRY, W. A., HEAD, L., and SHIELDS, T. W.: Bronchial adenomas. Surg. Gynec. Obstet., *134*: 605, 1972.
154. TOMB, J. A., and MATOSSIAN, R. M.: Diagnosis of pulmonary hydatidosis by sputum cytology. Johns Hopkins Med. J., *139*: 38, 1976.
155. TSUBOI, E.: Studies on an early diagnosis of lung cancer, especially cytological diagnosis of bronchial cells obtained by a direct scrape-off method. Nippon Acta Radiol. (Tokyo), *19*: 1029, 1959.
156. TSUBOI, E., IKEDA, S., TAJIMA, M., SHIMOSATO, Y., and ISHIKAWA, S.: Transbronchial biopsy smear for diagnosis of peripheral pulmonary carcinomas. Cancer, *20*: 687, 1967.
157. UMIKER, W.: Typing of bronchogenic carcinoma. Arch. Path., *71*: 295, 1961.
158. UMIKER, W., YOUNG, L., WAITE, B.: The use of chymotrypsin for the concentration of sputum in the cytologic diagnosis of lung cancer. Univ. Mich. Med. Bull., *24*: 265, 1958.
159. VALENTINE, E. H.: Squamous metaplasia of bronchus; study of metaplastic changes occurring in epithelium of major bronchi in cancerous and non cancerous cases. Cancer, *10*: 272, 1957.
160. VAN HAZEL, W., and JENSIK, R. J.: Lymphoma of the lung and pleura. J. Thorac. Surg., *31*: 19, 1956.
161. VON ALBELTINI, A.: Pathologisch-anatomisches Kurzreferat zum Thema Lungenkrebs. Schweiz. med. Wschr., *81*: 659, 1951.
162. WADDELL, W. R.: Organoid differentiation of the

fetal lung: A histologic study of the differentiation of mammalian fetal lung in utero and in transplants. Arch. Path., *47*: 227, 1949.

163. WALLS, W. J., THORNBURY, J. R., and NAYLOR, B.: Pulmonary needle aspiration biopsy in the diagnosis of Pancoast tumors. Radiology, *111*: 99, 1974.
164. WANG, N-S., SEEMAYER, T. A., AHMED, M. N., and KNAACK, J.: Giant cell carcinoma of the lung. A light and electron microscopic study. Human Path., *7*: 3, 1976.
165. WATSON, W. L.: Ten-year survival in lung cancer. Cancer, *18*: 133, 1965.
166. WATSON, W. L., and SMITH, R. R.: Terminal bronchiolar or "alveolar cell" cancer of the lung; report of 33 cases. J. A. M. A., *147*: 7, 1951.
167. WEISSMAN, I., and CHRISTIE, J. M.: Primary lymphosarcoma of the lung. Arch. Surg., *62*: 129, 1951.
168. WHITWELL, F.: Tumourlets of the lung. J. Path. Bact., *70*: 529, 1955.
169. WHITWELL, F., NEWHOUSE, M. L., and BENNETT, D. R.: A study of the histological cell types of lung cancer in workers suffering from asbestosis in the United Kingdom. Br. J. Indust. Med., *31*: 298, 1974.
170. W. H. O.: Advisory committee on asbestos cancers. Ann. Occup. Hyg., *16*: 9, 1973.
171. WILLIE, S. M., and SNYDER, R. N.: The identification of Paragonimus westermanii in bronchial washings. Case report. Acta Cytol., *21*: 101, 1977.
172. WOOLNER, L. B., DAVID, E., FONTANA, R. S., ANDERSON, H. A., and BERNATZ, P. E.: In situ and early invasive bronchogenic carcinoma: Report of 28 cases with postoperative survival date. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., *60*: 275, 1970.
173. WOOLNER, L. B., and MCDONALD, J. R.: Carcinoma cells in sputum and bronchial secretions; study of 150 consecutive case in which results were positive. Surg. Gynec. Obstet., *88*: 273, 1949.
174. YARDUMIAN, K., and MYERS, L.: Primary Hodgkin's disease of the lung. Arch. Int. Med., *86*: 233, 1950.

Addendum

175. ADAMSON, J. S., SENIOR, R. M., and MERRILL, T: Alveolar cell carcinoma: An electron microscopic study. Am. Rev. Resp. Dis., *100*: 550, 1969.
176. AUERBACH, O., and PARKS, V. R.: Histologic type of lung cancer in relation to smoking habits, year of diagnosis and sites of metastases. Chest, *67*: 382, 1975.
177. BENSH, K. G.: What is the function of the bronchial counterpart of the intestinal argentaffine (Kultchitsky) cell? Ann. Thorac. Surg., *14*: 568, 1972.
178. BENSH, K. G., CORRIN, B., PARIENTE, R., and SPENCER, H.: Oat-cell carcinoma of the lung: Its origin and relationship to bronchial carcinoid. Cancer, *22*: 1163, 1968.
179. BYRD, R. B., MILLER, W. E., CARR, D. T., PAYNE, W. S., and WOOLNER, R. B.: Roentgenographic appearance of small cell carcinoma of the bronchus. Mayo Clin. Proc., *43*: 333, 1968.
180. CAMPICHE, M. A.: Les inclusions lamellaires des cellules alvéolaires dans le poumon du raton. J. Ultrastr. Res., *3*: 302, 1960.
181. COALSON, J. J., MOHR, J. A., PIRTLE, S. K., DEE, A. L., and RHOADES, E. R.: Electron microscopy of neoplasms in the lung with special emphasis on the alveolar cell carcinoma. Am. Rev. Resp. Dis., *101*: 181, 1970.
182. FRAIRE, A., and GREENBERG, S. D.: Carcinoma and diffuse interstitial fibrosis of the lung. Cancer, *31*: 1078, 1973.
183. FULLMER, C. D., SHORT, J. G., ALLEN, A., and WALKER, K.: Proposed classification for bronchial epithelial cell abnormalities in the category of dyskaryosis. Acta Cytol., *13*: 459, 1969.
184. GODWIN, J. D., and BROWN, C. C.: Comparative epidemiology of carcinoid and oat-cell tumors of the lung. Cancer, *40*: 1671, 1977.
185. GREENBERG, S. D., SMITH, M. N., and SPJUT, H. J.: Bronchiolo-alveolar carcinoma: Cell of origin. Am. J. Clin. Path., *63*: 153, 1975.
186. HATTORI, S., MATSUDA, M., TATEISHI, R., TATSUMI, N., and TERASAWA, T.: Oat cell carcinoma of the lung. Clinical and morphological studies in relation to its histogenesis. Cancer, *30*: 1014, 1972.
187. HEILBRUNN, A., and CROSBY, I. K.: Adenocystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma of the tracheobronchial tree. Chest, *61*: 145, 1972.
188. JACQUES, J., and CURRIE, W.: Bronchilo-alveolar carcinoma: A Clara cell tumor. Cancer, *40*: 2171, 1977.
189. JOHNSTON, W. W.: Mycosis in cytopathology. *In* WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W. (Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. p. 299. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.
190. KREYBERG, L.: Histological Typing of Lung Tumours. International Histological Classification of Tumours, No. 1. Geneva, WHO, 1967.
191. LIEBOW, A. A.: Tumors of the lower respiratory tract. *In* Atlas of Tumor Pathology, Sect. V, Fasc. 17: 26. Washington D. C., Armed Forces Institute of Pathology, 1952.
192. MCDOWELL, E. M., MCLAUGHLIN, J. S., MERENYI, D. K., KIEFER, R. F., HARRIS, C. C., and TRUMP, B. F.: The respiratory epithelium. V. Histogenesis of lung carcinomas in the human. J. Natl. Cancer Inst., *61*: 587, 1978.
193. MECKSTROTH, C. V., DAVIDSON, H. B., and KRESS, G. O.: Muco-epidermoid tumor of the bronchus. Dis. Chest, *40*: 652, 1961.
194. MOLLO, F., CANESE, M. G., and CAMPOBASSO, O.: Human peripheral lung tumors: Light and electron microscopic correlation. Br. J. Cancer, *22*: 173, 1973.
195. NAGAISHI, C.: Functional Anatomy and Histology of the Lung. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1972.
196. SMETANA, H. F., IVERSON, L., and SWAN, L. L.: Bronchogenic carcinoma. Analysis of 100 autopsy cases. Mil. Surg., *111*: 335, 1952.
197. SMITH, P., HEATH, D., and MOOSAVI, H.: The Clara cell. Thorax, *29*: 147, 1974.
198. SNIFFEN, R. C., SOULTER, L., and ROBBINS, L. L.: Muco-epidermoid tumors of the bronchus arising from surface epithelium. Am. J. Path., *34*: 671, 1958.
199. TAKAGI, B., and YASUDA, H.: Ultrastructure of the normal lungs of the rats (in Japanese). Nippon Byorigakkaishi, *45*: 443, 1958.
200. TOLIS, G. A., FRY., W. A., HEAD, L., and SHIELDS, T. W.: Bronchial adenomas. Surg. Gynec. Obstet., *134*: 605, 1972.
201. TSUBOI, E.: Atlas of Transbronchial Biopsy: Early Diagnosis of Peripheral Pulmonary Carcinomas. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1970.
202. WATSON, W. L., and BERG, J. W.: Oat cell lung cancer. Cancer, *15*: 759, 1962.
203. WILLIS, R. A.: Pathology of Tumours, 3rd ed. London, Butterworth, 1960.
204. WITSCHI, H.: Proliferation of type II alveolar cells: A review of common responses in toxic lung injury. Toxicology, *5*: 267, 1976.

24

Tubo digestivo

ESÓFAGO

1. Recolección de muestras y preparación de extendidos

Lavados esofágicos

El paciente debe estar en ayunas el día del examen citológico. Antes del lavado se vacía el estómago. La lesión se lava con 20 ml de solución fisiológica bajo visión directa con el esofagoscopio. También se puede hacer un lavado a ciegas con sonda de Levin (N° 12, 14 o 16) para obtener la muestra. En este procedimiento se introduce una sonda de Levin aforada hasta situarla a nivel de la lesión, el cual se ha determinado de antemano con radiografías. El líquido aspirado se centrifuga sin pérdida de tiempo[27,79] o se coloca en igual cantidad de una solución preliminar de 2 partes de formol y 98 partes de alcohol al 40 %, diluido con solución de Ringer. Koss recomienda colocar el material sin demora en alcohol al 50%.

Cepillados esofágicos

Como la pared esofágica es fina, al hacer la biopsia se corre el riesgo de perforarla. En cambio, el raspado de la lesión con un cepillito es mucho más eficaz y menos peligroso que la biopsia endoscópica. En la clínica de este autor se pasa un cepillito por una sonda de Levin (fig. 681). El sitio de la lesión estenótica se determina de antemano con radiografías porque la técnica a ciegas puede causar una perforación si es intempestiva. No se deben hacer exámenes citológicos hasta 48 h después de la radiografía porque la contaminación con bario dificulta el estudio microscópico.

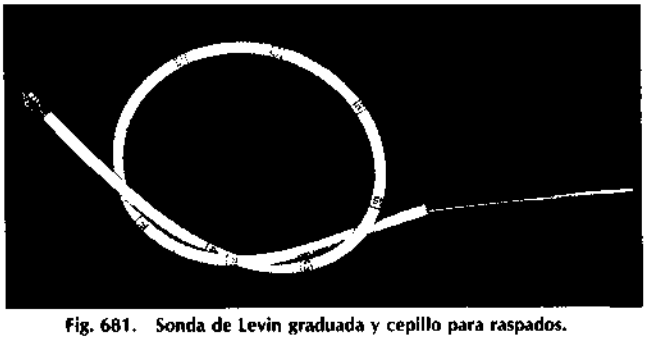


Fig. 681. Sonda de Levin graduada y cepillo para raspados.

Procedimiento

1. Se introduce una sonda de Levin hasta antes de la lesión y después se extiende con suavidad el cepillo.
2. Hecho el raspado, se retrae el cepillo dentro de la sonda de Levin y se lo saca junto con ésta.
3. Las células se pasan del cepillo a un portaobjeto de vidrio limpio golpeteando con suavidad y después se fijan inmediatamente en éter y etanol o en etanol al 95%. Luego se enjuaga el cepillo con 10 ml de solución fisiológica. Los enjuagues se centrifugan 5 minutos a 1500 rpm. El sedimento se extiende en portaobjetos y se fija.

Método de la esponja encapsulada

Onozawa y Nabeya idearon una esponja singular para cepillar la lesión del esófago.[71] La esponja es de espuma de poliuretano, mide 25 mm de diámetro y está atada a un hilo. La capa externa de la esponja elástica es una red áspera de fibras de poliuretano que se presta para cepillar la superficie

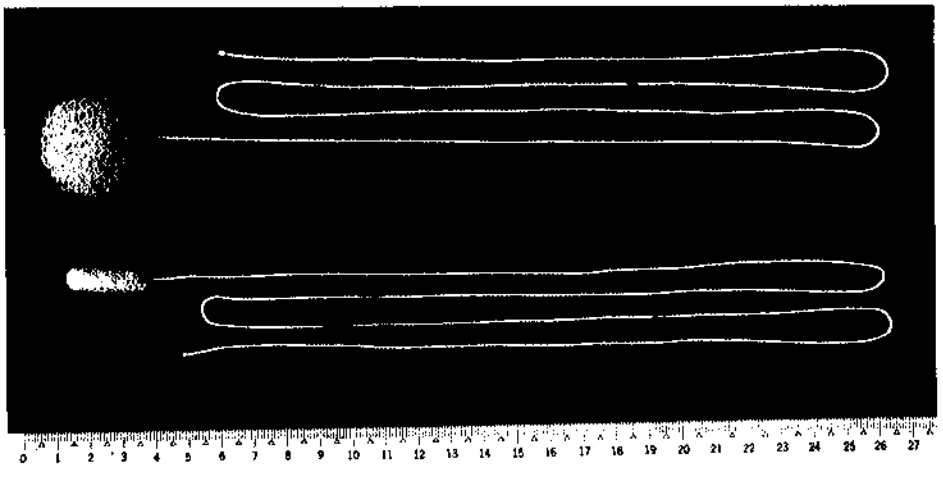


Fig. 682. Esponja encapsulada para cepillados esofágicos. La esponja colocada en una cápsula se dilata en el estómago al disolverse ésta.

de la mucosa. Se comprime la esponja y se la introduce en una cápsula soluble para medicamentos (fig. 682). El paciente deglute esta cápsula con un poco de agua. Como el hilo tiene marcada su longitud, se conoce así la profundidad de la inserción. La ventaja de la técnica de la esponja radica en que no sólo sirve para detectar cáncer esofágico, sino que también llega hasta el cáncer del cardias, que es de difícil acceso con la pinza para biopsias.

Procedimiento. La cápsula de gelatina se disuelve en el estómago a los pocos minutos de deglutirla. Después se retira con suavidad la esponja que se ha agrandado como una bola, poniendo especial cuidado cuando ofrece cierta resistencia al pasar por la unión cardioesofágica. Los extendidos se preparan exprimiendo la esponja sobre portaobjetos de vidrio limpios. Para recoger células, se enjuaga la esponja con solución fisiológica y se centrifuga.

2. Histología del esófago

La membrana mucosa está tapizada por un epitelio pavimentoso estratificado que de pronto se convierte en epitelio columnar simple en el cardias. La capa superficial no experimenta una cornificación verdadera. Existen dos clases de glándulas en el esófago, 1) las glándulas esofágicas propiamente dichas, que son mucíparas tubuloalveolares y se hallan en la submucosa, y 2) las glándulas cardiales, que están a niveles más bajos que la laringe y encima de la unión gastroesofágica, se hallan revestidas por células columnares bajas y se alojan en la túnica muscular de la mucosa. En la túnica propia de la mucosa hay folículos linfáticos solitarios.

3. Componentes celulares benignos

Las células normales que se descaman mediante lavado o raspado esofágico son pavimentosas de diversos estratos, aunque las células superficiales e intermedias son más comunes que las de las capas más profundas. En vista de que el epitelio pavimentoso no es cornificado, estos componentes celulares son muy similares a los de los extendidos vaginales (fig. 683c).

4. Lesiones precancerosas del esófago

Como la mayoría de los carcinomas de esófago son de tipo epidermoide, las alteraciones bowenoides y el carcinoma *in situ* (carcinoma intraepitelial) serían precursores del carcinoma invasor, tal como sucede en otros sitios revestidos por epitelio pavimentoso estratificado. Se informó que junto al carcinoma invasor hay carcinoma *in situ*,[70,93,94,119] pero se hicieron pocos estudios sobre displasia precancerosa o carcinoma *in situ* sin carcinoma invasor.[3,40,104]

5. Lesiones benignas

Esofagitis

Los extendidos de las lesiones de esofagitis ulcerativa no exhiben rasgos celulares que permitan establecer el diagnóstico, aparte del aspecto general del extendido, como abundancia de leucocitos degenerados o restos celulares mezclados con histiocitos y presencia de microorganismos. Pueden aparecer algunas células espinosas hipertróficas y/o células columnares cardiales aglomeradas.

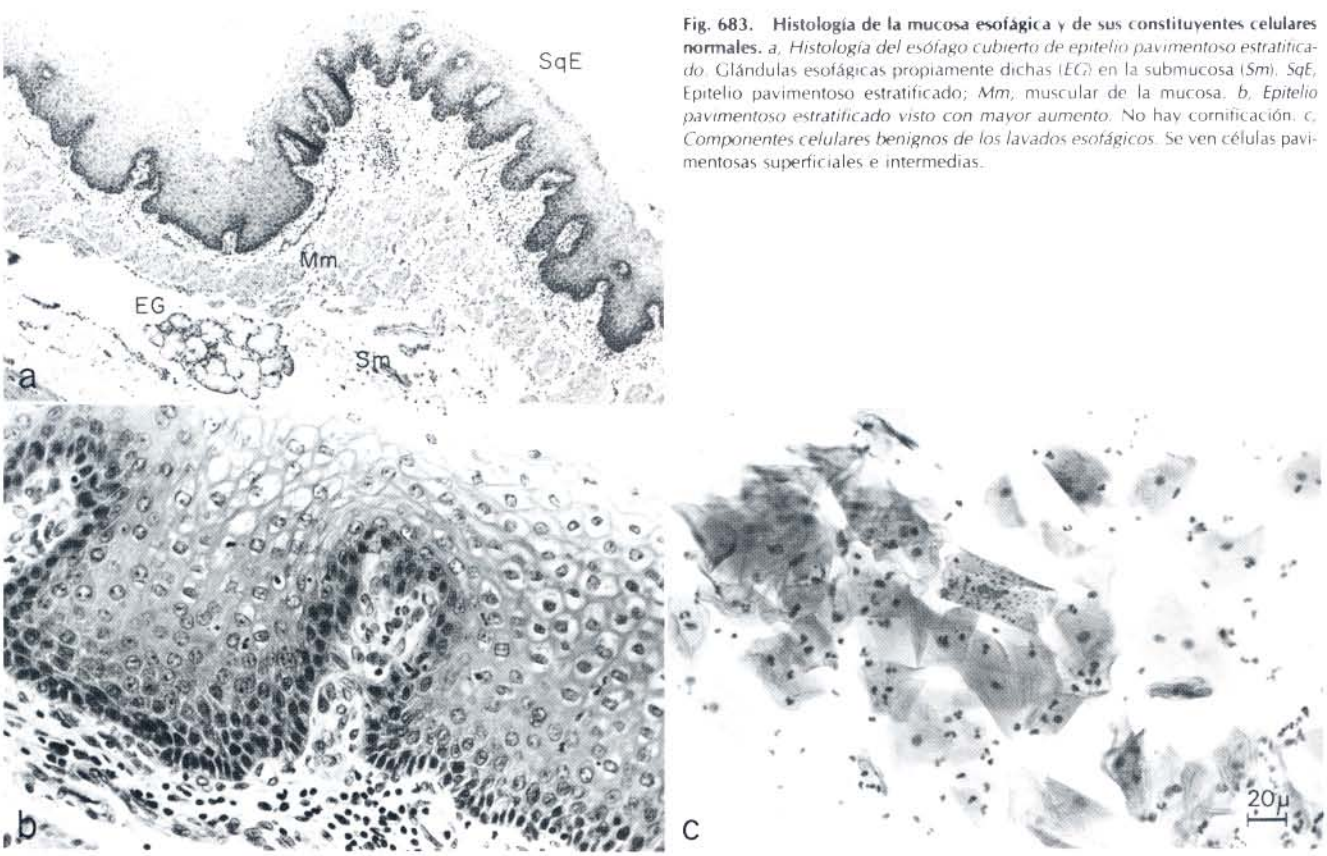
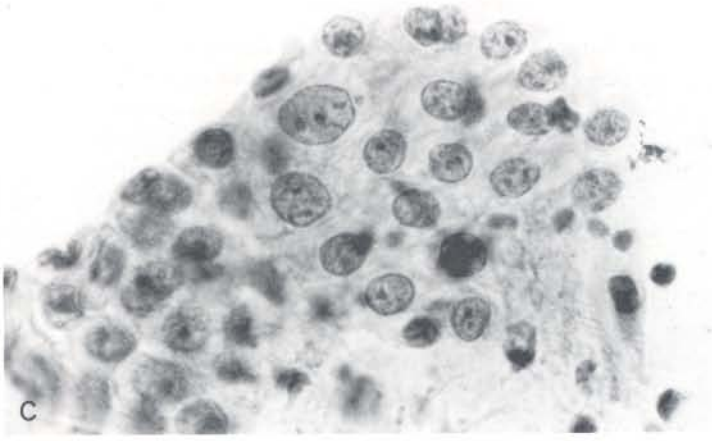


Fig. 683. Histología de la mucosa esofágica y de sus constituyentes celulares normales. *a, Histología del esófago cubierto de epitelio pavimentoso estratificado.* Glándulas esofágicas propiamente dichas (*EG*) en la submucosa (*Sm*). *SqE*, Epitelio pavimentoso estratificado; *Mm*, muscular de la mucosa. *b, Epitelio pavimentoso estratificado visto con mayor aumento.* No hay cornificación. *c, Componentes celulares benignos de los lavados esofágicos.* Se ven células pavimentosas superficiales e intermedias.

Fig. 684. Hiperplasia benigna en la esofagitis crónica. *a, Hiperplasia de células basales y de células columnares asociada con esofagitis crónica.* Estratos múltiples de células basales con núcleos grandes y nucléolos prominentes. *b, Células basales hipertróficas vistas en una lámina de un cepillado citológico.* Núcleos ovales o elípticos grandes y de nucléolos prominentes. *c, Lámina de células columnares hipertróficas de un cepillado citológico.* Los núcleos suelen ser ovales pero de tamaño variable. El citoplasma ancho y vesiculoso dispuesto en panal de abejas sugiere que proviene del epitelio columnar.







Hiperplasia (hiperplasia espinocelular)

La multiestratificación de células espinosas profundas con núcleos hipertróficos se conoce como hiperplasia espinocelular. Esto puede ocurrir como entidad nosológica o asociarse con esofagitis y anemia perniciosa. También hay hiperplasia concomitante del epitelio columnar de la unión esofagocardial.

Las láminas de células parabasales con hipertrofia e hipercromatismo de núcleos que aparecen en el preparado citológico, pueden inducir al observador inexperto a diagnosticar cáncer. La diferenciación entre hiperplasia benigna y carcinoma se basa en la regularidad de la distribución celular y en la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos. A pesar del hipercromatismo nuclear y de la prominencia de los nucléolos, la distribución de las cromatinas no es despareja y los nucléolos suelen ser únicos y centrales.

Esofagitis herpética

Muchas veces la infección herpética se diagnostica en la necropsia de pacientes que han estado en tratamiento con inmunosupresores. El diagnóstico antemortem se puede hacer mediante citología del cepillado[54] o biopsia[106] durante el examen del esófago. Hace poco Wisloff y col.[121] insistieron mucho en las lesiones vesiculosas de la mucosa asociadas con manifestaciones cutáneas de herpes zóster. Para diag-

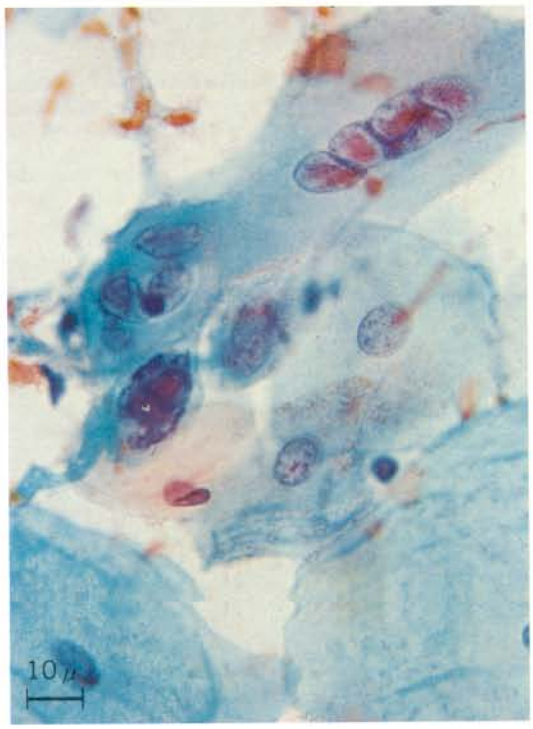


Fig. 685. Infección herpética de la mucosa esofágica con inclusiones intranucleares acidófilas y multinucleación. Este paciente de 61 años se debilitó por irradiación (3000 r) y tratamiento con bleomicina (15 mg). El moldeamiento nuclear es característico de la infección herpética.

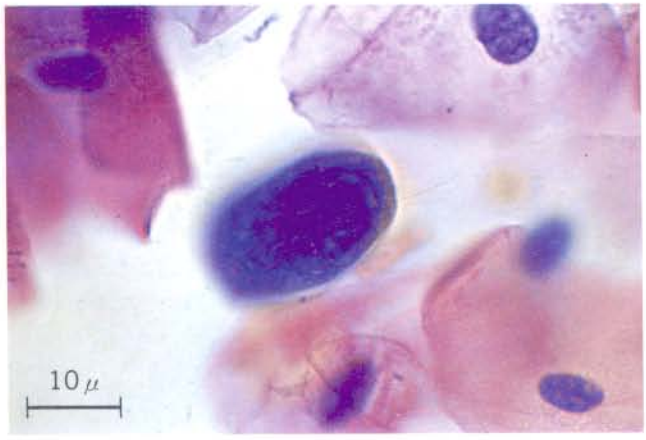


Fig. 686. Citomegalovirosis de la mucosa cardial en un cepillado esofágico. La célula grande con una inclusión intranuclear gigante y aspecto en "ojo de búho" proviene de la superficie afectada del epitelio foveolar del estómago. Esta mujer de 48 años, que había estado en tratamiento intensivo con prednisona y antibióticos, presentaba múltiples úlceras de stress.

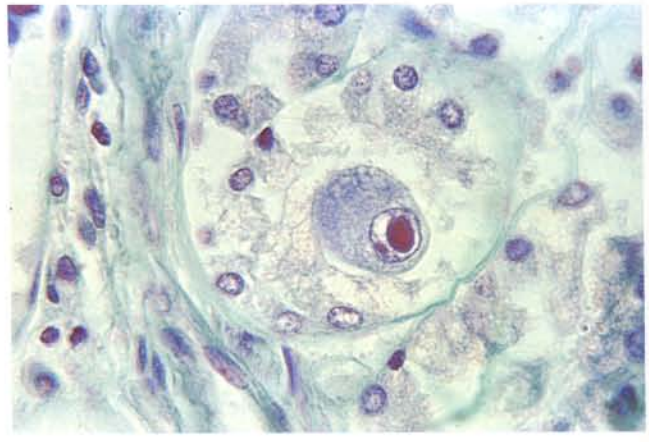


Fig. 687. Citomegalovirosis del epitelio glandular del estómago. Tienden a afectarse las células epiteliales columnares del órgano glandular o parenquimatoso. Nótese la imagen en "ojo de búho" en torno de un gran cuerpo de inclusión anfótero, asociada con pronunciado agrandamiento de la célula. (Gentileza de la Srta. Tsuzaki, K., CT, IAC, y del doctor Kotoh, K., Hospital de la Prefectura de Osaka, Osaka.)

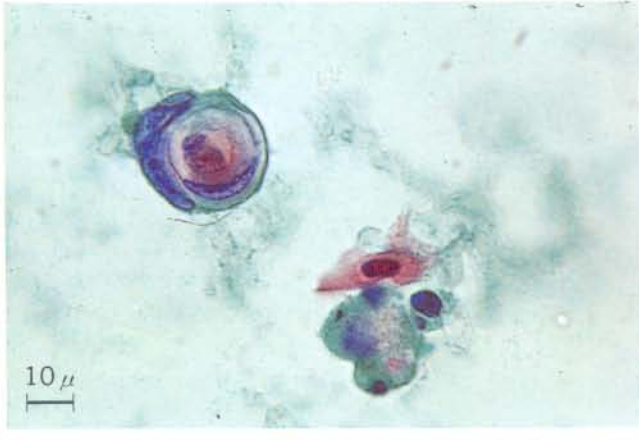


Fig. 688. Células de carcinoma epidermoide diferenciado con formación de perlas. Las células cancerosas de arriba, a la izquierda, están dispuestas en remolino. Hay mucha cromatina en grumos gruesos. Abajo, a la derecha, hay una célula cancerosa queratinizante con picnosis.

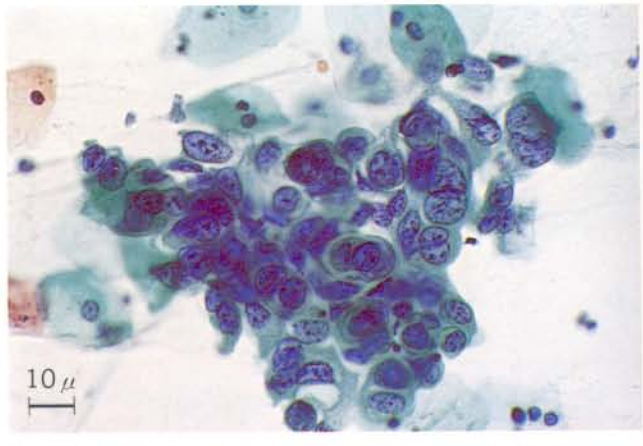


Fig. 689. Células de carcinoma epidermoide no queratinizante diferenciado descamadas en una aglomeración en el raspado esofagoscópico. Nótense la anisonucleosis, la membrana nuclear nítida y el pronunciado hipercromatismo, con aglomeración gruesa de la cromatina. El citoplasma se tiñe intensamente con verde claro.

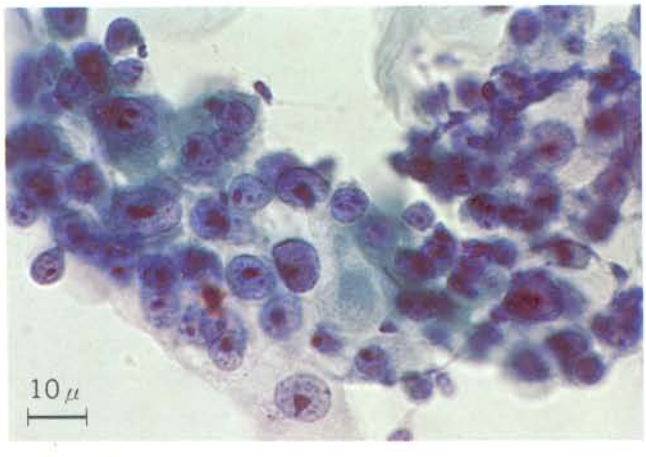


Fig. 690. Células adenocarcinomatosas poco diferenciadas vistas en aglomeraciones en un cepillado esofágico endoscópico. Los núcleos son grandes e hipercromáticos y poseen nucléolos prominentes. El citoplasma es escaso y mal definido. Sugieren el tipo glandular: 1) la superposición celular, 2) el fino borde nuclear y 3) la prominencia de nucléolos con tinte acidófilo.

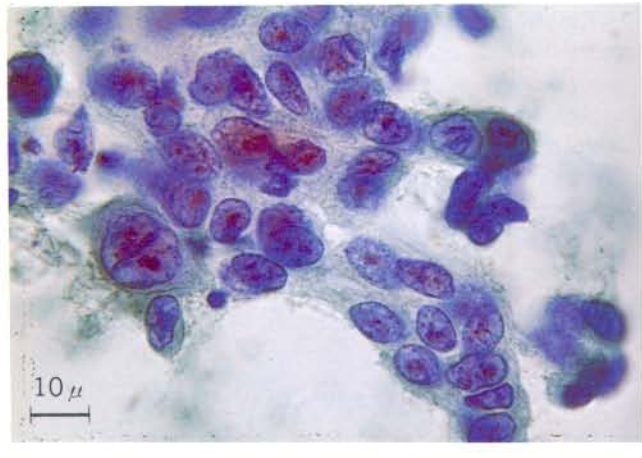


Fig. 691. Células de carcinoma epidermoide poco diferenciado en una lámina obtenida mediante cepillado esofágico. El citoplasma es escaso y de bordes indistintos a causa de la poca diferenciación. Puntos diferenciales: 1) estas células están dispuestas en una lámina plana y 2) los bordes nucleares aparecen engrosados y rígidos.

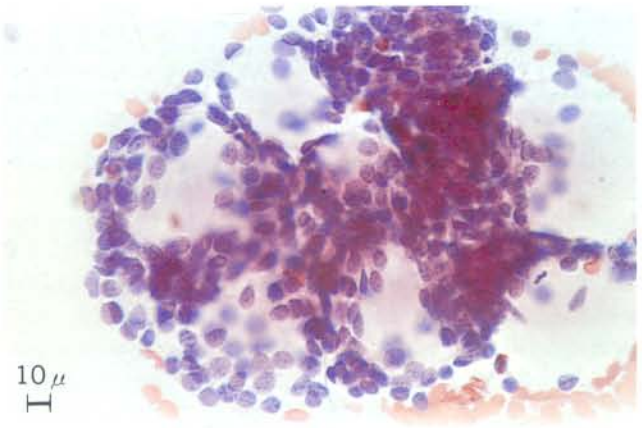


Fig. 692. Cilindroma originado en la porción superior del esófago. Existe una distribución celular característica, con una textura cribiforme; los núcleos de igual tamaño y forma están dispuestos en riendas circulares de modo que se constituyen espacios luminales.

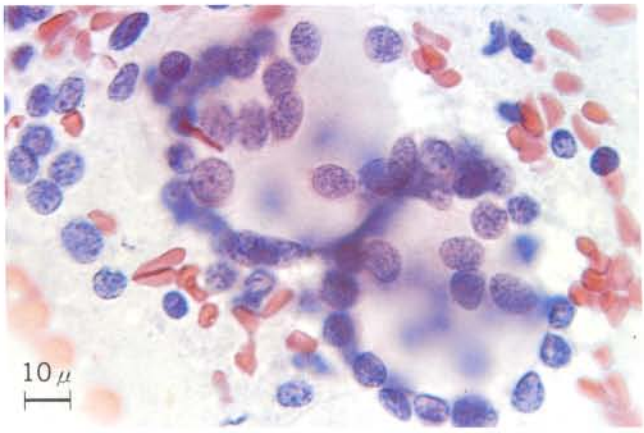


Fig. 693. Cilindroma visto con mayor aumento. Estos núcleos denudados son uniformemente ovales y de tinción homogénea, semejando un basalioma de la piel. A pesar de la escasa atipia celular, este tipo de tumor es recidivante e invasor.

nosticar compromiso herpético del tracto digestivo se debe realizar un examen endoscópico en los pacientes que sufren un dolor torácico no radicular.[111] Vale la pena hacer citología del cepillado por dos razones: 1) Se obtiene un muestreo de las células epiteliales afectadas más amplio con el cepillo que con la pinza de biopsias y 2) el manejo suave del cepillo no puede acarrear una consecuencia grave como sería la perforación de la fina pared del esófago.

Citología. El agrandamiento de núcleos, con multinucleación y moldeamiento, inclusiones intranucleares y aspecto ahumado o en vidrio esmerilado de los núcleos, son idénticos cualesquiera que sean los sitios afectados por la infección herpética.

Infección por citomegalovirus

En ocasiones la citomegalovirosis afecta a las células epiteliales del tracto gastrointestinal,[112,118] en particular en pacientes deteriorados que están en inmunosupresión.[120] También ocurre citomegalovirosis en las células endoteliales o células mesenquimáticas en el sitio de la úlcera gástrica;[112,118] la presencia de macrófagos que contienen las inclusiones después de las trasfusiones de sangre explicarían su localización en las úlceras. Recuérdese que las inclusiones del herpesvirus suelen estar en las células epiteliales del epitelio pavimentoso estratificado, mientras que las citomegalovirales pueden aparecer en células del endotelio vascular y del mesénquima.

Candidiasis

Es común encontrar seudomicelios candidiásicos en los pacientes inmunosuprimidos que se quejan de disfagia.[21]

6. Células malignas

El carcinoma de esófago ocurre más o menos con igual frecuencia en las áreas de estrechamiento fisiológico, es decir, al comienzo del órgano junto a la bifurcación de la tráquea y en la unión esofagocardial. El tumor macroscópico adopta una forma polipoide, penetrante o infiltrativa. Alrededor del 95% o más de los carcinomas esofágicos son epidermoides al examen microscópico. El adenocarcinoma representa un 3 a 10%[19,76] y la mayoría de las veces está en el cardias, donde existen glándulas gástricas normales o como tejido heterotópico. Algunos adenocarcinomas se metaplasian a la forma pavimentosa y se conocen como adenoacantomas.

Tipo epidermoide

El tipo epidermoide diferenciado se caracteriza por células en renacuajo, células en fibra, células en víbora y células del tercer tipo de Graham.[31,33] Estas células características son idénticas a las que describimos al ocuparnos del carcinoma del cuello uterino y de pulmón. El tipo poco diferenciado presenta rasgos distintivos como un citoplasma escaso y cianófilo pálido, considerable aumento de la relación N/C y gran hipercromatismo de los núcleos, con una trama de cromatina granular gruesa.

Tipo glandular

Las células malignas de tipo glandular (adenocarcinomatosas) tienden a formar aglomeraciones con superposición nuclear, núcleos excéntricos y vacuolación del citoplasma. Los núcleos son redondos a ovales y de contornos lisos y delicados. Las cromatinas del adenocarcinoma no son tan gruesas como las del carcinoma epidermoide. La mayoría de los adenocarcinomas derivan del segmento torácico y de la unión esofagocardial; se considera que son de origen gástrico y que se han propagado en la profundidad del epitelio.

El cistadenocarcinoma o cilindroma es raro en el esófago y presenta rasgos histológicos idénticos al de la glándula salival (fig. 692).

Adenoacantoma

Este tipo de tumor es metaplásico. Los nidos celulares del adenocarcinoma contienen focos de diferenciación epidermoide. La citología del adenoacantoma se caracteriza por diferenciación hacia el carcinoma epidermoide y hacia el adenocarcinoma. El citoplasma se ensancha y se engruesa a causa de la metaplasia pavimentosa, pero su núcleo conserva

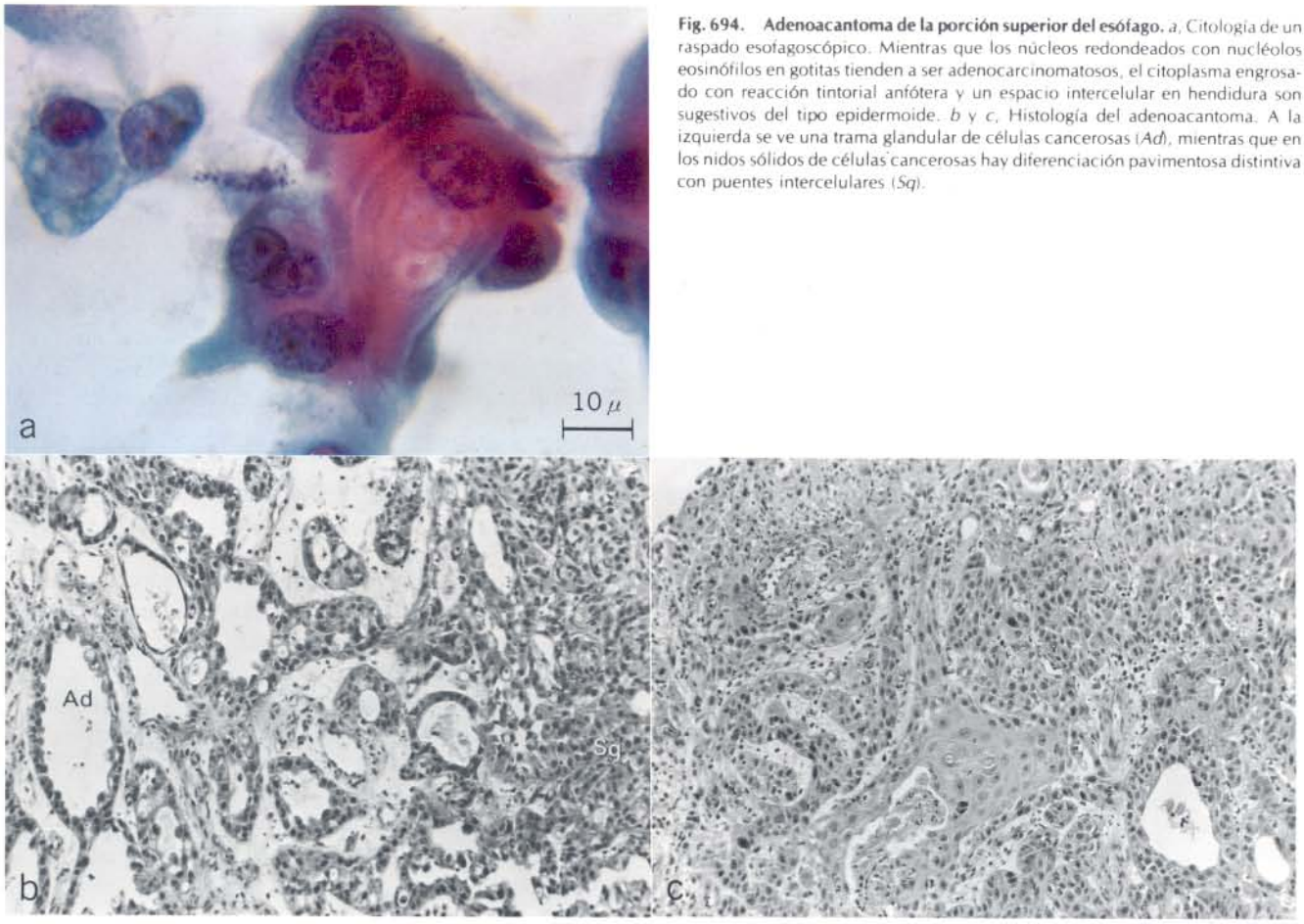


Fig. 694. Adenoacantoma de la porción superior del esófago. *a*, Citología de un raspado esofagoscópico. Mientras que los núcleos redondeados con nucléolos eosinófilos en gotitas tienden a ser adenocarcinomatosos, el citoplasma engrosado con reacción tintorial anfótera y un espacio intercelular en hendidura son sugestivos del tipo epidermoide. *b* y *c*, Histología del adenoacantoma. A la izquierda se ve una trama glandular de células cancerosas (*Ad*), mientras que en los nidos sólidos de células cancerosas hay diferenciación pavimentosa distintiva con puentes intercelulares (*Sq*).

las características del adenocarcinoma; los núcleos son redondos a ovales y de contorno liso, y poseen un solo nucléolo prominente central (fig. 694).

ESTÓMAGO

1. Recolección de muestras y preparación de extendidos

Aspiración de jugo gástrico

Los aspirados gástricos no se prestan para citología a causa de la contaminación con alimentos y de la digestión de las células, de modo que sólo revisten importancia histórica. Ni siquiera el análisis bioquímico del jugo gástrico, se administre histamina o no, depara alguna utilidad como prueba preliminar para cáncer gástrico porque muchas personas normales en edad de adquirir cáncer presentan aclorhidria o hipoclorhidria.[28]

Lavados gástricos

El paciente debe estar en ayunas desde la noche anterior si se sospecha estenosis pilórica. Aunque se pueden obtener muestras frescas, el enjuague a ciegas se ha abandonado porque no sólo insume demasiado tiempo, sino que no permite hacer una recolección correcta de las células de las lesiones. En cambio, Shade[88] señala que el lavado es muy útil para seguir el carcinoma incipiente de estómago. De acuerdo con su trabajo, la mezcla de células contaminantes provenientes de la boca, nasofaringe y esófago informaría más sobre diversas enfermedades gástricas, en lugar de hacer un preenjuague excesivo de la cavidad gástrica hasta que se obtiene un líquido claro desprovisto de células contaminantes.

Procedimiento

1. Se introduce por la nariz o por la boca una sonda de Levin (N° 14 o 16) con el paciente sentado o en decúbito lateral. Se le indica que trague agua varias veces mientras se le introduce la sonda. Se conecta la sonda de Levin con una jeringa de 50 ml y se inyectan unos 20 ml de agua para verificar si la sonda está en el estómago y no se ha arrollado. Como la sonda de Levin es blanda y se dobla, el cuerpo médico del Doai Memorial Hospital diseñó una sonda un poco más rígida que tiene aberturas laterales (fig. 695c y d).
2. Se aspira el contenido del estómago y se lo descarta. Se administran al paciente 100 ml de solución fisiológica o de agua corriente y se aspira el líquido. Esto se repite varias veces hasta que se aspira un líquido claro a simple vista. La limpieza preliminar es muy importante porque la mayoría de los resultados negativos falsos se deben a muestras inapropiadas que se contaminaron con alimentos, células extragástricas y moco.
3. Por la sonda se pasan unos 200 ml de diversas soluciones de lavado con una jeringa de 50 ml, repitiendo las

inyecciones rápidas y las aspiraciones lentas varias veces. Durante el procedimiento el paciente se acuesta en decúbito ventral, dorsal y lateral de ambos lados, y después se sienta. En cada posición se inyecta y se aspira líquido para lavar bien la pared gástrica. También se palpa el epigastrio. Por último, se aspira todo el líquido.

4. La muestra se envía inmediatamente al laboratorio y se centrifuga 5 minutos a 1500 rpm en tubos de centrífuga de 50 ml. Las células se digieren si se tarda más d emedia hora (Graham[33]).

5. Los extendidos del sedimento se preparan deslizando dos portaobjetos. A continuación se colocan sin pérdida de tiempo en fijador de éter y etanol o de etanol al 95%.

Solución de lavado

1. La solución fisiológica o la de Ringer no sólo es fácil de usar sino también conveniente para obtener un buen material.

2. Solución de papaína (Rosenthal y Traut): Los autores de esta solución[78] dicen que la papaína es una enzima proteolítica que favorece la exfoliación de las células cancerosas. La solución de papaína se prepara del siguiente modo: 1) Se depositan en una mezcladora 3 cucharadas soperas de papaína y se agrega suficiente solución buffer de fosfato (pH 7,3) para hacer la mezcla. Luego se agita 3 minutos. 2) Se añaden varios centenares de mililitros de buffer de fosfato y se revuelve, agregando una cucharada sopera de carbón activado poco a poco. 3) La solución se filtra (papel Whatman N° 2) y, por último, se lleva a 1000 ml. 4) Se agrega 1,5 g de hidrocloruro de cisteína como activador antes de usar. Se pasan por la sonda de Levin casi 1000 ml de solución de papaína y se dejan en el estómago 10 minutos, antes de aspirar. Esta solución no se suele usar en la actualidad.

3. Solución de quimiotripsina: Esta solución, que es la que más se usa para hacer lavados gástricos,[48,57] había sido propuesta por Rubin y Benditt.[80] Este agente mucolítico es útil para excluir el denso material mucoso y los restos de tejido necrótico que cubren la lesión. La enzima proteolítica aumentaría la exfoliación de las células cancerosas[109] porque éstas poseen menos adhesividad mutua que las células epiteliales normales.[17]

Aunque Schade[89] discrepa alegando que la digestión con quimiotripsina mezcla a todos los elementos celulares de diversas fuentes y dificulta la interpretación de las células, muchos investigadores aceptan la ventaja de las enzimas proteolíticas. La solución de quimiotripsina se prepara así: 1) Prepárese buffer de acetato 0,1 M ajustado a pH 5,6 disolviendo 13,6 g de acetato de sodio en 0,6 ml de ácido acético glacial y agua destilada, y llevando a un litro; 2) antes de usar se disuelven 10 mg de α-quimiotripsina en 200 ml de buffer de acetato. R. M. Graham[33] señala que apenas se obtiene el aspirado se lo debe procesar mediante centrifugación y fijación porque la proteína del líquido precipita al agregar los fijadores y el precipitado dificulta la extensión del sedimento. En el laboratorio de este autor se recomienda agregar igual cantidad de formol al 2% en solución de Ringer y alcohol al 40% a la muestra aspirada en caso de que no se la procese sin demora, porque con el lavado preliminar se eliminaría la mayor parte del material mucoso, de modo que la adición de una baja concentración de alcohol no haría que el moco precipite.

Lavados selectivos

El método común es un lavado del estómago a ciegas. Saburi y col. recomiendan el lavado selectivo de la lesión, localizada primero con radiografías.[81] Para establecer mediante radioscopia si la sonda del lavaje se encamina con exactitud hacia la lesión, se pasa "urokolin" hidrosoluble –agente para angiografías– junto con solución de quimiotripsina o solución fisiológica al 5% de urokolin. La sonda para lavaje diseñada por el Cuerpo Médico del Doai Memorial Hospital es más firme que la de Levin y tiene una punta cubierta de plomo y cuatro orificios (Iwashiya Takahashi, Tokio) (fig. 695d).

Método del globo abrasivo

Panico y col.[74] idearon un globo de goma cubierto con una malla de seda. Este globo se conecta con una sonda doble N° 16 Fr. que tiene una punta ojival metálica y con la cual se aspira el contenido gástrico. Una luz es para aspirar el líquido y la otra para inflar el globo. Desde la descripción original de Panico se introdujeron algunas modificaciones.[18,52,73]

Procedimiento. Con el paciente en ayunas se lava primero el estómago. Antes de introducir el globo se rocía la garganta con un anestésico, como hidrocloruro de cocaína al 2% y xilocaína al 4%. Se indica al paciente que trague el globo hasta que llega al estómago. Tras aspirar el líquido gástrico retenido, se infla el globo, se lo lleva hasta el píloro y se lo tracciona hasta el carias para que raspe la pared gástrica. El globo retirado se enjuaga bien con solución fisiológica o solución de Ringer, se centrifuga la solución y se preparan extendidos del sedimento.

Este método está contraindicado en la estenosis cardial, en las varices esofágicas y en la hemorragia gástrica.

Método del cepillo giratorio

Ayre[4] raspa las paredes del estómago con un cepillo giratorio. Las cerdas son de verraco (Cloy-Adams, Inc., Nueva York, N.Y.) (fig. 695a).

Procedimiento. El cepillo se lleva desde la boca hasta el estómago dentro de su camisa metálica. Se aplican dos dedos en el dorso de la lengua y al producirse una arcada, se introduce la punta del instrumento. Al abrirse en el estómago, el cepillo tiene un diámetro de revolución de 5,7 cm. Las paredes gástricas se raspan haciendo rotar a mano el cepillo. Ayre dice que el cepillo se puede llevar bajo control radioscópico directamente a una lesión cuyo sitio se conoce. Después del raspado se retrae el cepillo dentro de la camisa metálica para que no se contamine con las células del esófago y la boca, y se saca el tubo. La muestra que está en el cepillo se pasa directamente a portaobjetos de vidrio limpios.

Henning y Witte[35] idearon un método modificado del globo abrasivo que consiste en una esponja de espuma de goma. La esponja se inserta en el estómago introducida en un tubo y, apenas se la retira después del raspado, se enjuaga con 10 ml de solución fisiológica.

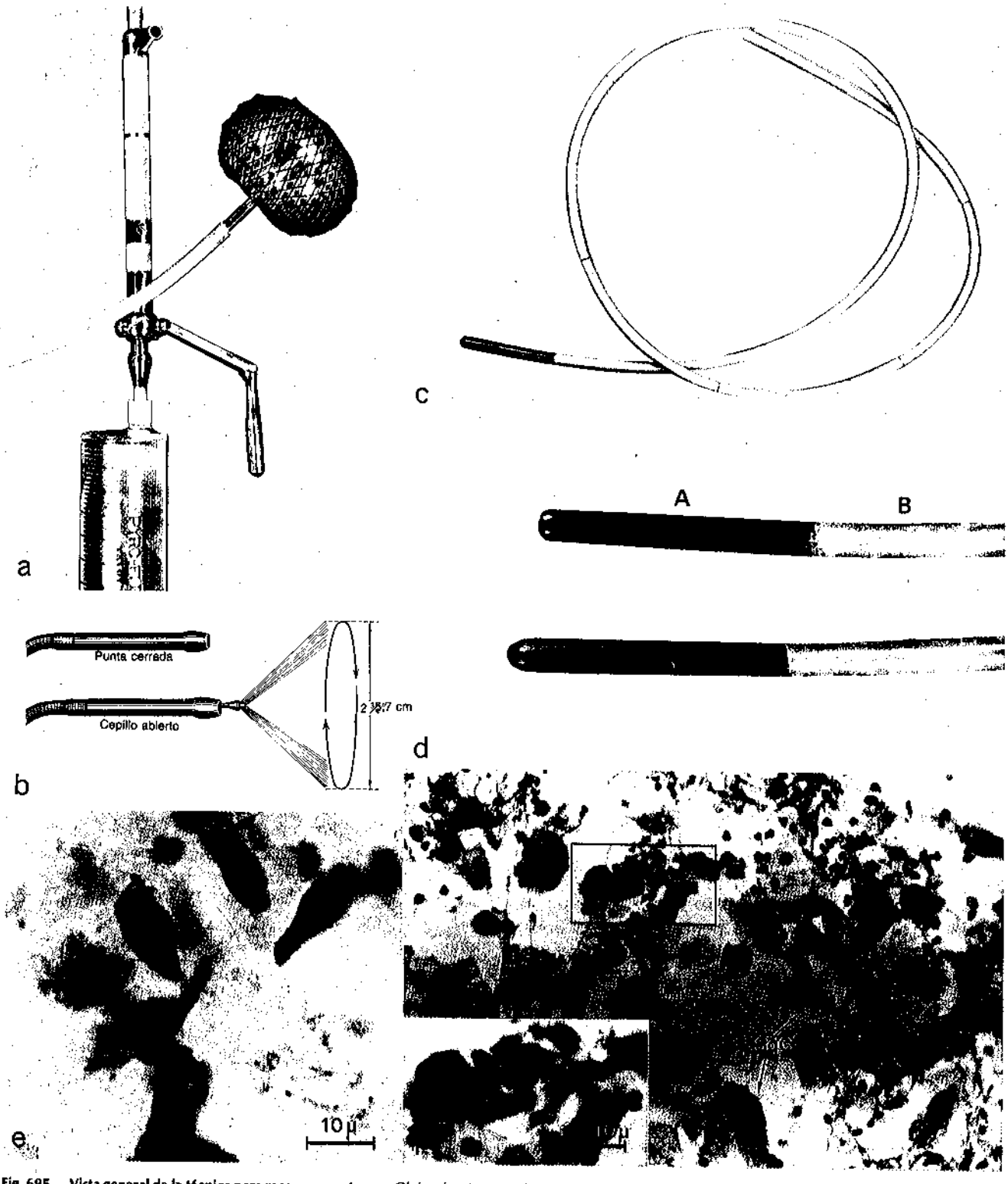


Fig. 695. Vista general de la técnica para recoger muestras. *a, Globo abrasivo.* Para frotar la mucosa gástrica se usa una redecilla de seda con nudos. *b, Esquema del cepillo giratorio de Ayre.* La punta está cerrada mientras se inserta el tubo en el estómago. *c y d, Sondas gástricas del Hospital Doai.* La punta con su cubierta de plomo (*A*) tiene dos agujeros de un lado y un agujero del otro. Esta sonda es más firme que la de Levin. *e y f, Componentes celulares normales de los lavados gástricos.* Nótense las células columnares superficiales diseminadas (e) y las láminas de células columnares bien preservadas. También se ven algunas células pavimentosas derivadas del esófago o de la boca (*SqC*).



Fig. 696. Gastrofibroscopio para biopsias y citología; vista general (a) y punta (b) (Olympus Optical Co., Tokio). La flexibilidad de la punta hacia las cuatro direcciones con ángulos de 100° hacia arriba, 80° hacia abajo, 50° hacia la izquierda y 50° hacia la derecha, se presta para recoger muestras de todas las porciones del estómago. La punta tiene una cámara, salidas para lavados y pinza o cepillo.

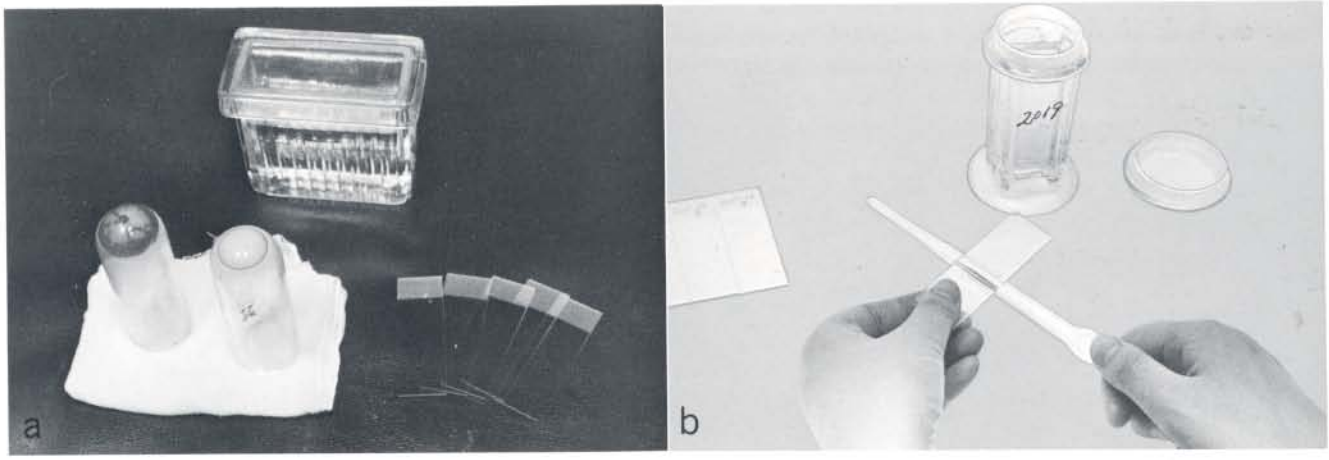


Fig. 697. Preparación para lavados gástricos. Centrifugación con tubos de 50 ml (*a*) y preparación de los extendidos con una pipeta revestida de goma (*b*).

Recolección de células bajo gastroscopia directa y gastrofibroscopia

Como los métodos que acabamos de describir se hacen a ciegas, a veces no se detecta el cáncer gástrico incipiente, en particular si es minúsculo y está en un área pequeña. Desde que Benedict ideó el gastroscopio flexible[5-8] se intentó la biopsia selectiva y enjuague bajo visión directa. Antes del advenimiento del gastrofibroscopio se conectaba con el gastroscopio una pequeña cureta y una sonda con una esponja para raspar la lesión. En 1958 Hirschowitz[36] publicó la primera descripción sobre el uso del gastrofibroscopio y desde entonces muchos investigadores japoneses diseñaron y utilizaron instrumentos para biopsias selectivas o citología de lavajes, obteniendo mejores resultados en la detección del cáncer gástrico incipiente. Están el tipo FGS-K (Machida Medical Instrument Co., Tokio), con un pico irrigador y una fuente luminosa de vacío (7V);[24,44,46,47] el FGS-C (Machida Medical Instrument Co., Tokio), con una fuente luminosa de vacío (7V) y un ángulo que permite una flexión hacia arriba y abajo de 110° y una rotación hacia la derecha o la izquierda de 45° mediante control remoto;[100,103] el FGS-CL (Machida Medical Instrument Co., Tokio) con un haz de fibra óptica para iluminación y un ángulo capaz de 90° de flexión hacia arriba y abajo y 30° de rotación a la derecha o izquierda;[45] los GFC y GTF-C para citología y el GFB para biopsias (Olympus Optical Co., Tokio).

2. Histología del estómago

El estómago consta de tres regiones: cardias, fondo y píloro. El estómago vacío presenta unos pliegues longitudinales y unas elevaciones más finas que se llaman áreas gástricas, entre las cuales hay unas fositas gástricas. El

epitelio que tapiza toda la superficie, con excepción de las fositas gástricas, consiste en un solo estrato de células columnares altas de núcleos basales y citoplasma claro que da reacción positiva con el ácido peryódico-Schiff. La regeneración de las células tiene lugar en las áreas más profundas de las fositas gástricas y se extiende desde allí para cubrir las áreas denudadas. Las glándulas fúndicas son tubulares ramificadas perpendiculares a la superficie y desembocan en las fositas gástricas. Las glándulas están revestidas de células principales (células cimógenas), células parietales, células mucíparas del cuello y células argentafines. Las células principales secretan pepsinógeno y fermento lab, y pueden transformarse en células mucíparas. Las células mucíparas del cuello, que secretan mucinógeno, participan en la regeneración y se relacionarían con las células superficiales.

Las células parietales poseen núcleos redondos centrales y un citoplasma muy acidófilo; se piensa que elaboran ácido clorhídrico. En la microscopia electrónica se ven unas microvellosidades muy bien desarrolladas y a menudo se reconocen conductillos intracelulares por invaginación de la membrana plasmática.

Las glándulas pilóricas, que existen en la región antropilórica, tienen unas fositas gástricas más profundas en las cuales desembocan las glándulas pilóricas ramificadas. Las células del epitelio glandular poseen núcleos basales y un citoplasma pálido y abundante, con granulaciones poco nítidas. Por su morfología es difícil diferenciarlas de las células mucíparas del cuello. La túnica mucosa consiste en un tejido conectivo reticular con conductos vasculares e infiltración por linfocitos, plasmocitos, eosinófilos, etc. En el cardias y en el píloro hay folículos linfoides.

3. Componentes celulares benignos

Células epiteliales mucíparas

Por lo común las células de revestimiento superficiales se exfolian y aparecen en los lavados o cepillados, pero las originadas en las glándulas gástricas sólo se reconocen en las impresiones del tejido gástrico; con la tinción de Papanicolaou apenas se identifican si no se emplea el método de Giemsa.

1) Células de revestimiento superficiales. Muchas veces las células superficiales bien preservadas se presentan en láminas. Vistas desde arriba forman una imagen en panal de abejas, con unos núcleos distribuidos con regularidad y rodeados por pequeñas orlas de citoplasma (fig. 701b y d). En la periferia de las láminas muchas veces hay unas células columnares que se reconocen como tales y poseen núcleos excéntricos.

Núcleos. Los núcleos son redondos u ovales y de tamaño y morfología uniformes. La distribución de la cromatina es pareja, finamente granular y regular. Los bordes nucleares no están engrosados, pero se delinean con nitidez. En la vista lateral, los núcleos aparecen en la periferia.

Citoplasma. Las células bien preservadas poseen un citoplasma columnar verde azulado. En las aglomeraciones muy compactas el citoplasma puede ser acidófilo. Las células mucíparas del estómago son susceptibles a la degeneración. Muchas veces se observan los núcleos denudados de las células degeneradas. En la degeneración incipiente el citoplasma aparece a veces como un fondo perinuclear borroso.

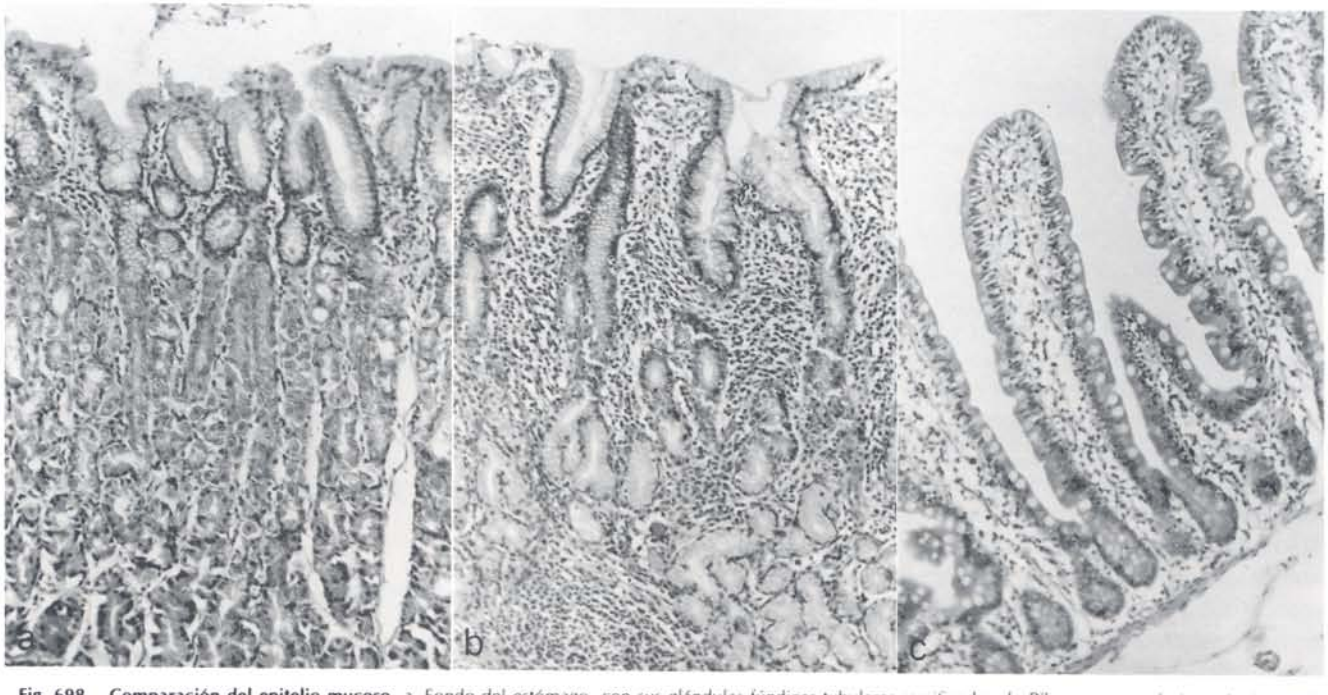


Fig. 698. Comparación del epitelio mucoso. *a*, Fondo del estómago, con sus glándulas fúndicas tubulares ramificadas. *b*, Píloro, con sus fositas gástricas más profundas y sus glándulas pilóricas. *c*, Entre las múltiples vellosidades del intestino delgado se abren las criptas de Lieberkühn; el epitelio superficial aparece interrumpido por células caliciformes.

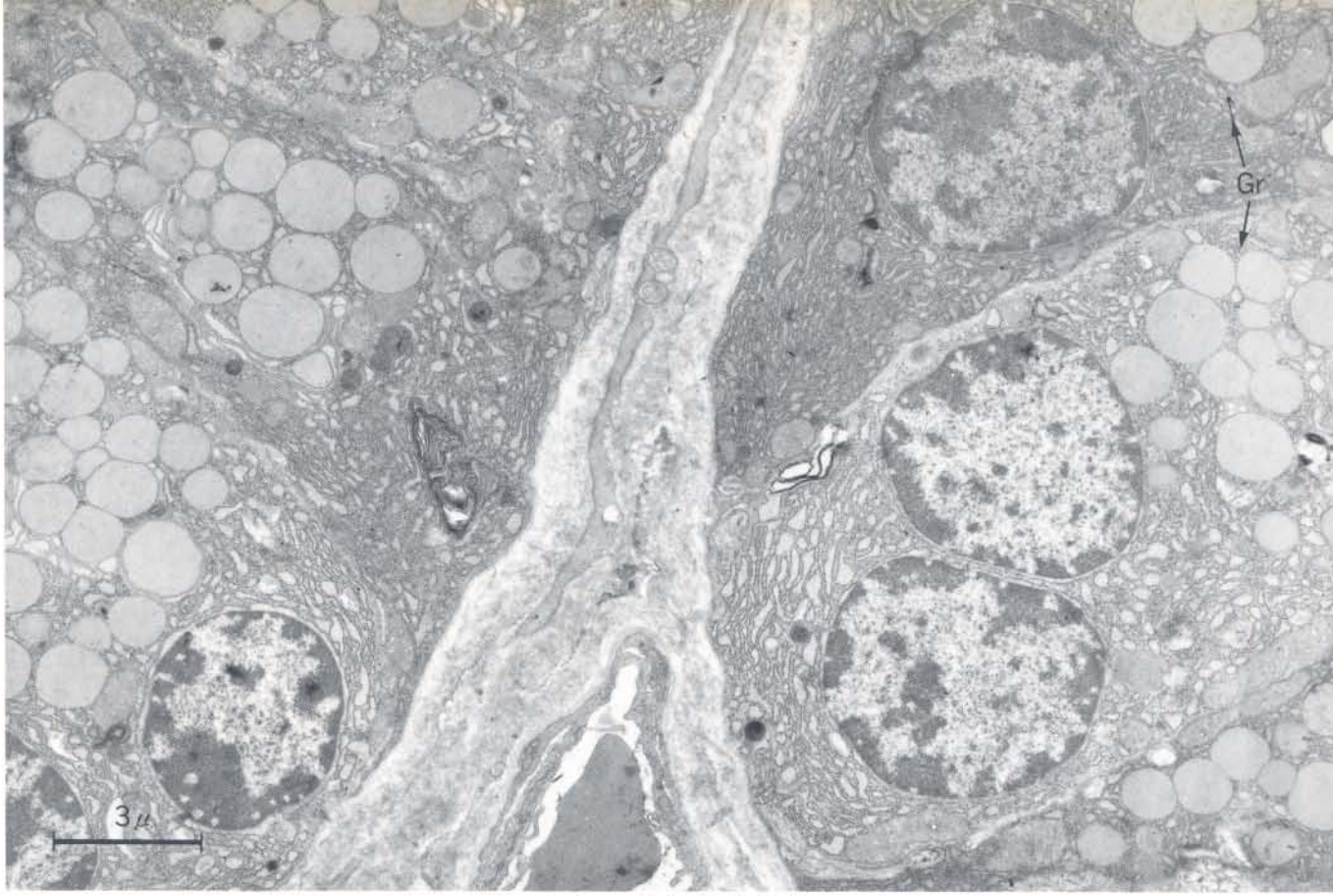


Fig. 699. Micrografía electrónica del cuerpo del estómago. Zona fundamental de la glándula fúndica ocupada por las células principales, que son ricas en retículo endoplasmático áspero y en gránulos de cimógeno (*Gr*).

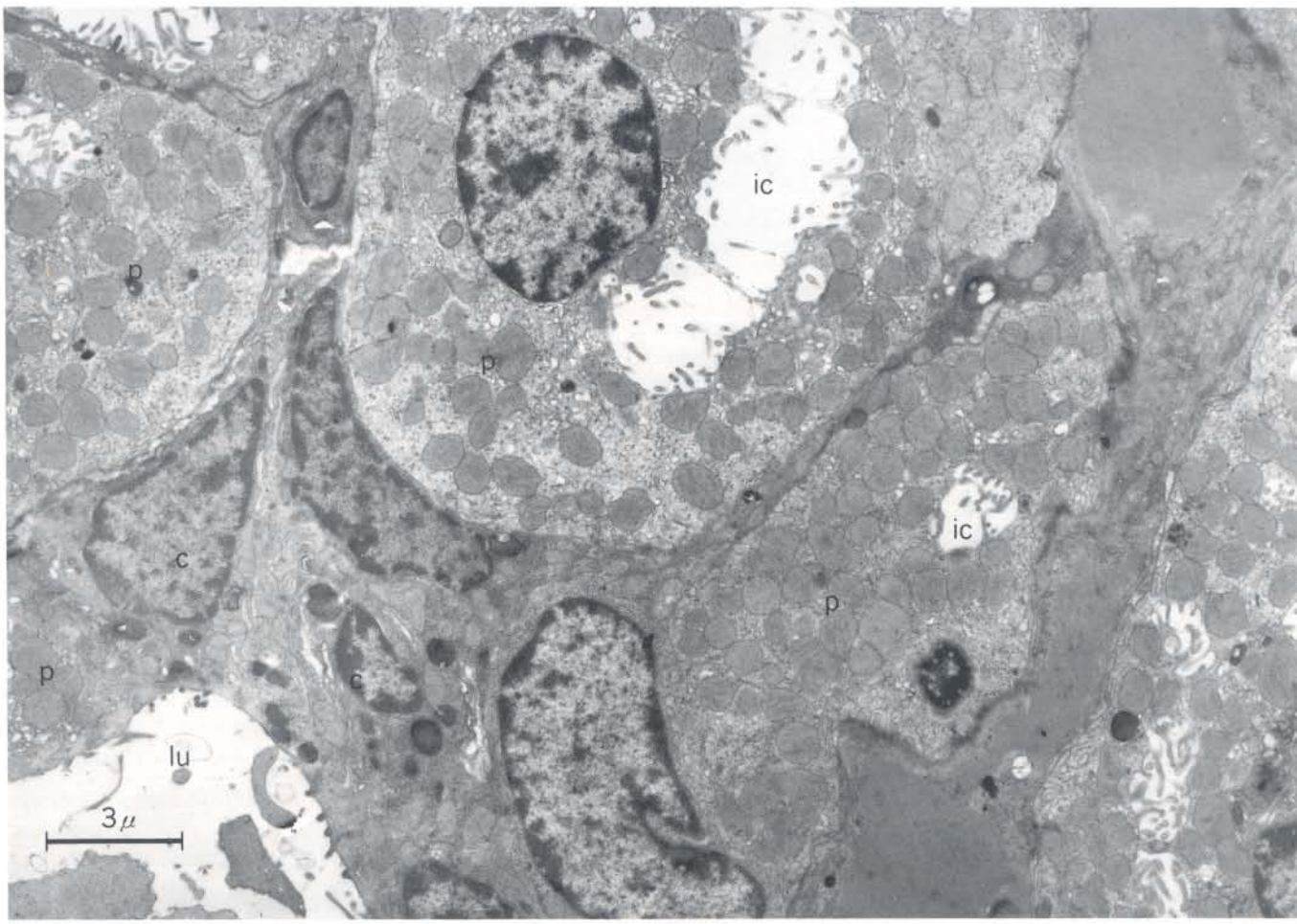


Fig. 700. Micrografía electrónica del cuerpo del estómago de una rata que exhibe células parietales. En las células parietales (*p*) existe un sistema bien desarrollado de canalículos intracelulares (*ic*), que es una modificación del retículo endoplasmático. Nótese la abundancia de mitocondrias grandes redondeadas. Se ven células principales (*c*) que miran hacia la luz (*lu*).

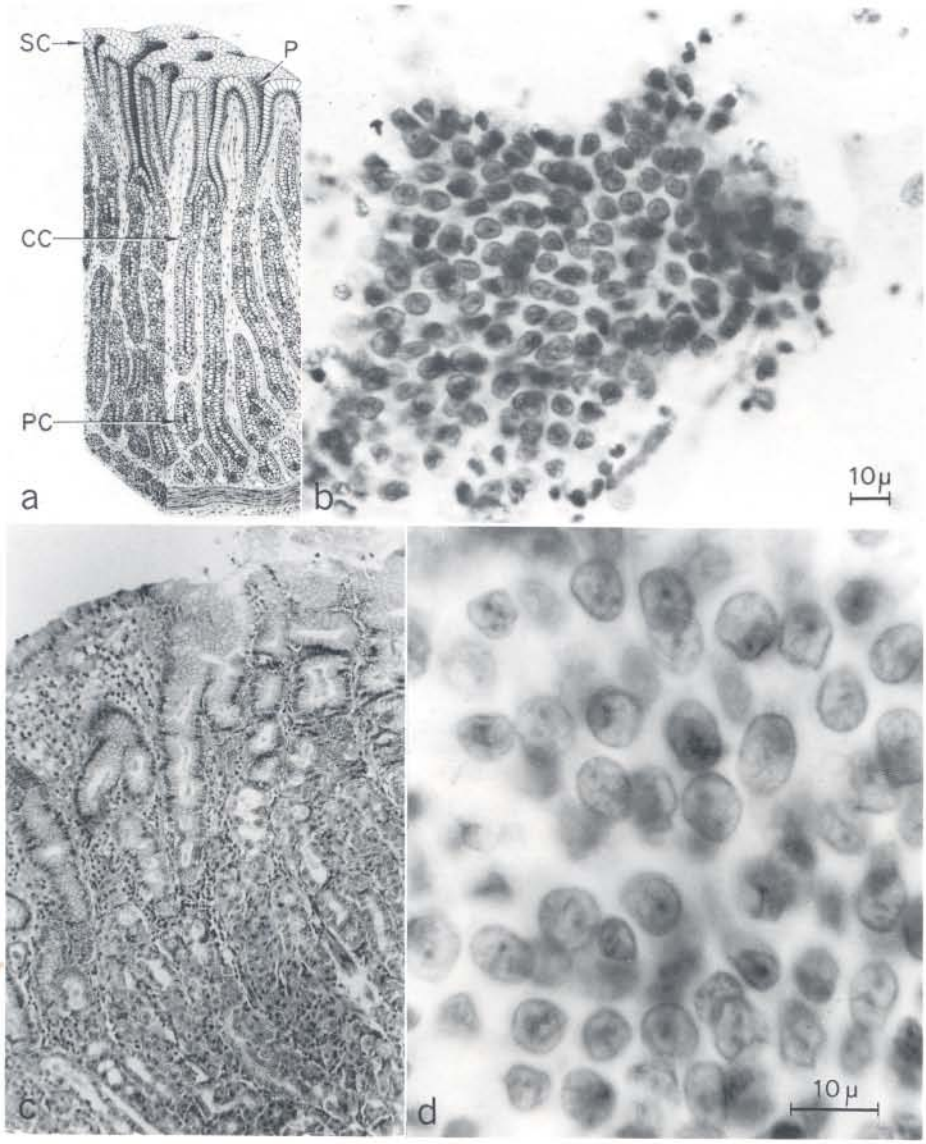


Fig. 701. Histología de la mucosa gástrica y citología de las células epiteliales normales. *a, Esquema de las glándulas fúndicas.* Las áreas gástricas y las fositas gástricas (*P*) están revestidas por un solo estrato de células superficiales altas (*SC*). Las glándulas fúndicas tubulares desembocan en el fondo de las fositas gástricas. *CC,* Células principales; *PC,* células parietales. *b, Lámina de células epiteliales superficiales vista desde arriba.* Nótese la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos y la imagen en panal de abejas. *c, Histología de la mucosa gástrica en el fondo.* Las glándulas fúndicas están bien desarrolladas. *d, Células epiteliales superficiales vistas con mayor aumento.* Los núcleos están espaciados con regularidad y su tamaño y morfología son bastante uniformes. Los núcleos se presentan homogéneos y vidriosos, con excepción de unos pocos cariosomas pequeños.

2) Células principales. Las células principales, también llamadas adelomorfas o cimógenas, que derivan de la región inferior de las glándulas fúndicas, se identifican en los extendidos impresos preparados con la muestra de la biopsia de punción gastrofibroscópica. Poseen núcleos redondos y de tamaño y morfología uniformes. El citoplasma es poco tingible y de bordes mal definidos. Los gránulos de cimógeno sólo se ven coloreando con Giemsa, pero la reacción tintorial no es constante y a veces toma el verde claro.

3) Células parietales. Las células parietales, también llamadas delomorfas, ácidas u oxínticas, presentan un citoplasma abundante y núcleos pequeños, redondos u ovales, con una trama de cromatina suave.

4) Células mucíparas del cuello. Estas células aparecen diseminadas en el cuello de las glándulas fúndicas y exhiben una transición gradual a células mucíparas superficiales. Sus núcleos están en la base. Las células mucíparas del cuello participan en la proliferación regenerativa consecutiva a la erosión del tejido mucoso. Estas células de las fositas gástricas son importantes sitios de trasformación del tipo gástrico al intestinal.

5) Células argentafines. La afinidad por las sales de plata es una propiedad característica de las células argentafines, que están distribuidas por todo el tubo digestivo. Contienen unos gránulos secretorios electrondensos en la base del citoplasma, que consistirían en el compuesto aminado 5-hidroxitriptamina. Este grupo de células se conoce como sistema endocrino periférico; el tumor que se origina en estas células paracrinas es el carcinoide.

6) Células de las glándulas pilóricas. La citología de estas células es idéntica a la de las células mucíparas del cuello.

Addendum: Clasificación del carcinoide. La función del carcinoide que produce serotonina (hidroxitriptamina) o su precursor, el 5-hidroxitriptófano (5-HTP), es diferente según el sitio primario y la base embriológica; los carcinoides derivados del intestino anterior, intestino medio e intestino posterior exhiben comportamientos distintos (Williams y Sandler[107]) (cuadro 66).

Células extragástricas

1) Células pavimentosas. La gran mayoría de las células epiteliales extragástricas son pavimentosas y provienen de la mucosa bucal, faríngea y esofágica. Las más comunes son las células superficiales de citoplasma ancho y escamoso, y

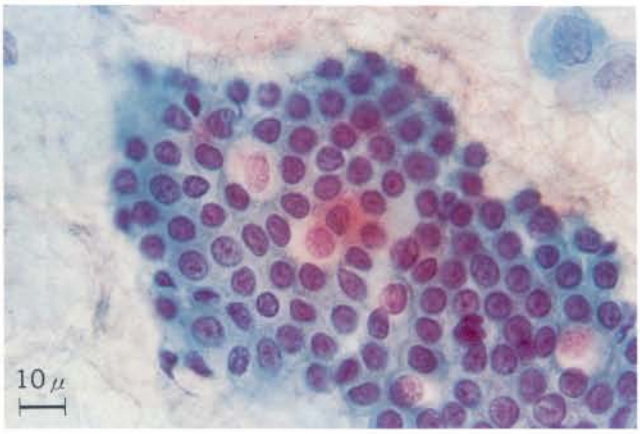


Fig. 702. Células epiteliales superficiales en una gran lámina en panal de abejas. Distribución regular de células de tamaño y forma parejos. La distancia entre los núcleos es la misma. En ocasiones aparecen mezcladas algunas células caliciformes de citoplasma trasparente.

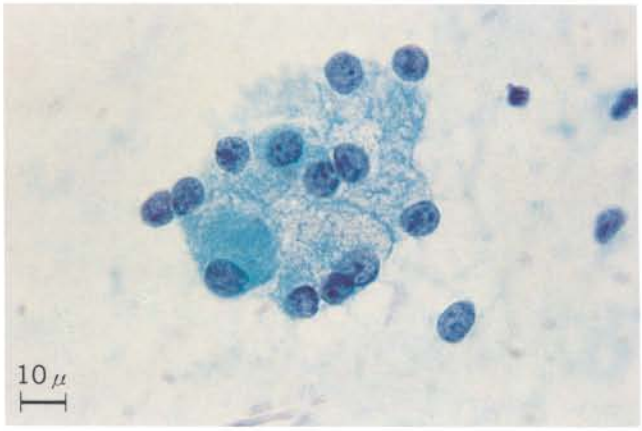


Fig. 703. Células principales y una célula parietal en una impresión. Las células principales de las glándulas fúndicas aparecen en una aglomeración. El citoplasma es pálido, finamente granular y de bordes mal definidos. Los núcleos no pocas veces poseen unos nucléolos únicos y distintivos. A estas células se las debe distinguir de las xantomatosas. La célula parietal tiene un citoplasma bien definido y muy tingible.

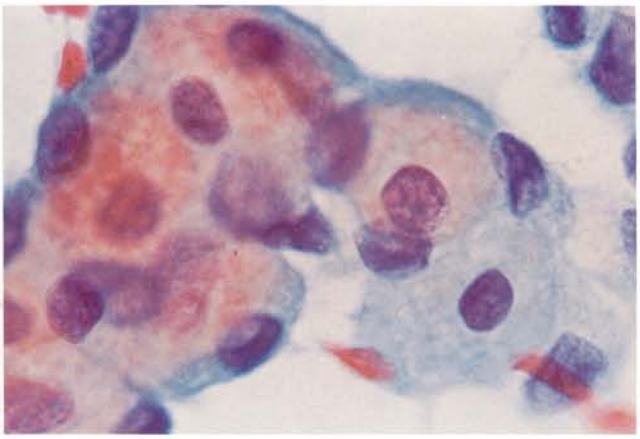


Fig. 704. Muchas células parietales y una célula principal en una impresión vista con gran aumento. Aunque en esta figura se demuestra bien la acidofilia de las células parietales, muchas veces sólo se manifiesta con una tinción más intensa que la de las células principales.

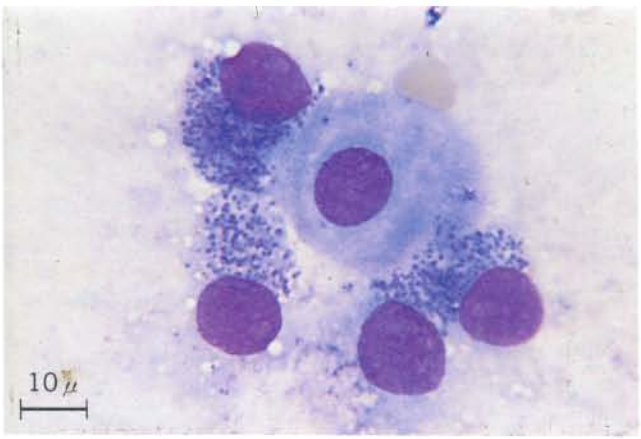


Fig. 705. Una célula parietal y células principales de las glándulas fúndicas del estómago coloreadas con Giemsa. La célula parietal, que secreta ácido clorhídrico mediante canalículos intracelulares, posee un núcleo central, mientras que las células principales, que secretan pepsina a un pH óptimo de 2, son ricas en gránulos basófilos.

Cuadro 66. Características de los carcinoides derivados de distintas divisiones embrionarias del intestino

Rasgos / *Sitios*	*Intestino anterior*	*Intestino medio*	*Intestino posterior*
Estructura histológica	Tendencia a las trabeculaciones; puede diferir mucho de la imagen clásica	Característica	Tendencia a las trabeculaciones
Reacciones argentafines y diazoicas	Por lo general negativas	Positivas	A menudo negativas
Asociación con el síndrome carcinoide	Frecuente	Frecuente	Nunca
Contenido de 5-HT tumoral	Escaso	Grande	No se detecta
Ácido 5-hidroxiindolacético urinario	Abundante	Abundante	Normal
Secreción de 5-HTP	Frecuente	Rara	No se detecta
Metástasis a huesos y piel	Comunes	Inusuales	Comunes

(WILLIAMS, E. D. y SANDLER, M.: Lancet *1*:239, 1963.)

núcleos picnóticos. Pueden aparecer células intermedias y parabasales.

2) Células columnares ciliadas. Las células columnares con cilias son frecuentes en el aspirado gástrico. Estas células provienen de la cavidad nasal, tráquea y bronquios. En el borde ancho del citoplasma de las células bien preservadas se observan cilias.

3) Fagocitos alveolares. Los macrófagos alveolares son comunes en el contenido gástrico.

Sus núcleos son reniformes y excéntricos, y poseen una trama de cromatina finamente granular. El citoplasma de estas células es fácil de identificar porque contiene alojadas en su interior partículas fagocitadas de carbón o de polvillo.

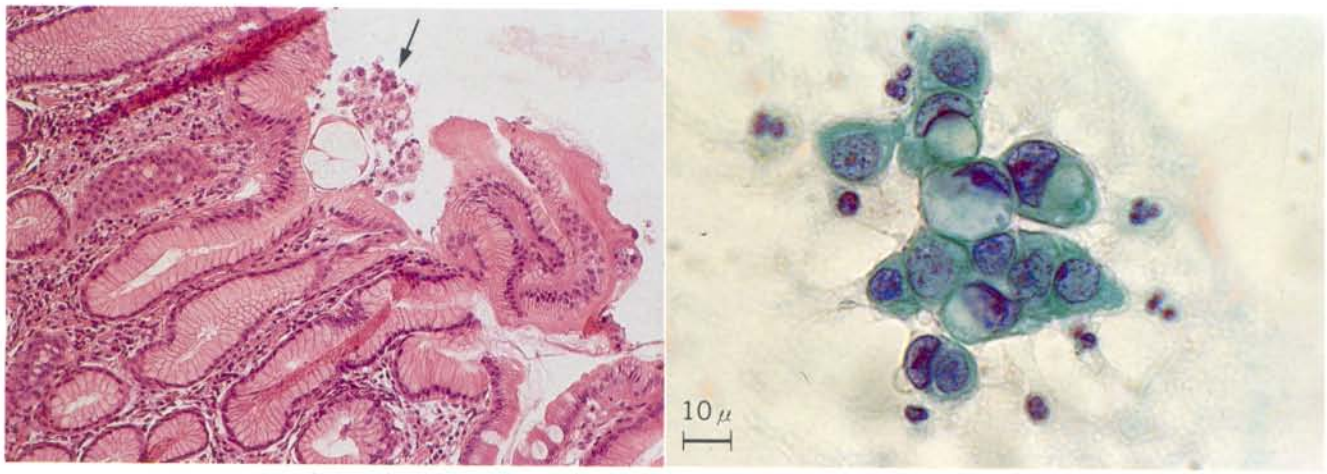


Fig. 706. Comparación entre biopsia y citología. La aglomeración de células adenocarcinomatosas aparece adherida a la superficie de la mucosa como si fuese una contaminación (*flecha*). Como esto sólo aparece en una de seis biopsias, no se pudo confirmar el histodiagnóstico si no se obtenía una citología de cepillado positiva. A la derecha, las células cancerosas en anillo de sello que elaboran mucina satisfacen los criterios de malignidad.

Componentes no celulares

Ocurren diversas células vegetales de paredes birrefringentes características, así como *Giardia lamblia*, bacterias y hongos.

Las fibras musculares de la carne se identifican por sus estrías trasversales.

4. Comentario general sobre citología gástrica actual

La citología se está usando menos que la biopsia gastrofibroscópica para diagnosticar carcinoma gástrico, porque los endoscopistas consideran que el histodiagnóstico mediante punción biopsia es más exacto y más terminante que el citodiagnóstico.[98] Muchas veces se debe hacer una biopsia para confirmar el cambio patológico después de haber hecho citología de enjuague o del cepillado, porque el diagnóstico citológico de las lesiones fronterizas se mantiene en una clase sospechosa. Hoy es mucho más común que para detectar el carcinoma incipiente se haga fibrogastroscopia seguida por punción biopsia, cualquiera que sea la respectiva citología de impresión, y no la citología de lavado convencional. La mayoría de los carcinomas incipientes están más o menos ulcerados, de acuerdo con la definición de la Sociedad Japonesa de Gastroenterología basada en el tipo superficial deprimido (IIc y su variedad) (fig. 723).[68] La úlcera maligna se distingue de la benigna mediante endoscopia[16] porque la benigna se caracteriza por una base limpia, bordes regulares, pliegues radiados hacia la úlcera y ausencia de nódulos infiltrativos regulares, mientras que la maligna presenta unos bordes irregulares deflecados, islotes anormales desparejos en la base y protrusión irregular en torno de la úlcera. Con cada muestra de punción biopsia tomada del borde de la lesión se deben hacer impresiones lo antes posible como coadyuvante del histodiagnóstico de la biopsia, a los efectos de que no pase inadvertida ninguna lesión cancerosa minúscula o para elucidar toda interpretación errónea de atipia benigna como maligna. Además, el cepillado o el lavado

Cuadro 67. Estudio comparativo entre biopsias y citología para diagnosticar carcinoma gástrico mediante gastroscopia con fibra óptica (Universidad Kyorin, Tokio, 1975-1979)

Categoría / *Método*	*Permutación del diagnóstico*							*Exactitud diagnóstica*
	A	*B*	*C*	*D*	*E*	*F*	*G*	
Histología de la biopsia	+	+	+	+	–	–	–	115/120 95,8%
Citología de impresión biópsica	+	+	–	–	–	+	+	112/120 93,3%
Citología del cepillado	+	–	+	–	+	–	+	113/120 94,2%
N° de casos	107	3[a]	1[b]	4[c]	3[e]	0	2[h]	
N° de positivos falsos	0	0	0	2[d]	1[f]	1[g]	0	

Nota: Diagnóstico patológico (casos resecados)
a) Adenocarcinoma tubular (Borrmann 3), linitis plástica, carcinoma mucocelular (IIc incipiente)
b) Carcinoma mucocelular (IIc incipiente)
c) Adenocarcinoma tubular (Borrmann 3), carcinoma polipoide (I incipiente), adenocarcinoma tubular (Borrmann 2), carcinoma espinocelular esofagocardial (irradiado)
d) Epitelio atípico, pólipo adenomatoso
e) Adenocarcinoma tubular (IIb incipiente), carcinoma tubular (Borrmann 2), carcinoma esofágico
f) Úlcera gástrica con hiperplasia de regeneración
g) Úlcera gástrica
h) Adenocarcinoma tubular (Borrmann 2), adenocarcinoma tubular (IIc incipiente)

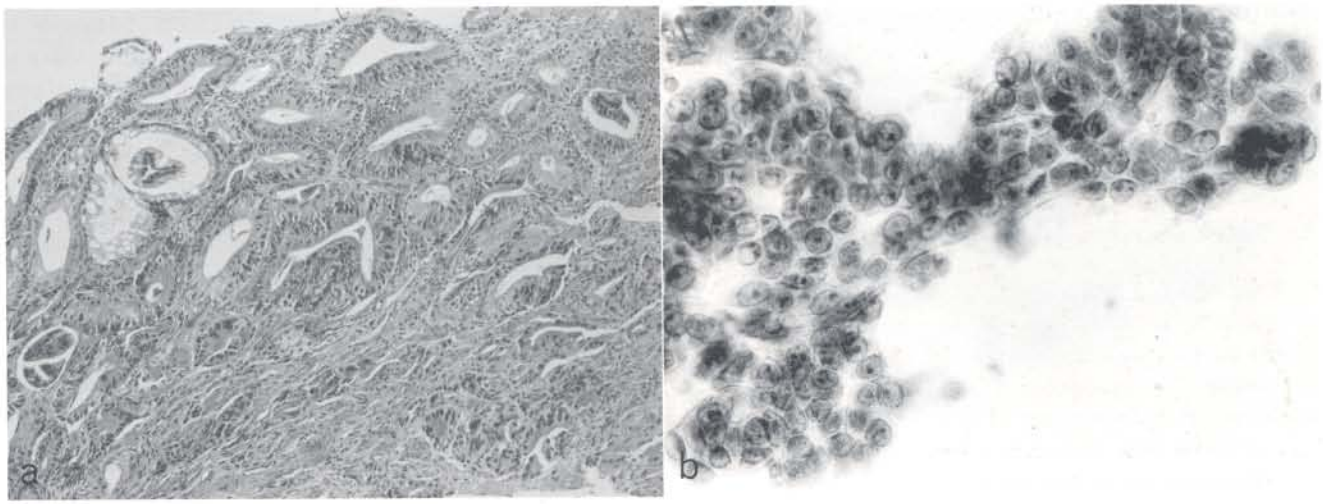


Fig. 707. Importancia de la citología de impresión como coadyuvante del diagnóstico biópsico. *a*, En esta biopsia la atipia regenerativa tras la ulceración hizo incurrir en un diagnóstico exagerado. *b*, En el preparado citológico abonan en favor de benignidad las glándulas hiperplásicas, a pesar del hipercromatismo nuclear y de la prominencia nucleolar, la uniformidad morfológica y el tamaño parejo, y la distribución regular de las células.

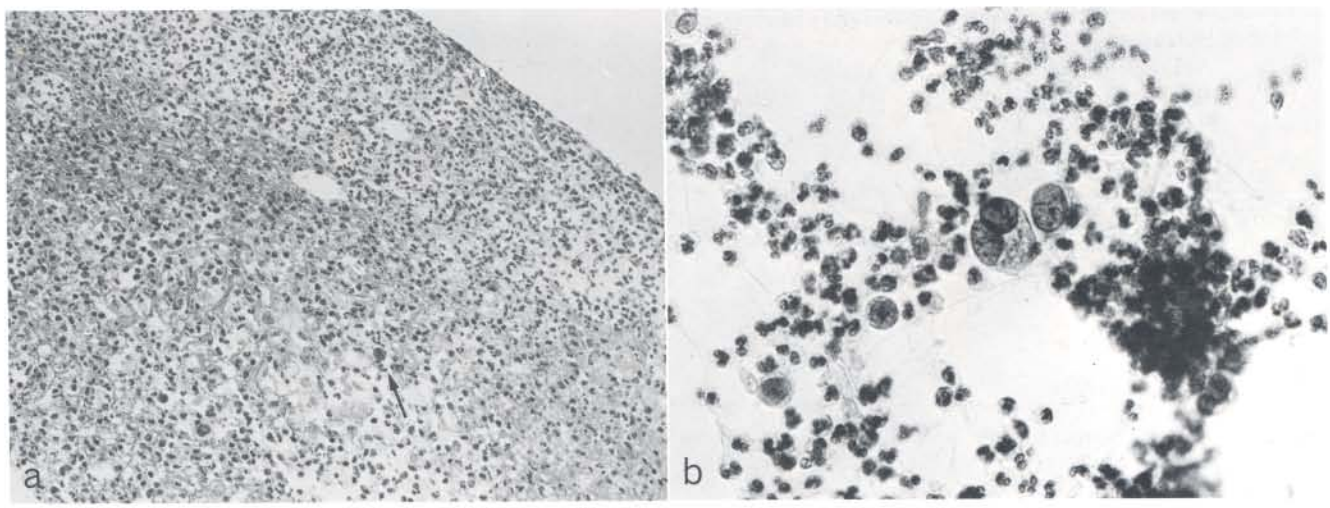


Fig. 708. Citología de un cepillado y su importancia como coadyuvante del diagnóstico biópsico. *a*, En la biopsia, el cáncer pasó inadvertido por los detritos necróticos mezclados con algunas células atípicas degeneradas (*flecha*). *b*, En la citología del cepillado aparecieron células cancerosas de forma columnar. En este caso, la citología de la impresión también fue positiva.

Cuadro 68. Examen citológico en el cáncer gástrico incipiente: comparación con los resultados obtenidos con distintos métodos de recolección

Métodos	*N° de casos*	*Resultados citológicos*		
		Posit.	*Negat.*	*Posit. %*
Método abrasivo	43	35	8	81,4
Globo abrasivo solamente	42	34	8	81,0
"Zelltupfsonde" solamente	7	4	3	57,1
Método del lavado	94	75	19	79,8
Método fibrogastroscópico	339	324	15	95,6
Método del lavado (FGC) solamente	278	258	20	92,8
Método de biopsia y extendido (SBS)	123	110	13	89,4
En todos los casos	417	388	29	93,0

(Ishioka, K. y col.: Tohoku J. Exp. Med. *118* (Supl.):9, 1976.)

bajo visión directa posee la ventaja de que se recogen células de áreas amplias de la lesión. Nuestros estudios comparativos con 120 cánceres gástricos en los cuales se pudieron hacer tres tipos de métodos, confirmaron la gran exactitud del procedimiento combinado (cuadro 67). Debemos señalar que con la citología del cepillado se detectaron carcinomas esofágicos y adenocarcinomas endoscópicamente negativos (tipo IIb incipiente) que habían pasado inadvertidos en la punción biopsia. En cambio, con el método del cepillado pueden pasar inadvertidos la linitis plástica (carcinoma escirroso) y el carcinoma ulcerado profundo (tipo 3 de Borrmann). La citología de impresión con la misma muestra de la

biopsia no es un simple accesorio del histodiagnóstico, sino un procedimiento confirmatorio porque permite examinar con exactitud las anormalidades celulares (figs. 707 y 708). Por último, el método del enjuague a ciegas es prácticamente inoperante, pero la citología del cepillado gastrofibroscópico es tan valiosa como la punción biopsia.

5. Gastritis atrófica crónica

A medida que se envejece, aumenta la frecuencia y la extensión de la atrofia del epitelio gástrico. A pesar de la atrofia microscópica, muchas veces la mucosa antropilórica es granular y hasta polipoide, y las áreas gástricas exageradas se llaman "état mamelonné". El epitelio gástrico es sustituido por el de tipo intestinal (metaplasia intestinal),* con elongación de las fositas gástricas, transformación de las células epiteliales a células mucosecretantes, formación de células de Paneth con gránulos eosinófilos y dilatación quística de las glándulas. En este estado patológico se ven unas glándulas atípicas dispuestas en desorden y revestidas de núcleos hipercromáticos. Konjetzny[50] y Saltzmann[83] fueron los primeros que mencionaron la relación entre la gastritis atrófica crónica y el carcinoma de estómago. Büchner[12] demostró que la proliferación inicial de células cancerosas se origina en la zona indiferente del cuello de las glándulas gástricas en casos de gastritis atrófica crónica (Umbaugastritis). Sugiere la importancia de la gastritis crónica como lesión precancerosa, la frecuente coexistencia de gastritis atrófica crónica y carcinoma intramucoso del estómago o adenocarcinoma tubular de tipo intestinal.[61, 64, 87, 105] Además, muchos investigadores señalaron la transición de la metaplasia intestinal poco diferenciada a carcinoma intestinal.[53, 66, 90]

* La metaplasia intestinal, que ocurre en la unión del antro con el fondo a lo largo de la curvatura menor, consiste en células caliciformes y en células absorbentes de bordes estriados. La histoquímica revela que estos bordes estriados son PAS positivos y poseen actividad de fosfatasa alcalina. Las células caliciformes son intensamente positivas para el PAS y para la tinción con azul alciano.

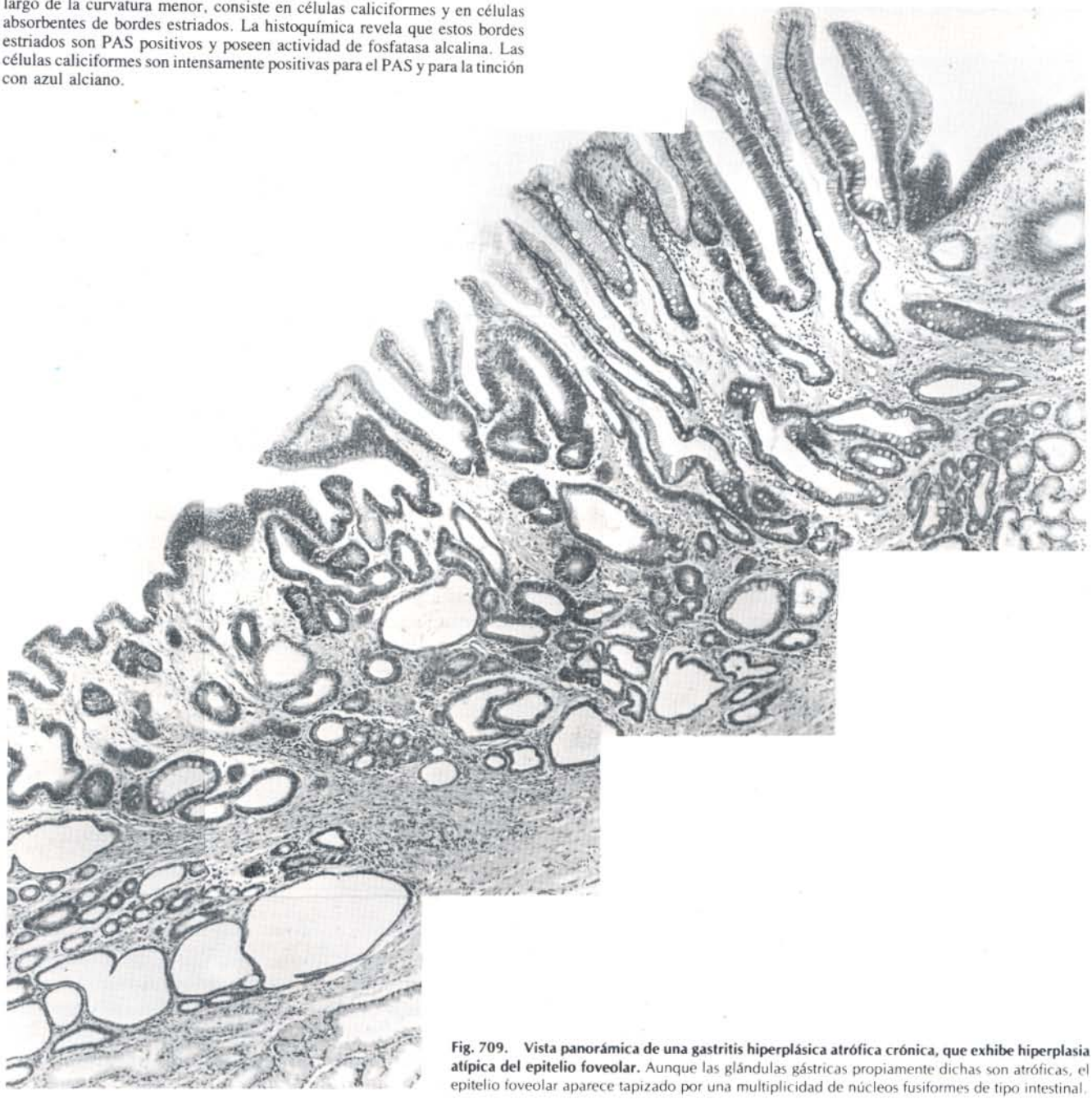


Fig. 709. Vista panorámica de una gastritis hiperplásica atrófica crónica, que exhibe hiperplasia atípica del epitelio foveolar. Aunque las glándulas gástricas propiamente dichas son atróficas, el epitelio foveolar aparece tapizado por una multiplicidad de núcleos fusiformes de tipo intestinal.

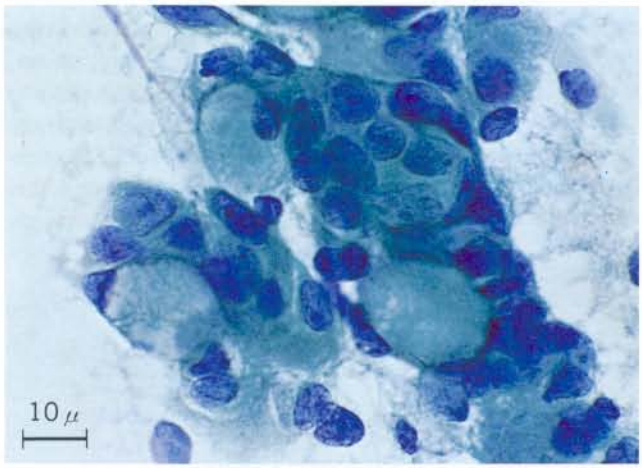


Fig. 710. Epitelio foveolar hiperplásico que incluye células caliciformes. Impresión de una biopsia gastroscópica. En un citoplasma ancho y en vidrio esmerilado los núcleos no son demasiado excéntricos.

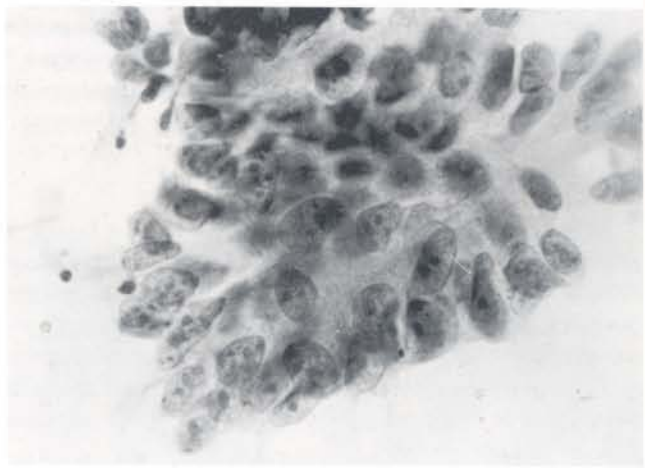


Fig. 711. Células foveolares hiperplásicas en una impresión de biopsia. Estratificación múltiple característica de núcleos fusiformes hipercromáticos. Los nucléolos y/o cariosomas son prominentes, pero la trama de cromatina es blanda en general.

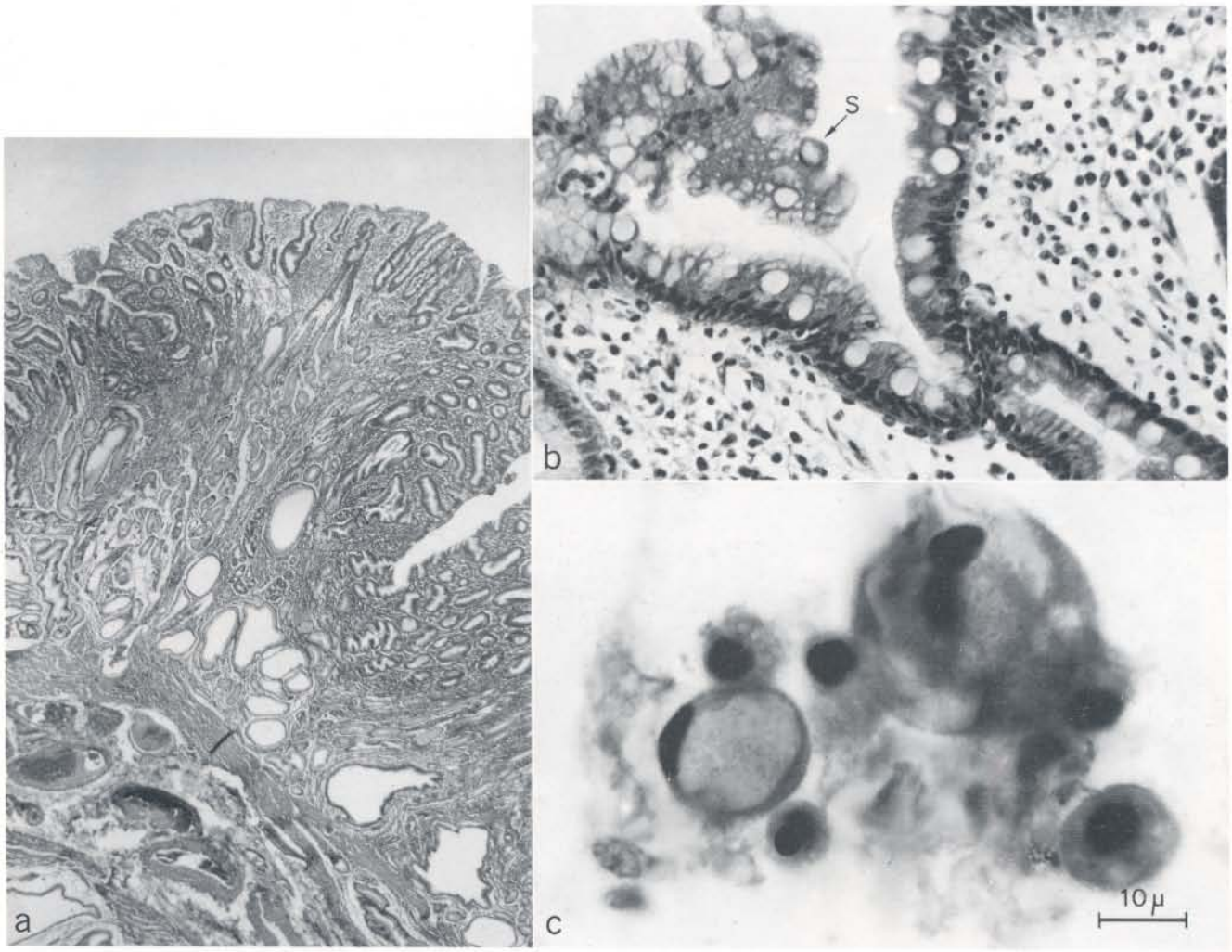


Fig. 712. Célula en anillo de sello derivada de metaplasia de células caliciformes en la gastritis atrófica crónica. *a, Histología de la gastritis atrófica crónica vista con poco aumento.* La mucosa gástrica, que exhibe una hipertrofia polipoide macroscópica, es histológicamente atrófica y presenta dilatación quística de las glándulas gástricas, además de metaplasia de células mucíparas. *b, Histología del epitelio superficial en la gastritis atrófica crónica.* Las células columnares superficiales presentan metaplasia a células mucosas o a células caliciformes; las células columnares aparecen interrumpidas por células en anillo de sello (*S*). *c, Célula en anillo de sello benigna descamada en un caso de gastritis atrófica crónica.* El núcleo excéntrico es picnótico y ha perdido los detalles nucleares. Es importante comparar entre sí las células en anillo de sello dispersas para hacer el citodiagnóstico. Las células en anillo de sello benignas son de tamaño y morfología muy uniformes.

[95] En condiciones experimentales se reconoció que la atrofia del epitelio mucoso precede a la instalación del carcinoma.[82] En la actualidad se investiga la identificación citológica de glándulas atípicas asociadas con la atrofia de la mucosa.

6. Úlcera péptica crónica y reparación

El epitelio en vías de regeneración que rodea a la úlcera péptica es el responsable de la descamación de células discarióticas y hasta de casos de citología gástrica falsamente positivos. Desde la descripción de Hauser (1882) se produjeron muchas polémicas históricas[2, 37, 56] sobre la relación entre la úlcera péptica y el carcinoma gástrico. Aunque se acepta la posibilidad de esta morfogénesis, se considera que participa poco en la instalación del cáncer. Stout señaló lo difícil que es determinar si un carcinoma se origina a lo largo de una úlcera péptica preexistente o si la úlcera se sobreagrega a un carcinoma cuando encontramos células cancerosas remanentes en torno de los bordes de la úlcera. Oota,[72] por el contrario, menciona la incidencia relativamente frecuente de úlcera carcinomatosa, si su definición se extiende a la etapa más

Cuadro 69. Clasificación del carcinoma incipiente

Clasificación	*Casos*	*Porcentaje*
Úlcera carcinomatosa*	143	59,5%
Carcinoma polipoide	16	6,7
Carcinoma intramucoso**	81	33,8
Cáncer originado en tejido heterotópico	0	0

(OOTA, K: Carcinoma of the Stomach in the Early Phase. Tokio, Nakayama Shoten, 1966.)

* Criterios de Hauser para la úlcera carcinomatosa: 1) interrupción de la túnica muscular, 2) fusión o íntima aproximación de la lámina de la muscular de la mucosa con la túnica muscular en el margen de la base de la úlcera y 3) presencia de células cancerosas en el margen de la úlcera.

** Carcinoma intramucoso independiente de toda úlcera o pólipo; es sinónimo de carcinoma gastrítico.



Fig. 713. Hiperplasia regenerativa atípica del epitelio foveolar. Los núcleos son grandes, de tamaño variable y poseen nucléolos prominentes únicos. La distinción respecto de la malignidad se basa en: 1) la distribución regular de las células, con la misma distancia entre los distintos núcleos, 2) la cromatina blanda y 3) la uniformidad de la morfología nuclear.

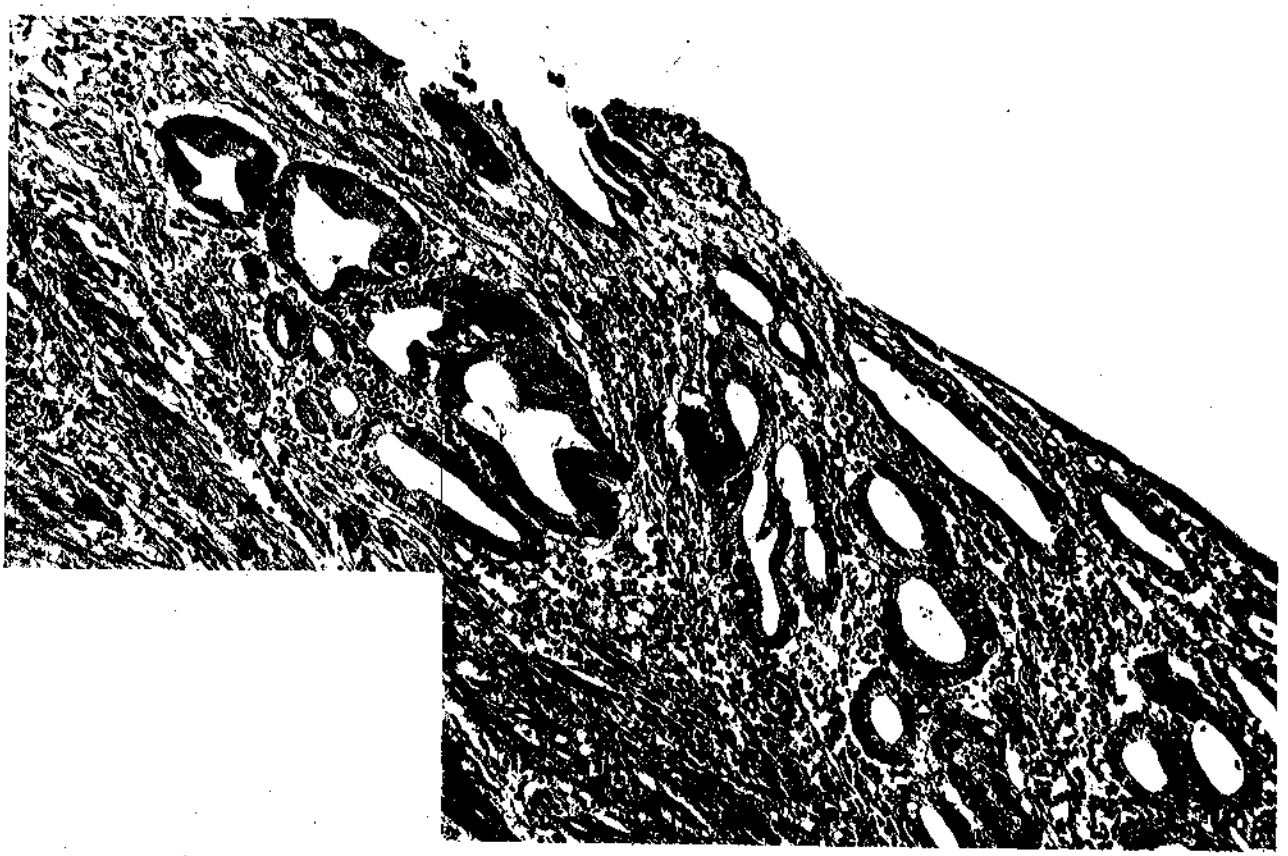


Fig. 714. Hiperplasia regenerativa del epitelio foveolar tras una úlcera gástrica. Los epitelios foveolares aparecen tapizados por uno o dos estratos de células columnares hiperplásicas; estos elementos glandulares varían de tamaño y están dispuestos en desorden a causa de la fibrosis cicatrizal.

temprana que la categoría clásica de Hauser (cuadro 69). Los rasgos macroscópicos importantes de la úlcera carcinomatosa incipiente son fijación de la mucosa en el borde de la úlcera y prominencia de los pliegues radiales hacia la erosión o úlcera superficial por retracción cicatrizal. Aparte de la discusión de si la úlcera es primaria o secundaria en la carcinogénesis, la punción biopsia o el cepillado citológico se debe hacer en el borde de la úlcera; es importante realizar punciones múltiples y un cepillado amplio para que no pase inadvertido ningún carcinoma diminuto.

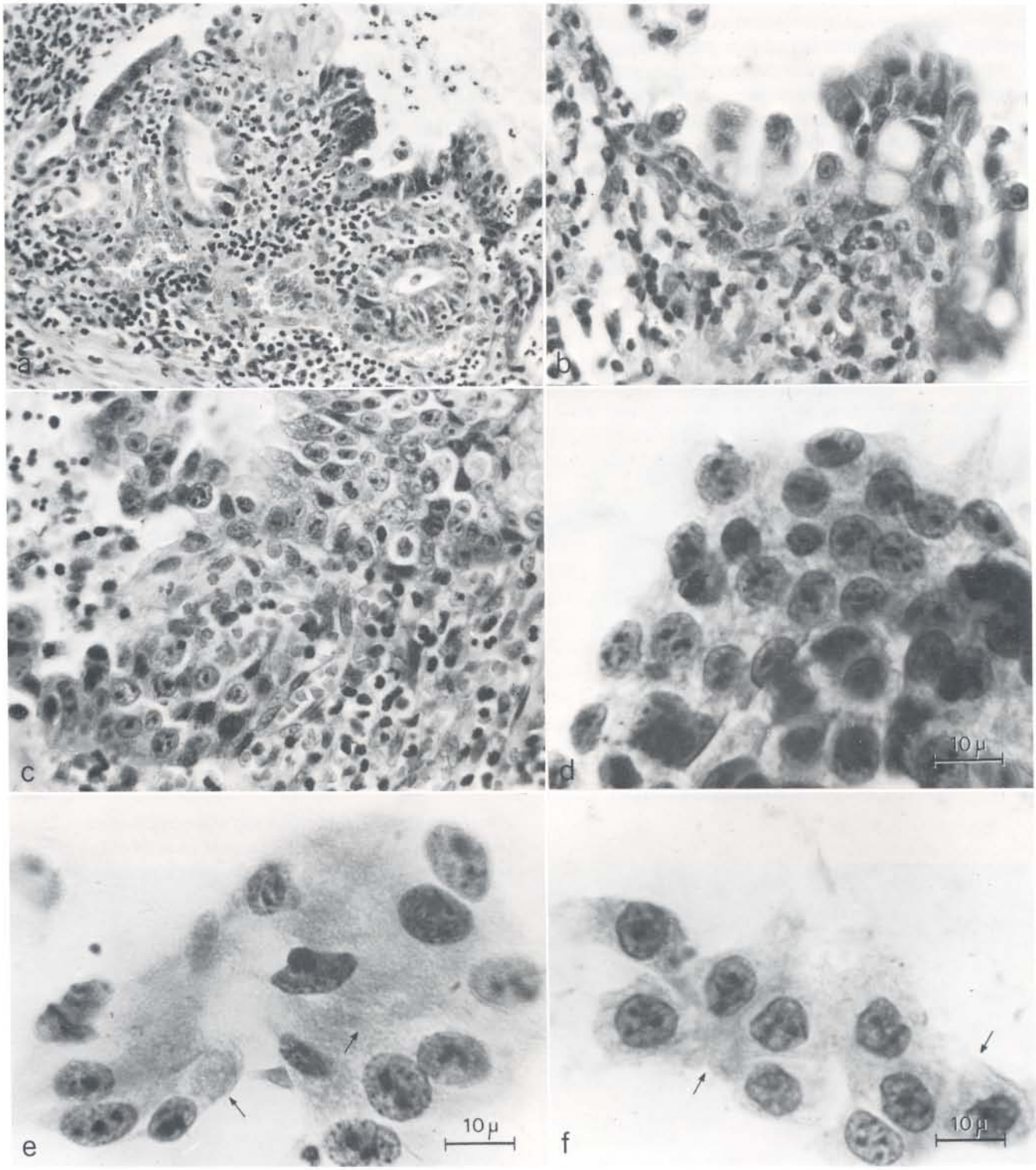


Fig. 715. Histología y citología de la hiperplasia regenerativa consecutiva a la úlcera gástrica. *a, Hiperplasia regenerativa en la úlcera gástrica.* El epitelio superficial ya se ha reparado, pero está muy inflamado. *b* y *c, Hiperplasia regenerativa más ampliada.* Nótense la hipertrofia nuclear y la prominencia de los nucléolos. La morfología y tamaño uniformes de los núcleos sugieren benignidad. *d* a *f, Hiperplasia regenerativa del epitelio superficial y/o foveolar.* La benignidad de la hiperplasia se reconoce por: 1) la uniformidad del tamaño y morfología de los núcleos, 2) la distribución regular de los núcleos y 3) la preservación del citoplasma columnar (*flechas*).

7. Pólipo gástrico

Hay dos tipos de pólipos gástricos, los regenerativos y los adenomatosos con comportamiento neoplásico. No cabe duda de que un pólipo adenomatoso se puede cancerizar, pero esto sólo representa una pequeña proporción de los carcinomas gástricos.[39, 51] El pólipo gástrico, al que en la hipótesis de Konjetzny sobre la morfogénesis del carcinoma gástrico se lo consideraba una lesión precancerosa, es distinto a la gastritis crónica carcinomatosa cuyo pólipo gástrico no sería adenomatoso verdadero, sino una gastritis poliposa múltiple que se caracteriza por reemplazo de las glándulas gástricas normales por unas fositas gástricas elongadas y ramificadas con formación de microquistes, y un epitelio foveolar proliferado que a veces simula glándulas de Brunner. El pólipo adenomatoso, que también se llama adenoma papilífero o adenoma velloso, ocurre con una frecuencia unas diez veces mayor que el pólipo regenerativo.[60] El pólipo adenomatoso consiste en elementos glandulares hiperplásicos similares al epitelio de tipo intestinal, con núcleos elongados, hipercromáticos y multiestratificados. Este tipo entraña potencial maligno.[62, 67, 102] Como el epitelio superficial de los pólipos se exfolia con facilidad y tiende a erosionarse, las células epiteliales del pólipo adenomatoso o de la gastritis polipoide, en particular si hay atipia, pueden dar resultados positivos falsos en citología exfoliativa.

Addendum: Xantoma. Entre las lesiones que se biopsian en la endoscopia figuran unas placas amarillentas o nódulos planos que no son neoplasias, sino simples acumulaciones de histiocitos cargados de lípidos en el estroma de la mucosa. La asociación de xantoma con gastritis crónica en personas de edad avanzada es notable, pero no se ha podido establecer una relación franca. En la citología de impresión se detectan estos histiocitos con su citoplasma abundante y espumoso característico.

8. Células atípicas benignas que simulan malignidad

Las células atípicas benignas que parecen ser malignas son las que se originan en los estados patológicos que describi-

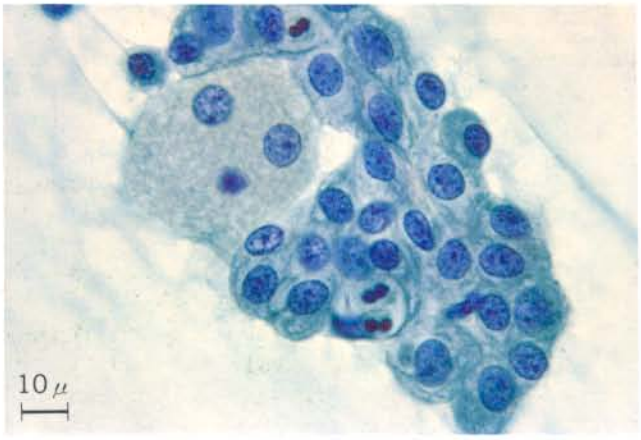


Fig. 716. Células epiteliales foveolares hipertróficas y células xantomatosas. Los núcleos de las células foveolares son grandes en general, pero su trama de cromatina es blanda. Dos histiocitos de citoplasma grande y espumoso hacen el diagnóstico de xantoma.

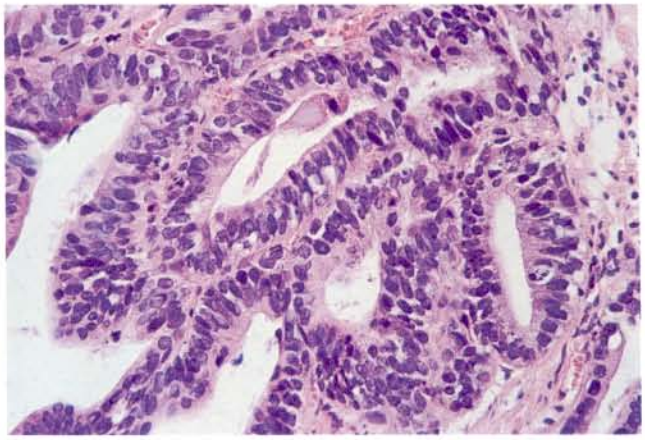


Fig. 717. Hiperplasia atípica del epitelio foveolar. Células columnares seudoestratificadas con núcleos hipercromáticos fusiformes; el tamaño de los núcleos es uniforme, todos están en la base y son paralelos entre sí. La macroscopia de esta hiperplasia atípica consiste en una lesión sobresaliente.

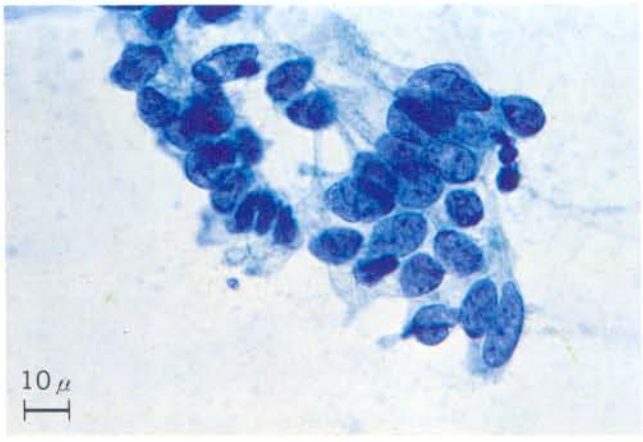


Fig. 718. Epitelio foveolar atípico en cepillados gástricos. Núcleos hipercromáticos de morfología uniforme, dispuestos paralelamente y superpuestos. La citología semeja glándulas seudoestratificadas. Los núcleos están en situación basal.

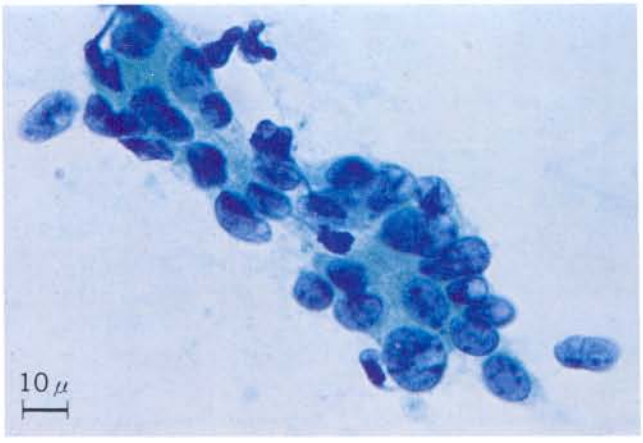


Fig. 719. Epitelio foveolar atípico degenerativo en el extendido de la figura 718. Núcleos picnóticos y de formas irregulares por degeneración. En el extendido se discierne una trama tubular seudoestratificada.

mos arriba; las células representativas son las atípicas asociadas con gastritis atrófica crónica o con metaplasia intestinal, las células epiteliales regenerativas con atipia adyacentes a las úlceras, las células atípicas con alteraciones citológicas inflamatorias, las células columnares en actividad de la anemia perniciosa,[10, 30, 32, 59] etc.

Células atípicas benignas en la gastritis atrófica crónica

La proliferación atípica de células indiferentes puede originar células sospechosas de malignidad. Aparecen dos tipos de células: 1) células caliciformes metaplásicas en anillo de sello, con sus núcleos desplazados hacia la periferia, y 2) células epiteliales mucosas en actividad con grandes núcleos centrales. Las células caliciformes benignas sólo se identifican en las aglomeraciones celulares; las células mucíparas con núcleos desplazados aparecen en forma esporádica en las aglomeraciones de células columnares un tanto ingurgitadas. La presencia de leucocitos junto con células mucíparas y también células columnares, abona a favor de la gastritis metaplásica. Es importante comparar las células caliciformes dispersas entre ellas para verificar si su tamaño y morfología son uniformes. Las células en anillo de sello malignas, en cambio, no sólo exhiben variaciones de tamaño, sino también rasgos malignos característicos de los núcleos, como formas irregulares, aglomeración gruesa de la cromatina, nucléolos prominentes, etc. La decisión de malignidad no se debe basar en la observación de una sola célula en anillo de sello.

Muchas veces las células epiteliales atípicas de citoplasma basófilo y núcleos activos se asocian con metaplasia de células caliciformes (fig. 710). La distinción de la atipia benigna se puede basar, aunque no de manera absoluta, en la variación menos pronunciada del tamaño nuclear y en la distorsión menos variable de la relación nuclear citoplasmática, en comparación con las células cancerosas.

Células epiteliales regenerativas (células de reparación)

El epitelio regenerado que cubre al tejido de granulación tiende a exfoliarse en láminas o en grandes aglomeraciones, de modo que en los lavados y raspados se obtienen varias células. La celularidad y los constituyentes celulares dependen de la técnica de recolección de las muestras. Cepillando o raspando el borde de la úlcera pueden aparecer diversos constituyentes celulares, como células inflamatorias, histiocitos y células de reparación, además de detritos celulares necrosados. En el proceso de reparación es frecuente que las células epiteliales regenerativas se inflamen y degeneren. En consecuencia, las células hiperplásicas de núcleos hipercromáticos grandes y nucléolos prominentes, solos o en aglomeraciones, se asocian con condensación de la cromatina en el borde nuclear, vacuolación del citoplasma y englobamiento de neutrófilos dentro del citoplasma. Estas células se suelen clasificar dentro de límites benignos, a menos que al proceso de regeneración se le superponga atipia. Para hacer la diferenciación citológica de malignidad debemos fijarnos en particular en la uniformidad de tamaño de los núcleos y en la distribución regular de las células; en las láminas, todos los núcleos están a la misma distancia entre sí.

Atipia benigna en la anemia megaloblástica por carencia de vitamina B_{12} y/o ácido fólico

En ocasiones las células columnares con agrandamiento nuclear, nucléolos prominentes e hipercromatismo son causa de resultados positivos falsos,[23] a pesar de que estas células hipertróficas conservan dentro de límites benignos la relación nuclear-citoplasmática.[38]

De acuerdo con los estudios cariométricos de Grable y col.,[29] el diámetro medio de los núcleos de las células gástricas es 9,08 μ en la anemia perniciosa y 6,98 μ en el caso normal, mientras que en el cáncer gástrico es 10,83 μ. Las células caliciformes grandes también son difíciles de interpretar.

Células atípicas benignas del pólipo gástrico

La citología de los pólipos gástricos no es específica, sino que varía de acuerdo con sus rasgos histológicos. Los pólipos regenerativos pueden desprender aglomeraciones de células columnares hiperplásicas con rasgos similares a los de las células de reparación, mientras que los pólipos adenomatosos producen aglomeraciones de células hiperplásicas con rasgos del llamado epitelio atípico.

Células epiteliales atípicas de lesiones precancerosas protuberantes

La lesión protuberante plana que semeja un pólipo sésil de base ancha, consiste en elementos glandulares intestinales revestidos de núcleos seudoestratificados, hipercromáticos y fusiformes. A esta lesión se la consideró una entidad patológica precancerosa.[96] Los núcleos son muy hipercromáticos y elípticos, y están dispuestos en empalizada en la base del citoplasma columnar. El tamaño de los núcleos varía poco. La citología de esta lesión coincide con la del pólipo adenomatoso de tipo intestinal que posee una índole neoplásica y exhibe rasgos característicos.[99]



Fig. 720. Vista macroscópica de la enfermedad de Ménétrier. Gastropatía hiperplásica típica con arrugas gigantes y engrosamiento de la mucosa.

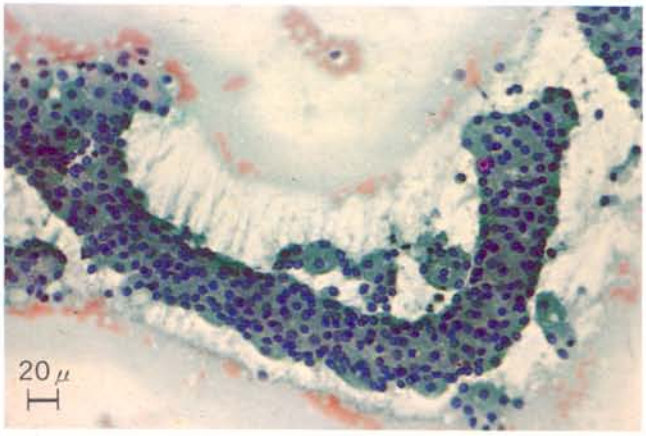


Fig. 721. Epitelio foveolar gigante en la enfermedad de Ménétrier. Impresión de una biopsia de las arrugas gigantes. La presencia de una enorme banda celular consistente en células foveolares es compatible con hipertrofia de la mucosa (gastropatía hiperplásica).

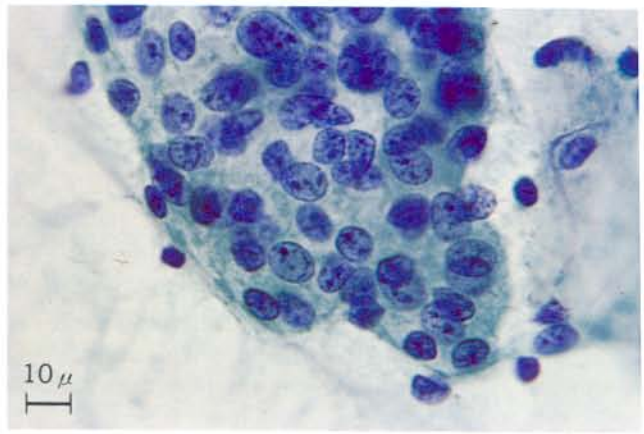


Fig. 722. Epitelio foveolar gigante visto con gran aumento. Caso de la figura 721. Núcleos grandes en general, pero de tamaño y morfología uniformes. Hay uno o dos nucléolos, pero la cromatina es finamente granular.

Enfermedad de Ménétrier

Ménétrier describió con detalle unos pliegues gigantes y los clasificó en un tipo difuso, poliadenomas en napa, y en un tipo circunscripto, pólipos poliadenomatosos. Existen tres tipos representativos.

La histología se describe así: 1) En el tipo de células mucíparas, las células epiteliales superficiales y foveolares son hipertróficas, mientras que las glándulas fúndicas son atróficas y a menudo presentan dilataciones quísticas. 2) En el tipo glandular, las células foveolares son escasas y las glándulas propiamente dichas están muy aumentadas. 3) El tipo mixto revela hiperplasia de células mucíparas y glandulares. El síndrome peculiar que se conoce como síndrome de Zollinger-Ellison se distingue por una gran acidez seguida por ulceración péptica. El síndrome de Zollinger-Ellison típico se asocia con un tumor de los islotes del páncreas, al cual se atribuye la secreción de gastrina.

9. Patología del carcinoma incipiente de estómago

Comentario general y rasgos macroscópicos

En esencia, el carcinoma *in situ* o carcinoma intraepitelial del cuello uterino o de la mucosa bronquial es distinto al carcinoma intramucoso de estómago e intestino porque la membrana mucosa del tubo digestivo inferior comprende el epitelio superficial, glándulas tubulares y una lámina propia dotada de tejido estromal. Hasta en el carcinoma intramucoso es raro que en la lámina propia de la mucosa se observe invasión de los conductos linfáticos por células cancerosas, pero en la práctica la sobrevida a los 5 años del carcinoma gástrico incipiente, cualquiera que sea el ancho de la extensión intramucosa, es excelente; Miyajima[63] observó esta sobrevida en 44 de 49 casos (89,8 %). Los grandes adelantos recientes en endoscopia demuestran que el examen macroscópico es histológicamente exacto. Aunque todavía la clasificación macroscópica de Borrmann (1929)[9] depara utilidad práctica (cuadro 70), hace falta una clasificación más detallada del carcinoma gástrico incipiente. La Comisión de Terminología de la Sociedad de Investigaciones sobre Cáncer Gástrico y la Sociedad de Endoscopia Gastroenterológica definieron con fines prácticos los criterios histológicos del carcinoma incipiente de estómago, junto con su clasificación macroscópica (fig. 723).

Los rasgos macroscópicos de la gastroscopia del carcinoma incipiente indican los puntos apropiados para hacer las

Cuadro 70. Clasificación macroscópica de Borrmann[9] para carcinoma gástrico

Grupo 1. Carcinoma polipoide, solitario y circunscripto sin ulceración
Grupo 2. Carcinoma ulcerado con elevación marginal y bordes muy bien definidos
Grupo 3. Carcinoma ulcerado de tipo transicional, en parte con elevación marginal y en parte con diseminación difusa
Grupo 4. Carcinoma infiltrativo difuso

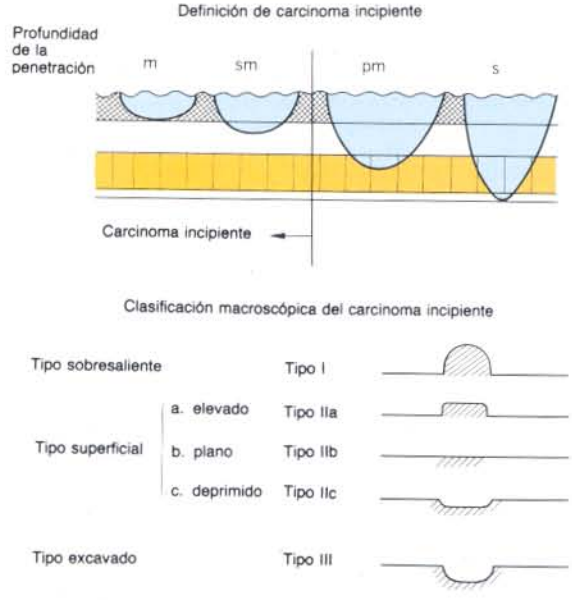


Fig. 723. Definición y clasificación macroscópica del cáncer gástrico incipiente propuestas por la Comisión Japonesa de Terminología (1962). Criterios histológicos de carcinoma gástrico incipiente: la infiltración de células cancerosas se confina a la mucosa o, aunque llegue más allá de la lámina muscular de la mucosa, se limita estrictamente a la submucosa. *m*, Mucosa; *sm*, submucosa; *pm*, muscular propia; *s*, serosa.

Fig. 724. Clasificación macroscópica representativa del carcinoma gástrico incipiente. *a*, Tipo I, sobresaliente. *b*, Tipo II, deprimido superficial (IIc). *c*, Tipo III, excavado.

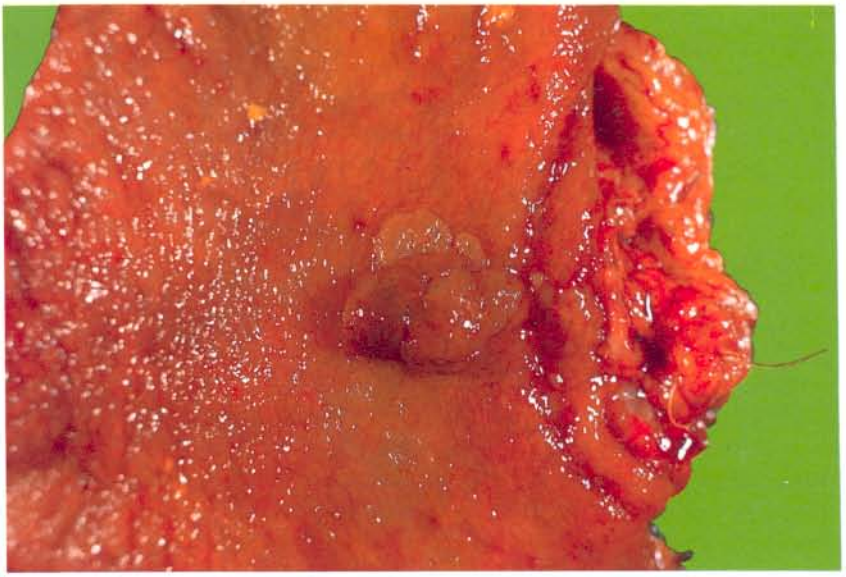


Fig. 724 (a). Carcinoma incipiente de tipo sobresaliente. Su aspecto macroscópico es semejante al del carcinoma tipo I de Borrmann, pero falta la erosión, a pesar de que la punta se halla enrojecida. La biopsia y el cepillado citológico se deben hacer en la superficie.



Fig. 724 (b). Lesión deprimida poco profunda pero irregular de carcinoma incipiente. La reparación significa que hay erosión. Nótense la interrupción de los pliegues normales de la mucosa y la elevación irregular de una mucosa opaca. Esta lesión deprimida requiere un enérgico cepillado citológico.



Fig. 724 (c). Carcinoma incipiente excavado. La lesión ulcerada se asocia con una interrupción abrupta e irregular de los pliegues en el borde de la úlcera. Nótense la coalescencia y discromía de los pliegues. La biopsia y las muestras para citología se deben tomar en torno del borde de la úlcera.

biopsias y los estudios citológicos; en las lesiones polipoides (tipo I y tipo IIa) se deben biopsiar varios sitios desde la punta y hacer un cepillado amplio encima de la lesión procidente, mientras que en las lesiones deprimidas ulceradas (tipo IIc y III) conviene elegir varios puntos a lo largo del borde y hacer un cepillado enérgico de la lesión deprimida para eliminar los restos necróticos.

¿El carcinoma incipiente se detecta con citología?

En lo referente a la diseminación superficial del carcinoma incipiente, sobre 185 casos de carcinoma incipiente reunidos por Kurokawa y col.,[51] 53 (28,6 %) se diseminaron 4,1 a 6 cm en su dimensión mayor y 38 casos (20,6 %) excedieron los 6,1 cm. Si el tumor está expuesto a la luz del estómago, se puede hacer la detección citológica. La exactitud del citodiagnóstico es influida por el ancho de la propagación en el espesor de la mucosa y por el método de obtención de las muestras. Stout[92] señaló el carácter de la diseminación superficial del cáncer y dijo que el tipo diseminado representa el 8,4 % de los carcinomas gástricos atendidos en el Hospital Presbiteriano de Nueva York. La incidencia de carcinomas incipientes en el Instituto Hospitalario del Cáncer de Tokio asciende al 8,9 %, o sea 269 sobre 3661 casos operados entre 1949 y 1965. En esencia, los tipos histológicos del carcinoma incipiente son los mismos que los del carcinoma avanzado, pero predominan las formas tubular, papilotubular y mucocelular (figs. 733 y 734), mientras que en la fase inicial es raro encontrar las formas escirrosa y muconodular (fig. 725). Aunque con la citología no se puede determinar la profundidad de la infiltración cancerosa, no cabe duda de que permite detectar el cáncer y establecer el tipo citológico. En lo referente a la tipificación de las células cancerosas, debemos mencionar que los rasgos macroscópicos de los carcinomas gástricos incipientes exhiben una íntima relación con los cuadros histológicos; el tipo sobresaliente suele ser un adenocarcinoma papilotubular o tubular, mientras que el ulcerativo es la mayoría de las veces un carcinoma de células en anillo de sello (cuadro 71).

Cuadro 71. Relación entre los rasgos macroscópicos y la histología en el carcinoma gástrico incipiente

Histología / *Tipo*	*Tipo ulcerativo (437 casos)*	*Tipo no ulcerativo (215 casos)*
Adenocarcinoma papilífero	1,0%	35,6%
Adenocarcinoma tubular	29,7%	52,4%
Adenocarcinoma poco diferenciado	17,3%	8,6%
Carcinoma de células en anillo de sello	52,0%	2,1%
Carcinoma gelatinoso (coloide)	0,2%	1,3%

(SANO, R.: Lectures on Surgical Pathology of Gastrointestinal Diseases, p. 45. Tokio, Igaku-Shoin Ltd., 1977.)
Nota: De acuerdo con la clasificación macroscópica de Sano, la forma ulcerativa que exhibe coexistencia de ulceración, es compatible con los tipos excavados y/o deprimidos en la superficie (fig. 723), mientras que el tipo no ulcerativo comprende en particular los tipos procidente (polipoide) y elevado superficial, y en ocasiones el tipo deprimido superficial.

10. Tipificación de células malignas

La mayoría de los carcinomas gástricos son adenocarcinomas originados en células mucíparas proliferantes de las fositas gástricas, en particular en el cuello de las glándulas gástricas, pero puede haber grandes variaciones en su diferenciación: 1) un tipo diferenciado en que las células forman una estructura glandular o tubular y 2) un tipo indiferenciado sin trama organoide y que se denomina carcinoma sólido simple. En el carcinoma avanzado se reconocen variedades distintas de adenocarcinoma hasta en el mismo tumor; en consecuencia, en ocasiones la clasificación histológica es

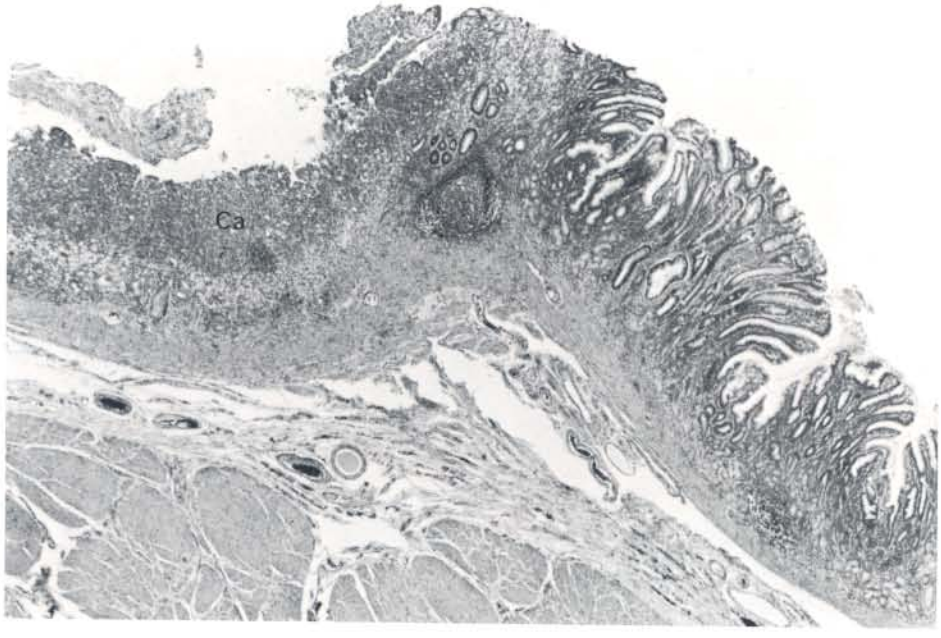


Fig. 725. Forma ulcerosa de carcinoma intramucoso asociada con gastritis atrófica crónica. Nótense las saliencias polipoides de la mucosa, la metaplasia de las células mucosas y la dilatación quística de las glándulas gástricas (a la derecha). La histología de este tumor indica adenocarcinoma escirroso, aunque su infiltración se confina a la mucosa (*Ca*, a la izquierda).

difícil y carece de sentido para juzgar el pronóstico. El carcinoma escirroso o linitis plástica es peculiar desde el punto de vista citológico porque se caracteriza por una permeación difusa de células cancerosas junto con considerable desmoplasia (estómago en bota de cuero); aunque el tejido canceroso esté expuesto a la luz del estómago, la superficie de la lesión está cubierta por detritos de tejido necrótico y es difícil que se exfolien células cancerosas en los lavados gástricos.

Tipo glandular

El tipo glandular diferenciado, que histológicamente es compatible con el adenocarcinoma papilífero o tubular, exhibe rasgos característicos como 1) células columnares de bordes claros, 2) vacuolización del citoplasma, 3) formación de grandes aglomeraciones celulares con núcleos superpuestos, 4) posición excéntrica de los núcleos y 5) nucléolos redondos prominentes. Una forma extrema de vacuolización del citoplasma es la célula en anillo de sello, con un núcleo maligno desplazado hacia la periferia.

Tipo celular en anillo de sello

El carcinoma de células en anillo de sello se considera un tipo diferenciado específico de adenocarcinoma porque 1) es raro que se acompañe de metaplasia intestinal, 2) origina una infiltración difusa y generalizada, y 3) ocurre en personas relativamente jóvenes y se presenta con bastante frecuencia en mujeres.

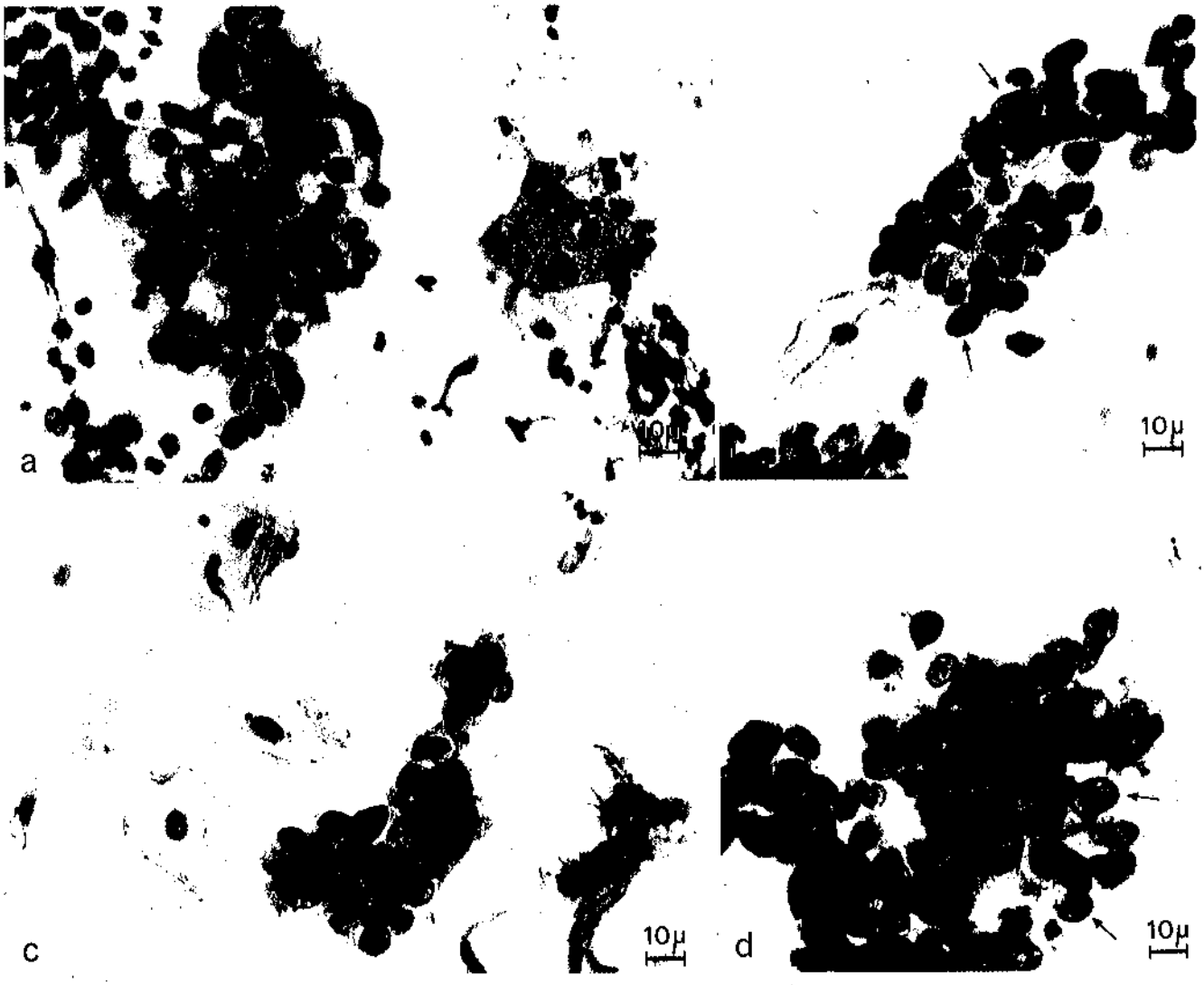


Fig. 726. Puntos citológicos diferenciales básicos entre atipia benigna y malignidad. *a, Láminas de células epiteliales columnares benignas obtenida mediante lavado gástrico bajo fibrogastroscopia.* Los núcleos aparecen distribuidos con orden y son de tamaño y morfología uniformes. La cromatina es de distribución pareja. *b, Láminas de células columnares atípicas benignas.* La mayoría de las células son de tamaño y morfología bastante uniformes, excepto algunas de núcleos agrandados y cromatina granular gruesa (*flechas*). Las células de la lámina exhiben un espaciamiento ordenado. *c* y *d, Láminas de células cancerosas en lavados gástricos realizados bajo fibrogastroscopia.* Los núcleos son de tamaño y forma variables y están distribuidos en desorden, con superposiciones irregulares. Nótense el engrosamiento irregular de los bordes nucleares y la prominencia de los nucléolos y/o cariosomas (*flechas*).

Tipo indiferenciado

Los criterios principales de las células malignas indiferenciadas son un citoplasma escaso de reacción tintorial basófila pálida, bordes celulares indistintos y un núcleo predominante, con rasgos malignos distintivos caracterizados por una cromatina en grumos gruesos, cariosomas prominentes y nucléolos múltiples. Sin embargo, las células malignas obtenidas con los lavados o cepillados gástricos están más o menos degeneradas, de modo que se presentan como núcleos denudados y no se disciernen los rasgos del citoplasma. Sólo se puede hacer la tipificación si no hay degeneración celular.

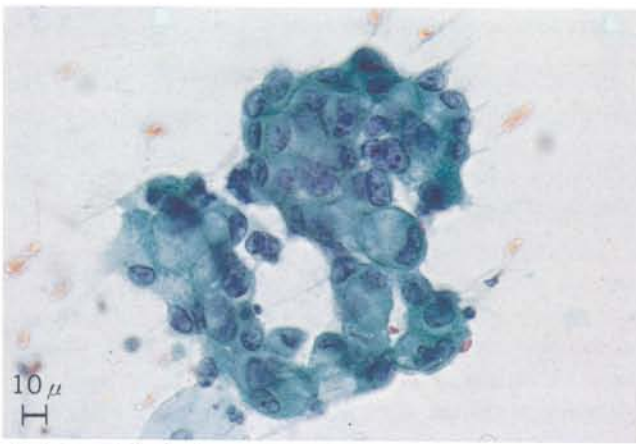


Fig. 727. Células de adenocarcinoma diferenciado vistas en una densa aglomeración tubular. Hay varias células cancerosas mucinosecretantes. El adenocarcinoma que adopta un tipo celular caliciforme es una variante común de adenocarcinoma.

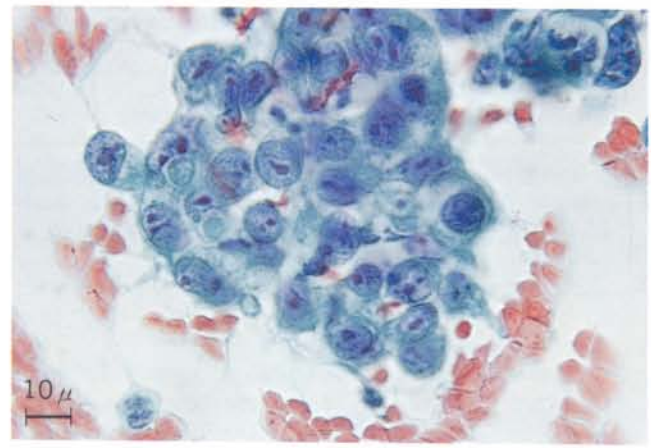


Fig. 728. Células adenocarcinomatosas diferenciadas que se exfolian en una densa aglomeración. Las concreciones intracitoplasmáticas ilustran la producción de mucina y su acumulación dentro de las células. Los nucléolos, uno o dos, son prominentes y acidófilos.

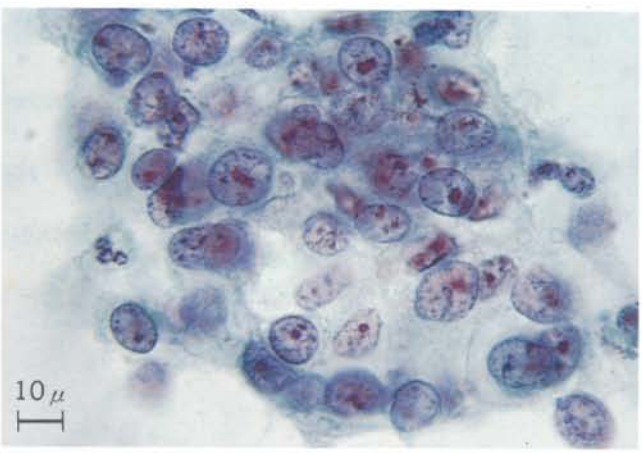


Fig. 729. Gran lámina de adenocarcinoma diferenciado. Los núcleos se superponen, están distribuidos en desorden y son de tamaño variable. Nótense los nucléolos acidófilos prominentes.

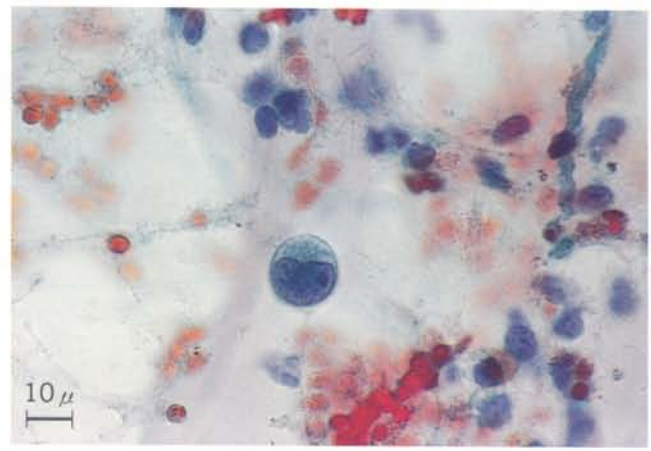


Fig. 730. Célula adenocarcinomatosa en un cepillado gástrico. El núcleo es grande e hipercromático, y está en la periferia. Se ve un nucléolo prominente.

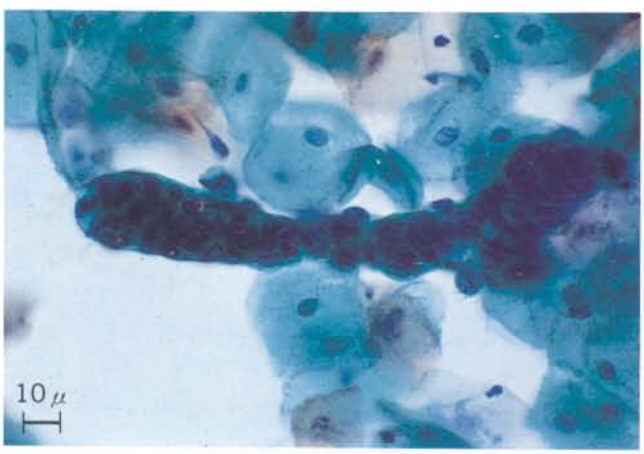


Fig. 731. Característico túbulo adenocarcinomatoso obtenido con el método de la esponja encapsulada. A pesar del fondo limpio, lo más probable es que la descamación de esos túbulos densos provenga de un adenocarcinoma cardial. La técnica es apropiada para examinar la unión esofagocardial.

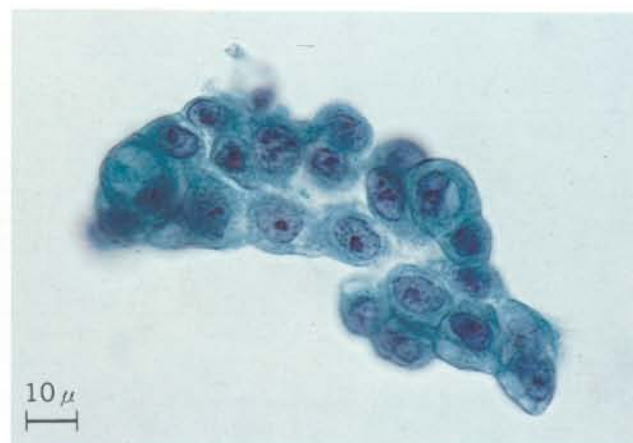


Fig. 732. Células adenocarcinomatosas aglomeradas en una formación tubular. Con el método de la esponja esofágica se obtienen células cancerosas del adenocarcinoma cardial y/o de su infiltración ascendente. Nótense la densa aglomeración celular dispuesta a modo de un túbulo y los nucléolos acidófilos prominentes, que hacen el diagnóstico de adenocarcinoma.



Fig. 733. Histología y citología de un carcinoma gástrico que se propaga en la superficie (adenocarcinoma tubular). *a, Carcinoma incipiente de la mucosa deprimido en la superficie, que deja islotes de mucosa no cancerosa. b, Adenocarcinoma tubular intramucoso caracterizado por una amplia diseminación superficial de células cancerosas dispuestas en una estructura glandular atípica.* No hay infiltración cancerosa en la muscular de la mucosa (*Mm*), en la submucosa (*Sm*) ni en la túnica muscular (*Mi*). *c, Adenocarcinoma tubular más ampliado.* Las células cancerosas pleomórficas están dispuestas con irregularidad, formando una trama glandular. El citoplasma de las células cancerosas aparece infiltrado por leucocitos polimorfonucleares. *d y e, Células adenocarcinomatosas aglomeradas en una columna irregular.* El desorden del grupo de células pleomórficas, con superposiciones nucleares, excentricidad de los núcleos y vacuolización citoplasmática, expresaría un carácter glandular típico. La cromatina exhibe condensación irregular o grumos gruesos. Estas células cancerosas, pertenecientes a un carcinoma intramucoso, carecen de rasgos específicos que permitan distinguirlas de las del adenocarcinoma avanzado.

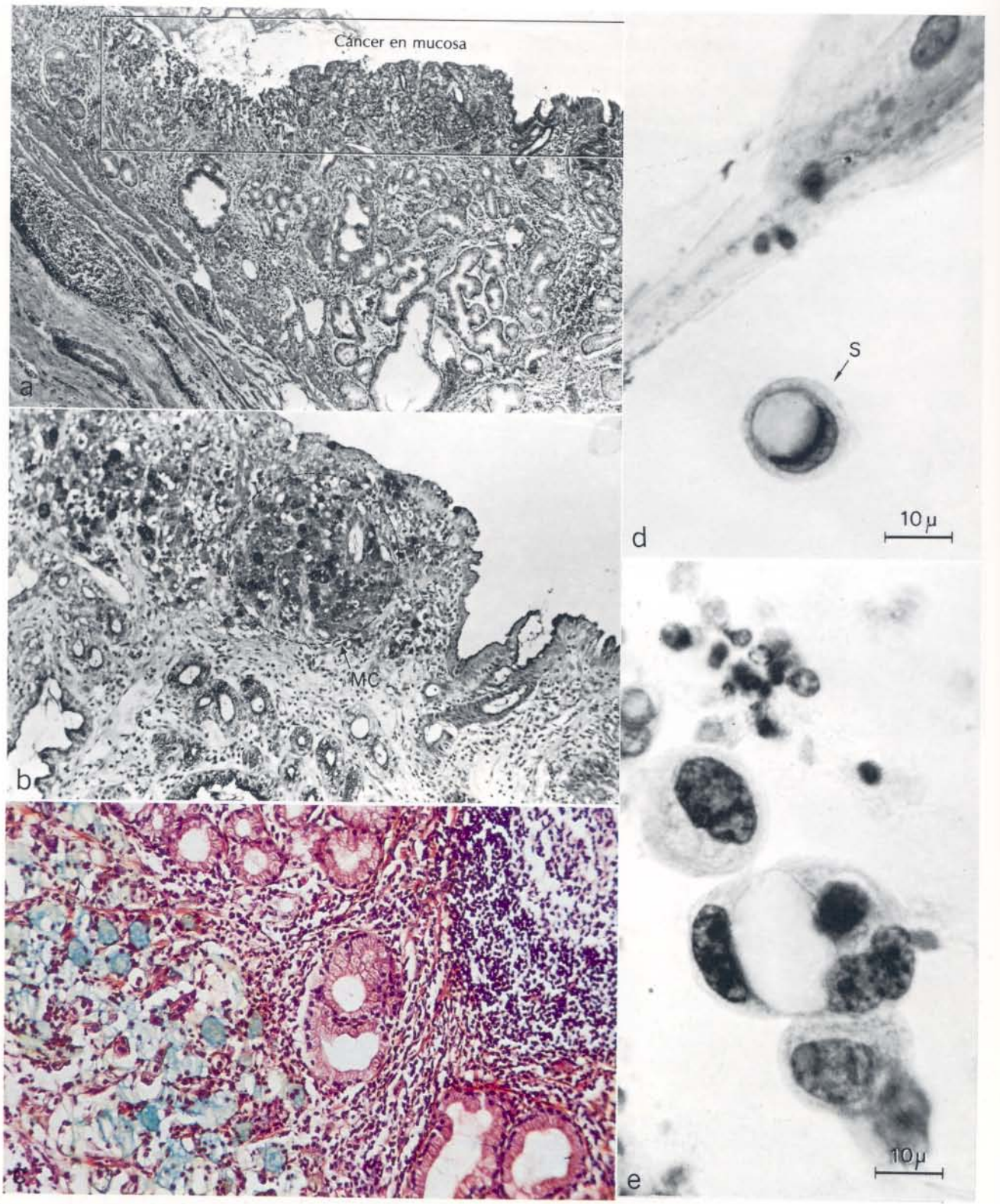


Fig. 734. Histología y citología de un carcinoma que se disemina en la superficie (adenocarcinoma mucinoso). *a, Carcinoma mucinoso intramucoso que infiltra la capa superficial de la mucosa en asociación con gastritis atrófica crónica.* Nótese la dilatación quística de las glándulas pilóricas. *b, Vista más ampliada de un carcinoma intramucoso que da positiva la reacción del ácido peryódico-Schiff.* Las células cancerosas que infiltran la mucosa aparecen como masas irregulares de células PAS positivas (*MC*). *c, Infiltración difusa de células cancerosas mucosecretantes en la mucosa.* Las células en anillo de sello infiltran la mucosa y las estructuras glandulares están mal definidas. *d, Célula cancerosa en anillo de sello.* Núcleo desplazado hacia la periferia por el contenido mucoso (*S*). *e, Pequeño grupo de células cancerosas.* Nótense la posición excéntrica de los núcleos y la considerable vacuolización del citoplasma. La cromatina está aumentada y se presenta en grumos gruesos.

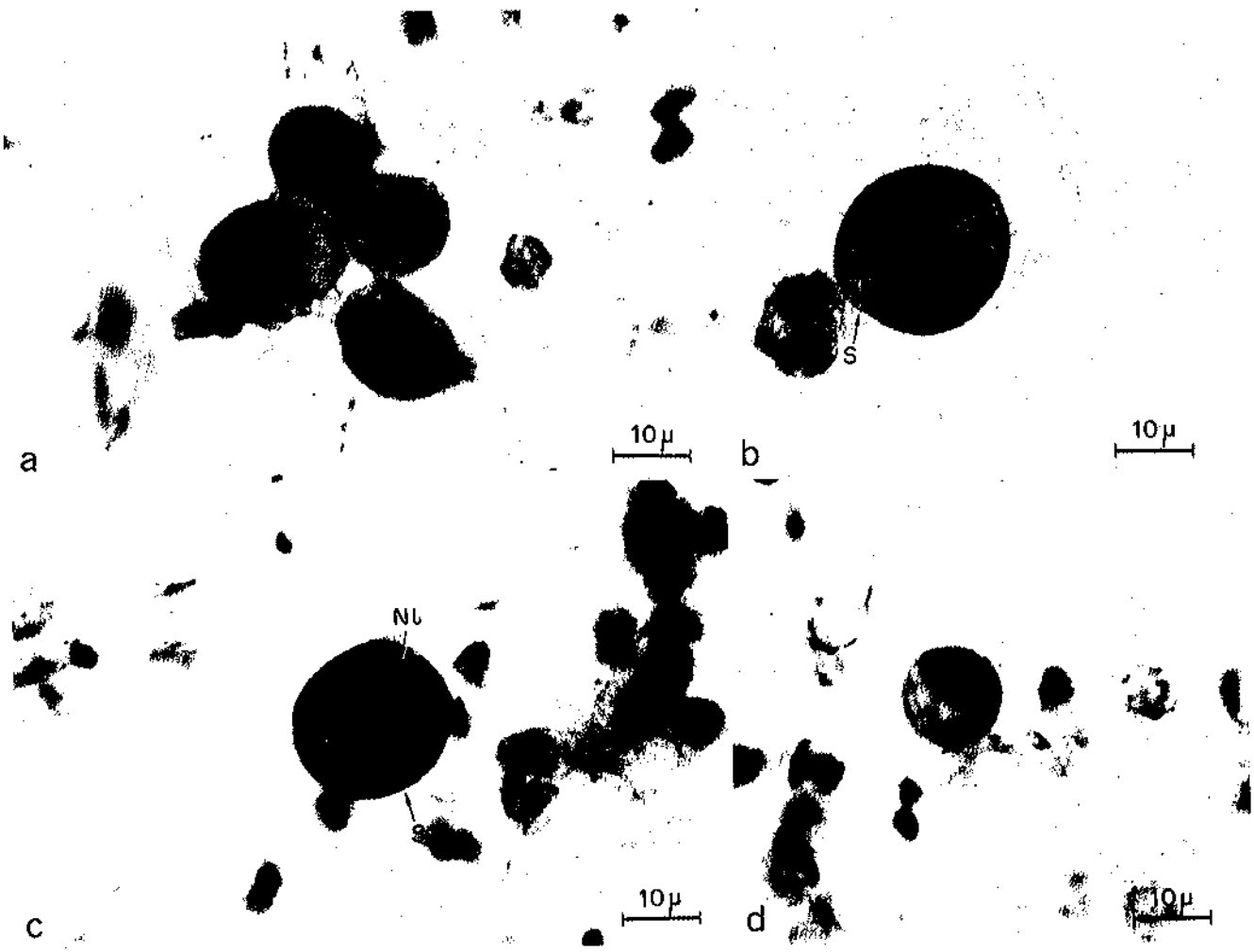


Fig. 735. Células cancerosas en anillo de sello en los lavados gástricos de un caso de carcinoma mucinoso intramucoso. *a*, Los núcleos son bastante pequeños pero de forma variable y de contornos irregulares. Una de estas células exhibe considerable vacuolización citoplasmática. *b*, Célula en anillo de sello binucleada (*S*). Los núcleos presentan una condensación gruesa de la cromatina y nucléolos prominentes. *c*, Célula en anillo de sello con un núcleo que parece ser maligno. Nótese el nucléolo prominente (*Nl*). *d*, Pequeña célula en anillo de sello con su núcleo desplazado hacia la periferia. La cromatina está aglomerada en grumos gruesos y el nucléolo es prominente.

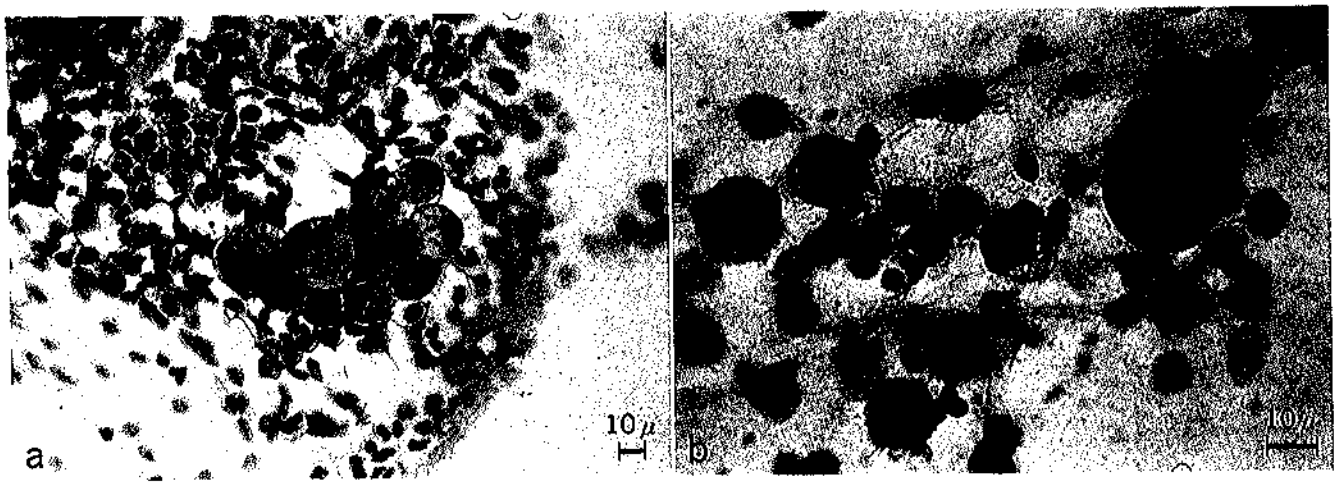


Fig. 736. Células cancerosas en anillo de sello de un cepillado endoscópico. *a*, Las células cancerosas cargadas de moco se han unido en un grupo pequeño. Contienen tanto moco que el núcleo está bien desplazado hacia la periferia. Puntos diferenciales que las distinguen de las células caliciformes benignas: 1) hipercromatismo y polimorfismo de los núcleos y 2) formación de una aglomeración celular. *b*, Célula en anillo de sello cancerosa vista con mayor aumento. La célula en anillo de sello grande y solitaria se caracteriza por un citoplasma esferoide colmado y de aspecto vesiculoso. Hay varias células cancerosas poco diferenciadas cuyo citoplasma es escaso y poco definido.

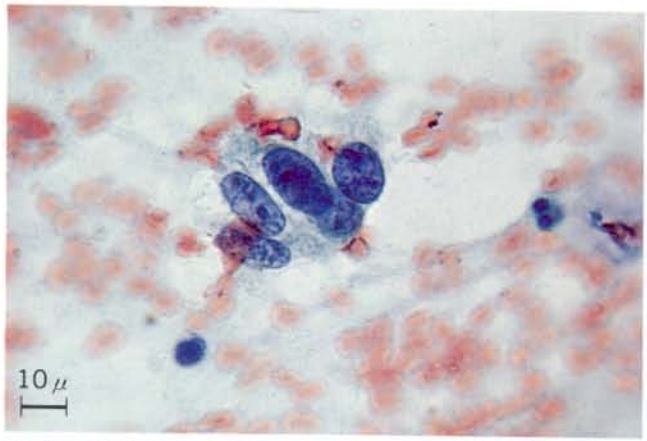


Fig. 737. Células adenocarcinomatosas degeneradas en lavados. Los núcleos hipercromáticos elongados están dispuestos en paralelo; este rasgo refleja el tipo intestinal de adenocarcinoma. La cromatina está aumentada y exhibe grumos gruesos.

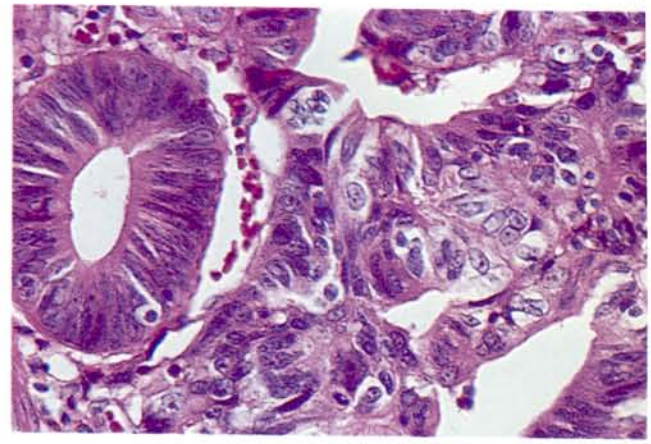


Fig. 738. Minúsculo adenocarcinoma intramucoso asociado con pólipos. La lesión cancerosa contrasta mucho con una glándula intestinal displásica revestida por células epiteliales columnares seudoestratificadas. Las células cancerosas aparecen distribuidas en desorden y son de tamaño y forma variables.

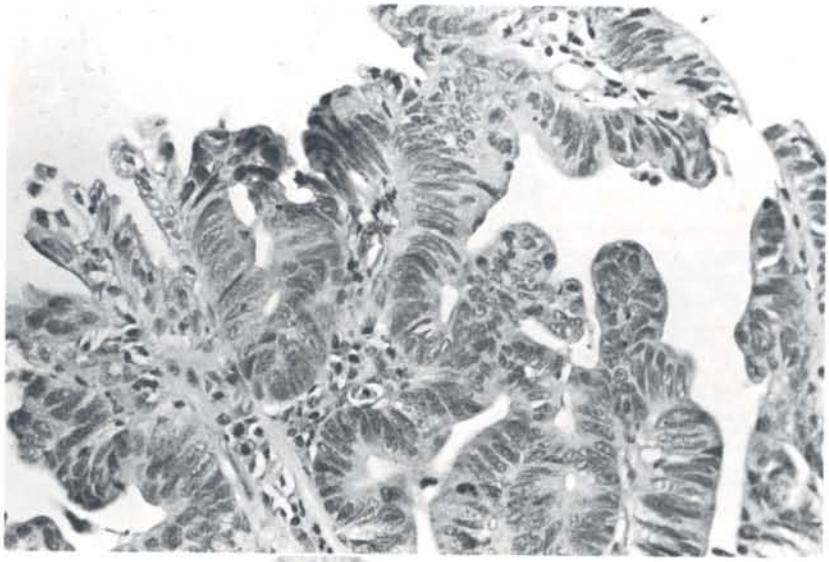


Fig. 739. Histología y citología del adenocarcinoma intestinal tubular de estómago.

Fig. 739 (a). Histología consistente en glándulas atípicas multiestratificadas por células cancerosas columnares. Nótese la trama papilotubular.



Fig. 739 (b). Células cancerosas bien preservadas en lavados gástricos. Los núcleos son elípticos o fusiformes y muy hipercromáticos, con cromatinas aglomeradas gruesas. Las células densamente agrupadas con empalizadas nucleares en la base de las células columnares indicarían adenocarcinoma tubular.

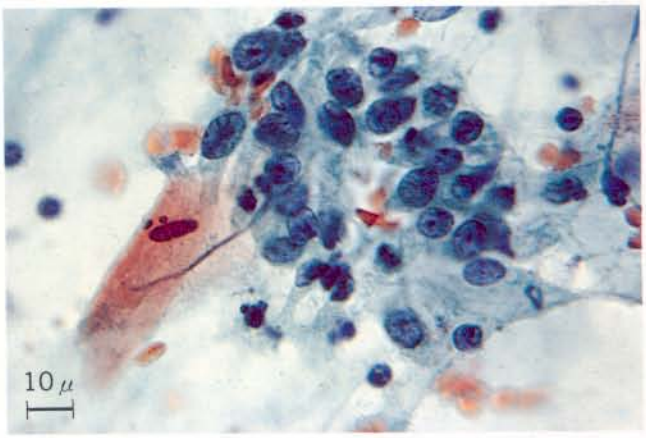


Fig. 740. Aglomeración suelta de células adenocarcinomatosas poco diferenciadas. Aunque los núcleos son bastante pequeños, su forma es irregular y están dispuestos en desorden. La cromatina está aumentada y aglomerada en grumos gruesos. El citoplasma es escaso e indefinido.

