

Libros de **Cátedra**

Citología en caninos y felinos

Herramientas para la interpretación diagnóstica

Mariana Alejandra Machuca, Adriana Raquel Massone
y María Alejandra Quiroga

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS

**EduLP**
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

CITOLOGÍA EN CANINOS Y FELINOS

HERRAMIENTAS PARA LA INTERPRETACIÓN DIAGNÓSTICA

Mariana Alejandra Machuca
Adriana Raquel Massone
María Alejandra Quiroga

Facultad de Ciencias Veterinarias



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EduLP
EDITORIAL DE LA UNLP

Este libro está dedicado a la Dra. María Cecilia Castellano y al Dr. Julio Idiart, profesores de nuestra Facultad, quienes emprendieron un largo camino para el desarrollo y la difusión de la Citología como herramienta diagnóstica. Ellos supieron guiarnos a través de sus conocimientos, excelente labor y dedicación. No nos olvidamos los buenos momentos de las experiencias compartidas.

A ellos que nos han enseñado tanto ¡gracias!

María Cecilia Castellano sigue presente en nuestros corazones a través de las innumerables anécdotas que nos llenan de alegría y nostalgia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a las histotecnólogas Carolina Aralda, Analía Catucci, y Lorena Díaz y a los técnicos Cecilio “Quique” Castro, Paulo Castro, Oscar Cáceres, Yamila Cáceres y Franco Molfesa, del Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, cuya labor ha contribuido a la realización de este libro.

También deseamos expresar nuestro más profundo agradecimiento a los colegas de nuestra Facultad y de la actividad privada por confiar en nosotros y ser la fuente de esta valiosa información que hoy estamos compartiendo con ustedes.

“Ninguna cadena es más fuerte que el más débil de sus eslabones”

Índice

Introducción	8
Capítulo 1	
Citología: obtención, preparación y envío de muestras	10
<i>María Cecilia Castellano[†], Luciano Casas y Ana Guzmán Loza</i>	
Capítulo 2	
Evaluación microscópica general del preparado citológico	17
<i>María Alejandra Quiroga, Mariana Machuca, Nicolás Guido y Adriana Massone</i>	
Capítulo 3	
Tinción de preparados citológicos	20
<i>María Alejandra Quiroga, Mariana Machuca</i>	
Capítulo 4	
Descripción e interpretación general de células inflamatorias y neoplásicas	31
<i>Adriana Massone, María Alejandra Quiroga y Mariana Machuca</i>	
Capítulo 5	
Identificación de agentes infecciosos	41
<i>Adriana Massone</i>	
Capítulo 6	
Estudio citológico de la piel	56
<i>Mariana Machuca, Luciano Casas y Adriana Massone</i>	
Capítulo 7	
Estudio citológico de los linfonódulos	86
<i>Ana Guzmán Loza, María Cecilia Castellano[†] y Adriana Massone</i>	

Capítulo 8

Estudio citológico de la cavidad nasal _____ 100

Gonzalo Madariaga y Sebastián Iveli

Capítulo 9

Estudio citológico de las cavidades oral y orofaríngea _____ 108

Nicolás Guido, Sebastián Iveli, Natalia Caggiano y Mariana Machuca

Capítulo 10

Estudio citológico del sistema urinario _____ 115

Mariana Machuca y Alicia del Amo

Capítulo 11

Estudio citológico de la glándula mamaria _____ 119

Gonzalo Madariaga

Capítulo 12

Estudio citológico de la tiroides _____ 123

Gonzalo Madariaga

Capítulo 13

Estudio citológico del sistema musculoesquelético _____ 129

Natalia Caggiano, María Alejandra Quiroga, Adriana Massone y Mariana Machuca

Capítulo 14

Estudio citológico del aparato genital femenino _____ 147

María Alejandra Stornelli y María Cecilia Stornelli

Capítulo 15

Estudio citológico del aparato genital masculino _____ 171

María Alejandra Stornelli y María Cecilia Stornelli

Capítulo 16

Estudio citológico de los fluidos torácico, abdominal y pericárdico _____ 180

Natalia Caggiano, Alicia del Amo y Mariana Machuca

Capítulo 17

Estudio citológico de la médula ósea _____ 209

Lorena Fontana y Romina Pretti

Capítulo 18

Inmunocitoquímica _____ 215

Carolina Aspitia, Mariana Machuca y Adriana Massone

Autores _____ 226

Introducción

La citología es una de las muchas ramas de la Biología cuya finalidad es el estudio morfológico y funcional de la célula. El diagnóstico, en Patología, es un juicio establecido sobre la naturaleza de la enfermedad. Entonces la Citología diagnóstica es una herramienta de gran utilidad en el complejo proceso del diagnóstico.

Para hacer un poco de historia, recordamos a Papanicolaou, un apellido muy conocido mundialmente y asociado a un método utilizado en Ginecología, desde hace 80 años. Desde que George Papanicolaou, en 1941, descubrió un método de coloración para el diagnóstico de afecciones del cuello uterino y para la búsqueda de células cancerosas en esputos, lavados bronquiales y gástricos, la Citología comenzó a recorrer, en sus inicios, un lento camino, para luego ser reconocida y aplicada en medicina humana y veterinaria.

En la década del 70 se publicaron los primeros trabajos sobre esta disciplina aplicada a la medicina veterinaria. La Facultad de Veterinaria de la Universidad de California Davis, fue pionera en el uso de la biopsia por punción aspiración con aguja fina en Medicina Veterinaria, y según algunos autores esta ciencia ha evolucionado como una extensión de la hematología. Los doctores Cowell y Tyler fueron autores en 1979 de un libro para el diagnóstico citológico del perro y el gato, del que ya se han publicado cinco ediciones, siendo la última en 2020.

Uno de sus grandes impulsores, en EE. UU., fue el Prof. "Bernie" Feldman, quien, en 1984, dictó el Primer Curso de Citología Clínica en Medicina Veterinaria, en Buenos Aires, al que asistió el grupo de docentes de la Cátedra de Patología Especial de la FCV, UNLP. Con el manual de dicho curso y los cientos de copias de las diapositivas que generosamente nos cedió, comenzamos en nuestra Facultad a incursionar en esta apasionante especialidad con los colorantes que nos hiciera llegar el Dr. Guillermo Couto, muy conocido por los colegas dedicados a la Clínica de Pequeños Animales.

Con la incorporación de la Citología al Servicio de Anatomía Patológica, los jóvenes docentes alcanzaron un óptimo entrenamiento, en estrecha relación con algunos profesionales de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales y, también, de la práctica privada.

Surgió así, una creciente demanda, no solamente de nuestros servicios mediante el uso de este método rápido, simple, económico y fácilmente aplicable a la práctica clínica en nuestro medio, sino, también, de cursos y otras actividades educativas de posgrado.

Nuestro primer curso para graduados sobre Citología Diagnóstica en Pequeños Animales se concretó en el año 2002. En ese momento se conformó nuestro grupo de trabajo integrado por docentes de Patología Especial Veterinaria y Clínica de Pequeños Animales. Hoy muchos de

nosotros somos los autores de este libro, pero no podemos dejar de participar en esta edición a la Dra. María Cecilia Castellano, Profesora de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales, FCV UNLP. La Dra. Castellano fue nuestra maestra, docente y guía en esta aventura compartida de implementar una nueva técnica diagnóstica hace más de dos décadas. Es por ello que van a ver su nombre como autora en algunos de nuestros capítulos, porque aunque hace tiempo que no está con nosotros, sus enseñanzas siguen hoy vigentes en cada uno de los autores de este libro. Desde entonces se realizaron, hasta 2022, más de 20 cursos y, además, muchas otras actividades y conferencias en facultades de veterinaria de Argentina y otros países de América Latina, como así también en numerosas asociaciones profesionales de nuestro país.

En 1993, junto con el cambio de nombre de la asignatura, Patología Especial, fueron incorporados algunos contenidos en el nuevo programa, con el objeto de darlos a conocer e interesar a los estudiantes de grado en este tema.

Este libro surge, entonces, de la necesidad de brindar a nuestros estudiantes, y a disciplinas afines, un material de consulta que resume nuestra experiencia y hace público parte del material que hemos registrado y documentado en estos, apenas, 35 años.

Es nuestro deseo que el mismo resulte también de utilidad para los numerosos colegas que, a diario, brindan sus servicios a la comunidad, en la compleja y no siempre bien reconocida especialidad de la Clínica de Pequeños Animales.

CAPÍTULO 1

Citología: obtención, preparación y envío de muestras

María Cecilia Castellano[†], Luciano Casas y Ana Guzmán Loza

La evaluación citológica de diversos órganos, tejidos y fluidos puede contribuir a la definición del diagnóstico y a la formulación del pronóstico. Sin embargo, sus resultados deben ser siempre interpretados en el contexto de cada caso clínico (Meinkoth 2020 y Meyer 2016).

El caudal de información que puede reunirse mediante el examen citológico depende, en gran medida, de la calidad del material estudiado. Es por ello, que la obtención y la preparación de las muestras son procedimientos para los que el clínico debe estar adecuadamente entrenado.

Técnicas de muestreo

Existen distintas modalidades para la toma de muestras para citología. La selección de las mismas depende del tipo y de la localización de la lesión o del órgano en estudio (Meinkoth 2020, Meyer 2016).

Punción aspiración con aguja fina

La punción aspiración con aguja fina (PAAF) puede utilizarse para tomar muestras de masas en localizaciones diversas, de linfonódulos y de órganos internos. La preparación de la zona consiste en rasurado y antisepsia. Si fuera a realizarse la aspiración en una cavidad corporal (torácica, peritoneal, etc.) la zona debe prepararse como para cirugía. Se sujeta firmemente la masa u órgano en estudio, se introduce en el mismo una aguja seca 22-25 g; se la desplaza 7 u 8 veces dentro del mismo, siguiendo un trayecto recto y se la retira. Se llena de aire una jeringa seca, se adosa la misma a la aguja y se expulsa el material contenido en la aguja sobre un portaobjetos limpio, seco y desengrasado. Si no se obtiene material, se introduce la aguja adosada a una jeringa de 10-12 cc y se aspira mientras se desplaza la aguja en distintas direcciones; se deja de aspirar, se desacopla la jeringa de la aguja, se llena de aire la jeringa, se adosa la jeringa a la aguja y se expulsa el material sobre el portaobjetos. Es conveniente realizar varios preparados (Meinkoth 2020).

Punción con aguja fina

La punción con aguja fina (PAF) se debe realizar bajo las mismas condiciones en las que se realiza la aspiración por aguja fina, con la diferencia de que no se debe acoplar una jeringa y aspirar. Esta técnica no puede utilizarse para aspirar masas intratorácicas (Meinkoth 2020).

Raspado

Los raspados pueden ser utilizados para el muestreo de lesiones ulceradas o de la superficie de corte de muestras obtenidas mediante cirugía o en la necropsia. Se utiliza una hoja de bisturí, el borde de un portaobjetos o bien una espátula y se raspa varias veces sobre la superficie previamente secada. El material obtenido se extiende sobre un portaobjetos limpio y desengrasado (Meinkoth 2020).

Hisopado

Esta técnica puede utilizarse para el muestreo del conducto auditivo externo, cavidad nasal, vagina, lesiones ulceradas y de tractos fistulosos. En general se la realiza cuando no puede recurrirse a los otros procedimientos. Se utilizan hisopos estériles de algodón previamente humedecidos con solución fisiológica estéril excepto en aquellos casos en los que la lesión sea muy exudativa. El material obtenido se extiende sobre un portaobjetos haciendo *rodar* suavemente el hisopo sobre su superficie (Meinkoth 2020).

Impronta

Se utiliza en lesiones ulceradas o para tomar muestras a partir de la superficie de corte de material obtenido mediante cirugía o en la necropsia. Se presiona con un portaobjetos sobre la superficie la que, previamente, ha sido secada con un material absorbente (ej.: papel de filtro). Para el muestreo de úlceras es conveniente hacer improntas antes de limpiar la superficie y nuevas improntas luego de la limpieza de la misma. Puede realizarse una o varias improntas sobre un mismo portaobjetos. No obstante, es aconsejable hacer improntas en más de un portaobjetos para la realización de coloraciones especiales si fuera necesario. En general, con esta técnica se obtiene un menor número de células que con el raspado y una mayor contaminación de la muestra que con la AAF (Meinkoth 2020).

Preparación de los extendidos de aspirados de masas sólidas y de linfonódulos

Los extendidos del material obtenido pueden realizarse mediante distintas técnicas. La selección de las mismas depende de las características de la muestra y de las preferencias del operador. Por lo general, en todos los casos, los preparados son secados al aire (Meinkoth 2020).

Técnica de compresión

Se expulsa el aspirado en la parte media de un portaobjetos, se coloca perpendicularmente al primero un segundo portaobjetos sobre el material y se lo desliza suavemente como se indica en la figura 1.1 (Meinkoth 2020).

Una modificación de esta técnica consiste en colocar el segundo portaobjetos perpendicularmente al primero, rotarlo 45° y luego levantarlo (Figura 1.2).

Figura 1.1. Preparación de extendidos mediante la técnica de compresión.

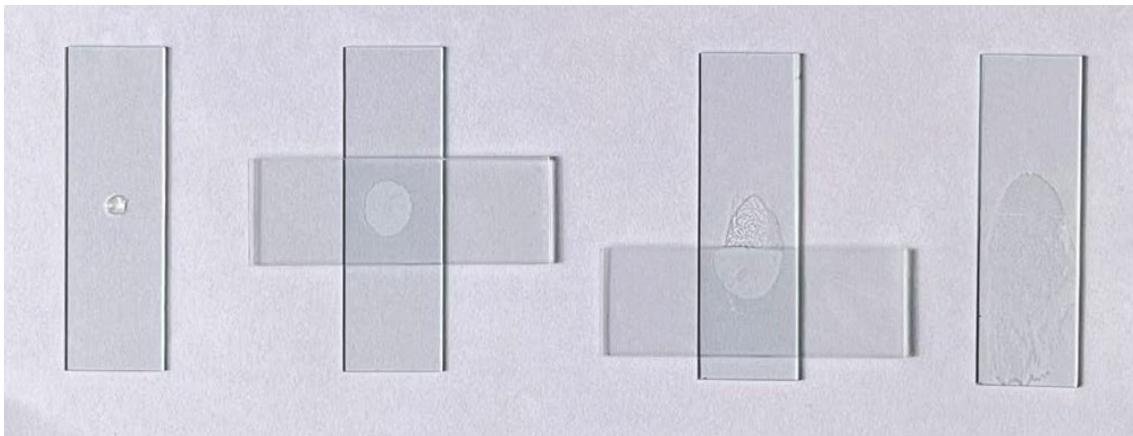
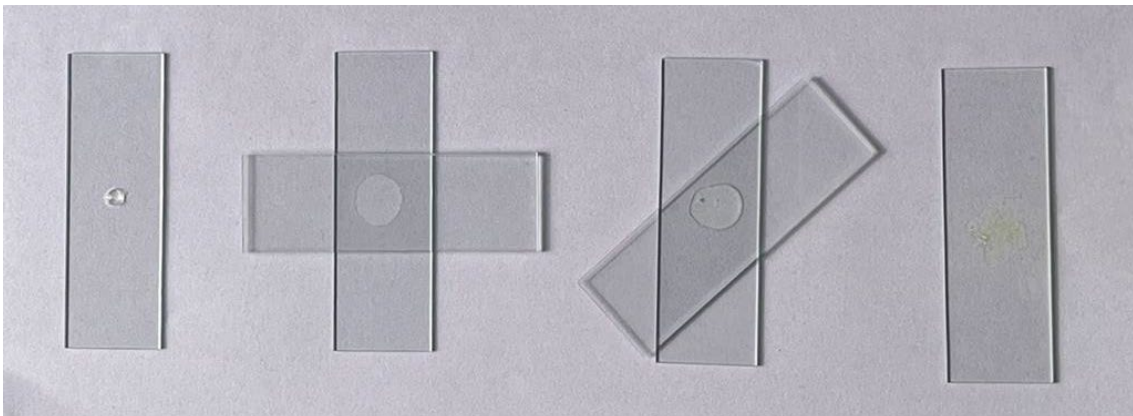


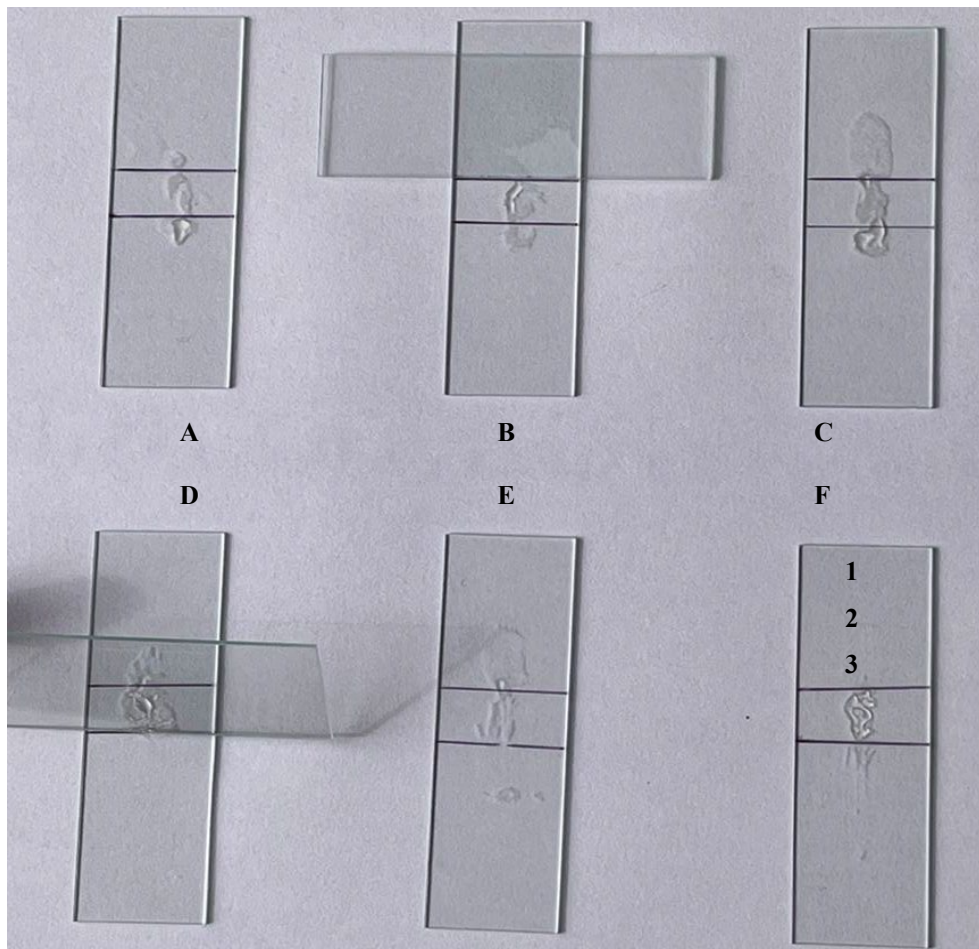
Figura 1.2. Preparación de extendidos mediante la técnica de compresión modificada.