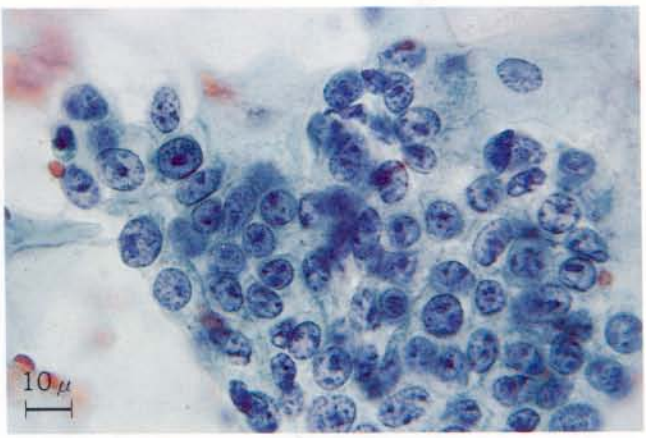


Fig. 741. Células adenocarcinomatosas poco diferenciadas, descamadas en una lámina grande. Las células cancerosas indiferenciadas pueden exfoliarse en forma individual o en una aglomeración laxa. El carcinoma poco diferenciado se diagnostica por: 1) la mala preservación y 2) el citoplasma escaso y poco tingible.

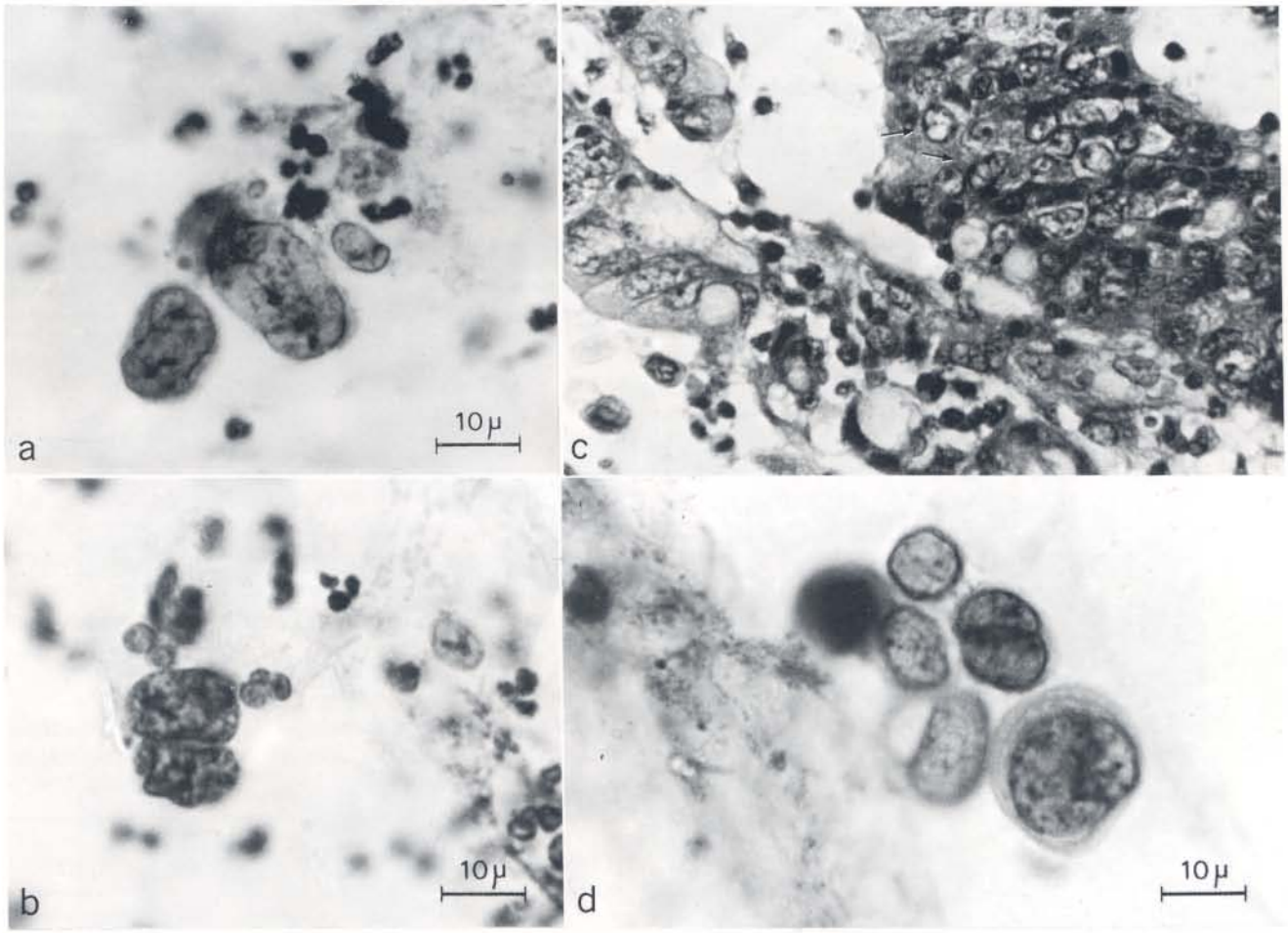


Fig. 742. Histología y citología del carcinoma gástrico poco diferenciado. *a* y *b, Células cancerosas indiferenciadas en lavados gástricos.* Las células cancerosas de citoplasma escaso e indefinido aparecen casi denudadas. Los núcleos son de tamaño variable, de contornos irregulares y contienen riendas gruesas de cromatina. Compárense los rasgos de estas células con la histología del tumor del cual provienen. *c, Histología del adenocarcinoma gástrico poco diferenciado.* Las partes principales del tumor consisten en nidos sólidos de células cancerosas sin trama organoide. La escasa tinción de los núcleos se debería a la degeneración (*flechas*). *d, Células malignas degeneradas en un lavado gástrico.* La cromatina está condensada en el borde nuclear. El interior de los núcleos es homogéneo y de aspecto vidrioso (degeneración colicuativa).

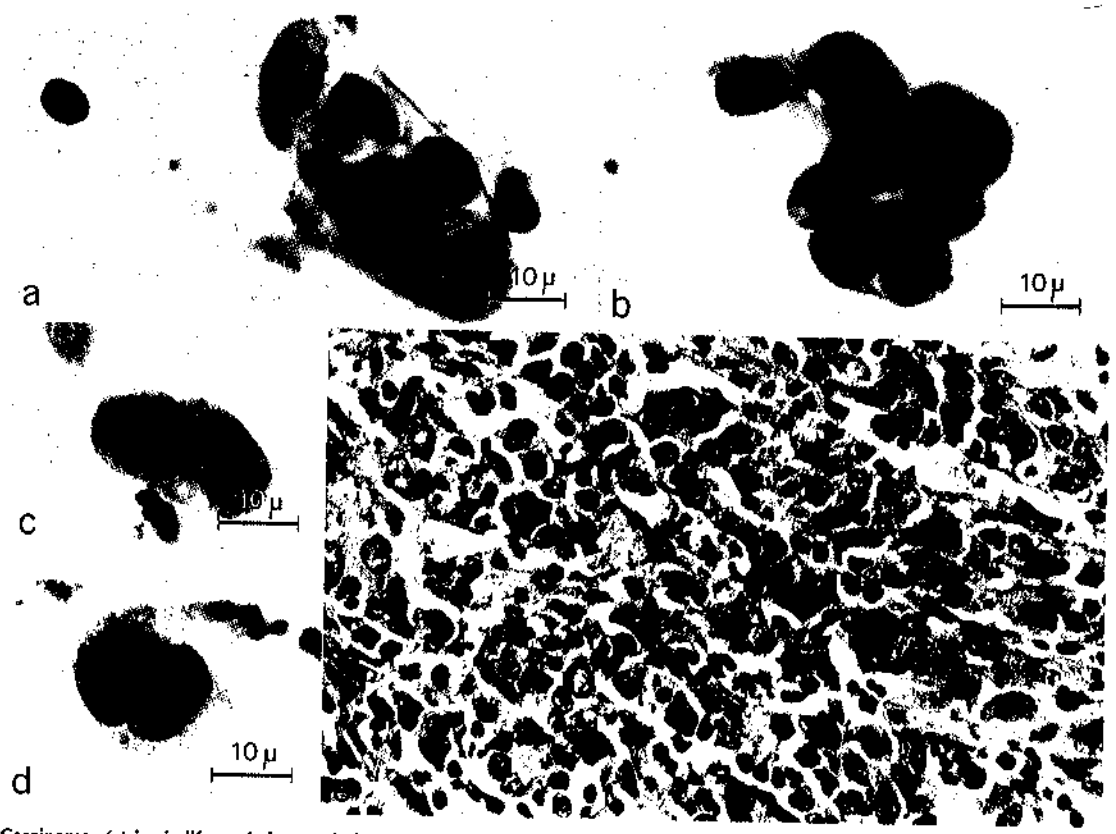


Fig. 743. Carcinoma gástrico indiferenciado y su citología de lavado. *a* a *d, Células cancerosas pequeñas indiferenciadas.* Los núcleos son bastante pequeños, pero de formas y tamaños variables. Nótense la distribución gruesa de las cromatinas y los cariosomas prominentes, los nucléolos múltiples ocasionales y el citoplasma escaso. *e, Histología del carcinoma gástrico indiferenciado.* Las pequeñas células cancerosas tienden a agruparse en bandas o en acumulaciones pequeñas, pero se infiltran difusamente sin formar ninguna trama acinosa o tubular reconocible.

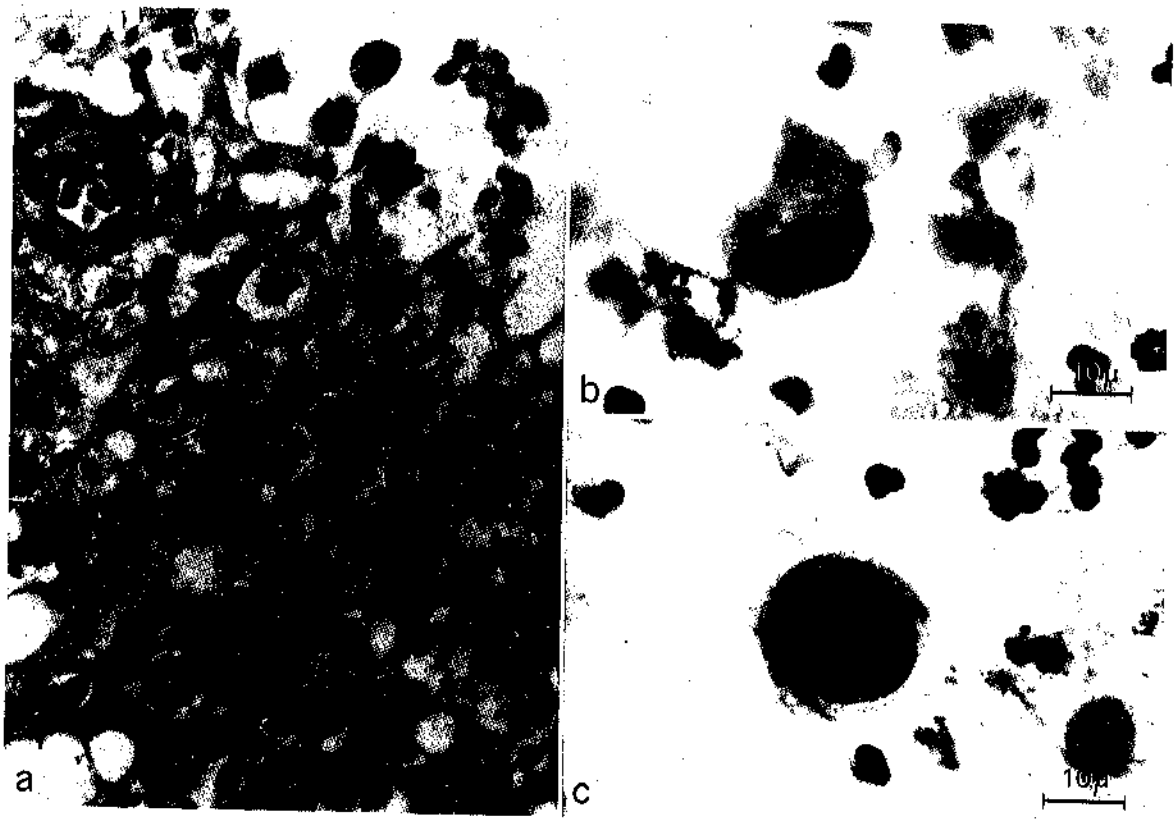


Fig. 744. Carcinoma escirroso que exhibe infiltración difusa de células cancerosas anaplásicas sin trama organoide. *a,* Histología de un carcinoma escirroso ulcerativo. Las células cancerosas infiltran en forma individual un tejido de tipo de granulación. *b* y *c,* Células malignas indiferenciadas típicas de citoplasma escaso y mal definido con tinción cianófila pálida. El núcleo revela unas cromatinas granulares gruesas, espacios intercromatínicos claros y nucléolo prominente.

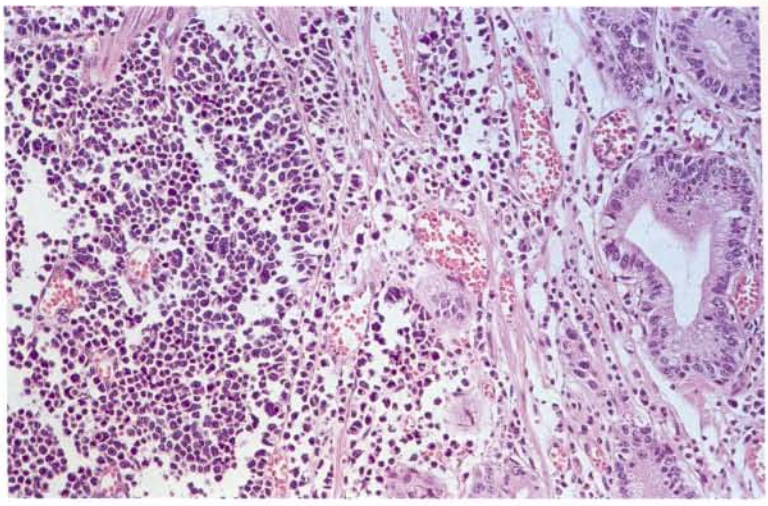


Fig. 745. Carcinoide (argentafinoma) originado en la submucosa gástrica como una formación polipoide y propagado al peritoneo. La diseminación más allá de la serosa produjo una ascitis que contenía células tumorales descamadas poligonales y pequeñas bastante uniformes, con núcleos hipercromáticos redondos, que formaban uniones epiteliales. Como la mucosa suprayacente suele mantenerse intacta, la citología del lavado gástrico es negativa (véase fig. 941).

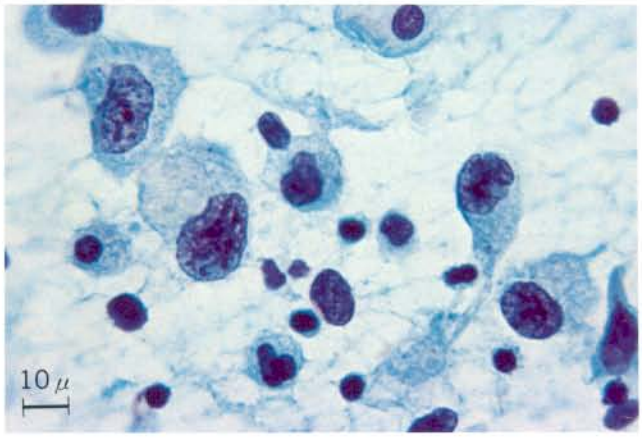


Fig. 746. Células de carcinoma pavimentoso en extendidos impresos de una biopsia. En el estómago resecado de un hombre de 52 años se encontró un tumor infiltrativo en la curvatura menor, pero sin compromiso del esófago. Estas células cancerosas pavimentosas tienden a exfoliarse en forma individual y exhiben núcleos grotescos. Los contornos rígidos e irregulares de los núcleos indican tipo epidermoide.

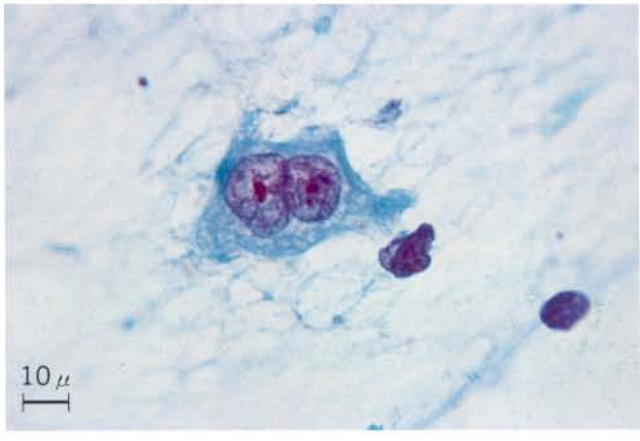


Fig. 747. Células de carcinoma pavimentoso en la muestra de la figura 746. Moderada cantidad de citoplasma grueso y poliédrico.

Tipo epidermoide

La variedad epidermoide o pavimentosocelular es rara, pues representa menos del 3 % de los casos de carcinoma gástrico. Algunos de estos casos son propagaciones de un carcinoma esofágico. La presencia de adenoacantoma en otros órganos explicaría la morfogénesis del carcinoma pavimentosocelular; las células indiferentes del cuello de las glándulas gástricas poseen potencial para ir a la metaplasia pavimentosa o a una diferenciación desviada.

Cuadro 72. Frecuencia de matástasis hepáticas y diseminación peritoneal por carcinoma gástrico avanzado (seguimientos de 5 años)

	N° de casos	*Metástasis hepáticas*	*Peritonitis*
Adenocarcinoma papilífero	95	21,1%	23,2%
Adenocarcinoma tubular	173	11,0%	12,7%
Carcinoma indiferenciado	51	2,0%	31,4%
Carcinoma de células en anillo de sello	125	1,6%	24,8%
Carcinoma gelatinoso	27	7,4%	40,7%

(SANO, R.: Surgical Pathology of Gastric Diseases, p. 131. Tokio, Igaku-Shoin Ltd., 1974.)

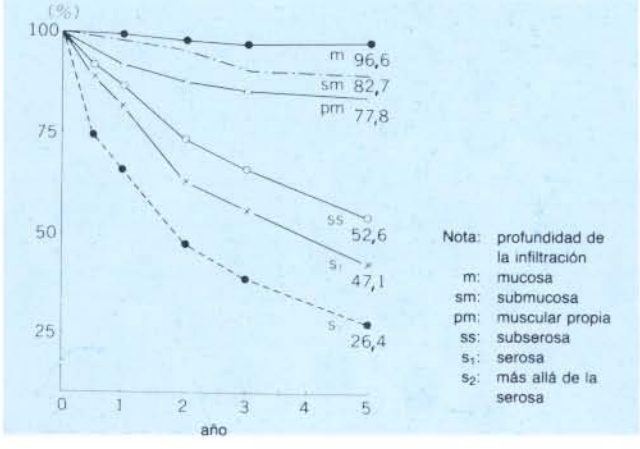


Fig. 748. Relación entre la profundidad de la infiltración de células cancerosas y la sobrevida a los 5 años. (Sano, R.: Surgical Pathology of Gastric Diseases, p. 131. Tokio, Igaku-Shoin Ltd., 1974.)

11. Importancia de la tipificación celular para el pronóstico

De acuerdo con la comunicación de Sano[84] sobre el pronóstico de 471 carcinomas gástricos avanzados, no existe mayor relación entre el grado de diferenciación y la tipificación de las células cancerosas, y las tasas de sobrevidas a los 5 años. Los carcinomas diferenciados papilífero y tubular dan metástasis hepáticas con mayor frecuencia que el adenocarcinoma poco diferenciado (cuadro 72). Parece que el pronóstico del carcinoma gástrico depende de la profundidad de la penetración cancerosa, cualquiera que sea el tipo histológico (fig. 748). La citología se debe hacer para detectar el carcinoma incipiente de la mucosa y las lesiones precancerosas.

12. Carcinoide

El carcinoide originado en las células de Kulchitsky de las fositas gástricas es raro en el estómago, pero bastante común en el intestino delgado. Las células tumorales son poliédricas y semejan células de los islotes del páncreas porque se exfolian formando uniones epiteliales. Las células tumorales bastante pequeñas y uniformes despliegan los mismos rasgos citológicos que las del carcinoide de otros órganos; los núcleos son redondos e hipercromáticos, y presentan cromatinas punteadas (fig. 745). Aunque la lesión es de aspecto benigno y crece con lentitud, este tumor da metástasis hepáticas en un 20 % de los casos.

13. Linfoma y seudolinfoma

La clasificación y la citología se detallan en el capítulo sobre ganglios linfáticos. En lo tocante a la frecuencia de linfomas malignos, Stout[92] encontró 41 casos (7,6 %) sobre 451 tumores malignos primarios de estómago, y Nakamura[6] nada más que 69 casos (2,6 %) sobre 2639 neoplasias malignas gástricas. La mayoría de estos tumores son linfomas histiocitarios (reticulosarcoma). El linfoma maligno se propaga ampliamente a la submucosa y muchas veces forma un tumor masivo ulcerado en la superficie. El seudolinfoma[42, 9] o hiperplasia linforreticular[22] es un estado importante que debe diferenciarse del linfoma maligno.[117] En vista de que muchas veces se asocia con ulceración, también se obtienen celulas linfoides hiperplásicas en los cepillados o lavados gástricos. La tasa relativamente grande (77,8 %) de diagnósticos de linfomas malignos con el lavado gástrico convencional[8] se explica por los rasgos patológicos que acompañan a la ulceración. La clave del diagnóstico diferencial del seudolinfoma es la variedad de rasgos celulares, porque aparece una mezcla de linfogonias, prolinfocitos y linfocitos grandes con muchos linfocitos pequeños.

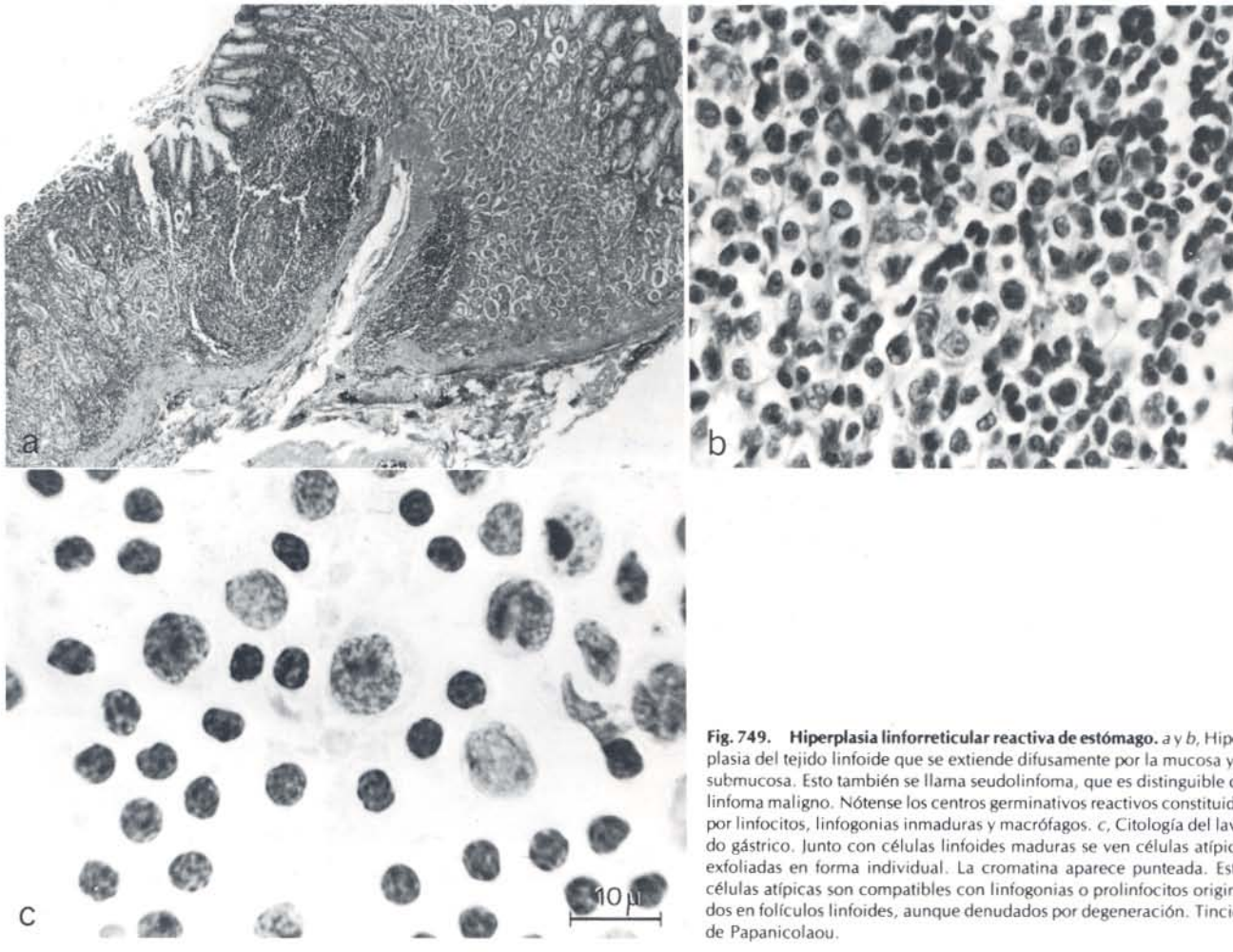


Fig. 749. Hiperplasia linforreticular reactiva de estómago. *a* y *b*, Hiperplasia del tejido linfoide que se extiende difusamente por la mucosa y la submucosa. Esto también se llama seudolinfoma, que es distinguible de linfoma maligno. Nótense los centros germinativos reactivos constituidos por linfocitos, linfogonias inmaduras y macrófagos. *c*, Citología del lavado gástrico. Junto con células linfoides maduras se ven células atípicas exfoliadas en forma individual. La cromatina aparece punteada. Estas células atípicas son compatibles con linfogonias o prolinfocitos originados en folículos linfoides, aunque denudados por degeneración. Tinción de Papanicolaou.

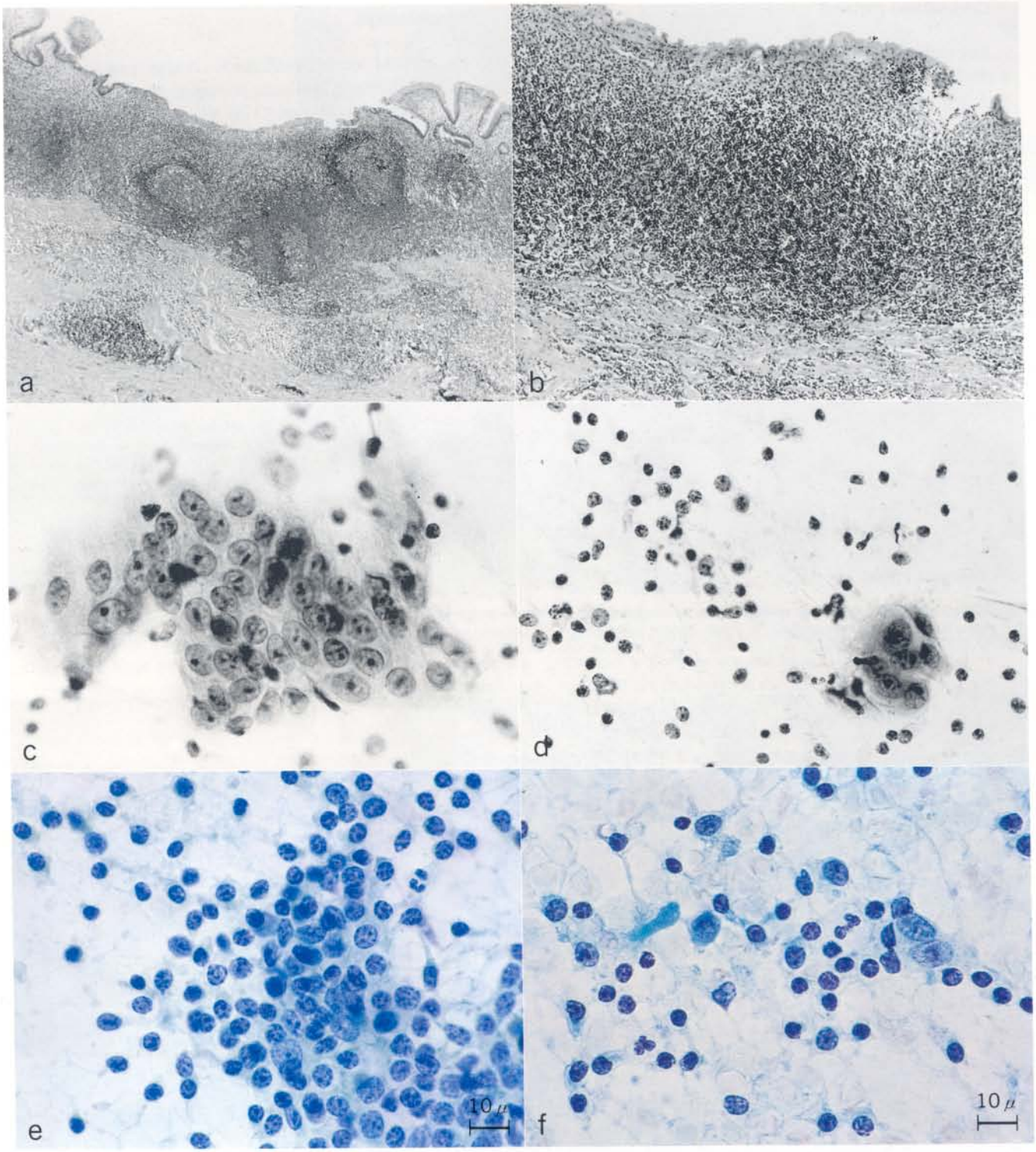


Fig. 750. Hiperplasia linforreticular reactiva con infiltración masiva de células linfoides asociada con ulceración. *a, Vista con poco aumento, la lesión erosiva semeja un carcinoma incipiente tipo IIc.* Merece mencionarse la formación de centros germinativos. Esto también se designa con sinónimos como hiperplasia linfoide reactiva (Smith y Helwig) y seudolinfoma (Jacob). *b, Histología más ampliada.* La mayoría de los infiltrados masivos consisten en linfocitos maduros. Los rasgos que distinguen al linfoma linfocitario diferenciado del linfoma maligno son: 1) ausencia de atipia, 2) componente citológico principal constituido por linfocitos, 3) formación de centros germinativos reactivos y 4) mezcla con otras células inflamatorias. *c* y *d, Células epiteliales hiperplásicas benignas asociadas con hiperplasia linforreticular reactiva.* Como la lesión tiende a erosionarse, a menudo se acompaña de hiperplasia regenerativa. Aunque los núcleos son grandes y de tamaño y morfología uniformes, su distribución regular indica benignidad (c). Se ven células linfoides hipertróficas dispersas (*d*). *e* y *f, Linfocitos activados en impresiones de una biopsia.* El seudolinfoma se caracteriza por diversas etapas de maduración celular linfoidea y por la mezcla con otros tipos de células inflamatorias. Existe una gran cantidad de linfocitos y de prolinfocitos más grandes.

Comentario general

Los factores vinculados con el pronóstico del linfoma son las metástasis en los ganglios linfáticos regionales y la profundidad de la penetración de células tumorales. Las metástasis en los ganglios linfáticos son menos frecuentes en pacientes con linfoma que en los que tienen carcinoma; a esto se debe el pronóstico favorable del linfoma gástrico.[55]

Citopatología

De acuerdo con la clasificación citológica de Lim y col.,[55] quienes reunieron 50 linfomas primarios de estómago, el linfoma histiocitario ocurrió en 23 de 50 casos (46 %), el linfoma linfocitario diferenciado en 12 (24 %), el linfoma linfocito-histiocitario mixto y el linfoma poco diferenciado en 5 casos, respectivamente (10 %), y la enfermedad de Hodgkin en 3

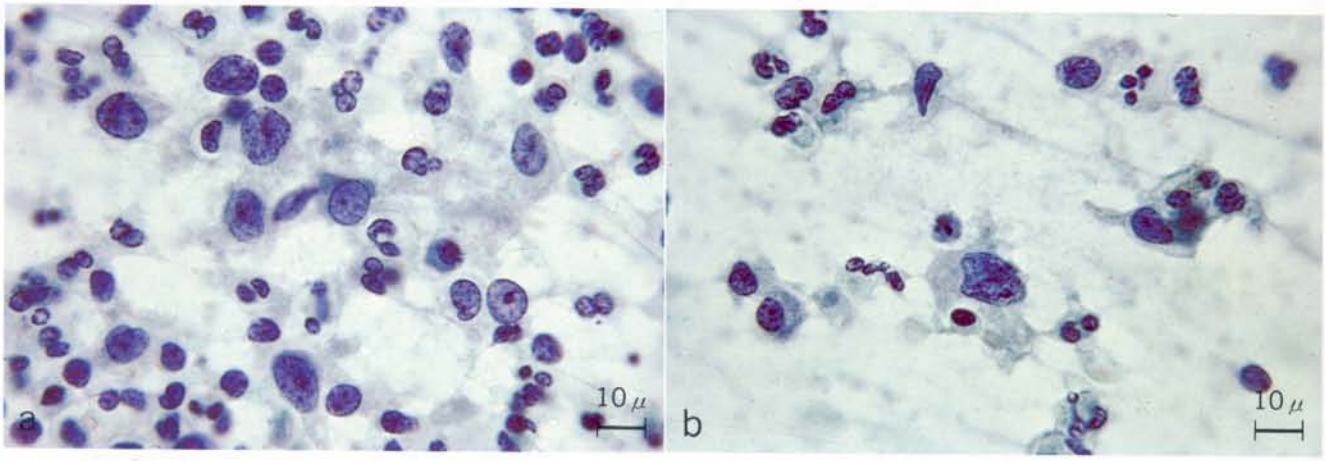


Fig. 751. Linfoma histiocitario o reticulosarcoma en impresiones de una biopsia. *a*, Núcleos denudados, de tamaño y forma variables, y aislados. La trama de cromatina es vidriosa por degeneración. *b*, Célula maligna cuyo núcleo posee indentaciones irregulares pero está finamente delineado. La cromatina es reticular gruesa. El nucléolo es prominente, pero de forma irregular. El citoplasma cianófilo se preserva.

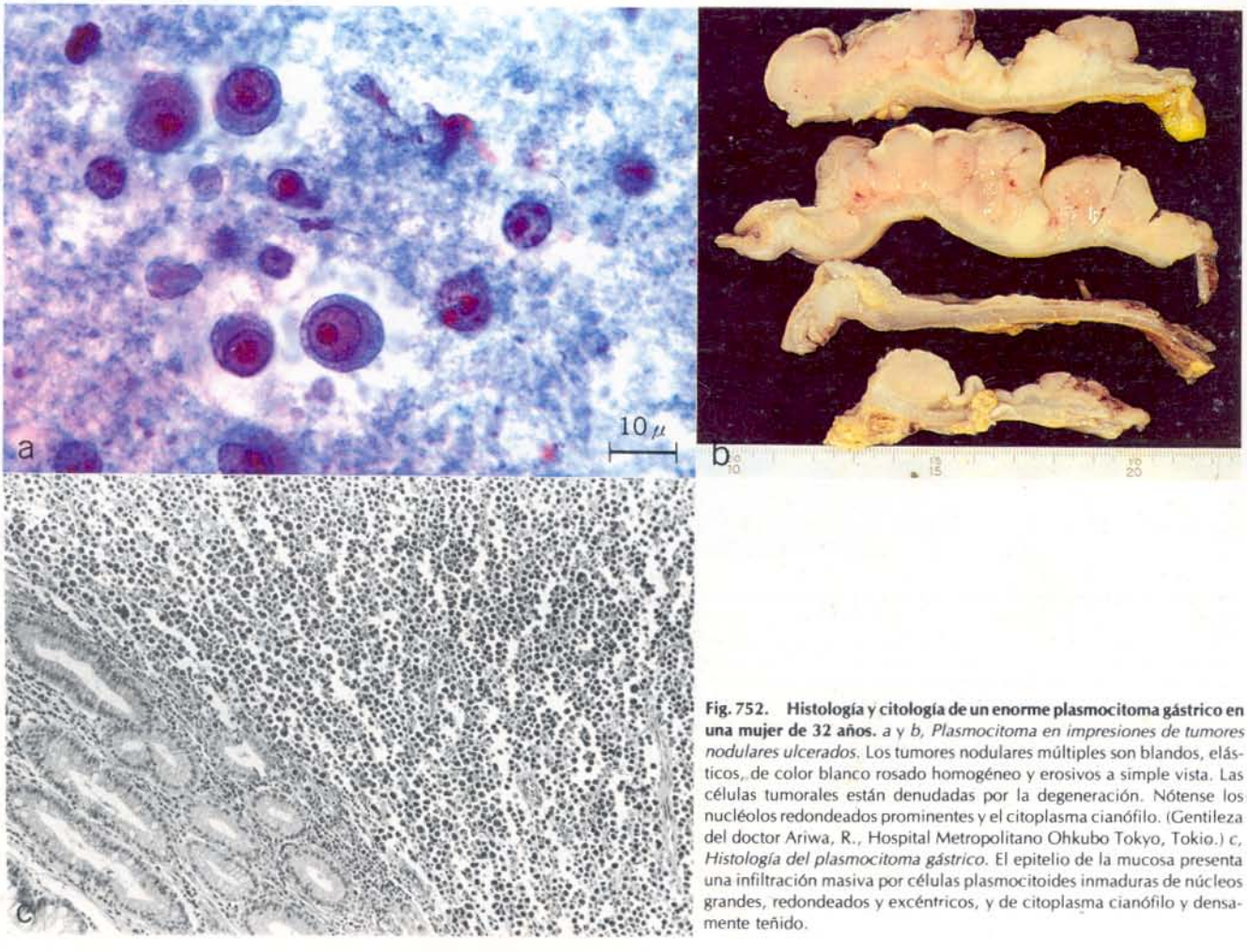


Fig. 752. Histología y citología de un enorme plasmocitoma gástrico en una mujer de 32 años. *a* y *b*, *Plasmocitoma en impresiones de tumores nodulares ulcerados.* Los tumores nodulares múltiples son blandos, elásticos, de color blanco rosado homogéneo y erosivos a simple vista. Las células tumorales están denudadas por la degeneración. Nótense los nucléolos redondeados prominentes y el citoplasma cianófilo. (Gentileza del doctor Ariwa, R., Hospital Metropolitano Ohkubo Tokyo, Tokio.) *c*, *Histología del plasmocitoma gástrico.* El epitelio de la mucosa presenta una infiltración masiva por células plasmocitoides inmaduras de núcleos grandes, redondeados y excéntricos, y de citoplasma cianófilo y densamente teñido.

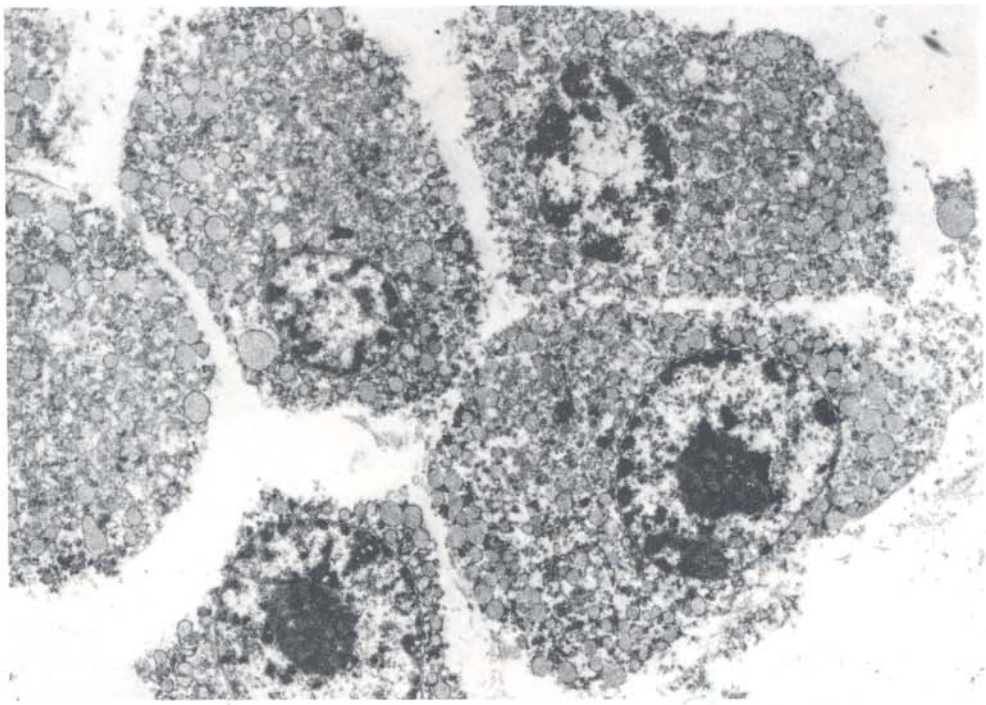


Fig. 753. Micrografía electrónica de células plasmocitoides inmaduras. Caso de la figura 752. Aunque los organoides del citoplasma no están bien preservados a causa del corte fijado con formol, se ven muchas cisternas dilatadas con moderada densidad a los electrones.

casos (6 %). La clasificación del linfoma maligno en el cepillado gástrico no es tan fácil como en el aspirado con aguja del compromiso linfoganglionar porque muchas veces aparecen diversos tipos de células mezclados. En los casos en que los extendidos arrojan predominio de células linfomatosas linfocitarias (células linfosarcomatosas) o linfomatosas histiocitarias (células reticulosarcomatosas), se puede establecer una correlación exacta con la histología. El linfoma histiocitario se distingue por unos reticulocitos inmaduros y solitarios de núcleos grandes, redondos o poliédricos a veces con un contorno indentado. Los nucléolos son prominentes y de forma irregular. Existe moderada cantidad de citoplasma vacuolado y basófilo, con un halo perinuclear. El linfoma linfocitario consiste en células redondas aisladas que tienen un citoplasma semilunar muy escaso. Los núcleos son redondos y de borde nuclear delicado. Las cromatinas punteadas son características de este tipo. Como variedad de linfoma, el linfoma linfoplasmocitoide, según mencionan Rilke y col., se diagnostica por la mezcla de células como inmunoblastos de grandes núcleos redondos, nucléolos prominentes y citoplasma basófilo, células linfoplasmocitoides y plasmocitos maduros.[77]

En lo que respecta a la exactitud del diagnóstico, Cabre-Fiol y Vilardell sostienen que la citología del cepillado gastrofibroscópico es mucho mejor (86,6 %) que la citología abrasiva a ciegas (41,1 %). Es notable que en su trabajo la exactitud diagnóstica fuese mejor con la citología del cepillado que con la biopsia endoscópica.[14]

Addendum: Plasmocitoma. Varios autores mencionaron la forma pura de plasmocitoma extramedular[110, 113, 115] desde que Vasiliu y Popa publicaron el primer caso en 1928. El tumor macroscópico es ulcerado, de aspecto medular y no se asocia con disproteinemia sérica, de modo que es difícil distinguirlo del linfoma, a menos que en la citología o en la biopsia aparezcan plasmocitos inmaduros característicos con un citoplasma

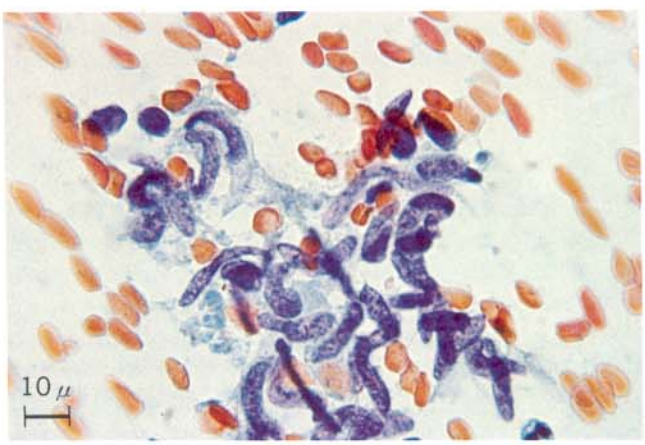


Fig. 754. Células leiomiomatosas en impresiones de una pieza de biopsia. Leiomioma que sobresale dentro de la luz. Las células tumorales son difíciles de obtener si no se hace un enérgico raspado en el área ulcerada. Los núcleos son elongados y curvos.

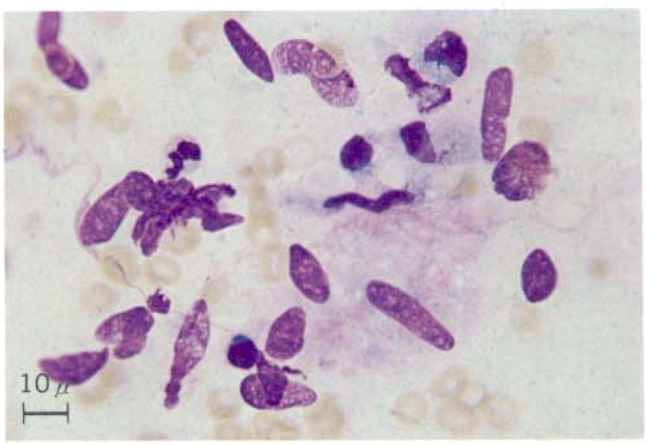


Fig. 755. Células leiomiomatosas del caso de la figura 754 teñidas con Giemsa. Nótense los polos nucleares redondeados característicos del leiomioma. Los núcleos están muy elongados y doblados. La distribución de las cromatinas finas es pareja.

cianófilo y un halo perinuclear, y un núcleo redondo excéntrico con un nucléolo prominente (figs. 752 y 753).

14. Leiomioma y leiomiosarcoma

El leiomioma es el tumor benigno más común de estómago que produce un bulto globuloso circunscripto, a menudo en reloj de arena. Cepillando la pared excavada del tumor se obtienen unas células tumorales fibrosas características, con núcleos elongados. Los bordes nucleares son delicados y de polos redondeados. Aunque es difícil trazar la diferencia entre leiomioma y leiomiosarcoma, las células sarcomatosas son más grandes, de tamaño variable, redondeadas e hipercromáticas. Las cromatinas de las células sarcomatosas son más gruesas y de distribución más irregular que las de las células del leiomioma.[15]

15. Páncreas heterotópico

El páncreas heterotópico o aberrante se reconoce en la endoscopia como un tumor procidente a modo de un pólipo, pero con la mucosa intacta. Su histología consiste en células exocrinas maduras y sus conductos. En general no contiene islotes de Langerhans. Esta lesión no entra en los dominios de la citología, excepto en las punciones aspiradoras o impresiones de las biopsias (fig. 756).

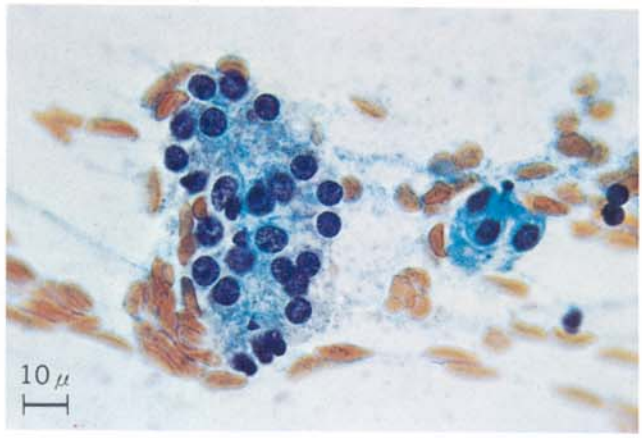


Fig. 756. Páncreas aberrante en una impresión de biopsia. El páncreas ectópico se reconoce en la endoscopia como un tumor submucoso. Nótese la estructura acinosa constituida por células redondas uniformes de citoplasma granular.

16. Tumores metastásicos

Aunque es raro que se radiquen metástasis tumorales en el estómago, Ming dijo que la incidencia de estas metástasis fue de cerca del 0,19 % en 14.000 casos necropsiados y consistieron,

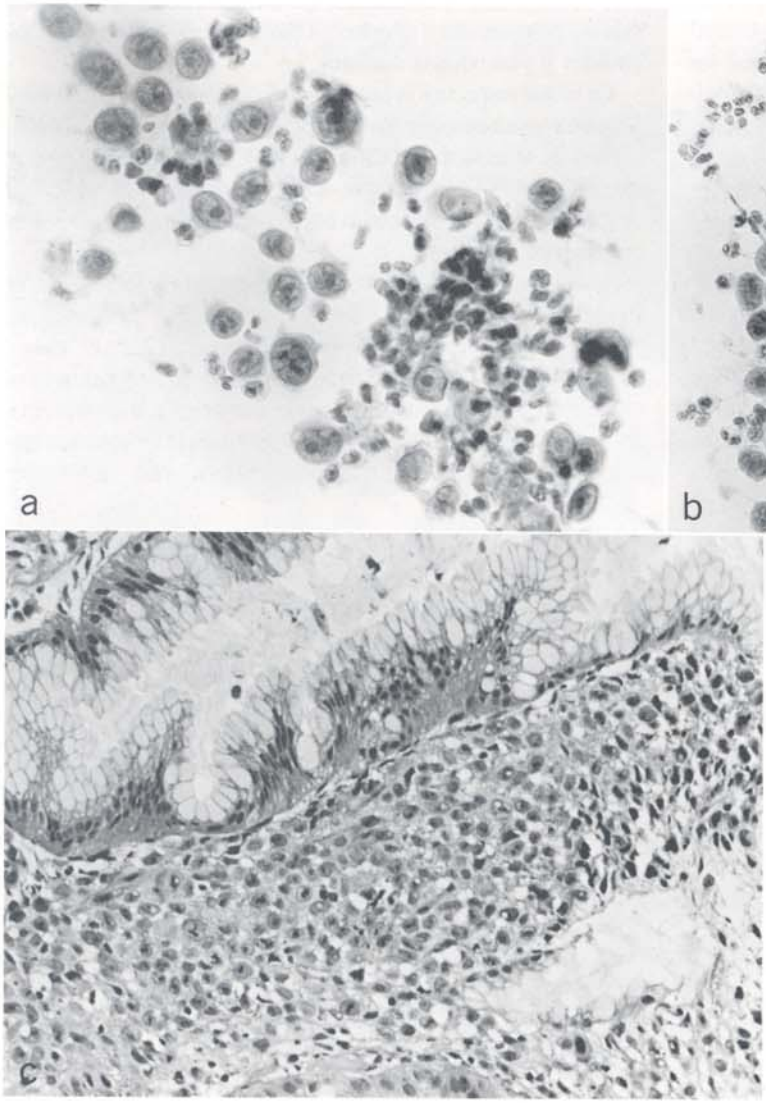


Fig. 757. Melanoma metastásico en la mucosa gástrica. *a* y *b, Células melanomatosas en impresiones de la biopsia.* Estas células melanomatosas epitelioides descamadas una por una se caracterizan por unos grandes núcleos redondeados y por un nucléolo enorme en gota. Compárense estas células melanomatosas con las células foveolares dispuestas en una columna celular apretada. *c, Infiltración difusa de la mucosa por células tumorales redondeadas en el preparado histológico.* Las metástasis de melanoma maligno son frecuentes en el estómago, donde originan nódulos múltiples con una ulceración central, que se conocen como signo del "ojo de buey".

por orden descendente de frecuencia, en carcinomas de páncreas, mama, útero, pulmón, riñón y colon. En ocasiones el melanoma maligno toma la mucosa gástrica como una multitud de pequeños puntos pigmentados que descaman células melanomatosas al cepillado o raspado (fig. 757).

INTESTINO DELGADO Y GRUESO

1. Recolección de muestras y preparación de extendidos

Citología del colédoco y conducto pancreático

1) Método de la pancreocimina y secretina. La excreción duodenal inducida mediante inyección intravenosa de pancreocimina es útil como técnica de rutina para hacer citología del colédoco y conducto pancreático. El procedimiento se hace del siguiente modo: 1) A primera hora de la mañana y en ayunas, el paciente se acuesta sobre el lado derecho y se le introduce una sonda gastroduodenal de doble luz, diseñada para obtener jugo gástrico y duodenal por separado. 2) Se hace una inyección intravenosa lenta de pancreocimina (1 unidad/kg de peso corporal) y se recoge el jugo duodenal 10 minutos (tubo Nº 1). 3) Se inyecta secretina (1 unidad/kg) intravenosa y se aspira el jugo 10 minutos (tubo Nº 2). 4) Se recoge el jugo duodenal sin interrupción otros 10 minutos más (tubo Nº 3) y luego en otros dos tubos 20 minutos cada uno (tubos Nº 4 y Nº 5). Estos tubos se dejan en una pileta con cubos de hielo durante la recolección. 5) Concluida la recolección se centrifuga la muestra 5 minutos a 1500 rpm y se hacen extendidos para citología.

2) Aspiración y lavado endoscópico. El jugo duodenal excretado tras la inyección intravenosa de secretina (1 unidad/kg) se aspira directamente con una sonda de vinilo intubada bajo visión endoscópica.

El lavado del conducto biliar y/o conducto pancreático por medio de la sonda de vinilo con unos 10 ml de solución fisiológica es una técnica útil para obtener una muestra fresca de la lesión.

3) Método combinado con colangiografía. La citología combinada con la colangiopancreatografía retrógada endoscópica[20, 34] y con la colangiografía transhepática percutánea da resultados satisfactorios[1] porque permite obtener células mucosas directamente del colédoco sin contaminación por otras partes del tubo digestivo.

Citología del colon

1) Raspado endoscópico. Las secreciones mucosas obtenidas en la proctosigmoidoscopia son excelentes.[108] Aunque el alcance del sigmoidoscopio tiene su límite, cerca del 70 % de los carcinomas de colon están en la porción del rectosigmoide que se puede examinar con el sigmoidoscopio. La lesión se raspa con un hisopo de algodón. Los elementos celulares se pasan a portaobjetos de vidrio limpios haciendo rodar cuidadosamente el hisopo a través de los portaobjetos o tocando con suavidad con el hisopo los portaobjetos.

2) Lavado colónico. En este procedimiento es importante purgar de antemano al paciente. Se le indica que sólo ingiera una pequeña cantidad de alimentos de fácil digestión unos días antes del examen. La noche anterior se administra por boca un catártico, que puede consistir en 4 cucharadas soperas de aceite de ricino o de vaselina líquida. A la mañana, en ayunas, se hacen enemas de limpieza hasta obtener un líquido claro. La limpieza del colon se hace de la siguiente manera: Se introducen unos 1000 ml de solución fisiológica tibia poco a poco con el paciente en decúbito lateral izquierdo y los muslos flexionados. Hecha la enema, se vuelve al paciente al decúbito dorsal con la cabecera de la camilla más baja por unos minutos, y después al decúbito lateral derecho. Se recoge el líquido y se repiten las enemas hasta obtener un líquido claro. Como lavaje final para obtener muestras, se administran con suavidad con la sonda 500 a 1000 ml de solución fisiológica o de Ringer tibia, con el paciente en la misma posición que para las enemas de limpieza preliminares. Cambiando de posición y palpando con suavidad el abdomen se obtienen muestras mejores.

Precaución. Si el líquido obtenido contiene mucha materia fecal por obstrucción intestinal debida a tumores, diverticulitis y colitis ulcerativa crónica, se debe repetir el mismo procedimiento de lavaje.

2. Histología del colon y sus componentes celulares benignos

Histología del colon

1) Intestino delgado. El intestino delgado consiste en duodeno, yeyuno e íleon. La estructura histológica es un tanto distinta en cada parte, pero, en esencia, es la misma. La superficie de la mucosa tiene unas delicadas prolongaciones que se llaman vellosidades intestinales, en cuyas raíces desembocan las glándulas intestinales (criptas de Lieberkühn). Las glándulas de Brunner del duodeno están en la submucosa y sus conductos atraviesan la muscular de la mucosa y desembocan en las fositas.

En el yeyuno y en el íleon la mucosa contiene unas glándulas intestinales de 320 a 450 μ de longitud revestidas por unas células columnares bajas que elaboran con preferencia moco y algunas enzimas. La túnica propia consiste en una armazón reticular de tejido conectivo con conductos linfáticos y presenta cierta infiltración de leucocitos polimorfonucleares, plasmocitos, linfocitos, etc. El aparato linfoide está bien desarrollado, pues forma folículos solitarios y placas de Peyer. En el fondo de las criptas de Lieberkühn están las células de Paneth, con sus gránulos eosinófilos.

El epitelio superficial consiste en células calciformes y en unas delgadas células columnares de bordes estriados, que intervendrían en la absorción del agua y productos digeridos. La actividad de fosfatasa alcalina es intensamente positiva en los bordes estriados.

2) Intestino grueso. La mucosa del intestino grueso, que carece de vellosidades, es muy lisa, pero conserva las criptas. El epitelio superficial se halla cubierto por una sola capa de células columnares de bordes estriados, entremezcladas con células caliciformes. Las criptas son rectas, perpendiculares a la superficie y más largas que las del intestino delgado. Las células caliciformes abundan tanto que se las llama glándulas mucosas intestinales (criptas de Lieberkühn). No se ven células de Paneth.

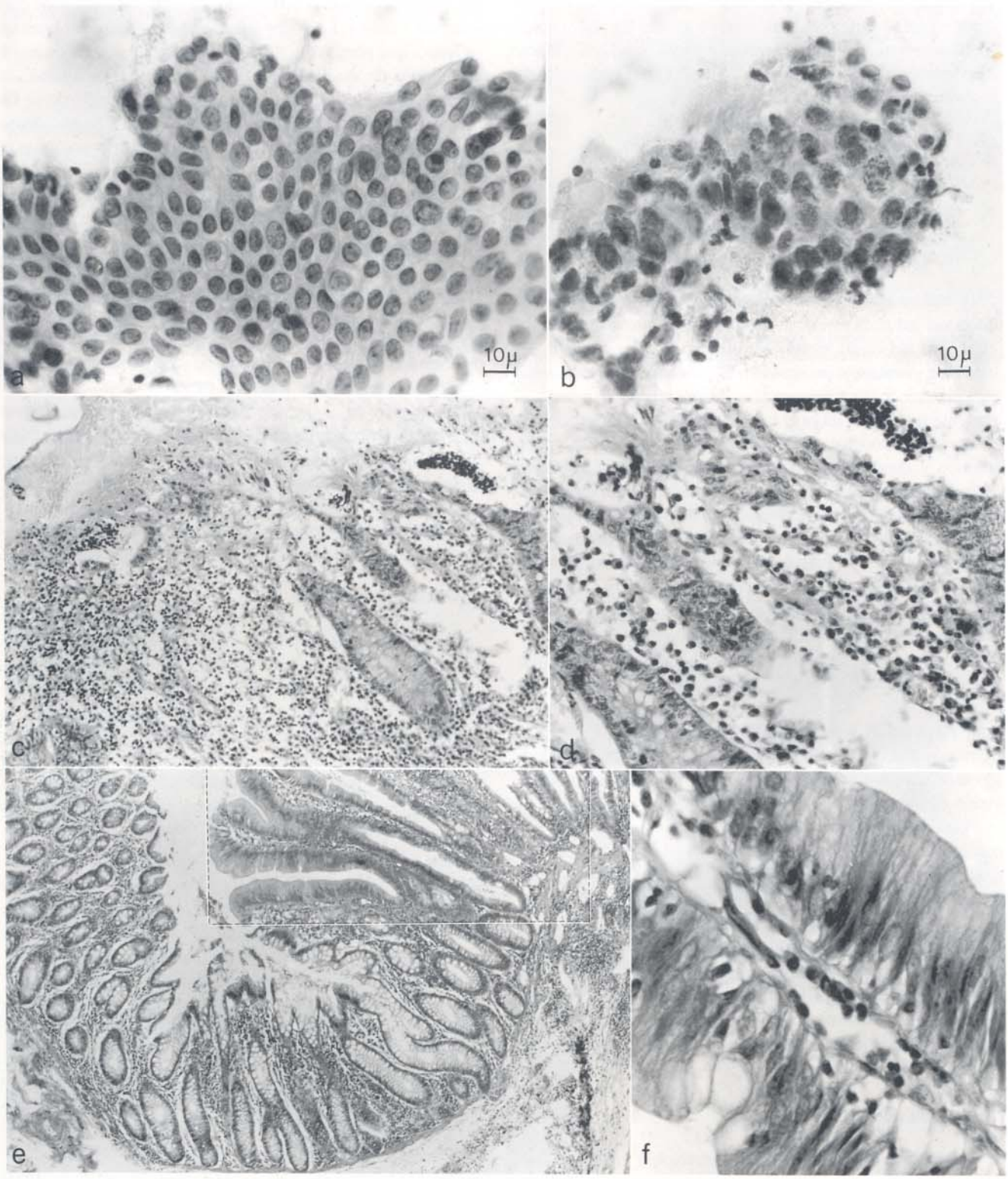


Fig. 758. Epitelio normal del colon y sus alteraciones benignas. *a, Lámina de células epiteliales de la mucosa normal con una distribución regular en panal de abejas, en un raspado del sigmoides.* Los núcleos son redondos u ovales, de tamaño uniforme y exhiben cromatinas distribuidas con lisura. *b, Lámina de células epiteliales mucosas hiperplásicas en un caso de colitis ulcerativa inespecífica.* Los núcleos son pleomórficos, de distribución irregular y densamente coloreados. *c* y *d, Histología de la colitis ulcerativa inespecífica.* Se ven focos necróticos con edema e infiltración por neutrófilos, células mononucleadas y plasmocitos. Las glándulas adyacentes a la úlcera exhiben frecuentes figuras mitóticas y núcleos en estratos múltiples. *e* y *f, Pólipo adenomatoso benigno del colon.* Las células del epitelio mucoso de la lesión son más altas y más delgadas, y están más hacinadas que las del epitelio normal. De esta lesión pueden exfoliarse "células aciculares". En el pólipo puede haber pocas células caliciformes o ninguna.

Componentes celulares benignos

1) Células epiteliales del duodeno. Las células de la mucosa duodenal se exfolian en láminas regulares en panal de abejas vistas desde arriba. Vistas de costado, las células son columnares y de núcleos paralelos o en posición polar. Las células columnares aisladas poseen un citoplasma delgado que se tiñe de verde con el Papanicolaou. Los ribetes estriados son distintivos en el borde celular ancho. Los núcleos son ovales y de morfología y tamaño muy uniformes. Aunque la cromatina de las células bien preservadas es finamente granular y de distribución pareja, las células epiteliales degeneradas, que son frecuentes en los aspirados duodenales, exhiben unos núcleos picnóticos colicuados o fragmentados.

2) Células epiteliales del colon. Si bien es cierto que las células de la mucosa colónica obtenidas mediante lavaje no están bien preservadas o se presentan denudadas o colicuadas, las del raspado endoscópico se desprenden en láminas o aglomeraciones. El citoplasma es largo y delgado. Los núcleos están en la base de las células y son ovales, de tamaño bastante uniforme y poseen unas cromatinas finamente granulares.

3) Células caliciformes. El citoplasma está distendido de moco y se presenta transparente. Los núcleos se hallan en la periferia extrema. Por lo general no se los ve solos, sino que se los reconoce dentro de las aglomeraciones de células epiteliales columnares.

4) Células epiteliales de las vías biliares. Las células epiteliales mucosas del conducto cístico y del colédoco exhiben un citoplasma delgado y largo característico, carente de ribete estriado. Estas células tienden a degenerar por acción de la bilis, pero las bien preservadas del aspirado endoscópico conservan su citoplasma columnar transparente y sus núcleos ovoides basales. Las células provenientes del conducto pancreático tienen un citoplasma columnar bajo. Aparte de esto, es difícil diferenciarlas de las células de las vías biliares.

Componentes no celulares

En los aspirados o lavados del tracto digestivo aparecen contaminantes por partículas de alimentos. En citología también se ven protozoarios y huevos de parásitos intestinales.

1) Giardia lamblia.[58] La giardiasis es una infección común por protozoarios del tracto intestinal. Aunque las giardias no suelen ser patógenas, a veces originan síntomas leves como diarrea, anorexia y dolores cólicos en el abdomen. En los niños puede ocurrir un síndrome de malabsorción con esteatorrea e hipoproteinemia. El trofozoíto que aparece en el drenaje biliar es piriforme, mide unos 10 a 20 μ de largo por 5 a 10 μ de ancho, y posee dos núcleos, dos cuerpos medianos y cuatro partes de flagelos. Los núcleos están en el área del disco de succión. El quiste mide unos 8 a 14 μ de largo por 7 a 10 μ de ancho y posee cuatro núcleos prominentes excéntricos y cuatro cuerpos medianos.

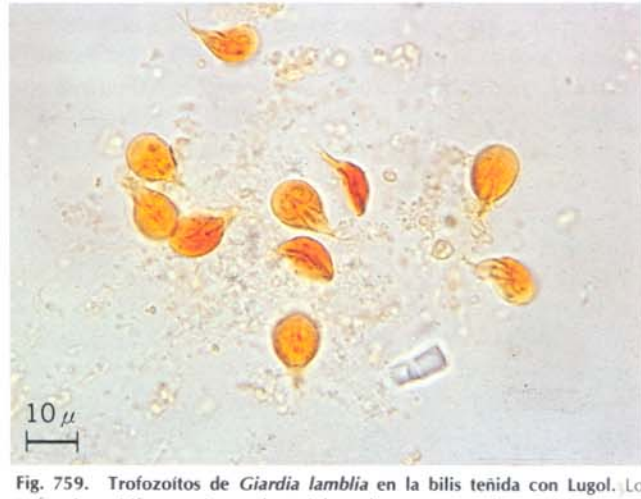


Fig. 759. Trofozoítos de *Giardia lamblia* en la bilis teñida con Lugol. Los trofozoítos piriformes tienen dos núcleos dispuestos en el área del disco de succión. En los trofozoítos bien preservados se reconocen cuatro pares de flagelos.

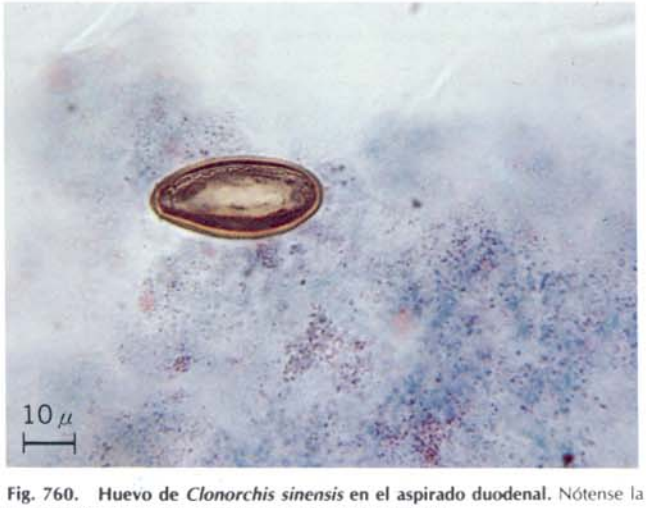


Fig. 760. Huevo de *Clonorchis sinensis* en el aspirado duodenal. Nótense la gruesa cubierta parda amarillenta y el opérculo nítido.



Fig. 761. Trofozoítos de *Entamoeba histolytica* en la etapa prequística resistente. Raspado de una mucosa ulcerada del colon. El prequiste se caracteriza por su forma redondeada, por el único núcleo resistente, por la ausencia de pared quística hialina, etc. Hay degeneración vacuolada en el citoplasma. Este hombre de 57 años tuvo fiebre y absceso hepático. (Gentileza del doctor Kotoh, K., y de la señorita Tsuzaki, K., CT, IAC, Hospital de la Prefectura de Osaka, Osaka.)

2) Huevos de distoma hepático.[58] En las infecciones por diversos tipos de distomas hepáticos, aparecen huevos en la secreción biliar y en las heces; los distomas hepáticos representativos son *Clonorchis sinensis (Opisthorchis sinensis)* en Asia, *Opisthorchis viverrini* en Tailandia, *Dicrocoelium dendriticum* en muchas partes del mundo, etc. La infección humana ocurre por medio de peces de agua dulce que contienen las metacercarias enquistadas. El huevo de *Clonorchis sinensis*, que mide unos 29 μ por 16, tiene una cubierta parda amarillenta clara de moderado grosor y un opérculo convexo bien notorio. Su extremo abopercular presenta una pequeña prolongación en coma. El huevo de *Dicrocoelium dendriticum* mide unos 40 μ por 25 y posee una cubierta parda dorada gruesa con un opérculo grande.

En citopatología se debe tener en cuenta que en estas infecciones ocurre considerable hiperplasia de las pequeñas glándulas mucíparas de los conductos, junto con dilatación y engrosamiento del colédoco.

3) *Entamoeba histolytica*.[58] La amibiasis cunde en el mundo entero, en particular en las regiones con mala sanidad. Las amibas habitan en el intestino grueso, los trofozoítos se multiplican en las criptas y originan una ulceración. La enfermedad se llama disentería amibiana. El tamaño de los trofozoítos es variable, pues miden 12 a 60 μ de diámetro. Existe un trofozoíto indefinido que se parece a un histiocito y que contiene un pequeño núcleo ovoide con una gruesa cromatina adherida a la membrana nuclear y un cariosoma prominente. Muchas veces el citoplasma contiene eritrocitos y bacterias ingeridos. Los quistes suelen ser esféricos, miden unos 10 a 20 μ de diámetro y poseen unas paredes refringentes hialinas. Contienen uno a cuatro núcleos redondos y a menudo unas barras cromoidales que se tiñen de color azulado con la hematoxilina, como si fuesen cromatina. El citoplasma adquiere un color pardo amarillento claro al tratarlo con yodo.

3. Células atípicas benignas

Las células benignas atípicas muchas veces provienen de lesiones como diverticulitis, colitis ulcerativa crónica y pólipos adenomatosos. Las células columnares son hiperplásicas, con ligero agrandamiento e hipercromatismo nuclear. La relación nuclear-citoplasmática no está muy alterada y los nucléolos no suelen ser prominentes.

Colitis ulcerativa crónica

En los casos avanzados las úlceras longitudinales están junto a una mucosa hiperplásica, en ocasiones por hiperplasia adenomatosa. Galambos y Klayman [25,26] describieron dos tipos de células características de esta enfermedad: células activas grandes y células blandas grandes. Las células activas grandes, que se originan en las células en proliferación activa de la base de las criptas de Lieberkühn, presentan aumento del tamaño nuclear y del contenido de cromatina, con una cromatina de distribución gruesa, pero también está ingurgitado el citoplasma y la relación nuclear-citoplasmática no se halla mayormente alterada. Las células blandas, que se atribuyen a degeneración hidrópica,[101] tienen núcleos vesiculosos, pálidos y homogéneos y un citoplasma vacuolado.

Pólipo adenomatoso

Los pólipos benignos originan dos tipos de células,[101] 1) acicular, con núcleos centrales y citoplasma delgado, y 2) en abanico, menos común que el primero, cuyo citoplasma es vesiculoso y tiene núcleos basales. Las células epiteliales en abanico provendrían de las células mucosecretantes.

4. Células malignas

Carcinoma del tracto biliar y del conducto pancreático

Los carcinomas del colédoco son relativamente raros en comparación con los carcinomas de la vesícula biliar y del páncreas, que toman a menudo el colédoco. La mayoría de los carcinomas originados en el conducto coledocopancreático son adenocarcinomas tubulares, mientras que de vez en cuando se forman adenoacantomas y carcinomas epidermoides, quizá por metaplasia pavimentosa. Según el trabajo de Gupta y col.,[114] sobre 328 carcinomas de vesícula, sólo fueron epidermoides el 6,4 % y adenopavimentosos el 2,4 % (figs. 766 y 769). Re-

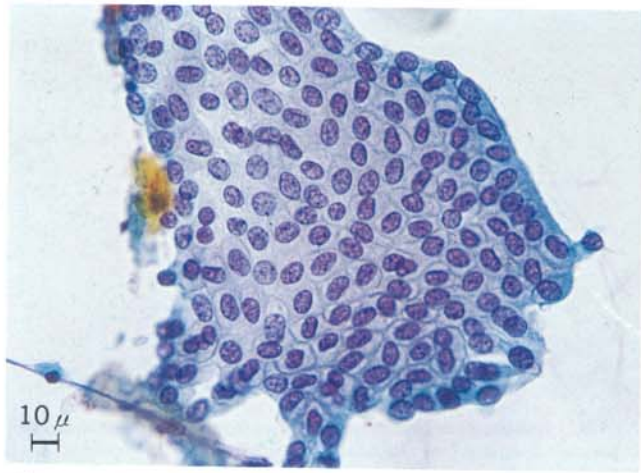


Fig. 762. Células bien preservadas de la mucosa del colédoco en un aspirado duodenal obtenido bajo visión directa. Vistas desde arriba, las células columnares normales están dispuestas en panal de abejas. Los núcleos son de tamaño uniforme y su distribución es regular.

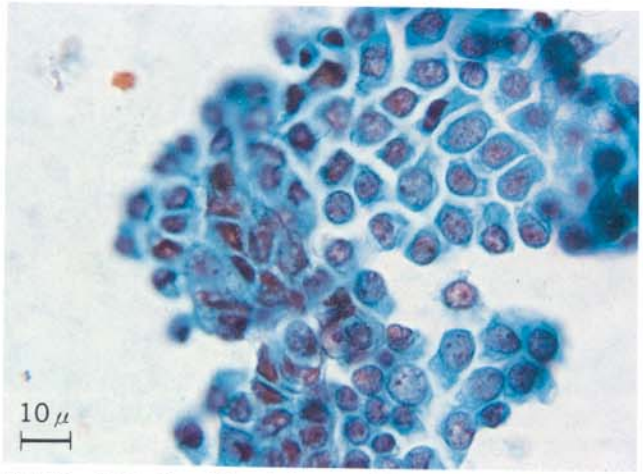


Fig. 763. Células hiperplásicas de la mucosa del colédoco con atipia. Extendido de un aspirado realizado a través de la ampolla de Vater. Los núcleos están agrandados y son de tamaño variable, pero están distribuidos en forma ordenada. De una lesión displásica.

cuérdese que el carcinoma de la vesícula biliar es unas 3 a 4 veces más frecuente en mujeres que en hombres,[114, 116] pero que los carcinomas del colédoco y páncreas son apenas más frecuentes en hombres que en mujeres.

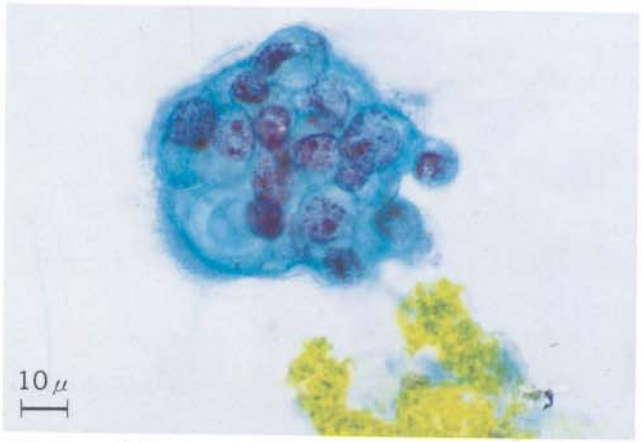


Fig. 764. Células adenocarcinomatosas aglomeradas en un aspirado duodenal obtenido por intubación. Núcleos agrandados, redondeados y excéntricos en un citoplasma columnar claro y a menudo vacuolado. Se ve pigmento biliar. Nótese el nucléolo acidófilo prominente.

Carcinoma de intestino

El carcinoma de intestino delgado es una rareza, porque representa un 2,5 % de todos los carcinomas intestinales.[43] Casi

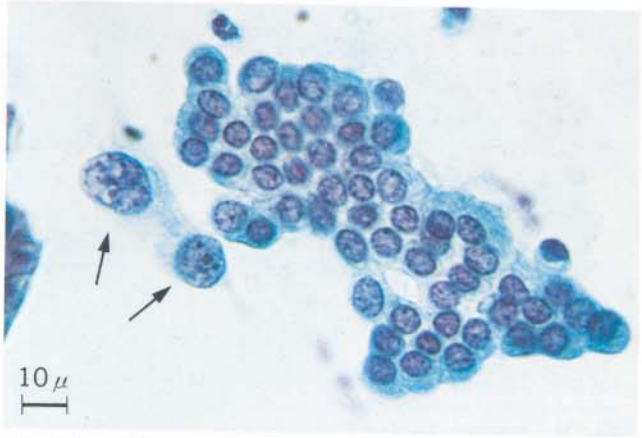


Fig. 765. Células carcinomatosas poco diferenciadas aisladas y una lámina de células normales de la superficie de la mucosa. Las células normales de la mucosa forman un panal de abejas regular y conservan su citoplasma normal. Nótense las células cancerosas indiferenciadas que se descamaron por separado y exhiben un citoplasma escaso (*flechas*).

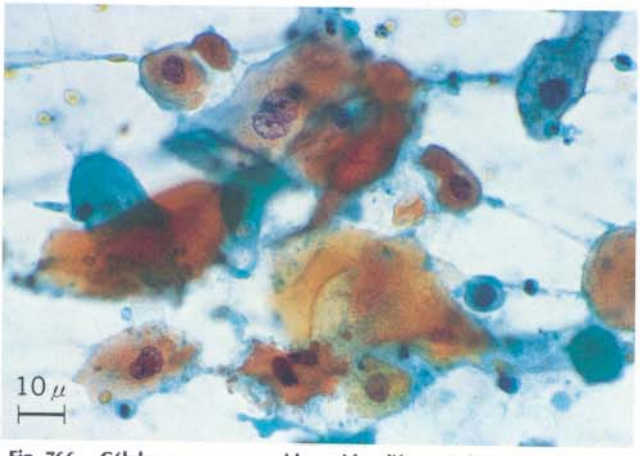


Fig. 766. Células cancerosas epidermoides diferenciadas provenientes de la vesícula biliar. En alrededor del 5 % de los carcinomas del tracto biliar el tumor adopta un aspecto metaplásico pavimentoso. Nótense las células cancerosas epidermoides no queratinizantes con núcleos picnóticos a modo de gotitas de tinta china.

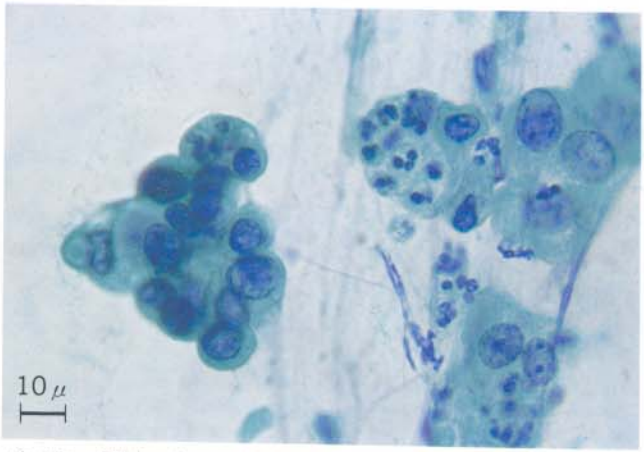


Fig. 767. Células adenocarcinomatosas en una aglomeración densa proveniente del conducto pancreático. Extendido de un aspirado realizado mediante intubación endoscópica. Estas células cancerosas bien preservadas exhiben mucha superposición, abundantes vacuolas y aglomeración firme.

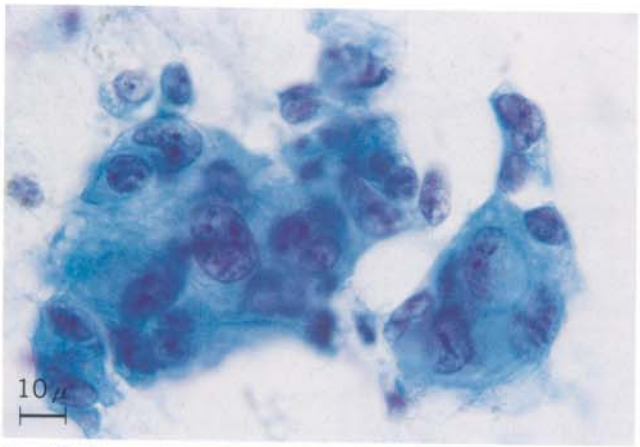


Fig. 768. Gran aglomeración de células adenocarcinomatosas obtenidas mediante aspiración durante la colangiografía transhepática percutánea. Este caso es, por mucho, el carcinoma más común de las vías biliares; las células cancerosas de núcleos polimorfos están superpuestas y poseen una cantidad regular de citoplasma.

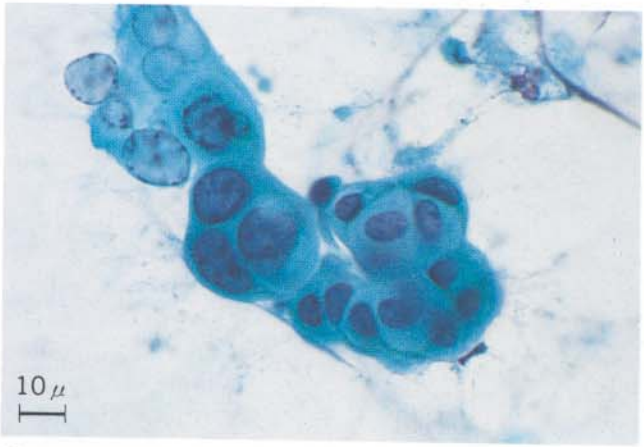
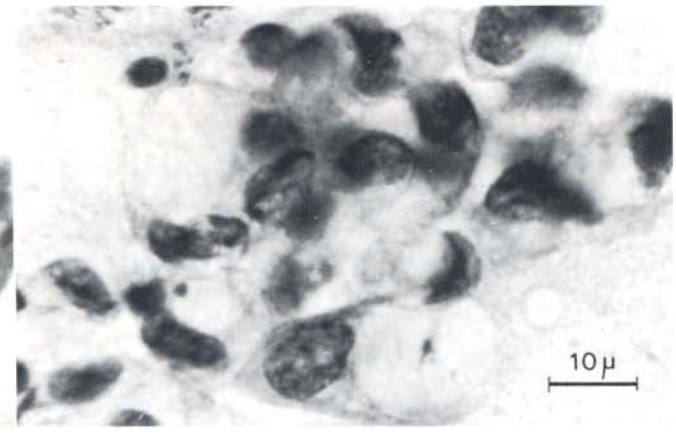


Fig. 769. Células adenoacantomatosas descamadas en un grupo y aspiradas al hacer la colangiografía transhepática percutánea. El engrosamiento y ensanchamiento del citoplasma indican metaplasia pavimentosa de las células cancerosas (adenoacantoma).



770



771

Fig. 770. Aglomeración de células epiteliales columnares benignas en un raspado del colon sigmoide. Los núcleos, que están en la base del citoplasma columnar alto, están dispuestos con regularidad en forma unipolar.

Fig. 771. Aglomeración de células malignas glandulares en un raspado del colon sigmoide. Los núcleos varían de tamaño y forma, y están distribuidos en desorden con superposiciones irregulares. La cromatina está muy condensada o en grumos gruesos. Se ven formaciones celulares en anillo de sello.

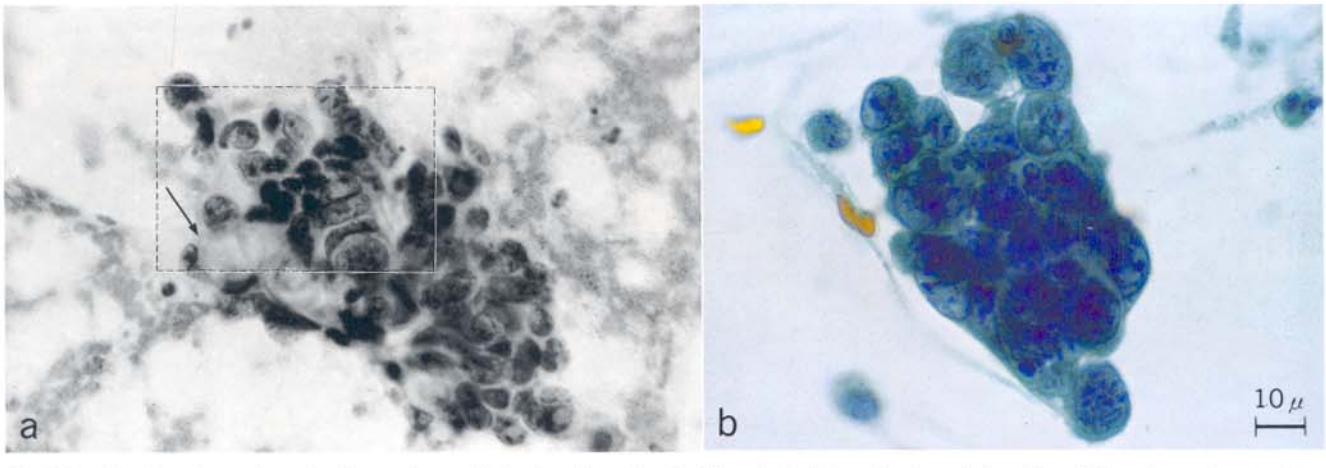


Fig. 772. Grandes aglomeraciones de adenocarcinoma tubular de recto. *a*, Considerable variación del tamaño y forma de los núcleos. Nótense la prominencia de los nucléolos y el hipercromatismo, con grumos gruesos. En la aglomeración celular aparecen entremezcladas algunas células en anillo de sello malignas (*flecha*). La situación de las células cancerosas lado a lado es característica del adenocarcinoma de tipo tubular (*recuadro*). *b*, Células cancerosas bien preservadas en desorden dentro de una aglomeración densa. Nótense la alta relación N/C, la anisonucleosis y el hipercromatismo.

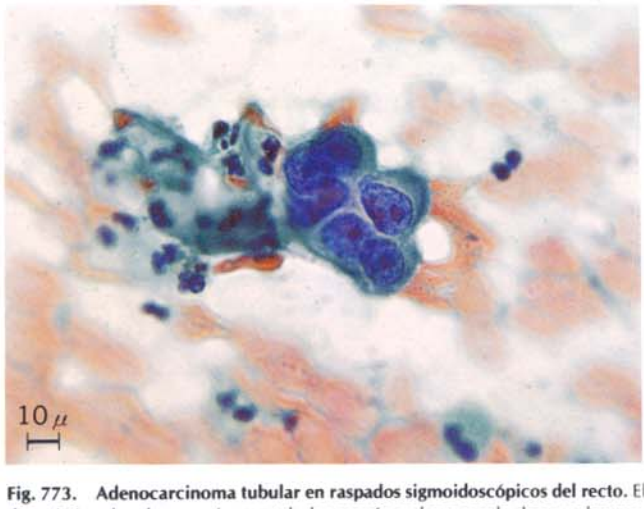


Fig. 773. Adenocarcinoma tubular en raspados sigmoidoscópicos del recto. El diagnóstico de adenocarcinoma tubular común se hace por la densa aglomeración celular, la alta relación N/C, el hipercromatismo con una trama de cromatina gruesa y los nucléolos acidófilos prominentes.

siempre ocurre en el duodeno o porción superior del yeyuno. En cambio, el carcinoma de intestino grueso es muy común y constituye un 10 % de todos los tumores malignos. En el estudio de Buser y col.[13] sobre la frecuencia relativa de carcinoma en diversos segmentos del colon, el 71,7 % de 478 tumores estuvieron en el rectosigmoide, 22 (4,6 %) en el colon ascendente, 33 (6,9 %) en el ciego, 11 (2,3 %) en la flexura hepática, 18 (3,8 %) en el colon transverso, 8 (1,7 %) en la flexura lienal, 45 (9,4 %) en el colon descendente, 65 (13,6 %) en el sigmoide y 276 (57,7 %) en el rectosigmoide y ano.

La histología del carcinoma de colon es bastante bien diferenciada, pues exhibe una trama tubular o glandular revestida por células cancerosas columnares altas (adenocarcinoma tubular). Otro tipo común es el carcinoma mucinoso o coloide, caracterizado por una gran producción de moco intracelular (adenocarcinoma mucocelular) y extracelular (adenocarcinoma muconodular).

La citología consiste en células malignas agrupadas en túbu-

los, con superposiciones nucleares irregulares. El cuadro típico de esta imagen exhibe una gran aglomeración trabeculada de células en la que es característico reconocer múltiples núcleos dispuestos paralelamente. Los núcleos aparecen elongados, agrandados (alta relación nuclear-citoplasmática), hipercromáticos y de tamaño variable. La variación morfológica no es tan pronunciada como la del tamaño. Por lo general son elípticos. Otro rasgo distintivo de las células adenocarcinomatosas son dos o tres nucléolos prominentes. Otro hallazgo digno de mención es que estas células están entremezcladas con algunas células malignas en anillo de sello. Del carcinoma mucinoso se desprenden muchas células dispersas en anillo de sello, sea aisladas o en aglomeraciones densas. Esto último se suele observar más en los extendidos de los raspados.

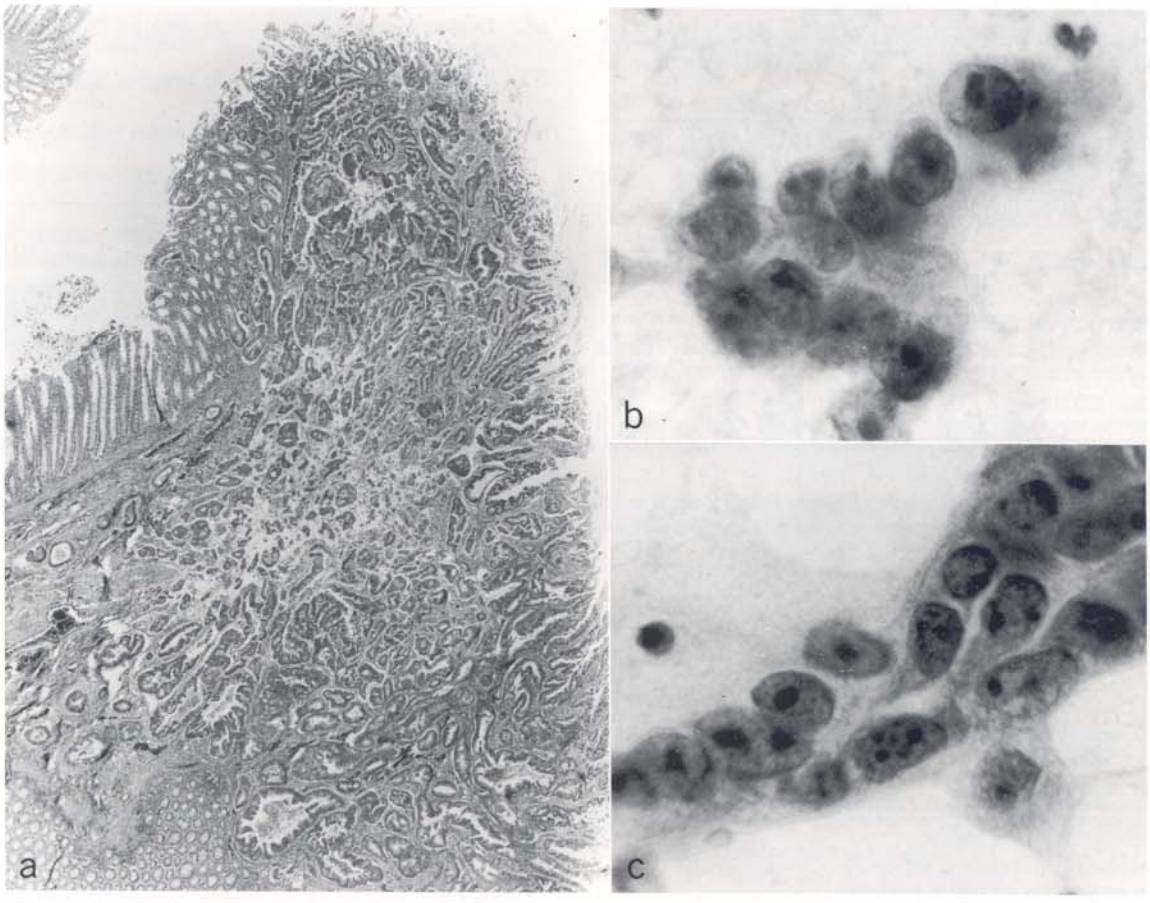


Fig. 774. Adenocarcinoma polipoide ileocecal y su citología. *a*, El tumor que infiltra la submucosa y la muscular consiste en glándulas irregulares de diversos tamaños revestidas por células cancerosas columnares bajas. *b*, Células malignas de tipo glandular en un extendido impreso. Nótese la distribución glandular de las células atípicas de tamaño y forma variables. Se ven nucléolos prominentes y grumos gruesos de cromatina.

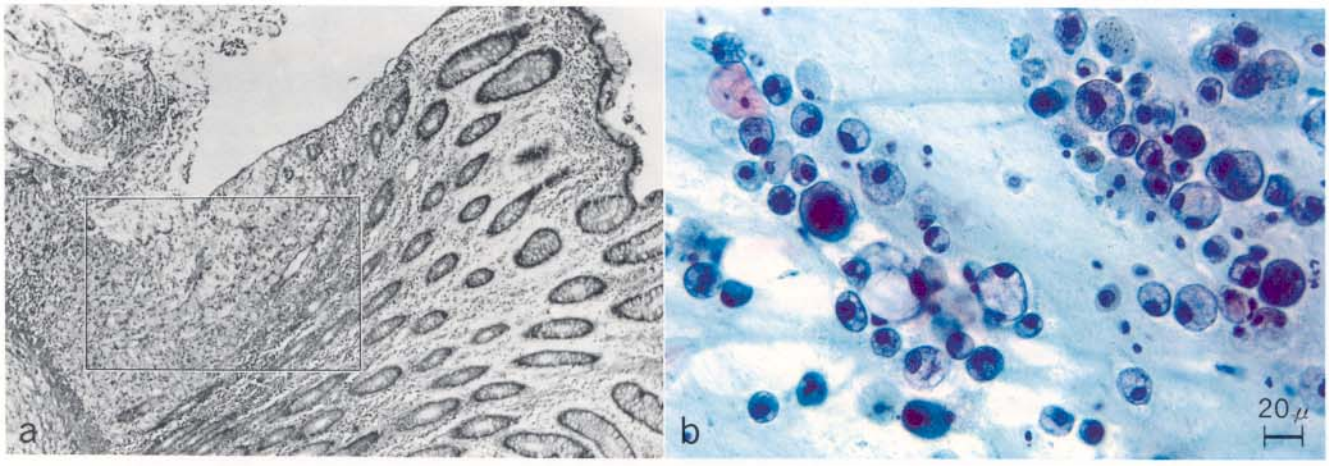


Fig. 775. Histología y citología del adenocarcinoma mucinoso de recto. *a*, Histología. Cambio abrupto de la mucosa normal a adenocarcinoma mucocelular con infiltración masiva (*recuadro*). Aunque este raro tipo de carcinoma de colon es funcionalmente diferenciado, es frecuente que dé metástasis a distancia. *b*, Citología. En los sedimentos o enjuagues de un cepillado aparecen células cancerosas en anillo de sello bien preservadas. Los núcleos, de tamaño variable, están desplazados hacia la periferia por el gran contenido mucinoso.

*Apéndice: Clasificación TNM de los tumores del tubo digestivo**

ESÓFAGO

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Tiene que haber confirmación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Para la clasificación clínica se acepta la información obtenida en la exploración quirúrgica previa a la decisión del tratamiento definitivo, pero se debe hacer constar esta circunstancia.

Los siguientes son los requisitos mínimos para evaluar las categorías T, N y M. En caso de que no se los pueda satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico, radiografías y endoscopia (incluso broncoscopia).
Categorías N: Examen clínico, radiografías y endoscopia.
Categorías M: Examen clínico y radiografías.

REGIONES Y SITIOS ANATÓMICOS

1. Esófago cervical (150.0)
   Comienza en la unión faringoesofágica y termina a la entrada del tórax, a unos 18 cm de los dientes incisivos superiores.
2. Esófago intratorácico (excluyendo la región 3).
   i) Porción torácica superior, desde la entrada torácica hasta el borde inferior de la sexta vértebra torácica, a unos 26 cm de los dientes incisivos superiores (150.3).
   ii) Porción mediotorácica, desde el borde inferior de la sexta vértebra torácica hasta el borde inferior de la octava vértebra torácica, a unos 31 cm de los dientes incisivos superiores (150.4).
3. Esófago inferior (150.5)
   Esta porción, de 10 cm de longitud, empieza en el borde inferior de la octava vértebra torácica y termina en el orificio cardial, a unos 40 cm de los dientes incisivos superiores.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Esófago cervical e intratorácico

Tis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
T0	Sin evidencias de tumor primario.
T1	Tumor que toma 5 cm o menos del largo del esófago y no produce obstrucción, no toma toda la circunferencia del órgano ni exhibe signos de propagación extraesofágica.
T2	Tumor que toma más de 5 cm de la longitud del esófago y no muestra signos de propagación extraesofágica *o bien* tumor de cualquier tamaño que produce obstrucción *y/o* toma toda la circunferencia del esófago y no produce evidencias de propagación extraesofágica.
T3	Tumor con evidencias de propagación extraesofágica.
TX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario.

Nota: La *obstrucción* se define como evidencia radiográfica de un impedimento importante al pasaje del material de contraste más allá del tumor o como evidencia endoscópica de obstrucción esofágica.
La propagación extraesofágica se define como evidencia clínica, radiográfica o endoscópica de:
1) Compromiso del nervio laríngeo recurrente, frénico o simpático.
2) Formación fistulosa.
3) Compromiso del árbol traqueal o bronquial.
4) Obstrucción de la vena cava o ácigos.
5) Derrame maligno.
El ensanchamiento mediastinal no es de por sí evidencia de propagación extraesofágica.

N - Ganglios linfáticos regionales

Los ganglios linfáticos regionales son:
Esófago cervical: Ganglios cervicales, incluso supraclaviculares.
Esófago intratorácico: Ganglios mediastinales.

Esófago cervical:

N0	Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales unilaterales móviles.
N2	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales bilaterales móviles.
N3	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales fijos.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

Esófago intratorácico:

N0	Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales en la exploración quirúrgica o en la mediastinoscopia.
N1	Evidencias de compromiso de los ganglios linfáticos regionales en la exploración quirúrgica o en la mediastinoscopia.
NX	No se pueden estimar los ganglios linfáticos regionales (no se ha hecho cirugía exploradora).

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT - Tumor primario

pTis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
pT0	Sin signos de tumor en el examen histológico.
pT1	Tumor con invasión de la mucosa o submucosa, pero no de la túnica muscular.
pT2	Tumor con invasión de la túnica muscular.
pT3	Tumor con invasión más allá de la túnica muscular o con invasión macroscópica de estructuras adyacentes.
pT3a	Tumor con invasión más allá de la túnica muscular.
pT3b	Tumor con invasión macroscópica de estructuras adyacentes.
pTX	No se puede establecer la extensión de la invasión.

pN - Ganglios linfáticos regionales
Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia
Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Etapa I			
Cervical e intratorácico	T1	N0	M0
Etapa II			
Cervical	T1	N1, N2	M0
	T2	N0, N1, N2	M0
Intratorácico	T2	N0	
Etapa III			
Cervical	T3	Cualquier N	M0
	Cualquier T	N3	M0
Intratorácico	Cualquier T	N1	M0
Etapa IV			
Cervical e intratorácico	Cualquier T	Cualquier N	M1

* Harmer, M.H.: TNM Classification of Malignant Tumours, 3ª ed., Ginebra, UICC, 1978.

RESUMEN

Esófago

Cervical e intratorácico
T1 ≤ 5 cm / sin obstrucción
T2 < 5 cm / obstrucción / toda la circunferencia
T3 Propagación fuera del esófago

Cervical

N1 Móviles unilaterales
N2 Móviles bilaterales
N3 Fijos

Intratorácico

N1 Compromiso regional

ESTÓMAGO

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Tiene que haber confirmación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Para la clasificación clínica se acepta la información obtenida en la exploración quirúrgica previa a la decisión del tratamiento definitivo, pero se debe hacer constar esta circunstancia.

Los siguientes son los requisitos mínimos para evaluar las categorías T, N y M. En caso de que no se los pueda satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX y MX.

Categorías T: Examen clínico, incluso laparotomía, radiografías y endoscopia.
Categorías N: Examen clínico, incluso laparotomía y radiografías.
Categorías M: Examen clínico, incluso laparotomía y radiografías.

REGIONES ANATÓMICAS

1. Tercio superior (151.0.3)
2. Tercio medio (151.4)
3. Tercio inferior (151.2)

A los efectos de delimitar estas regiones, las curvaturas mayor y menor se dividen en tres puntos equidistantes unidos entre sí.
El *tercio superior* comprende el área cardial y el fondo.
El *tercio medio* comprende el cuerpo propiamente dicho.
El *tercio inferior* comprende el área antral.

El tumor se asigna a la región en que está su parte principal.

GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES

Los ganglios linfáticos regionales son los perigástricos, los ganglios distribuidos a lo largo de las arterias gástrica izquierda, celíaca y esplénica, los ganglios a lo largo del ligamento hepatoduodenal, los ganglios paraaórticos y otros intraabdominales.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Tis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
T0 Sin signos de tumor primario.
T1 Tumor limitado a la mucosa o bien a la mucosa y submucosa, cualquiera que sea su extensión o localización.
Nota: La evidencia clínica de T1 es el reconocimiento de: a) un pólipo pediculado maligno, b) una lesión polipoide sésil maligna, c) una erosión cancerosa o d) un área de erosión cancerosa en el borde de una úlcera péptica o alrededor de ella.
T2 Tumor con infiltración profunda que no ocupa más de la mitad de una región.
T3 Tumor con infiltración profunda que ocupa más de la mitad de una región, pero no más de toda una región.
T4 Tumor con infiltración profunda que ocupa más de una región o se propaga a estructuras adyacentes.
TX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales

N0 Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1 Evidencias de compromiso de los ganglios linfáticos a menos de 3 cm del tumor primario a lo largo de la curvatura mayor o menor.
N2 Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos a más de 3 cm del tumor primario, incluso los que acompañan a las arterias gástrica izquierda, esplénica, celíaca y hepática.
N3 Evidencias de compromiso de los ganglios linfáticos paraaórticos o hepatoduodenales y/o de otros ganglios linfáticos intraabdominales.
NX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

M - Metástasis a distancia

M0 Sin signos de metástasis a distancia.
M1 Evidencias de metástasis a distancia.
MX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT - Tumor primario

pTis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
pT0 Sin signos de tumor en el examen histológico de la pieza.
pT1 Tumor con invasión de la mucosa o submucosa, pero no de la muscular propia.
pT2 Tumor con invasión de la muscular propia o de la subserosa.
pT3 Tumor con invasión de la serosa sin invasión de estructuras contiguas.
pT4 Tumor con invasión de estructuras contiguas.
pTX No se puede establecer la extensión de la invasión.

G - Grados histopatológicos

G1 Grado alto de diferenciación.
G2 Grado mediano de diferenciación.
G3 Grado bajo de diferenciación o indiferenciado.
GX No se puede establecer el grado.

pN - Ganglios linfáticos regionales

Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS (provisional)

	TNM		
Etapa I	T1	N0	M0
Etapa II	T2	N0	M0
	T3	N0	M0
Etapa III	T1, T2, T3	N1, N2	M0
	T1, T2, T3 (Resecable para curación)	N3	M0
	T4 (Resecable para curación)	Cualquier N	M0
Etapa IV	T1, T2, T3 (No resecable para curación)	N3	M0
	T4 (No resecable para curación)	Cualquier N	M0
	Cualquier T	Cualquier N	M1

p.TNM

Etapa I	pT1	pN0	pM0
Etapa II	pT2	pN0	pM0
	pT3	pN0	pM0
Etapa III	pT1, pT2, pT3	pN1, pN2,	pM0
	pT1, pT2, pT3 (Resecado para curación)	pN3	
	pT4 (Resecado para curación)	Cualquier pN	pM0
Etapa IV	pT1, pT2, pT3 (No resecado para curación)	pN3	pM0
	pT4 (No resecado para curación)	Cualquier pN	pM0
	Cualquier pT	Cualquier pN	pM1

RESUMEN

Estómago

T1/pT1	Mucosa o submucosa solamente
T2	Invasión profunda ≤ 1/2 región
pT2	Propagación a la serosa
T3	Invasión profunda > 1/2 región
pT3	Propagación a través de la serosa
T4/pT4	Propagación fuera del estómago
N1/2	Ganglios regionales (operables)

COLON

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Tiene que haber confirmación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se declaran por separado.

Para la clasificación clínica se acepta la información obtenida en la exploración quirúrgica previa a la decisión del tratamiento definitivo, pero se debe hacer constar esta circunstancia.

Los siguientes son los requisitos mínimos para evaluar las categorías T, N y M. En caso de que no se los pueda satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX y MX.

Categorías T: Examen clínico, incluso laparotomía, radiografías y endoscopia.
Categorías N: Examen clínico, incluso laparotomía y radiografías.
Categorías M: Examen clínico, incluso laparotomía y radiografías.

REGIONES ANATÓMICAS

1. Ciego (153.4)
2. Colon ascendente (153.6)
3. Flexura hepática (153.0)
4. Colon transverso (153.1)
5. Flexura esplénica (153.7)
6. Colon descendente (153.2)
7. Colon sigmoide (153.3)

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Tis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
T0	Sin signos de tumor primario.
T1	Tumor limitado a la mucosa o a la mucosa y submucosa.
T2	Tumor propagado a la muscular o a la muscular y la serosa.
T3	Tumor propagado más allá del colon a estructuras adyacentes.
T3a	Tumor sin formación fistulosa.
T3b	Tumor con formación fistulosa.
T4	Tumor propagado más allá de los órganos o tejidos adyacentes.
TX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Los ganglios linfáticos regionales son los pericólicos y los situados a lo largo de las arterias ileocólica, cólica derecha, cólica media y mesentérica interior.

Los ganglios linfáticos yuxtarregionales son los paraaórticos y otros intraabdominales subdiafragmáticos.

N0	Sin signos de compromiso de ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales. Nota: Las categorías N2 y N3 no son aplicables.
N4	Signos de compromiso de los ganglios linfáticos yuxtarregionales.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales y/o yuxtarregionales.

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar las metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT -Tumor primario

Las categorías pT corresponden a las categorías T.

G - Grado histopatológico

G1	Grado alto de diferenciación.
G2	Grado mediano de diferenciación.
G3	Grado bajo de diferenciación o indiferenciado.
GX	No se puede establecer el grado.

pN - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Etapa Ia	T1	N0	M0
Etapa Ib	T2	N0	M0
Etapa II	T3, T4	N0	M0
Etapa III	Cualquier T	N1	M0
Etapa IV	Cualquier T	N4	M0
	Cualquier T	Cualquier N	M1

RESUMEN

Colon

T1/pT1	Mucosa o submucosa solamente
T2/pT2	Muscular o serosa
T3a/pT3a	Propagación a estructuras contiguas Sin fístula
T3b/pT3b	Con fístula
T4/pT4	Propagación más allá de estructuras contiguas
N1	Regionales
N4	Yuxtarregionales

p.TNM

Etapa I	pT1	pN0	pM0
Etapa II	pT2	pN0	pM0
	pT3	pN0	pM0
Etapa III	pT1, pT2, pT3	pN1, pN2,	pM0
	pT1, pT2, pT3 (Resecado para curación)	pN3	
	pT4 (Resecado para curación)	Cualquier pN	pM0
Etapa IV	pT1, pT2, pT3 (No resecado para curación)	pN3	pM0
	pT4 (No resecado para curación)	Cualquier pN	pM0
	Cualquier pT	Cualquier pN	pM1

RESUMEN

Estómago

T1/pT1	Mucosa o submucosa solamente
T2	Invasión profunda ≤ 1/2 región
pT2	Propagación a la serosa
T3	Invasión profunda > 1/2 región
pT3	Propagación a través de la serosa
T4/pT4	Propagación fuera del estómago
N1/2	Ganglios regionales (operables)

COLON

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Tiene que haber confirmación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se declaran por separado.

Para la clasificación clínica se acepta la información obtenida en la exploración quirúrgica previa a la decisión del tratamiento definitivo, pero se debe hacer constar esta circunstancia.

Los siguientes son los requisitos mínimos para evaluar las categorías T, N y M. En caso de que no se los pueda satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX y MX.

Categorías T: Examen clínico, incluso laparotomía, radiografías y endoscopia.
Categorías N: Examen clínico, incluso laparotomía y radiografías.
Categorías M: Examen clínico, incluso laparotomía y radiografías.

REGIONES ANATÓMICAS

1. Ciego (153.4)
2. Colon ascendente (153.6)
3. Flexura hepática (153.0)
4. Colon transverso (153.1)
5. Flexura esplénica (153.7)
6. Colon descendente (153.2)
7. Colon sigmoide (153.3)

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Tis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
T0	Sin signos de tumor primario.
T1	Tumor limitado a la mucosa o a la mucosa y submucosa.
T2	Tumor propagado a la muscular o a la muscular y la serosa.
T3	Tumor propagado más allá del colon a estructuras adyacentes.
	T3a Tumor sin formación fistulosa.
	T3b Tumor con formación fistulosa.
T4	Tumor propagado más allá de los órganos o tejidos adyacentes.
TX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Los ganglios linfáticos regionales son los pericólicos y los situados a lo largo de las arterias ileocólica, cólica derecha, cólica media y mesentérica interior.

Los ganglios linfáticos yuxtarregionales son los paraaórticos y otros intraabdominales subdiafragmáticos.

N0	Sin signos de compromiso de ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales. Nota: Las categorías N2 y N3 no son aplicables.
N4	Signos de compromiso de los ganglios linfáticos yuxtarregionales.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales y/o yuxtarregionales.

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar las metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT -Tumor primario

Las categorías pT corresponden a las categorías T.

G - Grado histopatológico

G1	Grado alto de diferenciación.
G2	Grado mediano de diferenciación.
G3	Grado bajo de diferenciación o indiferenciado.
GX	No se puede establecer el grado.

pN - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Etapa Ia	T1	N0	M0
Etapa Ib	T2	N0	M0
Etapa II	T3, T4	N0	M0
Etapa III	Cualquier T	N1	M0
Etapa IV	Cualquier T	N4	M0
	Cualquier T	Cualquier N	M1

RESUMEN

Colon

T1/pT1	Mucosa o submucosa solamente
T2/pT2	Muscular o serosa
T3a/pT3a	Propagación a estructuras contiguas Sin fístula
T3b/pT3b	Con fístula
T4/pT4	Propagación más allá de estructuras contiguas
N1	Regionales
N4	Yuxtarregionales

BIBLIOGRAFÍA

1. AKASHI, M., UCHIMURA, M., and HAYASHIDA, Y. Studies on the technique and the results of the cytologic examination of bile. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *10* 43, 1971.
2. ALLEN, A. W.: Gastric ulcer and cancer. Surgery *17*: 750, 1945.
3. AUERBACH, O., STOUT, A. P., HAMMOND, E. C., and GARFINKEL, L.: Histologic changes in esophagus in relation to smoking habits. Arch. Environ. Health. *11*: 4, 1965.
4. AYRE, J. E., and OREN, B. G.: A new rapid method for stomach-cancer diagnosis: The gastric brush Cancer, *6*: 1177, 1953.
5. BENEDICT, E. B.: An operating gastroscope. Gastroenterology, *11*: 281, 1948.
6. BENEDICT, E. B.: The differential diagnosis of benign and malignant lesions of the stomach by means of the flexible operating gastroscope. Gastroenterology, *14*: 275, 1950.
7. BENEDICT, E. B.: Value of gastric biopsy specimens obtained through the flexible operating gastroscope. Arch. Path., *49*: 538, 1950.
8. BENEDICT, E. B.: Gastroscopic biopsy in the differential diagnosis of gastritis and carcinoma. N. Engl. J. Med., *245*: 203, 1951.
9. BORRMANN, R.: Geschwülste des Magens und Duodenums. *In* HENKE, F., and LUBARSCH, O. (Eds.): Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. Vol. 4, Part 1. pp. 812–1054. Berlin, J. Springer, 1926.
10. BRANDBORG, L. L., TANIGUCHI, L., and RUBIN, C. E.: Exfoliative cytology in non-malignant conditions of the upper intestinal tract. Acta Cytol., *5*: 187, 1961.
11. BRANDBORG, L. L., TANIGUCHI, L., and RUBIN, C. E.: Is exfoliative cytology practical for more general use in the diagnosis of gastric cancer? Cancer, *14*: 1074, 1961.
12. BÜCHNER, F.: Die Histologie der peptischen Veränderungen und ihre Beziehungen zum Magenkarzinom. Veröffentl. Kriegs- u. Konst. Path., 18, Jena, 1927.
13. BUSER, J. W., KIRONER, J. B., and PALMER, W. L.: Carcinoma of the large bowel; analysis of clinical features in 478 cases, including eighty-eight five-year survivors. Cancer, *3*: 214, 1950.
14. CABRE-FIOL, V., and VILARDELL, F.: Progress in the cytological diagnosis of gastric lymphoma. A report of cases. Cancer, *41*: 1456, 1978.
15. CABRE-FIOL, V., VILARDELL, F., SALA-CLADERA, E., and MOTA, A. P.: Preoperative cytological diagnosis of gastric leiomyosarcoma. Gastroenterology, *68*: 563, 1975.
16. COLCHER, H.: Diagnostic fiberoptic gastroscopy. J.A.M.A., *228*: 891, 1974.
17. COMAN, D. R.: Decreased mutual adhesiveness, a property of cells from squamous carcinoma. Cancer Res., *4*: 625, 1944.
18. COOPER, W. A., and PAPANICOLAOU, G. N.: Balloon technique in the cytological diagnosis of gastric cancer. J.A.M.A., *151*: 10, 1953.
19. DEE, A. L., and HANSSEN, B.: An experience in the cytopathologic diagnosis of carcinoma of the esophagus. Acta Cytol., *7*: 236, 1963.
20. ENDO, Y., MORII, T., TAMURA, H., and OKUDA, S.: Cytodiagnosis of pancreatic malignant tumors by aspiration, under direct vision, using a duodenal fiberscope. Gastroenterology, *67*: 944, 1974.
21. ERAS, P., GOLDSTEIN, M. J., and SHERLOCK, P.: Candida infection of the gastrointestinal tract. Medicine, *51*: 367, 1972.
22. FARIS, T. D., and SALTZSTEIN, S. L.: Gastric lymphoid hyperplasia. A lesion confused with lymphosarcoma. Cancer, *17*: 207, 1964.
23. FOUSHEE, J. H. S., KALNINS, Z. A., DIXON, F. R., GIRSH, S., MOREHEAD, R. P., O'BRIEN, T. F., PRIBOR, H., and TATTORY, C.: Gastric cytology: Evaluation of methods and results in 1,670 cases. Acta Cytol., *13*: 399, 1969.
24. FUKUDA, T., SHIDA, S., TAKITA, T., and SAWADA, Y.: Cytologic diagnosis of early gastric cancer by the endoscope method with gastrofiberscope. Acta Cytol., *11*: 456, 1967.
25. GALAMBOS, J. T., and KLAYMAN, M. I.: The clinical value of colonic exfoliative cytology in the diagnosis of cancer beyond the reach of the proctoscope. Surg. Gynec. Obstet., *101*: 673, 1955.
26. GALAMBOS, J. T., MASSEY, B. W., KLAYMAN, M. I., and KIRSNER, J. B.: Exfoliative cytology in chronic ulcerative colitis. Cancer, *9*: 152, 1956.
27. GEPHART, T., and GRAHAM, R. M.: The cellular detection of carcinoma of the esophagus. Transact. First Intern. Cancer Cytol. Congress, Chicago, p. 159, 1956.
28. GILBERTSEN, V. A., and KNATTERUD, G. L.: Gastric analysis as a screening measure for cancer of the stomach. Cancer, *20*: 127, 1967.
29. GRABLE, E., ZAMCHECK, N., JANKELSON, O., and SHIPP, F.: Nuclear size of cells in normal stomachs, in gastric atrophy and in gastric cancer. Gastroenterology, *32*: 1104, 1957.
30. GRAHAM, R. M.: Dyskaryotic cells in pernicious anemia. Acta Cytol., *1*: 59, 1957.
31. GRAHAM, R. M.: The Cytologic Diagnosis of Cancer, 2nd ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1963 (3rd ed. 1972).
32. GRAHAM, R. M., and RHEAULT, M. H.: Characteristic changes in epithelial cells in pernicious anemia. J. Lab. Clin. Med., *43*: 235, 1954.
33. GRAHAM, R. M. with members of The Vincent Memorial Laboratory Staff: The Cytologic Diagnosis of Cancer. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1954.
34. HATFIELD, A. R.W., SMITHIES, A., WILKINS, R., and LEIV, A. J.: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and pure pancreatic juice cytology. A combined diagnostic approach in pancreatic disease. J. Br. Soc. Gastroenterol., *16*; 405, 1975.
35. HENNING, N., and WITTE, S.: Über eine neue Methode zur Zytodiagnostik der Magenkrankheiten. Dtsch. med. Wschr., *77*: 1, 1952.
36. HIRSCHOWITZ, B. I., CURTISS, L. E., PETERS, C. W., and POLLARD, H. M.: Demonstration of a new gastroscope, the "Fiberscope". Gastroenterology, *35*: 50, 1958.
37. HOLMAN, C.: The diagnosis of gastric carcinoma and peptic ulcer. The comparative value of various procedures, with special reference to the gastric analysis. J.A.M.A., *108*, 1383, 1937.
38. HUGHES, H. E., and DODDS, T. C.: Handbook of Diagnostic Cytology. Edinburgh, E & S Livingstone Ltd., 1969.
39. HURST, A. F.: Precursors of carcinoma of the stomach. Lancet, *2*: 1023, 1929.
40. IMBRIGLIA, J. E., and LOPUSNIAK, M. S.: Cytologic examination of sediment from the esophagus in a case of intra-epidermal carcinoma of the esophagus. Gastroenterology, *13*: 457, 1949.
41. ISHIOKA, K., YAMAGATA, S., TAKEDA, T., AYUSAWA, S., NAGANUMA, E., YAMAGATA, J., KOBIYAMA, M., GOTO, M., SATO, A., UMETSU, Y., and TAKAHARA,

T.: Cytological diagnosis of early gastric cancer. Tohoku J. Exp. Med., *118* (Suppl.): 9, 1976.

42. JACOBS, D. S.: Primary gastric malignant lymphoma and pseudolymphoma. Am. J. Clin. Path., *40*: 379, 1963.
43. KARSNER, H. T.: Human Pathology. p. 590. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1949.
44. KASUGAI, T.: Gastric washing cytology and biopsy for gastric cancer under direct vision by the fibergastroscope. Gastroenterol. Endoscopy, *8*: 48, 1966.
45. KASUGAI, T.: Evaluation of gastric lavage cytology under direct vision by the fibergastroscope employing Hanks' solution as a washing solution. Acta Cytol., *12*: 345, 1968.
46. KASUGAI, T.: Gastric lavage cytology and biopsy for early gastric cancer under direct vision by the fibergastroscope. Gastrointest. Endoscopy, *14*: 205, 1968.
47. KASUGAI, T., and KATO, T.: Gastric washing cytology under direct vision by the fibergastroscope for gastric carcinomas, especially early gastric carcinomas. Recent Advances in Gastroenterology, *1*: 531, 1967.
48. KLAYMAN, M. I., MASSEY, B. W., PLETICKA, S. GALAMBOS, J. T., BRANDBORG, C., KIRSNER, J. B., and PALMER, W. L.: The cytologic diagnosis of gastric cancer by chymotrypsin lavage. Gastroenterology, *29*: 849, 1955.
49. KLINE, T. S., and GOLDSTEIN, F.: The role of cytology in the diagnosis of gastric lymphoma. Am. J. Gastroenterol., *62*: 193, 1974.
50. KONJETZNY, E. G.: Über die Beziehungen der chronischen Gastritis mit ihren Folgerscheinungen und des chronischen Magenulcus zur Entwicklung des Magenkrebses. Bruns' Beitr. klin. Chir., *85*: 455, 1913.
51. KUROKAWA, T., KAJITANI, T., and OOTA, K.: Carcinoma of the Stomach in Early Phase; Clinical Diagnosis, Pathology and Treatment. Tokyo, Nakayama Shoten, 1966.
52. KUROKAWA, T., SAITO, T., FUJITA, J., ONODERA, H., ISHIOKA, K., and KITAOKA, H.: A comparative study of results of radiological and cytological tests. Tohoku J. Exp. Med., *71*: 225, 1960.
53. LAUREN, P.: The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal type carcinoma. Acta Path. Microbiol. Scand., *64*: 31, 1965.
54. LIGHTDALE, C. J., WOLF, D. J., MARUCCI, R. A., and SALYER, W. R.: Herpetic esophagitis in patients with cancer: Ante mortem diagnosis by brush cytology. Cancer, *39*: 223, 1977.
55. LIM, F. E., HARTMAN, A. S., TAN, E. G. C., CADY, B., and MEISSNER, W. A.: Factors in the prognosis of gastric lymphoma. Cancer, *39*: 1715, 1977.
56. MACCARTY, WM. C., and BRODERS, A. C.: Chronic gastric ulcer and its relation to gastric carcinoma. Review of 684 specimens. Arch. Int. Med., *13*: 208, 1914.
57. MACDONALD, W. C., BRANDBORG, L. L., TANIGUCHI, L., and RUBIN, C. E.: Gastric exfoliative cytology. An accurate and practical diagnostic procedure. Lancet, *2*: 83, 1963.
58. MARKELL, E. K., and VOGE, M.: Medical Parasitology. Philadelphia, W. B. Saunders, 1976.
59. MASSEY, B. W., and KLAYMAN, M. I.: Observations on epithelial cells exfoliated from the upper gastrointestinal tract of patients with pernicious anemia, simple achlorhydria and carcinoma of the esophagus and stomach. Am. J. Med. Sci., *230*: 506, 1955.
60. MING, S-C.: Histological and premalignant lesions. J.A.M.A., *228*: 886, 1974.
61. MING, S-C.: Gastric carcinoma: A pathobiological classification. Cancer, *39*: 2475, 1977.
62. MING, S-C., and GOLDMAN, H.: Gastric polyps. A histogenetic classification and its relation to carcinoma. Cancer, *18*: 721, 1965.
63. MIYAGIMA, S.: Diagnosis of early stage of gastric cancer. *In* Early Diagnosis of Cancer, p. 187. Tokyo, Ishiyaku Shuppan Ltd., 1964.
64. MUNOZ, N., and MATKO, I.: Histologic types of gastric cancer and its relationship with intestinal metaplasia. Cancer Res., *39*: 99, 1972.
65. MURAKAMI, T.: Memorandum on early gastric cancer. *In* MURAKAMI, T., et al (Eds.): Lectures on Diagnosis of Early Gastric Cancer. Vol. 5 Pathology, Chapter XV. Tokyo, Bunko-do, 1967.
66. NAGAYO, T.: Histological diagnosis of biopsied gastric mucosa with special reference to the borderline cases. Gann Monog. Cancer Res., *11*: 245, 1971.
67. NAGAYO, T.: Precursors of human gastric cancer: their frequencies and hitological characteristics. *In* FARBER, E. et al. (Eds.): Pathophysiology of Carcinogenesis in Digestive Organs. pp. 151–161. Tokyo, Univ. Tokyo Press, 1977.
68. NAGAYO, T., and YOKOYAMA, H.: Early phases and diagnostic features. J.A.M.A., *228*: 888, 1974.
69. NAKAMURA, K.: Histopathological study on malignant lymphoma of the stomach. Jap. J. Cancer Clin., *10*: 163, 1964.
70. O'GARA, R. W., and HORN, R. C., Jr.: Intramucosal carcinoma of the esophagus. Arch. Path., *60*: 95, 1955.
71. ONOZAWA, K., and NABEYA, K.: Abrasive cytology with capsel for esophageal cancer. Jap. J. Gastroenterol. Surg., *10*: 1, 1977.
72. OOTA, K.: Pathology of early gastric cancer. *In* KUROKAWA, T., KAJITANI, T., and OOTA, K. (Eds.): Carcinoma of the Stomach in the Early Phase. Tokyo, Nakayama Shoten, 1966.
73. PANIKO, F. G.: Improved abrasive balloon for diagnosis of gastric cancer. J.A.M.A., *149*: 1447, 1952.
74. PANICO, F. G., PAPANICOLAOU, G. N., and COOPER, W. A.: Abrasive balloon for exfoliation of cancer cells. J.A.M.A., *143*: 1308, 1950.
75. PARKER, J. W., WAKASA, H., and LUKES, R. J.: The morphologic and cytochemical demonstration of lysosomes in lymphocytes incubated with phytohemagglutinin by electron microscopy. Lab. Invest., *14*: 1736, 1965.
76. PUESTOW, C. B., GILLESBY, W. J., and GUYNN, V. L.: Cancer of the esophagus. A.M.A. Arch. Surg., *70*: 662, 1955.
77. RILKE, F., PILOTTI, S., and CLEMENTE, C.: Cytology of non-Hodgkin's malignant lymphomas involving the stomach. Acta Cytol., *22*: 71, 1978.
78. ROSENTHAL, M., and TRAUT, H. F.: The mucolytic action of papain for cell concentration in the diagnosis of gastric cancer. Cancer, *4*: 147, 1951.
79. RUBIN, C. E.: Newer advances in the exfoliative cytology of the gastrointestinal tract. Ann. N. Y. Acad. Sci., *63*: 1377, 1956.
80. RUBIN, C. E., and BENDITT, E. P.: A simplified technique using chymotrypsin lavage for the cytological diagnosis of gastric cancer. Cancer, *8*: 1137, 1955.
81. SABURI, R., ANDO, T., KAKIHANA, M., TABAYASHI, A., and YAMADA, T.: A selective proteolytic lavage method for the cytodiagnosis of early gastric cancer. Acta Cytol., *11*: 473, 1967.
82. SAITO, T., INOKUCHI, K., TAKAYAMA, S., and SUGIMURA, T.: Sequential morphological changes in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine carcinogenesis in the glandular stomach of rats. J. Natl. Cancer Inst., *44*: 769, 1970.

83. SALTZMANN, FR.: Studien über Magenkrebs mit besonderer Berücksichitigung der Veranderungen in der Magenschleimhaut und im Tumor und an desen Rand suftretender Rundzelleninfiltration. Arbeiten a. d. Path. Institut d. Univ. Helsingfors, Jena, Fischer, 1913.
84. SANO, R.: Surgical Pathology of Gastric Diseases. p. 131. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1974.
85. SANO, R.: Lectures on Surgical Pathology of Gastrointestinal Diseases. p. 45. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1977.
86. SCHADE, R. O. K.: Gastric Cytology. Principles, Methods and Results. London, Edward Arnold Ltd., 1960.
87. SCHADE, R. O. K.: Neuere Untersuchungen über das Magenkarzinom. Deutsch. med. Wschr., *88*: 1125, 1963.
88. SCHADE, R. O. K.: Cytology in early diagnosis. J.A.M.A., *232*: 890, 1975.
89. SCHADE, R. O. K., and JANSEN, O.: The value of α-chymotrypsin for diagnostic gastric lavage. Acta Cytol., *6*: 475, 1962.
90. SIURALA, M., VILLAKO, K., THAMÄKI, T., TEKKI, M., LEHTOLOA, J., and VARIS, K.: Atrophic gastritis: Its genetic and dynamic behavior and its relations to gastric carcinoma and pernicious anemia. *In* FARBER, E. (Ed.): Pathophysiology of Carcinogenesis in Digestive Organs. pp. 135–150. Tokyo, Univ. Tokyo Press, 1977.
91. SMITH, J. L., Jr., and HELWIG, E. B.: Malignant lymphoma of the stomach; its diagnosis, distinction and biologic behavior (Abst.). Am. J. Path., *34*: 553, 1958.
92. STOUT, A. P.: Tumors of the Stomach. *In* Atlas of Tumor Pathology. Washington D. C., AFIP, 1953.
93. SUCKOW, E. E., STALEY, C. J., and BROCK, D. R.: Extensive intra-epithelial carcinoma of the esophagus with multiple invasive sites. Quart. Bull. Northwestern Univ. Med. Sch., *35*: 45, 1961.
94. SUCKOW, E. E., YOKOO, H., and BROCK D. R.: Intraepithelial carcinoma concomitant with esophageal carcinoma. Cancer, *15*: 733, 1962.
95. SUGANO, H., NAKAMURA, K., and TAKAGI, K.: An atypical epithelium of the stomach. Gann Monogr. Cancer Res., *11*: 257, 1971.
96. SUGANO, H., NAKAMURA, K., TAKAGI, K., and KUMAKURA, K.: An atypical epithelium of the stomach. Jap. J. Cancer Clin., *18*: 834, 1972.
97. SYLVÉN, B.: Metachromatic dye-substrate interactions. Quart. J. Micr. Sc., *95*: 327, 1954.
98. TAKASU, Y., IGARI, S., INUI, T., MISU, Y., OTSUKA, Y., KUBOTA, Y., and WATANABE, Y.: A critical evaluation of gastric cytology and its comparison with biopsy. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *14*: 140, 1975.
99. TAKEDA, T., TAKASO, K., ISONO, S., SATO, E., and ISHIOKA. K.: Cytologic studies on so-called atypical epithelium of the protuberant lesions in the stomach. Acta Cytol., *19*: 345, 1975.
100. TAKEMOTO, T., and NAKAO, K.: Progress in the structure of various fibergastroscopes in Japan and a device to overcome topographical difficulties in fibergastroscopy. Proceedings of the First Congr. Intern. Soc. Endoscopy, 89, 1966.
101. THABET, R. J., and MACFARLANE, E. W. E.: Cytological field patterns and nuclear morphology in the diagnosis of colon pathology. Acta Cytol., *6*: 325, 1962.
102. TOMASULO, J.: Gastric polyps. Histologic types and their relationship to gastric carcinoma. Cancer, *27*: 1346, 1971.
103. TSUNEOKA, K.: Diagnosis of early gastric cancer with fibergastroscopic biopsy and fibergastroscopic cytology. Recent Advances in Gastroenterology, *1*: 294, 1967.
104. USHIGOME, S., SPJUT, H. J., and NOON, G. P.: Extensive dysplasia and carcinoma in situ of esophageal epithelium. Cancer, *20*: 1023, 1967.
105. WARREN, S., and MEISSNER, W. A.: Chronic gastritis and carcinoma of the stomach. Gastroenterology, *3*: 251, 1944.
106. WEIDEN, P. L., and SCHUFFLER, M. D.: Herpes esophagitis complicating Hodgkin's disease. Cancer, *33*: 1100, 1974.
107. WILLIAMS, E. D., and SANDLER, M.: The classification of carcinoid tumors. Lancet, *1*: 238, 1963.
108. WISSEMAN, C. L., LEMON, H. M., and LAWRENCE, K. B.: Diagnosis of malignant lesions of the rectum and sigmoid colon by cytological studies of exfoliative cells. Bull. Am. Coll. Surg., *32*: 243, 1947.
109. YAMADA, T.: Basic study of the proteolytic enzyme lavage method in the gastric diagnosis, especially in the comparative analysis of the exfoliative tendency of malignant and benign gastric epithelial cells. Acta Cytol., *8*: 19, 1964.

Addendum

110. ANNAMUNTHODO, H., and ROBERTSON, W. B: Primary plasmacytoma of the stomach. Br. J. Surg., *46*: 449,
111. ARTIGAS, J. M. G., SAUMELL, C. B., FAURE, R. A., and LLEBARIA, C.: Herpes Zoster of upper gastrointestinal tract. Lancet, *2*: 43, 1980.
112. CAMPBELL, D. A., PIERCEY, J. R. A., SHNITKA, T. K., GOLDSAND, G., DEVINE, R. D. O., and WEINSTEIN, W. M.: Cytomegalovirus-associated gastric ulcer. Gastroenterology, *72*: 533, 1977.
113. FRASER, R. W., Jr., SCHUH, F. D., and MULLEN, E. E.: Gastric myeloma: Case report of extramedullary plasmacytoma and review of literature. Am. Surg., *32*: 71, 1966.
114. GUPTA, S., UDUPA, K. N., and GUPTA, S.: Prsmary carcinoma of the gallbladder: a review of 328 cases. J. Surg. Oncol., *14*: 35, 1980.
115. LINE, D. H., and LEWIS, R. H.: Gastric plasmacytoma. Gut, *10*: 230, 1969.
116. NEVIN, J. F., MORAN, T. J., KAY, S., and KING, R.: Carcinoma of the gallbladder. Cancer, *37*: 141, 1976.
117. PROLLA, J. C., KOBAYASHI, S., and KIRSNER, J. B.: Cytology of malignant lymphomas of the stomach. Acta Cytol., *14*: 291, 1970.
118. ROSEN, P., ARMSTRONG, D., and RICE, N.: Gastrointestinal cyomegalovirus infection. Arch. Int. Med., *132*: 274, 2973.
119. STOUT, A. P., and LATTES, R.: Tumors of the Esophagus. *In* Atlas of Tumor Pathology. Washington, AFIP, 1957.
120. TSUZAKI, K., TANAKA, I., and KOTOH, K.: The cytomegalic inclusion cell in the gastric biopsy cytology. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *17*: 240, 1978.
121. WISLOFF, F., BULL-BERG, J., and MYREN, J.: Herpes Zoster of the stomach. Lancet, *2*: 953, 1979.

25

Sistema nervioso central

1. Recolección de muestras y preparación de extendidos

Recolección de líquido cefalorraquídeo

El líquido cefalorraquídeo se suele obtener mediante punción lumbar en el tercero o cuarto espacio intervertebral y, a veces, mediante punción ventricular y occipital con técnica aséptica estricta. La presión normal es menor de 180 mm H_2O en decúbito lateral, manteniendo la columna estrictamente horizontal. En casos de presión intracraneal aumentada, como a causa de un tumor encefálico, edema cerebral, hemorragia e inflamación meníngea, la extracción del líquido puede causar un cono de presión fatal por herniación cerebral. En consecuencia, puede haber ocasiones en que sólo se dispone de dos o tres mililitros para hacer el citodiagnóstico. Si se sospecha tumor encefálico, absceso o hemorragia, el líquido se debe retirar con lentitud bajo control manométrico.

Método de centrifugación

El líquido se debe centrifugar inmediatamente 5 minutos a 1500 rpm. Si el líquido no alcanza para centrifugar, se agrega solución fisiológica o solución de Ringer. Si el líquido no se puede centrifugar antes de la hora de extraído, se lo trata con igual cantidad de formol al 2 %, alcohol al 40 % y solución de Ringer para evitar la autólisis; la solución, constituida por 2 ml de formol, 40 ml de alcohol etílico y 58 ml de solución de Ringer o fisiológica, se puede guardar como solución de depósito para el tratamiento previo del líquido cefalorraquídeo.

El sedimento se extiende sobre portaobjetos de vidrio limpios albuminizados en capa fina; este procedimiento es útil para retener las células sobre los portaobjetos durante la fijación. Si no se filtra con Millipore, se prepara un extendido secado al aire para colorearlo con Giemsa para que no se pierdan células durante la fijación de la película mojada.



Fig. 776. Astrocitos hipertróficos recogidos con el filtro Millipore en un caso de astrogliosis por reblandecimiento cerebral. Nótense la cromatina granular y la angulación de los núcleos. El citoplasma se ha perdido por degeneración.

Método de la filtración con membrana

Esta operación se realiza con un filtro Millipore o Nuclepore con poros de 5 μ, junto con el aparato para filtrar, que consiste en un embudo de vidrio, una abrazadera de sostén, clips de acero inoxidable, un frasco de filtrado y un tubo aspirador. Los líquidos cefalorraquídeos, que suelen venir en poca cantidad y contienen pocas células, son muestras apropiadas para hacer la concentración celular mediante filtración con membrana.[14, 20] Los líquidos no fijados se deben procesar inmediatamente mediante filtrado, pero conviene tratarlos de antemano con alcohol etílico al 50 % porque no contienen moco.[6] Ciertos fijadores disuelven el filtro Millipore, como alcohol metílico, formol y éter-etanol, pero el filtro Nuclepore tiene las siguientes ventajas: a) la membrana resiste a la mayoría de los fijadores, b) existen diversas tinciones, c) es fácil hacer el montaje y d) la microscopia no es interrumpida por el fondo porque la membrana es transparente.

Sedimentación

Bots y col.[3] hicieron buen uso del aparato de sedimentación ideado por Sayk[25] para citología del líquido cefalorraquídeo. El principio de la sedimentación consiste en absorber el líquido con un papel de filtro duro situado debajo de un tubo de vidrio de extremos abiertos. El tubo, de 15 mm de diámetro por 20 mm de largo, se coloca verticalizado sobre un portaobjeto de vidrio limpio. Entre el tubo y el portaobjeto de vidrio se interpone un papel de filtro duro (Green 602 o Schleicher & Scüll 602 duro) con un agujero que coincide exactamente con la pared interna del tubo. Todo esto se sostiene con un grueso bloque de goma que tiene un agujero para dar cabida al tubo de vidrio. La fijación se obtiene presionando sobre el bloque de goma. El líquido se absorbe con lentitud por el fondo del tubo de vidrio y las células sedimentan sobre el portaobjeto. Bots y col. dicen que el 20 a 30 % de los componentes celulares del líquido se depositan en el portaobjeto de vidrio.

Citología de aspiración

La citología de aspiración bajo visión directa de una lesión tumoral o quística con una aguja hipodérmica calibre 21, es valiosa si no se puede hacer una biopsia. Nunca se debe hacer punción aspiradora a cielo cerrado.

Impresión

Los extendidos de impresión se preparan con la pieza de tejido recién escindida, de la misma manera que se estampa sobre portaobjetos de vidrio limpios; si la pieza es lo suficientemente grande como para cortarla, se aplica la superficie de corte fresca. Esta técnica es un coadyuvante muy importante del diagnóstico con cortes congelados, porque a veces no se pueden hacer cortes congelados de una pieza minúscula por razones técnicas. En consecuencia, la impresión citológica se hace antes de realizar los cortes congelados. Si se recibe suficiente tejido, se hacen extendidos aplastados con un trozo diminuto de tejido empleando la técnica de separar dos portaobjetos mediante deslizamiento (fig. 777).

Método del aplastamiento

La técnica del montaje total aplastando un trozo minúsculo de tejido cerebral es mejor que la impresión, porque los rasgos celulares son exactos y se preservan las estructuras hísticas. Para diagnosticar glioma son importantes la celularidad de células anormales y la relación del comportamiento entre las células anormales y las células gliales y capilares. Esta técnica es fácil y se hace del siguiente modo, aunque tiene sus desventajas, como la deformación de las células frágiles y la dificultad para aplastar tumores fibrosos como el meningioma.

1. Se coloca entre dos portaobjetos de vidrio limpio, lo antes posible después de la escisión, un trozo de tejido cerebral del tamaño de la cabeza de un fósforo.

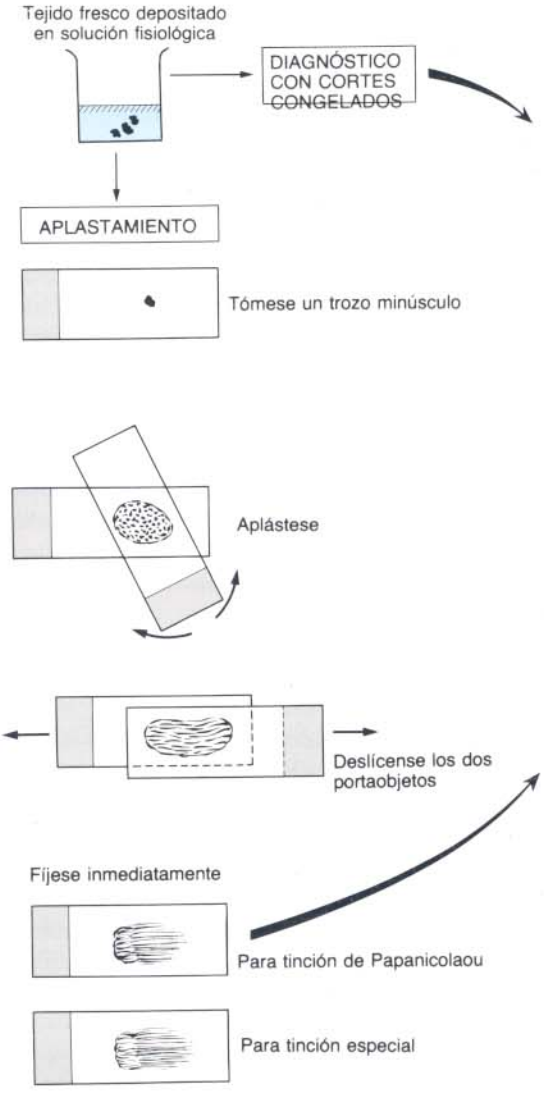


Fig. 777. Método del aplastamiento para preparar extendidos del sistema nervioso central.

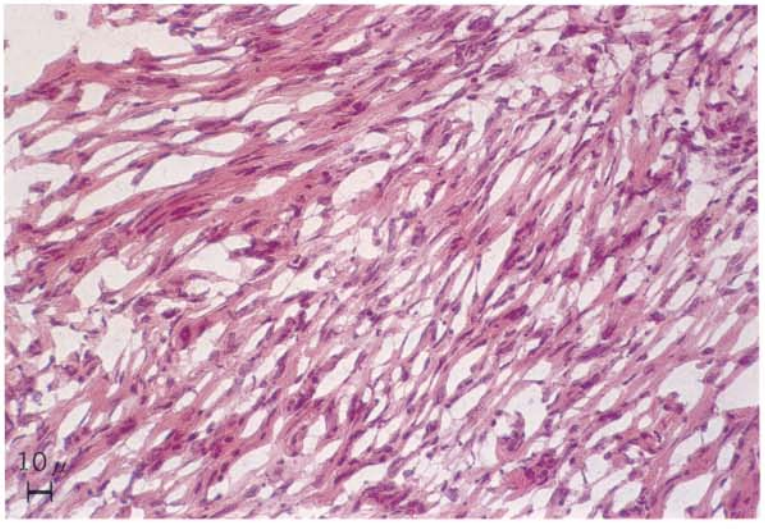


Fig. 778. Trama fasciculada de células fusiformes en un corte congelado. Aunque no se observan empalizadas nucleares ni cuerpos de Verocay, la tinción con HE sugiere neurinoma acústico.

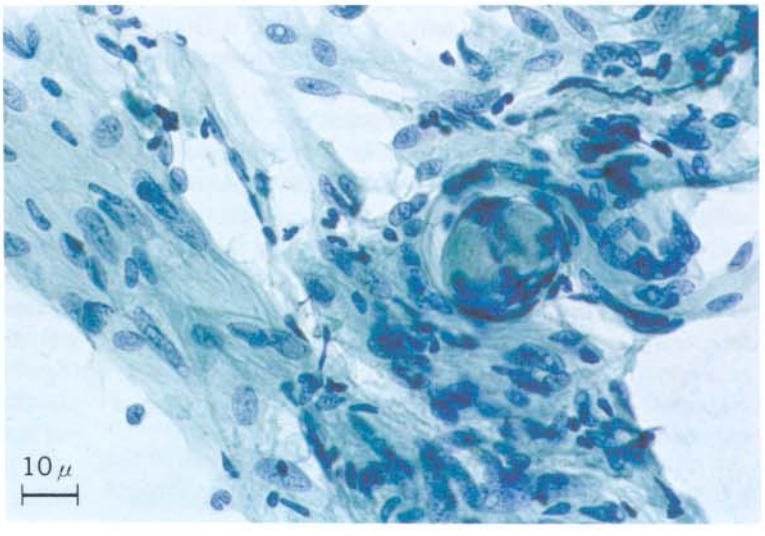
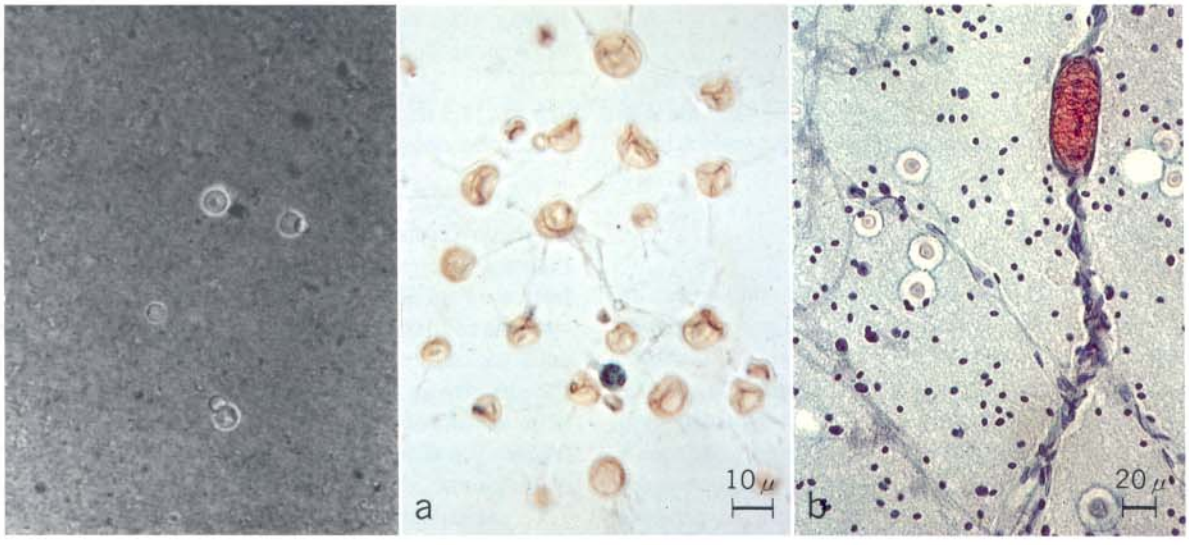


Fig. 779. Citología de impresión rápida que muestra un remolino característico de células meningoteliales. Núcleos elongados y de polos redondeados; cromatinas acintadas y blandas. Los nidos en remolino hacen el diagnóstico de meningioma meningoteliomatoso.



780 781

Fig. 780. ***Cryptococcus neoformans*** **demostrado en el líquido cefalorraquídeo con el preparado de la tinta china.**
Fig. 781. ***Cryptococcus neoformans.*** **Extendido de un sedimento del líquido cefalorraquídeo (a) y de tejido aplastado (b).** Los microorganismos aparecen como unas esferas parduscas claras de unos 8 a 20 μ de diámetro en la tinción de Papanicolaou. Las cápsulas no se disciernen en *a*, pero son nítidas en el extendido aplastado (*b*).

2. El tejido se aplasta presionando con el dedo con tanta fuerza como para hacer una pasta. Los constituyentes celulares no se destruyen nunca porque la matriz de tejido cerebral los preserva.
3. Se preparan películas finas con el método del "deslizamiento" de dos portaobjetos y se fijan inmediatamente en etanol absoluto o en éter y etanol.

Addendum I: Criptococosis y preparación con tinta china.

Criptococosis: *Cryptococcus neoformans* se disemina ampliamente desde la lesión primaria en el pulmón, desplegando afinidad por el sistema nervioso central. La diseminación generalizada puede acelerarse en los pacientes inmunosuprimidos y puede ocurrir meningitis criptococócica. Coloreando con Papanicolaou el microorganismo se presenta como una esfera refringente pardusca pálida, rodeada por un halo claro. La estructura se puede visualizar con la tinción de metenamina argéntica de Gomori y la de PAS o Gridley.[23]

Preparación con tinta china: Esta técnica se emplea para *Cryptococcus neoformans (Torula histolytica).* Se mezcla sobre un portaobjeto una gota de tinta china con una gota del sedimento del líquido cefalorraquídeo. Antes del examen microscópico se tapa con un cubreobjeto. El criptococo, con su amplia cápsula gelatinosa, mide 5 a 10 μ de diámetro y se reconoce por un halo claro alrededor de cada célula.

Addendum II: Rabia. Es raro que lleguen casos de rabia al laboratorio de citología. Las alteraciones patológicas en el encéfalo son linfocitosis perivascular y cuerpos acidófilos de Negri en las células ganglionares del hipocampo, bulbo raquídeo y células de Purkinje cerebelosas (fig. 782).

2. Aspecto macroscópico del líquido cefalorraquídeo

El líquido cefalorraquídeo normal es claro e incoloro como el agua. Tiene reacción alcalina, con un pH 7,4 a 7,5, y una densidad de 1,003 a 1,008. En la inflamación purulenta el líquido se torna nuboso y blanco grisáceo. Es rosado o rojo si contiene eritrocitos frescos y xantocrómico si presenta bilirrubina a raíz de una hemorragia cerebral o subaracnoidea vieja, si existe ictericia severa y si hay elevación de la proteína total; en presencia de obstrucción subaracnoidea prolongada y de bloqueo raquídeo, el contenido proteico está muy elevado. En la meningitis supurada aguda o tuberculosa se forma una película o retículo de fibrina.

3. Componentes celulares benignos del líquido cefalorraquídeo

El líquido cefalorraquídeo normal prácticamente no tiene células o, a lo sumo, 5 células por milímetro cúbico, en su mayoría linfocitos. En cambio, la punción ventricular puede contener fragmentos hísticos de origen ependimario. El examen citológico del líquido cefalorraquídeo no se limita a diagnosticar células tumorales, sino que es aplicable a la detección de estados inflamatorios.

Pleocitosis no tumoral

El "Sonnenstäubchen", fenómeno en que se ven minúsculas partículas pulverulentas flotando al agitar el tubo y mirarlo a la luz del sol sobre fondo oscuro, significa una ligera pleocitosis. La ligera opacidad del líquido ocurre en la pleocitosis moderada, o sea cuando está entre 100 y 500 células por mm^3, como en la meningitis tuberculosa, meningitis sifilítica, infección viral, coriomeningitis linfocitaria (fig. 783), etc. El líquido es francamente turbio cuando la pleocitosis de leucocitos polimorfonucleares excede de 500 por mm^3 y significa infección bacteriana.

En raros casos se observan células pavimentosas superficiales, células ependimarias y eritrocitos. Las células pavimentosas pueden provenir de la piel al hacer la punción lumbar. Las células ependimarias, que se originan en el epitelio ventricular, son columnares bajas o cuboides y presentan unos núcleos pequeños y excéntricos.

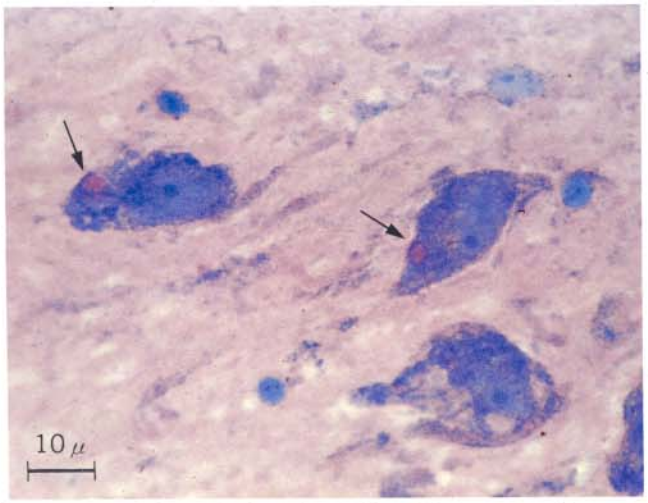


Fig. 782. Cuerpo de Negri en impresiones del encéfalo de un perro rabioso. Los cuerpos de Negri se presentan en el citoplasma de las neuronas como unas inclusiones eosinófilas redondas u ovales (*flechas*) que a menudo son múltiples. Los cuerpos de Negri están, la mayoría de las veces, en el asta de Amón del lóbulo temporal.

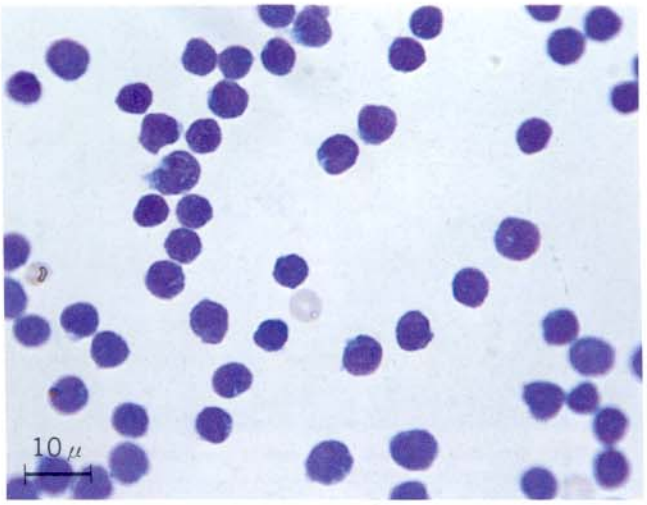


Fig. 783. Gran pleocitosis por meningitis tuberculosa. Líquido cefalorraquídeo de un varón de 18 años. En la meningitis tuberculosa el recuento celular suele ser de 100 a 500 por mm^3, con un predominio de linfocitos asociado con aumento del contenido proteico y disminución del nivel de glucosa.

Recuentos celulares en el líquido cefalorraquídeo

Para contar las células se prepara solución de Pappenheim diluyendo 4 ml de ácido acético en 40 ml de agua destilada y disolviendo después 0,2 g de violeta de metilo. La solución colorante se filtra una vez preparada. Se carga hasta la marca 1 una pipeta para recuentos de glóbulos blancos sanguíneos, y se aspira líquido cefalorraquídeo hasta la marca 11. Se cuentan todas las células en todas las áreas de la cámara de Fuchs-Rosenthal. La tercera parte del recuento total representa la cantidad de células por milímetro cúbico de líquido sin diluir.

4. Rasgos de las células benignas

Las neuronas y las células gliales no son constituyentes del líquido cefalorraquídeo, pero sí son representativas en el extendido aplastado fresco o en las impresiones.

Células ependimarias y células coroideas

Las células de revestimiento del sistema ventricular, que són de origen neuroectodérmico, poseen cilias y blefaroplastos en su borde libre. Esto último sólo se detecta en histología coloreada con ácido fosfotúngstico y hematoxilina. En la práctica, es raro que estas células figuren entre los componentes del líquido cefalorraquídeo. La presencia de células ependimarias en el líquido cefalorraquídeo significa algún trastorno degenerativo del parénquima cerebral que afecta a los ventrículos. El citoplasma es columnar bajo y a veces ciliado. Las cilias no se ven siempre porque degeneran en el líquido. Los núcleos son ovales, están en situación paracentral y su trama cromatínica es blanda. Las células coroideas carecen de cilias en los adultos y sus núcleos son pequeños y picnóticos.

Células de la piaracnoides

El sistema piaracnoideo posee propiedades diversas, como cumplir las funciones del sistema reticuloendotelial y desarrollar una actividad fibroblástica en la reparación de los tejidos; los histiocitos, las células gigantes por cuerpo extraño y las células mesoteliales pavimentosas de la piaracnoides que se transforman en fibroblastos, pertenecen al sistema piaracnoideo.

Astrocitos

Los astrocitos no aparecen en el líquido cefalorraquídeo como células libres si no se han destruido las paredes ventriculares por alguna neoplasia, infarto o maniobra quirúrgica, pero son los constituyentes principales en los extendidos aplastados e impresos. Los núcleos son redondos u ovales y se caracterizan por unas partículas punteadas finas de cromatina. Los bordes nucleares no aparecen engrosados en absoluto. El citoplasma es ancho, poliédrico y exhibe reacción tintorial cianófila. En el extendido aplastado se ven las prolongaciones citoplasmáticas de los astrocitos bien preservados.

Oligodendrocitos

Los núcleos son pequeños, redondos u ovales, y densamente tingibles. El citoplasma es transparente y propenso a degenerar. En la sustancia gris la identificación se facilita por la ubicación de los oligodendrocitos adyacentes a las células nerviosas. Las células denudadas son similares a los linfocitos.[13]

Microglia

La microglia, que pertenecería al sistema reticuloendotelial del sistema nervioso central, prácticamente no se puede identificar. Se denomina microglia a las células de aspecto reticulocitario que poseen unos núcleos oscuros, poligonales o indentados, cuando están en la vecindad de los capilares sanguíneos. Pueden presentarse como células libres, pero que son discernibles solamente en el extendido aplastado.

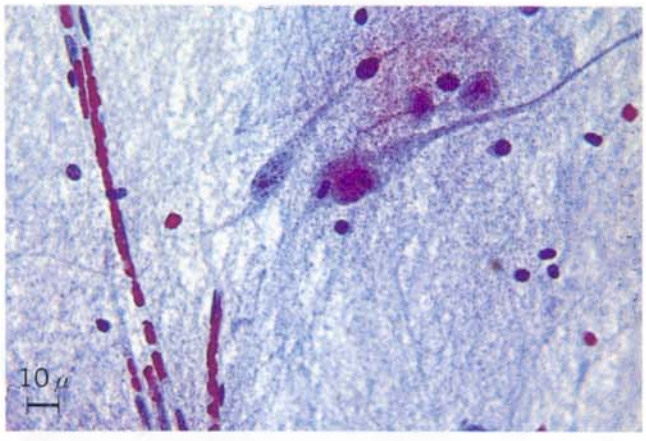


Fig. 784. Extendido aplastado de la corteza cerebral normal. Se observan neuronas, células gliales y capilares con finas células de revestimiento endoteliales en una matriz fibrilar amorfa.

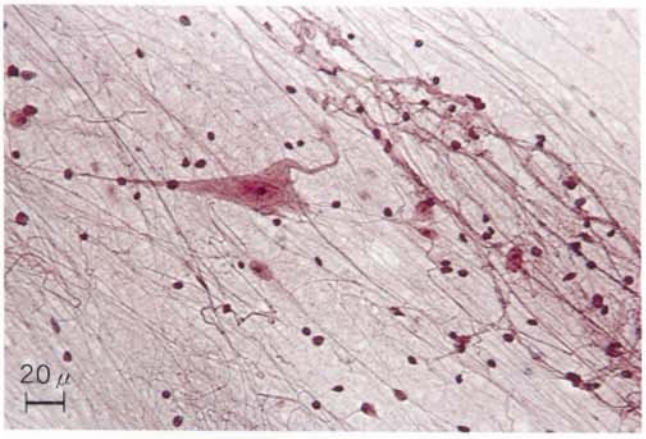


Fig. 785. Extendido aplastado de la corteza cerebral normal. Con la tinción de Bodian se reconocen una neurona piramidal, cilindroejes y células gigantes con la misma nitidez que si se tratase de un corte histológico.

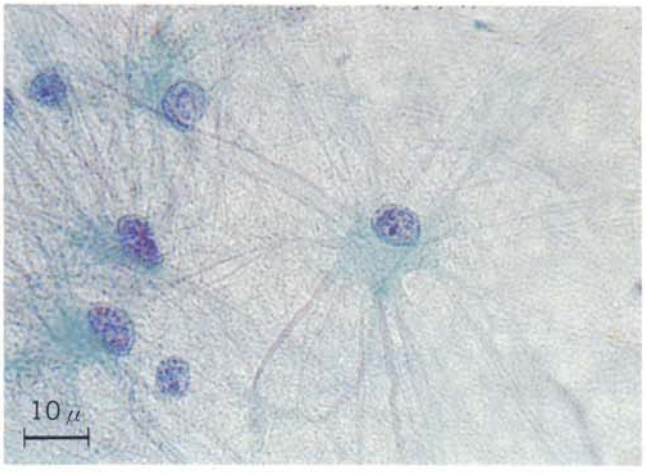


Fig. 786. Astrocito normal en un extendido aplastado. Nótense el núcleo redondo y la moderada cantidad de citoplasma estrellado del cual sobresalen finas fibrillas.

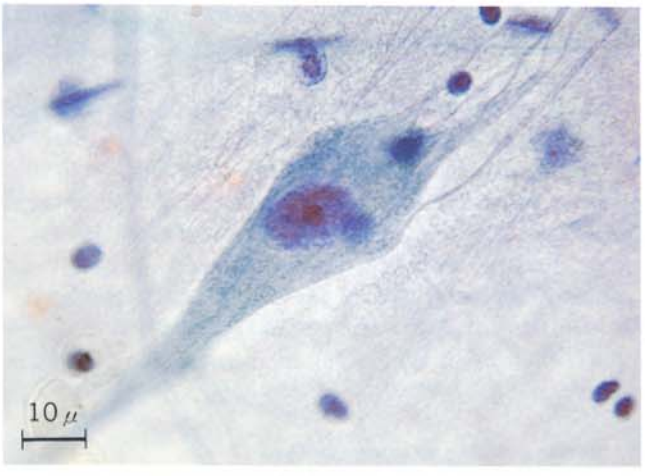


Fig. 787. Célula ganglionar normal de amplio citoplasma piramidal en un extendido aplastado. Hay un núcleo elíptico con un gran nucléolo en el centro. Nótense las prolongaciones citoplasmáticas elongadas.

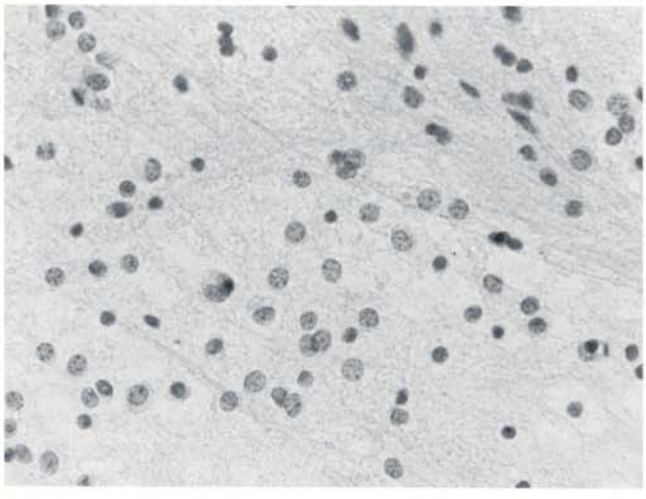


Fig. 788. Gliosis inespecífica en un extendido aplastado. Las células gliales de núcleos redondos u ovales uniformes están diseminadas con regularidad, aunque en cantidad un poco aumentada.

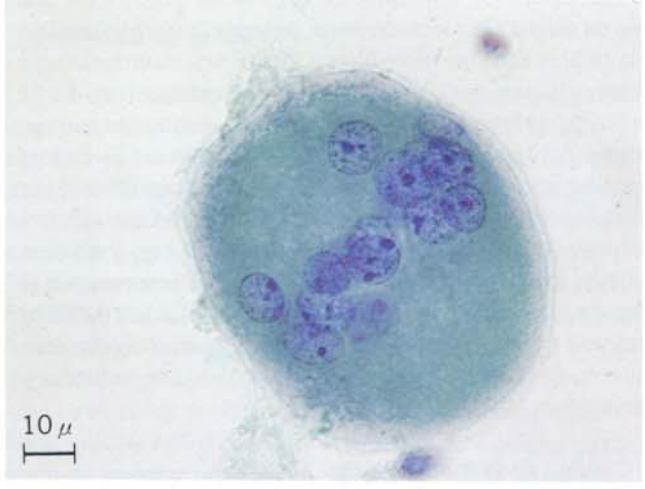


Fig. 789. Célula gigante multinucleada por cuerpo extraño en el líquido cefalorraquídeo. De un caso de metástasis carcinomatosa. Los núcleos múltiples son de tamaño y morfología uniformes. En el estado activado pueden reconocerse nucléolos prominentes.

Células nerviosas

El citoplasma es piramidal y posee prolongaciones multipolares. En el extendido aplastado se puede encontrar una neurita distintiva. El núcleo es redondo u oval y se halla en situación central. El borde nuclear no está bien preservado y es indistinto. Existe un solo nucléolo prominente. La neurona varía de tamaño dentro de un mismo estado fisiológico.

Macrófagos

Los macrófagos mononucleares y multinucleados del líquido cefalorraquídeo derivarían de un tejido fibrovascular que cumple una función reparadora de tejidos. Muchas veces se reconoce fagocitosis de hemosiderina, melanina y otras partículas extrañas.

5. Citología anormal

Aspecto general

Como el líquido cefalorraquídeo es acelular, la presencia de células anormales ajenas a él puede ser elocuente, aparte de los criterios de malignidad. Por ejemplo, las células descamadas del astrocitoma grado I o grado II no satisfacen los criterios de malignidad. La tasa relativamente baja de diagnósticos de glioma se debe al compromiso infrecuente de la leptomeninge y de las paredes ventriculares por la invasión tumoral. Según el estudio de Wagner y col.,[28] la propagación del glioma primario a la leptomeninge sólo se confirma por la histología en alrededor del 10 % de las biopsias y nada más que en el 35 % de las necropsias. Esto concuerda con la escasa exactitud del citodiagnóstico: 42,9 % según Kline[10] y 29,4 % según Naylor[17] (cuadro 73).

Perfil estructural en el diagnóstico de tumores encefálicos

Aunque se puede diagnosticar neoplasia maligna sobre la base de células individuales en el líquido cefalorraquídeo, esto informa poco acerca de la clasificación histológica. Las aglomeraciones celulares observadas en los extendidos aspirados y/o aplastados, no pocas veces dan imágenes características de la clasificación histológica (fig. 790).

1) Roseta verdadera. Las células tumorales se disponen en torno de una luz semejante al conducto central de la médula espinal. El citoplasma supranuclear próximo a la luz muchas veces exhibe blefaroplastos granulares y cilias. La roseta verdadera es característica en el ependimoma y en el retinoblastoma.

2) Seudorroseta. La seudorroseta de Homer Wright simplemente consiste en células tumorales orientadas en forma radial en torno de áreas débilmente eosinófilas. Se considera que el material fibrilar argentófilo que aparece en el área de la luz central es el sitio sugestivo de diferenciación neuroblástica. La roseta de Homer Wright se observa en el meduloblastoma.

3) Seudorroseta perivascular. La distribución radial de las células tumorales alrededor de los vasos sanguíneos es característica del astroblastoma. Otros gliomas, como ependimoma, astrocitoma gemistocítico, glioblastoma multiforme y schwannoma, revelan seudorrosetas en algunas ocasiones.

4) Empalizadas nucleares. Las empalizadas paralelas de núcleos son características del espongioblastoma. En el glioblastoma multiforme se ve una distribución similar de núcleos dispuestos en filas hacia la necrosis (seudoempalizadas).

Cuadro 73. Tipos de tumores y exactitud del citodiagnóstico del líquido cefalorraquídeo

	Naylor[17]		*Kline*[10]	
Tipos	*Nº de casos*	*Casos positivos*	*Nº de casos*	*Casos positivos*
Astrocitoma (I, II)	17	2	13	4
Astrocitoma (III, IV)	7	3	26	11
Ependimoma	15	5	2	0
Meduloblastoma	7	3	2	2
Oligodendroglioma	1	1	1	0
Pinealoma	4	1	0	0
Carcinoma del plexo coroideo	0	0	1	1
Adenoma cromófobo	12	3	0	0
Craneofaringioma	6	0	2	1
Hemangioblastoma	4	0	0	0
Hemangiosarcoma	1	0	1*	0
Meningioma	6	0	6	3
Neurilemoma	4	0	5	0
Neuroblastoma olfatorio	1	1	0	0
Teratoma	0	0	1	1
Carcinoma metastásico	14	5	33	16
Melanoblastoma metastásico	2	1	0	0
Reticulosarcoma	1	1	0	0
Enfermedad de Hodgkin	0	0	3	0

*Sarcoma peritelial en la descripción original

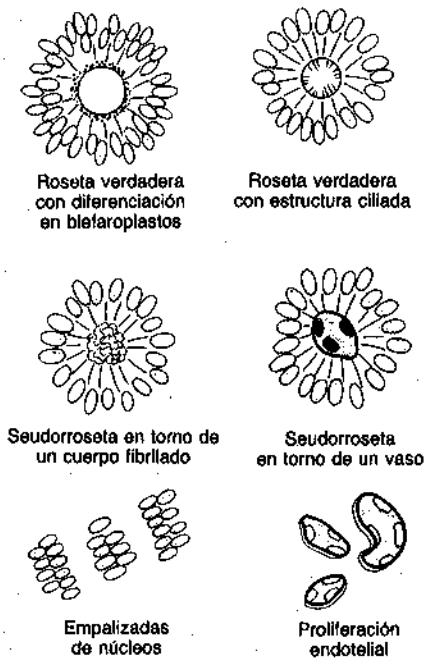


Fig. 790. Variaciones de las formaciones de células malignas.

Cuadro 74. Frecuencia de metástasis encefálicas de neoplasias extracraneales primarias

Autores	*Tom*[27]	*Knights*[11]	*Störtebecker*[26]	*Lesse y Netsky*[12]	*Aronson*[2]
N° de casos	82	94	158	207	397
Pulmón	22%	22%	16%	24%	46%
Mama	16	18	7	34	13
Tracto gastrointestinal	13	7	9	5	9
Melanoma	9	6	8	1	3
Órganos genitales femeninos	5				2
Órganos genitales masculinos	1	3			2
Tracto urinario	5	3	20	5	3
Órganos endocrinos	4	3		3	4
Linfoma y sarcoma	6	13		12	10
Otros o desconocidos	19	25	40	16	8

5) Proliferación endotelial. La proliferación del endotelio de los capilares sanguíneos es un hallazgo distintivo en el glioblastoma multiforme, aunque la hiperplasia vascular similar es un fenómeno del oligodendroglioma.

6. Carcinoma metastásico

Las metástasis carcinomatosas representan alrededor del 30 % de las neoplasias intracraneales. Las neoplasias extra-

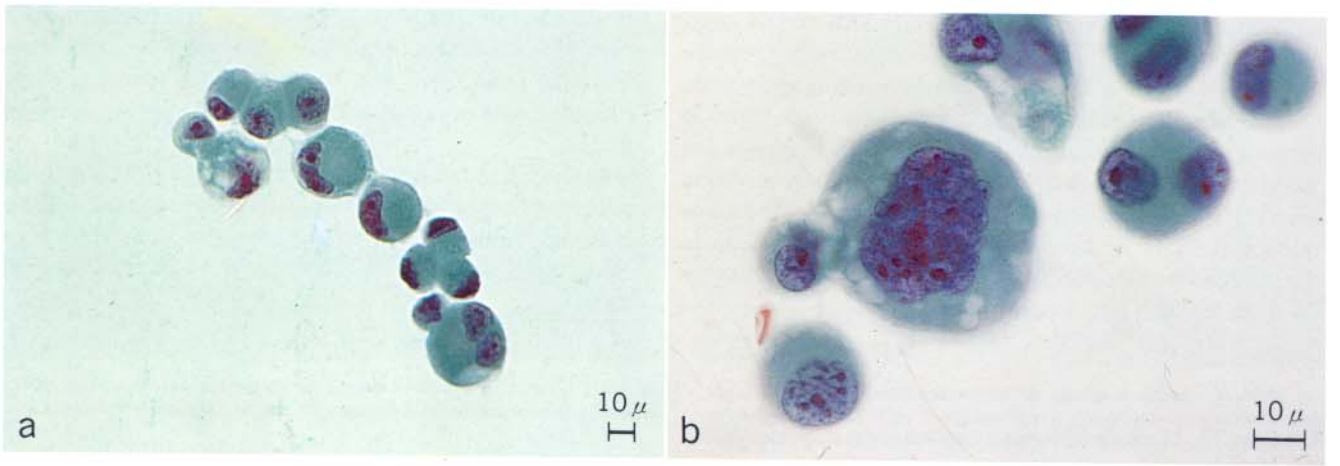


Fig. 791. Células metastásicas de un adenocarcinoma gástrico en el líquido cefalorraquídeo. *a*, Núcleos excéntricos en la vista con poco aumento. El citoplasma está bien preservado y sus bordes son muy netos. *b*, Vista más ampliada. Los rasgos celulares, como hipercromatismo con cromatinas gruesas muy tingibles y bordes citoplasmáticos netos, difieren de los de las células gliomatosas.

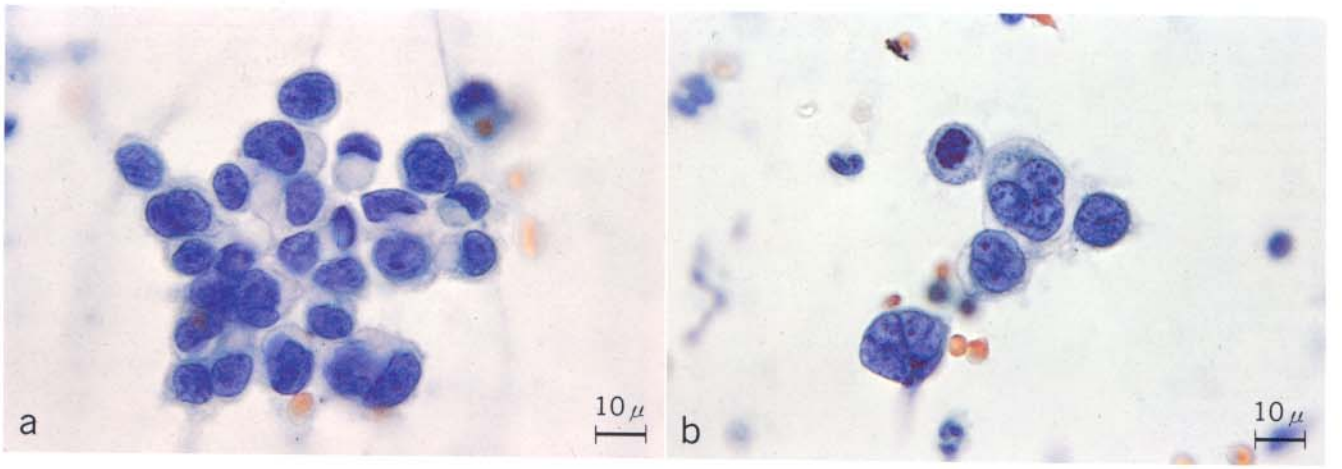


Fig. 792. Células metastásicas de un adenocarcinoma de vesícula biliar en el líquido cefalorraquídeo. *a*, Aglomeración de células cancerosas. Los núcleos son de mediano tamaño pero hipercromáticos y poseen nucléolos prominentes. Nótese el citoplasma columnar traslúcido. *b*, Células cancerosas aisladas en buen estado de preservación. Nótese el hipercromatismo, con cromatinas gruesas y bordes nucleares nítidos.



Fig. 793. Formación tumoral que afecta a la pared ventricular o a la leptomeninge, lo cual sería imprescindible para detectar células neoplásicas en el líquido cefalorraquídeo. *a*, Propagación directa de un glioma primario al ventrículo. *b*, Carcinomatosis meníngea metastásica de un adenocarcinoma de estómago.

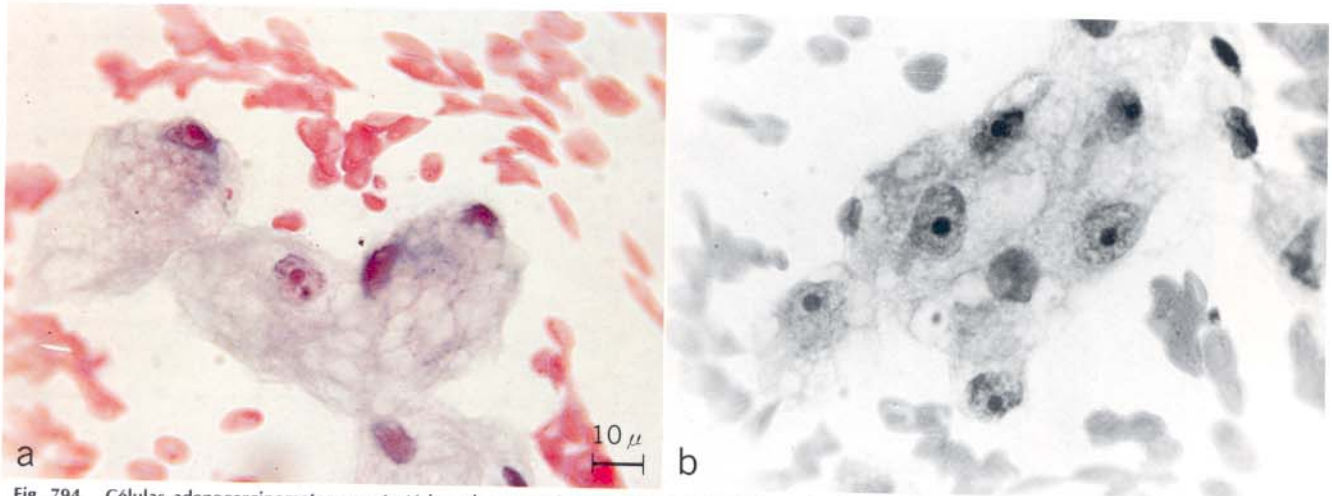


Fig. 794. Células adenocarcinomatosas metastásicas de un carcinoma renal en el líquido cerebral. *a*, Este líquido hemorrágico contiene células cancerosas aglomeradas que se caracterizan por un citoplasma vacuolado traslúcido y pequeños núcleos que contienen nucléolos acidófilos prominentes. *b*, Nótense la abundancia del citoplasma vacuolado y la prominencia de nucléolos redondos solitarios en el centro de los núcleos.

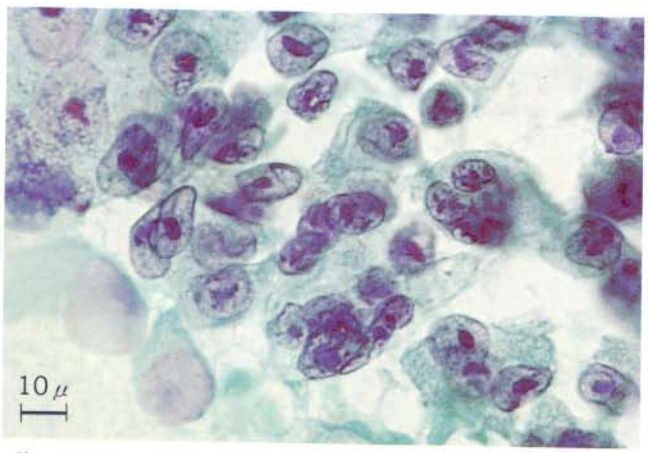


Fig. 795. Células adenocarcinomatosas metastásicas en un extendido aplastado de un caso de adenocarcinoma pulmonar. Núcleos poliédricos y de tamaño variable. Los nucléolos anfóteros únicos pero prominentes y los bordes nucleares gruesos abonan en favor de células adenocarcinomatosas.

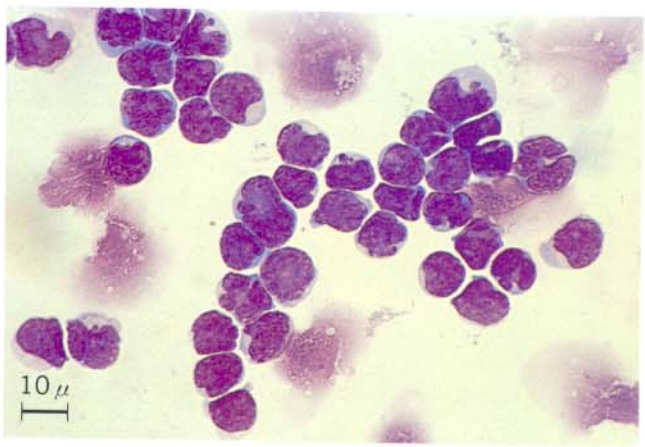


Fig. 796. Células leucémicas (LLA) en el líquido cerebral de un niño de 6 años. Se ve una circunvolución nuclear. El compromiso meníngeo por LLA ocurre en un 25 % de los casos y es mucho más común que en la leucemia mielógena aguda. Hay células fantasmas degenerativas. Coloración de Giemsa.

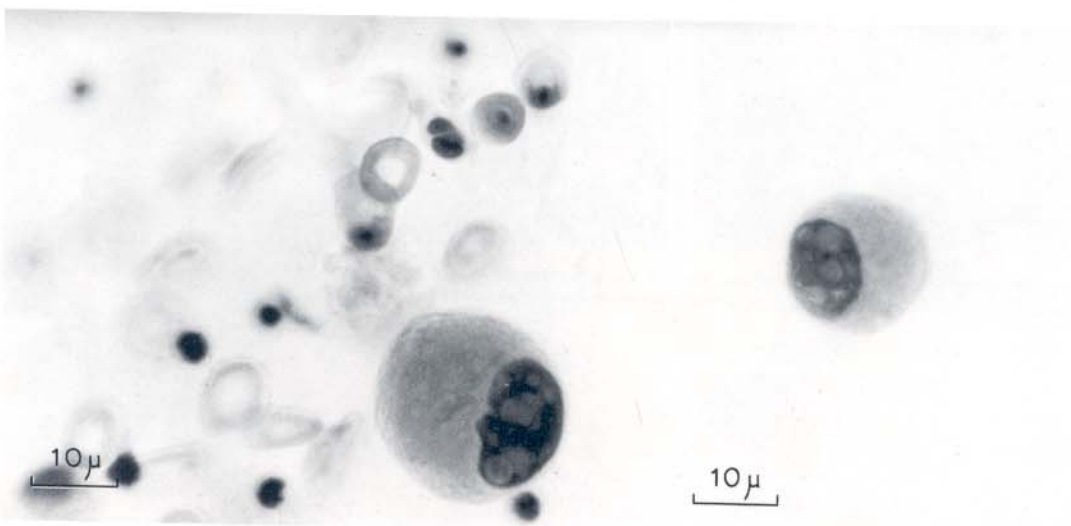


Fig. 797. Células malignas solitarias provenientes de una metástasis de carcinoma broncógeno. Nótese un citoplasma columnar bien definido, con núcleos excéntricos. Aunque no hay evidencias morfológicas que orienten acerca del sitio del tumor primario, el citólogo debe tener en cuenta que el carcinoma broncógeno es la neoplasia que da metástasis encefálicas con mayor frecuencia (cuadro 74).