Técnica combinada

Se expulsa el aspirado en la parte media de un portaobjetos limpio (Figura 1.3 A). Se coloca un segundo portaobjetos apoyándolo sobre el primero, de modo tal que un tercio de la muestra quede por debajo (Figura 1.3 B). Se desliza el segundo portaobjetos suavemente hacia el extremo del primero. Queda un extendido por compresión de aproximadamente un tercio del aspirado (Figura 1.3 C). Luego se apoya el borde de un tercer portaobjetos sobre el borde opuesto de la muestra (Figura 1.3 D). Este tercer portaobjetos se desliza suavemente hacia el otro extremo, quedando así un extendido delgado (Figura 1.3 E y F). El tercio medio del aspirado no es extendido y contiene una gran cantidad de células. Si la muestra fuera poco celular, esta porción del preparado resultará la de mayor utilidad (Figura 1.3 F, sector 2). Si el aspirado tuviera un elevado número de células agrupadas, difíciles de extender, probablemente se las reconocerá dentro del sector correspondiente al extendido por compresión (Figura 1.3 F, sector 1). Finalmente, el sector restante del aspirado (Figura 1.3 F, sector 3), extendido en una lámina muy delgada y con una técnica que provoca mínima destrucción celular será, probablemente, el que contenga la mayor cantidad de células intactas por lo que, si las células fuesen muy frágiles, será este sector el que brindará mayor información (Meinkoth 2020).

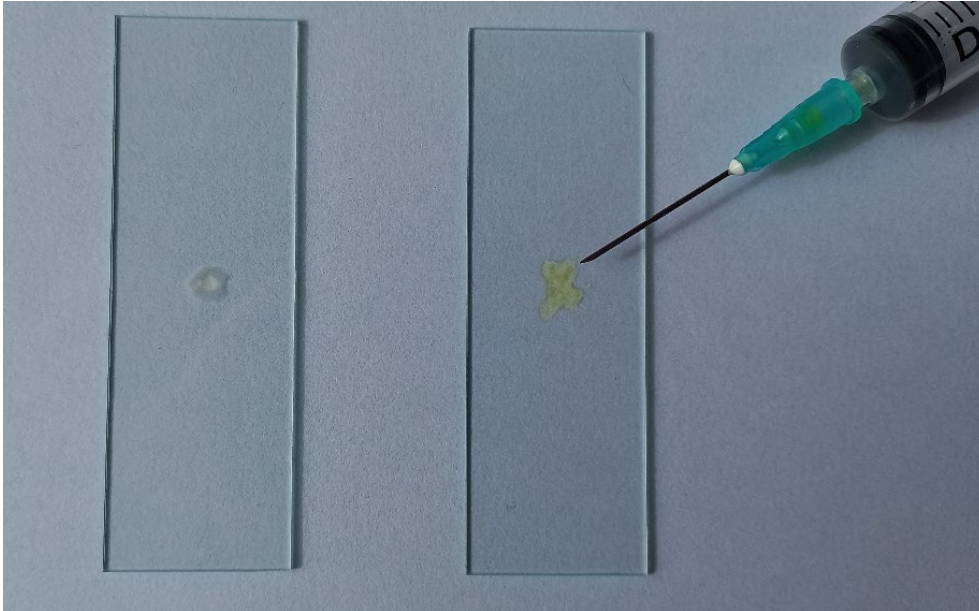
Figura 1.3. Preparación de extendidos mediante la técnica combinada.



Extendido con aguja

El aspirado es expulsado en la parte media del portaobjetos y es distribuido con la punta de la aguja en varias direcciones, en forma centrífuga (Figura 1.4).

Figura 1.4. Preparación de extendidos mediante la técnica con aguja.

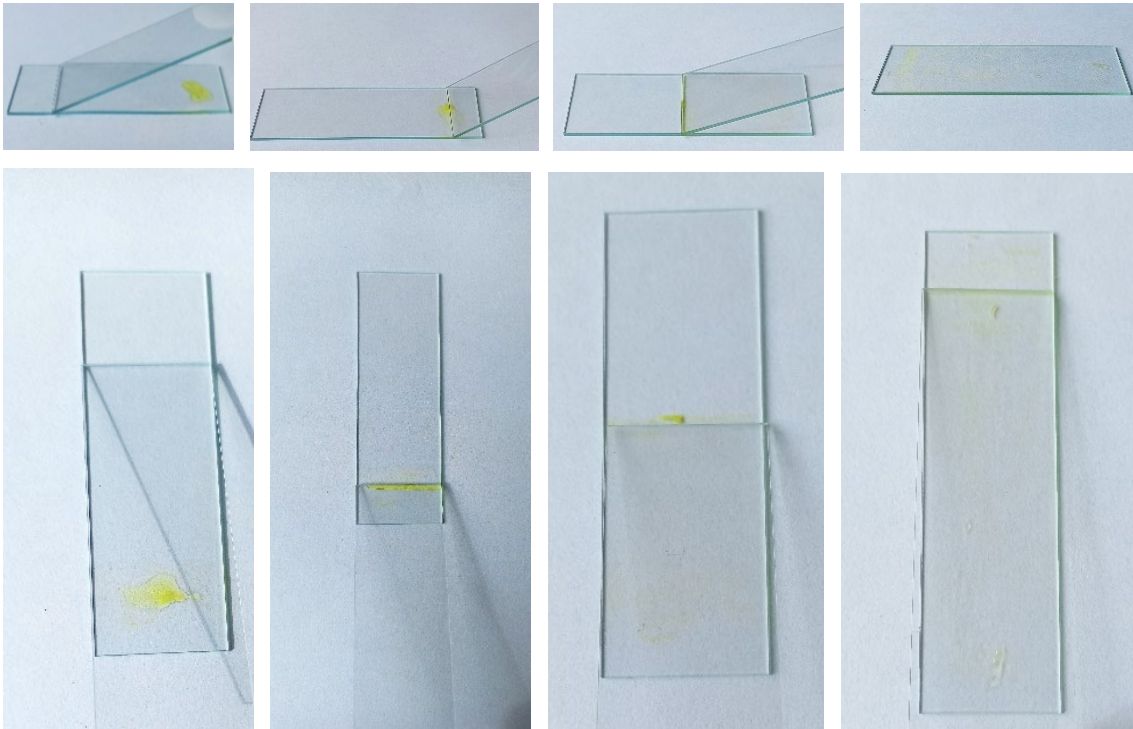


Preparación de los extendidos de aspirados de fluidos

Los extendidos deben realizarse inmediatamente después de haber obtenido la muestra. Pueden realizarse directamente a partir del líquido o a partir del sedimento de la muestra centrifugada. Si el líquido fuera coagulable debe recolectarse en tubos con EDTA. A continuación, se describen las técnicas que pueden utilizarse. A ellas debe agregarse la de compresión antes descrita. Esta última es de utilidad cuando las muestras son viscosas o cuando contienen material particulado (Meinkoth 2020).

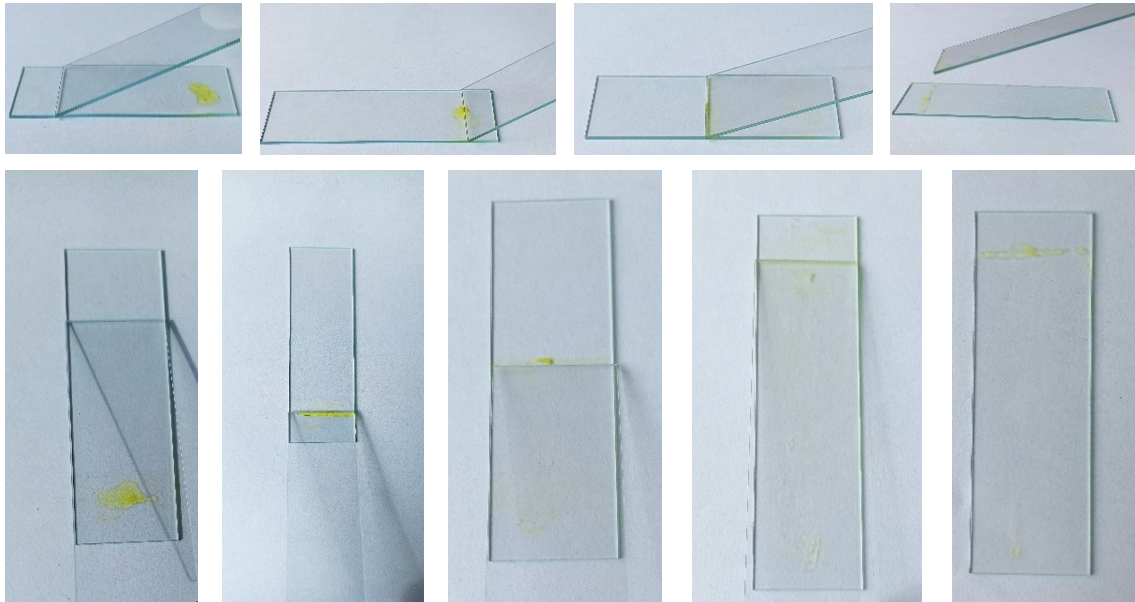
Técnica del frotis sanguíneo

Se coloca una gota del líquido a aproximadamente 1,5 cm del extremo de un portaobjetos. Se coloca un segundo portaobjetos a 45 ° del primero y se pone en contacto su borde con el borde de la gota. Luego se lo desliza suave y rápidamente a lo largo del mismo, de modo tal que el extensor arrastre el líquido (Figura 1.5). El extremo final del frotis adquiere una forma similar a la de una pluma. Con esta técnica suele lograrse una buena distribución de material y resulta útil cuando la muestra es muy celular (líquidos opacos) (Meinkoth 2020).

Figura 1.5. Preparación de extendidos mediante la técnica del frotis sanguíneo.

Técnica de concentración

Se procede en forma similar a la anterior, pero, cuando con el segundo portaobjetos se han recorrido aproximadamente dos tercios de la distancia necesaria para realizar la técnica anterior, se lo levanta (Figura 1.6). De este modo, en el extremo final se produce una concentración de células. Es por ello que esta modalidad es útil cuando la muestra tiene poca o moderada celularidad (líquidos translúcidos), en cuyo caso, es preferible su centrifugación y extendido del sedimento (Meinkoth 2020).

Figura 1.60 Preparación de extendidos mediante la técnica de concentración.

Para lograr una mayor concentración de células presentes en un fluido, se debe centrifugar el mismo, usualmente a 1000-1500 rpm durante 5 minutos. Se separa el sobrenadante y se resuspende el sedimento con unas gotas del mismo. Luego se realizan varios extendidos mediante una o varias de las técnicas descriptas.

Remisión de las muestras

Si las muestras son remitidas a un laboratorio de diagnóstico deben rotularse en un extremo del portaobjetos con un marcador indeleble. No deben colocarse en recipientes que contengan muestras con formol. Deben estar acompañadas por una historia clínica que incluya la reseña del paciente, los antecedentes, hallazgos clínicos, descripción del tejido del que se obtuvo la muestra (localización, tamaño, fijación a tejidos vecinos, etc.) y una lista de diagnósticos diferenciales. Toda esta información resulta imprescindible para interpretar los hallazgos citológicos. De otra manera, sólo se podrá aportar una descripción morfológica (Meinkoth 2020, Meyer 2016).

Referencias

- Meinkoth J, Cowel RL, Tyler RD, Morton RJ. (2020). Sample Collection and Preparation. En Valenciano AC y Cowell RL. *Cowell and Tyler's. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (1-17). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Meyer DJ. (2016). The acquisition and management of cytology specimens. En Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and Feline Cytology, A color atlas and interpretation guide* (1-15). Third edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 2

Evaluación microscópica general del preparado citológico

*María Alejandra Quiroga, Mariana Machuca, Nicolás Guido
y Adriana Massone*

Luego de que el preparado ha sido teñido y secado, la evaluación microscópica comienza utilizando los objetivos de bajo aumento 4X y 10X. De este modo, se determina si todas las áreas están teñidas adecuadamente. Si el preparado ha quedado mal teñido, de ser posible, se repite la tinción. De todos modos, no es necesario que todo el preparado quede adecuadamente teñido. En muchos casos, por ejemplo, en preparados muy gruesos, solo algunas áreas se tiñen bien y resultan suficientes para su evaluación. Además de células, pueden identificarse cristales, cuerpos extraños, parásitos, bacterias y algunos hongos. Para la adecuada evaluación individual y para la comparación de las células se utiliza el objetivo 40X. Si se considera necesario, también se utiliza el objetivo de inmersión, colocando aceite de inmersión sobre el portaobjetos. Esto resulta de utilidad para una mejor observación de microorganismos, de inclusiones y de algunos detalles celulares (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

El examen citológico resulta una herramienta muy útil para el veterinario clínico. Si bien no siempre es posible formular un diagnóstico final, usualmente permite reconocer, en pocos minutos, las características generales del proceso de enfermedad (inflamación, neoplasia, etc.). De este modo posibilita una mejor selección de métodos complementarios (por ejemplo: cultivo, biopsia, radiografía). La evaluación del preparado citológico debería insumir unos pocos minutos. Si los cambios citológicos no son tan evidentes como para arribar rápidamente a un diagnóstico confiable, la/s muestra/s deberían enviarse al laboratorio de patología para su interpretación y, mientras tanto, recurrir a algún procedimiento diagnóstico alternativo (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

La muestra citológica se estudia de acuerdo con los siguientes parámetros:

- Descripción

a) Calidad de la preparación

- 1- Tinción:
 - Indicar la coloración utilizada
 - Observar la intensidad de la tinción y cantidad de colorante

- Determinar la presencia de precipitados (pueden confundirse con bacterias, hongos, parásitos intracelulares)
- 2- Densidad celular: el concepto de densidad celular es muy subjetivo y depende del origen de la muestra. Puede expresarse como escasa, moderada o gran cantidad de células o indicar la cantidad en porcentajes La presencia de elementos de la sangre se consigna en forma separada (ver **d**)
- 3- Células: observar la integridad celular (defectos de fijación, ruptura celular por fallas en la realización de la técnica, autolisis)

b) Población de células mononucleares

- 1- Tipo celular
- 2- Cantidad de células
- 3- Detalle celular (núcleo, citoplasma)
- 4- Organización

Observar si la población es homogénea o heterogénea. Cuando es mixta, describir primero la población más numerosa y luego los otros tipos celulares. Considerar si las células se presentan aisladas o en grupos. En este caso, detallar si existe algún tipo de organización (en racimo, en roseta, en hilera). Comparar una célula con otra (tamaño, forma, relación núcleo citoplasma). Describir las células (detalle nuclear, nucléolo, citoplasma).

c) Población de células polimorfonucleares

Se aplican los mismos criterios de observación que en **b**.

- 1- Tipo celular
- 2- Cantidad de células
- 3- Detalle celular (núcleo, citoplasma)
- 4- Organización

d) Sustancia de fondo

- 1- Eritrocitos
- 2- Proteínas, mucus
- 3- Organismos
- 4- Gránulos, productos secretorios
- 5- Restos celulares

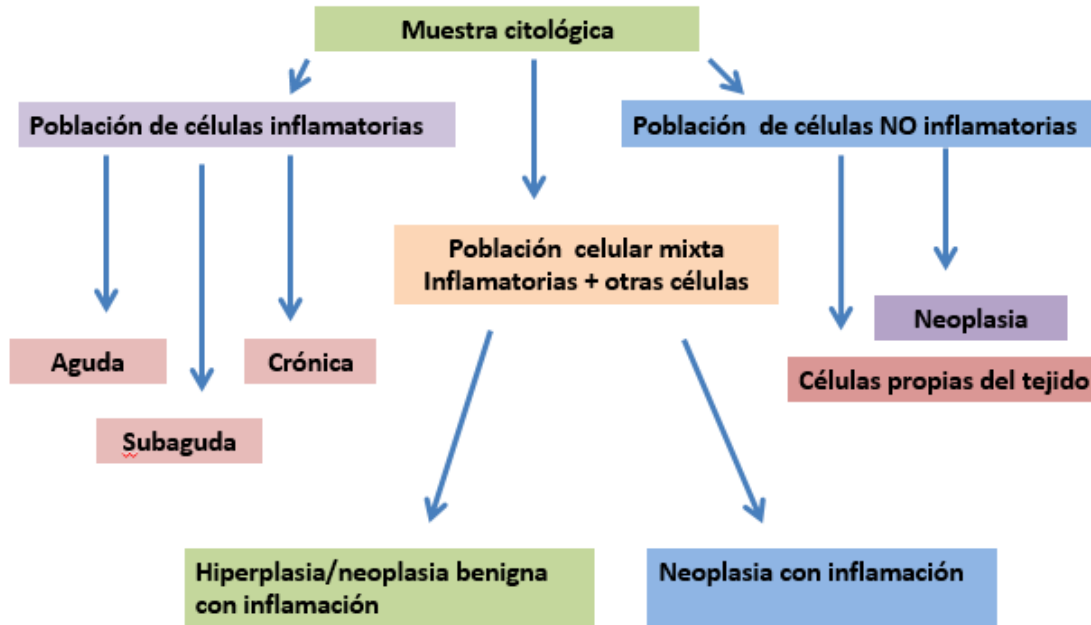
Se debe intentar describir más que asignar un nombre a las sustancias o material forme observados.