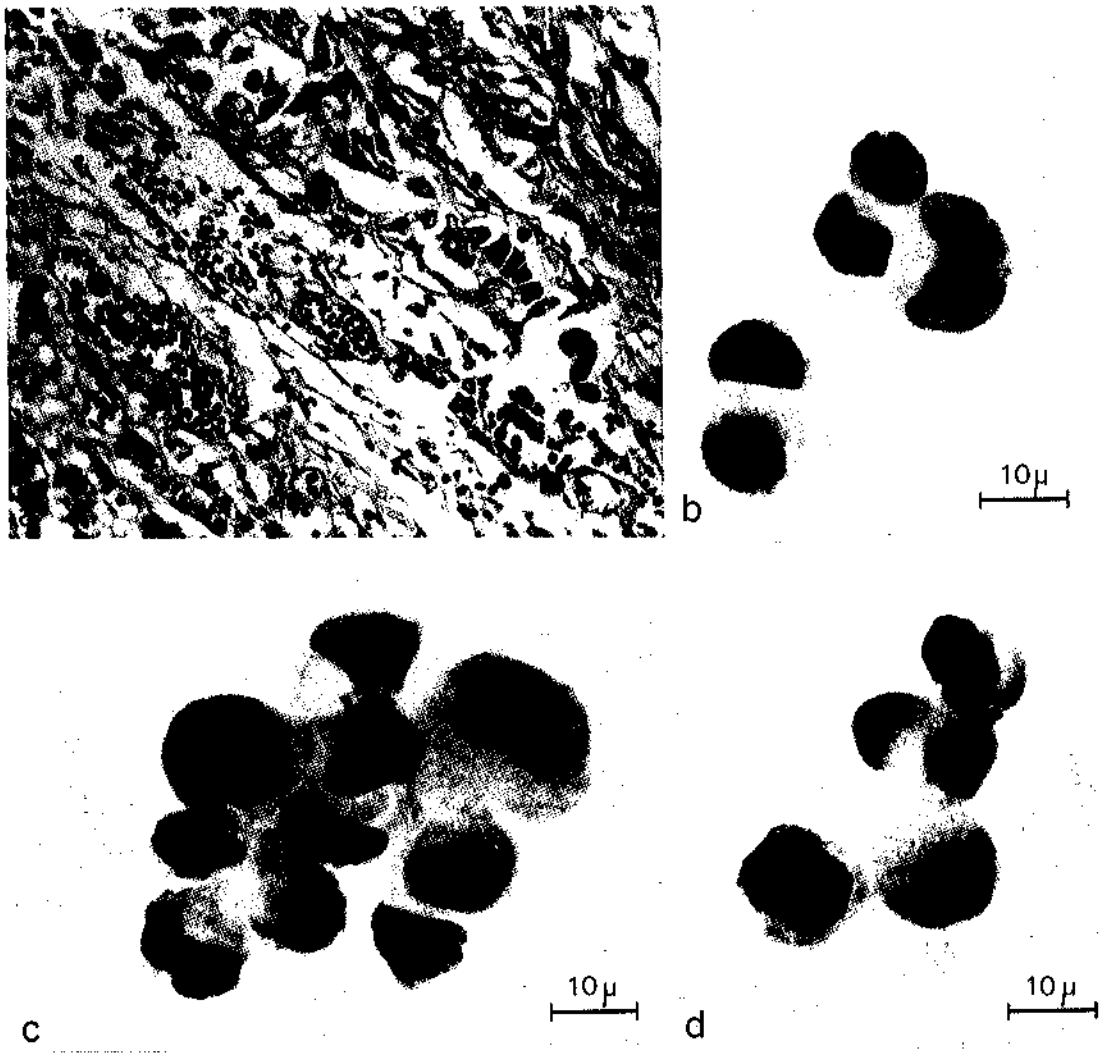


Fig. 798. Carcinomatosis meníngea difusa por adenocarcinoma gástrico. *a, Histología.* Pequeñas aglomeraciones de células adenocarcinomatosas en los espacios vasculares de la leptomeninge. *b* a *d, Células malignas en el examen citológico del líquido cefalorraquídeo.* Estas células cancerosas metastásicas exhiben agrupamientos típicos con formas acinosas o glandulares. Sus núcleos se hallan en situación excéntrica dentro del citoplasma columnar.

craneales primarias comunes que dan metástasis frecuentes al encéfalo, son carcinoma broncógeno, carcinoma mamario, melanoma, carcinoma del tracto gastrointestinal e hipernefroma (cuadro 74). La tasa de diagnósticos de células neoplásicas por carcinoma metastásico en el líquido cefalorraquídeo es más grande que por glioma primario. Las células cancerosas se identifican por los siguientes rasgos citológicos: 1) Las células cancerosas son más grandes que las gliomatosas y tienden a aglomerarse. 2) Los tipos celulares de carcinoma que dan metástasis frecuentes son adenocarcinoma y carcinoma indiferenciado.[4,17] El tipo glandular diferenciado de células cancerosas exhibe rasgos característicos que lo distinguen de las células gliomatosas; además de la tendencia a formar aglomeraciones celulares, se suele observar un citoplasma columnar abundante, con vacuolación ocasional y límites nítidos, y núcleos excéntricos. 3) Las células cancerosas de cualquier tipo histológico poseen membranas nucleares distintivas, cualquiera que sea la cantidad de cromatina, mientras que en las células gliomatosas los bordes nucleares son delicados. Las metástasis del carcinoma gástrico no son frecuentes, pero pueden causar carcinomatosis meníngea difusa (fig. 798). La exfoliación de células cancerosas es mucho más frecuente en este estado que en los tumores sólidos del encéfalo.

Cuadro 75. Incidencia de tumores primarios del encéfalo

Tumores	*% del total*
Astrocitoma	8-10
Glioblastoma y espongioblastoma	18-25
Ependimoma	5-7
Oligodendroglioma	4-6
Meduloblastoma (y neuroblastoma)	4
Meningioma	12-16
Papiloma del plexo coroideo	0,5-0,7
Pinealoma	0,4
Craneofaringioma	2,5-4
Adenoma hipofisario	8
Neurinoma	7-8
Fibroma, sarcoma, cordoma, lipoma, osteoma, condroma	4

(ADAMS, R. D. y SIDMAN, R. L.: Introduction to Neuropathology, Nueva York, McGraw-Hill, Inc., 1968.)

7. Glioma

Aspecto general

De las neoplasias primarias del encéfalo, el 40 a 45 % pertenecen al grupo de los gliomas (cuadro 75). En general, las células gliomatosas son más pequeñas que las cancerosas y se presentan solas o en aglomeraciones laxas. El citoplasma es escaso y de bordes indistintos. Las variaciones de tamaño y forma de los núcleos dependen del grado de malignidad y de los tipos histológicos. El glioblastoma multiforme puede desprender células pleomórficas y a veces células gigantes multinucleadas que poseen un citoplasma poco nítido. Sin citoplasma, las células del meduloblastoma tienden a ser casi del mismo tamaño que los linfocitos grandes y las células de avena del cáncer de pulmón. Ocurren en grupos laxos sugestivos de formaciones de rosetas. En este tumor se puede anticipar un citodiagnóstico muy exacto porque en los niños crece con rapidez y muchas veces toma el cuarto ventrículo.[18] El ependimoma está en contacto con las paredes ventriculares y puede exfoliar grupos de células tumorales que forman rosetas verdaderas. Las células tumorales son cuboides o columnares y de núcleos excéntricos.

Astrocitoma y glioblastoma multiforme

El astrocitoma de grado I o II puede descamar células tumorales en el líquido cefalorraquídeo en raras ocasiones. Estas células sólo se observan en aplastamientos o impresiones. Los núcleos son de tamaño y morfología uniformes, redondos a ovales, y de membranas nucleares delicadas. Los astrocitomas fibrilares y protoplasmáticos son difíciles de diferenciar en citología. Hay variedades especiales de astrocitoma que despliegan una trama celular distinguible.

1) Astrocitoma gemistocítico. El astrocitoma gemistocítico puro es infrecuente, pero sí ocurre mezclado con astrocitoma. Este tumor consiste en células gliomatosas características de citoplasma pletórico, con una reacción tingible verde azulada y un aspecto grueso y homogéneo en vidrio esmerilado. Los núcleos adoptan una posición excéntrica.

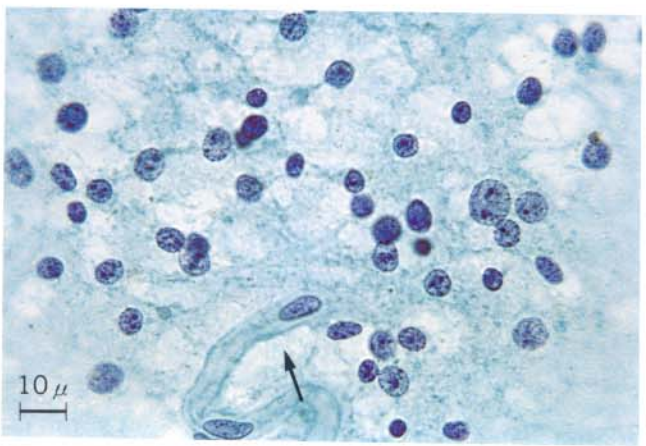


Fig. 799. Astrocitoma de grado I en un extendido aplastado. Sólo hay un ligero aumento de la cantidad (celularidad) y variación de tamaño de los astrocitos. Aunque aparece un capilar (*flecha*), no se observa proliferación endotelial.

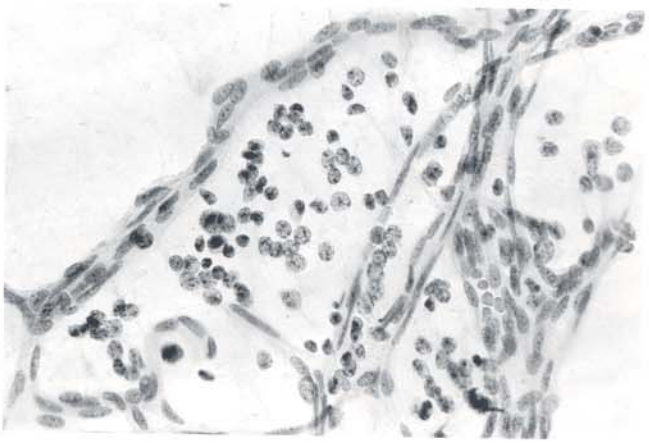


Fig. 800. Astrocitoma de grado II en un extendido aplastado de una niña de 14 años. Hay moderado aumento de la celularidad y tamaño de los astrocitos. Nótese el rasgo característico de proliferación endotelial.

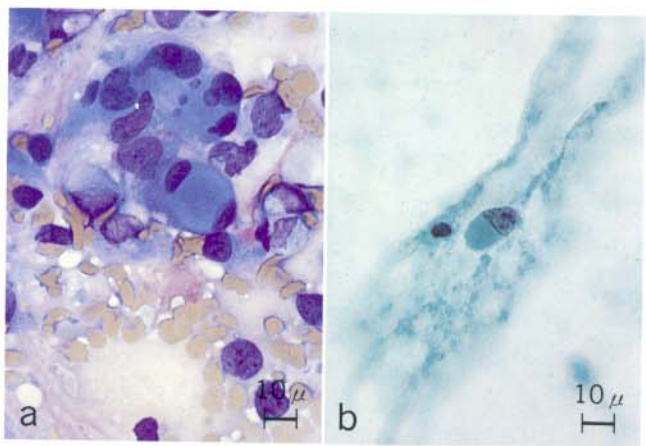


Fig. 801. Astrocitoma gemistocítico en impresiones. Los núcleos se hallan en la periferia del citoplasma pletórico. Nótese un citoplasma opaco y engrosado que hace el diagnóstico de origen gemistocítico. *a*, Giemsa. *b*, Papanicolaou.

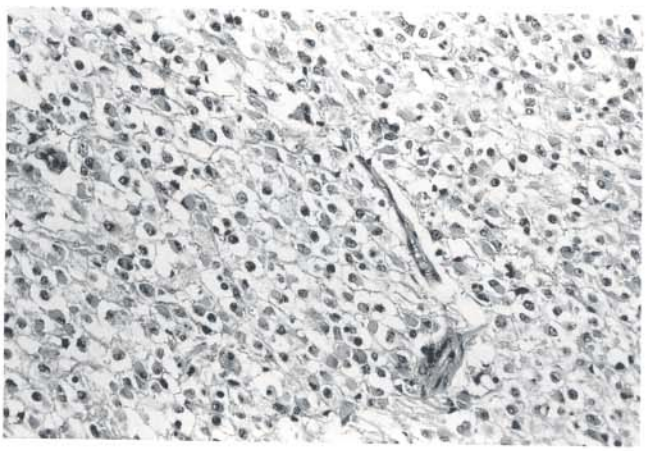


Fig. 802. Histología del astrocitoma gemistocítico. Esta forma pura de astrocitoma gemistocítico consiste en células gemistocíticas dispersas con uniformidad, que constituyen unas imágenes poliédricas o globoides. Nótese el citoplasma grueso y homogéneo característico. No se ven seudorrosetas perivasculares.

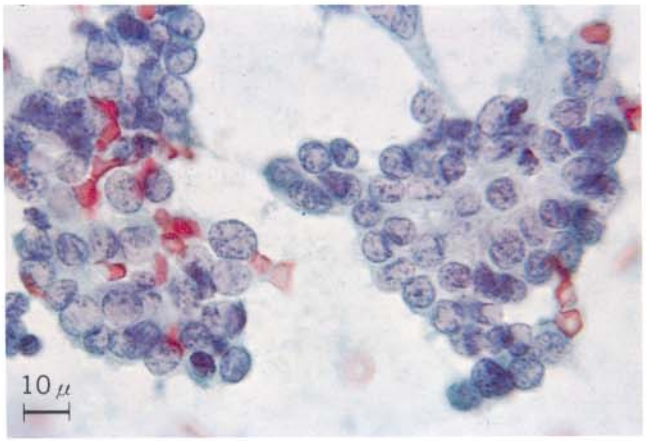


Fig. 803. Astroblastoma en un extendido aplastado de un hombre de 28 años. Este tumor muy celularizado se caracteriza por su distribución en seudorrosetas perivasculares. Es notable el hacinamiento de células ovales uniformes en torno de los eritrocitos.

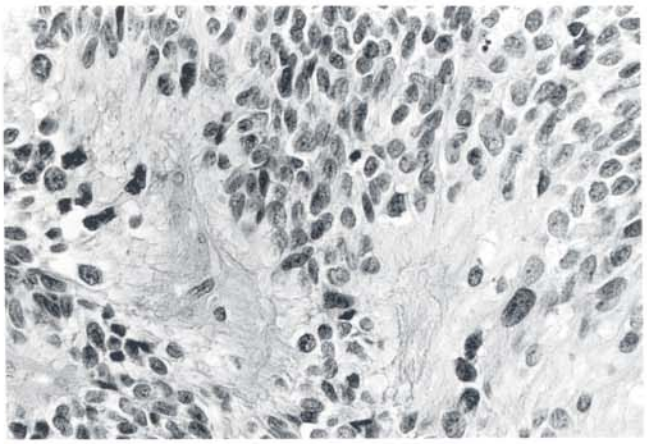


Fig. 804. Seudorroseta perivascular típica en un astroblastoma. Estas células tumorales apuntan hacia los vasos sanguíneos y presentan estructuras fibrilares.

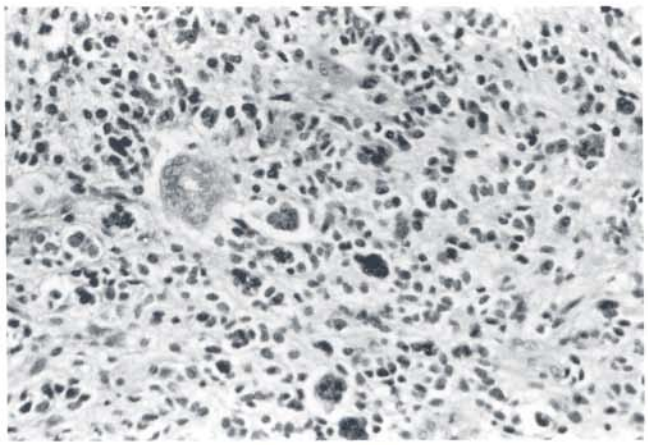


Fig. 805. Glioblastoma multiforme con infiltración difusa de células tumorales indiferenciadas que exhiben pronunciado hipercromatismo y pleomorfismo. Los componentes principales de las células tumorales son espongioblastos fusiformes. Aparecen células gigantes multinucleadas diseminadas y proliferación prominente de células endoteliales.

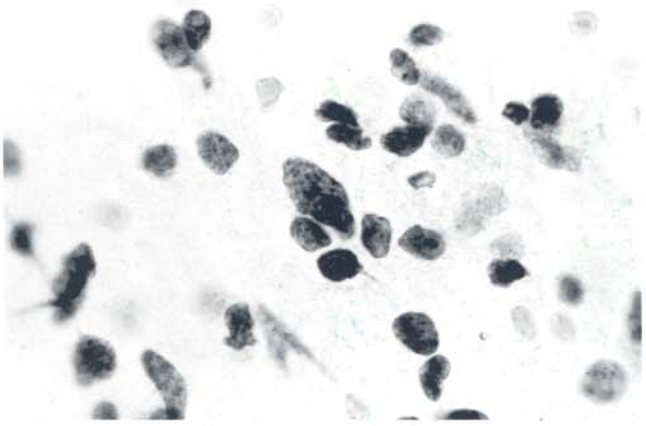


Fig. 806. Mayor ampliación de células gliomatosas indiferenciadas en un extendido aplastado de un glioblastoma multiforme. El tamaño y la forma de los núcleos varían. Aunque la cromatina aparece condensada o en grumos gruesos, el borde nuclear no está engrosado.

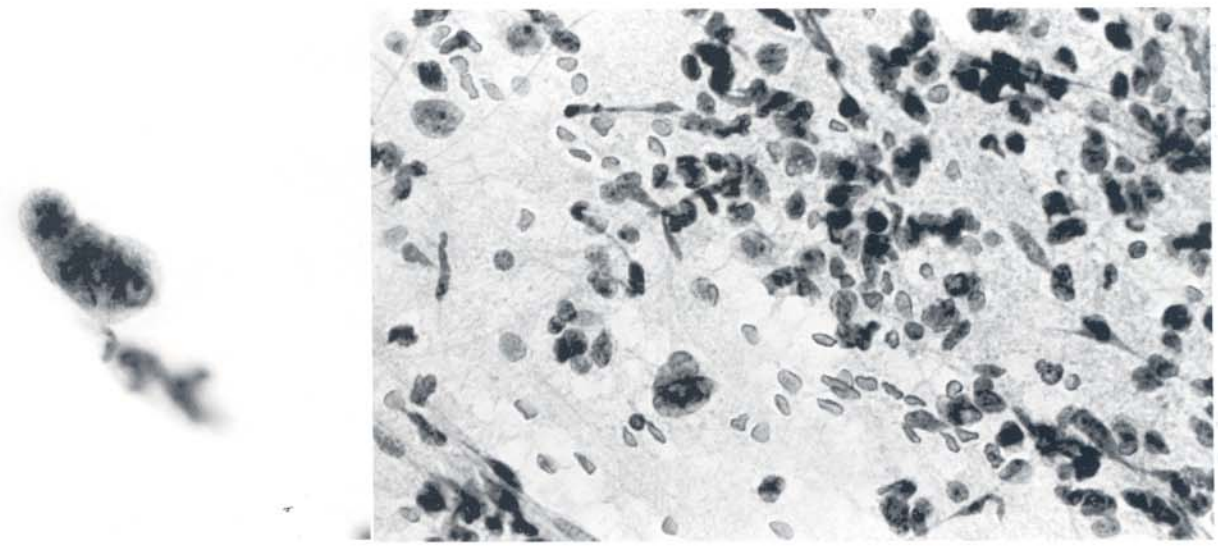


Fig. 807. Extendido aplastado de un glioblastoma multiforme. La gran celularidad y el polimorfismo de los núcleos son iguales que en el preparado histológico (fig. 805). Los núcleos se presentan denudados.

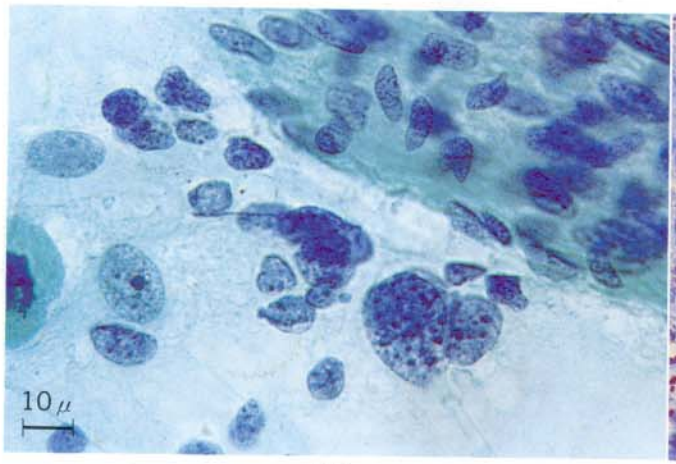
2) Astroblastoma. El astroblastoma sería una variedad rara de astrocitoma que afecta a personas de 20 a 40 años. Se puede diagnosticar astrocitoma si se consigue examinar toda la neoplasia, pero un rasgo distintivo es la formación de una seudorroseta en torno de los vasos sanguíneos. En el extendido de la muestra aplastada se disciernen platinas con fibrillas enmarañadas. Los núcleos son de tamaño y morfología uniformes.

3) Espongioblastoma polar. Esta variedad de astrocitoma histológicamente distintiva afecta a los ventrículos tercero y cuarto en niños o adolescentes. La citología despliega unas células ovoides fibrilares dispuestas en empalizada.

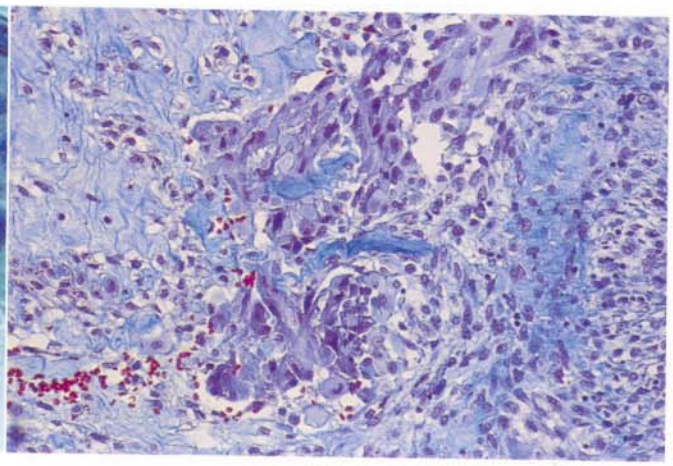
4) Glioblastoma multiforme. Tal como este nombre indica, además de las células gliomatosas redondas más pequeñas, ocurren unas células multinucleadas o multilobuladas grotescas.[28] En las aglomeraciones de células gliomatosas se discierne una imagen en empalizadas nucleares. Aunque los núcleos están dispuestos lado a lado en filas, el intervalo entre las filas consiste en tejido necrótico, de modo que a este ordenamiento se lo denomina seudoempalizada. Las células tumorales elongadas con prolongaciones citoplasmáticas cónicas suelen ser espongioblastos polares. El aumento de vasos sanguíneos dentro de la proliferación endotelial también es un hallazgo importante si se examina el extendido aplastado o una impresión.

5) Gliobastoma y sarcoma mixto (gliobastoma con un componente sarcomatoso). Esta variedad no es tan rara como se consideraba antes. En la serie de glioblastomas de Morantz y col.,[15] cerca del 8 % de los casos exhibieron esta histología en particular. La lesión es un tumor circunscripto alojado en el lóbulo temporal que toma la leptomeninge. El rasgo histológico más común es una mezcla de glioblastoma y fibrosarcoma.

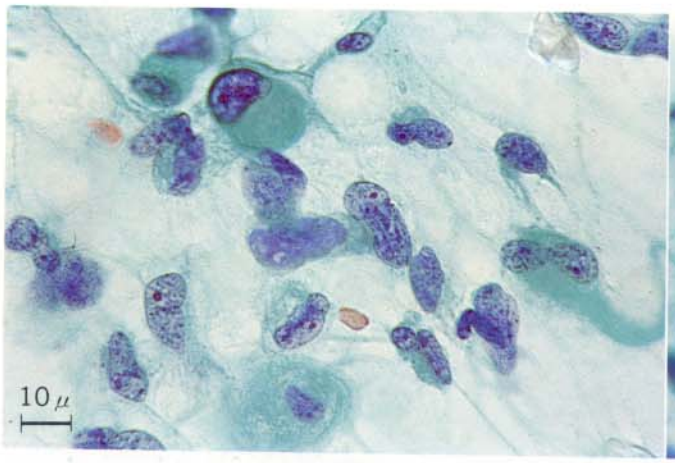
El componente sarcomatoso provendría de elementos vasculares hiperplásicos. Las células sarcomatosas se identifican en los preparados citológicos aplastados, aunque en raros casos se descaman en las impresiones (fig. 809).



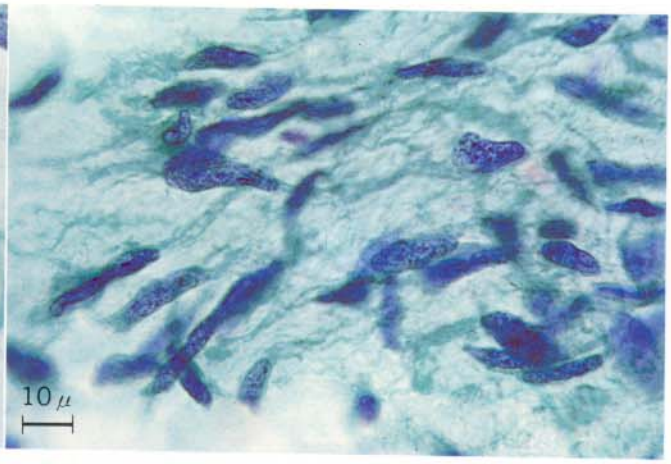
808



809a



809b



809c

Fig. 808. Glioblastoma multiforme en un extendido aplastado. Este tumor muy celularizado está constituido por células gliomatosas polimórficas, incluso células gigantes, y por células endoteliales proliferadas.

Fig. 809. Glioblastoma y fibrosarcoma mixto en una mujer de 53 años. *a*, Histología con tinción de Azan-Mallory. La zona central del glioblastoma asociada con proliferación vascular se delimita de la zona fibrosarcomatosa a la derecha. *b*, Extendido aplastado. Aparece una mezcla de astrocitos neoplásicos pletóricos con células mesenquimáticas fusiformes; la textura típica está representada por células astrocíticas aglomeradas, como si las intersectasen fascículos de células sarcomatosas fusiformes. *c*, Extendido aplastado que muestra células fibrosarcomatosas dispuestas en un fascículo. Las células fibrilares elongadas pertenecen a la zona sarcomatosa. Las cromatinas muy finas se distribuyen con uniformidad sin engrosamiento de la membrana.

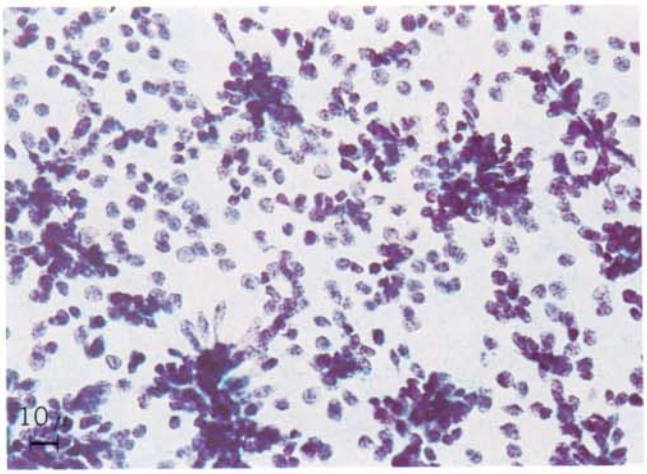


Fig. 810. Meduloblastoma en un extendido aplastado que muestra las características rosetas de Homer Wright. Los núcleos muy teñidos tienden a aglomerarse en forma radial.

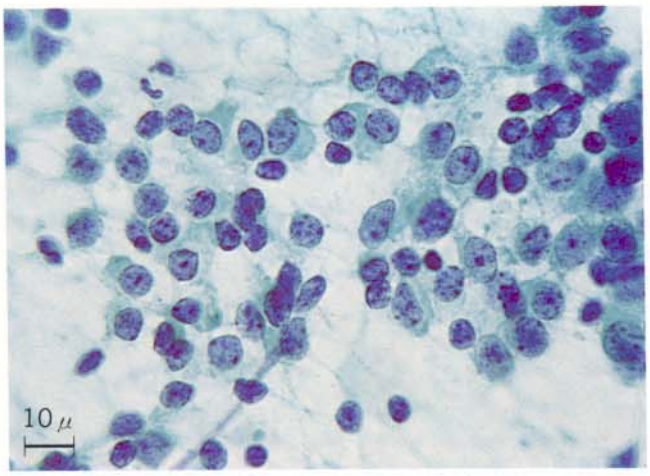
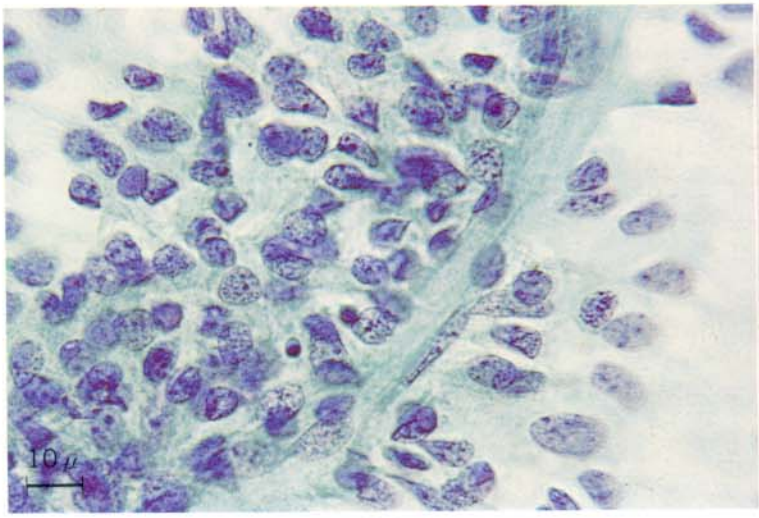
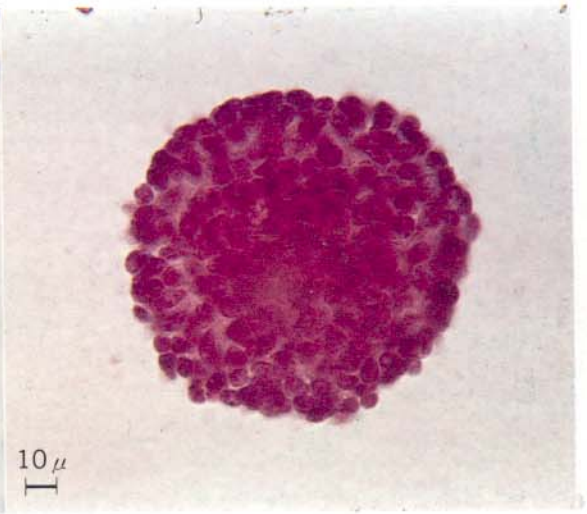


Fig. 811. Meduloblastoma en un extendido aplastado. Los núcleos están muy teñidos y por sus formas irregulares se llaman "células en zanahoria". Existe un escaso citoplasma poco tingible.



812



813

Fig. 812. Meduloblastoma que exhibe una seudorroseta perivascular en un extendido aplastado. Puntos diferenciales: 1) ausencia de proliferación endotelial en los vasos de finas paredes; 2) células tumorales monomórficas consistentes en núcleos denudados muy oscuros.

Fig. 813. Bola de células meduloblastomatosas en el líquido cerebral. Los núcleos hipercromáticos del tamaño de linfocitos tienden a aglomerarse en forma radial y se presentan denudados.

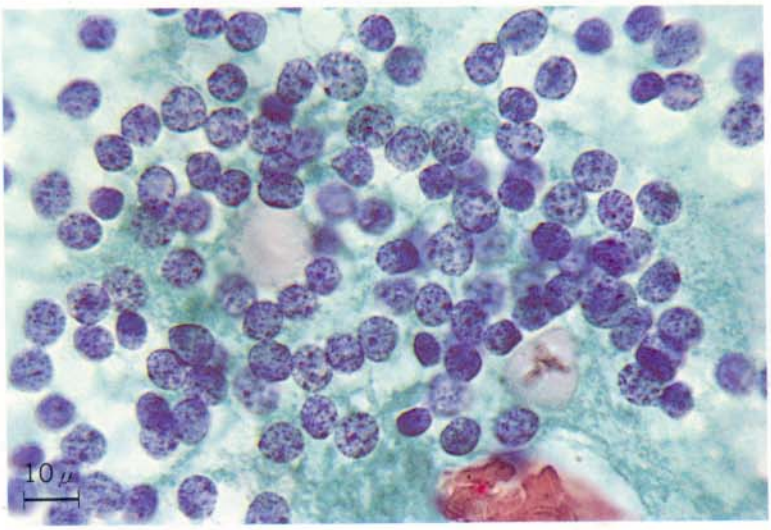


Fig. 814. Tipo común de ependimoma en un extendido aplastado. Este tumor muy celularizado se caracteriza por rosetas ependimarias en torno de conductos centrales. Los núcleos son de tamaño y morfología uniformes. Su trama de cromatina, aunque aumentada en cantidad, es finamente granular y blanda.

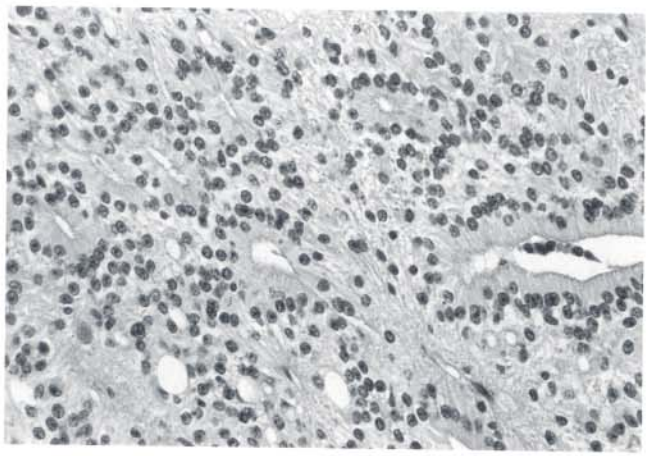


Fig. 815. Ependimoma con sus rosetas verdaderas típicas. Nótense la densa celularidad y la formación de túbulos o conductos ependimarios. En el citoplasma fibrilar se reconoce diferenciación blefaroplástica.

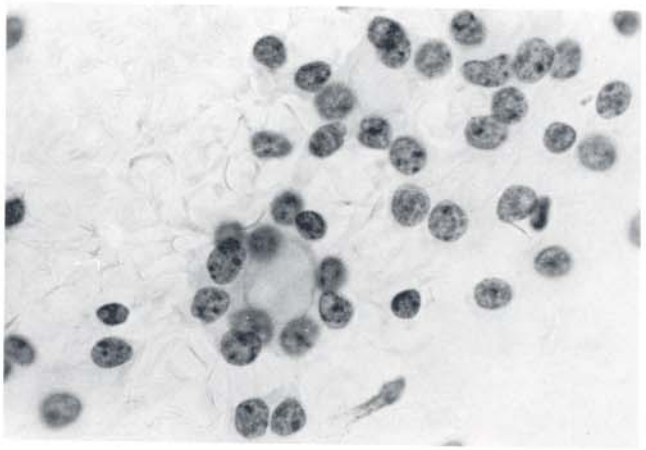


Fig. 816. Citología del ependimoma en un extendido aplastado. Los núcleos son redondos u ovales, hipercromáticos y presentan unas cromatinas punteadas finas; sus bordes nucleares son delicados y bien delineados.

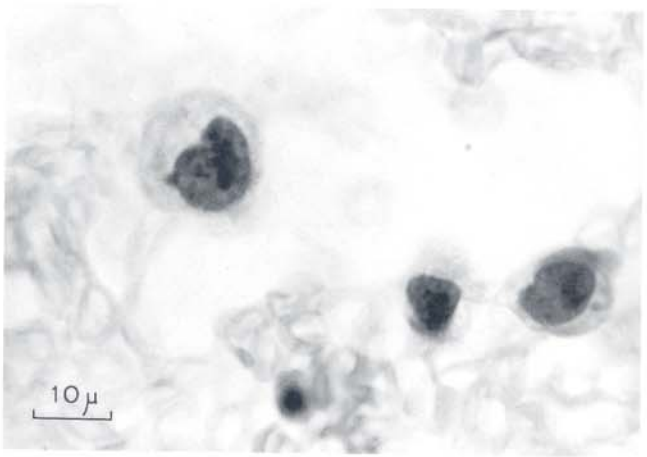


Fig. 817. Células atípicas de un ependimoma de grado III. Estas células revelan un citoplasma cuboide o columnar bajo con bordes indistintos y vacuolización. Los núcleos son de tamaño y forma variables. Se notan el hipercromatismo y la aglomeración gruesa de las cromatinas.

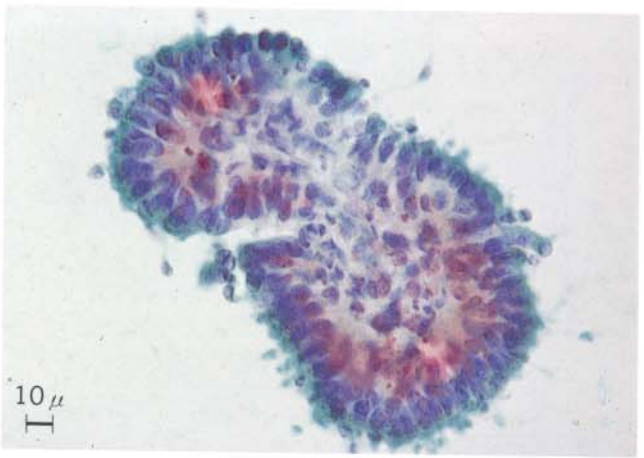


Fig. 818. Papiloma del plexo coroideo en un extendido aplastado. Las células columnares bajas se han apilado en una forma compacta y radial característica. También hay tejido estromal de sostén.

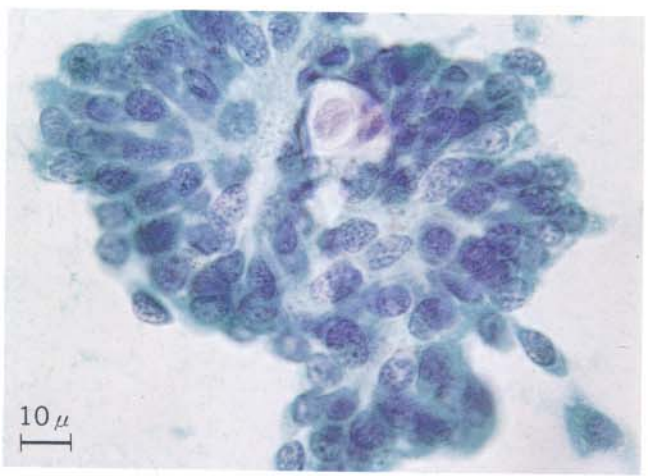


Fig. 819. Papiloma del plexo coroideo visto con mayor aumento. Los núcleos del componente tumoral principal son de formas ovales uniformes, poseen una trama de cromatina blanda y están dispuestos de modo radial.

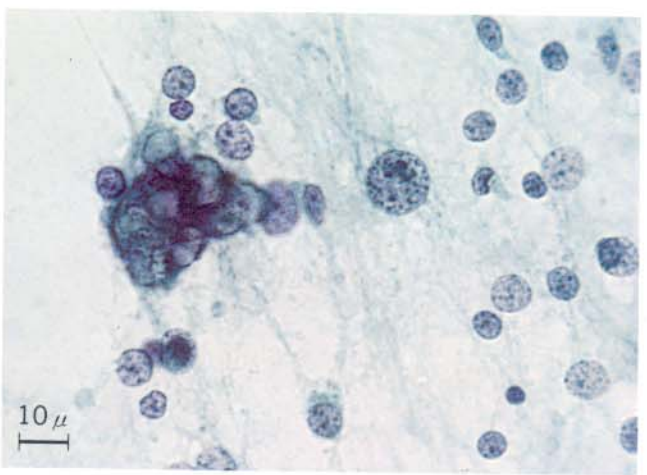


Fig. 820. Oligodendroglioma constituido por células gliomatosas redondeadas uniformes en un extendido aplastado. Los núcleos esferoides son de tamaños variables pero de morfología idéntica. En el extendido no se ve el citoplasma claro que caracteriza a la oligodendroglia. Uno de los rasgos distintivos es la calcificación.

Meduloblastoma

Este tumor afecta con frecuencia el cerebelo en los niños, en particular en la línea media. Invade el techo del cuarto ventrículo y a veces descama células tumorales en el líquido cefalorraquídeo. Los núcleos son de tamaño más o menos igual al de los linfocitos activados y se tiñen intensamente, pero a menudo son angulados. La mayoría de las células tumorales aparecen denudadas con una distribución característica en seudorroseta (roseta de Homer Wright).

Ependimoma

El líquido aspirado de un ventrículo contiene células ependimomatosas de núcleos ovales uniformes. Un rasgo patognomónico es la roseta verdadera con "blefaroplastos", pero esto no se ve siempre aunque se prepare un extendido aplastado. La mejor tinción para demostrar blefaroplastos no es la de Papanicolaou sino la PTAH. Recuérdese que las rosetas perivasculares son más frecuentes que las verdaderas.

El *papiloma del plexo* desprende aglomeraciones celulares dispuestas en papilas. Los núcleos son pequeños, redondos u ovales; y de tamaño uniforme.

Oligodendroglioma

El oligodendroglioma puede degenerar. Las células de oligodendroglioma bien preservadas con el método del aplastamiento, se presentan en láminas o como células aisladas de citoplasma finamente vesiculoso. Los núcleos suelen ser redondos y de borde nuclear delicado. Como a menudo el citoplasma está mal preservado, los núcleos aparentan estar casi denudados y se parecen a los del adenoma cromófobo. Existe considerable variación de tamaño. En ocasiones existe calcificación concomitante.

Addendum: Rosetas en el glioma. En diversos gliomas, como ependimoma, retinoblastoma y meduloblastoma, se ven rosetas. Las rosetas verdaderas, tal como las designó en un principio Flexner,[7] están dispuestas en torno del conducto central y aparecen en el retinoblastoma, así como en el ependimoma, pero la roseta que se forma como si rodease a un material fibrilar débilmente coloreado (Homer Wright[29]) aparece en el meduloblastoma.

8. Pinealoma

Aspecto general. Muchos pinealomas son tumores circunscriptos dotados de una cápsula fina que crecen por expansión; en consecuencia, el diagnóstico citológico a partir del líquido cefalorraquídeo suele ser deficiente. El pinealoma comprende muchas variantes que Friedman (1947)[8] clasificó como germinoma, teratoma indiferenciado (teratocarcinoma), teratoma diferenciado y tumor neural. Ringertz[22] subdividió al tumor en trama seminomatosa (tipo germinomatoso), en el tipo clásico de dos células y en el tipo adulto con un estroma vascular fibroglial que semeja tejido pineal maduro. Cerca de la mitad de los pinealomas entran en el tipo clásico, constituido por grandes células pálidas de aspecto epitelial y en células linfoides de tinción oscura.[19] Un caso de pinealoma clásico que encontró este autor en el J. N. R.Hospital de Tokio, se había propagado ampliamente

Cuadro 76. Citología de aplastamiento encefálico como coadyuvante del diagnóstico con cortes congelados

Patología	*Casos*	*Negativos falsos*	*Tipificación incorrecta*	*Tipificación correcta*
Quiste epidérmico (craneofaringioma)	7	0	0	7
Neurinoma	9	1	2	6
Meningioma	18	0	3	15
Sarcoma meníngeo	1	0	1	0
Melanosis	1	1	0	0
Astrocitoma	16	0	2	14
Glioblastoma	12	0	0	12
Meduloblastoma	4	0	0	4
Oligodendroglioma	2	0	1	1
Ependimoma	2	0	1	1
Adenoma hipofisario	16	0	1	15[k]
Pinealoma	1	0	0	1
Tumor metastásico	13	0	0	13
Totales	102	2 (2,0%)	11 (10,8%)	89 (87,2%)

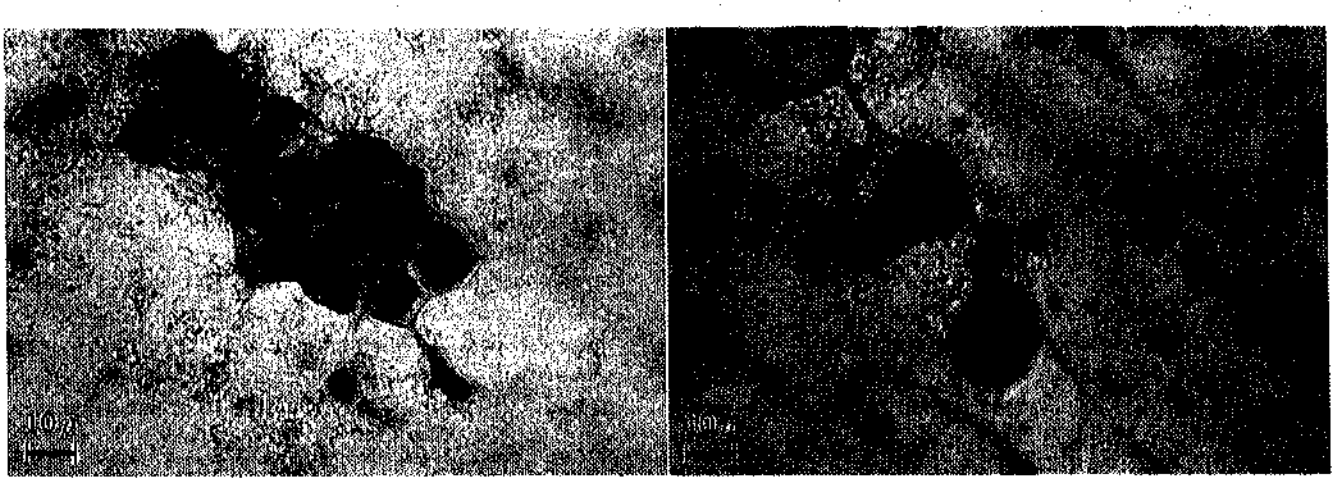


Fig. 821. Células de germinoma pineal en el líquido cerebral. Se ven aglomeraciones sueltas de células poligonales o esferoides con núcleos vesiculosos. Hacen el diagnóstico de germinoma los siguientes rasgos: 1) nucléolo prominente, único y central, con acidofilia; 2) núcleos claros y vesiculosos, y 3) mezcla con células linfoides.

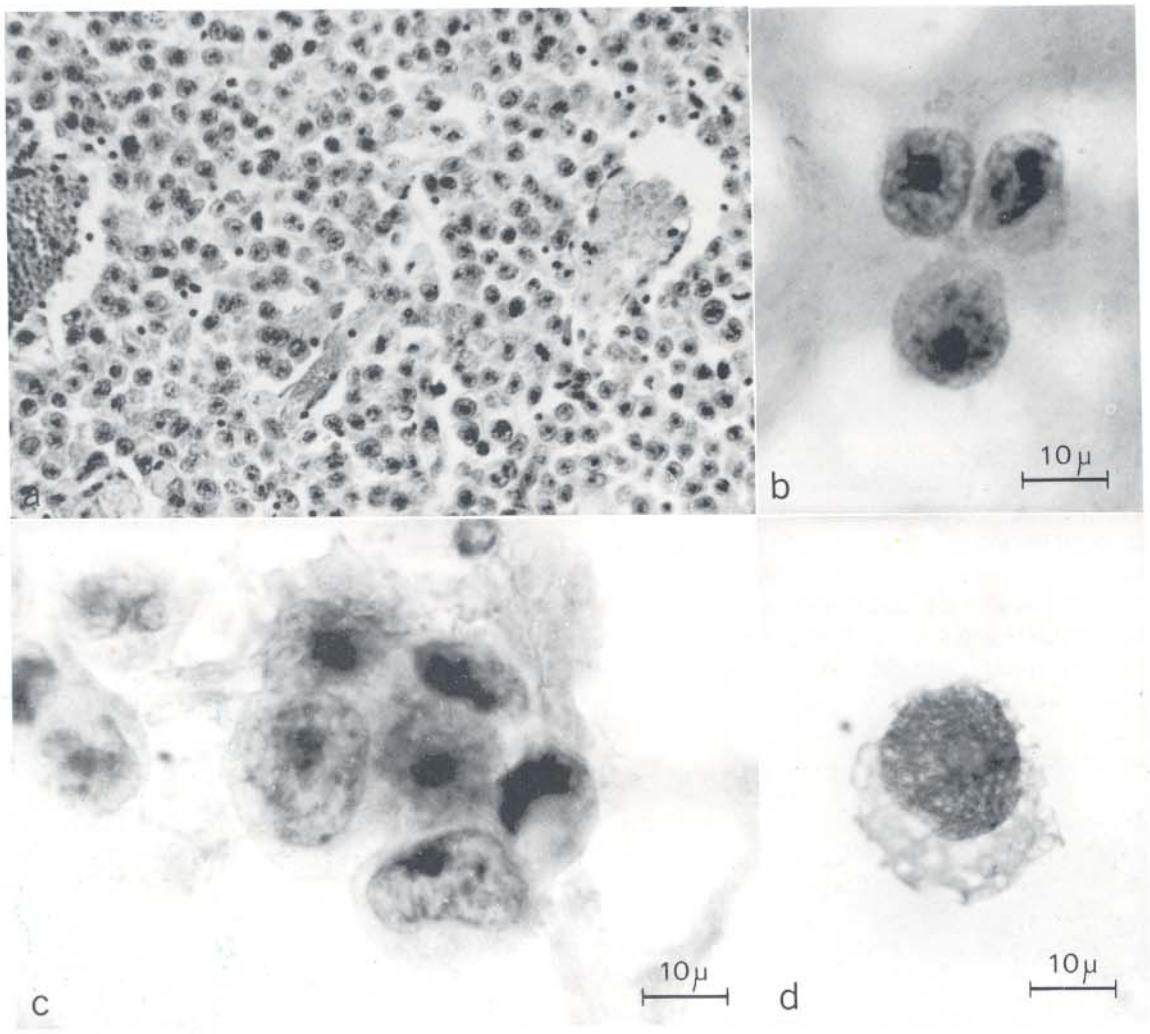


Fig. 822. Germinoma pineal que simula seminoma. *a, En la histología del germinoma aparecen láminas de grandes células tumorales poligonales y unas pocas células linfoides pequeñas.* Las células más grandes poseen núcleos claros, redondos a poliédricos, con nucléolos prominentes. El citoplasma es indistinto. A este tumor, que es idéntico al seminoma o disgerminoma, se lo considera una forma de pinealoma. *b* a *d, Citología de las células malignas en el líquido cefalorraquídeo.* Una sola célula teñida con Giemsa aparenta ser un poco más grande porque se utilizó el método de la película seca. Los núcleos son grandes, redondos o poliédricos, y vesiculosos. Los nucléolos muy prominentes hacen el diagnóstico de germinoma.

en el tercer ventrículo y había hecho implantaciones tumorales en las paredes del ventrículo, descamando grandes células malignas de tipo epitelial o de tipo canceroso en aglomeraciones laxas (fig. 822).

El *teratoma* afecta a varones jóvenes en las dos primeras décadas de la vida y su histología es idéntica a la del carcinoma embrionario de testículo. Las células tumorales se disponen en láminas sólidas y en túbulos. Un rasgo característico de este tumor es un citoplasma vacuolado claro con núcleos excéntricos.

El *germinoma* es el tipo de pinealoma más común y suele afectar a personas de 15 a 25 años.[23]

Este tipo seminomatoide se suele interpretar como pinealoma en sentido amplio; la histología de este tumor consiste en dos tipos de células, las poligonales grandes y las linfoides. Las primeras se caracterizan por un citoplasma claro y por un núcleo redondo central que contiene un nucléolo prominente.

El *pineoblastoma*, originado en células del parénquima pineal, es raro y difícil de distinguir respecto del meduloblastoma. Posee un citoplasma escaso y mal definido. Los núcleos pequeños y de tinción oscura, son los mismos que los del meduloblastoma.

9. Adenoma hipofisario

La mayoría de los adenomas hipofisarios son *adenomas cromófobos*. Este tumor crece con lentitud y se expande encima de la silla turca hacia el tercer ventrículo, erosionando al mismo tiempo el piso selar. En vista de que al adenoma cromófobo no se lo escinde por completo en todos los casos, cuando recidiva puede exfoliar células adenomatosas en el líquido cefalorraquídeo. Los núcleos son moderadamente grandes, redondos a ovales, pero de tamaño parejo. El borde nuclear es delicado y se delinea con nitidez. Por lo general se ve un solo nucléolo prominente. El citoplasma es entre pequeño y de tamaño moderado, y suele estar mal preservado.

Nota: La clasificación reciente de tumores del sistema nervioso central de la OMS separa a los tumores de células pineales respecto de los tumores de células germinativas, consistentes en germinoma, carcinoma embrionario, coriocarcinoma y teratoma.[30]

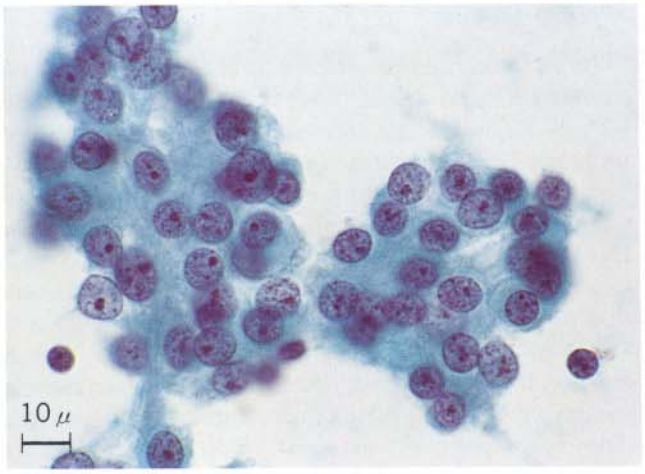


Fig. 823. Adenoma cromófobo hipofisario en un extendido aplastado. Caso de adenoma cromófobo con trama alveolar, que se caracteriza por esta aglomeración celular con buena preservación del citoplasma. Nótense el tamaño nuclear uniforme y la buena tinción de los núcleos.

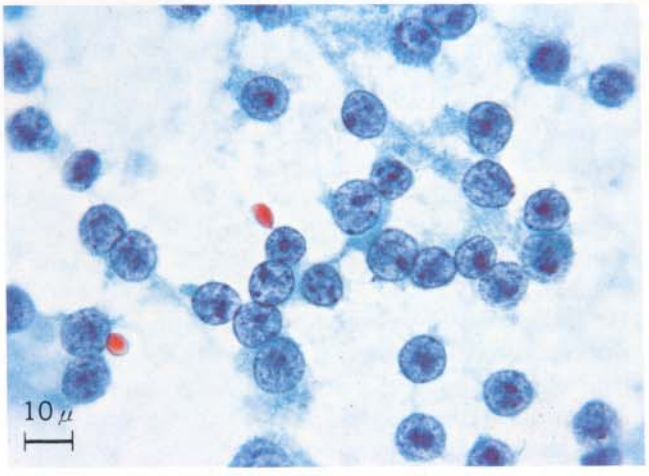


Fig. 824. Adenoma cromófobo hipofisario en un extendido aplastado. Caso de adenoma cromófobo con distribución celular difusa. Las células tumorales carecen casi de citoplasma. Los núcleos son redondos y de tamaño uniforme.

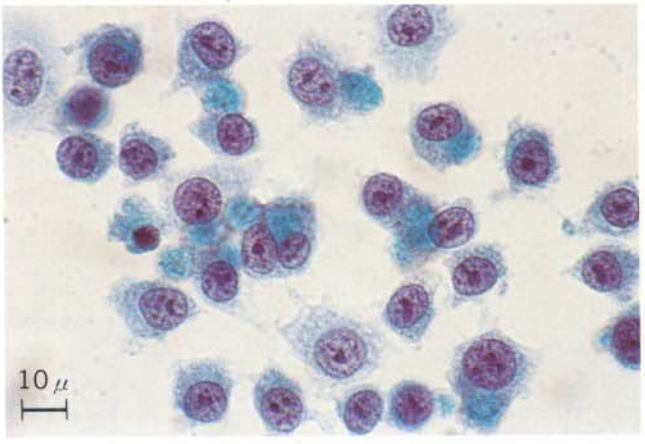


Fig. 825. Adenoma acidófilo hipofisario en un extendido aplastado. Los núcleos son hipercromáticos, redondeados y uniformes. Hay moderada cantidad de citoplasma, que es un tanto granular y se tiñe de intenso color verde azulado.

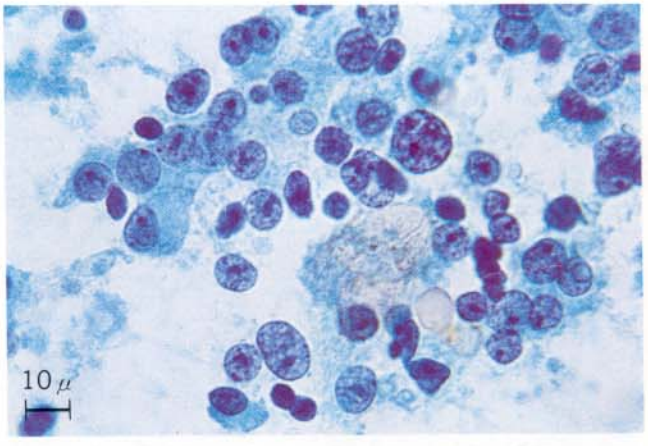


Fig. 826. Adenoma cromófobo maligno en un extendido aplastado. El tumor se descubrió en el seno esfenoidal por su comportamiento muy invasor y destructivo. Esta variación pronunciada en el contenido de cromatina y en el tamaño de los núcleos raras veces se ve en el adenoma cromófobo común; estos rasgos indicarían una verdadera malignización.[21]

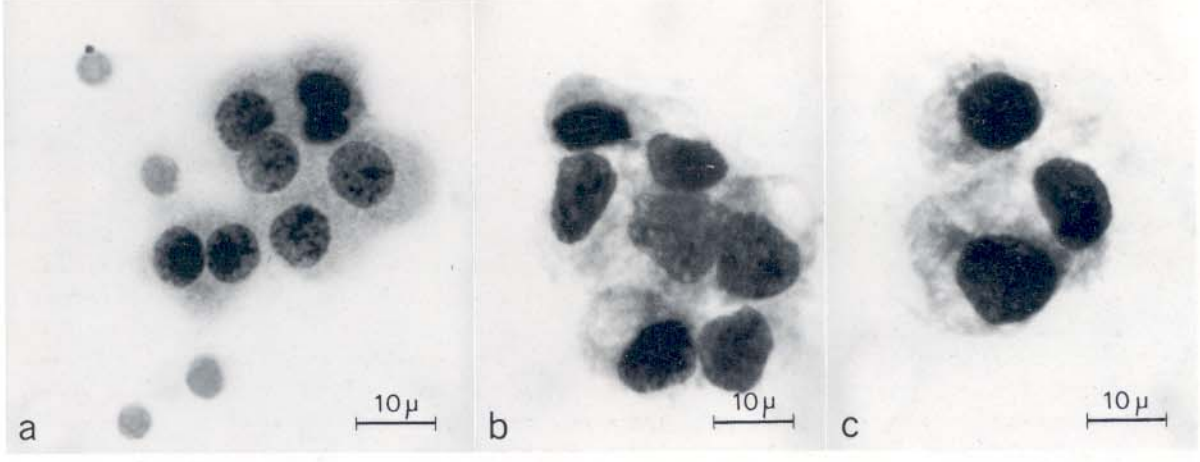


Fig. 827. Células atípicas de adenoma cromófobo en el líquido cefalorraquídeo. *a, Células de adenoma benigno exfoliadas en el líquido cefalorraquídeo tras la resección incompleta del tumor.* Los núcleos son pequeños, redondos y de tamaño uniforme. *b* y *c, Células adenomatosas teñidas con Giemsa en aglomeraciones obtenidas mediante punción aspiradora en un área quística de adenoma cromófobo.* Como este extendido fue coloreado con el método de Giemsa secado al aire, las células aparentan ser más grandes que las teñidas con Papanicolaou, pero los núcleos son muy pleomórficos e hipercromáticos. El citoplasma es bastante abundante, pero no se delinea bien.

El *adenoma cromófobo invasor* es una variedad de adenoma cromófobo que emprende un crecimiento destructivo a través del seno aéreo esfenoidal o de la nasofaringe. La citología de este tumor exhibe núcleos de tamaño y contenido de cromatina más variables que los del adenoma cromófogo benigno.

El *adenoma acidófilo* hace su manifestación clínica con gigantismo o acromegalia. Sus núcleos son esféricos y más grandes que los del adenoma cromófobo. Para demostrar los gránulos específicos es satisfactorio el método de Mallory-Heidenhain. Su citoplasma es finalmente granular y da una reacción tintorial más intensa. La eosinofilia, evidenciable al teñir con hematoxilina y eosina, aparece en la tinción de Papanicolaou como afinidad por el verde claro, que pertenece al grupo de los colorantes ácidos.

El *adenoma basófilo* es demasiado pequeño como para que se lo pueda reconocer como un tumor localizado en la silla turca.

Clínicamente se asocia con síndrome de Cushing. Las células del adenoma basófilo son de tamaño variable y dan reacción tintorial PAS positiva.

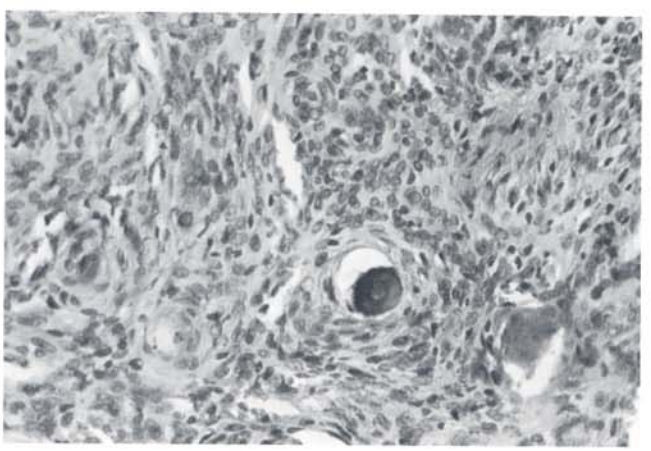


Fig. 828. Meningioma meningotelial consistente en remolinos compactos de células meningoteliales de núcleos vesiculosos ovoides y citoplasma eosinófilo. Los límites celulares son borrosos. Nótese un cuerpo psamomatoso bien distinguible en el centro del campo.

10. Meningioma

De los tumores no gliomatosos del encéfalo, los meningiomas son los más comunes y representan el 12 a 16 % de todos los tumores del sistema nervioso central. El meningioma es un tumor bien circunscripto que crece localmente, pero a veces es riesgoso operarlo porque tiende a invadir los vasos sanguíneos y los nervios craneales.[5, 9] Puede descamar células tumorales dentro del líquido cefalorraquídeo tras la resección incompleta. Las variedades malignas de meningioma no se deben ignorar porque en la serie de 57 meningiomas de Craig, el 19,3 % fueron malignos.[5] En vista de que en histopatología los criterios de malignidad se basan estrictamente en los rasgos hitológicos, las impresiones y los extendidos aplastados que demuestran los detalles nucleares son coadyuvantes útiles del diagnóstico con cortes congelados durante las intervenciones quirúrgicas (véanse figs. 777 a 779).

Clasificación

La clasificación del meningioma que contiene componentes como meningocitos y células mesenquimáticas de la piaracnoides, varía de acuerdo con la celularidad predominante y los rasgos distintivos del componente celular.

Roussy y Bucy adoptaron nueve tipos: 1) mesenquimático, 2) meningoteliomatoso, 3) angioblástico, 4) psamomatoso, 5) osteoblástico, 6) fibroblástico, 7) melanoblástico, 8) sarcomatoso y 9) lipomatoso. Russell adopta una clasificación más sencilla: 1) sincitial, 2) transicional, 3) fibroso, 4) angioblástico y 5) sarcomatoso. Algunos de los rasgos histológicos que acabamos de mencionar se reconocen en el citodiagnóstico por sus tramas y sus rasgos celulares. Como aspecto general de las células meningoteliales, los núcleos son ovales a elípticos y de contornos delicados; la cromatina es finamente granular y posee distribución pareja; el citoplasma de las células meningoteliales exhibe una estructura fibrilar y es poco definido.

Los rasgos que caracterizan al meningioma son la formación de cuerpos psamomatosos y la distribución celular en remolinos.

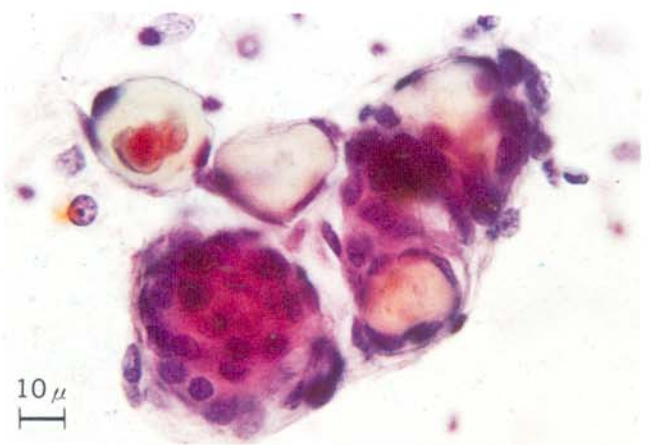


Fig. 829. Células de meningioma psamomatoso en el líquido cerebral. Las células meningoteliales ovoides están dispuestas en un remolino característico en cuyo centro aparece un cuerpo psamomatoso imperfecto.

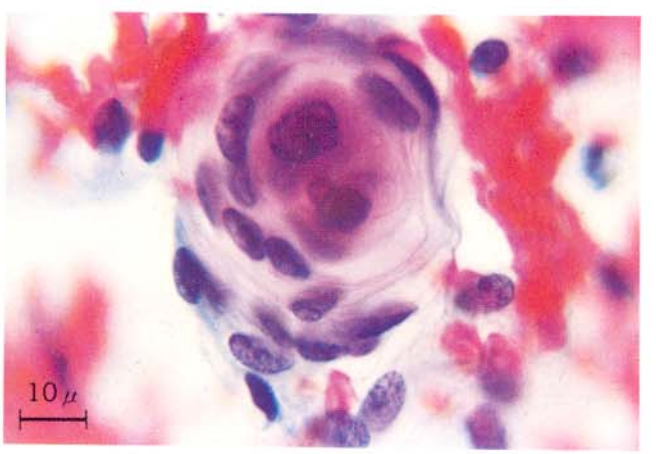


Fig. 830. Meningioma meningotelial en impresiones. Los núcleos de las células meningomatosas en remolino son elípticos y comprimidos. La distribución de la cromatina es pareja u homogénea.

11. Neurinoma (schwannoma)

El neurinoma o neurilemoma, que tiende más a formarse a partir de la vaina neuroectodérmica de Schwann, también se denomina schwannoma y afecta a las raíces de los nervios craneales y espinales. Como entidad, el neurinoma difiere del neurofibroma en que es una neoplasia fibroblástica derivada del epineurio y perineurio. La citología de este tumor consiste en fascículos de largas células fusiformes bipolares. Las características de Antoni A y B no se demuestran en los

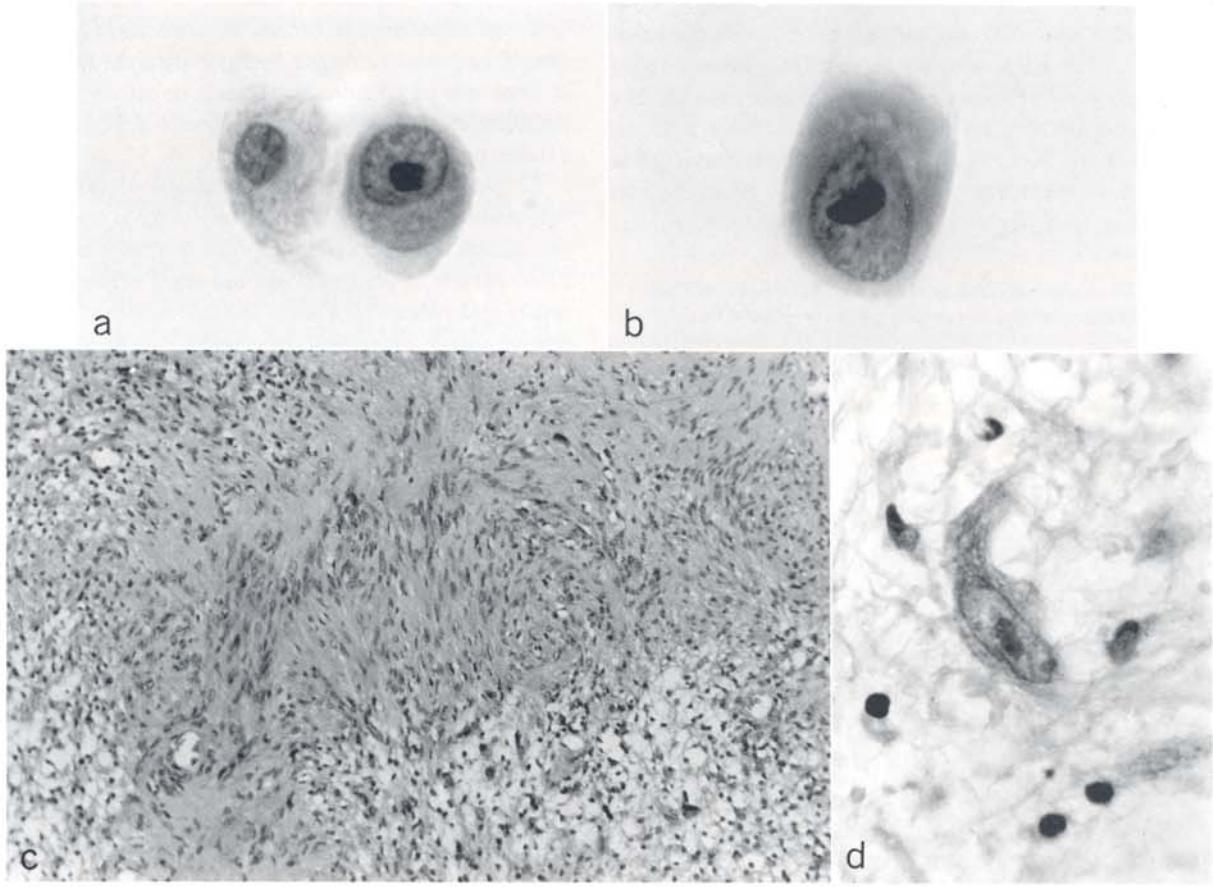


Fig. 831. Células tumorales atípicas derivadas de un neurinoma acústico. *a* y *b, Células atípicas solitarias de un neurinoma acústico recurrente, aisladas del líquido cerebral.* Estas células atípicas se obtuvieron en el filtro Millipore tras la escisión incompleta del tumor y se sospechó malignidad por el agrandamiento nuclear, la alta relación nuclear-citoplasmática y el nucléolo prominente. La ocurrencia de células gigantes benignas se confirmó en el estudio histológico y se atribuye al proceso degenerativo. *c, Histología de la pieza quirúrgica de neurinoma acústico.* El tumor consiste en fascículos entrelazados de células fusiformes elongadas en los que se reconocen empalizadas típicas de núcleos. En áreas focales con degeneración quística se ven células gigantes. *d, Célula gigante mononuclear en la histología del neurinoma acústico.* En esta imagen muy ampliada aparece una célula gigante en un tejido tumoral degenerativo laxo. Esto concuerda con la gran célula que aparece en el líquido cefalorraquídeo (*a* y *b*).

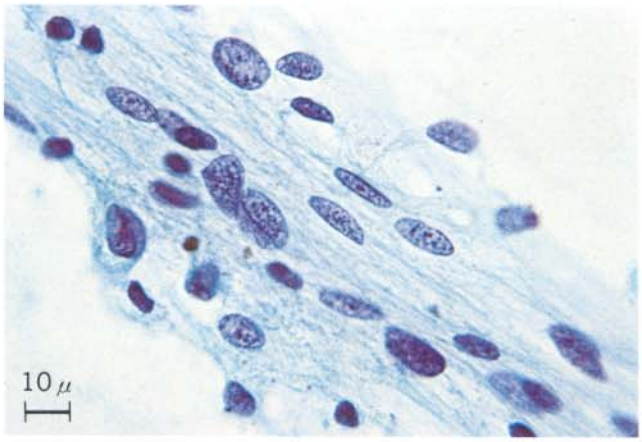


Fig. 832. Schwannoma acústico en una impresión. El schwannoma o neurinoma se caracteriza por unos haces compactos de células fibrilares elongadas, dispuestos paralelamente. Los núcleos hipercromáticos grandes ocurren a veces y no se relacionan con malignidad.

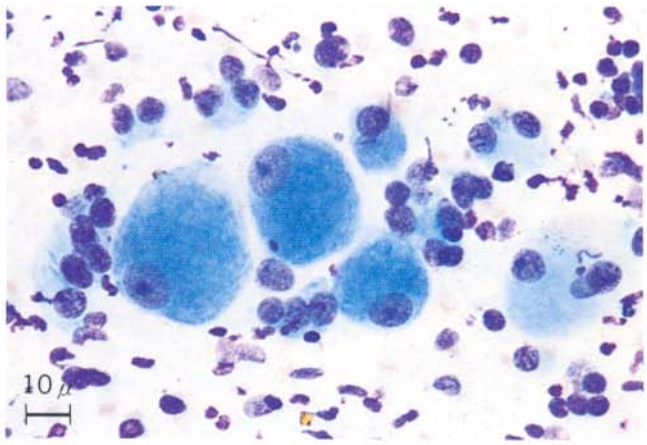


Fig. 833. Ganglioneuroma en impresiones de un tumor suprarrenal. Nótese la preponderancia de células ganglionares rollizas con núcleos excéntricos redondos, mezcladas con células gliales.

extendidos, pero sí una de las texturas características del neurinoma es la imagen en empalizadas de núcleos elípticos semejantes a un cardumen de pececillos. A causa de la degeneración, puede haber unas células espumosas cargadas de lípidos entremezcladas con las neurinomatosas. Recuérdese que, para evitar interpretaciones erróneas de malignidad, las aglomeraciones de núcleos elípticos comprenden núcleos gigantes. En el hospital de este autor hubo un caso con citología positiva falsa en el líquido cefalorraquídeo tras la extirpación incompleta de un gran neurinoma acústico (fig. 831a y b). Kernohan y Sayre[9] describieron células gigantes en el neurinoma, pero esto no se relaciona con malignidad y se atribuye a un proceso degenerativo (fig. 831c y d).

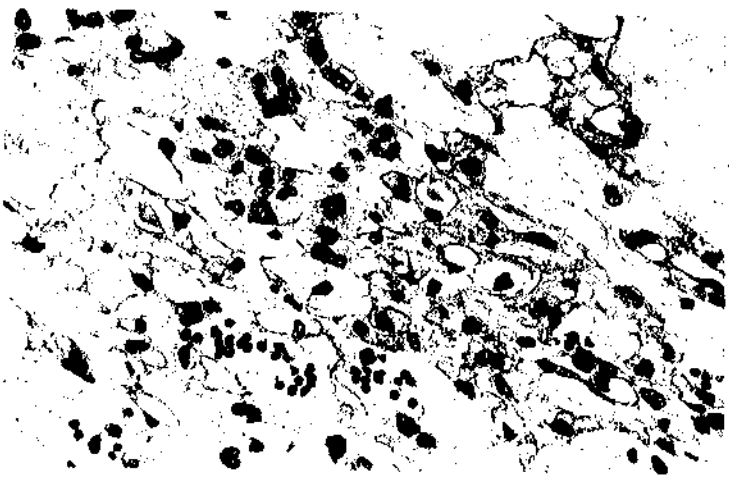
12. Cordoma

El cordoma es un tumor benigno originado en restos de la notocorda. La histología de este tumor consiste en células pleomórficas incluidas en una matriz mucinosa laxa. El adjetivo de fisalíferas se aplica a las células con citoplasma vacuolado por el contenido de glucógeno y mucina (figs. 834 y 835).

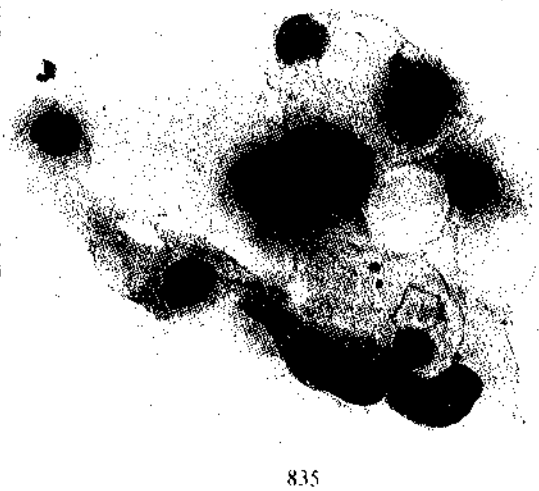
13. Quiste dermoide y craneofaringioma

El *quiste dermoide* es una malformación congénita que despliega predilección por la región parahipofisaria. El quiste tiene una pared fibrosa revestida de epitelio pavimentoso estratificado por dentro. Los aspirados del quiste contienen células pavimentosas maduras.

El *craneofaringioma*, tumor benigno común que puede originarse en restos de la bolsa de Rathke o relacionarse con metaplasia de células adenohipofisarias, adopta una localización supraselar, pero en ocasiones crece dentro de la silla. El quiste está rodeado por áreas sólidas constituidas por bandas anastomóticas de epitelio pavimentoso estratificado con estratos celulares periféricos columnares; el cuadro histológico se conoce como adamantinoma de hipófisis. Los aspirados del quiste contienen células pavimentosas maduras aisladas o



834



835

Fig. 834. Histología de un cordoma intracraneal originado en el clivus de una mujer de 42 años. La textura mucinosa laxa consiste en células "fisalíferas" vacuoladas.
Fig. 835. Impresión de un cordoma que exhibe grandes vacuolas en el citoplasma. Los núcleos son grandes, de tamaño variable y ricos en gránulos de cromatina.

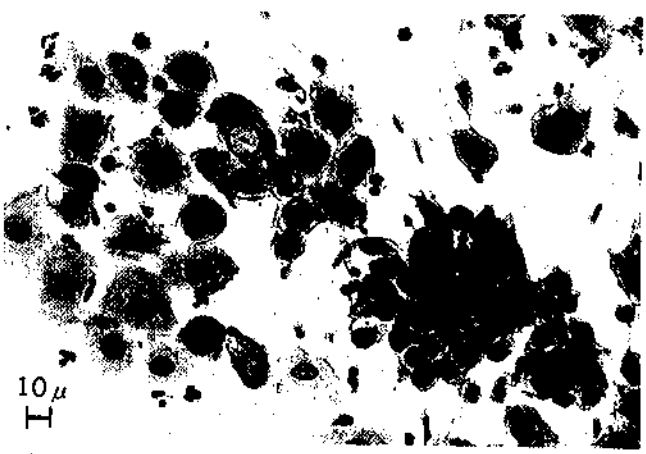


Fig. 836. Craneofaringioma en el extendido de un aspirado de un nódulo supraselar quístico. Se reconocen dos tipos de células: 1) células columnares aglomeradas cuyos núcleos son ovales y uniformes y 2) células pavimentosas de tipo parabasal.

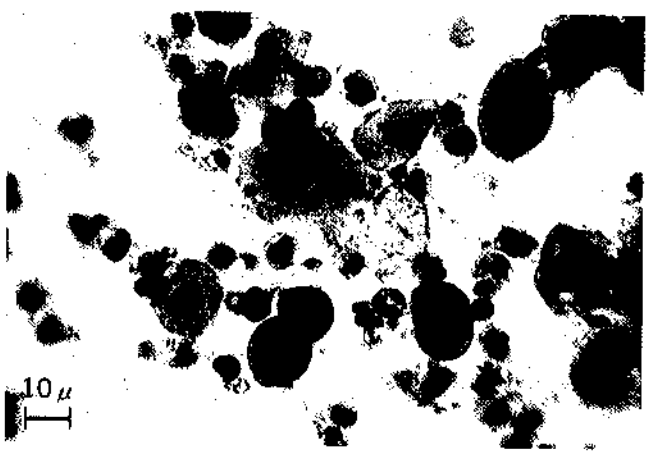


Fig. 837. Craneofaringioma con componentes celulares pavimentosos en el extendido de un aspirado. Nótense las células pavimentosas bien diferenciadas, con queratinización o sin ella.

aglomeradas, células espumosas cargadas de lípidos y cristales de colesterol.

El *coristoma*, que ocurre en la neurohipófisis, también se denomina pituicitoma o mioblastoma de células granulares por su citoplasma eosinófilo abundante y de textura granular (fig. 838). Se habla de "infundibuloma" hipofisario para designar al tumor que es, en esencia, de origen neurohipofisario.

14. Melanosis neurocutánea y melanoma meníngeo

La *melanosis neurocutánea* se caracteriza por nevos pigmentados gigantes en la piel y por una proliferación difusa o a veces nodular de melanocitos que normalmente se reconocen en la piamadre. El líquido cefalorraquídeo contiene algunas células cargadas de melanina.

El *melanoma meníngeo primario* sin nevos cutáneos concomitantes se diagnostica por los sedimentos de líquido cefalorraquídeo.

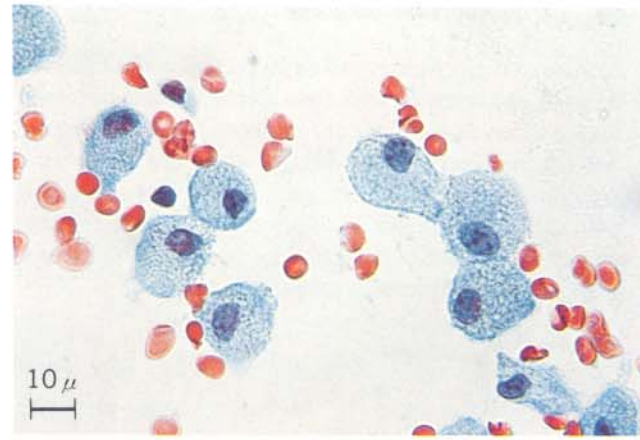


Fig. 838. Impresión citológica de un infundibuloma. Se discute si el infundibuloma, así llamado por su localización, deriva de pituicitos o de la neurohipófisis; por lo tanto, también se denomina coristoma o mioblastoma. El tumor consiste en células redondas de citoplasma oscuro granular.

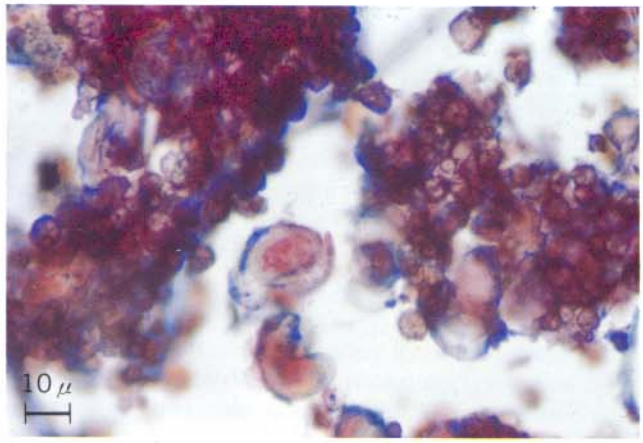


Fig. 839. Melanocitos en el líquido cefalorraquídeo de un varón de 15 años con "mélanoses neurocutanées" (Touraine). Este raro caso, que obedecería a un defecto del desarrollo congénito, se caracteriza por una difusa proliferación melanoblástica en la piel y en las meninges. Nótese la gran cantidad de células de tamaño variable que contienen melanina.



Fig. 840. Huevos operculados ovales de distoma pulmonar en un extendido aplastado de una lesión granulomatosa en el encéfalo. Pertenece a una mujer de 37 años. Nótese el miracidio dentro de un huevo de pared gruesa.

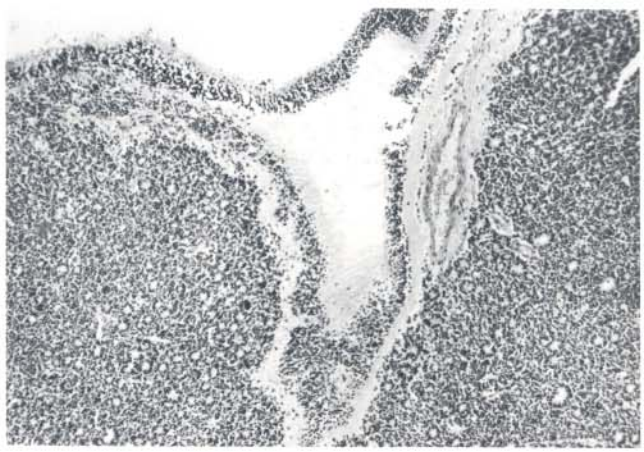


Fig. 841. Histología de un retinoblastoma en un niño de 2 años. Infiltración masiva de células tumorales linfocitoides muy tingibles. Nótese la formación de rosetas verdaderas de Flexner. (Gentileza del doctor Kawachi, J., Hospital de la Prefectura de Miyazaki, Miyazaki, Japón.)

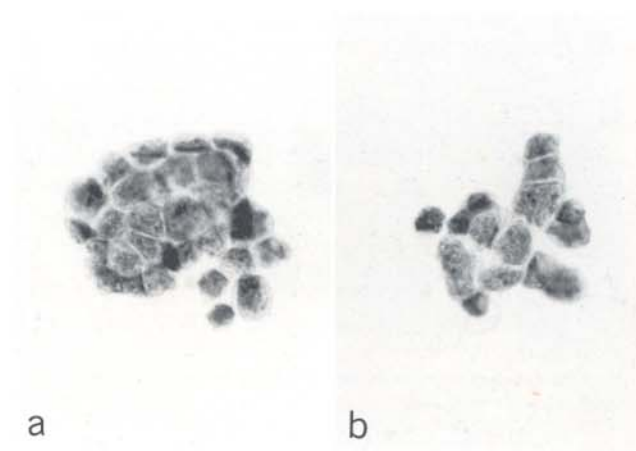


Fig. 842. Células retinoblastomatosas en aspirados de la cámara anterior del ojo. *a*, Células muy aglomeradas y casi denudadas, dispuestas en forma circular, con filas de células en tándem. *b*, Los núcleos densamente teñidos son poliédricos porque están muy adosados entre sí.

15. Paragonimiasis cerebral

Paragonimus westermani es un parásito ampliamente distribuido en Lejano Oriente, que afecta al tracto respiratorio. En los extendidos del esputo aparecen los huevos operculados pardos amarillentos. Aunque ataca con preferencia al pulmón, a veces se forman granulomas en el encéfalo (fig. 840) que se manifiestan en clínica como una lesión que ocupa espacio. El líquido cefalorraquídeo puede exhibir eosinofilia y aumento del contenido proteico.

16. Retinoblastoma

El retinoblastoma afecta a menores de 3 años y su malignidad varía en la misma medida que la del meduloblastoma. Se propaga directamente de un ojo a otro por el nervio óptico. Si toma el espacio subaracnoideo, puede sembrarse en el líquido cefalorraquídeo.

El tumor está constituido por masas de células hipercromáticas linfocitoides o de avena, que se disponen en rosetas de Flexner características. La citología del aspirado de la cámara ocular puede revelar unas células hipercromáticas muy aglomeradas y carentes casi de citoplasma. La distribución sugestiva de rosetas reviste utilidad diagnóstica en el estudio citológico.

Como de vez en cuando el tumor se propaga a lo largo del nervio óptico dentro del espacio subaracnoideo, la citología positiva con rosetas en el líquido cefalorraquídeo de los lactantes plantea el diagnóstico diferencial entre retinoblastoma, meduloblastoma y neuroblastoma metastásico.

BIBLIOGRAFÍA

1. ADAMS, R. D., and SIDMAN, R. L.: Introduction to Neuropathology. New York, McGraw-Hill, Inc., 1968.
2. ARONSON, S. M., GARCIA, J. H., and ARONSON, B. E.: Metastatic neoplasms of the brain: Their frequency in relation to age. Cancer, *17*: 558, 1964.
3. BOTS, G. TH. A. M., WENT, L. N., and SCHABERG, A.: Results of a sedimentation technique for cytology of cerebrospinal fluid. Acta Cytol., *8*: 234, 1964.
4. BURTON, J. F.: Tumor cells in cerebrospinal fluid. Med. Radiography Photography, *37*: 22, 1961.
5. CRAIG, W. MCK.: Malignant intracranial endotheliomata. Surg. Gynec. Obstet., *45*: 760, 1927.
6. DURFEE, G. R.: Cytologic techniques. *In* Koss, L. G. (Ed.): Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases, 2nd ed. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1968.
7. FLEXNER, S.: A peculiar glioma (neuroepithelioma ?) of the retina. Johns Hopkins Hosp. Bull., *2*: 115, 1891.
8. FRIEDMAN, N. B.: Germinoma of the pineal: Its identity with germinoma ("seminoma") of testis. Cancer Res., *7*: 363, 1947.
9. KERNOHAN, J. W., and SALRE, G. P.: Tumors of the central nervous system. *In* Atlas of Tumor Pathology. Washington, D. C., AFIP, 1952.
10. KLINE, T. S.: Cytological examination of the cerebrospinal fluid. Cancer, *15*: 591, 1962.
11. KNIGHTS, E. M., Jr.: Metastatic tumors of brain and their relation to primary and secondary pulmonary cancer. Cancer, *7*: 259, 1954.
12. LESSE, S., and NETSKY, M. G.: Metastasis of neoplasms to the central nervous system and meninges. A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat., *72*: 133, 1954.
13. MATHIOS, A. J., NIELSEN, S. L., BARRET, D., and KING, E. B.: Cerebrospinal fluid cytomorphology: Identification of benign cells originating in the central nervous system. Acta Cytol., *21*: 403, 1977.
14. MCCORMICK, W. F., and COLEMAN, S. A.: A membrane filter technic for cytology of spinal fluid. Am. J. Clin. Path., *38*: 191, 1962.
15. MORANZ, R. A., FEIGIN, I., and RANSOHOFF, J.: Gliosarcoma; a clinical and pathological survey of 24 cases. J. Neurosurg., *45*: 398, 1976.
16. National Health Education Committee: Survival experience of patients with malignant neoplasms; The end-results group for the 4th National Cancer Conference, Mineapolice 1960, in facts on the major killing and crippling diseases in the United States today. New York, National Health Education Committee Inc., 1961.
17. NAYLOR, B.: The cytologic diagnosis of cerebrospinal fluid. Acta Cytol., *8*: 141, 1964.
18. POLMETTER, F. E., and KERNOHAN, J. W.: Meningeal gliomatosis; a study of 42 cases. Arch. Neurol. Psychiat., *57*: 593, 1947.
19. RAMSEY, H. J.: Ultrastructure of a pineal tumor. Cancer, *18*: 1014, 1965.
20. REYNAUD, A. J., and KING, E. B.: A new filter for diagnostic cytology. Acta Cytol., *11*: 289, 1967.
21. RICOY, J., CARRILLO, R., GARCIA, J., and BRAVO, G.: Dissemination of pituitary adenomas. Acta Neurochir., *31*: 123, 1974.
22. RINGERTZ, N., NORDENSTAM, H., and FLYGER, G.: Tumors of the pineal region. J. Neuropath. Exper. Neurol., *13*: 540, 1954.
23. RUSSELL, D. S., and RUBINSTEIN, L. J.: Pathology of Tumours of the Nervous System, 4th ed. London, Edward Arnold, 1977.
24. SAIGO, P., ROSEN, P. P., KAPLAN, M. H., SOLAN, G., and MELAMED, M. R.: Identification of cryptococcus neoformans in cytologic preparations of cerebrospinal fluid. Am. J. Clin. Path., *67*: 141, 1977.
25. SAYK, J.: Cytologie der Zerebrospinalflüssigkeit. Jena, Fischer Verlag, 1962.
26. STÖRTEBECKER, T. P.: Metastatic tumors of the brain from a neurosurgical point of view; a follow-up study of 158 cases. J. Neurosurg., *11*: 84, 1954.
27. TOM, M. I.: Metastatic tumours of brain. Canad. Med. Assoc. J., *54*: 265, 1946.
28. WAGNER, J. A., FROST, J. K., and WISOTZSKEY, H., Jr.: Subarachnoid neoplasia incidence and problems of diagnosis. Southern Med. J., *53*: 1503, 1960.
29. WATSON, C. W., and HAJDU, S. I.: Cytology of primary neoplasms of the central nervous system. Acta Cytol., *24*: 40, 1977.
30. WHO International Histological Classification of Tumours. *In* ZULCH, K. J. et al (Ed.): Histological typing of tumours of the central nervous system. Geneva, 1979.
31. WRIGHT, J. H.: Neurocytoma or neuroblastoma: A kind of tumor not generally recognized. J. Exp. Med., *12*: 556, 1910.

26 Derrames en cavidades corporales

1. Preparación de extendidos

Centrifugación

Ésta es la técnica citológica más común y más sencilla para los derrames serosos. Para que no se forme fibrina se agregan anticoagulantes durante la toracentesis y paracentesis o justo después: 1) aspírese el líquido con una jeringa heparinizada y 2) agréguese al líquido solución balanceada de citrato de sodio (3,8 %) o una mezcla de solución oxalatada (1,2 g de oxalato de amonio cristalino y 0,8 g de oxalato de potasio cristalino en 100 ml de agua destilada) hasta una concentración final de una decimoquinta parte. Conviene enviar la muestra de líquido al laboratorio de citología inmediatamente, pero si no se puede evitar la demora, manténgase la muestra en un recipiente con hielo; los componentes celulares se preservan bien aunque la muestra se deje de un día para otro. Papanicolaou recomendó la adición de partes iguales de alcohol al 50 % a las muestras de líquido, pero nosotros preferimos una concentración más baja de alcohol etílico agregando un poco de formol al alcohol al 50 %. La solución para el pretratamiento se prepara con 2 ml de formol, 68 ml de solución electrolítica balanceada y 30 ml de alcohol etílico al 95 %. El método de centrifugación con pretratamiento tiene la ventaja de que se preservan bien los elementos celulares y se acentúan los efectos de la centrifugación. El inconveniente es que el alcohol coagula a los exudados ricos en proteína y que a menudo se pierden elementos celulares al hacer los preparados mojados.

Bloque celular

El bloque celular se prepara de la misma manera que el histológico; se fija, se deshidrata y después se incluye el sedimento en parafina con la finalidad de cortarlo[11,23,102] (fig. 115).

Para examinar una muestra completa son preferibles los cortes seriados o los intercalados de unos 5 μ de espesor. Para obtener cortes seriados intercalados tomamos una cinta con dos o tres cortes cada cinco cortes o más. Aunque la preparación de los portaobjetos insume su tiempo, los detalles de las células en aglomeraciones grandes en que hay mucha superposición, se demuestran con la misma nitidez que con las técnicas histológicas comunes a las cuales está acostumbrado el patólogo (fig. 843).

Filtrado con membrana

La filtración con la membrana del filtro Millipore, del filtro Nuclepore, etc., es satisfactoria en teoría para concen-

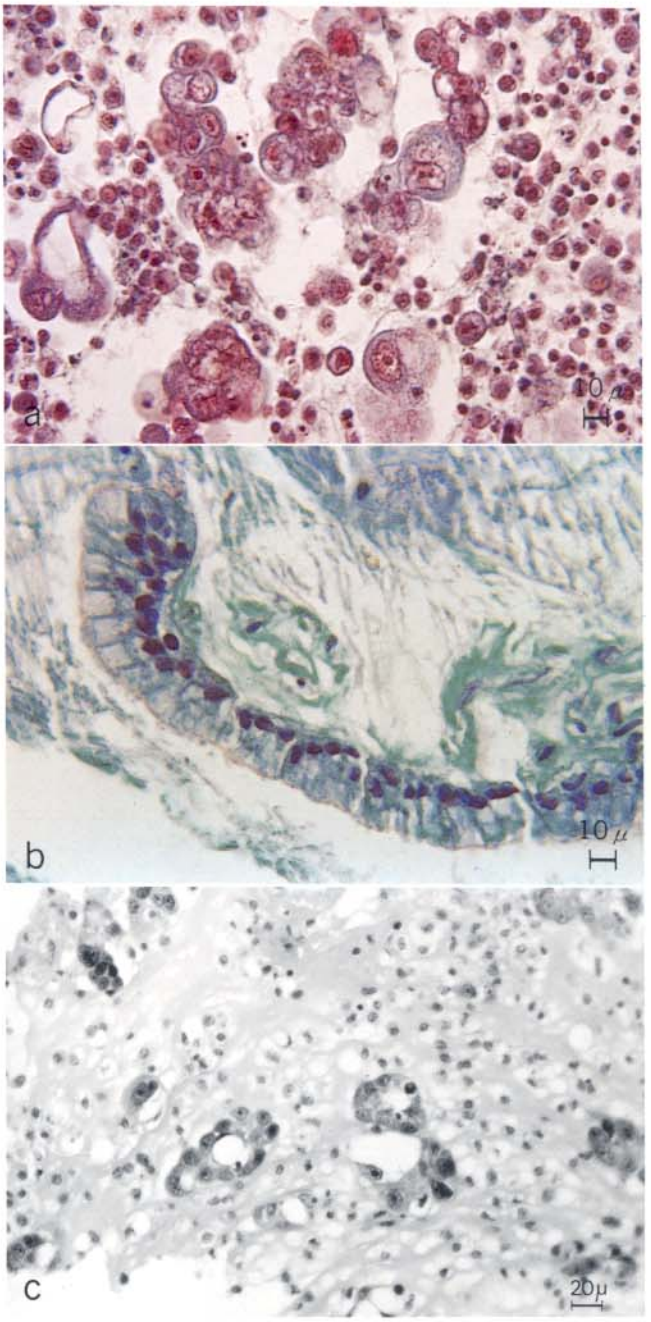


Fig. 843. Bloque celular del sedimento ascítico. *a*, De un caso de carcinoma embrionario. Este corte se parece al histológico y exhibe una mezcla de células inflamatorias con células malignas que forman una aglomeración tubular. *b*, De un caso de seudomixoma peritoneal. Estructura glandular revestida por células columnares altas que contienen mucina y que concuerda con los rasgos histológicos del seudomixoma peritoneal. *c*, De una mujer con adenocarcinoma de ovario. La distribución de tipo glandular se reconoce mejor en el bloque celular que en el extendido directo a causa de los cortes.

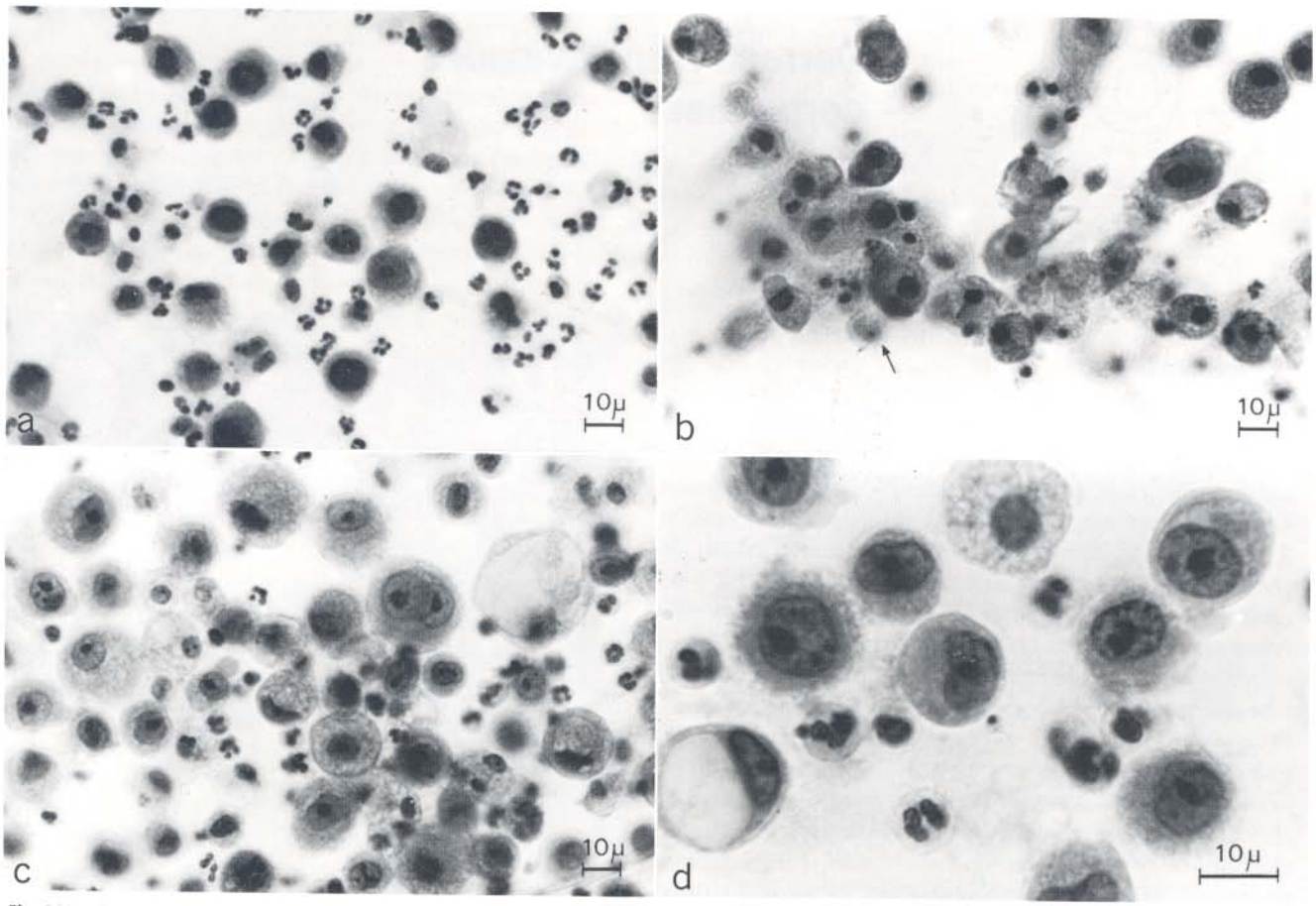


Fig. 844. Preparación de extendidos y la respectiva alteración degenerativa de las células. *a, Preparación inmediata tras la paracentesis.* Se ven muchas células malignas bien preservadas, algunos histiocitos y leucocitos polimorfonucleares. *b, Extendido del mismo líquido ascítico tras estar en reposo 24 horas a 30° C.* Hay picnosis y colicuación de células malignas (*flechas*). *c* y *d, Extendido del mismo líquido ascítico al cabo de 24 horas con solución de pretratamiento (formol-Ringer-alcohol).* Las células malignas y los leucocitos están bien preservados.

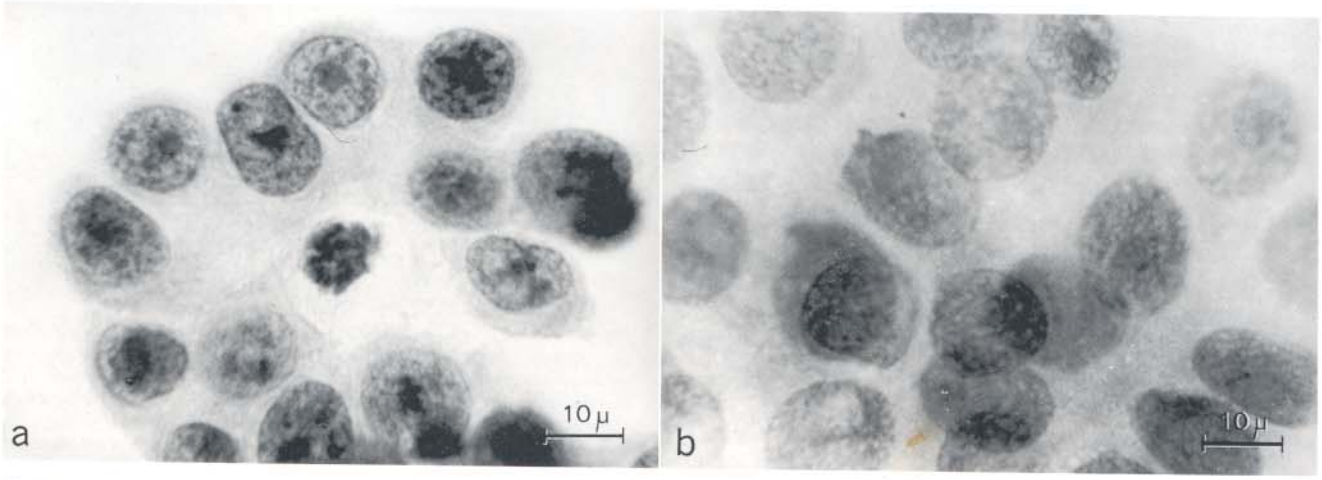


Fig. 845. Comparación de extendidos preparados mediante fijación mojada y secado al aire. *a,* Preparación mojada. Con la preparación inmediata con la técnica mojada después de la paracentesis se preservan los rasgos malignos, como la aglomeración gruesa de la cromatina y los nucléolos o cariosomas prominentes. *b,* Preparado secado al aire. El extendido seco exhibe pérdida de los detalles nucleares. Los núcleos están agrandados y su red de cromatina es oscura.

rar las células de los líquidos, pero hemos hallado que en los derrames serosos que contienen muchas células el centrifugado convencional es más satisfactorio que el filtrado con membrana. La membrana se puede usar cuando la muestra no alcanza para centrifugar (véase p. 75).

2. Examen macroscópico

Es importante examinar las características macroscópicas y los caracteres físicos, como el aspecto de los líquidos, su densidad y su contenido proteico antes de realizar el examen microscópico. El color del líquido, por ejemplo, orienta sobre el proceso patológico. Si el líquido es un trasudado pobre en elementos celulares, suele ser cristal de roca y su coloración depende de la bilirrubina que contenga. El líquido puede ser rojo oscuro a pardo rojizo por la presencia de hematíes. Muchas veces la gran cantidad de leucocitos le imparte un tinte blanco amarillento. El líquido quiloso, que es blanco lechoso o verde lechoso, sugiere rotura traumática y obstrucción del conducto torácico o de vasos linfáticos importantes, como en la filariasis o la infiltración tumoral. Similar al líquido quiloso es el quiliforme, que contiene muchas gotitas de grasa por degeneración celular. La turbiedad del líquido depende mucho de la cantidad de partículas en suspensión que contiene, pero principalmente de la celularidad. La coagulabilidad del líquido depende del contenido de fibrina y permite establecer la diferencia entre exudados y trasudados.

Trasudado

La mayoría de las veces se acumula trasudado por caída de la presión coloidosmótica, retención de sodio y trastorno circulatorio, como bloqueo del retorno venoso; las causas comunes de trasudación son cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, hipoproteinemia, pericarditis adhesiva, síndrome de Meigs, síndrome de Chiari, etc. Recuérdese que las metástasis de tumores malignos en el hígado o ganglios linfáticos periportales producen una ascitis trasudativa sin células malignas. La densidad del trasudado es menor de 1,018 y su contenido proteico menor de 2 a 3 g/100 ml. La prueba de Rivalta, que se hace para determinar la presencia de material proteico depositando dos o tres gotas de ácido acético glacial, suele dar resultado negativo. Los elementos celulares son pocos y el aspecto macroscópico es cristal de roca.

Exudado

La exudación ocurre en la inflamación y en las neoplasias malignas. La densidad suele ser mayor de 1,018, el contenido proteico es grande (mayor de 3 g/100 ml) y hay mucha celularidad (más de 100/mm^3 sin contar los eritrocitos). Los exudados suelen contener menos glucosa que los trasudados; mientras que los trasudados conservan más o menos las mismas propiedades que el plasma del cual derivan, se considera que el contenido de glucosa disminuye por la glucólisis del proceso inflamatorio. Es frecuente encontrar un coágulo de fibrina. Light y col.[54] señalan que el valor de LDH es útil para discriminar entre exudado y trasudado, porque en alre-

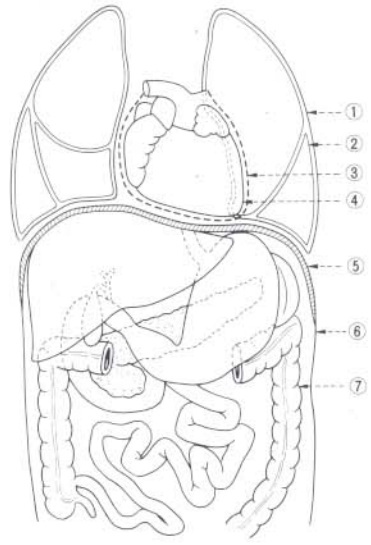


Fig. 846. Cavidades serosas. Cavidades pleural, pericárdica y peritoneal, que se forman entre las capas parietal y visceral. *1)* Pleura parietal; *2)* pleura visceral; *3)* pericardio; *4)* epicardio; *5)* diafragma; *6)* peritoneo parietal; *7)* peritoneo visceral.

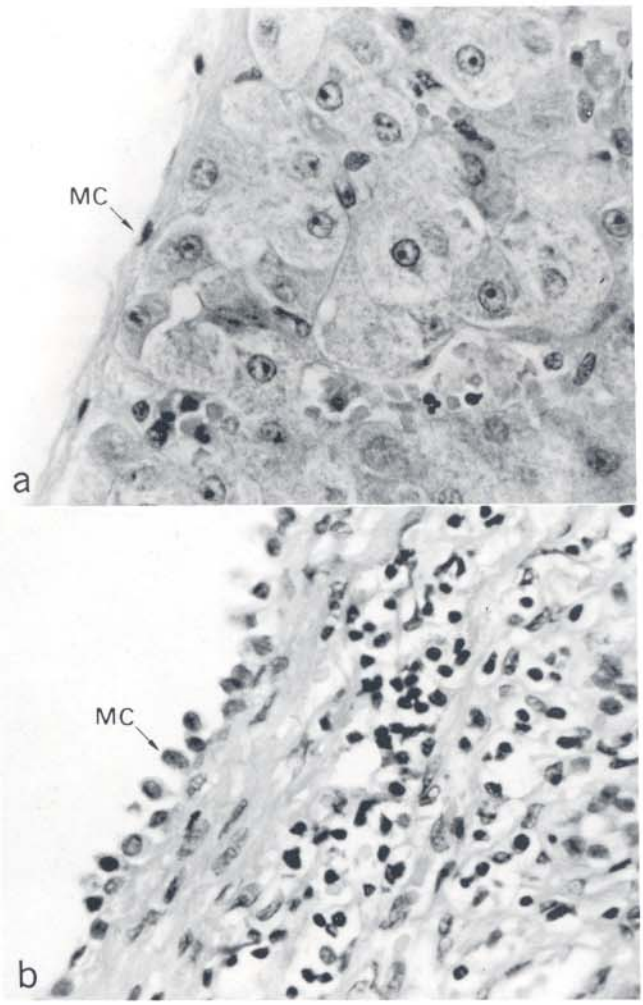


Fig. 847. Histología del mesotelio en los estados normal y activado. *a,* Hígado normal cubierto por una serosa con un revestimiento de células planas de tipo endotelial. *b,* Hígado cirrótico cubierto por mesotelio proliferante. Nótense las células cuboides de núcleos redondos u ovales grandes.

dedor del 70% de los exudados se observa una actividad de LDH mayor de 200 unidades (Wroblewski).

3. Histología del mesotelio y de los componentes celulares benignos de las cavidades serosas

Histología del mesotelio

El mesotelio que tapiza al peritoneo, pleura y pericardio pertenece a dos membranas, la parietal y la visceral. Su histología consiste en un epitelio pavimentoso simple, equivalente del endotelio de los vasos sanguíneos y linfáticos. Este epitelio plano se torna cuboide y muy celular al estimularse por inflamación o por otras causas. En condiciones normales las cavidades serosas contienen una pequeña cantidad de líquido seroso, pero esto no es discernible.

Componentes celulares benignos

Los derrames serosos contienen los siguientes componentes celulares benignos:

1) Macrófagos (histiocitos). No habiéndose esclarecido si esta célula se origina en el tejido o en la sangre, desde hace mucho se discute si este término es correcto o no. Se considera que los macrófagos libres de la cavidad peritoneal provienen de los puntos lechosos del epiplón, pero también es posible que los macrófagos sean monocitos trasformados que emigraron desde los vasos sanguíneos, porque estos monocitos circulantes aumentan de volumen y adquieren un llamativo desarrollo de las áreas de Golgi, y también parecen asumir funciones fagocitarias durante la estimulación inflamatoria.[19,28,59,62,109,111]

La diferenciación o caracterización de los monocitos san-

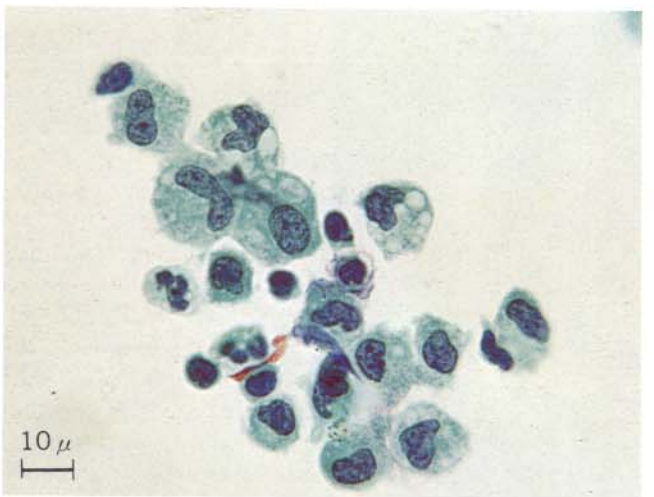


Fig. 848. Macrófagos típicos en la ascitis. Los núcleos ovales o reniformes son periféricos. Las cromatinas son finas y de distribución pareja. El citoplasma es abundante y vacuolado.

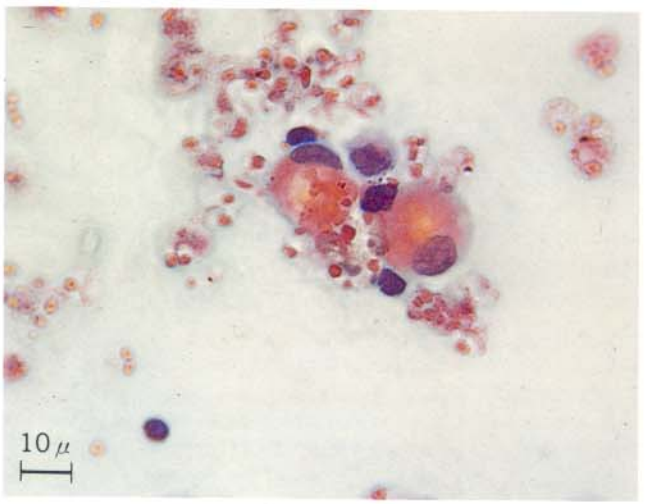


Fig. 849. Eritrocitos destruidos fagocitados por los macrófagos. Nótese la fagocitosis de restos de eritrocitos dentro del citoplasma.



Fig. 850. Melanófagos y una célula mesotelial binucleada en la ascitis de un caso de melanoma diseminado. El citoplasma está lleno de pigmentos pardos oscuros; la melanina se identifica con una técnica de blanqueado. Compárese con las células melanomatosas de la figura 955; los pigmentos fagocitados oxidados son más oscuros que los que están dentro de las células melanomatosas.

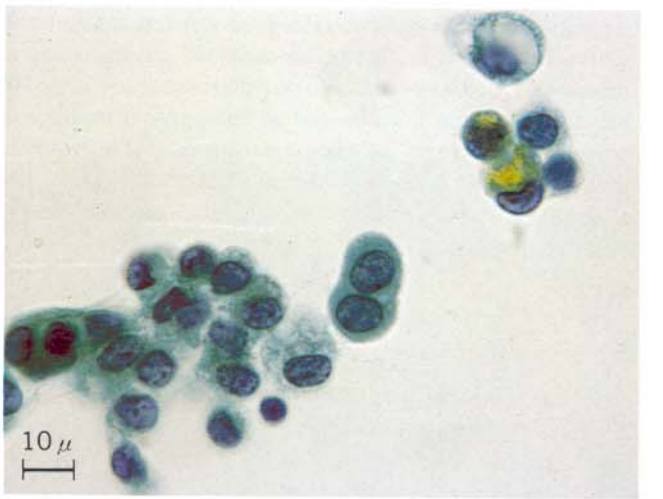


Fig. 851. Macrófagos que han fagocitado pigmentos biliares y células mesoteliales en la ascitis asociada con cirrosis biliar. En el centro aparecen células mesoteliales de núcleos centrales redondos. Algunos macrófagos han fagocitado pigmentos biliares de color amarillo claro. Puntos diferenciales: azul de Prusia para identificar macrófagos cargados de hemosiderina y método de Fontana-Masson o del blanqueamiento para identificar melanófagos. Estas técnicas son más sencillas que la reacción de Gmelin, que es inestable.

guíneos en macrófagos se demostró con diversas técnicas, como tinción supravital (Seemann[90]), cultivos de tejidos (Ehrich[18]) e inyección experimental de partículas de látex (Joos y col.[41]). Hirata,[36] de la escuela de Amano, preconiza la teoría de que los macrófagos mononucleares derivan de los monocitos sanguíneos, señalando que la mayoría de los fagocitos intraperitoneales dan reacción de oxidasa y peroxidasa positiva. La citada investigadora cree que algunas células fagocitarias peroxidasanegativas que presentan unos gránulos prominentes en la tinción con rojo neutro, son monocitos sanguíneos degenerados o envejecidos. Los recientes estudios de Joos y col.[41] demuestran que el aumento repentino de la cantidad de macrófagos a las 16 a 24 horas de inyectar partículas de látex, no se debe a la proliferación local de células histiocitarias sino a la migración de mononucleares procedentes de la sangre hacia la cavidad peritoneal; estas células fueron compatibles con células linfoides basófilas estimuladas.

En consecuencia, a medida que los estudios inmunológicos progresan, se considera que los precursores de los monocitos sanguíneos que podrían transformarse o diferenciarse en macrófagos, son los linfocitos pequeños.[37] Los linfocitos pequeños son unas células multipotentes capaces de transformarse en células mononucleares plasmocitoides y en fagocitos durante la reacción inmunológica; los macrófagos inmunes estimulados por antígenos específicos se hallan rodeados por una superficie externa lisa y son ricos en lisosomas.[73]

En cuanto a las células problemáticas, en cambio, Kiyono[46] mencionó que la fagocitosis pronunciada es una propiedad característica de los histiocitos. Según un estudio de Murata,[68,69] la mayoría de los fagocitos de la cavidad peritoneal serían, en esencia, histiocitos peroxidasanegativos como una forma simplemente activada por un estímulo apropiado. Las reacciones peroxidasapositivas ocasionales en los fagocitos, se pueden atribuir a que los fagocitos activos que engloban a leucocitos se positivizan para esa reacción. A estas células se les dieron diversos nombres: macrófagos (Metchnikoff[56]), células adventiciales circulantes de núcleos grandes (Marchand), clasmatocitos (Ranvier), células endoteliales (Mallory), poliblastos (Maximow[63]), histiocitos (Kiyono[47]) y macrófagos inmunes (North y Machaness[73]), además de otros.

Como término en citología exfoliativa, los macrófagos representan más una función celular que su origen. Los macrófagos del derrame maligno muchas veces están adosados a las células neoplásicas y presentan muchas prolongaciones citoplasmáticas digitiformes; Carr[7] atribuyó esto a la ingestión y digestión de células tumorales con emisión de factores citotóxicos de parte de los macrófagos. La distinción entre macrófagos y células mesoteliales reviste importancia práctica.

Núcleo. Los núcleos son ovales, reniformes y a veces lobulados y de tamaño muy variable. La posición excéntrica del núcleo es específica de este tipo. La cromatina es finamente granular y de distribución pareja. Los nucléolos no se ven.

Citoplasma. El citoplasma es abundante, de bordes mal definidos y apenas cianófilo. Los rasgos distintivos son vacuolación vesiculosa y fagocitosis intracitoplasmática de eritrocitos y detritos nucleares en diversas etapas de digestión. A veces aparecen células en anillo de sello de núcleos muy excéntricos, que deben diferenciarse de las células cancerosas mucosecretantes (véanse figs. 873 y 874). La diferenciación se puede basar en los siguientes rasgos: El tamaño de las

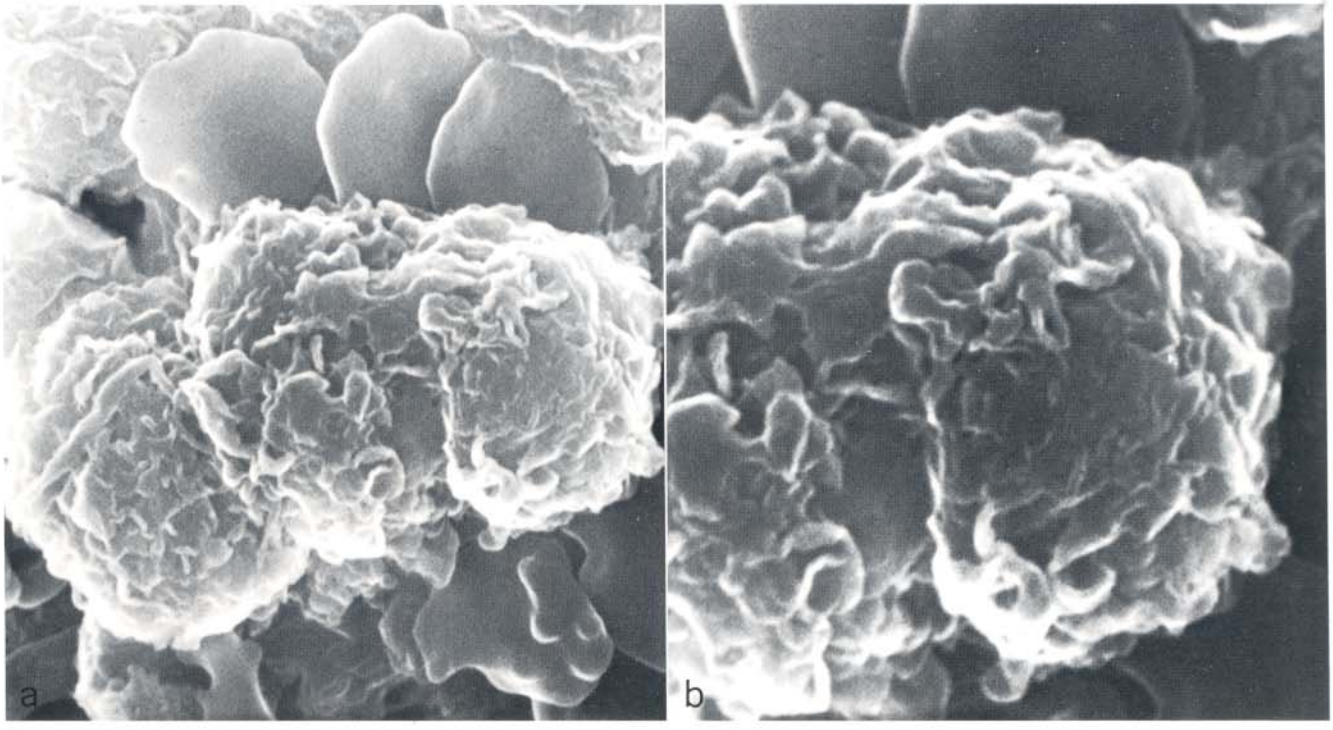


Fig. 852. Microscopia electrónica de rastreo de macrófagos con sus prolongaciones citoplasmáticas irregulares. Los elementos planos a modo de placas son eritrocitos (*a* × 7500; *b* × 12.500).

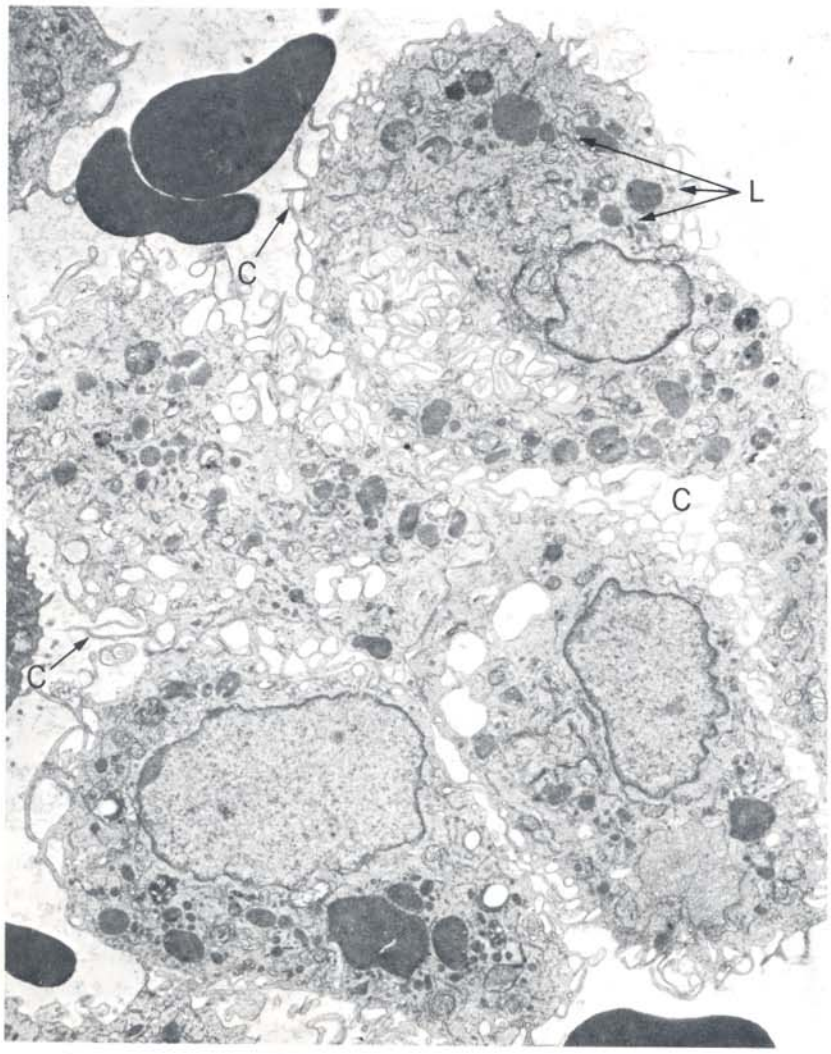


Fig. 853. Micrografía electrónica de macrófagos libres en el líquido pericárdico. Los núcleos son de contornos irregulares y están en la periferia. Abundan los cuerpos lisosómicos densos (*L*). En la superficie celular se reconocen cavéolas en forma de frasco. Las numerosas vacuolas o vesículas de tamaño variable podrían deberse a degeneración. Hay muchas prolongaciones citoplasmáticas digitiformes (*C*) (× 4000).

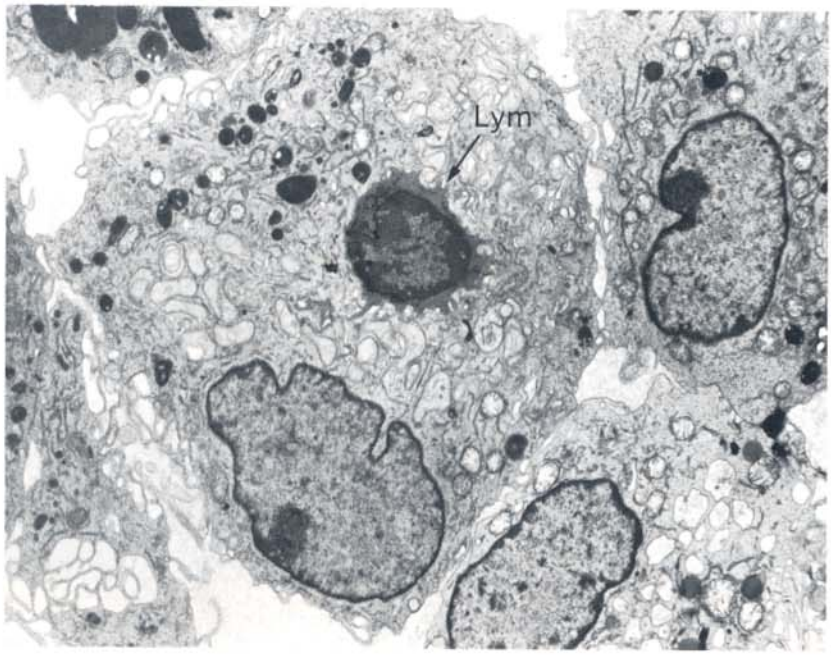


Fig. 854. Micrografía electrónica de macrófagos en el líquido pericárdico. Es característico que los núcleos aparezcan indentados y estén en la periferia. Lo más probable es que los gránulos electrondensos sean lisosomas secundarios. Se ve un linfocito picnótico (*Lym*) que emite unas prolongaciones a modo de puentes. No se sabe con certeza si se ilustra o no una interacción entre el macrófago y el linfocito (× 4000).

Cuadro 77. Diferenciación entre células mesoteliales y macrófagos en la tinción de Papanicolaou

	Células mesoteliales	*Macrófagos (histiocitos)*
Forma de los núcleos	Redonda u oval	Reniforme y raras veces lobulada
Situación de los núcleos	Casi central	Periférica
Trama de cromatina	Finamente granular, a veces con cariosomas	Finamente granular y de distribución pareja
Nucléolo	Nítido	Borroso
Citoplasma	Muy teñido, con un halo perinuclear acidófilo (basófilo con Giemsa)	Débilmente cianófilo y acintado, con degeneración vesiculosa
Borde celular	Bien definido	Mal definido
Grupos de células	Nítidos dentro de un citoplasma sincitial	Aisladas de a una

células en anillo de sello malignas varía de una célula a otra y muchas veces aparecen en aglomeraciones en las que se disciernen características malignas. En la tinción supravital, los gránulos de rojo neutro se tiñen con mucha rapidez y se presentan concentrados en las áreas de Golgi o diseminados en torno del núcleo.

En la tinción con Giemsa, el núcleo exhibe una trama acintada de cromatina pálida. Los macrófagos degenerados tienen núcleos deformados o irregulares, con una trama de cromatina reticular laxa. Aunque el contenido enzimático de los macrófagos varía de acuerdo con su estado fisiológico, es característico que en los macrófagos de los derrames serosos estén aumentadas las enzimas fáciles de demostrar como fosfatasa ácida, β-glucuronidasa, diversas esterasas y peroxidasa.

2) Células mesoteliales. El mesotelio es una variedad de epitelio pavimentoso simple constituido por unas células planas a modo de placas, unidas entre sí por desmosomas. Las células mesoteliales se descaman del epitelio de revestimiento de las cavidades serosas, y se considera que las que aparecen en los derrames serosos se hallan en distintas etapas de degeneración. En consecuencia, es importante identificar el origen del mesotelio tomando como base las células bien preservadas (fig. 855).

Núcleo. Los núcleos son redondos u ovales y están en situación paracentral, pero a veces las células mesoteliales cuboides tienen un núcleo excéntrico. La variación de tamaño es más pronunciada que la variación morfológica. El borde nuclear es delicado y liso, pero nítido. A veces se detecta una ligera indentación y puede ser que haya una circunvolución de tipo cerebral. La cromatina es finamente granular y se halla distribuida con uniformidad en la etapa de reposo, pero su trama se torna punteada gruesa, con agrandamiento nuclear, si existe reacción mesotelial. Se ven nucléolos prominentes, a veces indistinguibles respecto de los cariosomas. Es frecuente la multinucleación consistente en dos o tres núcleos. En el estudio de Luse y Reagan[58] se encontró en el 26 % de 396 casos. Las mitosis de los núcleos no tienen nada que ver con el diagnóstico de malignidad.[87]

Citoplasma. El citoplasma es redondo y existe en regular cantidad. El borde citoplasmático está bien definido, pero no es muy neto. Las células bien preservadas tienen un aspecto opaco y dan una reacción tintorial basófila junto con un tinte acidófilo en torno de los núcleos. Las células mesoteliales tienden a formar grupos de varias células, por lo general no más de diez en cada uno (figs. 858 y 859). Están dispuestas de plano, formando un empedrado (*placards endothéliaux*) y a veces se aglomeran en rosetas. La distribución acinosa, así como la formación de rosetas, puede prestarse a confusión con células adenocarcinomatosas, pero las células mesoteliales poseen núcleos de tamaño y morfología uniformes. Falta la considerable superposición nuclear (formación de mórulas)[31] que es uno de los criterios distintivos del adenocarcinoma.

En la tinción con Giemsa, el citoplasma adquiere un color azul intenso y el núcleo exhibe un punteado compacto de cromatinas finas. En ocasiones hay un halo perinuclear de tinte rosado. Las células mesoteliales son capaces de ingerir partículas pequeñas como las de thorotrast, pero esta micropinocitosis difiere de la fagocitosis verdadera de los macrófagos. La diferencia funcional se demuestra con facilidad por la fagocitosis de la tinta china.

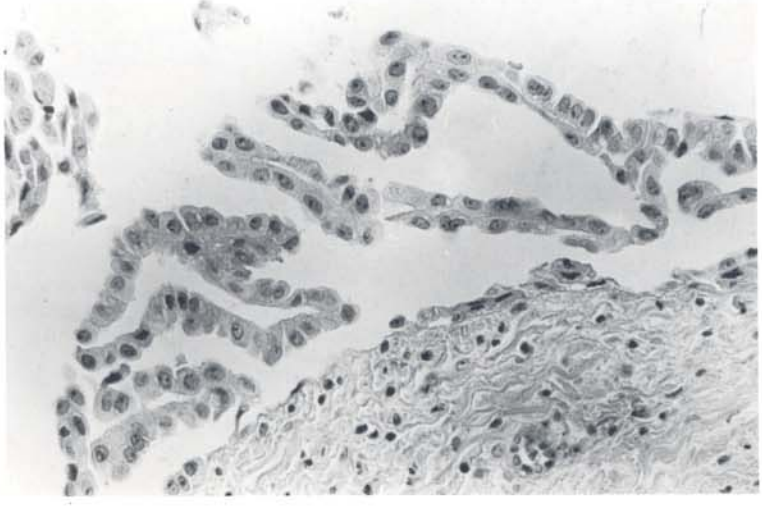
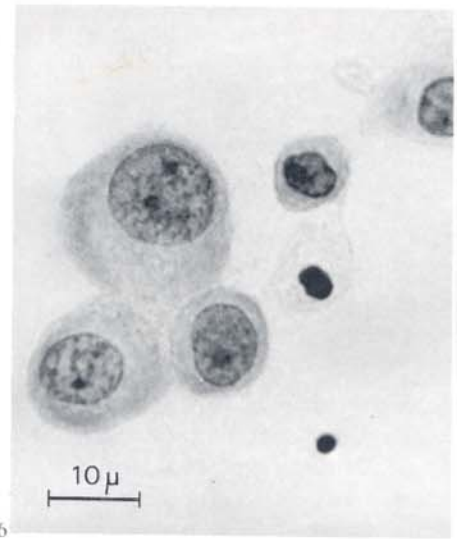
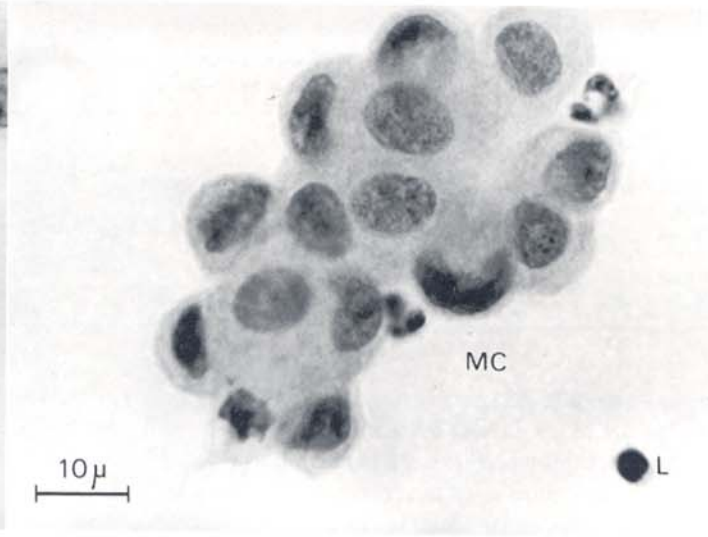


Fig. 855. Células mesoteliales hiperplásicas en una sola capa. Los núcleos son redondos u ovales, con uno o dos nucléolos prominentes. El citoplasma es cuboide a columnar. A veces se ve doble nucleación (figs. 850 y 860 *d*). Nótese una imagen citológica tubular (fig. 860 *c* y *e*) que concuerda con este rasgo histológico.



856



857

Fig. 856. Aglomeraciones de células mesoteliales. Los núcleos son redondos u ovales y de situación central en un citoplasma fusionado. Los bordes nucleares no están engrosados pero se delinean bien. La trama de cromatina es finamente granular y de distribución pareja. En estas células mesoteliales activas se pueden ver los nucléolos. Los núcleos exhiben moderada variación de tamaño.

Fig. 857. Células mesoteliales vistas en una gran aglomeración de tipo acinoso. Núcleos ovales y en general de tamaño uniforme, con excepción de las células picnóticas de la periferia. Partículas de cromatina lisas y de distribución pareja. *MC*, Células mesoteliales; *L*, linfocito.

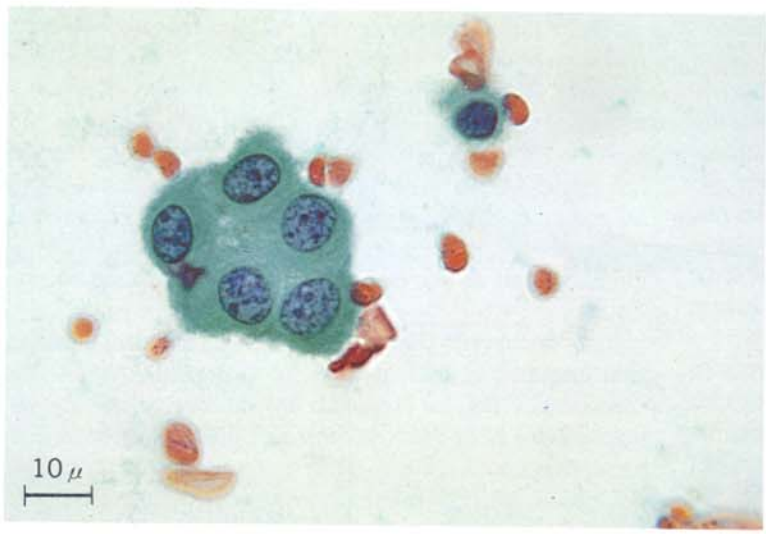


Fig. 858. Células mesoteliales dispuestas en roseta. Núcleos redondos u ovales, todos iguales; citoplasma sincitial y fusionado. Tinción de Papanicolaou.

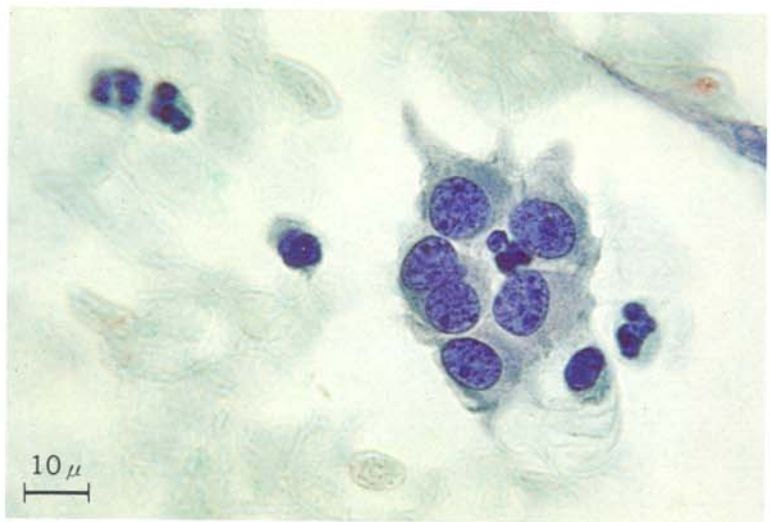


Fig. 859. Células mesoteliales en una aglomeración suelta. La distribución plana sugiere origen mesotelial. Nótense los núcleos redondos e iguales, con sus cromatinas finas y de distribución pareja.

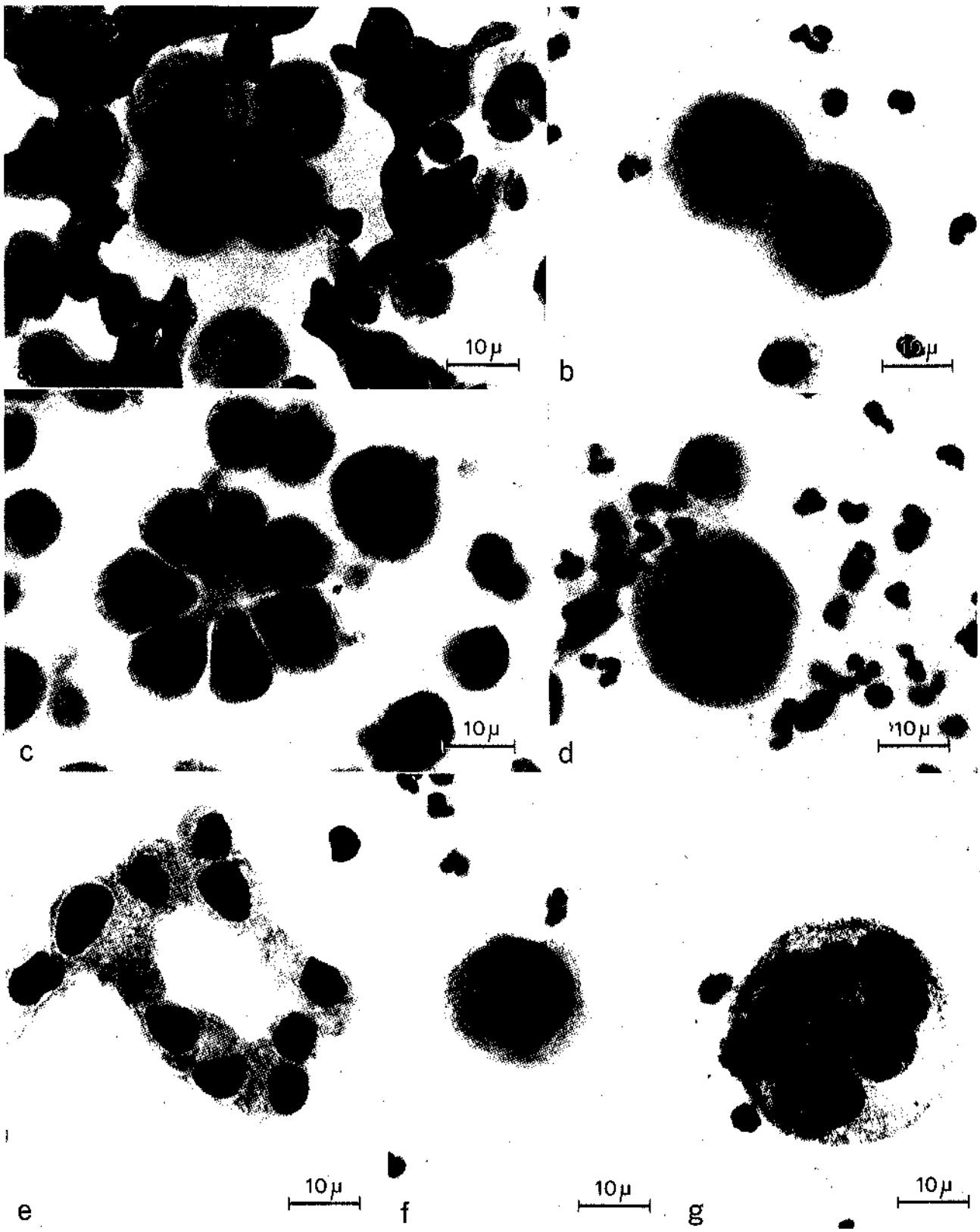


Fig. 860. Variedad de rasgos citológicos de las células mesoteliales. *a*, Células mesoteliales típicas de núcleos redondos centrales y citoplasma opaco. *b*, Grandes células mesoteliales en actividad que exhiben agrandamiento nuclear, hipercromatismo y algunas cromatinas granulares. Nótese el aspecto en vidrio esmerilado y la posición central de los núcleos. *c*, Grupo de células mesoteliales dispuestas en roseta. La indentación de los contornos nucleares a modo de circunvoluciones cerebrales también es un rasgo característico de las células mesoteliales. *d*, Célula mesotelial binucleada de núcleos claros y blandos. *e*, Grupo de células mesoteliales dispuestas a modo de un ácino. *f*, Célula mesotelial de núcleo multilobulado, con partículas de cromatina de distribución pareja y lisa. *g*, Célula mesotelial multinucleada con una trama de cromatina blanda.

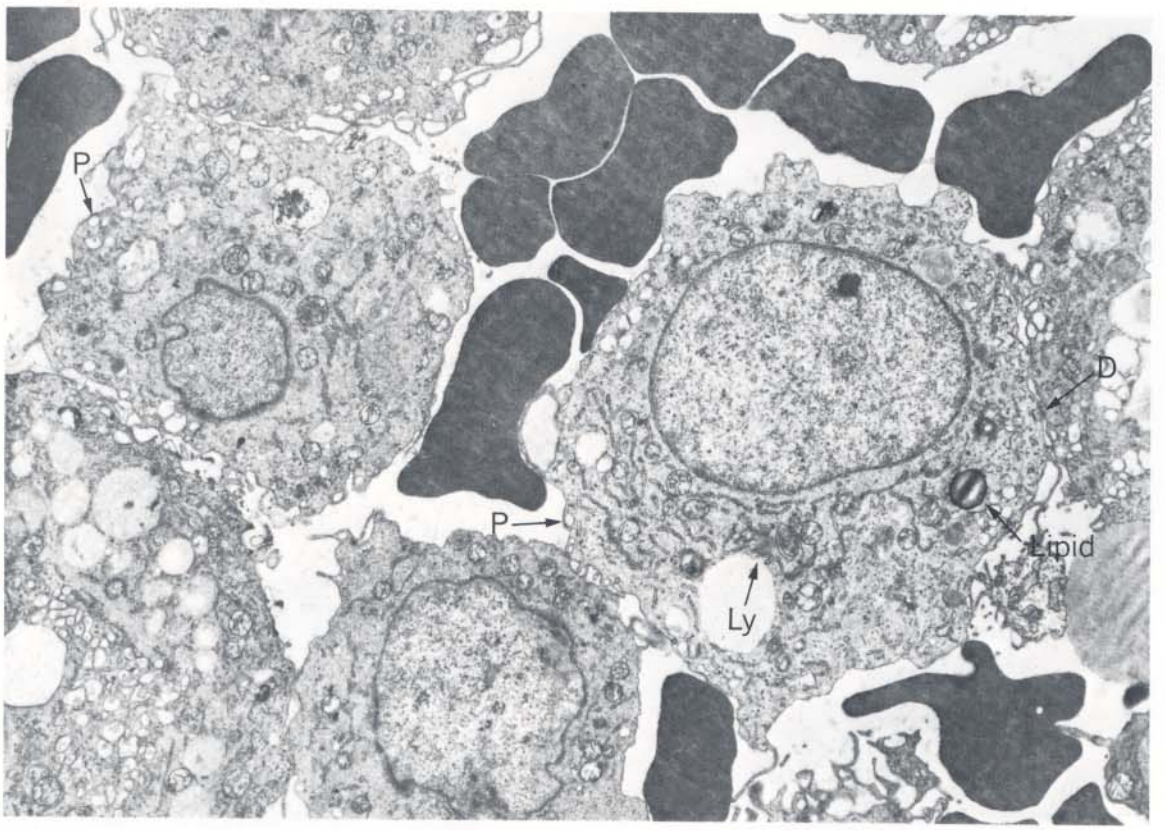


Fig. 861. Micrografía electrónica de células mesoteliales bien preservadas que se exfoliaron libremente en el líquido pericárdico. En la periferia aparecen vesículas picnóticas (*P*) y no se disciernen prolongaciones citoplasmáticas. Los núcleos son ovales y de contorno liso. Un rasgo característico es la binucleación (*izquierda*) (× 4000). *D*, Desmosoma; *Ly*, lisosoma; *Lipid*, lípido.

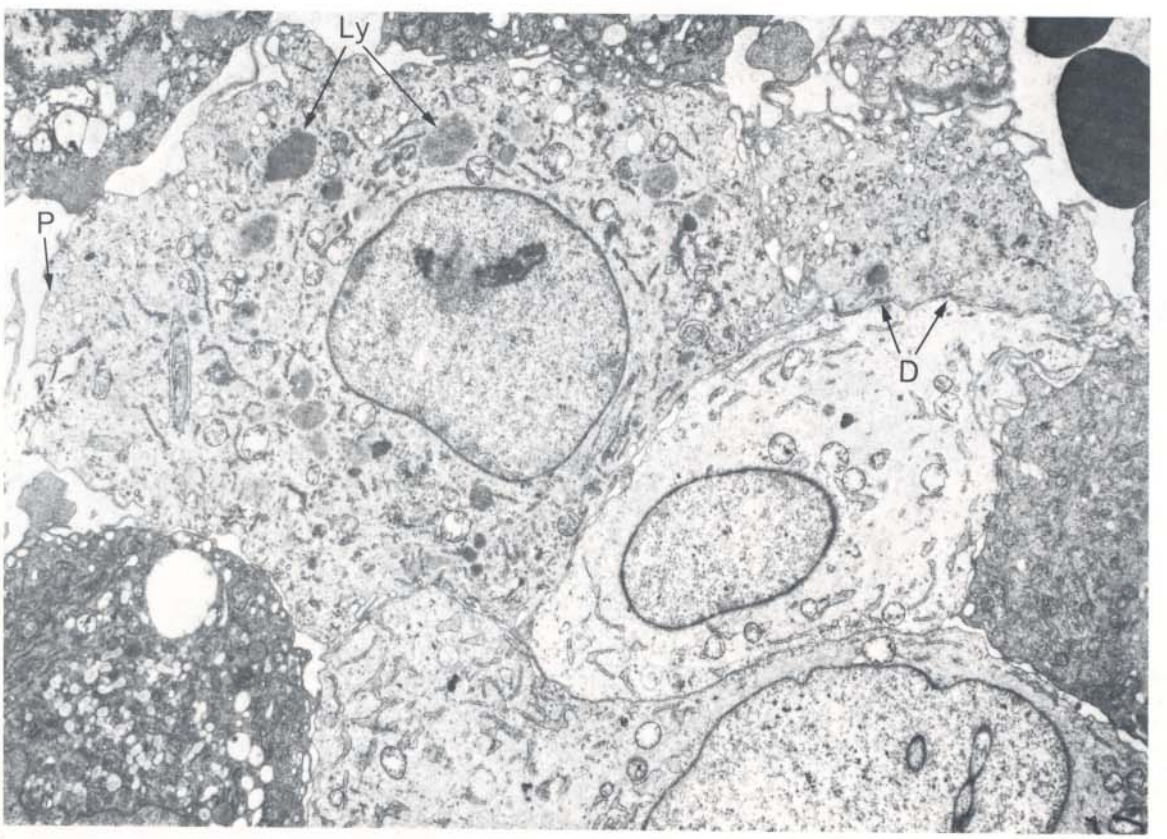


Fig. 862. Micrografía electrónica de células mesoteliales dispuestas en una lámina densa, que exhiben núcleos redondeados con envolturas nucleares lisas. Las vesículas pinocitósicas y el retículo endoplasmático áspero están bien desarrollados. Se reconoce una unión desmosómica distintiva (× 4000). *P*, Vesículas pinocitósicas; *D*, desmosoma; *Ly*, lisosomas.

Cuadro 78. Tinciones especiales para identificar células

	Células mesoteliales	*Macrófagos (histiocitos)*	*Células malignas (adenocarcinomas)*
Reacción PAS	Gránulos finos concentrados en la periferia (digestibles con diatasa)	Ninguno o pocos gránulos acintados finos en la periferia	Variable (negativa o intensamente positiva, con reacción positiva en gotitas o difusa)
Mucicarmín	Negativas	Negativos	A veces positivas
Peroxidasa	Negativas	A veces positivos	Negativas
Fagocitosis*	Negativas	Positivos	Negativas
Tinción supravital con rojo neutro	Algunos gránulos finos dispersos	Tinción rápida y concentrados a modo de rosetas	Diseminados o formando rosetas
Sudán negro B[4]	Negativas	Gránulos dispersos o negativos	Negativas
Tinción para isoenzima de LDH**	Predomina la subunidad H	Predomina la subunidad H	Predomina la subunidad M

* Prueba fagocitaria con tinta china (Takahashi y Urabe):
1. Para examinar la función fagocitaria de las células de los derrames, tómese una parte del sedimento con un capilar y mézclese con 1 ml del sobrenadante en un pequeño tubo de ensayo. La muestra de líquido tiene que haber sido tratada con anticoagulante. Para sangre periférica, extráigase 1 ml de sangre con jeringa heparinizada.
2. Fíltrese la tinta china para dibujo Pelikan Drawing Ink, Günther Wagner, Alemania, con un papel de filtro (N° 4 o 6, Toyo Roshi Co., Tokio) dos o tres veces sin cambiar el filtro. Agréguese una gota de este filtrado a la muestra precedente y mézclese con suavidad.
3. Déjese en estufa 2 horas a 37°C.
4. Mézclese la muestra y hágase un extendido fino.
5. Fíjese y tíñase con el método de Giemsa. También se puede hacer la coloración de Papanicolaou.

** En los derrames, las fracciones isoenzimáticas de lactato deshidrogenasa (LDH)[96] reflejan en parte las del suero sanguíneo, pero la fracción de la enzima que se libere como LDH depende de los constituyentes celulares de los derrames; eligiendo muestras en que predomina un solo tipo de célula, hallamos que la fracción M está francamente elevada en los casos de cáncer y es característico que se inhiba tratándola con 2,6 M de urea. Las células mesoteliales y las linfoides revelaron la tercera fracción más alta que es bioquímica y citoquímicamente resistente a la urea 2,6 M.

Addendum: Tinción especial para identificación celular. La reacción del ácido peryódico-Schiff (PAS) es útil para identificar células mesoteliales.[10,25,94] Los finos gránulos PAS positivos se concentran en la periferia, a lo largo del borde citoplasmático, en tanto que los fagocitos suelen ser negativos o débilmente positivos y sólo poseen unos pocos gránulos finos (fig. 865). El comportamiento de las células malignas frente al PAS es variable. Aunque algunos [60,61] mencionaron que las células cancerosas nunca se presentaron con gránulos ni gotitas PAS positivos, no cabe duda de que algunas células adenocarcinomatosas son positivas porque presentan reacciones tintoriales en gotitas grandes o difusas (cuadro 78). En otras palabras, la reacción PAS negativa o débilmente positiva no indica ningún tipo específico de células, pero la positiva intensa sí es atribuible a células adenocarcinomatosas (figs. 866 y 867). La reacción PAS se suele emplear en hematología para identificar células leucémicas linfocitarias y linfosarcomatosas. Mientras que los leucocitos polimorfonucleares y los megacariocitos adquieren una tinción difusa, los linfoblastos y las células linfosarcomatosas revelan una positividad perinuclear en gránulos gruesos.[64]

En el diagnóstico diferencial se aplican otras técnicas especiales, como la fagocitosis de la tinta china, para identificar macrófagos y para hacer la verificación citoquímica de la deshidrogenasa láctica a los efectos de demostrar células cancerosas ricas en la fracción M (cuadro 78; figs. 863 y 864).

3) Células mesoteliales degeneradas. Las células mesoteliales en vías de degenerar exhiben degeneración vesiculo-

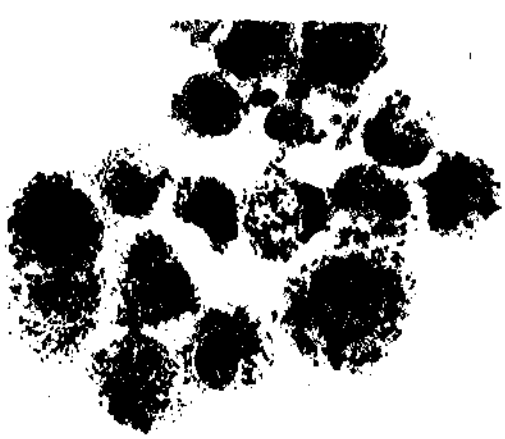


Fig. 863. Tinción citoquímica de LDH en células de adenocarcinoma gástrico en el líquido ascítico. La intensidad de LDH se cuantifica por la cantidad de azul nitrotetrazolio que se forma.

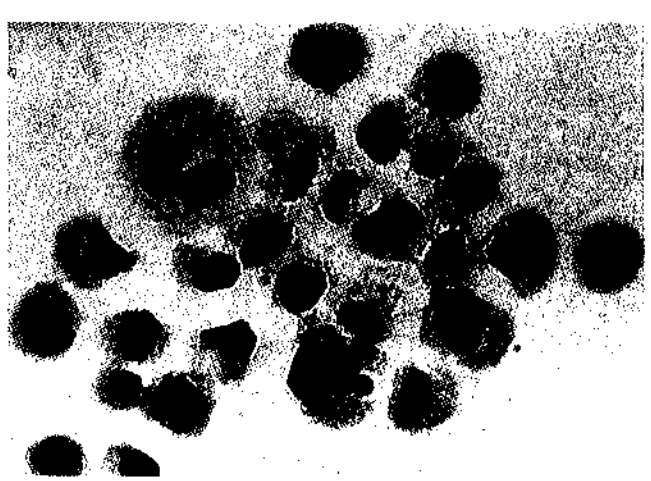


Fig. 864. Cuantificación citoquímica de la fracción M de LDH mediante tratamiento con urea. Muestra de la figura 863. La pérdida de tingibilidad de la LDH al agregar urea 2,6 M, en comparación con la tinción total de LDH, corresponde a la fracción M.

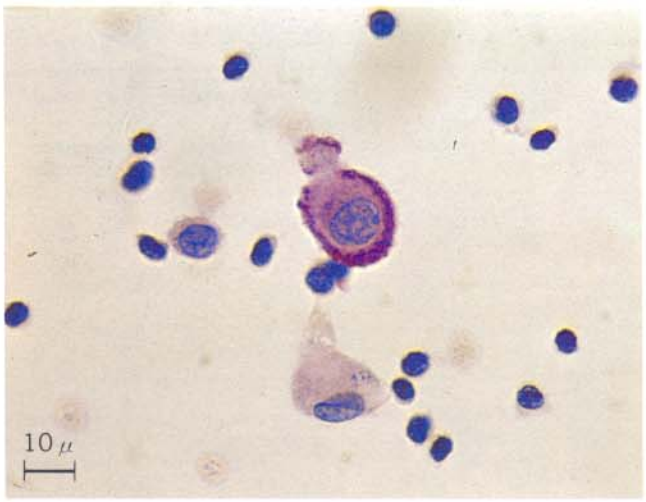


Fig. 865. Célula mesotelial PAS positiva e histiocito PAS negativo. Los finos gránulos PAS positivos en la periferia del citoplasma de las células mesoteliales son diastasa-digestibles.

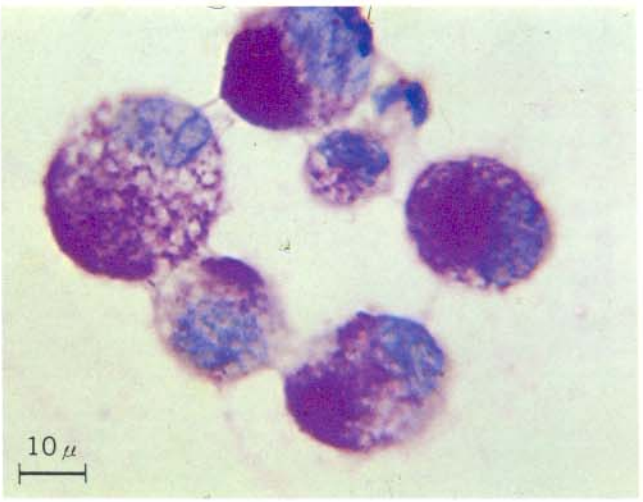


Fig. 866. Grandes gotitas PAS positivas en células cancerosas aisladas provenientes de un adenocarcinoma gástrico. Se considera que las gotitas PAS positivas en las células cancerosas se deben a la producción de moco.

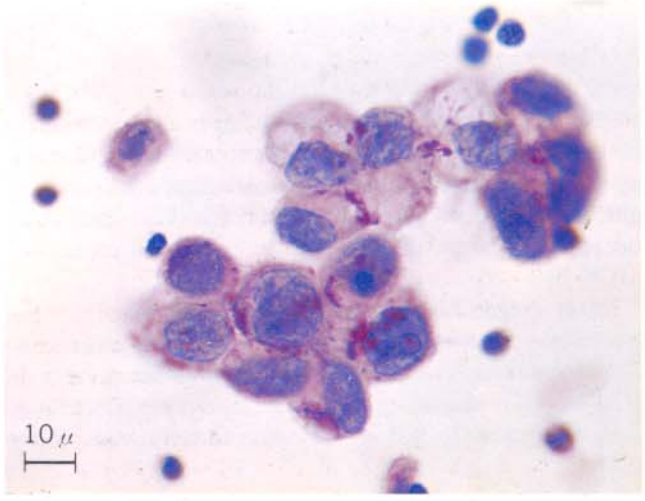


Fig. 867. Motas PAS positivas irregulares en células cancerosas aglomeradas de un adenocarcinoma gástrico. La tinción PAS resistente a la digestión con diastasa demuestra producción de moco.

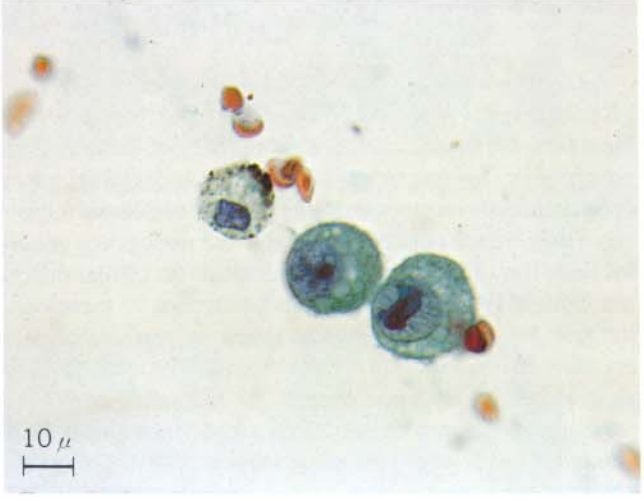


Fig. 868. Fagocitosis de tinta china por un macrófago. El macrófago de arriba, a la izquierda, ha fagocitado gotitas de tinta china y las tiene en la periferia de su citoplasma. En las otras dos células cancerosas no hay fagocitosis.

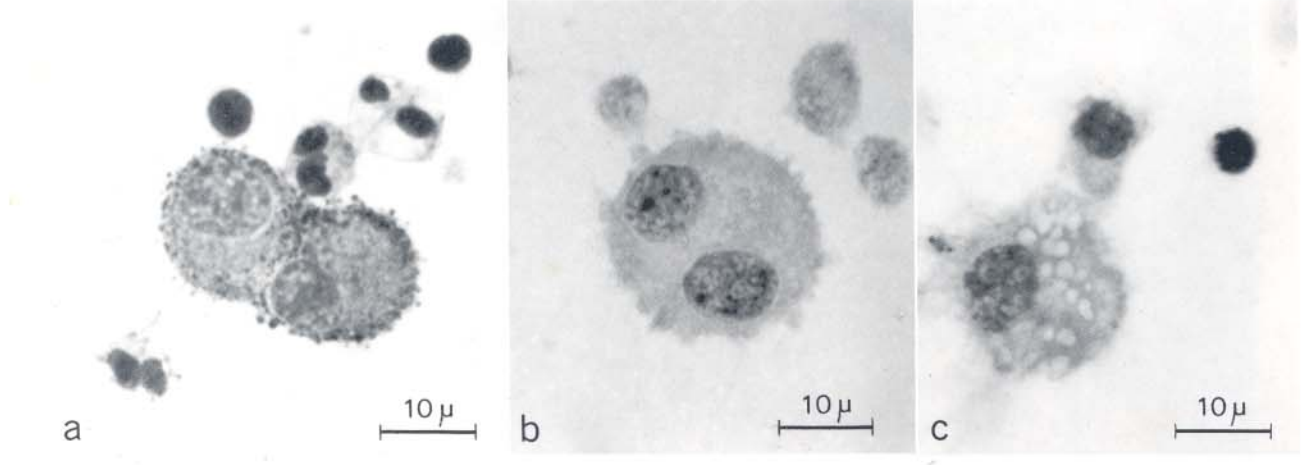


Fig. 869. Reacción del ácido peryódico-Schiff para identificar diversos tipos de células en los derrames corporales. *a*, Células mesoteliales con finos gránulos PAS positivos congregados en la periferia del citoplasma. *b*, Células mesoteliales que exhiben pérdida de la reacción PAS tras la digestión con diastasa. *c*, Macrófago vacuolado PAS negativo. Éste es un tipo de macrófago común.

sa o vacuolar del citoplasma y desplazamiento de los núcleos hacia una posición excéntrica. La cantidad de cromatina no está aumentada, pero se reconoce una trama punteada gruesa a causa de la condensación degenerativa. Muchas veces es difícil discriminarlas de los macrófagos por su morfología solamente (fig. 870).

4) Células inflamatorias. En los derrames se reconocen neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, plasmocitos y eritrocitos. La proporción y los tipos de células sanguíneas dependen de la índole y de la etapa de la inflamación. La celularidad y el citograma son importantes para interpretar el estado fisiopatológico de las cavidades corporales. El predominio de eritrocitos indica hemorragia. La mezcla de fagocitos y de células mesoteliales reactivas podría sugerir extravasación crónica. Son cuadros distintivos la pronunciada linfocitosis en la tuberculosis, la plasmocitosis de la gammopatía monoclonal y la leucocitosis de la inflamación aguda.

5) Linfocitos en relación con la importancia funcional (fig. 871). Muchas veces encontramos gran cantidad de linfocitos en el líquido excesivo de las cavidades corporales a raíz de una neoplasia maligna. Se plantean entonces estas sencillas incógnitas: 1) ¿Qué linfocitos predominan, los T o los B? 2) ¿Qué papel desempeñan estos linfocitos en el derrame maligno? Es decir, ¿intervienen en la producción de inmunoglobulinas o en la reacción de defensa activa frente a las células cancerosas?

Se postula que el mecanismo inmunocelular desempeña un papel importante como barrera de la diseminación de células cancerosas; esto se comprueba porque en los ganglios linfáticos que reciben linfa del sitio donde está la neoplasia maligna, ocurre hiperplasia de las áreas paracorticales.[99] Existe la posibilidad de que los linfocitos T, que son de larga vida, intervengan en una reacción inmune aferente en que se elabora linfotoxina para inhibir la actividad mitótica y un factor específico dinamizante de los macrófagos, que induce la actividad fagocitaria de éstos.[20,21] En la regresión de las neoplasias, la reacción linforreticular contra las células tumorales se pone de manifiesto por la íntima acción de los macrófagos activados sobre las células tumorales: Se publicaron observaciones de células neoplásicas rodeadas de muchas prolongaciones en colgajo y digitadas de macrófagos, como fenómeno citotóxico.[8,42] La liberación de factores citotóxicos por los macrófagos y la fagocitosis de células tumorales seguida por digestión de los lisosomas, serían inducidas por los linfocitos efectores.

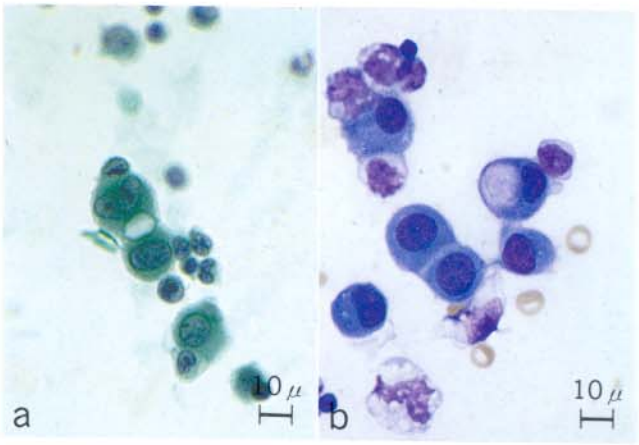


Fig. 870. Células mesoteliales degeneradas que exhiben vacuolización, en la ascitis por cirrosis hepática. Los núcleos redondeados uniformes pertenecen a células mesoteliales. Una vacuola degenerativa es trasparente y se delinea con gran nitidez. Muchas veces estas células son difíciles de distinguir de los macrófagos. Compárese con la figura 874. Nótese la misma propiedad del citoplasma basófilo. *a*, Papanicolaou. *b*, Giemsa.

En la práctica, las técnicas sencillas y seguras para determinar la clasificación de los linfocitos T son la formación espontánea de rosetas de linfocitos rodeados por eritrocitos de carnero y la transformación blastoide contra la PHA.[108] En varios trabajos se menciona que los pacientes con diversos cánceres tienen anormalidades en los niveles absolutos o en las proporciones relativas de linfocitos circulantes T y B.[29,33,53] Se considera que el recuento linfocitario y su población de células T en la sangre periférica revisten importancia pronóstica porque la respuesta inmunocelular desempeña un papel de importancia en la defensa contra la neoplasia maligna; en efecto, en pacientes con carcinoma avanzado la reacti-

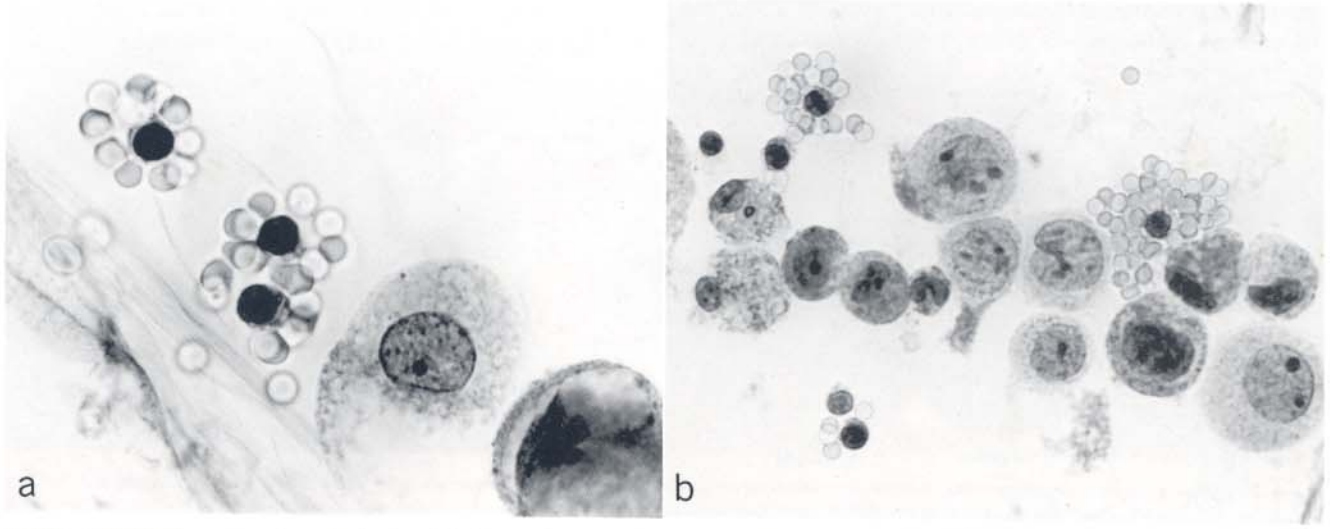


Fig. 871. Linfocitos formadores de rosetas E en la ascitis de un carcinoma gástrico. *a*, La propiedad de los eritrocitos, de formar rosetas con eritrocitos de carnero, se aprovecha como técnica de laboratorio fácil para determinar la población de linfocitos T. *b*, Dos de seis linfocitos han formado rosetas.

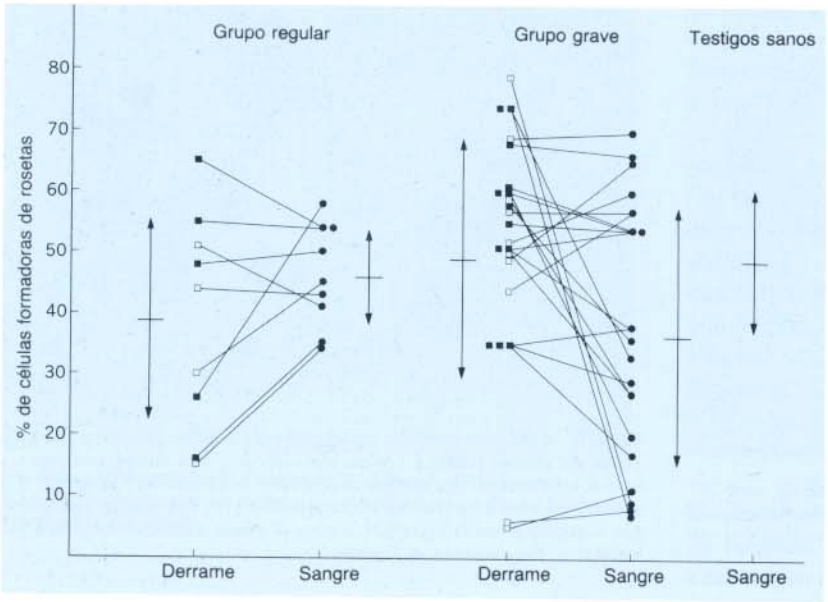


Fig. 872. Porcentaje de linfocitos formadores de rosetas en los derrames y en la sangre periférica de pacientes cancerosos. Las barras con cabezas de flecha indican las gamas, que representan la media ± 1 DE en cada grupo. (Tani, E. M., y Takahashi, M.: J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *19*: 534, 1980.) ■ Derrame sin células cancerosas, □ derrame con células cancerosas, ● sangre periférica.

vidad mitógena de los linfocitos T[33] y la cantidad de células formadoras de rosetas[29] están deprimidas, mientras que esto no sucede en pacientes con neoformación localizada. Las inmunoglobulinas específicas de los derrames no son excesivas y su cantidad es casi la misma que en el suero sanguíneo,[55] pero han aparecido algunas comunicaciones sobre la población de linfocitos T en los derrames en relación con el pronóstico. Tani y Takahashi[97] investigaron la población de linfocitos T en los líquidos corporales y la compararon con la de la sangre periférica (fig. 872). Aunque los pacientes que tienen derrame pleural o peritoneal por neoplasia maligna ya se hallan en una etapa avanzada de la enfermedad, se captó cierta diferencia informativa entre dos grupos de sujetos con estado físico grave o regular. Mientras que en el grupo regular no se encontró ninguna diferencia importante entre la población de linfocitos T del derrame y de la sangre periférica, en el grupo grave se observó una caída considerable de la cantidad de linfocitos T circulantes, en comparación con la de los derrames. En otras palabras, la población de linfocitos formadores de rosetas de eritrocitos de carnero y la respuesta de los linfocitos circulantes a la PHA, se prestan más para hacer el pronóstico que la población local de linfocitos T en el líquido de la cavidad corporal.

6) ¿Qué significa la célula en anillo de sello? Las células en anillo de sello no corresponden a ningún tipo celular en particular porque comprenden células benignas y malignas caracterizadas por unos núcleos excéntricos desplazados por vacuolas intracelulares o por configuraciones vacuolares. La célula en anillo de sello maligna cargada de mucina posee un núcleo maligno característico, con hipercromatismo y cromatinas gruesas. Los productos mucinosos vacuolares exhiben cierta densidad opaca y límites mal definidos; la tinción con PAS muchas veces indica un contenido mucoso en gotitas (fig. 866).[112] Las células en anillo de sello benignas derivan en su mayoría de los macrófagos y a veces de las células mesoteliales como consecuencia de la degeneración. A la microscopia óptica las vacuolas degenerativas se distinguen por sus contornos netos al modificar el foco y por su trasparencia. La microscopia electrónica de rastreo revela un hueco profundo a modo de caverna, que sería el responsable de la formación del anillo de sello que se ve a la microscopia óptica. La evidencia de que el aspecto vacuolado no se debe a

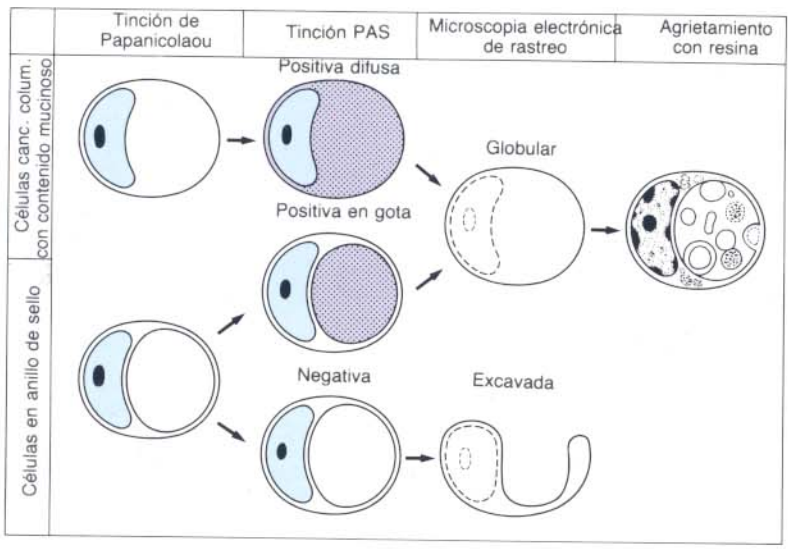


Fig. 873. Células en anillo de sello. La vacuola PAS negativa de contorno lineal se debe a una excavación a modo de hoyo.

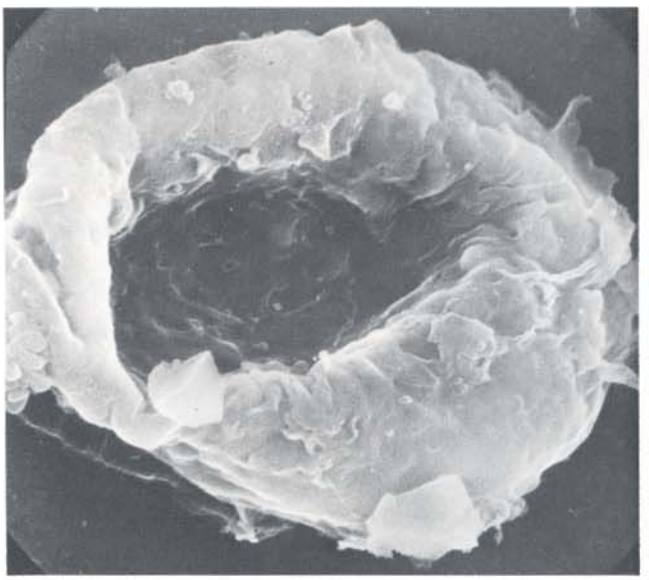


Fig. 874. Micrografía electrónica de rastreo de un histiocito benigno en anillo de sello. La forma de la célula en rosca de Pascua no se debe a un agujero sino a una excavación (× 6000).

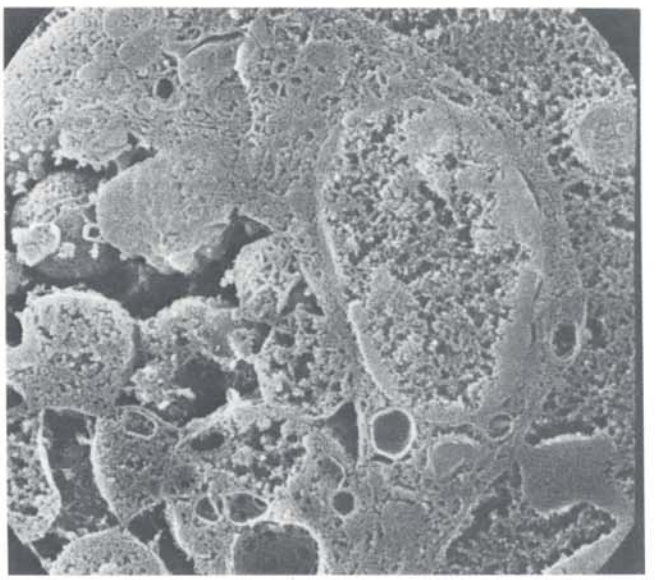


Fig. 875. Micrografía electrónica de rastreo de una célula cancerosa columnar tras un agrietado de resina. Esta célula cancerosa columnar pertenece a un adenocarcinoma de estómago que a la microscopia óptica contenía gotitas PAS positivas en el citoplasma. Nótense un núcleo excéntrico y las cisternas irregulares (× 10.000).

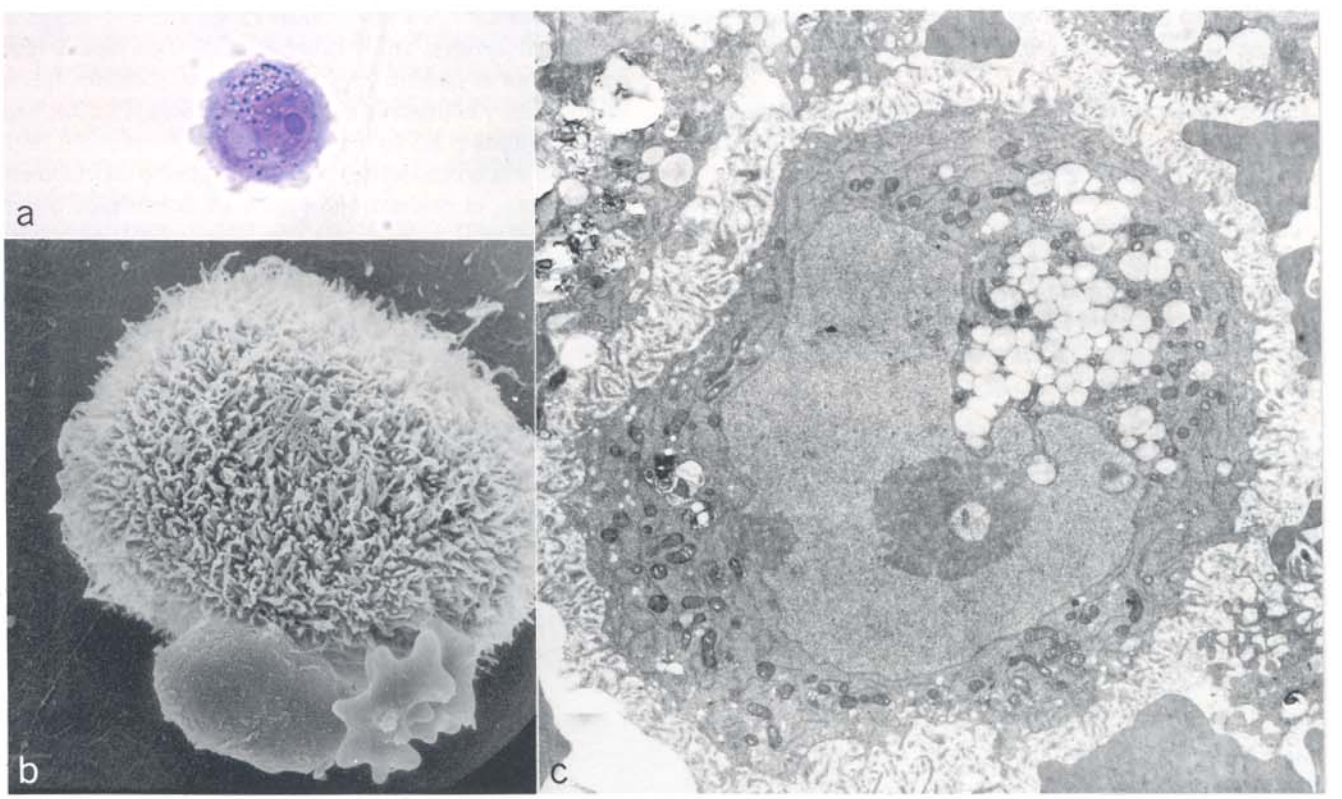


Fig. 876. Célula cancerosa en una ascitis por adenocarcinoma gástrico. *a*, La tinción supravital de Sternheimer Malbin muestra un nucléolo prominente y muchos gránulos refringentes a lo largo del núcleo. *b*, Numerosas microvellosidades en la micrografía electrónica de rastreo. La célula cancerosa tiene adheridos un linfocito y un eritrocito (× 4000). *c*, Micrografía electrónica con microvellosidades bien desarrolladas. Nótese un nucléolo prominente de textura compacta (× 5400).

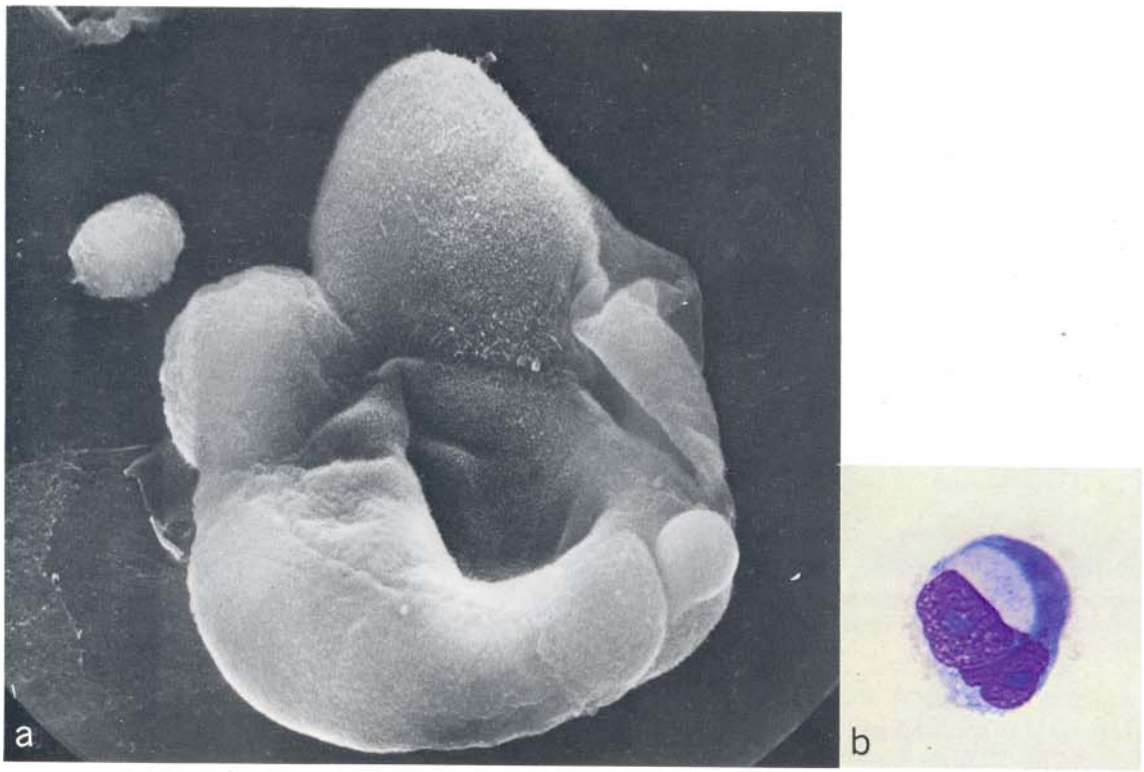


Fig. 877. Células adenocarcinomatosas aglomeradas de diversos tamaños. Pronunciada excavación del citoplasma que a la microscopia óptica se interpreta como vacuolización en anillo de sello. *a*, Micrografía electrónica de rastreo (× 2000). *b*, Considerable vacuolización en una célula cancerosa coloreada con Diff-Quick. El Diff-Quick es un colorante rápido comercial que tiñe de manera similar al método de Giemsa.

una vacuola intracitoplasmática sino a un hoyo, se demuestra porque en el fondo del hoyo hay estructuras de la superficie celular (figs. 874, 875 y 877).

4. Derrames en los estados patológicos benignos

Eosinofilia en los derrames

La preponderancia de eosinófilos en los derrames informa sobre sus estados causales, como neumotórax traumático o espontáneo,[114] neumonía, infarto pulmonar, neoplasia maligna,[17,74,110,113] infestación parasitaria (amibiasis,[13,15] ascariasis,[5,80] quiste hidatídico roto,[84] etc.) y enfermedades alérgicas.[115] Los estados alérgicos corresponden a la pericarditis reumática[75,81] y a la vasculitis alérgica.[34,35,70,102] Según un estudio de Spriggs, en 37 casos de eosinofilia pleural (más del 20% de eosinófilos) las enfermedades causales fueron neumotórax y hemotórax (32,4%), neumonía (13,5%), neoplasia maligna (13,5%) e infarto de pulmón (10,8%). En lo referente a la eosinofilia en el derrame pleural asociado con neumotórax, el examen histológico ha demostrado que la reacción pleural proliferativa con pronunciada infiltración eosinófila e histiocitaria se parece al granuloma eosinófilo. Muchas veces este cambio patológico en la lesión local se asocia con una reacción mesotelial con multinucleación.[3]

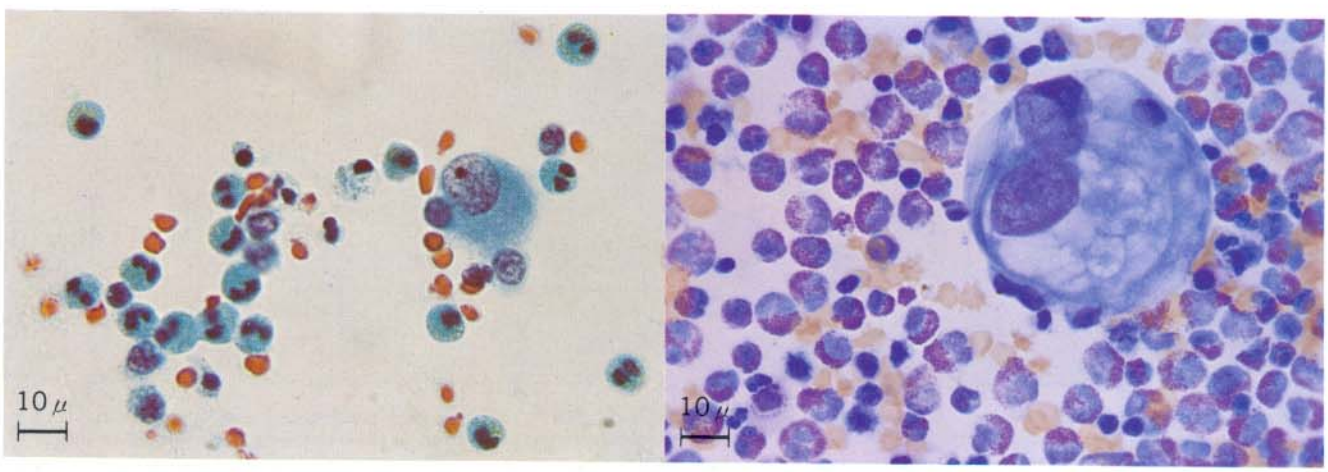


Fig. 878. Eosinofilia pleural asociada con malignidad. La exfoliación de células adenocarcinomatosas de un carcinoma pulmonar se acompañó de una eosinofilia tremenda en el derrame pleural. Los leucocitos eosinófilos teñidos con Papanicolaou muestran unas finas partículas amarillentas.

Derrames inflamatorios supurados agudos

La peritonitis y pleuritis supuradas agudas se deben a perforaciones de diversos órganos en las cavidades serosas, con la consiguiente infección bacteriana. También ocurre inflamación aguda sin perforación, tal vez por propagación linfática. El caso típico es la peritonitis migratriz[103] o peritonitis transdiafragmática (*Durchwanderungsperitonitis*), que puede deberse a una inflamación cercana al peritoneo. También puede ocurrir pleuritis migratriz por el mismo mecanismo. Los agentes etiológicos de la inflamación supurada son estreptococos, estafilococos, *Escherichia coli,* neumococos (en niños nefróticos), gonococos y bacilos anaeróbicos en la peritonitis supurada, mientras que en la pleuritis supurada los más comunes son estreptococos, neumococos y estafilococos. En la inflamación supurada aguda predominan los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos. En la etapa inicial de la inflamación se observan por breve tiempo células mesoteliales más o menos degeneradas,[92] las cuales no tardan en desaparecer y son sustituidas por abundantes neutrófilos. Los otros componentes celulares, macrófagos y linfocitos son escasos y no llegan a representar el 10% de las células totales. Es característica la presencia de detritos celulares.

Derrames inflamatorios no supurados agudos

Puede ocurrir derrame pleural por neumonía, gripe, infarto de pulmón, absceso subfrénico y absceso hepático. La retención de líquido suele ser escasa. Los componentes celulares son variables y comprenden neutrófilos polimorfonucleares, grandes cantidades de linfocitos, macrófagos y células mesoteliales activas que exhiben multinucleación y mitosis. La citología de los derrames no hace el diagnóstico de por sí. Al considerar el cuadro celular es muy importante que se tengan en cuenta los rasgos clínicos. En general, los derrames paraneumónicos son abundantes en leucocitos polimorfonucleares.

Muchas veces los derrames del infarto de pulmón se asocian con dolor pleurítico repentino, hemoptisis y febrícula. El cuadro celular es similar al de la pleuresía posneumónica, pero existe un llamativo predominio de células mesoteliales activas y eritrocitos. En ocasiones la cantidad de células mesoteliales llega a representar el 20 a 30%.[91]

Derrames tuberculosos

Los derrames por inflamación tuberculosa son serofibrinosos y hasta pueden ser fibrinopurulentos con un tinte sanguinolento, y linfocitarios con persistencia, excepto en las etapas iniciales de la inflamación aguda, en que se observan cuadros celulares variables; puede haber el 10 a 30% de neutrófilos polimorfonucleares y alguna células mesoteliales, además de los linfocitos. El predominio linfocitario puede conducir al diagnóstico erróneo de linfoma. La linfocitosis tuberculosa se distingue del linfoma por la uniformidad y/o preponderancia de linfocitos maduros. Muchas veces el fondo rico en fibrina abona a favor de la tuberculosis (fig. 879). Como en la peritonitis tuberculosa las asas de intestino delgado se halla pegoteadas entre ellas por adherencias, con la paracentesis sólo se obtiene una parte del derrame. En la etapa crónica de la pleuresía tuberculosa en vías de curación, las adherencias fibrosas pueden formar espacios saculados donde se acumula un trasudado claro.

En la actualidad el empiema tuberculoso es raro. Si ocurre, la citología del derrame pasa de pronto del predominio linfocitario al neutrófilo.[67] Si dura mucho, a veces el líquido se torna lechoso (derrame quiliforme) y hasta puede contener cristales de colesterol (derrame de colesterol).[14] En vista de que el contenido graso suele ser bajo, este derrame difiere de la ascitis quilosa. Los cristales muy refringentes de colesterol se pueden teñir con el método de Schultz o identificar con la microscopia de interferencia diferencial (véase fig. 166).[89]

Derrames por cirrosis hepática

En los casos de cirrosis hepática la ascitis se debe a la caída de la presión coloidosmótica y a la hipertensión portal. La causa de la ascitis se establece con facilidad por los rasgos clínicos y los exámenes de laboratorio. En la ascitis de la cirrosis hepática se debe considerar un mecanismo dinámico por hipertensión del flujo intrahepática (postsinusoide) y prehepática (presinusoide), así como la menor presión osmótica (hipoproteinemia); en la cirrosis incipiente la obstrucción postsinusoide por la hiperplasia nodular regenerativa promueve la formación de exceso de linfa, con la consiguiente filtración de líquido a partir del hígado con preferencia, mientras que en la cirrosis tardía la obstrucción presinusoide

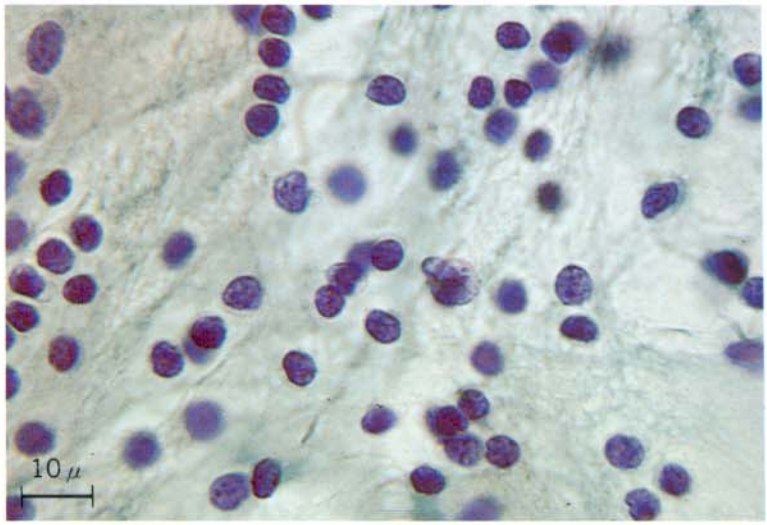


Fig. 879. Considerable linfocitosis del líquido pleural por tuberculosis pulmonar. El derrame tuberculoso presenta una linfocitosis extraordinaria junto con exudación de fibrina.

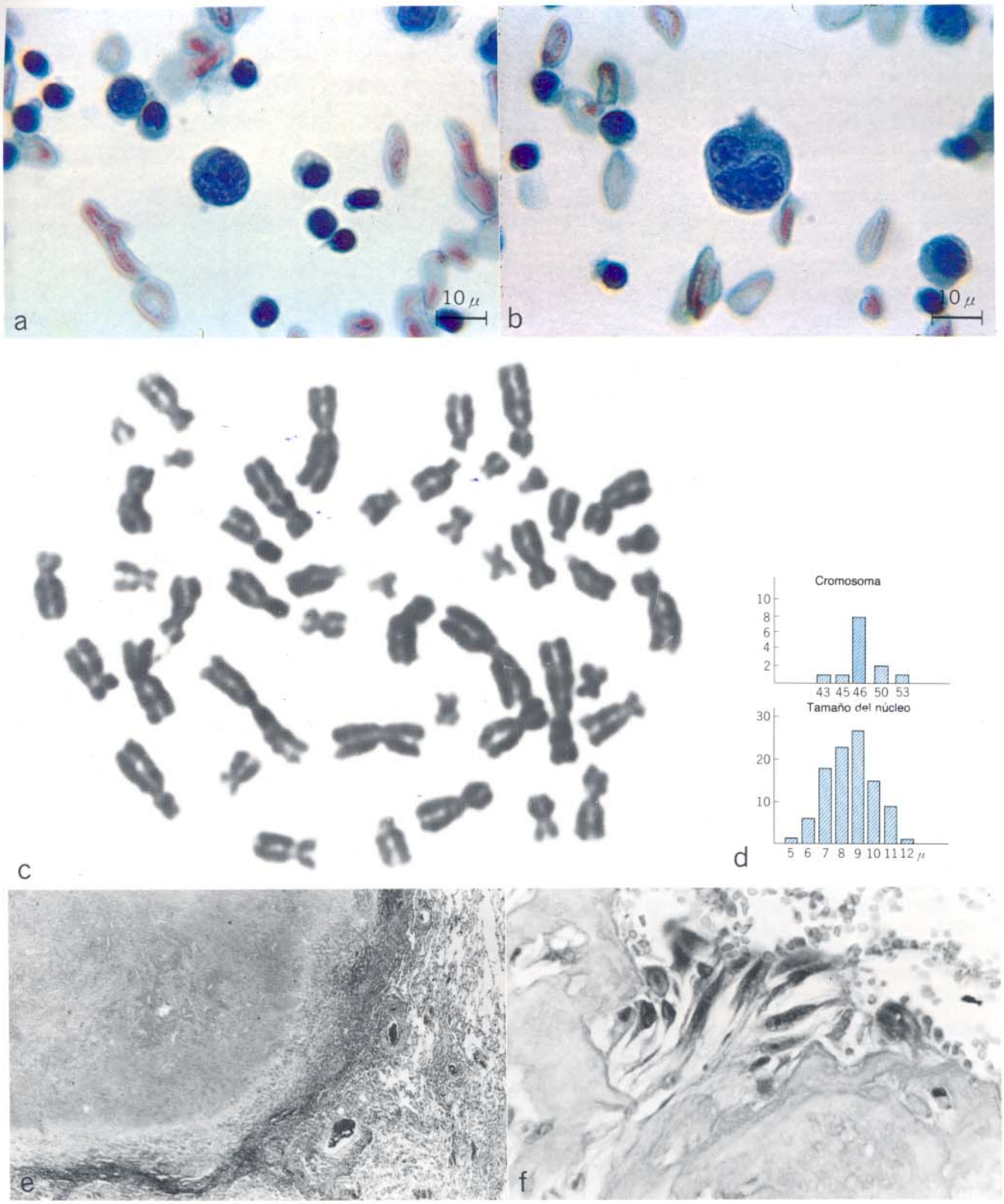


Fig. 880. Derrame pleural tuberculoso con linfocitosis y células atípicas dispersas que se interpretaron erróneamente como malignas en un hombre de 49 años. *a* y *b*, Células atípicas fusionadas con multinucleación hipercromática. Es probable que se trate de células mesoteliales activadas o de simples aglomeraciones de células linfoides (*a*). *c* y *d*, Estudios cromosómicos directos tras la toracentesis. Nótese el predominio de células diploides con cariotipos normales. Varias células casi diploides no tuvieron evidencias de cromosomas anormales. *e*, Pulmón resecado visto con poco aumento. Se hizo lobectomía del lóbulo superior derecho por la citología sospechosa en un escaso líquido pleural y por la densidad tumoroide localizada en el vértice. La histología indicó un tuberculoma en el parénquima subpleural, con una masiva necrosis caseosa. La lesión estaba delimitada por una pared fibrosa con infiltración de células epitelioides. *f*, Vista con gran aumento, la pleura visceral exhibe células mesoteliales hiperplásicas de núcleos hipercromáticos redondos o fusiformes. Estas células serían las responsables de la citología atípica.

por el proceso cicatrizal bloquea la entrada de la sangre portal.[106] La citología de la ascitis reviste particular importancia desde dos puntos de vista (véase fig. 851):

1. Las células mesoteliales en actividad tienden a confundirse con células malignas, en particular las hepatomatosas.

2. En raros casos la citología indica transformación maligna de cirrosis hepática a hepatoma. En estos casos la cuantificación inmunológica de alfafetoproteína confirma el hepatoma.

Las células mesoteliales activas que se descaman en aglomeraciones de tipo acinoso y poseen núcleos grandes, cariosomas un tanto granulares y uno o dos nucléolos prominentes, se pueden diferenciar de las células adenocarcinomatosas por los siguientes rasgos celulares: los núcleos de las células mesoteliales son de tamaño y morfología bastante uniformes, y sus superposiciones nucleares son menos prominentes que en las células adenocarcinomatosas. Además de las células mesoteliales que acabamos de mencionar, se ven cantidades variables de macrófagos activos, neutrófilos y eritrocitos.

Derrames por insuficiencia cardíaca congestiva

Los trasudados son comunes en las cavidades peritoneal y pleural en los casos de insuficiencia cardíaca congestiva. El cuadro celular es similar al que se observa en el derrame de la cirrosis hepática de Laennec, pero los sedimentos son tan escasos que apenas se reconocen elementos celulares en la centrifugación ordinaria.

5. Derrames malignos

Consideraciones generales sobre derrames malignos

Debemos mencionar que los tumores malignos de los órganos intratorácicos e intraabdominales originan derrames de dos maneras:

a) Primero, cuando las membranas serosas están tomadas directamente por la invasión tumoral, se detectan células malignas, pero existen dos tipos de casos con derrames malignos: 1) Se forman tumores malignos en las membranas serosas por implantación de metástasis, de modo que se exfolian grandes cantidades de células malignas en las cavidades corporales, como en el tumor ascítico trasplantable de los animales. Un caso típico es la carcinomatosis peritoneal de implantación por cistadenocarcinoma papilífero seroso de ovario. 2) Los tumores de los órganos intratorácicos e intraabdominales toman de manera progresiva sus membranas serosas y entonces se pueden descamar cantidades relativamente escasas de células malignas hacia las cavidades corporales, junto con células mesoteliales activadas. Un buen ejemplo de este tipo es el hepatoma (carcinoma hepatocelular primario).

b) Segundo, pueden ocurrir derrames serosos por inflamación secundaria o por trastorno circulatorio. Por ejemplo, el carcinoma broncógeno acarrea derrame pleural por bronconeumonía. En el síndrome de Budd-Chiari, debido a veces a oclusión de las venas hepáticas por el hepatoma, y en las metástasis hepáticas de tumores malignos que causan obstrucción portal, puede formarse un trasudado ascítico que no contiene células malignas.

Cuadro 79. Tumores primarios que causan derrames malignos en las cavidades corporales

Autores / Tumor primario	Johnson		Murphy y Ng	
	Pacientes	%	Pacientes	%
Carcinoma de pulmón	80	23,2	16	16,5
Carcinoma de mama	51	14,8	37	38,1
Carcinoma de ovario	45	13,0	23	23,7
Linfoma y leucemia	39	11,3	0	
Carcinoma de colon	21	6,1	4	4,1
Carcinoma de estómago	19	5,5	5	5,2
Carcinoma de endometrio	—		6	6,2
Carcinoma de páncreas	—		2	2,1
Carcinoma de vesícula biliar	—		1	1,0
Carcinoma de células renales	—		1	1,0
Carcinoma de tiroides	—		1	1,0
Carcinoma de cuello uterino	—		1	1,0
Otros (diversos sitios)	57	16,5		
Sitios desconocidos	33	9,6		
Totales	345		97	

En vista de que en los derrames serosos malignos se observan diversos tipos de células cancerosas y células sarcomatosas, es importante e interesante tipificar las células malignas con miras a una posible interpretación de sus sitios de origen. La tipificación celular se realiza para esclarecer 1) si las células malignas son de origen epitelial o mesenquimático, es decir, carcinomatosas o sarcomatosas; 2) si las células malignas son de tipo glandular, epidermoide o anaplásico, y 3) si las células malignas poseen rasgos específicos que identifiquen a las neoplasias primarias o no; por ejemplo, seudociliación y cuerpos psamomatosos en el cistadenocarcinoma papilífero seroso de ovario, pigmento melánico en el melanoma maligno y gránulos azurófilos en la leucemia mielógena (figs. 889-891, 925, 955).

Rasgos de las células malignas

La mayoría de las células malignas de los derrames serosos provienen del adenocarcinoma y exhiben los siguientes rasgos típicos de las células de tipo glandular:

1) Células adenocarcinomatosas

Tipo globular. Este tipo exhibe una aglomeración celular característica en bola celular o mórula. La bola consiste en gran cantidad de células densamente apretadas y por lo general dispuestas paralelamente a su límite (figs. 887, 910 y 919). No suele haber vacuolas. Este tipo se ve con mayor frecuencia en el carcinoma canalicular de la mama; tiende más a originarse en un carcinoma tubular medular constituido por masas sólidas de células cancerosas separadas por un estroma de tejido conectivo. En este tipo figuran las bolas celulares con células dispuestas en pétalos en la periferia; las prolongaciones de las células cancerosas hacia afuera a modo de pétalos, significan un cuadro tubular papilífero de adenocarcinoma (figs. 887 y 888).

Tipo tubular. Éste es el tipo más común en el adenocarcinoma y se caracteriza por aglomeraciones celulares de tama-

Cuadro 80. Sitios primarios y tipos celulares en los derrames malignos

A. Derrame pleural

Tumor primario	Hombres				Mujeres				Total	%
	Tipo glandular	Tipo pavimentoso	Tipo indiferenc.	Otros	Tipo glandular	Tipo pavimentoso	Tipo indiferenc.	Otros		
Carcinoma de pulmón	34	4	8	0	18	2	0	0	66	40,0
Carcinoma de estómago	13	0	0	0	6	0	0	0	19	11,5
Carcinoma de mama	0	0	0	0	17	0	0	0	17	10,3
Carcinoma de esófago	1	4	0	0	0	1	0	0	6	3,6
Carcinoma de páncreas	3	0	0	0	2	0	0	0	5	3,0
Carcinoma de colon	3	0	0	0	1	0	0	0	4	2,4
Carcinoma de ovario	—	—	—	—	3	0	0	0	3	1,8
Carcinoma de vías biliares	1	0	0	0	1	0	0	0	2	1,2
Carcinoma de útero	—	—	—	—	0	1	0	0	1	0,6
Sitio desconocido	7	0	0	3	9	0	0	2	21	12,7
Linfoma	—	—	—	7	—	—	—	5	12	7,3
Leucemia	—	—	—	2	—	—	—	0	2	1,2
Mieloma múltiple	—	—	—	1	—	—	—	1	2	1,2
Seminoma, disgerminoma	—	—	—	1	—	—	—	1	2	1,2
Teratoma maligno	—	—	—	1	—	—	—	1	2	1,2
Neuroblastoma	—	—	—	0	—	—	—	1	1	0,6
Timoma maligno	—	—	—	1	—	—	—	0	1	0,6
Sarcoma	—	—	—	0	—	—	—	1	1	0,6
Totales	62	8	8	16	57	4	0	12	167	

B. Ascitis

Tumor primario	Hombres				Mujeres				Total	%
	Tipo glandular	Tipo pavimentoso	Tipo indiferenc.	Otros	Tipo glandular	Tipo pavimentoso	Tipo indiferenc.	Otros		
Carcinoma de estómago	60	0	0	0	41	0	0	0	101	49,5
Carcinoma de colon	9	0	0	0	4	0	0	0	13	6,4
Carcinoma de ovario	—	—	—	—	11	0	0	0	11	5,4
Carcinoma de vías biliares	7	0	0	0	4	0	0	0	11	5,4
Carcinoma de páncreas	4	0	0	0	6	0	0	0	10	4,9
Carcinoma de hígado	5	0	1	0	2	0	0	0	8	3,9
Carcinoma de útero	—	—	—	—	3	1	0	0	4	2,0
Carcinoma de pulmón	0	0	0	0	3	0	0	0	3	1,5
Carcinoma de vejiga	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1,0
Sitio desconocido	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,5
Linfoma	10	0	0	3	9	0	0	1	23	11,3
Mieloma múltiple	—	—	—	5	—	—	—	1	6	2,9
Leucemia	—	—	—	1	—	—	—	1	2	1,0
Disgerminoma	—	—	—	1	—	—	—	0	1	0,5
Teratoma maligno	—	—	—	—	—	—	—	1	1	0,5
	—	—	—	0	—	—	—	2	2	1,0
Tumor de células de la granulosa	—	—	—	—	—	—	—	1	1	0,5
Neuroblastoma	—	—	—	0	0	0	0	1	1	0,5
Sarcoma	—	—	—	1	—	—	—	1	2	1,0
Melanoma	—	—	—	0	—	—	—	1	1	0,5
Totales	95	0	1	13	83	2	0	10	204	

ño y aspecto variables; el prototipo es una gran columna trabecular o tubular consistente en células columnares. La gran variación de tamaño y de la distribución de las células cancerosas es característica del adenocarcinoma tubular común. Muchas veces esto se asocia con vacuolación celular.

Tipo mucosecretante. Este tipo de célula maligna exhibe una vacuolación intracitoplasmática cargada de moco. Las vacuolas, que están delineadas a pico, se deben a las alteraciones degenerativas. La célula en anillo de sello, forma extrema de este tipo, se define coloreándola con PAS o con azul alciano.

Tipo columnar simple. Las células malignas solitarias del adenocarcinoma poco diferenciado exhiben una forma columnar o cuboide con núcleos periféricos.

En vista de que los subtipos precedentes son comunes en los adenocarcinomas de diversos órganos, como ovario, cuerpo uterino, tracto digestivo, mama, pulmón y próstata, los rasgos celulares no permiten de por sí determinar los sitios primarios de los carcinomas.

2) Células de carcinoma epidermoide. Aunque ocurre carcinoma epidermoide en el esófago, pulmones y cuello uterino, es raro que se exfolien células cancerosas; esto sólo sucedió en el 7,3% de 165 casos de derrame pleural maligno y en el 1% de 204 de ascitis maligna (cuadro 80). Las células cancerosas epidermoides suelen exfoliarse como células solitarias y a veces en aglomeraciones. Como el compromiso de la serosa no suele ser diseminado, la cantidad de células de cáncer epidermoide exfoliadas es pequeña. Estas células

cancerosas que se descaman en forma individual hacia los líquidos no son tan pleomórficas como en los extendidos de los raspados y tienden a ser redondeadas. Los bordes nucleares son rígidos y el citoplasma es grueso y de bordes nítidos. Las finas fibrillas laminillares hacen el diagnóstico del tipo epidermoide. Las aglomeraciones celulares se disponen en láminas planas con aspecto en empedrado. Las células cancerosas originadas en las perlas neoplásicas están dispuestas a modo de un bulbo de lila.

3) Fondo del derrame maligno y su importancia

1. Los derrames malignos presentan hemorragia macro y microscópica.

2. Los derrames con linfocitos ocurren en diversas enfermedades, incluso neoplasias malignas, y son muy copiosos, en particular los de etiología tuberculosa. En las neoplasias malignas la preponderancia de linfocitos T significa que hay respuesta local del huésped contra las células cancerosas (fig. 872), pero la cantidad de estas células no concuerda con la población total de linfocitos T en la sangre periférica y esto tiene importancia para el pronóstico.

3. Muchas veces está aumentada la cantidad de histiocitos o macrófagos y su actividad fagocitaria y su tingibilidad con rojo neutro son más intensas.

4. Con los colorantes para las grasas, como Sudán III u otros, se demuestran muchos lipófagos. Se sabe que las neoplasias malignas en proliferación activa tienden a degenerar con mucha rapidez. Por lo tanto, los gránulos sudanófilos aparecen en las células cancerosas en degeneración y también en los macrófagos que rodean a los tejidos tumorales necrosados. La reacción del trifeniltetrazolio (TPT),* a causa de su liposolubilidad, permite demostrar los macrófagos cargados de gruesos gránulos de TPT y células cancerosas con gránulos finos. Esta reacción depende de la reducción del TPT incoloro por la succínico deshidrogenasa a trifenilformazán rojizo, que se disuelve en los lípidos y, por lo tanto, se discierne con facilidad como sustancia sudanófila.[1]

* La reacción del TPT se hace con sencillez del siguiente modo: 1) Centrifúguese el derrame seroso 5 minutos a 1.000 rpm, 2) deposítese una gota de sedimento en un portaobjeto de vidrio limpio al cual se agrega solución de cloruro de sodio con TPT al 1 % para mezclarla con ella, y 3) colóquese un cubreobjeto, ciérrese con parafina y manténgase en estufa 30 m a 37°C.

6. Cuadro celular general en los carcinomas de diversos órganos

Carcinoma de estómago

La mayoría de los carcinomas gástricos derivan del epitelio foveolar y exhiben diversos grados de diferenciación, incluso dentro del mismo tumor. En los derrames son comunes los tipos tubular y/o columnar aislado, que corresponden a los adenocarcinomas tubular y poco diferenciado, respectivamente (figs. 882 y 883). También son frecuentes las células en anillo de sello solas o aglomeradas (véase figs. 866 y 883) porque la expresión "anillo de sello" se usa en sentido amplio, no sólo para designar células malignas, sino también macrófagos benignos cuando el núcleo está desplazado hacia la periferia por las grandes vacuolas. Las células en anillo de sello que contienen productos mucinosos PAS positivos suelen provenir del carcinoma mucinoso (carcinoma de células en anillo de sello).

La tipificación de las células malignas en la ascitis por carcinoma gástrico, reveló que el tipo más común es el tubular (37,5%), seguido por el tipo en anillo de sello (32,5%).

Carcinoma de colon

La histología de la mayoría de los carcinomas de colon consiste en elementos tubulares atípicos con estratos múltiples de células columnares altas (*adenocarcinoma tubular*

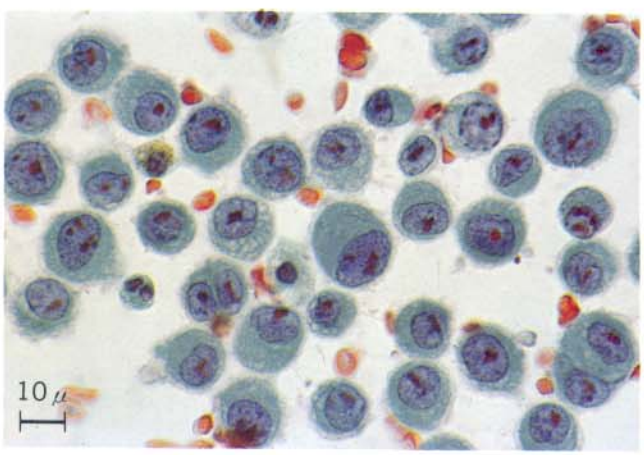


Fig. 881. Células adenocarcinomatosas individuales en una ascitis por carcinoma gástrico. Los grandes núcleos hipercromáticos son excéntricos y exhiben nucléolos prominentes. La exfoliación de una cantidad tan grande como ésta de un solo tipo de células cancerosas es frecuente en el derrame maligno por carcinoma gástrico.

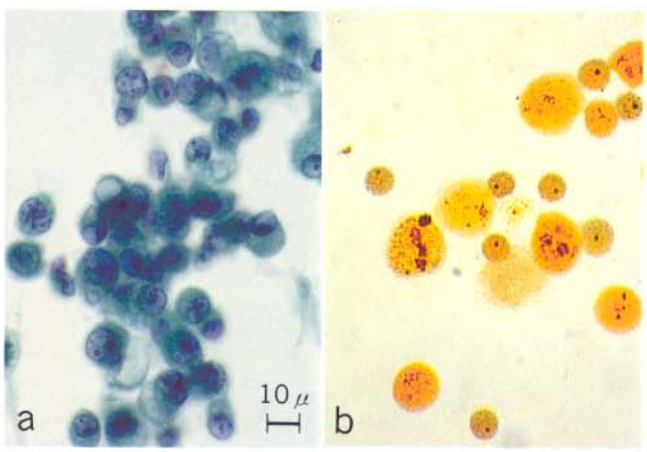


Fig. 882. Aglomeración tubular de células de adenocarcinoma gástrico. *a*, Papanicolaou. Aunque los núcleos son hipercromáticos y poseen nucléolos prominentes, son demasiado pequeños para ser células cancerosas. También se ven células cancerosas columnares individuales. *b*, Tinción con Ag-As para organizadores nucleolares. Mientras que los linfocitos maduros presentan una sola región organizadora nucleolar en un punto, las células cancerosas se distinguen por la mayor cantidad de regiones organizadoras nucleolares con una dispersión irregular. La tinción Ag-As es sencilla y valiosa para reconocer la anormalidad citogenética (véase pág. 118).

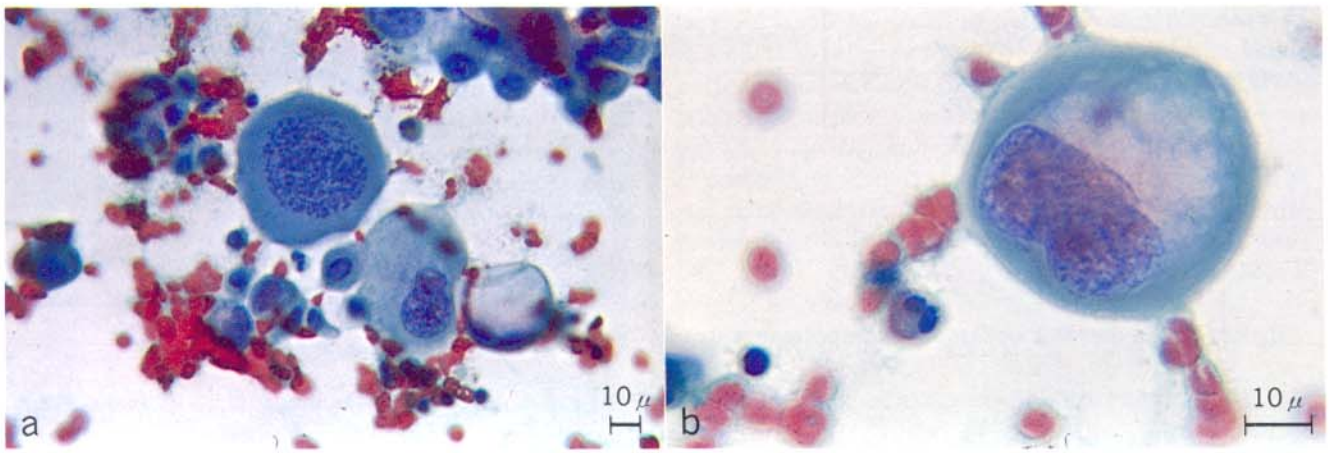


Fig. 883. Células adenocarcinomatosas mucosecretantes individuales en la ascitis de un carcinoma gástrico. En *a* tenemos una célula en anillo de sello y una célula cancerosa poliploidea en profase, y en *b* se aprecia un halo perinuclear de tinte rosado por el contenido de moco.

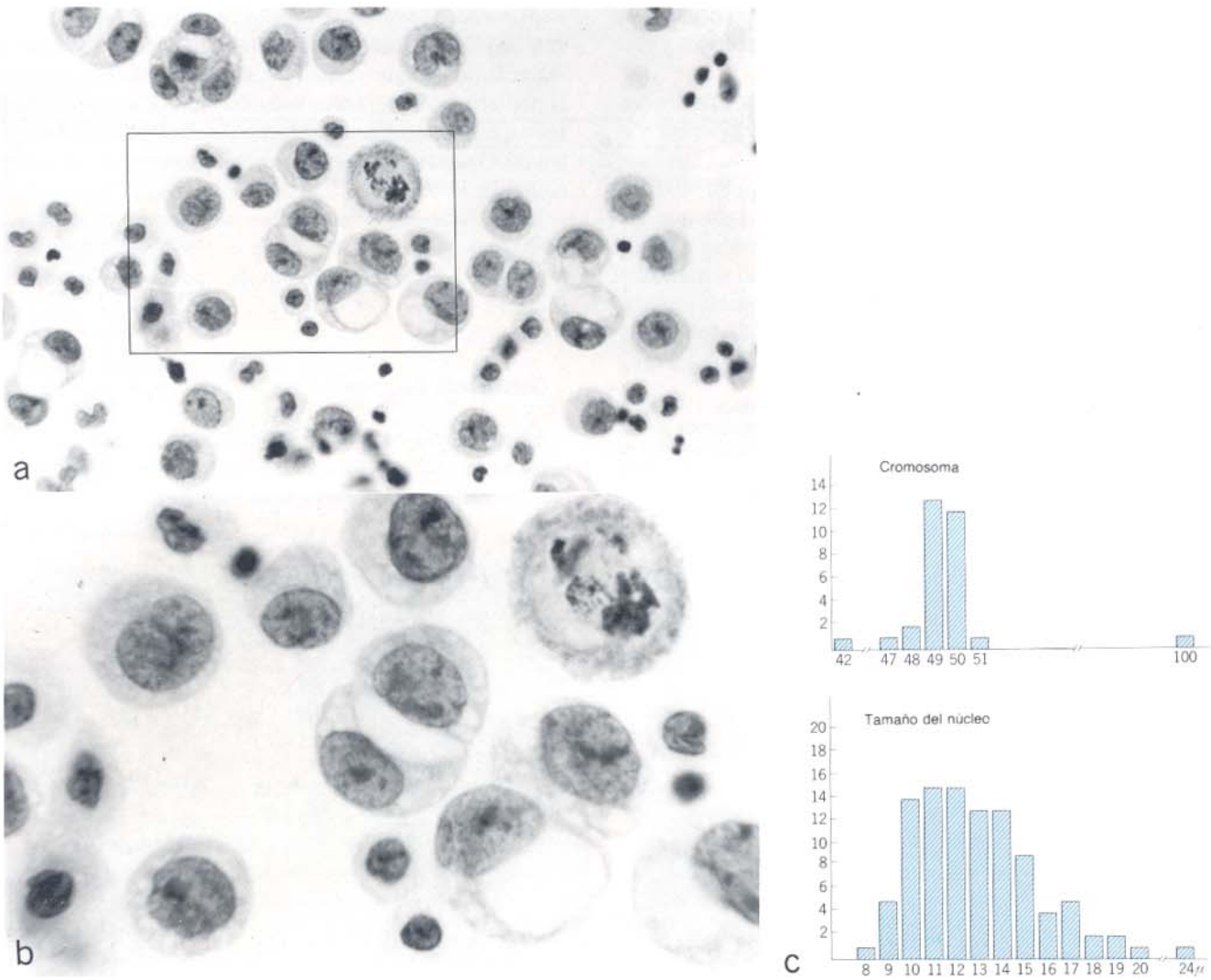


Fig. 884. Células malignas de tipo columnar solitario en la ascitis por adenocarcinoma gástrico y su análisis cromosómico. *a* y *b*, Las células malignas son tan numerosas como una suspensión de células puras en el líquido ascítico. Los grumos gruesos de cromatina, los cariosomas irregulares y las mitosis anómalas satisfacen los criterios de malignidad, pero la variación del tamaño nuclear y del contenido de cromatina no es tan pronunciada como en otras células cancerosas poliploideas y aneuploideas. *c*, Los estudios cromosómicos revelaron dos células modales hiperdiploideas con 49 y 50 cromosomas. La variación del tamaño nuclear de estas células reveló una gama relativamente estrecha de 10 a 15 μ de diámetro. El tamaño nuclear y la relación nuclear-citoplasmática de las células somáticas normales se mantienen muy acordes con los tejidos de los cuales derivan. En algunas comunicaciones se señaló la relación paralela entre el tamaño nuclear y el contenido de DNA o el número cromosómico.

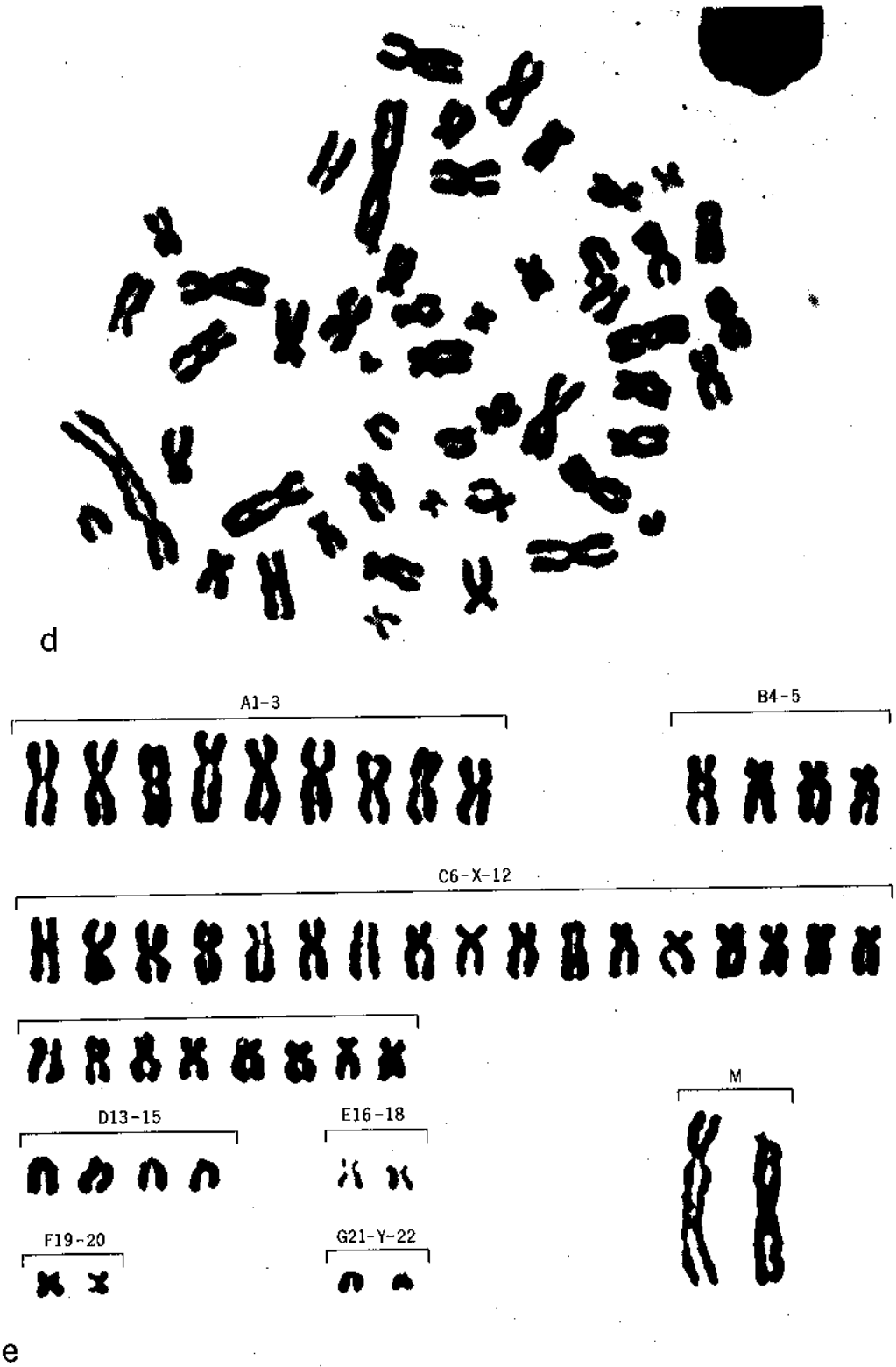


Fig. 884 (d y e). Metafase hiperdiploidea y cariotipo de una célula modal con 50 cromosomas. La distribución de los cromosomas es muy anormal y existen dos grandes cromosomas marcadores. Las relaciones entre los brazos de estos cromosomas marcadores son de alrededor de 13,5 y 2,6, respectivamente. En el análisis de muchas placas en metafase se comprobaron cuadros cariotípicos variables incluso dentro de la población celular modal, en tanto que en un porcentaje muy grande (96,7 %) aparecieron dos largos cromosomas marcadores (*M*) de tipos submediano y subterminal.

Cuadro 81. Tipos celulares de células de cáncer en ascitis secundaria a carcinoma gástrico

Tipo celular	*N° de casos*	%
Columnar aislado	8	20,0
En anillo de sello	13	32,5
Tubular	15	37,5
Formación de vacuolas	(2)	
No vacuolado	(13)	
Mixto	4	10,0
Total	40	

cilindrocelular). En consecuencia, muchas veces el tipo tubular de células malignas, con empalizadas nucleares, es sugestivo de carcinoma colónico. También existe un carcinoma que elaboraría moco; las células en anillo de sello ocurren aisladas o a menudo forman aglomeraciones en la cavidad peritoneal.

Carcinoma de ovario

El cistadenocarcinoma seroso produce a menudo derrames malignos en la cavidad peritoneal. En este tumor aparecen numerosas células cancerosas de tipo papilotubular en el líquido ascítico. La vacuolación de estas aglomeraciones celulares abona a favor del carcinoma de ovario. Aunque es raro encontrar cuerpos psamomatosos en las aglomeraciones celulares, si los hay, significan cistadenoma papilífero de ovario.[49] Los cuerpos psamomatosos también pueden ocurrir en relación con una proliferación papilífera benigna del ovario[45,76] (fig. 889). Spriggs[91] describió un rasgo celular específico denominado seudociliación, que corresponde al *cistadenoma cilioepitelial;* los rasgos celulares ciliados se demuestran mejor con Giemsa que con Papanicolaou (fig. 891). En la microscopia electrónica de rastreo se demuestra la estructura de tipo ciliar característica, como especialización anómala (fig. 892).

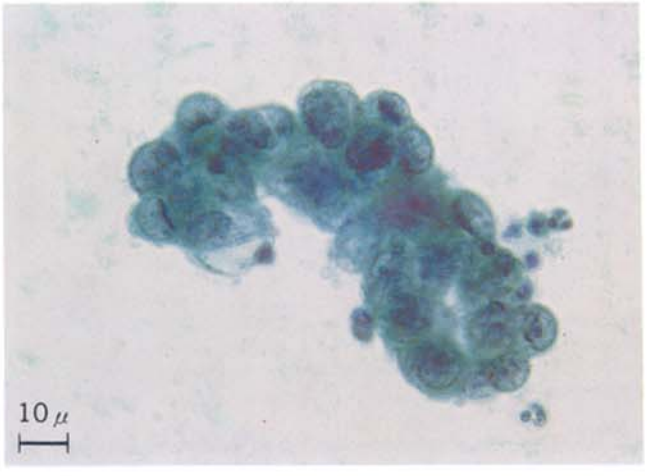


Fig. 885. Células adenocarcinomatosas en la ascitis, dispuestas de manera característica a modo de un túbulo. Caso de carcinoma de recto. Las células cancerosas hipercromáticas se presentan a modo de un túbulo elongado, con considerable superposición nuclear; esta imagen concuerda con la histología del adenocarcinoma tubular (adenocarcinoma de tipo intestinal) del tracto gastrointestinal.

Un hecho fuera de lo usual en el cistadenoma mucinoso es el derrame de células mucinosecretantes tumorales que liberan su material dentro de la cavidad peritoneal (2,9% de 102 casos, Woodruff y col.[107]). Esto puede acarrear un estado tan grave que los intestinos quedan incluidos en un denso material mucinoso *(seudomixoma peritoneal)*. Siendo difícil encontrar las células tumorales del cistadenoma mucinoso en el líquido mucinoso, la paracentesis se hace con aguja gruesa (calibre 18 a 20) para punción lumbar (fig. 893). Estas células están dispuestas en láminas con aspecto en empedrado o en bolas celulares y poseen un citoplasma claro elongado. Los núcleos son ovoides y de tamaño bastante uniforme. Estas aglomeraciones celulares aparecen rodeadas por el material amorfo PAS positivo. Si se hace un bloque celular, estos rasgos citológicos son comparables al cuadro histológico característico del cistadenoma mucinoso (figs. 843b y 893c y d). Téngase en cuenta que la rotura de un mucocele del apéndice origina implantos gelatinosos y seudomixoma peritoneal.

Tumores específicos de ovario

Los tumores específicos de ovario que se asocian con ascitis son carcinoma embrionario, disgerminoma, mesonefroma, etc.

Es raro que el *tumor de células de la granulosa* se acompañe de derrame peritoneal; las células tumorales están aglomeradas en trabéculas o acinos laxos. Los núcleos del tumor de células de la granulosa son bastante pequeños, ovales o redondos, de tamaño y morfología uniformes, y tienen una trama de cromatina blanda.

El *disgerminoma* exhibe una diseminación peritoneal directa y desprende unas grandes células poliédricas características, de núcleos vesiculosos redondos y centrales. Estas células están dispuestas en una lámina plana con escasa superposición. De vez en cuando la mezcla de linfocitos en las aglomeraciones celulares y en torno de ellas reviste utilidad diagnóstica.

El *carcinoma embrionario* se asocia a menudo con derrame y descama unas aglomeraciones celulares tubulares con vacuolación prominente. Los núcleos son muy pleomórficos e hipercromáticos, y poseen macronucléolos. En ocasiones se detecta producción tumoral de alfafetoproteína con técnicas inmunoquímicas e inmunocitológicas. Este tipo de tumor germinativo corresponde a la variedad que tiene predominio de elementos glandulares y se halla íntimamente emparentado con los otros tumores germinativos que van a la diferenciación trofoblástica (coriocarcinoma) o a la diferenciación somática (teratocarcinoma o teratoma maligno).

El *teratoma maligno sólido* exhibe en los preparados histológicos diversos componentes hísticos en distintas etapas de diferenciación; puede haber células estrelladas embrionarias junto con diversas áreas sarcomatosas, tejidos neurales primitivos y elementos glandulares inmaduros, además de islotes de tejidos cartilaginosos y óseos.

El *teratoma quístico* de ovario es una variedad benigna cuya luz aparece revestida por epidermis, junto con diversos anexos cutáneos. Como a este tumor se lo llama quiste dermoide, se asocia con tejidos diversos como elementos neurales, dientes, tiroides, epitelio bronquial y cartílago.

Debemos señalar que el teratoma de ovario enorme en la niña de corta edad, muchas veces comprende elementos inmaduros de la neuroglia y se acompaña de un derrame excesivo en la cavidad corporal; nunca se pudo explicar la presencia de células neurogliales y células pavimentosas benignas en los derrames, a pesar de que el tumor es encapsulado. Fox y Langley[27] propusieron tres posibilidades: 1) depósito de tejido neural primitivo que madura a partir del teratoma sobre la membrana serosa, 2) metástasis linfáticas y 3) extrusión de tejido neuroglial a través de un defecto en la cápsula del teratoma. El inusual teratoma con *gliomatosis peritoneal* se acompaña de pequeños implantos nodulares en la serosa.[26,82,105] Es poco frecuente que el comportamiento de esta neoplasia sea maligno y se puede anticipar un buen

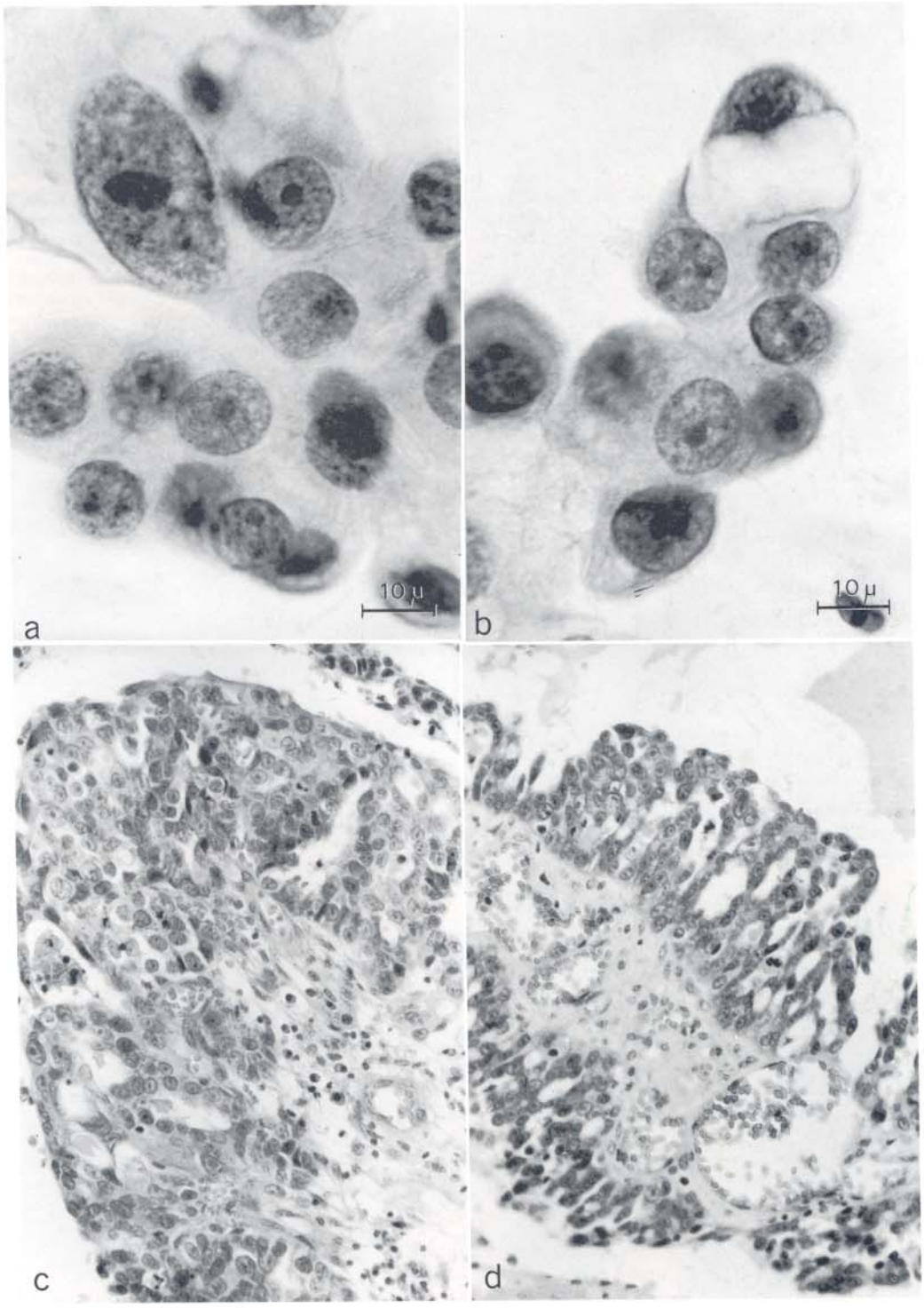


Fig. 886. Tipo tubular común de células cancerosas descamadas de un cistadenocarcinoma seroso de ovario hacia el líquido ascítico. *a* y *b*, La citología muestra la posición excéntrica de los núcleos, la prominencia de los nucléolos, la vacuolización citoplasmática y la distribución tubular de las células, con superposiciones nucleares. Se descama gran cantidad de estas células cancerosas a causa de las implantaciones peritoneales. *c* y *d*, Histología del cistadenocarcinoma seroso papilífero. Las células cancerosas tienden a apilarse y a formar estructuras glandulares. Este cuadro estructural ilustra la exfoliación del tipo tubular de células malignas (*a* y *b*).

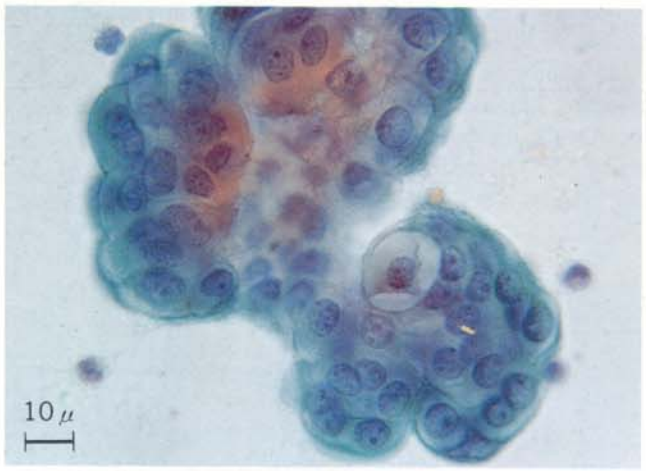


Fig. 887. "Mórula" de blastos celulares provenientes de un carcinoma canalicular de mama. Las bolas celulares a modo de mórula que presentan contornos lisos sugieren carcinoma canalicular infiltrativo común de la mama. El contorno lineal bien nítido difiere de los pétalos de la bola celular papilífera.

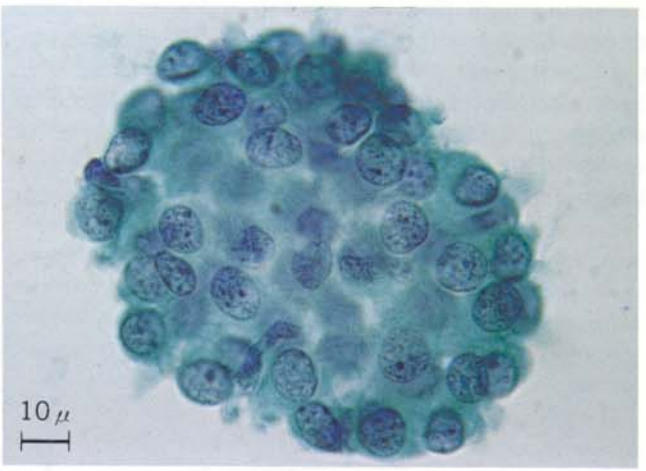


Fig. 888. Bola celular muy apiñada de un adenocarcinoma papilífero seroso de ovario. Nótese la considerable superposición nuclear. Esta bola celular con pétalos periféricos significa adenocarcinoma tubular papilífero.

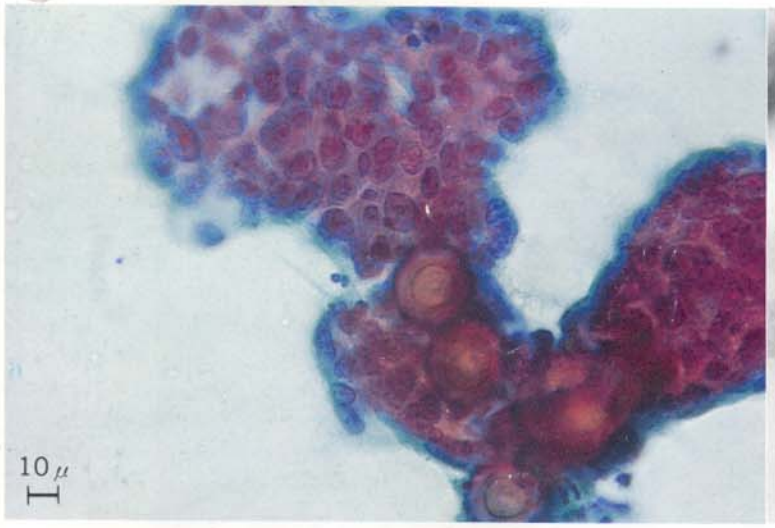


Fig. 889. Aglomeración celular papilífera con cuerpos psamomatosos, proveniente de un adenocarcinoma papilífero seroso de ovario. Puntos diferenciales: 1) típica distribución papilar con superposiciones nucleares y 2) cuerpos psamomatosos laminados múltiples.

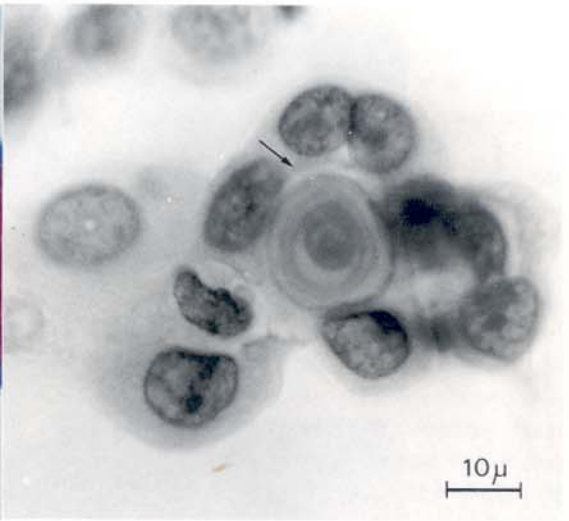
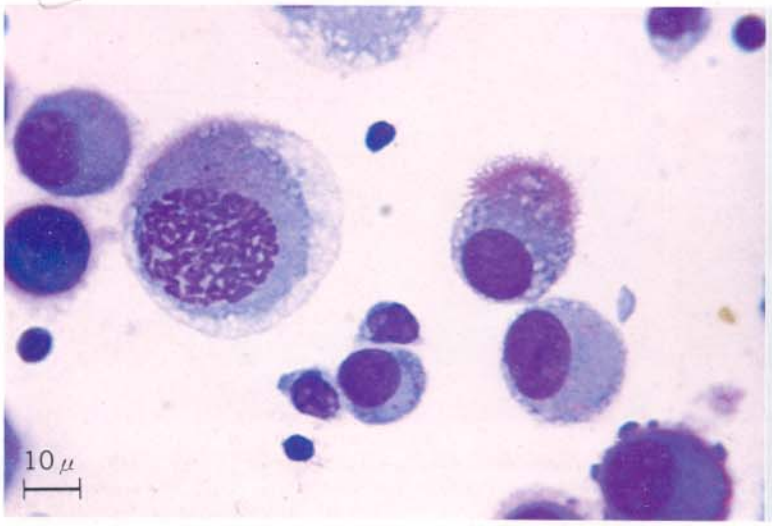


Fig. 890. Cuerpo psamomatoso en el cistadenoma seroso. Nótese la concreción laminillar basófila dentro de un grupo de células tumorales.



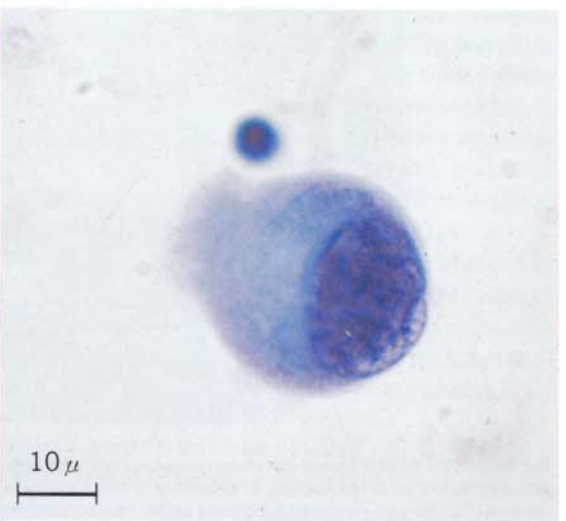


Fig. 891. Células adenocarcinomatosas individuales con ciliación en un caso de ascitis por adenocarcinoma papilífero seroso de ovario. La coloración con Giemsa revela con mayor nitidez las células cancerosas columnares ciliadas que el Papanicolaou.

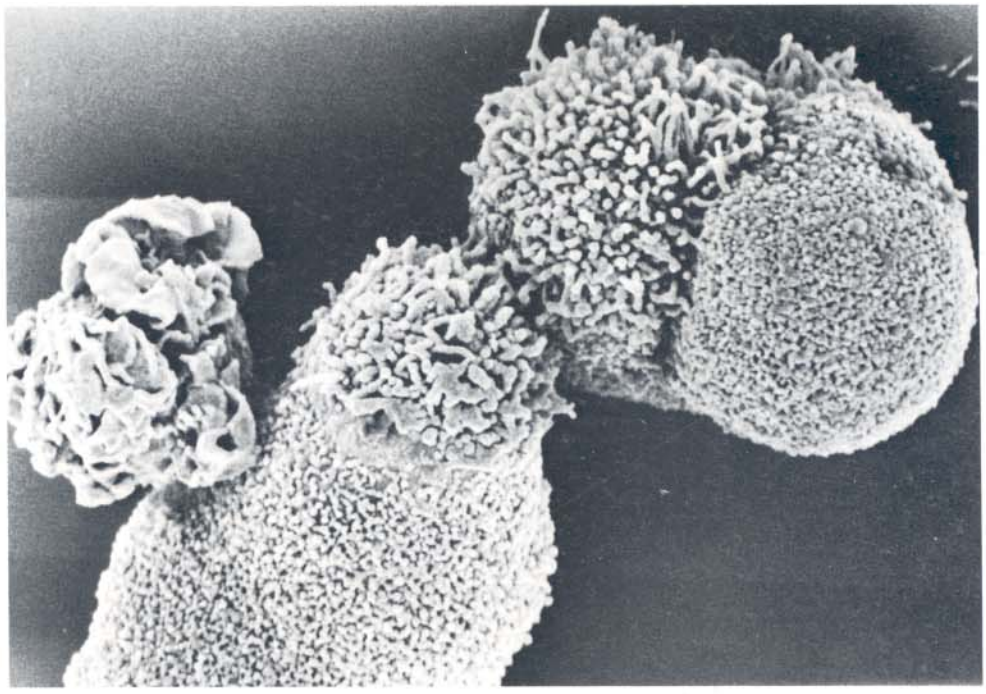


Fig. 892. Micrografía electrónica de rastreo de un cistadenocarcinoma seroso ciliado de ovario. Las células cancerosas cubiertas de densas microvellosidades adoptan configuraciones de tipo ciliado. (Gentileza del doctor Tsuji, K., Dep. de Laboratorio Diagnóstico Central, Hospital de la Prefectura de Oita, Oita, Japón.)

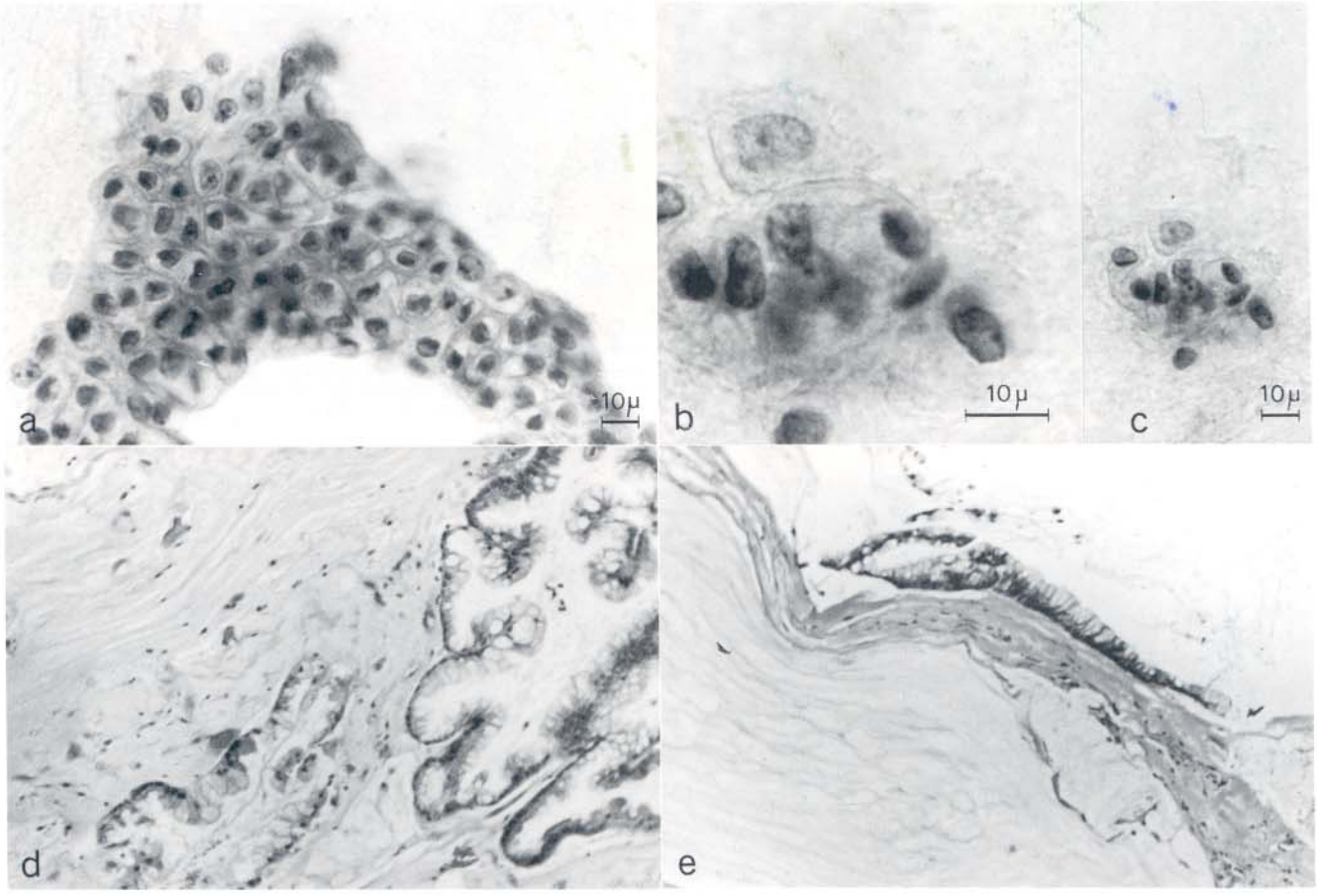


Fig. 893. Seudomixoma peritoneal por cistadenoma mucinoso de ovario. *a* a *c, Grandes aglomeraciones celulares a modo de fragmentos de tejido en la ascitis gelatinosa.* El abundante citoplasma con vacuolas claras que rodea a los núcleos les imparte un aspecto en panal de abejas visto desde arriba (*a*). Las células epiteliales se ven apenas en la enorme cantidad de material gelatinoso y no aparecen células inflamatorias. *d* y *e, Histología de implantes peritoneales de cistadenoma mucinoso de ovario, con ácinos secretorios incluidos en un material gelatinoso denso.* Las células tumorales son columnares altas y de núcleos oscuros en la base del citoplasma vacuolado. Mujer de 59 años a la que varios años antes se le hizo una ooforectomía por cistadenoma mucinoso. Desde entonces las células tumorales trasplantadas han venido acumulando un denso material mucinoso.

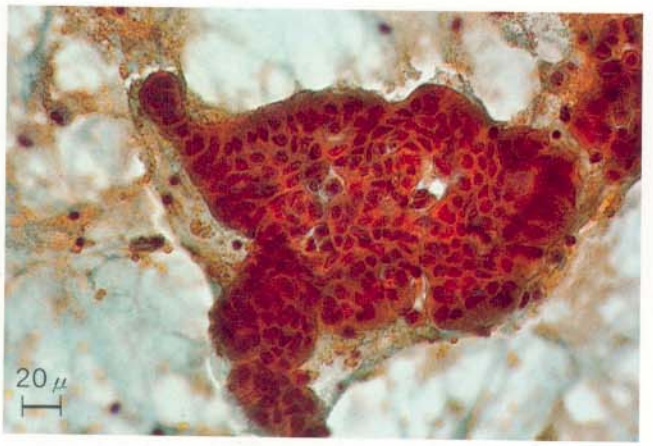


Fig. 894. Seudomixoma peritoneal originado en un mucocele de apéndice; células columnares en una gran aglomeración dentro de un abundante lago de moco. Los núcleos son pequeños y su anormalidad no concuerda con el grado de malignidad, pero el fondo mucinoso con un tinte pardusco o azulado claro señala que se trata de un seudomixoma peritoneal.

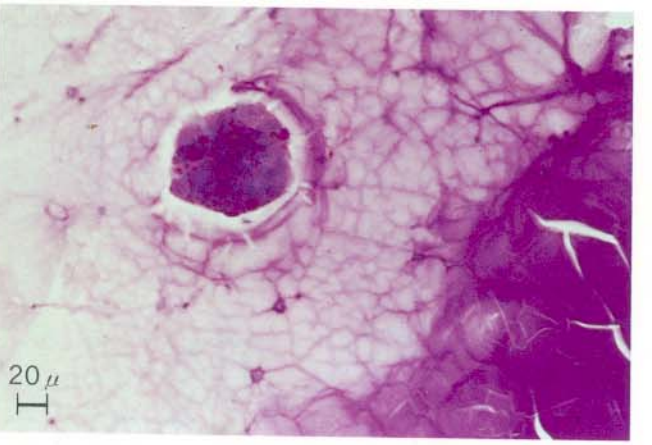


Fig. 895. Seudomixoma peritoneal visto con poco aumento. Nótense el fondo mucinoso PAS positivo y una aglomeración de células columnares. También se puede colorear con azul alciano.

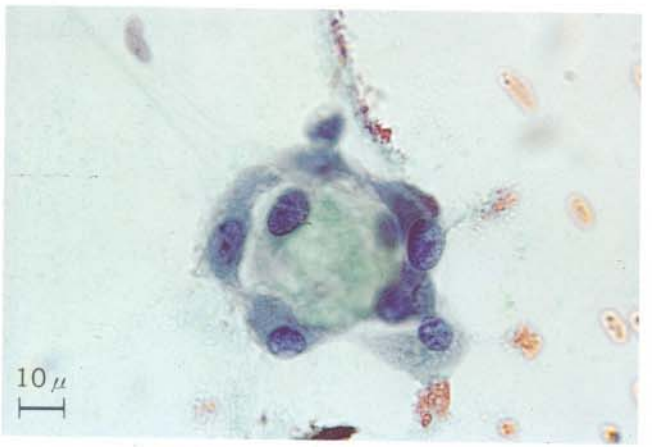


Fig. 896. Seudomixoma peritoneal por cistadenoma mucinoso de ovario. Pequeñas células aglomeradas con un material mucinoso en el centro, que exhiben pequeños núcleos redondos u ovales y un citoplasma biselado. Estas células con cola o fibroides se ven con frecuencia.

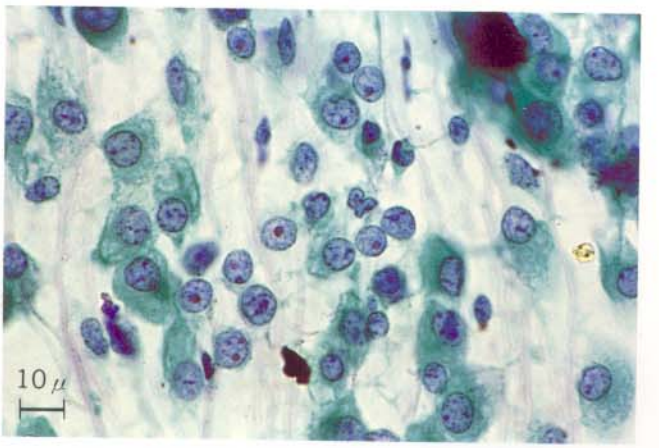


Fig. 897. Tumor de células de la granulosa del ovario en la ascitis. De un tipo difuso. Los núcleos ovales uniformes presentan contornos lisos característicos y contienen nucléolos únicos. Nótese la trama blanda de la cromatina.

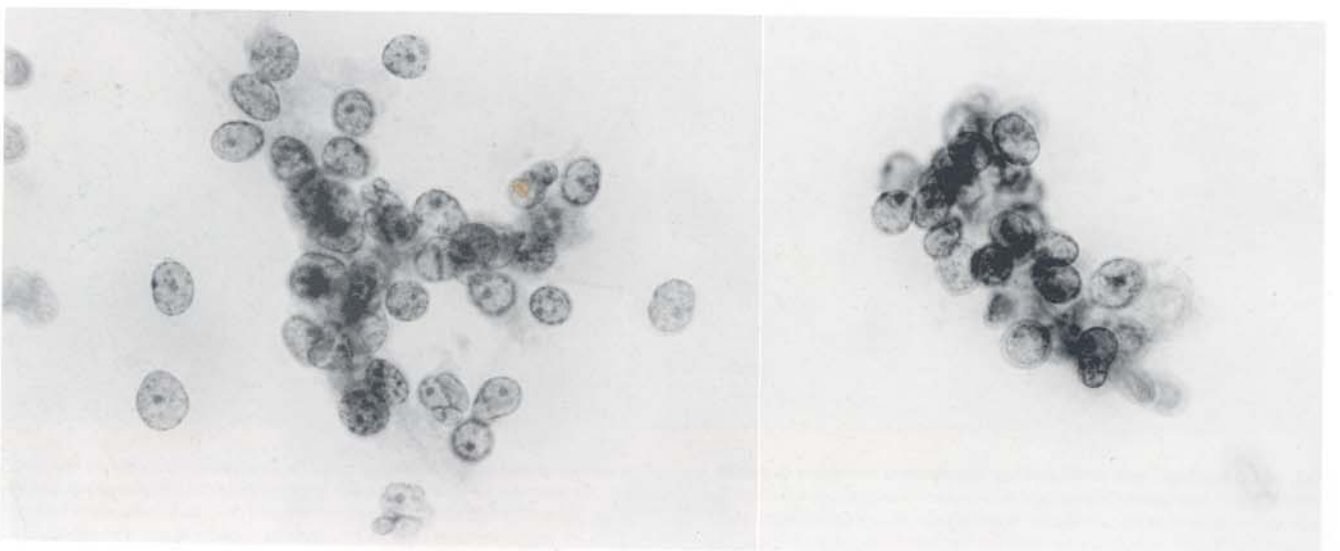


Fig. 898. Células de tumor de la granulosa forman una imagen folicular en la ascitis. El líquido hemorrágico contiene unas células ovales uniformes casi desnudas, dispuestas en una forma foliculoide tubular. Los nucléolos únicos, la trama blanda de la cromatina, la uniformidad del tamaño nuclear y el borde nuclear liso distintivo abonan en favor de tumor de células de la granulosa.

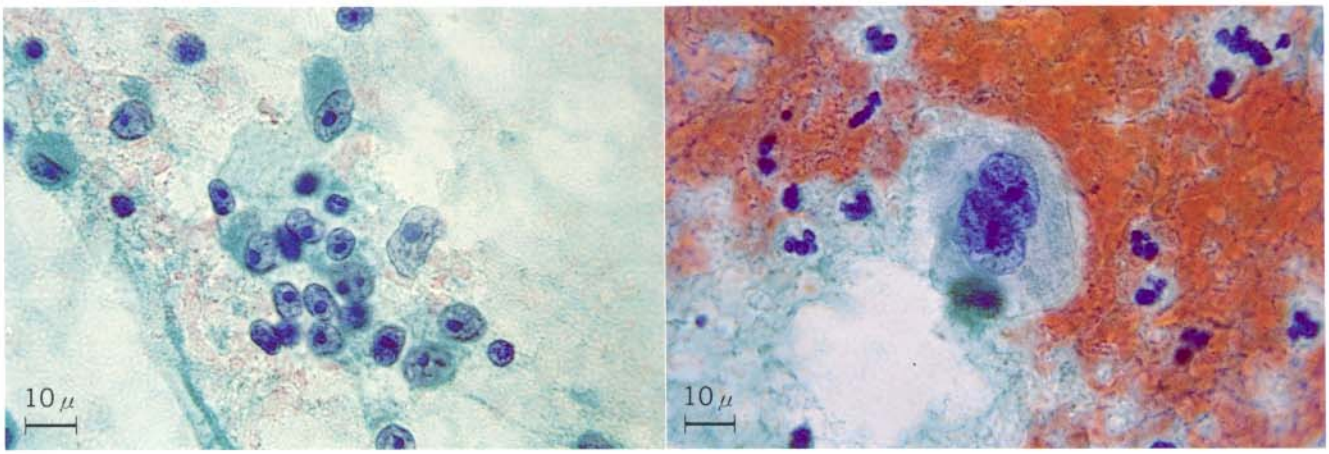


Fig. 899. Células de disgerminoma en el aspirado de un tumor de ovario. Las células tumorales germinativas presentan rasgos característicos comunes, como: 1) núcleo grande y redondo, con una trama de cromatina vesiculosa; 2) por lo general un nucléolo prominente en posición central, y 3) moderada cantidad de un citoplasma poligonal claro. La asociación con células linfoides dentro de las células tumorales y a su alrededor hace el diagnóstico de germinoma.

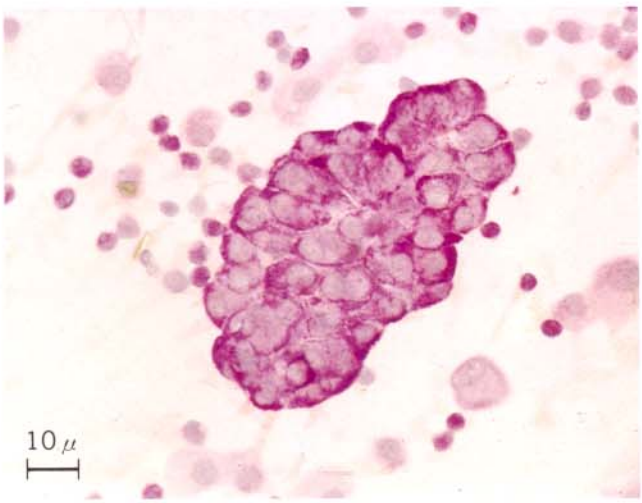


Fig. 900. Aglomeración de células de disgerminoma PAS positivas. Los tumores germinales dan positiva la reacción PAS. Nótense las células linfoides dispersas.

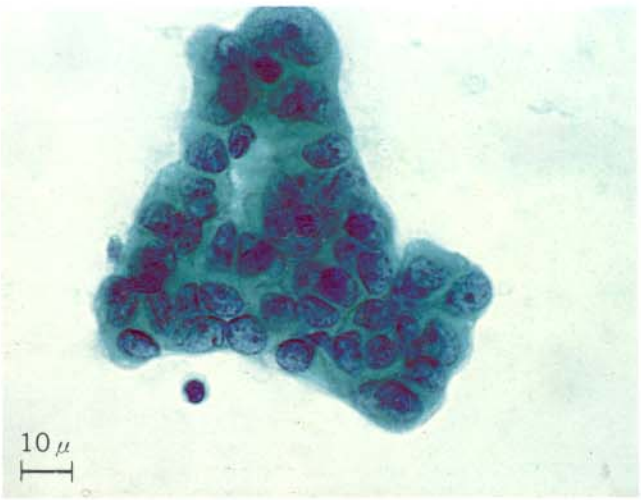


Fig. 901. Seminoma de un hidrocele en un hombre de 29 años. La citología del seminoma es comparable a la del disgerminoma. Nótense las células linfoides entremezcladas en una aglomeración celular o en torno de las células epiteliales.

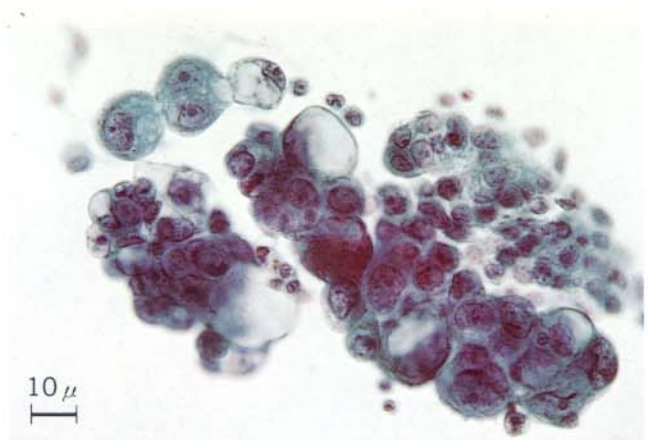


Fig. 902. Aglomeración de células de carcinoma embrionario dispuestas en forma papilotubular en una ascitis por tumor testicular. Los rasgos característicos de carcinoma embrionario son alta relación N/C, marcado hipercromatismo, vacuolización citoplasmática y una trama papilotubular.

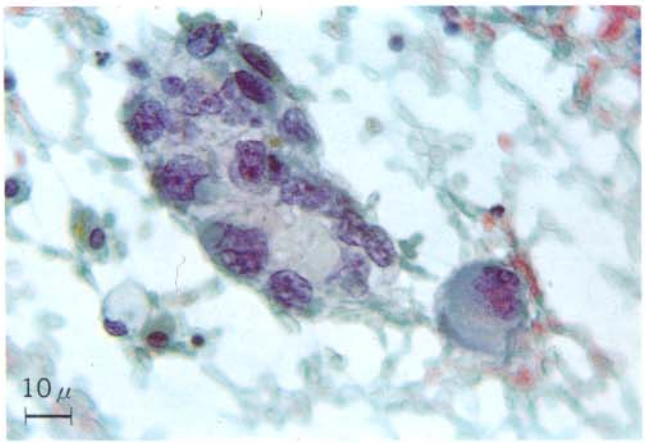


Fig. 903. Células malignas en una aglomeración tubular proveniente de un carcinoma embrionario de ovario. La citología sólo acusa adenocarcinoma tubular, pero el hallazgo citoquímico de alfafetoproteína en la inmunofluorescencia y el cuadro clínico de un bulto ovárico sugieren carcinoma embrionario.

pronóstico cuando el tumor primario y los implantos serosos maduran. En raros casos el teratoma quístico benigno se maligniza (1,7% según Kelly y Scully[44]) y las partes principales del tumor consisten en carcinoma pavimentoso.

El *tumor de células claras* del ovario, también llamado *tumor mesonéfrico* (Teilum[98]) o adenocarcinoma de células claras (Saphir y Lackner[88]) crece en formaciones papilíferas o sólidas de células cuboides de citoplasma claro como el

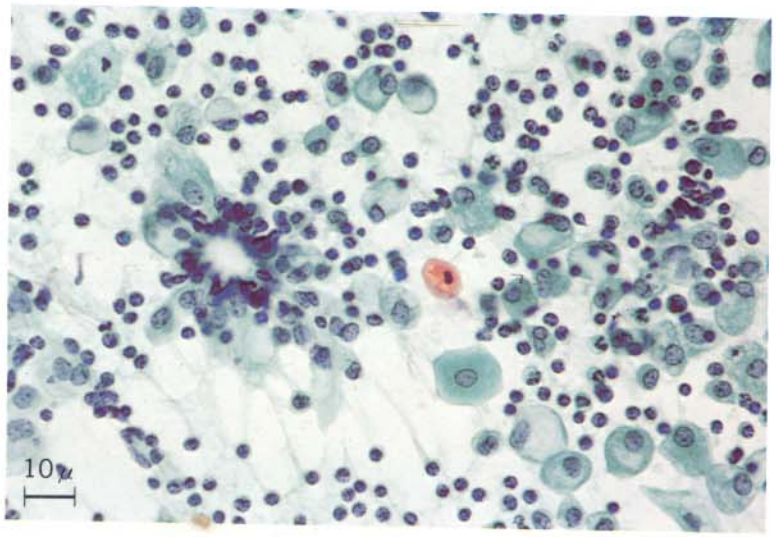


Fig. 904. Gliomatosis pleural en una niña de 14 años con derrame pleural asociado con teratoma de ovario. "Síndrome de Meigs" característico. Indican teratoma: 1) las células neurogliales inusuales aglomeradas y 2) unas cuantas células pavimentosas.

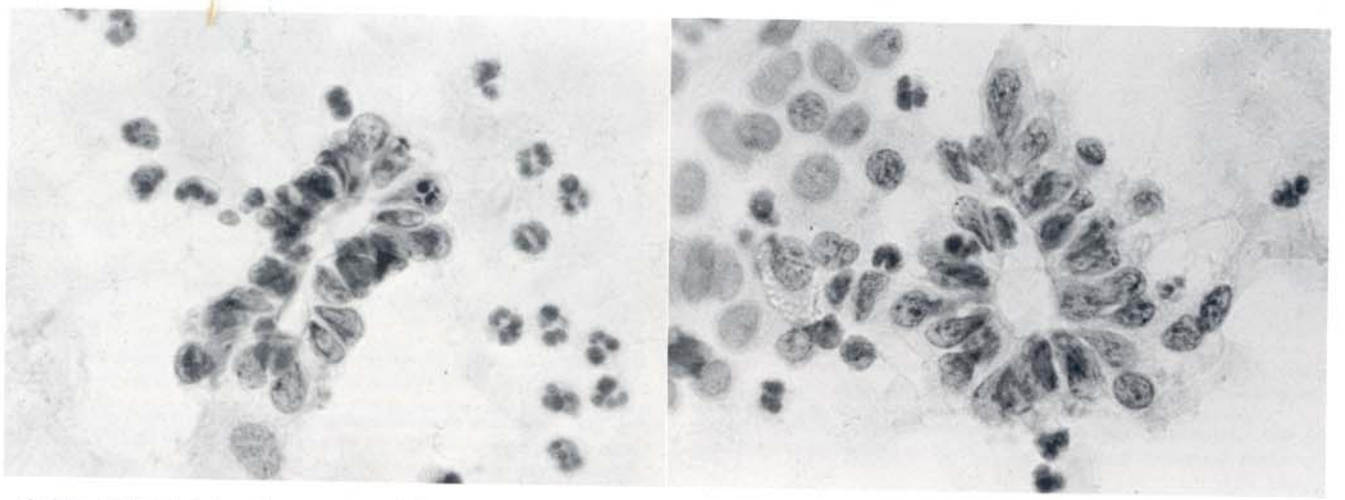


Fig. 905. Gliomatosis pleural con sus característicos "conos y bastones" celulares, indicativos de origen neural. Vistas muy ampliadas del extendido de la figura 904.

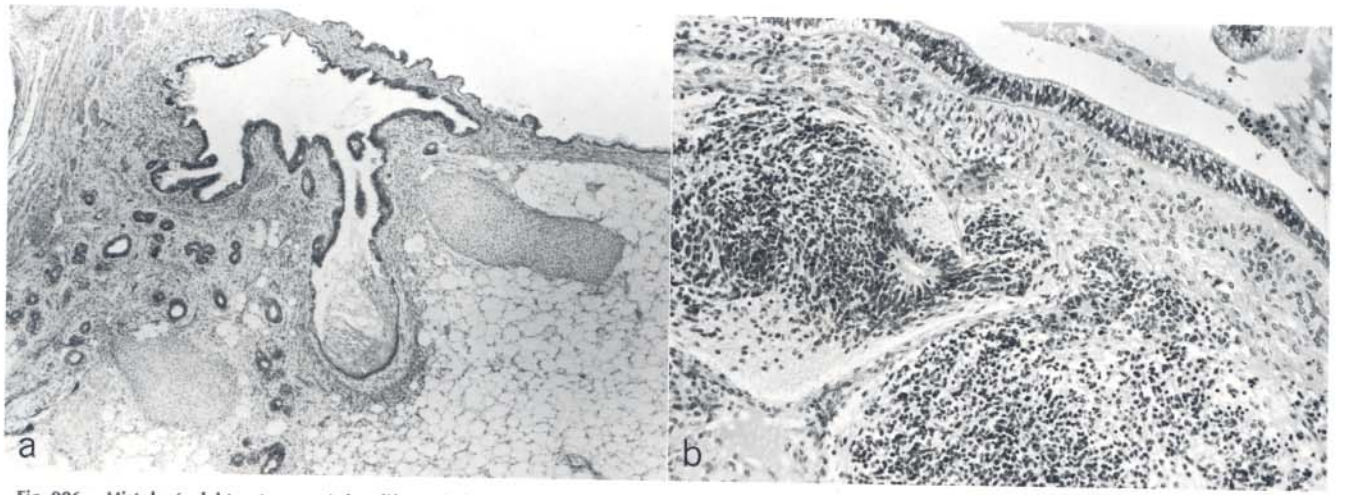


Fig. 906. Histología del teratoma quístico diferenciado de ovario. Caso de las figuras 904 y 905. Después de la ooforectomía el derrame pleural desapareció. Se ilustran el epitelio respiratorio, el tejido adiposo y el cartílago. Sólo el elemento histológico inmaduro es neuroglial (*b*).

hipernefroma por la abundancia de glucógeno. Las células tumorales del derrame peritoneal se aglomeran en bolas o grumos que poseen un citoplasma claro fuertemente positivo al PAS.

Carcinoma de pulmón

Aunque la histología del carcinoma de pulmón es muy variable, los tipos tubular y columnar aislado son muy comunes en los derrames serosos porque los carcinomas periféricos que tienden a propagarse a lo largo de la pleura visceral y muchas veces son adenocarcinomas, originan un compromiso pleural de tipo mesoteliomatoso. Es raro ver siembras o metástasis de carcinoma espinocelular diferenciado en las cavidades serosas. Cuando se presenta esta excepción, ocurren células pleomórficas aisladas de citoplasma voluminoso y grueso (fig. 915). Las células de avena tienden a pasar inadvertidas porque su tamaño es similar al de los linfocitos, pero se las puede diferenciar de éstos en que forman aglomeraciones de células con considerables variaciones del tamaño

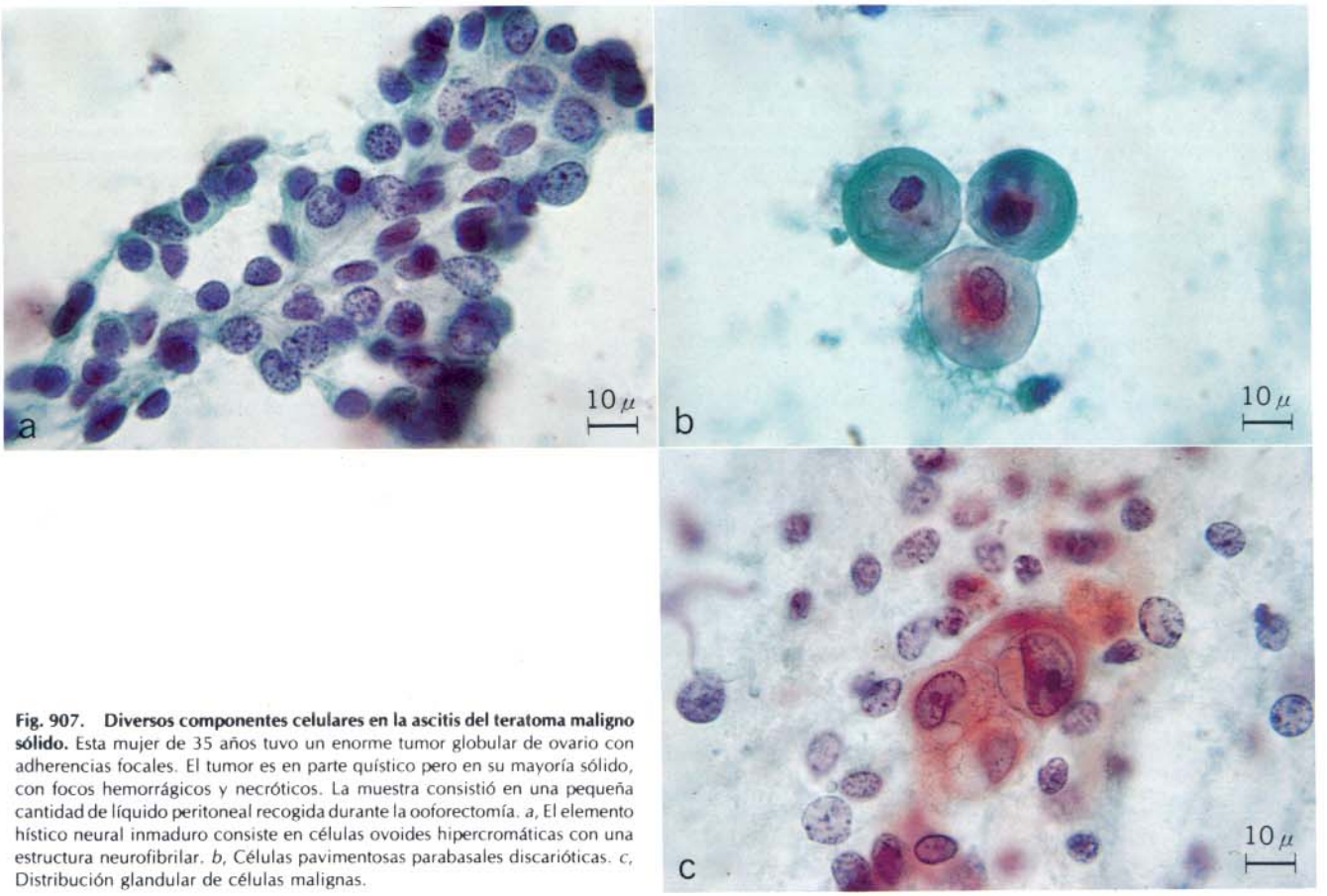


Fig. 907. Diversos componentes celulares en la ascitis del teratoma maligno sólido. Esta mujer de 35 años tuvo un enorme tumor globular de ovario con adherencias focales. El tumor es en parte quístico pero en su mayoría sólido, con focos hemorrágicos y necróticos. La muestra consistió en una pequeña cantidad de líquido peritoneal recogida durante la ooforectomía. *a*, El elemento hístico neural inmaduro consiste en células ovoides hipercromáticas con una estructura neurofibrilar. *b*, Células pavimentosas parabasales discarióticas. *c*, Distribución glandular de células malignas.

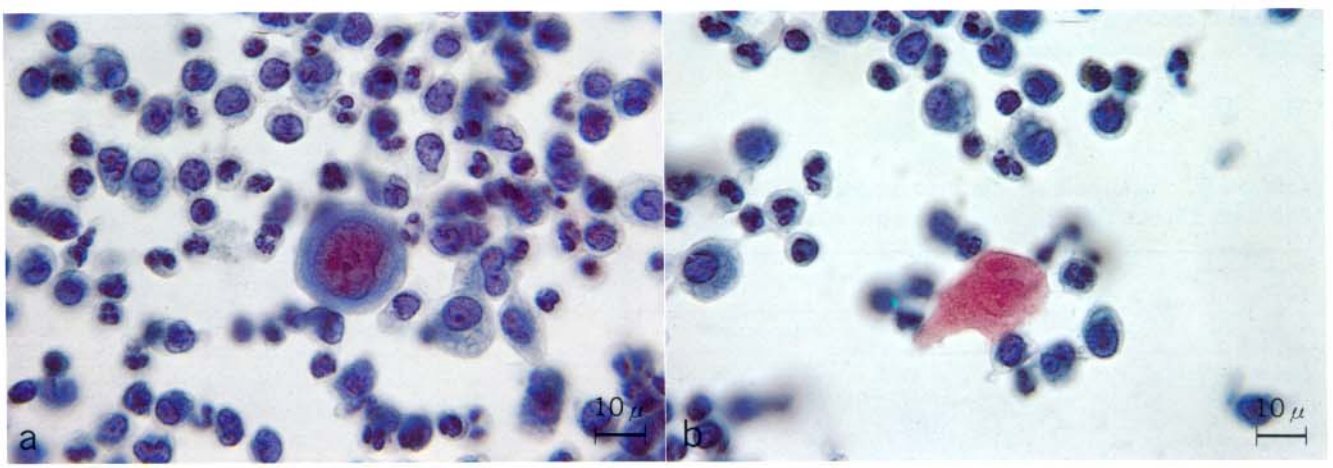


Fig. 908. Células cancerosas epidermoides en una ascitis por quiste dermoide malignizado. El 1 a 2 % de los teratomas quísticos benignos que se malignizan son epidermoides. *a*, Célula de tipo parabasal con un gran núcleo hipercromático y una estructura perinuclear fibrilar. *b*, Célula epidermoide queratinizante con colicuación nuclear.

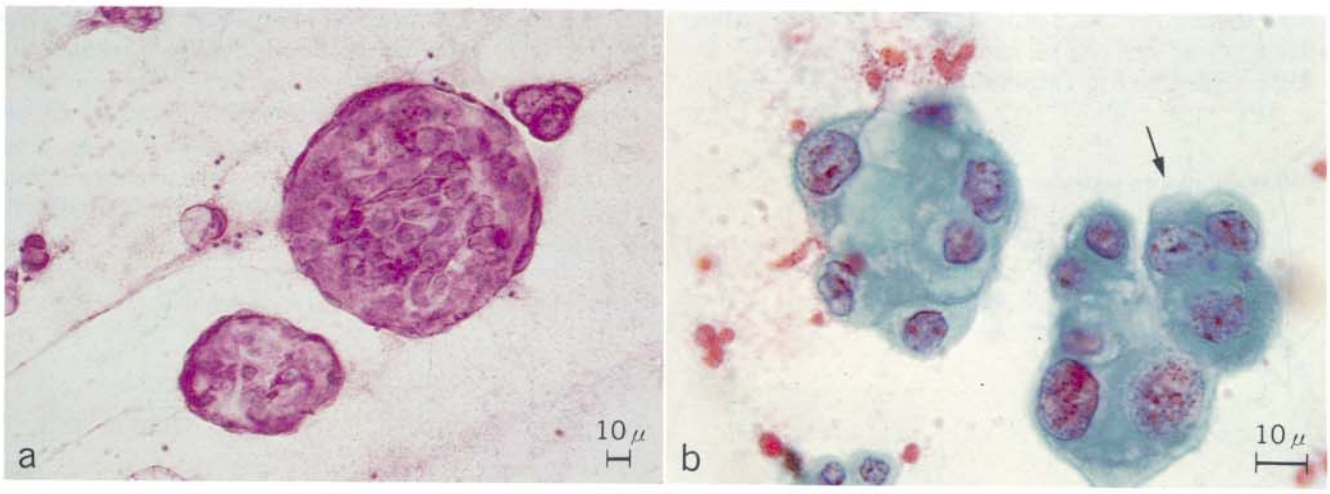


Fig. 909. Células malignas en una ascitis por mesonefroma ovárico. *a,* Bolas celulares con un citoplasma claro PAS intensamente positivo. *b,* Vista muy ampliada. Núcleos hipercromáticos y de tamaños variables, con múltiples nucléolos pequeños. Puntos diferenciales: 1) citoplasma transparente abundante, 2) intensa tinción con PAS y 3) protrusiones celulares ocasionales en una aglomeración (*flecha*) que corresponden a las células en clavo calamón en histología.

y forma de los núcleos de una célula a otra; muchas veces se reconoce la distribución en fila india o en tándem, con moldeamiento de los núcleos aplicados los unos contra los otros. En ocasiones se discierne prominencia nucleolar en estas células.

Las células mesoteliales activas son los elementos problemáticos que deben distinguirse de las células cancerosas. Las células mesoteliales en actividad se identifican por los siguientes rasgos: 1) Las células mesoteliales no despliegan aumento absoluto del contenido de cromatina ni aglomeración anormalmente gruesa de ésta, 2) el engrosamiento e irregularidad de los bordes nucleares no son tan pronunciados como en las células cancerosas, 3) los núcleos activos, aunque moderadamente agrandados, se asocian con un citoplasma bastante abundante y son centrales, y 4) la relación nucleolonuclear (Quensel) se mantiene dentro de límites benignos;[65,79] en las células no neoplásicas la relación n/N es 0,15 a 0,2, mientras que en las células malignas es 0,25 a 0,4.[24] En el cuadro 82 se consigna la frecuencia de derrames pleurales malignos de acuerdo con los tipos celulares. Comparando la citología de los derrames pleurales con la histología de los cánceres de pulmón enviados al mismo Laboratorio de Patología Clínica en el mismo período de 1961-1975, se reconoce que la mayor frecuencia de derrames pleurales corresponde al adenocarcinoma; la relación es 1 a 0,58 en el adenocarcinoma, 1 a 0,17 en el carcinoma epidermoide y carcinoma de células grandes, y 1 a 0,32 en el carcinoma de células pequeñas.

Carcinoma de mama

La mama es uno de los órganos más importantes que dan derrames malignos. Los núcleos son bastante pequeños y de morfología bastante uniforme, y sólo miden el doble o menos que los núcleos mesoteliales en actividad. Las cromatinas son blandas. Esto origina resultados negativos falsos cuando las células cancerosas se descaman en forma individual o en pequeñas aglomeraciones celulares. El macronucléolo permite distinguirlas de las células mesoteliales en actividad. En el carcinoma de mama es característica la descamación en bolas celulares muy apretadas de tamaños variables; el carcinoma tubular medular canalicular, que es el tipo de carcinoma mamario más común, produce esta aglomeración celular distintiva. En el carcinoma canalicular infiltrativo, las masas

Cuadro 82. Incidencia de cánceres de pulmón y de derrames pleurales malignos registrada en el Departamento de Patología Clínica del Hospital Ferroviario en el período comprendido entre 1961 y 1975*

Lesión \ Tipo	*Adenocantoma*		*Ca. epidermoide*		*Adenocarcinoma*		*Ca. de células grandes*		*Ca. de células pequeñas*		*Total de casos*
	Casos	*Total*	*Casos*	*Total*	*Casos*	*Total*	*Casos*	*Total*	*Casos*	*Total*	
Central	0		19		18		1		11		
Periférica	0	2	17	36	62	90	5	6	10	22	156
Indeterminada	2		0		10		0		1		
Derrame maligno		0		6		52		1		7	66

* Como en el Hospital Ferroviario sólo se internan los empleados y sus familiares, se pueden hacer seguimientos prolongados, de modo que los datos de esta asociación son confiables.

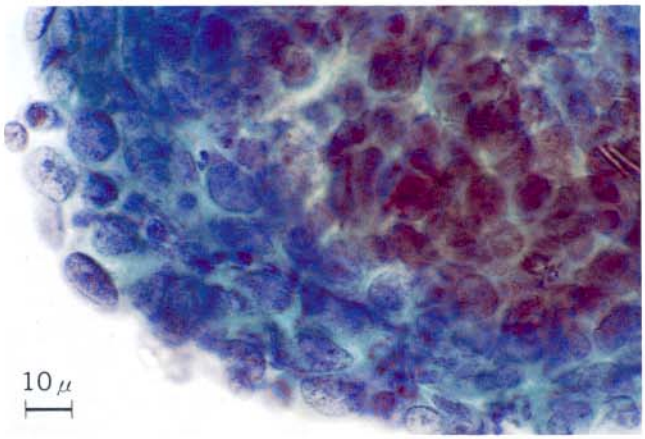


Fig. 910. Enorme bola celular por implantes pleurales de timoma. En raras ocasiones aparecen escasas células timomatosas en el líquido pleural. Nótense los constituyentes citológicos de las células epiteliales pálidas de finas membranas nucleares. Aunque su aspecto es benigno, las siembras en la serosa son una de las conductas del crecimiento agresivo.

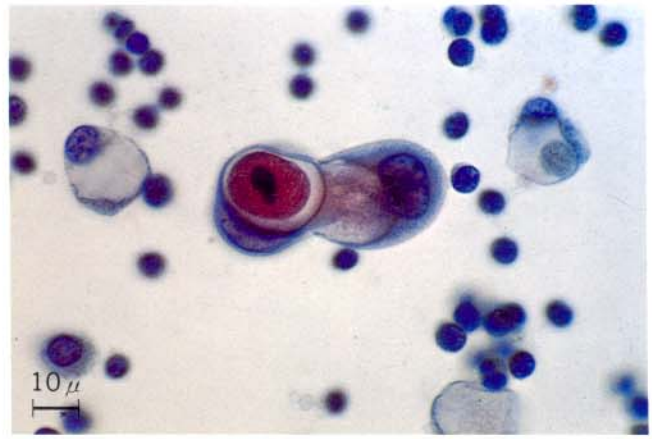


Fig. 911. Perla maligna de carcinoma adenopavimentoso pulmonar en el líquido pericárdico. Los núcleos que constituyen la perla son elongados y están dispuestos a modo de un papiro. Nótese la queratinización en el cáncer de la perla. (Gentileza del doctor Yatani, R., Dep. de Patología, Escuela de Medicina de la Universidad Mie, Tsu, Japón.)

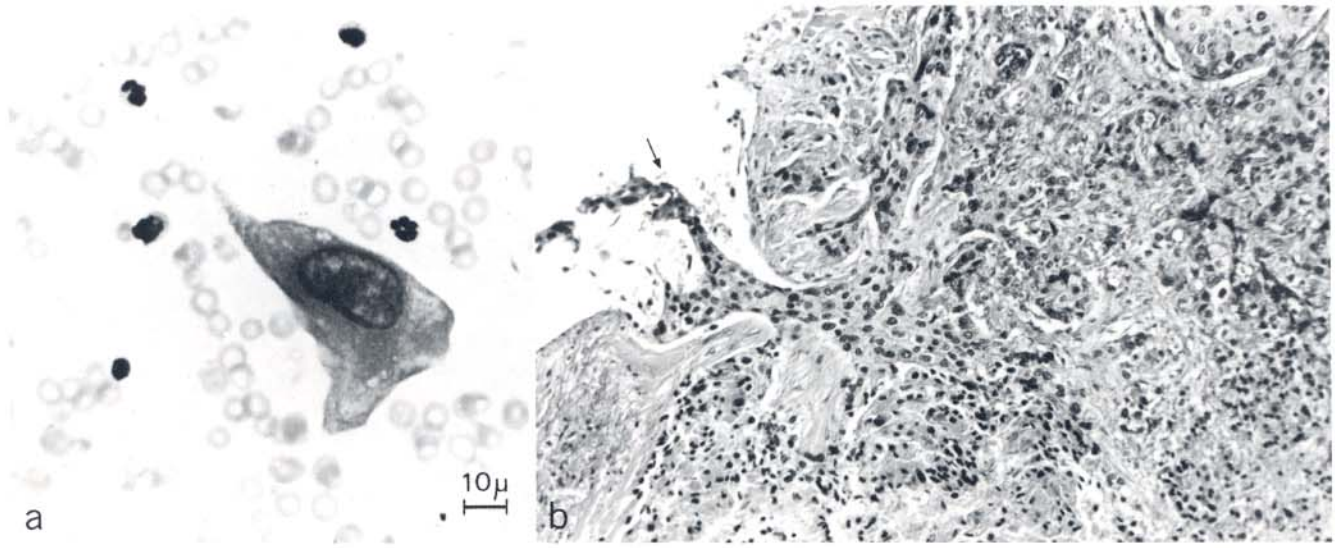


Fig. 912. Célula maligna de tipo epidermoide en un derrame pleural por carcinoma epidermoide no queratinizante de pulmón. *a*, Célula teñida con Giemsa que muestra un citoplasma engrosado abundante, de formas extrañas y borde celular nítido, que pertenece a un carcinoma de células pavimentosas. Es raro que en el derrame se exfolien células cancerosas epidermoides. *b*, Histología. La infiltración de nidos sólidos de células cancerosas pavimentosas irrumpe en la cavidad pleural (*flecha*). No hay formaciones perladas dentro de los nidos de células cancerosas. Es raro ver células malignas de tipo epidermoide en los derrames serosos.

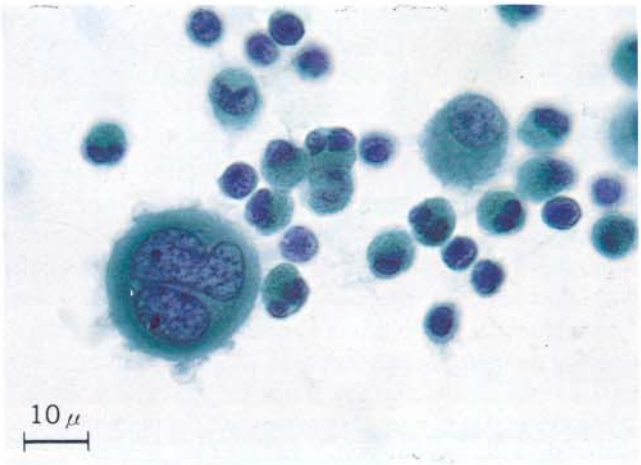


Fig. 913. Células de cáncer epidermoide no queratinizante en el líquido pleural. Nótense el citoplasma engrosado con un borde celular nítido y los núcleos grotescos con cromatinas reticulares gruesas.

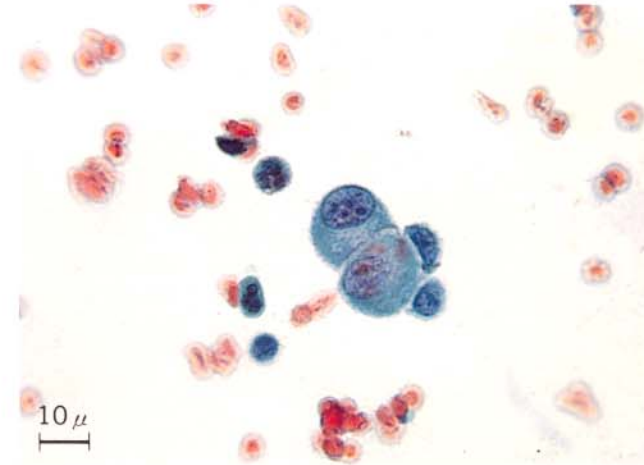


Fig. 914. Células de cáncer epidermoide provenientes de un carcinoma esofágico. Nótese la distribución en empedrado. El espacio hendido recto entre dos células es distintivo de las células cancerosas epidermoides.

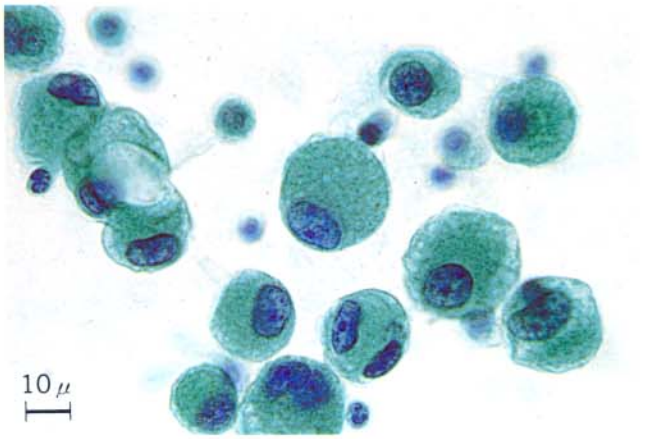


Fig. 915. Células cancerosas aisladas individuales provenientes de un adenocarcinoma pulmonar. Los núcleos son excéntricos y el citoplasma es finamente vesiculoso, como características de adenocarcinoma. Esta población de células individuales no es inusual en los derrames por cáncer de pulmón.

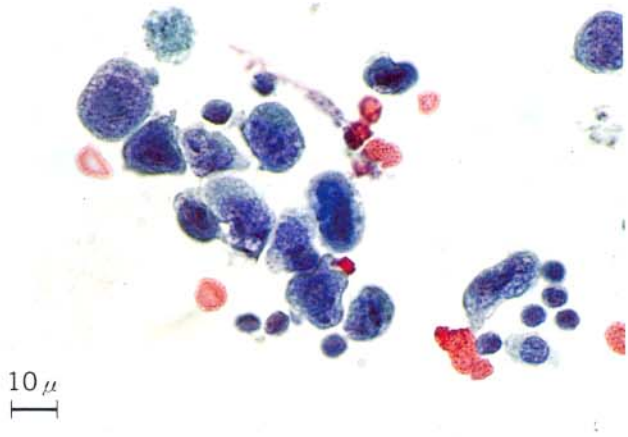


Fig. 916. Células carcinomatosas grandes indiferenciadas en el líquido pleural, provenientes de un cáncer pulmonar. El carcinoma de células grandes indiferenciadas se reconoce por: 1) el citoplasma muy escaso y mal definido, 2) la alta relación N/C, 3) los núcleos polimorfos de tamaño y forma variables, y 4) los nucléolos prominentes.

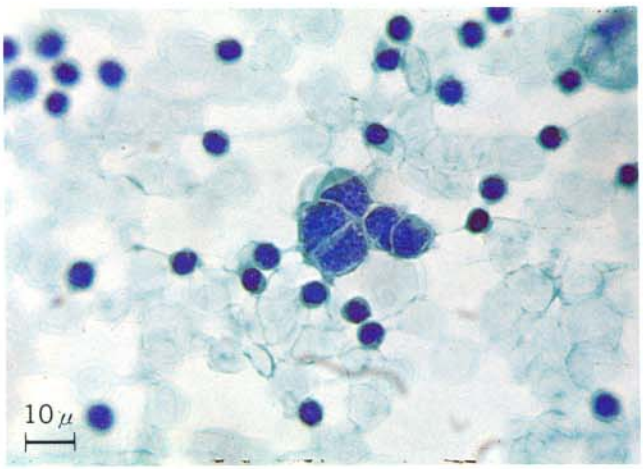


Fig. 917. Células carcinomatosas pequeñas indiferenciadas en el líquido pleural. El carcinoma de células pequeñas del pulmón tiende a formar aglomeraciones sueltas de células, a pesar de que se descaman individualmente en el esputo. El citoplasma es muy escaso y mal preservado.

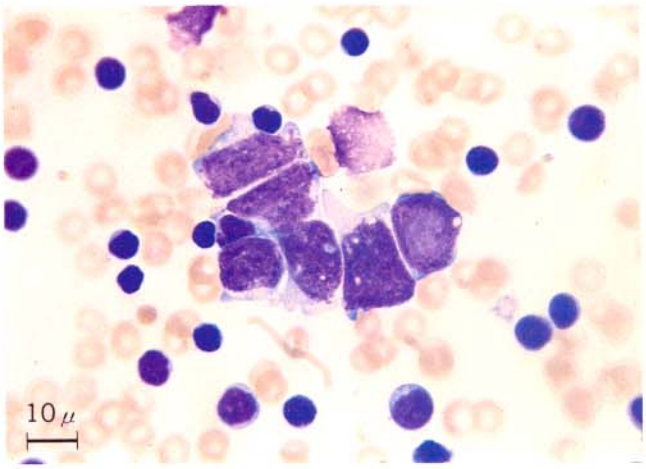


Fig. 918. Carcinoma de células pequeñas indiferenciadas coloreado con Giemsa. La disposición en tándem es distintiva de la índole epitelial. El carcinoma de células pequeñas exhibe un citoplasma más escaso que las células de la leucemia linfocitaria.

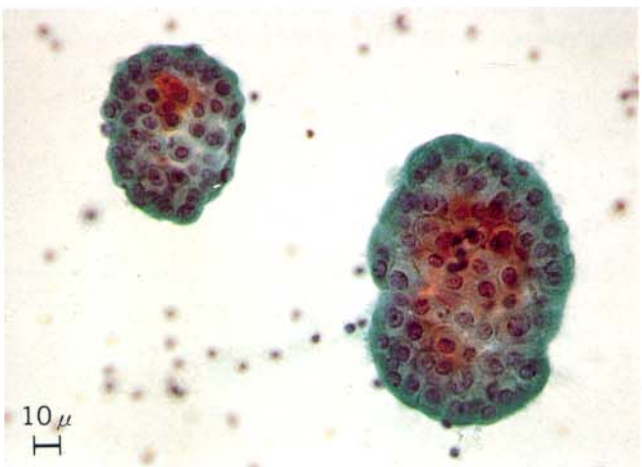


Fig. 919. Células adenocarcinomatosas en el líquido pleural, provenientes de un carcinoma canalicular de mama, agrupadas en bolas celulares características. Los constituyentes celulares de la bola son de tamaño y forma bastante similares. Los nucléolos únicos son centrales.

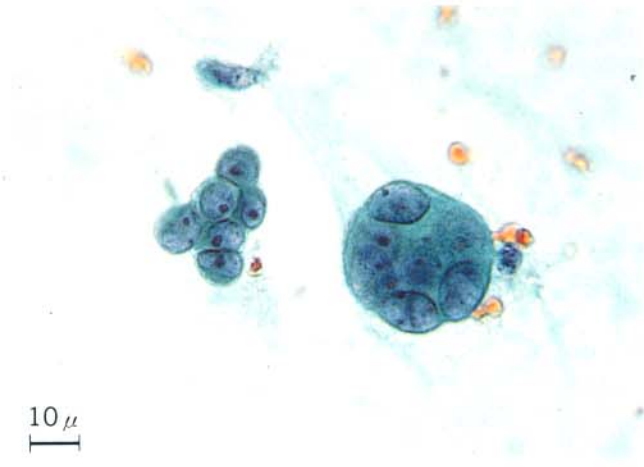


Fig. 920. Células adenocarcinomatosas pequeñas de un carcinoma mamario en el líquido pleural. Estas células cancerosas pequeñas semejan células mesoteliales activas. Rasgos diferenciales: 1) nucléolos únicos, pero prominentes; 2) alta relación N/C a pesar de que los núcleos son bastante pequeños, y 3) superposiciones nucleares en una aglomeración celular distinta de la de la lámina plana del mesotelio.

sólidas de células cancerosas que ocluyen la luz de los conductos invaden el estroma y originan cierta fibrosis productiva. En algunos casos o en algunas áreas de carcinoma canalicular, se ven riendas elongadas o columnas de células cancerosas dispuestas con irregularidad en un tejido fibroso denso (carcinoma escirroso); a este rasgo histológico se debe la típica disposición en fila india en los derrames serosos.

Resumiendo el perfil característico de las células del cáncer mamario, en los derrames, a menudo encontramos 1) bolas celulares a modo de mórulas, que provendrían del carcinoma tubular medular, y 2) pequeños grupos de células dispuestas en filas, sea en una sola fila o en tándem, que se originarían en un carcinoma tubular escirroso.

Carcinoma hepático

En la bibliografía no se describe la detección citológica de células hepatomatosas, quizá porque en Europa y Estados Unidos la mortalidad por esta neoplasia es muy baja y por la gran rareza con que se exfolian células cancerosas del hepatoma, que se halla en pleno parénquima hepático. La mortalidad es más alta en África del Sur y en Oriente, y se presume que existe relación entre los hábitos dietéticos, la cirrosis hepática y el carcinoma hepatocelular; las toxinas de los alimentos, como aflatoxina y esterigmatoxina, son cancerígenas.[38] En un estudio virológico reciente se estableció la asociación frecuente entre el hepatoma y la cirrosis macronodular (cirrosis poshepática y posnecrótica), que son precedidos por infección por hepatitis B; Prince y col.,[78] en Senegal, mencionan que la frecuencia de antígeno superficial de hepatitis B ascendió al 61,2% en 165 pacientes con hepatoma, comparado con el 11,7% en 154 pacientes con cánceres en otras localizaciones. Nishioka y col.[71] también describieron la relación en orientales adoptando su sensible método de la adherencia inmune con hemaglutinina (cuadro 83).

Como el hepatoma crece dentro del parénquima hepático como una masa fusionada (forma masiva) o nódulos (forma nodular), es raro que se exfolien células hepatomatosas en la ascitis. Cuando sí se desprenden células cancerosas, la ascitis suele ser hemorrágica, a menudo muy sanguinolenta, y los constituyentes celulares son escasos, tal vez por la hemorragia. Si bien no se detectan rasgos específicos que permitan diagnosticar hepatoma, excepto la producción de bilis en el citoplasma, las células hepatomatosas están dispuestas en láminas planas como las aglomeraciones de células mesoteliales, y poseen una regular cantidad de citoplasma y núcleos grandes redondeados y en posición central. Estos núcleos tienen uno o dos nucléolos prominentes. Se descaman pocas células hepatomatosas. Si por el cuadro clínico se sospecha hepatoma, más importante que la citología sola es la cuantificación inmunológica de la alfafetoproteína en el suero sanguíneo. Takahashi y col.[95] introdujeron la técnica inmunofluorescente antifetoproteína para identificar células hepatomatosas (véase pág. 101). Sin embargo, recuérdese que no todas las células del hepatoma elaboran alfafetoproteína y que esta función se relaciona con el grado de diferenciación.

Cuadro 83. Tasas de antígeno de hepatitis B_s positivo en pacientes con carcinoma hepatocelular (gentileza del Dr. Nishioka, K., Instituto Metropolitano de Ciencias Médicas de Tokio)

País o región	*Ca. hepatocelular*	*Testigos sanos*
África		
Mozambique	62,4 (%)	10,7 (%)
Uganda	44,6	4,0
Zambia	52,6	5,0
Senegal	70,7	10,3
Mali	47,6	5,0
Etiopía	50,0	3,3
Ghana	80,0	—
Kenia	54,8	4,7
Sudáfrica (Bantú)	59,5	9,0
Nigeria	40,0	6,3
Europa		
Grecia	38,9	4,8
Reino Unido	16,0	0,2
Francia	4,7	0,01
América del Norte		
Estados Unidos	26,0	0,3
Pacífico		
Papua Nueva Guinea	71,9	18,0
Asia		
Birmania	33,3	9,5
China	47,8	4,5
Hong Kong	45,0	12,2
India	41,2	3,2
Indonesia	52,4	3,0
Japón	36,7	2,7
Filipinas	62,5	16,1
Tailandia	71,4	9,8
Vietnam	70,0	19,0
Taiwán	54,8	12,2
Singapur	35,3	7,5

Nota: Los datos se basan en los métodos IAHA, RPHA y RIA.

Leucemia y linfoma maligno

Aunque los linfomas malignos y los linfomas pueden tomar las cavidades serosas, los libros de texto aluden muy poco a su citología exfoliativa. En cuanto a la proporción de linfomas en citología de los derrames malignos, Johnson menciona citología positiva en 39 de 345 casos de linfomas y leucemias (11,3%),[40] Ceelen en 6 de 72 casos (8,3%)[10] y nuestro laboratorio en 21 de 369 casos (5,7%). Se recomendó en particular la técnica de tinción con Giemsa secado al aire para identificar células linfomatosas o células leucémicas (Spriggs,[91] Grunze[32] y Lopes Cardozo[56]).

1) Leucemia. Las células leucémicas mieloides en diversas etapas de maduración se identifican con facilidad por su granulación específica dentro del citoplasma, que no se demuestra bien con la tinción de Papanicolaou. Lopes Cardozo[57] propone enfoques citoquímicos como la tinción con Sudán negro B para demostrar cuerpos de Auer y una reacción de fosfatasa alcalina que se negativiza en la leucemia mielógena. Las células leucémicas linfocitarias a duras penas se consiguen distinguir de las linfosarcomatosas, a menos que se realicen estudios patológicos y hematológicos sistémicos. En la leucemia linfocitaria crónica puede haber una variedad de células, incluso a predominio de linfocitos grandes o pequeños con una cromatina más aglomerada que las células linfosarcomatosas. La cantidad de células leucémicas varía de un caso a otro y no hay tantas como las células leucémicas de trama monomórfica.

2) Linfoma linfocitario. A esta entidad se la clasificaba como linfosarcoma. La estructura de la cromatina nuclear de las células linfosarcomatosas es más gruesa que la de las

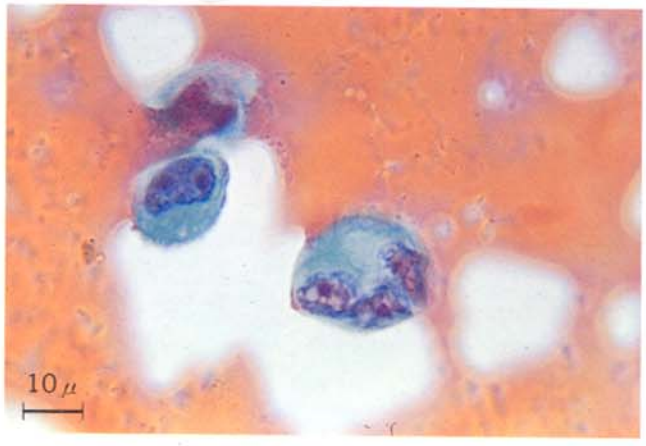


Fig. 921. Células hepatomatosas en ascitis sanguinolenta. Aunque la ascitis del hepatoma muchas veces es sanguínea pura, la exfoliación de células hepatomatosas no es tan pronunciada como en la carcinomatosis peritoneal. El citoplasma es bastante abundante y de bordes bien nítidos. Es común encontrar binucleación o trinucleación.

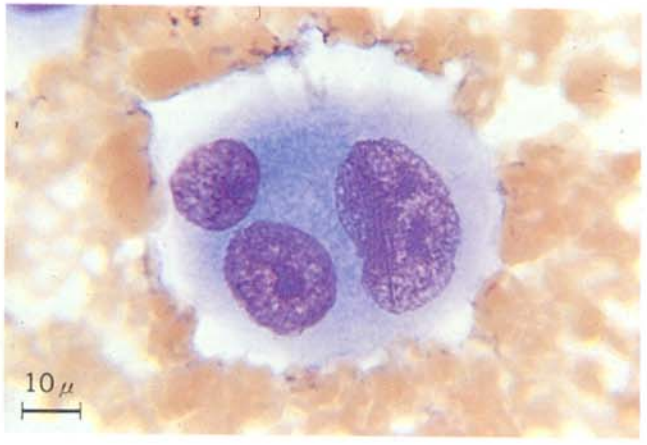


Fig. 922. Células hepatomatosas con trinucleación sincitial en un preparado teñido con Giemsa. El citoplasma es bastante abundante y los nucléolos son prominentes. Caso de la figura 921.

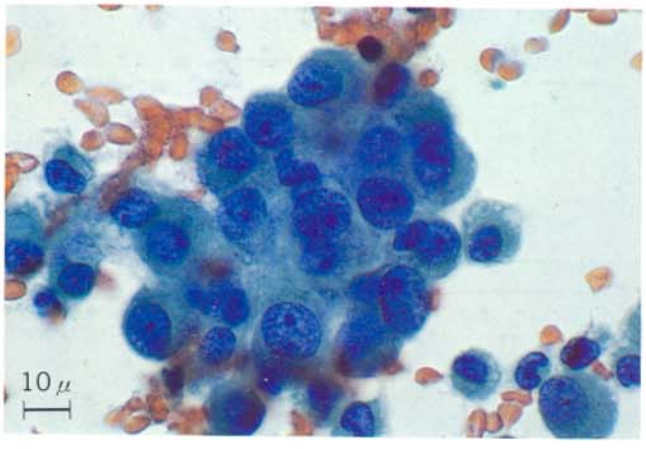


Fig. 923. Células hepatomatosas bien preservadas y dispuestas en una lámina celular plana en el líquido ascítico. Los núcleos grandes y redondos son centrales y poseen uno o dos nucléolos prominentes. El citoplasma es bastante abundante.



Fig. 924. Célula hepatomatosa que elabora pigmentos biliares en su citoplasma. Nótese el gran nucléolo redondo y otro nucléolo enorme. La producción de bilis, aunque es específica, se observa en el tipo bastante bien diferenciado.

células leucémicas linfocitarias y exhibe condensación perinucleolar. Los núcleos, en particular en el tipo poco diferenciado o linfosarcomatoso linfoblástico, son de formas irregulares o indentados, y poseen nucléolos prominentes. Las células linfosarcomatosas de los derrames aparecen aisladas como células individuales y muchas a modo de una suspensión de células aglomeradas.

3) Linfoma histiocitario. Este tipo, también denominado antes reticulosarcoma, tiene una incidencia escasa. Las células reticulosarcomatosas son de citoplasma más ancho y de tamaño más variable que las linfosarcomatosas. La vacuolación del citoplasma es llamativa y se demuestra muy bien con Giemsa. La estructura de la cromatina es finamente reticular o finamente granular. Los nucléolos son prominentes, a veces múltiples, y presentan unas formas irregulares a modo de abalorios (cuadro 84).

4) Enfermedad de Hodgkin. Aunque las células gigantes multinucleadas de Reed-Sternberg son patognomónicas de esta enfermedad, raras veces se las encuentra en la citología exfoliativa de los derrames serosos. En cambio, se exfolia con frecuencia la forma mononucleada (célula de Hodgkin), que posee los mismos rasgos celulares característicos que la célula gigante de Reed-Sternberg, que también aparece a menudo en los derrames. Los núcleos de estas células, cualquiera que sea su multinucleación o multilobulación, presentan unos bordes nucleares nítidos y unos nucléolos prominentes acidófilos o anfóteros, en torno de los cuales es característico ver unas zonas claras.

Mieloma múltiple

En el mieloma múltiple son frecuentes las lesiones extramedulares (73% según Churg[12] y 51% según Innes[39]), pero es raro que aparezcan células mielomatosas en los derrames serosos; se publicaron algunos casos en derrames pleurales y/o pericárdicos con compromiso mielomatoso de las serosas. Suele ser difícil hacer la identificación morfológica de células mielomatosas que elaboran proteínas M anormales y

caracterizan a las displasias plasmocitarias, porque las células neoplásicas bien diferenciadas son plasmocitos de aspecto normal. La preponderancia de plasmocitos y la mezcla de plasmocitos inmaduros requieren investigaciones bioquímicas y clínicas adicionales para establecer el diagnóstico de mieloma múltiple. Las células mielomatosas aparecen solitarias y poseen unos núcleos redondos u ovales excéntricos, cuyas cromatinas están condensadas hacia la membrana nuclear. En las células inmaduras se reconocen uno o dos nucléolos. El citoplasma es basófilo, tiene un halo perinuclear, aparece intensamente teñido en la periferia y es de bordes nítidos. A menudo se demuestran aglomeraciones proteicas como *cuerpos de Russel* acidófilos. Las células mielomatosas se clasifican en distintas variantes de acuerdo con cinco clases principales y dos tipos de cadenas livianas. Las células mielomatosas suelen producir un solo tipo espe-

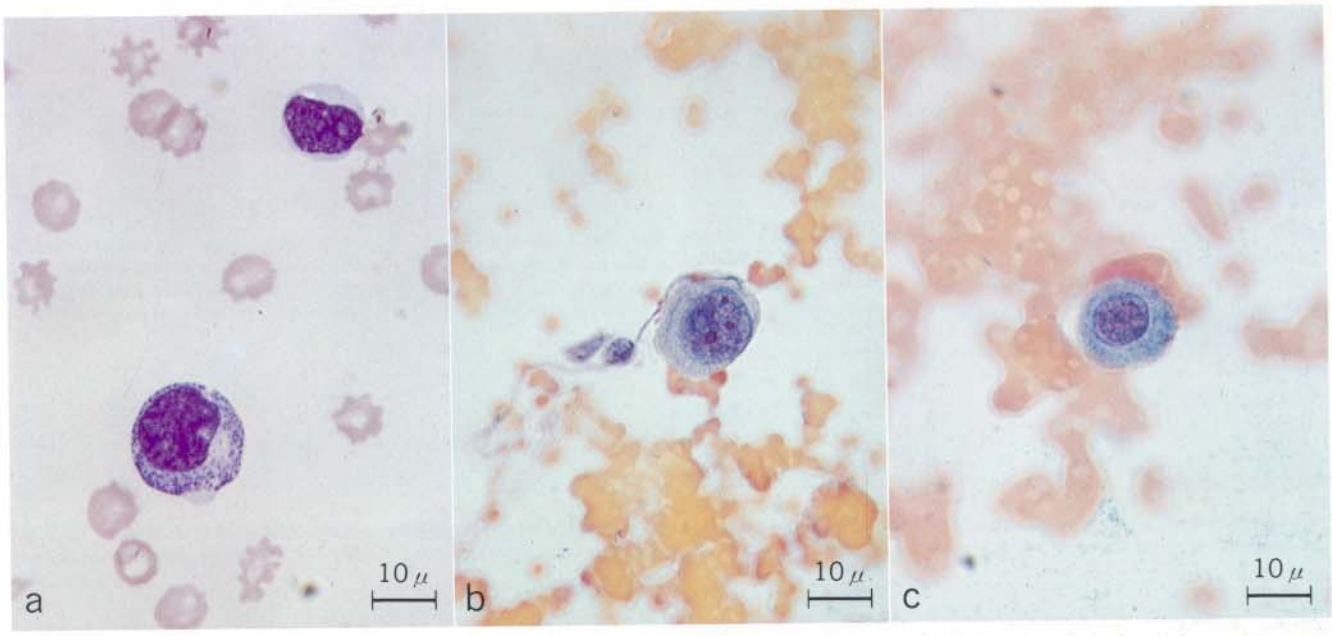


Fig. 925. Células leucémicas mielógenas en el líquido pleural. La tinción con Giemsa es mejor que la de Papanicolaou para identificar células leucémicas. *a*, Promielocito con sus gránulos característicos en el citoplasma. Giemsa. *b* y *c*, Célula mieloide inmadura con nucléolos múltiples y un tinte cianófilo, un tanto granular, en la periferia del citoplasma. Papanicolaou.

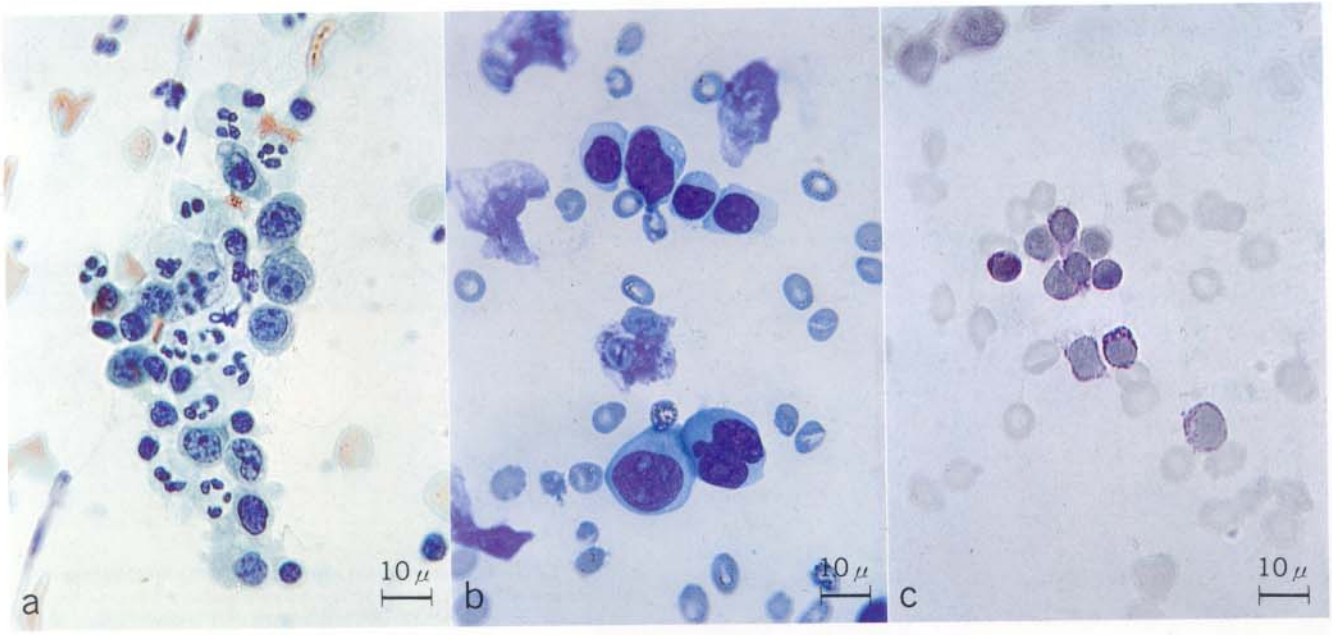


Fig. 926. Células de leucemia linfocitaria crónica en el líquido pleural. *a, Células leucémicas teñidas con Papanicolaou.* Hay pocas células leucémicas mezcladas con linfocitos maduros pequeños. Estos últimos apenas se distinguen de las células linfosarcomatosas, excepto por la irregularidad de la forma y la escasa celularidad. *b, Células leucémicas linfocitarias teñidas con Giemsa.* Nótese la mezcla de células leucémicas linfocitarias inmaduras con nucléolos prominentes y tres linfocitos maduros. *c, Reacción PAS de células leucémicas linfocitarias crónicas.* Las células leucémicas linfocitarias o linfoblastos exhiben unos gránulos gruesos PAS positivos característicos, mientras que las células leucémicas mielocíticas y monocíticas exhiben una tingibilidad escasa y difusa.

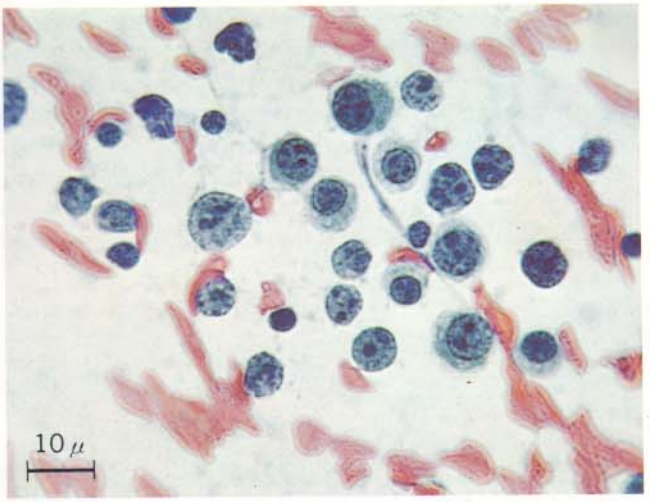


Fig. 927. Células leucémicas linfoblásticas en el líquido pleural de un niño de 6 años. El paciente había sido hospitalizado por un comienzo agudo de disfagia y disnea, asociado con cierta linfadenopatía y hepatoesplenomegalia. Las células leucémicas linfoblásticas se distinguen a duras penas de las células linfosarcomatosas linfoblásticas, aunque las leucémicas parecen ser de tamaño variable. Nótense el citoplasma escaso, los nucléolos prominentes y las cromatinas gruesas.

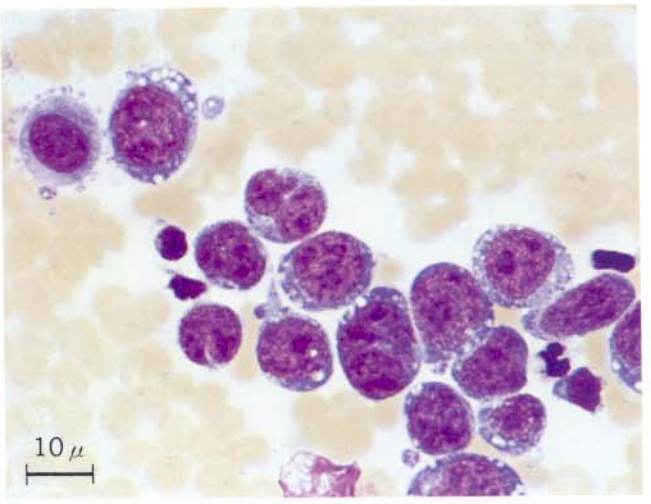
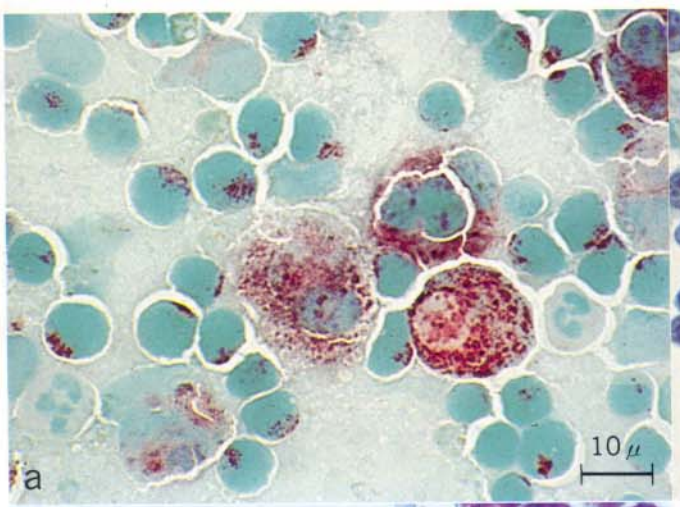
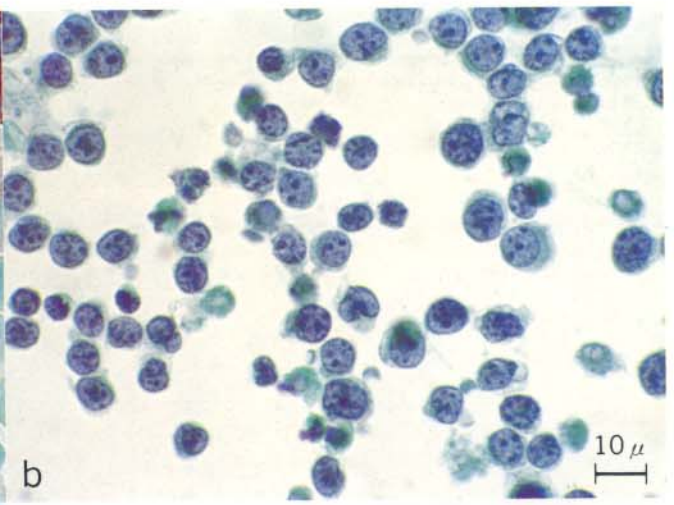


Fig. 928. Células linfosarcomatosas poco diferenciadas en la ascitis teñidas con Giemsa. Núcleos hipercromáticos redondeados con membranas nucleares delicadas y nucléolos prominentes. El citoplasma es escaso y vacuolado. Se ven una célula mesotelial de núcleo oval y citoplasma homogéneo, y unos pocos linfocitos.





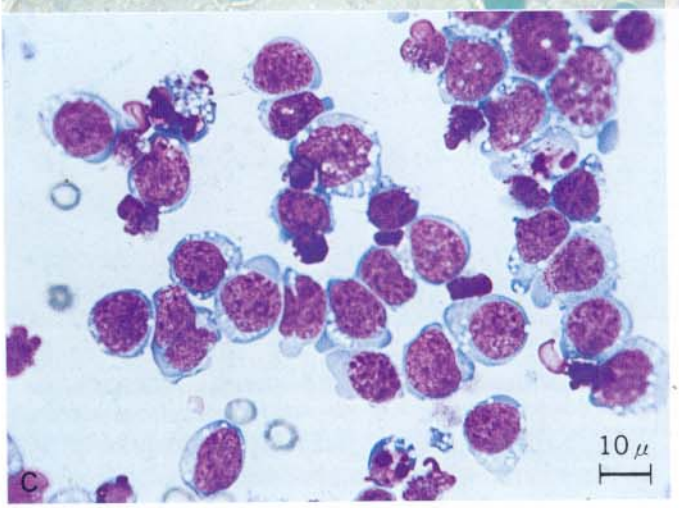


Fig. 929. Células linfosarcomatosas poco diferenciadas o linfoblásticas en la ascitis de una niña de 12 años. *a*, Tinción para fosfatasa ácida. La tinción positiva focal o en un solo punto para fosfatasa ácida significa linfoma agudo de linfocitos T. Se disciernen algunos macrófagos con coloración difusa. *b*, Los núcleos varían de tamaño y son granulares gruesos. Las células linfomatosas se caracterizan por estos rasgos generales: 1) aisladas de a una, 2) casi denudadas o con un citoplasma escaso de bordes indistintos y 3) una trama de cromatina punteada con partículas gruesas. *c*, Con Giemsa se aprecian más detalles de la trama anormal de cromatina que con Papanicolaou. Se evidencian uno o dos nucléolos prominentes y las cromatinas punteadas gruesas. El escaso citoplasma basófilo exhibe vacuolizaciones finas (¿inmunoblásticas?).

Cuadro 84. Diferenciación entre células linfosarcomatosas y reticulosarcomatosas

	Células linfosarcomatosas	*Células reticulosarcomatosas (linfoma histiocitario)*
Tamaño celular	10-15 μ; escasa variación	10-30 μ; gran variación
Citoplasma	Estrecho	Ancho
Vacuolación citoplasmática	Rara	Frecuente
Forma nuclear	Redonda u oval	Poliédrica o indentada
Cromatina	Punteada y algo gruesa	Finamente reticular
Nucléolo	Indistinto y pequeño	Nítido y prominente

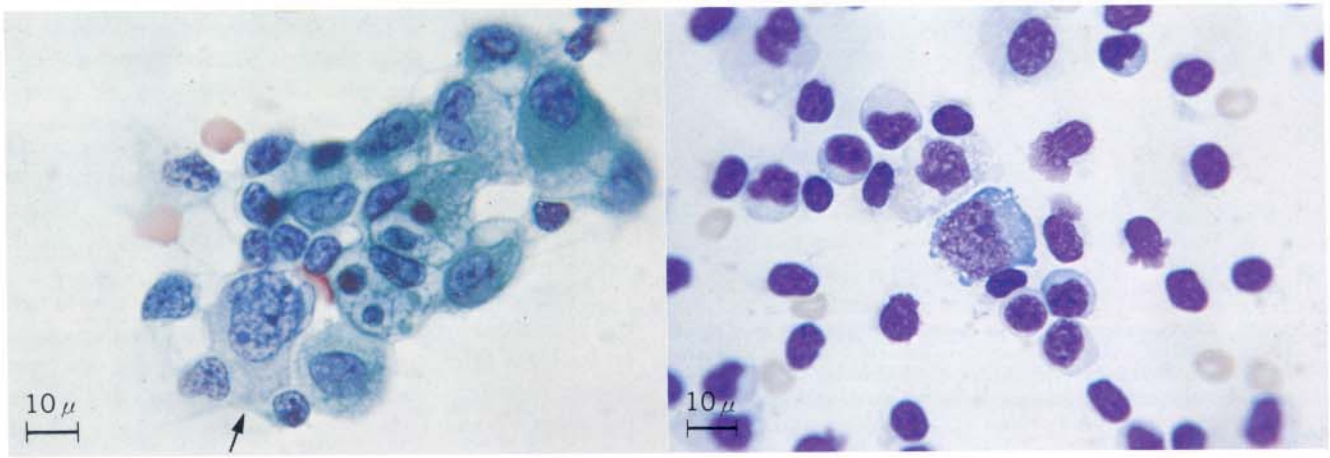


Fig. 930. Células de linfoma histiocitario o reticulosarcoma en la ascitis. Aparece una célula linfomatosa característica del tipo histiocitario (*flecha*) rodeada por macrófagos inmaduros y linfocitos. El núcleo del tipo histiocitario varía más de forma que de tamaño; nótense el núcleo poliédrico e indentado y la moderada cantidad de citoplasma.

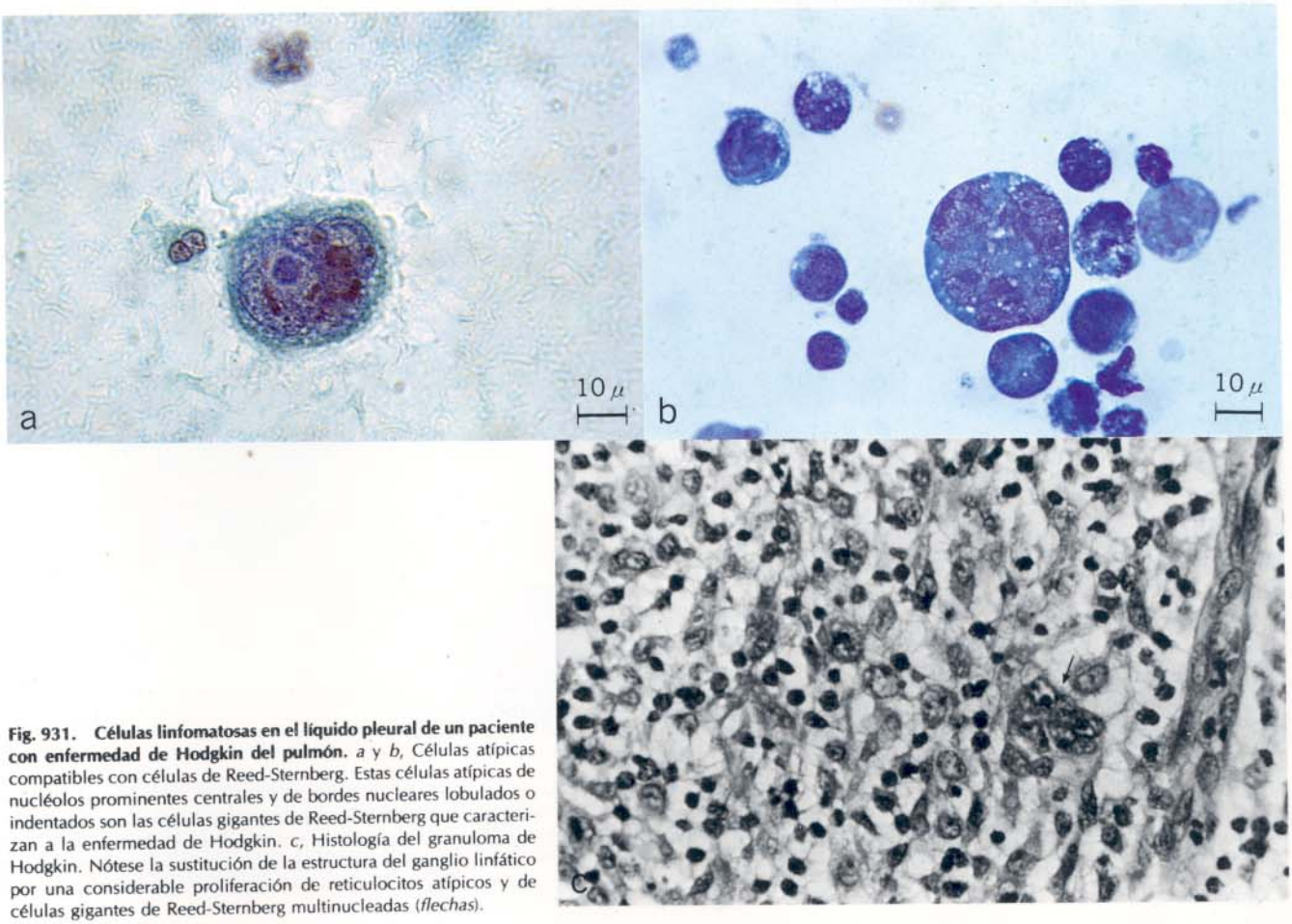


Fig. 931. Células linfomatosas en el líquido pleural de un paciente con enfermedad de Hodgkin del pulmón. *a* y *b*, Células atípicas compatibles con células de Reed-Sternberg. Estas células atípicas de nucléolos prominentes centrales y de bordes nucleares lobulados o indentados son las células gigantes de Reed-Sternberg que caracterizan a la enfermedad de Hodgkin. *c*, Histología del granuloma de Hodgkin. Nótese la sustitución de la estructura del ganglio linfático por una considerable proliferación de reticulocitos atípicos y de células gigantes de Reed-Sternberg multinucleadas (*flechas*).

cífico de inmunoglobulinas en lo que se conoce como gammopatía monoclonal; los tipos que se clasifican comúnmente son IgG, IgA, IgM, IgD, IgE y Bence Jones.

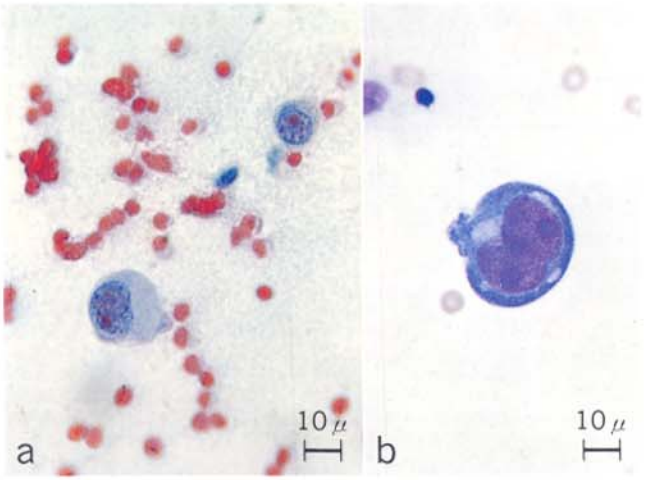


Fig. 932. Células mielomatosas de un mieloma de Bence-Jones en el líquido ascítico. Las células mielomatosas aparecen aisladas de a una y se caracterizan por: 1) núcleos redondeados excéntricos, 2) halo perinuclear, 3) tinción basófila en la periferia y 4) nucléolo único y prominente. *a*, Células mielomatosas coloreadas con Papanicolaou y *b*, con Giemsa

Células mesoteliales malignas

El mesotelioma es un tumor tan raro que hasta se llegó a dudar de que exista.[83,104] A la inspección macroscópica el compromiso pleural del adenocarcinoma periférico del pulmón es muy similar al mesotelioma que se describe como de tipo difuso. Stout[93] clasificó a los mesoteliomas del siguiente modo:

Mesotelioma benigno
  solitario; fibroso o tubular
  difuso; fibroso o nodular
Mesotelioma maligno
  solitario; fibroso o tubular
  difuso; fibroso o nodular

Koss[50] clasifica a los mesoteliomas en los originados en 1) células de revestimiento mesoteliales (mesotelioma epitelial), 2) tejido de sostén del mesotelio (mesotelioma fibroso) y 3) celularidad mixta con componentes celulares del tipo del sinovioma.

El mesotelioma fibroso solitario es más común en la cavidad pleural que los otros tipos pero no es fácil de diagnosticar en citología exfoliativa. El mesotelioma tubular con crecimiento papilífero muchas veces exhibe unas nodulaciones múltiples o grandes aglomeraciones. La histología consiste

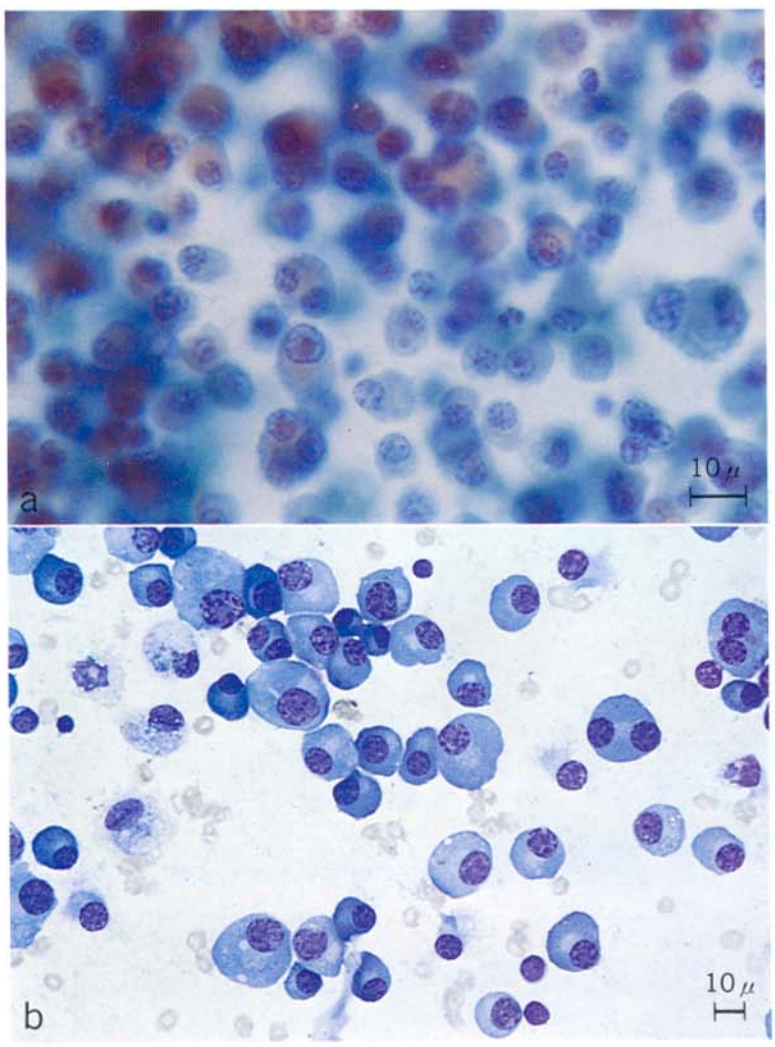


Fig. 933. Células mielomatosas de IgD kappa. Gran cantidad de células mielomatosas de núcleos redondos y excéntricos con cromatinas en grumos gruesos y nucléolos prominentes. Nótense el halo perinuclear y la intensa tinción basófila en la periferia. *a*, Papanicolaou. *b*, Giemsa.

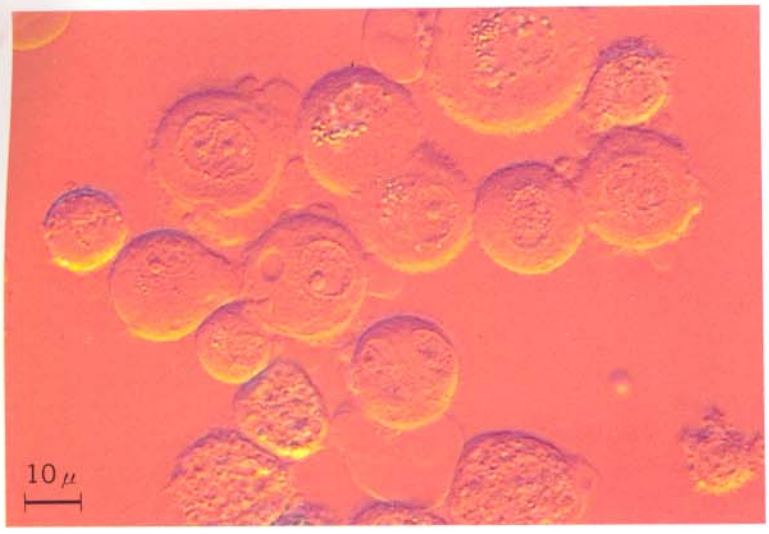


Fig. 935. Células de mesotelioma peritoneal vistas con microscopia de interferencia diferencial. Nótense los núcleos agrandados, a veces dobles, en posición paracentral. A la observación supravital se reconocen unas finas prolongaciones citoplasmáticas.

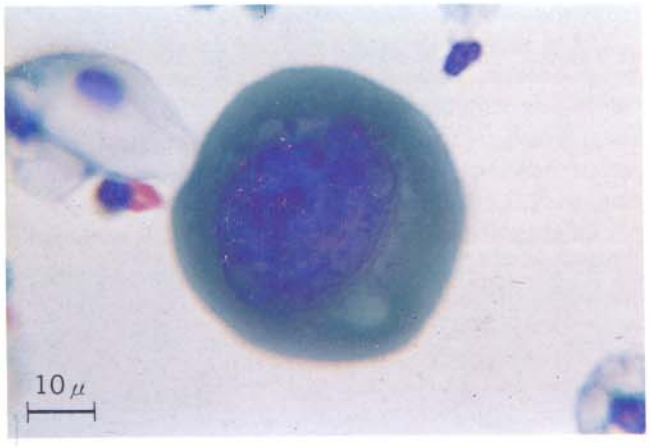


Fig. 936. Células de mesotelioma maligno solas y aglomeradas en la ascitis. A este tipo de célula se lo debe diferenciar de las células del hepatoma y de las del cáncer epidermoide. Puntos diferenciales: 1) Diferenciación respecto del cáncer epidermoide: la binucleación sincitial es distinta del canibalismo del carcinoma epidermoide; en el citoplasma engrosado del mesotelioma no se ve ninguna estructura fibrilar. 2) Las células hepatomatosas se aglomeran a veces en láminas, pero no sincitiales.

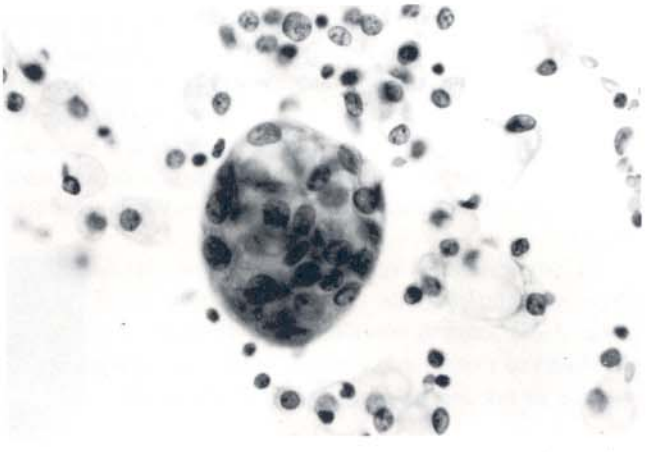


Fig. 937. Células congregadas en mórula. Estos núcleos son redondos u ovales y de tamaño bastante uniforme. Nótese la trama de cromatina blanda. Estas células mesoteliomatosas de aspecto benigno coexisten con las malignas, como se ilustra en las figuras en colores precedentes.

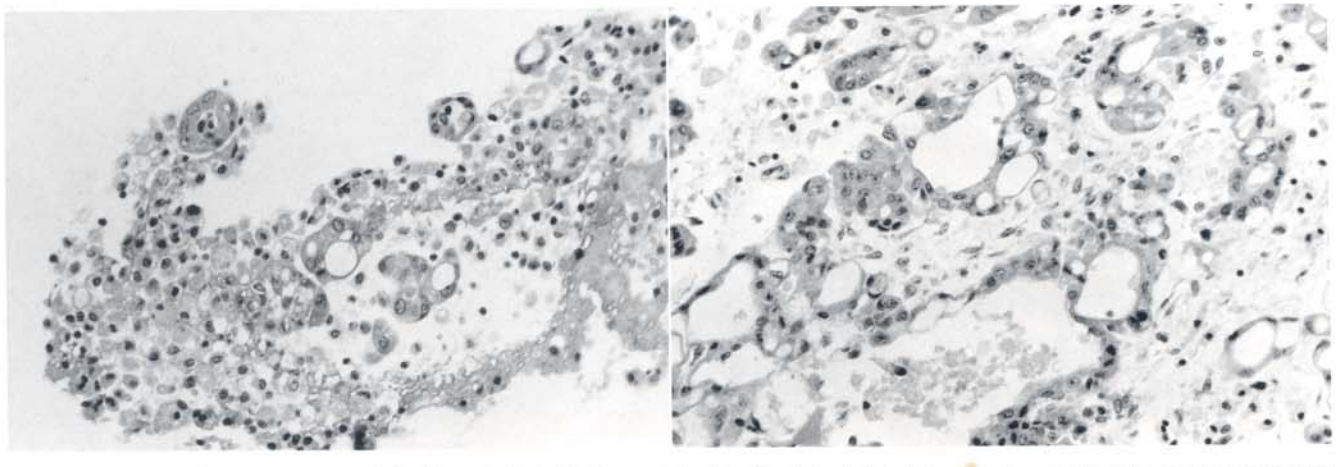


Fig. 938. Mesotelioma maligno de tipo tubular difuso. Mujer de 61 años que tenía distensión abdominal desde hacía un año y medio. En la necropsia aparecieron tumores nodulares diseminados en la superficie del peritoneo, mesenterio y serosa intestinal. La histología del tumor exhibe unas prolongaciones nodulares o papilares de pedículos fibrosos laxos. Los espacios tubulares están tapizados por células mesoteliales atípicas de núcleos pleomórficos y nucléolos prominentes. (Gentileza del doctor Fukushima, N., Doai Memorial Hospital, Tokio.)

miento en posición unipolar y el citoplasma abundante semejante al de las células cancerosas pavimentosas, pueden sugerir carcinoma de células transicionales vistas en una aglomeración.

b) Los tumores de origen mesodérmico se forman en el tejido adiposo, en el músculo liso y estriado, en vasos linfáticos o sanguíneos, etc. Las células sarcomatosas suelen ser polimórficas y de tamaño variable. El rabdomiosarcoma es un buen ejemplo de tumor mesenquimático con un polimorfismo extremo. Los bordes nucleares son nítidos pero delicados, y tiene nucléolos prominentes, a menudo múltiples.

c) Los tumores de origen neurógeno comprenden neoplasias de las vainas nerviosas, del tejido nervioso simpático y del tejido paraganglionar. El neuroblastoma, que es el más maligno de todos, aparece raras veces en la citología de los derrames.

Sus células son de tamaño pequeño como linfocitos y picnóticas, con escaso citoplasma. Aunque se parecen al carcinoma de células pequeñas del pulmón, a las células carcinoides malignas y a las linfosarcomatosas, los núcleos son poligonales o poliédricos más pequeños que los de las células de avena, y se aglomeran en grupos celulares que exhiben formaciones en rosetas. Recuérdese que el neuroblastoma ocurre en niños menores de tres años.

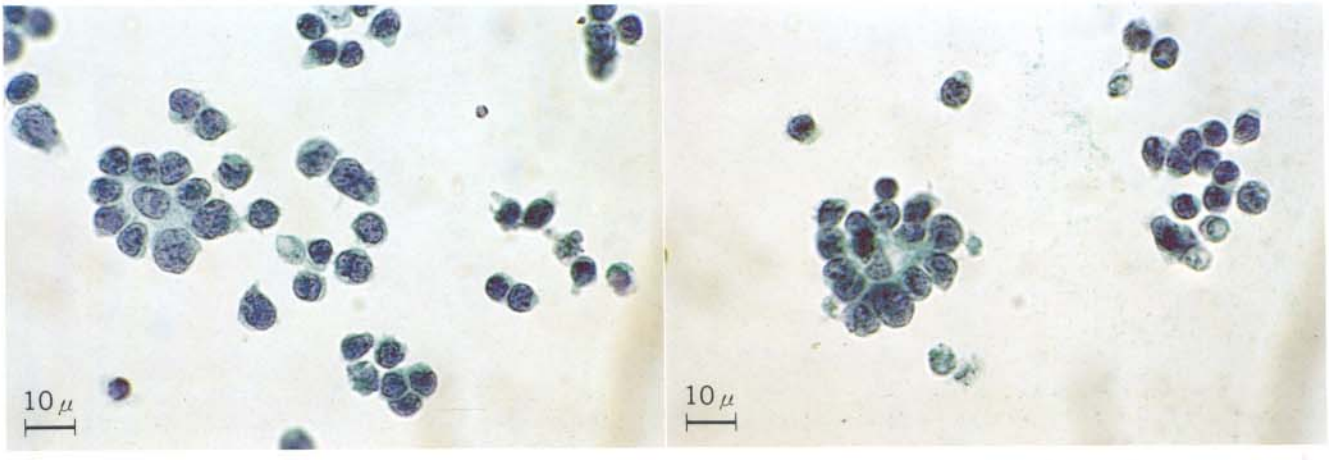


Fig. 939. Simpaticoblastos en el líquido ascítico de una niña de 2 años. Estas pequeñas células linfoides provenientes de un neuroblastoma se deben diferenciar de las del linfoma y de las del carcinoma de células de avena. Puntos diferenciales: 1) La aglomeración celular, a veces en roseta, difiere de las células linfomatosas aisladas. 2) En ocasiones se disciernen unas estructuras fibrilares finas como rasgo característico de origen neural, aunque en este caso no.

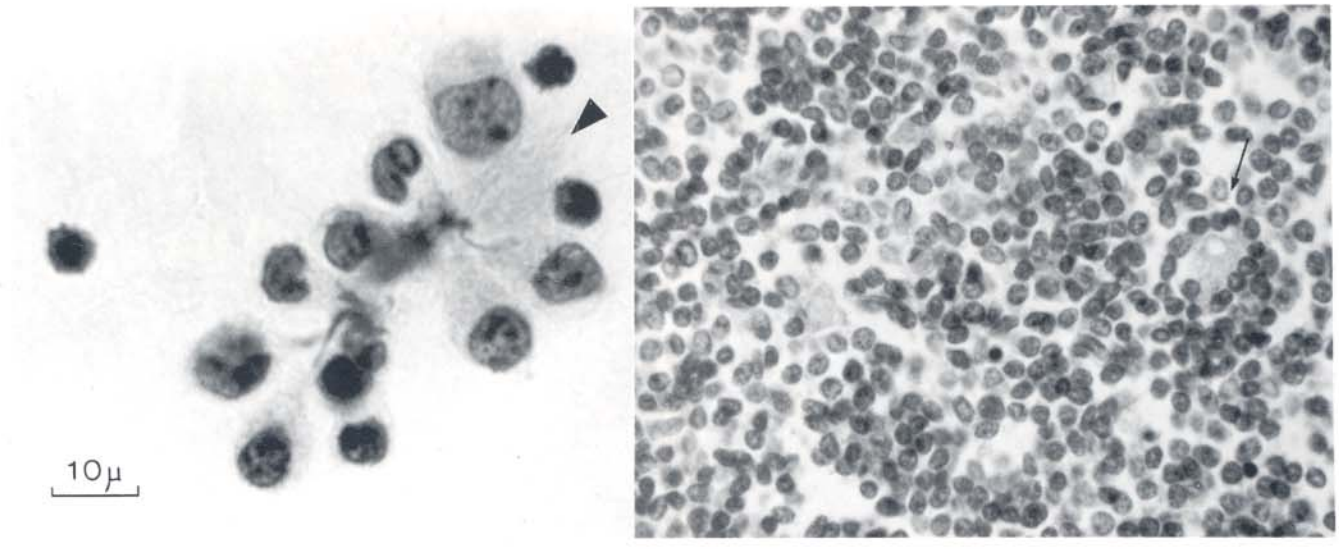


Fig. 940. Simpaticoblastoma originado en el mediastino posterior. Este tumor muy celularizado parece una colección de células linfoides o linfosarcomatosas, pero al examen cuidadoso se discierne el rasgo distintivo del tumor, que está constituido por simpaticoblastos de núcleos vesiculares y citoplasma escasamente demostrable. Las células tumorales tienden a aglomerarse en torno de una fina red fibrilar (*cabeza de flecha*). A la derecha, la *flecha* señala la formación de una seudorroseta.

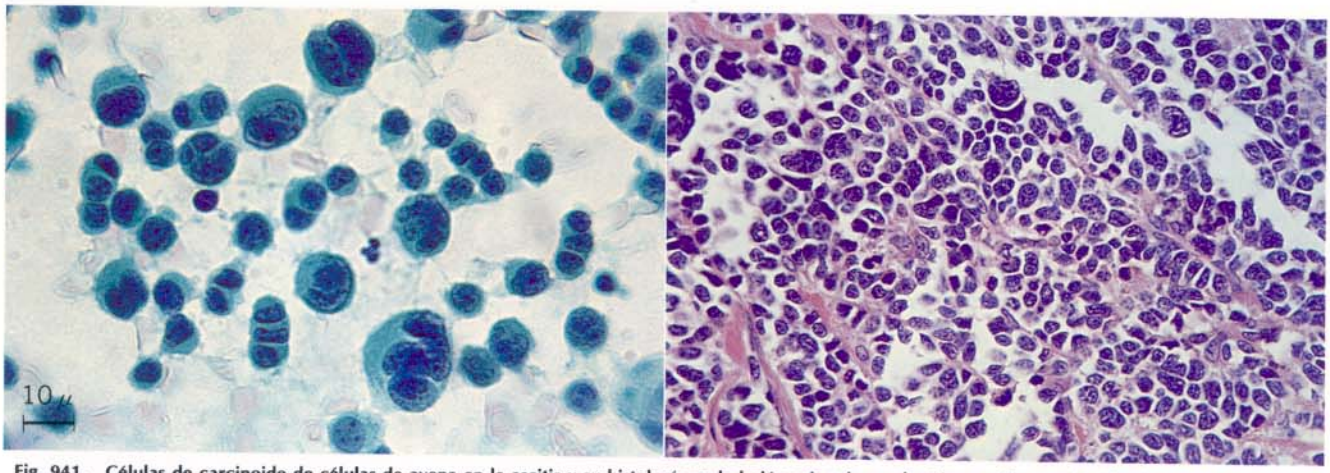


Fig. 941. Células de carcinoide de células de avena en la ascitis y su histología en la lesión primaria en el estómago. Este carcinoide clínicamente maligno e histológicamente anaplásico semeja un carcinoma de células de avena del pulmón. Los núcleos son hipercromáticos con partículas de cromatina densamente apretadas y en general redondeados, aunque también hay algunos núcleos polimórficos grandes. Nótese la característica disposición epitelial en tándem.

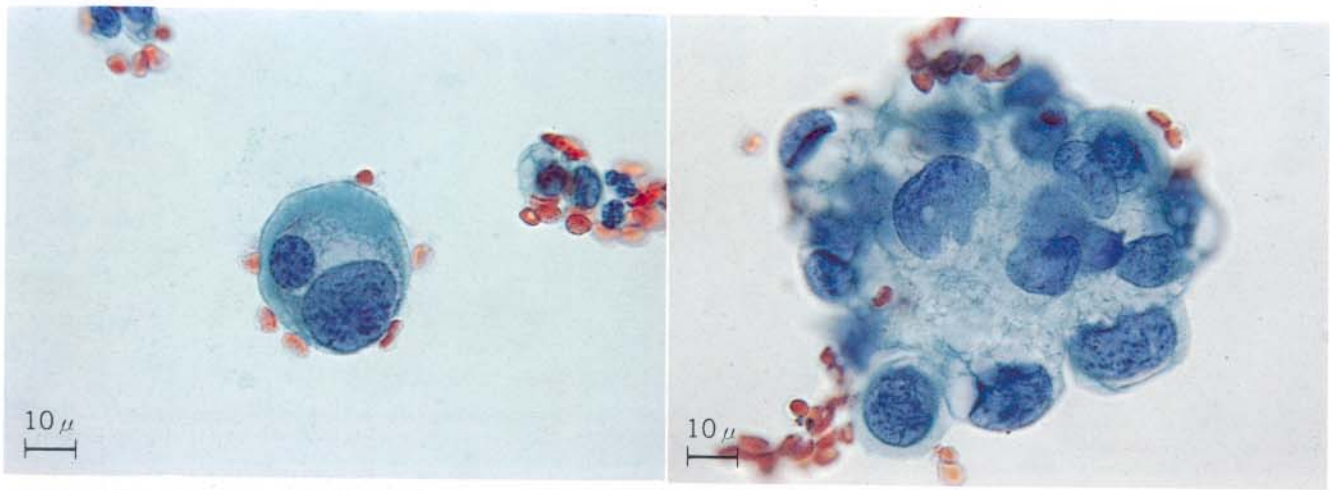


Fig. 942. Células de carcinoma urotelial en la ascitis. Estas células aglomeradas tienden a apilarse en una dirección unipolar. El citoplasma no es tan grueso como el de las células del cáncer epidermoide; otro rasgo distintivo es la claridad perinuclear.