- Interpretación

El objetivo principal del examen citológico es definir si la población celular observada presenta características de normalidad, hiperplasia, neoplasia benigna, neoplasia maligna o de respuesta inflamatoria.

Los parámetros a evaluar se consignan en forma esquemática en la figura 2.1.

Figura 2.1. Interpretación de muestras citológicas.



Referencias

- Meinkoth J, Cowell RL, Tyler RD. (2020). Cell Types and Criteria of Malignancy, En Valenciano AC y Cowell RL. *Cowell and Tyler's. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (18-43). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Raskin RE. (2016). General categories of cytologic interpretation. En Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and Feline Cytology, A color atlas and interpretation guide* (16-33). Third edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 3

Tinción de preparados citológicos

María Alejandra Quiroga y Mariana Machuca

La observación a simple vista del preparado citológico antes de su tinción puede brindar algún dato en cuanto a la calidad y características de la muestra. Por ejemplo, frecuentemente el preparado obtenido luego de la aspiración de un lipoma permanece húmedo y evidencia pequeñas gotitas traslúcidas. En ocasiones se aprecia que algunas muestras exhiben un color rojo intenso indicando la presencia de abundante sangre o puede evaluarse que la distribución del material obtenido sobre el portaobjetos ha dado lugar a una capa irregular o gruesa. Independientemente de que podamos registrar algunas características previas, las muestras citológicas para su evaluación microscópica necesitan ser coloreadas.

Tinción de preparados: técnicas básicas en citología

Las tinciones se pueden clasificar como simples y diferenciales. En las tinciones simples se utiliza un único colorante que tiñe la muestra de un solo color. Las tinciones diferenciales se basan en el uso de dos o más colorantes o reactivos complementarios que facilitan la identificación de estructuras celulares diferentes y la diferenciación entre tipos celulares (González Cruz 2019).

Son varias las técnicas que se utilizan para teñir preparados citológicos. La mayoría de ellas corresponden a dos tipos de tinciones: 1- **coloraciones tipo Papanicolaou** y 2- **coloraciones tipo Romanowsky** (Wright, May Grünwald/Giemsa, Diff-Quick, Hemacolor®, Tinción 15®, Color Fast®) (Meinkoth 2020).

Coloraciones tipo Papanicolaou

Este método fue publicado por el Dr. George N. Papanicolaou, considerado el padre de la citopatología, en 1942 y es una tinción citológica rutinariamente utilizada en citopatología humana, principalmente para la evaluación de frotis cervicales, pero también útil para muestras no ginecológicas obtenidas por citología exfoliativa de superficies epiteliales del cuerpo (Dey 2018). Se trata de una tinción policromática que pone en evidencia variaciones en la morfología celular,

permitiendo evaluar el grado de madurez celular y de actividad metabólica. El uso de la tinción de Papanicolaou da como resultado una excelente coloración nuclear (Dey 2018).

No obstante, no colorea muchos microorganismos, y no tiñe bien el citoplasma celular. Por otro lado, es una tinción que cuenta con numerosos pasos, insume un tiempo considerable y los reactivos son difíciles de preparar y conservar. Además, requiere fijación previa de los preparados antes de que el material se seque (fijados húmedos). Usualmente se utilizan fijadores citológicos en aerosol o se sumergen los portaobjetos en etanol 95%, metanol o isopropanol, inmediatamente después de la obtención de la muestra. En este último caso, es conveniente cubrir los portaobjetos (previo a su uso) con una película de albúmina para facilitar la adherencia del material. Dadas estas características es un método de coloración que prácticamente no se utiliza en citología veterinaria (Meinkoth 2020)

Coloraciones tipo Romanowsky

Las tinciones de tipo Romanowsky son muy utilizadas en el laboratorio de hematología para la coloración de frotis sanguíneo. Se basan en el uso de azul de metileno y sus productos de oxidación (azul B) y de eosina Y (Díaz Méndez 2013).

En las tinciones de Romanowsky las estructuras celulares de carácter básico fijan los colorantes ácidos (eosina) y las de carácter ácido fijan los colorantes básicos (azul de metileno). De este modo, los componentes basófilos presentes en el núcleo o en el citoplasma se colorean de azul, mientras que otros componentes acidófilos, se observan de color rosado (González Cruz 2019).

Estas coloraciones son sencillas de preparar, conservar y utilizar. Además, son económicas y fáciles de conseguir. Existen en el mercado numerosos equipos comerciales de tinción, ya preparados y listos para usar. Con estos colorantes se tiñen muy bien el citoplasma celular y los microorganismos. Si bien los detalles de núcleos y nucléolos no se perciben tan claramente como con las técnicas tipo Papanicolaou, resultan suficientes para diferenciar células inflamatorias de aquellas neoplásicas. Además, permite evaluar, en las células neoplásicas, el potencial de malignidad (criterios de malignidad). Por otro lado, son coloraciones permanentes, por lo que los preparados pueden almacenarse a fin de revisarlos posteriormente o buscar otra opinión de considerarse necesario.

Para la aplicación de estas técnicas los preparados deben secarse al aire. No se utilizan soluciones fijadoras. Mediante el secado al aire, las células se adhieren al portaobjetos, evitándose su arrastre por los colorantes y logrando una correcta preservación de su estructura.

Las tinciones de Romanowsky pueden ser de base acuosa o alcohólica (metanol). Las coloraciones de Wright y Giemsa son de base metanol y colorean muy bien los gránulos de las células cebadas. Mientras que algunas de las tinciones rápidas (por ejemplo, Diff Quick) son de base acuosa y no colorean los gránulos de los mastocitos pudiendo llevar a errores en el diagnóstico de una neoplasia tan frecuente como es el mastocitoma.

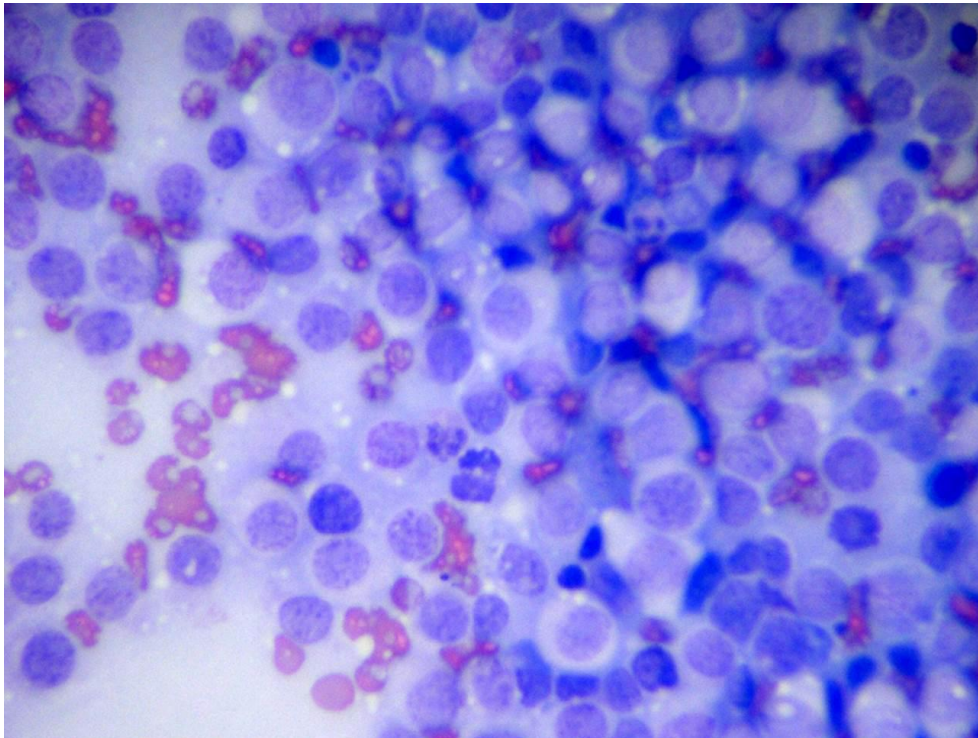
Cada técnica requiere su propio procedimiento y éste debe modificarse (sobre todo en los tiempos de contacto con las soluciones colorantes) teniendo en cuenta el tipo y el espesor del preparado, así como la concentración de proteínas en los preparados elaborados a partir de muestras fluidas. En general, los preparados más gruesos requieren de mayor tiempo de exposición a los distintos colorantes. (Meinkoth 2020, Meyer 2010, Radin 1998).

Tinción de Wright

Se trata de una tinción panóptica diferencial que se realiza en un solo paso (Figura 3.1). Requiere un tiempo de incubación con la solución colorante de alrededor de 15 minutos. El colorante está compuesto de azul de metileno y eosina disueltos en metanol, por lo que no es necesario el paso previo de fijación.

Preparación: solución colorante ya preparada. Procedimiento: cubrir el preparado (*) con 30 gotas de la solución, durante 1 minuto. Sin volcar, agregar igual cantidad de gotas de agua destilada. Dejar actuar durante 10 a 15 minutos. Lavar por agitación en un pequeño recipiente con agua destilada o bajo chorro de agua corriente. Secar al aire o cerca de una llama. Si se desea, se puede montar con bálsamo (**). Coloración duradera (Díaz Méndez 2013).

Figura 3.1. Tinción de Wright.



Células redondas con núcleo con patrón de cromatina reticular y moderado citoplasma de bordes netos, celeste pálido y en ocasiones con vacuolas traslúcidas. Nótese que los eritrocitos se observan coloreados. Tumor venéreo transmisible en canino. Obj. 40X.

Tinción de May Grünwald/Giemsa

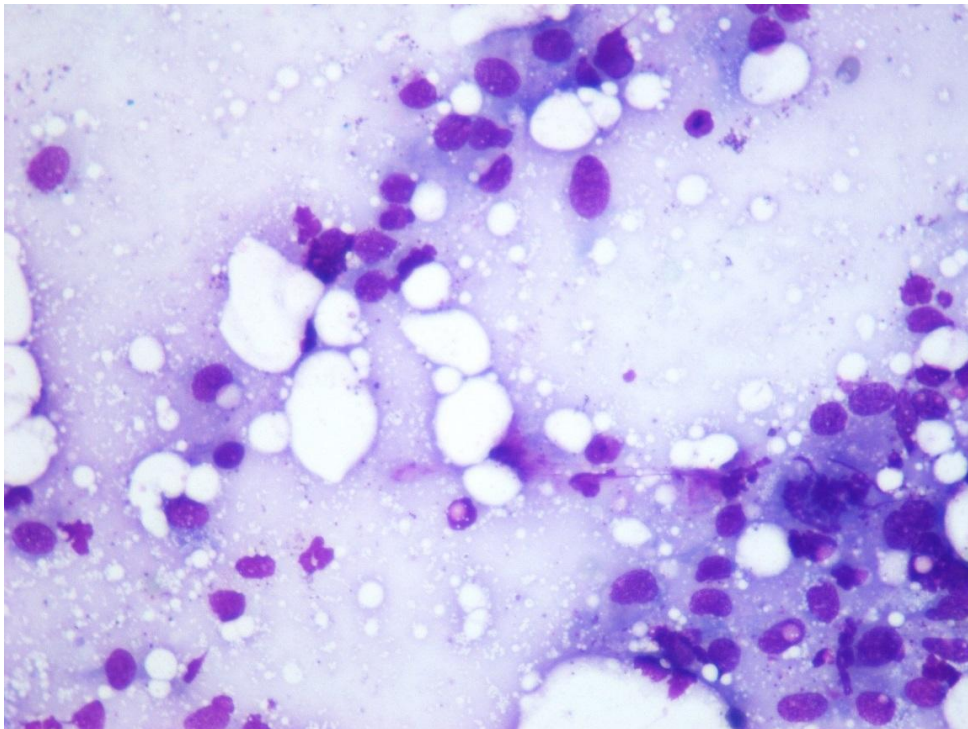
Se trata de soluciones preparadas a base de colorantes de acentuado poder policromatófilo y metacromático. Se utiliza para tinciones citológicas y hematológicas. Requiere un tiempo de

realización de alrededor de 20 minutos, debiendo adaptarse el tiempo de incubación con la solución de Giemsa según la intensidad de coloración deseada. Con estos colorantes los núcleos celulares se observan de color rojo púrpura. El color del citoplasma varía con el tipo celular: rojo púrpura intenso para el neutrófilo, naranja parduzco para el eosinófilo, rojo negruzco para el basófilo, azul grisáceo para el monocito, azul para los linfocitos, pardo anaranjado para los eritrocitos y rojo púrpura para los gránulos (Figura 3.2).

Preparación: solución de May Grünwald (MG): viene lista para usar. La solución de Giemsa (G) se prepara mezclando la solución stock comercial con agua desmineralizada o solución salina tamponada pH 7,2. Se mezclan en la siguiente relación: 1 gota de G por cada ml de buffer. Se prepara inmediatamente antes de usar.

Procedimiento: se coloca el preparado (*) sobre una grilla y se cubre con solución de MG durante 3 minutos. Sin volcar el MG se agregan 25 gotas de buffer y se dejan actuar durante 2 minutos. Se vuelca y se cubre el preparado con solución de G. Se deja actuar durante 25 minutos. Se lava por agitación con agua destilada o buffer. Se seca al aire o cerca de una llama. Coloración de duración limitada si no se monta (**) (Biopack, Dey 2018)

Figura 3.2. Tinción de May Grünwald/Giemsa.



Células de límites citoplasmáticos imprecisos con vacuolas y núcleo redondo a oval, basófilo violeta/púrpura. Grandes gotas de lípidos libres en el fondo del preparado. Liposarcoma en canino. Obj. 20X.

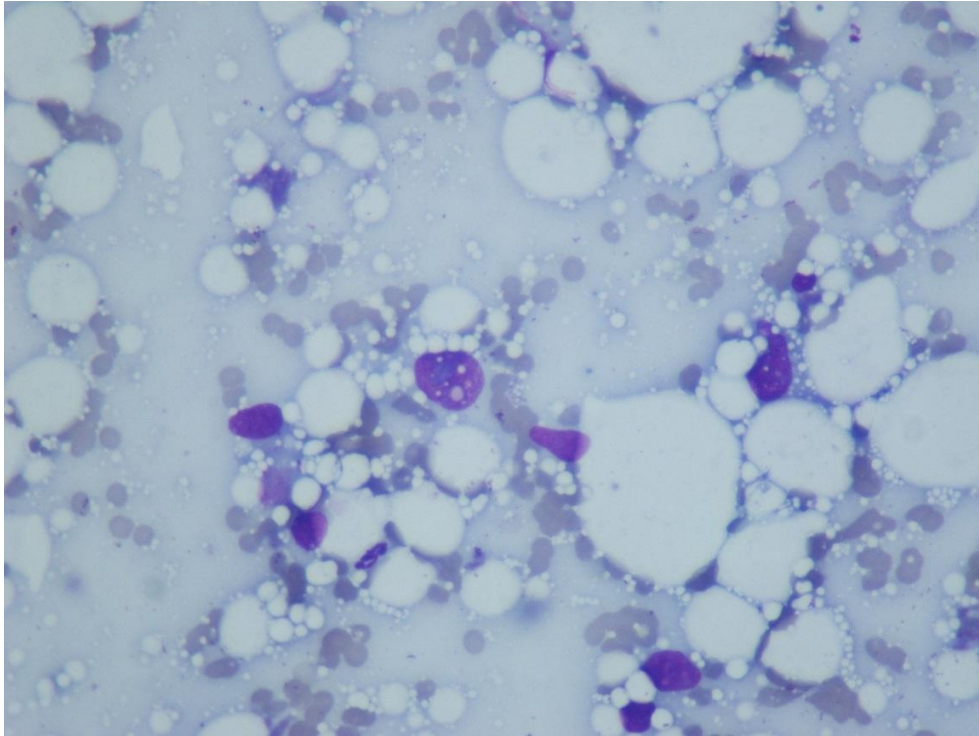
Tinción de Giemsa

La tinción de Giemsa emplea como colorante fundamental, una mezcla de tiacínicos catódicos, como el azul A, B y azul de metileno, que colorean el núcleo; mientras que la eosina se utiliza para teñir el citoplasma (Figura 3.3). Estos compuestos se encuentran disueltos en alcohol metílico.

En este caso se trabaja solo con la solución de Giemsa comercial que debe prepararse al 10% en agua desmineralizada o solución tamponada de fosfatos a pH 7,2 inmediatamente antes de usar.

Procedimiento: se cubre la muestra con solución de Giemsa al 10% durante 20 minutos. Luego se lavan los preparados con la solución buffer y se deja secar al aire (Biopack, Díaz Méndez 2013).

Figura 3.3. *Tinción de Giemsa.*



Células de límites citoplasmáticos imprecisos con abundantes vacuolas y núcleo redondo a oval basófilo. Grandes gotas de lípidos libres en el fondo del preparado. Liposarcoma en canino. Obj. 20X.

A partir de la tinción de Wright surgieron variantes que llevaron al desarrollo de técnicas de coloración rápida. Es así que distintas firmas comerciales ofrecen equipos de coloración de muy fácil uso y que no requieren de contar con reactivos o soluciones accesorias.