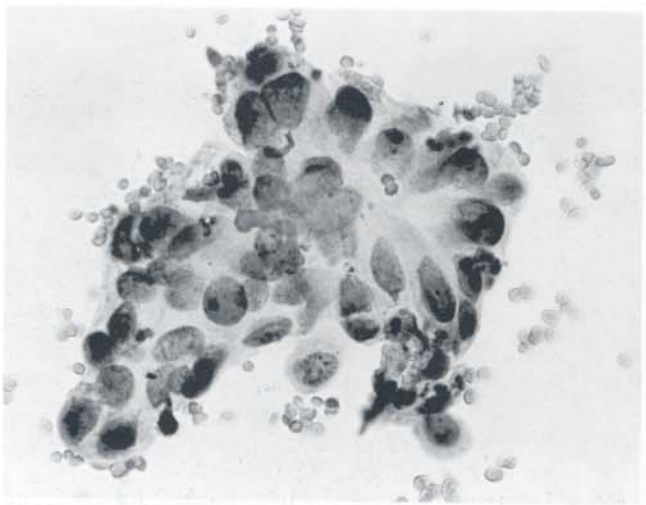


Fig. 943. Células de carcinoma urotelial en la ascitis. Las células cancerosas de esta lámina tienden a ordenarse en paralelo. La aglomeración celular irregular difiere de la glandular.

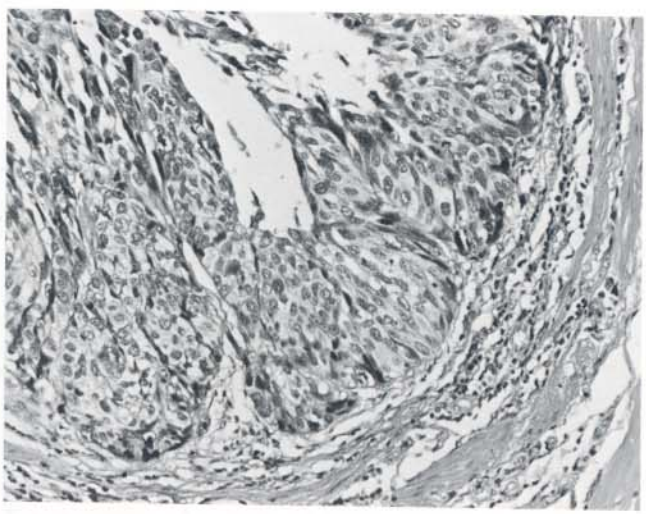
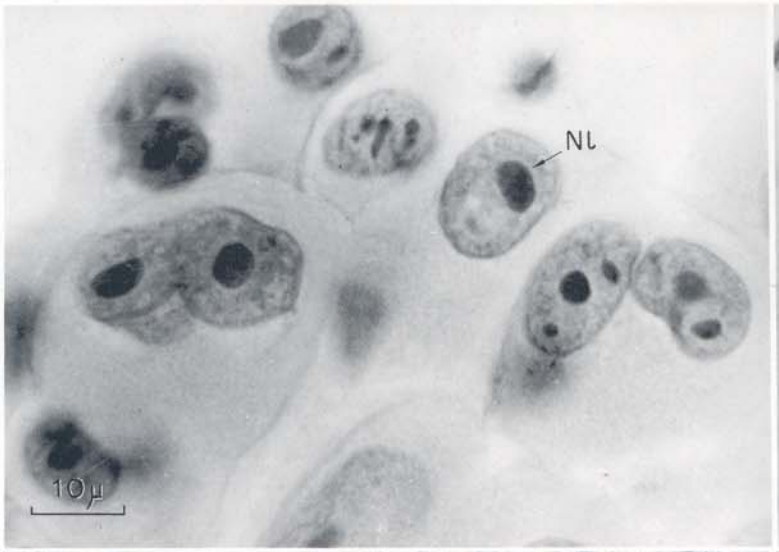


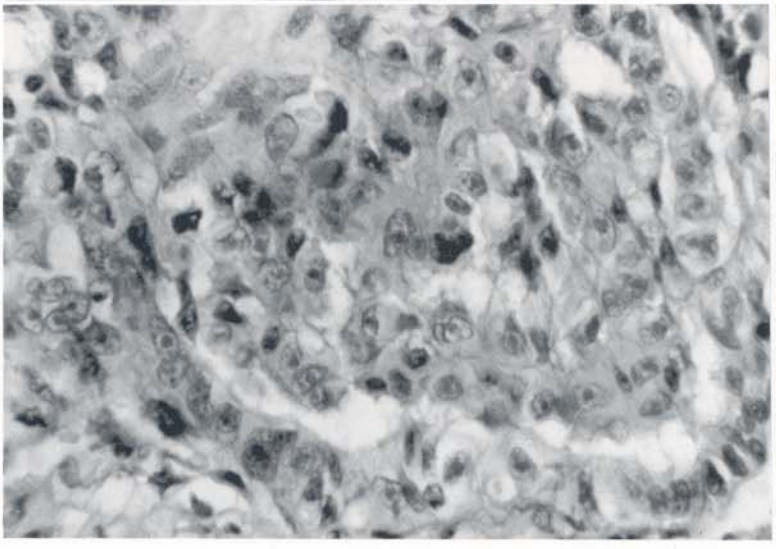
Fig. 944. Histología original del carcinoma resecado con anterioridad. Carcinoma transicional de grado III, constituido por bandas multiestratificadas de células cancerosas uroteliales. La polaridad está distorsionada, pero persiste.



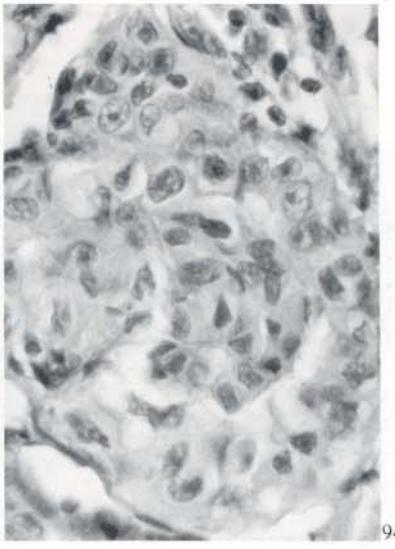
945a



945b



946a



946b

Fig. 945. Células malignas claras peculiares de carcinoma de células renales en la ascitis. Este tipo se caracteriza por la gran cantidad de citoplasma claro de borde celular borroso y nucléolos semejantes a gotitas de tinta china (*Nl*). Nótese la frecuente figura mitótica (*m*). Aunque muchas veces un síntoma inicial frecuente de este tumor es la hematuria, es raro que estas células malignas se detecten en la orina.

Fig. 946. Histología del carcinoma de células renales que exhibe láminas sólidas de células cancerosas pleomórficas. Las células tumorales poseen un citoplasma abundante, claro, mal definido o vacuolado. Los núcleos son poliédricos, de tamaño variable y vesiculosos, y exhiben nucléolos prominentes. La propiedad de la invasión vascular es peculiar de este tumor, que da metástasis tempranas en los pulmones, hígado y huesos.

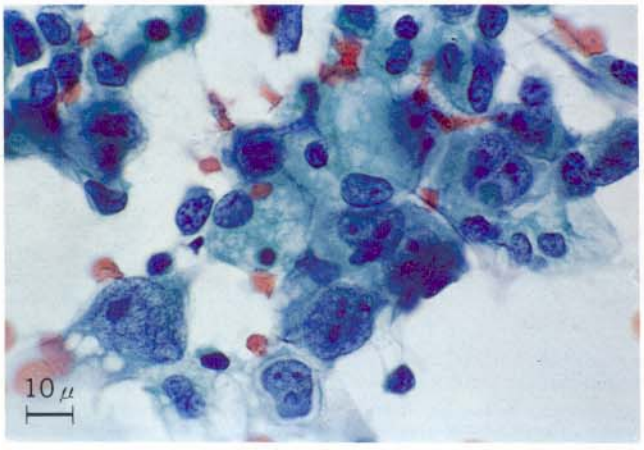


Fig. 947. Aglomeración laxa de células claras procedente de un adenocarcinoma renal poco diferenciado. Nótense el citoplasma claro y los núcleos polimórficos con uno o dos nucléolos prominentes.

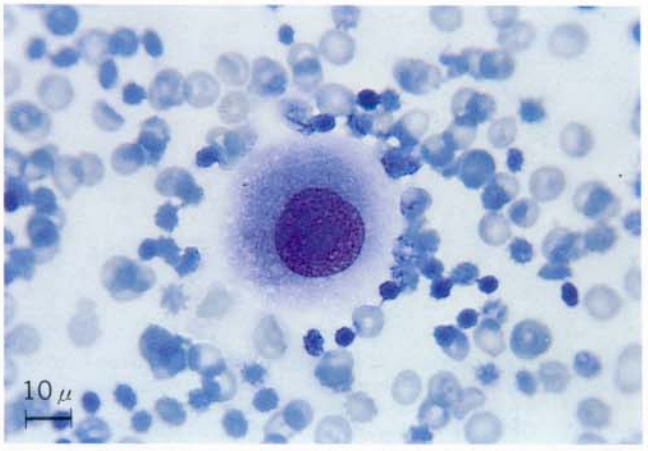


Fig. 948. Célula de adenocarcinoma renal del líquido ascítico teñida con Giemsa. El núcleo redondo contiene un nucléolo central prominente. Su hipercromasia se debe a las partículas de cromatina densamente aglomeradas. El citoplasma abundante es vesiculoso y mal definido.

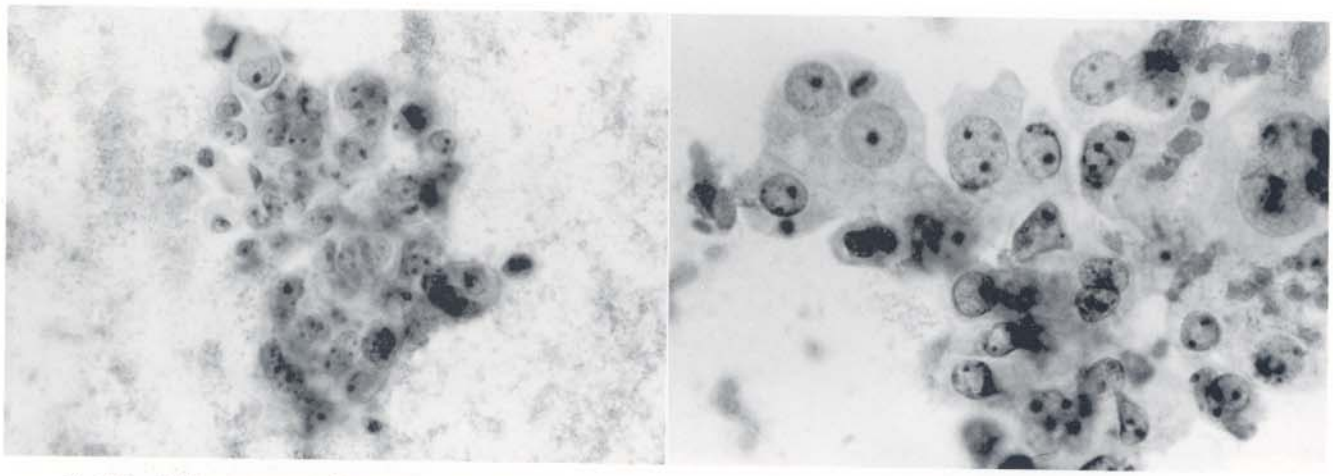
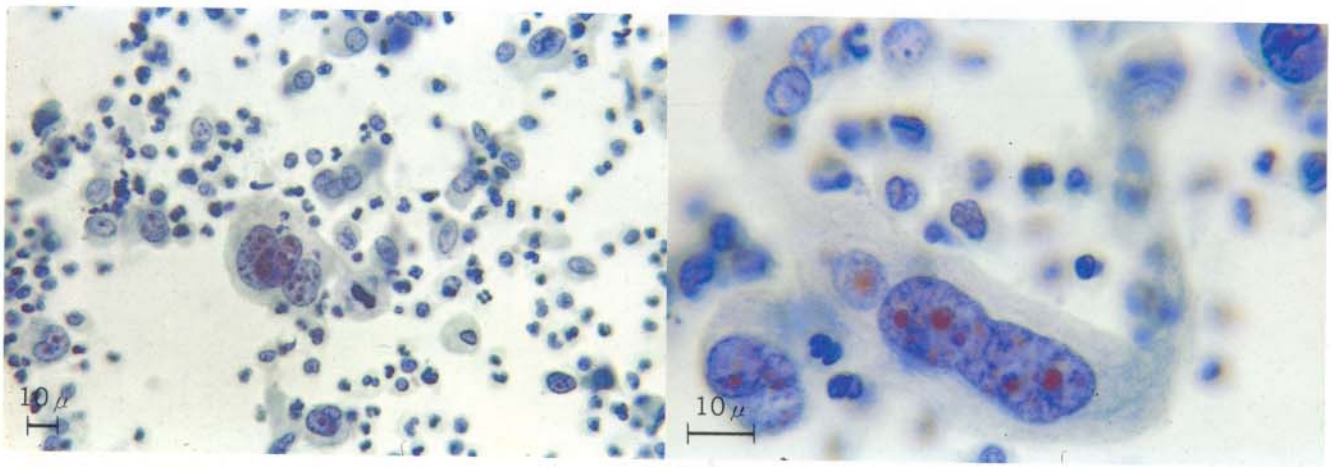
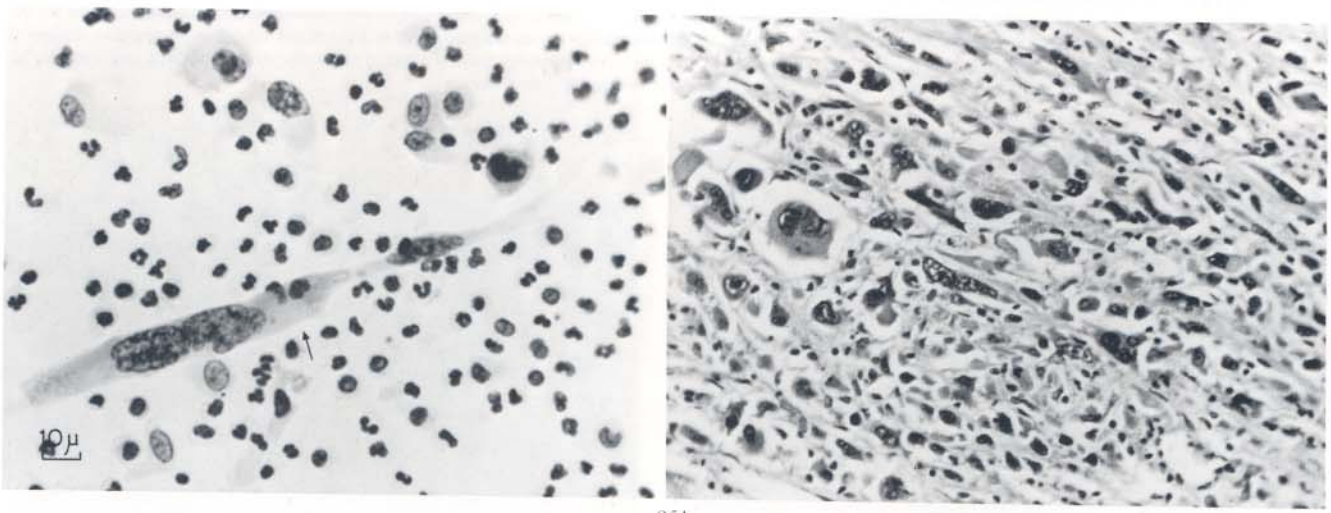


Fig. 949. Células cancerosas aglomeradas a modo de una lámina en el líquido ascítico. Provienen de un carcinoma de endometrio.



950



951

Fig. 950. Células malignas de un rabdomiosarcoma de vesícula biliar en una muestra de líquido ascítico. Si no aparecen estrías cruzadas no se puede hacer el diagnóstico de certeza, pero hay varios rasgos característicos se que resumen así: 1) células raras de bordes indefinidos, 2) formas extrañas y multiplicación de los núcleos y 3) prominencia de múltiples nucléolos eosinófilos.

Fig. 951. Citología e histología del tumor original, un rabdomiosarcoma de vesícula biliar. Esta neoplasia maligna de textura laxa exhibe infiltración difusa por unas células sarcomatosas de un pleomorfismo enorme; hay células fusiformes, redondas, gigantes multinucleadas de citoplasma eosinófilo finamente granular y en correa con dos o tres núcleos dispuestos en tándem (*flechas*).

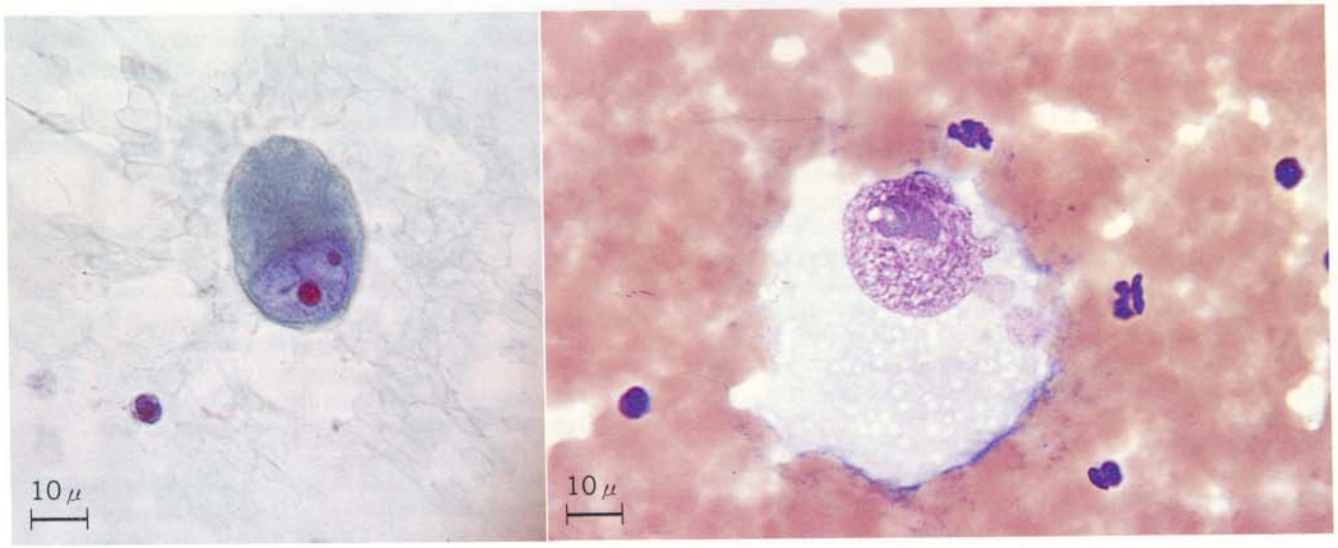


Fig. 952. Células malignas originadas en un liposarcoma indiferenciado del retroperitoneo. No hay ningún rasgo patognomónico de liposarcoma, aunque sí algunos datos que caracterizan el origen mesenquimático: 1) nucléolos acidófilos prominentes, 2) borde nuclear delgado, 3) un citoplasma opaco y abundante con finas vesículas y 4) sudanofilia, aunque no se ilustra en estas imágenes. (Gentileza del Laboratorio de Citología, Hospital de la Universidad Teikyo, Tokio.)

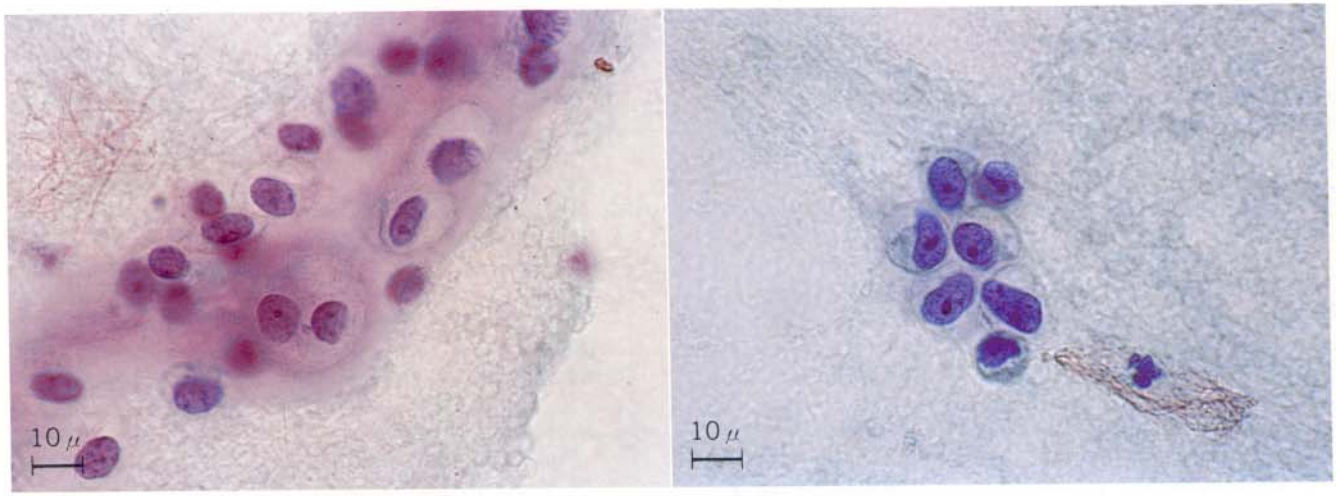


Fig. 953. Células malignas que aparecieron en el líquido pleural al recidivar un condrosarcoma de pulmón. En el exceso de líquido tras la resección de un condrosarcoma pulmonar se detectaron unas células sarcomatosas en grupos sueltos. Puntos diferenciales: 1) binucleación con nucléolos prominentes únicos, 2) citoplasma opaco y céreo con un evidente halo perinuclear, 3) borde celular mal definido y 4) reacción PAS positiva, aunque no se ilustra aquí.

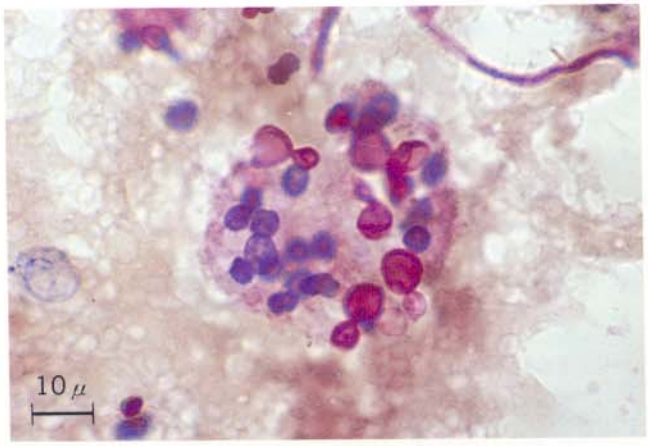


Fig. 954. Histiocito multinucleado PAS positivo que incluye *Cryptococcus neoformans*. A este hombre deteriorado de 72 años se le hizo una paracentesis abdominal porque tenía carcinoma de colon y hepatoma al mismo tiempo. Hay que fijarse en los histiocitos con multinucleación anormal porque pueden ocurrir infecciones micóticas oportunistas.

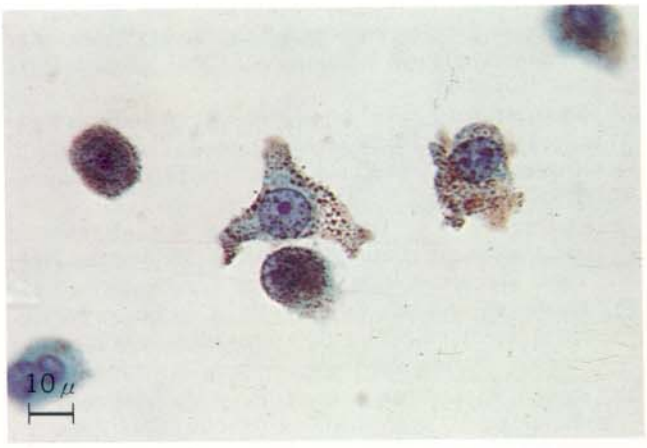


Fig. 955. Células melanomatosas en la ascitis de un paciente con melanoma maligno diseminado. Los núcleos de las células melanomatosas son redondeados y poseen unos grandes nucléolos en gotitas. El pigmento melánico se identifica con tinciones especiales. Compárese con los melanófagos (fig. 850).

BIBLIOGRAFÍA

1. APFFEL, C. A., and BAKER, J. R.: Lipid droplets in the cytoplasm of malignant cells. Cancer, *17*: 176, 1964.
2. ASCHOFF, L., and KIYONO, K.: Zur Frage der grossen Mononukleären. Folia haemat., *15*: 383, 1913.
3. ASKIN, F. B., MCCANN, B. G., and KUHN, C.: Reactive eosinophilic pleuritis. Arch. Path. Lab. Med., *101*: 187, 1977.
4. BAKALOS, D., CONSTANTAKIS, N., and TSCICRICAS, T.: Distinction of mononuclear macrophages from mesothelial cells in pleural and peritoneal effusions. Acta Cytol., *18*: 20, 1974.
5. BAUMANN, H.: Eosinophile Pleuritis bei flüchtigem, eosinophilem Lungeninfiltrat. Schweitz. med. Wschr., *74*: 326, 1944.
6. CARR, I.: The Macrophage: A Review of Ultrastructure and Function. London, Academic Press, 1973.
7. CARR, I., and UNDERWOOD, J. C. E.: The ultrastructure of the local cellular reaction to neoplasia. Int. Rev. Cytol., *37*: 329, 1974.
8. CARR, I., UNDERWOOD, J. C. E., MCGINTY, F., and WOOD, P.: The ultrastructure of the local lymphoreticular response to an experimental neoplasm. J. Path., *113*: 175, 1973.
9. CAWSON, R. A.: The cytological diagnosis of oral cancer. Br. Dent. J., *108*: 294, 1960.
10. CEELEN, G. H.: The cytologic diagnosis of ascitic fluid. Acta Cytol., *8*: 175, 1964.
11. CHAPMAN, C. B., and WHALEN, E. J.: The examination of serous fluids by the cell block technic. N. Engl. J. Med., *237*: 215, 1947.
12. CHURG, J., and GORDON, A. J.: Multiple myeloma. Lesions of the extraosseous hematopoietic system. Am. J. Clin. Path., *20*: 934, 1950.
13. CORDIER, V., and MORENAS, L.: Eosinophilie pleurale symptomatique d'un abcès hépatique amibien évacué par vomique. Constatation d'Entamoeda dysenteriae dans l'expectoration. Comp. Rend. Soc. Biol., *104*: 198, 1930.
14. CURRAN, T. M.: Cholesterol pleural effusion. Edin. Med. J., *55*: 252, 1948.
15. DE LAVERGNE, V., ABEL, E., and DEBENEDETTI, R.: Eosinophilie pleurale au cours d'un abcès amibien du poumon. Bull. et mém. Soc. méd. Eop. d. Paris, *54*: 593, 1930
16. DIEU, J. Y., MCCOY, J. L., CANNON, G. B., REEVES, W. J., WEST, W. H., and HERBERMAN, R. B.: Lymphocytes forming rosettes with sheep erythrocytes in metastatic pleural effusions. J. Natl. Cancer Inst., *56*: 1051, 1976.
17. DYMENT, L. J.: Les pleurésies cancéreuses à éosinophiles. Thesis, Paris, 1931.
18. EHRICH, W. E.: Die Leukozyten und ihre Entstehung. Erg. Allg. Path., *29*: 1, 1934.
19. EHRICH, W. E.: Die Entzündung. Im: Handbuch der Allgemeinen Pathologie. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1956.
20. EVANS, R., and ALEXANDER, P.: Cooperation of immune lymphoid cells with macrophages in tumour immunity. Nature, *228*: 620, 1970.
21. EVANS, R., and ALEXANDER, P.: Mechanism of immunologically specific killing tumour cells by macrophages. Nature, *236*: 168, 1972.
22. FISHER, E. R., and HELLSTROM, H. R.: The periodic acid-Schiff reaction as an aid in the identification of methoselioma. Cancer, *13*: 837, 1960.
23. FOOT, N. C.: The identification of tumor cells in sediments of serous effusions. Am. J. Path., *13*: 1, 1937.
24. FOOT, N. C.: The identification of neoplastic cells in serous effusions. Critical analysis of smears from 2,029 persons. Am. J. Path., *32*: 961, 1956.
25. FOOT, N. C.: The identification of mesothelial cells in sediments of serous effusions. Cancer, *12*: 429, 1959.
26. FORTT, R. W., and MATHIE, I. K.: Gliomatosis peritonei caused by ovarian teratoma. J. Clin. Path., *22*: 348, 1969.
27. FOX, H., and LANGLEY, F. A.: Tumours of the ovary. London, William Heinemann Med. Books, Ltd., 1976.
28. FRERICHS, J. B.: Influence of monocytosis of peripheral blood stream upon cellular character of acute inflammation. Bull. Johns Hopkins Hosp., *74*: 49, 1944.
29. FUDENBERG, H. H., WYBRAN, J., and ROBBINS, D.: T-rosette-forming cells, cellular immunity and cancer. N. Engl. J. Med., *292*: 475, 1975.
30. GARRIOCH, D. B., GOOD, R. A., and GATTI, R. A.: Lymphocyte response to P. H. A. in patients with non-lymphoid tumours. Lancet, *1*: 618, 1970.
31. GIESE, W.: Zytodiagnostik der Pleuratumoren. Lehrbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie II, 3 Teil. Berlin, Walter de Gruyter & Co., 1960.
32. GRUNZE, H.: The comparative diagnostic accuracy, efficiency and specificity of cytologic technics used in the diagnosis of malignant neoplasm in serous effusions of the pleural and pericardial cavities. Acta Cytol., *8*: 150, 1964.
33. HAN, T., and TAKITA, H.: Immunologic impairment in bronchogenic carcinoma: A study of lymphocyte response to phytohemagglutinin. Cancer, *30*: 616, 1972.
34. HARKAVY, J.: Vascular allergy. Pathogenesis of bronchial asthma with recurrent pulmonary infiltrations and eosinophilic polyserositis. Arch. Int. Med., *67*: 709, 1941.
35. HARKAVY, J.: Vascular allergy. J. Allergy, *14*: 507, 1943.
36. HIRATA, M.: Acta Haemat. Jap., *9*: 3, 1946.
37. HOLUB, M.: Potentialities of the small lymphocyte as revealed by homotransplantation rnd autotransplantation experiments in diffusion chambers. Ann. N. Y. Acad. Sci., *99*: 477, 1962.
38. HUTT, M. S. R., and ANTHONY, P. P.: Tumours of liver, biliary system and pancreas. Recent Result in Cancer Res., *41*: 57, 1973.
39. INNES, J., and GORDON, A. J.: Myelomatosis. Lancet, *1*: 239, 1961.
40. JOHNSON, W. D.: The cytological diagnosis of cancer in serous effusions. Acta Cytol., *10*: 161, 1966.
41. JOOS, F., ROOS, B., BÜRKI, H., BÜRKI, K., and LAISSUE, J.: Umsatz, Proliferation und Phagozytosetätigkeit der freien Zellen im Peritonäalraum der Maus nach Injektion von Polystyren-Partikeln. Z. Zellforsch., *95*: 60, 1969.
42. JOURNEY, L. J., and AMOS, D. B.: An electron microscope study of histiocyte response to ascites tumor homografts. Cancer Res., *22*: 998, 1962.
43. KASDON, E. J.: Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis propria testis. Cancer, *23*: 1144, 1970.
44. KELLEY, R. R., and SCULLY, R. E.: Cancer developing in dermoid cysts of ovary. A report of 8 cases, including a carcinoid and a leiomyosarcoma. Cancer, *14*: 989, 1961.
45. KERN, W. H.: Benign papillary structures with psammoma bodies in culdocentesis fluid. Acta Cytol., *13*: 178, 1969.
46. KIYONO, K.: Die Vitale Carminspeicherung: Ein Beitrag zur Lehre von der Vitalen Färbung mit Beson-

derer Berücksichtigung der Zelldifferenzierungen im Entzündlichen Gewebe. Jena, Gustav Fischer Verlag, 1914.

47. KIYONO, K., and NAKANOIN, T.: Weitere Untersuchungen über die histiozytären Zellen. Acta Sch. Med. Univ. Kioto, *3*: 55, 1920.
48. KLEMPMAN, S.: The exfoliative cytology of diffuse pleural mesothelioma. Cancer, *15*: 691, 1962.
49. KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1968.
50. KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases, 3rd ed. p. 911. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1979.
51. KOTANI, H., SAKASHITA, Y., HAYASHI, W., YOSHIDA, K., MATSUDA, M., and UEMATSU, K.: A case of peritoneal mesothelioma. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *19*: 226, 1980.
52. LAPES, M., ROSENZWEIG, M., BARBIERI, B., JOSEPH, R. R., and SMALLEY, R. U.: Cellular and humoral immunity in non-Hodgkin's lymphoma. Am. J. Clin. Path., *67*: 347, 1977.
53. LEE, Y-T. N., MARSHALL, G. J., WEINER, J., and BATEMAN, J. R.: Peripheral B- and T-lymphocyte counts in patients with sarcoma and breast carcinoma. Cancer, *40*: 667, 1977.
54. LIGHT, R. W., MACGREGER, M. I., LUCHSINGER, P. C., and BALL, W. C.: Pleural effusions: The diagnostic separation of transudates and exudates. Ann. Int. Med., *77*: 507, 1972.
55. LOPES CARDOZO, E., and HARTING, M. C.: On the function of lymphocytes in malignant effusions. Acta Cytol., *16*: 307, 1972.
56. LOPES CARDOZO, P.: Advantages and disadvantages of the May-Grünwald Giemsa procedure in exfoliative cytology. Acta Cytol., *2*: 284, 1958.
57. LOPES CARDOZO, P.: Atlas of Clinical Cytology. 's-Hertogenbosch, Netherlands, Targa. b. v., 1975.
58. LUSE, S. A. and REAGAN, J. W.: A histocytological study of effusions. I. Effusions not associated with malignant tumors. Cancer, *7*: 1155, 1954.
59. MASUGI, M.: Über die Beziehungen zwischen Monocyten und Histiocyten. Beitr. path. Anat., *76*: 396, 1927.
60. MAVROMMATIS, F. S.: The identification on mesothelial cells by the technic of Mowry. Acta Cytol., *6*: 443, 1962.
61. MAVROMMATIS, F. S.: Some morphologic features of cells containing PAS positive intracytoplasmic granules in smears of serous effusions. Acta Cytol., *8*: 426, 1964.
62. MAXIMOW, A.: Cultures of blood leucocytes. From lymphocyte and monocyte to connective tissue. Arch. f. exper. Zellforsch., *5*: 169, 1928.
63. MAXIMOW, A. A.: *In* COWDRY, E. V. (Ed.): Special Cytology, Vol. 2. pp. 711–770. New York, Hoeber, 1928.
64. MCDONALD, G. A., DODDS, T. C., and CRUICKSHANK, B.: Atlas of Haematology. London, Churchill Livingstone, 1978.
65. MCDONALD, J. R., and BRODERS, A. C.: Malignant cells in serous effusions. Arch. Path., *27*: 53, 1939.
66. METCHNIKOFF, E.: Lectures on the Comparative Pathology of Inflammation. American Academy of Neurology Reprint Series. New York, Dover Publications, 1969 (originally published in 1891).
67. MORRISON, J. B.: Pleurisy with effusion during pneumothorax therapy. Am. Rev. Tuberc., *57*: 598, 1948.
68. MURATA, J.: Studies on macrophages in the peritoneal cavity. Report I: Cytology of macrophages in the peritoneal cavity. Acta Haematol. Jap., *18*: 38, 1955.
69. MURATA, J.: Studies on macrophages in the peritoneal cavity. Report II: The origin of the macrophages in the peritoneal cavity. Acta Haematol. Jap., *18*: 49, 1955.
70. NAGEL, O.: Ein Beitrag zur Pathologie der flüchtigen Lungenfiltrate mit Bluteosinophilie. Beitr. Klin. Tuberk., *96*: 185, 1941.
71. NISHIOKA, K., HIRAYAMA, T., SEKINE, T., OKOCHI, K., MAYUMI, M., JUEI-LOW, S., CHEN-HUI, L., and TONG-MIN, L.: Australia antigen and hepatocellular carcinoma. Gann Monogr. Cancer Res., *14*: 167, 1973.
72. NISHIOKA, K., LEVIN, A. G., and SIMONS, M. J.: Hepatitis B antigen subtypes and hepatitis B antibody in normal subjects and patients with liver disease: Results of a collaborative study. Bull. WHO, *52*: 293, 1975.
73. NORTH, R. J., and MACHANESS, G. B.: Electronmicroscopical observations on the peritoneal macrophages of normal mice immunised with *Listeria* monocytogenes. II. Structure of macrophages from immune mice and early cytoplasmic responce to the presence of injected bacteria. Br. J. Exp. Path., *44*: 608, 1963.
74. PAGE, D. S.: Pleural effusion, its cytology and the results of paracentesis. Lancet, *198*: 584, 1920.
75. PERKINS, J. J., and DUDGEON, L. S.: A case of eosinophilic pleurisy. Trans. Path. Soc. London, *58*: 119, 1907.
76. PICOFF, R. C., and MEEKER, C. I.: Psammoma bodies in the cervicovaginal smear in association with benign papillary structures of the ovary. Acta Cytol., *14*: 45, 1970.
77. PIÉRON, R., FERNET, M., COSSET, J. M., TEMKINE, J., PSALMON, F., JAGUEUX, M., and MAFART, Y.: Maladie de kahler avec plasmacytome sous-costal, pleurésie et péricardite a plasmocytes. Sem. Hop. Paris, *48*: 2953, 1972.
78. PRINCE, A. M., SZMUNESS, W., MICHON, J., DEMAILLE, J., DIEBOLT, G., LINHARD, J., QUENUM, C., and SANKALE, M.: A case/control study of the association between primary liver cancer and hepatitis B infection in Senegal. Int. J. Cancer, *16*: 376, 1975.
79. QUENSEL, U.: Zur Frage der Zytodiagnostik der Ergüsse seröser Höhlen. Methodologische und pathologisch-anatomische Bemerkungen. Acta Med. Scand., *68*: 427, 1928.
80. REINIKANIEN, M.: Exudative pleurisy with eosinophilia. Ann. med. int. Fennioe, *36*: 145, 1947.
81. RIST, E., and KINDBERG, L.: Deux cas d'eosinophilie pleurale. Bull. et mem. Soc. med. Hop. d. Paris, *28*: 693, 1909.
82. ROBBOY, S. J., and SCULLY, R. E.: Ovarian teratoma with glial implants on the peritoneum. Human Path., *1*: 643, 1970.
83. ROBERTSON, H. E.: "Endothelioma" of the pleura. J. Cancer Res., *8*: 317, 1924.
84. ROLLESTON, H. D.: A case of eosinophile ascites: with remarks. Br. Med. J., *1*: 238, 1914.
85. SAFA, A. M., and ORDSTAND, H. S.: Pleural effusion due to multiple myeloma. Chest, *64*: 246, 1973.
86. SANDKÜHLER, S. T., and DOEMHELD L.: Myelome mit plasmazytärem Pleuraerguß. Acta haemat., *18*: 403, 1957.
87. SAPHIR, O.: Cytologic diagnosis of cancer from pleural and peritoneal fluids. Am. J. Clin. Path., *19*: 309, 1949.
88. SAPHIR, O., and LACKNER, J. E.: Adenocarcinoma with clear cells (hypernephroid) of ovary. Surg. Gynec. Obstet., *79*: 539, 1944.

89. SCHULTZ, A., and LÖHR, G.: Zur Frage der Spezifität der mikrochemischen Cholesterinreaktion mit Eisessig-Schwefelsäure. Zbl. allg. Path. und path. Anat., *36*: 529, 1925.
90. SEEMANN, S.: Über die Beziehungen zwischen Lymphocyten und Histiocyten insbesondere bei Entzündung. Ziegler Beitr. Path. Anat., *85*: 303, 1930.
91. SPRIGGS, A. I.: The Cytology of Effusions in the Pleural, Pericardial and Peritoneal Cavities. London, William Heinemann Medical Books Ltd., 1957.
92. STEINBERG, B.: Peritoneal exudate. J. A. M. A., *116*: 572, 1941.
93. STOUT, A. P.: Mesothelioma of the pleura and peritoneum: cited from Tumors of the Retroperitoneum, Mesentery and Peritoneum. Washington, D. C., AFIP, 1954.
94. TAJIMA, M.: Cytological diagnosis of pleuroperitoneal effusion. Proceedings of 17th General Assemb. Jap. Med. Congr., *2*: 995, 1967.
95. TAKAHASHI, M., KAWAGUCHI, A., KAWAMATA, K., and YASUMA, T.: α-Fetoprotein by the immunofluorescent antibody technique in primary liver carcinoma and its histopathological basis. Gann Monogr. Cancer Res., *14*: 219, 1973.
96. TAKAHASHI, M., MIWA, K., and KUNIZANE, H.: Isoenzyme fractions of lactic dehydrogenase in effusions (in Japanese). J. Med. Technology, *20*: 292, 1976.
97. TANI, E. M., and TAKAHASHI, M.: Prognostic evaluation of T lymphocyte population in body cavity effusions secondary to malignancy. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *19*: *534*, 1980.
98. TEILUM, G.: Histogenesis and classification of mesonephric tumors of the female and male genital system and relationship to benign so-called adenomatoid tumors (mesotheliomas). Acta Path. Microbiol. Scand., *34*: 431, 1954.
99. TURK, J. L., and OORT, J.: The production of sensitized cells in cell mediated immunity. *In* STUDER, A., and COTTIER, H. (Eds.): Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Bd. 7, Teil 3, Immunreaktionen/ Immune Reactions. pp. 392–435, Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1970.
100. WAGNER, J. C., MUNDAY, D. E., and HARINGTON, J. S.: Histological demonstration of hyaluronic acid in pleural mesothelioma. J. Path. Bact., *84*: 73, 1962.
101. WHITAKER, D., and SHILKIN, K. B.: The cytology of malignant mesothelioma in Western Australia. Acta Cytol., *22*: 67, 1978.
102. WIHMAN, G.: A contribution to the knowledge of the cellular content in exudates and transudates. Acta Med. Scand. (Stockholm), *130* (Suppl.): 205, 1948.
103. WILE, S. A., and SAPHIR, O.: Migratory peritonitis. A clinicopathologic study of so-called hematogenous peritonitis in children. Am. J. Dis. Child., *43*: 610, 1932.
104. WILLIS, R. A.: Pathology of Tumours. London, Butterworth & Co., Ltd., 1948.
105. WISNIEWSKI, M., and DEPPISCH, L. M.: Solid teratomas of the ovary. Cancer, *32*: 440, 1973.
106. WITTE, C. L., WITTE, M. H., COLE, W. R., CHUNG, Y. C., BLEISCH, V. R., and DUMONT, A. E.: Dual origin of ascites in hepatic cirrosis. Surg. Gynec. Obstet., *129*: 1027, 1969.
107. WOODRUFF, J. D., BIE, L. S., and SHERMAN, R. J.: Mucinous tumors of the ovary. Obstet. Gynec., *16*: 699, 1960.
108. WYBRAN, J., and FUDENBERG, H. H.: Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease states: cancer, lymphoma, bacterial and viral infections, and other diseases. J. Clin. Invest., *52*: 1026, 1973.
109. VAN FURTH, R.: Origin and kinetics of monocytes and macrophages. Seminars Hemat., *7*: 125, 1970.
110. VARGAS-SUÁREZ, J.: Über Ursprung und Bedeutung der in Pleuraergüssen vorkommenden Zellen. Beitr. Klin. Tuberk. *2*: 201, 1904.
111. VOLKMAN, A.: The origin and turnover of mononuclear cells in peritoneal exudates in rats. J. Exp. Med., *124*: 241, 1966.
112. ZACH, J.: Praktische Zytologie für Internisten. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1972.
113. ZADEK, I.: Die Zytologie der Exsudate und Transudate. *In* HIRSCHFELD, H., und HITTMAIR, A. (Eds.): Handbuch der allgemeinen Hamatologie. Berlin, Urban, 1933.

Addendum

114. SPRIGGS, A. I.: Pleural eosinophilia due to pneumothorax. Acta Cytol., *23*: 425, 1979.
115. VERESS, J. F., KOSS, L. G., and SCHREIBER, K.: Eosinophilic pleural effusions. Acta Cytol., *23*: 40, 1979.

27 Tracto urinario

1. Aspecto general de la citología urinaria

Los citólogos se han dedicado a detectar neoplasias malignas en el tracto urinario por la facilidad para obtener muestras desde que Papanicolaou y Marshall (1945)[69] aludieron a esto, pero no prestaron tanta atención a los exámenes cuali y cuantitativos del sedimento urinario como al llamado análisis de orina, en que se observan los cilindros, los hematíes y las células del epitelio renal que provienen del nefrón. Esto sucede porque no examinaron los sedimentos frescos sin colorear. La identificación de los diversos tipos de cilindros urinarios y sus recuentos y dimensiones, revisten utilidad para diagnosticar enfermedades parenquimatosas intrínsecas del riñón.

En cambio, los técnicos de laboratorio que hacen análisis de orina no están familiarizados con la técnica citológica basada en la tinción de Papanicolaou. Por esta razón, al hacer el examen microscópico del sedimento fresco sin colorear, pueden no advertir un carcinoma incipiente de vías urinarias si no están familiarizados con las pequeñas células atípicas que se descaman una por una en la orina sin diátesis tumoral. Estas fallas de ambas partes se corrigen adoptando tinciones supravitales como la de Sternheimer-Malbin y la del azul de toluidina y empleando diversas técnicas de microscopia especial. La microscopia de contraste de fase y la microscopia de interferencia diferencial valen la pena para visualizar células y cilindros. Se puede hacer microscopia fluorescente para coloración supravital o permanente con naranja de acridina, para inmunofluorescencia con anticuerpos y para detectar una sustancia que produce fluorescencia primaria.

Análisis urinario y citología de rutina

En el análisis de orina debemos procesar una gran cantidad de muestras de orina poco después de la micción, de modo que los sedimentos se suelen examinar sin colorear; basta una tardanza de un par de horas desde que se emite la muestra, para que proliferen las bacterias contaminantes y la orina se alcalinice, con lo cual se pueden disolver los elementos celulares. En los casos en que se debe observar la estructura detallada, la microscopia de interferencia diferencial permite ver el material no coloreado con un contraste de color distintivo. La luz polarizada es útil para demostrar sustancias birrefringentes, como los cristales de colesterol y de leucina, que forman imágenes características en "cruz de Malta" (fig. 956). Sin embargo, el examen coloreado es importante para demostrar microorganismos y para distinguir entre células del epitelio renal y células epiteliales transicionales profundas. A continuación resumimos el procedimiento para el análisis de orina como examen de laboratorio usual:

Primer paso. Examen de sedimentos frescos con iluminación condensada conveniente.

Úsese el filtro verde, porque a veces acentúa el contraste.

Segundo paso. Microscopia de contraste de fase para sedimentos frescos (fig. 957).

Microscopia de interferencia diferencial para sedimentos frescos, más útil que la microscopia de contraste de fase.

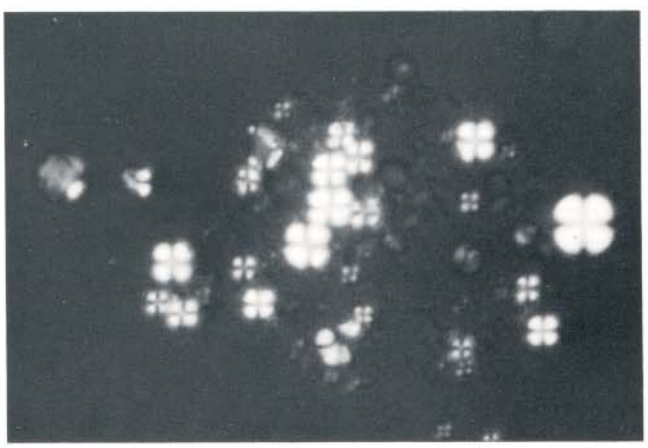


Fig. 956. Cruces de Malta de los cuerpos lipídicos. A la luz polarizada, los cuerpos lipídicos forman una imagen típica en "cruz de Malta".

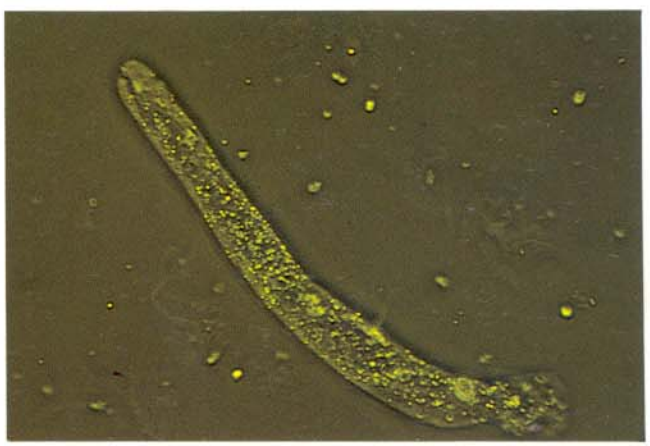


Fig. 957. Microscopia de contraste de fase de un cilindro granuloso fino. Se delinea muy bien el contorno del cilindro. Nótense los finos gránulos muy bien iluminados, diseminados en una matriz vidriosa.

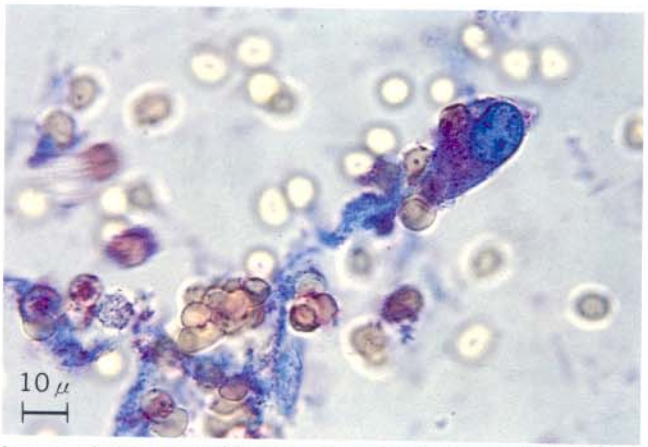


Fig. 958. Tinción supravital de células cancerosas transicionales en el sedimento urinario. Con la tinción Astra Blue de Sternheimer se ven bien y con rapidez las células y los cilindros. La tingibilidad inicial de las células depende de su viabilidad; las células desvitalizadas se colorean inmediatamente con la tinción supravital.

Tinción supravital, como Sternheimer,[82] Sternheimer-Malbin (fig. 958) y naranja de acridina (fig. 1031b).

Tinción rápida para obtener extendidos permanentes.

Tercer paso. Tinción de Papanicolaou o de Shorr como extendido permanente.

Si es necesario, se agregan otras tinciones especiales.

El análisis de orina consiste en analizar los componentes celulares y los cristales orgánicos o inorgánicos, determinar la cantidad e índole de los cilindros que hay en los sedimentos urinarios y establecer grados de albuminuria, glucosuria, bilirrubinuria, hematuria (hemoglobinuria), bacteriuria, etc. Los estudios citológicos se concentraban en particular en alteraciones cualitativas y a veces cuantitativas de las células epiteliales exfoliadas de las vías urinarias por debajo de la pelvis, pero las alteraciones patológicas del nefrón se reconocen porque se forman diversos tipos de cilindros y también por alteraciones citológicas degenerativas de las células tubulares.

Aspecto macroscópico de la orina

El aspecto de la orina orienta sobre los estados patológicos del tracto urinario. Normalmente es un líquido trasparente de color pajizo por el urocromo. El grado de coloración depende de la concentración de la orina. Préstese atención a la turbiedad y al color anormal.

1) Turbiedad. La turbiedad patológica se debe al abundante contenido de bacterias, gotitas de grasa y piocitos. El color quiloso (quiluria) obedece a obstrucción de los vasos linfáticos o a una fístula entre los vasos linfáticos y el tracto urinario. La orina nubosa de aspecto ahumado se debe al gran contenido de hematíes. En condiciones fisiológicas los uratos de la orina ácida pueden originar turbiedad, mientras que en la orina alcalina la turbiedad se debe al fosfato. Si se deja la orina en el refrigerador, se opacifica y se torna lechosa porque el urato cristaliza.

2) Color anormal. La bilirrubina o biliuria se caracteriza por un color pardo amarillento o pardo verdoso; agitando la orina en un tubo de ensayo las burbujas son amarillas. Ocurre un tinte rojizo anormal en diversos estados, como hematuria, hemoglobinuria, porfirinuria y medicaciones como sen, sanTabla 85. Relación entre el informe citológico positivo y los grados histológicos y diferenciación (Leiden, 1970-75)

	Total de casos	Muestras de la micción			
		1ª	2ª	3ª	>de 3ª
Tumor grado 0-I	47	0	0	0	0
Tumor grado II					
sin infiltración	3	3	—	—	—
con infiltración	35	10	14	1	2
Tumor grado III	53	36	11	2	—
Tumor grado IV	41	35	3	2	—
Carcinoma *in situ*	16	11	4	1	—
Carcinoma pavimentoso	8	8	—	—	—
Adenocarcinoma	4	3	—	—	—
	207	106	32	6	2

Los datos de las dos primeras columnas fueron sometidos a una prueba X^2 para la tabla de contingencias: $X^2 = 34{,}8$ DF = 6. Los adenocarcinomas y los carcinomas pavimentosos se agruparon juntos. El resultado es muy significativo ($p<0{,}0001$). Las tasas de detecciones de tumores de grado II, III y IV son distintas. La diferencia entre los carcinomas grado IV y los casos combinados de carcinoma *in situ*, carcinoma pavimentosocelular y adenocarcinoma (todos los cuales tienen una alta tasa de exfoliación comprobada) no fue significativa. (De Voogt, H. J. y col.: Urinary Citology. Berlín, Springer-Verlag, 1977.)

tonina, sulfamidas, etc. La hematuria se diferencia de la hemoglobinuria por su turbiedad ahumada y por la sedimentación de hematíes. La hemoglobinuria sin hematíes se determina con la prueba para sangre oculta. La porfirinuria puede dar una fluorescencia purpúrea vinosa a la iluminación ultravioleta.

3) Emisión de gas. La neumaturia ocurre durante la micción si hay una fístula entre el intestino y la vejiga urinaria. Producen neumaturia el carcinoma rectosigmoideo, la diverticulitis y la invasión por bacterias anaeróbicas que forman gas.

Sensibilidad y eficacia de la citología urinaria seriada

De Voogt, Rathert y Beyer-Boon[24] señalaron hace poco que la sensibilidad de la citología urinaria depende del grado de malignidad de los tumores del urotelio y de la repetición de los exámenes, en su libro de texto *Urinary Cytology*. La tasa de diagnósticos aumenta desde el 34% con una sola muestra hasta el 79% con tres muestras seriadas en el tumor de grado II, desde el 68 hasta el 85% en el de grado III y desde el 92 hasta el 98% en el de grado IV. Esto también se observó en el tumor urotelial de grado I (cuadro 85).

2. Recolección de la muestra

Por lo general se emplea orina de la micción y orina cateterizada. Para citología urinaria de rutina está bien la muestra de la mitad del chorro de la primera micción de la mañana, porque la porción inicial de la orina puede contener bacterias y contaminantes extraños. Las muestras aleatorias también dan resultados satisfactorios en los pacientes que tienen síntomas.

Tres vasos de orina. Se puede hacer citología urinaria con muestras obtenidas por separado en una micción fraccionada, lo cual se conoce como prueba de los tres vasos de orina. El primer vaso, obtenido al comienzo del chorro, contiene unos 10 a 30 ml con lavados de la uretra; el segundo,

obtenido con la mitad del chorro, es la muestra de la vejiga urinaria, y el tercero, con unos 10 a 20 ml, corresponde al final de la micción y puede contener secreciones prostáticas. La citología con la técnica de los tres vasos es útil para localizar la lesión.

La *cateterización ureteral* sirve para examinar un determinado sitio del uréter o la pelvis renal, pero es necesario determinar de antemano con medios clínicos donde está la lesión. Con la cistoscopia se detecta el sitio sangrante y con el urograma de excreción se puede saber si hay disfunción de la excreción urinaria en el lado afectado. También se requiere pielografía ascendente para encontrar defectos de relleno; así es fácil demostrar compresión, obliteración, desplazamiento y dilatación del tracto urinario. Aunque ambos sitios se suelen examinar por separado, primero se debe recoger la muestra de un sitio intacto para evitar la contaminación celular proveniente del sitio enfermo. Para obtener una cantidad adecuada de células conviene lavar la vejiga urinaria con solución fisiológica o electrolítica isotónica después de la micción. La irrigación con solución fisiológica que contiene una pequeña cantidad de enzima proteolítica, puede potenciar la exfoliación. Se dice que la presión osmótica fisiológica de la orina varía entre 10 × 760 mm Hg hasta 30 × 760 mm Hg para mantener la constancia de la presión osmótica sanguínea. La orina hipertónica puede influir sobre los rasgos de las células exfoliadas y es característico que aparezcan hematíes crenados. Por lo tanto, la irrigación con solución fisiológica no sólo es útil para favorecer la exfoliación de las células, sino también para preservarlas. Masajeando con la mano el abdomen inferior también se obtiene una buena exfoliación de células uroteliales.

3. Preparación de extendidos

Centrifugación de rutina

1. Centrifúguese una muestra de orina 5 minutos a 1500 rpm. Si no se puede obtener suficiente sedimento, decántese el sobrenadante, viértase la orina en el mismo tubo de centrifugación y vuélvase a centrifugar.
2. Prepárense extendidos sobre portaobjetos de vidrio finamente albuminizados con el método de la separación por deslizamiento. En lugar de los portaobjetos albuminizados, deposítese una gota de albúmina de huevo en el sedimento urinario, mézclese con suavidad con una varilla de vidrio y prepárense los extendidos.
3. Sin pérdida de tiempo, colóquense los portaobjetos en éter-etanol o en etanol cuando los bordes de los extendidos empiezan a secarse. La ovoalbúmina no sólo es ventajosa para adherir las células al portaobjeto, sino también porque evita que se sequen del todo.

Centrifugación después del tratamiento previo

Los extendidos se deben hacer mientras la muestra es fresca. Si no se puede mandar la muestra al laboratorio justo después de la micción ni preparar los extendidos apenas se los recibe, hay que hacer un tratamiento preliminar para que las células se preserven bien. Los métodos son:

1. Adición de igual cantidad de etanol al 95% a la muestra de orina (Papanicolaou).
2. Adición de formol a razón de 1 parte en 9 partes de muestra (Vincent Memorial Hospital Staff).
3. Adición de igual cantidad de "solución de pretratamiento" a la muestra. La solución de pretratamiento se prepara como solución madre en la proporción de 2 ml de formol y 98 ml de etanol al 40%, diluidos con solución electrolítica balanceada (en el laboratorio de este autor).

Método de la irrigación

1. Sondéese la vejiga, evácuese e inyéctense 50 ml de solución fisiológica o irrigadora con enzima. La solución irrigadora se prepara de antemano disolviendo 5 mg de alfaquimiotripsina (Kimopsin, una ampolla, Eisai Co., Ltd., Tokio) en 100 ml de solución electrolítica isotónica.
2. Bombéese 4 o 5 veces y recójase la solución.
3. Repítase la irrigación con otros 50 ml de solución irrigadora y recójase.
4. Centrifúguese la solución recogida 5 minutos a 1500 rpm.

Método modificado con solución fisiológica y enzima proteolítica

1. Sondéese y evácuese la vejiga.
2. Inyéctense 30 ml de solución fisiológica con Elase, que contenga 15.000 unidades de DNasa y 25 unidades de fibrinolisina (Parke-Davis Co., Detroit).
3. Sáquese la sonda y déjese la solución en reposo 10 minutos.
4. Hágase hacer la micción en un vaso y agréguese igual cantidad de solución electrolítica más el 2% de formol y más etanol al 40% (solución de pretratamiento).
5. Centrifúguese 5 minutos a 1500 rpm la solución recogida.

Líquido prostático

El líquido prostático obtenido mediante masaje suave de todos los lóbulos de la próstata se debe extender y sumergir inmediatamente en solución de éter y etanol. También son útiles para citología las muestras eyaculadas en un preservativo de goma (fig. 959). Las secreciones suelen contener

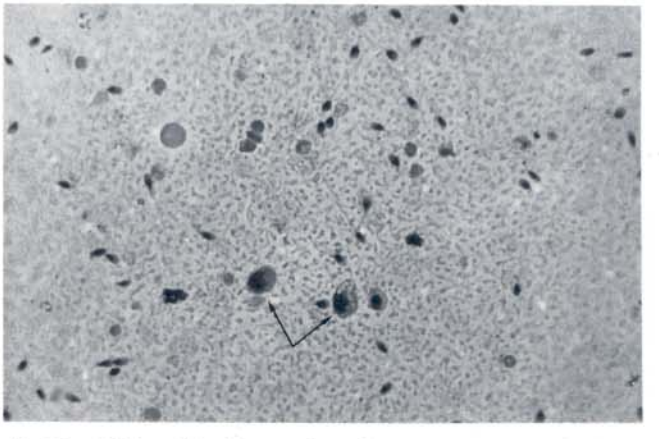


Fig. 959. Células atípicas degeneradas en el semen. Los núcleos son picnóticos, pero grandes y pleomórficos (*flechas*). El semen puede ser un coadyuvante de la aspiración con aguja.

muchas células del epitelio de revestimiento de las glándulas tubuloalveolares y sus conductos. Aunque podría existir el peligro de que con el masaje el cáncer se disemine, este procedimiento no tiene mucho que ver con la extensión tumoral, en comparación con un procedimiento quirúrgico como la resección transuretral.[67]

Punción aspiradora de la próstata

La aspiración con aguja es un recurso excelente para detectar carcinoma prostático oculto. Desde la primera descripción de Franzen en 1960, se adopta la técnica estandarizada de la aspiración transrectal con una aguja fina flexible. Williams y col.[103] y Sunderland y Lederer[102] confirmaron la gran exactitud del citodiagnóstico y la baja incidencia de resultados positivos falsos.

4. Técnica de tinción

Los exámenes microscópicos de preparados coloreados son importantes para identificar microorganismos y distinguir los tipos de células uroteliales. Además de la tinción ordinaria con Papanicolaou, en análisis de orina se emplean diversos tipos de coloraciones supravitales.

Tinción de Sternheimer-Malbin

Esta solución colorante, que se usó primero para diagnosticar pielonefritis, ha resultado ser muy útil para distinguir diversos tipos de células uroteliales. Existe una solución comercial (''Uri-Cel'', Cambridge Chemical Products, U.S.A.) de constituyentes similares a los de la solución de Sternheimer-Malbin que es muy práctica; se mezclan bien bajo un cubreobjeto una gota de sedimento urinario y una gota de la solución depositadas lado a lado. La observación microscópica se puede hacer pocos minutos después. Como después la tinción se acentúa en forma gradual, los núcleos y el citoplasma adquieren una coloración difusa por desvitalización.

Método de tinción:

Primera solución madre		
Violeta cristal	3	g
Alcohol etílico al 95 %	20	ml
Oxalato de amonio	0,8	g
Agua destilada	80	ml
Segunda solución madre		
Safranina O	0,25	g
Alcohol etílico (95 %)	10	ml
Agua destilada	100	ml

Procedimiento de tinción:

1. Mézclense las soluciones primera y segunda en una proporción de 3:97. Esta mezcla se debe renovar cada 3 meses.
2. Fíltrese antes de usar.
3. Deposítese una gota de solución colorante sobre el sedimento de la orina fresca en un portaobjeto.

Tinción de Sternheimer

Preparando una mezcla de soluciones acuosas de azul rápido National (Allied Chemical Corp., N° 1946P), consistente en un colorante de cobre y ftalocianina, y de pironina B (Matheson Coleman & Bell, N° Pb 17), se reconoce mejor una amplia gama de elementos formes, como células benignas y malignas, y diversos tipos de cilindros. En vez del azul rápido National se puede emplear azul alciano o Astrablau para uso histológico, que es un fuerte colorante básico. La pironina B es un colorante básico de menor peso molecular que interacciona con los polinucléotidos. La afinidad del cobre-ftalocianina con los mucopolisacáridos ácidos se aprovecha para teñir la matriz de los cilindros, que es rica en proteína de Tamm-Horsfall.

1. Prepárese solución de azul rápido National al 2%.
2. Prepárese solución acuosa de pironina B al 1,5%. Sternheimer recomienda purificar la pironina comercial mediante extracción con alcohol.
3. Mézclense partes iguales de ambas soluciones y almacénese.
4. Mézclense dos gotas de sedimento urinario y una gota de colorante. Examínese inmediatamente con el microscopio óptico. Las células desvitalizadas se tiñen en seguida.

Tinción con yodo

La reacción del yodo sirve para identificar células ricas en glucógeno y contaminantes vegetales; el contenido de glucógeno de las células uroteliales refleja alteraciones citohormonales en las mujeres que están en edad de procrear. Los extendidos fijados con alcohol se colorean con solución de Lugol diluida al tercio en 5 minutos (figs. 987 y 989); la solución de Lugol se prepara disolviendo en 300 ml de agua destilada 1 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio.

Tinción con naranja de acridina

La solución regulada con fosfato (pH 6) de naranja de acridina al 0,01% es una buena tinción supravital, aunque se requiere microscopia fluorescente. Se demuestran con facilidad bacterias, cilindros hialinos y diversos tipos de células (figs. 988 y 1031b).

5. Microscopia de interferencia diferencial para análisis de orina

La microscopia de interferencia diferencial (Nomarski) permite ver elementos formes como cilindros y células sin necesidad de teñirlos. Los cambios de fase que produce cualquier componente de la muestra se observan con gran exactitud. El material proteináceo de los cilindros hialinos, cuyo índice de refracción difiere poco respecto del fondo, se identifica con facilidad, lo mismo que los constituyentes celulares degenerados de los cilindros granulosos.

6. Estandarización del análisis de orina

El análisis de orina completo, con recuentos microscópicos de hematíes, leucocitos, cilindros y diversos tipos de células epiteliales, ofrece datos importantes sobre enfermedades intrínsecas de los glomérulos y túbulos, y sobre infecciones y neoplasias de vías urinarias inferiores. Por ejemplo, los cilindros leucocitarios indican pielonefritis, mientras que la presencia de gran cantidad de neutrófilos, en particular de

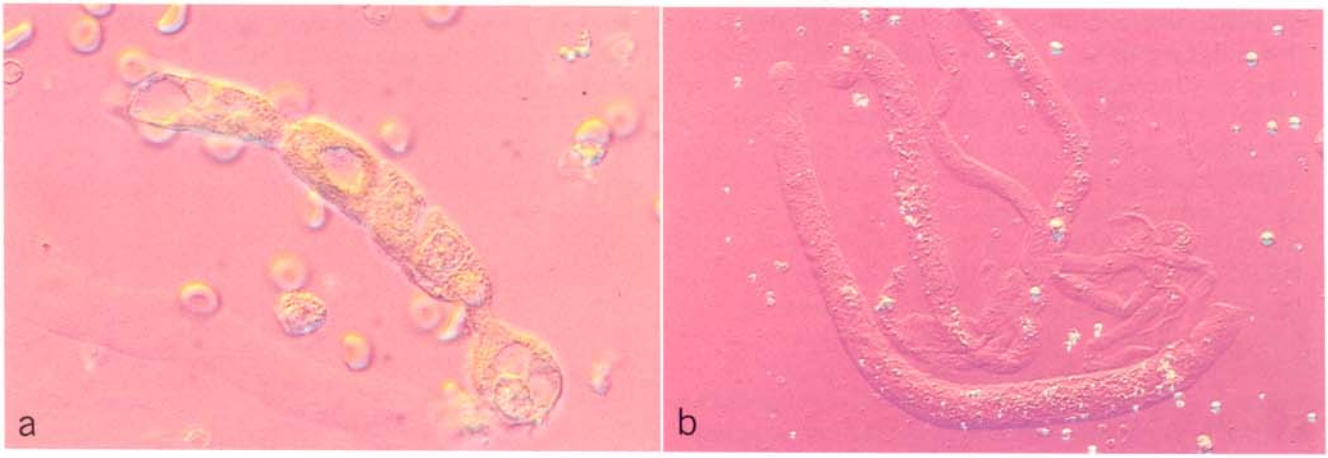


Fig. 960. Microscopia de interferencia diferencial supravital de un cilindro epitelial granuloso y de muchos cilindros hialinos. Esta microscopia tiene las ventajas de: 1) la observación rápida sin colorear y 2) la visualización tridimensional de cilindros y células. *a*, Cilindro granuloso fino que contiene células epiteliales tubulares y hematíes dispersos. *b*, Cilindros hialinos constituidos por una matriz homogénea.

Cuadro 86. Gama normal de los sedimentos urinarios

Elementos	*Magnificación*	*Descripción*	*Valores normales*
Glóbulos rojos y blancos	× 400	Cantidad por campo* Muchos por campo (más de 30) Cantidad en varios campos Cantidad en todos los campos	Glóbulos rojos: 1 por campo Glóbulos blancos: 1 en cada campo
Cilindros	× 100 o × 400	Cantidad en todos los campos (se pueden identificar con × 400)	1 o 2 en todos los campos (en la persona sana son cilindros hialinos)
Células epiteliales	× 100 o × 400	Cantidad en todos los campos (se identifican con × 400)	Ninguna o una sola en 10 campos (× 100)**
Cristales y bacterias	× 100 o × 400	+ o − (descríbase la índole, si se puede identificar)	No hay cristales anormales, como cistina, tirosina, leucina, colesterol, bilirrubina, sulfamidas, etc.

* Obsérvense por lo menos 30 campos y consígnese el promedio.
** En las mujeres hay contaminación con células pavimentosas.

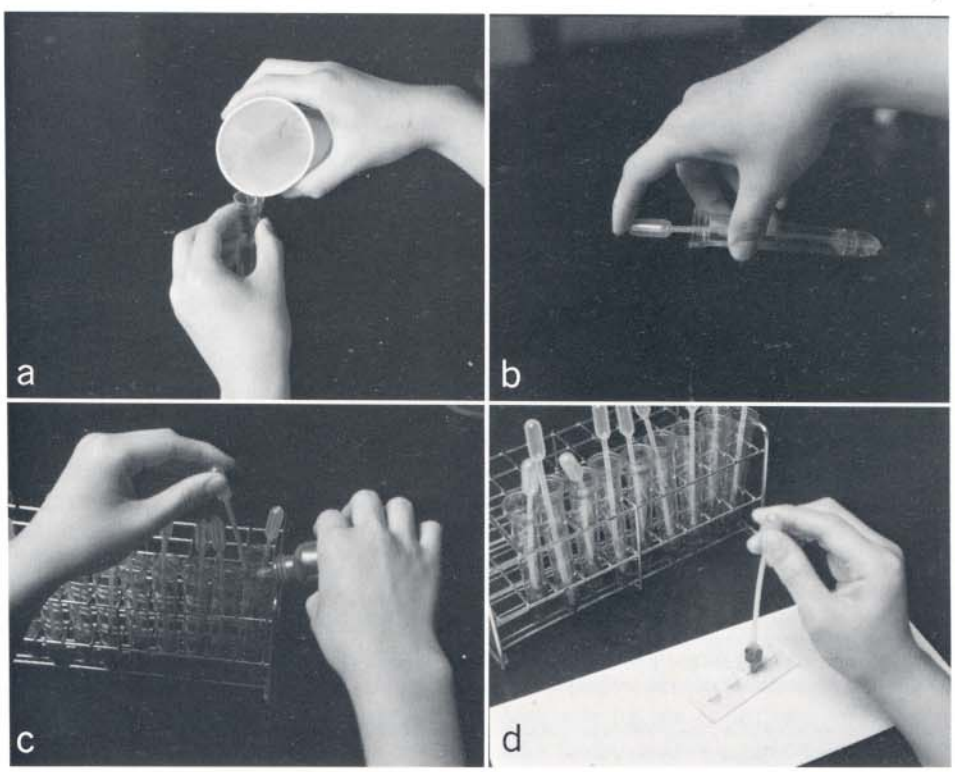


Fig. 961. Sistema Kova para estandarizar el análisis de orina. *a*, Úsese un tubo de plástico descartable y centrifúguese 5 minutos a 1500 rpm. *b*, Introdúzcase la pipeta especial hasta el fondo y sujétese con firmeza mientras se decanta el sobrenadante. En el tubo se retiene 1 ± 0,2 ml de orina con el sedimento. *c*, Deposítese una gota de solución colorante de Sternheimer-Malbin y oprímase la pipeta de plástico. *d*, Colóquese una gota de la muestra en la cámara de plástico para hacer el recuento microscópico.

neutrófilos viables pálidos sin cilindruria, significa infección de vías urinarias inferiores. Los recuentos de estos elementos sanguíneos, células epiteliales y cilindros por campo microscópico de 10 × 10 o 10 × 40, son útiles para estimar la severidad de la enfermedad (cuadro 86). El recuento de Addis* se hace para cuantificar la cantidad absoluta de células y cilindros, pero debemos considerar diversos factores vinculados con la estandarización del análisis de orina. Los valores que dan los distintos laboratorios discrepan por variaciones en la velocidad de centrifugado, cantidad de sobrenadante para volver a suspender el sedimento centrifugado y técnica para aplicar el cubreobjeto sobre la gota. A los efectos de estandarizar el análisis de orina, el sistema Kova, distribuido por ICL Scientific, permite realizar un procedimiento uniforme y reproducible con un tubo de centrífuga descartable con marcas para la cantidad de orina y una pipeta descartable para traslados que tiene un disco de plástico que facilita el descarte de la orina centrifugada. El disco está hecho para retener 1 ml de orina con sedimento centrifugado. El portaobjeto de plástico ópticamente límpido posee cuatro cámaras que contienen cantidades iguales de la muestra por acción capilar. De este modo, los recuentos de células y cilindros con el microscopio son exactos y útiles para interpretar los estados patológicos de vías urinarias (fig. 961).

1. Recójase a primera hora de la mañana la orina de 12 horas bajo restricción de líquidos y mídase el volumen.
2. Centrifúguense 5 minutos a 1500 rpm 10 ml de esta muestra y descártense 9 ml del sobrenadante con una pipeta.
3. Mézclese el sedimento con 1 ml del sobrenadante remanente golpeteando con el dedo y móntese una gota de la mezcla en la cámara de conteo.
4. Cuéntense las células y los cilindros en la cámara de conteo y calcúlese para el total de orina recogida en las 12 horas.

7. El nefrón y sus derivados

Histología y función del nefrón

El nefrón es la unidad funcional del riñón y consiste en un glomérulo, el túbulo contorneado proximal, el asa de Henle, el túbulo contorneado distal y un túbulo o conducto colector. El glomérulo es una red capilar envainada por células epiteliales características (fig. 962); estas células se llaman podocitos porque sus prolongaciones citoplasmáticas cubren la capa externa de los capilares glomerulares. Las prolongaciones citoplasmáticas no poseen organoides, pero sí contienen muchos microfilamentos. Aunque todavía no se pudo esclarecer del todo bien el papel fisiológico de los podocitos, su función consiste en filtrar; normalmente la orina primaria filtrada mediante la presión hidrostática, a la cual se le oponen la presión coloidosmótica del plasma y la presión intracapsular, no contiene células pero sí sustancias de bajo peso molecular, como glucosa, aminoácidos, creatinina, electrólitos, albúmina, urea, ácido úrico, etc. Las células mesangiales, que están entre los capilares, hacen las veces de elementos de sostén para éstos. El túbulo contorneado proximal se halla tapizado por un epitelio columnar bajo o cuboide cuyo citoplasma es eosinófilo y granular. El borde citoplasmático que mira hacia la luz posee el llamado ribete en cepillo, constituido por un sinnúmero de microvellosidades (fig. 964); estas microvellosidades intervienen directamente en la absorción activa de glucosa, albúmina, aminoácidos, ácido ascórbico y en la trasferencia de creatinina y sustancias exógenas extrañas. En cambio, el túbulo contorneado distal está tapizado por un solo estrato de epitelio cuboide de citoplasma pálido pero sin ribete en cepillo. Esta porción es responsable del intercambio de electrólitos, pues se resorbe sodio y se excretan iones de potasio, hidrogeniones y iones de urato.

Células del epitelio tubular

Las células tubulares, que suelen aparecer aisladas o agrupadas a veces en pequeñas congregaciones laxas, son pequeñas, redondas o cuboides, de núcleos ovales excéntricos o paracentrales, y se las llama "células redondas pequeñas". El citoplasma es poco tingible y muchas veces exhibe vacuolación vesiculosa. El cuerpo lipídico oval es una célula tubular degenerada que tiene gotitas de grasa refringentes, de modo que se presenta como un glóbulo redondo rico en vacuolas refringentes de color pardo claro en el extendido sin colorear. A la microscopia con luz polarizada se discierne una imagen característica en "cruz de Malta" (fig. 956). La tinción con Sudán III revela unas gotitas intensamente positivas (figs. 971 y 973). La aparición de cuerpos lipídicos ovales se debe a degeneración tubular (síndrome nefrótico).

Cilindruria y evaluación patognomónica

Aunque el análisis de orina se hace desde la antigüedad como una de las pruebas más comunes de laboratorio en medicina, no se ha prestado mucha atención a la evaluación de los elementos no celulares como cilindros y cristales en citodiagnóstico. Los cilindros que aparecen en el sedimento urinario son moldes de la luz de los túbulos renales y conductos colectores. En las personas sanas sólo aparecen cilindros hialinos en forma excepcional cuando la orina es muy concentrada y/o ácida. La presencia de otros tipos de cilindros es un dato importante que refleja alteraciones patológicas intrínsecas en el riñón (cuadros 88 y 89).

Aunque en el análisis de rutina se identifican diversos tipos de cilindros urinarios en extendidos no sometidos a tinciones especiales ni a alguna tinción supravital, hay que conocer sus características a la tinción con Papanicolaou (cuadro 90).[81]

1) Cilindro hialino o proteináceo. Los estados conducentes a la formación de cilindros hialinos comprenden filtración anormal de albúmina a través de la membrana basal del glomérulo y compromiso de la resorción a nivel del epitelio tubular. En el estado fisiológico se considera dentro de límites normales una pequeña cantidad de albúmina no mayor de 100 a 150 mg por día. La glomerulonefritis aguda

Cuadro 87. Alteraciones de las células del epitelio tubular

1. Degeneración hidrópica en los túbulos proximales por nefrosis osmótica.
2. Gotitas de proteína; gotitas hialinas (PAS positivas) en los túbulos proximales por una nefropatía vinculada con proteinuria excesiva.
3. Gotitas de grasa; aparecen en el síndrome nefrótico, que antes se conocía como nefrosis lipídica.
4. Depósitos de calcio; aparecen como calcificaciones distróficas o metastásicas.
6. Multinucleación; ocurre como fenómeno degenerativo.
7. Inclusión citomegálica; inclusiones intranucleares asociadas con agrandamiento de los núcleos.

Cuadro 88. Clasificación de los cilindros por Lippmann[49]

1. Cilindros hialinos
   Cilindro hialino simple
   Cilindro hialino que contiene elementos organizados
   Cilindro hialino hemático
   Cilindro hialino leucocitario
   Cilindro hialino epitelial
   Cilindro hialino granular
   Cilindro hialino adiposo
   (Cilindro hialino bacteriano)
2. Cilindros celulares
   Cilindro epitelial
   Cilindro leucocitario
   Cilindro granuloso grueso
   Cilindro granuloso fino
   Cilindro céreo
   Cilindro lipídico
3. Cilindro hemático
   Cilindro eritrocitario
   Cilindro hemático (verdadero)
   Cilindro fibrinoide o fibrinoso

Cuadro 89. Clasificación de los cilindros

1. Cilindros hialinos	a) Cilindro hialino simple
	b) Cilindro hialino mixto
	Cilindro hemático hialino
	Cilindro leucocitario hialino
	Cilindro epitelial hialino
	Cilindro lipídico hialino
2. Cilindros celulares	a) Cilindro de células epiteliales
	b) Cilindro de células degenerativas
	Cilindro granuloso grueso
	Cilindro granuloso fino
	Cilindro céreo
	Cilindro lipídico
3. Cilindros sanguíneos	a) Cilindro hemático
	b) Cilindro hemoglobínico*
	c) Cilindro leucocitario (polimorfonucleares y linfocitos)
4. Cilindros pigmentarios	a) Cilindro de bilirrubina
	b) Cilindro de melanina
5. Cilindros varios	a) Cilindro mielomatoso
	b) Cilindro amiloideo
	c) Cilindro bacteriano

* Al cilindro hemoglobínico muchas veces se lo considera pigmentario.
(Takahashi, M. e Ito, K.: Color Atlas of Urinary Sediments. Tokio, Uchudo-Yagishoten, 1979.)

acrecienta la permeabilidad para la proteína y la pielonefritis o necrosis tubular origina lesión de los túbulos renales. El cilindro hialino contiene un mucopolisacárido sulfatado que se libera a partir de las células del epitelio tubular alteradas. El cilindro hialino puro es un elemento recto constituido por una sustancia mucoide trasparente, incolora y no refringente. El cilindro hialino se puede ver con filtro verde o con microscopia de interferencia diferencial para observar los sedimentos frescos (fig. 960b). Los cilindros granulosos hialinos y lipídicos hialinos muchas veces se forman por la mezcla de detritos celulares y gotitas de grasa como consecuencia de la degeneración del epitelio tubular. La tinción con PAS es positiva por el contenido de un mucopolisacárido que se denomina mucoproteína de Tamm-Horsfall.[75]

2) Cilindro mielomatoso. El cilindro mielomatoso se forma por un gran contenido de subunidades de cadena liviana de globulina 7S, que se conocen como proteínas de Bence Jones. Siendo esta cadena liviana monoclonal de un peso molecular bajo de alrededor de 22.000, se excreta atravesando la membrana basal del glomérulo. Esta proteína específica se identifica en la orina mediante inmunoelectroforesis tras la concentración y diálisis. Con el método de los anti-

Cuadro 90. Tipos de cilindros urinarios y sus características para identificarlos con exactitud (tinción de Papanicolaou)

1. Hialino	Celeste o, a veces, anaranjado y transparente, sin inclusiones.
2. Hemático	Rojo oscuro a rojo anaranjado, consistente en un cilindro sanguíneo que contiene un estroma eritrocitario intacto.
3. Sanguíneo	Igual que el hemático, pero sin estroma intacto. Aspecto granuloso.
4. Leucocitario	Celeste, gris o anaranjado, ocupado por leucocitos segmentados.
5. Epitelial	Azul, gris o anaranjado y transparente o granuloso, ocupado por células del epitelio tubular renal.
6. Granuloso	Matriz azul o gris que contiene gránulos refringentes finos o gruesos.
7. Céreo	Anaranjado o azul homogéneo que contiene material muy refringente. Grietas e indentaciones en los bordes.
8. Lipídico	Azul, anaranjado, gris o pardo, lleno de grandes vacuolas.
9. Mixto	Cualquier combinación de lo precedente.
10. Ancho	Se ve en todos los tipos de cilindros, pero el más común es el céreo. Dos a seis veces más grande de lo normal.

(Schumann, G. B. y col.: Am. J. Clin. Path. 69:18, 1978.)

cuerpos inmunofluorescentes empleando anticuerpos específicos fluorescentes, se visualiza el cilindro proteináceo que contiene una cadena liviana monoclonal kappa o lambda (fig. 969). En vista de que a menudo el mieloma múltiple se asocia con lesión del epitelio tubular, los cilindros mielomatosos son de tipo mixto, como el proteináceo epitelial, y adoptan la forma de un cilindro ancho (fig. 968).

3) Cilindro celular y cilindro sanguíneo

a) Los *cilindros epiteliales tubulares* están constituidos por células epiteliales descamadas y un poco de matriz proteica. La aparición de cilindros de células epiteliales sugiere patología intrínseca de los túbulos renales (véase cuadro 87). En la necrosis tubular aguda, como en la nefropatía nefrotóxica que afecta a los túbulos contorneados proximales, la formación de cilindros celulares epiteliales es distintiva. Como las células están más o menos degeneradas, los detalles de la estructura celular son oscuros si no se hacen tinciones supravitales o permanentes. La presencia de gotitas de grasa en el cilindro celular, o sea la formación de un cilindro lipídico, indica nefrosis lipídica o nefropatía diabética (fig. 971).

Una variedad de necrosis tubular aguda es el riñón de shock o nefrosis del nefrón inferior, que produce necrosis segmentaria en los túbulos contorneados distales y origina unos cilindros celulares hialinos y/o cilindros pigmentarios.

b) *Cilindro leucocitario.* Se dice que un cilindro es leucocitario cuando aparecen leucocitos agrupados dentro de una matriz proteica (fig. 975). A medida que la degeneración progresa, se torna difícil distinguir entre el cilindro leucocitario y el cilindro de células epiteliales. También se lo debe distinguir de la aglomeración artificial de leucocitos después de la centrifugación; en el cilindro leucocitario verdadero tiene un contorno neto y los leucocitos aparecen atrapados en su interior. El seudocilindro, en cambio, es una aglomeración apretada de leucocitos que poseen rasgos nucleares distintivos. La técnica de tinción es útil para establecer la diferencia. El seudocilindro se forma a partir de leucocitos



Fig. 962. Microscopia electrónica de rastreo de un glomérulo de rata con la técnica del relieve por congelamiento. Nótense las asas capilares fenestradas en las cuales se insertan las platinas ramificadas de los podocitos. La interrelación entre el capilar sanguíneo y los podocitos se aprecia en la micrografía electrónica de trasmisión (fig. 963). (Gentileza de JEOL Ltd., Akishima, Tokio.)



Fig. 963. Asa capilar glomerular envuelta por podocitos. Las prolongaciones podales en maza (*F*) rodean la membrana basal (*B*) de los capilares sanguíneos (× 6000). *N*, Núcleo de un podocito; *R*, eritrocito.

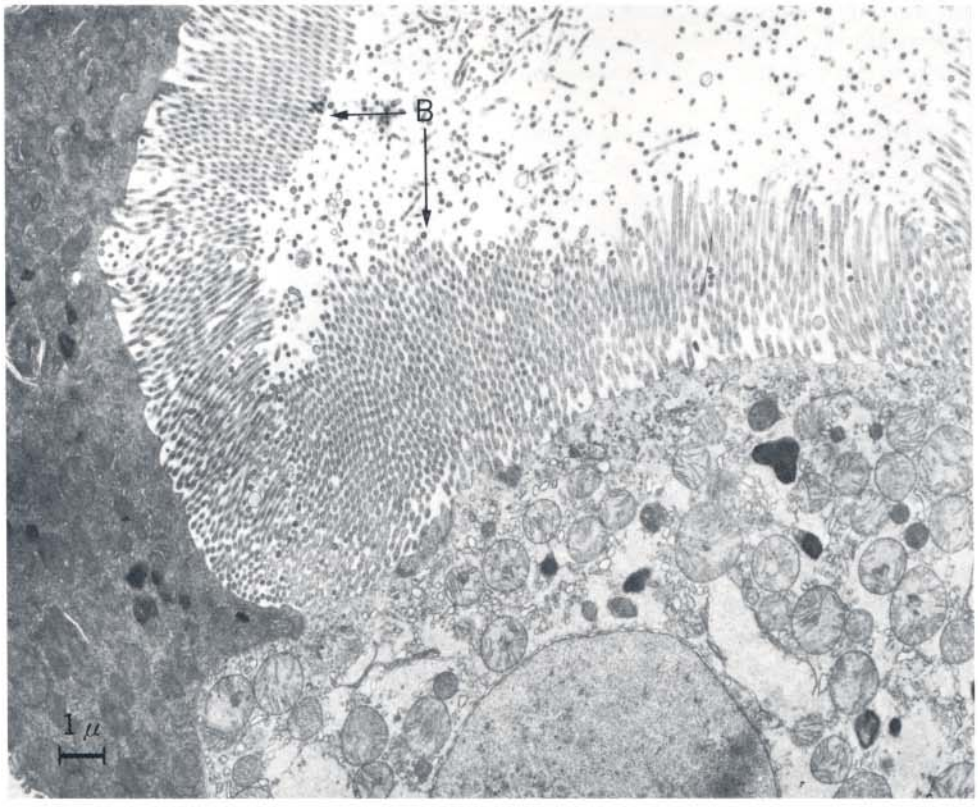


Fig. 964. Epitelio tubular proximal del riñón que muestra unas microvellosidades bien desarrolladas que se llaman ribete en cepillo. Se observa gran cantidad de mitocondrias (× 6000). *B*, Ribete en cepillo.

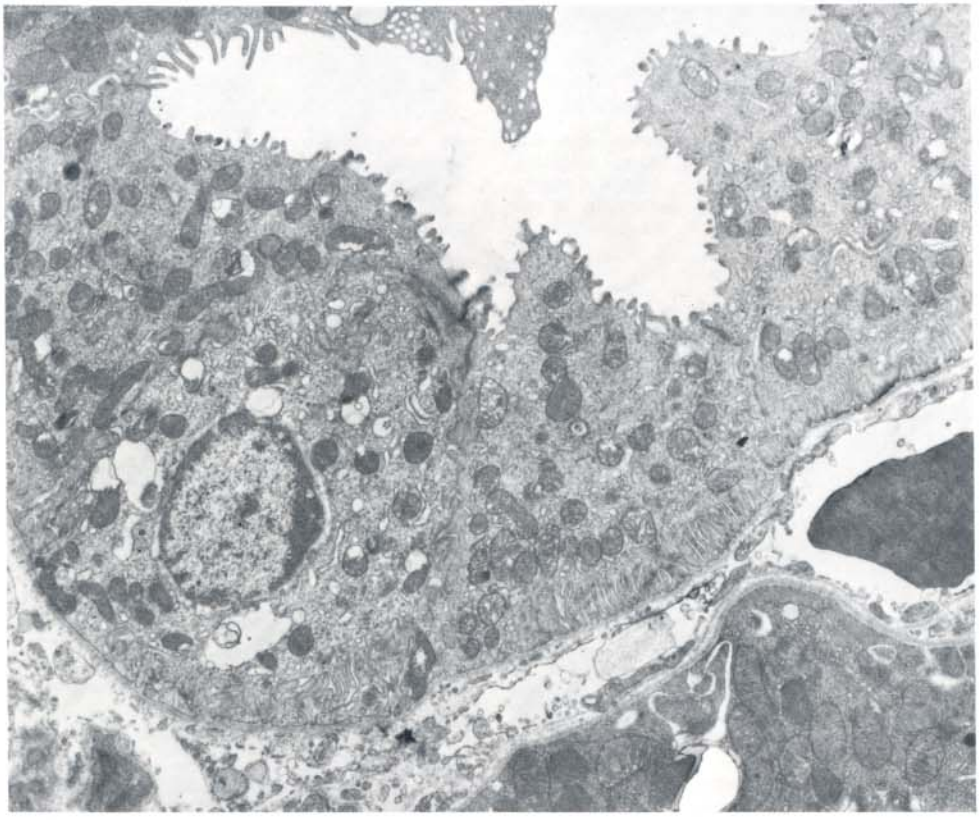


Fig. 965. Epitelio tubular distal más corto que el epitelio tubular proximal. El borde celular apical revela unas microvellosidades cortas (× 6000).

inflamatorios de las vías urinarias inferiores, mientras que el cilindro leucocitario significa infección del nefrón, como en la pielonefritis aguda y, a veces, en la glomerulonefritis aguda.

c) *Cilindro hemático*. Este cilindro consiste en glóbulos rojos. Se disciernen los rasgos característicos de los eritrocitos, pero aparecen mezclados con restos celulares granulosos de tinte hemoglobínico, según la etapa de la desintegración celular (fig. 976).

El cilindro hemoglobínico, en cambio, es el producto final de los eritrocitos desintegrados en la hematuria masiva; se forman cilindros hemáticos en la glomerulonefritis hemorrágica aguda, poliarteritis nudosa, síndrome de aplastamiento y traumatismos, incluso punción aspiradora. Los cilindros sanguíneos se forman en el rechazo agudo de aloinjertos junto con la aparición de cilindros epiteliales.[81]

4) Cilindro pigmentario. El cilindro hemoglobínico que describimos arriba es uno de los cilindros pigmentarios. El síndrome hepatorrenal, con insuficiencia renal aguda consecutiva a disfunción del parénquima hepático o a las intervenciones del tracto biliar, se acompaña de pigmentación biliosa de las células tubulares renales y formación de cilindros de bilirrubina o biliares. La melanina y su precursor incoloro, el melanógeno, atraviesan los glomérulos cuando exceden el umbral renal y producen pigmentación de células epiteliales degeneradas (cilindro melánico) (fig. 977). También pueden aparecer melanófagos como células libres en la etapa tardía del melanoma maligno, pero no se los debe considerar células melanomatosas metastásicas, las cuales poseen unos núcleos grandes y redondeados con macronucléolos únicos y membrana nuclear engrosada.[92]

5) Cilindro granuloso. Se considera que los cilindros granulosos se forman a partir de células degeneradas o restos celulares y diversos tipos de sustancias que les sirven de matriz, como proteína y lípido; por lo tanto, el cilindro granuloso puro no existe como entidad. A estos cilindros se los divide en granulosos gruesos y granulosos finos, según la etapa de desintegración de los elementos celulares (figs. 957 y 967). Los cilindros céreos son una masa refringente amorfa como producto final de los cilindros granulosos en degeneración (fig. 966). Los cilindros céreos son frecuentes en la insuficiencia renal crónica y en el rechazo avanzado de

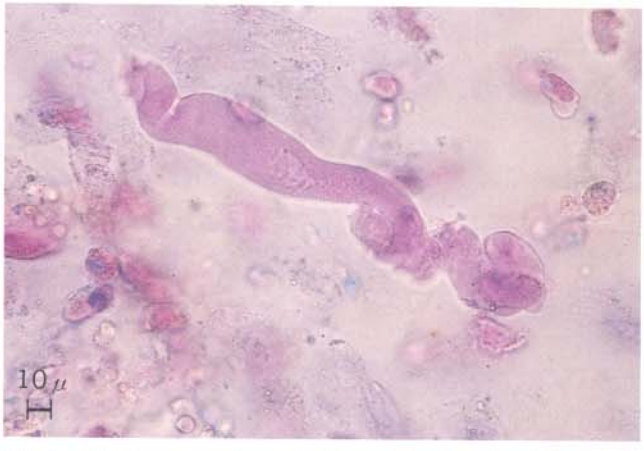


Fig. 966. Cilindro céreo contorneado visto con la tinción de Sternheimer-Malbin. Nótese el aspecto céreo característico, que parece un minúsculo corte de parafina y se delinea bien con sus incisiones profundas. Los cilindros céreos se preservan bien en orina ácida o alcalina.

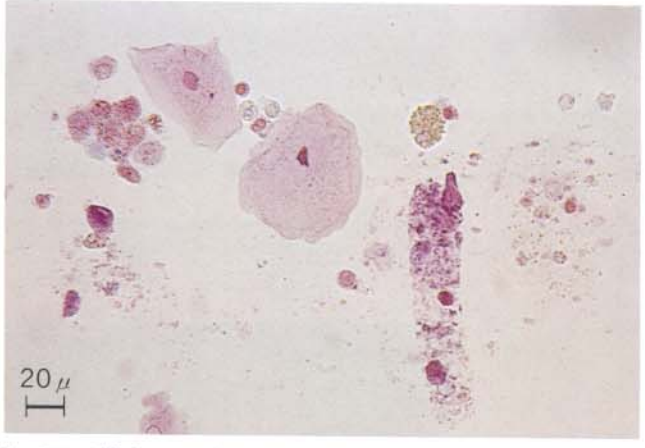


Fig. 967. Cilindro granuloso fino y células epiteliales renales vistos con la tinción de Sternheimer-Malbin. De un caso de nefritis luposa. El cilindro granuloso exhibe unos contornos rectos muy bien delimitados. Los gránulos finos del cilindro consistirían en células desintegradas. Nótense las células del epitelio tubular, las células pavimentosas y un cuerpo lipídico oval.



Fig. 968. Cilindro ancho coloreado con tinción supravital de azul de toluidina en un caso de mieloma múltiple. Cilindro proteináceo con una gran concentración de fragmentos de globulina, caracterizado por una matriz metacromática muy tingible y bordes rectos bien delimitados.

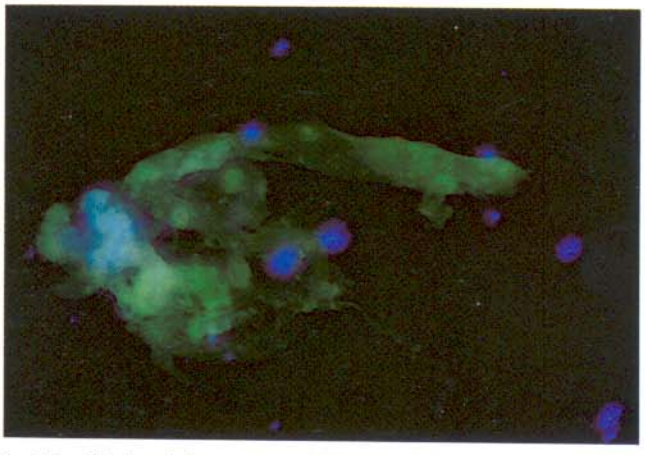


Fig. 969. Cilindro mielomatoso que exhibe una cadena liviana monoclonal con la técnica de anticuerpos inmunofluorescentes. El cilindro granuloso grueso constituido por células degeneradas en una nefropatía mielomatosa contiene proteína de Bence-Jones, que se evidencia con antisuero fluorescente.

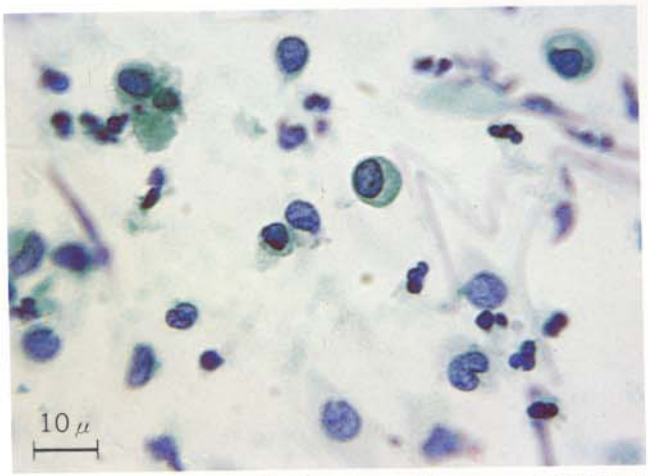


Fig. 970. Célula plasmocitoide de la orina, positiva para proteína de Bence-Jones. Núcleo hipercromático ovoide rodeado por un halo. Además, este paciente excretaba cilindros mielomatosos y cilindros epiteliales. Tinción de Papanicolaou.

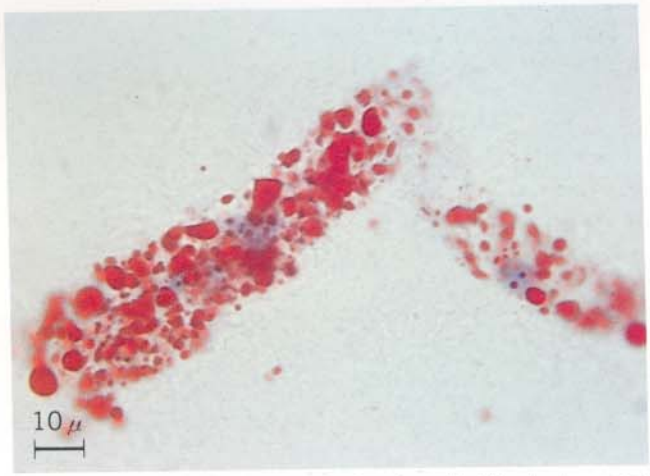


Fig. 971. Cilindro lipídico que contiene gotitas sudanófilas. La degeneración adiposa de las células epiteliales tubulares origina gotitas refringentes que aparecen en cilindros granulosos gruesos. Los cilindros lipídicos se asocian a menudo con cuerpos lipídicos ovales.

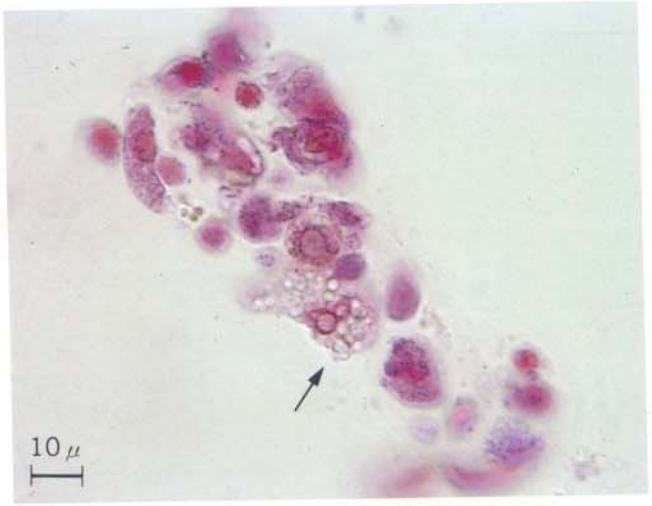


Fig. 972. Células del epitelio tubular degeneradas y un cuerpo lipídico oval de **un paciente con nefropatía nefrótica.** Nótese el corpúsculo oval lleno de minúsculos cuerpos o vesículas refringentes (*flecha*).

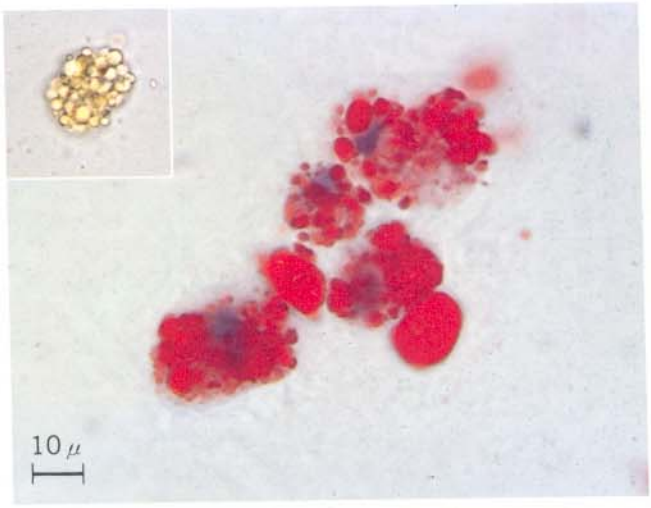


Fig. 973. Cuerpos lipídicos ovales en un paciente con nefropatía nefrótica. Las células tubulares en degeneración grasa se conocen como cuerpos lipídicos ovales en el análisis de orina. Cuerpo lipídico oval no teñido en el sedimento urinario (*recuadro*).

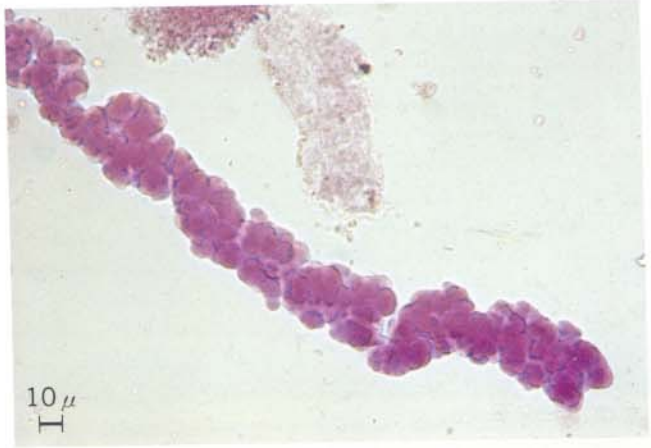


Fig. 974. Cilindro de células epiteliales tubulares de un paciente con mieloma múltiple, coloreado con el método de Sternheimer-Malbin. El cilindro consiste en células tubulares esfaceladas como consecuencia de una severa alteración degenerativa del epitelio tubular.

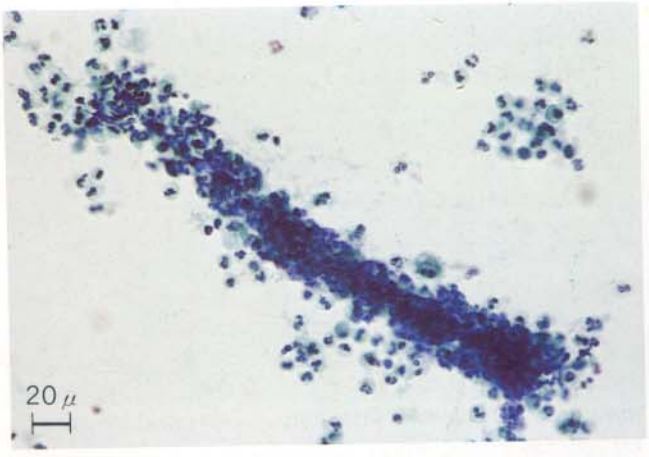


Fig. 975. Cilindro leucocitario coloreado con Papanicolaou, que forma un largo cilindro consistente en glóbulos blancos. Este cilindro difiere del seudocilindro leucocitario, que es una aglomeración simple de leucocitos neutrófilos. Los cilindros leucocitarios sugieren inflamación del nefrón, como pielonefritis aguda.

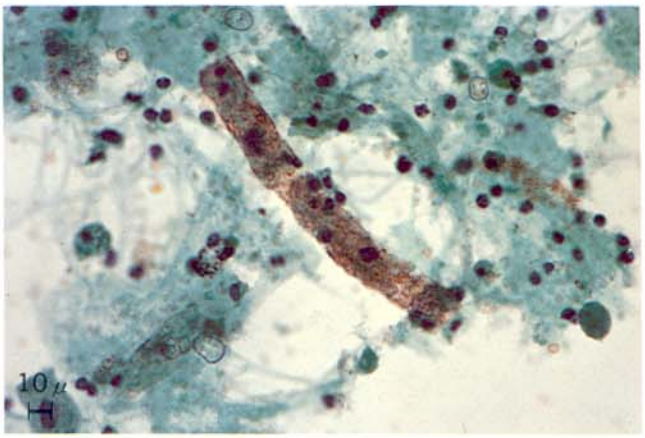


Fig. 976. Cilindro eritrocitario coloreado con Papanicolaou en un caso de glomerulonefritis aguda. Los cilindros hemáticos pardo-rojizos consisten en eritrocitos degenerados y sus fragmentos. Nótese la asociación con leucocitos y células epiteliales tubulares degeneradas.



Fig. 977. Cilindro mixto de células tubulares y melanina en un paciente con melanoma generalizado avanzado. Los pigmentos melánicos se depositan en la matriz del cilindro de células del epitelio tubular.

aloinjertos renales, como consecuencia del estancamiento crónico del flujo en los túbulos comprometidos.[81]

8. Histología del tracto urinario y sus componentes celulares benignos

Histología del tracto urinario

El tracto urinario consiste en pelvis renal, uréteres, vejiga urinaria y uretra. Desde la pelvis renal hasta la vejiga, la membrana mucosa se halla tapizada por un epitelio transicional, aunque su espesor difiere de un sitio a otro; la pelvis y los uréteres tienen tres a cuatro estratos, en tanto que la vejiga posee seis a ocho. En la vecindad del orificio uretral la vejiga urinaria presenta unas invaginaciones pequeñas de la membrana mucosa (criptas) en las que puede haber aglomeraciones intraepiteliales de células mucosecretantes. La uretra masculina, en la cual desemboca el aparato reproductor, consiste en los siguientes tipos de epitelio: epitelio transicional en la uretra prostática, epitelio columnar estratificado en la uretra membranosa y en la uretra cavernosa, y epitelio pavimentoso estratificado en la fosa navicular de la uretra. La membrana mucosa presenta muchos recesos en los cuales desembocan las glándulas tubulares ramificadas de Littré. La uretra femenina presenta diferencias individuales en su epitelio de revestimiento; la mayoría de las veces está tapizada por un epitelio pavimentoso estratificado y, en ocasiones, por epitelio columnar seudoestratificado.

Componentes celulares benignos

1) Células epiteliales tubulares. Las células epiteliales de los túbulos renales son las que en análisis de orina se conocen como células redondas pequeñas. Los núcleos adoptan una posición paracentral en el citoplasma redondo. El citoplasma toma débilmente el verde claro y exhibe a menudo una vacuolación vesiculosa fina. Estas células se distinguen de las células transicionales profundas con su prolongación caudal por la forma, porque las células pavimentosas parabasales son más grandes y tienen un citoplasma más engrosado que las células tubulares renales.

2) Células epiteliales transicionales

Células transicionales superficiales. Las células transicionales superficiales son de tamaño y forma variables. Los núcleos difieren de la forma triangular o poliédrica a la oval. La variación de su forma depende en gran medida de la influencia de la hipertonía de la orina. Las células bien preservadas son de núcleos ovales o redondos, con partículas de cromatina finamente granulares y de distribución pareja, en tanto que las deshidratadas presentan condensaciones de cromatina moteadas.

El citoplasma es bastante abundante y poliédrico o piriforme, con prolongaciones a modo de cola. En ocasiones se ve vacuolación citoplasmática (fig. 979c y d). La reacción tintorial va desde el verde azulado hasta el verde pardusco, con un aspecto en vidrio escarchado; su borde celular posee un tinte intenso, mientras que la zona perinuclear es clara.

Células transicionales multinucleadas. En las células epiteliales transicionales superficiales no es infrecuente que ocurra multinucleación, con dos o tres núcleos ovales uniformes (células en paraguas).[17, 28, 38, 43] Tampoco es raro ver células gigantes sincitiales multinucleadas con un sinnúmero de núcleos en el amplio citoplasma sincitial. Todavía no existe unanimidad sobre la índole de estas células. Mientras que Harman y Hogan[31] señalan el origen epitelial tubular en los túbulos contorneados proximales, se sugiere que la causa es una modificación reactiva del epitelio transicional como respuesta a la presencia de grandes acumulaciones de mucina (Dorfman y Monis[25]); es frecuente ver la asociación de multinucleación con inclusiones citoplasmáticas constituidas por mucopolisacárido ácido. Aunque la multinucleación todavía es cuestión de conjetura, algunos investigadores la atribuyen a irritación o inflamación,[63] a la administración de algún laxante[53] y a cateterización del tracto urinario superior. No se tienen evidencias de si esto se relaciona o no con el crecimiento neoplásico.

Células transicionales profundas. Los núcleos son ovales o elípticos y de cromatina granular fina. Los bordes nucleares están acentuados en algunas ocasiones por condensación de la cromatina. Las células transicionales profundas poseen

un citoplasma escaso, fusiforme o columnar con cola (fig. 979 f). El citoplasma parece ser traslúcido o vacuolado y se tiñe en verde azulado pálido en torno del núcleo.

3) Células epiteliales pavimentosas. Las células epiteliales provenientes de la uretra son componentes celulares normales. Es frecuente que la orina de la mujer contenga considerable cantidad de células pavimentosas por contaminación vaginal (fig. 987). Se descaman células pavimentosas en hombres sometidos a estrogenoterapia por carcinoma de próstata. El urocitograma se usa para evaluar los estados hormonales ováricos de las mujeres adultas, por el paralelismo que existe entre las células pavimentosas urinarias y las vaginales.[6, 22, 45, 46] Los urogramas de mujeres con 20 a 37 semanas de embarazo indican actividad progestacional

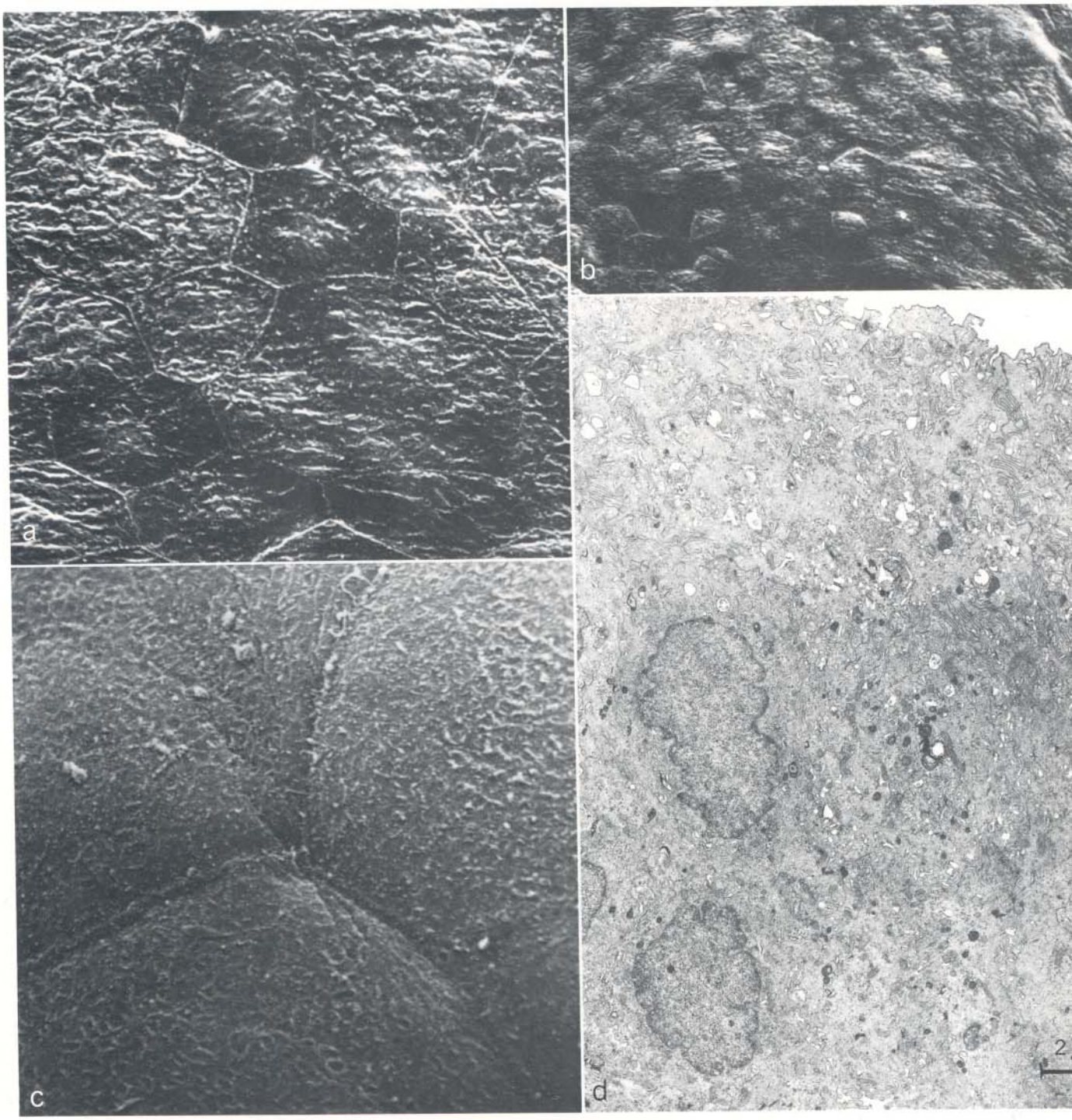


Fig. 978. Micrografías electrónicas de rastreo y de trasmisión del epitelio transicional de la vejiga. *a* y *b, Lámina plana de células poliédricas dispuestas a modo de pavimento en la micrografía electrónica de rastreo de un epitelio transicional normal de rata.* Las cinco a seis caras que se observan en cada poliedro en estado de dilatación se tornan romboidales al contraerse la vejiga (*arriba a la derecha*). *c, El mismo epitelio transicional visto con mayor aumento.* Nótese la superficie dotada de minúsculas crestas. *d, Micrografía electrónica de trasmisión del epitelio transicional normal de la vejiga urinaria de la rata.* Nótense las interdigitaciones bien desarrolladas de los bordes celulares y los núcleos blandos con heterocromatinas finas.

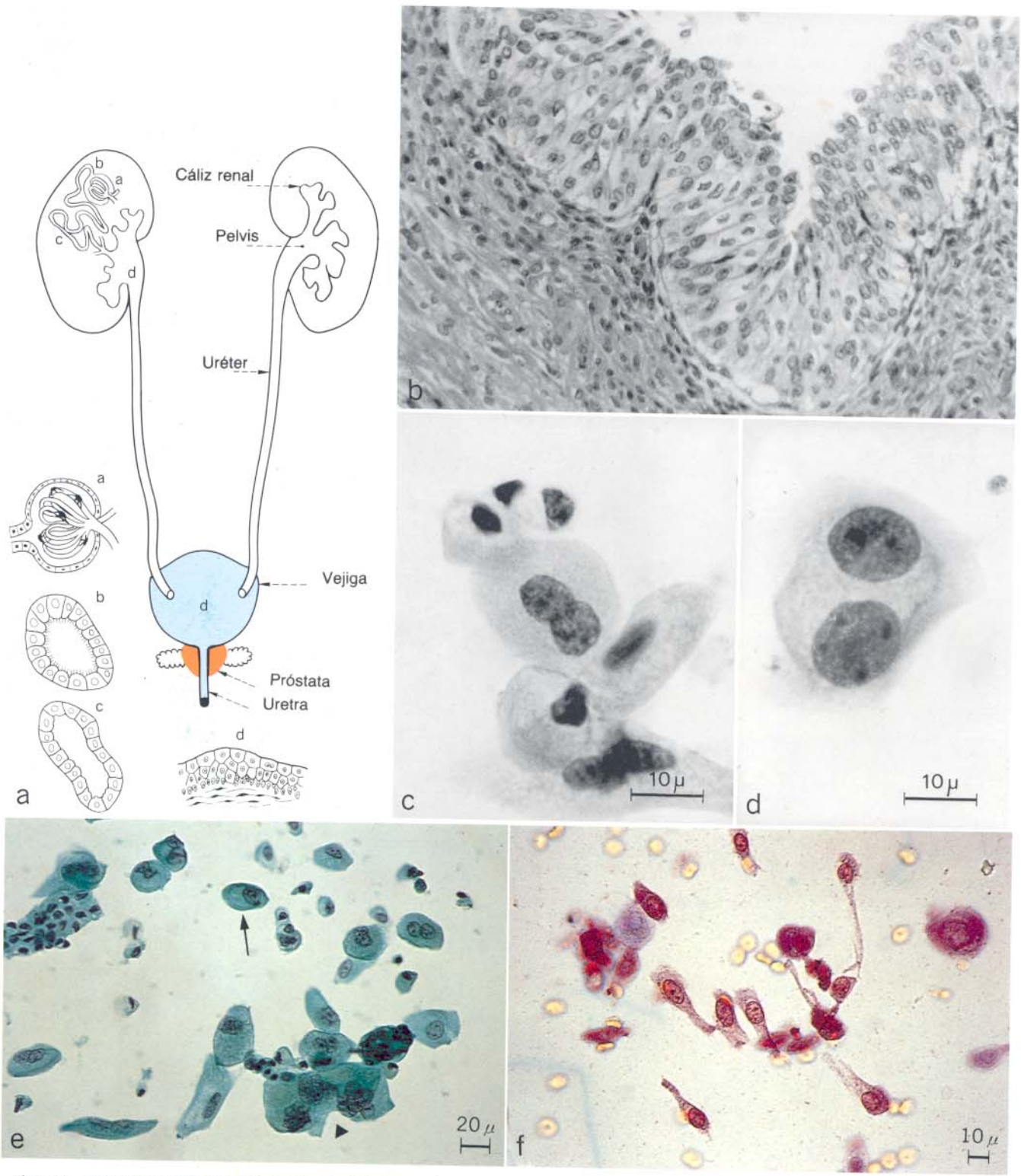
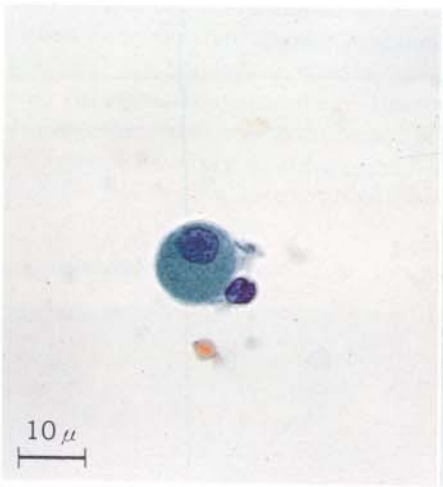
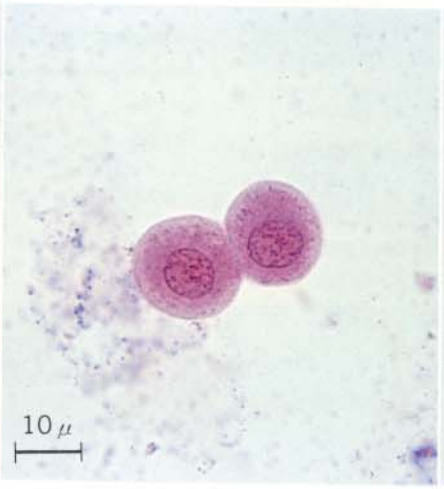


Fig. 979. Histología y citología de las vías urinarias inferiores. *a*, Diagrama anatómico. *b*, Epitelio transicional de la vejiga urinaria. El epitelio de revestimiento consiste en varios estratos de células rectangulares con citoplasma claro. *c* y *d*, Células transicionales superficiales en la orina. Es bastante común encontrar binucleación y variación de tamaño de los núcleos. El citoplasma es adecuado y poliédrico. *e*, Células transicionales superficiales, a menudo multinucleadas (*cabeza de flecha*), y profundas en una orina cateterizada. Nótese el citoplasma piriforme con un claro perinuclear (*flecha*). *f*, Células transicionales profundas con colas originadas en la pelvis renal. Estas células no deben confundirse con células columnares. Tinción de Sternheimer-Malbin.



980



981



982

Fig. 980. Célula epitelial tubular aspirada de un quiste de retención renal. Núcleo ovoide basal con cromatina blanda. Papanicolaou.
Fig. 981. Tinción supravital de una célula tubular. Núcleo redondo y de contorno liso. El citoplasma también es redondeado y vesiculoso. Nótese que la configuración es distinta de la de la célula transicional (fig. 982). Tinción supravital de Sternheimer-Malbin.
Fig. 982. Célula transicional piriforme con prolongaciones caudales. Citoplasma muy bien delineado. Un pequeño núcleo ovoide exhibe una cromatina blanda. Tinción supravital de Sternheimer-Malbin.

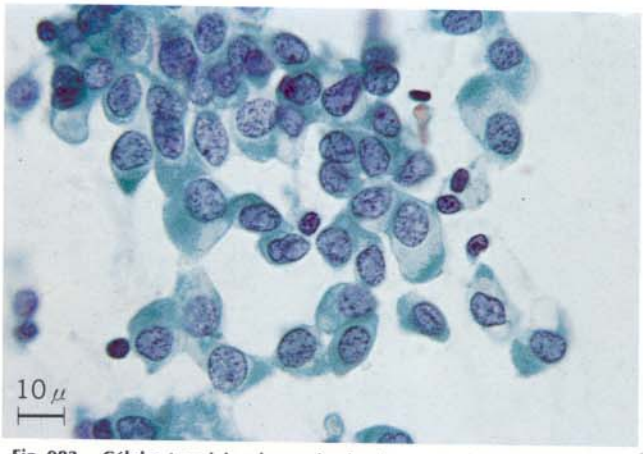


Fig. 983. Células transicionales profundas de un raspado directo de la vejiga urinaria. Núcleos redondos u ovales uniformes. Nótese la forma caudada o de pera y la trasparencia perinuclear del citoplasma.

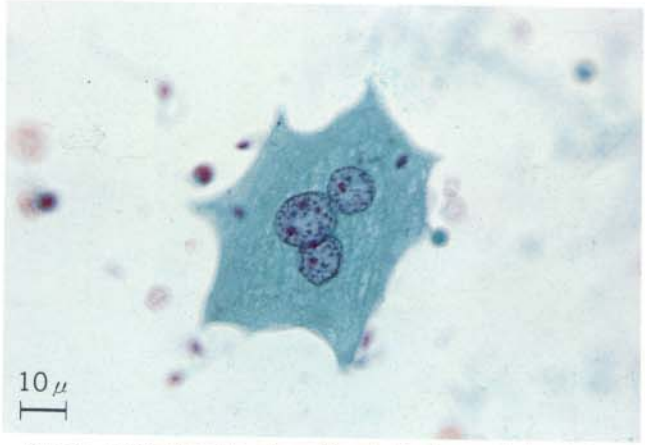


Fig. 984. Células transicionales multinucleadas. A menudo las células transicionales superficiales poseen muchos núcleos de tamaño y morfología uniformes. El citoplasma es abundante y poliédrico. Algunas células superficiales, llamadas células en paraguas, tienen una gran cantidad de núcleos redondos.

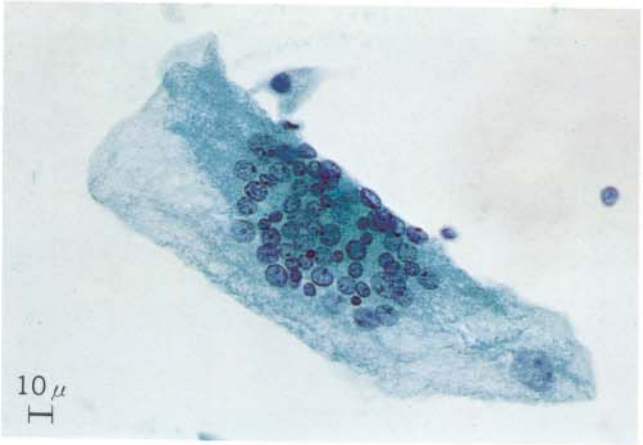


Fig. 985. Células gigantes multinucleadas en los lavados vesicales. Este citoplasma ancho sincitial está bien definido y es distinto del de un histiocito con aspecto espumoso, aunque la textura es edematosa. Los núcleos redondos u ovales son de tamaño y morfología iguales. No hay signos de malignidad.

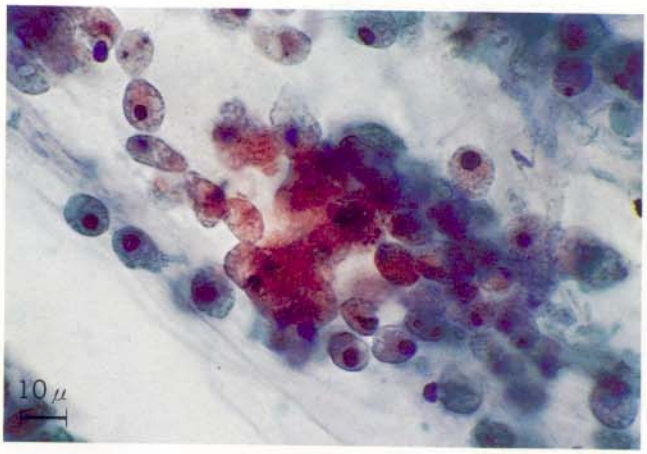


Fig. 986. Células transicionales degeneradas en la orina emitida por un paciente sometido a una plastia colovesical. Estas células inusuales con picnosis nuclear y eosinofilia citoplasmática se forman por alteración degenerativa del urotelio.

aumentada;[2, 47] los cambios representativos son bajos valores de los índices eosinófilo y cariopicnótico, formación de pliegues y aglomeraciones de células, y aumento de la cantidad de células naviculares.

4) Eritrocitos y leucocitos neutrófilos. En general, en condiciones normales no aparecen hematíes (cuadro 86). La hematuria microscópica puede aparecer como un minúsculo botón de sangre en el tubo centrifugado. La hematuria es un dato importante de patología renal intrínseca, de trastornos hemorrágicos sistémicos y de enfermedades extrarrenales (cuadro 91). La hematuria macroscópica es frecuente en las neoplasias malignas, glomerulonefritis hemorrágica, cistitis hemorrágica, traumatismo, diátesis hemorragípara, etc.

Los hematíes en una relación de más de uno por cada cinco piocitos por campo de gran aumento, significan proceso inflamatorio como pielonefritis, ureteritis, cistitis y uretritis. La importancia de los leucocitos en la orina no consiste siempre en la cantidad, sino en la forma en que aparecen. Por ejemplo, los cilindros leucocitarios o los de glóbulos blancos hialinos significan enfermedad inflamatoria renal intrínseca.

Cuadro 91. Causas de hematuria

Diagnóstico	*Observaciones*
1) Enfermedad sistémica	
Púrpura	—
Hemofilia	—
Leucemia	—
2) Tracto urinario superior	
Neoplasia	Unilateral, a menudo hemorragia macroscópica
Pielonefritis	Piocitos y cilindros leucocitarios
Tuberculosis	Unilateral en un 30% de los casos
Riñón quístico	Unilateral o bilateral en un 20% de los casos
Traumatismo	Unilateral
Glomerulonefritis aguda	Bilateral
Infarto	Unilateral, pasajera
Nefroesclerosis maligna	Bilateral
Nefrolitiasis	Unilateral con dolores cólicos
3) Tracto urinario inferior	
Cistitis hemorrágica	Junto con piocitos
Neoplasia	A menudo hematuria macroscópica
Cálculos vesicales	Con dolor cólico
Divertículo	—



Fig. 987. Células pavimentosas teñidas con Lugol en la orina emitida por una mujer. El predominio de células pavimentosas intermedias ricas en glucógeno, que se tiñen de pardo oscuro, es sugestivo de efecto progestágeno. Es posible que haya habido contaminación con flujo vaginal.

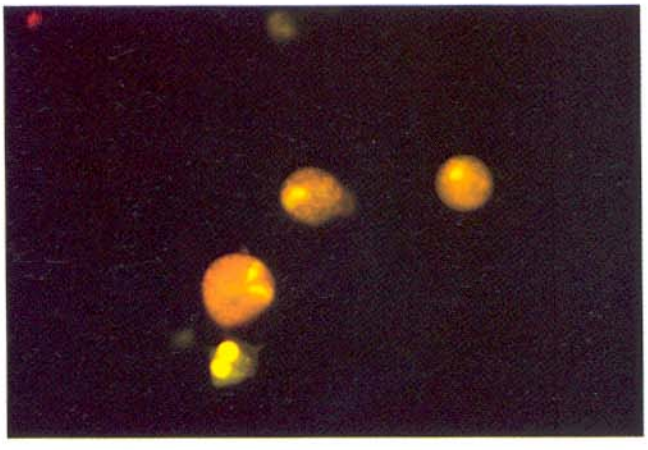


Fig. 988. *Trichomonas vaginalis* en el sedimento urinario de un hombre, teñido con tinción supravital de naranja de acridina. Nótese la forma de pera característica del protozoario y la fisión binaria longitudinal. Es importante realizar una prueba serológica de hemaglutinación para hacer la diferencia con el contaminante fecal *Trichomonas hominis*.



Fig. 989. *Balantidium coli* en el sedimento urinario de una mujer con uretritis. El protozoario más grande está cubierto de cilias y exhibe una depresión cónica invertida que se llama citosoma. Tinción con Lugol.



Fig. 990. Alternaria en la orina. Hongo contaminante no patógeno común. Un conidio pardusco es muriforme y tiene paredes cruzadas trasversas y longitudinales.

5) Elementos no humanos en la orina. La uretritis y cistitis tricomoniásica son más comunes en mujeres que en hombres. Los hombres se afectan también pocos días después del coito. Los protozoarios aparecen en el sedimento urinario. Los huevos de *Schistosoma haematobium* pueden encontrarse en una orina que a menudo es hemorrágica. La esquistosomiasis y bilharziasis reviste particular importancia por la relación con la carcinogénesis (fig. 1040). Existen contaminantes no patógenos como alternaria, polen, etc.

9. Células atípicas benignas

Las células atípicas benignas o discarióticas son comunes en los casos de cálculos urinarios, porque muchas veces el

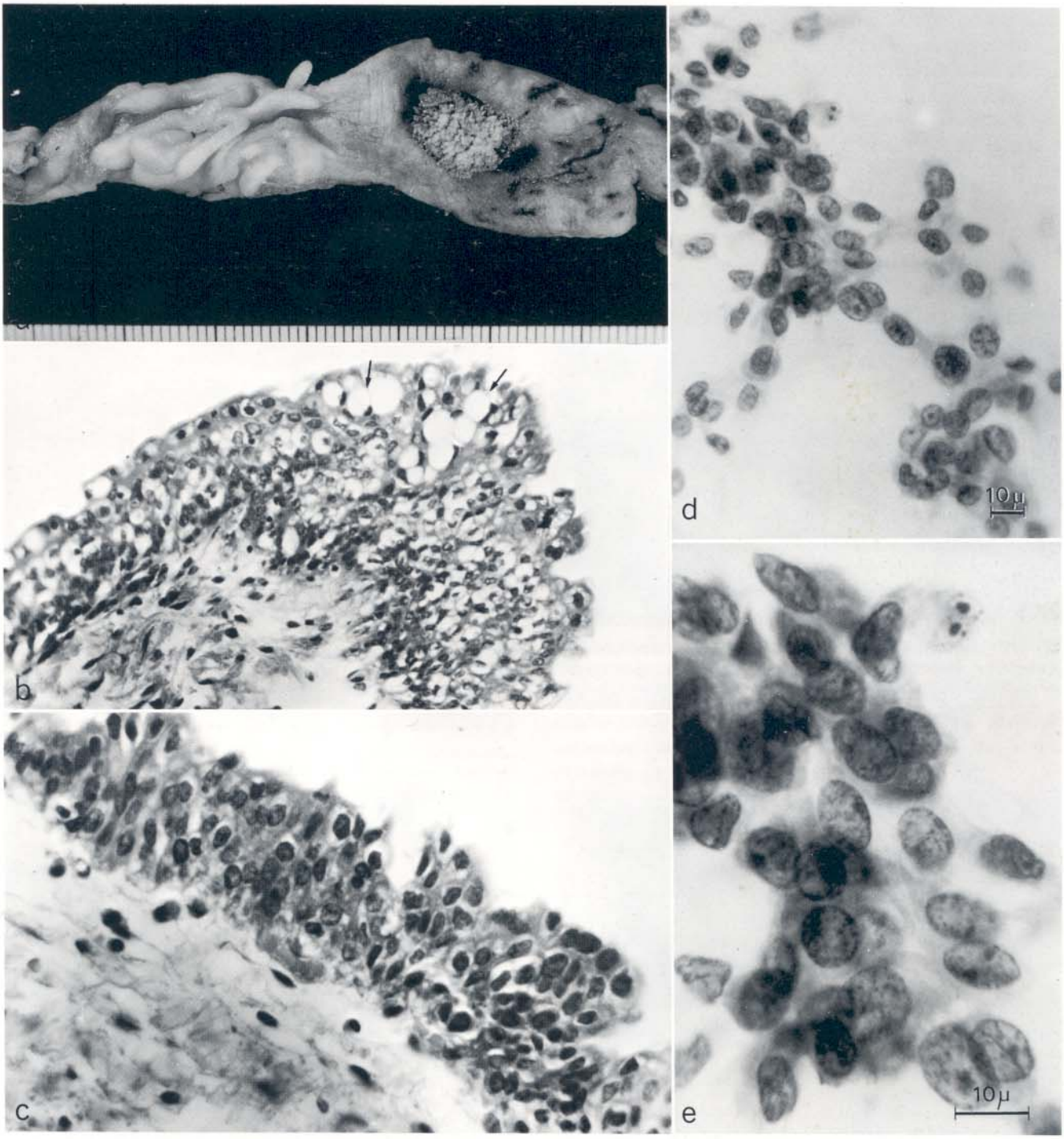


Fig. 991. Hiperplasia atípica benigna de un caso con pólipo velloso y ureterolitiasis. *a*, Cálculo incarcerado con espículas y rodeado por una mucosa áspera y gruesa. *b* y *c*, Hiperplasia regenerativa del epitelio transicional. Nótense el agrandamiento de los núcleos, la variación del tamaño nuclear y la distribución celular irregular. Aparecen algunas células mucinosas a causa de la inflamación crónica (*flechas*). *d* y *e*, Aglomeraciones de células transicionales discarióticas en la orina cateterizada. Los grandes grupos de células sueltas exhiben una distribución distorsionada que difiere de lo que se observa en el papiloma benigno. Aunque hay agrandamiento e hipercromatosis de los núcleos, éstos son de morfología uniforme y su trama de cromatina es blanda.

epitelio suprayacente está ulcerado e inflamado, y existe regeneración y metaplasia (figs. 991 y 992). La cistitis intersticial (Hunner) puede originar considerable descamación de células epiteliales discarióticas.[52] La cistitis glandular puede descamar células glandulares mucosecretantes hiperplásicas[87] que simulan adenocarcinoma.

Litiasis urinaria

Los procesos erosivos y reparadores se entremezclan y descaman células alteradas que simulan malignidad. Las células transicionales profundas o intermedias con alta relación N/C e hipercromatosis se exfolian en forma individual y en aglomeraciones. Los núcleos están dispuestos en desorden dentro de la aglomeración celular y el contorno de las células es indefinido. La prominencia de nucléolos en núcleos discarióticos puede relacionarse con la reparación textural. Es perceptible la mezcla con hematíes, en particular después de un episodio de cólico.

Tuberculosis

Un pequeño porcentaje de pacientes con tuberculosis pulmonar, que no llega al 10 %, sufren tuberculosis renal; es común encontrar en anatomía patológica tubérculos caseosos en la médula renal. El contenido del tubérculo puede descargarse si la colicuación de las lesiones confluentes se propaga hasta la superficie de la papila (figs. 994 y 995); las células epitelioides se descaman en la orina, formando grupos simples o tubérculos. En alrededor del 30 % de los pacientes que padecen tuberculosis renal ocurre hematuria microscópica.

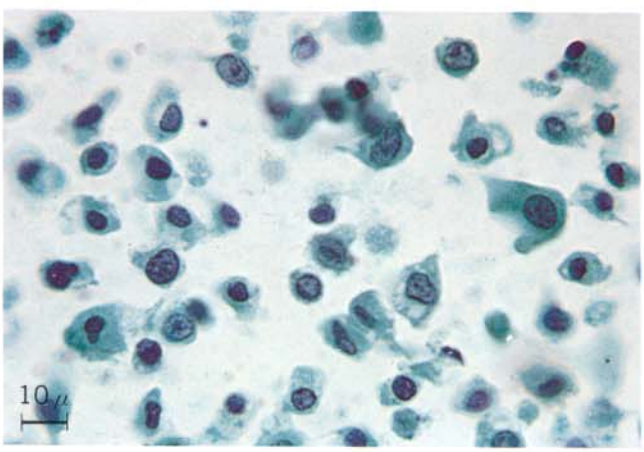


Fig. 992. Células transicionales hiperplásicas de un caso de divertículo vesical. La hiperplasia regenerativa benigna es prácticamente la misma que en la nefrolitiasis. Nótese la asociación de la hiperplasia con una degeneración que se manifiesta con la presencia de una gran cantidad de células hipertróficas y picnóticas.

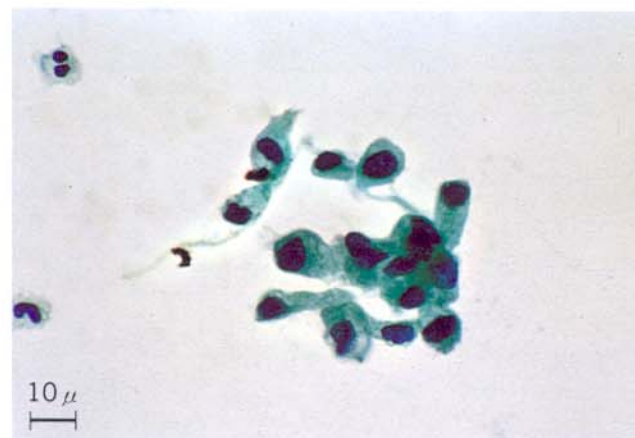


Fig. 993. Células transicionales hiperplásicas asociadas con cálculos del tracto urinario inferior. Nótense las células transicionales hipertróficas y degeneradas descamadas de a una. La diferenciación respecto de las células de cáncer *in situ*, que tienen un aspecto similar, se debe basar en: 1) la deficiencia de atipia nuclear y 2) el aumento inadecuado de la relación N/C.

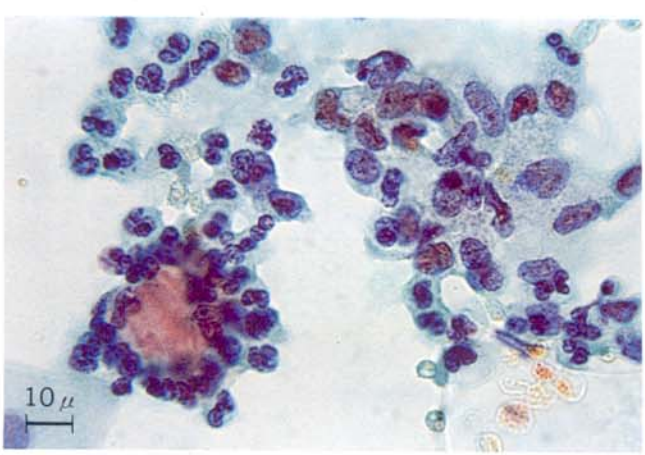


Fig. 994. Células epiteliales y restos necróticos rodeados por leucocitos a modo de una bola celular en un caso de tuberculosis renal. Mujer de 47 años con dolor lumbar profundo y hematuria persistente. Las células epitelioides de origen mesenquimático se caracterizan por poseer unos núcleos elípticos de borde nuclear delicado, cromatinas acintadas y citoplasma indistinto. Los restos necróticos naranjófilos provendrían de la necrosis caseosa.

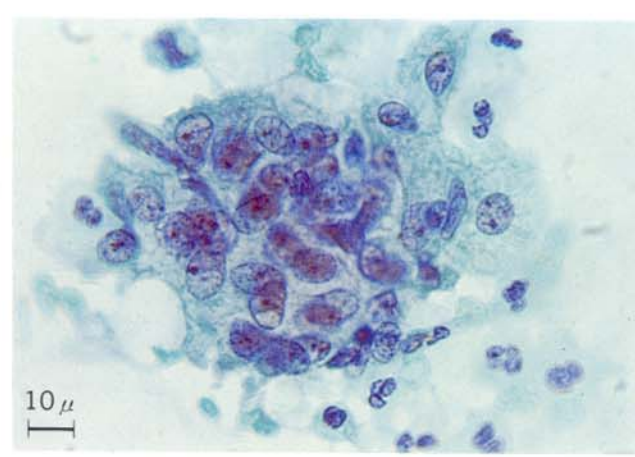


Fig. 995. Citología de la tuberculosis renal con células epitelioides en un tubérculo. Caso de la figura 994. Las células epitelioides redondeadas pueden prestarse para un diagnóstico citológico falso a causa de la aglomeración. Abonarían en favor del origen mesenquimático el borde nuclear fino, la trama de cromatina acintada y el citoplasma pálido y mal preservado.

10. Células malignas

Aspecto general

El análisis de orina no sólo es importante para diagnosticar tumores del urotelio, sino también para realizar exámenes preliminares para lesiones precancerosas o carcinoma *in situ* en poblaciones de alto riesgo. El carcinoma de urotelio ocurre con mucha frecuencia en trabajadores de las industrias textil, gráfica, plástica y caucho, que se han expuesto a sustancias colorantes, pues se identificó como cancerígenos a la 2-naftilamina, 4-aminobifenilo, bencidina y 4-nitrobifenilo (cuadro 92). También es notable la gran incidencia de carcinomas de vejiga en poblaciones expuestas a la infección endémica por *Schistosoma haematobium*[54] (fig. 1040); la proporción de carcinomas epidermoides es mayor que la de carcinomas transicionales en la malignización vesical inducida por esquistosomiasis.[15]

En lo referente a las muestras de orina en las neoplasias malignas del urotelio, es necesario señalar que la hematuria macro o microscópica es un síntoma importante que persiste y se acentúa a medida que el tumor progresa. En presencia de tumor, la hematuria en el primero de los tres vasos de orina sugiere que la neoformación está cerca del meato interno, mientras que en el último vaso significa que el tumor sangra al contraerse la vejiga. Los hematíes provenientes del tracto urinario por debajo de la pelvis están mezclados en la orina con uniformidad; no se forman cilindros hemáticos.

Cuadro 92. Citología urinaria en trabajadores con colorantes

Citología	Año				Total de muestras	Casos	%
	1973	1974	1975	1976			
Normal	1	24	21	30	76	11	20%
Atilia leve	9	19	24	24	76	38	69%
Displasia sospechosa	1	4	4	2	11	5	9%
Carcinoma *in situ*	1	1	0	0	2	1	2%
Carcinoma invasor	0	0	0	0	0	0	0%

(Gentileza del Dr. SASAKI, K., Escuela de Medicina de la Universidad Kitasato, Sagamihara, Japón.)

Cuadro 93. Tumores malignos de riñón

Patología	Origen	Incidencia	Citología
Carcinoma de células renales (Grawitz)	Epitelio tubular	El 75% de los tumores renales ocurren en la 5ª y 6ª década	Raro en la orina, citoplasma ancho y claro, núcleos bastante pequeños y nucléolos prominentes
Nefroblastoma (Wilms)	Cuerpo de Wolff o tejido nefrógeno embrionario	20% de todos los tumores malignos en lactantes	Células epiteliales embrionarias; células pequeñas, ovales o elongadas, con escaso citoplasma. Células mesenquimáticas; células sarcomatosas
Tumor transicional	Células transicionales de la pelvis	5 a 10% de los tumores malignos de riñón	Células malignas de tipo transicional

El 90 % de las neoplasias de vejiga urinaria y uréteres son de tipo celular transicional. Aunque por el cuadro histológico muchas neoplasias de aspecto benigno se podrían clasificar como papilomas de células transicionales benignos,[23, 26, 44, 56, 66] la mayoría de los papilomas recidivan después de la cauterización y se convierten entonces en carcinomas invasores.[58, 72] Por lo tanto, a la neoplasia papilífera bien diferenciada se la consideró biológicamente un carcinoma de células transicionales grado I.[10] La mayoría de los tumores son papilíferos y están constituidos por saliencias vellosas de células tumorales en estratos múltiples, con pedículos de tejido conectivo vascular. De acuerdo con la anaplasia de las células tumorales, es decir, los grados citológicos de Broders,[14] las neoplasias se clasifican en cuatro grupos de la manera que se describe abajo.

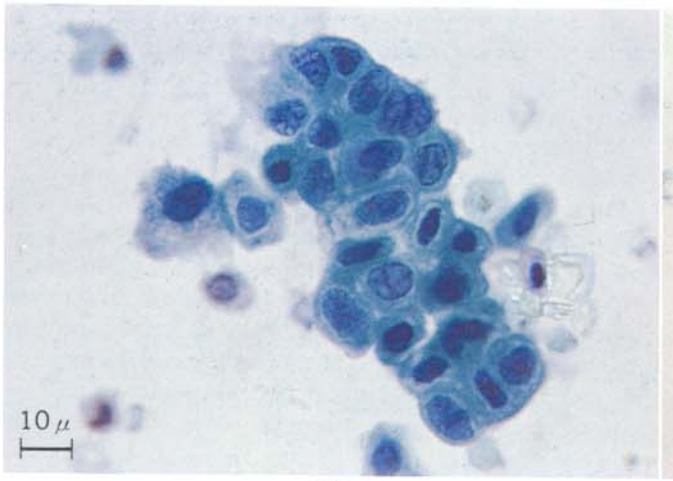
El adenocarcinoma del tracto urinario es una relativa rareza pero reviste interés académico en citopatología. La morfogénesis obedece a restos de la cloaca o a la capacidad del epitelio transicional de la vejiga para preservar la propiedad de la cloaca primitiva. La frecuente observación de células glandulares o mucinosas en la pielitis y en la ureteritis, también podría preceder al adenocarcinoma metaplásico.

Clasificación de Broders. Esta clasificación, basada en el grado de diferenciación o maduración celular, se emplea mucho en histopatología del carcinoma. En el informe del registro de patología genitourinaria de la Asociación Norteamericana de Urología, se empleó una clasificación similar combinada con el cuadro estructural sobre un total de 1004 casos, y se demostró un pronóstico confiable en relación con el grado de diferenciación celular. En los estudios histológicos los grados de diferenciación celular están representados por la variación de tamaño, el contenido de cromatina y las mitosis de núcleos, además de la distorsión de la polaridad celular. Desde el punto de vista de la citología exfoliativa, la clasificación es más tosca: a) papiloma grado 0 o carcinoma papilífero grado I (carcinoma papilífero de células transicionales grado I), b) carcinoma papilífero grado II (carcinoma papilífero de células transicionales grado II), c) carcinoma de células transicionales grado III. Citológicamente se puede sospechar carcinoma *in situ* plano, cualquiera que sea la extensión de la diseminación superficial (fig. 999).

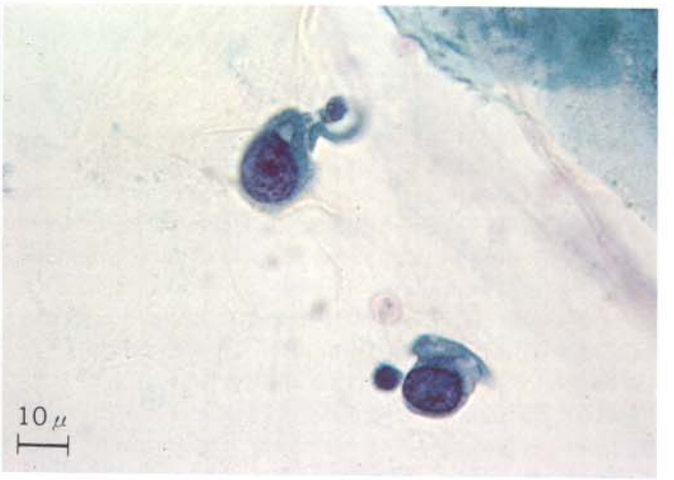
Cuadro 94. Clasificación del cáncer vesical de la UICC

Grados histopatológicos	Categorías histopatológicas*	
	Pis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*)
G0 Sin signos de anaplasia, es decir, papiloma	P0	Sin tumor en el examen de la pieza
G1 Malignidad de grado bajo	P1	Tumor que no excede la lámina propia
G2 Malignidad de grado mediano	P2	Tumor que infiltra el músculo superficial
G3 Malignidad de grado alto	P3	Tumor que infiltra el músculo profundo o el tejido perivesical
	P4	Tumor que infiltra la próstata u otros órganos extravesicales adyacentes
GX No se puede establecer el grado	PX	No se puede establecer la extensión de la invasión

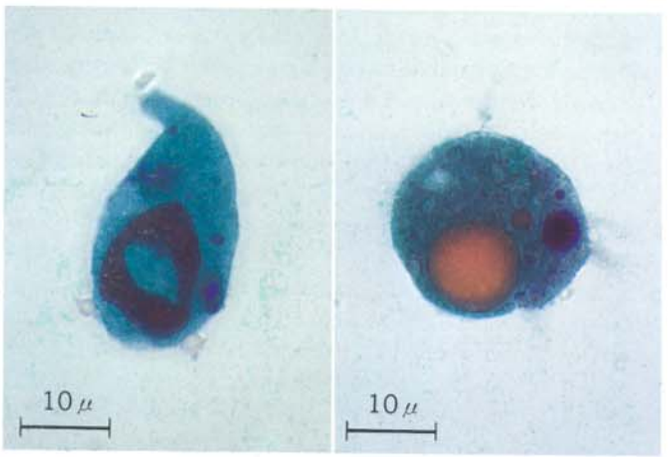
* La estimación de las categorías P se basa en evidencias derivadas de la intervención quirúrgica y de la histopatología, es decir, cuando para el examen se dispone de tejidos no biopsiados.



996



997



998

Fig. 996. Células displásicas o hiperplásicas atípicas aglomeradas en un hombre asintomático que trabaja en una fábrica de colorantes. Aunque existe atipia celular, la distribución en empedrado con las células lado a lado es improbable que sea maligna. Nó hay diátesis tumoral concomitante.

Fig. 997. Células malignas exfoliadas de a una en un carcinoma *in situ* de vejiga en un trabajador de una fábrica de colorantes. Las células atípicas solitarias bastante pequeñas de escaso citoplasma y núcleos redondeados e hipercromáticos son similares a las células del carcinoma *in situ* del cuello uterino. No hay diátesis tumoral.

Fig. 998. Células transicionales degeneradas de formas extrañas en la orina de un hombre expuesto a la alfa-naftilamina. No se ven células tumorales ni inflamatorias. Se presume que este proceso degenerativo persiste en los que trabajan con colorantes.

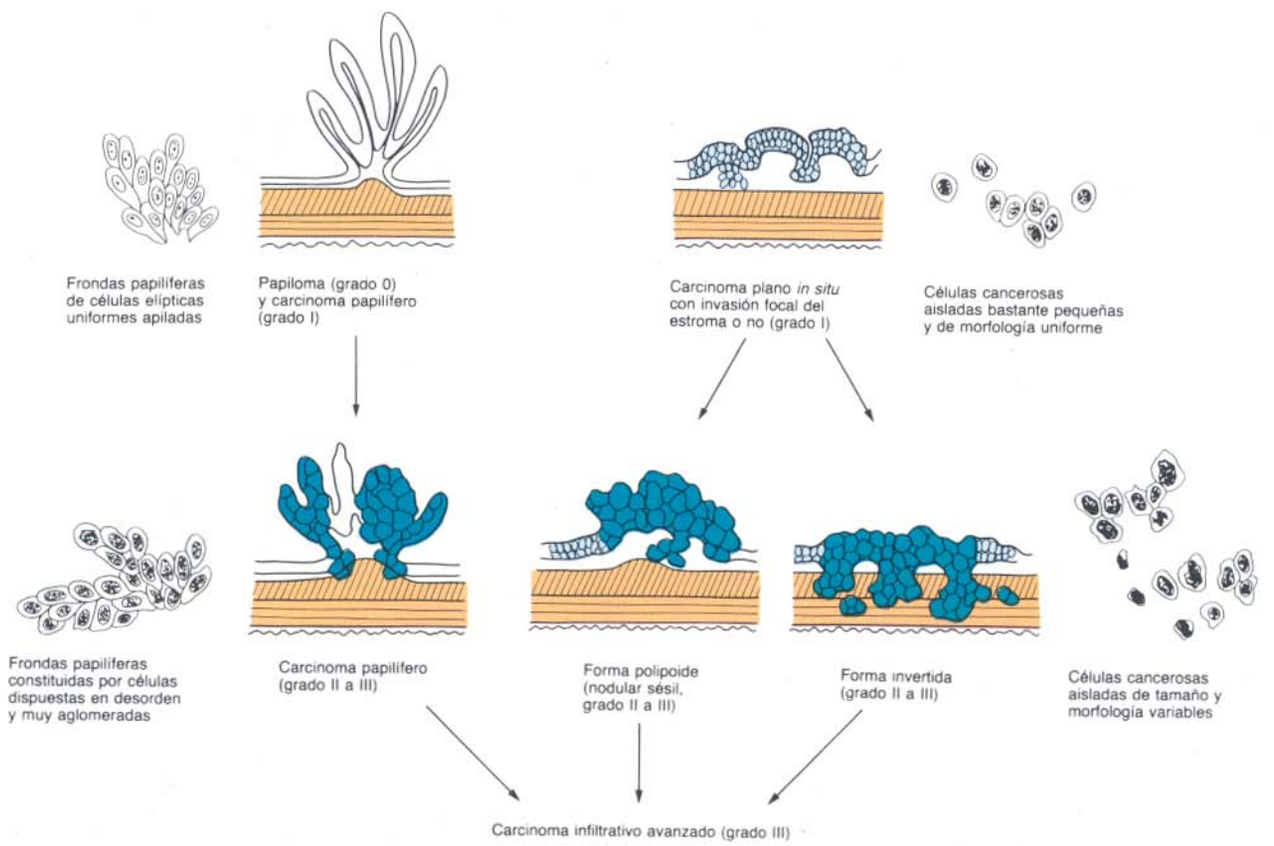


Fig. 999. Clasificación esquemática de los tumores uroteliales y su citología. (Véanse figs. 1000-1006.)

Tipo de células transicionales

1) Citología del papiloma grado 0 o carcinoma papilífero grado I. Muchas células transicionales atípicas se descaman en la orina principalmente como aglomeraciones celulares. Desde el punto de vista citomorfológico no se cuenta con ningún criterio definido para identificar al papiloma benigno. La exfoliación de grandes grupos de células (frondas papilares) es significativa porque sugiere desprendimiento de fragmentos epiteliales del tumor (fig. 1007). Puede ser

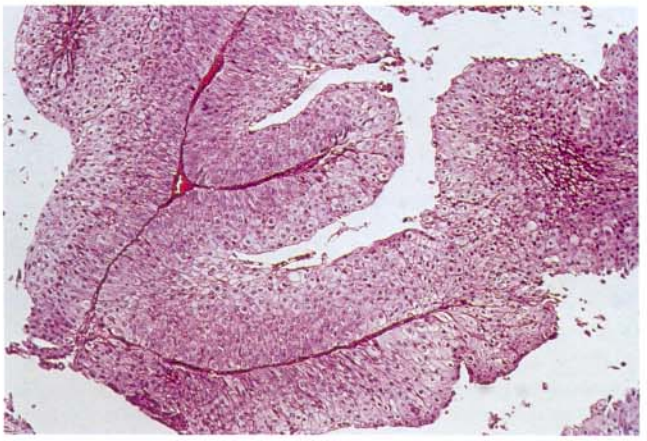


Fig. 1000. Papiloma de vejiga urinaria con una típica proliferación vellosa acompañada de finos pedículos fibrosos (grado 0). Nótese el epitelio de revestimiento de las frondas papilíferas de espesor casi igual.

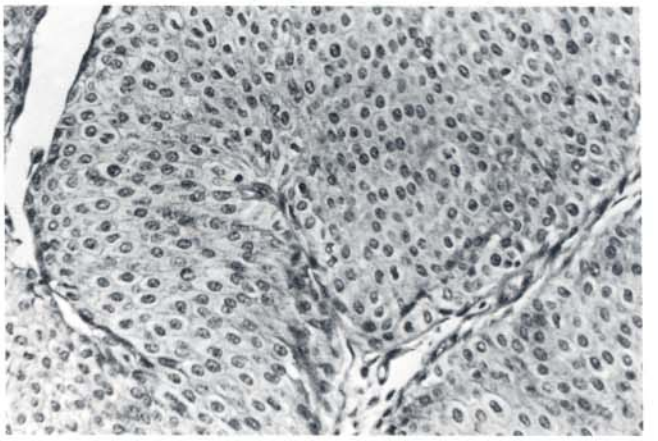


Fig. 1001. Carcinoma papilífero diferenciado (grado I). Las frondas papilíferas que crecen con un fino pedículo fibrovascular aparecen tabicadas por estratos múltiples de células transicionales. Nótese la uniformidad del tamaño y forma de los núcleos a pesar del considerable engrosamiento.

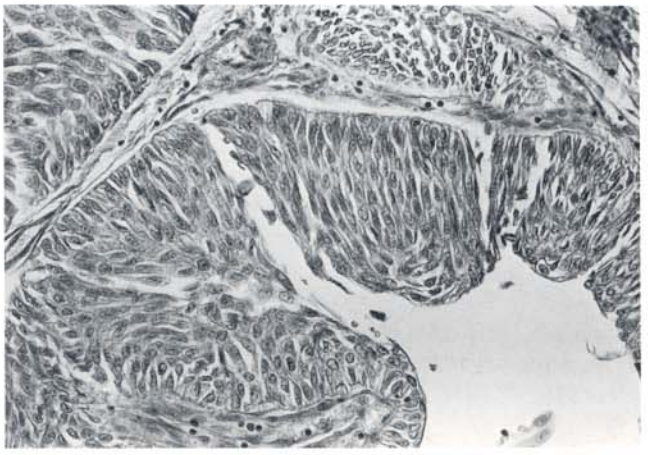


Fig. 1002. Carcinoma papilífero moderadamente diferenciado (grado II). Los núcleos son más grandes y más hipercromáticos que en el carcinoma de grado I.

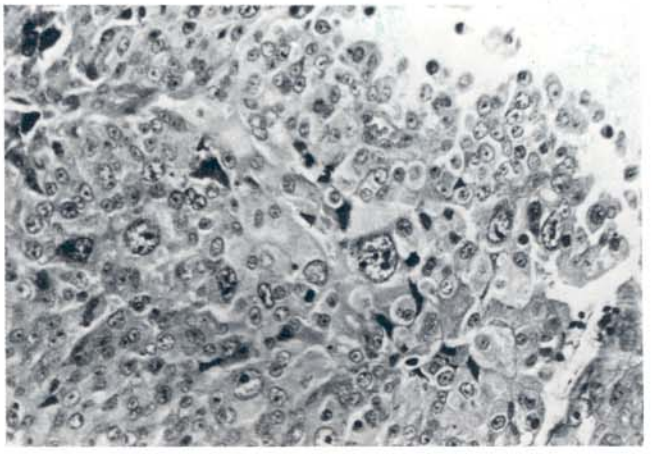


Fig. 1003. Carcinoma transicional poco diferenciado (grado III). Nido sólido constituido por células cancerosas polimórficas con nucléolos prominentes.

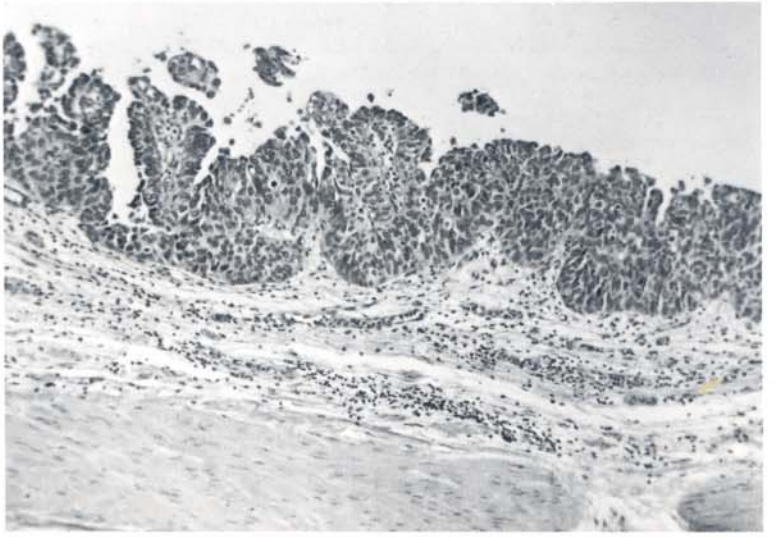
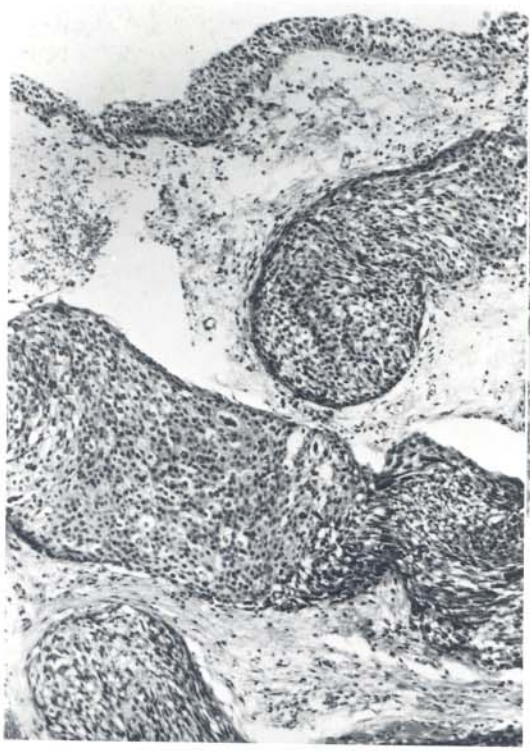


Fig. 1004. Carcinoma *in situ* diseminado superficial que toma el uréter y la pelvis (grado I). El epitelio de la mucosa ha sido sustituido por completo por pequeñas células cancerosas. Se han perdido la polaridad y la estratificación.



1005



1006

Fig. 1005. Forma invertida de carcinoma de células transicionales infiltrativo de la vejiga urinaria (grado III). El tumor se caracteriza por un crecimiento masivo en profundidad de nidos sólidos o trabéculas anastomosados constituidos por células cancerosas transicionales poco diferenciadas.

Fig. 1006. Forma nodular sésil de carcinoma de células transicionales infiltrativo de la vejiga urinaria (grado III). Este tumor avanzado exhibe una formación nodular de base ancha que también crece en profundidad.

que en la cara lateral de las aglomeraciones celulares haya un ordenamiento unipolar de las células.

Aunque se carece de base citodiagnóstica para distinguir entre el papiloma y el carcinoma papilífero grado I, excepto por alguna diferencia de atipia nuclear, la forma y la distribución de las células tumorales puede ofrecer una información sugestiva de crecimiento papilífero.

a) La descamación espontánea de frondas papilares de contorno lineal distintivo sugiere neoplasia.[34] La descamación mecánica por cateterización o por presencia de cálculos, produce unas aglomeraciones celulares de contornos irregulares y borrosos; el epitelio regenerativo o inflamado tiende a desgarrarse por estimulación mecánica.

b) Las frondas papilares de los tumores uroteliales papilíferos están revestidas por varias capas de células transicionales elongadas dispuestas sobre un fino pedículo fibrovascular. También es importante para hacer la interpretación la imagen de núcleos en empalizada, que confiere a la aglomeración celular el aspecto de un cardumen. La superficie exterior de las frondas papilares exfoliadas espontáneamente en la orina, es redondeada y aparece cubierta por células aplanadas. Por el contrario, los brotes nucleares de contorno

Cuadro 95. Citopatología de los tumores uroteliales

	Papiloma (grado 0) o carcinoma papilífero (grado I)	*Carcinoma de células transicionales papilífero o no papilífero (grado II)*	*Carcinoma de células transicionales (grado III)*
Rasgos macroscópicos	Prolongaciones en hojas de helecho con delicados pedículos fibrosos.	Tumor nodular pediculado o sésil, con vellosidades redondeadas, cortas y confluentes.	Tumor sésil, exofítico o plano invertido, a menudo con ulceración.
Rasgos microscópicos	Células transicionales apiladas de espesor normal y núcleos uniformes. Polaridad conservada.	Gruesas bandas celulares con hipertrofia, hipercromía y moderada variación de tamaño de los núcleos. Polaridad deformada.	Gruesas bandas celulares con células anaplásicas dispuestas en desorden. Gran hipercromatismo nuclear, polimorfismo, multinucleación y mitosis frecuentes.
Citología exfoliativa	1) Descamación de células de aspecto normal en grupos densos con núcleos dispuestos con regularidad y en situación central. 2) Hematuria microscópica. 3) Las aglomeraciones celulares consisten en células transicionales profundas con ligera hipertrofia nuclear; existe polaridad. 4) Regular cantidad de citoplasma preservado.	1) Descamación de grumos de células transicionales atípicas con núcleos grandes, hipercromáticos y polimórficos. 2) La distribución unipolar de los núcleos en la aglomeración celular persiste en el carcinoma papilífero, aunque un tanto deformada; por lo tanto, en la aglomeración se ven brotaciones nucleares irregulares. 3) Regular cantidad de citoplasma.	1) Descamación de células anaplásicas aisladas con alta relación nuclear-citoplasmática. 2) Citoplasma escaso, pálido y de contorno indistinto. 3) Gran variación del tamaño y forma de los núcleos. 4) A veces células multinucleares gigantes entremezcladas.

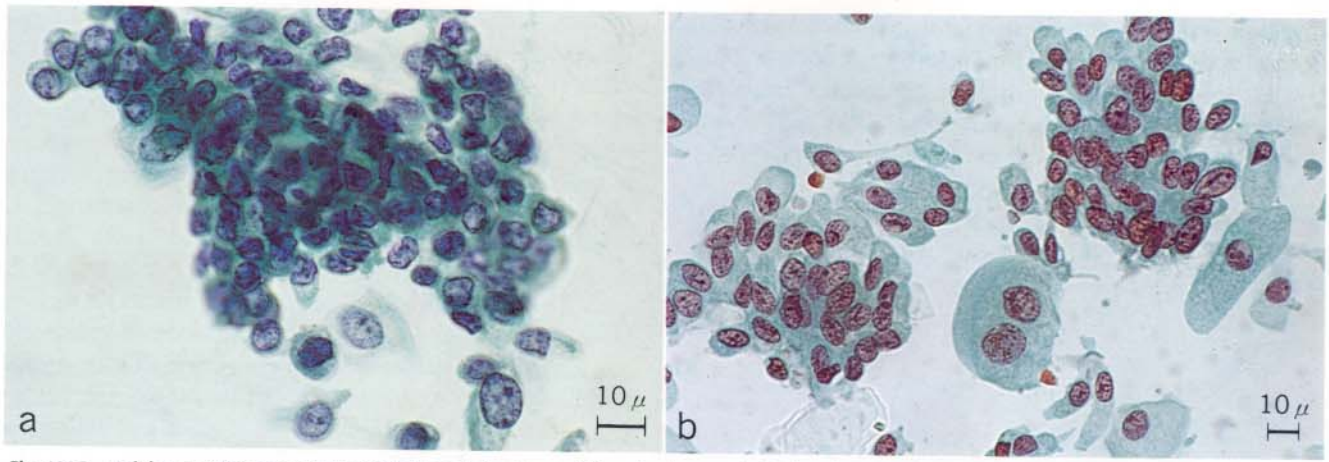


Fig. 1007. Células uroteliales papilíferas ilustrativas de frondas papilíferas benignas. *a*, En los lavados vesicales aparecen unas aglomeraciones papilíferas bien preservadas (tinción de Shorr). *b*, En la orina cateterizada aparecen aglomeraciones papilíferas de núcleos retraídos. El papiloma se distingue por: 1) descamación de células en frondas papilíferas constituidas por células de morfología y distribución uniformes, y 2) ausencia de diátesis tumoral a pesar de la hematuria microscópica.

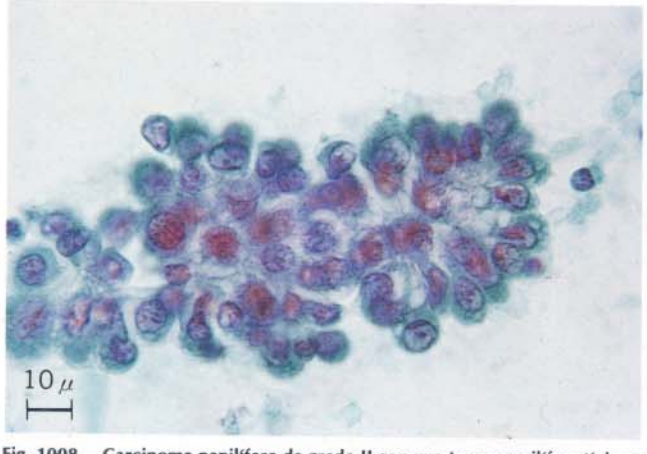


Fig. 1008. Carcinoma papilífero de grado II con una trama papilífera típica y largas colas citoplasmáticas. Hay moderada anisonucleosis, aunque la variación del tamaño de los núcleos está exagerada por la cariopicnosis.

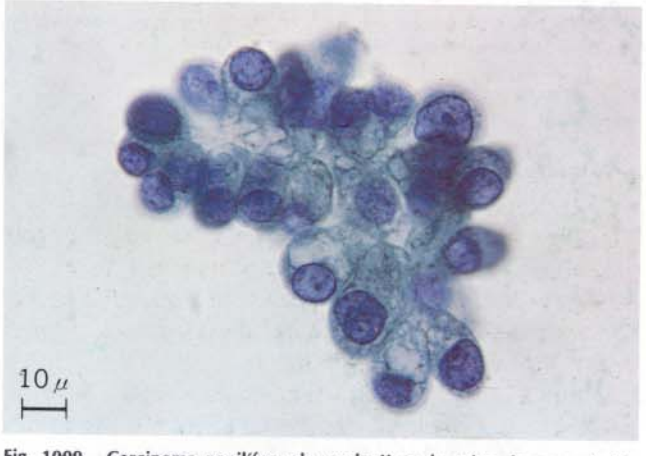


Fig. 1009. Carcinoma papilífero de grado II en la orina de una micción. Distribución papilífera con colas y una vacuolización citoplasmática representativa de la variante de células claras.

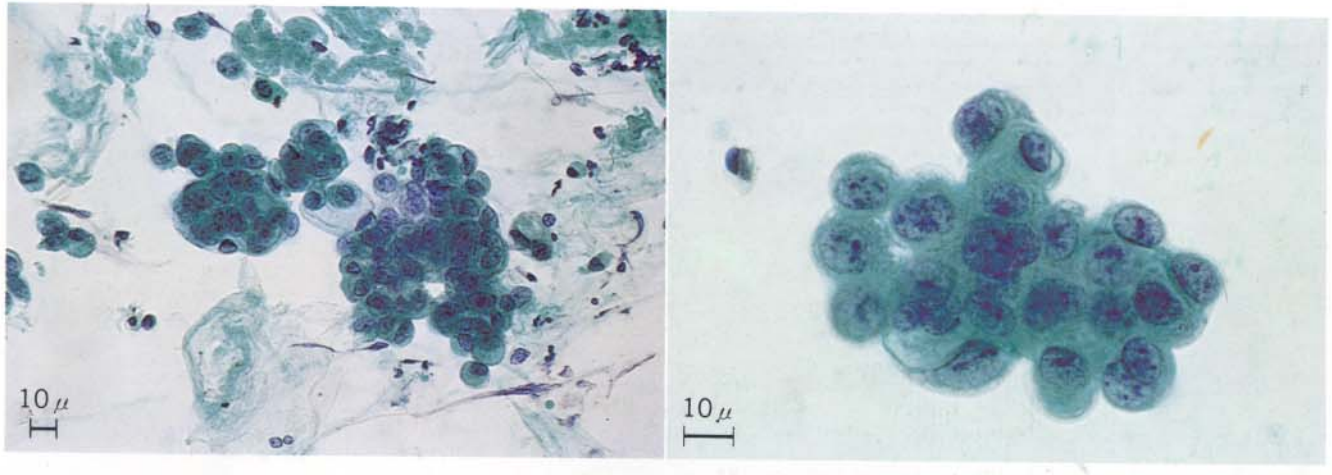


Fig. 1010. Células de carcinoma papilífero de grado II aglomeradas en la orina de una micción. Las células tumorales descamadas en la orina conservan la trama papilífera en el carcinoma de grado II, aunque los núcleos son de tamaño variable y están dispuestos en desorden. El citoplasma existe en moderada cantidad y se tiñe bien con verde claro.

irregular en la aglomeración papilífera, representan la configuración de un carcinoma papilífero menos diferenciado.

2) Citología en el carcinoma de células transicionales avanzado. Cuanto más indiferenciado es el tumor, mayor es la descamación de células malignas individuales porque la cohesión recíproca es menor. Las células malignas de grado II poseen un citoplasma bastante abundante y de bordes distintivos; se obtiene una reacción tintorial verdosa o cianófila. Las células malignas indiferenciadas de grado III (o de grado IV) se exfolian una a una o en aglomeraciones celulares sueltas, y exhiben considerable variación del tamaño nuclear, forma celular y contenido de cromatina. La distribución de la cromatina es despareja y ésta se halla condensada en el borde nuclear a causa de la degeneración celular. Puede haber gruesos grumos o riendas de material cromatínico. Los contornos nucleares presentan indentaciones irregulares o escotaduras. El citoplasma es escaso y mal definido. Son frecuentes los núcleos denudados. Los nucléolos, a menudo múltiples, tienden a ser basófilos; su forma es irregular y muchas veces no se distinguen de los cariosomas grandes. La irregularidad de los rasgos nucleares y nucleolares se exagera por el proceso degenerativo que ocurre en la orina emitida que no es isotónica.

3) Carcinoma *in situ* y su citología. El carcinoma plano *in situ* se inicia en focos multicéntricos sin alteraciones macroscópicas detectables; muchas veces en la cistoscopia

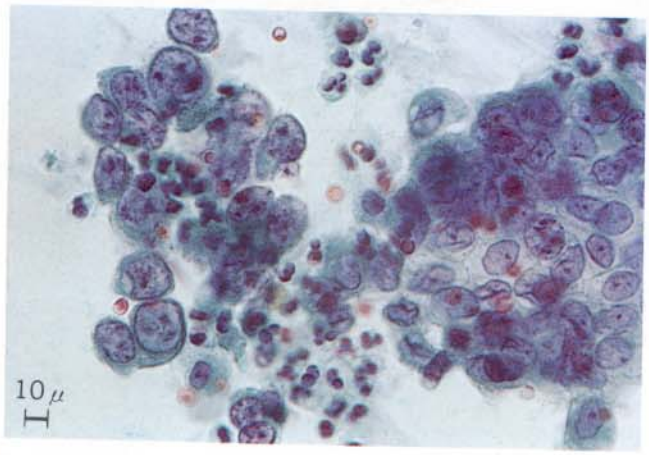


Fig. 1011. Células carcinomatosas transicionales de grado III en una aglomeración irregular. El pronunciado agrandamiento nuclear, la alta relación N/C y la prominencia de los nucléolos significan carcinoma de grado III. Aparecen láminas de células mesenquimáticas con núcleos fusiformes.

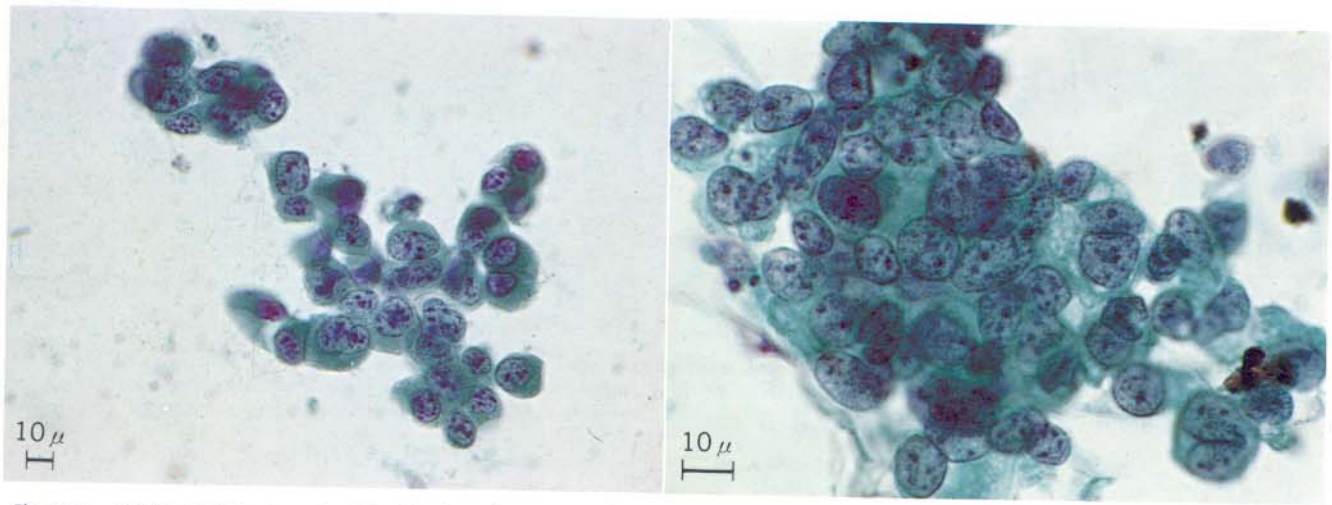


Fig. 1012. Células carcinomatosas transicionales de grado III en una aglomeración irregular. Considerable agrandamiento nuclear, alta relación N/C y gruesos grumos de cromatina. Las prolongaciones papilíferas irregulares reflejan el crecimiento papilífero del tumor.