Diff Quick™

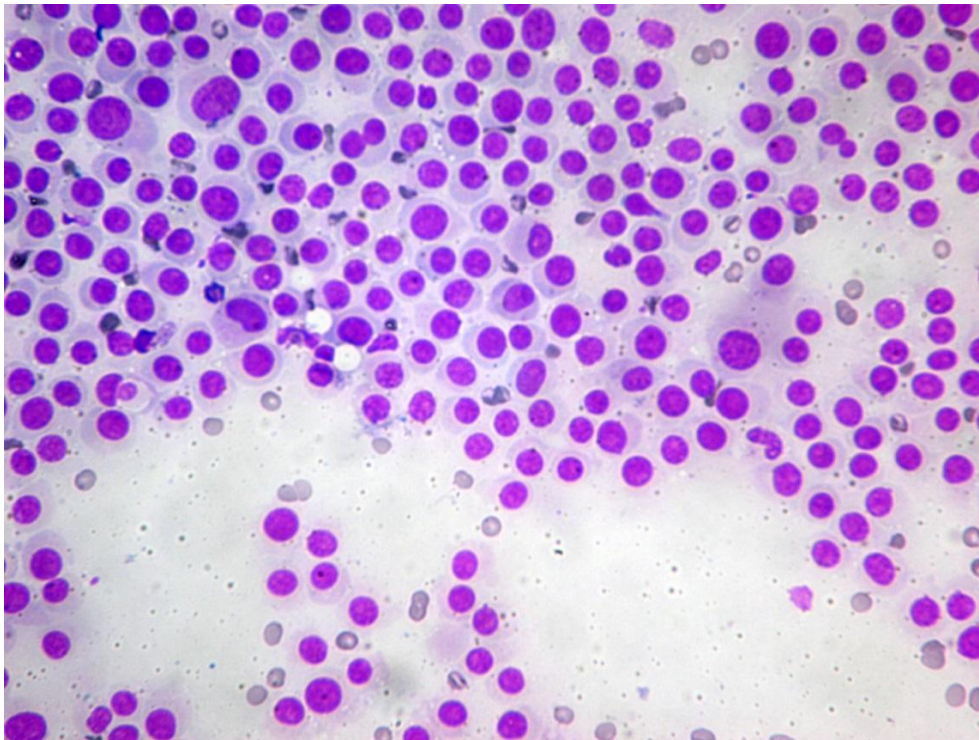
Es una variante modificada de la tinción de Wright que consta de tres pasos: fijación en metanol, tinción con eosina y, por último, tinción con azul de metileno. Luego, los preparados se secan al aire o cerca de una llama. El procedimiento es muy rápido, tomando menos de 20 segundos para su realización, si bien los tiempos pueden variar en función del espesor de la muestra. Raramente las muestras pueden resultar exageradamente teñidas y en el caso que, por el contrario, el preparado quede débilmente coloreado, se puede solucionar por reinmer-

sión en el azul de metileno. Si bien esta técnica se desarrolló originariamente para la evaluación de frotis sanguíneos, resulta útil en el diagnóstico citológico rápido. Coloración duradera (Medion Diagnostics).

Tinción 15® (Biopur), Color Fast® (Biopack)

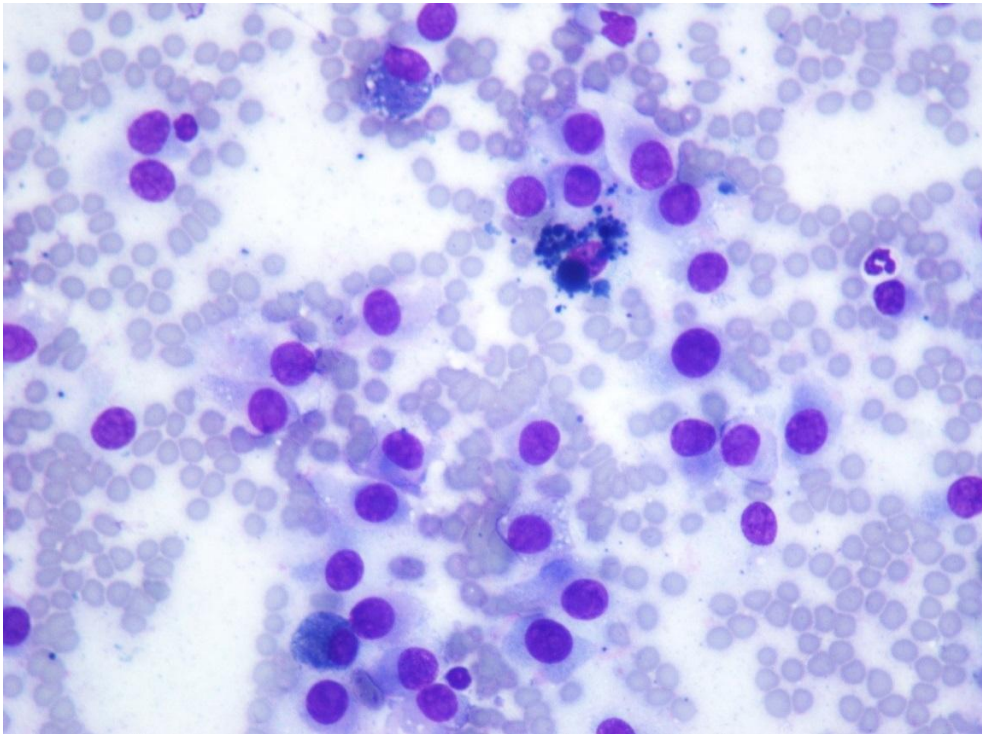
Se trata de reactivos comerciales para coloración de extendidos. Cada equipo de tinción está compuesto por 3 soluciones: solución de fijación y dos soluciones colorantes: solución colorante ácida (solución xanténica - roja) y solución colorante básica (solución tiazínica - azul). La aplicación de esta técnica insume unos 15 segundos y consiste en inmersiones sucesivas que se realizan con movimientos suaves ascendentes y descendentes, en cada uno de los reactivos. Entre una y otra solución se escurre el exceso sobre papel absorbente para terminar con un lavado final en agua destilada o corriente. Luego, los preparados se secan al aire o cerca de una llama. Si se prefieren tinciones con tendencia eosinofílica o basofílica se aumenta el número de inmersiones en una u otra solución colorante. Coloración duradera (Biopur, Biopack) (Figuras 3.4 y 3.5).

Figura 3.4. *Tinción 15®.*



Células redondas con núcleo con patrón de cromatina reticular y moderado citoplasma de bordes netos, basófilo suave. Tumor venéreo transmisible en canino. Obj. 20X.

Figura 3.5. Color Fast ®.



Células redondas con núcleo con patrón de cromatina grueso y escaso a moderado citoplasma de bordes poco definidos basófilo suave. Destaca una célula con abundantes gránulos gruesos negros intracitoplasmáticos (melanina). Melanoma en canino. Obj. 40X.

Otras coloraciones

Nuevo azul de metileno (Fisher Scientific)

Para complementar las coloraciones tipo Romanowsky se suele utilizar la tinción nuevo azul de metileno. Se trata de una solución soluble en agua que se puede aplicar directamente sobre preparados citológicos secados al aire, fijados (*) o húmedos, luego de lo cual se aplica un cubreobjetos y se observa inmediatamente al microscopio. La coloración no es duradera y desaparece en horas. Si bien tiñe débilmente el citoplasma, brinda excelentes detalles nucleares, permitiendo una adecuada evaluación de los cambios asociados a procesos neoplásicos. En el caso de las células cebadas, su reconocimiento se ve facilitado por el color púrpura oscuro que toman los gránulos. Por tratarse de una tinción de base acuosa no disuelve las grasas, por lo que facilita la observación de los lípidos asociados a lipomas o a quistes infundibulares foliculares. Por otro lado, como los eritrocitos no se tiñen con esta técnica, puede utilizarse en preparados donde los glóbulos rojos enmascaran las células nucleadas. No sólo es una coloración útil para la observación de células nucleadas sino también para la detección de bacterias (que se colorean de azul oscuro), hongos y levaduras. Además, si la solución es correctamente filtrada, es ideal para la detección de *Mycoplasma haemofelis* (*Haemobartonella sp*), cuya silueta se ve resaltada frente a la “invisibilidad” de los eritrocitos.

Preparación: nuevo azul de metileno: 500 mg; agua destilada: 100 ml; formol puro: 1 ml. Esta solución stock se debe conservar refrigerada. Para su uso se separa un pequeño volumen en un frasco gotero, previamente filtrado (Meyer 2010, Radin 1998).

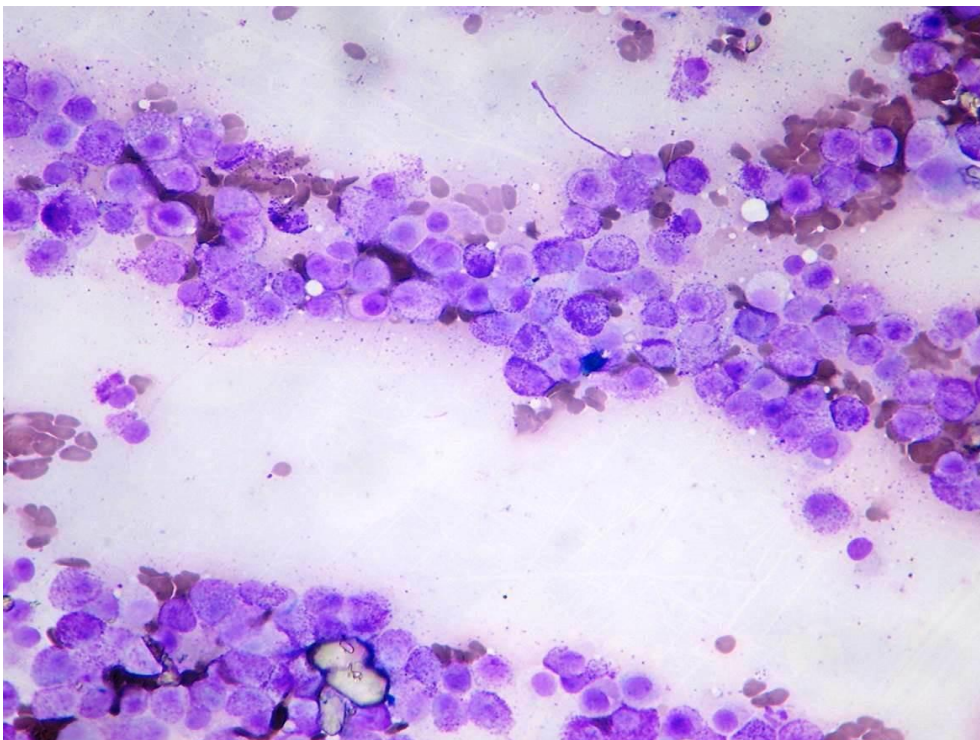
Azul de toluidina

Coloración de un solo paso que permite resaltar los gránulos de las células cebadas (Figura 3.6).

Preparación: 1 g de azul de toluidina en 100 ml de agua destilada.

Procedimiento: cubrir el preparado (*) con la solución durante 1 minuto. Lavar por agitación en un pequeño recipiente con agua destilada y luego dejar secar (**). La coloración es duradera, al igual que la solución.

Figura 3.6. Azul de toluidina.



Células redondas de límites bien definidos con moderada cantidad de gránulos finos intracitoplasmáticos púrpura. Mastocitoma en canino. Obj. 20X

Coloraciones de Gram, PAS, Ziehl-Neelsen y Warthin-Starry

Estas técnicas habitualmente utilizadas en estudios histológicos y/o microbiológicos, pueden aplicarse sobre preparados citológicos. En estos casos es posible obtener una clasificación general de los agentes infecciosos (por ej.: bacterias u hongos) y, en determinadas circunstancias, permite la identificación del microorganismo presente (por ej: *Helicobacter pylori*, *Cryptococcus neoformans*). No obstante, para una clasificación definitiva se requiere de estudios microbiológicos.

- Lavado de portaobjetos: utilizar detergente al 1%, aproximadamente, en agua corriente. Sumergir los vidrios por unos pocos minutos. Lavar luego con abundante agua corriente circulante algunos minutos más. Colocar en un recipiente con tapa conteniendo una mezcla de alcohol 96% y éter sulfúrico, en partes iguales. En el momento de usar retirar los que se necesitan y secar con papel.

- Buffer (solución de buffer fosfato, pH 7,2-7,4)

- Fosfato dibásico anhidro 11,4 g

- Fosfato monobásico dihidro 3,3 g

(si se trabaja con fosfato monobásico anhidro utilizar 2, 54 g)

- Agua destilada 1000 ml

Nota: en cualquiera de las coloraciones consignadas puede reemplazarse el buffer por agua destilada.

(*) Los preparados son previamente secados al aire. Pueden fijarse con calor (no a la llama directa) o mediante inmersión en alcohol metílico (metanol) durante aproximadamente 5 segundos.

(**) Los preparados pueden montar con bálsamo, previo pasaje rápido por alcohol 96%, alcohol 100% y xilol.

Problemas de tinción

La mayoría de los problemas que conducen a una pobre calidad de tinción pueden evitarse trabajando con portaobjetos nuevos, soluciones buffer y de tinción frescas y, según se requiera, bien filtradas. Por otro lado, es importante colorear los preparados lo más pronto posible después de su obtención y secado, cuidando de no tocar la superficie del vidrio. En la tabla 3.1 se presentan los problemas más frecuentes que pueden ocurrir con las tinciones tipo Romanowsky y sus posibles soluciones.

Tabla 3.1. Soluciones posibles a problemas con las tinciones tipo Romanowsky.

Problema y causas potenciales	Solución
Excesiva coloración azul	
<ul style="list-style-type: none"> -Prolongado contacto con el colorante -Lavado con poca cantidad de agua -Preparado muy grueso -Alcalinidad del colorante, diluyente, buffer o agua -Fijación húmeda en etanol o formol -Fijación tardía -Exposición a vapores de formalina -Superficie alcalina del portaobjetos 	<ul style="list-style-type: none"> -Reducir el tiempo de tinción -Prolongar los tiempos de lavado -Realizar preparados más finos -Controlar y corregir el pH de las soluciones -Secar los preparados al aire antes de su fijación -Fijar los preparados lo más pronto posible -Evitar el contacto de las muestras con los frascos que contienen muestras en formol -Utilizar portaobjetos limpios
Excesiva coloración rosada	
<ul style="list-style-type: none"> -Excesivo tiempo de inmersión en la solución roja -Inadecuado tiempo en la solución azul -Lavado excesivo -Colorante o diluyente demasiado ácidos -Montaje del preparado antes del completo secado 	<ul style="list-style-type: none"> -Reducir el tiempo de inmersión -Prolongar el tiempo de inmersión -Reducir el tiempo de lavado -Controlar y corregir el pH -Dar tiempo a que el preparado esté completamente seco previo a su montaje
Tinción débil	
<ul style="list-style-type: none"> -Insuficiente contacto con alguna de las soluciones colorantes -Soluciones envejecidas -Otro portaobjetos cubriendo la muestra durante la tinción 	<ul style="list-style-type: none"> -Aumentar el tiempo de tinción -Cambiar las soluciones colorantes -Colorear los preparados por separado
Tinción desapareja	
<ul style="list-style-type: none"> -Variaciones del pH en diferentes áreas del portaobjetos (portaobjetos mal lavados o manipulados inadecuadamente) -Preparados con restos de agua después de la tinción y del lavado 	<ul style="list-style-type: none"> -Utilizar portaobjetos limpios y evitar tocar su superficie -Colocar los portaobjetos en posición vertical para el secado o secarlos con un ventilador
Presencia de precipitados	
<ul style="list-style-type: none"> -Inadecuada filtración de los colorantes -Inadecuado lavado de los preparados después de teñidos -Portaobjetos sucios -Secado del colorante durante el proceso de tinción 	<ul style="list-style-type: none"> -Filtrar o cambiar las soluciones -Lavar bien los portaobjetos después de teñidos -Utilizar portaobjetos limpios -Utilizar suficiente colorante y evitar un contacto muy prolongado con las soluciones
Otros problemas	
<ul style="list-style-type: none"> -Preparados teñidos en exceso -Artefactos refráctiles sobre los eritrocitos (usualmente debido a fijador hidratado) 	<ul style="list-style-type: none"> -Destañir con metanol 95% y volver a teñir -Cambiar la solución fijadora

Nota: adaptado de: Same possible solutions to problems seen with commin Romanowsky-type stains, Meinkoth, J.H. y col. 2020, Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat.

Referencias

- Biopack. Color Fast®. Especificaciones técnicas. Recuperado de: https://www.biopack.com.ar/ficha-especificaciones_116_color-fast-kit-solucion#
- Biopack. Solución Giemsa. Especificaciones técnicas, Sistemas Analíticos SA. Recuperado de: https://www.biopack.com.ar/ficha-especificaciones_297_giemsa-solucion#
- Biopur. Tinción 15®. Especificaciones técnicas. Recuperado de: <http://www.biopur.com.ar/ht15sp.htm>
- Dey P (2018). Routine Staining in Cytology Laboratory. En: *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology*. (133-138). Springer Nature Singapore Pte Ltd. Recuperado de: https://doi.org/10.1007/978-981-10-8252-8_14
- Díaz Méndez XC, Magzul Tucux WP, Pérez López WJ (2013). Colección de referencia en hematología (Seminario de Investigación para optar al título de Química Biológica). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado de: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1069.pdf>
- González Cruz E. de J, Díaz Contreras A, Gómez Aburto DH, Rivera Rosado FE, de la Cruz Nicolás MA (2019). Manual de Tinciones Citoquímicas Especiales en Hematología. Centro Estatal De Cancerología “Dr. Miguel Dorantes Mesa”. Xalapa, Veracruz, México. Recuperado de: <https://www.ifcc.org/media/478752/manual-de-tinciones-citoquimicas-especiales.pdf>
- Medion Diagnostics. Diff Quik™. Especificaciones técnicas. Recuperado de: <https://ehslegacy.unr.edu/msdsfiles/32754.pdf>
- Meinkoth JH, Cowell RL, Tyler RD, Morton RJ (2020). Sample Collection and Preparation En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell and Tyler’s Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (1-17). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Meyer DJ, Connolly SL, Heng HG (2010). The Acquisition and Management of Cytology Specimens. En: Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and Feline Cytology. A Color Atlas and Interpretation Guide* (1-14). Second edition. St. Louis, USA: Ed. Saunders Elsevier.
- Papanicolau GN (1942). A New Procedure for Staining Vaginal Smears. *Science*, 95 (2469): 438-439
- Radin MJ, Wellman ML (1998). Recolección y preparación de muestras. En *Interpretación de la Citología Canina y Felina* (11-14). St. Louis, USA: Nestlé Purina PetCare Company. 63188. Recuperado de: http://190.186.110.75/sistemabibliotecario/doc_libros/Interpretaci%C3%B3n%20de%20la%20Citolog%C3%ADa%20Canina%20y%20Felina-1-20100903-094610.pdf

CAPÍTULO 4

Descripción e interpretación general de células inflamatorias y neoplásicas

*Adriana Massone, María Alejandra Quiroga
y Mariana Machuca*

Citología de la inflamación

Para determinar el tipo de lesión inflamatoria deben evaluarse la abundancia y proporción de las distintas células inflamatorias. En un proceso inflamatorio, las células predominantes son: neutrófilos, eosinófilos, células plasmáticas, linfocitos, células cebadas, macrófagos tisulares, células epitelioides y células gigantes. Los procesos inflamatorios pueden clasificarse teniendo en cuenta su evolución (agudos, subagudos, crónicos activos, crónicos) o sus características celulares (supurativos, granulomatosos, reacciones de hipersensibilidad eosinofílica). Para calificar la severidad de la reacción pueden utilizarse los términos leve, moderada o severa. A continuación, se describen, en forma esquemática, las características y predominio de células observables en los diversos procesos de inflamación, considerando criterios de orientación relacionados con la evolución y posible causa del proceso (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

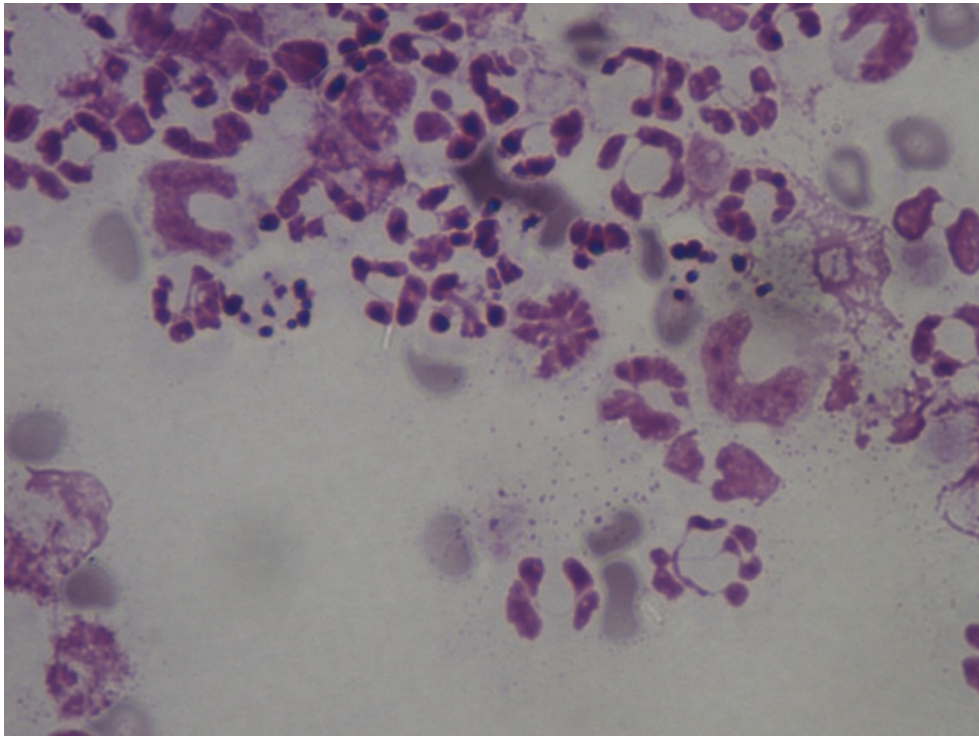
- Inflamación aguda aséptica:
 - más del 70% de neutrófilos no degenerados
 - procesos alérgicos: más eosinófilos, células plasmáticas, linfocitos y células cebadas
 - procesos virales: predominio de linfocitos y células plasmáticas
- Inflamación aguda séptica:
 - neutrófilos degenerados (Figura 4.1)
 - presencia de bacterias u otros organismos intra y extracelulares
 - material proteináceo
 - procesos tóxicos marcados: cariólisis, cariorrexis, vacuolización, citoplasma azul claro y granulación tóxica
 - procesos tóxicos moderados: cariorrexis, picnosis e hipersegmentación. Cambios citoplasmáticos no muy pronunciados
- Inflamación subaguda:
 - 50% o más de neutrófilos

- 30 a 50 % de células mononucleares: monocitos, macrófagos activos, linfocitos y, dependiendo del estímulo, células plasmáticas (Figura 4.2)
- en procesos de base inmune, predominio de linfocitos y células plasmáticas
- Inflamación crónica:
 - más del 50% de células mononucleares
 - predominio de macrófagos activos
- Inflamación granulomatosa:
 - células epitelioides, células gigantes y macrófagos activos. En algunos casos se acompañan estas células de neutrófilos (inflamación piogranulomatosa) (Figura 4.3)
 - material extraño (cristales, fibras vegetales, microorganismos específicos, etc.)

En general, la célula que se observa con especial atención en un proceso inflamatorio es el neutrófilo. Los neutrófilos pueden exhibir cambios nucleares y citoplasmáticos indicadores de la severidad de la lesión. En reacciones agudas no degenerativas, los neutrófilos se observan intactos. En reacciones agudas degenerativas, se refleja la acción de toxinas sobre el neutrófilo. Algunas bacterias elaboran toxinas que destruyen los neutrófilos tisulares. Las toxinas microbianas inducen cambios morfológicos, los que pueden interpretarse como una evidencia indirecta de infección. Estos cambios pueden ser tóxicos o degenerativos. Los cambios tóxicos reflejan defectos de maduración en la médula ósea y son indicativos del efecto de un proceso inflamatorio sistémico sobre este tejido. Los cambios celulares más severos se observan en casos de sepsis, endotoxemia o necrosis tisular y son más fáciles de detectar durante la evaluación de frotis sanguíneos. Los neutrófilos pueden presentar basofilia, vacuolización citoplasmática y granulación tóxica caracterizada por pequeños gránulos citoplasmáticos rojo/rosados, observándose, en ocasiones, neutrófilos gigantes (Figura 4.2). La identificación de neutrófilos hipersegmentados indica que esas células han permanecido en la circulación por un periodo prolongado antes de migrar a los tejidos. Los cambios degenerativos involucran a los neutrófilos que migraron a un foco infeccioso con exposición a las toxinas elaboradas. Se produce degeneración hidrópica con tumefacción celular. Por lo tanto, los neutrófilos degenerados son más grandes que los normales, con una lobulación nuclear menos evidente y cromatina menos condensada (es rosada más que púrpura) (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

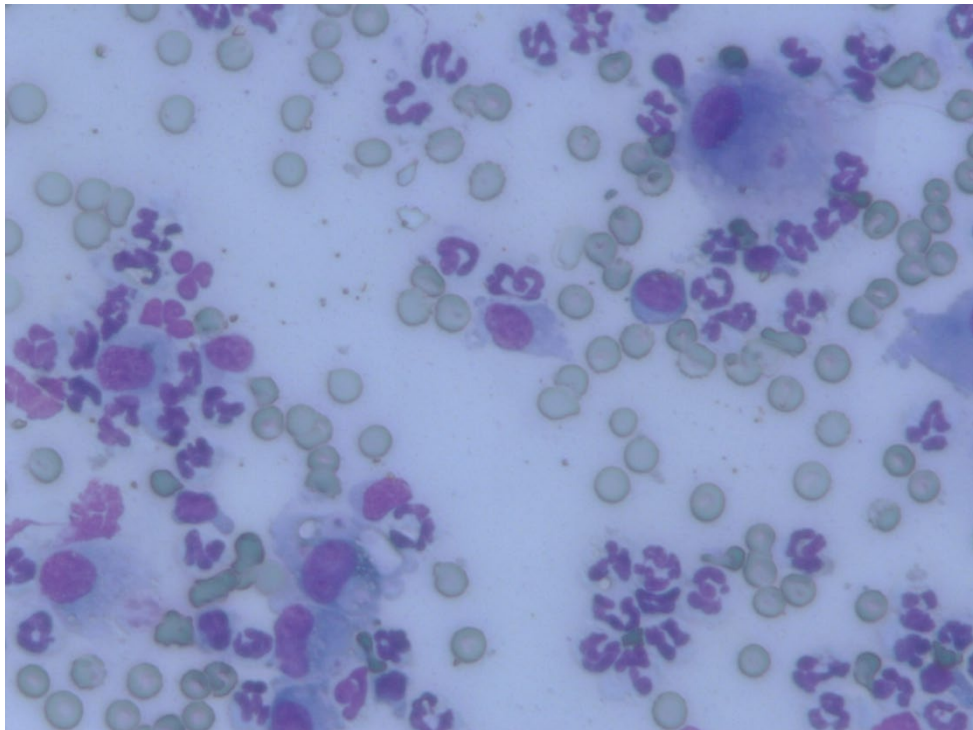
En la figura 4.4 se presenta en forma esquemática la interpretación de las poblaciones inflamatorias.

Figura 4.1. Inflamación aguda.



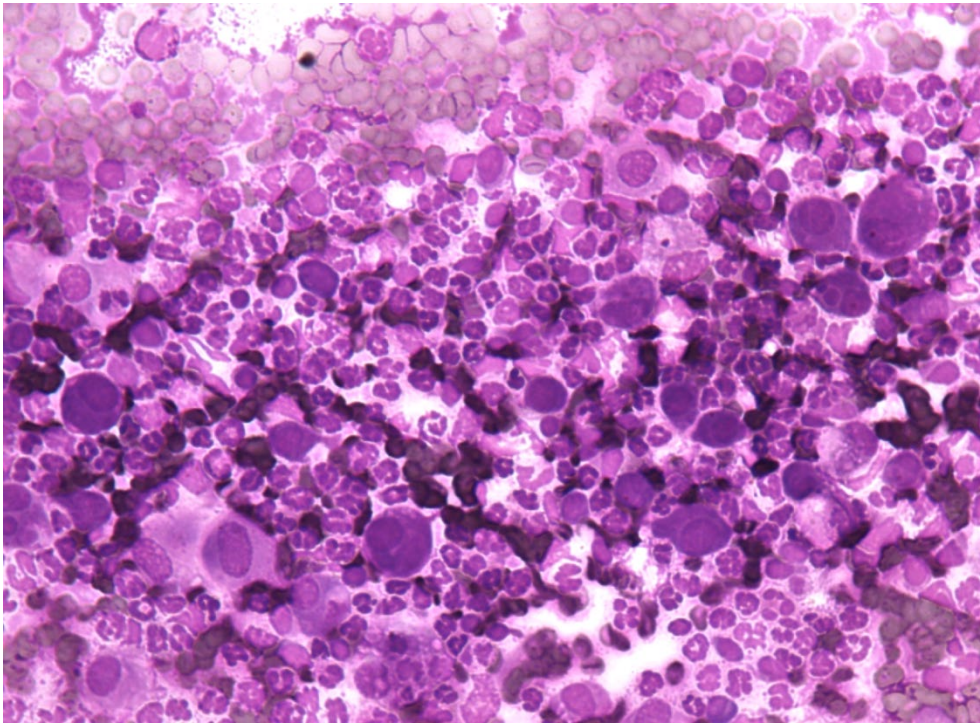
Neutrófilos con cambios degenerativos e hipersegmentados. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Figura 4.2. Inflamación subaguda.



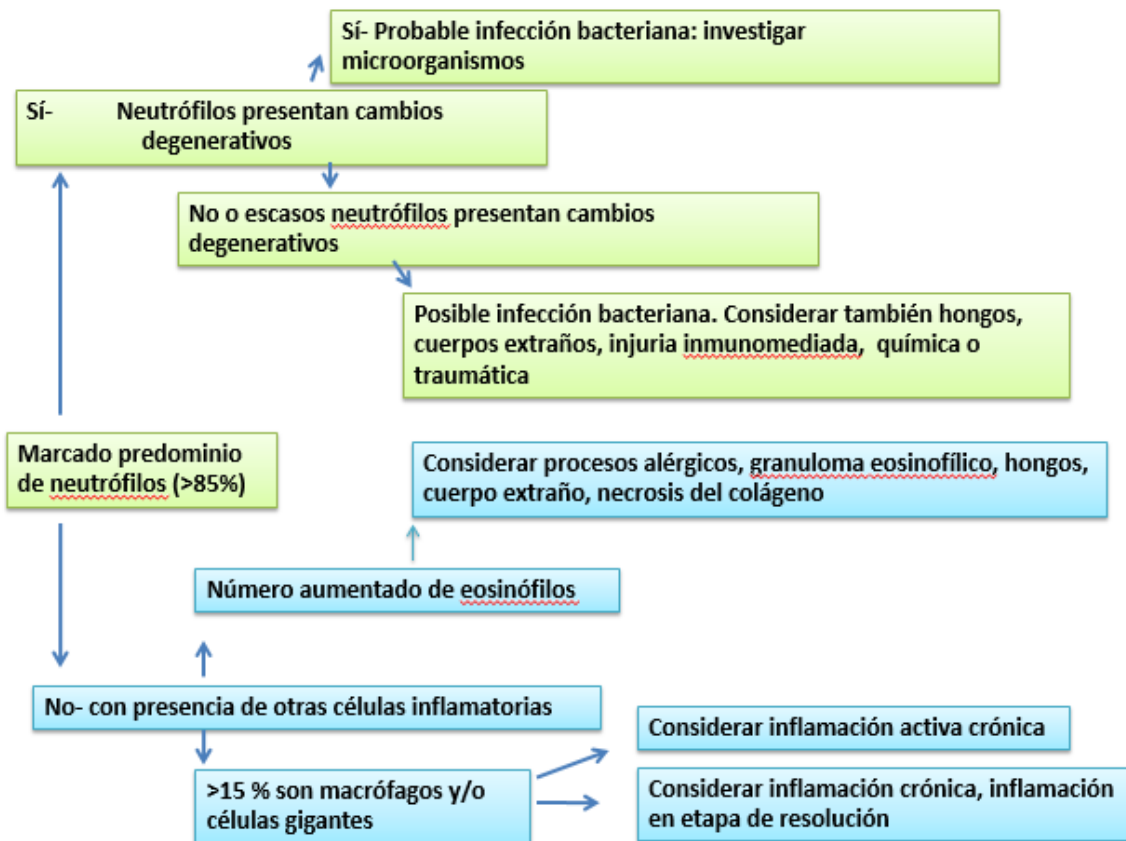
Macrófagos y neutrófilos. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Figura 4.3. Inflamación piogranulomatosa.



Macrófagos y neutrófilos. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 4.4. Interpretación de las poblaciones inflamatorias.



Citología de las neoplasias

Los procesos neoplásicos son inicialmente diagnosticados cuando está presente una población de células monomórficas y células inflamatorias escasas que son presumiblemente secundarias al proceso neoplásico. La división entre neoplasias benignas y malignas se realiza sobre la base de las características citomorfológicas.

Las células de las neoplasias benignas son uniformes en tamaño, relación núcleo citoplasma y otras características nucleares.

Las células neoplásicas malignas presentan 3 o más criterios de malignidad que se detallan más adelante y se presentan en la tabla 4.1. La presencia de más de 3 criterios de malignidad nuclear en un alto porcentaje de células tumorales es una fuerte evidencia de malignidad. Cuando se observan entre 1 y 3 criterios de malignidad, la neoplasia puede ser benigna o maligna y debe efectuarse un estudio histopatológico para su clasificación definitiva. Si no se distinguen criterios de malignidad, la neoplasia puede ser clasificada como benigna. Existen ciertos tumores malignos que muestran pocos o ningún criterio de malignidad, como por ejemplo el carcinoma de glándula tiroidea de los caninos (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

El pleomorfismo celular denota variaciones en el tamaño, forma y otras características celulares entre las células individuales en una población de un tipo celular particular. El pleomorfismo celular es más frecuentemente identificado cuando se observa anisocitosis (variación en el tamaño celular) dentro de una población celular. Una población celular normal, o una población neoplásica benigna, o maligna pero bien diferenciada, solamente exhibe variaciones leves a moderadas en los tamaños celular y nuclear. Por el contrario, las poblaciones celulares malignas presentan muy marcadas variaciones en los tamaños celular y nuclear. El pleomorfismo celular es el criterio de malignidad más frecuentemente observado en las neoplasias malignas (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Los cambios citológicos nucleares más comunes observados en las neoplasias malignas son la macrocariosis, los nucléolos grandes, angulares o múltiples y los núcleos múltiples. Los grandes núcleos observados en la macrocariosis superan los 10 μm . Estos núcleos a menudo poseen una cromatina gruesa o acordonada, con numerosos grumos de color púrpura claro dispersos sobre un fondo levemente coloreado. Solo deben ser tenidos en cuenta los núcleos de las células intactas. Los núcleos de las células rotas o los núcleos aislados se hinchan, distorsionándose su tamaño, el aspecto de la cromatina y la estructura nucleolar. Los núcleos de las células malignas, así como aquellos de las no malignas, pueden tener nucléolos evidentes. Sin embargo, los nucléolos de las células normales poseen bordes suavemente redondeados y son pequeños. Los nucléolos grandes, con bordes planos o angulares, se observan en las células neoplásicas malignas. Las neoplasias malignas pueden estar asociadas con nucléolos múltiples y, particularmente, con cantidades variables de nucléolos por núcleo (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Las células multinucleadas pueden ser observadas tanto en poblaciones malignas como normales. Los núcleos múltiples constituyen un hallazgo normal en ciertos tipos celulares (osteoclastos y células gigantes), o bien un cambio no neoplásico observado en otros tipos celulares

(células mesoteliales). La anisocariosis, dentro de una célula multinucleada, es una forma aberrante de multinucleación observada en células malignas. El aumento de figuras mitóticas es una particularidad de algunas neoplasias malignas. Sin embargo, ocasionalmente se observan figuras mitóticas en preparaciones citológicas de ciertos tejidos (linfonódulos y médula ósea). Las mitosis anormales, con alineamiento incorrecto de los cromosomas, se observan en las células neoplásicas malignas (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Los cambios citoplasmáticos asociados con las neoplasias malignas, no son tan fiables ni tan notables como los cambios nucleares. Por lo tanto, el diagnóstico de malignidad se basa, fundamentalmente, en los cambios nucleares. La basofilia citoplasmática (coloración azul intensa) se debe a la tinción de la gran cantidad de ARN e indica un activo metabolismo celular. La vacuolización es una característica citoplasmática observada en ciertas células malignas. El tamaño de las vacuolas puede variar desde muy pequeño a muy grande. En las células muy vacuoladas, el citoplasma aparece menos basófilo y algunas células pueden presentar forma de anillo de sello. La vacuolización no es una propiedad específica de las células malignas; los macrófagos, células mesoteliales, hepatocitos o células epiteliales glandulares pueden presentar un citoplasma vacuolado (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Evaluación de los tipos celulares

En las observaciones citológicas, los tumores se agrupan, según sus principales características citológicas, en epiteliales, mesenquimáticos (células fusiformes), de células redondas y de núcleos desnudos. Estas características incluyen su tamaño, forma y la manera en que se desprenden (tendencia a disponerse en forma individual o en grupos o la tendencia a desprenderse grandes o escasas cantidades de células). Algunos tumores no presentan características que permitan clasificarlos según el tipo celular.