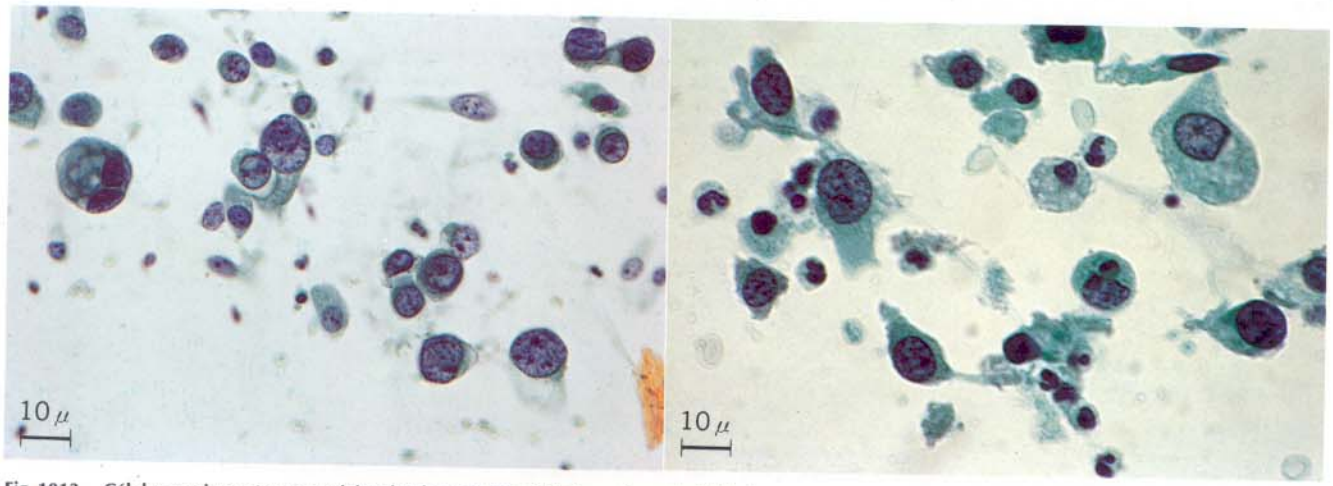
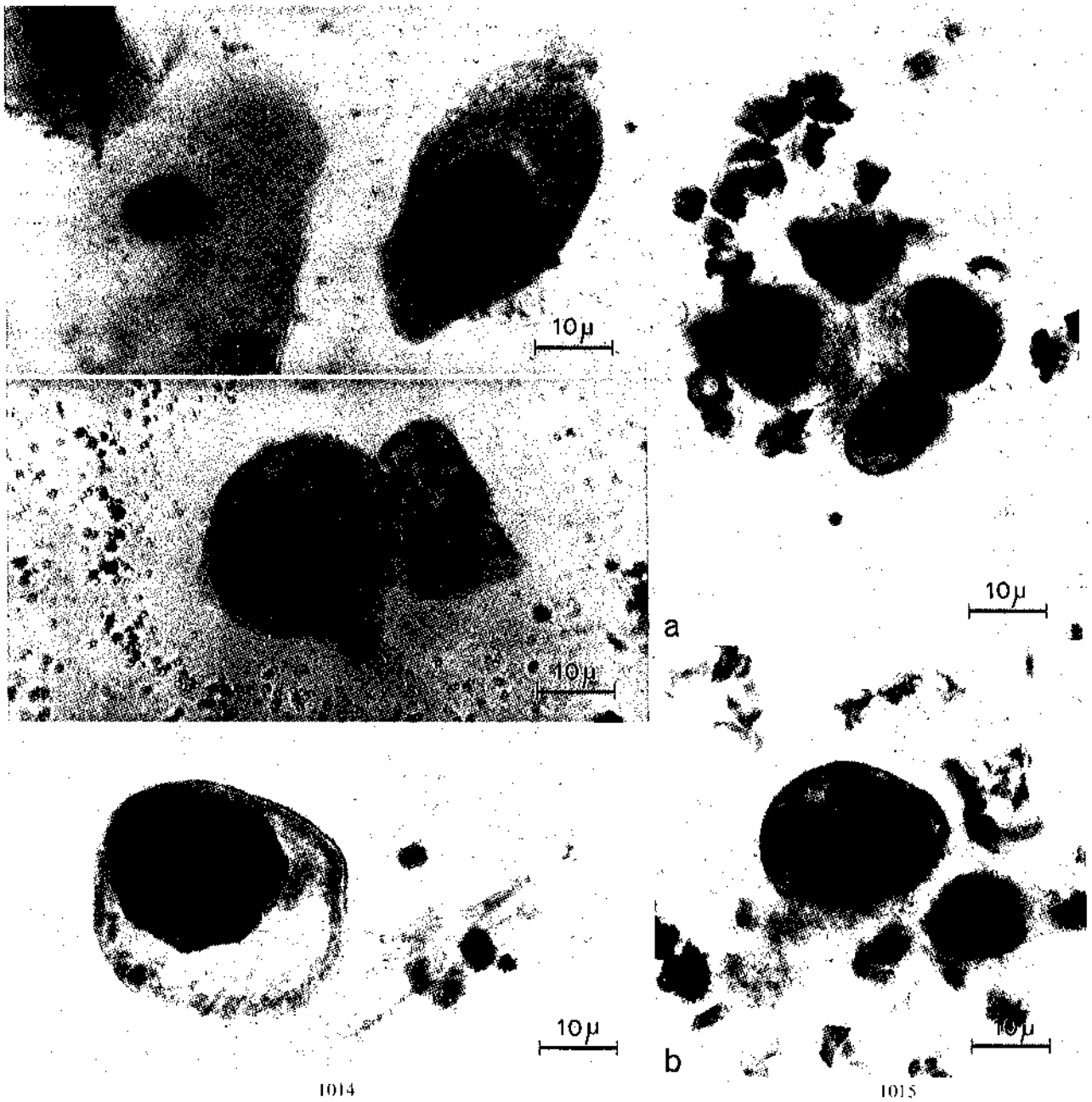


Fig. 1013. Células carcinomatosas transicionales de grado III exfoliadas en forma individual. Las células carcinomatosas más indiferenciadas se caracterizan por un citoplasma escaso, por su borde celular mal definido y por la falta de aglomeraciones.



1014 1015

Fig. 1014. Células cancerosas transicionales moderadamente diferenciadas y descamadas de a una. Los núcleos que se ilustran aquí satisfacen los criterios de malignidad: considerable agrandamiento nuclear, alta relación N/C, hipercromatismo con densa aglomeración de la cromatina, contornos nucleares irregulares, etc. La abundancia del citoplasma con formas poligonales y los bordes celulares nítidos indican diferenciación moderada. La vacuolización o halo perinuclear en el citoplasma representa un tipo de carcinoma transicional de células claras.

Fig. 1015. Células cancerosas transicionales indiferenciadas en la orina cateterizada (grado III). Nótese el citoplasma escaso e indistinto, que da una reacción tintorial verde-azulada pálida. Hay mucha variación en el tamaño y forma de los núcleos. La cromatina se presenta en condensaciones gruesas e irregulares. Los espacios intercromatínicos se disciernen bien. El grado de anaplasia celular (malignidad) se estima por la discordancia entre la maduración del citoplasma y la atipia nuclear.

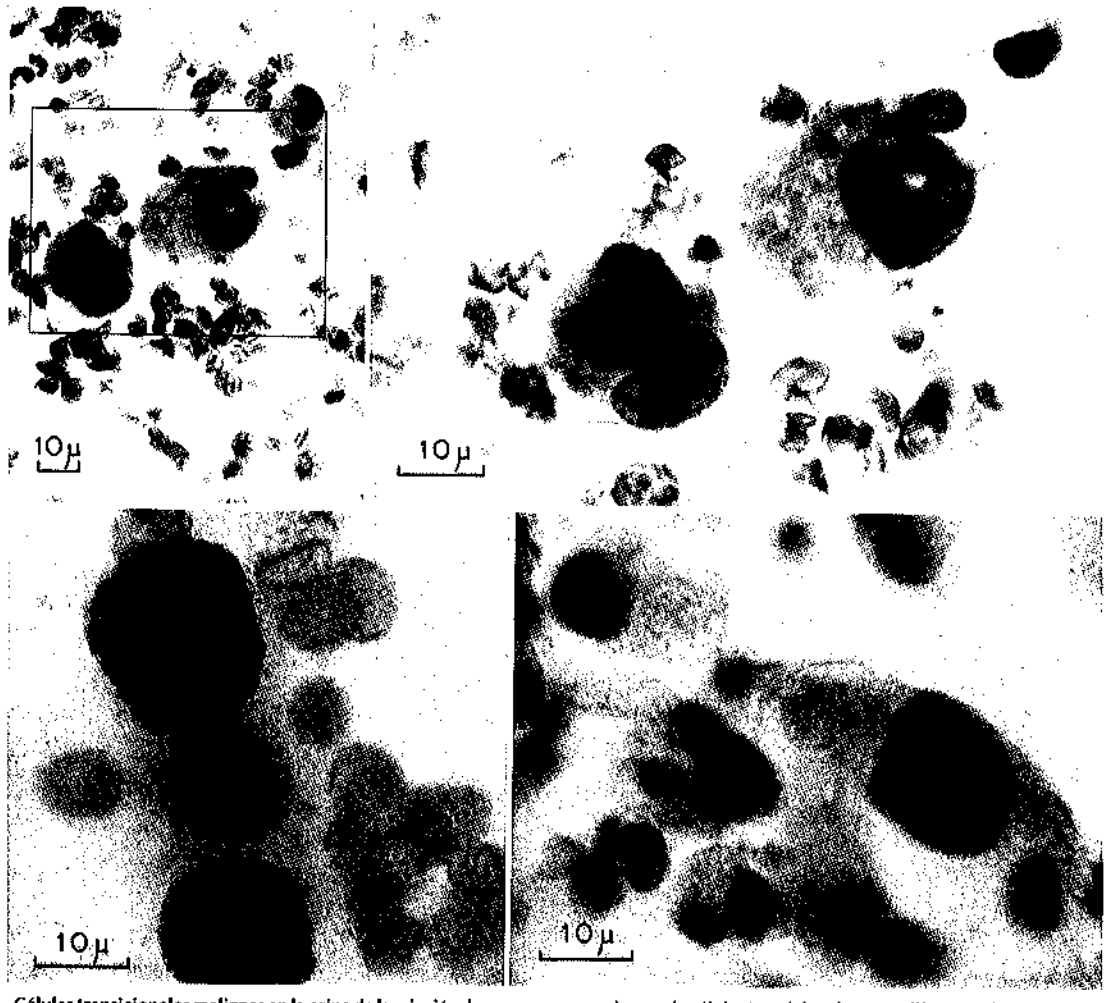


Fig. 1016. Células transicionales malignas en la orina de la micción de un caso con carcinoma de células transicionales poco diferenciadas (grado III). Nótense la alta relación N/C, la aglomeración gruesa de la cromatina, la gran variación de tamaño y forma de los núcleos y el citoplasma indistinto.



Fig. 1017. Células cancerosas indiferenciadas individuales de carcinoma de grado III. Nótense el pronunciado hipercromatismo, la alta relación N/C y el citoplasma escaso. La descamación individual se debe a la menor adhesividad mutua de las células cancerosas desdiferenciadas.

se ven unos focos rojizos granulares y un tanto elevados.[88] En el examen histológico la mucosa engrosada, consistente en más de cuatro o cinco estratos celulares, aparece reemplazada por completo por unas células cancerosas hipercromáticas redondas que han perdido la polaridad. Vousta y Melamed[90] estudiaron 20 casos de carcinoma *in situ* y señalaron su cuadro específico en citología exfoliativa. Mencionaron que las células malignas del carcinoma *in situ* son relativamente pequeñas, más o menos del tamaño de las células epiteliales normales de la vejiga o un poco mayor. Como regla, los núcleos exhiben un agrandamiento más bien moderado para esta etapa y son redondeados, aunque su forma tiende a ser irregular o angulada a causa de la degeneración. Siempre son hipercromáticos y poseen una estructura cromatínica gruesa. El citoplasma suele ser fino, su cantidad escasa a moderada, y no difiere mayormente del de la célula transicional profunda normal (véase fig. 997). Su reacción tintorial, que es una opacidad cianófila nubosa, contrasta con la transparencia de las células benignas. Dentro de una celularidad bastante uniforme aparecen entremezclados algunos núcleos enormes. En general la cantidad de estas células malignas es escasa y tienden a descamarse en forma individual o en grupos pequeños. En el carcinoma *in situ* también es característico el fondo limpio, porque no se logran ver detritos celulares necróticos ni piocitos si no se sobreagrega una infección.

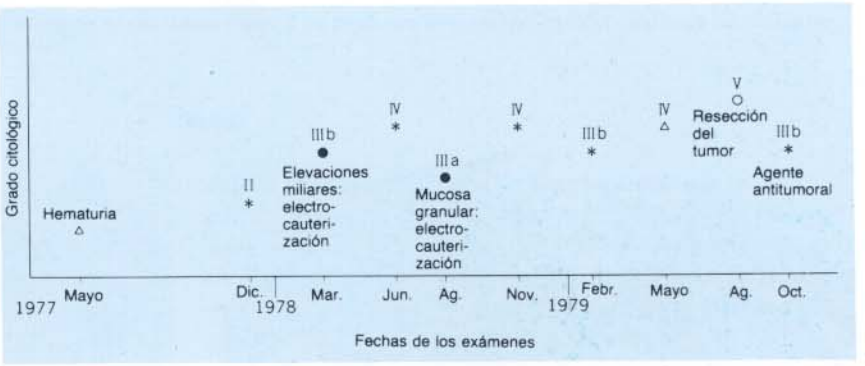


Fig. 1018. Estudios de seguimiento con citología urinaria en un carcinoma vesical incipiente de un hombre de 67 años que tuvo un cuadro inicial de hematuria y síntomas vesicales.
*: Examen cistoscópico negativo. △: No se hizo cistoscopia. ●: Cistoscopia anormal. Clase II: Hiperplasia leve. Clase IIIb: Displasia. Clase IV: Carcinoma *in situ*. Clase V: Carcinoma invasor.

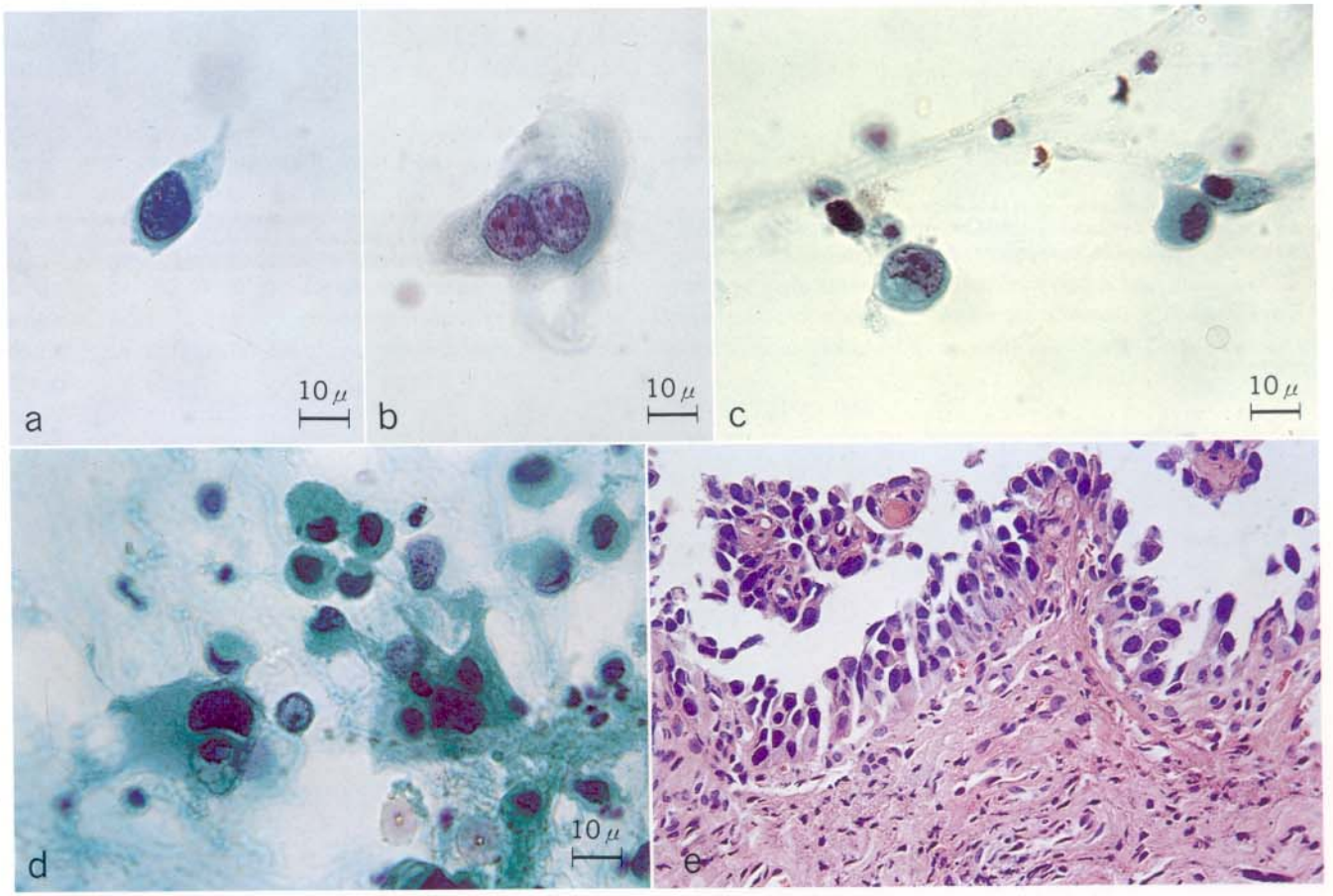


Fig. 1019. Utilidad de la citología urinaria seriada en el manejo del carcinoma *in situ*. Hombre de 67 años examinado todos los meses durante 2 años desde que se le cauterizaron múltiples elevaciones miliares en la mucosa. Aunque en la cistoscopia no se encontraron tumores macroscópicos, siempre aparecieron unas pocas células malignas pequeñas aisladas (*a-c*). Un año y medio después adquirió citología positiva (*d*) por la instalación de un carcinoma invasor incipiente junto con extenso carcinoma intraepitelial.

Tipo epidermoide

El carcinoma epidermoide o espinocelular puro representa cerca del 5 % de los tumores de la vejiga urinaria. Es un tumor no papilífero y un tanto elevado a simple vista, que se forma en la pared anterior o en la cúpula de la vejiga. Tiende a infiltrar la pared vesical a través de la etapa de carcinoma *in situ*, lo mismo que en otros órganos. Al examen microscópico el tumor aparece constituido por láminas o bandas anastomóticas de células cancerosas poligonales con citoplasma abundante y puentes intercelulares. El centro de los nidos de células cancerosas presenta queratinización (formación de perlas) en el tipo diferenciado de carcinoma epidermoide. Como el urotelio es susceptible al cambio metaplásico, puede ocurrir un carcinoma epidermoide metaplásico en áreas focales de carcinoma de células transicionales.

La citología exfoliativa es la misma que la del carcinoma epidermoide de otros órganos. En la etapa avanzada del carcinoma epidermoide diferenciado aparecen células en renacuajo, células fibrosas, células en serpiente y células del tercer tipo. Debemos mencionar que las células del carcinoma epidermoide no sólo provienen del carcinoma primario del tracto urinario, sino también de lesiones metastásicas o propagaciones secundarias del carcinoma epidermoide en órganos adyacentes. El carcinoma epidermoide del cuello uterino invade la vejiga urinaria con mucha frecuencia.



Fig. 1020. Carcinoma epidermoide de la vejiga urinaria. Nido sólido de células cancerosas con una diferenciación epidermoide característica; las células cancerosas son de citoplasma ancho y tienden a formar una perla en el centro del nido celular.



Fig. 1021. Células cancerosas fusiformes aglomeradas en la orina de un caso de carcinoma epidermoide del cuello uterino. Las células malignas de núcleo fusiforme y citoplasma elongado están dispuestas como fascículos de fibroblastos.

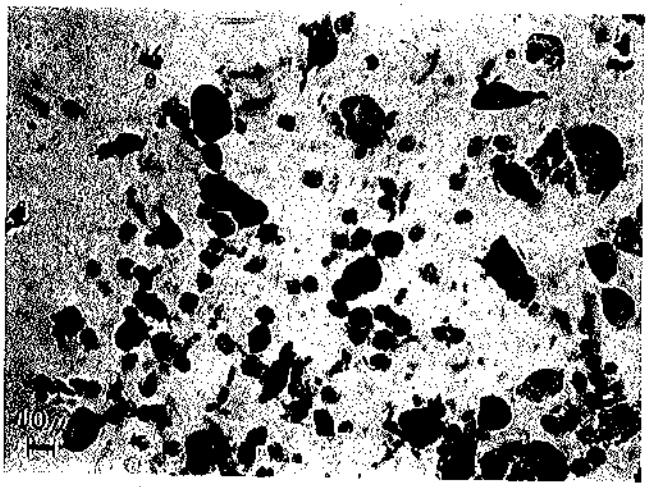


Fig. 1022. Células de carcinoma epidermoide exfoliadas de a una en la orina de la micción. Las células cancerosas son de forma y reacción tintorial variables.

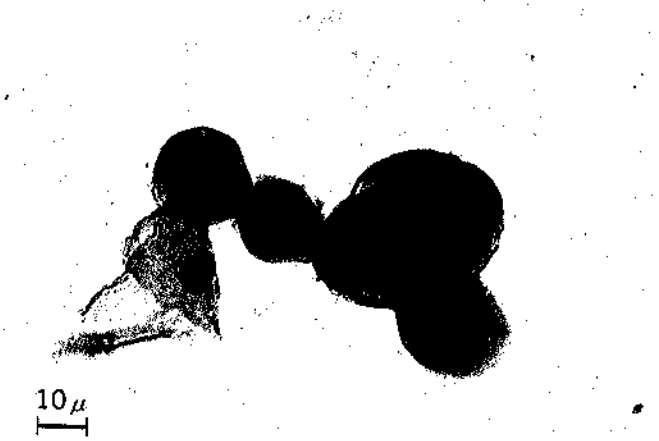


Fig. 1023. Células de cáncer epidermoide de una muestra de orina de micción que exhiben canibalismo, o sea inclusión de una célula cancerosa en otra célula cancerosa, lo que se observa a menudo en el tipo epidermoide. Nótense las células cancerosas de tipo parabasal.

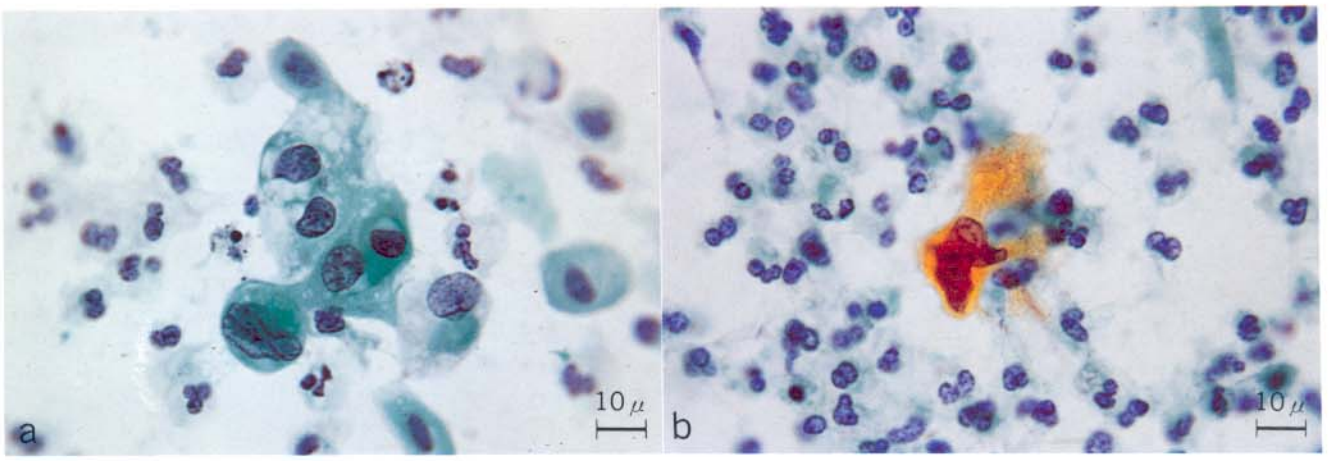


Fig. 1024. Células de carcinoma epidermoide provenientes de un carcinoma cervical. *a*, Grupo suelto de células cancerosas no queratinizantes. Núcleos muy polimórficos y densamente coloreados. Estas células están dispuestas en una lámina plana. *b*, La célula cancerosa queratinizante se caracteriza por un núcleo hipercromático raro y por un citoplasma intensamente naranjófilo.

Tipo glandular

Es raro ver adenocarcinoma del epitelio transicional. De acuerdo con la reseña de adenocarcinomas de la vejiga urinaria realizada por Jaske y col.,[37] esta neoplasia sólo representa el 2,5 % de los tumores vesicales (18 de 715 casos). La morfogénesis del adenocarcinoma se atribuye a una manifestación neoplásica de células metaplásicas glandulares[51] o de quistes intraepiteliales de células mucíparas que son similares a las de las glándulas de Littré. Algunos adenocarcinomas de vejiga urinaria se originarían en el uraco. El segmento cefálico del seno urogenital que es el derivado de la cloaca, junto con el intestino inferior, constituye la vejiga fetal y su uraco infundibuliforme. Es posible que el remanente de epitelio glandular mucíparo de tipo entérico acompañe al cordón uracal. El adenocarcinoma del uraco, que representa alrededor del 30 % de los adenocarcinomas vesicales, se radica en la cúpula o en la pared anterior de la vejiga y crece en el espesor de la pared. En el examen histológico el tumor exhibe todas las variantes del adenocarcinoma enteral, en particular de los tipos mucinosos tubular y de células en anillo de sello. La rareza con que el adenocarcinoma de uraco da citología urinaria positiva se debe al comportamiento del crecimiento tumoral, pues se propaga en el espesor de la pared, debajo del urotelio intacto. Sin embargo, los citólogos deberían prestar atención a este tumor porque la hematuria y la emisión de restos necróticos o material purulento son bastante frecuentes.[50]

La histología de este tumor consiste en células mucosecretantes columnares dispuestas en túbulos o alvéolos.

Citología. Las células malignas exfoliadas de este tipo revelan la trama glandular originaria, caracterizada por aglomeración de células con superposiciones nucleares, núcleos de posición excéntrica en un citoplasma columnar o cuboide, y vacuolación citoplasmática por producción de moco. No es raro ver la mezcla del tipo glandular con células malignas de tipo transicional común, como consecuencia de la metaplasia adenocarcinomatosa del carcinoma de células transicionales.

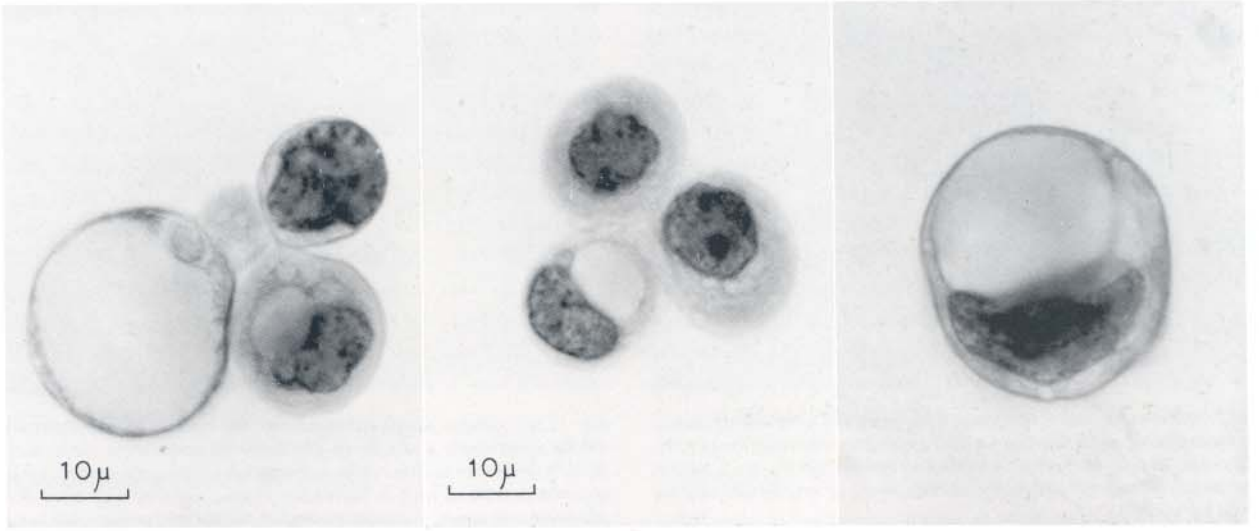


Fig. 1025. Células malignas de tipo glandular en la orina de una micción. Un gran núcleo hipercromático está desplazado hacia la periferia por una enorme vacuola citoplasmática de aspecto vidrioso. Una célula en anillo de sello o mucinosa sugiere el origen en el uraco.

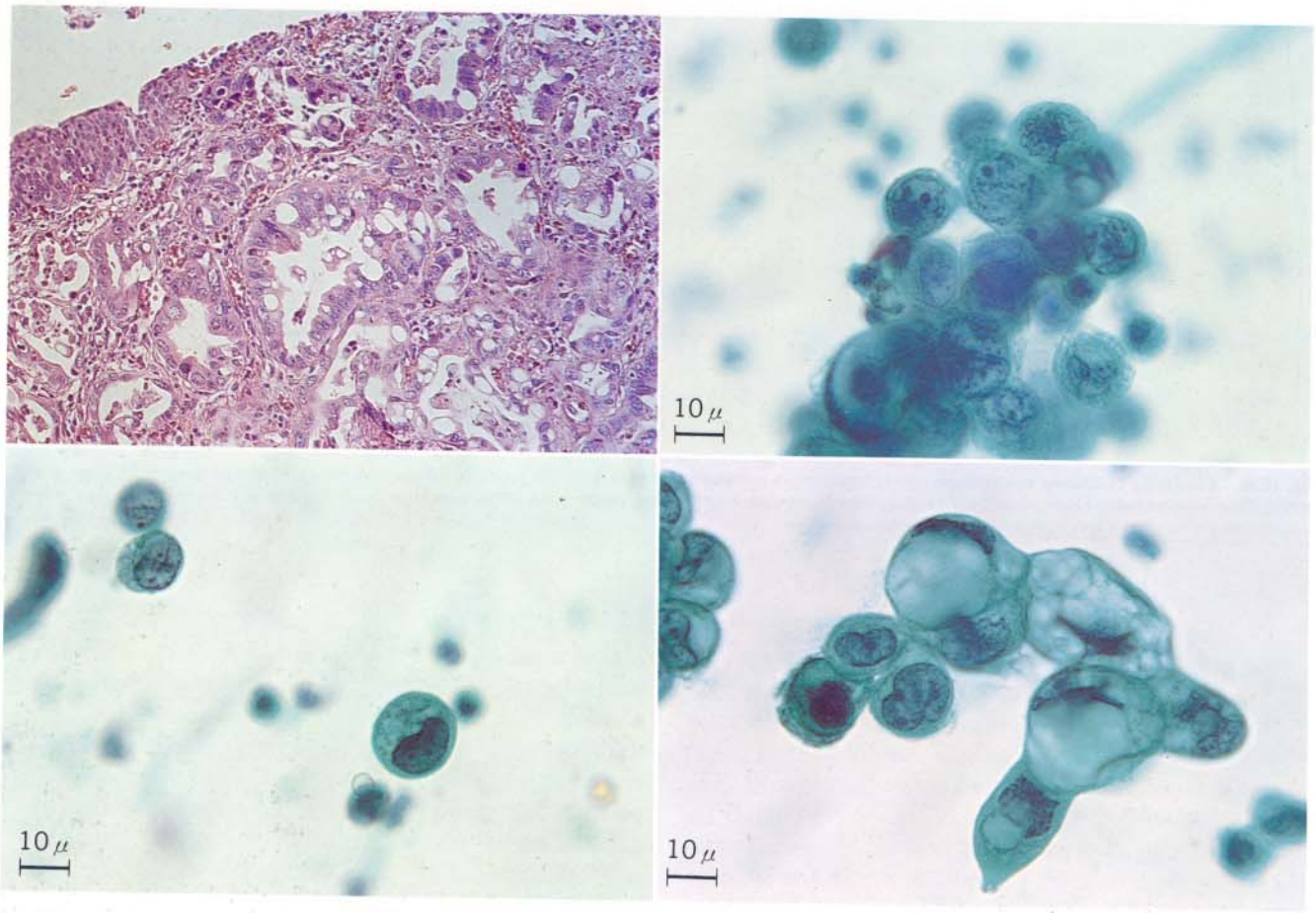


Fig. 1026. Histología y citología de un adenocarcinoma de la cúpula vesical en un hombre de 72 años. La histología del adenocarcinoma primario con considerable crecimiento en profundidad se caracteriza por estructuras glandulares atípicas de tamaño variable. Nótese la vacuolización citoplasmática. En la citología, las células cancerosas aparecen solas o aglomeradas. Las células solitarias exhiben unos núcleos excéntricos y a menudo vacuolización citoplasmática. La imagen con gran superposición nuclear en una aglomeración apretada también abona en favor de un tipo de neoplasia maligna glandular.



Fig. 1027. Células adenocarcinomatosas aglomeradas en la orina de un paciente con carcinoma de recto. Este tipo tubular de adenocarcinoma sugiere carcinoma de colon. Los rasgos típicos de adenocarcinoma tubular son: 1) células cancerosas columnares con núcleos en situación basal y 2) considerable superposición de los núcleos.

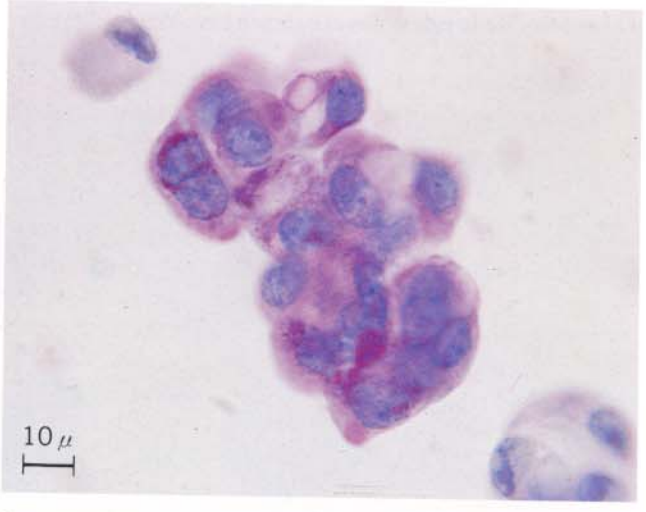


Fig. 1028. Células adenocarcinomatosas descamadas en una aglomeración celular superpuesta a raíz de un carcinoma de endometrio. La citología no permite determinar si estas células provienen de un adenocarcinoma primario o secundario. Sólo se hace la tipificación celular. Los rasgos característicos de adenocarcinoma son: 1) una superposición nuclear más pronunciada que en el carcinoma de células transicionales y 2) gotitas PAS positivas dentro del citoplasma.

Carcinoma de células renales

El carcinoma de células renales (adenocarcinoma, carcinoma de células claras, hipernefroma, tumor de Grawitz) es el más común en cuanto a la frecuencia relativa de las neoplasias malignas del riñón. Este tumor forma una masa esferoide que muchas veces se asocia con necrosis y hemorragia. La hematuria es un signo clínico importante que ocurre por invasión de la pelvis renal por este tumor.

Tweeddale[86] menciona que la mitad de los carcinomas de células renales exhiben compromiso directo de la pelvis renal, pero en la orina sanguinolenta no se detectan células malignas con tanta frecuencia como se anticiparía[57] y se dice que su citología es de dudosa utilidad.[43] En cambio, en varias publicaciones se asegura que las tasas de diagnósticos fueron bastante altas: Harrison[33] encontró células malignas en 12 de 15 de estos cánceres, Deden[21] en 11 de 15 y Meisels[60] en la totalidad de 9 casos. La detectabilidad de células cancerosas en la orina depende de si el tumor invade la pelvis renal o no. Hajdu y col.[30] mencionaron que la aparición de gránulos positivos para el rojo oleoso O en el citoplasma es útil como criterio diagnóstico de carcinoma de células renales, pero la tinción para lípidos no es específica de carcinoma, sino que sugiere un proceso degenerativo de células malignas y de células del epitelio tubular; esto último se conoce como cuerpos lipídicos ovales en el síndrome nefrótico. En lo tocante a este problema, Milsten y col.[65] sólo asignaron valor diagnóstico a las grandes células solitarias cargadas de finos gránulos lipídicos. La histología de este tumor consiste en dos tipos de células dispuestas en láminas, cordones o túbulos: 1) células claras de abundante citoplasma espumoso separadas por un tejido conectivo delicado y núcleos picnóticos relativamente pequeños y 2) células más pequeñas con un citoplasma granular teñido oscuro. Cualquiera de ambos tipos puede predominar o combinarse en este tumor. Además de los dos tipos principales, hay un tipo anaplásico que se caracteriza por unas células cancerosas polimórficas de citoplasma con bordes indistintos y núcleos pleomórficos.

Los rasgos citológicos de las células claras son característicos: citoplasma abundante y delicadamente vacuolado, núcleos poligonales relativamente pequeños para la cantidad de citoplasma (escasa alteración de la relación N/C) y nucléolos prominentes.[35, 43] Es importante establecer el citodiagnóstico diferencial entre histiocitos reactivos y células carcinomatosas claras de núcleos pequeños, y entre células carcinomatosas transicionales y células de carcinoma renal anaplásico. Los nucléolos prominentes y los núcleos redondos y centrales con membrana nuclear distintiva ocurren en el carcinoma de células renales y no son peculiares de los histiocitos. Las células de carcinoma renal anaplásico se diferencian muy poco de las células de carcinoma transicional grado III, excepto por la prominencia de los nucléolos, que es característica del hipernefroma; las células del carcinoma transicional poco diferenciado pueden poseer más de un nucléolo basófilo que semeja cariosomas.

Nefroblastoma (tumor de Wilms)

El nefroblastoma es uno de los tumores malignos más comunes de la niñez.[1, 19]

Esta neoplasia es un gran tumor esférico que al principio se halla delimitado del parénquima renal, pero después se extiende difusamente hacia los tejidos circundantes. Muchas veces invade la vena renal y se propaga hacia abajo por el uréter. Ocurre hematuria en un 10 a 20 % de los casos por propagación a la pelvis renal. La gran variación de la histología del tumor depende de la preponderancia y/o grado de diferenciación del elemento epitelial embrionario o del elemento estromal mesoblástico. Las células epiteliales son pequeños nefroblastos embrionarios dispuestos en túbulos curvos o rosetas. Los túbulos y las estructuras de tipo glomerular se parecen a los nefrones en vías de desarrollo del feto. Los elementos mesenquimáticos se diferencian a menudo a músculo liso o estriado, cartílago, hueso, tejido adiposo, etc.

Muy raras veces se hicieron descripciones citológicas. Kmetz y Newton[41] obtuvieron rasgos tubulares característicos en un bloque celular de líquido pleural. Koss describió un solo caso en el que había "aglomeraciones de células anaplásicas muy pequeñas" en el sedimento urinario.[43] En nuestra experiencia con un lactante, se encontraron en el sedimento urinario unos pocos grumos de células bastante pequeñas sin citoplasma o con un citoplasma indefinido y escaso. Se consideró que estas pequeñas células anaplásicas eran de origen epitelial embrionario por la tendencia a formar aglomeraciones sugestivas de túbulos primitivos (fig. 1032 d y f). Otro tipo de población celular consistente en unas células fusiformes descamadas en láminas, tiende más a pertenecer al constituyente mesenquimático (fig. 1032c).[29] Hajdu[34] señala la importancia de observar dos poblaciones celulares, pero la identificación de si las células tumorales son de origen epitelial o no, no es tan fácil como en el carcinosarcoma del adulto porque estas células primitivas semejantes al neuroblastoma y al tumor de Ewing tienen bipotencialidad para diferenciarse.

Linfoma maligno

Es raro que se forme un linfoma maligno primario en el tracto urinario. Aunque Sano y Kaprowska[78] describieron la detección citológica de un linfoma renal, la mayoría de los linfomas del parénquima renal son secundarios. Se dice que el linfoma primario de la vejiga se asocia con cistitis folicular. En vista de que el epitelio transicional adyacente al tumor a menudo es hiperplásico, las células epiteliales discarióticas pueden desempeñar el papel principal en la interpretación citológica, pero las células linfomatosas propensas a degradarse pueden pasar inadvertidas. No se puede establecer la distinción citológica de si una neoplasia es primaria o una manifestación de un linfoma generalizado, a menos que se cuente con exámenes sistémicos en el caso en cuestión.

Las células linfomatosas se descaman en forma individual y se caracterizan por ser unas células casi denudadas, mononucleares o hipercromáticas. Las membranas nucleares lisas con alguna indentación ocasional y uno o dos nucléolos distintivos, abonan a favor del linfoma.[98]

Sarcoma

Los tumores no epiteliales son raros, pues representan menos del 1 % de los tumores de vejiga. Los tumores fibro-

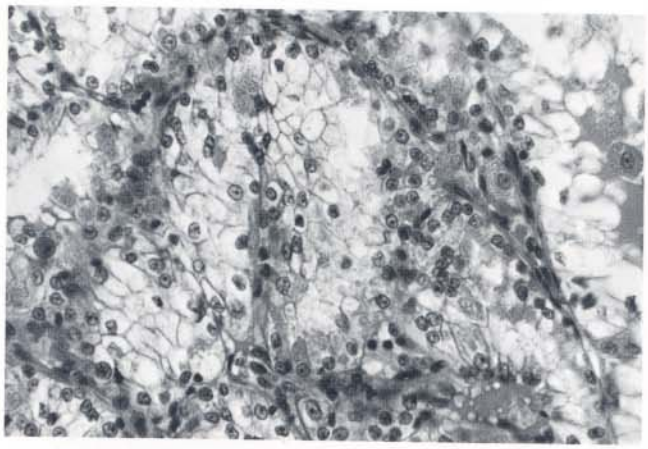


Fig. 1029. Carcinoma renal de células claras. Este tumor muy celularizado está constituido por túbulos revestidos de células columnares altas de pequeños núcleos redondos y citoplasma columnar claro. Nótense los nucléolos prominentes únicos en situación central.

sos, miógenos, angiógenos y neurógenos son más comunes que las variantes heterotópicas. El rabdomiosarcoma, que es el más maligno de los sarcomas heterotópicos, infiltra difusamente la pared vesical y se propaga fuera de la vejiga.

La citología del fibrosarcoma se caracteriza por unas células fusiformes de tamaño variable. Las células rabdomiosarcomatosas son muy polimórficas, de formas grotescas, en particular en el tipo pleomórfico, y se distinguen de los otros sarcomas por la detección de estrías transversales (figs. 1036 y 1037).

11. Enfermedad de inclusión citomegálica

Se sabe que el virus de la glándula salival (citomegalovirus) transmitido de la madre al feto, no sólo afecta a las

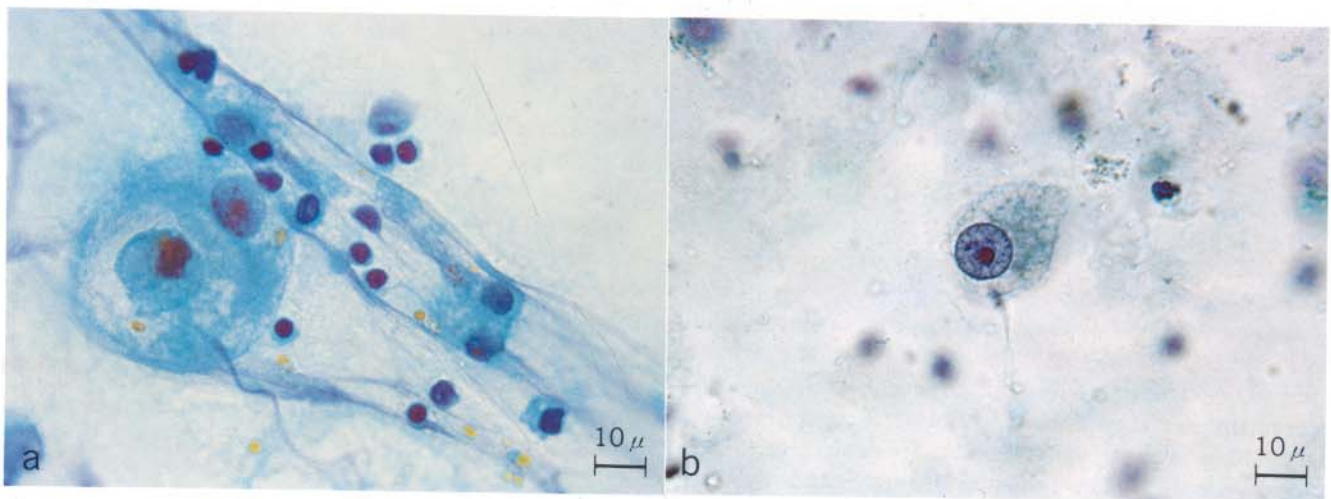


Fig. 1030. Carcinoma de células renales en la orina de una micción. *a*, Célula cancerosa degenerada de citoplasma mal delimitado y borroso. El núcleo ovoide central está degenerado, pero posee un nucléolo eosinófilo. *b*, Célula cancerosa bien preservada. El carcinoma de células renales (tumor de Grawitz) se diagnostica por: 1) un núcleo redondo de membrana nuclear muy nítida, 2) un nucléolo central prominente que da reacción tintorial eosinófila y 3) un citoplasma claro abundante.

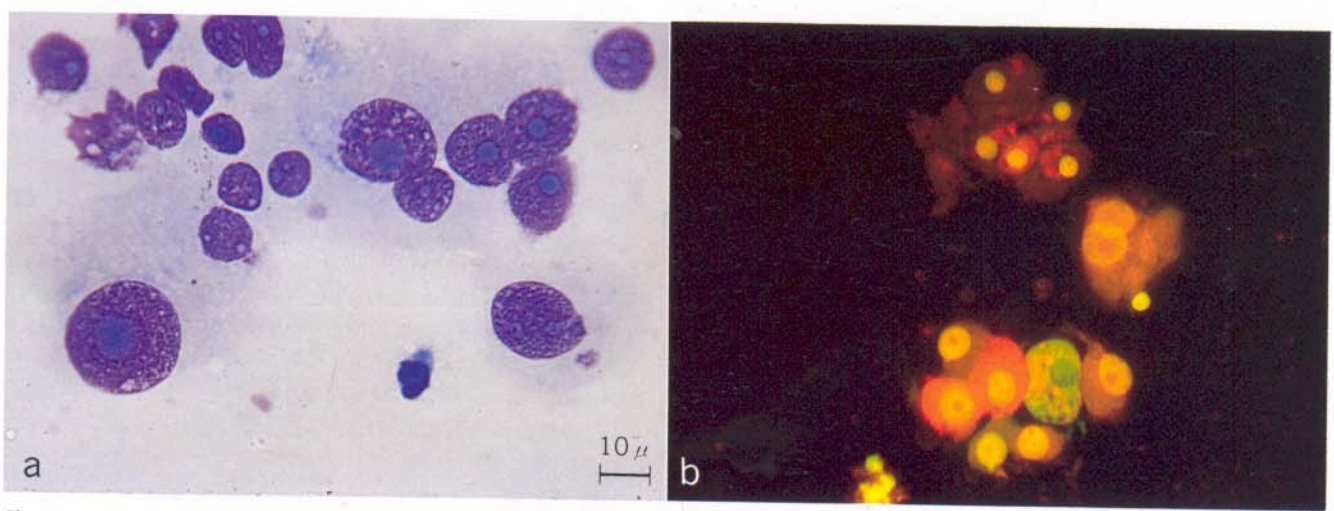


Fig. 1031. Carcinoma de células renales en una orina cateterizada. *a*, Con Giemsa las células cancerosas aparentan ser más grandes que con Papanicolaou. Nótense los nucléolos centrales enormes. *b*, Con naranja de acridina, el citoplasma y los macronucléolos emiten una fluorescencia anaranjado-rojiza, mientras que los núcleos ricos en DNA emiten una fluorescencia verde intensa a amarilla.

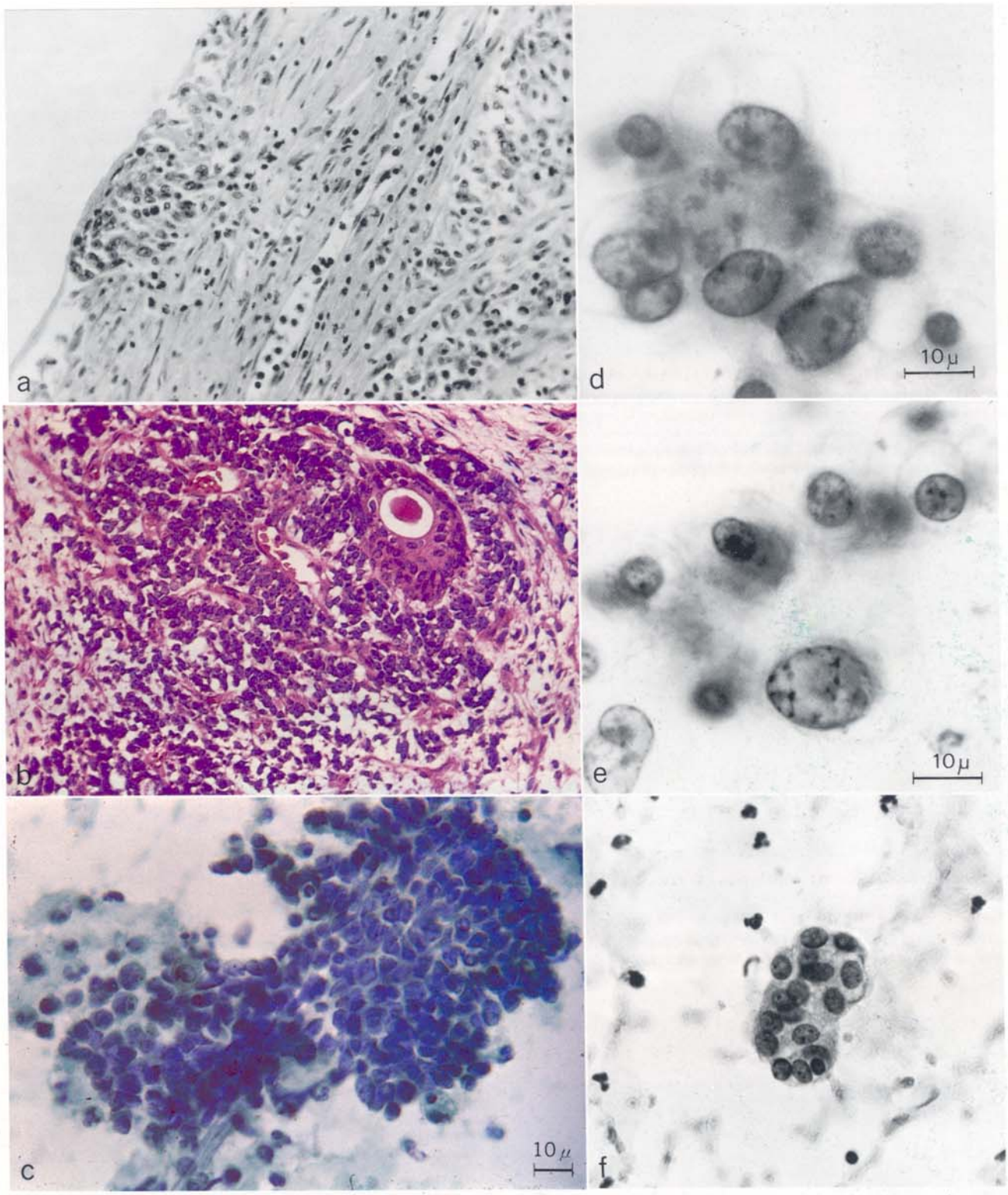
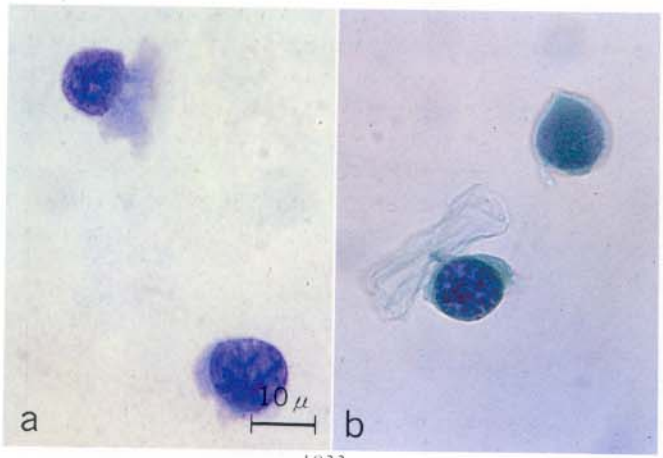
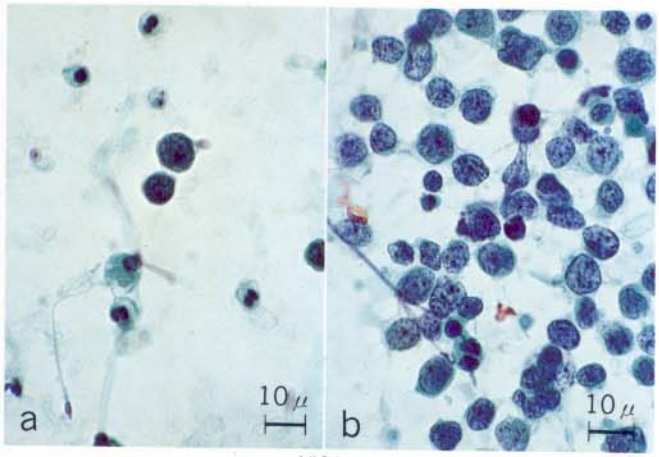


Fig. 1032. Tumor de Wilms y su citología. *a, Pelvis renal vista con poco aumento, con su epitelio mucoso erosionado por la infiltración de células tumorales* (izquierda). *b, Diferenciación a túbulos renales y elementos mesenquimáticos.* El epitelio sólo aparece diferenciado en una pequeña parte del tumor. Los nefroblastos mesenquimáticos poseen unos núcleos fusiformes muy hipercromáticos y un citoplasma escaso y mal definido. *c, Aglomeración de células nefroblastomatosas en un lactante.* La aglomeración masiva de nefroblastos indiferenciados hipercromáticos y denudados de citoplasma provendría del componente mesenquimático del tumor. *d* y *e, Aglomeración laxa o células malignas individuales en la orina.* Los núcleos están casi denudados y exhiben una condensación irregular de la cromatina, en particular en el borde nuclear. Detrás de la cromatina condensada, el fondo aparece nuboso y homogéneo por la degeneración colicuativa. El citoplasma es escaso, basófilo y de contornos indistintos. *f, Células tumorales con diferenciación tubular.* Este grumo sugestivo de trama tubular se refleja en la histología (*b*). Nótese la preservación del citoplasma.



1033



1034

Fig. 1033. Células linfosarcomatosas en la orina emitida por un paciente con linfadenopatía generalizada. Las células mononucleadas solitarias reflejan la histología del linfosarcoma. Aunque la trama de cromatina es vaga por la degeneración, los siguientes rasgos satisfacen los criterios de linfosarcoma, que puede ser primario o secundario: 1) descamación como células mononucleadas solitarias, 2) alta relación N/C por el escaso citoplasma y 3) uno o dos nucléolos prominentes. (Gentileza del señor Fujinaga, CT, IAC, Hospital de la Prefectura de Hyogo en Amagasaki, Japón.)

Fig. 1034. Células de linfosarcoma primario de la vejiga urinaria. *a*, En la orina emitida. *b*, En impresiones del tumor resecado. Nótese la membrana nuclear delicada, con indentaciones ocasionales.

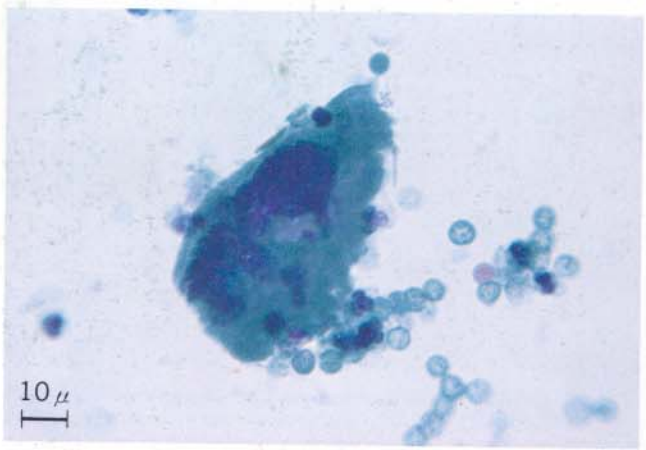


Fig. 1035. Célula sincitial trofoblástica en la orina cateterizada. Esta célula gigante multinucleada sincitial en una orina hemorrágica proviene de un coriocarcinoma de la pared vesical.

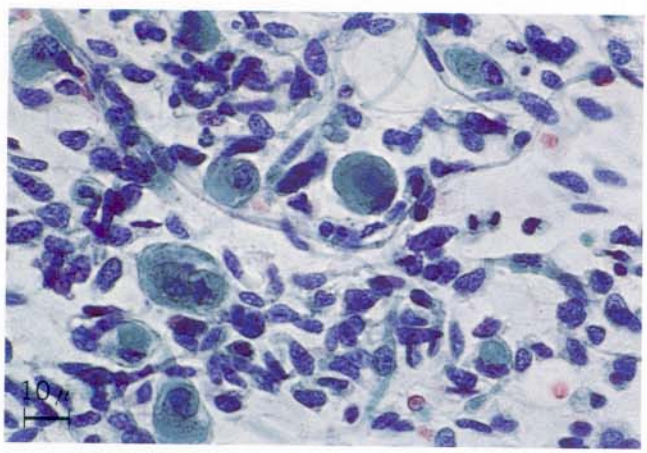


Fig. 1036. Células sarcomatosas pleomórficas en una impresión de un rabdomiosarcoma juvenil de vejiga. Tumor mesenquimático muy celularizado consistente en células fusiformes y en células redondeadas en forma de raqueta. Se ven algunas células cónicas entremezcladas. Las estrías trasversales se demostraron con la tinción PTAH.

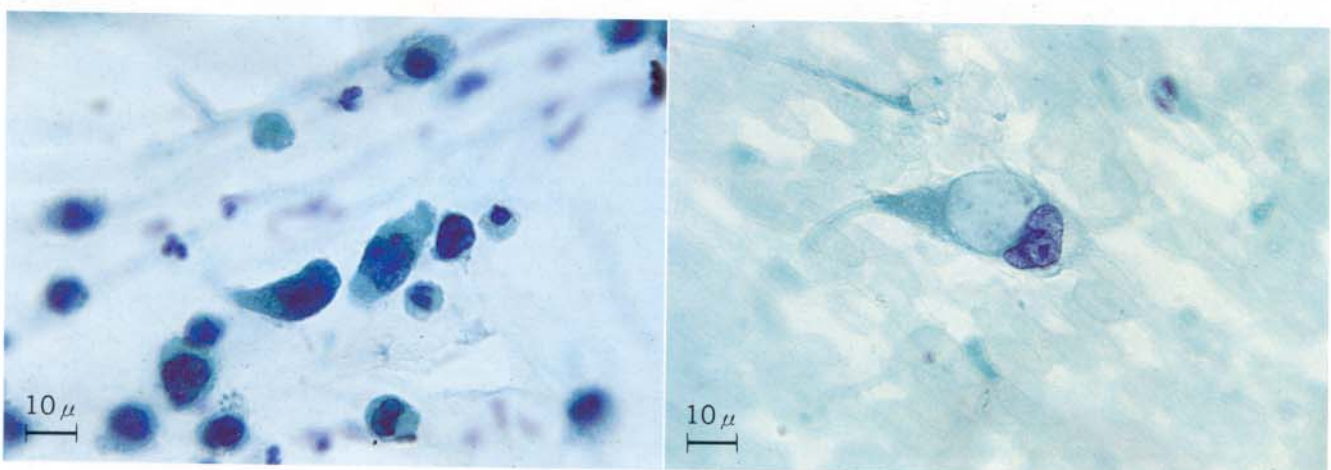


Fig. 1037. Células fibrosarcomatosas en la orina. Fibrosarcoma mesentérico que toma la vejiga. Las células tumorales son fusiformes y de núcleos pleomórficos. No está engrosado el borde nuclear.

células epiteliales de la glándula salival, sino también a diversos órganos, como hígado, vías biliares, túbulos renales, epitelio bronquial, etc. Este cuerpo de inclusión contiene DNA.[77] Las células afectadas son más grandes y sus núcleos contienen grandes inclusiones basófilas, aunque a veces acidófilas (figs. 1038 y 1039). La inclusión está en el centro de los núcleos, rodeada por un halo claro. La membrana nuclear es más gruesa por la cromatina condensada. Bolande[11] dice que la inclusión es acidófila en la etapa inicial y se torna basófila a medida que la infección de la célula progresa. En el sedimento urinario fresco se suelen observar células afectadas hasta en el 28 % de los niños normales[73] porque muchas veces las células del epitelio tubular renal se afectan en forma subclínica por el citomegalovirus a temprana edad.[4, 7, 9, 27, 55, 73] El alto porcentaje de neonatos con anticuerpos fijadores de complemento para citomegalovirus (71 %), sugeriría traslado de anticuerpos maternos a través de la placenta.[74] Warner y col.[91] los encontraron en muestras de esputo, Blanc en los lavados gástricos[8] y McElfresh y col. en el líquido cefalorraquídeo.[59]

Los pacientes adultos que estuvieron en tratamiento inmunosupresivo son susceptibles a la infección citomegaloviral. La infección por virus polioma puede causar una inclusión intranuclear que es grande, central y basófila. El halo que rodea a la inclusión no es tan distintivo como el de la infección citomegaloviral. Además, en la infección por el poliomavirus se afectan varias células epiteliales.[16]

12. *Schistosoma haematobium* y carcinogénesis

La bilharziasis se manifiesta con emisión de sangre con la orina, a veces asociada con disentería pasajera. En una etapa ulterior el paciente empieza a tener una sensación urente al orinar junto con estranguria (cólicos por espasmo vesical). Los huevos se introducen en la pared vesical, originando hiperplasia del epitelio mucoso y una multiplicidad de abscesos minúsculos. En ocasiones esta parasitosis se asocia con neoplasia maligna. Se planteó la cuestión de si la infección por *Schistosoma haematobium* origina un crecimiento inflamatorio del urotelio y si esto induce un cáncer invasor.[99] Hicks y col. postulan que la esquistosomiasis endémica aporta el estímulo proliferativo que acelera el crecimiento del cáncer en pacientes que reciben bajas dosis de un cancerígeno urotelial.[95] En la carcinogénesis del urotelio también está el hecho de que en la orina de egipcios y europeos con bacteriuria se detectó el cancerígeno nitrosamina.[96] Los huevos del esquistosoma aparecen en el sedimento urinario; son amarillos pálidos y de forma oval elongada, con una espina terminal conspicua. Miden 110 a 170 por 40 a 70 μ y poseen una pared refringente bastante gruesa.

13. Cuerpos de inclusión citoplasmáticos

Las diversas inclusiones intracitoplasmáticas no se deben confundir con las del citomegalovirus. Las inclusiones mucinosas que se ven en las células epiteliales transicionales y en las células gigantes multinucleadas son globulosas con halos limitantes, y se presentan grises a pardas al colorearlas con Papanicolaou.[25] Se confirman por su citología positiva para el azul alciano o el PAS tras la digestión con diastasa.

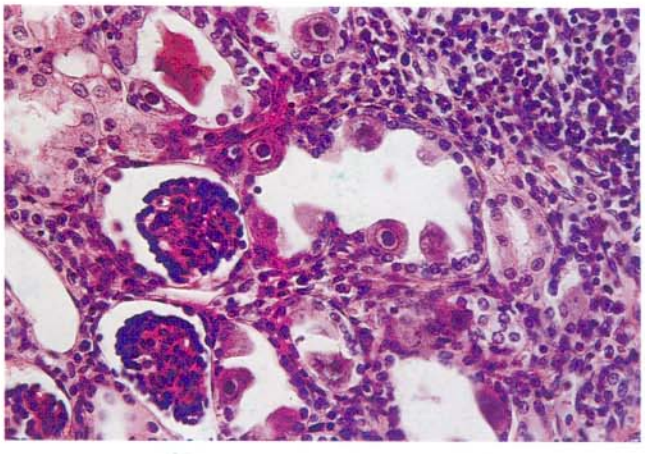


Fig. 1038. Riñón de un neonato infectado por citomegalovirus. Muchas inclusiones intranucleares rodeadas por halos claros en las células de los túbulos renales. (Gentileza del profesor Montenegro, M., y del doctor Tani, E., Facultad de Medicina de la Universidad de Botucatu, São Paulo, Brasil.)

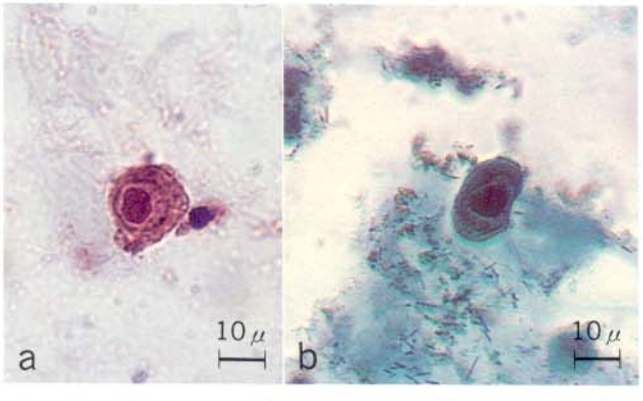


Fig. 1039. Inclusión citomegalovirósica en una célula tubular agrandada. La célula epitelial infectada se caracteriza por: 1) considerable agrandamiento del núcleo, 2) inclusión intranuclear cianófila a basófila con un halo y 3) engrosamiento de la membrana nuclear. (Gentileza del doctor Vieira e Silva, C. R., São Paulo, Brasil.)

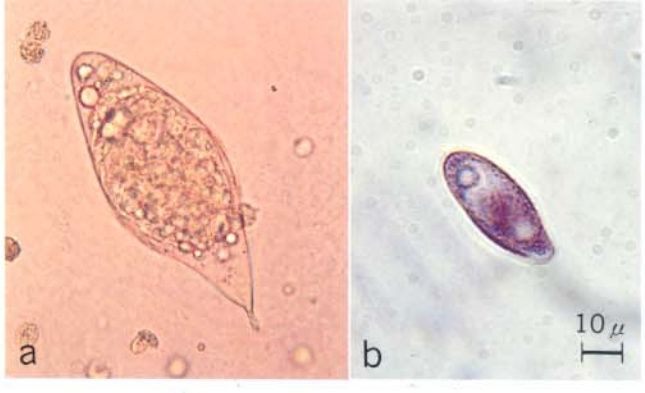


Fig. 1040. Huevo maduro de *Schistosoma haematobium*. *a*, En el sedimento fresco aparece un huevo viable caracterizado por una espina terminal nítida y un miracidio bien embrionado. *b*, *Schistosoma haematobium* coloreado con Papanicolaou en la orina de un hombre africano de 25 años que tenía hematuria persistente. Es probable que no sea viable porque el miracidio no se ve.

También puede haber inclusiones acidófilas inespecíficas en células epiteliales en vías de degeneración,[62] a menudo asociadas con enfermedades virales como sarampión y varicela (cuadro 96); son simples o múltiples, redondas y muy eosinófilas, y semejan la ciliocitoftoria de las células del epitelio respiratorio. Las inclusiones son PAS negativas y dan color rojizo con Azan-Mallory. Como la presencia de estas inclusiones eosinófilas se asocia con cariorrexis, se las atribuye al proceso degenerativo.

Addendum: Inclusión basófila y/o célula empastada. Hemos observado células uroteliales muy degeneradas e ingurgitadas en los sedimentos urinarios de lactantes con infección de vías aéreas superiores, a menudo asociada con conjuntivitis. Las figuras representativas son unas masas basófilas densamente granulares o difusamente dispersas y una inclusión intranuclear basófila semejante a una inclusión de Cowdry tipo A (fig. 1042). Lo primero es comparable a la "célula empastada" que se describió en la infección adenoviral.[100] En nuestro entender, hasta ahora no se ha descrito la causa ni el mecanismo de estas alteraciones nucleares en la orina, exceptuando la comunicación de Coleman[16, 103] sobre infecciones poliomatosas en receptores de aloinjertos renales y la de Horiuchi y col.[97] sobre virosis asociadas con leucemia. Nuestra observación de inclusiones intranucleares basófilas peculiares cargadas de viriones compatibles con partículas de poliomavitus B. K., sugirieron la patogenicidad del poliomavirus en las infecciones de la niñez.

Cuadro 96. Frecuencia de inclusiones eosinófilas del sedimento urinario en exámenes aleatorios en una clínica de pediatría[39]

Enfermedades no virales		*Enfermedades virales*	
Casos examinados	*1.650*	*99*	
Con inclusiones	*133 (8,1%)*	*71 (71,7%)*	
Diagnóstico clínico	*Casos*	*Diagnóstico clínico*	*Casos*
Bronquitis aguda	28	Parotiditis	63
Faringitis aguda	27	Roséola infantil	3
Nefritis	22	Sarampión	2
Amigdalitis aguda	16	Rubéola	1
Enteritis aguda	11	Estomatitis herpética	1
Estreptococia	7	Infección por poliomavirus**	1
Infección de vías urinarias	7		
Cistitis hemorrágica	5		
Neumonía atípica*	3		
Hidronefritis	2		
Vulvitis	1		
Coqueluche	1		
Vómitos periódicos	1		
Linfoma maligno	1		
Trastorno alérgico	1		

* Uno de estos casos fue sospechoso de infección adenoviral.
** Fueron características las inclusiones intranucleares basófilas (véase fig. 1042).

14. Malacoplaquia

Los cuerpos intracitoplasmáticos de Michaelis-Guttmann[64, 89] en los macrófagos grandes (células de von Hanse-

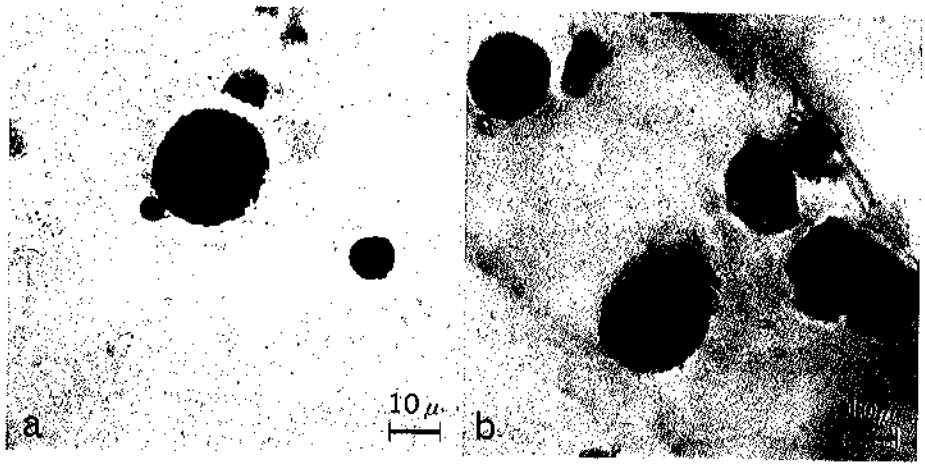


Fig. 1041. Inclusiones acidófilas intracitoplasmáticas semejantes a ciliocitoftoria respiratoria en un paciente con varicela. Estas células con inclusiones son frecuentes en las infecciones virales agudas como sarampión, alastrim y varicela. *a*, Coloración de Azan-Mallory. *b*, Coloración de Papanicolaou.

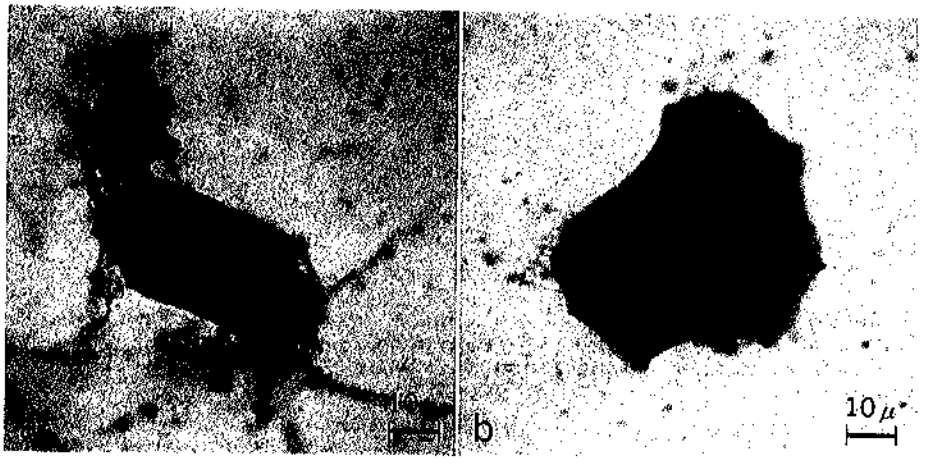


Fig. 1042. Células uroteliales que simulan neoplasia maligna y contienen grandes inclusiones intranucleares basófilas. De la orina emitida por una niña de 3 años hospitalizada por infección respiratoria aguda con fiebre. A pesar de la intensa tinción nuclear por la hematoxilina, la pérdida o reducción de la reacción de Feulgen se atribuyó a una infección por numerosos viriones compatibles con poliomavirus hallados en la microscopía electrónica. *a*, Las llamadas células empastadas, cargadas de una masa basófila granulosa o difusamente dispersa. *b*, Inclusión intranuclear compatible con una inclusión de Cowdry tipo A.

mann) del sedimento urinario hacen el diagnóstico de malacoplaquia (figs. 1043 y 1044). Estos cuerpos son esféricos, de 2 a 10 μ de diámetro, presentan laminaciones concéntricas y concreciones tingibles con hematoxilina con figuras pálidas centrales.[61] En la microscopia electrónica los cuerpos de Michaelis-Guttmann aparecen en los fagosomas y se forman en ellos; las bacterias incorporadas en los fagosomas persisten como unas aglomeraciones amorfas densas por compromiso de la digestión enzimática. Con posterioridad estas aglomeraciones se mineralizan. Thorning y Vracko[85] las atribuyeron a un bloqueo de la acidificación intralisosómica por la sulfamidoterapia. Hace poco aparecieron otros trabajos[42, 48] sugestivos de que los estados inmunosuprimidos se relacionan con la génesis de la malacoplaquia. Viana de Camargo y col.[20] describen una niña de corta edad en que la causa fue malnutrición. Los cuerpos de Michaelis-Guttmann son positivos al PAS, negro Sudán B y Rojo Oleoso O. Además son positivos para la tinción de von Kossa para calcio y de Perl para hierro.[3] La malacoplaquia es una lesión rara que se caracteriza por una placa gris amarillenta de medio a un centímetro de diámetro en la mucosa de la vejiga urinaria, uréteres y pelvis renal. Histológicamente consiste en una infiltración masiva por numerosos macrófagos con cuerpos de Michaelis-Guttmann o sin ellos.

15. Células en cometa

Las células en cometa (Papanicolaou) o en señuelo (Ricci) son unas células degenerativas que simulan cáncer y que a menudo aparecen en la orina de los que trabajan con colorantes de anilina. Se caracterizan por poseer unos núcleos redondos u ovales con cromatinas gruesas o cromatinas oscuras homogéneas. El citoplasma falta o es pequeño y presenta unas escasas prolongaciones a modo de acrocordones.[18]

16. Células centelleantes en la orina

En el sedimento urinario aparecen unos leucocitos polimorfonucleares que exhiben movimientos brownianos de gránulos intracitoplasmáticos a la microscopia sobre fondo

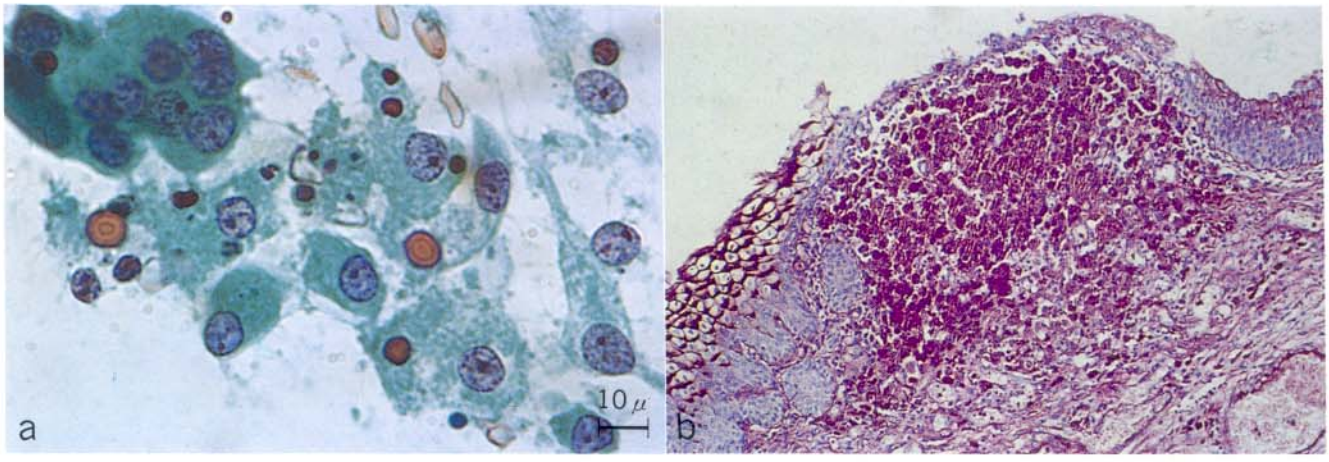


Fig. 1043. Histología de la malacoplaquia y su impresión citológica. *a*, Cuerpos característicos de Michaelis-Guttmann en el citoplasma de los macrófagos. En la impresión, se comprueba que provienen de un pequeño nódulo amarillento de la vejiga urinaria. Los cuerpos laminados fueron positivos en las tinciones para calcio de Von Kossa y para hierro de Perl. (Gentileza del doctor Viana de Camargo, J. L., Facultad de Medicina de la Universidad de Botucatu, São Paulo, Brasil.) *b*, Placa sésil de mucosa vesical en la cistitis por malacoplaquia. La placa un tanto elevada está constituida por aglomeraciones de macrófagos intensamente PAS positivos. Estos macrófagos tienen cuerpos de Michaelis-Guttmann incluidos.

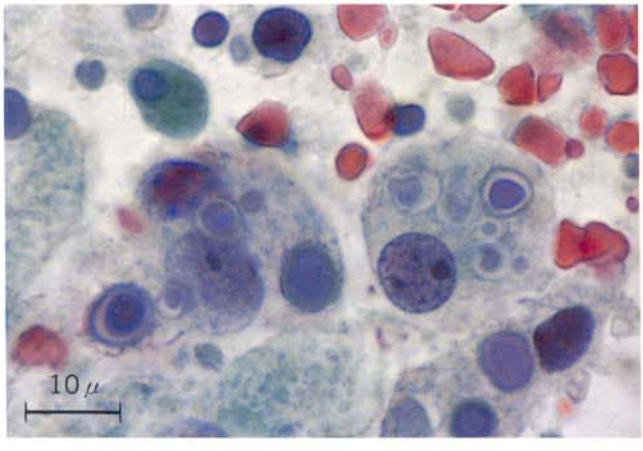


Fig. 1044. Malacoplaquia y sus respectivas inclusiones. En la impresión de una placa amarillenta aparecen muchas inclusiones basófilas redondas en el citoplasma de los macrófagos. Algunas inclusiones se acompañan de formación de halos. Las inclusiones dan la reacción PAS positiva. (Gentileza del doctor Kawachi, J., Hospital de la Prefectura de Miyazaki, Miyazaki, Japón.)

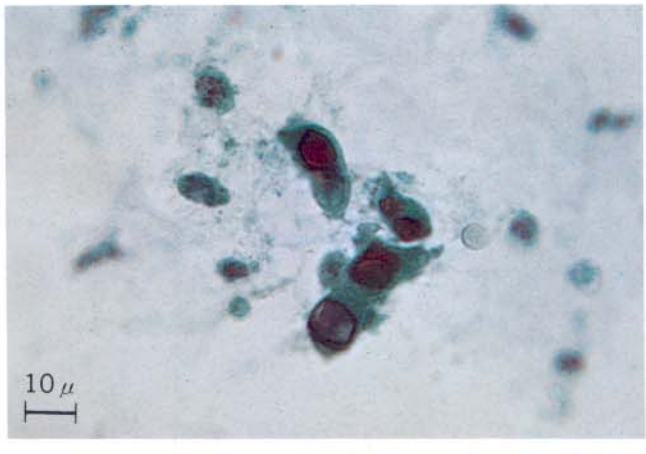


Fig. 1045. Células en señuelo exfoliadas en forma individual en la orina. Nótense los núcleos irregulares con cromatinas condensadas y el citoplasma elongado con colas.

oscuro. Estos leucocitos, que Schilling (1908)[79] denominó células centelleantes, se distinguen con facilidad mediante tinción supravital con solución de violeta de genciana y safranina 0 (Sternheimer y Malbin[83]). Con esta coloración se reconocen dos tipos de leucocitos: 1) Unos leucocitos pequeños muy teñidos, con núcleos de color violeta rojizo y un citoplasma purpúreo tenue, en el cual hay unos gránulos inmóviles. A éstos se los considera leucocitos superanulares. 2) Células centelleantes más grandes que las anteriores. Estos leucocitos tienen núcleos celestes y un citoplasma incoloro o celeste tenue en el que existen unos finos gránulos con activos movimientos brownianos. Algunos de estos leucocitos más grandes y más pálidos no exhiben movimiento de gránulos intracitoplasmáticos y aparecen en la orina hipertónica de densidad mayor de 1,020.[93]

Los movimientos brownianos de los gránulos intracitoplasmáticos son influidos por la concentración de electrólitos o presión osmótica; son conspicuos y duran mucho tiempo en la orina hipotónica de una densidad de alrededor de 1,015.

Importancia clínica de las células centelleantes

La presencia de células centelleantes se atribuyó a pielonefritis[83] y no a inflamación de las vías urinarias inferiores. Poirier y Jackson[70] realizaron un estudio comparativo entre la punción biopsia del riñón y el análisis de orina, y confirmaron que cuantos más leucocitos inflamatorios infiltran el estroma renal, más células centelleantes aparecen en el sedimento urinario. También se reconoció que no ocurren células centelleantes en la etapa de curación de la pielonefritis, en particular después de la antibioticoterapia. Hoy se considera que la gran cantidad de leucocitos con núcleos teñidos de azul significan inflamación activa en el tracto urinario, cualquiera que sea el sitio de la lesión.[32] Aunque hay cierta coincidencia sobre la gran frecuencia de las células centelleantes en la pielonefritis, éstas también pueden presentarse en varios otros estados, como glomerulonefritis, enfermedad de Kimmelstiel-Wilson[5] y cistitis,[71] de modo que no se las debe considerar específicas de la pielonefritis.

En nuestro laboratorio llegamos a la conclusión de que se ven a menudo en la orina hipotónica de densidad menor de 1,020 y de menos de 700 mOsm/litro. Los casos que tienen más de 10 % de células centelleantes y más del 50 % de leucocitos viables con un tinte celeste pálido con la tinción de Sternheimer-Malbin, son muy sugestivos de enfermedad infecciosa del tracto urinario.

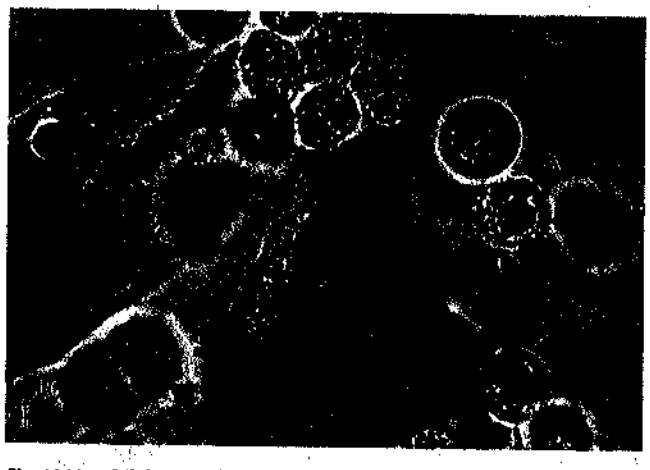


Fig. 1046. Células centelleantes en la orina de un caso de pielonefritis aguda. Pequeños leucocitos sobreanillados contienen gránulos gruesos inmóviles (*A*) y una célula centelleante (*B*) con finos gránulos dotados de movimientos brownianos en el citoplasma incoloro.

17. Citología del rechazo de aloinjertos

Aspectos generales

En el rechazo agudo de aloinjertos, que comienza con signos clínicos de dolor abdominal, fiebre y aumento de la creatinina sérica, los sedimentos urinarios exhiben exudación de gran cantidad de linfocitos y neutrófilos, exfoliación de células tubulares y aparición de cilindros granulosos en la semana consecutiva a la operación;[36, 80] más de 15 células tubulares en 10 campos de gran aumento significan rechazo. También es importante en el rechazo la presencia de cilindros granulosos y hemáticos sobre un fondo sucio. En la respuesta eficaz al tratamiento, la linfociturla y la exfoliación de células tubulares tienden a disminuir. Coleman[16] señaló la infección por poliomavirus después del trasplante renal. En la orina de los receptores de aloinjertos renales muchas veces se ven células epiteliales degenerativas de rasgos característicos, como núcleos basófilos en vidrio esmerilado sin halos, relación N/C aumentada y ocasionales inclusiones en ojo de pájaro. Se considera que estas células están infectadas por el poliomavirus.[16]

Rechazo del trasplante renal

En los mecanismos de rechazo intervienen la inmunidad celular y la humoral. En el mecanismo celular participan linfocitos T sensibilizados, granulocitos con enzimas lisosómicas y macrófagos.

El *rechazo hiperagudo* que se presenta a las pocas horas del trasplante se debe a la presencia de anticuerpos preexistentes; se observa que el injerto no se vascularlza, que se forman trombos de fibrina en el receptor tras la adherencia de neutrófilos y plaquetas, y que ocurre degeneración isquémica de los túbulos e infiltración por linfocitos, neutrófilos y macrófagos.

El *rechazo agudo* que ocurre a los pocos días, es mediado por los mecanismos celular y humoral; se considera que predomina la acción citocida directa de los linfocitos T y la reacción de los macrófagos activados por linfocinas. El rechazo agudo puede ocurrir mucho después en pacientes que han estado en tratamiento con inmunosupresores. Las manifestaciones clínicas de rechazo agudo se reconocen por una disminución gradual de la función renal después de una buena emisión urinaria inicial.

El *rechazo crónico* se caracteriza por una pérdida gradual de la función renal, junto con proteinuria e hipertensión, meses o años después del trasplante.

Perfil citológico de la orina en los trasplantados renales

1) Receptor sano. En la semana consecutiva al trasplante, el sedimento urinario del receptor se caracteriza por descamación de células transicionales y tubulares, junto con una pequeña cantidad de leucocitos y cilindros granulosos. En

consecuencia, el perfil urinario es muy parecido al de los individuos normales, excepto la mezcla con algunas células tubulares. Las células del epitelio tubular aparentan ser un tanto activas en el receptor que no tiene rechazo; estas células tienden a formar una aglomeración acinosa y despliegan agrandamiento celular en conjunto. Los núcleos grandes son redondos y de contornos lisos.

2) Paciente con crisis de rechazo. La emisión de orina disminuye y sobrevienen fiebre, aumento de peso e hipertensión. Esta crisis de rechazo es reversible en su mayor parte si se aumenta la dosis de corticosteroides y se administra azatioprina (antimetabolito) o ciclofosfamida (agente alquilante). Los criterios de citología urinaria sugestivos de rechazo son:

1. Aumento de hematíes[12]
2. Aumento de linfocitos, a veces con formación de cilindros linfocitarios[12]
3. Aparición de muchas células tubulares degeneradas con cromatinas picnóticas o empastadas y citoplasma colicuado o acidófilo[68]
4. Presencia de un fondo granuloso sucio que contiene detritos celulares[12]
5. Mezcla con diversos tipos de cilindros.[12]

3) Alteraciones asociadas con la terapia inmunosupresiva. El perfil citológico de la crisis de rechazo puede mejorar haciendo terapia intensiva; en cambio, en el sedimento urinario se puede superponer una infección oportunista, como una micosis o una virosis. En los últimos tiempos se señaló que en estas infecciones es más importante la sobrevida del paciente que la del injerto.[76]

18. Deshidrogenasa láctica en citología urinaria

En vista de que el peso molecular de la LDH es de alrededor de 135.000, la mayoría de la LDH urinaria proviene de las células del nefrón y del urotelio. Aunque no hay especifi-

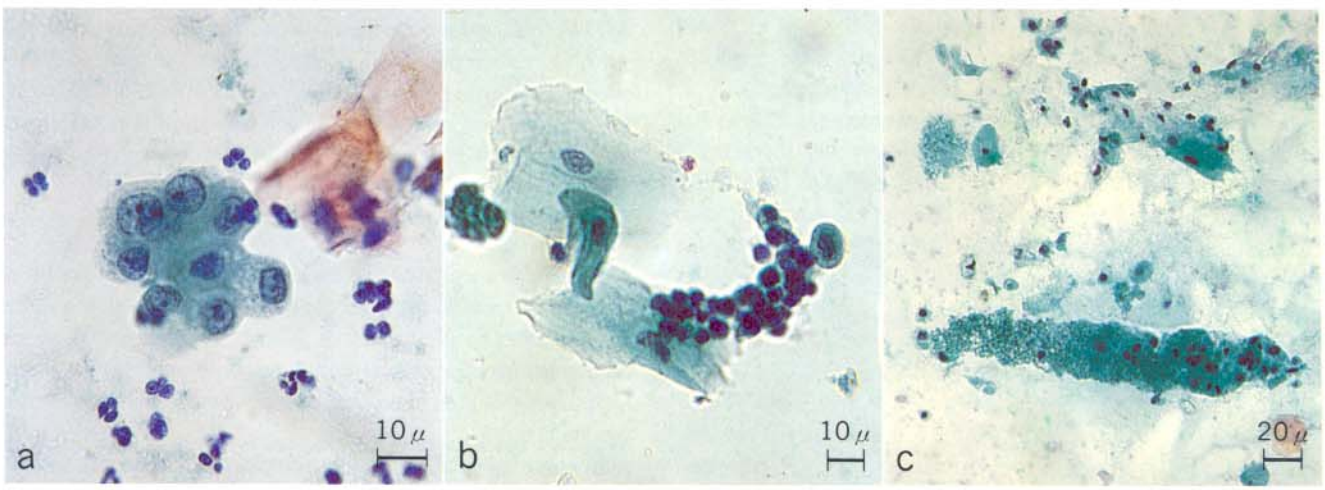


Fig. 1047. Crisis de rechazo agudo a los 10 días de un trasplante renal. *a*, Descamación de células tubulares ingurgitadas. Los núcleos y los nucléolos están agrandados, pero los núcleos normocrómicos de cromatina finamente granular y el citoplasma adecuado y edematoso son bastante sugestivos de alteración degenerativa incipiente. *b*, Cilindro linfocitario constituido por dos o tres columnas de linfocitos. *c*, Cilindro granular fino que contiene células degeneradas.

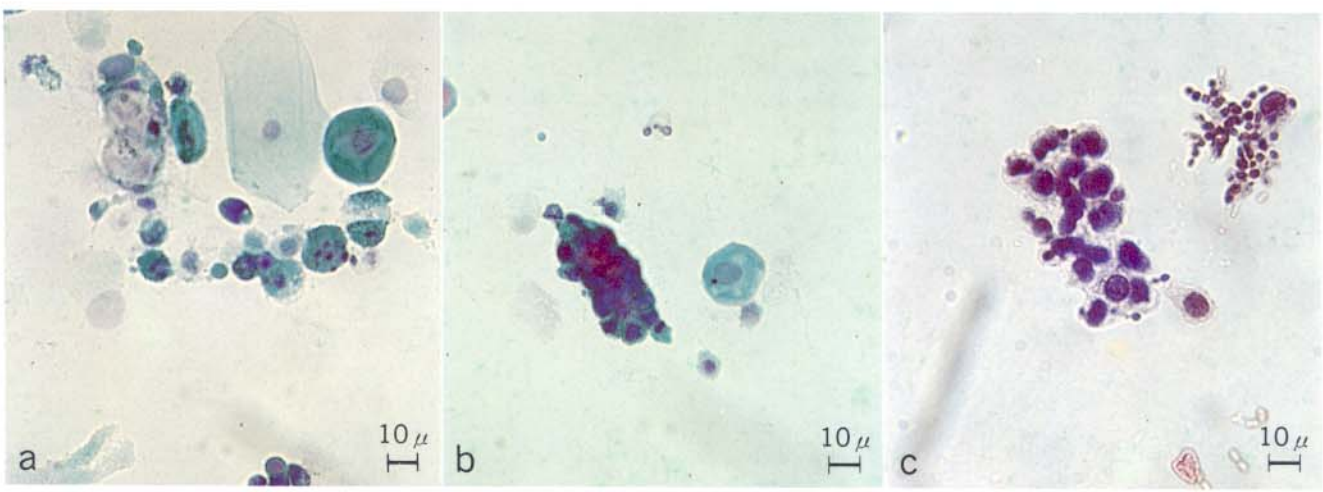


Fig. 1048. Crisis de rechazo agudo durante la terapia inmunosupresiva al mes y medio de un trasplante renal. *a*, Células tubulares y epiteliales transicionales degeneradas. *b*, Cilindro de células epiteliales degeneradas. *c*, Candidiasis debida a la inmunosupresión. También se ven células degeneradas.

cidad de la LDH urinaria como actividad en conjunto, conviene determinarla para descartar tumores uroteliales porque la citología urinaria por el método convencional es menos sensible que la citología de otros sistemas orgánicos. Kern y Webster[40] señalaron la importancia de este prueba en los casos no neoplásicos que exhiben baja actividad de LDH, porque en sus estudios la mayoría de los casos con valores negativos o bajos de LDH prácticamente no tuvieron tumores malignos, salvo un caso de un diminuto tumor papilífero, mientras que en un 58 % de los pacientes con alto nivel de LDH hubo carcinoma urotelial. Es muy probable que la inespecificidad de la reacción positiva se deba a que se mide la actividad total de LDH, en la que participan los exudados inflamatorios y los tejidos lesionados por neoplasia o por inflamación. Se sabe que la glucólisis excesiva del tejido neoplásico se relaciona específicamente con la fracción M de la isoenzima de LDH.[40]

Hemos hallado importante determinar la isoenzima de LDH en estudios con electroforesis en gel de poliacrilamida, agrupando de este modo a los sujetos: 1) Orina sin cáncer vesical, 2) orina con cáncer vesical y citología negativa, 3) orina con cáncer vesical y citología positiva, 4) extractos celulares de células transicionales malignas y 5) extractos celulares de células transicionales normales (cuadro 97).

Procedimiento. Después de haber medido la LDH total con el método de Wroblewski y LaDue, se concentró la orina hasta unas 300 U/ml por medio de una bolsa de colodión y una bomba de vacío de agua. Para obtener extractos celulares lo más puros posible, la capa celular se recogió con el método capilar, de la manera descripta con anterioridad (p. 133). Las isoenzimas se calcularon mediante densitometría a partir de la electroforesis en gel de poliacrilamida empleando buffer de ácido bórico (pH 8,3; 140 voltios 90 minutos a 10° C). A raíz del estudio hallamos que la orina de pacientes con cáncer vesical tenía elevadas las LDH 4 y LDH 5, cualquiera que fuese la clasificación de Papanicolaou ($p<0,05$), en comparación con la de pacientes no neoplásicos. También se esclareció que las células cancerosas habían sido responsables de la fracción M de LDH, según se halló en la orina con citología positiva y en los extractos de células cancerosas.

Cuadro 97. Isoenzimas de LDH en la orina

Grupo \ Isoenzima	Nº de casos	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	M/H*
Orina sin cáncer vesical	11	41,3 ±8,3	31,9 ±6,3	20,0 ±8,0	5,7 ±5,0	1,1 ±1,3	0,30 ±0.05
Citología urinaria negativa	6	29,8 ±13,2	28,8 ±10,2	20,4 ±7,2	15,5 ±3,9	5,5 ±1,8	0,55 ±0.06
Citología urinaria positiva	9	16,5 ±9,0	25,4 ±7,9	22,9 ±5,9	19,9 ±6,2	15,3 ±1,6	0,92 ±0,10
Extracto de células urinarias cancerosas	10	6,9 ±6,9	13,3 ±9,7	19,4 ±10,1	30,0 ±11,0	30,5 ±17,0	2,85 ±0,12
Extracto de células transicionales normales	5	25,3 ±7,8	27,4 ±12,5	35,7 ±15,8	9,3 ±1,4	2,3 ±2,2	0,51 ±0,08

* Véase nota al pie de la página 131.

De acuerdo con el estudio de Bredin y col.,[13] quienes emplearon homogenizados de tumores uroteliales, la inversión de la relación de subunidades M a H se observó en los cánceres de grado III y IV. Mencionan que la alteración de la síntesis de LDH en el carcinoma indiferenciado se debe a la activación del control genético que concierne a la subunidad M. No se sabe del todo bien por qué el trazado de isoenzima LDH del tumor papilífero de grado bajo no se desvía mayormente del correspondiente al urotelio normal. En citodiagnóstico práctico existe una técnica citoquímica para demostrar la subunidad M mediante inhibición con urea (fig. 1049).

19. Citología prostática

El masaje de próstata se hace con facilidad, aunque no es tan eficaz como la punción aspiradora transrectal con aguja de Franzen. Si el masaje es eficaz, se obtienen diversos elementos formes: células epiteliales columnares y pavimentosas, macrófagos, hematíes, cuerpos amiláceos, espermatozoides y otros.

El *masaje prostático* se hace presionando la próstata con el pulpejo del dedo índice desde su borde lateral hacia la línea media, para exprimir la secreción hacia la uretra prostática.

La *punción aspiradora transrectal* con el instrumento

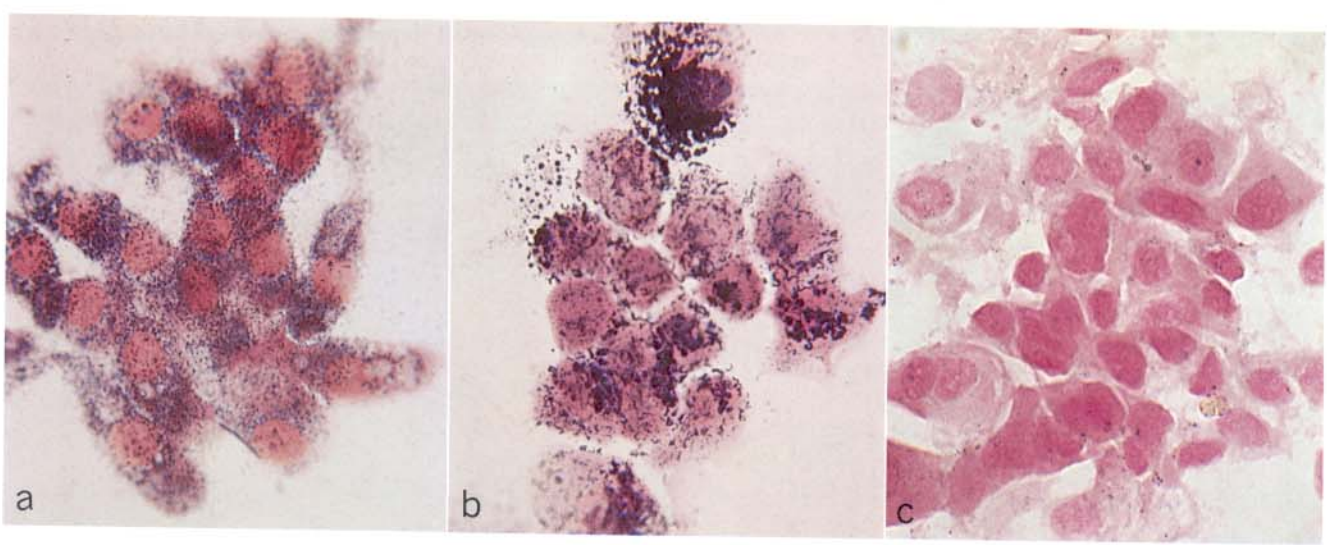


Fig. 1049. Propiedades citoquímicas de LDH de las células uroteliales benignas y de las cancerosas transicionales. *a*, Células uroteliales normales que exhiben subunidades H de LDH resistentes a la urea 2,6 M. *b*, Células cancerosas transicionales de grado III con intensa tinción para LDH. *c*, Células cancerosas transicionales de grado III con pérdida completa de las subunidades M de LDH por acción de la urea 2,6 M.

aspirador de Franzen es más confiable en citodiagnóstico que el examen de los sedimentos urinarios y del líquido prostático. La aguja, con su guía, es flexible, mide unos 20 cm de largo y es fina (calibre 22); esto facilita la recolección de muestras de tumores y de lesiones no neoplásicas de la próstata:

1. Tuberculosis, que se caracteriza por células epitelioides.
2. Prostatitis eosinófila granulomatosa, que presenta infiltración de eosinófilos, plasmocitos y células gigantes de tipo Touton.
3. Hiperplasia glandular, constituida por láminas de células columnares grandes pero uniformes y de citoplasma abundante.

Apéndice: Clasificación TNM de los tumores del tracto urinario *

RIÑÓN

Reglas para la clasificación

La clasificación sólo rige para el carcinoma de células renales. Aunque se excluye el adenoma, tales casos se deben consignar por separado. Debe hacerse la verificación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

* Harmer, M.H.: TNM Classification of Malignant Tumours, 3ª ed. Ginebra, UICC, 1978.



Fig. 1050. Cuerpos amiláceos en la secreción prostática. Las concreciones prostáticas son poligonales, muy bien delineadas y a veces laminadas. Se ve una pequeña cantidad de espermatozoides.

1051



Fig. 1051. Aglomeración de células epiteliales prostáticas obtenidas mediante masaje prostático. Las células acinosas de la próstata se hallan dispuestas en láminas. El citoplasma es adecuado y de aspecto vesiculoso fino. Los núcleos presentan una distribución granular fina de la cromatina.

Fig. 1052. Células de cáncer prostático en el sedimento urinario tras el masaje de la próstata. La aglomeración de células dispuestas en ácinos, la superposición nuclear (*a*) y la excentricidad de los núcleos (*b*) sugieren el tipo glandular. Nótense los grumos gruesos de cromatina, los espacios intercromatínicos claros y los nucléolos prominentes, que satisfacen los criterios de malignidad.



1052a



1052b

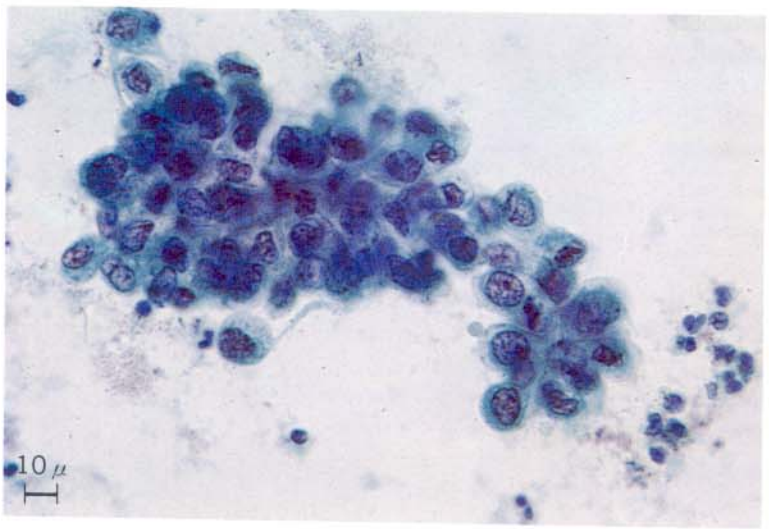


Fig. 1053. Células adenocarcinomatosas en la orina de un caso de carcinoma de próstata. Muchas veces las células del cáncer de próstata se emiten al final de la micción. Nótese la distribución papilotubular de estas células.

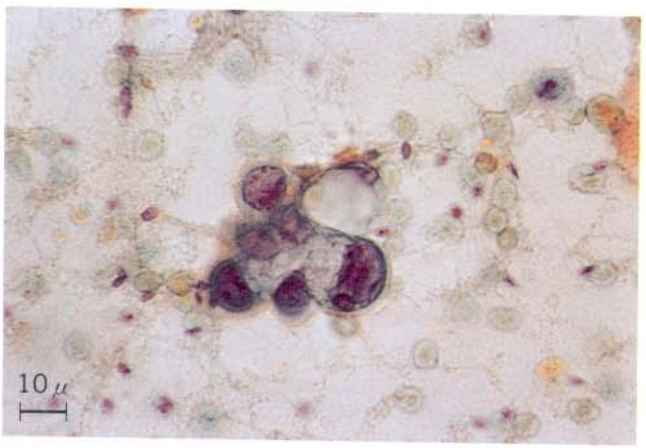


Fig. 1054. Células adenocarcinomatosas de la próstata. Nótense la variación de tamaño de los núcleos y la vacuolización citoplasmática. Estas células malignas de tipo glandular aparecieron mezcladas con espermatozoides en un semen sanguinolento.

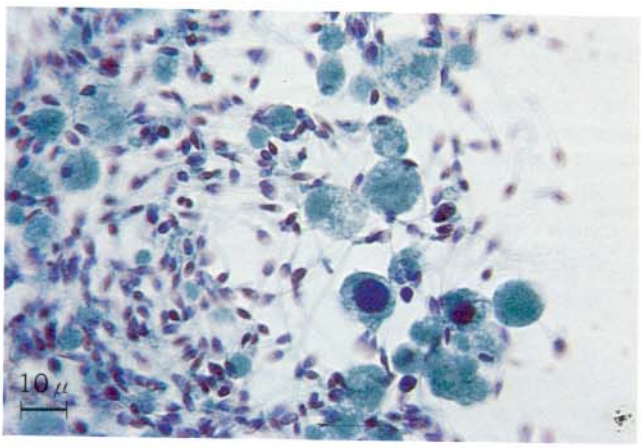


Fig. 1055. Espermatozoides maduros y espermatocitos inmaduros en un aspirado de punción. Nótese la maduración de grandes células mononucleadas a espermatozoides, pasando por células inmaduras denudadas de citoplasma oscuro.

Los siguientes son los requisitos mínimos para estimar las categorías T, N y M. Si no se las puede satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico, urografía y arteriografía antes del tratamiento definitivo. Se recomienda la venocavografía.

Categorías N: Examen clínico y radiografías, incluso linfografía y urografía.

Categorías M: Examen clínico y radiografía. En los tumores primarios más avanzados o si la sospecha clínica los justifica, se recomiendan estudios radiográficos o isotópicos.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

	Si no se hace arteriografía, se adopta el símbolo TX.
T0	Sin signos de tumor primario.
T1	Evidencia de un tumor pequeño sin agrandamiento del riñón. Existe una deformidad o distorsión calicial limitada y deformidades vasculares circunscriptas, rodeadas por parénquima renal.
T2	Evidencia de tumor grande con deformidad *y/o* agrandamiento del riñón *o bien* compromiso calicial *o* de la pelvis renal. La continuidad de la corteza está preservada en la arteriografía.
T3	Evidencia de diseminación a la grasa perirrenal, a la grasa peripelviana o a los vasos del hilio renal.
T4	Evidencia de propagación a órganos vecinos o a la pared abdominal.
TX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Los ganglios linfáticos regionales son los paraaórticos y los paracavos.

Los ganglios linfáticos yuxtarregionales son los intrapelvianos, los mediastinales y los supraclaviculares.

N0	Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencias de compromiso de un solo ganglio linfático regional unilateral.
N2	Evidencias de compromiso de ganglios regionales linfáticos contralaterales, bilaterales o múltiples.
N3	Evidencias de compromiso de ganglios regionales fijos (esto sólo se puede determinar en la exploración quirúrgica).
N4	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos yuxtarregionales.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer los ganglios linfáticos regionales y/o yuxtarregionales.

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT - Tumor primario
Las categorías pT concuerdan con las categorías T.

G - Grados histopatológicos

G1	Grado alto de diferenciación.
G2	Grado mediano de diferenciación.
G3	Grado bajo de diferenciación o indiferenciación.
GX	No se puede establecer el grado.

V - Invasión de venas

V0	Las venas no contienen tumor.
V1	La vena renal contiene tumor.
V2	La vena cava contiene tumor.
VX	No se puede estimar la invasión venosa.

pN - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales
Las categorías pN concuerdan con las categorías N.

pM - Metástasis a distancia
Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Por ahora no se recomienda agrupar por etapas.

RESUMEN

Riñón

T1	Tumor pequeño sin agrupamiento del riñón
T2	Tumor grande sin interrupción de la cortical
T3	Propagación perirrenal o hiliar
T4	Propagación a órganos vecinos
N1	Regional homolateral simple
N2	Contralateral o bilateral, regionales múltiples
N3	Regionales fijos
N4	Yuxtarregionales
V1	Vena renal tomada
V2	Vena cava tomada

VEJIGA

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para los tumores epiteliales. Se excluye el papiloma, pero estos casos deben consignarse en la categoría "G0". El carcinoma no invasor papilífero se debe consignar en la categoría Ta.

Tiene que haber verificación histológica o citológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Los siguientes son los requisitos mínimos para establecer las categorías T, N y M. Si no se los puede satisfacer, adóptense los símbolos TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico, urografía, cistoscopia, examen bimanual bajo anestesia y biopsia o resección transuretral del tumor (si está indicada) antes de hacer el tratamiento definitivo.

Categorías N: Examen clínico y radiografías, incluso linfografía y urografía.

Categorías M: Examen clínico y radiografías. En los tumores primarios más avanzados o si la sospecha clínica lo justifica, se recomiendan estudios radiográficos o isotópicos.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Tis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*): "Tumor plano".
Ta	Carcinoma no invasivo papilífero.
T0	Sin signos de tumor primario.
T1	Al examen bimanual se puede palpar un bulto móvil: este bulto no se debe palpar tras la resección transuretral completa de la lesión, *y/o* en el examen microscópico el tumor no invade más allá de la lámina propia.
T2	Induración móvil de la pared vesical al examen bimanual. No hay induración residual tras la resección transuretral completa de la lesión *y/o* existe invasión microscópica del músculo superficial.
T3	Al examen bimanual se palpa una induración *o* un bulto nodular móvil en la pared vesical, que persiste después de la resección transuretral de la porción exofítica de la lesión *y/o* hay invasión del músculo profundo o propagación a través de la pared vesical.
	T3a Invasión del músculo profundo.
	T3b Invasión a través de la pared vesical.
T4	Tumor fijo o propagado a una estructura vecina *y/o* hay signos microscópicos de tal compromiso.
	T4a Tumor que infiltra la próstata, útero o vagina.
	T4b Tumor fijo a la pared pelviana *y/o* pared abdominal.
	Nota: Se puede agregar el sufijo (m) a la respectiva categoría T para indicar tumores múltiples, p. ej. T2 (m).
TX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

Los ganglios linfáticos regionales son los pelvianos que están debajo de la bifurcación de las arterias ilíacas primitivas.

Los ganglios linfáticos yuxtarregionales son los inguinales, los ilíacos primitivos y los paraaórticos.

N0	Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencia de compromiso de un solo ganglio linfático regional homolateral.
N2	Evidencia de compromiso de los ganglios linfáticos contralaterales, bilaterales o regionales múltiples.
N3	Evidencia de compromiso de ganglios linfáticos regionales fijos (hay un bulto fijo en la pared de la pelvis y un espacio libre entre ésta y el tumor).
N4	Evidencia de compromiso de los ganglios linfáticos yuxtarregionales.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer los ganglios linfáticos regionales y/o yuxtarregionales.

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT - Tumor primario

pTis	Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
pTa	Carcinoma no invasor papilífero.
pT0	Sin signos de tumor en el examen histológico de la pieza.
pT1	Tumor no propagado más allá de la lámina propia.
pT2	Tumor con invasión del músculo superficial (no más de la mitad de la túnica muscular).
pT3	Tumor con invasión del músculo profundo (más de la mitad de la túnica muscular) o con invasión del tejido perivesical.
pT4	Tumor con invasión de la próstata u otros elementos extravesicales.
pTx	No se puede establecer la extensión de la invasión.

G - Grados histopatológicos

"G0"	Papiloma, es decir, sin evidencias de anaplasia.
G1	Grado alto de diferenciación.
G2	Grado mediano de diferenciación.
G3	Grado bajo de diferenciación.
GX	No se puede establecer el grado.

L - Invasión de linfáticos

L0 Sin invasión linfática.
L1 Evidencias de invasión de linfáticos superficiales.
L2 Evidencias de invasión de linfáticos profundos.
LX No se puede establecer la invasión linfática.

pN - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales
Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia
Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Por ahora no se recomienda agrupar por etapas.

RESUMEN

Vejiga

Tis *In situ:* "Tumor plano"
Ta No invasor papilífero
T1 Bulto móvil, ausente tras la resección transuretral (RTU)
Lámina propia
T2 Pared indurada, ausente tras la RTU
Músculo superficial
T3 Persiste un bulto o induración tras la RTU
T4 Fijo o propagado a órganos vecinos
N1 Uno solo, regional, homolateral
N2 Contralaterales, bilaterales o múltiples
N3 Regionales fijos
N4 Yuxtarregionales

PRÓSTATA

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.
Tiene que hacerse la verificación histológica de la enfermedad para poder dividir los casos por el tipo histológico. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.
Los siguientes son los requisitos mínimos para establecer las categorías T, N y M. Si no se los puede reunir, adóptense los símbolos TX, NX o MX.
Categorías T: Examen clínico, urografía, endoscopia y biopsia (si está indicada) antes del tratamiento definitivo.
Categorías N: Examen clínico y radiografías, incluso linfografía y urografía.
Categorías M: Examen clínico, radiografías, estudios esqueléticos y las pruebas bioquímicas que correspondan.

GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES Y YUXTARREGIONALES

Los ganglios linfáticos regionales son los pelvianos por debajo de la bifurcación de las arterias ilíacas primitivas.
Los ganglios linfáticos yuxtarregionales son los inguinales, los ilíacos primitivos y los paraaórticos.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Tis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
T0 No se palpa tumor.

Nota: Esta categoría comprende el hallazgo casual de carcinoma en una pieza operatoria o en la biopsia. Estos casos deben colocarse en la categoría pT que corresponda.

T1 Tumor intracapsular rodeado por una glándula normal a la palpación.
T2 Tumor confinado a la glándula. Nódulo liso que deforma el contorno pero no toma los surcos laterales ni las vesículas seminales.
T3 Tumor que se extiende más allá de la cápsula tomando o no los surcos laterales y/o vesículas seminales.
T4 Tumor fijo o que infiltra estructuras vecinas.

Nota: Se puede agregar el sufijo (m) a la respectiva categoría T para indicar tumores múltiples, como T2 (m).

TX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer el tumor primario.

N - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales

N0 Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1 Signos de compromiso de un solo ganglio linfático regional homolateral.
N2 Evidencia de compromiso de ganglios linfáticos contralaterales, bilaterales o regionales múltiples.
N3 Signos de compromiso de ganglios linfáticos regionales fijos (bulto fijo en la pared de la pelvis con un espacio libre entre ésta y el tumor).
N4 Evidencias de compromiso de los ganglios linfáticos yuxtarregionales.

Nota: Si la linfografía indica propagación a los ganglios linfáticos yuxtarregionales se recomienda biopsiar el ganglio escaleno.

NX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer los ganglios linfáticos regionales y/o yuxtarregionales.

M - Metástasis a distancia

M0 Sin signos de metástasis a distancia.
M1 Evidencias de metástasis a distancia.
MX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSQUIRÚRGICA

pT - Tumor primario

pTis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
pT0 No se observan evidencias de tumor en el examen histológico de la pieza.
pT1 Carcinoma focal (solitario o múltiple).
pT2 Carcinoma difuso propagado a la cápsula o no.
pT3 Carcinoma con invasión más allá de la cápsula *y/o* invasión de las vesículas seminales.
pT4 Tumor con invasión de órganos adyacentes.
pTX No se puede establecer la extensión de la invasión.

G - Grados histológicos

G1 Grado alto de diferenciación.
G2 Grado mediano de diferenciación.
G3 Grado bajo de diferenciación *o* indiferenciado.
GX No se puede establecer el grado.

pN - Ganglios linfáticos regionales y yuxtarregionales.
Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia
Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Por ahora no se recomienda agrupar por etapas.

RESUMEN

Próstata

T0	Carcinoma incidental
T1	Intracapsular, glándula normal
T2	Intracapsular, glándula deformada
T3	Propagación más allá de la cápsula
T4	Propagación fija a órganos vecinos
N1	Un solo ganglio regional homolateral
N2	Contralaterales, bilaterales o regionales múltiples
N3	Regionales fijos
N4	Yuxtarregionales

BIBLIOGRAFÍA

1. AREI, J. B.: Malignant neoplasms in early life. J. Pediat., *35*: 776, 1949.
2. ARRIGHI, A. A., and TERZANO, G.: Urinary cytology during pregnancy. Acta Cytol., *3*: 298, 1959.
3. ASHTON, P. R., and LAMBIRD, P. A.: Cytodiagnosis of malakoplakia. Report of a case. Acta Cytol., *14*: 92, 1970.
4. BANCROFT, J., SEYBOLT, J. F., and WINDHAGER, H. A.: Cytologic diagnosis of cytomegalic inclusion disease. Acta Cytol., *5*: 182, 1961.
5. BERMAN, L. B., SCHREINER, G. E., and FEYS, J. O.: Observations on the Glitter-cell phenomenon. N. Engl. J. Med., *255*: 989, 1956.
6. BIOT, R., and BERTRAN NUÑEZ, R.: Modificationes periódicas del sedimento urinario en relación con el ciclo menstrual. Su posible aplicación como test de ovulación. Semana Med. (Buenos Aires), *2*: 532, 1944.
7. BIRDSONG, M., SMITH, D. E., MITCHELL, F. N., and COREY, J. H., Jr.: Generalized cytomegalic inclusion disease in newborn infants. J. A. M. A., *162*: 1305, 1956.
8. BLANC, W. A.: Cytologic diagnosis of cytomegalic inclusion disease in gastric washings. Am. J. Clin. Path., *28*: 46, 1957.
9. BLANC, W. A., and GÄETZ, R.: Simplified millipore filter technique for cytomegalic inclusion disease in examination of the urine. Pediatrics, *29*: 61, 1962.
10. BLOOM, N. A., VIDONE, R. A., and LYTTON, B.: Primary carcinoma of the ureter: A report of 102 new cases. J. Urol., *103*: 590, 1970.
11. BOLANDE, R. P.: Cellular Aspects of Developmental Pathology. Philadelphia, Lea & Febiger, 1967.
12. BOSSEN, E. H., JOHNSTON, W. W., AMATULLI, J., and ROWLANDS, D. T., Jr.: Exfoliative cytopathologic studies in organ transplantation. III. The cytologic profile of urine during acute renal allograft rejection. Acta Cytol., *14*: 176, 1970.
13. BREDIN, H. C., DALY, J. J., and PROUT, G. R., Jr.: Lactic dehydrogenase isoenzymes in human bladder cancer. J. Urol., *113*: 487, 1975.
14. BRODERS, A. C.: Epithelioma of the genitourinary organs. Ann. Surg., *75*: 574, 1922.
15. COLE, P.: Lower Urinary Tract. *In* SCHOTTENFELD, D. (Ed.): Cancer Epidemiology and Prevention. pp. 233-262. Springfield, C. C Thomas, 1975.
16. COLEMAN, D. V.: The cytodiagnosis of human polyomavirus infection. Acta Cytol., *19*: 93, 1975.
17. CRABBE, J. G. S.: Exfoliative cytological control in occupational cancer of the bladder. Br. Med. J., *2*: 1072, 1962.
18. CRABBE, J. G. S.: 'Comet' or 'Decoy' cells found in urinary sediment smears. Acta Cytol., *15*: 303, 1971.
19. DARGEON, H. W.: Cancer in children from birth to fourteen years of age. J. A. M. A., *136*: 459, 1948.
20. DECAMARGO, J. L. V., GREGÓRIO, E. A., RODRIGUES, M. A. H., and CALDES, M. L.: Malcoplasia em "face precoce" na infancia: Relato de caso com observacões ultra-estruturais. Revta Paul Med., *94*: 34, 1979.
21. DEDEN, C.: Cancer cells in urinary sediment. Acta Radiol. Suppl. Stockh., *115*: 1, 1954.
22. DEL CASTILLO, E. B., ARGONZ, J., and GALLI MAININI, C.: Cytological cycle of urinary sediment and its parallelism with vaginal cycle. J. Clin. Endocrinol., *8*: 76, 1948.
23. DEMING, C. L.: The biological behavior of transitional cell papilloma of the bladder. J. Urol., *63*: 815, 1950.
24. DE VOOGT, H. J., RATHERT, P., and BEYER-BOON, M. E.: Urinary Cytology: Phase Contrast Microscopy and Analysis of Stained Smears. Berlin, Heiderberg, New York, Springer-Verlag, 1977.
25. DORFMAN, H. D., and MONIS, B.: Mucin-containing inclusions in multinucleated giant cells and transitional epithelial cells of urine: Cytochemical observations on exfoliated cells. Acta Cytol., *8*: 293, 1964.
26. DUKES, C. E.: Tumours of the Bladder. Edinburgh, E & S Livingstone, 1959.
27. FETTERMAN, G. H.: A new laboratory aid in the clinical diagnosis of inclusion disease of infancy. Am. J. Clin. Path., *22*: 424, 1952.
28. GRAHAM, R. M. with members of The Vincent Memorial Laboratory Staff: The Cytologic Diagnosis of Cancer. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1954.
29. HAJDU, S. I.: Exfoliative cytology of primary and metastatic Wilms' tumors. Acta Cytol., *15*: 339, 1971.
30. HAJDU, S. I., SAVINO, A., HAJDU, E. O., and KOSS, L. G.: Cytological diagnosis of renal cell carcinoma with the aid of fat stain. Acta Cytol., *15*: 31, 1971.
31. HARMAN, J. W., and HOGAN, J. M.: Multinucleated epithelial cells in the tubules of the human kidney. Arch. Path., *47*: 29, 1949.
32. HARRIS, D. M.: Staining of urinary leucocytes as an aid to the diagnosis of inflammation in the urinary tract. J. Clin. Path., *22*: 492, 1969.
33. HARRISON, J. H., BOTSFORD, T. W., and TUCKER, M. R.: The use of the smear of the urinary sediment in the diagnosis and management of neoplasm of the kidney and bladder. Surg. Gynec. Obstet., *92*: 129, 1951.
34. HOLMQUIST, N. D.: Diagnostic Cytology of the Urinary Tract in Monographs in Clinical Cytology. Basel, S. Karger, 1977.
35. HOPMAN, B. C.: Clinical Cytology and Cytologic Research. Miami, Miami Post Publishing Co., 1960.
36. HRUSHESKY, W., SAMPSON, D., and MURPHY, G. P.: Lymphocyturia in human renal allograft rejection. Arch. Surg., *105*: 424, 1972.
37. JASKE, G., SCHNEIDER, H.-M., and JACOBI, G. H.: Urachal signet-ring cell carcinoma, a rare variant of vesical adenocarcinoma: Incidence and pathological criteria. J. Urol., *120*: 764, 1978.
38. JOHNSON, W. D.: Cytopathological correlations in tumors of the urinary bladder. Cancer, *17*: 867, 1964.
39. KASAI, A., KUBO, I., and TAKAHASHI, M.: Detection of inclusion bearing cells in the urine. J. Med. Technol., *24*: 820, 1980.
40. KERN, W. H., and WEBSTER, W. W.: Combined lactic acid dehydrogenase and cytologic examinations of urine in the diagnosis of cancer of the urinary tract. Acta Cytol., *8*: 302, 1964.
41. KMETZ, D. R., and NEWTON, W. A., Jr.: The role of clinical cytology in a pediatric institution. Acta Cytol., *7*: 207, 1963.
42. KONNAK, J. W., and HART, W. R.: Malakoplakia of

the prostate in an immunosuppressed patient. J. Urol., *116*: 830, 1976.

43. Koss, L. G.: Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1968.
44. Kretschmer, H. L., and Stika, E. A.: Papilloma of the bladder, life after fulguration. J. A. M. A., *141*: 1039, 1949.
45. Lencioni, L. J.: Comparative and statistical study of vaginal and urinary sediment smears. J. Clin. Endocrinol., *13*: 263, 1953.
46. Lencioni, L. J.: El Urocitograma. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 1963.
47. Lencioni, L. J., Martinez Amezaga, L. A., and Lo Biango, V. S.: Urocytogram and pregnancy. 1. Methods and normal values. Acta Cytol., *13*: 279, 1969.
48. Lewin, K. J., Fair, W. R., Steigbigel, R. T., Winberg, C. D., and Droller, M. J.: Clinical and laboratory studies into the pathogenesis of malakoplakia. J. Clin. Path., *29*: 354, 1976.
49. Lippmann, R. W.: Urine and the Urinary Sediment: A Practical Manual and Atlas, 2nd ed. Springfield, Ill., Charles C Thomas Publisher, 1957.
50. Loening, S. A., Jacobo, E., Hawtrey, C. E., and Culp, D. A.: Adenocarcinoma of the urachus. J. Urol., *119*: 68, 1978.
51. Lucke, B., and Schlumbuger, H. G.: Tumors of the kidney, renal pelvis and ureter. Atlas of Tumor Pathology. Washington D. C., AFIP, 1957.
52. Macfarlane, E. W. E.: Some pathologic conditions affecting urine cytology. Acta Cytol., *7*: 196, 1963.
53. Macfarlane, E. W. E.: The appearance of multinucleated cells in the urine after purgation. Acta Cytol., *10*: 104, 1966.
54. Makhyoun, N. A., El-Kashlan, K. M., Al-Ghorab, M. M., and Mokhles, A. S.: Aetiological factors in bilharzial bladder cancer. J. Trop. Med. Hyg., *74*: 73, 1971.
55. Margileth, A. M.: The cytodiagnosis and treatment of generalized cytomegalic inclusion disease of the newborn. Pediatrics, *15*: 270, 1955.
56. Marshall, V. F.: Current clinical ploblems regrading bladder tumors. Cancer, *9*: 543, 1956.
57. McDonald, J. R.: Exfoliative cytology in genitourinary and pulmonary diseases. Am. J. Clin. Path., *24*: 684, 1954.
58. McDonald, J. R., and Priestley, J. T.: Carcinoma of renal pelvis. Histopathologic study of seventy-five cases with special reference to prognosis. J. Urol., *51*: 245, 1944.
59. McElfresh, A. E., and Arey, J. B.: Generalized cytomegalic inclusion disease. J. Pediat., *51*: 146.
60. Meisels, A.: Cytology of carcinoma of the kidney. Acta Cytol., *7*: 239, 1963.
61. Melamed, M. R.: The urinary sediment cytology in a case of malakoplakia. Acta Cytol., *6*: 471, 1962.
62. Melamed, M. R., and Wolinska, W. H.: On the significance of intracytoplasmic inclusions in urinary sediment. Am. J. Path., *38*: 711, 1961.
63. Melamed, M. R., Koss, L. G., Ricci, A., and Whitmore, W. F.: Cytohistological observations on developing carcinoma of the urinary bladder in man. Cancer, *13*: 67, 1960.
64. Michaelis, L., and Guttmann, C.: Über Einschlüsse in Blasentumoren: über Malakoplakie der Harnblase. Virchows Arch. path. Anat., *173*: 302, 1903.
65. Milsten, R., Frable, W. J., Texter, J. H., and Paxson, L.: Evaluation of lipid stain in renal neoplasms as adjunct to routine exfoliative cytology. J. Urol., *10*: 169, 1973.
66. Nichols, J. A. et al: Treatment of biologically benign papilloma of the urinary bladder by local excision and fulguration. Cancer, *9*: 566, 1956.
67. Nieburgs, H. E.: Diagnostic Cell Pathology in Tissue and Smears. New York, Grune & Stratton, 1967.
68. O'Morchoe, P. J., Erozan, Y. S., Cooke, C. R., Walker, W. G., O'Morchoe, C. C. C., Traystman, M. D., Cowles, L. T., Dorsch, R. F., and Frost, J. K.: Exfoliative cytology in the diagnosis of immunologic rejection in the transplanted kidney. Acta Cytol., *20*: 454, 1976.
69. Papanicolaou, G. N., and Marshall, V. F.: Urine sediment smears as diagnostic procedure in cancers of urinary tract. Science, *101*: 519, 1945.
70. Poirier, K. P., and Jackson, G. G.: Characteristics of leukocytes in the urine sediment in pyelonephritis. Am. J. Med., *23*: 579, 1957.
71. Reubi, F., Goodgold, A., and Schmid, A.: La présence de cellules de Sternheimer Malbin dans le sédiment urinaire est-elle liée a l'existence d'une pyélonephrite ? Helvet Med. Acta, *20*: 392, 1953.
72. Riches, E. W., Griffiths, I. H., and Thackray, A. C.: New growths of the kidney and ureter. Br. J. Urol., *23*: 297, 1951.
73. Rowe, W. P., Hartley, J. W., Cramblett, H. G., and Mastrota, F. M.: Detection of human salivary gland virus in the mouth and urine of children. Am. J. Hyg., *67*: 57, 1958.
74. Rowe, W. P., Hartley, J. W., Waterman, S., Turner, H. C., and Huebner, R. J.: Cutopathogenic agents resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *92*: *418*, 1956.
75. Rutecki, G. J., Goldsmith, C., and Schriener, G. F.: Characterization of proteins in urinary casts. N. Engl. J. Med., *284*: 1049, 1971.
76. Salvatierra, O., and Feduska, N. J.: Renal transplantation. *In* Smith, D. R. (Ed.): General Urology, 9th ed. Los Altos, Calif., Lange Medical Publication, 1978.
77. Sandritter, W., Müller, D., and Mantz, O.: Zur Histochemie der Cytomegalie. Frankfurt. Z. Path., *70*: 589, 1960.
78. Sano, M. E., and Koprowska, I.: Primary cytologic diagnosis of a malignant renal lymphoma. Acta Cytol., *9*: 194, 1965.
79. Schilling, V.: Lebende weisse Blutkörperchen im Dunkelfeld: Beiträge zur normalen und degenerativen Struktur, besonders der Neutrophilen. Folia Haemat., *6*: 429, 1908.
80. Schumann, G. B., Burleson, R. L., Henry, J. B., and Jones, D. B.: Urinary cytodiagnosis of acute renal allograft rejection using the cytocentrifuge. Am. J. Clin. Path., *67*: 134, 1977.
81. Schumann, G. B., Harris, S., and Henry, J. B.: An improved technic for examining urinary casts and a review of their significance. Am. J. Clin. Path., *69*: 18, 1978.
82. Sternheimer, R.: A supravital cytodiagnostic stain for urinary sediments. J. A. M. A., *231*: 826, 1975.
83. Sternheimer, R., and Malbin, B.: Clinical recognition of pyelonephritis, with a new stain for urinary sediments. Am. J. Med., *11*: 312, 1951.
84. Takahashi, M., and Ito, K.: Color Atlas of Urinary Sediments. Tokyo, Uchudo-Yagishoten, 1979.
85. Thorning, D., and Vracko, R.: Malakoplakia: Defect in digestion of phagocytized material due to impaired vacuolar acidification. Arch. Path., *99*: 456, 1975.

86. TWEEDDALE, D.N.: Urinary Cytology. Boston, Little, Brown and Company, 1977.
87. UMIKER, W., LAPIDES, J., and SOURENNE, R.: Exfoliative cytology of papillomas and intraepithelial carcinomas of the urinary bladder. Acta Cytol., *6*: 255, 1962.
88. UTZ, D.C., HANASH, K.A., and FARROW, G.M.: The plight of the patient with carcinoma in situ of the bladder. J. Urol., *103*: 160, 1970.
89. VON HANSEMANN: Über Malakoplakie der Harnblase. Virchows Arch. Path. Anat. Phys., *173*: 302, 1903.
90. VOUTSA, N.G., and MELAMED, M.R.: Cytology of in situ carcinoma of the human urinary bladder. Cancer, *16*: 1307, 1963.
91. WARNER, N.E., MCGREW, E.A., and NANOS, S.: Cytologic study of the sputum in cytomegalic inclusion disease. Acta Cytol., *8*: 311, 1964.
92. WOODARD, B.H., IDEKER, R.E., and JOHNSTON, W.W.: Cytologic detection of malignant melanoma in urine. A case report. Acta Cytol., *22*: 350, 1978.
93. YANAKA, M., ETO, M., KUROSAWA, A., and TAKAHASHI, M.: Studies on glitter cells in urine. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *6*: 181, 1967.

Addendum

94. HAJDU, S.I.: Exfoliative cytology of primary and metastatic Wilms' tumors. Acta Cytol., *15*: 339, 1971.
95. HICKS, R.M., JAMES, C., and WEBBE, G.: Effect of Schistosoma haematobium and N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine on the development of urothelial neoplasia in the baboon. Br. J. Cancer, *42*: 730, 1980.
96. HICKS, R.M., WALTERS, C.L., ELSEBAI, I., ELAASSER, A.B., EL-MERZABANI, M., and GOUGH, T.: Demonstration of N-nitrosamines in human urine. Proc. Roy. Soc. Med., *70*: 413, 1977.
97. HORIUCHI, F., TAKEDA, B., IHARA, S., OKUI, K., and YONEMITSU, H: Studies of cellular morphology suggesting viral infection in the urine of patients with malignant lymphoma and leukemia. J. Jap. Soc. Clin. Cytol., *17*: 196, 1978.
98. KOSS, L.G.: Tumors of the urinary bladder. *In* Atlas of Tumor Pathology. Bethesda, Maryland, AFIP, 1975.
99. KUNTZ, R.E., CHEEVER, A.W., BRYAN, G.T., MOORE, J.A., and HUANG, T.: Natural history of papillary lesions of the urinary bladder in schistosomiasis. Cancer Res., *38*: 3836, 1978.
100. STRANO, A.J.: Light microscopy of selected viral diseases (morphology of viral inclusion bodies). Pathology Annual, *11*: 53, 1976.
101. SUNDERLAND, H., and LEDERER, H.: Prostatic aspiration biopsy. Br. J. Urol., *43*: 603, 1971.
102. WILLIAMS, J.P., STILL, B.M., and PUGH, R.C.B.: The diagnosis of prostatic cancer: Cytological and biochemical studies using the Franzen biopsy needle. Br. J. Urol., *39*: 549, 1967.
103. COLEMAN, D.V., GARDNER, S.D., and FIELD, A.M.: Human polyomavirus infection in renal allograft recipients. Br. Med. J., *3*: 371, 1973.

28 Ganglios linfáticos

1. Recolección de muestras y preparación de extendidos

Comentario general

El ganglio linfático es el órgano más apropiado para hacer citología con los aspirados de punción y para preparar impresiones. Desde que Guthrie[42] describió en 1921 la punción diagnóstica de ganglios linfáticos, se publicaron muchos trabajos vinculados con procedimientos para realizar diagnósticos hematológicos y patológicos de trastornos hematopoyéticos como diversos tipos de linfoma y leucemia.[89, 106, 108, 109, 112] La principal ventaja de la técnica es que es sencilla y no deja cicatriz. Además es importante determinar si hay diseminación cancerosa en los ganglios linfáticos regionales haciendo un extendido de impresión en el acto operatorio, para establecer el pronóstico y el tratamiento quirúrgico.

Técnica

Las técnicas para recoger las muestras son idénticas a las que se describieron en el capítulo sobre la mama: 1) Punzar el ganglio linfático con una aguja hipodérmica siliconada de longitud apropiada y jeringa de 20 o 10 ml (2,5 a 6 cm de largo por 0,5 a 0,9 mm de diámetro externo), y 2) preparar impresiones del ganglio linfático.

El ganglio linfático hasta se puede aspirar en el consultorio externo bajo anestesia local. Con una mano se maneja la jeringa y con la otra se fija el ganglio linfático tumefacto (Franzén) (fig. 1056).[33] Aunque para obtener muestras de un ganglio linfático afectado en forma difusa es suficiente una aguja hipodérmica fina, a veces el aspirado no representa en su totalidad los cambios histológicos y pueden pasar inadvertidos pequeños focos metastásicos de un tumor maligno. Por lo tanto, la citología negativa de la punción aspiradora no descarta el cáncer; las impresiones, en cambio, permiten diagnosticar metástasis cancerosas, así como linfoma y otras enfermedades afines, cuando sólo se reciben muestras pequeñas. Se transeca sin pérdida de tiempo el ganglio linfático fresco no fijado y se aplica su superficie de corte contra un portaobjeto de vidrio limpio. Es mejor hacer dos o tres impresiones en un portaobjeto –una cada vez que se presiona– que una impresión sola, porque alguna de ellas habrá de proveer una película satisfactoria para observar la alteración estructural. Una técnica conveniente para obtener un buen extendido es aplicar con fuerza el portaobjeto sobre la superficie de corte del ganglio linfático fijado con una pinza. Si la superficie de corte se desliza contra el portaobjeto los elementos celulares se deforman. Esta maniobra de presión simple es la mejor técnica para captar las alteraciones histológicas de un ganglio linfático tal como son. Además de la tinción de Papanicolaou para las células linfomatosas es importante adoptar la coloración de May-Grünwald-Giemsa.

2. Histología de los ganglios linfáticos

En la superficie convexa del ganglio existen varios vasos linfáticos aferentes que entran en los senos marginales. La linfa sale por los vasos eferentes del hilio. El seno está constituido por las mallas de células reticuloendoteliales o retoteliales. El parénquima del ganglio se halla dividido en dos compartimientos, la región cortical y la medular. La cortical contiene nódulos linfáticos poblados por unos linfocitos pequeños densamente aglomerados; mientras que los folículos primarios simplemente consisten en linfocitos pequeños, los folículos secundarios poseen unos centros germinativos poco tingibles (fig. 1057). Los centros germinativos son globulosos, contienen diversos componentes celulares, que se describen abajo, y se los considera el centro de la linfocitopoyesis así como de la reacción inmunitaria. La zona paracortical no tiene un aspecto distinto, pero desde el punto de vista funcional es diferente al centro germinativo,

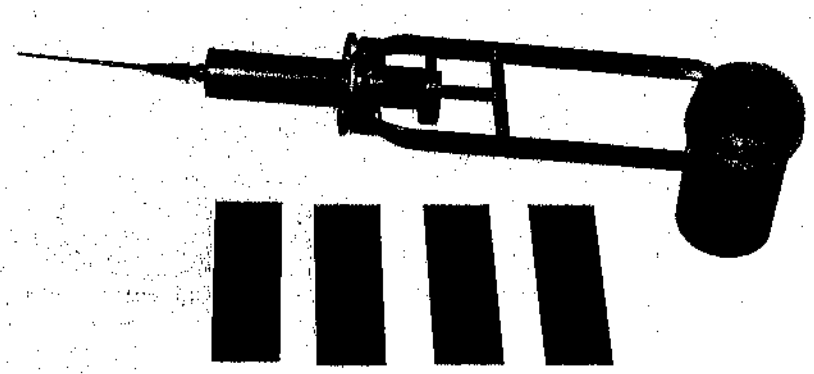
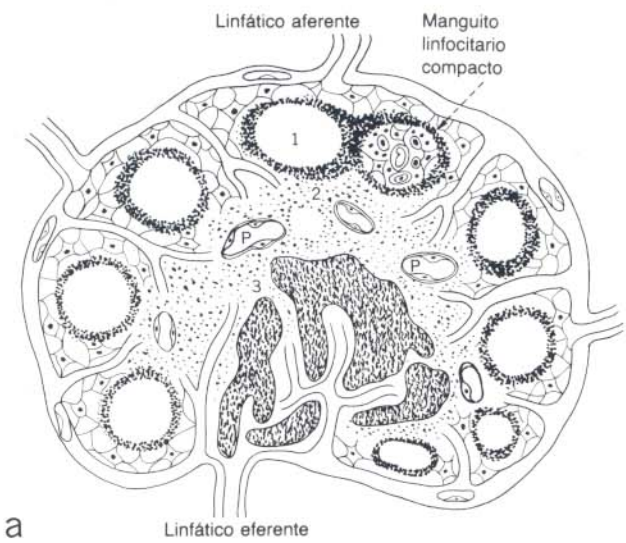
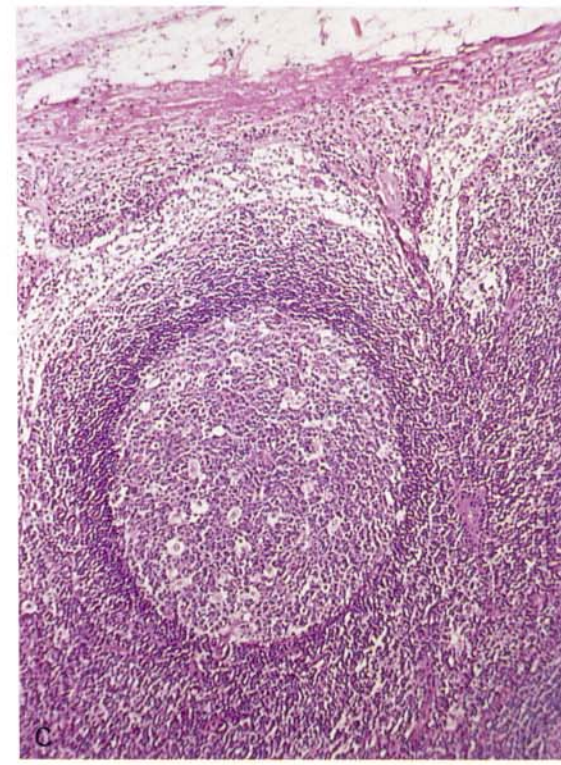


Fig. 1056. Aparato descartable de Franzén-Stormby para punción aspiradora.





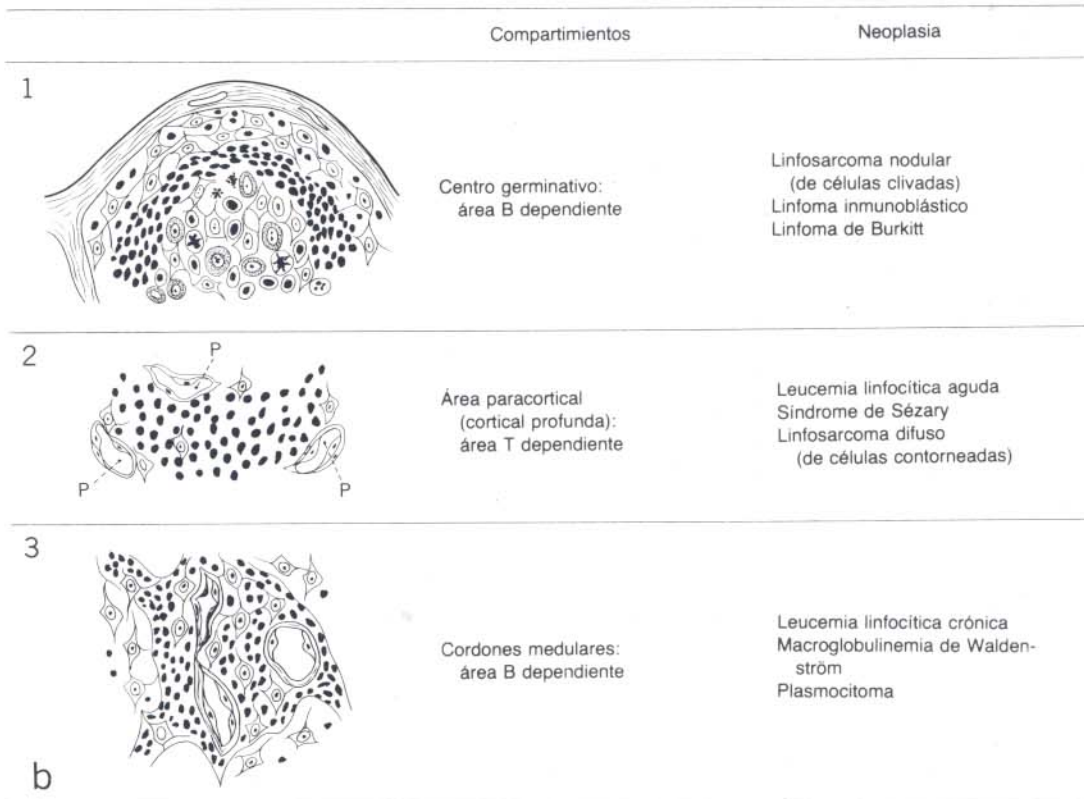


Fig. 1057. Esquema e histología de un ganglio linfático normal. *a, Esquema de los compartimientos. b, Compartimientos del ganglio linfático en relación con el origen de la neoplasia.* Para entender el papel funcional de los linfocitos y clasificar los linfomas no-Hodgkin es necesario poseer un conocimiento anatómico del ganglio linfático desde un punto de vista inmunológico, porque el ganglio linfático se divide en áreas de linfocitos B y de linfocitos T. Dentro de la corteza hay aglomeraciones de linfocitos mezclados con algunos reticulocitos dendríticos; estas aglomeraciones se llaman folículos primarios. El ganglio linfático estimulado por el antígeno revela unos centros germinativos (folículos secundarios) agrandados, constituidos por células linfoides inmaduras que se han de diferenciar en linfocitos B. Los centros germinativos están rodeados por una corona de linfocitos densos. Las áreas paracorticales contienen gran cantidad de linfocitos timodependientes, que habrían emigrado por las vénulas poscapilares (*P*) que están en estas áreas. *c, Histología de un ganglio linfático en hiperplasia linforreticular reactiva.* El seno periférico está ensanchado y el centro germinativo de un folículo secundario exhibe considerable hipertrofia. Los puntos claros en el centro germinativo representan macrófagos.

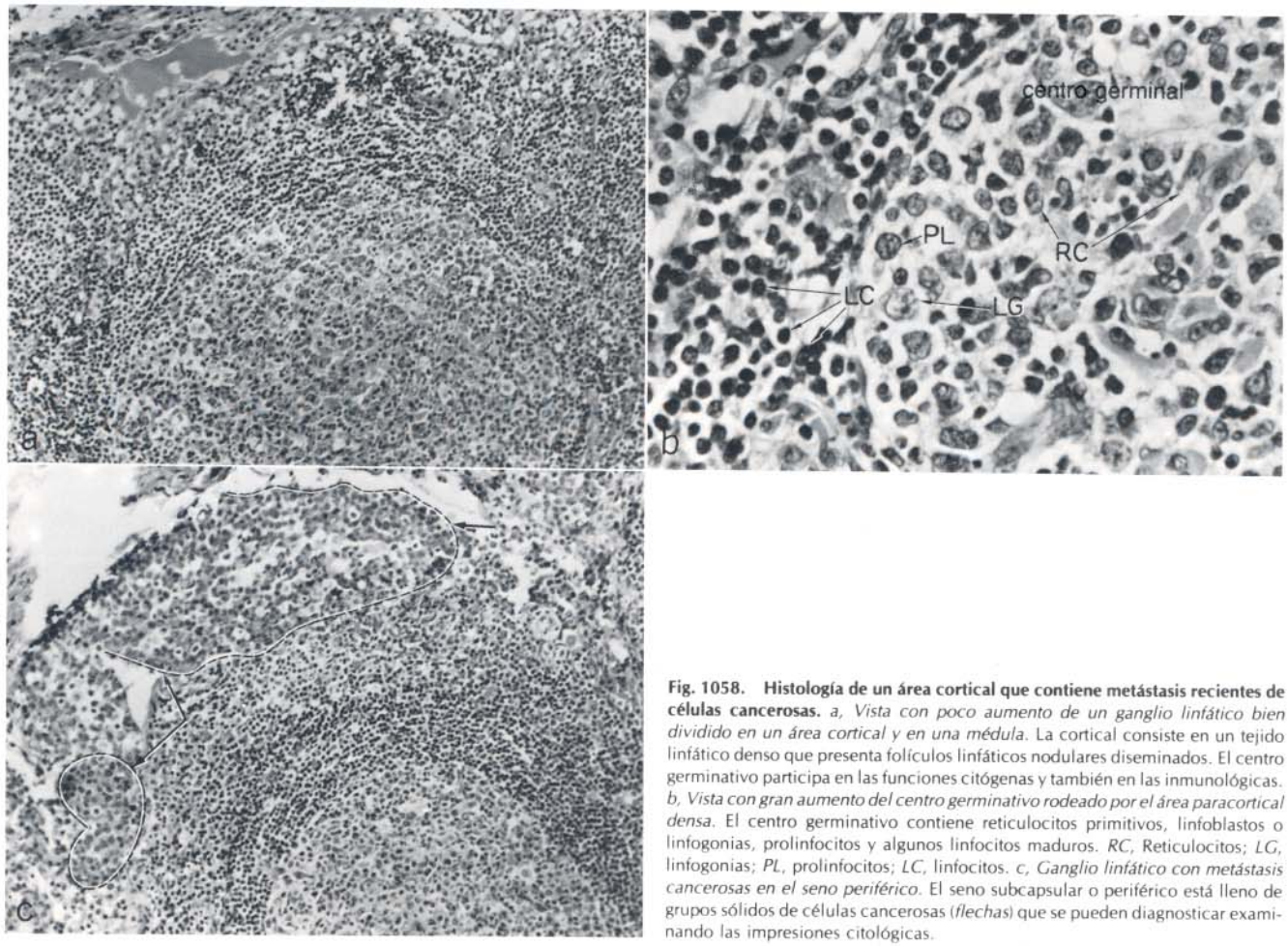


Fig. 1058. Histología de un área cortical que contiene metástasis recientes de células cancerosas. *a, Vista con poco aumento de un ganglio linfático bien dividido en un área cortical y en una médula.* La cortical consiste en un tejido linfático denso que presenta folículos linfáticos nodulares diseminados. El centro germinativo participa en las funciones citógenas y también en las inmunológicas. *b, Vista con gran aumento del centro germinativo rodeado por el área paracortical densa.* El centro germinativo contiene reticulocitos primitivos, linfoblastos o linfogonias, prolinfocitos y algunos linfocitos maduros. *RC,* Reticulocitos; *LG,* linfogonias; *PL,* prolinfocitos; *LC,* linfocitos. *c, Ganglio linfático con metástasis cancerosas en el seno periférico.* El seno subcapsular o periférico está lleno de grupos sólidos de células cancerosas (*flechas*) que se pueden diagnosticar examinando las impresiones citológicas.

que es B-dependiente. La región medular consiste en los senos medulares y en los cordones medulares, que contienen muchos plasmocitos.

3. Componentes celulares normales

Más del 90 % de las células de los ganglios linfáticos normales son linfocitos, pero también hay una pequeña cantidad de prolinfocitos, histiocitos o reticulocitos, plasmocitos y neutrófilos. En la inflamación puede aparecer exceso de algún tipo de células en el recuento diferencial: monocitos en la mononucleosis infecciosa (fiebre ganglionar de Pfeiffer), plasmocitos en la poliartritis crónica[59] y en la cirrosis hepática,[14] etc., pero esto no indica inflamación específica. La presencia de células gigantes específicas de tipo Reed-Sternberg es suficiente para diagnosticar enfermedad de Hodgkin, aunque en algunos casos excepcionales se encontraron células gigantes que simulaban ser las de Reed-Sternberg.[107] Se puede diagnosticar linfoma maligno si el 80 % de las células o más son anormales. Es importante conocer los recuentos celulares diferenciales o citograma de los extendidos de ganglios linfáticos normales (cuadro 98). Las siguientes descripciones de la morfología de las células se basan en la tinción de Giemsa, que es indispensable para estudiar los extendidos de los ganglios linfáticos. Además, los núcleos son más grandes en la tinción de Giemsa que en la de Papanicolau.

Linfocitos

El tamaño de las células (6-16 μ) varía un poco de acuerdo con su maduración. El núcleo es redondo u oval, y existe cierta indentación del borde nuclear. La cromatina presenta unas riendas gruesas. No se ven nucléolos. El citoplasma es escaso y se tiñe de celeste. En ocasiones se ven unos gránulos azurófilos.

Cuadro 98. Recuentos diferenciales en extendidos de ganglios linfáticos normales

Célula	*Porcentajes*
Reticulocitos	0 - 0,1
Mastocitos	0 - 0,5
Linfoblastos	0,1- 0,9
Prolinfocitos	5,3-16,4
Linfocitos	67,8-90,0
Monoblastos	0 - 0,5
Promonocitos	0 - 0,5
Monocitos	0,2- 7,4
Plasmoblastos	0 - 0,1
Proplasmocitos	0 - 0,5
Plasmocitos	0 - 4,7
Neutrófilos	0 - 2,2
Eosinófilos	0 - 0,3
Basófilos	0 - 0,2

(Modificado de LUCAS, P. F.: Blood *10*:1030, 1955. Reproducido con autorización de los editores.)

Cuadro 99. Características diferenciales de los linfocitos T y B

	Linfocitos T	*Linfocitos B*
Origen	Timo	Médula ósea
Longevidad	Prolongada	Breve
Función		
Producción de anticuerpos	Ayudantes y supresores de los linfocitos B	Productores de anticuerpos (inmunoglobulinas)
Inmunidad celular	Tipo tardío	–
Producción de linfocitos	+	–
Inmunoglobulina superficial*	–	+
Antígeno θ[99]	+	–
Ly (A, B, C)	+	–
Receptor C_3[9]	–	+
Fc	–	+
SRBC[6,13,56]	+	–
Formación de blastos		
LPS	–	+
PHA	+	–
ConA	+	–
PWM	+	+
Microscopia electrónica	Microvellosidades escasas	Microvellosidades bien desarrolladas
Citoquímica		
Esterasa ácida de α-naftil acetato[54]	Gran actividad	Poca actividad
β-glucuronidasa[54,110]	Gran actividad	Poca actividad
Fosfatasa ácida[19,110]	Gran actividad	Poca actividad
ATPasa[52]	Poca actividad	Gran actividad
Desoxinucleotidil transferasa terminal[121]	Gran actividad	Poca actividad

* La mayoría de inmunoglobulina superficial que caracteriza a los linfocitos B es IgM 7S.[72]

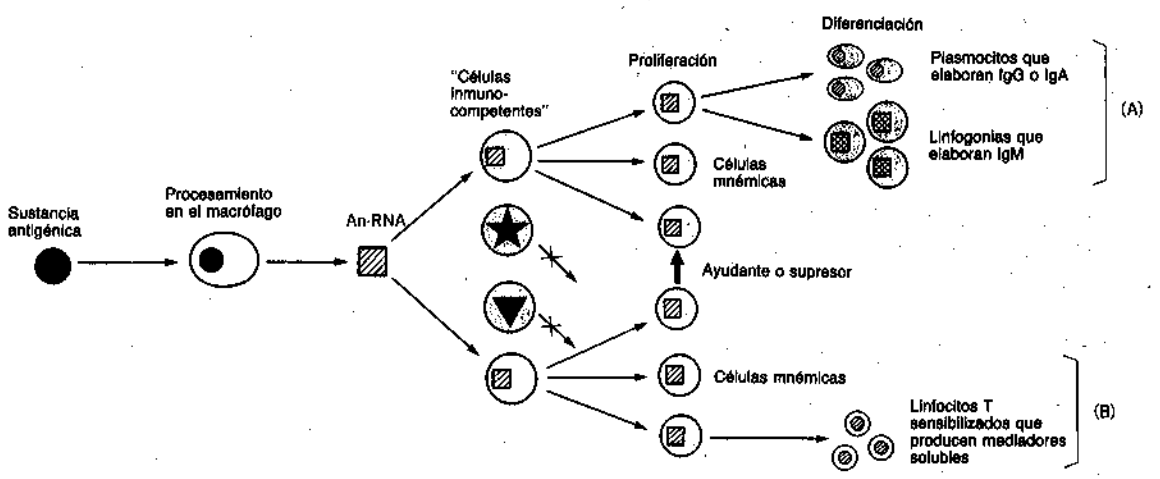


Fig. 1059. Diagrama hipotético de los componentes celulares que intervienen en la respuesta inmune. *A*, Inmunocitos intestinodependientes [85, 102] responsables de la inmunidad humoral (producción de inmunoglobulinas y anticuerpos). *B*, Inmunocitos timodependientes [23, 116] responsables de la inmunidad celular (hipersensibilidad tardía, rechazo de injertos, resistencia a las neoplasias y a las infecciones virales, etc.).

Los linfocitos normales se clasifican en dos poblaciones: linfocitos T (derivados del timo) y linfocitos B (derivados de la bolsa de Fabricio o médula ósea), que tienen distintos marcadores en la superficie celular (cuadro 99). Los linfocitos B se identifican por la presencia de inmunoglobulinas en su superficie y por el receptor para la porción Fc de la inmunoglobulina aglomerada. Los linfocitos T se caracterizan porque los eritrocitos de carnero forman rosetas a su alrededor.

Prolinfocitos

Llámanse prolinfocitos las células linfocitarias que se hallan en la etapa intermedia de la maduración de linfoblastos a linfocitos adultos. Los linfocitos activados o irradiados en maduración retrógrada pertenecen a este tipo por su morfología. Los prolinfocitos son más grandes que los linfocitos (10 a 18 μ). El núcleo es redondo u oval y un tanto indentado, y la trama de cromatina es un poco gruesa. No se suele ver ningún nucléolo nítido, pero puede haber un nucléolo único que se llama "nucléolo fantasma".[73] El citoplasma es apenas más abundante que el de los linfocitos maduros, posee basofilia y puede contener gránulos azurófilos.

Rasgos en la tinción con Papanicolaou. Al colorearlos con Papanicolaou, los núcleos de los linfocitos pequeños son picnóticos y contienen densas bandas de cromatina. Estos núcleos se presentan denudados y de citoplasma escaso. Los linfocitos grandes y los prolinfocitos exhiben unos núcleos

más grandes, con cromatinas un tanto punteadas. No se ven nucléolos. El escaso citoplasma se colorea apenas con el verde claro.

Linfoblastos

También llamados linfogonias (Amano), reticulocitos linfoides grandes (Rohr, Moeschlin), inmunoblastos (Lukes y Tindal) y germinoblastos (Lennert), su tamaño varía entre 14 y 20 μ. El gran núcleo central contiene un punteado fino o delgadas riendas (trama reticular) de cromatina. El borde nuclear es fino, pero bien definido. No se suelen ver indentaciones. El citoplasma es escaso y basófilo (azul intenso) y a veces presenta un halo perinuclear más claro.

En la tinción con Papanicolaou aparece un núcleo grande y redondo en el que se disciernen uno o dos nucléolos cianófilos prominentes. Muchas veces se reconoce un halo perinuclear. Hace poco, a las células de aspecto inmaduro que semejan células blastoides transformadas se les dio el nombre de "inmunoblastos" por su vínculo con la reacción de hipersensibilidad inmune. En la Clasificación Histológica Internacional de Tumores de la OMS al inmunoblasto se lo designa como una gran célula linfoide de citoplasma pironinófilo o Giemsa positivo muy basófilo.

Reticulocitos

En vista de que los reticulocitos son células histiocitarias fijas que se hallan en un retículo de parénquima, sólo representan una pequeña proporción de los componentes celulares normales en los extendidos de los ganglios linfáticos. Gall[35] simplificó la definición y clasificación de los reticulocitos y adoptó varios sinónimos y subtipos en conjunto; era tradicional clasificar algunos subtipos, como histiocitos, células precursoras basófilas y germinoblastos. Los reticulocitos sólo se pueden identificar con seguridad si las células poseen un núcleo oval o un tanto lobulado, con una cromatina finamente reticular y un citoplasma abundante con frecuentes vacuolaciones. En ocasiones se discierne fagocitosis. Existen uno o dos nucléolos incoloros o basófilos.

1) Células endoteliales o histiocitos. El núcleo es excéntrico y de forma variable, porque puede ser oval, elíptico o reniforme. El citoplasma existe en regular cantidad y es gris o celeste, a menudo muy vacuolado. Este tipo de célula reticuloendotelial predomina como histiocitosis sinusal. Muchas veces se observa fagocitosis; esta función se puede examinar con el método de la tinta china que se describió en el capítulo sobre los derrames serosos (cuadro 78, pág. 419).

2) Células precursoras basófilas. Sinónimos: reticulocitos linfáticos grandes (Begemann[7]), células precursoras linfoblásticas (Grundmann[41]). La designación "células precursoras basófilas"[3, 38, 111] se emplea con la acepción de hemocitoblastos primitivos (Ferrata,[32] Pavlowsky[87]). El tamaño celular es muy variable. El núcleo mide 16 a 20 μ y es central, aunque a veces está en la periferia. La cromatina es finamente reticulada. Se ven algunos nucléolos basófilos. El citoplasma es de un ancho mediano, basófilo pálido y de contornos nítidos.

Addendum: Germinoblasto. Sinónimos: células del centro germinativo (Moeschlin,[75] Horster), macrófagos dendríticos (Han, Carr[37]) y centroblastos (Gerard-Marchant[39]). Aunque la terminología de las células precursoras basófilas se basa en que los centros germinativos desempeñan un papel primordial en la linfopoyesis,[43, 78, 113] también se demostró que el término germinoblastos rige para células especiales que desempeñan una función inmunológica.[81, 115] Los germinoblastos[60] son los componentes principales de los centros germinativos en los folículos secundarios estimulados, y es difícil diferenciarlos de las células precursoras basófilas. El tamaño del núcleo varía entre 10 y 14 μ de diámetro, y éste es redondo o un tanto indentado. La cromatina es algo reticular y pálida. Puede haber algunos nucléolos incoloros, a menudo adyacentes al borde nuclear. El citoplasma es más pequeño y más basófilo que el de los histiocitos o reticulocitos.

Plasmocitos

El núcleo es redondo u oval, y excéntrico. La cromatina aparece en grumos gruesos. Los plasmocitos normales no tienen nucléolos. El citoplasma se tiñe de azul brillante y presenta una zona perinuclear clara.

4. Población de linfocitos T y B

Aspecto general

La bolsa de Fabricio es una masa de tejido linfoide que existe en las aves y desempeña una función inmunológica equivalente a la de la médula ósea y tracto gastrointestinal de los mamíferos. A partir de los linfocitos B se forman los plasmocitos, que elaboran inmunoglobulinas específicas contra los antígenos. Los linfocitos B representan el 20 a 30 % de los linfocitos circulantes y su vida es efímera. Estos linfocitos contienen una gran cantidad de microvellosidades, en tanto que la superficie de los linfocitos T es lisa y pobre en microvellosidades.[91, 136] El timo es un órgano donde se inducen linfocitos que intervienen en la inmunidad celular; pues las células precursoras indiferenciadas provenientes de la médula ósea se diferencian en linfocitos T en el timo. Los linfocitos T tienen una larga vida y comprenden alrededor del 60 % de los linfocitos circulantes. Estos linfocitos actúan como ayudantes y también como supresores de los linfocitos B, además de participar en la inmunidad celular. Además de la subpoblación de dos clases de linfocitos, en los estudios actuales[15] sobre marcadores superficiales de las células linfomatosas se comprobó que estas células también responden a marcadores múltiples. Se menciona que la distribución de estas células con marcadores dobles y triples en el linfoma, permite distinguirlas de la linfadenopatía benigna.

Identificación de linfocitos humanos B (cuadro 99)

Los linfocitos B se identifican por la presencia de determinantes de inmunoglobulinas, en particular IgM, y de receptores para la fracción Fc de la inmunoglobulina G aglomerada[27, 29] y para un componente modificado del complemento (receptor C_3).[9, 57] Las inmunoglobulinas superficiales IgM y/o IgD se detectan con la técnica de los anticuerpos fluorescentes empleando antisuero de cabra conjugado con FITC. La IgM es la primera inmunoglobulina que aparece en la superficie de los linfocitos B.

Formación de rosetas EAC

1. Aislamiento de los linfocitos

1) Con una jeringa estéril heparinizada tómense 3 ml de sangre, agréguense 6 ml de solución fisiológica y mézclese con suavidad.

2) Deposítense 3 ml de solución Conray 400-Ficoll (Pharmacia, Suecia) debajo de la sangre descrita arriba.

3) Centrifúguese 30 minutos a 400 g (1550 rpm).

4) Pásese la capa de linfocitos superior a otro tubo de centrífuga, agréguese un volumen igual de solución fisiológica y mézclese.

5) Centrifúguese 5 minutos a 400 g (1550 rpm).

6) Agréguese buffer de barbital y centrifúguese a 400 G dos veces, 5 minutos cada vez, para obtener los linfocitos puros (95 ± 2,65 %), a razón de 7-8 × 10^{6-7}/ml. Una técnica rápida y confiable para separar linfocitos es el empleo del metrizoato sódico de Ficoll.[11]

2. Formación de rosetas

1) Incúbense volúmenes iguales de una suspensión al 5 % de eritrocitos de carnero lavados y una dilución 1:1000 de un antisuero de conejo sensible al 2-mercaptoetanol y activo contra los eritrocitos de carnero, durante 30 minutos a 37° C (también se puede emplear la fracción 19 S de antisuero de conejo obtenida mediante cromatografía en columna).

2) Lávense los eritrocitos sensibilizados (EA) que mencionamos arriba y prepárese una suspensión de EA al 5 % en solución fisiológica regulada con Veronal (pH 7,4).

3) Incúbense volúmenes iguales de la suspensión de EA al 5 % y una dilución 1:10 de complemento de ratón 30 minutos a 37° C (EAC). El complemento debe provenir de un ratón que no tenga C5. Lávese la suspensión de EAC 3 veces y resuspéndase a una concentración del 0,5 % en PBS.

4) Incúbense volúmenes iguales de linfocitos aislados (0,1 ml) y suspensión de EAC al 0,5 %, y déjese en reposo una hora a temperatura ambiente. Cuéntense como positivos los linfocitos que se rodean de rosetas con más de cuatro eritrocitos.

Identificación de linfocitos humanos T (véase cuadro 99)

La mejor manera de distinguir a los linfocitos T, que son de vida larga, respecto de los linfocitos B, es emplear marcadores o receptores superficiales. Las técnicas comunes y fáciles para identificar linfocitos T humanos consisten en detectar un receptor superficial para los eritrocitos de carnero[56] y ensayar la respuesta a la fitohemaglutinina o a la concanavalina A.

1. Los linfocitos se aíslan de la manera que se describió arriba.

2. Formación de rosetas E

1) Lávense tres veces, con solución fisiológica regulada a pH 7,4, los eritrocitos de carnero preservados en solución de Alsever.

2) Dilúyase suero de ternero fetal contra eritrocitos de carnero al 0,5 %. En la práctica, colóquese 0,1 ml de eritrocitos de carnero en 2 ml de medio de Eagle que contenga suero de ternero fetal.

3) Mézclese 0,1 ml de linfocitos con 0,1 ml de eritrocitos de carnero al 0,5 % e incúbese 15 minutos a 37° C.

4) Centrifúguese 10 minutos a 1000 rpm y colóquese el sedimento en un baño de hielo a 0° C durante una hora.

5) Tómense los linfocitos con un capilar y recuéntense los linfocitos que han formado rosetas; se cuentan como positivas las rosetas de más de 4 eritrocitos.

Propiedad citoquímica como marcador de linfocitos T

Todavía se discute la diferencia morfológica de la superficie celular de los linfocitos T y B. Aunque se demostró que los timocitos poseen una superficie más lisa que los linfocitos circulantes periféricos, cualquiera que sea la técnica de preparación,[99] los rasgos distintos de la superficie no representan las propiedades de los linfocitos T o B, sino que se relacionan con el estado funcional de la célula y con la respuesta ambiental. Por ejemplo, la baja temperatura, como la que produce la formación de la roseta E, origina retracción de las microvellosidades, mientras que el contacto entre célula y célula hace que las microvellosidades se redistribuyan.[100] Como marcador de linfocitos T, se dice que es útil para separar a los linfocitos B la actividad citoquímica de esterasa de alfa naftil acetato;[48, 95] en el citoplasma de los linfocitos T se observan algunos puntos como productos de la reacción. Los histiocitos o macrófagos, que son intensa y difusamente positivos para esta actividad enzimática, se distinguen de los linfocitos T por su morfología. Se dice que el método de la cloroacetato esterasa de Yam y col. es positivo porque produce una tinción citoplasmática finamente granular en los linfomas de linfocitos T.[126, 142] Aunque todavía se discute la especificidad de la reacción enzimática, en los linfocitos T y en las células linfomatosas T es característico encontrar unos puntos intensamente positivos para fosfatasa ácida y para beta glucuronidasa. En los linfocitos B, en cambio, se reconoce una intensa actividad de ATPasa ligada a la membrana.

Aplicación clínica

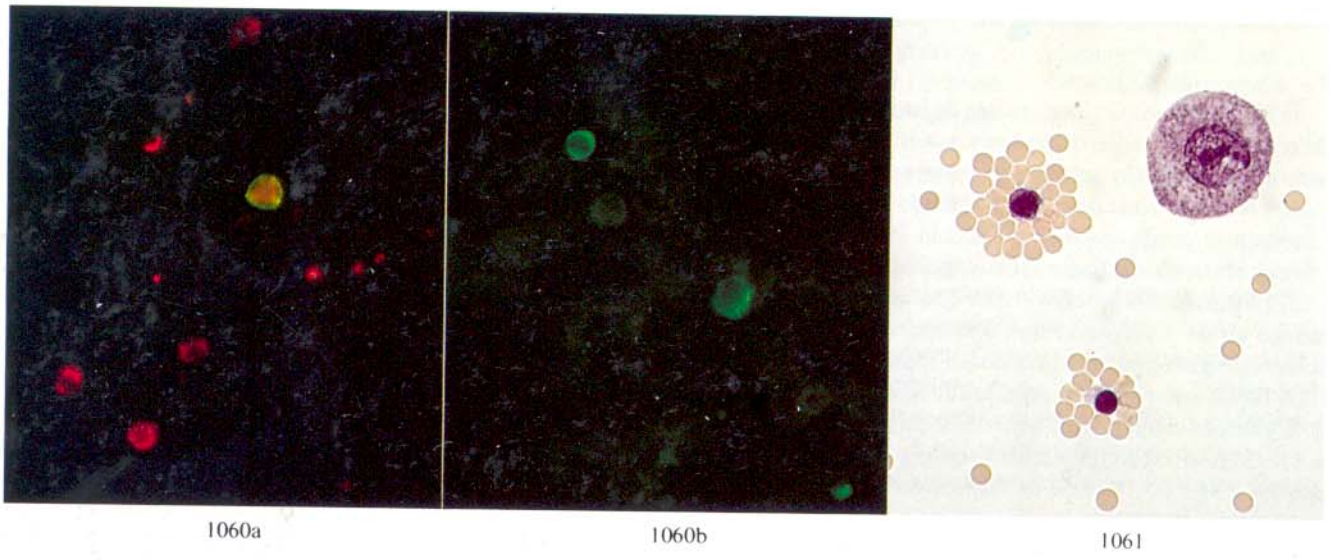
En la actualidad, a la leucemia y al linfoma maligno de células linfoides se los clasifica en las variedades de linfocitos B y de linfocitos T. En vista de que en ocasiones las propiedades de los marcadores superficiales aparecen disociadas, se requieren exámenes de laboratorio para marcadores superficiales múltiples. Por ejemplo, la leucemia linfática crónica de linfocitos B con formación de rosetas EAC puede carecer de inmunoglobulinas superficiales. Hasta en el caso que no exhibe marcadores superficiales, no se la debe considerar sencillamente como una variedad de células nulas[10] porque las células neoplásicas pueden perder sus propiedades durante la desdiferenciación y también existe la posibilidad de que no deriven de los linfocitos. La importancia de la clasificación inmunológica de las células linfomatosas radica en la diferencia de las manifestaciones clinicopatológicas y en la refractariedad a la quimioterapia enérgica.[126, 140]

5. Transformación blástica de los linfocitos por los mitógenos

En los últimos años el concepto de que los linfocitos poseen potencial para diferenciarse en otros tipos celulares y para relacionarse con las reacciones inmunológicas, se vio confirmado por los hemocultivos, en los cuales los linfocitos experimentan una transformación blástica en los primeros tres días mediante la adición de fitohemaglutinina (PHA), que es un extracto del frijol *Phaseolus vulgaris*.[5, 18, 46, 79] Esto se atribuía a la estimulación antigénica de los linfocitos por la fitohemaglutinina.[5, 30] En virtud de la misma reacción inmune, la tuberculina también induce la transformación blástica de linfocitos que alguna vez fueron sensibilizados mediante inoculación de BCG o por infección tuberculosa.[25, 88] MacKinney[70] observó la aparición de linfocitos PHA con citoplasma basófilo y nucléolos prominentes en una proporción de hasta el 85 % de los linfocitos. Los linfocitos PHA se caracterizan por poseer un citoplasma basófilo bastante ancho, con bordes celulares irregulares y pequeñas vacuolas. Los núcleos son redondos u ovales y poseen delicadas riendas de cromatina y nucléolos prominentes. El contenido de partículas ribosómicas en tales linfoblastos aumenta al observarlo a la microscopia electrónica[20] y aparecen muchos gránulos electrondensos que serían de índole lisosómica.[86]

Aplicación clínica

Algunas enfermedades sistémicas específicas de los tejidos linfoides, como enfermedad de Hodgkin, leucemia linfática crónica y sarcoidosis, en que hay compromiso de la hipersensibilidad tardía, no responden bien a la fitohemaglu-



1060a 1060b 1061

Fig. 1060. Linfocitos B con inmunoglobulinas superficiales demostradas con antisueros caprinos polivalentes antiinmunoglobulina humana marcada con fluoresceína. La fluorescencia se distribuye a modo de un anillo o placa a lo largo del borde celular. La fluorescencia en placa significa la aglomeración del complejo, que confluye a modo de un casquete. Los linfocitos periféricos son los que se separan con el método del gradiente de Ficoll-Hypaque.[15]
Fig. 1061. Formación espontánea de rosetas E por los linfocitos T. Estos linfocitos pertenecen a un líquido ascítico que contenía células cancerosas de un carcinoma gástrico.

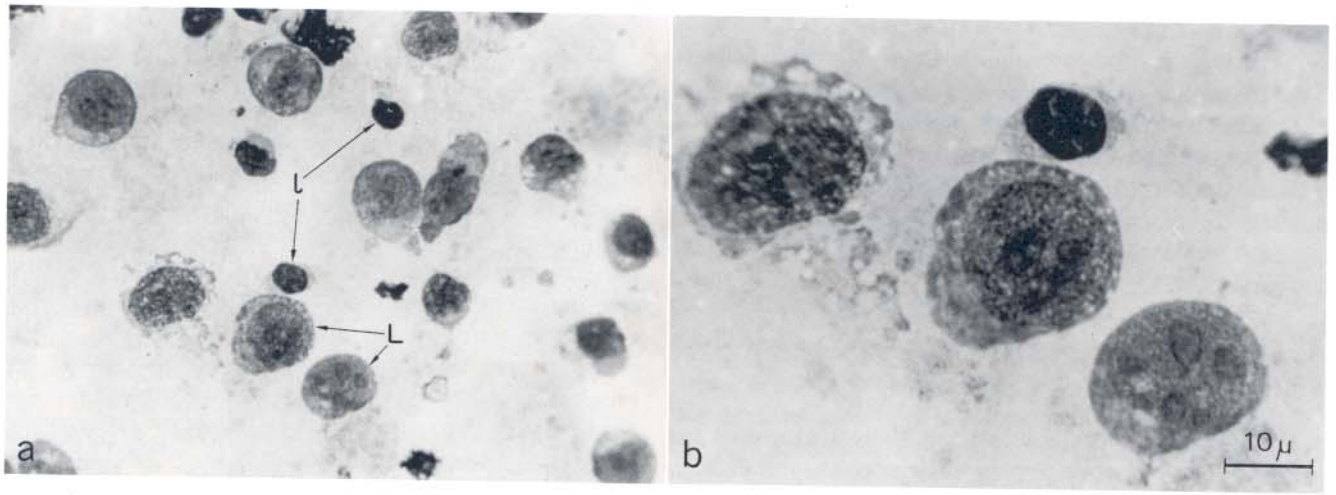


Fig. 1062. Trasformación de linfocitos pequeños en grandes células linfoblásticas pironinófilas en un cultivo celular estimulado con fitohemaglutinina. *a, Extendido visto con poco aumento. l,* Linfocitos pequeños; *L,* células pironinófilas grandes. *b, Células linfoblásticas vistas con mayor aumento.* Nótense los núcleos hipercromáticos agrandados, los nucléolos múltiples y el citoplasma profundamente basófilo.

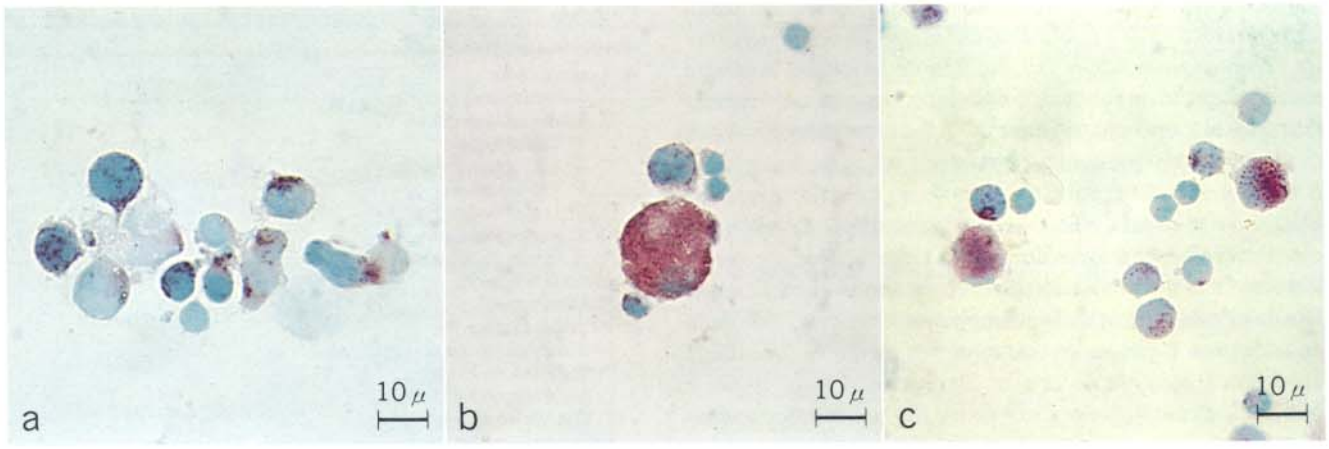


Fig. 1063. Citoquímica de los linfocitos en la estimulación con PHA. *a* y *b*, Las células blastoides agrandadas exhiben actividad de fosfatasa ácida. Los linfocitos pequeños que no responden a la PHA son negativos. Un macrófago o histiocito grande es difusamente positivo. *c*, Actividad de beta-glucuronidasa en las células blastoides. Los linfocitos pequeños que no responden son negativos.

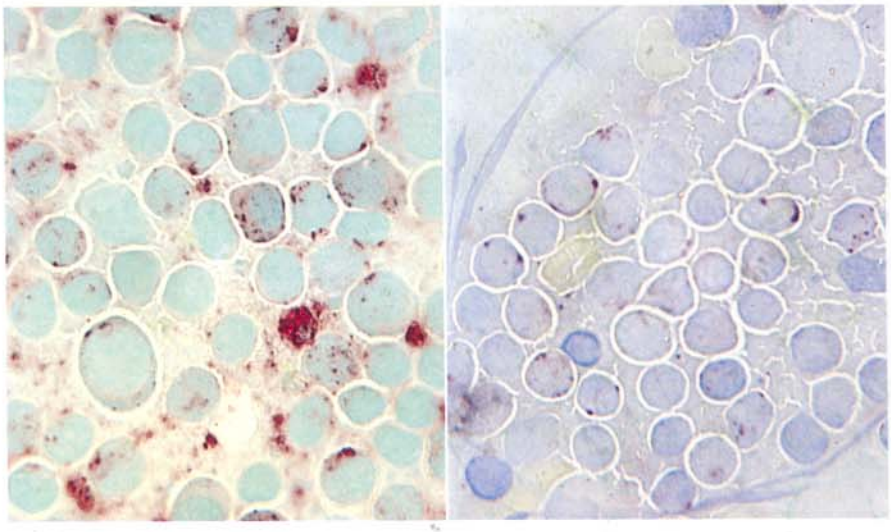


Fig. 1064. Linfocitos T positivos para fosfatasa ácida y para beta-glucuronidasa en impresiones de un ganglio linfático. Caso de linfadenopatía inmunoblástica raro, originado en linfocitos T; las células formadoras de rosetas E representan el 66 %, mientras que los linfocitos B con superficie inmunoglobulinopositiva sólo representan el 5 % en el estudio para marcadores superficiales de células anormales en el ganglio linfático.

tinina;[4, 8, 21, 45, 47, 55, 80, 85, 94] mientras que la función del sistema productor de inmunoglobulinas se suele mantener intacta, ocurre algún defecto de la función linfocitaria timodependiente.[28] Es posible que en los trastornos linfoproliferativos, la sangre periférica con líneas mixtas de linfocitos manifieste sobreproducción de linfocitos que no responden a la PHA.

Procedimiento

Los linfocitos periféricos se cultivan con el método de Moorhead, descripto para el análisis cromosómico de los leucocitos (véase pág. 118). Tras 72 horas de incubación sin colchinización, los extendidos del depósito celular obtenido mediante centrifugación liviana a 500 rpm 5 minutos, se colorean con Giemsa. La proporción de linfocitos con propiedad de transformación "blástica" se determina realizando recuentos diferenciales de 500 células y expresándolos como porcentajes. En citología sería mejor cuantificar la morfología de la respuesta blastoide, que hacer la cuantificación isotópica de la síntesis de DNA.

6. Linfoma maligno

Concepto general sobre clasificación

Era tradicional dividir al linfoma maligno en tres grupos principales: linfosarcoma, reticulosarcoma y enfermedad de Hodgkin (cuadro 101). El llamado linfoma folicular no es un subtipo específico, sino que significa un cuadro arquitectónico de infiltración de células neoplásicas o la etapa de la neoplasia.[97] Más adelante describimos los subtipos de estas neoplasias.