En las **neoplasias epiteliales**, las células tienden a observarse en grupos, aunque algunas pueden observarse individualmente. Las neoplasias epiteliales pobremente diferenciadas presentan células que pierden la capacidad de cohesión. Pueden observarse dispuestas en forma acinar o ductal, lo que permite clasificar a las neoplasias como adenomas o adenocarcinomas. Las células son grandes, con citoplasma moderado o abundante y núcleos redondos. Los núcleos poseen la cromatina finamente dispersa o agrupada en gruesos cordones según el potencial de malignidad del tumor. Los nucléolos son evidentes. En las neoplasias malignas, las células, los núcleos y los nucléolos muestran variaciones de tamaño y forma. Estas modificaciones son más evidentes cuando se presentan en el mismo grupo celular. Estas células muestran un marcado incremento en la relación núcleo citoplasma (N:C). Las células epiteliales provenientes de neoplasias benignas presentan características similares a las normales del tejido, con evidencia de algún incremento en la actividad celular. Los nucléolos pueden presentarse más prominentes, el citoplasma ligeramente más basófilo y la relación N:C puede aumentar ligeramente (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Las inflamaciones locales u otras irritaciones pueden acompañarse de células epiteliales displásicas. Los cambios morfológicos de estas células son similares a los observados en las células neoplásicas, pero más moderados. En estos casos es recomendable realizar una biopsia por escisión (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

En las **neoplasias mesenquimáticas**, usualmente denominadas de células fusiformes, las células tienden a observarse en forma individual. Las células fusiformes presentan “colas” o “prolongaciones” que se dirigen desde el núcleo en una o dos direcciones. Su tamaño es pequeño o mediano, con escaso citoplasma azulado, generalmente de bordes poco definidos. El núcleo de las células mesenquimáticas es redondo u oval con cromatina finamente granular. Solo ocasionalmente se observan nucléolos. Cuando el potencial de malignidad aumenta, los nucléolos se tornan evidentes, la cromatina se dispone en forma de gruesos cordones y se incrementan la basofilia del citoplasma y la relación N:C. Las células van perdiendo sus formas estrelladas, fusiformes, alargadas y sus prolongaciones. Los diferentes tumores mesenquimáticos son difíciles de diferenciar mediante el estudio citológico. Además, el tejido de granulación produce fibroblastos jóvenes que pueden confundirse con células mesenquimáticas anaplásicas. En estos casos, es necesario un estudio histopatológico para formular un diagnóstico definitivo (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Las inflamaciones u otras respuestas tisulares locales pueden acompañarse de células mesenquimáticas displásicas. Los cambios morfológicos de estas células son similares a los observados en las células neoplásicas, pero más moderados.

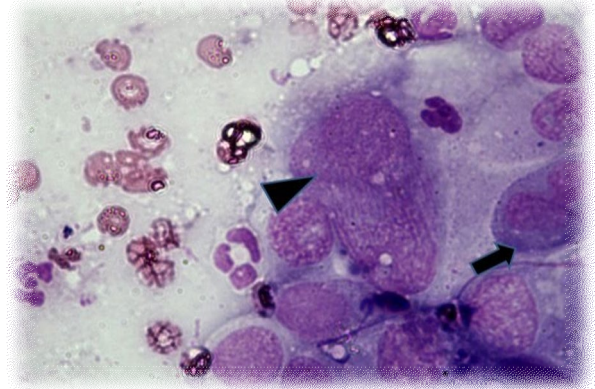
En los **“tumores de células redondas”**, las células son redondas, de mediano tamaño y tienden a desprenderse como células aisladas. Aquí quedan incluidos los mastocitomas, linfomas, histiocitomas, plasmacitomas y tumores venéreos transmisibles. Ocasionalmente, los melanomas y los tumores de células basales pueden inclusive en esta categoría (Meinkoth 2020, Raskin 2016).

Las **neoplasias de “núcleos desnudos”** se caracterizan por la presencia de núcleos libres (sin citoplasma visible) y células separadas entre sí por haber perdido su capacidad de adherencia. Los extendidos citológicos dan la apariencia de un artefacto relacionado con la fragilidad de las células. Estas neoplasias se asocian con tumores endocrinos o neuroendocrinos. Las células neoplásicas presentan bordes citoplasmáticos indefinidos, aunque, ocasionalmente, se observan grupo celulares con contornos definidos. Las células son redondas o poligonales y los extendidos son muy celulares.

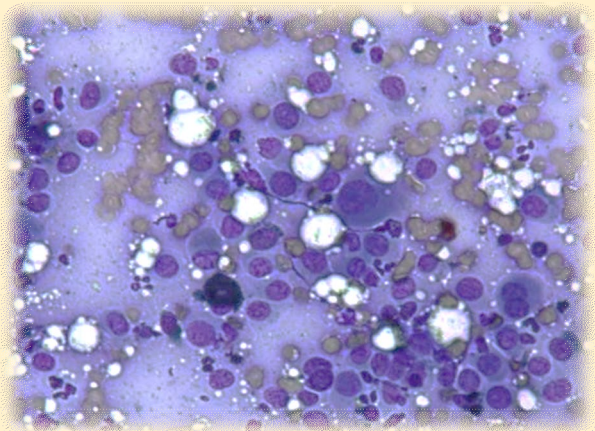
El uso de estas cuatro categorías citomorfológicas puede ayudar en la clasificación de neoplasias por sus características. Debemos recordar que estas categorías no siempre pueden aplicarse a todas las neoplasias, tal es el caso de los tumores poco diferenciados.

Tabla 4.1. Criterios citológicos de malignidad.

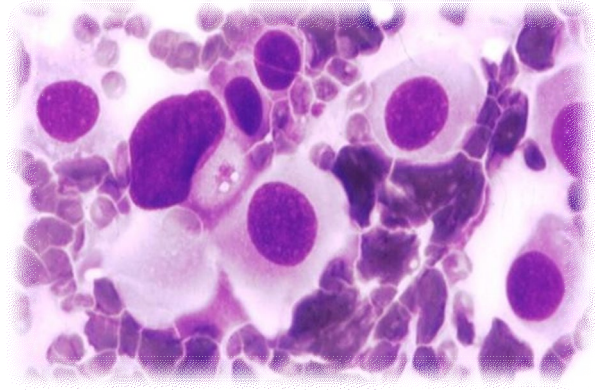
Macrocitosis: aumento de tamaño de las células (punta de flecha)
Anisocitosis: variación en el tamaño de las células (flecha)



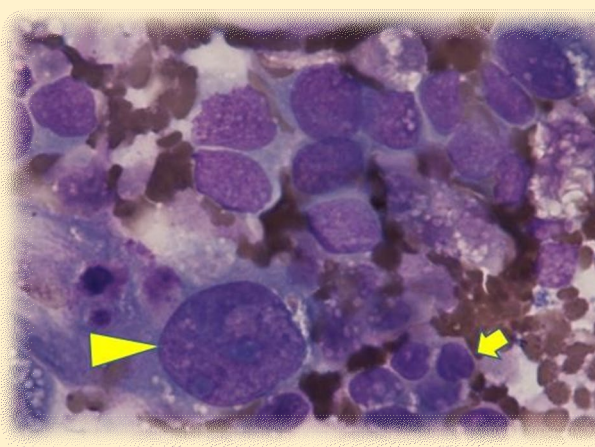
Hipercelularidad por pérdida de adhesión de las células
Pleomorfismo: variación en el tamaño y forma entre las células del mismo tipo



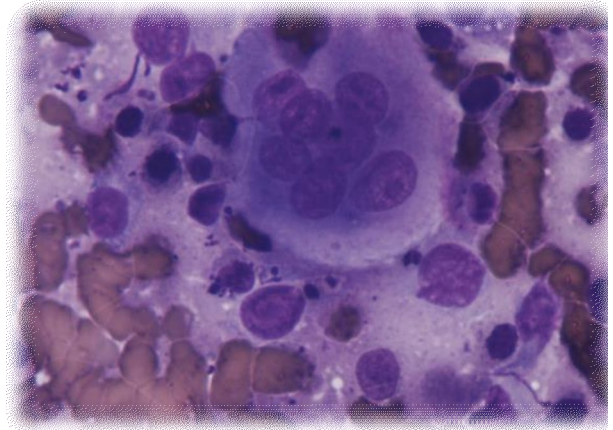
Macrocariosis: aumento de tamaño del núcleo. Incremento de la relación N:C



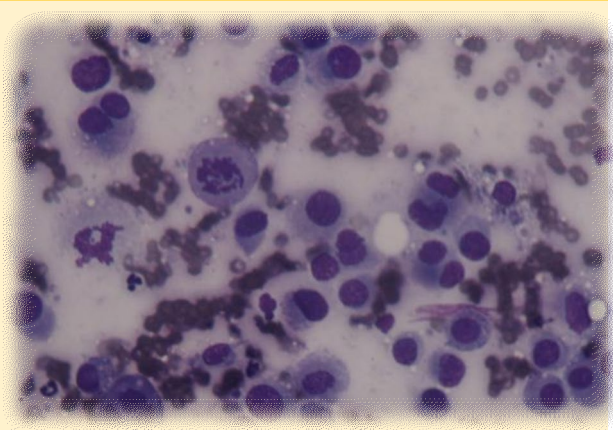
Anisocariosis: variación en el tamaño nuclear (flechas)



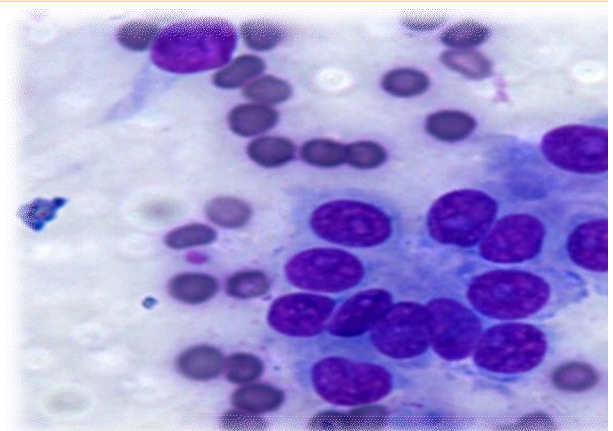
Multinucleación: múltiples núcleos en una célula. Además, se debe considerar la variación en tamaño nuclear



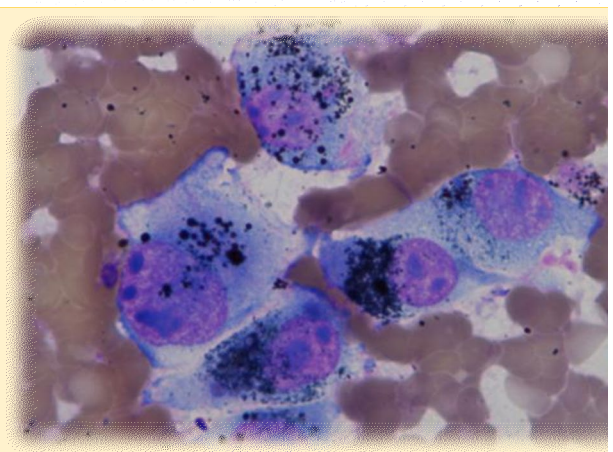
Incremento de las figuras mitóticas. Mitosis atípicas o aberrantes



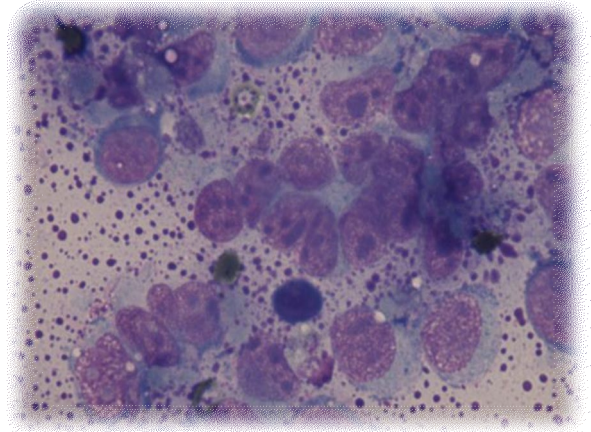
Amoldamiento nuclear Los núcleos adoptan sus formas en el núcleo vecino o célula vecina



Macronucléolo: nucléolo aumentado de tamaño. Nucléolos múltiples



Anisonucleoliosis: nucléolos con formas variadas. Nucléolos con bordes angulares



Referencias

- Meinkoth J, Cowell RL, Tyler RD. (2020). Cell Types and Criteria of Malignancy, En: Valenciano AC y Cowell RL. *Cowell and Tyler's. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (18-43). Fifth edition. St. Louis, USA. Elsevier.
- Raskin RE. (2016). General categories of cytologic interpretation. En: Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and Feline Cytology, A color atlas and interpretation guide* (16-33). Third edition. St. Louis, USA. Elsevier.

CAPÍTULO 5

Identificación de agentes infecciosos

Adriana Massone

En el presente capítulo se describen los criterios generales a tener en cuenta para la citología diagnóstica en enfermedades infecciosas seleccionadas y se ilustran ejemplos representativos de diferentes clases de microorganismos.

Los tipos de agentes infecciosos incluyen bacterias comunes, bacterias superiores, levaduras, hifas fúngicas, protozoos, parásitos y virus.

El tamaño, la forma y las características de tinción son importantes en la identificación citológica de los agentes infecciosos. Este capítulo contiene breves descripciones de los mismos, incluyendo las tinciones utilizadas de rutina o especiales que permiten identificar agentes con particularidades de tinción.

Infección primaria e infección secundaria o *versus* microbiota normal

Las bacterias intracelulares se observan en infecciones activas (primarias o secundarias), mientras que las bacterias extracelulares pueden indicar una infección activa, microflora normal o contaminación (Lane 2015).

Las bacterias intracelulares y extracelulares son indicativas de infección activa. También una población bacteriana monomórfica (solo un tipo de bacteria presente) sugiere infección, mientras que una población mixta (cocos, bastones) puede indicar contaminación, microflora normal o una infección bacteriana mixta. Un proceso bacteriano mixto puede presentarse, por ejemplo, en infecciones gastrointestinales, en heridas por mordeduras o en lesiones por cuerpos extraños.

Bacterias

Cocos

Entre los procesos infecciosos incluimos, en primer lugar, a los abscesos bacterianos agudos y piodermas. Estos procesos se ubican generalmente en el tejido subcutáneo y se observan

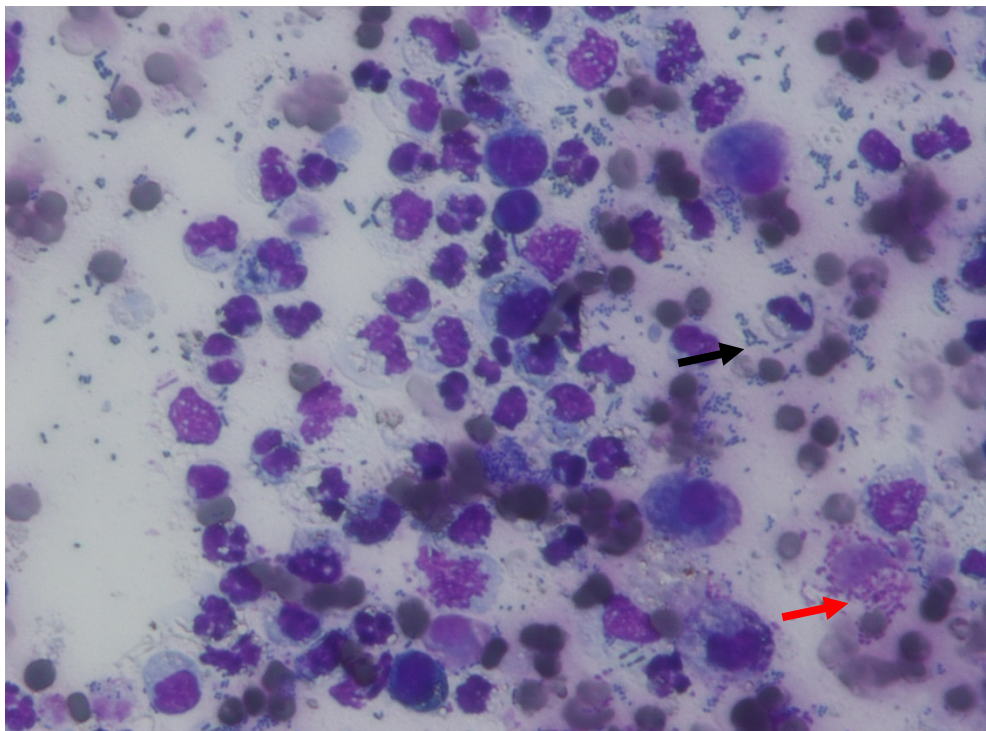
como resultado de heridas causadas por mordeduras u otras heridas punzantes. También pueden observarse como manifestación de enfermedades sistémicas. Macroscópicamente se observan como lesiones firmes a fluctuantes, eritematosas, calientes y dolorosas. Generalmente se aprecia un exudado de color blanco amarillento.

La pioderma profunda se manifiesta como una inflamación bacteriana que se extiende a la dermis, con compromiso de los folículos (foliculitis y furunculosis). La destrucción de la pared folicular libera fragmentos de pelo y restos de queratina folicular en el tejido circundante, lo que genera una reacción de cuerpo extraño e inflamación piogranulomatosa, con formación de un nódulo dérmico (Gross 2005, Raskin 2006).

Los principales agentes son cocos Gram positivos patógenos, de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*.

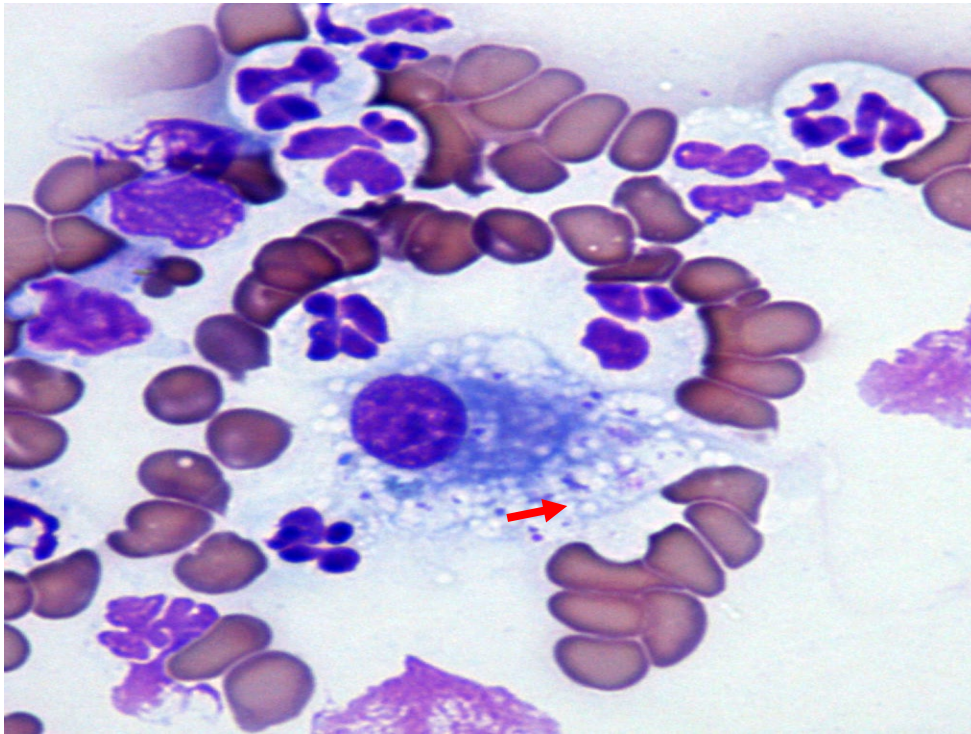
Los estafilococos se presentan en grupos de 4 a 12, mientras que los estreptococos tienden a formar cadenas cortas o largas. Estafilococos y estreptococos son aerobios. Cuando se identifican cocos en preparaciones citológicas se deben realizar cultivos para aerobios y anaerobios, como así también las pruebas de sensibilidad (Figura 5.1 y 5.2).

Figura 5.1. Bacterias.



Abundantes cocos intracitoplasmáticos (flecha roja) y libres (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 5.2. Bacterias.



Abundantes cocos intracitoplasmáticos (flecha roja) Tinción 15, Biopur®. Obj.60X.

Dermatophilus congolensis se replica por división transversal y división longitudinal, produciendo largas cadenas dobles de microorganismos cocoides azules, que se asemejan a pilas de monedas. Estas bacterias colonizan la dermis superficial y producen lesiones costrosas. En el material obtenido debajo de estas costras se observan fácilmente estas cadenas, junto con abundantes células epiteliales, restos de queratina y detritus celulares y muy escasos neutrófilos (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Bastones

Actinomyces/Nocardia

La infección se presenta como lesiones subcutáneas tumefactas, las que posteriormente se ulceran y exudan líquido pardo rojizo. Frecuentemente están relacionadas con heridas penetrantes. Las infecciones pueden estar asociadas con signos sistémicos, incluido el piotórax.

Los microorganismos se reconocen como estructuras filamentosas características. A menor aumento, cuando están presentes, los grupos de bacterias extracelulares se observan de color azul o rojizo, inmersos en una respuesta inflamatoria compuesta por neutrófilos y macrófagos.

A mayor aumento se identifican como microorganismos filamentosos alargados, delgados y ramificados.

Actinomyces sp. son Gram positivos pero no ácido alcohol resistentes, mientras que *Nocardia* sp. son Gram positivos y variablemente ácido alcohol resistente. Se recomienda realizar el cultivo para arribar al diagnóstico definitivo (Raskin 2016).

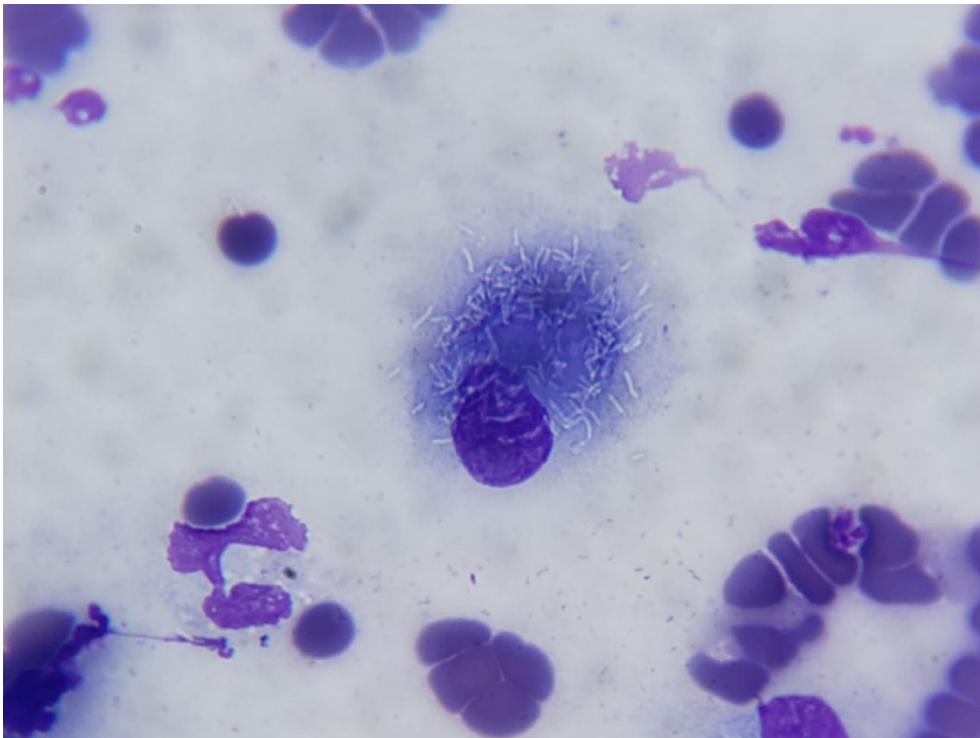
Mycobacterias

Las micobacterias son bacterias con forma de bastones, ácido alcohol resistente, que se clasifican en dos grandes grupos: patógenos obligados y patógenos facultativos, estos últimos también denominados micobacterias oportunistas o atípicas (Greene 2012).

Las bacterias del género *Mycobacterium* spp. no se tiñen con las coloraciones de rutina (Figura 5.3). Por ello, los bastones con tinción negativa se observan en el citoplasma de los macrófagos, macrófagos epitelioides y células gigantes. Ante la presencia de estas células en preparados citológicos, en las que, luego de una cuidadosa búsqueda no se observan microorganismos pero sí imágenes negativas, debería recurrirse a coloraciones para organismos ácido alcohol resistentes como es la Tinción Ziehl Neelsen (Figura 5.4).

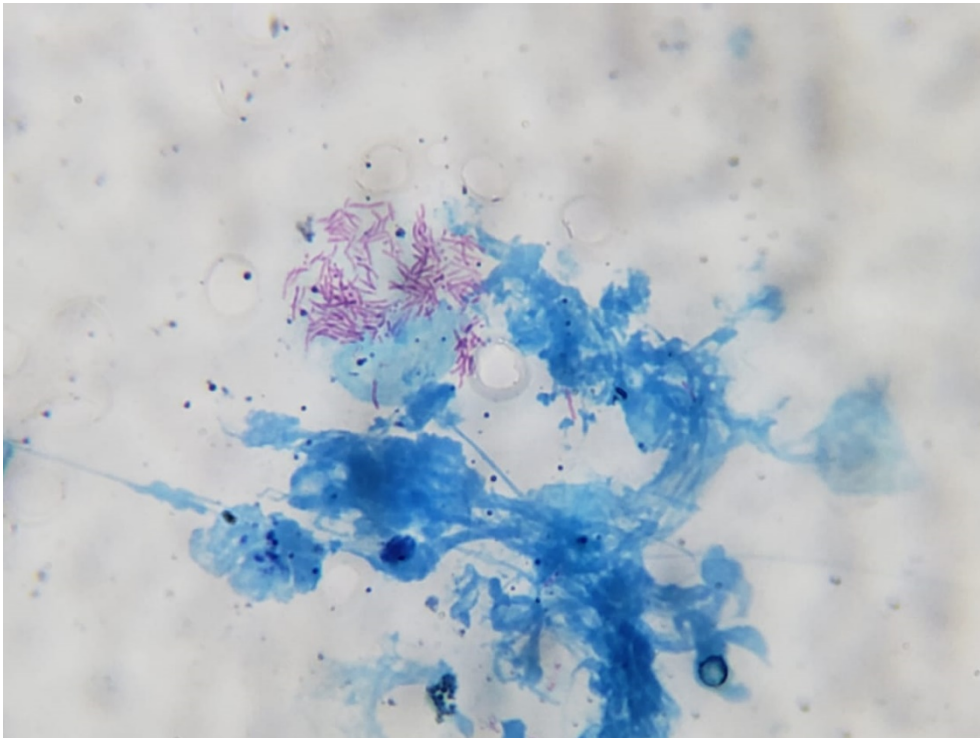
Debido a que, a menudo, son refractarios a la terapia con antibióticos y el cultivo puede demorar, la citología resulta muy útil para indicar rápidamente la presencia de estos microorganismos (Lane 2015, Raskin 2016).

Figura 5.3. *Mycobacterium* spp.



Citoplasma de macrófagos con bacilos (imágenes negativas). Tinción Color Fast, Biopack®. Obj 100X.

Figura 5.4. *Mycobacterium spp.*



Bacilos ácido-alcohol resistentes (color rosa). Tinción Ziehl Neelsen, Britani®. Obj 100X.

Hongos

Los procesos infecciosos producidos por hongos (micosis) se caracterizan por producir lesiones granulomatosas con presencia de neutrófilos, macrófagos, células epitelioides, linfocitos y células plasmáticas. En algunas ocasiones, se observan solamente neutrófilos y eosinófilos. (Gross 2005, Greene 2012).

Sporothrix schenckii

Sporothrix schenckii es un hongo dimórfico que a menudo se encuentra en forma de levadura a temperatura corporal (37° C). La transmisión es a través de la inoculación directa por arañazos o mordeduras y, con menor frecuencia, por inhalación (Greene 2012).

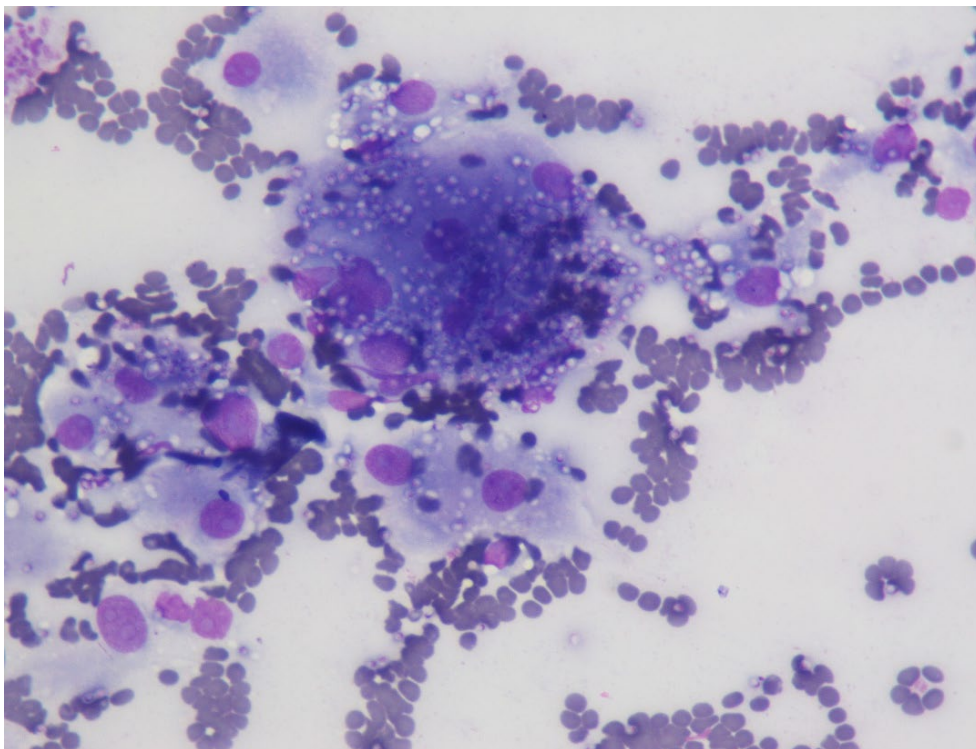
La respuesta inflamatoria es piogranulomatosa. En los gatos es frecuente hallar numerosas levaduras, a diferencia de la escasa cantidad que se encuentran en caninos. Estos hongos pueden hallarse libres o en el interior de las células. Su forma es redonda u ovalada a fusiforme ("forma de cigarro"), mide aproximadamente de 1 a 3 μm de ancho y de 3 a 9 μm de largo, contienen citoplasma azul claro y pared celular delgada y transparente (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Histoplasma capsulatum

Histoplasma capsulatum es un hongo dimórfico de distribución mundial. El microorganismo crece en el suelo y material contaminado con excrementos de aves o murciélagos (guano). La infección en personas y animales probablemente se produce por inhalación de las esporas de la fase micelial. Las infecciones pueden ser localizadas o diseminadas y los síntomas dependen del tejido afectado. *H. capsulatum* se puede encontrar en la piel, linfonódulos, órganos internos, articulaciones, médula ósea, sangre periférica, o, rara vez, en líquido cefalorraquídeo (LCR). (Greene 2012). La respuesta inflamatoria es piogranulomatosa con abundante cantidad de microorganismos en macrófagos y, ocasionalmente, en neutrófilos.

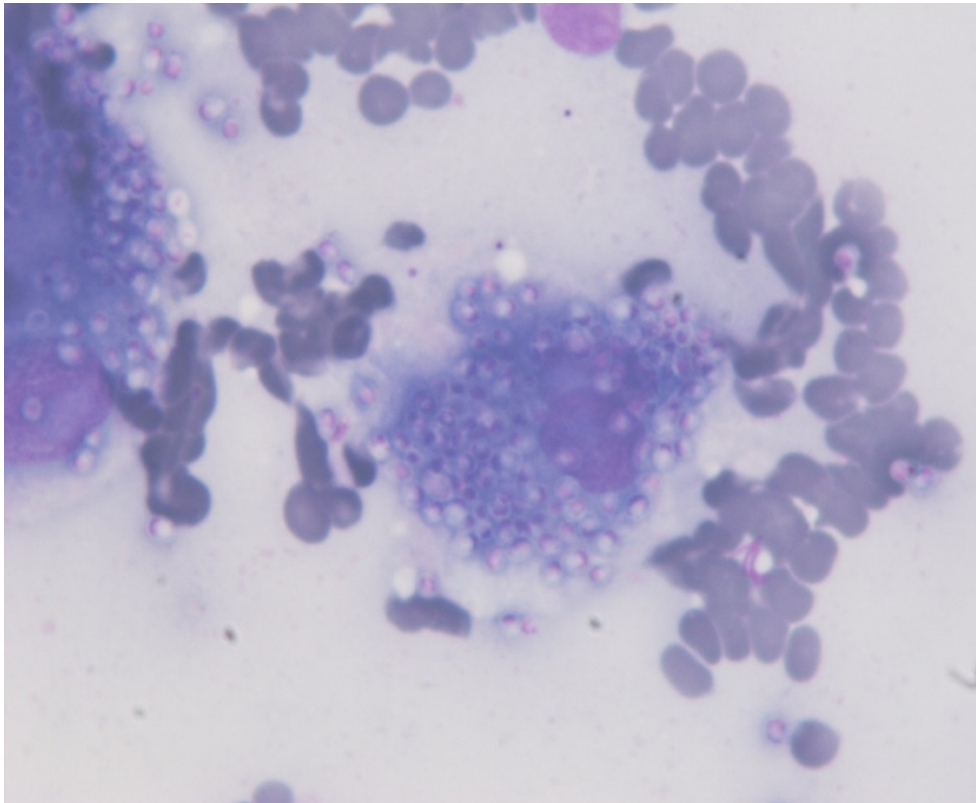
Los microorganismos se describen como pequeñas levaduras, de 2 a 4 µm de diámetro y de forma redonda a ovalada, con un núcleo excéntrico en forma de medialuna de color rosa a púrpura, con citoplasma azul claro y una pared celular delgada. Puede observarse un brote con un cuello estrecho (Figuras 5.5, 5.6 y 5.7) (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Figura 5.5. *Histoplasma spp.*



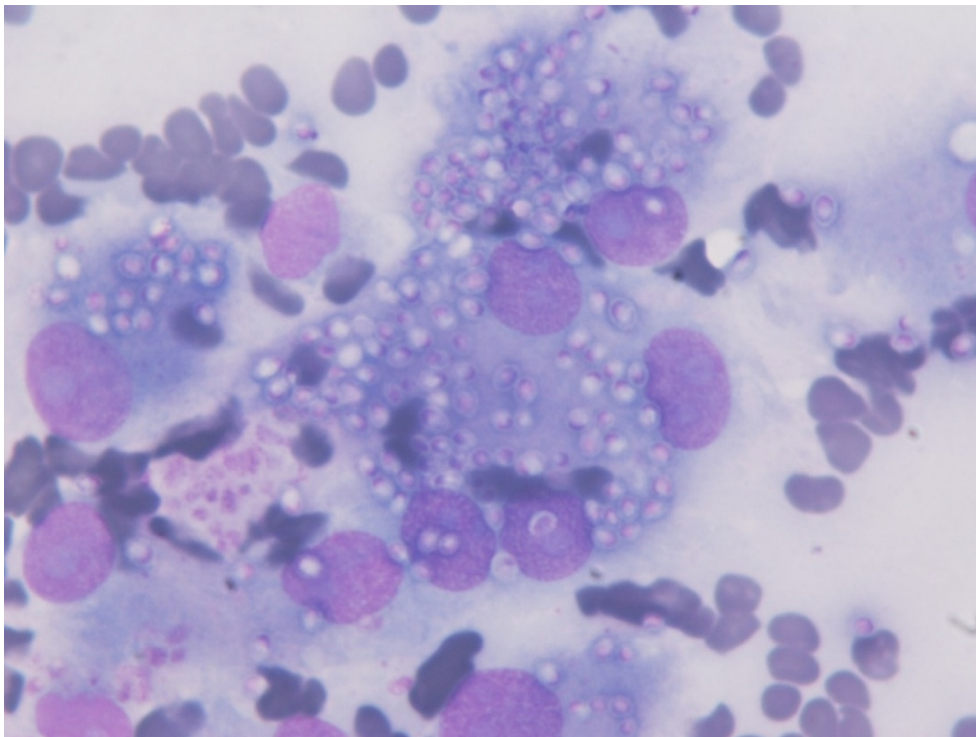
Tinción 15, Biopur®. Obj 20X.