Los recientes estudios inmunológicos realizados con el linfoma no Hodgkin condujeron a la clasificación de los tipos T y B. Las partes principales del linfosarcoma consisten en linfocitos B provenientes de los folículos secundarios, a los que se considera sitios de actividad inmunoblástica. El linfoma de células T, que adopta un cuadro difuso, emprende una evolución agresiva que muchas veces toma el mediastino, sistema nervioso central, piel, etc. Los linfocitos del linfoma T poseen núcleos de mediano tamaño, con considerable

variación de tamaño y contornos cerebriformes. El rasgo característico de los núcleos se denomina *imagen en guante de receptor de béisbol*.[40] El linfoma de linfocitos B adopta una configuración folicular o nodular en una etapa temprana. Aunque el concepto reciente[61, 65, 98] comprende los tipos citológicos plasmocitoide, clivado pequeño (germinocítico) o clivado grande (germinoblástico), no clivado (germinoblástico) e inmunoblástico, la microscopia óptica no permite establecer clasificaciones definitivas todavía, a menos que se introduzca la determinación de los marcadores superficiales. Desde el punto de vista inmunocitoquímico, a los linfomas de linfocitos T y B se los distingue por medio de antisueros específicos conjugados con un fluorocromo (figs. 1066 y 1067). En general, los núcleos de los linfocitos linfomatosos B son pequeños o de mediano tamaño, redondos a ovales, y aparecen clivados por hendiduras digitiformes. Los nucléolos son pequeños y barrosos en el tipo clivado pequeño, pero múltiples en el tipo clivado grande o no clivado. Un grupo de hiperplasias de inmunoblastos con citoplasma pironinófilo plasmocitoide asociado con proliferación de pequeños vasos arborizados, se denomina *linfadenopatía inmunoblástica*, principalmente de la variedad de linfocitos B. La presencia de material amorfo PAS positivo,[51] descrita por Lukes y Tindle, sería un rasgo inconstante.[67]

Addendum: Clasificación de los linfomas basada en la tipificación de células inmunológicas por Lukes y Collins.[65]

Linfoma de células T: Está constituido por linfocitos pequeños de núcleos redondos y linfocitos más grandes, con núcleos circunvolucionados irregulares; en la micrografía electrónica se distinguen subdivisiones profundas del borde nuclear y hasta lobulaciones (fig. 1070).

Linfoma de células B: comprende los siguientes tipos celulares variables:

1. Linfoma linfocitario pequeño
2. Linfoma linfocitario plasmocitoide
3. Célula central folicular derivada del linfoma
   a) Clivada pequeña
   b) Clivada grande
   c) No clivada pequeña
   d) No clivada grande
4. Sarcoma inmunoblástico.

Cuadro 100. Clasificación de tumores linfoides de la OMS*

A. Linfosarcomas
   1. Linfosarcoma nodular
   2. Linfosarcoma difuso
      a) Linfocitario
      b) Linfoplasmocitario
      c) Prolinfocitario
      d) Linfoblástico
      e) Inmunoblástico
      f) Tumor de Burkitt
B. Micosis fungoides
C. Plasmocitoma
D. Reticulosarcoma
E. Linfomas malignos no clasificados
F. Enfermedad de Hodgkin
   1. A predominio linfocitario
   2. Con esclerosis nodular
   3. Con celularidad mixta
   4. Con depleción linfocitaria
G. Otros
   1. Granuloma eosinófilo
   2. Mastocitoma

* De la Clasificación Histológica Internacional de Tumores, N° 14, Ginebra, 1976.
Nota: Clasificación de tumores linfoides de la OMS[117]
Después de la clasificación de la OMS de 1976 para tumores linfoides, se introdujeron algunas modificaciones en la nomenclatura convencional, de modo que se adoptaron términos como linfosarcoma y reticulosarcoma o linfoma histiocitario. Los linfosarcomas difusos prolinfocitario y linfoblástico se mencionan para emplear de acuerdo con la semejanza con los prolinfocitos y linfoblastos hematológicos. El linfosarcoma linfoplasmocitario es un linfosarcoma mezclado con células plasmocitoides que se acompaña de gammopatía monoclonal. El linfosarcoma inmunoblástico es una variedad agregada ahora, que contiene una grandes células basófilas (pironinófilas) con nucléolos prominentes. El término linfoma histiocitario (Rappaport) es de uso común por su semejanza con los histiocitos; los núcleos grandes, que pueden ser clivados o no, revelan cromatinas dispersas con uniformidad y nucléolos prominentes. La falta de marcadores citoquímicos o inmunoquímicos distintivos y la evidencia de que producen fibras de reticulina, nos llevan a adoptar el término reticulosarcoma o sarcoma de reticulocitos o reticulocitario.[71, 117]

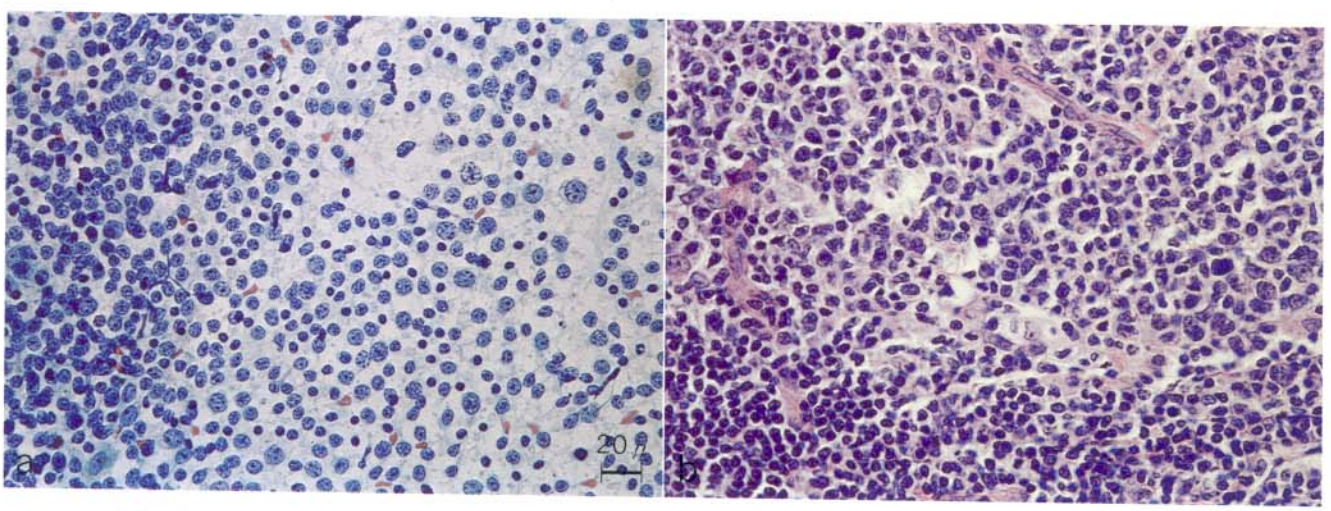


Fig. 1065. Histología y citología del linfoma folicular. *a*, Haciendo buenas impresiones se observa la arquitectura de los ganglios linfáticos (véase la fig. 1075). *b* El cuadro histológico folicular o nodular de los centros foliculares derivados del linfosarcoma se refleja en el extendido con un mosaico consistente en células linfosarcomatosas de textura laxa y linfocitos densamente aglomerados.

Cuadro 101. Clasificación de los linfomas malignos

Gall y Mallory (1942)[57]	*Jackson y Parker (1947)*[50]	*Rappaport (1966)*[96]	*Comisión de Nomenclatura Lukes y col. (1966)*[66]
		Nodular (folicular) → Difuso	
Células precursoras	Reticulosarcoma	Indiferenciado (linfoma de células precursoras)	
Clasmatocítico	Linfocitoma	Histiocitario (reticulosarcoma)	
Linfocitario	Linfoblastoma	Celular mixto (histiocitario-linfocitario)	
Linfoblástico	Linfosarcoma	Linfocitario poco diferenciado (linfosarcoma linfoblástico)	
Folicular	Linfoma folicular gigante	Linfocitario bien diferenciado (linfosarcoma linfocitario)	
Linfosarcoma de Hodgkin	Enfermedad de Hodgkin:	Enfermedad de Hodgkin:	Enfermedad de Hodgkin:
	Paragranuloma	Paragranuloma de Hodgkin	Predominio linfocitario
	Granuloma	Granuloma de Hodgkin	Esclerosis nodular Celularidad mixta
	Sarcoma	Sarcoma de Hodgkin	Depleción linfocitaria

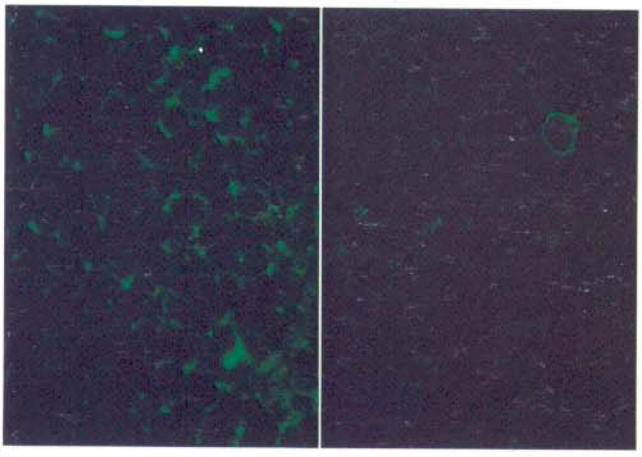


Fig. 1066. Impresión de un linfoma de linfocitos T que exhibe fluorescencia difusa con antisuero antilinfocitos T marcado con FITC. El extendido es negativo para antisuero antilinfocitos B. (Figs. 1066-1072 cedidas por el profesor Kikuchi, K., Departamento de Patología, Colegio Médico de Sapporo, Sapporo, Japón.)

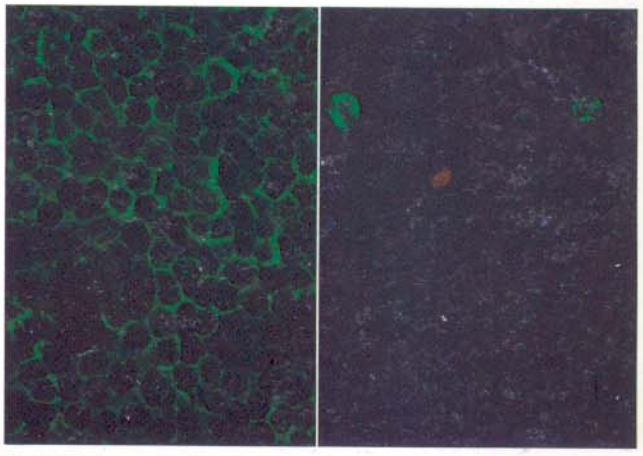


Fig. 1067. Impresión de un linfoma de linfocitos B intensamente positivo para el antisuero antilinfocitos B marcado con FITC. Nótese la fluorescencia negativa para el antisuero antilinfocitos T, con excepción de dos células.

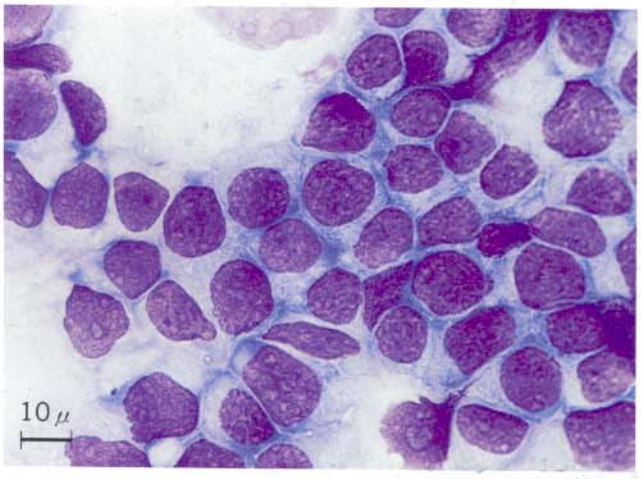


Fig. 1068. Linfoma de linfocitos T en una impresión de un ganglio linfático. El extendido aparece sustituido por completo por células linfoides inmaduras con núcleos angulados. Se observan dos o tres nucléolos pálidos. La variedad de linfocitos T se confirmó con un antisuero antilinfocitos T.

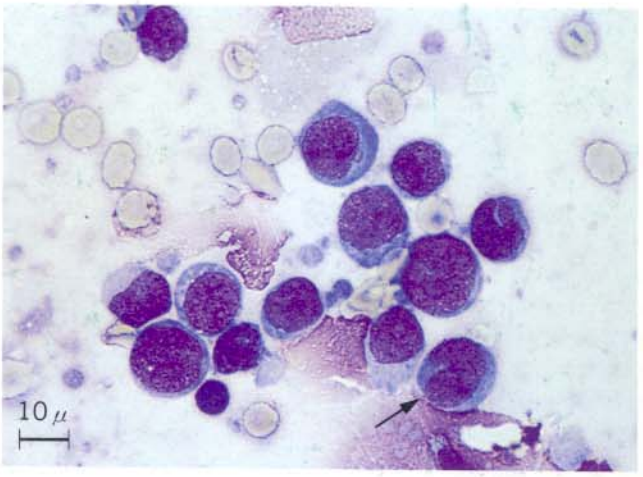


Fig. 1069. Linfoma de linfocitos B en una impresión de un ganglio linfático. Las células linfoides inmaduras poseen núcleos redondeados y a veces clivados (*flecha*). El citoplasma es basófilo. La variedad de linfocitos B se confirmó con un antisuero antilinfocitos B. Nótese la proliferación mixta de células clivadas y no clivadas.

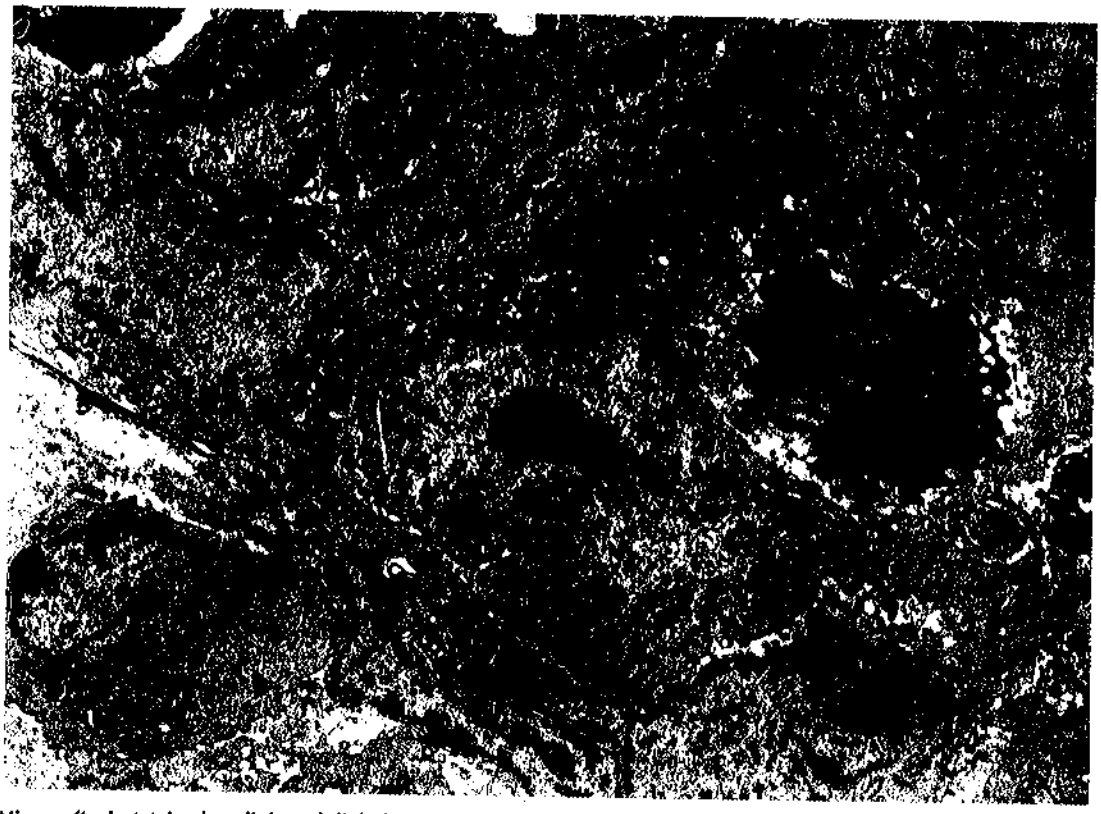


Fig. 1070. Micrografía electrónica de un linfoma de linfocitos T que exhibe circunvoluciones complejas en los núcleos. Nótese el desarrollo deficiente del retículo endoplasmático áspero (× 6000).

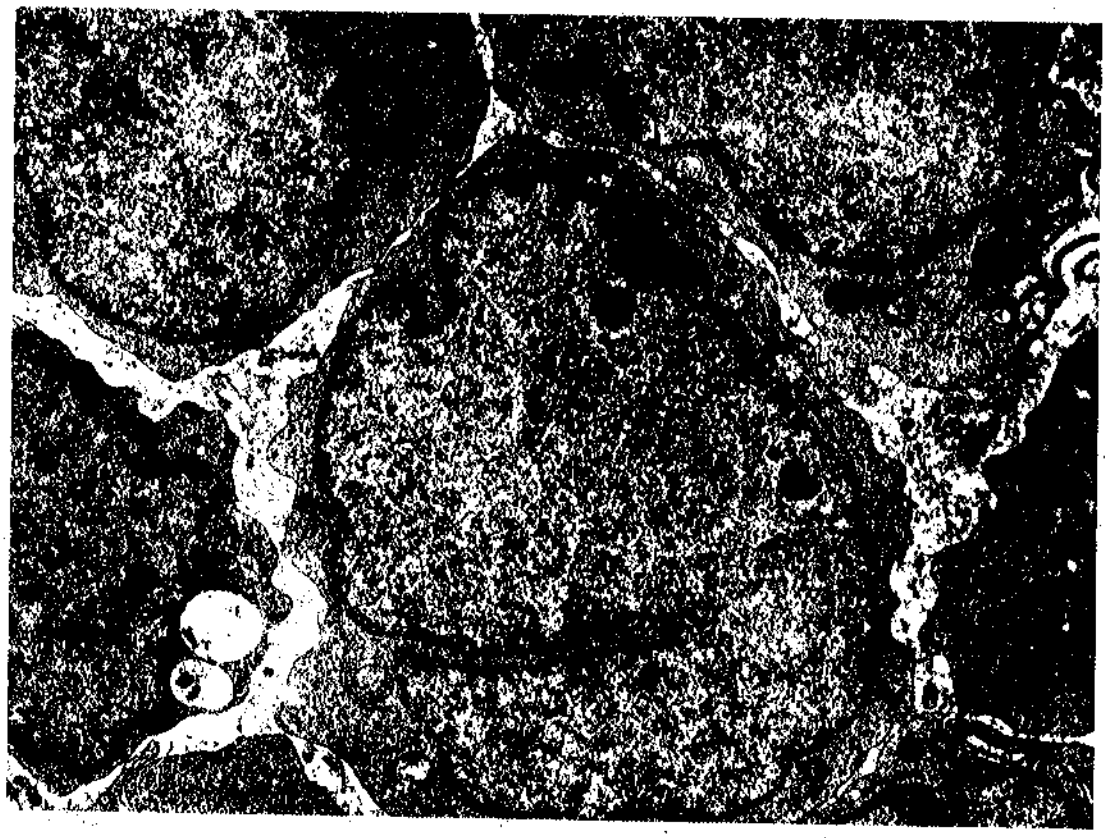


Fig. 1071. Micrografía electrónica de un linfoma de linfocitos B que presenta una célula clivada característica. Nótense un clivaje lineal y los polisomas aumentados en el citoplasma (× 16.600).

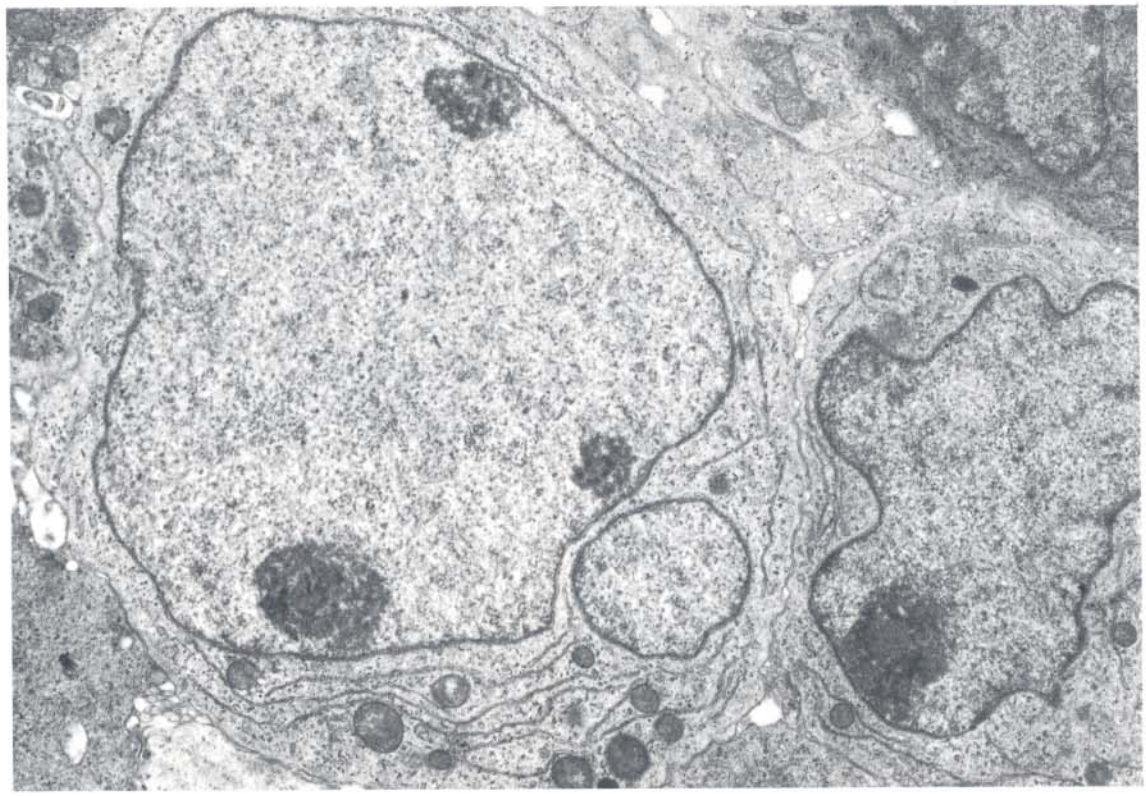


Fig. 1072. Micrografía electrónica de un linfoma de linfocitos B de tipo no clivado. Nótese un gran núcleo redondo con un contorno nuclear liso. El retículo endoplasmático áspero está bien desarrollado (× 16.600).

El *tipo linfocitario pequeño* está constituido por una mayoría de células pequeñas de núcleos redondos, que exhiben una cromatina compacta y nucléolos indistintos. Existen algunos linfocitos más grandes con nucléolos centrales únicos y redes de cromatina finamente reticulares.

El *tipo linfocitario plasmocitoide* es similar al de linfocitos pequeños, excepto por las inclusiones PAS positivas intranucleares y el citoplasma plasmocitoide.

El *tipo de células clivadas pequeñas* se caracteriza por la presencia de clivajes en los núcleos. Los nucléolos son pequeños e indistintos. La cromatina se halla finamente distribuida (fig. 1071).

El *tipo de células clivadas grandes* exhibe unos núcleos de tamaño y configuración variables; es característica de este tipo la proliferación mixta con células pequeñas clivadas y no clivadas.

El *tipo de células no clivadas* se subdivide en no clivadas pequeñas y no clivadas grandes. Los núcleos son redondeados y de bordes lisos. La cromatina se halla finamente distribuida y existen dos o tres nucléolos (fig. 1072).

El *sarcoma inmunoblástico* se parece al tipo de células grandes no clivadas; el citoplasma es abundante y pironinófilo. Los núcleos son ovales o redondos y poseen dos o tres nucléolos prominentes.

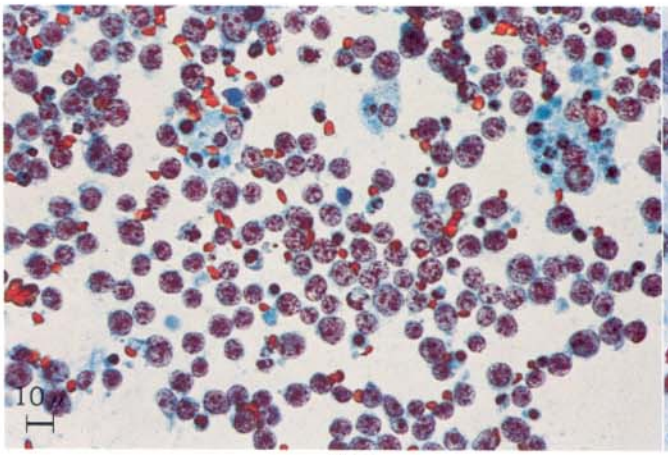
En la actualidad se proponen nuevos enfoques histogenéticos e inmunológicos para las neoplasias de los tejidos linfoides, y todavía no se ha arribado a ningún acuerdo estable para la clasificación. Aunque se puedan representar con exactitud los rasgos celulares finos y las configuraciones de las membranas nucleares, como clivaje y circunvoluciones, la citología exfoliativa se hallaría en desventaja para reconocer una pauta de crecimiento, sea nodular o difusa, que represente una de las propiedades de los linfomas de linfocitos T y B. Las investigaciones inmunocitoquímicas para verificar los marcadores de la superficie celular requieren técnicas altamente especializadas. En consecuencia, en este capítulo adoptamos la clasificación convencional de los linfomas y una parte de la nomenclatura establecida en los últimos tiempos.

Linfoma maligno indiferenciado (linfoma de células precursoras)

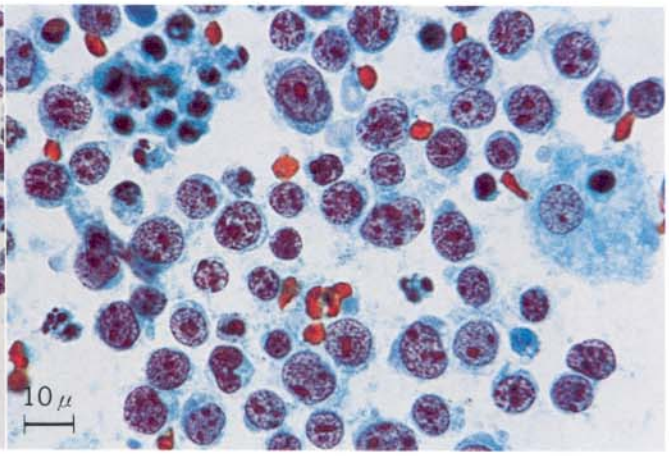
Este tipo se halla constituido por células linforreticulares primitivas carentes de diferenciación histiocitaria o linfocitaria. Estas células precursoras indiferenciadas poseen núcleos grandes con delicadas riendas de cromatina, bordes nucleares nítidos y finos, y por lo general nucléolos prominentes únicos. El citoplasma es pálido y escaso.

Linfoma de Burkitt

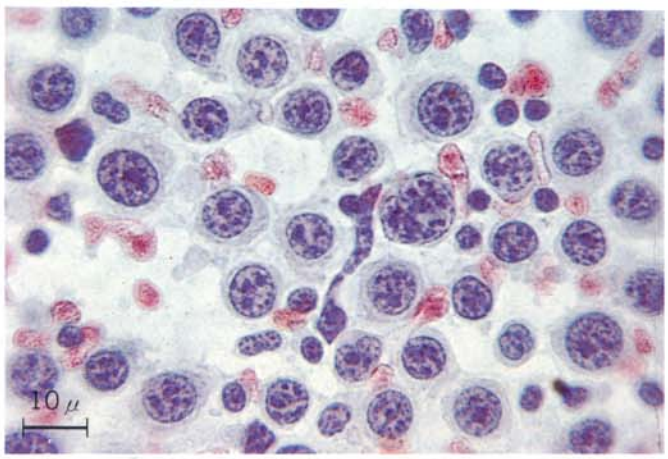
El linfoma de Burkitt o tumor de Burkitt pertenece a una variante del linfoma de células precursoras que fue descripto por Burkitt[16] como un linfoma de crecimiento rápido que afecta a niños africanos y que toma de manera característica los huesos de la cara, en particular los maxilares superior e inferior, la órbita y también el hígado, riñones, estómago e intestinos. En vista de que se aisló virus de Epstein-Barr (EBV) en células tumorales cultivadas[31] y de que estuvieron aumentados los anticuerpos contra el antígeno de la cápside viral,[44] se postuló una relación causal con la infección viral, pero se suscitó polémica por no haberse hallado ninguna prueba de la presencia de EBV en las células tumorales y porque los títulos de anticuerpos no estuvieron elevados en



1073a



1073b



1074

Fig. 1073. Linfoma de Burkitt en impresiones coloreadas con Shorr. Puntos diferenciales: 1) proliferación monomórfica de células precursoras anaplásicas de núcleos grandes y redondeados, con múltiples nucléolos prominentes, y 2) mezcla con macrófagos que contienen "cuerpos tingibles" que se denominan *lesiones en cielo estrellado*. Niño negro de 8 años que tuvo un tumor osteolítico en el maxilar inferior y compromiso visceral. El extendido fue tomado de un nódulo linfático abdominal. (Gentileza del doctor Montenegro, M., y del doctor Tani, E., Facultad de Medicina de la Universidad de Botucatu, São Paulo, Brasil.)

Fig. 1074. Impresión de un linfosarcoma poco diferenciado. La proliferación de células blastoides monomórficas significa neoplasia maligna. Los rasgos diagnósticos de células blastoides son: 1) grandes núcleos redondeados con cromatina punteada gruesa, 2) nucléolos múltiples difíciles de diferenciar de la heterocromatina, 3) considerable variación del tamaño nuclear y 4) un citoplasma escaso y mal definido.

todos los casos.[62] La infección viral tiene su importancia como desencadenante del linfoma. Los extendidos muestran unas grandes células fagocitarias entremezcladas con gran cantidad de células linfosarcomatosas inmaduras que poseen una vacuolación citoplasmática que se considera originada en el linfocito B. En el preparado teñido con Giemsa se observa una moderada cantidad de citoplasma basófilo con vacuolación prominente. Los fagocitos poseen un citoplasma abundante cargado de detritos celulares ingeridos; esta imagen se llama en *cielo estrellado* (fig. 1073).

Linfoma maligno linfocitario

1) Tipo poco diferenciado (linfosarcoma linfoblástico). La mayoría de las células del extendido son linfoblastoides inmaduras heterogéneas originadas en linfocitos T circunvolucionados o en grandes linfocitos B clivados y no clivados. Los núcleos son de tamaño más variable y sus grumos de cromatina son más gruesos que los de los linfoblastos de los extendidos de médula ósea. El borde nuclear es angulado o rígido e indentado en el tipo de células T, pero es redondeado y de contorno liso en el tipo de células B. Existen uno a tres nucléolos, de los cuales uno es central y los otros pueden estar cerca del borde nuclear. El citoplasma es escaso y basófilo.

Debemos señalar que es frecuente que el linfosarcoma linfoblástico exhiba conversión leucémica. Mathé y col.[134] comunican que el 47 % de 138 casos de linfosarcoma pasaron a la fase leucémica. Como el diagnóstico inicial de linfosarcoma leucémico no es tan bueno como el de LLA, antes de emprender una quimioterapia intensiva es importante trazar la distinción clínica de si se acompaña o no de compromiso de la médula ósea y las meninges.[126]

Addendum. En la clasificación del Centro de Referencia Internacional de la OMS se separa al linfosarcoma inmunoblástico del linfosarcoma linfoblástico.[117] La variedad inmunoblástica se caracteriza por unas grandes células no clivadas con moderada cantidad de citoplasma pironinófilo basófilo, cualquiera que sea el marcador superficial. En el citoplasma abundan las vacuolas. Los nucléolos son prominentes.

2) Tipo bien diferenciado (linfosarcoma linfocitario). Este tipo puede comprender el linfoma de células B pequeñas clivadas o no clivadas y la leucemia linfocitaria crónica. Los extendidos de impresiones o aspirados se caracterizan por gran cantidad de células linfocitoides bastante pequeñas y de tamaños parejos, cuyos núcleos son redondos u ovales y de contornos nucleares delicados y lisos. Se distinguen uno o dos nucléolos. La trama de cromatina no es tan gruesa como la del tipo poco diferenciado, sino bastante compacta. El citoplasma es escaso y no está bien preservado. Abundan las células denudadas, en particular al colorearlas con Papanico-

laou. La población monomórfica de células linfocitoides inmaduras en las impresiones abona a favor del linfosarcoma, en tanto que en la leucemia linfocitaria crónica se ve una mezcla con linfocitos maduros y prolinfocitos.

3) Disproteinemia asociada con linfoma maligno. En un sentido amplio, en ocasiones los trastornos linfoproliferativos, que comprenden mielofibrosis, leucemia linfocitaria y linfoma no Hodgkin, poseen células que intervienen en la producción de inmunoglobulinas, sea por activación de células elaboradas de inmunoglobulinas o por participación directa de estas células; la proliferación de células linfoides dedicadas a la producción de inmunoglobulina origina una hiperinmunoglobulinemia monoclonal. Este autor tuvo un caso de linfosarcoma linfocitario extraganglionar que afectaba a ambos ovarios y que medía 20 × 13 × 11 cm (izquierdo) y 10 × 6 × 3 cm (derecho) en una mujer de 34 años que exhibió un moderado aumento de la IgM sérica comprendido entre 1500 y 1800 mg/100 ml, mientras que los niveles de IgA e IgG estuvieron bastante deprimidos. Las impresiones de la pieza operada arrojaron la citomorfología usual del linfoma linfocitario monomórfico, con excepción de la prominencia de los nucléolos (fig. 1078).

Linfoma maligno histiocitario

Este tipo, al que se denominó sarcoma reticulocitario, se caracteriza por un predominio de reticulocitos atípicos con

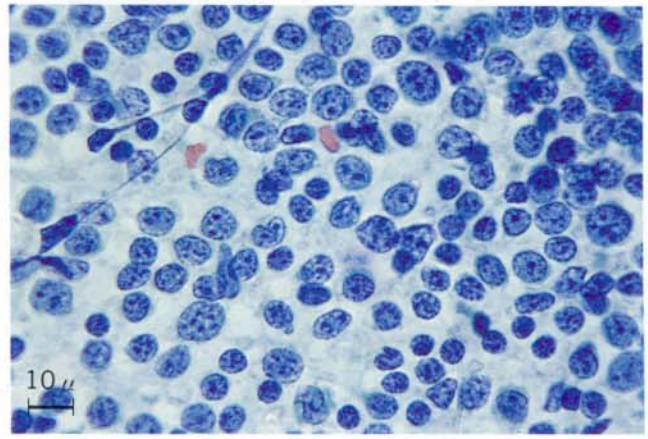


Fig. 1075. Linfosarcoma diferenciado en una impresión del centro de un folículo. Nótese la proliferación monomórfica de linfocitos inmaduros de mediano tamaño. Los núcleos son de tamaño parejo, redondeados y finamente punteados. Se ven uno a tres nucléolos.

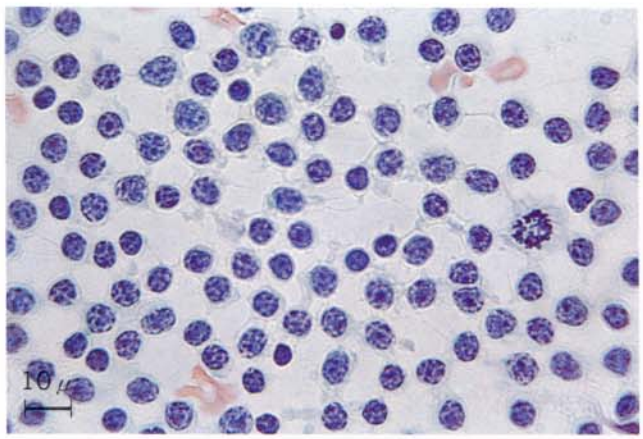


Fig. 1076. Linfosarcoma linfocitario diferenciado en una impresión. La proliferación monomórfica de células semejantes a linfocitos pequeños concuerda con la histología del linfosarcoma linfocitario. Nótense la cromatina punteada y la prominencia de los nucléolos.

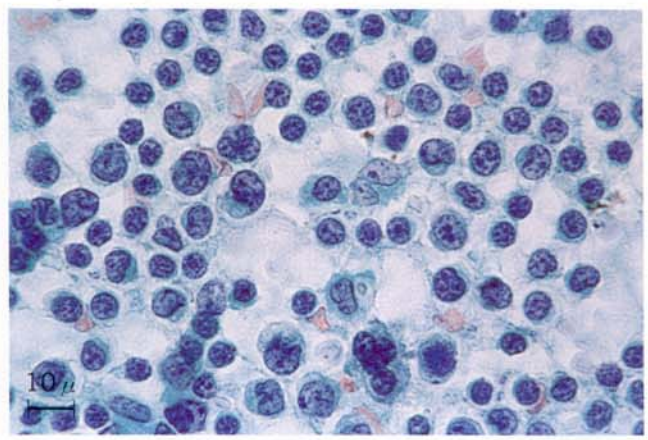


Fig. 1077. Citología de una variedad de linfoma no-Hodgkin que exhibe celularidad mixta. Nótese la mezcla de células de linfoma linfocitario con células de linfoma histiocitario de núcleos indentados y citoplasma ancho.

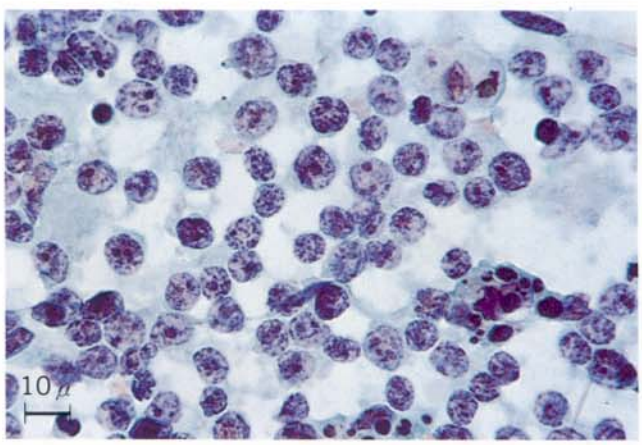


Fig. 1078. Linfosarcoma de ovario asociado con inmunoglobulinemia monoclonal. Este tumor monomorfo se halla constituido por células de tipo linfoblástico con nucléolos prominentes. Los exámenes de laboratorio arrojaron una proteína total de 6,09 g/100 ml con un alto nivel de IgM (1500-1800 mg/100 ml) y 2907 unidades de LDH sérica.

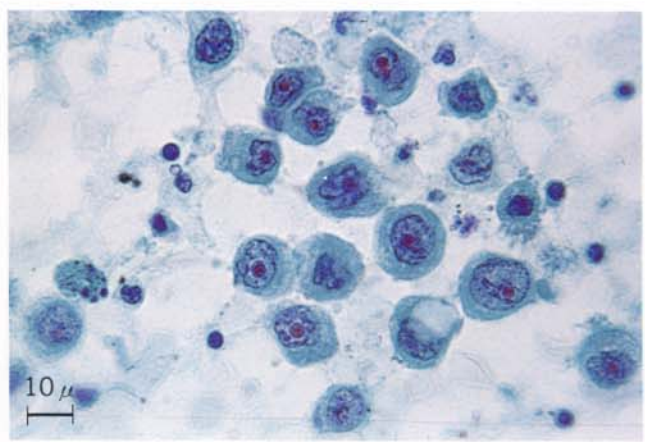


Fig. 1079. Linfoma histiocitario en una impresión de un ganglio linfático. La forma de los núcleos es variable y hay considerable indentación. Nótese la prominencia de los nucléolos eosinófilos. El citoplasma se caracteriza por lo abundante.

grados de maduración variables. Las células tumorales poseen núcleos grandes de forma poliédrica, con un borde nuclear apenas más grueso y cromatinas más gruesas y más vesiculosas que en las del linfoma de células precursoras. Es característica la indentación del borde nuclear o la configuración reniforme del núcleo. Otro rasgo distintivo es la presencia de uno o más nucléolos nítidos de formas irregulares. El citoplasma es pálido y abundante, y muchas veces despliega fagocitosis (fig. 1079). Es característico encontrar vacuolas pequeñas en el citoplasma.

En una reclasificación reciente del linfoma maligno basada en el empleo de marcadores inmunoquímicos, la mayoría de los linfomas histiocitarios entran en la categoría de linfocitos B, en particular la variedad inmunoblástica.[122] Koh y col.[133] estudiaron con inmunoperoxidasa e inmunofluorescencia para marcadores histiocitarios como lisozima y antiquimiotripsina α_1, 53 casos que habían sido rotulados como de linfoma histiocitario, y encontraron uno solo de linfoma histiocitario auténtico. En consecuencia, para determinar linfoma histiocitario se deben hacer estudios inmunológicos y citoquímicos para el marcador superficial, para marcadores citoplasmáticos y para una propiedad funcional, como fagocitosis.

Cuadro 102. Etapas clínicas de la enfermedad de Hodgkin (adoptadas para todos los linfomas)

Etapa 1. Enfermedad limitada a una sola región anatómica.
Etapa 2. Enfermedad en dos o tres regiones del mismo lado del diafragma.
Etapa 3. Enfermedad en ambos lados del diafragma, pero limitada a los ganglios linfáticos, bazo y anillo de Waldeyer (tejido orofaríngeo).
Etapa 4. Compromiso de órganos como médula ósea, pulmón, hígado, tracto gastrointestinal y otras vísceras, además de ganglios linfáticos, bazo o anillo de Waldeyer.

ROSENBERG, S. A.: Cancer Res., *26*:1310, 1966)

Enfermedad de Hodgkin (paragranuloma-granuloma-sarcoma[26, 50]) (predominio linfocitario-esclerosis nodular-celularidad mixta-depleción linfocitaria[56])

Este tipo está constituido por células histiocitarias malignas junto con células específicas de Reed-Sternberg y algunos componentes celulares inflamatorios como eosinófilos y plasmocitos. El diagnóstico de certeza de enfermedad de Hodgkin se hace por la presencia de reticulocitos neoplásicos anormales, las células de Reed-Sternberg, con sus núcleos múltiples o multilobulados, nucléolos acidófilos prominen-

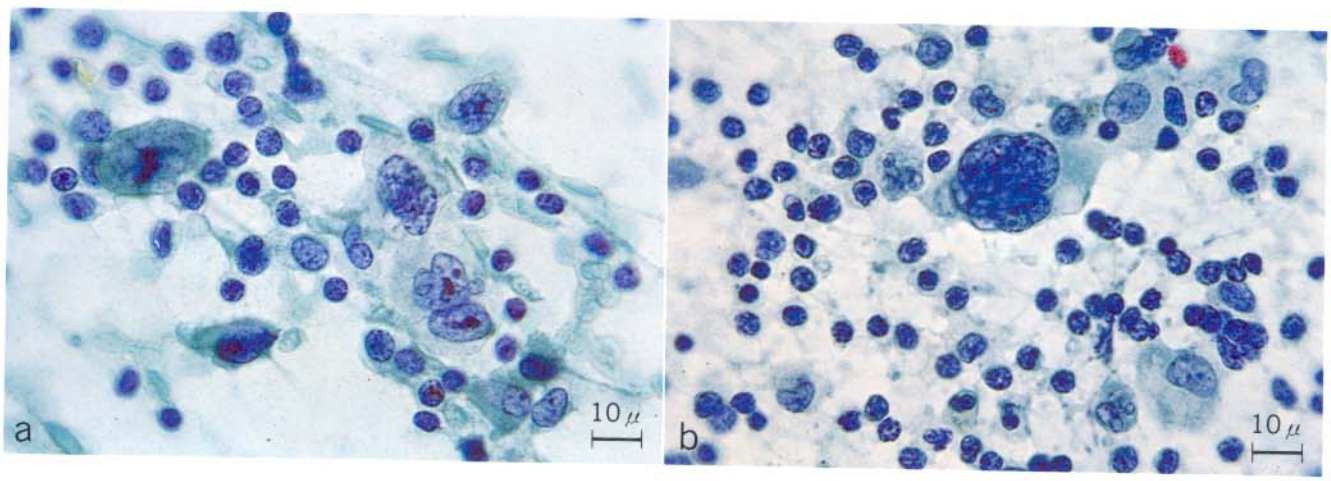


Fig. 1080. Células gigantes de Reed-Sternberg en impresiones de un caso de enfermedad de Hodgkin. Se ven células gigantes multinucleadas (*a*) o multilobuladas (*b*) dotadas de nucléolos acidófilos únicos en situación central. En ocasiones los nucléolos característicos son basófilos en la tinción con Papanicolaou.

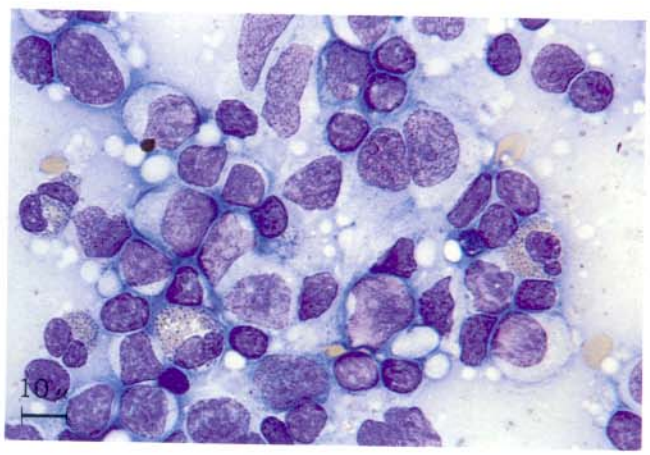


Fig. 1081. Enfermedad de Hodgkin de celularidad mixta. Aparecen una célula de Reed-Sternberg con imagen especular, eosinófilos, histiocitos y células linfoides. Esta celularidad mixta concuerda con la histología del granuloma. Giemsa. (Gentileza del doctor Suchi, T., Centro de Cancerología Aichi, Nagoya.)

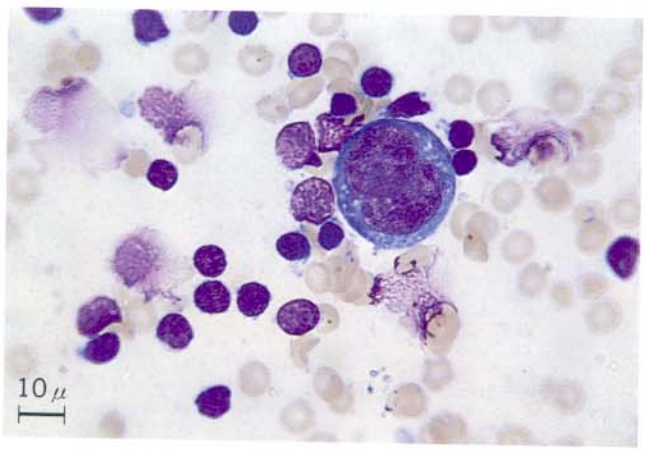


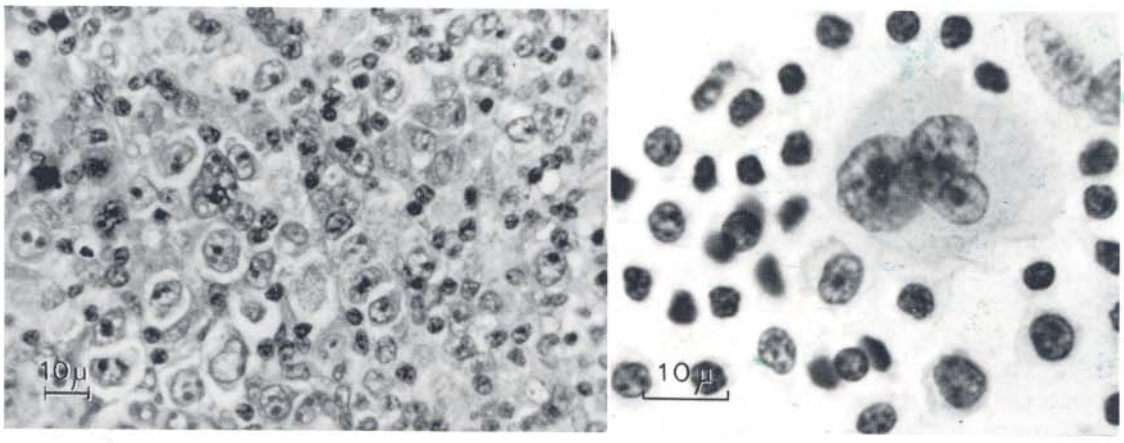
Fig. 1082. Enfermedad de Hodgkin con predominio linfocitario. Una célula de Reed-Sternberg característica está incluida entre muchos linfocitos maduros. La celularidad bimórfica con algunas células gigantes de Reed-Sternberg es patognomónica de paragranuloma.

tes, halos perinucleolares y un citoplasma anfófilo o un tanto basófilo. De los tres o cuatro subtipos, la celularidad mixta (tipo granulomatoso) representa más del 90 % de los casos de enfermedad de Hodgkin.[64]

La clasificación del linfoma maligno de Rappaport (1966)[96] se basa en las direcciones de la posible transición y en el concepto del cuadro histológico, que puede ser nodular o difuso. Este cuadro histológico y la extensión del compromiso de los ganglios linfáticos y órganos, revisten importancia para el pronóstico. El enfoque citológico de la histología mediante recuentos diferenciales de células en las impresiones (linfocitograma) es útil, en particular para el tipo difuso de linfoma. Según el informe de la Comisión de Nomenclatura sobre enfermedad de Hodgkin, ésta se clasifica en cuatro grupos: 1) predominio linfocitario, 2) esclerosis nodular, 3) celularidad mixta y 4) depleción linfocitaria. Aunque la clasificación de Jackson y Parker todavía se usa, se le ha agregado el concepto de esclerosis nodular, cuya histología se caracteriza por segregación nodular por bandas colágenas y por células de Reed-Sternberg de tipo lacunar.[66] En cuanto a la evolución clínica, la celularidad mixta ocupa un puesto intermedio entre el predominio linfocitario y el agotamiento linfocitario. La esclerosis nodular es una variedad de pronóstico favorable que tiende a detenerse en la etapa 2.[105]

Reticulosis medular histiocitaria

Esta enfermedad rara, que se conoce con varios sinónimos (histiocitosis maligna, reticulosis maligna, reticulosis aleucémica) y sigue una evolución aguda e inexorable con erupciones cutáneas (forma cutánea) y hepatoesplenomegalia y linfadenopatía (forma visceral), se caracteriza por una proliferación multifocal de células reticuloendoteliales que toma piel, ganglios linfáticos, hígado, bazo y médula ósea. Un rasgo distintivo de su crecimiento, que lo diferencia del linfoma maligno es la proliferación preferencial en sitios donde existen histiocitos en condiciones normales; en efecto, los sitios anatómicos de tal proliferación histiocitaria son los senos periféricos y medulares de los ganglios linfáticos y los sinusoides del hígado y bazo. A pesar de la manifestación clínica aguda, muchas veces la atipia celular es leve. Los histiocitos proliferados fagocitan eritrocitos, detritos nucleares picnóticos, hemosiderina, etc. La eritrofagocitosis y la actividad positiva de esterasa inespecífica revisten mucha



1083a 1083b

Fig. 1083. *a, Histología del sarcoma de Hodgkin.* Infiltración masiva de células de Reed-Sternberg multinucleadas y células de Hodgkin multinucleadas. Tinción HE. *b, Impresión de un granuloma de Hodgkin.* Célula de Reed-Sternberg multinucleada con nucléolos eosinófilos prominentes, entremezclada con linfocitos. Método de Papanicolaou.

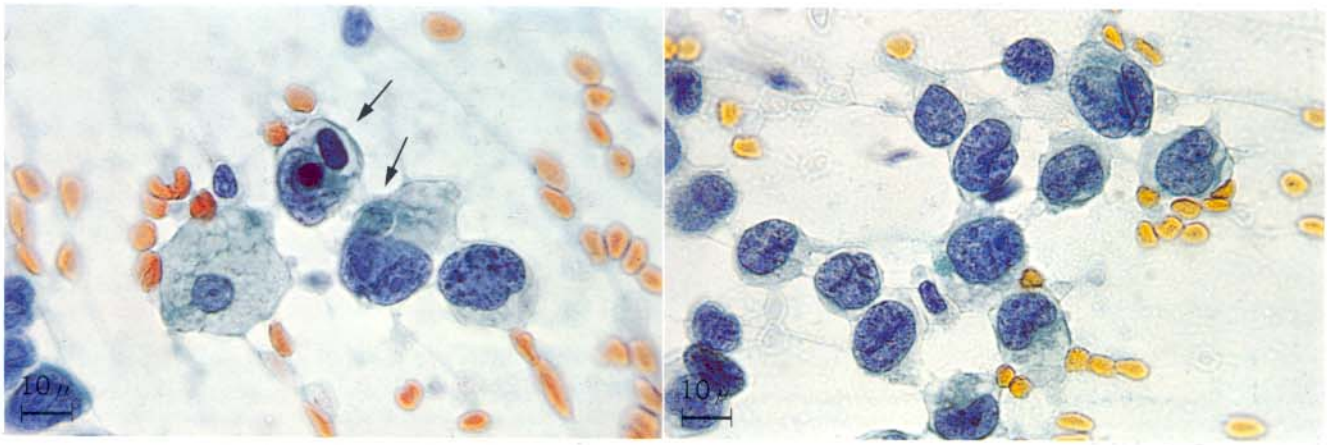


Fig. 1084. Histiocitosis maligna (forma cutánea) en impresiones de un nódulo cutáneo. De un paciente que tuvo un deterioro agudo con manifestaciones de linfadenopatía, pápulas cutáneas, esplenomegalia y anemia. El tumor muy celularizado consiste en células histiocitarias lobuladas. Los núcleos son hipercromáticos pero delicadamente reticulados. El citoplasma aparece en cantidad moderada y está mal definido. Nótese la ingestión fagocitaria de detritos necróticos (*flechas*).

Cuadro 103. Distribución anatómica de los linfomas por tipos histológicos

Sitio	*Nº de casos*	*Linfo-sarcoma*	*Reticulo-sarcoma*	*Otros tipos*	*Hombres*	*Porcentajes por edades*		
						<20	*20-49*	*>49*
Estómago	346	41%	48%	11%	57%	0%	17%	83%
Intestino delgado	110	45	40	15	62	11	16	73
Intestino grueso	82	37	46	17	50	9	16	75
Amígdala	162	41	42	17	52	2	12	86
Adenoides	37	41	35	24	54	5	35	60
Glándula salival	69	41	23	36	45	1	23	76
Piel	110	37	13	50	57	5	36	59
Tejido conectivo	122	32	46	22	54	5	28	67
Hueso	69	4	93	3	52	16	23	61
Pulmón	53	64	15	21	55	0	19	81
Tiroides	36	19	56	25	6	0	8	92
Mama	33	52	24	24	6	3	24	73
Testículo	23	22	61	17	100	4	4	91
Esófago	3							
Hígado y árbol biliar	6							
Páncreas	9							
Laringe	8							
Cuello uterino	3							
Cuerpo uterino	3							
Ovario	2							
Próstata	3							
Riñón	10							
Encéfalo y médula espinal	23							
Indefinidos y otros sitios	145							
Todos los casos	1.467	38%	42%	20%	53%	4%	21%	75%

(FREEMAN, C. y col.: Cancer, 29:252, 1972.)

importancia en diagnóstico citológico.[71] Los núcleos son ovales a elípticos, a menudo con contornos lobulados o indentados. El aspecto epitelioide de estas células y la mezcla con varios otros tipos de células, trazan la distinción respecto del reticulosarcoma o linfoma histiocitario; en consecuencia, es difícil diferenciar a esta entidad respecto de la celularidad mixta de la enfermedad de Hodgkin cuando aparecen células gigantes multinucleadas parecidas a las células de Reed-Sternberg. En la reticulosis medular histiocitaria también son características la hemorragia y la necrosis.

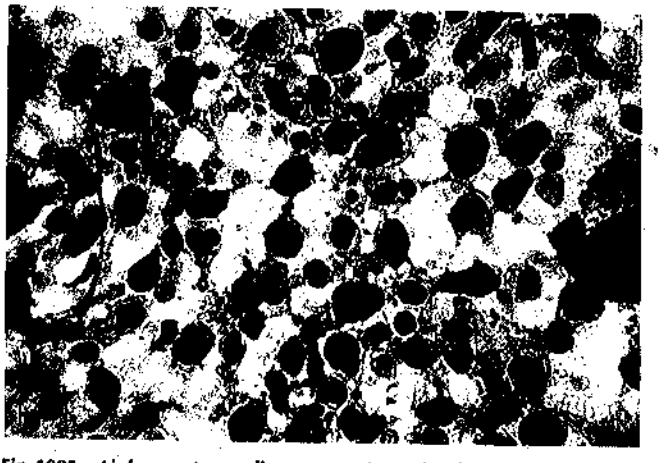


Fig. 1085. Linfoma extraganglionar en una impresión de una punción gástrica con trócar. El estómago es uno de los órganos afectados con frecuencia por el linfoma. Aunque el linfoma primario es una rareza, representa un 4,5 % de todas las neoplasias gástricas.[138] La mayoría de las células tumorales están denudadas por la degeneración, pero conservan el rasgo del linfoma; los bordes nucleares delicados y el polimorfismo nuclear, con indentaciones ocasionales, abonan en favor del linfoma histiocitario.

7. Linfoma extraganglionar

El linfoma exhibe una propagación generalizada que no sólo afecta a los ganglios linfáticos o tejidos linfoides, sino también a diversos órganos carentes de aparato linfoide. Cuando encontramos linfomas no diseminados, tratamos en todo lo posible de establecer si la génesis es extraganglionar. Los sitios más frecuentes de linfomas extraganglionares primarios son estómago, amígdalas, intestino delgado y grueso, todos los cuales tienen tejidos linfoides (fig. 1085). Muchas veces se forma un linfoma maligno en órganos extraganglionares a los cuales sólo se los consideraba primarios porque presentaban el bulto más grande, mientras que el compromiso de otros tejidos linforreticulares era mínimo.

Freeman y col.[34] publicaron la distribución anatómica del linfoma no Hodgkin en una serie de 1467 pacientes caucásicos con linfomas extraganglionares no diseminados y mencionaron que el comportamiento biológico variaba de acuerdo con el sitio de origen; las tasas de sobrevidas de los linfomas originados en pulmón, estómago y amígdalas fueron mejores que las de todos los cánceres de estos mismos órganos (cuadro 103).

8. Claves del citodiagnóstico de los extendidos de ganglios linfáticos

Detección de células anormales específicas de la enfermedad

Muchas veces hasta una pequeña cantidad de células anormales en los linfocitogramas o en los recuentos diferenciales de los extendidos de ganglios linfáticos puede hacer el diagnóstico.

1) Enfermedad de Hodgkin. La célula de Reed-Sternberg es gigante y mide 15 a 40 μ de diámetro en los preparados húmedos y 30 a 100 μ en las películas secadas al aire. Estas células son multinucleadas, por lo general bi o trinucleadas, y/o los núcleos presentan lobulaciones múltiples. El rasgo característico de la célula de Reed-Sternberg de dos núcleos es que éstos se hallan frente a frente en la llamada *imagen especular*. Estas células de Reed-Sternberg contienen unos enormes nucléolos acidófilos o anfófilos en "ojo de búho". Los nucléolos distintivos son pironinófilos por su abundante RNA. La cromatina es reticulada gruesa y exhibe unos espacios intercromatínicos claros. En la bibliografía alemana se denomina célula de Hodgkin a la célula gigante mononuclear que, en esencia, presenta los mismos rasgos nucleares que las células de Reed-Sternberg.[58, 76, 92] Aunque en varios trabajos se menciona que también aparecen células de tipo Reed-Sternberg en otras enfermedades, como mononucleosis infecciosa, micosis fungoides, linfomas y cánceres,[68, 107] la detección de células de Reed-Sternberg es muy sugestiva de enfermedad de Hodgkin. Para identificar a la enfermedad de Hodgkin hay que fijarse en otros componentes celulares y realizar recuentos celulares diferenciales, porque así se reconoce con facilidad el predominio linfocitario o la celularidad mixta.

Los otros componentes celulares de la enfermedad de Hodgkin varían de acuerdo con los subtipos de la clasificación de Jackson y Parker. Más del 90 % de los casos exhiben celularidad mixta (tipo granulomatoso), en la que pueden aparecer diversos tipos de células (véase fig. 1081), como células de Reed-Sternberg mezcladas con reticulocitos atípicos, eosinófilos, neutrófilos, plasmocitos, etc. El tipo sarcomatoso exhibe una cantidad de células pleomórficas, células de Hodgkin y células de Reed-Sternberg. El tipo paragranulomatoso se caracteriza por escasas células gigantes de Reed-Sternberg aisladas en un sustrato de linfocitos (fig. 1082).

2) Metástasis cancerosa en ganglios linfáticos. Las lesiones metastásicas en los ganglios linfáticos son variables;

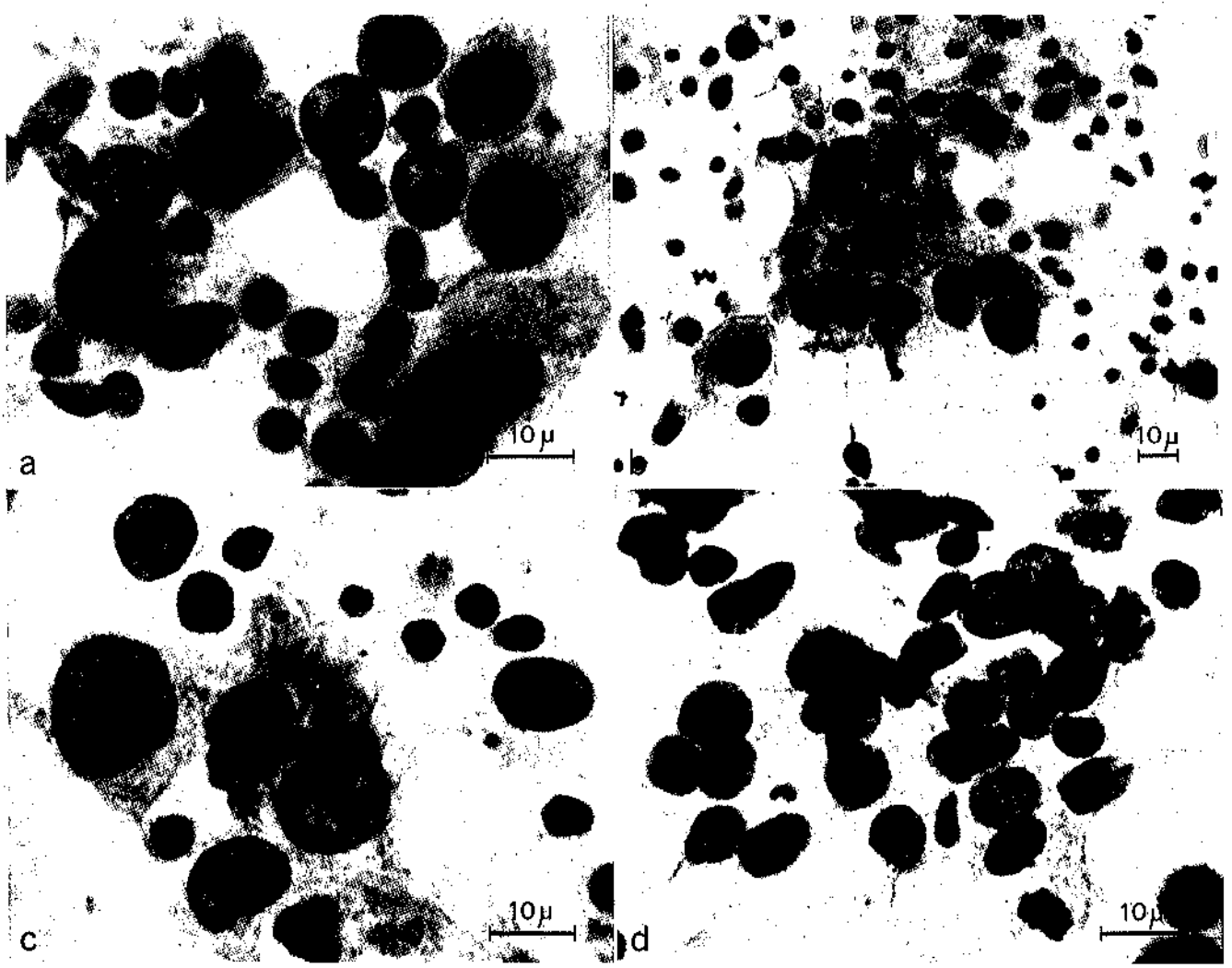


Fig. 1086. Impresiones de ganglios linfáticos que contienen metástasis carcinomatosas. *a* a *c*, Tan importante como el hallazgo característico de carcinoma metastásico es la ocurrencia de células malignas pleomórficas en una aglomeración rodeada por linfocitos maduros. El tamaño de los núcleos es muy variable y éstos exhiben bordes nucleares gruesos, grumos de cromatina grandes y nucléolos prominentes. La cantidad y forma del citoplasma también varían de acuerdo con la diferenciación de las células cancerosas a adenocarcinoma o a carcinoma epidermoide. *d*, Las metástasis de carcinoma indiferenciado como las que aparecen en esta figura deben distinguirse cuidadosamente del linfoma maligno. El citoplasma no se ve o es borroso. Los núcleos son bastante pequeños, pues miden 10 μ o apenas algo más. El aspecto de estas células dispuestas en aglomeraciones y las variaciones del tamaño y morfología de los núcleos son datos importantes en los casos de carcinoma metastásico.

mientras que en el seno periférico se radican focos metastásicos iniciales que sólo se descubren en los cortes histológicos, en los casos avanzados las células cancerosas reemplazan casi por completo al ganglio linfático. Hasta unas pocas células cancerosas entremezcladas con linfocitos hacen el diagnóstico de metástasis porque las células cancerosas, que muchas veces aparecen aglomeradas, se diferencian de las linfoides por sus rasgos característicos, como núcleos más grandes, membrana nuclear distintiva y diferenciación glandular o epidermoide (figs. 1087 y 1088).

3) Linfadenopatía infecciosa. Aunque no existe dificultad para reconocer la linfadenitis aguda por las manifestaciones clínicas, todo agrandamiento persistente de ganglios linfáticos locales se debe investigar para decidir si es neoplásico o infeccioso. Por ejemplo, establézcase el origen del pigmento melánico en los macrófagos; mientras que sólo existe pigmento melánico en los macrófagos fijos (histiocitos sinusales) cuando hay linfadenitis dermatopática, este pigmento no sólo aparece en las células melanomatosas, sino también en los macrófagos en el melanoma diseminado. En las linfadenopatías de causa desconocida se debe emprender una minuciosa búsqueda de microorganismos específicos causantes de enfermedades como histoplasmosis, criptococosis, paracoccidioidomicosis y toxoplasmosis.

4) Granuloma de células epitelioides. Las células epitelioides de núcleos elípticos, pálidos y vesiculosos con una cromatina finamente reticular, son sugestivas de tuberculosis, sarcoidosis, tularemia, fiebre por arañazo de gato, etc. Las células gigantes de Langhans poseen exactamente los mismos rasgos nucleares que las células epitelioides. La detección de restos necróticos homogéneos, además de células epitelioides, puede confirmar la impresión de tuberculosis. A falta de detritos necróticos caseosos, lo más sospechoso es una sarcoidosis o reacción sarcoide.

Detección de cuadros anormales en los linfocitogramas

En el proceso inflamatorio, el cuadro celular normal de los extendidos de ganglios linfáticos se caracteriza por el predominio de algunas series de componentes celulares, como plasmocitos, monocitos, leucocitos polimorfonucleares y eosinófilos, pero este predominio no debe exceder del 80 %. Si en el extendido aparece un cuadro monótono de células

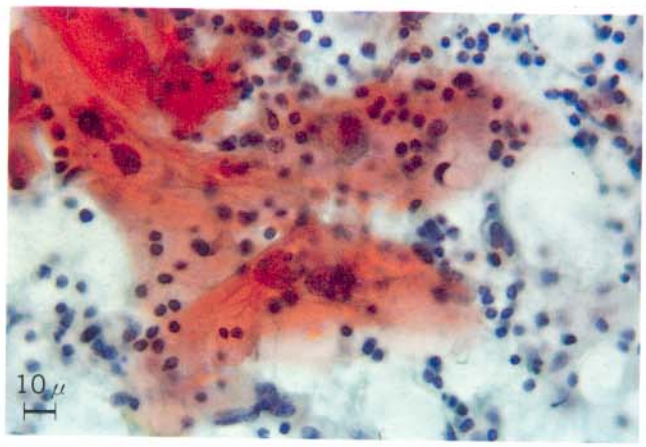


Fig. 1087. Carcinoma epidermoide metastásico en impresiones de un ganglio linfático. Aparecen células de formas extrañas con intensa naranjofilia por la queratinización, rodeadas por linfocitos.

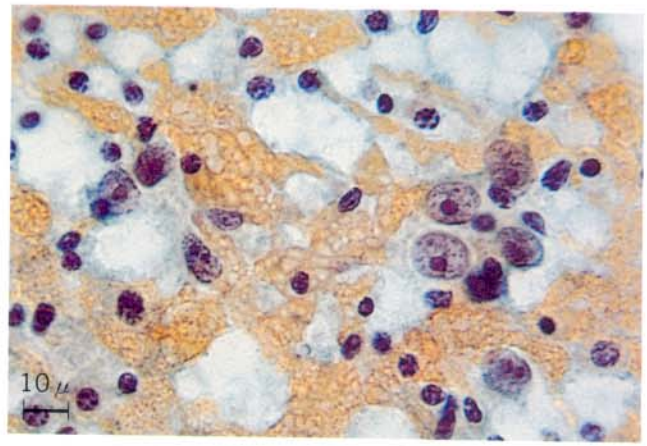


Fig. 1088. Adenocarcinoma metastásico en una impresión de un ganglio linfático. El grupo suelto de células cancerosas de nucléolos eosinófilos aparece rodeado por linfocitos maduros y eritrocitos.

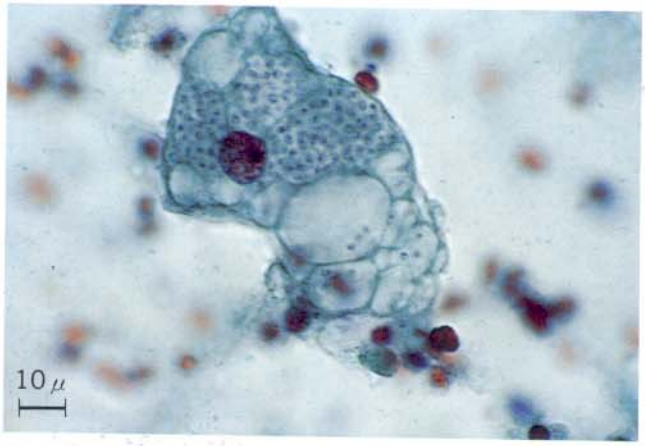


Fig. 1089. Histoplasmosis en la impresión de un ganglio linfático agrandado. El macrófago ha englobado numerosas formas levaduriformes de *Histoplasma capsulatum*. Esta forma diseminada progresiva cursó con linfadenopatía generalizada y hepatoesplenomegalia, además del compromiso pulmonar.

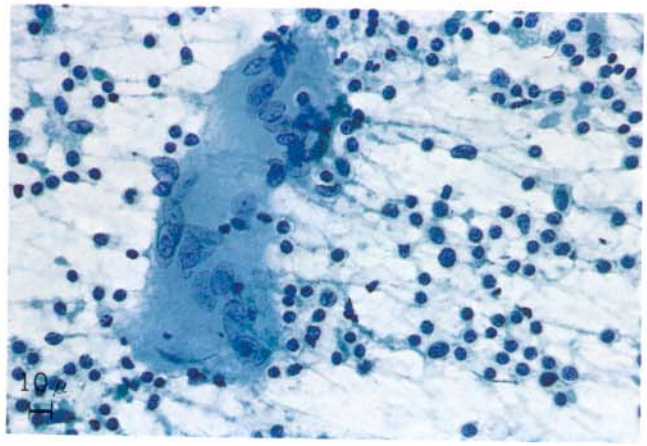


Fig. 1090. Células gigantes de Langhans en un aspirado de punción de un ganglio linfático. Las células de Langhans que poseen unos núcleos elípticos aglomerados con membrana nuclear delicada en presencia de detritos amorfos, aunque no se ven en este extendido, son sugestivas de tuberculosis. Exclúyanse la tularemia y la brucelosis.

linfoides anormales que no existen en los extendidos normales, esto es muy sugestivo de la forma difusa de linfoma maligno.

La distinción entre el tipo difuso o nodular sólo se puede postular observando con poco aumento, cuando en la cuidadosa impresión de la superficie de corte se ha preservado la estructura de las alteraciones patológicas. No se debe frotar el extendido.

9. Leucemia como enfermedad emparentada con el linfoma

Leucemia linfática aguda (LLA)

La leucemia linfática o linfoblástica aguda, más común en niños que en adultos, pertenece a la variedad de linfocitos T o de linfocitos nulos,[104, 114] mientras que la leucemia linfática crónica presenta inmunoglobulinas superficiales monoclonales, en particular proteína de IgM.[1, 53] La LLA de linfocitos T aparece con frecuencia en niños mayores y es más común en varones que en niñas.[135] Las células leucémicas circulantes están muy aumentadas en cantidad y en la LLA de linfocitos T hay considerable infiltración leucémica de los órganos, junto con linfadenopatía y hepatoesplenomegalia; también es notable el compromiso del mediastino.[40,104]

Al linfoma de la niñez originado en linfocitos T, que muchas veces se asocia con una fase leucémica, se lo separa arbitrariamente de la LLA de acuerdo con el sitio que esté tomado,[141] es decir, si la manifestación principal es el compromiso de la médula ósea y sangre periférica o la linfadenopatía y tumor mediastinal. La LLA originada en linfocitos B es rara y representa el 2 % de todos los casos de LLA; se distingue por la presencia de inmunoglobulina superficial.[129]

Leucemia linfática crónica (LLC)

La leucemia linfática o linfocítica crónica es más frecuente en ancianos que la LLA y muchas veces se acompaña de compromiso de la reacción inmune a causa de la proliferación monoclonal de linfocitos B. En varias comunicaciones se dijo que en la LLC se destacan los linfocitos que poseen IgM[1, 23, 83] y a la LLC se la considera una variedad de linfocitos B,[2, 93] mientras que Whiteside y col.[116] señalan que los marcadores de la superficie y función de las células no son criterios estables para categorizar a los linfocitos neoplásicos, porque ocurre reactividad cruzada entre las células de la LLC y los linfocitos T. Se considera que una pequeña proporción de casos de LLC se originan en linfocitos T y muchas veces se asocian con eritrodermia, lo mismo que el síndrome de Sézary.

Cuadro 104. Clasificación inmunológica del linfoma maligno y enfermedades afines

Línea de linfocitos T	
	LLA con compromiso mediastinal
	Linfosarcoma (tipo difuso)
	Síndrome de Sézary
	Micosis fungoides
	Timoma
Línea de linfocitos B	
	Partes principales de la LLC
	Lifoma de Burkitt
	Linfosarcoma de origen folicular (tipo nodular)
	Mieloma múltiple
	Linfadenopatía inmunoblástica
	Macroglobulinemia de Waldenström
	Leucemia de células en cepillo
Línea de linfocitos nulos	
	Partes principales de la LLA
	Reticulosarcoma (linfoma histiocitario)
	Enfermedad de Hodgkin

Citología general de las células leucémicas linfáticas. Las dificultades para identificar células leucémicas linfáticas no consisten en trazar la diferencia entre células leucémicas linfoblásticas y células leucémicas linfocitarias, sino en distinguir entre células leucémicas y células linfosarcomatosas: 1) Las células leucémicas linfoblásticas se caracterizan por unos núcleos hipercromáticos grandes con indentaciones, uno a tres nucléolos y un citoplasma basófilo escaso y agranular. 2) Las células leucémicas linfocitarias son de mediano tamaño y sus núcleos contienen una cromatina densa y un tanto punteada. La trama de cromatina no es tan condensada como la de los linfocitos maduros. De acuerdo con la clasificación inmunológica, la deformidad o indentación de los núcleos es menos prominente en los linfocitos B que en los linfocitos T (figs. 1093 y 1094).

La diferenciación entre células leucémicas linfáticas y células linfosarcomatosas es difícil de por sí. La trama de

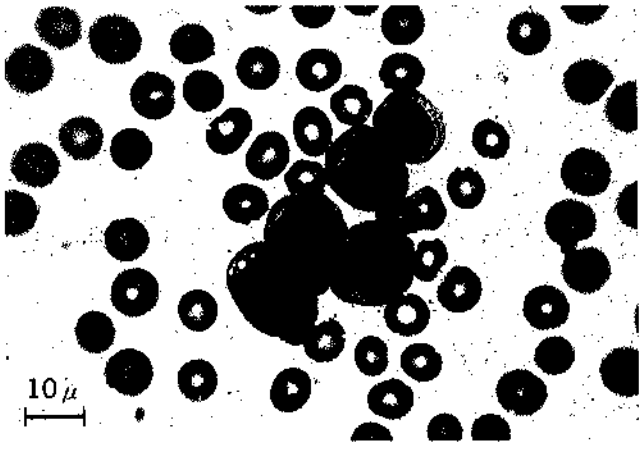


Fig. 1091. Frotis de sangre en la leucemia linfática aguda. Núcleos agrandados y con evidentes indentaciones. Los filamentos de cromatina son más condensados que los de las células de la leucemia mielógena.

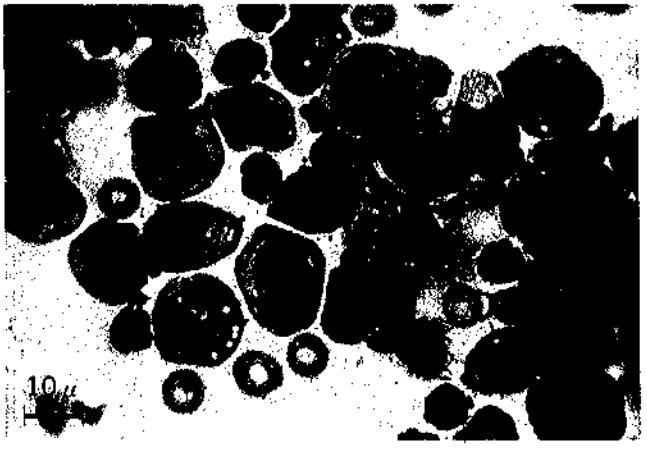


Fig. 1092. Frotis de sangre de leucemia mielógena aguda, ocupado por mieloblastos. Los núcleos presentan unas cromatinas de riendas finas y múltiples nucléolos pálidos. Se observa vacuolización citoplasmática.

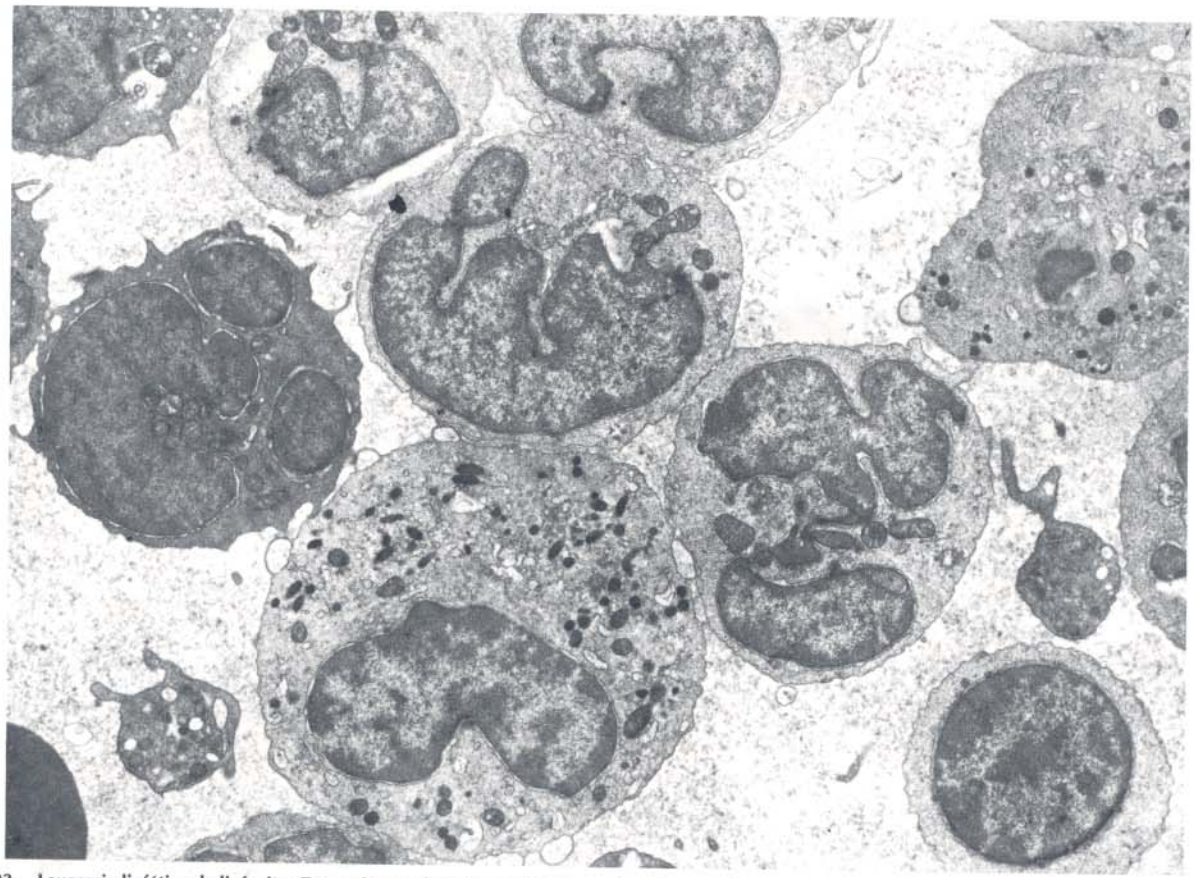


Fig. 1093. Leucemia linfática de linfocitos T con circunvoluciones profundas en el contorno nuclear. Heterocromatina densamente aumentada y de distribución difusa. El borde del citoplasma es liso (× 6600).

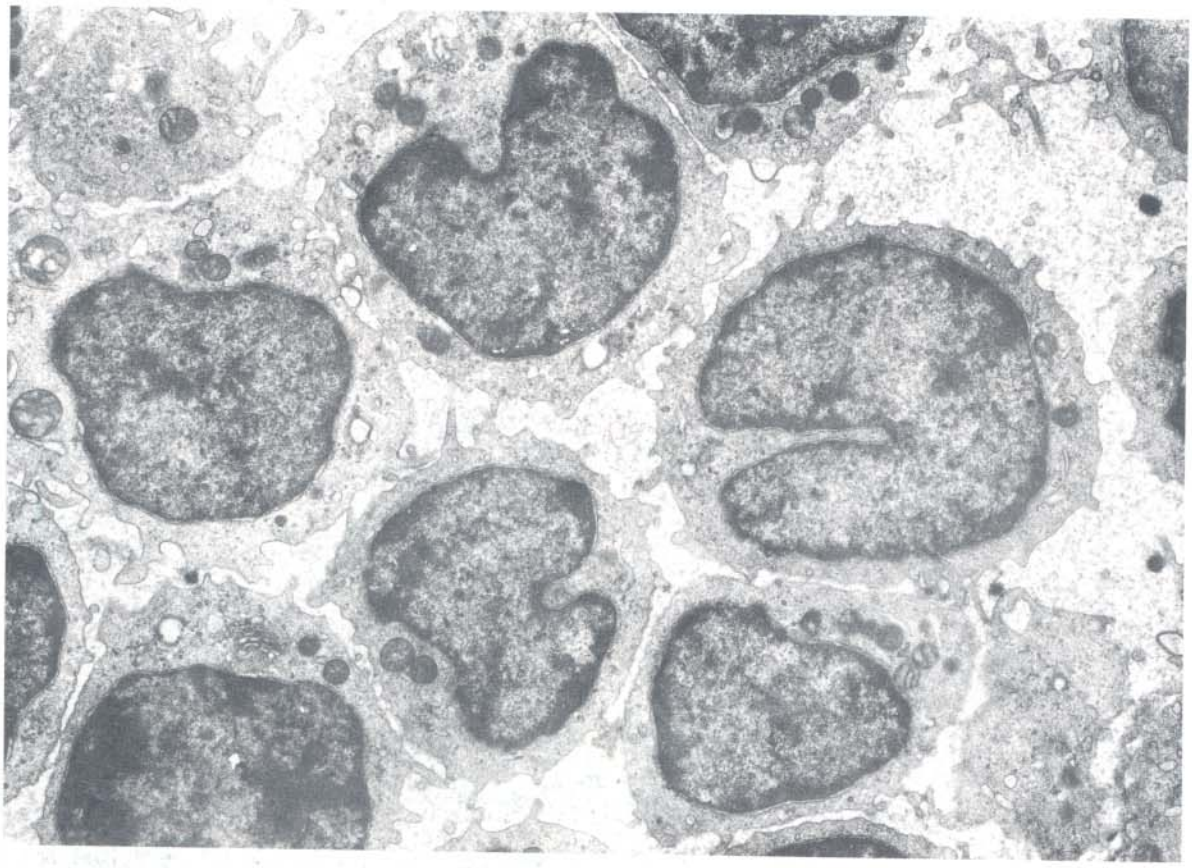


Fig. 1094. Leucemia linfática de linfocitos B con núcleos grandes que presentan indentaciones ocasionales. En los linfocitos B la indentación nuclear es menos pronunciada que en los linfocitos T. En el citoplasma escaso los organoides están poco desarrollados, pero la cantidad de polirribosomas aparece aumentada. Se observan prolongaciones citoplasmáticas (× 6600).

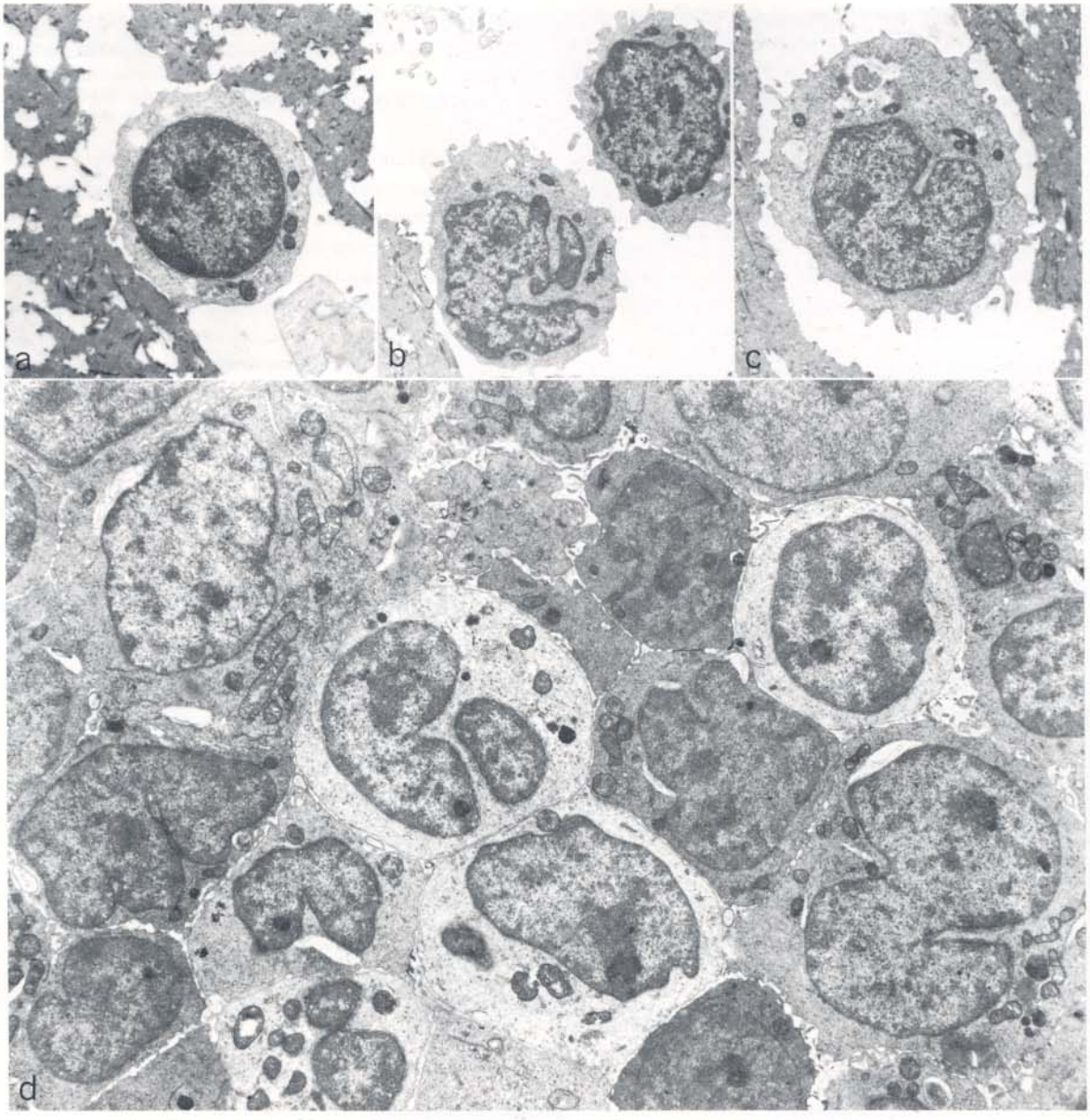


Fig. 1095. Linfocitos activados y células de leucemia linfocitaria crónica. 1) Un linfocito pequeño (*a*) y linfocitos activados (*b* y *c*) en la pleuresía tuberculosa. Los linfocitos activados presentan unos núcleos grandes y contorneados, con heterocromatina de distribución granular, mientras que el linfocito pequeño presenta una cromatina densamente aglomerada, en particular en la periferia. 2) Los linfocitos leucémicos (*d*) poseen núcleos redondos a invaginados más grandes. Hay mucha heterocromatina, pero no tan condensada como la del linfocito benigno. Nótense las mitocondrias excesivas (× 4000).

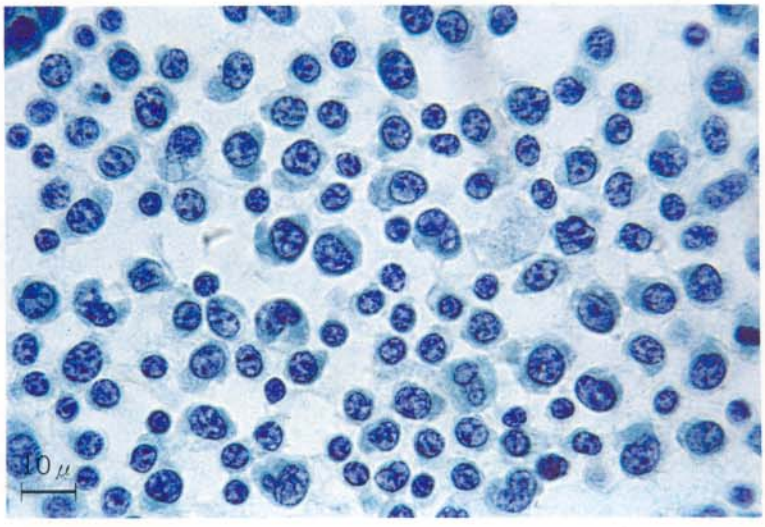


Fig. 1096. Leucemia linfocitaria crónica en impresiones de un ganglio linfático. Variable cantidad de células leucémicas similares a rolinfocitos, mezcladas con linfocitos. Estas células son apenas más ndes que los linfocitos, pero más pequeñas que las células linfo- ırcomatosas. Nótense uno o dos nucléolos y las cromatinas pun- adas.

cromatina de las células leucémicas es de distribución más pareja e igual que la de las células linfosarcomatosas. La variación del tamaño nuclear, o sea el entremezclado de células pequeñas y grandes del mismo tipo, abona a favor del linfosarcoma. Lo más importante en las impresiones o en los aspirados de punción es fijarse en la celularidad; en la leucemia linfática encontramos la mezcla de grandes células inmaduras (células leucémicas) con células benignas de la serie linfocitaria (fig. 1096), mientras que en el linfosarcoma el extendido es monomórfico y se halla ocupado con preferencia por células linfosarcomatosas (figs. 1074 a 1076).

Síndrome de Sézary

Este síndrome se caracteriza por una eritrodermia pruriginosa y exfoliativa, facies leonina o en máscara, linfadenopatía superficial, hepatomegalia y células mononucleares atípicas circulantes que pertenecen a la serie de linfocitos T. Las células de Sézary son un poco más grandes que los leucocitos y poseen circunvoluciones nucleares cerebriformes[69, 120] (fig. 1097). Es probable que la enfermedad de Sézary sea una variante eritrodérmica con células atípicas circulantes, o sea con una manifestación leucémica de micosis fungoides.[117]

Leucemia de células en cepillo

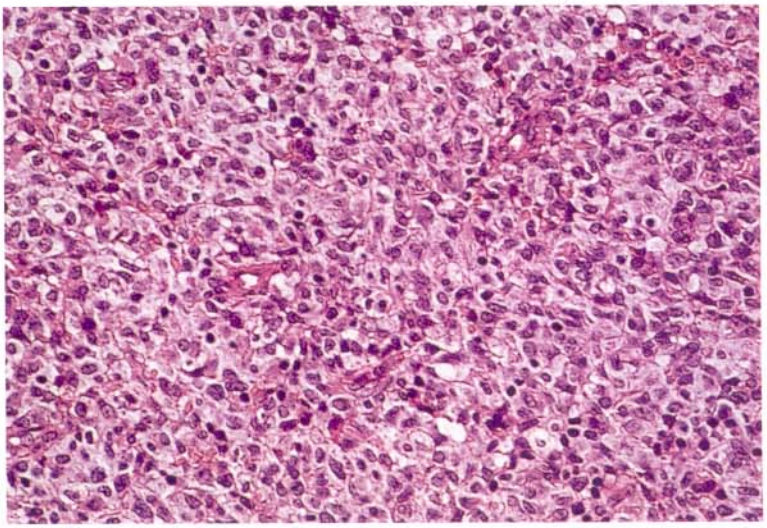
La leucemia de células en cepillo (Schrek, 1966)[103] también se denominó leucemia reticulolinfocitaria crónica; esta rara enfermedad no se debe confundir con la reticulosis maligna o leucemia monocítica de tipo Schilling, que sigue una evolución aguda. Esta entidad nosológica se caracteriza por 1) un curso clínico crónico con considerable esplenomegalia y linfadenopatía leve, 2) anemia progresiva, 3) células específicas con prolongaciones citoplasmáticas denominadas en cepillo (fig. 1100) y 4) actividad de fosfatasa ácida resistente al L-tartrato en la célula leucémica.[130, 131] Se discute mucho si este tumor se origina en linfocitos B[123, 128] o si es una variedad monocitaria/histiocitaria.[132, 139] Aunque todavía no se ha esclarecido con seguridad su origen, los estudios recientes revelan que los linfocitos B leucémicos son fagocitos facultativos.[124,125,127,137]

Mientras que la ATPasa superficial y la inmunoglobulina



Fig. 1097. Células de Sézary que antes se llamaban células monstruosas. Los núcleos exhiben circunvoluciones cerebriformes características y heterocromatinas marginadas (*a* × 6000; *b* × 12.000).

Fig. 1098. Biopsia de un ganglio linfático cervical de un paciente con leucemia de células en cepillo. Nótese el vasto reemplazo de la estructura normal por células reticulohistiocitarias atípicas con función fagocitaria y actividad de fosfatasa ácida resistente al L-tartrato. Quedan algunos linfocitos maduros.



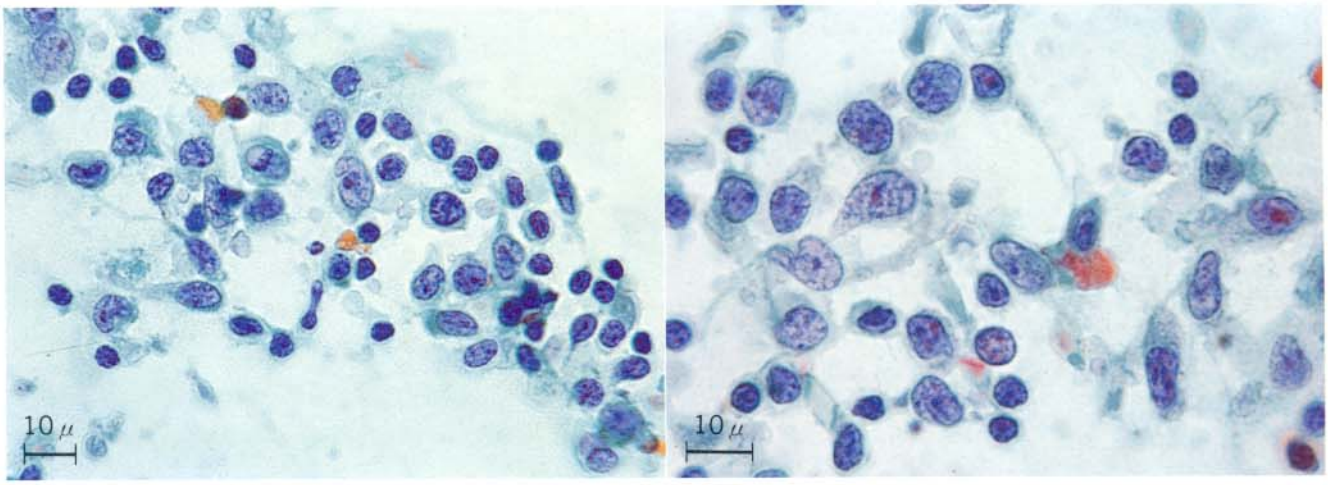
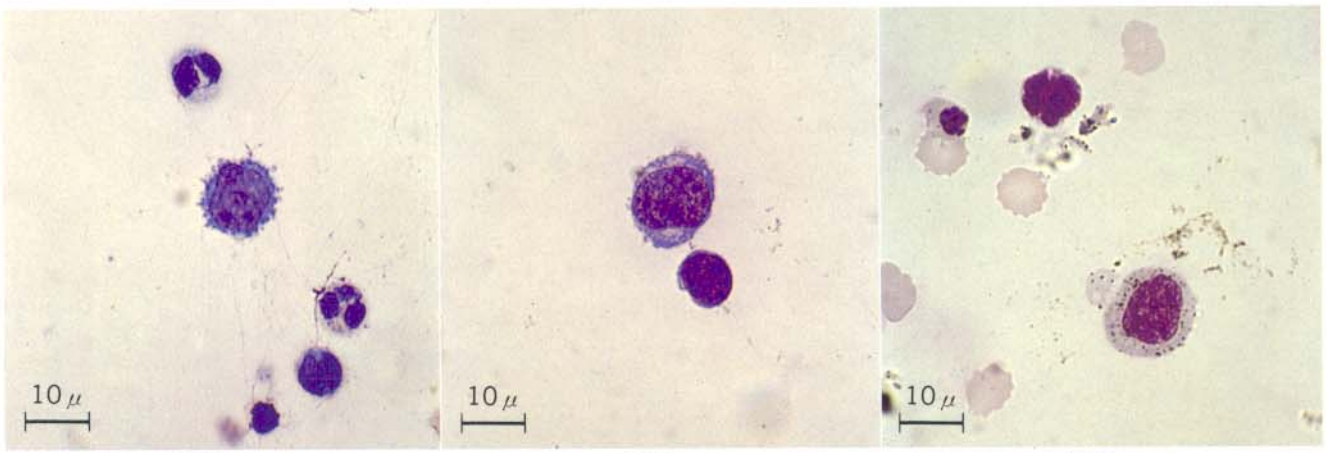


Fig. 1099. Citología de impresión en una linfadenopatía leve por leucemia de células en cepillo. Caso de la figura 1098. En presencia de linfocitos benignos, que no son comunes en el linfoma monomorfo, se ven células endotelioides atípicas de núcleos elongados o reniformes. La membrana nuclear es delicada pero nítida.



1100a 1100b 1101

Fig. 1100. Leucemia de células en cepillo con finas prolongaciones citoplasmáticas. Hombre de 54 años que tuvo una ligera linfadenopatía cervical y hepatoesplenomegalia, y adquirió manifestaciones leucémicas de células mononucleadas atípicas con alta relación N/C.

Fig. 1101. Capacidad fagocitaria de un linfocito grande en la leucemia de células en cepillo. Método de la tinta china en un extendido de sangre. Aunque en la incubación con tinta china no se ven las prolongaciones filamentosas, una célula mononucleada atípica ha fagocitado partículas finas.

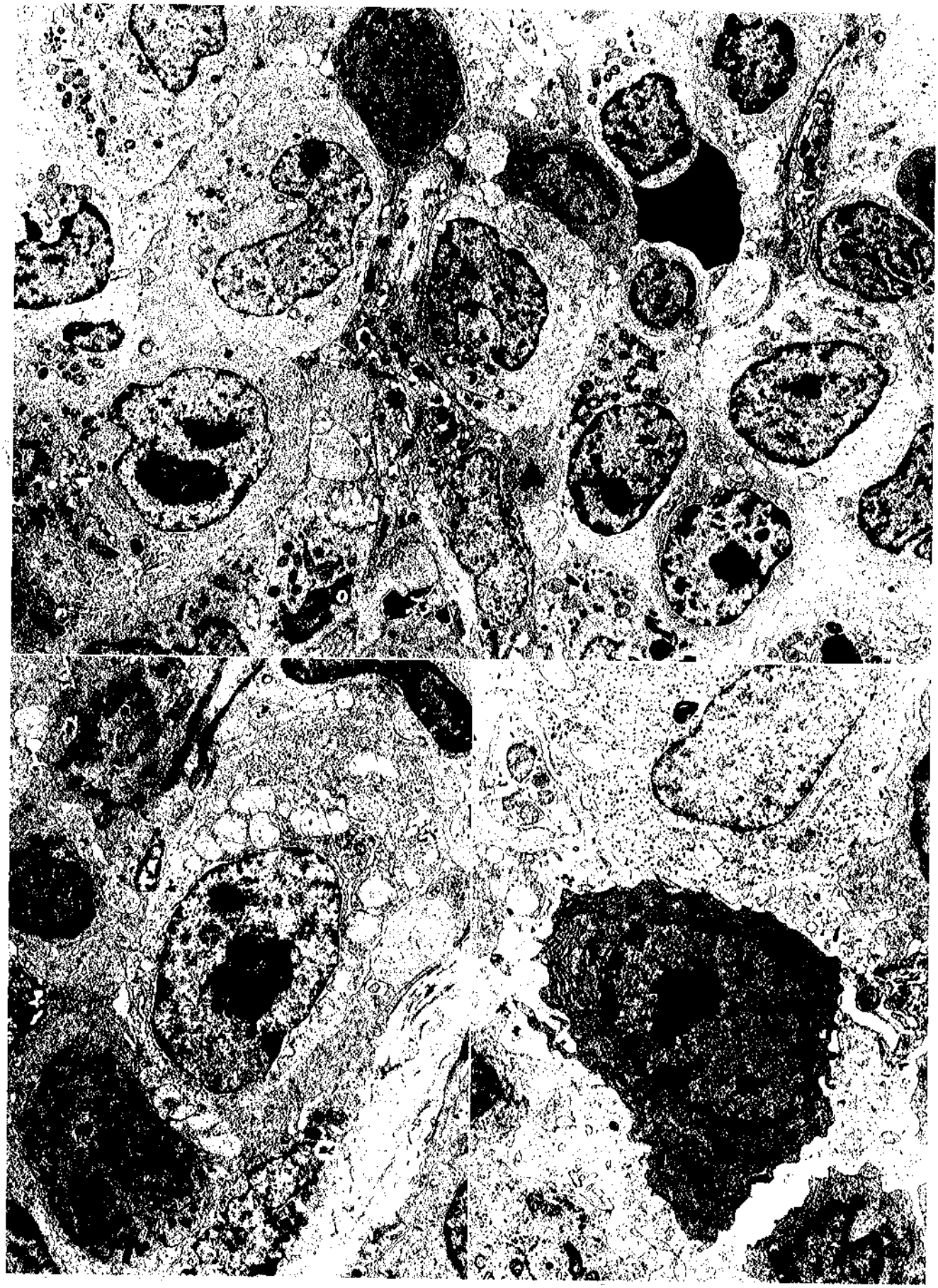


Fig. 1102. Linfadenopatía inmunoblástica. Micrografía electrónica de inmunoblastos grandes. Nótense los nucléolos prominentes dentro de núcleos grandes y vesiculosos, y los abundantes polirribosomas en la regular cantidad de citoplasma (*a* × 4450; *b* × 5390; *c* × 4530).

cantidad de vasos arborizados, eosinófilos y células blastoides.[51]

Citología. En la linfadenopatía inmunoblástica, el componente principal de la patología celular está dado por las células blastoides de núcleos grandes, redondeados e hipercromáticos, que contienen uno o dos nucléolos, pero a veces tres. A menudo estos nucléolos se hallan en el borde nuclear. La cantidad de citoplasma es regular y sus grados de basofilia a la tinción con Giemsa son moderados. En ocasiones el citoplasma es vacuolado, pero esto no es específico. En el tipo linfocitario B es notable la mezcla con células de tipo plasmoblástico y plasmocitos.

Addendum: Hiperplasia linforreticular inespecífica. La hiperplasia reactiva de las células linforreticulares de un ganglio linfático, exhibe una citología similar a la linfadenopatía inmunoblástica porque aparecen linfogonias grandes mezcladas con linfocitos. La diferenciación se puede establecer por el cuadro histológico, pero los constituyentes celulares son distintos y se pueden distinguir entre sí mediante citología. Primero, en la linfadenopatía inmunoblástica aparecen diversos grados de inmadurez en las series linfocitaria y plasmocitaria; segundo, en la hiperplasia reactiva son bastante conspicuos los histiocitos o macrófagos que han fagocitado detritos celulares.

Mieloma

Teniendo en cuenta a los plasmocitos como una forma de diferenciación extrema, podemos ver variaciones considerables en los rasgos de las células mielomatosas de acuerdo con el grado de diferenciación. Las variaciones morfológicas de las células mielomatosas son (figs. 1006-1009):

1) La forma diferenciada o madura posee un núcleo ovoide o redondo, en posición excéntrica. La cromatina está condensada en la periferia. El citoplasma es abundante y se tiñe intensamente en la periferia, exhibiendo un halo perinuclear. A la microscopia electrónica el citoplasma es rico en mitocondrias y en un retículo endoplasmático laminillar dispuesto en líneas paralelas compactas en la periferia. También está bien desarrollado el aparato de Golgi, y se observa aumento del tamaño y cantidad de los nucléolos.

2) La forma indiferenciada o inmadura tiene un núcleo central grande, a menudo indentado o lobulado. La situación del núcleo y la relación N/C aumentada indican el estado de inmadurez. El retículo endoplasmático es abundante, laminillar y a menudo exhibe dilataciones quísticas. Las mitocondrias presentan distorsiones de tamaño y forma. Los gránulos intramitocondriales son más abundantes y se ven frecuentes disrupciones de las crestas. Se considera que los cuerpos densos que están dentro de las cisternas son los responsables de la formación de esférulas citoplasmáticas *(cuerpos de Russel).*

3) La célula en llama o tesaurocito es otra célula mielomatosa especial. El retículo endoplasmático distendido exhibe mucha retención de proteína M; esto se debería a la formación de polímeros de alto peso molecular de la IgA, que es rica en carbohidratos.[82]

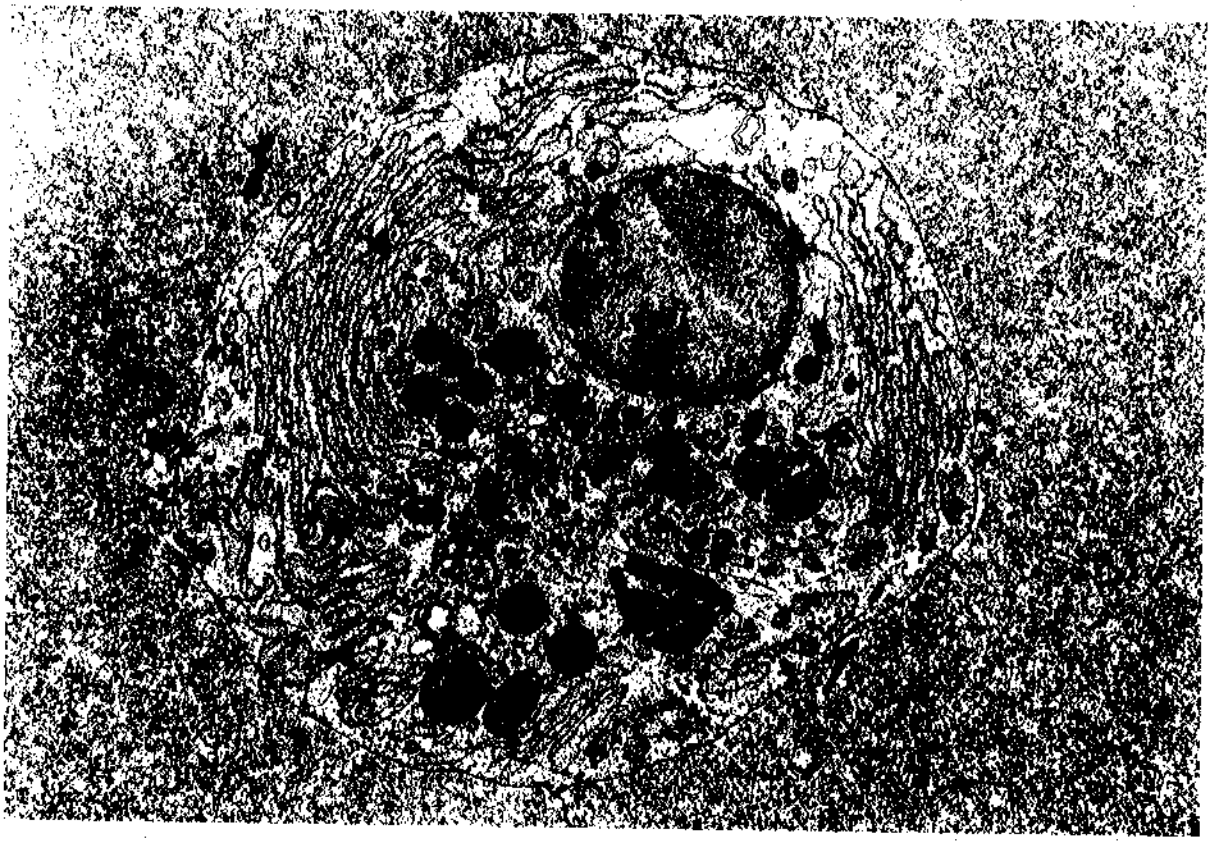


Fig. 1106. Micrografía electrónica de una célula mielomatosa de tipo IgM kappa tomada de la médula ósea. Célula mielomatosa madura que exhibe un núcleo redondo y bastante pequeño situado en la periferia. Nótense el retículo endoplasmático laminillar en la periferia y el área de Golgi bien desarrollada (× 8000).

10. Histiocitosis X

Aunque al granuloma eosinófilo solitario o múltiple deberíamos comentarlo en el capítulo sobre los huesos, el concepto convencional de histiocitosis, que comprende enfermedad de Letterer-Siwe (reticuloendoteliosis no lipídica), enfermedad de Hand-Schüller-Christian y granuloma eosinófilo, se describió en el capítulo sobre los órganos hematopoyéticos. En esencia, estas enfermedades se caracterizan por unos infiltrados de células mononucleares o multinucleadas de núcleos contorneados o indentados y moderada cantidad de citoplasma acidófilo. La enfermedad de Letterer-Siwe es el trastorno más rápidamente fatal de los niños de corta edad que toma los ganglios linfáticos, hígado, bazo y huesos. En

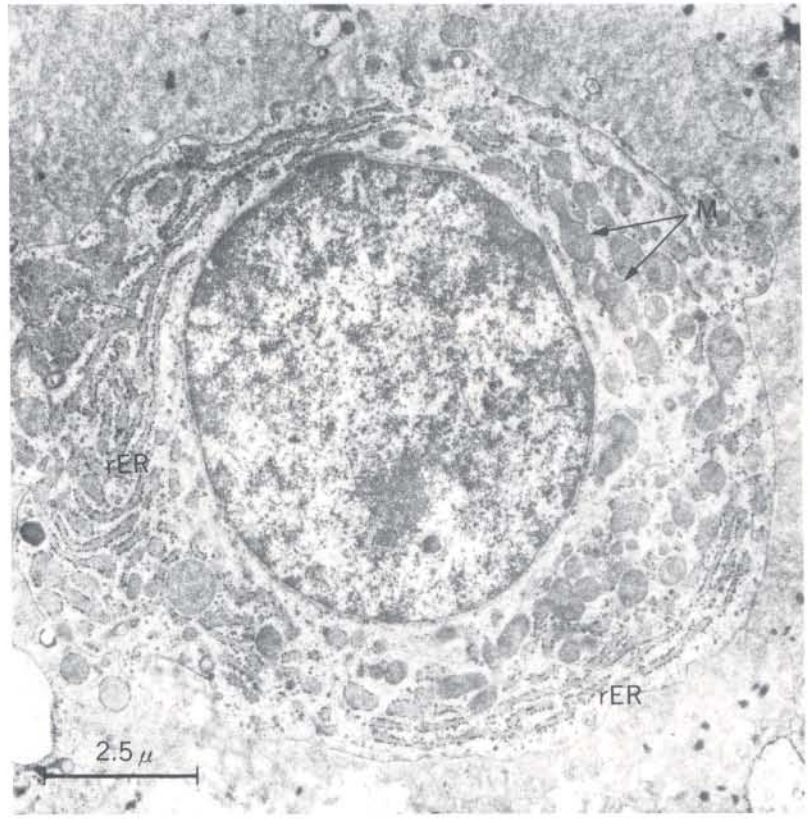


Fig. 1107. Mieloma. Célula mielomatosa inmadura con un gran núcleo central y un retículo endoplasmático áspero laminillar en la periferia. Esta célula mielomatosa es común (× 8000). *M*, Mitocondrias; *rER*, retículo endoplasmático áspero.

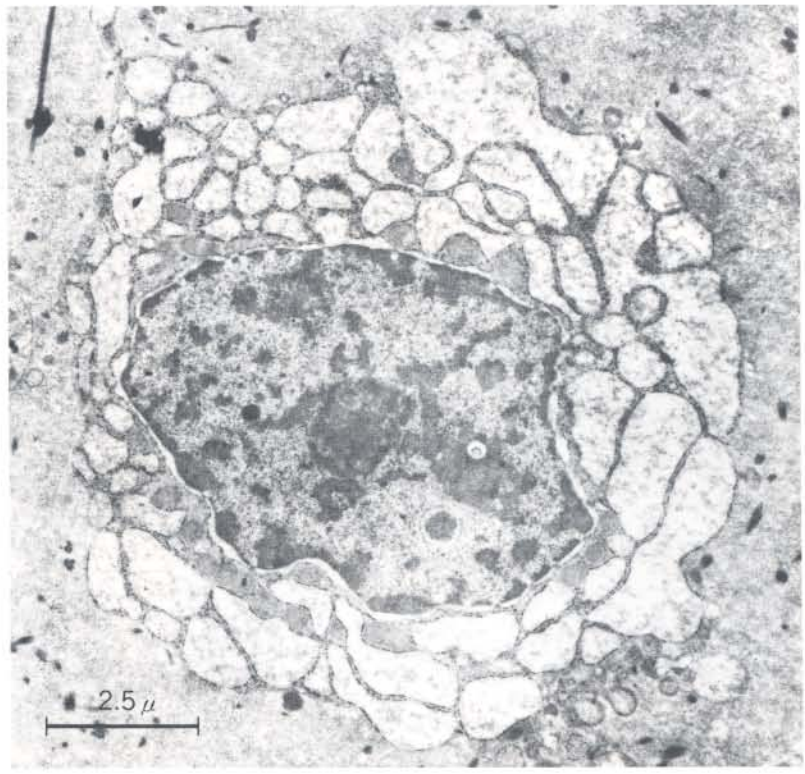
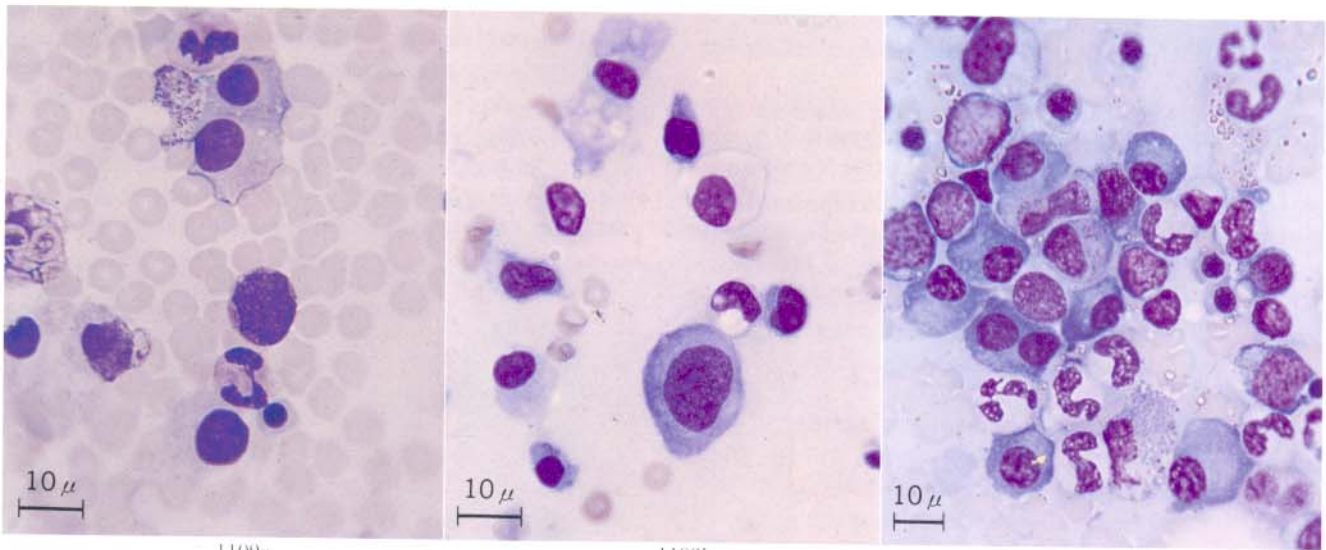


Fig. 1108. Mieloma. Célula mielomatosa inmadura con retículo endoplasmático áspero quístico. Aunque dentro del retículo endoplasmático dilatado hay depósito de sustancia granular, la cantidad de ésta no es tan grande como en la célula en llama (× 8000).



1109a 1109b 1110

Fig. 1109. Células mielomatosas en aspirados de punción de médula ósea esternal. El predominio de plasmocitos inmaduros (células mielomatosas) aglomerados en un grupo significa mieloma. La producción de inmunoglobulina monoclonal se verifica con la técnica de los anticuerpos inmunofluorescentes. *a*, Forma madura. *b*, Forma inmadura.

Fig. 1110. Plasmocitosis en los aspirados de médula ósea de un hombre de 48 años con neumonía intersticial linfoide. Nótese la diferencia en la maduración de los plasmocitos respecto de las células mielomatosas. Este hombre, que exhibía disnea progresiva, erupciones cutáneas y micropoliadenitis, resultó tener una gammapatía policlonal (IgG 5540, IgA 1380, IgM 960 mg/100 ml) asociada con la NIL.

cambio, la enfermedad de Hand-Schüller-Christian es una forma más crónica de adultos jóvenes o niños, que se caracteriza por depósitos de colesterol y sus ésteres en los histiocitos. Se produce una destrucción extensa de los huesos, en particular los del cráneo y cara, y se afectan pulmón, tiroides, ganglios linfáticos, bazo e hígado[117] (véase fig. 1168).

11. Timoma

Aspecto general

Durante la embriogénesis, el timo desempeña un papel importante como órgano linfoide primario hacia el cual migran las células precursoras provenientes de la médula ósea. El timo interviene en la maduración de las células precursoras, que se convierten en linfocitos T en la respuesta inmunocelular. Los linfocitos T que han migrado hacia el torrente sanguíneo pueden poblar los tejidos linfoides periféricos, en particular en el área paracortical. El timoma es un tumor bastante raro que se radica en el mediastino anterior y crece como un bulto bien encapsulado. Si se lo diagnostica a tiempo, se puede resecar y curar. Aunque se puede hacer citología del aspirado de punción, se debe elegir antes con cuidado el sitio, por la íntima proximidad del pericardio y los grandes vasos. En la práctica, la punción aspiradora se hace en un acto operatorio como coadyuvante de la biopsia.

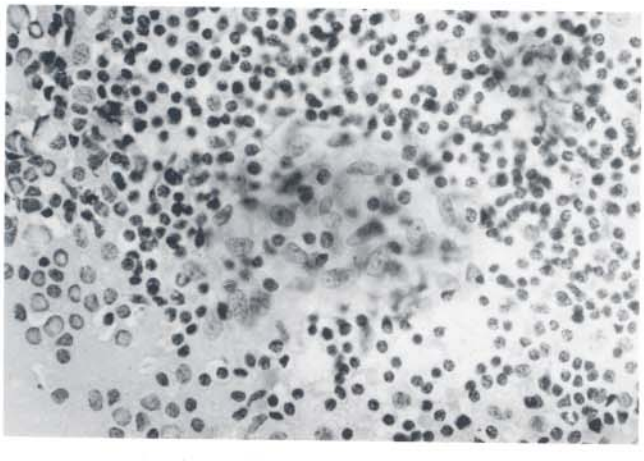


Fig. 1111. Histología de un timoma de células mixtas. Nótese la mezcla con una gran cantidad de linfocitos tímicos y un pequeño grupo de células epiteliales de citoplasma adecuado pálido.

Citología del timoma

Los constituyentes celulares principales del timoma son dos elementos distintos, los epiteliales y los linfoides. El timoma se clasifica en 1) linfocitario, 2) epitelial y 3) linfoepitelial mixto. El timoma linfocitario se caracteriza por unos pequeños linfocitos tímicos o timocitos, junto con algunas células epiteliales redondas dispersas. El timoma epitelial consiste en unas células epiteliales atípicas dispuestas en islotes o trabéculas y rodeadas por timocitos pequeños. Las células epiteliales del timoma poseen unos núcleos vesiculosos ovales y una membrana nuclear lisa. El citoplasma de las células tumorales epiteliales es más escaso que el de las células epiteliales maduras, pero se lo reconoce por su tinte basófilo.

Addendum: Paludismo en los extendidos de sangre. Los parásitos del paludismo humano experimentan un ciclo vital asexual en los eritrocitos del torrente sanguíneo, que se repite en períodos constantes, como 48 horas (fiebre terciana) y 72 horas (fiebre cuartana). Al final del ciclo esquizogónico los eritrocitos infectados se rompen y liberan merozoítos. Cuando muchos eritrocitos infectados se rompen al mismo tiempo, ocurre un paroxismo palúdico por influencia de los productos del metabolismo del parásito. Los ciclos febriles sincrónicos de periodicidad distinta dependen de la especie de parásito. La distorsión de la periodicidad y las etapas distintas de maduración del parásito se deben a infección mixta por dos especies o más.



Fig. 1112. Timoma linfoepitelial en los aspirados de una toracotomía. La célula multinucleada con citoplasma homogéneo y engrosado es compatible con un corpúsculo de Hassall.

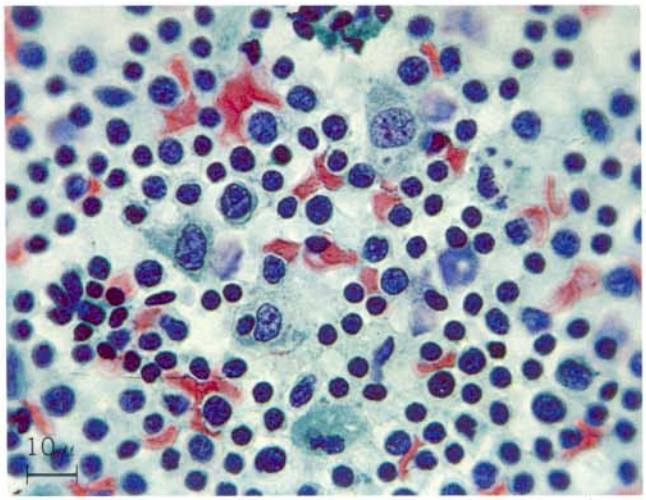


Fig. 1113. Timoma linfoepitelial mixto en una impresión. Varias células epiteliales de grandes núcleos vesiculosos aparecen mezcladas con una cantidad de células linfoides de tamaño variable.

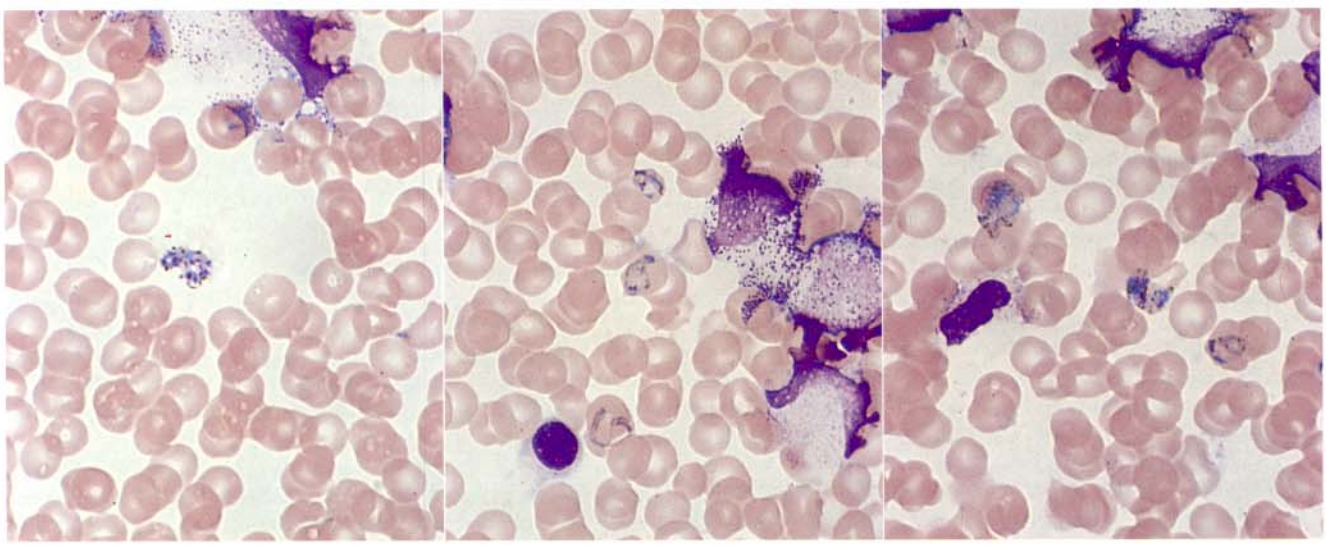


Fig. 1114. *Plasmodium vivax* en el ciclo eritrocitario. Numerosos merozoítos liberados de un ciclo preeritrocitario en los hepatocitos entran en la sangre y maduran dentro de los eritrocitos, pasando de trofozoíto a esquizonte. De acuerdo con los distintos ciclos de la vida asexual, los agentes de esta infección por protozoarios son: 1) *Plasmodium falciparum*, 2) *Plasmodium vivax*, 3) *Plasmodium malariae* y 4) *Plasmodium ovale*.

BIBLIOGRAFÍA

1. AISENBERG, A. C., and BLOCH, K. J.: Immunoglobulins on the surface of neoplastic lymphocytes. N. Engl. J. Med., *287*: 272, 1972.
2. AISENBERG, A. C., BLOCH, K. J., and LONG, J. C.: Cell-surface immunoglobulins in chronic lymphocytic leukemia and allied disorders. Am. J. Med., *55*: 184, 1973.
3. AMANO, S.: Antibody producing cell series—a review of molecular biology of immunological phenomena. Ann. Rep. Inst. Virus Res. (Kyoto University), *5*: 194, 1962.
4. ASTALDI, G., COSTA, G., and AIRO, R.: Phytohaemagglutinin in leukaemia. Lancet, *1*: 1394, 1965.
5. BACH, F. H., and HIRSCHHORN, K.: The "in vitro" response of peripheral blood leukocytes. Seminars in Haematology, *2*: 68, 1965.
6. BACH, J. F., DORMONT, J., DARDENNE, M., and BALNER, H.: In vitro rosette inhibition by antihuman antilymphocyte serum. Transplantation, *8*: 265, 1969.
7. BEGEMANN, H., and RASTETTER, J.: Atlas of Clinical Haematology. Berlin, Springer-Verlag, 1972.
8. BERNARD, C., GERALDES, A., and BOIRON, M.: Effects of phytohemagglutinin on blood-cultures of chronic lymphocytic leukaemias. Lancet, *1*: 667, 1964.
9. BIANCO, C., PATRICK, R., and NUSSENZWEIG, V.: A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antiobody-complement complexes. I. Separation and characterization. J. Exp. Med., *132*: 702, 1970.
10. BORRELA, L., and SEN, L.: E rosettes on blasts from untreated acute lymphocytic leukemia (ALL). Comparison of temperature dependence of E rosettes formed by normal and leukemic lymphoid cells. J. Immunol., *114*: 187, 1975.

11. BØYUM, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Scand. J. Clin. Lab. Invest., *21*: Suppl 97, 1968.
12. BØYUM, A.: Separation of blood leukocytes, granulocytes and lymphocytes. Tissue Antigens, *4*: 269, 1974.
13. BRAIN, P., GORDON, J., and WILLETTS, W. A.: Rosett formation by peripheral lymphocytes. Clin. Exp. Immunol., *6*: 681, 1970.
14. BRIELLMANN, A.: Über Plasmazellenbefunde in Lymphknoten bei Lebercirrhosen und die Bedeutung der Russellschen Körperchen. Schweitz. Z. Path., *18*: 335, 1955.
15. BRUBAKAR, D. B., and WHITESIDE, T. L.: Differentiation between benign and malignant human lymph nodes by means of immunologic markers. Cancer, *43*: 1165, 1979.
16. BURKITT, D. P.: A sarcoma involving the jaws of African children. Br. J. Surg., *46*: 218, 1958.
17. CARR, I.: The fine structure of the mammalian lymphoreticular system. Int. Rev. Cytol., *27*: 283, 1970.
18. CARSTAIRS, K.: The human small lymphocyte: Its possible pleuripotential quality. Lancet, *1*: 829, 1962.
19. CATOVSKY, D., CHERCHI, M., GREAVES, M. F., JANOSSY, G., PAIN, C., and KAY, H. E. M.: Acid-phosphatase reaction in acute lymphoblastic leukemia. Lancet, *2*: 749, 1978.
20. CHAPMAN, J. A., ELVES, M. W., and GOUGH, J.: An electron-microscope study of the in vitro transformation of human leukocytes. J. Cell Sci., *2*: 359, 1967.
21. CHASE, M. W.: Delayed-type hypersensitivity and the immunology of Hodgkin's disease, with a parallel examination of sarcoidosis. Cancer Res., *26*: 1097, 1966.
22. CLAMAN, H. N.: Human thymus cell cultures. Evidence for two functional populations. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *121*: 236, 1966.
23. CLARK, C., RYDELL, R. E., and KAPLAN, M. E.: Frequent association of IgM with crystalline inclusions in chronic lymphatic leukemic lymphocytes. N. Engl. J. Med., *289*: 113, 1973.
24. COUKLE, D. M., and ADKINS, B., Jr.: Primary malignant tumors of the mediastinum. Ann. Thorac. Surg., *14*: 553, 1972.
25. COWLING, D. C., QUAGLINO, D., and DAVIDSON, E.: Changes induced by tuberculin in leucocyte cultures. Lancet, *2*: 1091, 1963.
26. CUSTER, R. P., and BERNHARD, W. G.: Interrelationship of Hodgkin's disease and other lymphatic tumors Am. J. Med. Sci., *216*: 625, 1948.
27. DAVIS, S.: The variable pattern of circulating lymphocyte subpopulation in chronic lymphocytic leukemia. N. Engl. J. Med., *294*: 1150, 1976.
28. DENT, P. M., GABRIELSEN, A. E., COOPER, M. D., PETERSON, R. D. A., and GOOD, R. A.: The secondary immunologic deficiency diseases associated with lymphoproliferative disorders. *In* MIESCHER, P. A., and MÜLLER-EBERHARD, H. J. (Eds.): Textbook of Immunology. New York, Grune & Stratton, 1969.
29. DICKLER, H. B., SIEGEL, E. P., BENTWICH, Z. H., and KUNNKEL, H. G.: Lymphocyte binding of aggregated IgG and surface Ig staining in chronic lymphocytic leukemia. Clin. Exp. Immunol., *14*: 97, 1973.
30. EPSTEIN, L. B., and STOHLMAN, F., Jr.: RNA synthesis in cultures of normal human peripheral blood. Blood, *24*: 69, 1964.
31. EPSTEIN, M. A., and BARR, Y. M.: Cultivation in vitro of human lymphoblasts from Burkitt's malignant lymphoma. Lancet, *1*: 252, 1964.
32. FERRATA, A., and STORTI, E.: Le Malattie del Sangue: Mannuale per Medici e Studenti. Milano, Soc. Edit. Libraria, 1946.
33. FRANZÉN, S., GIERTZ, G., and ZAJICEK, J.: Cytological diagnosis of prostatic tumours by transrectal aspiration biopsy: A preliminary report. Br. J. Urol., *32*: 193, 1960.
34. FREEMAN, C., BERG, J. W., and CUTLER, S. J.: Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas. Cancer, *29*: 252, 1972.
35. FRIZZERA, G., MORAN, E. M., and RAPPAPORT, H.: Angio-immunoblastic lymphadenopathy with dysproteinaemia. Lancet, *1*: 1070, 1974.
36. GALL, E. A.: The cytological identity and interrelation of mesenchymal cells of lymphoid tissue. Ann. N. Y. Acad. Sci., *73*: 120, 1958.
37. GALL, E. A., and MALLORY, T. B.: Malignant lymphoma: A clinicopathological survey of 618 cases. Am. J. Path., *18*: 381, 1942.
38. GALL, E. A., and RAPPAPORT, H.: Seminar on diseases of lymph nodes and spleen. *In* MCDONALD, J. R. (Ed.): Proceedings of the 23rd Seminar of American Society of Clinical Pathologists, 1958.
39. GERARD-MARCHANT, R., HAMLIN, I., LENNERT, K., RILKE, F., STANSFELD, A. G., and VAN UNNIK, J. A. M.: Classification of non-Hodgkin's lymphomas. Lancet, *2*: 406, 1974.
40. GREENBERG, B. R., PETER, C. R., GLASSY, F., and MACKENZIE, M. R.: A case of T-cell lymphoma with convoluted lymphocytes. Cancer, *38*: 1602, 1976.
41. GRUNDMANN, E.: Die Bildung der Lymphocyten und Plasmazellen im lymphatischen Gewebe der Ratte: Ein cytologischer Beitrag zur Blutzellreifung. Beitr. Path. Anat., *119*: 217, 1958.
42. GUTHRIE, O.: Gland puncture as a diagnostic measure. Bull. Johns Hopkins Hosp., *32*: 266, 1921.
43. HELLMAN, T.: Studien über das lymphoide Gewebe. Beitr. path. Anat., *68*: 333, 1921.
44. HENLE, W., HENLE, G., HO, H.-C., BURTIN, P., CACHIN, Y., CLIFFORD, P., DE SCHRYVER, A., DE-THÉ, G., DIEHL, V., and KLEIN, G.: Antibodies to Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma: Other head and neck neoplasm, and control groups. J. Nat. Cancer Inst., *44*: 225, 1970.
45. HERSH, E. H., and OPPENHEIM, J. J.: Impaired in vitro lymphocyte transformation in Hodgkin's disease. N. Engl. J. Med., *273*: 1006, 1965.
46. HIRSCHHORN, K., BACH, F., KOLONDY, R. L., FIRSCHEIN, I. L., and HASHEM, N.: Immune response and mitosis of human peripheral blood lymphocytes in vitro. Science, *142*: 1185, 1963.
47. HIRSCHHORN, K., SCHREIBMAN, R. R., BACH, F. H., and SILTZBACH, L. E.: In vitro-studies of lymphocytes from patients with sarcoidosis and lymphoproliferative disorders. Lancet, *2*: 842, 1964.
48. HOVMARK, A.: Acid α-naphthyl acetate esterase staining of T lymphocytes in human skin. Acta Dermatovener., *57*: 497, 1977.
49. ISHII, Y., KOSHIBA, H., BENO, H., MAEYAMA, I., TAKAMI, T., ISHIBASHI, F., and KIKUCHI, K.: Characterization of human B lymphocyte specific antigens. J. Immunol., *114*: 466, 1975.
50. JACKSON, H., Jr., and PARKER, F., Jr.: Hodgkin's Disease and Allied Disorders. New York, Oxford Univ. Press, 1947.
51. JONES, D. B., CASTLEDEN, M., SMITH., J. L., MEPHAM, B. L., and WRIGHT, D. H.: Immunopathology of angioimmunoblastic lymphadenopathy. Br. J. Cancer, *37*: 1053, 1978.

52. KAISERLING, E.: Non-Hodgkin Lymphome: Ultrastruktur und Cytogenase. Stuttgart, G. Fischer, 1977.
53. KNAPP, W., SCHUIT, H. R. E., BOLHUIS, R. L. H., and HIJMANS, W.: Surface immunoglobulins in chronic lymphatic leukemia, macroglobulinemia and myelomatosis. Clin. Exp. Immunol., *16*: 541, 1974.
54. KULENKAMPFF, J., JANOSSY, G., and GREAVES, M. F.: Acid esterase in human lymphoid cells and leukaemic blasts: A marker for T lymphocytes. Br. J. Haemat., *36*: 231, 1977.
55. LAMB, D., PILNEY, F., KELLY, W. D., and GOOD, R. A.: A comparative study of the incidence of anergy in patients with carcinoma, leukemia, Hodgkin's disease and other lymphomas. J. Immunol., *89*: 555, 1962.
56. LAY, W. H., MENDES, N. F., BIANCO, C., and NUSSENZWEIG, V.: Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes. Nature, *230*: 531, 1971.
57. LAY, W. H., and NUSSENZWEIG, V.: Receptors for complement on leukocytes. J. Exp. Med., *128*: 991, 1968.
58. LENNERT, K.: Die Morphologie der Urethanwirkung bei Leukämien, malignen Tumoren des Lymphatischen Systems und der Lymphogranulomatose. Frankf. Ztschr. Path., *61*: 339, 1950.
59. LENNERT, K.: Lymphknoten-Diagnostik in Schnitt und Ausstrich: Cytologie und Lymphedenitis. *In* LUBARSCH, O., and HENKE, F. (Eds.): Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie, I/3/A. Berlin, Gottingen, Heidelberg, Springer-Verlag, 1961.
60. LENNERT, K., and REMMELE, W.: Karyometrische Uutersuchungen an Lymphknotenzellen des Menschen: I. Mitt. Germinoblasten, Lymphoblasten und Lymphocyten. Acta Haemat., *19*: 99, 1958.
61. LENNERT, K., STEIN, H., and KAISERING, E.: Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphomata. Br. J. Cancer, *31* (Suppl. 2): 29, 1975.
62. LEVIN, P. H., O'CONOR, G. T., and BERARD, C. W.: Antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) in African patients with Burkitt's lymphoma. Cancer, *30*: 610, 1972.
63. LUCAS, P. F.: Lymph node smears in the diagnosis of lymphadenopathy: A review. Blood, *10*: 1030, 1955.
64. LUKES, R. J.: Relationship of histologic features to clinical stages in Hodgkin's disease. Am. J. Roentgenol., *90*: 944, 1963.
65. LUKES, R. J., and COLLINS, R. D.: New approaches to the classification of the lymphoma. Br. J. Cancer, *31* (Suppl. 2): 1, 1975.
66. LUKES, R. J., CRAVER, L. F., HALL, T. C., RAPPAPORT, H., and RUBEN, P.: Report of the Nomenclature Committee. Cancer Res., *26*: 1311, 1966.
67. LUKES, R. J., and TINDLE, B. H.: Immunoblastic lymphadenopathy. A hyperimmune entity resembling Hodgkin's disease. N. Engl. J. Med., *292*: 1, 1975.
68. LUKES, R. J., TINDLE, B. H., and PARKER, J. W.: Reed-Sternberg-like cells in infectious mononucleosis. Lancet, *2*: 1003, 1969.
69. LUTZNER, M. A., and GORDON, H. W.: The ultrastructure of an abnormal cell in Sézary's syndrome. Blood, *31*: 719, 1968.
70. MACKINNEY, A. A., Jr., STOHLMAN, F., Jr., and BRECHER, G.: The kinetics of cell proliferation in cultures of human peripheral blood. Blood, *19*: 349, 1962.
71. MANN, R. B., JAFFE, E. S., and BERARD, C. W.: Malignant lymphomas—a conceptual understanding of morphologic diversity. Am. J. Path., *94*: 105, 1979.
72. MARCHALONIS, J. J., CONE, R. E., and ATWELL, J. L.: Isolation and partial characterization of lymphocyte surface immunoglobulins. J. Exp. Med., *153*: 956, 1972.
73. MCDONALD, G. A., DODDS, T. C., and CRUICKSHANK, B.: Altas of Haematology, 4th ed. p. 101. Edinburgh, London and New York, Churchill Livingstone, 1978.
74. MIALE, J. B.: Laboratory Medicine-Hematology. St. Louis, C. V. Mosby, 1967.
75. MOESCHLIN, S.: Beitrag zur Morphologie der reticuloendothelialen Zellen des intravitalen Lymphknotenpunktats. Folia Haemat. Leipzig, *65*: 181, 1941.
76. MOESCHLIN, S., SCHWARZ, E., and WANG, H.: Die Hodgkinzellen als Tumorzellen. Schweitz. med. Wschr. *80*: 1103, 1950.
77. NATHWANI, B. N., RAPPAPORT, H., MORAN, E. M., PANGALIS, G. A., and KIM, H.: Malignant lymphoma arising in angioimmunoblastic lymphadenopathy. Cancer, *41*: 578, 1978.
78. NOSSAL, G. J. V.: Genetic control of lymphopoiesis, plasma cell formation, and antibody production. Int. Rev. Exp. Path., *1*: 1, 1962.
79. NOWELL, P. C.: Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res., *20*: 462, 1960.
80. OPPENHEIM, J. J., WHANG, J., and FREI, E., III: Immunologic and cytogenetic studies of chronic lymphocytic leukemia cells. Blood, *26*: 121, 1965.
81. ORTEGA, L. G., and MELLORS, R. C.: Cellular sites of formation of gammaglobulin. J. Exp. Med., *106*: 627, 1957.
82. OSSERMAN, E. F.: Multiple myeloma. *In* SAMTER, M. (Ed.): Immunological Diseases. Boston, Little Brown & Co., 1965.
83. PANGALIS, G. A., NATHWANI, B. N., and RAPPAPORT, H.: Malignant lymphoma, well differentiated, lymphocytic: Its relationship with chronic lymphatic leukemia and macroglobulinemia of Waldenström. Cancer, *39*: 999, 1977.
84. PANGALIS, G. A., YATAGANAS, X., and FESSAS, P. H.: β-glucuronidase activity of lymph node imprints from malignant lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. J. Clin. Path., *30*: 812, 1977.
85. PAPAC, R. J.: Lymphocyte transformation in malignant lymphoma. Cancer, *26*: 279, 1970.
86. PARKER, J. W., WAKASA, H., and LUKES, R. J.: The morphologic and cytochemical demonstration of lysosomes in lymphocytes incubated with phytohemagglutinin by electron microscopy. Lab. Invest., *14*: 1736, 1965.
87. PAVLOWSKY, A.: La punción ganglionar. Su contribución al diagnóstico clinico-quirúrgico de las affecciones ganglionares. Buenos Aires, Aniceto Lopez Impr., 1934.
88. PEARMAIN, G., LYCETTE, R. R., and FITZGERALD, P. H.: Tuberculin-induced mitosis in peripheral blood leucocytes. Lancet, *1*: 637, 1963.
89. PICKREN, J. W., and BURKE, E. M.: Adjuvant cytology to frozen section. Acta Cytol., *7*: 164, 1963.
90. POLLIACK, A., FROIMOVICI, M., FRANKENBURG, S., and GERY, I.: Altered surface morphology of Concanavalin A transformed thymic lymphocytes as seen by scanning electron microscopy. Biomedicine, *24*: 389, 1976.
91. POLLIACK, A., LAMPEN, N., CLARKSON, B. D., and DEHARVEN, E.: Identification of human B and T

lymphocytes by scanning electron microscopy. J. Exp. Med., *138*: 607, 1973.
92. POTTER, E. L.: Hodgkin's disease, with special reference to its differentiation from other diseases of lymph nodes. Arch. Path., *19*: 139, 1935.
93. PREUD' HOMME, J. L., and SELIGMANN, M.: Surface-bound immunoglobulins as a cell marker in human lymphoproliferative diseases. Blood, *40*: 777, 1972.
94. QUAGLINO, D., and COWLING, D. C.: Cytochemical studies on cells from chronic lymphocytic leukaemia and lymphosarcoma cultured with phytohemagglutinin. Br. J. Haemat., *10*: 358, 1964.
95. RANKI, A.: T cell acid α-naphthyl acetate esterase. Scand. J. Immunol., *5*: 1129, 1976.
96. RAPPAPORT, H.: Tumors of the hematopoietic system. *In* Atlas of Tumor Pathology. Washington, D. C., AFIP, 1966.
97. RAPPAPORT, H., WINTER, W. J., and HICKS, E. B.: Follicular lymphoma, based on a survey of 253 cases. Cancer, *9*: 792, 1956.
98. REED, R. J., and DHURANDHAR, A. N.: Stem cell (immunoblastic) lymphoma. Am. J. Clin. Path., *68*: 8, 1977.
99. REIF, A. E., and ALLEN, J. M.: Mouse thymic isoantigens. Nature, *209*: 521, 1966.
100. ROATH, S., NEWELL, D., POLLIACK, A., ALEXANDER, E., and LIN, P-S.: Scanning elecron microscopy and the surface morphology of human lymphocytes. Nature, *273*: 15, 1978.
101. ROSENBERG, S. A.: Report of the Committee on the staging of Hodgkin's disease. Cancer Res., *26*: 1310, 1966.
102. SCHREK, R., and BATRA, K. V.: Thymic, splenic and appendical lymphocytes. Lancet, *2*: 444, 1966.
103. SCHREK, R., and DONNEL, W. J.: "Hairy" cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and "flagellated" cells of normal lymph node. Blood, *27*: 199, 1966.
104. SEN, L., and BORELLA, L.: Clinical importance of lymphoblasts with T markers in childhood acute leukemia. N. Engl. J. Med., *292*: 828, 1975.
105. SMITHERS, D. W.: Hodgkin's disease: One entity or two? Lancet, *2*: 1285, 1970.
106. STAHEL, R.: Diagnostische Drüsenpunktion. Leipzig, Georg Thieme Verlag, 1939.
107. STRUM, S. B., PARK, J. K., and RAPPAPORT, H.: Observation of cells resembling Sternberg-Reed cells in conditions other than Hodgkin's disease. Cancer, *26*: 176, 1970.
108. STRUNGE, F.: La ponction des ganglions lymphatiques. Kopenhagen, Munksgaard, 1944.
109. STUYT, LB. J.: De betekenis van de lymfklierpunctie voor de diagnostiek van perifere klierzwellingen. Amsterdam, Scheltema & Holkema, 1947.
110. TAMAOKI, N., and ESSNER, E.: Distribution of acid phosphatase and N-acetyl-β-glucosaminidase activities in lymphocytes of lymphatic tissues of man and rodents. J. Histochem. Cytochem., *17*: 238, 1969.
111. TANAKA, H.: Mesenchymal and epithelial reticulum in lymph nodes and thymus of mice as revealed in the electron microscope. Ann. Rep. Inst. Virus. Res. (Kyoto University), *5*: 146, 1962.
112. TISCHENDORF, W.: Morphologisch-klinische Beobachtungen bei Erkrankungen des Lymphatischen Gewebes. Leipzig, Georg Thieme Verlag, 1942.
113. TROWELL, O. A.: Re-utilization of lymphocytes in lymphopoiesis. J. Biophys. Biochem. Cytol., *3*: 317, 1957.
114. TSUKIMOTO, I., WONG, K. Y.., and LAMPKIN, B. C.: Surface markers and prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia. N. Engl. J. Med., *294*: 245, 1976.
115. WHITE, R. G.: Functional recognition of immunologically competent cells by means of the fluorescent antibody technique. *In* WOLSTENHOLME, G. E. W., and KNIGHT, J. (Eds): The Immunologically Competent Cell. London, J. & A. Churchill Ltd., 1963.
116. WHITESIDE, T. L., WINKELSTEIN, A., and RABIN, B. S.: Immunologic characterization of chronic lymphocytic leukemia cells. Cancer, *39*: 1109, 1977.
117. WHO: Histological and Cytological Typing of Neoplastic Diseases of Haematopoietic and Lymphoid Tissues: International Histological Classification of Tumors, No. 14. Geneva, 1976.
118. WINKELSTEIN, A., and CRADDOCK, C. G.: Comparative response of normal human thymus and lymph node cells to phytohemagglutinin. Br. J. Haemat., *11*: 488, 1965.
119. YAM, L. T., LI, C. Y., and FINKEL, H. E.: Leukemic reticuloendotheliosis. The role of tartrate-resistant acid phosphatase in diagnosis and splenectomy in treatment. Arch. Int. Med., *130*: 248, 1972.
120. ZUCKER-FRANKLIN, D., MELTON, J. W., III, and JUAGLIATA, F.: Ultrastructural, immunologic and functional studies on Sezary cells: A neoplastic variant of thymus derived (T) lymphocytes. Proc. Nat. Acad. Sci., *71*: 1879, 1974.

Addendum

121. BOLLUM, F. J.: Terminal deoxynucleotidyl transferase as a haematopoietic cell marker. Blood, *54*: 1203, 1979.
122. BROUCHET, J. C., PREUD'HOMME, J. L., FLANDRIN, G., CHELLOUL, N., and SELIGMANN, M.: Membrane markers in "histiocytic" lymphomas (reticulum cell sarcomas). J. Natl. Cancer Inst., *56*: 631, 1976.
123. CATOVSKY, D.: Hairy cell leukaemia and prolymphocytic leukaemia. Clin. Haematol., *6*: 245, 1977.
124. CATOVSKY, D., SPERANDIO, P., and O'BRIEN, M.: Facultative phagocytosis by leukemic B-lymphocytes: further proof of the B-cell nature of hairy cells. *In* MATHÉ, G., SELIGMANN, M., and TUBIANA, M. (Eds.): Resent Results in Cancer Research, Vol. 64: Lymphoid Neoplasias I: Classification Categorization, Natural History. pp. 208–212. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1978.
125. CAWLEY, J. C., BURNS, G. F., and HAYHOE, F. G. J. (Eds): Recent Results in Cancer Research, Vol. 72: Hairy Cell Leukaemia. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1980.
126. DEWAR, A. E., KRAJEWSKI, A. S, and MURRAY, J.: T-cell lymphoma in children and young adults: Clinical, immunological and pathological features. Br. J. Cancer, *42*: 659, 1980.
127. FU, S. M., WINCHESTER, R. J., RAI, K. R., and KUNKEL, H. G.: Hairy cell leukemia. Proliferation of a cell with phagocytic and B-lymphocyte properties. Scand. J. Immunol., *3*: 847, 1974.
128. GOLDE, D. W., STEVENS, R. H., QUAN, S. G., and SAXON, A.: Immunoglobulin synthesis in hairy cell leukaemia. Br. J. Haematol., *35*: 359, 1977.
129. HOFFBRAND, A. V., GANESHAGURU, K., LLEWELIN, P., and JANOSSY, G. O.: Biochemical markers in leukemia and lymphoma. *In* GROSS, R., and HELLRIEGEL, K. P. (Eds.): Recent Results in Cancer Research, Vol. 69: Strategies in Clinical Hematology. pp. 25–39. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1979.

130. JANCKLIA, A. J., and YAM, L. T.: Cytochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase. Am. J. Clin. Path., *71*: 356, 1979.
131. JANCKLIA, A. J., LI, C. Y., LAM, K. W., and YAM, L. T.: The cytochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase. Am. J. Clin. Path., *70*: 45, 1978.
132. KING, G. W., HURTUBISE, P. E., SAGONE, A. L., Jr., LO BUGLIO, A. F., and METZ, E. N.: Leukemic reticuloendotheliosis. A study of the origin of the malignant cell. Am. J. Med., *59*: 411, 1975.
133. KOH, S-J., VARGAS, G. F., CACES, J. N., and JOHNSON, W. W.: Malignant "histiocytic" lymphoma in childhood. Am. J. Clin. Path., *74*: 417, 1980.
134. MATHÉ, G., MISSET, J. L., GIL-DELGADO, M., DELGADO, M., and DEVASSAL, F.: Leukemic (or stage V) lymphosarcoma. *In* MATHÉ, G., SELIGANN, M., and TUBIANA, M. (Eds.): Recent Results in Cancer Research, Vol. 65: Lymphoid Neoplasias II: Clinical and Therapeutic. pp. 89–107. Belrin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1978.
135. PALUTKE, M., PATT, D. J., WEISE, R., VARADACHARI, C., WYLIN, R. F., BISHOP, C. R., and TABACZKA, P. M.: T cell leukemia-lymphoma in young adults. Am. J. Clin. Path., *68*: 429, 1977.
136. POLLIACK, A.: Surface morphology of lymphoreticular cells: review of data obtained from scanning electron microscopy. *In* MATHÉ, G., SELIGMANN, M., and TUBIANA, M. (Eds): Recent Results in Cancer Research, Vol. 64: Lymphoid Neoplasias I: Classification Categorization, Natural History. pp. 66–93. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1978.
137. RIEBER, E. P., HADAM, M., LINKE, R. P., SAAL, J. G., RIETHMÜLLER, G., VON HEYDEN, H. W., and WALLER, H. D.: Hairy cell leukemia; C-lymphocyte and monocytic properties displayed by one cell. *In* MATHÉ, G., SELIGMANN, M., and TUBIANA, M. (Eds): Recent Results in Cancer Research, Vol. 64: Lymphoid Neoplasias I: Classification Categorization, Natural History. pp. 204–207, Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1978.
138. Third National Cancer Survey: Incidence data. National Cancer Institute Monograph 41, March, 1975.
139. UTSINGER, P. D., YOUNT, W. J., FULLER, C. R., LOGUE, M. J., and ORRINGER, E. P.: Hairy cell leukemia: B-lymphocyte and phagocytic properties. Blood, *49*: 19, 1977.
140. WEINSTEIN, H. J., VANCE, Z. B., JAFFE, N., BUELL, D., CASSADY, J. R., and NATHAN, D. G.: Improved prognosis for patients with mediastinal lymphoblastic lymphoma. Blood, *53*: 687, 1979.
141. WILLIAMS, A. H., TAYLOR, C. R., HIGGINS, G. R., QUINN, J. J., SCHNEIDER, B. K., SQANSON, V., PARKER, J. W., PATTENGALE, P. K., CHANDOR, S. B., POWARS, D., LINCOLN, T. L., TINDLE, B. H., and LUKES, R. J.: Children lymphoma-leukemia. Cancer, *42*: 171, 1978.
142. YAM, L. T., LI, C. Y., and CROSBY, W. H.: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. Am. J. Clin. Path., *55*: 283, 1971.

29 Piel y membranas mucosas

1. Recolección de muestras y preparación de extendidos

La lesión debe rasparse con una cureta afilada porque la piel posee una gruesa capa córnea; de lo contrario, sólo se obtienen células pavimentosas anucleadas y queratina. El intento de resolver este problema obtuvo cierto éxito con el método de la tira de cinta Scotch que describimos abajo. Las lesiones ampollares se deben raspar en la base después de haberlas destechado. Los extendidos yugales para demostrar las cromatinas sexuales o los cuerpos X se preparan limpiando la saliva con gasa y raspando con un bajalengua de madera. Como la muestra del raspado es deficiente en material mucoproteináceo, que facilitaría la adhesión de la muestra a los portaobjetos de vidrio durante la fijación, se recomienda utilizar un portaobjeto albuminizado en capa fina para hacer el preparado mojado.

A los efectos de preparar buenas películas mojadas se debe tomar la precaución de depositar el portaobjeto en el fijador apenas se hace el extendido por contacto, porque suele secarse en seguida. Para este procedimiento rápido son convenientes los fijadores de revestimiento comerciales. Las películas secadas al aire seguidas por fijación con metanol, se deben preparar para el método de Giemsa.

a) Método de la cinta Scotch. Procurando desprender la capa córnea para observar las células epiteliales más profundas o examinar las células cornificadas, se adoptó un método en que se emplea cinta Scotch comercial común.[41, 45] Tal como lo describen Wolf[48] y otros investigadores,[41, 45] el procedimiento consiste en 1) aplicar cinta Scotch transparente sobre la piel limpia y frotada, para asegurar su adherencia; 2) denudar con un movimiento rápido y repetir este procedimiento tantas veces como sea necesario; 3) aplicar el lado adherente de la cinta en un portaobjeto de vidrio limpio, sobre el cual se depositaron de antemano unas gotas de éter y xilol, y 4) desprender la cinta y colocar en el fijador. Para hacer esto último, los portaobjetos se depositan en un frasco cerrado que contenga éter y etanol. Después de este método de la cinta se obtiene un buen extendido aplicando con fuerza un portaobjeto de vidrio limpio contra la piel rezumante.

b) Biopsia de la superficie de la piel.[42-44] Se limpia la piel con éter y se deposita en ella una gota de adhesivo quirúrgico limpio. Inmediatamente se aplica un portaobjeto de vidrio limpio, se lo comprime y se lo retira de pronto al cabo de 30 segundos.

La mayoría de los dermatólogos prefieren una biopsia que ofrezca suficiente información, en lugar de la citología, pero el citodiagnóstico tiene la ventaja de que permite examinar varias lesiones sin incidirlas,[47] mientras que la biopsia sólo se puede hacer en el sitio de la resección.

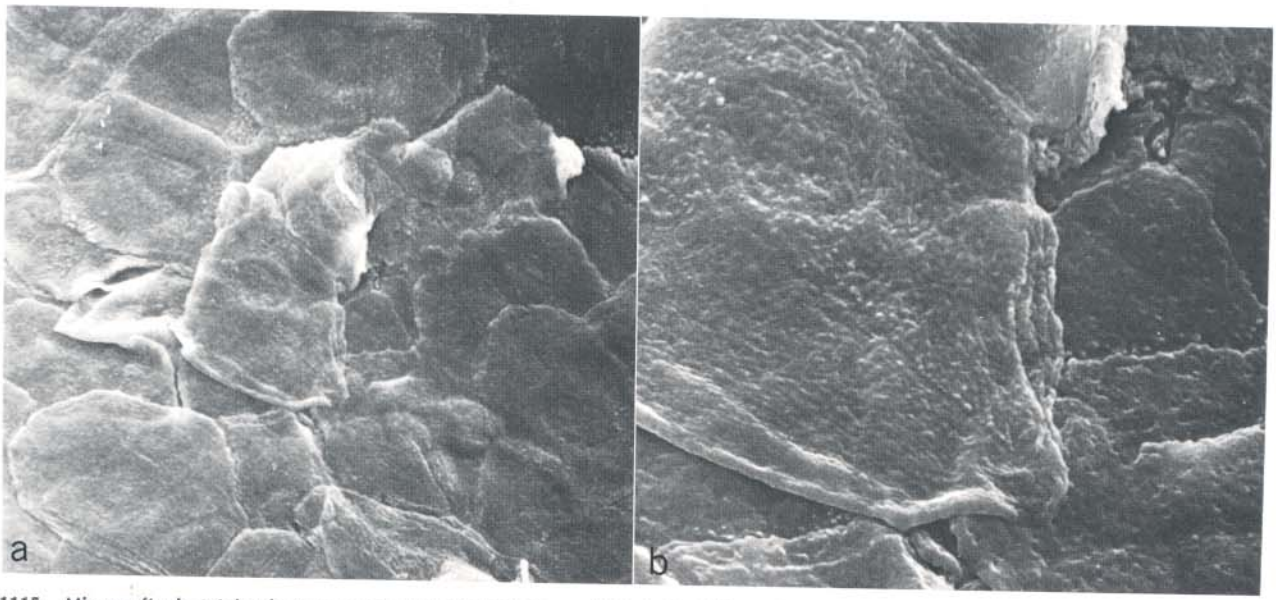


Fig. 1115. Micrografía electrónica de rastreo que muestra un buen desprendimiento de células pavimentosas superficiales anucleadas con el "método de la cinta Scotch" en un caso de psoriasis. Ésta es una buena técnica de raspado mecánico para demostrar el "signo de Auspitz" en la psoriasis.

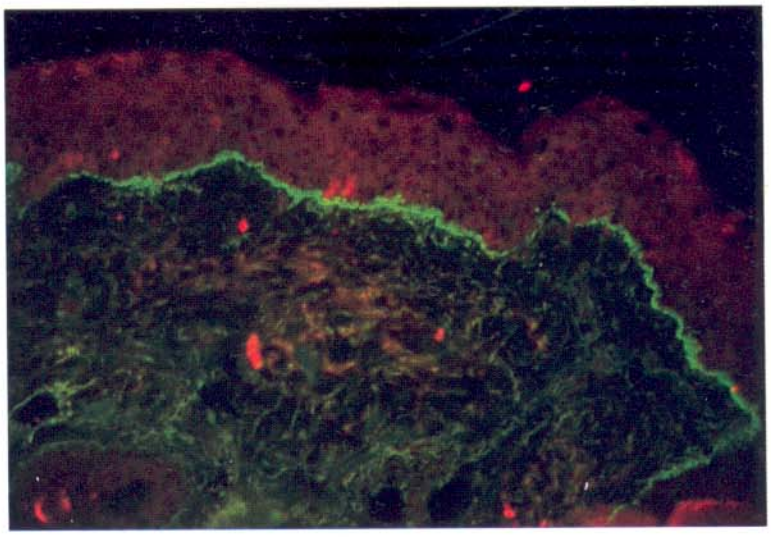


Fig. 1116. Banda de fluorescencia del lupus en la membrana basal. El antisuero anti-IgG marcado con FITC emite una banda fluorescente específica a lo largo de la membrana basal. De la piel clínicamente normal expuesta al sol de un paciente con lupus eritematoso. (Gentileza del profesor Marcello F. de Franco, Facultad de Medicina, Universidad de Botucatu, São Paulo, Brasil.)

2. Citología inmunofluorescente dermatológica

La técnica inmunofluorescente se introdujo hace poco en dermatopatología para diagnosticar o evaluar el pronóstico en el lupus eritematoso,[22] dermatitis herpetiforme,[35] liquen plano,[35] vasculitis necrotizante,[6, 26, 40] erupciones por drogas,[31] etc. Por ejemplo, en la dermatitis herpetiforme se observan aglomeraciones irregulares de IgA debajo de la unión dermoepidérmica, en la punta de las papilas,[25, 33] mientras que en el lupus eritematoso se reconocen depósitos de IgG e IgM como una banda homogénea, franjas o punteados en la membrana basal.[14, 24, 28, 35, 39] Esta prueba de la banda luposa para la piel clínicamente normal no expuesta al sol, no sólo sirve para diferenciar respecto del lupus eritematoso discoide[8, 24, 49] sino también para establecer su pronóstico.[35] Con la técnica de la inmunofluorescencia, además, se puede confirmar la correlación entre la actividad clínica del lupus eritematoso y el depósito de properdina. Sin embargo, en dermatocitología el método de la inmunofluorescencia se limita a las enfermedades del grupo del pénfigo y en algunas ocasiones a la psoriasis. Mientras que en el penfigoide ampollar se demuestran IgG y C_3 en la membrana basal,[8] en el pénfigo vulgar, así como en el pénfigo vegetante, es característico demostrar en el espacio intercelular el depósito de IgG en todas sus subclases.[27] Si bien todavía no se ha esclarecido la índole del antígeno, Hashimoto[9] sugiere que el anticuerpo del pénfigo se fija en un grupo hidrocarbonado o glucoproteico que contiene alfa-D-glucopiranósidos o alfa-N-acetil-D-glucosanos. En las áreas acantolíticas del pénfigo vulgar hay presencia específica del componente C_3 del complemento.[13] Según la comunicación de Harrist y Mihn, la tasa de inmunofluorescencias directas positivas para IgG y C_3 llega a ser del 80 al 95 %.[8] La observación de Krogh y Tönder,[18] de que se depositan inmunoglobulinas en el estrato córneo de la epidermis psoriásica, fue confirmada por otros investigadores.[1, 11, 17]

3. Aspecto general de la citología cutánea

La lesión de la piel se ve y es accesible, pero la gruesa capa córnea no permite la exfoliación de las células espinosas de la epidermis. Por esta razón, los dermatólogos prefieren la biopsia, en lugar de la citología. El método de la cinta adhesiva es útil para observar el comportamiento de la cornificación en varias enfermedades epidérmicas, como ictiosis, psoriasis, queratosis seborreica, etc.; la paraqueratosis, o sea la presencia de células superficiales nucleadas en la capa más superior, y la exocitosis, abonan a favor de la psoriasis. Marks y col. mejoraron el método original de la cinta aplicando adhesivos transparentes de cianoacrilato. Merced a la observación directa y a la microscopia electrónica de rastreo se mejoró la utilidad de la citología cutánea.[42-44] En las lesiones de la dermis y de los anexos cutáneos, el citodiagnóstico no puede ser eficaz si no existe ulceración ni erosión. La citología es ventajosa en las enfermedades limitadas en que no se deben hacer biopsias o en los casos en que los pacientes las rechazan; si se sospecha melanoma maligno, vale la pena ensayar un extendido por contacto o el extendido de un raspaje suave. Las infecciones virales y micóticas se diagnostican con mayor exactitud si a la histología se le agrega la citología. La citología es ideal para reconocer infecciones cutáneas como blastomicosis, leishmaniasis y amibiasis. Diversas enfermedades ampollares, como infección herpética y pénfigo, se diagnostican raspando el fondo de la ampolla. Las impresiones de una pieza resecada sirven de coadyuvante para arribar al histodiagnóstico correcto. Por ejemplo, la citología es muy útil para clasificar la enfermedad de Hodgkin y el linfoma no Hodgkin (cuadro 105).

4. Histología de la piel y componentes celulares normales

La epidermis y su membrana mucosa adyacente consisten en un epitelio pavimentoso estratificado con diversos grados de queratinización. El epitelio pavimentoso estratificado consta de un estrato córneo carente de núcleos y cargado de queratina, un estrato lúcido con eleidina, un estrato granuloso con gránulos queratohialinos, un estrato espinoso con un citoplasma poliédrico abundante y puentes intercelulares, y un estrato germinativo. Las células espinosas del estrato espinoso se disponen en varias capas de espesor y son las que predominan; estas células contienen glucógeno y son similares a las que se ven en los extendidos vaginales, excepto por su tendencia a la queratinización, con intensa naranjofilia y gránulos queratohialinos. Las células queratinizadas superfi-

Cuadro 105. Aplicaciones de la citología en dermatología

Método	*Enfermedades*	*Diagnóstico*
	A. Lesiones ampollares	
	1. Ampolla intraepidérmica	
	Pénfigo vulgar y pénfigo vegetante	Acantólisis y depósito de IgG y C_3
	2. Ampollas virales intraepidérmicas	
Tacto incisional	Herpes simple, herpes zoster y varicela	Células con inclusiones intranucleares
	3. Ampollas subepidérmicas	
	Penfigoide ampollar	Células basales aglomeradas
	Dermatitis herpetiforme	Neutrófilos y esosinófilos
	B. Lesiones epidérmicas no ampollares	
	1. Trastornos de los estratos granuloso y córneo	
	Psoriasis vulgar	Células paraqueratósicas, exocitosis y depósito de IgG y C_3
Cinta Scotch	Enfermedad de Darier	Disqueratosis, cuerpos redondos y células acantolíticas
	Ictiosis congénita dominante	Queratohialina irregular y pérdida de los bordes celulares
	2. Trastornos de las células espinosas	
	Enfermedad de Bowen y eritroplasia (Queyrat)	Discariosis y disqueratosis
	Enfermedad de Paget	Mezcla con células de Paget
	Epitelioma basocelular	Células basales atípicas aglomeradas (basaliomatosas)
	C. Lesiones dérmicas y subcutáneas	
	1. Granulomas no infecciosos	
	Sarcoidosis	Células epitelioides con un fondo no caseoso
	Tofos gotosos	Cristales de uratos y células gigantes por cuerpo extraño
	2. Granulomas bacterianos	
	Tuberculosis	Prueba de bacilos tuberculosos y células de Langhans
	Lepra	Células leprosas
Citología de aspirados y biopsias	3. Linfoma y seudolinfomas	
	Linfoma no Hodgkin	Células linfosarcomatosas
	Enfermedad de Hodgkin	Células de Hodgkin y de Reed-Sternberg
	Micosis fungoide	Células de micosis y exocitosis compatible con abscesos de Pautrier
	Síndrome de Sézary	Células de Sézary
	Linfocitoma cutáneo (Spiegler-Fendt)	Mezcla con linfocitos e histiocitos
	4. Micosis profundas	
	Blastomicosis norteamericana, paracoccidioidomicosis, etc.	Prueba del hongo
	5. Infecciones por protozoarios	
	Leishmaniasis	Prueba del microorganismo
	6. Carcinoma metastásico	Identificación de células cancerosas

ciales, que han perdido sus núcleos y sus organoides citoplasmáticos, se descaman fisiológicamente y son sustituidas por las células provenientes de la capa basal y que se diferencian hacia células queratinizadas. El espesor del estrato córneo difiere mucho de un sitio a otro, de acuerdo con la región corporal.

Aunque las células espinosas se desprenden conservando sus núcleos en los raspados de la membrana mucosa normal que reviste a la pared vaginal, la mucosa bucal y la mucosa esofágica, estas células no se exfolian de la piel ni siquiera con un raspado enérgico.

5. Citología anormal

Desde la comunicación de Tzanck[36] en 1937, la técnica citológica se ha aplicado al diagnóstico de las virosis dermatológicas, como herpes simple, herpes zoster, varicela [3,4,16,32,36,38,46] y molusco contagioso.[5] En términos generales, empero, el campo de aplicación de la citología se limita a las enfermedades epidérmicas que forman ampollas o erosiones. Koss dice que este método no ha hallado aceptación en su institución, tal vez por la facilidad con que se hacen las biopsias.[15]

Infecciones virales

Los virus contienen DNA o RNA y carecen de mitocondrias y ribosomas. Las bacterias, que contienen DNA, RNA y muchas sustancias químicas, se multiplican por división simple, pero los virus proliferan dentro de las células afectadas; el ácido nucleico viral se introduce en todo el ácido nucleico de la célula huésped y queda incorporado en el material genético de ella, de modo que la infección viral se mantiene en latencia, preservando la relación simbiótica con la célula huésped. Un buen ejemplo es la infección del herpes simple. Esta enfermedad se pone de manifiesto cuando la simbiosis se perturba por infecciones intercurrentes como resfrío común, neumonía y estados de depresión física; también pueden hacer que se manifieste el herpes la exposición a la luz solar, la menstruación y la tensión emocional.

1) Herpes simple. El examen citológico es útil si el extendido se recoge del piso de una vesícula recién abierta. Existen dos tipos de herpesvirus inmunológicamente distintos entre sí. El herpes simple tipo 1 afecta a la piel y a la mucosa bucal, mientras que el tipo 2 afecta a la mucosa genital. Esta infección viral origina alteraciones característi-

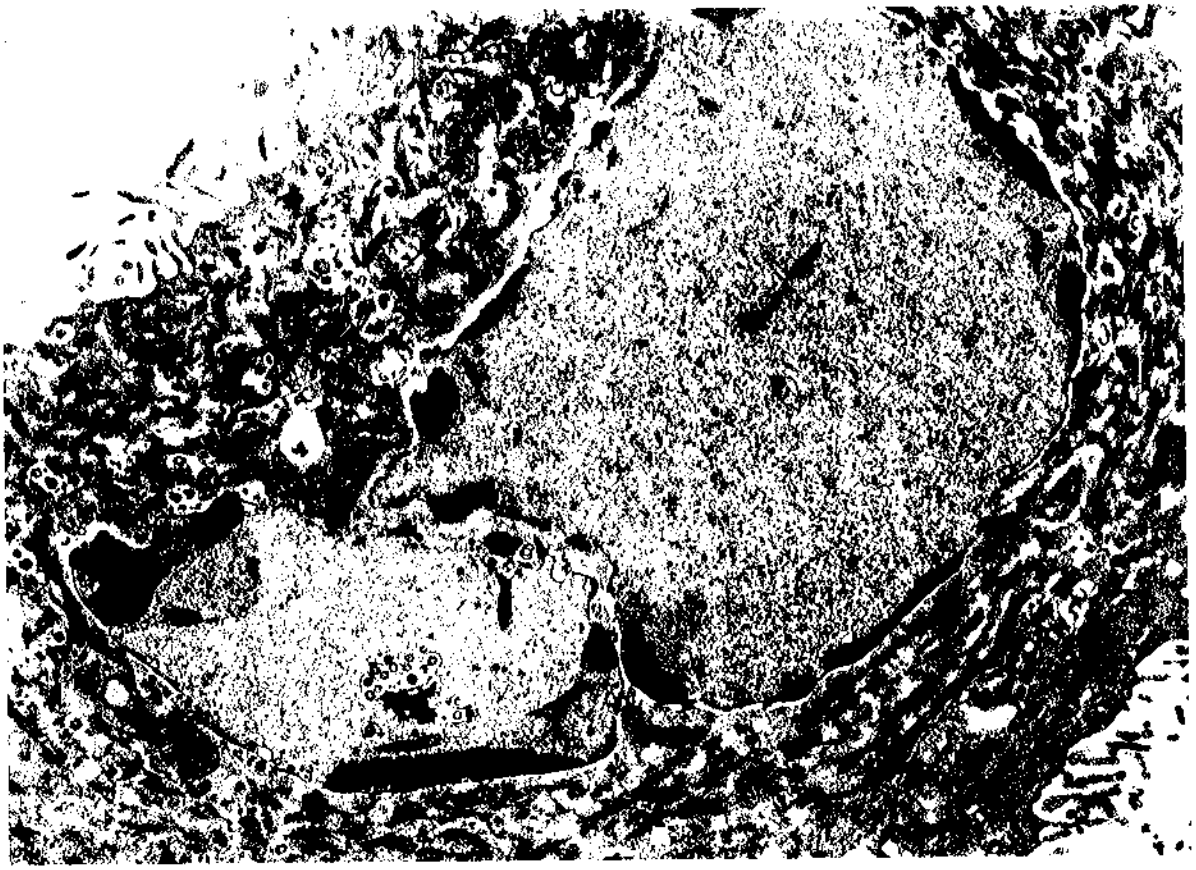


Fig. 1117. Infección herpética en una célula del epitelio pavimentoso. Nótese la marginación de las cromatinas en los núcleos dobles. Hay partículas virales diseminadas en los núcleos y también en el citoplasma (× 10.000).

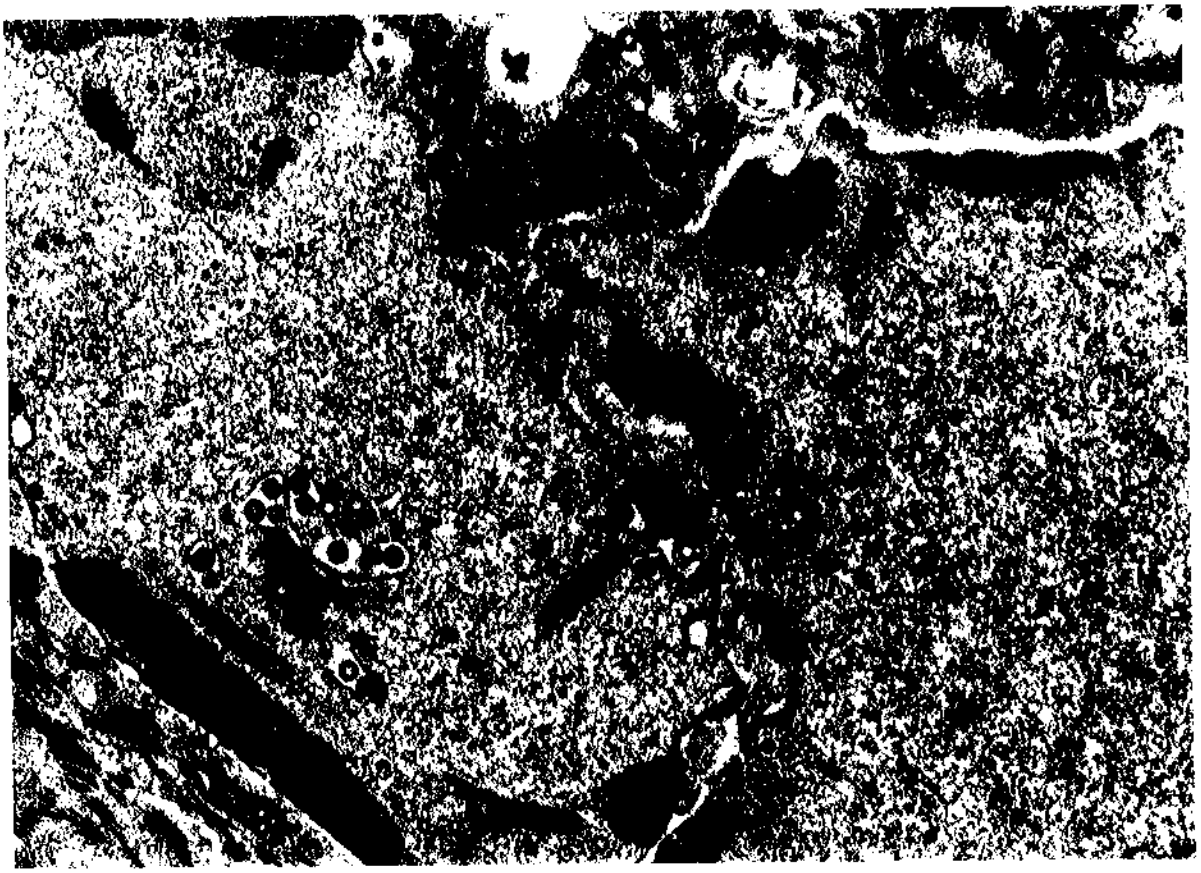


Fig. 1118. Viriones con centros electrondensos rodeados por la cápside, vistos con mayor aumento (× 16.000).

cas en el epitelio pavimentoso: a) multinucleación y hacinamiento de células infectadas; b) núcleos en vidrio esmerilado con una marginación nuclear franca por condensación de la cromatina; se comprueba que el material homogéneo basófilo que ocupa el núcleo da reacción de Feulgen positiva, y c) presencia de un cuerpo de inclusión eosinófilo con un espacio entre un cuerpo eosinófilo central y el material cromatínico en el borde nuclear.

A la microscopia electrónica las células afectadas poseen abundantes partículas virales (viriones), con sus centros electrondensos redondos a ovales, rodeados por la cápside.

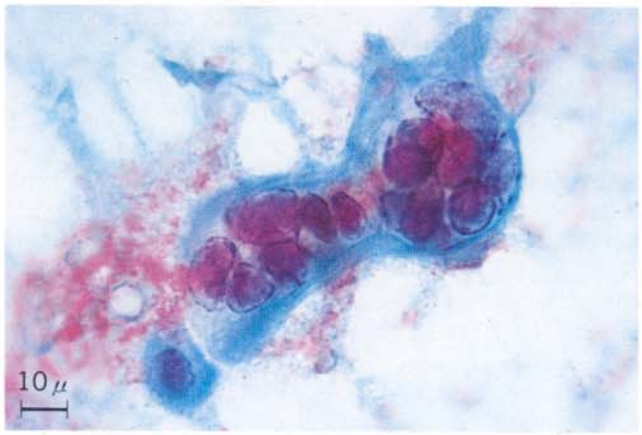


Fig. 1119. Células epidermoides afectadas por herpes simple. Nótese la multinucleación sincitial de células epidermoides con tinción homogénea y marginación de la cromatina. Un rasgo patognomónico es el moldeamiento de los núcleos.

2) Herpes zoster. Las alteraciones citológicas son las mismas que en la infección herpética simple. Los cuerpos de inclusión eosinófilos intranucleares son idénticos.

3) Molusco contagioso. Esta lesión se caracteriza por unas pequeñas pápulas umbilicadas de aspecto céreo. Raspando la lesión se obtienen células con cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos grandes y parduscos o eosinófilos. Los núcleos desplazados sólo se ven como finas medias lunas. Los cuerpos moluscos aumentan de tamaño y adquieren basofilia a medida que las células infectadas se desplazan hacia el estrato granuloso. Estos cuerpos grandes incluidos en la capa córnea engrosada miden unos 25 a 35 μ de diámetro. El virus de DNA que pertenece al grupo del poxvirus, tiene la forma de un ladrillo y mide unos 300 × 200 nm.

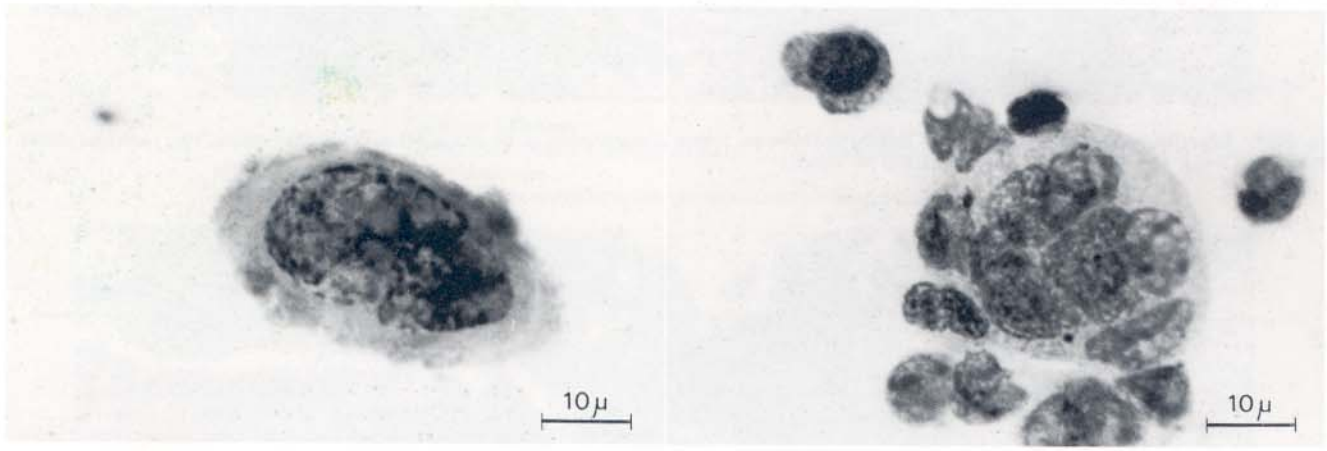


Fig. 1120. Células gigantes mononucleadas y multinucleadas de lesiones vesiculosas del herpes zoster. Se considera que la formación gigantocelular se debe más a la adherencia de las células afectadas que a la multiplicación amitótica. Las células que contienen inclusiones no se agrandan tanto como en la infección por citomegalovirus.

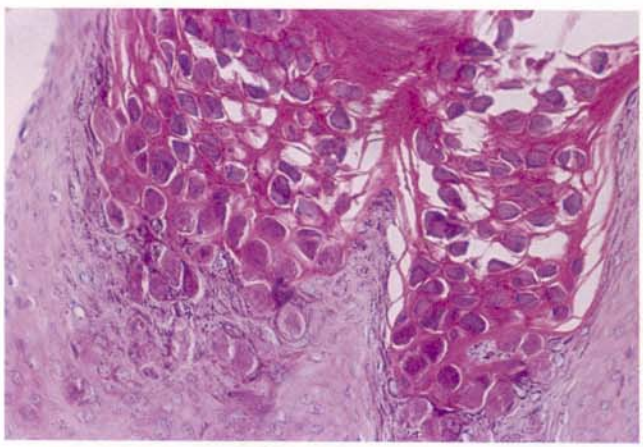


Fig. 1121. Degeneración característica de los estratos granuloso y córneo en el molusco contagioso. Nótese la masa de cuerpos moluscos redondeados homogéneos. La infección produce unas neoformaciones epidérmicas lobuladas que comprimen las papilas y las reducen a finos tabiques fibrosos.

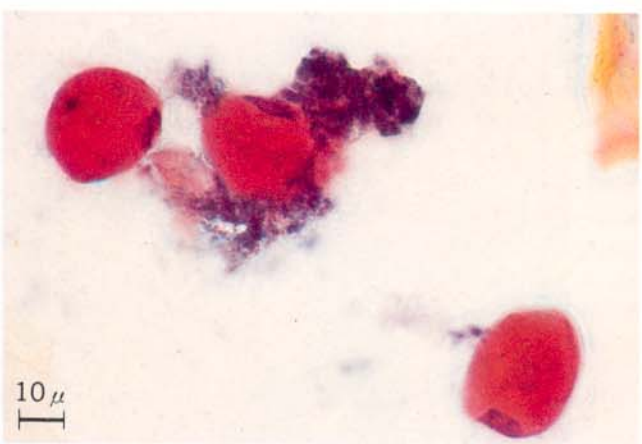


Fig. 1122. Cuerpos moluscos raspados del centro céreo y umbilicado del molusco contagioso. Los cuerpos moluscos del extendido se caracterizan por unas grandes concreciones redondeadas de tinte eosinófilo homogéneo. Los pequeños núcleos picnóticos están desplazados hacia la periferia.

Pénfigo vulgar

El pénfigo vulgar forma unas ampollas intraepiteliales suprabasales acantolíticas por degeneración de las células de la epidermis, que pierden así sus puentes intercelulares.[19, 34] A causa del edema intercelular y de la desaparición de los puentes, las células espinosas de la epidermis se desprenden dentro de la ampolla como células individuales o en grupos celulares sueltos. Estas células acantolíticas, según Tzanck, se demuestran con una sencilla técnica citológica y son útiles para establecer el diagnóstico,[2, 37] aunque también ocurre acantólisis en la enfermedad de Darier, en el pénfigo benigno familiar (Hailey y Hailey), en el herpes simple ampollar, en el carcinoma espinocelular, etc. La mucosa yugal también se afecta, no sólo por la propagación, sino como primera manifestación del pénfigo vulgar. La lesión ampollar es fácil de destechar, pero las células acantolíticas se diagnostican raspando la lesión.

Citología. La célula acantolítica típica del estrato espinoso contiene un gran núcleo central con un nucléolo prominente, y un citoplasma escaso y grueso junto con una zona clara perinuclear (células en ojo de buey). No es raro que las células epiteliales sean multinucleadas.[20] Sin embargo, puede haber desviaciones del tipo usual en cuanto a tamaño, forma y tingibilidad de las células. El pénfigo vegetante se caracteriza por la mezcla de células acantolíticas con muchos leucocitos, en particular eosinófilos; estos constituyentes celulares obedecen al absceso intraepidérmico. La prueba de Tzanck es útil para hacer el diagnóstico inmediato en el consultorio externo, pero debemos volver a insistir en que en otras enfermedades ampollares o pustulosas no acantolíticas pueden aparecer células parecidas.[7] En recientes estudios con inmunofluorescencia[10, 12, 23] se comprobaron anticuerpos autoinmunes, en particular de IgG, depositados en la membrana celular de las células acantolíticas en todas las formas del pénfigo, como pénfigo vulgar, pénfigo foliáceo y pénfigo vegetante. La presencia de complemento (C_3) sólo en las áreas acantolíticas,[13] revela que se debe a una verdadera

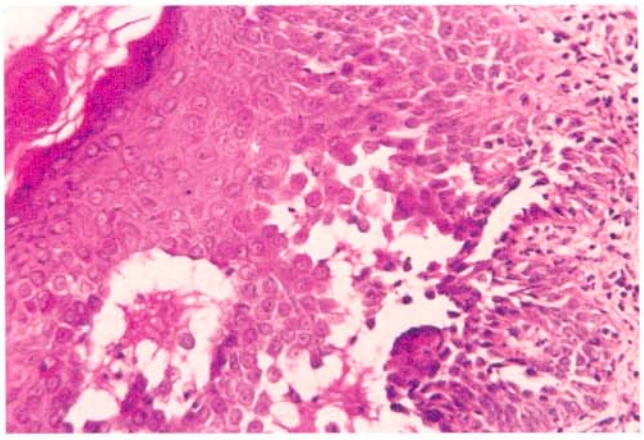


Fig. 1123. Ampollas suprabasales en el pénfigo vulgar. Las células espinosas se separan una de la otra al desaparecer los puentes intercelulares. Por lo tanto, la ampolla contiene las llamadas células acantolíticas desprendidas. No se observa reacción inflamatoria.

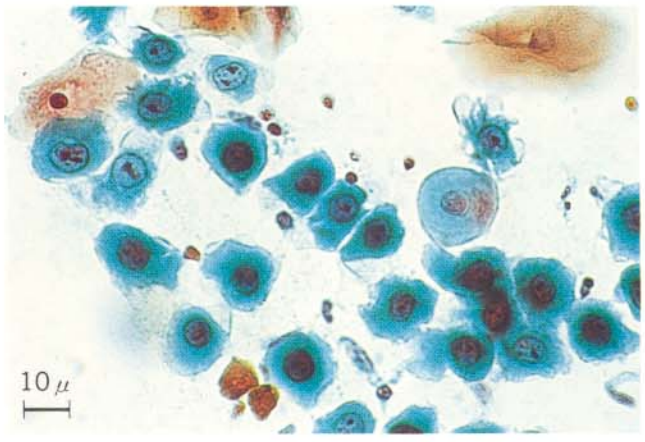


Fig. 1124. Células acantolíticas de la ampolla del pénfigo vulgar. Nótese la desintegración de los bordes celulares a causa de la acantólisis (fig. 1123). No se debe interpretar que el agrandamiento nuclear, la alta relación N/C y la prominencia de los nucléolos sean malignos. Se descarta neoplasia maligna por la configuración uniforme de los núcleos y la blandura de la trama de cromatina. Tinción de Shorr. (Gentileza del doctor Vieira e Silva, C. R., Facultad de Medicina, Universidad de Botucatu, São Paulo, Brasil.)

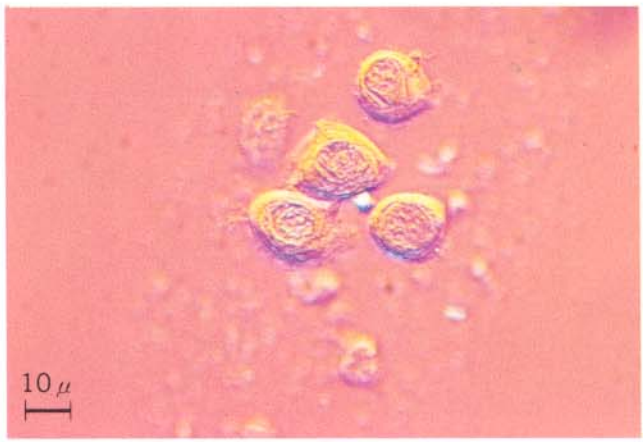


Fig. 1125. Microscopia de interferencia diferencial de células acantolíticas en el pénfigo vegetante. Las células acantolíticas son esféricas y de contornos muy nítidos. Se demuestra bien el predominio nuclear.

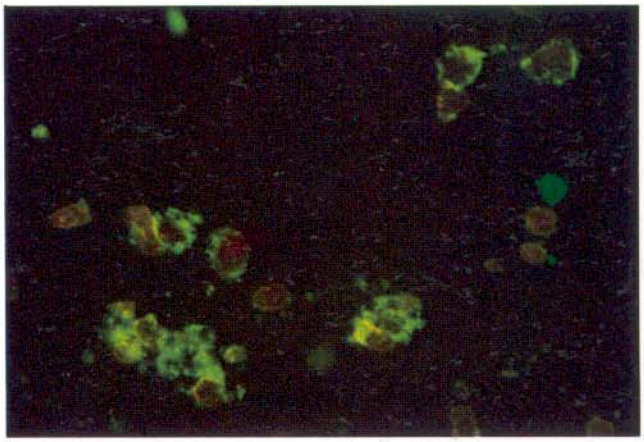


Fig. 1126. Inmunofluorescencia específica de células acantolíticas del pénfigo vulgar. Tinción directa con antisuero fluorescente anti-C_3. También había IgG positiva en la membrana nuclear.

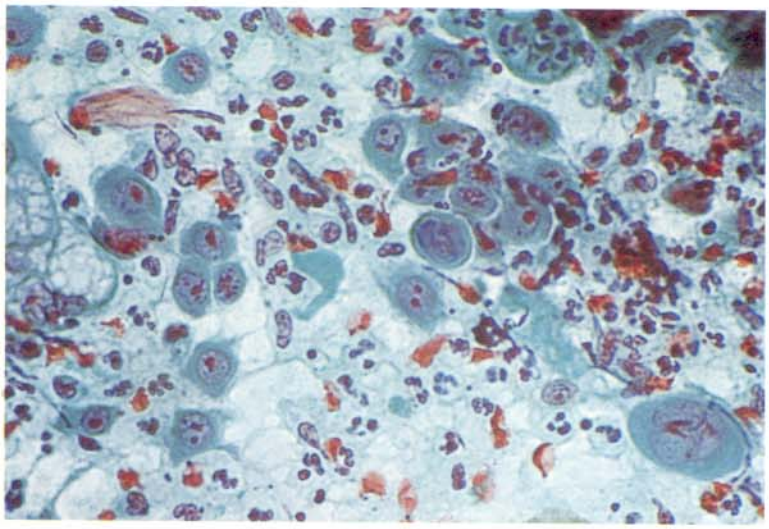


Fig. 1127. Pénfigo vulgar asociado con erupción variceliforme de Kaposi. Este niño de 15 años había sido tratado con drogas inmunosupresivas por pénfigo vulgar y notó una erupción pustulosa extensa. Obsérvese la mezcla de células gigantes multinucleadas por inoculación herpética con las células acantolíticas características. (Gentileza del doctor Vieira e Silva, C. R., Facultad de Medicina, Universidad de Botucatu, São Paulo, Brasil.)

reacción inmune. No se ha esclarecido todavía el papel exacto del anticuerpo en relación con la disolución de los desmosomas.[8]

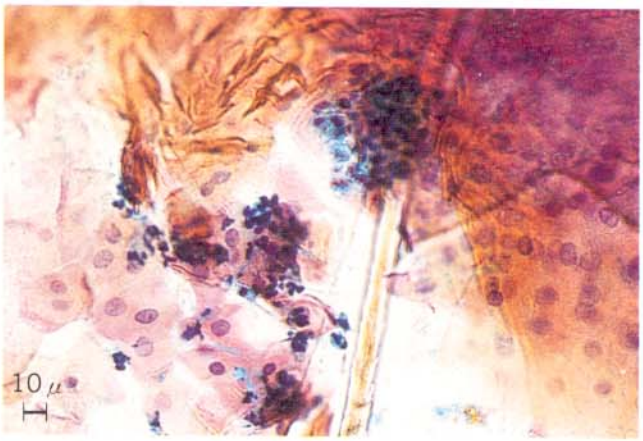


Fig. 1128. Psoriasis vulgar que exhibe exocitosis en el estrato superficial con el "método de la cinta Scotch". Mujer de 27 años con pápulas escamosas progresivas crónicas. Nótense la paraqueratosis y la exocitosis leucocitaria que se conoce como absceso de Munro.

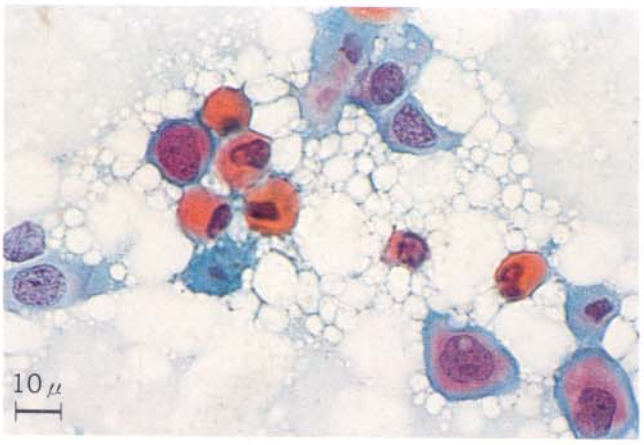


Fig. 1129. Enfermedad de Darier con extensas erupciones papulosas y nodulares. Con el "método de la cinta Scotch" aparecen muchas células parabasales con acantólisis en los estratos profundos. La picnosis prematura y la pronunciada disqueratosis son distintas de las células acantolíticas del pénfigo.

Trastornos de los estratos córneo y granuloso

El método de la cinta Scotch se presta bien para examinar los trastornos de los estratos córneo y granuloso de la epidermis porque cada estrato se puede examinar haciendo denudaciones seriadas.

1) Psoriasis. Este trastorno crónico de la epidermis empieza con unas pápulas descamantes localizadas en el cuero cabelludo, tronco y superficies extensoras de las extremidades. La enfermedad se caracteriza por elongación de las crestas cutáneas, afinamiento de las porciones suprapapilares, paraqueratosis (ausencia de células granulares) y exocitosis. Muchas veces con el método de la denudación con cinta se comprueba paraqueratosis y exocitosis en los preparados del denudado inicial (fig. 1128).

2) Enfermedad de Darier. Esta enfermedad de evolución lenta, que en ocasiones se trasmite como rasgo dominante, exhibe unas pápulas queratósicas en el cuero cabelludo y en las regiones inguinal y axilar. La disqueratosis peculiar que forma cuerpos redondos y granos, produce imágenes distintivas en citología.[46] La superposición de disqueratosis y picnosis prematura de los núcleos en acantólisis, difiere de la acantólisis del pénfigo (fig. 1129).

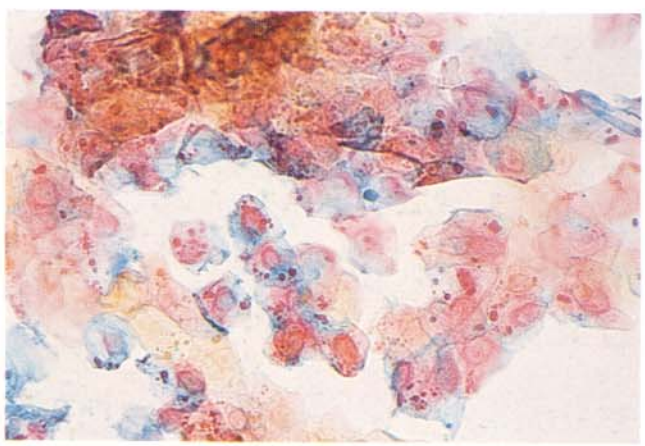


Fig. 1130. Ictiosis no ampollar dominante congénita e **in niño de 5 años.** El citoplasma es poco tingible e indefinido, y presenta unc ránulos queratohialinos irregulares atribuibles a degeneración granulosa.

3) Ictiosis dominante congénita. La forma no ampollar se caracteriza por pronunciada vacuolación del citoplasma, el cual presenta bordes borrosos, grandes gránulos queratohialinos irregulares y menor tingibilidad (fig. 1130).

Carcinoma

1) Carcinoma espinocelular. Selbach y Heisel[30] detectaron con mucha exactitud el epitelioma basocelular (88,9 % de 27 casos), pero el diagnóstico del carcinoma espinocelular fue desalentador. Este problema se debe a que la muestra que se obtiene con el raspaje ordinario es inapropiada a causa de la hiperqueratosis o formación costrosa. El carcinoma espinocelular incipiente, las lesiones precancerosas y las dermatosis que éstas simulan, no se pueden diferenciar con el examen citológico solamente; por ejemplo, la queratosis senil de tipo hipertrófico (carcinoma grado 1/2), el queratoacantoma y la queratosis seborreica, se asocian con una pronunciada queratosis que impide la descamación de las células de los estratos más profundos de la epidermis. Para poder trazar la distinción entre carcinoma espinocelular incipiente y enfermedad de Bowen, respecto de la queratosis senil hipertrófica y la hiperplasia seudocarcinomatosa (hiperplasia seudoepiteliomatosa) hacen falta estudios exactos adicionales sobre atipia celular morfológica y sobre el comportamiento bioquímico o biológico. Por lo tanto, el citodiagnóstico no puede sustituir a la biopsia. El método de la denudación con cinta ofrece cierta información que orienta para distinguir a la enfermedad de Bowen y a la enfermedad de Paget respecto del carcinoma epidermoide franco.

a) Enfermedad de Bowen. La aparición de células atípicas disqueratósicas, con queratinización de células individuales y sin diátesis tumoral, abona a favor de enfermedad de Bowen.

b) Epitelioma basocelular. Algunas neoplasias, aunque son pocas, pueden ulcerarse al crecer hacia afuera y desprender células tumorales. Existe una forma de epitelioma basocelular, el ulcus rodens o tipo noduloulcerativo, que es

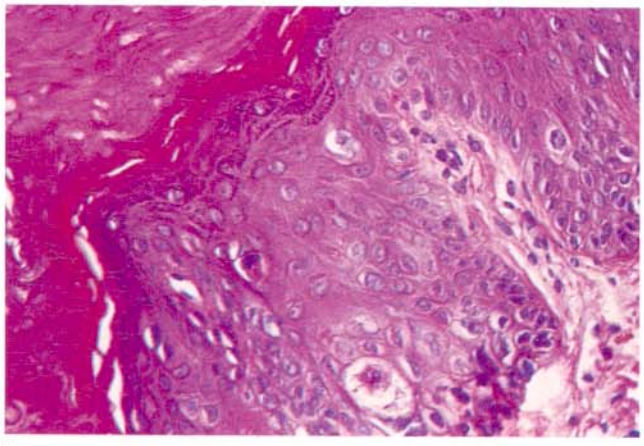


Fig. 1131. Queratosis solar bowenoide en el dorso de la mano de una mujer de 64 años. La lesión escamosa se caracteriza por pronunciada hiperqueratosis, paraqueratosis y acantosis con atipia; esta lesión también se denomina carcinoma espinocelular grado 1/2. Nótense las células atípicas dispuestas en desorden y de tamaño y forma variables. Son frecuentes las mitosis anormales.

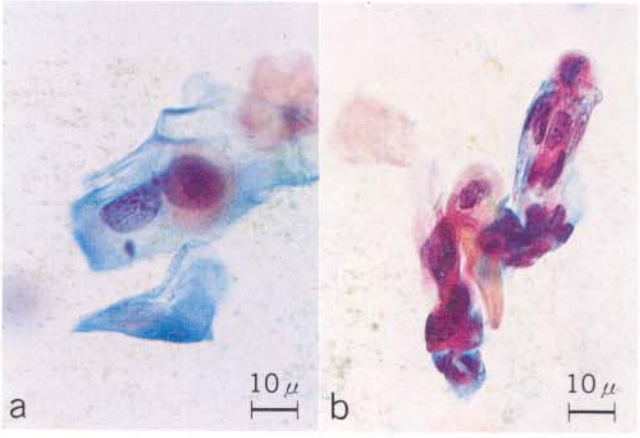


Fig. 1132. Células pavimentosas discarióticas en la queratosis solar de distintos estratos, después de haber desprendido la capa queratínica. Una célula intermedia posee un núcleo grande con cromatinas finamente granulares y parejas. La relación N/C está dentro de límites normales. Hay una sugerencia de queratinización de células individuales (a).

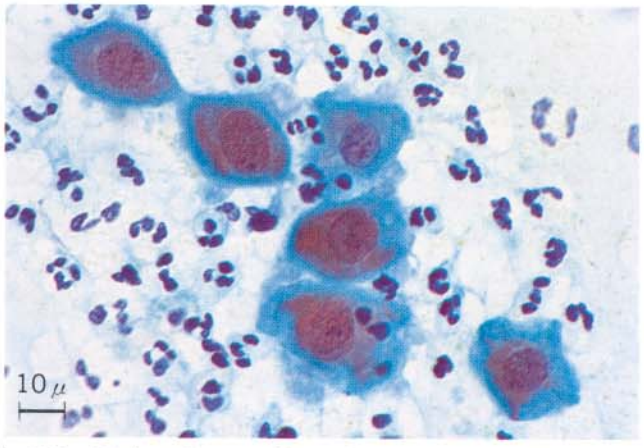


Fig. 1133. Células pavimentosas hipertróficas que simulan malignidad en la hiperplasia seudoepiteliomatosa. Estas células de aspecto apolillado provienen del borde de una granulación inespecífica. Los núcleos agrandados son blandos y de tamaño y morfología uniformes. Nótese la mezcla con muchos leucocitos.

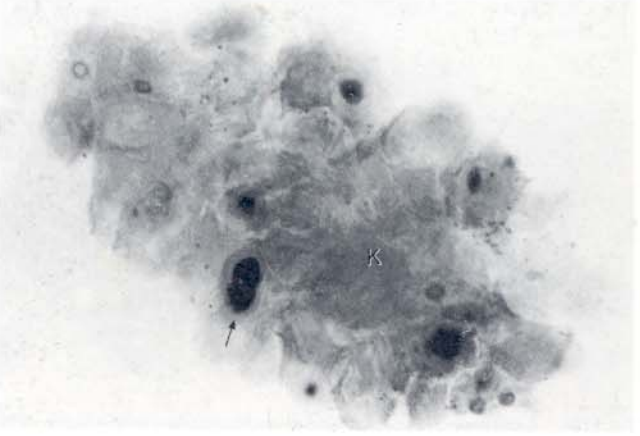
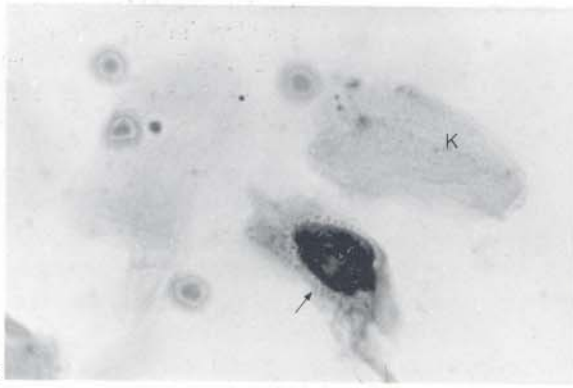
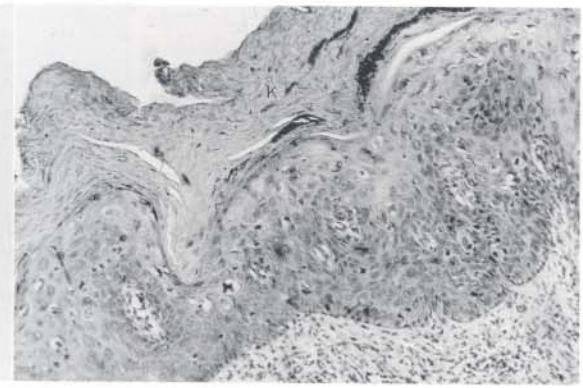


Fig. 1134. Células atípicas hiperqueratósicas incluidas en la densa capa queratinosa de una queratosis solar bowenoide. Las células atípicas aisladas que conservan unos grandes núcleos densamente teñidos (*flecha*) y poseen un material queratinoso naranjófilo grueso (*K*) hacen el diagnóstico de alteración bowenoide.



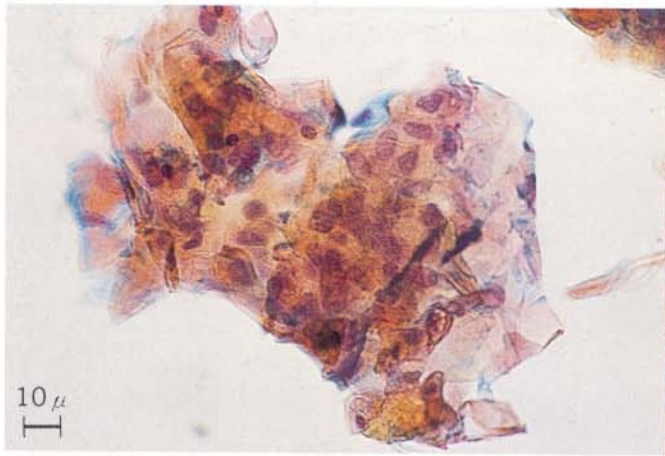
1135



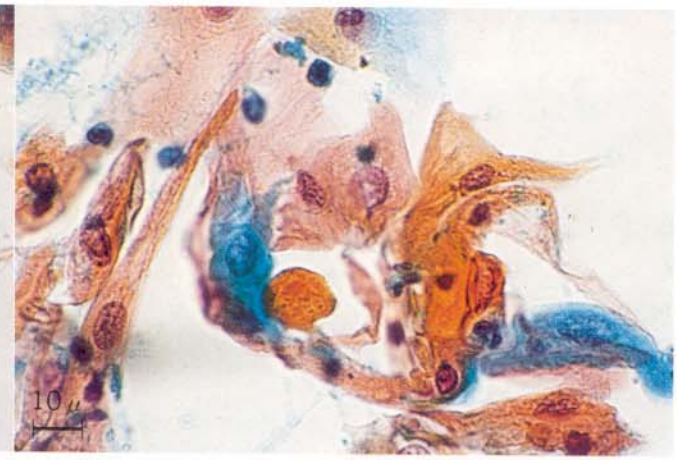
1136

Fig. 1135. Célula maligna de la enfermedad de Bowen que contiene un núcleo en gota de tinta china, vista con gran aumento. La célula atípica del centro del campo, que exhibe una relación nuclear-citoplasmática aumentada, intensa naranjofilia en un citoplasma grueso y un núcleo picnótico de contorno irregular, es compatible con una célula cancerosa queratinizante (*flecha*).

Fig. 1136. Enfermedad de Bowen con considerable hiperqueratosis. La epidermis está engrosada por una proliferación atípica de células epidérmicas distribuidas en desorden y con hipercromatismo y variación del tamaño y forma de los núcleos. Hay frecuentes mitosis. La membrana basal se mantiene intacta. La histología sugiere que es difícil obtener una muestra suficiente para citología en el estrato espinoso profundo si no se elimina de antemano la considerable hiperqueratosis (*K*).



1137



1138

Fig. 1137. Células atípicas disqueratósicas de tipo parabasal o intermedio en la enfermedad de Bowen. Estas células de un estrato más profundo se obtuvieron con el "método de la cinta Scotch". Los núcleos, en ocasiones binucleados, son hipercromáticos y deformes. El citoplasma aparece engrosado y es intensamente naranjófilo a causa de la disqueratosis. Sin embargo, la atipia nuclear no es tan pronunciada como en el carcinoma espinocelular.

Fig. 1138. Leucoplasia de la lengua. Las células atípicas benignas disqueratósicas raspadas de la lengua semejan células de carcinoma espinocelular. Se distinguen de éstas por la baja relación N/C y por los núcleos bastante pequeños, a pesar de la considerable disqueratosis.

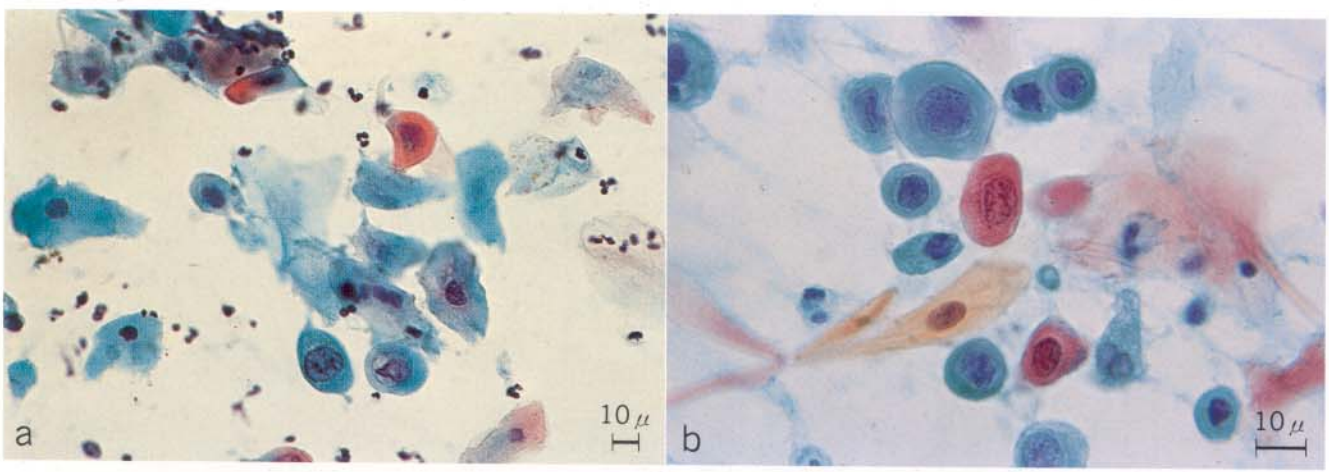


Fig. 1139. Células carcinomatosas bien demostradas (en el extendido de un raspado) en un sitio sin hiperqueratosis pronunciada. *a*, Raspado de un injerto de piel cancerizado. Aparecen células cancerosas queratinizantes y no queratinizantes de tipo parabasal, junto con células degeneradas anucleadas. *b*, Raspado de un cáncer de pene. Hay células cancerosas queratinizantes y no queratinizantes. Los puntos diferenciales respecto de una lesión precancerosa, como queratosis solar, enfermedad de Bowen, etc., son: 1) su aislamiento como células individuales, 2) la considerable variación de tamaño y forma de los núcleos y 3) la alta relación N/C.

benigno y crece con lentitud, pero tiende a ulcerarse en el centro, permitiendo así realizar un citodiagnóstico muy exacto (Selbach y Heisel).[30]

2) Enfermedad de Paget extramamaria. Es común que la enfermedad de Paget extramamaria se radique en las regiones genital, axilar y perianal. La histología y la citología son las mismas que en la enfermedad de Paget del pezón. Las células de Paget de la epidermis derivarían de las glándulas apocrinas de la dermis. Estas células aparecen aglomeradas y son redondas, a menudo PAS positivas. Sus núcleos presentan una forma redondeada y su morfología es bastante uniforme.

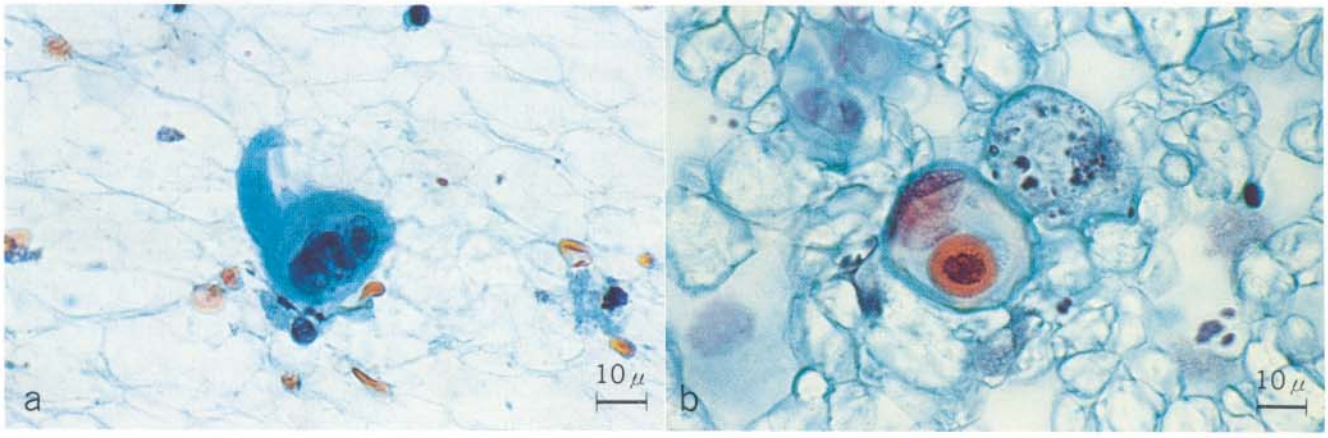


Fig. 1140. Células de carcinoma espinocelular obtenidas mediante raspado vigoroso tras la eliminación de la queratina. *a*, Célula cancerosa no queratinizante diferenciada. Nótense el grueso citoplasma azulado y los múltiples núcleos picnóticos. *b*, Células de carcinoma pavimentoso con inclusiones celulares. Una célula ingerida exhibe el rasgo típico de una célula de cáncer espinocelular de tipo parabasal.

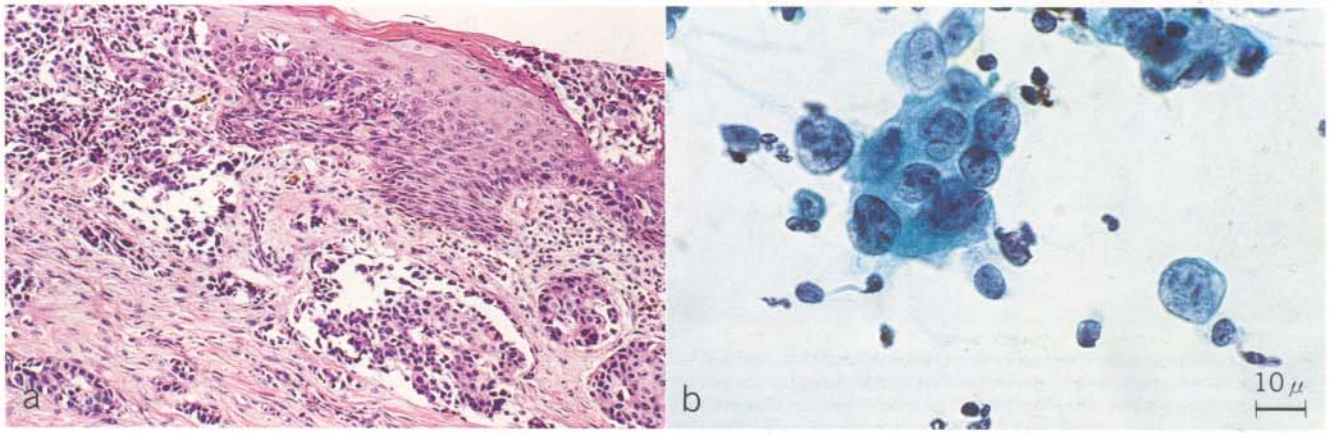


Fig. 1141. Enfermedad de Paget en la región genital. *a*, Histología. Este tumor toma la epidermis y también invade los vasos linfáticos. *b*, Citología con el "método de la cinta Scotch". Aglomeración de células tumorales superpuestas, provenientes de la capa más profunda pero distintas de las del carcinoma espinocelular común.

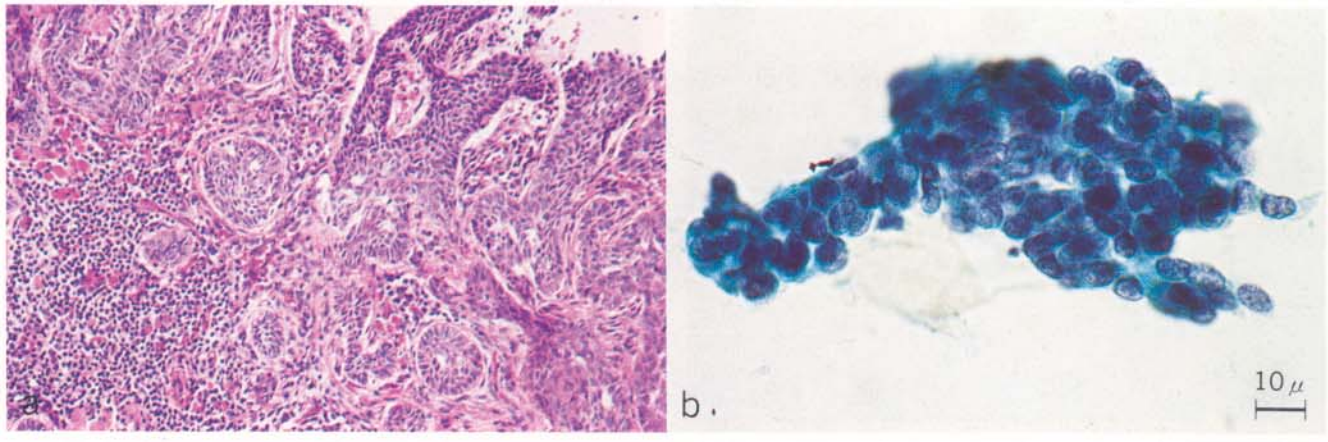


Fig. 1142. Epitelioma basocelular del párpado. *a*, Histología del tipo primordial. Aparecen unas bandas sólidas o cordones de células de tipo basal densamente coloreadas. Las células de la periferia de los nidos se hallan dispuestas en empalizada. *b*, Citología de un vigoroso raspado de un ulcus rodens. Nótese la aglomeración celular trabeculada con núcleos ovales a elípticos y un citoplasma muy escaso. Los núcleos son hipercromáticos, pero de trama cromatínica blanda.

Melanoma

El melanoma maligno originado en la unión dermoepidérmica, exhibe un crecimiento invasor dentro de la epidermis y también hacia la profundidad. En consecuencia, a menudo la epidermis se ulcera y se obtienen células melanomatosas raspando la lesión (fig. 1146). Tal como dice Miescher,[21] al escindir la lesión para biopsiarla se pueden liberar células melanomatosas hacia los vasos linfáticos y sanguíneos. En consecuencia, la citología exfoliativa, siendo un método más conservador que la biopsia, se puede emplear para diagnosticar melanoma maligno, pero todavía halla una aplicación un tanto limitada.

1) Léntigo. El léntigo se caracteriza por una concentración de melanocitos en la capa basal. En el léntigo senil, las crestas cutáneas con melanocitos basales están elongadas. El léntigo maligno contiene más melanocitos atípicos fusiformes; en el preparado histológico éstos aparecen condensados a lo largo de la unión dermoepidérmica.

2) Melanoma pagetoide. El melanoma pagetoide *in situ* se caracteriza por unos grupos celulares diseminados de melanocitos grandes y redondeados de aspecto epitelioide (melanocitos epitelioides) (fig. 1145).

3) Melanoma maligno. Las células del melanoma epitelioide predominan en comparación con las melanomatosas fusiformes. Tal como sucede en otros tumores malignos, las células melanomatosas presentan una alta relación nuclear-citoplasmática, engrosamiento del borde nuclear y variaciones de la morfología y tamaño de los núcleos. Un rasgo característico es el macronucléolo central (fig. 1146). Las células del melanoma maligno son polimorfas y de tamaño y forma variables; existe una variedad constituida por células melanomatosas fusiformes que simulan células sarcomatosas, en particular si el tumor es amelánico.

El melanoma juvenil es difícil de distinguir del melanoma maligno. En nuestra experiencia con impresiones citológicas, las células del melanoma juvenil fueron de tamaño y morfología más uniformes y presentaban una trama de cro-

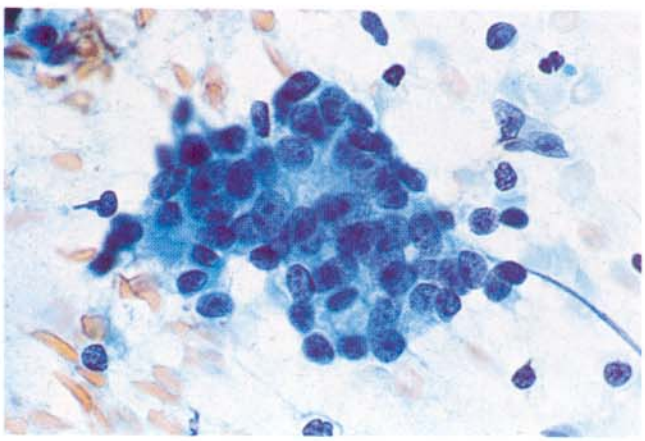


Fig. 1143. Cilindroma en impresiones de un tumor de la glándula lagrimal. En este tumor de los anexos de la piel no se hace citología de rutina, pero las células tumorales que aparecen en este mismo sitio se parecen al epitelioma basocelular. La distribución acinosa del cilindroma difiere de la columna trabeculada del epitelioma basocelular. También es distintiva la presencia de nucléolos.

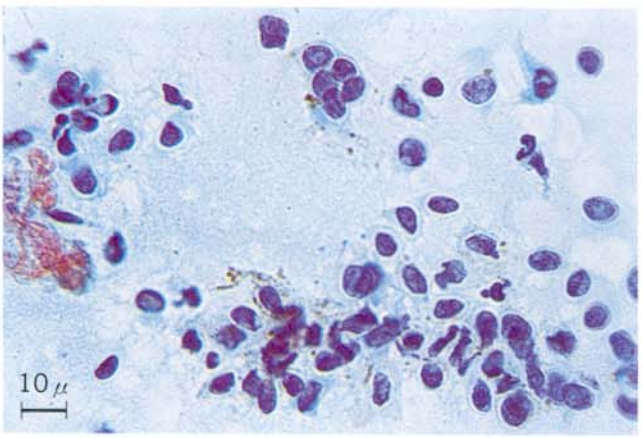


Fig. 1144. Células névicas en una impresión de un nevo intradérmico. Las células névicas benignas se caracterizan por sus núcleos ovales uniformes. Las cromatinas son lisas y de distribución homogénea. Se observa una pequeña cantidad de pigmento melánico.

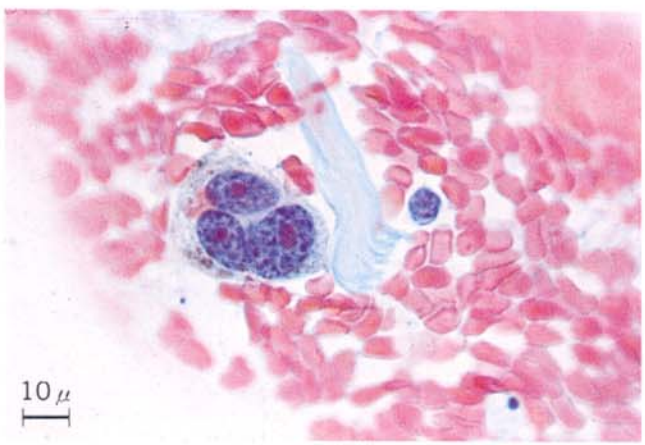


Fig. 1145. Células melanomatosas pagetoides en un pequeño grupo. Los grandes núcleos redondeados son de tamaño uniforme y poseen macronucléolos eosinófilos únicos. La uniformidad del tamaño y morfología de los núcleos y su ordenamiento en un nido establecen la diferencia respecto de las células melanomatosas malignas clásicas.

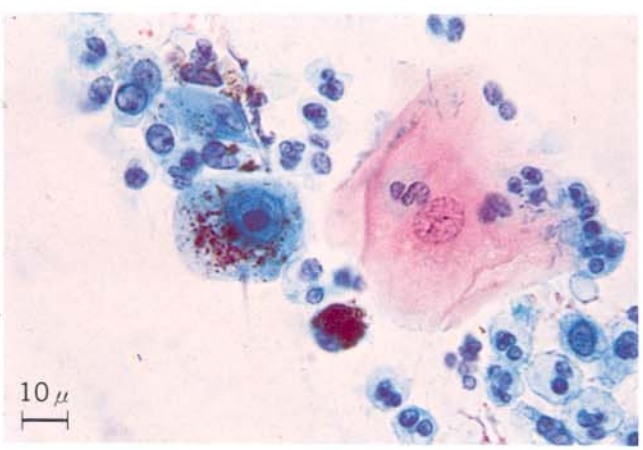


Fig. 1146. Células melanomatosas de la faringe. Se observa una gran cantidad de melanina en su interior. Nótese el nucléolo basófilo único y central que es característico del melanoma maligno.

matina más blanda que las células del melanoma maligno. La edad del paciente es importante para decidir.

Linfoma cutáneo

La manifestación cutánea de diversos linfomas (véase el capítulo sobre ganglios linfáticos) y de la leucemia, forma parte de la enfermedad, en cambio, la micosis fungoides y el síndrome de Sézary afectan con preferencia la piel.

La citología de impresión es útil para distinguir entre linfocitoma cutáneo (seudolinfoma de Spiegler-Fendt) y linfoma maligno (figs. 1147 y 1148). Mientras que el linfocitoma cutáneo consiste en linfocitos maduros infiltrados masivamente y en células centrofoliculares más grandes, el linfoma maligno exhibe un predominio de constituyentes celulares monomórficos, consistentes en células linfoblastoides o histiocitarias inmaduras. La micosis fungoides que empieza a partir de la etapa eritematosa y avanza a la etapa de las placas, para finalmente llegar a la etapa tumoral, puede presentar unas células mononucleares atípicas distintivas (micóticas), con grandes núcleos hipercromáticos y contorneados. Esta prolongada enfermedad se originaría en los linfocitos T. La eritrodermia de Sézary sería una variante de la micosis fungoides con manifestación leucémica. Las células de Sézary son un poco más grandes que los leucocitos, pero poseen un núcleo grande de forma irregular. A la microscopia óptica son indistinguibles respecto de las de la micosis.

Lesiones dérmicas

Las lesiones de la dermis son inaccesibles aunque se haga un raspado enérgico. Las impresiones de las lesiones resecadas y los extendidos de la punción aspiradora ofrecen información de utilidad para diagnosticar lesiones granulomatosas o tumorales de la dermis (figs. 1149-1152). La citología es útil para identificar sarcoide cutáneo, tuberculosis, lepra lepromatosa, terciarismo sifilítico granulomatoso y granuloma mixocelular por infección micótica, mediante 1) determinación del microorganismo con tinciones específicas como PAS y nitrato de plata y metenamina, 2) determinación de la

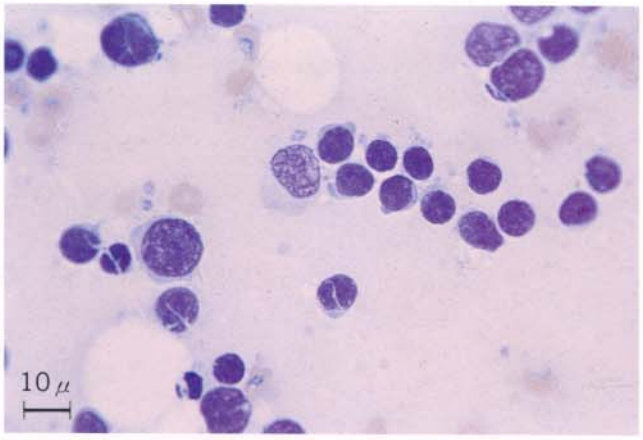


Fig. 1147. Impresión de un linfocitoma cutáneo. Los componentes celulares principales son unos pequeños linfocitos maduros y una escasa cantidad de grandes linfogonias provenientes del centro del folículo. Algunos linfocitos presentan un clivaje distintivo que sugiere el origen folicular central.

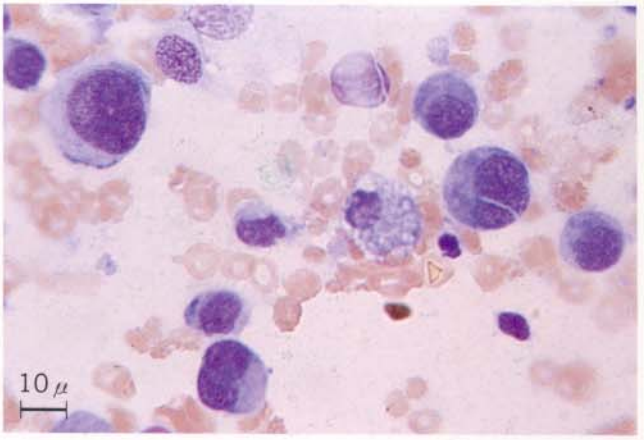


Fig. 1148. Linfocitoma cutáneo. Otro caso de linfocitoma cutáneo en una mujer de 36 años. Los componentes celulares son variables, como linfogonias grandes con nucléolo, plasmocitos y un histiocito. Esta celularidad mixta difiere de la de las células linfosarcomatosas, que es monótona.

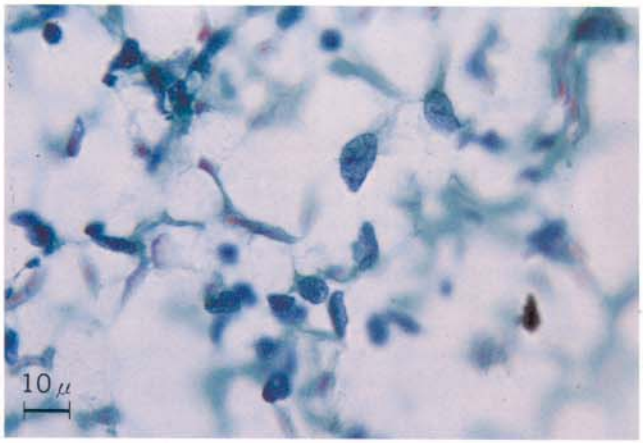


Fig. 1149. Células mesenquimáticas polimórficas en impresiones de un dermatofibrosarcoma protuberante. Los núcleos varían en tamaño y forma; son fusiformes o estrellados. El citoplasma es poco tingible y mal definido.

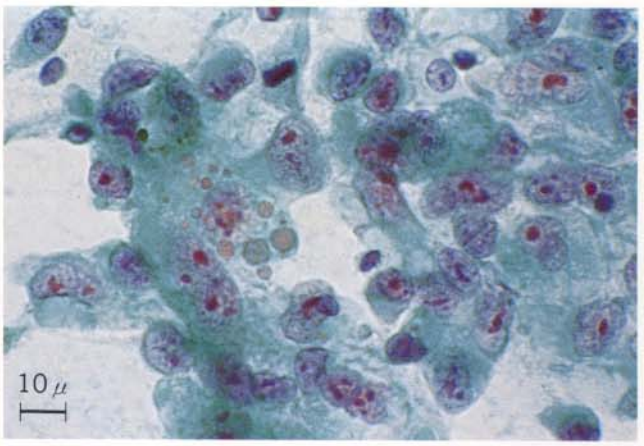


Fig. 1150. Células angiosarcomatosas originadas en una región subepidérmica en una impresión. Los núcleos son muy grandes, ovales a elípticos, y a veces incurvados. Las características de sarcoma son la prominencia de los nucléolos múltiples, la fina membrana nuclear y los bordes celulares indistintos. Nótese la fagocitosis.

celularidad, 3) recuento diferencial de los componentes celulares, 4) identificación de histiocitos y sus sustancias fagocitadas y 5) observación de si existe necrosis concomitante o no. Debemos señalar que las células mesenquimáticos difícilmente se desprenden, incluso de las neoplasias malignas.

Las células de los tumores mesenquimáticas son solitarias o aparecen en grupos laxos. Los bordes citoplasmáticos son mal definidos y los bordes nucleares no están engrosados. Existe gran variación en cuanto a tamaño y forma, y hay prominencia de uno o dos núcléolos de formas irregulares.

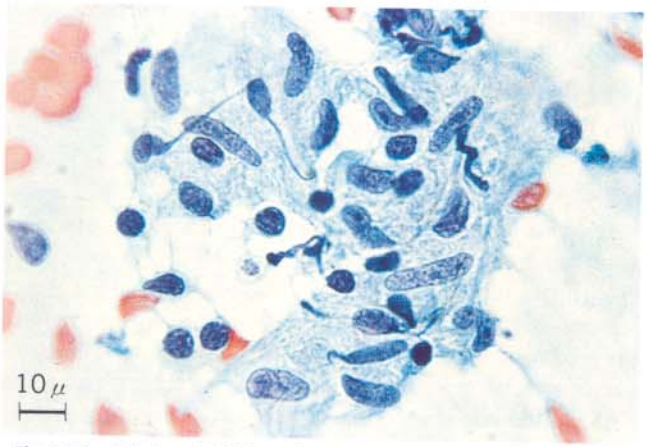


Fig. 1151. Células epitelioides aglomeradas en impresiones de un caso de lepra lepromatosa. Dada la falta de necrosis caseosa, esta lesión es muy similar a la de la sarcoidosis. Es importante la investigación bacteriana.

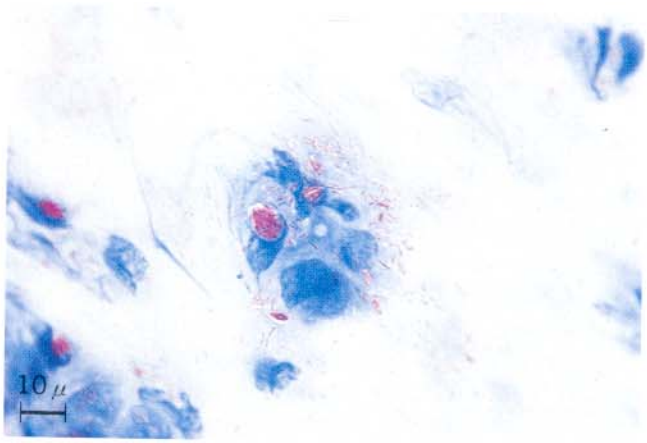


Fig. 1152. Bacilos de lepra en células epitelioides de un leproma. Caso de la figura 1151. Estos bacilos no son tan acidorresistentes como los de la tuberculosis. Tinción de Ziehl-Neelsen.

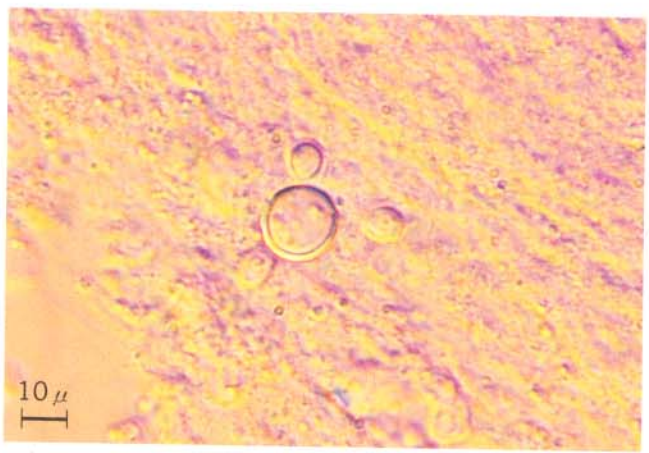


Fig. 1153. *Paracoccidioides brasiliensis* en una lesión ulcerada del labio. El diagnóstico citológico de la paracoccidioidomicosis o blastomicosis sudamericana, que toma la nasofaringe, la piel, los ganglios linfáticos y el tracto respiratorio, es sencillo. Se pudo hacer microscopia de interferencia diferencial para la detección inmediata de células levaduriformes con variable cantidad de brotes. Nótese una imagen en "rueda de timón".

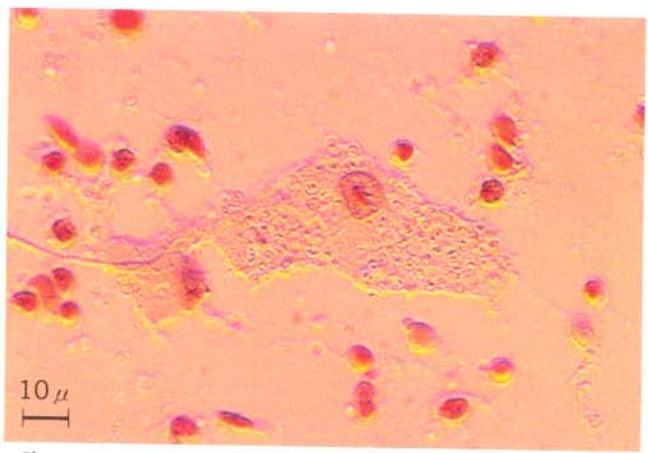


Fig. 1154. Macrófago cargado de numerosos esporos de *Histoplasma capsulatum* en la microscopia de interferencia diferencial. De una lesión cutánea de histoplasmosis sistémica. Las leishmanias de tamaño similar se reconocen por la presencia de unos halos claros. Este hombre de 40 años, tratado con inmunosupresivos por LLC, tuvo disnea persistente, linfadenopatía generalizada y hepatomegalia.

Apéndice: Clasificación TNM de los tumores de piel *

PIEL

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

La clasificación sólo rige para el carcinoma.

Se debe hacer la verificación histológica de la enfermedad para poder dividir los casos por su tipo histológico. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Los siguientes son los requisitos mínimos para establecer las categorías T, N y M. En caso de que no se los pueda satisfacer, se adoptarán los símbolos TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico
Categorías N: Examen clínico
Categorías M: Examen clínico y radiografías

* Harmer, M.H.: TNM Classification of Malignant Tumours, 3ª ed., Ginebra, UICC, 1978.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Tis Carcinoma preinvasor (carcinoma *in situ*).
T0 Sin signos de tumor primario.
T1 Tumor de 2 cm o menos en su dimensión mayor, estrictamente superficial o exofítico.
T2 Tumor de más de 2 cm pero de menos de 5 cm en su dimensión mayor *o bien* con infiltración mínima de la dermis, cualquiera que sea su tamaño.
T3 Tumor de más de 5 cm en su dimensión mayor *o bien* con infiltración profunda de la dermis, cualquiera que sea su tamaño.
T4 Tumor propagado a otras estructuras, como cartílago, músculo o hueso.
TX No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar el tumor primario.

Nota: En caso de tumores simultáneos múltiples, identifíquese el tumor con la categoría T más alta e indíquese entre paréntesis la cantidad de tumores aparte, por ej. (5)T2.

N - Ganglios linfáticos regionales

Los ganglios linfáticos regionales son los que corresponden a la localización del tumor primario.

N0	Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales homolaterales móviles.
N2	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales contralaterales o bilaterales.
N3	Evidencias de compromiso de ganglios linfáticos regionales fijos.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

Nota: La categoría N2 no rige para las extremidades. Los ganglios linfáticos contralaterales se clasifican como M1.

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para establecer la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSOPERATORIA

pT - Tumor primario

Las categorías pT corresponden a las categorías T.

pN - Ganglios regionales

Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Por ahora no se recomienda agrupar por etapas.

RESUMEN

Piel	
T1	≤ 2 cm
T2	> 2 – 5 cm
T3	< 5 cm
T4	Extensión a hueso/músculo
N1	Móvil homolateral
N2*	Móvil contra o bilateral
N3	Fijo

* Según la región

MELANOMA

REGLAS PARA LA CLASIFICACIÓN

Debe indicarse el sitio de origen del tumor primario.

Tiene que haber verificación histológica de la enfermedad. Todos los casos no confirmados se deben declarar por separado.

Los siguientes son los requisitos mínimos para establecer las categorías T, N y M. Si no se los puede satisfacer, adóptense los símbolos TX, NX o MX.

Categorías T: Examen clínico
Categorías N: Examen clínico y radiografías
Categorías M: Examen clínico y radiografías

CLASIFICACIÓN CLÍNICA TNM ANTES DEL TRATAMIENTO

T - Tumor primario

Por ahora no se recomienda clasificación.

N - Ganglios linfáticos regionales

Los ganglios linfáticos regionales son los que corresponden a la localización del tumor primario.

N0	Sin signos de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N1	Evidencias de compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N4	Evidencias de compromiso de los ganglios linfáticos yuxtarregionales.
NX	No se pueden satisfacer los requisitos mínimos para estimar los ganglios linfáticos regionales.

Nota: Las categorías N2 y N3 no son aplicables. La categoría N4 no rige para las extremidades. A los ganglios linfáticos contralaterales se los clasifica como M1.

M - Metástasis a distancia

M0	Sin signos de metástasis a distancia.
M1	Evidencias de metástasis a distancia.
MX	No se puede satisfacer los requisitos mínimos para establecer la presencia de metástasis a distancia.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA pTNM POSOPERATORIA

pT - Tumor primario

pTis	Hiperplasia melanocítica atípica (no maligna)	Nivel I
pT0	Sin signos de tumor primario	
pT1	Tumor que invade la dermis papilar *y/o* no más de 75 mm de espesor	Nivel II
pT2	Tumor que llega hasta la dermis reticular pero no la invade, *y/o* de más de 0,75-1,5 mm de espesor	Nivel III
pT3	Tumor que invade la dermis reticular *y/o* posee más de 1,5-3 mm de espesor	Nivel IV
pT4	Tumor que invade el tejido subcutáneo *y/o* posee más de 3 mm de espesor	Nivel V

Nota: En presencia de metástasis satélites o en tránsito, todas las categorías se pueden subdividir del siguiente modo:
a) Satélite(s) en el área inmediata o regional del tumor primario.
b) Metástasis en tránsito hacia el área de drenaje de los ganglios linfáticos regionales.

pN - Ganglios linfáticos regionales

Las categorías pN corresponden a las categorías N.

pM - Metástasis a distancia

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

AGRUPAMIENTO POR ETAPAS

Etapa Ia	pT1, pT2	pN0	pM0
Etapa Ib	pT3, pT4	pN0	pM0
Etapa II	Cualquier pTa, pTb	pN0	pM0
	Cualquier pT	pN1	pM0
	Cualquier pTa, pTb	pN1	pM0
Etapa III	Cualquier pT	pN4	pM0
	Cualquier pTa, pTb	pN4	pM0
Etapa IV	Cualquier pT	Cualquier pN	pM1
	Cualquier pTa, pTb	Cualquier pN	pM1

RESUMEN

Melanoma		
pT1	≤ 0,75 mm	Nivel II
pT2	> 0,72-1,5 mm	Nivel III

pT3	> 1,5-3 mm	Nivel IV
pT4	> 3 mm	Nivel V
N1	Regional	
N4	Yuxtarregional	

BIBLIOGRAFÍA

1. BEUTNER, E. H., JABLONSKA, S., JARZABEK-CHORZELSKA, M., MARCIEJOWSKA, E., RZESKA, G., and CHORZELSKI, T. P.: Studies in immunodermatology. VI. IF studies of autoantibodies to the stratum corneum and of *in vivo* fixed IgG in stratum corneum of psoriatic lesions. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., *48*: 301, 1975.
2. BLANK, H., and BURGOON, C. F.: Abnormal cytology of epithelial cells in pemphigus vurgaris: a diagnostic aid. J. Invest. Dermat., *18*: 213, 1952.
3. BLANK, H., BURGOON, C. F., BALDRIDGE, G. D., and URBACH, F.: Cytologic smears in diagnosis of herpes simplex, herpes zoster and varicella. J. A. M. A., *146*: 1410, 1951.
4. BLANK, H., and RAKE, G.: Viral and Rickettsial Diseases of the Skin, Eye and Mucous Membranes of Man. Boston, Little, Brown and Co., 1955.
5. GOLDMAN, L., MCCABE, R. M., and SAWYER, F.: The importance of cytology technic for the dermatologist in office practice. A. M. A. Arch. Dermat., *81*: 359, 1960.
6. GOWER, R. G., SAMS, W. M., Jr., THORNE, E. G., KOHLER, P. F., and CLAMAN, H. N.: Leukocytoclastic vasculitis: Sequential appearance of immunoreactants and cellular changes in serial biopsies. J. Invest. Dermat., *69*: 477, 1977.
7. GRAHAM, J. B., BINGUL, O., and BURGOON, C. B.: Cytodiagnosis of inflammatory dermatoses. Arch. Dermat., *87*: 118, 1963.
8. HARRIST, T. J., and MIHM, M. C., Jr.: Cutaneous immunopathology: The diagnostic use of direct and indirect immunofluorescence techniques in dermatologic disease. Human Path., *10*: 625, 1979.
9. HASHIMOTO, K., KING, L. E., Jr., YAMANISHI, Y., BEACHEY, E. H., and MAEYENS, E.: Identification of the substance binding pemphigus antibody and concanavalian A in the skin. J. Invest. Dermat., *62*: 423, 1974.
10. JABLONSKA, S., CHORZELSKI, T. P., BEUTNER, E. H., and CHORZELSKA, J.: Herpetiform pemphigus: A variable pattern of pemphigus. Int. J. Dermat., *14*: 353, 1975.
11. JABLONSKA, S., CHORZELSKI, T. P., JARZABEK-CHORZELSKA, M., and BEUTNER, E. H.: Studies in immunodermatology. VII. Four-compartment system studies of IgG in stratum cornem and of stratum corneum antigen in biopsies of psoriasis and control dermatoses. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., *48*: 324, 1975.
12. JORDON, R. E.: Complement activation in bullous skin diseases. J. Invest. Dermat., *65*: 162, 1975.
13. JORDON, R. E.: Complement activation in pemphigus and bullous pemphigoid. J. Invest. Dermat., *67*: 366, 1976.
14. JORDON, R. E., SCHROETER, A. L., and WINKELMANN, R. K.: Dermal-epidermal deposition of complement components and properdin in systemic lupus erythematosus. Br. J. Dermat., *92*: 263, 1975.
15. KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1968.
16. KOTCHER, E., GRAY, L. A., JAMES, Q. C., FRICK, C. A., and BOTTORFF, D. W.: Cervical cell inclusion bodies and viral infections of the cervix. Ann. N. Y. Acad. Sci., *97*: 571, 1962.
17. KROGH, H. K.: The occurrence of antigens to stratum corneum in man. Int. Arch. Allergy, *37*: 649, 1970.
18. KROGH, H. K., and TÖNDER, O.: Immunoglobulins and anti-immunoglobulin factors in psoriatic lesions. Clin. Exp. Immunol., *10*: 623, 1972.
19. LEVER, W. F.: Pemphigus and Pemphigoid. Springfield, Charles C Thomas, 1965.
20. MEDAK, H., BURLAKOW, P., MCGREW, E. A., and TIECKE, R.: The cytology of vesicular conditions affecting the oral mucosa: Pemphigus vulgaris. Acta Cytol., *14*: 11, 1970.
21. MIESCHER, G.: Über Klinik und Therapie der Melanome. Arch. f. Derm. u. Syph., *200*: 215, 1955.
22. MONROE, E. W.: Lupus band test. Arch. Dermat., *113*: 830, 1977.
23. NISHIKAWA, T., KURIHARA, S., HARADA, T., SUGAWARA, M., and HATANO, H.: Capability of complement fixation by *in vivo* bound antibodies in pemphigus skin lesions. Clin. Exp. Dermat., *3*: 57, 1978.
24. O'LOUGHLIN, S., SCHROETER, A. L., and JORDON, R. E.: A study of lupus erythematosus with particular reference to generalized discoid lupus. Br. J. Dermat., *99*: 1, 1978.
25. REUNALA, T.: Gluten-free diet in dermatitis herpetiformis. Br. J. Dermat., *98*: 69, 1978.
26. SAMS, W. M., Jr., CLAMAN, H. N., KOHLER, P. F., MCINTOSH, R. M., SMALL, P., and MASS, M. F.: Human necrotizing vasculitis: Immunoglobulins and complement in vessel walls of cutaneous lesions and normal skin. J. Invest. Dermat., *64*: 441, 1975.
27. SAMS, W. M., Jr., and SCHUR, P. H.: Studies of the antibodies in pemphigoid and pemphigus. J. Lab. Clin. Med., *82*: 249, 1973.
28. SCHRAGER, M. A., and ROTHFIELD, N. F.: Clinical significance of serum properdin levels and properdin deposition in the dermal-epidermal junction in systemic lupus erythematosus. J. Clin. Invest., *57*: 212, 1976.
29. SCHROETER, A. L., and WINKELMANN, R. K.: Livedo vasculitis (the vasculitis of atrophie blanche): Immunohistopathologic study. Arch. Dermat., *111*: 188, 1975.
30. SELBACH, G., and HEISEL, E.: The cytological approach to skin disease. Acta Cytol., *6*: 439, 1962.
31. STEIN, K. M., SCHLAPPNER, Q. L. A., HEATON, C. L., and DECHERD, J. W.: Demonstration of basal cell immunofluorescence in drug-induced toxic epidermal necrolysis. Br. J. Dermat., *86*: 246, 1972.
32. STERN, E., and LONGO, L. D.: Identification of herpes simplex virus in a case showing cytological features of viral vaginitis. Acta Cytol., *7*: 295, 1963.
33. STINGEL, G., HÖNIGSMANN, H., HOLUBAR, K., and WOLFF, K.: Ultrastructural localization of immunoglobulins in skin of patients with dermatitis herpetiformis. J. Invest. Dermat., *67*: 507, 1976.
34. TAPPEINER, J., and PFLEGER, L.: Pemphigus vulgaris-Dermatitis herpetiformis. Arch. f. Klin. exp. Derm., *214*: 415, 1962.

35. TUFFANELLI, D. L.: Cutaneous immunopathology: Recent observations. J. Invest Dermat., *65*: 143, 1975.
36. TZANCK, A.: Le cytodiagnostic immédiat en dermatologie. Bull. Soc. Franc Derm. Syph., *7*: 68, 1947.
37. TZANCK, A.: Le cytodiagnostic immédiat en dermatologie. Ann. de Dermat. et Syph., *8*: 205, 1948.
38. TZANCK, A., and ARON-BRUNETIERE: Le "cytodiagnostic immédiat" des dermatoses bulleuses. Gas. med. port., *3*: 667, 1949.
39. WIERZCHOWIECKI, M. O., QUISMORIO, F. P., and FRIOU, G. J.: Immunoglobulin deposits in skin in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheumat., *18*: 77, 1975.
40. WOLFF, H. H., MACIEJEWSKI, W., SCHERER, R., and BRAUN-FALCO, O.: Immunoelectronmicroscopic examination of early lesions in histamine induced immune complex vasculitis in man. Br. J. Dermat., *99*: 13, 1978.

Addendum

41. BREHMER-ANDERSSON, E., and BRUNK, U.: Tape-stripping method for cytological diagnosis of mycosis fungoides. Acta Dermatovener., *47*: 177, 1967.
42. MARKS, R., and DAWBER, R. P. R.: Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. Br. J. Derm., *84*: 117, 1971.
43. MARKS, R., and DAWBER, R. P. R.: In situ microbiology of the stratum corneum. Arch. Derm., *105*: 216, 1972.
44. MARKS, R., and SAYLAN, T.: The surface structure of the stratum corneum. Acta Dermatovener., *52*: 119, 1972.
45. PINKUS, H.: Examination of the epidermis by the strip method of removing horny layers. J. Invest. Dermatol., *16*: 383, 1951.
46. TOMB, J. A., and MATTA, M. T.: The cytology of vesiculo-bullous conditions affecting the oral mucosa. Leb. Med. J., *31*: 125, 1980.
47. WILSON, J. E.: Cytodiagnosis. *In* ROOK, A. et al (Eds.): Textbook of Dermatology. pp. 72-75. Oxford, Blackwell Scientific Publication, 1979.
48. WOLF, J.: Das Oberflächenrelief der menschlichen Haut. Zeitschr. f. mikr-anat. Forsch., *47*: 351, 1940.
49. GILLIAM, J. N.: The significance of cutaneous immunoglobulin deposits in lupus erythematosus and NZB/NZW F_1 hybrid mice. J. Invest. Dermat., *65*: 154, 1975.

30

Hueso y médula ósea

1. Aspecto general

La biopsia es un recurso importante para diagnosticar tumores malignos de hueso y cartílago. Se ha discutido la conveniencia de la biopsia incisional de la médula ósea, porque, a causa de la gran irrigación sanguínea de ésta, se podrían favorecer las metástasis a distancia de los tumores malignos. No hace falta decir que la punción aspiradora con un dispositivo especial en la punta de la aguja, entraña menos riesgo de metástasis que la biopsia quirúrgica. Sin embargo, la punción aspiradora halla limitada aplicación cuando la neoplasia ya se ha propagado a las partes blandas y existen lesiones osteolíticas; Sanerkin y Jeffree[15] mencionan que la punción aspiradora es de primera elección 1) en las lesiones destructivas, como metástasis cancerosas, mieloma múltiple y granuloma eosinófilo; 2) en la fase clínica atípica de la osteomielitis crónica, y 3) en la propagación extraósea de una neoplasia, como en el osteosarcoma. Por lo general se puede usar la aguja para punción esternal. La aspiración con aguja a cielo abierto y la preparación de impresiones durante el acto operatorio tienen un significado distinto como coadyuvantes del histodiagnóstico de la biopsia; el diagnóstico rápido y la interpretación exacta de las anormalidades celulares son las ventajas que ofrece la citología, en comparación con los cortes de tejido preparados después de la descalcificación.[10]

2. Osteosarcoma, sarcoma osteógeno

La histología del osteosarcoma varía según el caso y según la localización; pueden predominar los cuadros fibroblástico, condroblástico, mixomatoso y osteoblásticos clásicos. Además del componente fibrosarcomatoso principal, con formación de matriz osteoide, es frecuente encontrar células gigantes pleomórficas mezcladas. Los núcleos múltiples con atipia difieren respecto de los de las células gigantes del tumor gigantocelular. La variedad osteolítica de este tumor se presta para citología del aspirado de punción. Los principales constituyentes celulares de este tumor voluminoso de consistencia carnosa, son unas células fusiformes semejantes a fibroblastos. Sus núcleos son ovales a elípticos, de tamaño variable y poseen una membrana nuclear delicada. El citoplasma aparece en moderada cantidad y es de límites imprecisos. Algunas células gigantes tienen unos núcleos atípicos de tamaño y forma variables, de modo que es fácil distinguirlas de las células gigantes de núcleos múltiples uniformes del tumor gigantocelular; las células del osteosarcoma gigantocelular, que son intensamente positivas para fosfatasa alcalina, se pueden diferenciar de los osteoclastos, que poseen una intensa actividad de fosfatasa ácida. Es necesario prestar atención a la evidencia de que la pieza obtenida de la parte periférica del tumor es la menos diferenciada y carece de tejido osteoide.[5]

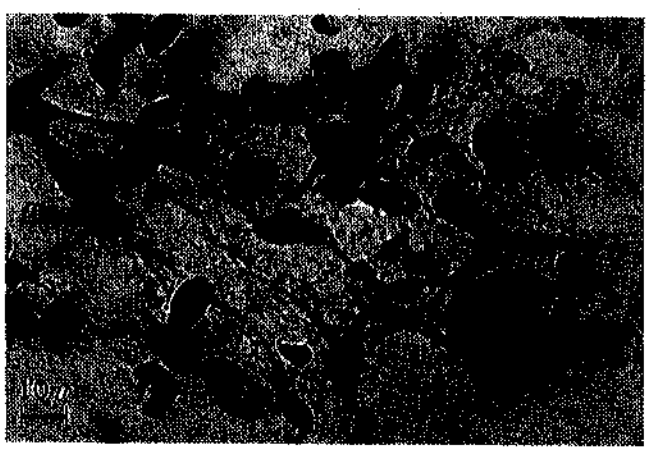


Fig. 1155. Proliferación de fibroblastos en la osteomielitis crónica. Muchos fibroblastos poseen unos núcleos agrandados pero uniformes con cromatinas blandas. Nótese un osteoblasto benigno con citoplasma abundante y una figura nuclear blanda.

En vista de que no se ha establecido ninguna diferencia significativa entre los subtipos histológicos como para establecer el pronóstico,[12] la interpretación de los tipos celulares carece de utilidad práctica. En la actualidad se investiga el intento de examinar la coexistencia de linfocitos con el tumor, como expresión de la respuesta inmunológica del huésped.[8] En cambio, reviste importancia práctica la frecuencia de las metástasis hematógenas al pulmón, en particular con compromiso bronquial, porque produce citología positiva en el esputo.

3. Condrosarcoma

El condrosarcoma formado *de novo* en el cartílago es más frecuente que el secundario a un cendroma u osteocondroma. En vista de que el condrosarcoma de origen central emprende un crecimiento infiltrativo que destruye a la cortical del hueso, se presta para hacer una punción aspiradora. Las células condrosarcomatosas se caracterizan por ser redondas y de núcleos grandes y redondos. Es frecuente que sus núcleos sean bastante uniformes a pesar de la mayor celularidad. A veces se ven núcleos dobles. El rasgo distintivo del condrosarcoma es el citoplasma que envuelve a los núcleos. El citoplasma es poco tingible, vidrioso y PAS positivo.

Mientras que en el osteosarcoma los grados citológicos de malignidad y la subclasificación de los tipos histológicos no influyen sobre el pronóstico, en el condrosarcoma vale la

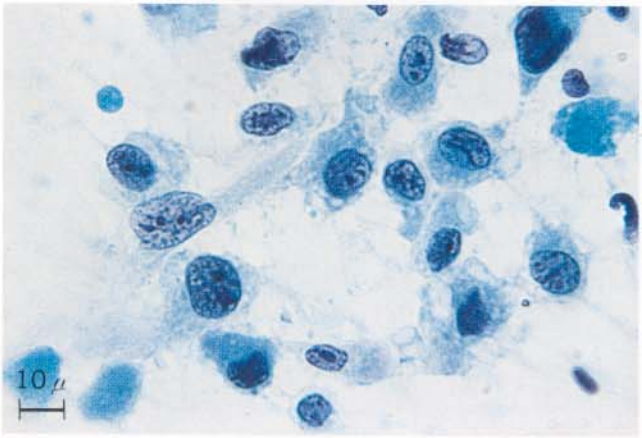


Fig. 1156. Células osteosarcomatosas de tipo fibroblástico poco diferenciado en una impresión. Niña de 10 años. Las células tumorales anaplásicas fusiformes se caracterizan por unos núcleos redondos a elípticos con cromatinas gruesas. El borde nuclear es nítido pero delicado.

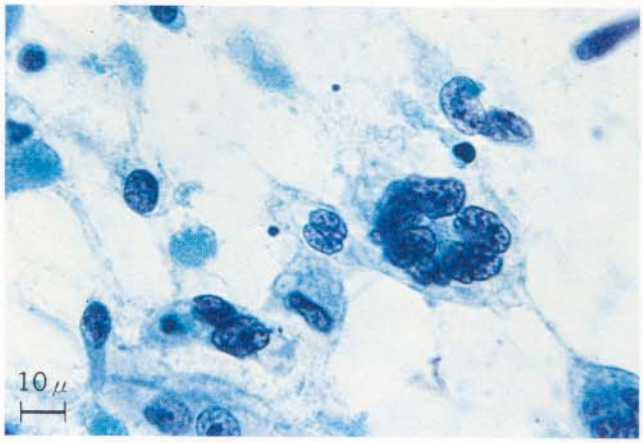
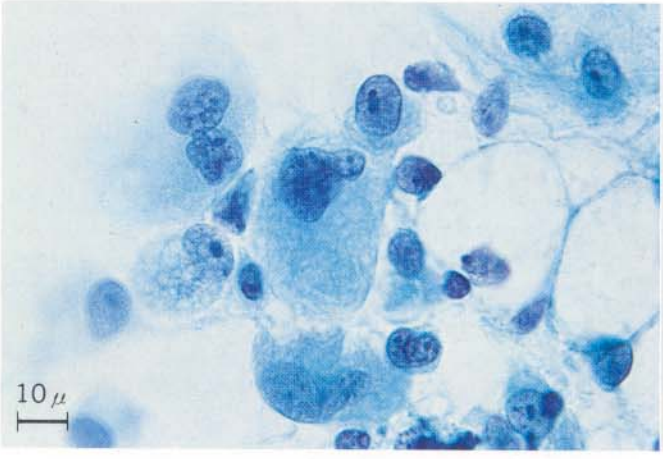


Fig. 1157. Componente gigantocelular del sarcoma osteógeno. Caso de la figura 1156. Éste difiere del osteoclasto multinucleado benigno en que el citoplasma es escaso y mal definido, y los núcleos múltiples son hipercromáticos y de tamaño variable.



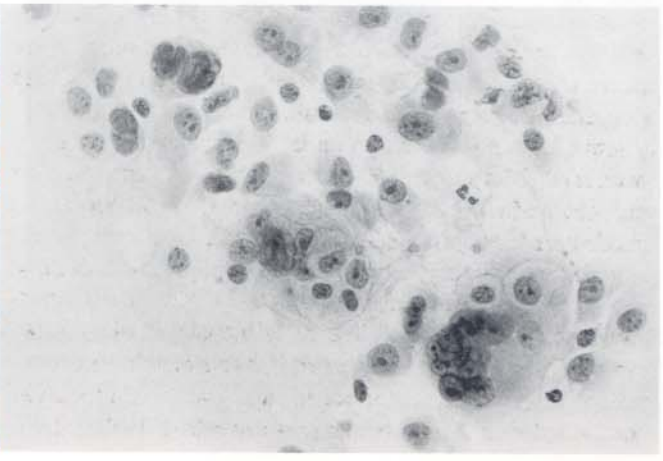


Fig. 1158. Variedad condroblastoide de sarcoma osteógeno en la pelvis de una niña de 11 años. Los núcleos son grandes, hipercromáticos y binucleados. El citoplasma abundante y vidrioso simula una matriz condrocitoide.

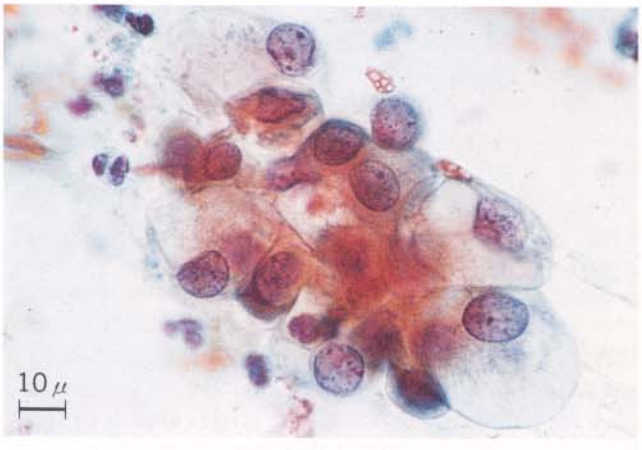


Fig. 1159. Células condrosarcomatosas desprendidas en una aglomeración en el aspirado de una punción con aguja. Las células tumorales redondeadas aparecen aglomeradas y se caracterizan por sus núcleos ovales a redondos con cromatina blanda y su citoplasma claro.

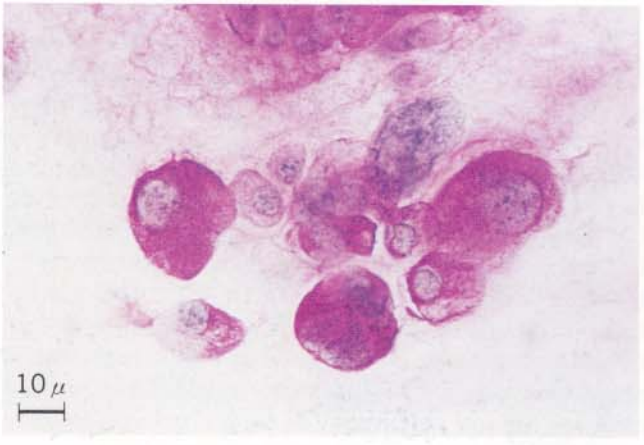


Fig. 1160. Células condrosarcomatosas PAS positivas. De la misma muestra que en la figura 1159. Nótese el citoplasma pletórico que da una reacción PAS intensamente positiva. La matriz circundante también exhibe tinción positiva.

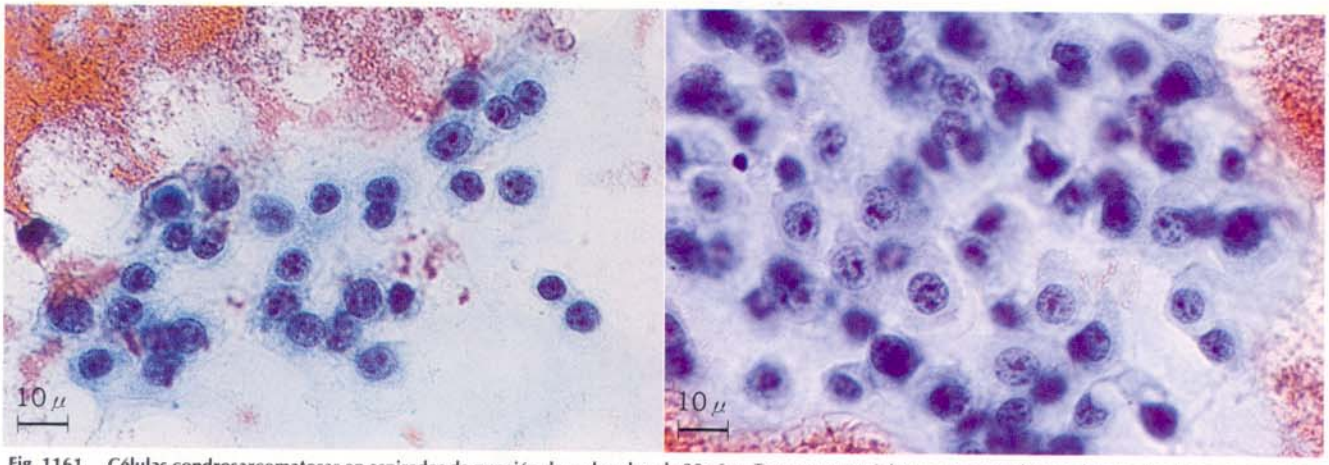


Fig. 1161. Células condrosarcomatosas en aspirados de punción de un hombre de 30 años. Tres o cuatro núcleos aparecen aglomerados y rodeados por una matriz vidriosa que indica su origen condromatoso. Aunque el tamaño de los núcleos es uniforme, los criterios de malignidad son el hipercromatismo y la cromatina granular gruesa.

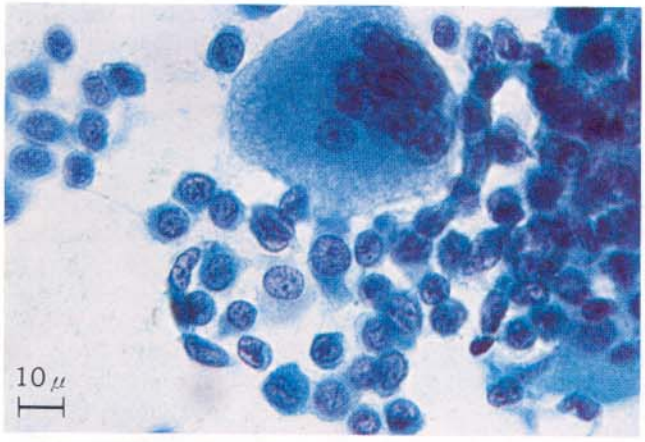


Fig. 1162. Células gigantes multinucleadas y células poligonales individuales íntimamente agrupadas en un caso de condroblastoma. La lesión estaba en el fémur distal de un varón de 16 años. Los núcleos son redondos a ovales y se delinean con nitidez. Se disciernen nucléolos y la cromatina es blanda.

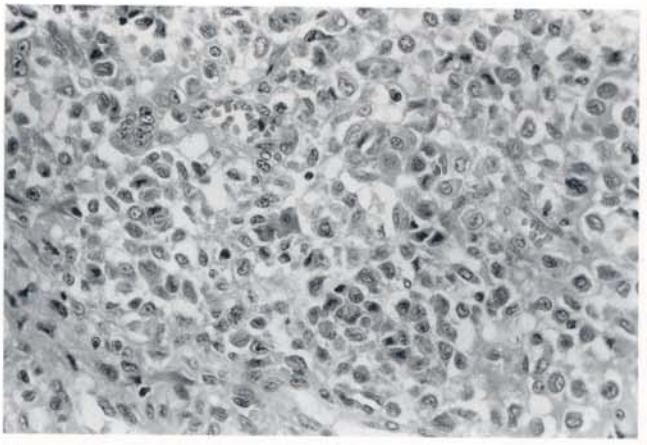


Fig. 1163. Histología del condroblastoma. De un tumor radiolúcido en la epífisis distal del fémur de un varón de 16 años. El tumor, muy celularizado, consiste en células poligonales entremezcladas a veces con células gigantes multinucleadas.

pena fijarse en el grado de atipia celular, como hipercromatismo, pleomorfismo, celularidad y actividad mitótica.[4,7]

4. Condroblastoma

El condroblastoma es un tumor benigno raro que se forma en la epífisis de los huesos largos. Este tumor bien delimitado es globuloso y lobulado. Es un tumor muy celularizado, constituido por unas células poligonales o redondeadas y por algunas células gigantes multinucleadas de tipo osteoclástico. El condroblastoma no posee rasgos citológicos característicos porque se parece mucho al tumor gigantocelular. Para hacer el diagnóstico diferencial téngase en cuenta que este tumor se presenta en personas menores de 20 años y suele tomar la epífisis de la tibia, fémur y húmero superior. Las células tumorales son poligonales o redondas, semejantes a plasmocitos y se hallan densamente aglomeradas; sus núcleos son bastante uniformes y de bordes nucleares nítidos. Poseen un nucléolo único en posición central. La trama de cromatina es blanda. La cantidad de citoplasma varía entre escasa y regular, y se halla bien delimitada. Las células gigantes multinucleadas de núcleos redondos múltiples simulan tumor gigantocelular, pero no son tantas c[illegible] en este último. Es raro que se reconozca la matriz cartilaginosa en citología.

5. Tumor gigantocelular

El tumor gigantocelular u osteoclastoma afecta con preferencia a personas de mediana edad que están en la tercera y cuarta décadas de la vida. Ocurre en la epífisis de los huesos largos y se propaga a la metáfisis; suele radicarse en el extremo inferior del fémur y radio, extremo superior de la tibia y peroné, y sacro.[2] La rarefacción quística del tumor produce una imagen radiográfica característica en "burbujas de jabón". Los constituyentes celulares que caracterizan al tumor gigantocelular son unas células ovoides de citoplasma ingurgitado y unas células gigantes multinucleadas con gran cantidad de núcleos uniformes. El tumor gigantocelular convencional o tumor gigantocelular de grado I abunda en células gigantes, pero la cantidad de éstas disminuye a medida que el grado de malignidad es mayor; en el tumor maligno de grado III la gran mayoría de las células son fusiformes anaplásicas.[6] En consecuencia, en citodiagnóstico sólo se

Cuadro 106. Citopatología característica de las lesiones gigantocelulares

Enfermedad	*Edades comunes*	*Localización en el hueso*	*Citopatología de la lesión*	
			Células gigantes	*Células estromales*
Tumor gigantocelular; benigno y maligno	Décadas 3ª y 4ª; edad avanzada	Epífisis y metáfisis de los huesos largos	Células gigantes de tipo osteoclástico	Células fusiformes atípicas que semejan fibroblastos; la atipia refleja el grado de malignidad
Quiste óseo aneurismático; benigno	Décadas 1ª y 2ª	Metáfisis de los huesos largos y cualquier hueso	Pequeña cantidad de células gigantes	Células estromales cargadas de hemosiderina
Sarcoma osteógeno; maligno	Décadas 2ª y 3ª	Metáfisis de los huesos largos	Osteoblastos anaplásicos	Células fibrosarcomatosas a veces mezcladas con células condrosarcomatosas
Crondroblastoma; benigno	2ª Década	Epífisis de los huesos largos	Pequeña cantidad de células gigantes	Células estromales pletóricas, redondas o poligonales
Épulis gigantocelular; benigno	Décadas 2ª y 3ª	Maxilares superior e inferior	Células gigantes con muchos núcleos pequeños	Fibrocitos uniformes y maduros
Osteoblastoma; benigno	Décadas 2ª y 3ª	Cualquier hueso	Menor cantidad de osteoclastos	Pequeña cantidad de fibrocitos

puede establecer el grado de malignidad por la atipia de las células individuales del estroma[9] si se hacen extendidos con áreas representativas. El enfoque citoquímico para identificar las células gigantes de tipo osteoclásico se basa en la mayor actividad de fosfatasa ácida, de esterasa inespecífica y de beta glucuronidasa. El hecho de que exista actividad aumentada de fosfatasa ácida en las células gigantes pero que ésta falte en las células del estroma, se verifica por la abundancia de lisosomas.[1, 3] Doty y Schofield utilizan la técnica citoquímica para distinguir a las células gigantes que exhiben intensas reacciones lisosómicas, por los osteoclastos de aspecto similar que no despliegan actividad de fosfatasa neutra.

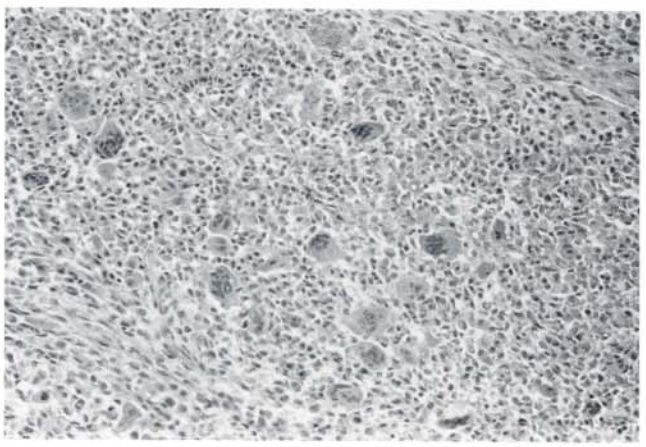


Fig. 1164. Histología de un tumor gigantocelular semejante al cuadro citológico. Las células gigantes multinucleadas, que poseen muchos núcleos rendondos, aparecen dispersas en una densa aglomeración de células estromales poligonales. No existe matriz cartilaginosa ni esteroide.

Addendum: Quiste óseo aneurismático. El quiste óseo aneurismático primario se forma por la instalación de una fístula arteriovenosa en cualquier sitio del hueso. La cavidad contiene unos espacios vasculares en panal de abejas, rodeados por tejidos consistentes en fibroblastos y células gigantes multinucleadas.

6. Rabdomiosarcoma

El rabdomiosarcoma es un tumor maligno de partes blandas que afecta a los niños, pero interviene en el diagnóstico diferencial de los tumores óseos cuando se forma en las extremidades. Los rabdomioblastos polimórficos típicos del

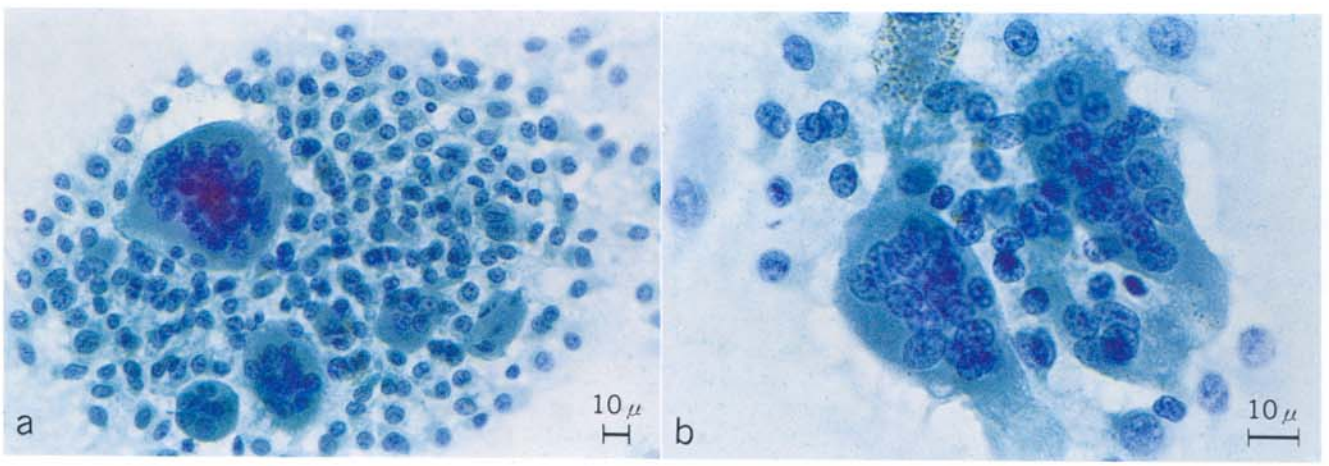


Fig. 1165. Tumor gigantocelular en una impresión. *a*, Células gigantes multinucleadas y células poligonales simples, dotadas de núcleos ovales o redondos blandos. Los múltiples núcleos redondos de las células gigantes son de tamaño y morfología uniformes. *b*, Vista con mayor aumento. Los núcleos múltiples son centrales y de tamaño y morfología uniformes. La muestra, tomada de un bulto granular amarillo-rojizo, pertenece a una mujer de 18 años.

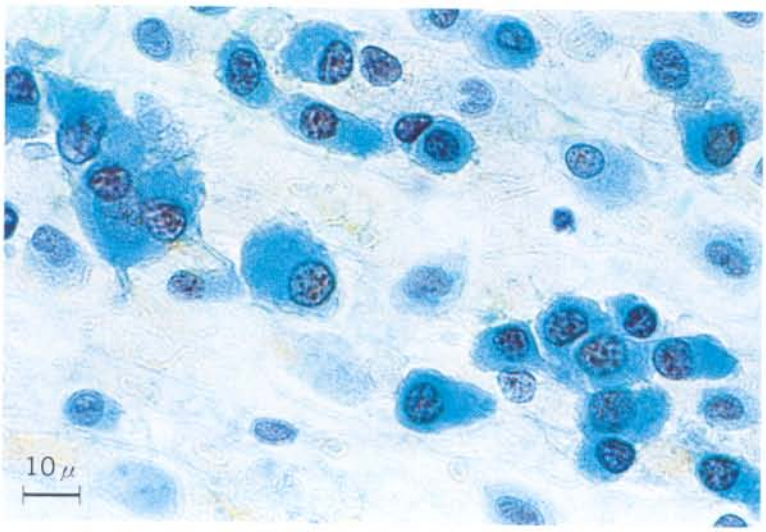


Fig. 1166. Rabdomioblastos embrionarios en un aspirado realizado durante la operación. Este tumor, que crecía con destrucción ósea en la pelvis de un niño de 5 años, es muy celularizado y está constituido por pequeñas células de núcleos periféricos característicos y un citoplasma verdófilo claro.

rabdomiosarcoma del adulto se distinguen del tumor gigantocelular y del sarcoma osteógeno por su forma peculiar y por sus estriaciones transversales. Los rabdomioblastos embrionarios se caracterizan por unas pequeñas células hipercromáticas de escaso citoplasma acidófilo, a menudo mezcladas con mioblastos en forma de correa.

7. Tumor de la médula ósea

Los tumores malignos de la médula ósea se clasifican en neoplasias primarias y secundarias. Las primeras son las que se originan en el tejido hematopoyético, como el mieloma plasmocitario, el sarcoma de Ewing y el reticulosarcoma. En el mieloma múltiple o mieloma plasmocitario se reconocen múltiples lesiones osteolíticas en "sacabocado" en diversos huesos, como vértebras, costillas, cráneo, pelvis, fémur, etc. También se afectan órganos viscerales, y por su morfología y por su inmunocitoquímica se identifican plasmocitos inmaduros (células mielomatosas) que elaboran inmunoglobulinas monoclonales.

El sarcoma de Ewing también se conoce como mieloma endotelial o sarcoma endotelial. Este tumor raro que se forma en la médula ósea, afecta a niños prepúberes. Las localizaciones más comunes son la diáfisis y metáfisis de huesos largos como húmero y fémur. El tumor se origina en la médula ósea y se propaga al periostio y a las partes blandas. La citología se caracteriza por unas células redondas hacinadas y casi denudadas. Los núcleos hipercromáticos son de morfología y tamaño bastante uniformes, y aparecen redondeados como si fuesen linfocitos. Se reconocen pocos nucléolos y cariosomas diseminados. Los contornos nucleares son delicados pero nítidos. El citoplasma es escaso, pálido y poco definido. Además de estas células, se reconoce otra población constituida por unas células más grandes y de tinción clara, con un citoplasma pálido e indefinido.[13] El citoplasma contiene los gránulos PAS positivos que se digieren con diastasa,[5] aunque la tinción PAS no es un criterio absoluto para clasificar al "sarcoma de células redondas" del hueso.[14]

8. Histiocitosis X

La histiocitosis de los huesos, como enfermedad de Letterer-Siwe, enfermedad de Hand-Schüller-Christian y granu-

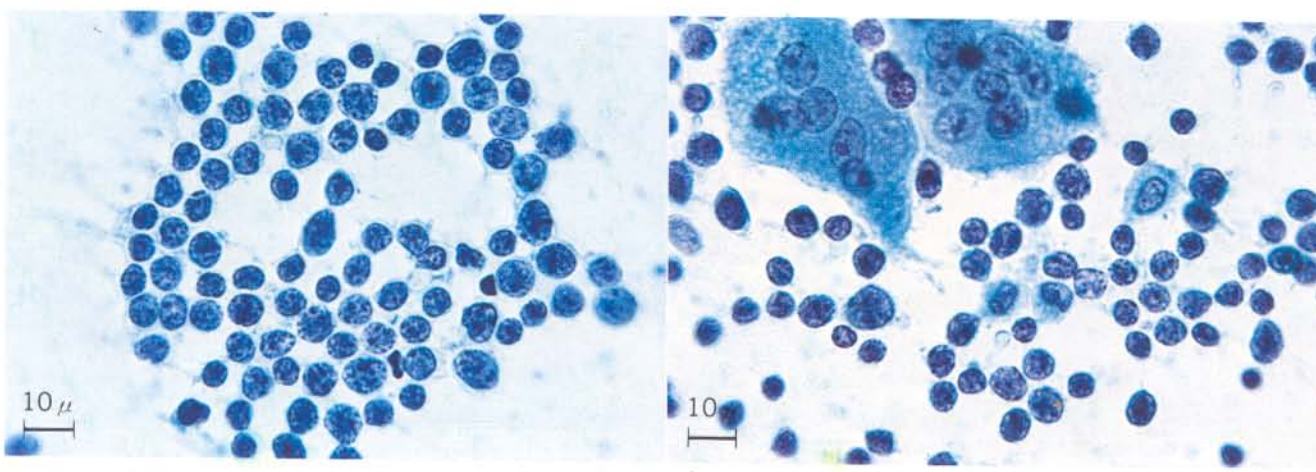


Fig. 1167. Sarcoma de Ewing en impresiones de una niña de 9 años. Láminas de células tumorales redondeadas y densamente coloreadas, junto con dos osteoblastos de núcleos múltiples. Estos elementos son difíciles de diferenciar de las células linfosarcomatosas, pero la uniformidad morfológica de los núcleos y la distribución en lámina o cordón de las células tumorales abonan en favor de sarcoma de Ewing. Se considera que los osteoblastos derivan de la neoformación ósea subperióstica.

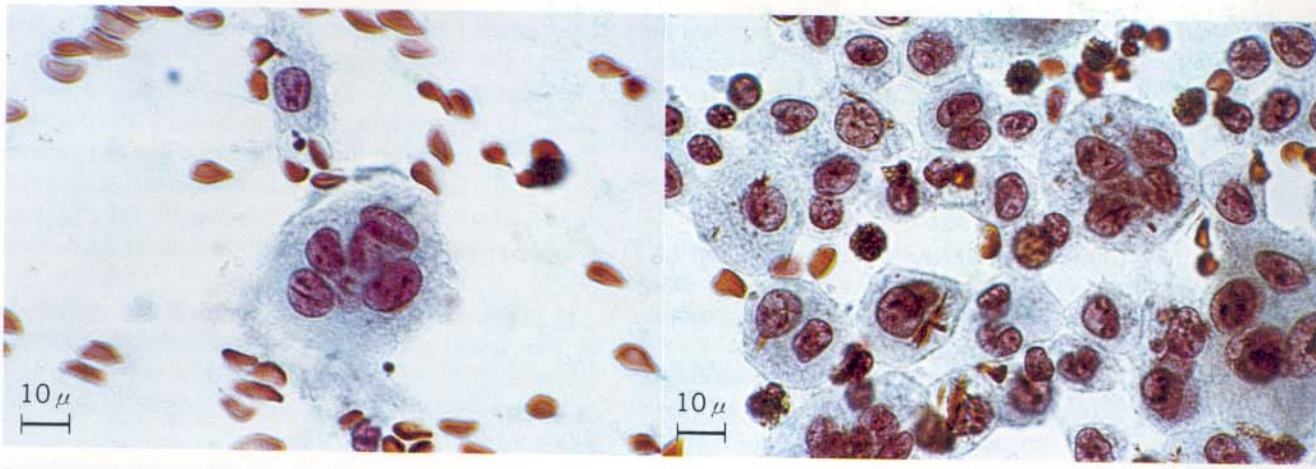


Fig. 1168. Característico histiocito multinucleado de núcleos ovoides centrales en la enfermedad de Hand-Schüller-Christian. Aspirados de punción de una lesión lítica frontotemporal en el cráneo. Niño de 2 años y 5 meses con linfadenopatía generalizada y defectos tumorales en el cráneo. Nótense la eosinofilia y los cristales de Charcot-Leyden intracelulares.

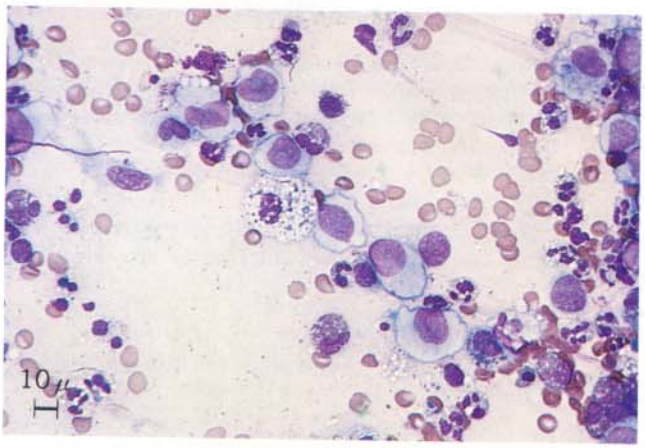


Fig. 1169. Granuloma eosinófilo aspirado de una lesión granulomatosa en el cráneo. Hay una mezcla de células histiocitarias mononucleadas junto con muchos eosinófilos, neutrófilos y linfocitos.

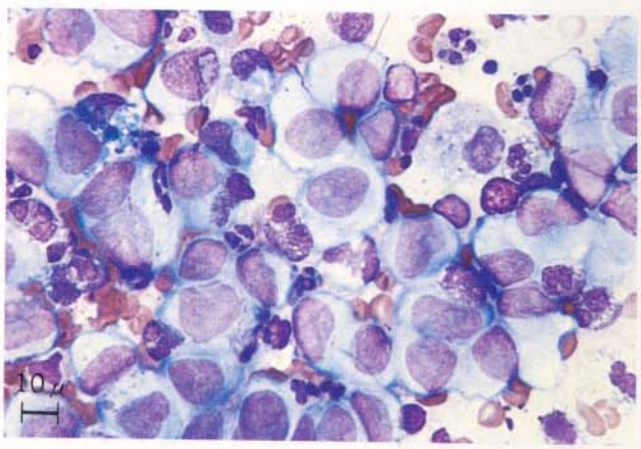


Fig. 1170. Granuloma eosinófilo del cráneo en un aspirado de punción. Varios histiocitos de núcleos blandos aparecen mezclados con eosinófilos. (Gentileza del doctor Hayashi, K., y del señor Okada, M., CT, IAC, Hospital de la Prefectura de Gifu en Tajimi, Tajimi/Gifu, Japón.)

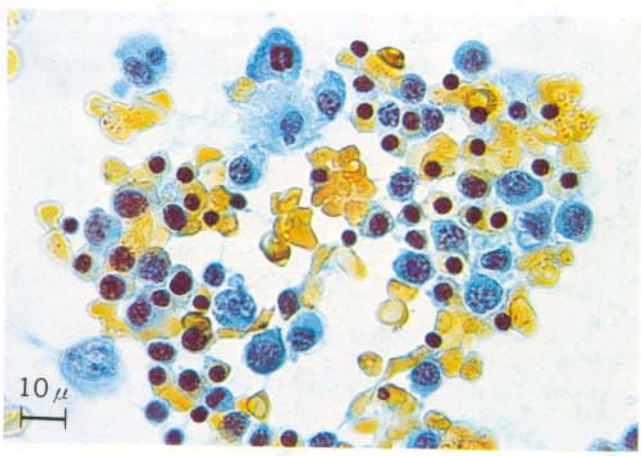


Fig. 1171. Aspirado de médula ósea teñido con Papanicolaou en el que aparecen muchos normoblastos de pequeños núcleos redondos y células mieloides y eritroides inmaduras. También se observan algunos plasmocitos con halos perinucleares.

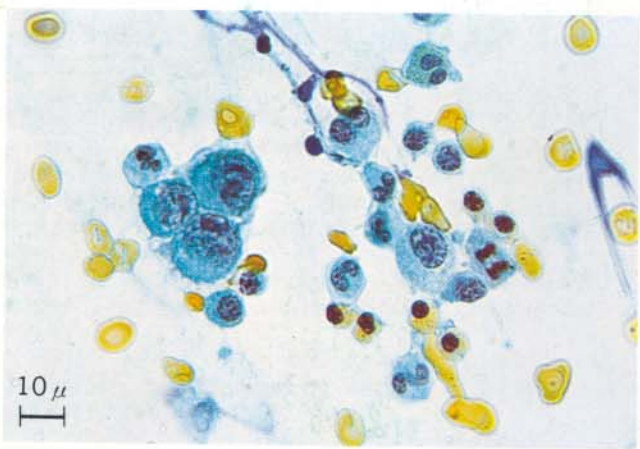


Fig. 1172. Células adenocarcinomatosas metastásicas en un aspirado de médula ósea. Extendido de la figura 1171. Nótense las células cancerosas aglomeradas, con sus núcleos enormes en situación excéntrica.

loma eosinófilo, se presenta para citología del aspirado de punción. Las lesiones óseas múltiples de la primera infancia en que hay compromiso visceral de escasa importancia (enfermedad de Hand-Schüller-Christian) y las lesiones osteolíticas localizadas en adolescentes o adultos (granuloma eosinófilo) se pueden diagnosticar con citología.

1) La enfermedad de Hand-Schüller-Christian hace su manifestación clínica con diabetes insípida, exoftalmía y defectos múltiples en los huesos. En ocasiones produce xantomas amarillentos diseminados en la piel.

Citología. Las características histológicas, constituidas por filtración masiva de histiocitos con tinción positiva para grasas ocasional y ciertos eosinófilos, se refleja en los extendidos; es característico encontrar mezclados con los eosinófilos una gran cantidad de histiocitos simples y de histiocitos multinucleados del tipo por cuerpo extraño o de tipo Touton. Los núcleos son ovalés o reniformes, están en la periferia del citoplasma, el cual existe en moderada cantidad, y exhiben los característicos pliegues en grano de café de la membrana nuclear. A la microscopia electrónica los gránulos intracitoplasmáticos se consideraron idénticos a los de las células de Langerhans.[11] En la experiencia de este autor con un niño de 2 años que tenía diabetes insípida y lesiones osteolíticas múltiples, atendido en la Escuela de Medicina de Botucatu, Brasil, se demostraron sustancias bacterioides o granulares finas en el citoplasma mediante microscopia de interferencia diferencial. Esto corroboraría la hipótesis de la histogénesis de la histiocitosis X que postulan Zemel y col.,[16] quienes la consideran un trastorno de la degradación de los lisosomas.

2) El granuloma eosinófilo es la entidad menos severa de este grupo porque afecta menos a los huesos que la enfermedad de Hand-Schüller-Christian, aunque se localiza en diversos sitios, como cráneo, huesos de la cara, fémur, pelvis y columna vertebral.

La citología se caracteriza por una mezcla con histiocitos mononucleares o multinucleados y muchos eosinófilos.

3) La enfermedad de Letterer-Siwe es la de peor pronóstico y toma con rapidez a los órganos viscerales; se acompaña de hepatoesplenomegalia, linfadenopatía, infiltración pulmonar y anemia. La infiltración ósea y la erupción cutánea pueden ser accesibles a la citología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boquist, L., Larsson, S. E., and Lorentzon, R.: Genuine giant-cell tumor of bone: a combined cytological, histopathological and ultrastructural study. Path. Eur., *11*: 117, 1976.
2. Dahlin, D. C., Cupps, R. E., and Johnson, E. W., Jr.: Giant cell tumor. A study of 195 cases. Cancer, *25*: 1061, 1970.
3. Doty, S. B., and Schofield, B. H.: Enzyme histochemistry of bone and cartilage cells. Prog. Histochem. Cytochem., *8*: 1, 1976.
4. Evans, H. L., Ayala, A. G., and Romsdahl, M. M.: Prognostic factors in chondrosarcoma of bone. A clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading. Cancer, *40*: 818, 1977.
5. Gompel, C.: Atlas of Diagnostic Cytology. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, John Wiley and Sons, Inc., 1978.
6. Huvos, A. G.: Bone Tumors: Diagnosis, Treatment and Prognosis. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1979.
7. Marcove, R. C., Lewis, M. M., and Huvos, A. G.: Cartilaginous tumors of the ribs. Cancer, *27*: 794, 1971.
8. Marsh, B., Flynn, L., and Enneking, W.: Immunologic aspects of osteosarcoma and their applications to therapy. J. Bone Joint Surg., *54*: 1367, 1972.
9. Miller, F. N.: Peery and Miller's Pathology. Boston, Little, Brown and Co., 1978.
10. Naib, Z. M.: Exfoliative Cytopathology. Boston, Little, Brown and Co., 1976.
11. Niebauer, G., Krawczyk, W., and Wilgram, G. F.: Über die Langerhans-Zellorganelle bei Morbus Letterer-Siwe. Arch. Klin. exp. Derm., *239*: 125, 1970.
12. O'Hara, J. M., Hutter, R. V. P., and Foote, F. W., Jr.: An analysis of thirty patients surviving longer than ten years after treatment for osteogenic sarcoma. J. Bone Joint Surg., *50*: 335, 1968.
13. Salzer-Kuntschik, M.: Cytologic and cytochemical behavior of primary malignant bone tumors. In Grundmann, E. (Ed.): Malignant Bone Tumors. pp. 145-156. New York, Springer-Verlag, 1976.
14. Salzer-Kuntschik, M., and Wunderlich, M.: Das Ewing-Sarkom in der Literatur: Kritische Studien zur Prognose. Arch. Orthop. Unfallchir., *71*: 297, 1971.
15. Sanerkin, N. G., and Jeffree, G. M.: Cytology of Bone Tumours. Bristol, John Wright and Sons, Ltd., 1980.
16. Zemel, H., Deeken, J., Asel, N., and Packer, J.: The ultrastructural features of normolipemic plane xanthoma. Arch. Path., *89*: 111, 1970.

BIBLIOGRAFÍA SELECTA

ANDREWS, G. S.: Exfoliative Cytology. Springfield, Ill., Charles C Thomas Publishers, 1971.

AYALA, M. J., and ORITZ, F. N.: Gynecological Cytopathology. St. Louis, The C. V. Mosby Company, 1978.

BAMFORTH, J.: Cytological Diagnosis in Medical Practice. Boston, Little, Brown and Co./London, J. & A. Churchill Limited, 1966.

BEYER-BOON, M. E., and TABBERS-BOUMEESTU, M. L.: Gynaecological Cytology: A Textbook and Atlas. London and Basingstroke, Macmillan Press, 1980.

CARVALHO, G.: Vaginal Cytology. New York, Vantage Press, 1968.

DEN HARTOG JAGER, W. A.: Colour Atlas of C. S. F. Cytopathology. Amsterdam, Elsevier Scientific Publishing Company/Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1980.

DE VOOGT, H. J., RATHERT, P., and BEYER-BOON, M. E.: Urinary Cytology: Phase Contrast Microscopy and Analysis of Stained Smears. Berlin, Heidelberg and New York, Springer-Verlag, 1977.

FROST, J. K.: Gynecologic and obstetric cytopathology. *In* NOVACK, E. R., and WOODRUFF, L. D. (Eds.): Novack's Gynecologic and Obstetric Pathology, 7th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1974.

GOMPEL, C.: Atlas of Diagnostic Cytology. New York, John Wiley and Sons, 1978.

GRAHAM, R. M.: The Cytologic Diagnosis of Cancer, 3rd ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1972.

GRUBB, C.: Colour Atlas of Gynaecological Cytopathology. Aylesbury, HM+M Publishers, 1977.

GRUBB, C.: Colour Atlas of Breast Cytopathology. Aylesbury, HM+M Publishers, 1981.

GRUNZE, H., and SPRIGGS, A. I.: History of Clinical Cytology, G-I-T. Darmstadt, Verlag Ernst Giebeler, 1980.

HADJU, S. I., and HADJU, E. O.: Cytopathology of Sarcomas and Non-epithelial Malignant Tumors. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1976.

HOPMAN, C. B.: Clinical Cytology and Cytologic Research. Miami, Miami Post Publishing Co., 1960.

HUGHES, H. E., and DODDS, T. C.: Handbook of Diagnostic Cytology. Edinburgh and London, E. & S. Livingstone Ltd., 1968.

ISHIZUKA, Y., OOTA, K., and MASUBUCHI, K.: Practical Cytodiagnosis. Tokyo, Igaku-Shoin Ltd., 1972.

JOHNSTON, W. W., and FRABLE, W. J.: Diagnostic Respiratory Cytopathology. New York, Masson Publishing, U. S. A., Inc., 1979.

KOSS, L. G.: Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases, 3rd ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1979.

LOPES CARDOZO, P.: Atlas of Clinical Cytology. 's-Hertogenbosch, Netherlands, Targa, b. v., 1975.

MELAMED, M. R., and CAHAN, W. G.: Lung cancer cytology. *In* WATSON, W. L. (Ed.): Lung Cancer. St. Louis, The C. V. Mosby Company, 1968.

MORIQUAND, J.: Cytodiagnostic Mammaraire. Basel, F. Hoffman-LaRoche et Cie, 1962.

NAIB, Z. M.: Exfoliative Cytopathology, 2nd ed. Boston, Little, Brown and Co., 1976.

NIEBURGS, H. E.: Diagnostic Cell Pathology in Tissue and Smears. New York, Grune & Stratton, Inc., 1967.

PAPANICOLAOU, G. N.: Atlas of Exfoliative Cytology. Cambridge, Mass., Harvard University Press, 1954.

PATTEN, S. F., Jr.: Diagnostic Cytolgy of the Uterine Cervix, Monographs in Clinical Cytology, Vol. 3, 2nd revised ed., Basel, S. Karger, A. G., 1978.

PROLLA, J. C., and KIRSNER, J. B.: Handbook and Atlas of Gastrointestinal Exfoliative Cytology. Chicago, University of Chicago Press, 1972.

PUNDEL, J. P.: Précis de Colpocytologie Hormonale. Paris, Masson et Cie, 1966.

REAGAN, J. W., and NG, A. B. P.: The Cell of Uterine Adenocarcinoma. Baltimore, The Williams and Wilkins Company/Basel, S. Karger A. G., 1965.

RIOTTON, G., and CHRISTOPHERSON, W. M.: Cytology of the Female Genital Tract. Geneve, WHO International Reference Centre for Nomenclature in Cytology, 1973.

SANERKIN, N. G., and JEFFREE, G. M.: Cytology of Bone Tumors: A Colour Atlas with Text. Bristol, John Wright & Sons Ltd., 1980.

SANI, G., CITTI, U., CARAMAZZA, G., and QUINTO, P.: Fluorescence Microscopy in the Cytodiagnosis of Cancer. Springfield, Ill., Charles C Thomas Publishers, 1964.

SCHADE, R. O. K.: Gastric Cytology: Principles, Methods and Results. London, Edward Arnold Ltd., 1960.

SCHUMANN, G. B., and WEISS, N. A.: Atlas of Renal and Urinary Tract Cytology and its Histopathological Bases. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1981.

SOOST, H.-J., and BAUR, S.: Gynäkologische Zytodiagnostik: Lehrbuch und Atlas. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1980.

SPRIGGS, A. I., and BODDINGTON, M. M.: The Cytology of Effusions in the Pleural, Pericardial and Peritoneal Cavities, 2nd ed. New York, Grune & Stratton, Inc./London, William Heinemann Medical Books Ltd., 1968.

STOLL, P.: Gynecological Vital Cytology. Berlin, Heidelberg and New York, Springer-Verlag, 1969.

TAYLOR, R. C. W.: Practical Cytology. New York, Academic Press, Inc., 1967.

TWEENDALE, D. N., and BUBILIER, L.: Cytopathology of Female Genital Tract Neoplasms. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1972.

TWEENDALE, D. N.: Urinary Cytology. Boston, Little, Brown and Co., 1977.

WACHTEL, E. G.: Exfoliative Cytology in Gynecological Practice. London, Butterworths Scientific Publications, 1964.

WIED, G. L., KOSS, L. G., and REAGAN, J. W.(Eds.): Compendium on Diagnostic Cytology, 4th ed. Chicago, Tutorials of Cytology, 1979.

ZACH, J.: Praktische Zytologie für Internisten. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1972.

Índice analítico

A

Aberraciones cromosómicas, 83
Aborto, amenaza, 177
Acriflavina, 94
  -Feulgen, 97
ACTH (hormona adrenocorticotrófica), 31
Actinomicina, 98
Actinomicosis, 297
Adenilato cinasa, 22
Adenoacantoma
  de cuello uterino, 219
  de endometrio, 226
  de esófago, 339
Adenocarcinoma
  de células claras, 224
  de cuello uterino, 212, 224
    in situ, 215
  de endometrio, 226
  de esófago, 339
  de estómago, 358
  de mama, 258
  de pulmón, 304, 306, 313
  de riñón, 489
  de uraco, 487
  de vejiga urinaria, 487
  en derrames, tipos, 427
    columnar simple, 428
    mucosecretante, 428
    tubular, 427
  mucosecretante, 428
  tipificación celular, 66
Adenoma
  bronquial, 322
  de mama, 256
  hipofisario
    acidófilo, 404
    basófilo, 404
    cromófobo, 402
  maligno, 217
Adenosis
  pulmonar, 307
  vaginal, 5, 224
Adenovirus, infección pulmonar, 292
ADH (hormona antidiurética), 31
Aldolasa, 43, 131
Alfa
  fetoglobulina, 101
  fetoproteína, 43, 101
  naftil acetato esterasa, 511
Almidón como contaminante en citología vaginal, 192
Aloinjertos de riñón, rechazo, 496
Amibiasis
  de cuello uterino, 192
  de intestino, 376
  de vagina, 192
AMP cíclico, 43
Ampollas intraepidérmicas, 542
Anafase, 26
Análisis
  cromosómico directo, 117
  de orina
    centrifugación, 461
    de los tres vasos, 460
    estandarización, 462
    método de la irrigación, 461
    microscopia de interferencia diferencial, 462
    procedimiento de rutina, 459
    recuento de Addis, 464
    sistema Kova, 463
    tinción
      con naranja de acridina, 462
      con yodo, 462
      de Sternheimer-Malbin, 462
Andrógenos, hiperactividad, 176
Anemia megaloblástica, 5, 355
Anexos nucleares. Véase *Núcleo, anexos*
Anilinas, trabajadores, citología urinaria, 477
Anticonceptivos orales, 5, 179
Anticuerpos
  en el pénfigo, 541
  inmunofluorescentes, 99
    aplicación a citología oncológica, 99
    conjugación del colorante fluorescente, 100
    en citología cutánea, 541
    en los cromosomas, 103
    para alfafetoproteína, 101
    para antígeno carcinoembrionario, 102
    para hormonas ectópicas, 102
    para proteína M, 102
    preparación de antisueros, 100
Antisueros, preparación, 100
Aparato
  autorrecolector de Kato, 162
  de Golgi, 22
  descartable de Franzen-Stormby, 506
Aplastamiento, técnica de
  para análisis cromosómico, 117
  para tejido cerebral, 387, 401
Apudoma, 31, 212
Arco M, 104
Arrenoblastoma, 176
Aspergillus en el extendido cervical, 189
Aspiración. Véase también *Punción aspiradora*
  con aguja
    fondo de saco, 5
    ganglios linfáticos, 506
    mama, 234
    piel, 542
    próstata, 462, 498
    pulmón, 7, 273
    transrectal, 498
  de intestino, 373
  de jugo gástrico, 340
  de líquido cefalorraquídeo, 386
  endometrial, 4, 163
Astroblastoma de encéfalo, 398
Astrocitoma
  de encéfalo, 396
  gemistocítico, 398
Astrocitos de encéfalo, 389
Atebrina, 96
Atipia coilocitósica, 194
Autorraspado de cuello uterino, 162
Autosomas, anormalidades, 113
Azul
  brillante de cresilo, tinción supravital con, 81
  tripano, tinción con, 65

B

Bandeado de cromosomas
  C, 113
  N, 118
  Q, 110
  R, 112
Basalzellenkrebs, 309
Basofilia citoplasmática, 22, 58
Bencidina, 11
Berberina, sulfato de, 94
Betanaftilamina, 11
Bilharziasis, 475
Biopsias
  de piel, 540
  transbronquiales, 272
Blastoma pulmonar, 319
Blastomicosis
  norteamericana, 298
  sudamericana, 298
Bloque celular
  generalidades, 409
  para derrames, 409
Borde nuclear, engrosamiento e irregularidad, 34
Broncofibroscopio, 271
  flexible, 271
Bronquiectasia folicular infecciosa, 315
Bronquíolo, 274
Bronquios
  adenoma, 322
  carcinoide, 322
  células epiteliales, hiperplasia atípica, 288
  cepillado, 272
  cilindroma, 324
  citología de raspado selectiva, 271
  curetaje selectivo, 272
Buffer de McIlvaine, 96

C

Calcioesferita de pulmón, 295
Calcitonina, 31
Cáncer. Véase *Carcinoma y órganos individuales*
Candidiasis
  de cuello uterino, 189
  de esófago, 339
Canibalismo, 37, 69
Carbol
  -auramina O, 94
  -tioflavina, 94
    antígeno carcinoembrionario, 99, 102
Carcinoide
  bronquial, 322
  de estómago, 368
  de pulmón, 322
Carcinoma. Véase también *órganos individuales*
  adenopavimentoso de cuello uterino, 219
  apocrino de mama, 258
  bronquiolar, 305
  bronquiolo-alveolar, 305
  combinado, 219, 319
    de cuello uterino, 219
    de pulmón, 319
  cromosomas, 114
  de células
    claras
      cuello uterino, 224
      en derrames, 439
      metástasis en pulmón, 326
      paramesonéfrico, 224
      pulmón, 309, 313
      riñón, 489
      vagina, 225
    en anillo de sello
      de colon, 379
      de estómago, 359
    grandes
      de cuello uterino, 212
      de pulmón, 312
    pequeñas
      de cuello uterino, 212
      de pulmón, 309
      tipificación celular, 72
    renales. Véase *Carcinoma de células claras*
    vidriadas, 211
  de intestino, 337-379
  dual
    de cuello uterino, 219
    de pulmón, 319, 320
  embrionario
    de encéfalo, 402
    de ovario, 432, 437
    en derrames, 432
  epidermoide
    de cuello uterino, 211
    de esófago, 339
    de estómago, 360
    de mama, 258
    de piel, 547
    de pulmón, 301-304
    del tracto urinario, 486
    en derrames, 428
    tipificación celular, 68

extrauterino, 222
gástrico
con derrame, 429
incipiente, 10, 356
gigantocelular
de cuello uterino, 212
de pulmón, 312
in situ
de cuello uterino, 204-209
citología, 207
histología, 205, 206
de pulmón, 321
del tracto urinario, 482
indiferenciado
células malignas en la tipificación, 72
de estómago, 359
mamario, 326
clasificación de la OMS, 258
metastásico
de encéfalo, 392
de ganglios linfáticos, 542
de pulmón, 324
microinvasor de cuello uterino, 211
mucoepidermoide
de cuello uterino, 219
de pulmón, 324
papilífero de urotelio, grado I, 480
quístico adenoideo. Véase *Cistadenocarcinoma*
Carcinosarcoma
de pulmón, 319
de útero, 234
Cariólisis, 65
Cariopicnosis, 65
Carioplasma, 19
Cariorrexis, 65, 291
Catéter de Metras, 272
Cavidad(es)
corporales. Véase *Derrames*
oral, carcinoma, 8
CCP (ciliocitoftoria), 291
CEA (antígeno carcinoembrionario), 99, 102
Célula(s)
acantolítica, 545
adenocarcinomatosas tubulares en los derrames, 427
alteraciones
degenerativas, 65
por radiación, 83
alveolares. Véase *Epitelio de la superficie alveolar*
tipos I y II, 274
Apud, 30
argentafines del estómago, 346
B. Véase *Linfocitos B*
basales
de cuello uterino, 165
de pulmón, 280
caliciformes
de intestino, 375
de pulmón, 280
centelleantes en la orina, 495
ciliadas de pulmón, 275
columnares, ciliadas
de endocérvix, 166
de pulmón, 275
concentración en el esputo, 7, 268
coroideas, 389
de Clara, 274
de Hodgkin, 523
de inclusión en neoplasias malignas, 37
de Kulchitsky, 31, 309
de Reed-Sternberg, 523
de reparación, 355
de reserva, hiperplasia, 182
de revestimiento superficial del estómago, 344
de von Hansemann, 495
de zimógeno (células principales), 344
de la piaracnoides, 389
de la vérnix caseosa en el cuello uterino, 178
del centro germinativo, 510
delatora, 188
displásicas multinucleadas que simulan malignidad, 54
en anillo de sello en derrames, 432
en cilindros urinarios, 465
en cometa del tracto urinario, 495
en llama, en el mieloma múltiple, 532
en señuelo en la orina, 495
endocervicales, 166
ciliadas, 166
protrusiones nudosas, 165
secretorias, 166
endometriales, 168
endoteliales, 510
ependimarias en el encéfalo, 389
epiteliales de los túbulos renales, 464, 470
epitelioides
de cuello uterino, 192
de pulmón, 293
espinosas
hiperplasia, 337
trastorno, 542
espumosas de la mama, 245
estructura
aparato de Golgi, 22
carioplasma, 19
centrosoma, 23
citoplasma, 20
cuerpo nuclear, 19
envoltura nuclear, 18
lisosoma, 22
microcorpúsculo, 22
mitocondrias, 20
núcleo, 18, 19
nucléolo, 19
paraplasma, 23
retículo endoplasmático, 22
extragástricas del estómago, 346
gigantes
de Langhans, 55
en el útero, 192
en el pulmón, 293
que simulan malignidad, 55
osteoclásticas, 56
que simulan malignidad, 56
por cuerpo extraño, 56
tipo Touton, 54, 56
que simulan malignidad, 54, 56
glandulares
malignas en la vejiga urinaria, 487
pilóricas de estómago, 346
inflamatorias
de cuello uterino, 185
en derrames, 421
intermedias, 164
leucémicas
en derrames, 443
en líquido cefalorraquídeo, 394
malignas, tipificación
epidermoides, 68-71
glandulares, 66, 67
indiferenciadas, 72, 73, 360
grandes, 72
pequeñas, 72, 73
interpretación general, 66
mucinosas cervicales de estómago, 346
muestreador, 162
multinucleadas
de endometrio, 169
de Langhans, 55
de pulmón, 292, 293
de urotelio, 470
displásicas, 54, 56
en cambios que simulan malignidad, 53
en histiocitos por cuerpo extraño, 55
en infección herpética, 55
en neoplasias malignas, 34, 54
epiteliales, 55
de pulmón, 292
histiocitarias
de endometrio, 169
de pulmón, 293
osteoclásticas, 56
posirradiación, 56
tipo Touton, 56
naviculares, 165, 177
nerviosas, 391
parabasales, 165
parietales de estómago, 346
precursoras basófilas, 510
principales del estómago, 346
tipo
A, 62, 274
alveolar, 274
en alteraciones degenerativas, 62
B, 62, 274
alveolar, 274
en alteraciones degenerativas, 62
transicionales
carcinoma de, avanzado, 482
del tracto urinario, 470
tumorales, diferenciación
inducción experimental, 43
por irradiación, 90
Celularidad mixta en la enfermedad de Hodgkin, 520
Centrifugación
derrames, 409
líquido cefalorraquídeo, 386
orina, 461
Centríolo, 23, 25
Centroblasto, 510
Centrómera, 107
Centrosoma, 23, 24
Cepillado
bajo control TV, 272
bronquial, 271
esofágico, 335
gástrico, 341
Cepillo rotatorio, técnica para estómago, 341
Cerebro. Véase *Encéfalo*
Cervicitis
folicular, 231
linfocitaria crónica, 230
Ciclo(s)
hormonales
en el cuello uterino, 170, 173, 174, 177
en el endometrio, 170
en el posparto, 177
en la menopausia, 173
en la niña, 174
en la recién nacida, 174
en la vagina, 172, 173
índices, 172, 173
mitótico, 24
Cilias, 41
Cilindro(s)
biliares, 468
celulares, 465
céreos, 470
de bilirrubina, 468
eritrocitarios en la orina, 468
formación en la orina, 464
granulosos, 468
hialinos, 464
leucocitario, 465
melánico, 468
mielomatosos, 465
proteináceo, 464
urinarios, clasificación, 465
Cilindroma
bronquial, 322
de pulmón, 322
Ciliocitoftoria de pulmón, 288
Cinta Scotch, método de la, para muestrear la piel, 540, 542
Cirrosis hepática con ascitis, 425
Cistadenocarcinoma
de cuello uterino, 219
de pulmón, 324
Cistosarcoma filoides de mama, 256
Citocromo oxidasa, 21
Citofluorometría, 98
Citollpina H, 99
Citología
cutánea, aspectos generales, 541
de raspado
bronquial, 271, 280
selectiva, 271
versus citología del esputo, 280
endoscópica, 271
para colon, 373
para cuello uterino, 161
para pulmón, 271
versus citología del esputo, 280
oncológica. Véanse los capítulos específicos
cavidades corporales, 10
colon, 10
encéfalo, 12
esófago, 8
estómago, 8
mama, 5
oral, 8
ovario, 5
páncreas, 10
pulmón, 6
tracto
genital masculino, 12
urinario, 11
útero, 3
prostática, 498
urinaria
deshidrogenasa láctica, 497
en trabajadores de anilinas, 477
Citoplasma, estructura de las células, 20
Clasificación
de Broder para carcinoma genitourinario, 477
de la OMS para carcinoma mamario, 258
del cáncer vesical, 477
diagnóstica
de Papanicolaou, 60
en lesiones fronterizas, 61

Clasificación (*cont.*)
informe citológico, 60
displasia, 194
linfoma maligno, 513, 515
sarcoma uterino, 232
Clonorchis sinensis, 376
Cloroacetato esterasa, 511
Cloroquina, 98
Coadyuvante de Freund, 100
Colangiografía, 373
Colchicina, 107
efecto de, 26
Colitis ulcerativa crónica, 376
Colon, 373-379
carcinoma
con derrame, 429
lineamientos generales, 10
células epiteliales, 375
componentes celulares benignos, 375
histología, 373
raspado endoscópico, 373
Coloración anormal de la orina, 460
Colpomicroscopia para carcinoma *in situ* de cuello uterino, 206
Compartimientos de los ganglios linfáticos, 507
Complejo colorante-nucleico, 94
Componente granular del nucléolo, 20
Concreciones calcáreas
de cuello uterino, 192
de pulmón, 294
en derrames, 434
Condiloma acuminado de cuello uterino, 203
Condroblastoma de hueso, 558
Condrosarcoma de hueso, 556
Conferencia de Chicago, nomenclatura de cromosomas, 110
Conjugados
absorción, 101
de colorante fluorescente, 101
polvo de tejidos, 101
purificación, 100
Cono de presión, 12
Contaminantes del cuello uterino, 193
Conteo de Addis, 464
Cordoma, 406
Coristoma, 406
Cornificación citohormonal, 117
Craneofaringioma, 406
Crestas mitocondriales, 20
Criocirugía, células reparadoras después, 51
Criptococosis
de encéfalo, 388
de pulmón, 297
método de la tinta china, 388
Crisis de rechazo, 497
Cristales
de colesterol, 105
de Charcot-Leyden en pulmón, 296
Criterios
de Hauser para carcinoma ulcerado, 352
de malignidad
directos, 32
indirectos, 37
Cromatides, aberraciones, 83
Cromatina, 57
gruesa aglomerada en células malignas, 34
nucleoloasociada, 19, 20
sexual. Véase *Cromatina X*
trama de, 57
X, 119
anexos nucleares, 125
anómala en neoplasias malignas, 35
configuración, 119
determinación, 122
en células cancerosas, 124, 125
en hermafroditismo, 121
en intersexo endocrino, 121
en inversiones sexuales, 121
feminización testicular, 121
síndrome
de Klinefelter, 121, 122
de Turner, 121
en supermujer, 122
prueba, significación, 120
recuentos, 125
técnicas, 122, 123
Y, 127
configuración, 127
determinación, 127
en células cancerosas, 130
prueba, evaluación, 127
significación, 127
técnica, 127
Cromocentro, 19
Cromonemas, 19
Cromosomas
aberraciones, 83
anormalidades autosómicas, 113
anticuerpos fluorescentes para, 103
aplicaciones clínicas
anormalidades autosómicas, 113-117
leucemia, 114-117
macroglobulinemia, 117
neoplasias malignas, 114
atraso, 36
bandeado
C, 113
G, 110
Q, 110
R, 113
en el síndrome
de Down, 113
de Patau, 113
de trisomía E, 114
en la leucemia, 114
en neoplasias malignas, 114
Filadelfia, 114
humanos, 107
identificación, 107-113
marcadores, 34, 114
microscopia fluorescente, 103
polares, 27, 36
técnicas
análisis directo, 117, 118
aplastamiento, 117
ASG, 112
cultivos de sangre periférica, 118
W, 117
Cuello uterino
alternaria, 189
amibiasis, 192
aspergilosis, 189
cambios hormonales
cíclicos, 170
en el embarazo, 177
en el posparto, 177
en la lactancia, 174
en la menopausia, 173
en la niñez, 174
carcinoma
adenocarcinoma, 215-219
combinado, 219
de células
claras, 224
grandes, 213
pequeñas, 213
vidriosas, 212
epidermoide, 211
exámenes en masa, 3
extrauterino, 222
in situ
citología, 209, 210
colpomicroscopia, 206
colposcopia, 205
concepto, 205
histología, 207, 208
lineamientos generales, 3
microinvasor, 212
mucoepidermoide, 220
tumor del seno endodérmico, 224
carencia de ácido fólico, 185
componentes benignos, células
basales, 165
endocervicales, 166
histiocitos, 169
naviculares, 165
parabasales, 165
pavimentosas, 164
contaminantes
polen, 193
polvo de almidón, 193
cuerpos psamomatosos, 192
disfunción hormonal
hiperactividad de progesterona, 176
hiperandrogenismo, 176
hiperestrogenismo, 174
hipoestrogenismo, 175
enteroblasis, 192
flora vaginal, 188
hiperplasia de células de reserva, 182
histología, 163
índices citológicos hormonales, 172
infección por herpesvirus, 190
infestación por *Leptothrix*, 188
inflamaciones, 185
lesiones fronterizas
atipia coilocitósica, 194
clasificación, 193
condiloma acuminado, 202
displasia, 196
en el embarazo, 201
posirradiación, 200
leucoplasia, 203
melanoma maligno, 230
metaplasia pavimentosa, 182
moniliasis, 189
preparación de extendidos
autorraspaje, 162
del fondo vaginal, 161
extendido VCE, 161
irrigación, 161
raspado, 161
reparación del tejido, 180
tricomoniasis, 189
sarcoma, 232
tuberculosis, 192
vaginitis por *Haemophilus*, 188
vérnix caseosa, 178
Cuerpo(s)
amiláceos de pulmón, 295
de amianto en el pulmón, 295
de Barr, 119
de inclusión citoplasmáticos, 493
de Michaelis-Guttmann, 494
de mielina, 22
de Negri, 389
de Russell, 445, 532
ferruginosos, 296
nuclear, 19
psamomatosos. Véase *Concreción calcárea*
redondos, 546
residuales, 22
X. Véase *Cromatina X*
Y. Véase *Cromatina Y*
Culdocentesis, 5
Curetaje bronquial selectivo, 271

D

dbc-AMP, 43
Débil III en la subclasificación de Papanicolaou, 6
Degeneración celular
células A y B, 62
digestión con tripsina, 65
etapa terminal, 65
permeabilidad para el azul trípano, 65
viabilidad, 65
Dermatitis herpetiforme, 542
Dermatocitología, método de inmunofluorescencia 540
Dermis, lesiones en citología cutánea, 551
Derrame(s)
aspecto macroscópico, 411
benignos, componentes
células, 415, 421
inflamatorias, 421
mesoteliales, 415
linfocitos, 421
macrófagos, 412
carcinoide, 452
carcinoma
colónico, 429
gástrico, 429
generalidades, 10
mamario, 440
ovárico, 432
pulmonar, 439
células en anillo de sello, 422
cirrosis hepática, 425
eosinofilia, 424
exudados, 411
hepatoma, 443
histología del mesotelio, 412
inflamatorios
no supurados, 425
supurados, 425
linfoma maligno, 443
malignos
adenocarcinoma, 427
carcinoma epidermoide, 428
generalidades, 10, 427
mesotelioma maligno, 448
mieloma múltiple, 444
por insuficiencia cardíaca congestiva, 427
preparación, métodos
bloque celular, 409
centrifugación, 409
filtración con membrana, 409
tinción para LDH, 419
trasudados, 411
tuberculosos, 425
Desdiferenciación celular

características bioquímicas, 43
concepto, 42
Determinación citoquímica de subunidades de LDH, 131
Diátesis tumoral, 37
Dibutiril adenosina-3', 5'-monofosfato (dbc-AMP), 43
Dicrocoelium dendriticum, 376
Dietilestilbestrol, 5
Diferenciación
celular, 40
definición, 40
en la matriz citoplasmática, 40
inducción, 43
sexual, 121
Digestión enzimática del esputo, 268
Discariosis
concepto, 48
endocervical, 215
Discrasia plasmocitaria, 102
Disfunción hormonal, 174, 175
Disgenesia gonadal, 121, 175
Disgerminoma
de ovario, 432
de pulmón, 314
Displasia
de cuello uterino
clasificación, 194-202
en el embarazo, 202
leve, 196
metaplásica, 200
moderada, 198
posirradiación, 200
severa, 198
queratinizante, 200
Disproteinemia en el linfoma maligno, 519
Disqueratosis, 49
División multipolar en la mitosis anormal, 27
DNA (ácido desoxirribonucleico)
contenido, 37
estructura, 19, 24
fijación de fluorocromo, 98
pararrosanilina-Feulgen para, 97
tiempo de síntesis, 24
DOC, fracción mitocondrial soluble en, 99
Duodeno, células epiteliales, 373

E

EA (eosina-azur), 79
Echinococcus granulosus, 299
Efecto
colchicínico, 26
de Jost, 121
Embarazo, 176, 177
displasia, 202
de término, 177
Empalizadas nucleares en el líquido cefalorraquídeo, 391
Emulsificación mecánica del esputo, 268
Encéfalo (sistema nervioso central)
adenoma hipofisario, 402
aspiración, 387
astrocitos, 389
carcinoma metastásico, 392
células
ependimarias, 389
nerviosas, 391
piaracnoideas, 389
cordoma, 406
craneofaringioma, 406
criptococosis, 388
empalizadas nucleares, 391
filtración con membrana, 386
glioma
aspecto general, 396
astroblastoma, 398
ependimoma, 401
espongioblastoma, 398
glioblastoma, 396
meduloblastoma, 401
oligodendroglioma, 401
proliferación endotelial, 392
líquido cefalorraquídeo
aspecto macroscópico, 388
centrifugación, 386
componentes celulares benignos, 388
recuentos celulares, 389
técnica de sedimentación, 386
macrófagos, 391
melanosis neurocutánea, 407
meningioma, 404
metástasis, frecuencia, 392
método de la tinta china, 388
microglia, 389
neurinoma, 405
oligodentrocitos, 389
Paragonimiasis westermani, 408
pinealoma, 401
quiste dermoide, 406
retinoblastoma, 408
rosetas verdaderas, 391
seudorroseta(s), 391
perivascular, 391
"Sonnenstäubchen" en, 388
técnica
de aplastamiento, 387
de sedimentación, 386
tumores, perfil estructural, 391
Endometrio
adenocarcinoma, 226
aspiración, 4, 162
cambios hormonales cíclicos, 169, 172
células, 166
componentes celulares benignos
epiteliales, 168
estromales, 168
"éxodo", 168
fenómeno de Arias-Stella, 178
hiperplasia, 226
histología, 163
preparación de extendidos, 162, 163
sarcoma estromal, 234
tumores coriónicos, 179, 180
Enemas de espuma siliconada, 10
Enfermedad
de Bowen, 542, 547
de Darier de la piel, 542, 546
de Hand-Schüller-Christian en los huesos, 533, 560, 562
de Hodgkin
celularidad mixta, 520
de ganglios linfáticos, 520
de pulmón, 315
depleción linfocitaria, 520
etapa clínica, 520
predominio linfocitario, 520
de Letterer-Siwe, 533
de huesos, 560, 562
de Ménétrier del estómago, 356
de Paget
cutánea, 542, 549
extramamaria, 549
mamaria, 258
de Simmons, 175
fibroquística de mama, 248
Enlace A-T, 98
Entamoeba histolytica en el colon, 376
Enterobius vermicularis, infestación del cuello uterino, 192
Envoltura nuclear, 18
Enzimas glucolíticas, 131
Eosina-azur, 79
Eosinofilia en los derrames, 424
Ependimoma encefálico, 398
Epidermis, lesión no ampollar, 542
Epitelio
de la superficie alveolar, tipos A y B, 274
glandular, 30
superficial, 29
alveolar, 274
Epitelioma basocelular de la piel, 547
Épulis gigantocelular, 559
Ergatoplasma, 22
Eritrodermia de Sézary, 551
Esclerosis nodular en la enfermedad de Hodgkin, 521
Esofagitis
herpética, 337
ulcerativa, 336
Esófago
candidiasis, 339
carcinoma
adenocarcinoma, 339
epidermoide, 339
generalidades, 8
células malignas, 339
cepillados, 335
componentes celulares benignos, 336
histología, 336
lavados, 335
lesión precancerosa, 336
método de la esponja encapsulada, 335, 336
Especialización
celular anormal, 36
de la matriz citoplasmática, 40
del plasmalema, 40
pérdida, 36
Espirales de Curschmann en el esputo, 294
Espongioblastoma polar, 396
Esponja encapsulada, técnica para esófago, 335
Esputo
citología
detección del cáncer, 267
versus citología de raspados bronquiales, 280
concentración de células, 7, 268
inducido con aerosol, 7, 269
macroscopia, 267
mucoide, 267
sanguinolento, 267
sanguinolento, 267
seroso, 267
Esquistosomiasis
de pulmón, 299
de vejiga urinaria, 477, 493
Estómago
aspiración de jugo gástrico, 340
carcinoide, 368
carcinoma, 429
adenocarcinoma, 358
epidermoide, 367
generalidades, 8
incipiente, aspecto macroscópico, 356
indiferenciado, 359
metastásico, 372
células atípicas benignas
en el pólipo, 355
en la anemia megaloblástica, 355
en la gastritis atrófica crónica, 355
en la reparación, 355
componentes benignos, 344
células
argentafines, 346
cervicales mucosas, 346
de revestimiento superficiales, 344
extragástricas, 346
glandulares pilóricas, 346
parietales, 346
principales, 346
enfermedad de Ménétrier, 356
gastritis atrófica crónica, 350, 355
gastrofibroscopia, 343
Giardia lamblia, 347, 375
globo abrasivo, 341
lavados, 340, 341
leiomioma, 372
leiomiosarcoma, 372
linfoma maligno, 368
páncreas heterotópico, 372
plasmocitoma, 371
pólipo, 354, 355
pronóstico en relación con el tipo de carcinoma, 368
úlcera péptica, 352
xantoma, 354
Estrato
córneo, trastornos, 542, 546
granuloso de la epidermis, trastornos, 547
Estrógenos, hiperactividad, 174, 175
Estroma endometrial
citología, 168
sarcoma, 234
État mamelonné, 350
Etidio, bromuro de, 98
Eucromatina, 19
Exámenes
en masa para carcinoma
cervical, 3
pulmonar, 267
vesical, 11
preliminares
citología del esputo, 267
nucléolo, 57
observación práctica, 57, 58
para carcinoma
cervical, 3, 4
vesical, 11
para células cancerosas
citoplasma, 58
cromatina, 57
núcleo, forma y tamaño, 57
rasgos celulares, 57
pasos, 58, 59
Exocitosis de la piel, 546
"Éxodo" de células endometriales, 168
Extendidos, 74
coloreados con Papanicolaou, 78
de derrames, 409-411
de endometrio, 162, 163
de esófago, 335-366
de estómago, 340-343

Extendidos (*cont.*)
de ganglios linfáticos, 306
de intestino, 373
de mama, 243, 244
de orina, 460-462
de piel, 540
de sistema nervioso central, 386
del tracto
genital femenino, 161-163
respiratorio, 267-274
fijación, 77
fijadores, 78
instrumentos, 74
técnicas de preparación
bloque celular, 76
extendido directo, 74
filtración con membrana, 75
VCE, 161
de cuello uterino, 161
Exudados, 411

F

Fagocitosis en derrames, 419
Fagosoma, 22
Fase
menstrual, 172
proliferativa en los cambios citológicos cíclicos, 171
secretoria, 172
Feminización testicular, cromatina X, 121
Fenómeno de Arias-Stella en el endometrio, 178
Ferroproteína, 103
Fetuína, 101
Fibras elásticas en el pulmón, 296
Fibroadenoma mamario, 256
Fijación
generalidades, 77
para el método de Papanicolaou, 78
preparación de los extendidos, 74
revestimiento fijador, 78
Fijador de revestimiento para preparar extendidos, 78
Filtración con membrana
de derrames, 409
de líquido cefalorraquídeo, 386
generalidades, 75
Filtro
barrera para técnica fluorescente, 96
excitatorio para técnica fluorescente, 96
Fitohemaglutinina, 512
Fluorescencia con tetraciclina, 98
Fluorocromo en la fijación al DNA, 98
Fondo de saco, método de aspiración, 5
Fosfatasa
ácida, isoenzima de, 138
alcalina
en el hígado, 137
en el intestino, 137
en la leucemia mielocítica crónica, 134
en los huesos, 137
isoenzima, 134
Frondas papilares en la orina, 480
FSH (hormona foliculoestimulante), 170
Fuerte III en la subclasificación de Papanicolaou, 60
Fuerza de Van der Waal, 95
Fumadores, cáncer dual, 320

G

Ganglios linfáticos
carcinoma metastásico, 523
compartimientos, 507
componentes benignos
células
epiteliales, 510
población, 510
precursoras basófilas, 510
linfoblastos, 510
linfocitos, 508
plasmocitos, 510
prolinfocitos, 509
reticulocitos, 510
hiperplasia, linforreticular inespecífica, 532
granuloma de células epiteliales, 524
identificación de linfocitos
B, 510
T, 511
leucemia, 525-529
de células en cepillo, 528
linfática aguda (LLA), 525
linfadenopatía
angioinmunoblástica, 531
inmunoblástica, 514, 531
linfoblastos, 510
linfoma, 513. Véase también *Linfoma maligno*
extraganglionar, 522
metástasis carcinomatosas, 523
mieloma, 532
población celular, 510
región medular, 508
reticulosis medular histiocitaria, 521
sarcoma inmunoblástico, 517
síndrome de Sézary, 528
timoma, 534
trasformación blástica, 512
Gastrina, 31
Gastritis atrófica crónica, 350, 355
Gastrofibroscopia, 8, 343
Germinoblasto, 510
Germinoma, 402
Giardia lamblia
de estómago, 348, 375
de intestino, 375
Ginecomastia, 258
Glándula mamaria. Véase *Mama*
Glioblastoma
mixto, 398
multiforme, 396, 398
Globo abrasivo para estómago, 341
Glucagón, 30
Glucocorticoides, 47
Glucoesfingolípidos, 99
Glucósido digitálico, 174
Gonadotrofina(s), 31
coriónica humana, 102
Gota, 542
Gránulo(s)
argirófilo, 31
de Palade, 22
Granuloma
bacteriano, 542
de células
epiteliales de ganglios linfáticos, 524
epitelioides, 524
eosinófilo de huesos, 560
no infecciosos, 542

H

HCG (gonadotrofina coriónica humana), 102
Hematíes en orina, 474
Hematoxilina
alumbre de Harries, 79
de Gill, 79
Hematuria, 474
Hepatoma, 101
alfa fetoproteína, 101
con derrame, 443
desviación mínima, 41
metástasis a pulmón, 326
Herpes
simple, 542
infección
células multinucleadas, 55
de cuello uterino, 191
de esófago, 337
de piel, 542, 544
de pulmón, 292
tipo 2, 5
zoster de la piel, 544
Heterocromatina, 19, 34
Heterocromatización X, 125
Hidatidosis de pulmón, 299
Hidrolasa ácida, 22
5-Hidroxitriptamina, 31
5-Hidroxitriptófano, 31
Hígado
carcinoma
con derrame, 443
metástasis pulmonares, 327
cirrosis con derrame, 427
Hipercromatismo en neoplasias malignas, 33
Hipernefroma, 489
Hiperplasia
alteraciones que simulan malignidad, 50
basocelular de pulmón, 282
de células
de reserva del cuello uterino, 182
espinosas, 337
endometrial, 226
linforreticular inespecífica, 532
Histiocito(s). Véase también *Macrófago*
alveolar, 280
mononucleares, 169
multinucleares, 169
pulmonar, 293
Histiocitosis
maligna, 521
X, 533
de huesos, 560
Hoechst 33258, 98
Homogenización del esputo, 268
Hormona(s)
adrenocorticotrópica, 31
antidiurética, 31
ectópicas, 102
foliculoestimulante, 170
tiroestimulante, 31
Huesos
condroblastoma, 558
condrosarcoma, 556
enfermedad
de Hand-Schüller-Christian, 562
de Letterer-Siwe, 562
granuloma eosinófilo, 560
histiocitosis X, 560
osteosarcoma, 556
quiste aneurismático, 559
rabdomiosarcoma, 559
sarcoma osteógeno, 556
tumor
de médula ósea, 560
gigantocelular, 558
Huevos de distoma hepático, 375

I

Ictiosis dominante congénita, 542, 547
Imagen
en burbujas de jabón en el osteoclastoma, 558
en cruz de Malta, 459
en fila india en el carcinoma *in situ*, 209
en guante de receptor de béisbol, 513
Inactivación X, 125
Inclusiones
adenovirus en pulmón, 293
basófilas, 494
citomegalovirus
en estómago, 339
en orina, 490
en pulmón, 292
citoplasmática
del tracto urinario, 493
en orina, 494
eosinófilas, 291
en pulmón, 291
poliomavirus, en orina, 494
Índice(s)
cariopicnótico en el cuadro citohormonal, 172
centromérico, 107
citohormonal, 172
citológicos en citología hormonal, 172
de hacinamiento en el cuadro citohormonal, 172
de maduración en el cuadro citohormonal, 172
de plegamientos en el cuadro citohormonal, 172
discariótico, 198
eosinófilo en el cuadro citohormonal, 172
mitótico, 28
Inducción experimental de diferenciación de células tumorales, 43
Infección(es)
citomegaloviral
estómago, 339
pulmón, 292
riñón, 493
micóticas
aspergilosis, 189
candidiasis, 189
profundas, 542
viral, alteraciones, 53
Inflamación
no supurada con derrame, 425
supurada con derrame, 425
Informe citodiagnóstico, clasificación, 60
Infundibuloma, 406
Injerto renal
perfil citológico, 497
rechazo crónico, 496
Inmunosupresión después del injerto renal, 497
Inmunosupresivos para lesiones uterinas, 203
Insuficiencia cardíaca congestiva, derrame, 427
Insulina, 30
Intersexo endocrino, 121
Intestino
aspiración endoscópica, 373
carcinoma, 377-379
células malignas, tipificación, 376
colitis ulcerativa crónica, 376
componentes benignos, células
caliciformes, 375
epitelio

biliar, 375
colónico, 375
duodenal, 375
Entamoeba histolytica, 376
Giardia lamblia, 375
grueso. Véase *Colon*
histología, 373
huevos de distoma hepático, 376
lavados colónicos, 373
método de la secreción de pancreozimina, 373
pólipo adenomatoso, 376
Irradiación. Véase también *Radiación*
multinucleación que simula malignidad, 56
X, efecto tardío, 90
Irrigación para extendidos
de cuello uterino, 4, 161
de vías urinarias, 461
Islotes de Langerhans, 30
Isoenzimas
de aldolasa, 131
de deshidrogenasa láctica (LDH), 132
de fosfatasa
ácida, 138
alcalina, 134
de Nagao, 134
de Regan, 134, 137
de tipo fetal, 43
fetales, 43
prostáticas, 138

J

"Jaagsiekte" de pulmón, 307
jugo gástrico, aspiración, 340

K

Kanalipina, 99

L

Lactato deshidrogenasa. Véase *LDH*
Larvas
filariformes, 299
rabditoides, 299
Lavado(s)
a chorro para citología cervical, 4
colónico, 373
de esófago, 335
de estómago, 340, 341
de intestino, 373
gástricos, 8, 340
Lavador de chorro de Gravlee, 162
LDH (lactato, deshidrogenasa)
determinación citoquímica, 131
en citología urinaria, 498
en derrames, 419
relación M/H, 131
subunidad A, B, H, M, 131
técnica de tinción, 132
Leiomioma de estómago, 372
Leiomiosarcoma de estómago, 372
Leishmaniasis, 542
Lengua, leucoplasia, 548
Lentigo, 550
Lepra, 542
lepromatosa, 551
Leptothrix, infestación del cuello uterino, 188
Lesión(es)
ampollar, 542
en sacabocado de huesos, 560
epidérmica no ampollar, 542
fronterizas
de cuello uterino, 193, 194
generalidades, 61
cromosomas, 114
Ph', 114
de células en cepillo, 528
linfática
aguda
de ganglios linfáticos, 525
en derrames, 443
en el líquido cerebral, 394
crónica
de ganglios linfáticos, 525
en derrames, 443
mielocítica crónica (LMC), fosfatasa alcalina, 134
Ph' negativa, 114
Leucocitos, lóbulo menor, 125
Leucoparaqueratosis de cuello uterino, 204
Leucoplasia
de cuello uterino, 203
de lengua, 548
LH (hormona luteinizante), 31, 170
Línea precursora de células malignas, 114
Linfadenopatía
angioinmunoblástica, 531
infecciosa, 524
inmunoblástica, 514, 531
Linfocito(s)
B, 509
características comparativas, 509
identificación, 510
linfoma de, 514
población de, 510
clivados pequeños en el linfoma, 514
depleción en la enfermedad de Hodgkin, 520
en derrames, 421
no clivado, 514
plasmocitoide, 514
-T, 509
características, 509
identificación en los ganglios linfáticos, 511
linfoma de, 514
marcador citoquímico, 511
población en los líquidos corporales, 422
Linfocitoma cutáneo, 542
Linfoma
de la niñez, 526
extraganglionar, 522
histiocitario, 444
maligno. Véase también *Leucemia linfática aguda, Enfermedad de Hodgkin*, etc.
bien diferenciado, 518
clasificación, 513, 515
concepto, 513
con disproteinemia, 519
cutáneo, 551
de Burkitt, 517
de células
B, 514
primordiales, 517
T, 514
de estómago, 368
de ganglios linfáticos, 513
de Hodgkin, 520
de piel, 551
de pulmón, 315
versus seudolinfoma, 315
de riñón, 489
del tracto genital femenino, 231
en derrames, 444
en la niñez, 525
linfoblástico, 518
no Hodgkin, 542
poco diferenciado, 517
sarcoma inmunoblástico, 517
Linfosarcoma
linfoblástico, 518
linfocítico, 518
versus seudolinfoma, 315
Lipofagocito, 280, 293
Líquido
cefalorraquídeo. Véase también *Encéfalo, Líquido cefalorraquídeo*
de Carnoy, 78
de Gendre, 78
prostático, 461
quiliforme, 411
quiloso, 411
Lisosoma, 22
Litiasis urinaria, 476
LLA. Véase *Leucemia linfocítica aguda*
Lóbulo accesorio de los leucocitos, 125

M

Macrófagos
dendríticos, 510
en derrames, 412
en el esputo, 280
cargados de
hemosiderina, 293
melanina, 293
pigmento biliar, 293
en el líquido cefalorraquídeo, 391
Macroglobulinemia, 116
Malacoplaquia del tracto urinario, 494
Malato deshidrogenasa, 22
Malignidad
cambios que la simulan, 50-56
en células
gigantes, 54-56
de Langhans, 55
por cuerpo extraño, 55
que simulan osteoclastos, 56
tipo Touton, 54, 56
multinucleadas, 53, 55
en el sincitio trofoblasto, 56
en infecciones virales, 53
en la hiperplasia, 50
en la infección
herpética, 55
por poliomavirus, 494
en la metaplasia, 52, 53
en la multinucleación, 53-56
displásica, 54
posirradiación, 56
en la proliferación inflamatoria, 50
en la reparación textural (regeneración), 50
criterios
directos, 32
indirectos, 37
diátesis tumoral, 37
gran cantidad de histiocitos cargados de GRS y hemosiderina, 37
cromosomas, 114
en aglomeraciones de células
apareadas, 36
de distribución irregular, 36
de inclusión, 36
en células individuales
aglomeración de cromatina, 34
agrandamiento nuclear, 32
aumento de la relación nuclear-citoplasmática, 32
cromatina sexual anormal, 34
engrosamiento del borde nuclear, 34
especialización anormal, 36
hipercromatismo, 33
mayor tamaño y cantidad de nucléolos, 34
multilobulación, 34
multinucleación, 34
pérdida de la especialización, 36
variación de tamaño y forma, 36
Malignolipina, 99
Mama
adenoma, 256
carcinoma(s)
adenocarcinoma, 258
apocrino, 258
clasificación de la OMS, 258
derrames, 440
enfermedad de Paget, 258
epidermoide, 258
lineamientos generales, 5
metástasis en el pulmón, 326
cistosarcoma filoides, 256
componentes benignos, células
epiteliales, 246
espumosas, 246
pavimentosas, 248
enfermedad fibroquística, 252
fibroadenoma, 256
ginecomastia, 258
histología, 245
impresiones citológicas, 244
mastitis
aguda, 248
plasmocitaria, 248
papiloma intracanalicular, 253
punción aspiradora, 243
Mastitis aguda, 248
Mastopatía fibroquística, 252
Matriz citoplasmática, especialización, 40
Mazas pequeñas como anexos nucleares, 125
Meduloblastoma encefálico, 401
Melanoma
células en el esputo, 328
de cuello uterino, 230
de piel, 550
meníngeo, 407
pagetoide, 550
Melanosis neurocutánea, 407
Membrana filtrante
para derrames, 409
para líquido cefalorraquídeo, 386
Menarquia, 174
Meningioma, 404
Menopausia, 173
hacinada, 173
Mesodermo, tumor mixto, 234
Mesonefroma, 224
Mesotelio
células, 415, 419
generalidades, 29
histología, 412
Mesotelioma maligno, derrame con, 448
Metacromasia, 94
Metafase, 26
hueca, 36

Metaplasia
cambios que simulan malignidad, 52
intestinal, 350
pavimentosa
atípica, 286
de cuello uterino, 182
de pulmón, 282
atípica, 286
regular, 286
regular, 286
Metástasis
a encéfalo, 391
a estómago, 372
a ganglios linfáticos, 523
a piel, 542
a pulmón, 326
Método
de Berthalangly en citología fluorescente, 96
de Dart y Turner en la fluorescencia con naranja de acridina, 96
del contacto incisional, 542
del globo abrasivo para el estómago, 341
lavado colónico, 373
Micosis
fungoides, 542, 551
profunda, 542
Microcuerpos, 22
Microglia, 389
Micropapilomatosis de pulmón, 288
Microscopia
contrastada de interferencia diferencial, 105
en análisis de orina, 462
generalidades, 105
de contraste de fase, 105
fluorescente, 94-104
alfa-fetoproteína y hepatoma, 101
análisis cromosómico, 104
anticuerpos inmunofluorescentes, 99
antígeno carcinoembrionario, 102
cánceres que producen hormonas ectópicas, 102
equipos y técnica, 96
estado actual, 97-99
inmunofluorescencia, 99-104
naranja de acridina, 94-96
plasmocitos neoplásicos y proteína M, 103
preparación del antisuero, 100
rastreo con hendidura, 98
reacción de Feulgen, 96, 97
tinción
supravital, 96
vital, 96
Mieloma múltiple
de ganglios linfáticos, 532
de huesos, 560
en derrames, 444
forma
inmadura, 532
madura, 532
Millipore. Véase *Filtración con membrana*
Mitocondrias, 20
fracción soluble en DOC, 99
Mitosis
anormales, 26, 36, 208
división multipolar, 27, 36
no disyunción, 26
normal
anafase, 26
metafase, 26
profase, 24
tetrapolar, 27
tiempo
precariocinético, 24
presintético, 24
tripolar, 27, 28
Mitramicina, 98
Molusco contagioso de la piel, 544
Moniliasis. Véase *Candidiasis*
Mortalidad, tasa ajustada por la edad, 13-17
Mostaza quinacrínica, 110
MSH (hormona melanocitoestimulante), 31
Muerte en interfase, 83
Muestreador Curity-Isaacs, 162

N

Naranja
de acridina
principios, 94
técnica, 96, 462
tinción supravital, 96
G, 79
Nefroblastoma, 489
Nefrón, 464
Negro Sudán B, tinción, para derrames, 419
Neoplasias malignas intraorales, sobrevida a los 5 años, 8
Neumaturia, 460
Neumonía, *Pneumocystis carinii*, 292
Neurinoma, 405
Neuronas, 389
No disyunción en la mitosis anormal, 26
Nódulo sésil, 125
Núcleo
agrandamiento en las neoplasias malignas, 36
anexos
filiformes, 125
lóbulos accesorios, 125
nódulos sésiles, 125
pequeñas mazas, 125
borde, irregularidad y engrosamiento, 34
determinación del sexo, 120
empalizadas en células del líquido cefalorraquídeo, 391
envoltura, 18
estructura, 18
excrecencia filiforme, 125
forma, 57
poro, 18
tamaño, 57
Nucléolo(s)
aumento de tamaño y número en neoplasias malignas, 34
componente
fibrilar, 20
granular, 20
en exámenes preliminares, 58
estructura, 19
parte amorfa, 20
Nuclepore, 75

O

Oligodendrocitos, 389
Oligodendroglioma, 401
Opisthorchis viverrini, 376
Organizador nucleolar, 20, 118
Orina
aspecto macroscópico, 460
células centelleantes, 495
color anormal, 460
LDH, 498
recolección, 460
sedimento, 463
tres vasos, 460
turbiedad, 460
Osteoblastoma, 559
Osteoclastoma, 558
Osteoclastos, 56
Osteosarcoma, 556, 559
Ovario
carcinoma, 432
derrame, 432
generalidades, 5
tumores específicos, 432
Oxiuris vermicularis, 192

P

Palillos de tambor en los cromosomas, 122
Paludismo en sangre, 534
Páncreas
carcinoma, 10, 373
heterotópico, 372
Pancreozimina
secreción, 10
-secretina, 10, 372
Papaverina, 43
Papiloma
grado 0 de urotelio, 480
plexiforme de encéfalo, 401
Paracoccidioides brasiliensis, 298
Paracortical del ganglio linfático, 506
Paragonimiasis
de pulmón, 298
encefálica, 408
Paragranuloma, 520
Paraplasma, 23
Pararrosanilina-Feulgen DNA, 97
Parathormona, 31
Parte amorfa del nucléolo, 20
PAS (ácido peryódico de Schiff), tinción, 82
en derrames, 419
Penachos, 291
Pénfigo
anticuerpos, 542
vegetante, 542
vulgar, 542, 545
Perla maligna, 69
Peroxidasa en los derrames, 419
Pezón, secreción, 243
PHA (fitohemaglutinina), 512
PHT (parathormona), 31
Piaracnoides, células, 389
Picnosis, 291
Piel
carcinoma
basocelular, 547
enfermedad
de Bowen, 547
de Paget, 549
espinocelular, 547
componentes benignos, 541
enfermedad de Darier, 546
histología, 541
infecciones virales, 542-544
herpes
simple, 542
zoster, 544
molusco contagioso, 544
inmunofluorescencia, 541
linfomas, 551
melanoma
lentigo, 550
maligno, 550
pagetoide, 550
pénfigo vulgar, 545
preparación de extendidos
biopsia superficial, 540
con cinta Scotch, 540
psoriasis, 546
Pigmentación del epitelio bronquial, 292
Pilas de monedas, 103
Pinealoma, 401
Pineoblastoma, 402
Pinosoma, 22
Piruvato cinasa K, 43
Placenta, isoenzimas, 137
Plasmalema, especialización, 40
Plasmocitoma de estómago, 371
Plasmocitos
de ganglios linfáticos, 510
de la mastitis, 248
Pleocitosis, 388
Pneumocystis carinii, 292, 299
neumonía por, 292
Población de los ganglios linfáticos, 510
Polen en el cuello uterino, 192
Poliomavirus, 493, 494
Pólipo
adenomatoso de intestino, 376
gástrico, 354
Polisiloxano, elastómero, 10
Posparto, citología, 177
Precáncer de esófago, 336
Precornificación en el cuadro citohormonal, 177
Preparado húmedo, 78
Primulina, 94
Profase, 24
invertida, 26
relación con la metafase, 28
Progesterona, hiperactividad de, en el cuello uterino, 176
Proliferación endotelial en el encéfalo, 392
Prolinfocitos en ganglios linfáticos, 509
Pronóstico del carcinoma gástrico en relación con el tipo, 367
Propidio, yoduro de, 98
Próstata
citología, 498
isoenzima, 138
líquido, 461
masaje, 498
punción aspiradora, 462
Proteína M en microscopia fluorescente, 102
Protozoarios, 542
Protrusiones en nudos, células endocervicales, 165
Prueba
de la banda luposa, 541
para cromatina
X, significación, 120
y, evaluación, 127
de Tzanck, 545
Psoriasis vulgar, 542, 546
Pulmón
alteraciones por radiación, 327
biopsia transbronquial, 272
blastoma embrionario, 319
blastomicosis, 298
bronquiectasia folicular infecciosa, 315
calcoesferitas, 295
cáncer. Véase *Pulmón, carcinoma*
dual, 319
candidiasis, 297
carcinoide, 322

carcinoma, 300-314
adenocarcinoma, 304, 306
bronquioloalveolar, 305
con derrame, 400
de células
claras, 313
grandes, 312
pequeñas, 309
epidermoide, 300
gigantocelular, 312
in situ, 321
lineamientos generales, 6
metastásico, 324
tipificación celular, 299
células
epitelioides, 293
gigantes de Langhans, 293
"Pap", 286
cepillado
bronquial, 271
TV, 272
cilindroma, 324
ciliocitoftoria, 291
cistadenocarcinoma, 324
citología del esputo versus citología del raspado, 282
componentes benignos, 275
células
basales, 280
caliciformes, 280
pavimentosas, 280
profundas, 280
fagocitos alveolares. Véase *Macrófagos*
histiocitos. Véase *Macrófagos*
macrófagos, 280, 293
concreción calcárea, 294
criptococosis, 297
cristales de Charcot-Leyden, 296
cuerpos
amiláceos, 295
de amianto, 295
psamomatosos, 285
espirales de Curschmann en el esputo, 294
esputo
concentración celular, 268
observación macroscópica, 267
recolección, 267
esquistosomiasis, 299
fagocitos alveolares, 280
fibras elásticas, 296
hidatidosis, 299
hiperplasia
atípica bronquial y bronquiolar, 286
basocelular, 282
histiocitos, 280, 293
histología, 274
infección adenoviral, 292
linfoma maligno, 315
versus enfermedad de Hodgkin, 315
versus seudolinfoma, 315
material proteináceo, 296
metaplasia pavimentosa, 282
método de Saccomanno, 268
multinucleación, 292
neumonitis citomegaloviral, 292
paragonimiasis, 298
pigmentación, 292
punción aspiradora, 7, 273
raspado broncoscópico, citología, 271
sarcoma, 324
Strongyloides stercoralis, 299
sustancia fibrinoide, 294
técnica de la punción aspiradora, 7, 273
traqueobronquitis herpética, 292
tumorcillo, 324
Punción aspiradora
fondo de saco, 5
ganglios linfáticos, 506
mama, 234
piel, 542
próstata, 462, 498
pulmón, 7, 273
transrectal, 499

Q

Queratosis senil, 547
Quimiotripsina, solución, 341, 361
Quinacrina, 96
dihidrocloruro de, 110
mostaza, 110
Quiste
dermoide, 406
óseo aneurismático, 559

R

Rabdomiosarcoma, 559
Rabia, 388
Radiación, alteraciones
celulares
concepto general, 83
diferenciación tumoral, 90
efecto tardío, 90
en pulmón, 327
posradioterapia, 89
respuesta, 88
sensibilización, 88
sobre células
malignas, 83
normales, cambios
agudos, 83
persistentes, 83
Radiorresistencia, 88
Radiosensibilidad, 87
Raspado
cervical, extendidos, 161
endoscópico, 373
Raspador de madera de Ayre, 161
Rastreo con hendidura en microscopia fluorescente, 98
Reacción
ácido peryódico de Schiff, 82
de la ninhidrina-Schiff, 98
nuclear de Feulgen, 81
Receptores sanos de trasplantes, 496
Rechazo
agudo de injertos renales, 496
crisis, 497
crónico, 496
de injertos renales, 496
hiperagudo, 496
Regeneración (reparación hística) que simula malignidad, 50, 355
Región cortical de ganglios linfáticos, 506
Relación
brazo largo/brazo corto en análisis cromosómico, 107
FDP/F-1-P, 131
metafase-profase, 27
nuclear-citoplasmática (N/C), 33
aumentada, 33
nucleolar-nuclear, 34
Reparación
células de, 355
úlcera péptica crónica, 352
Respuesta de sensibilización (RS) en radioterapia, 88
Reticulosis
aleucémica, 521
maligna, 521
medular histiocitaria de ganglios linfáticos, 521
Retinoblastoma, 408
Reversión antigénica, 102
Ribete
en cepillo, 41
estriado del epitelio intestinal, 41
Ribosomas, 22
Riñón. Véase también *Cilindros, Tracto urinario*, etc.
carcinoma de células renales, 489
células del epitelio tubular, 464, 470
cilindros, 464
citología oncológica, 11, 477
histología, 470
infección viral, 493
nefroblastoma, 489
nefrón, 464
rechazo de aloinjertos, 496
tumor(es)
de Wilms, 489
malignos, 477
Rivanol, 94
Rosetas
E, 511
EAC, 511
en el glioma, 401
Homer Wright, 391
seudorrosetas, 391
verdaderas, 391
RR (respuesta de radiación), 88

S

Sarcoide cutáneo, 551
Sarcoidosis cutánea, 542, 551
Sarcoma
de cuello uterino, 232
de Ewing, 560
de ganglios linfáticos, 517, 520
de pulmón, 324
de vejiga, 489
estromal de endometrio, 234
inmunoblástico, 517
mixto, 398
osteógeno, 556, 559
Schistosoma haematobium, 477, 493
Schwannoma, 405
Secreción hormonal cíclica, 169
Sedimentación para líquido cefalorraquídeo, 386
Sedimento urinario, valores normales, 463
Seminoma, 437
Seudolinfoma, 368, 542
versus linfosarcoma, 315
Seudoqueratosis, 48
Seudorroseta en encéfalo, 391
Sexo
inversiones, cromatina X, 121
nuclear, 120
Sífilis terciaria granulomatosa, 551
Síndrome
de Cushing, 324
de Down, 113
de Edward, 113
de Klinefelter, cromatina X, 121
de Patau, 113
de Sézary, de ganglios linfáticos, 528, 542
de Sheehan, 175
de Stein-Leventhal, 175
de Turner, 121
Sistema
Kova para análisis de orina, 463
nervioso central. Véase *Encéfalo*
Sobrevidas a los 5 años
cáncer gástrico incipiente, 10
neoplasias malignas intraorales, 8
Solución
de formol-Ringer, 75
de papaína, 341
pretratamiento, 461
Sonda de Levin, 340
"Sonnenstäubchen" del líquido cefalorraquídeo, 388
Strongyloides stercoralis de pulmón, 299
Subunidad
H de LDH, 131
M de LDH, 131
Supermujer, cromatina X, 122
Sustancias fibroides en el pulmón, 253

T

Técnica
ASG para el análisis cromosómico, 112
de la esponja encapsulada para esófago, 335
del secado al aire para el análisis cromosómico, 117
Tejidos, reparación
de cuello uterino, 180
en alteraciones que simulan malignidad, 50
Teleatrofia, 173
Telofase, 26
Teofilina, 43
Teoría aeróbica y anaeróbica, 131
Teratoma
de epífisis, 402
maligno sólido, 432
quístico, 432
de ovario, 432
Tesaurocito, 532
Tetraciclina, fluorescencia, 98
Tiempo
precariocinético de la mitosis, 24
presintético de la mitosis, 24
Timoma de ganglios linfáticos, 534
Tinción
Ag-As, 429
azul alciano, 82
con mucicarmín, 419
con tionina, 123
con yodo para vías urinarias, 462
dalia acética, 118
de Giemsa, 80
de Gomori, 280
de Guard, 123
de May-Grünwald-Giemsa, 80
de Papanicolaou, 78
de Shorr, 82
de Sternheimer-Malbin para tracto urinario, 46
hematoxilina y eosina, 80
negro Sudán B para derrames, 419
supravital con
azul brillante de cresilo, 81
azul de toluidina, 80
azul trípano, 65

Tinción (*cont.*)
eosina, 63
naranja de acridina, 94, 96, 462
rojo neutro, 63, 81, 419
Sternheimer-Malbin, 462
vital, fluorescencia, 96
Tinta china, método para criptococosis, 388
Tipo citolítico en el embarazo, 177
Tofos gotosos, 542
Torula histolytica. Véase *Criptococosis*
TPT (trifeniltetrazolio), 429
Tracto
biliar
células epiteliales, 375
citología, 373
genital femenino, 161
respiratorio. Véase *Pulmón*
urinario
carcinoma, 477
clasificación, 477
de células
renales, 489
transicionales, 479, 482
epidermoide, 486
exámenes en masa, 11
generalidades, 11
in situ, 482
células atípicas benignas
en la litiasis urinaria, 476
en la tuberculosis, 476
citología
del rechazo de aloinjertos, 496
prostática, 499
componentes benignos, células
del epitelio tubular, 464, 470
multinucleadas, 470
pavimentosas, 471
transicionales, 470
hematuria, 474
histología, 470
inclusiones
citomegálicas, 493
citoplasmáticas, 494
linfoma maligno, 489
líquido prostático, 461
malacoplaquia, 494
nefroblastoma, 489
tricomonas, 475
tumor de Williams, 489
Transformación blástica de linfocitos, 511
Traqueobronquitis herpética, 292
Trasplantes, citología renal, 496
Trasudados, 411
Tricomoniasis
cuello uterino, 189
urinaria, 475
Trifeniltetrazolio, reacción, 429
Tripsina, digestión con, 65, 110
Trisomía
21, 113
D, síndrome de, 113
E, síndrome de, 114
TSH (hormona tiroestimulante), 31
Tuberculosis
de cuello uterino, 192
de piel, 542, 551
de riñón, 476
en derrames, 425
Tumor
coriónico de endometrio, 178, 180
de células de la granulosa, 432
de Grawitz, 489
del seno entodérmico en el cuello uterino, 224
gigantocelular de hueso, 558, 559
mesodérmico mixto, 234
mesonéfrico, 438
mixto mülleriano, 232
primario de encéfalo, incidencia, 395
Tumorcillo de pulmón, 324
Turbiedad de la orina, 411, 460

U

Úlcera
carcinomatosa, criterios de Hauser, 352
péptica de estómago, 352
Unión pavimentosocolumnar, 182
Uraco, adenocarcinoma de, 487
Útero. Véase *Cuello uterino*

V

Vagina
adenosis, 5
cambios hormonales, 170, 173
disfunción hormonal, 174, 175
extendido de las secreciones, 161
flora, 188
histología, 164
índices cíclicos, 172
Vaginitis por Haemophilus, 188
Varicela, 542
Vejiga. Véase *Tracto urinario*
Verde Janus-rojo neutro, 64, 65
Vías urinarias. Véase *Tracto urinario*
Vitamina A, deficiencia, 174

X

Xantoma de estómago, 354

Y

Yodo, tinción para vías urinarias, 462

Z

Zona
paracortical del ganglio linfático, 506
SAT en la telofase, 26