Figura 5.6. *Histoplasma spp.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Figura 5.7. *Histoplasma spp.*



Abundantes microorganismos intracitoplasmáticos en células gigantes multinucleadas. Tinción 15, Biopur®. Obj 100X

Blastomyces dermatitidis

Blastomyces dermatitidis es un hongo dimórfico. La mayoría de los casos de blastomicosis se deben a la inhalación de esporas de la fase micelial.

Este hongo no puede transmitirse a través de aerosoles entre animales y humanos; sin embargo, la inoculación directa puede producir infecciones en humanos. La blastomicosis en perros y gatos puede diseminarse y producir lesiones pulmonares, oculares, cutáneas y óseas. Las lesiones cutáneas se encuentran comúnmente en la nariz y las extremidades y, por lo general, están ulceradas (Greene 2012).

La respuesta inflamatoria es piogranulomatosa, con variable cantidad de microorganismos. Estos a menudo están rodeados de neutrófilos o bien, más raramente, pueden observarse en los macrófagos. *B. dermatitidis* es de tamaño mediano, esféricos, de 5 a 20 µm de diámetro, color azul oscuro, con una doble pared gruesa y refractaria y ocasionalmente se observa una gemación de base ancha (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

***Cryptococcus* spp.**

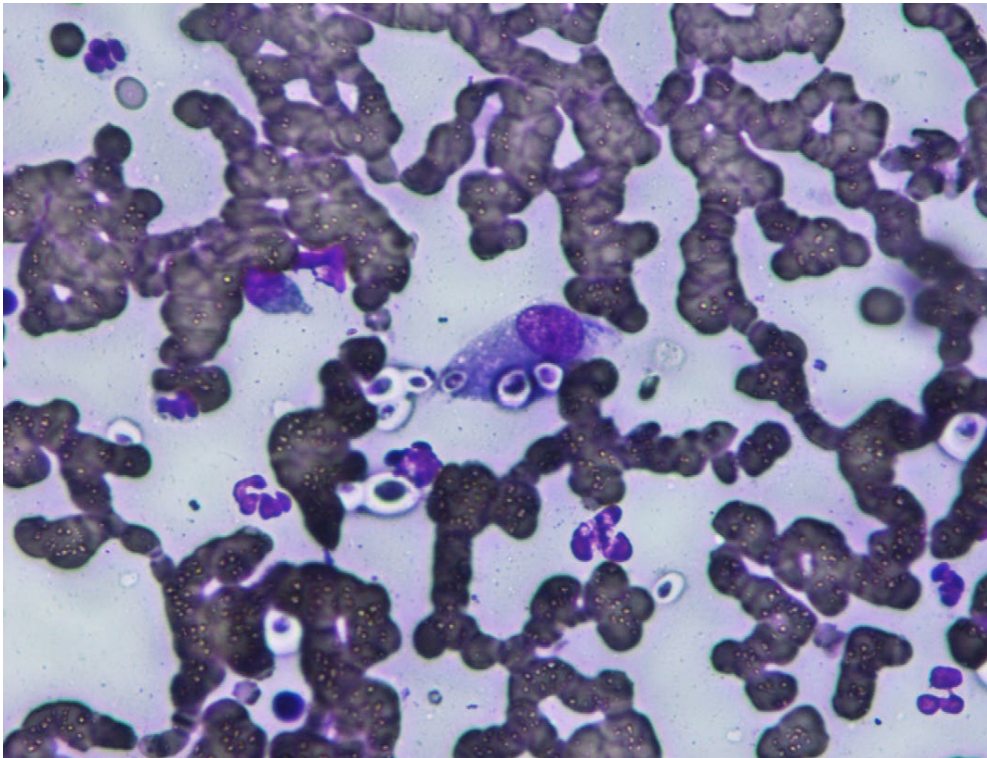
Las dos especies patógenas más comunes son *Cryptococcus neoformans* y *C. gattii*. Estos son hongos dimórficos que se encuentran en forma de levadura a 37° C, aunque rara vez se han informado formas de hifas. *C. neoformans* se encuentra en todo el mundo, mientras que *C. gattii* se encuentra principalmente en regiones tropicales y subtropicales.

La infección de las vías respiratorias superiores es más común en los gatos y forma una masa en la cavidad nasal que puede incluso invadir el seno frontal. Se pueden observar otitis media, adenopatías mandibulares, lesiones orales y lesiones cutáneas. También puede alcanzar al sistema nervioso central, ojos o incluso ser sistémico. Los perros a menudo desarrollan una enfermedad diseminada grave, con compromiso del sistema nervioso central, ojos, sistema urinario y cavidad nasal. Los organismos pueden verse en aspirados de lesiones masivas y en líquido cefalorraquídeo (Greene 2012).

En las muestras se observan principalmente macrófagos, linfocitos y neutrófilos. En el líquido cefalorraquídeo se observan eosinófilos.

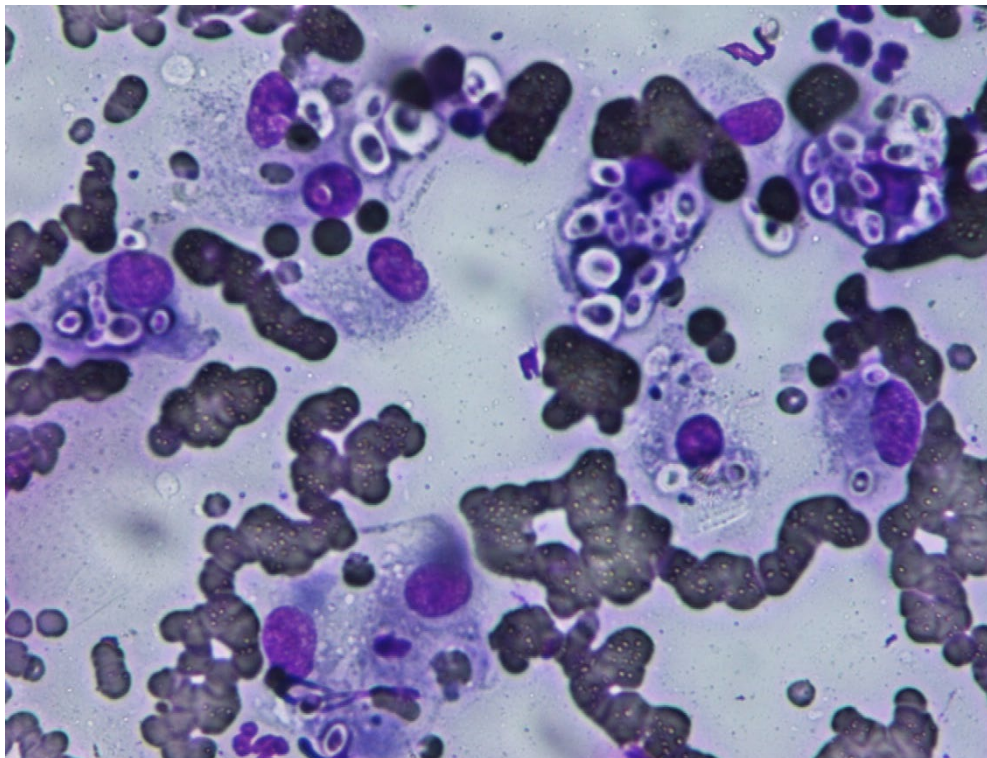
Estos microorganismos poseen un polisacárido que no permite colorear la cápsula o solo se observa de un color rosa claro (“cubierta rugosa”). Es posible encontrar formas no encapsuladas. Estos hongos son redondos, ovalados o alargados, miden aproximadamente de 4 a 15 µm sin cápsula, o de 8 a 40 µm con cápsula y, ocasionalmente, se puede observar la gemación (Figura 5.8 y 5.9) (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Figura 5.8. *Cryptococcus spp.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Figura 5.9. *Cryptococcus spp.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.60X.

***Coccidioides* spp.**

La coccidioidomicosis es causada por *Coccidioides immitis* o *C. posadasii*. Son hongos dimórficos que forman esférulas a 37° C, las que internamente se dividen para formar endosporas.

La enfermedad pulmonar es común en los perros y puede diseminarse sistémicamente e involucrar los huesos, ojos, corazón, pericardio, sistema nervioso central, bazo, hígado y riñones. En los perros, las lesiones cutáneas supurativas se asocian con lesiones óseas subyacentes. En los gatos las lesiones óseas son raras (Greene 2012).

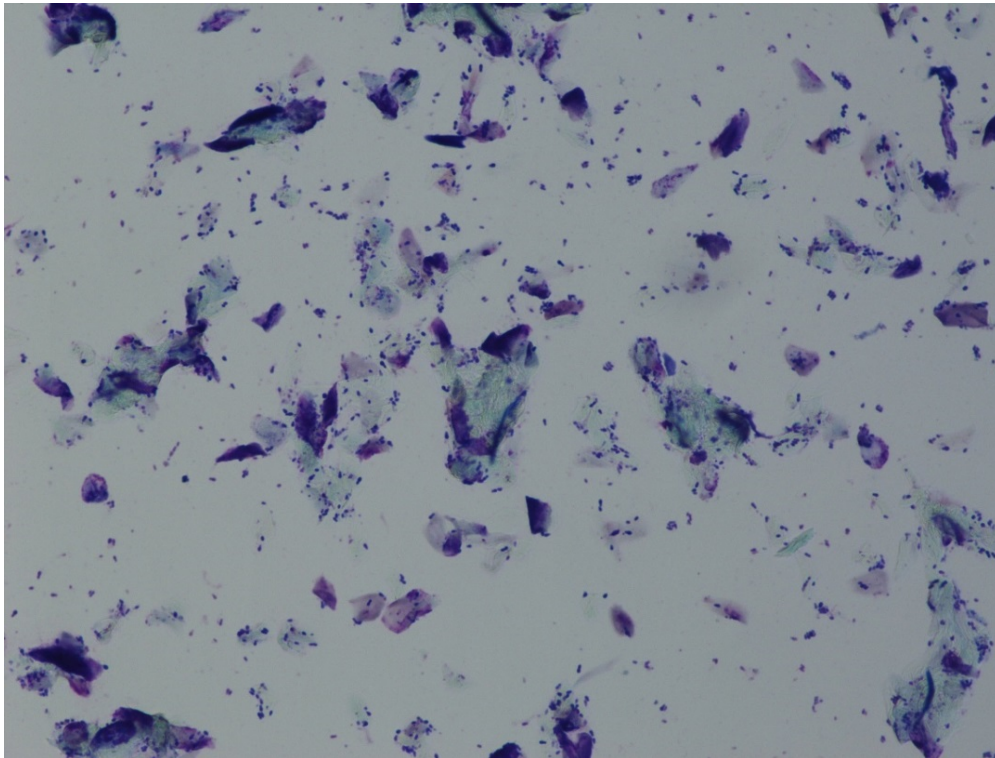
La inflamación característica es piogranulomatosa y puede contener muy pocos microorganismos. Estos se observan como estructuras redondeadas, azules, que miden aproximadamente de 10 a 200 µm de diámetro. Son de pared doble y contienen protoplasma finamente granular. Las endosporas se pueden observar dentro de las esférulas, fagocitadas por neutrófilos o macrófagos y dispersas en el fondo. Las endosporas son pequeñas, redondas u ovoides, de aproximadamente 2 a 5 µm de diámetro, contienen una pared delgada, citosol claro a azul claro a púrpura y núcleo excéntrico. Las esférulas de tamaño pequeño a mediano pueden parecerse morfológicamente a *B. dermatitidis*. Sin embargo, la falta de gemación, la variación de tamaño de las esférulas y la presencia de endosporas ayudan a identificar *Coccidioides* spp. (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

***Malassezia* spp.**

Malassezia spp. son un grupo de levaduras lipofílicas no micelioides, de las cuales *M. pachydermatis* es un comensal y oportunista común de la piel. Patógeno en perros y gatos. Los ambientes cálidos y húmedos de la piel, como como las orejas, el mentón, las axilas, la ingle y los pies, suelen verse afectados en los perros. (Gross 2005).

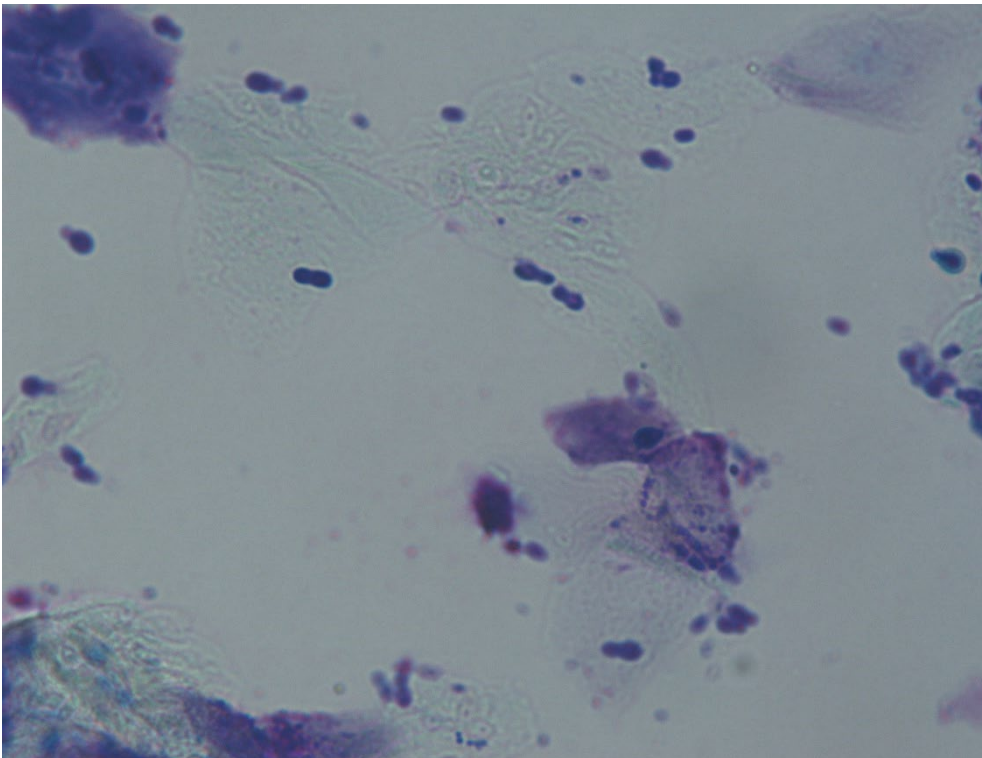
Estas levaduras son pequeñas, Gram positivas, típicamente en forma de maní o de huella de bruja, puede ser globoso o elipsoidal (Figuras 5.10 y 5.11) (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Figura 5.10. *Malassezia spp*



Abundante cantidad de microorganismos y células epiteliales queratinizadas. Tinción 15, Biopur®. Obj.20X.

Figura 5.11. *Malassezia spp.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.60X

Dermatofitos

Microsporum y *Trichophyton* spp. son hongos queratinofílicos que comúnmente causan dermatofitosis (tiña) en perros y gatos. La dermatofitosis es zoonótica y se pueden observar lesiones similares en humanos.

Las lesiones son costrosas, focales, escamosas y alopécicas y ocurren en la cabeza, patas y cola de los animales. A partir de raspados en el borde de las lesiones activas se pueden visualizar los dermatofitos. Se pueden identificar en preparaciones de inmersión en aceite sin teñir (con o sin tratamiento con hidróxido de potasio al 10%), o extendidos secados al aire teñidos con coloraciones de rutina. Se pueden utilizar también, para su identificación, tinción de plata o reacción de ácido periódico de Schiff (Gross 2005).

En algunas ocasiones puede observarse inflamación piogranulomatosa e identificar al micelio fúngico y las artrosporas en la superficie de las células epiteliales, libres o en el interior de los pelos (*Trichophyton* spp.) o en la superficie de los pelos (*Microsporum* spp.) (Gross 2005, Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

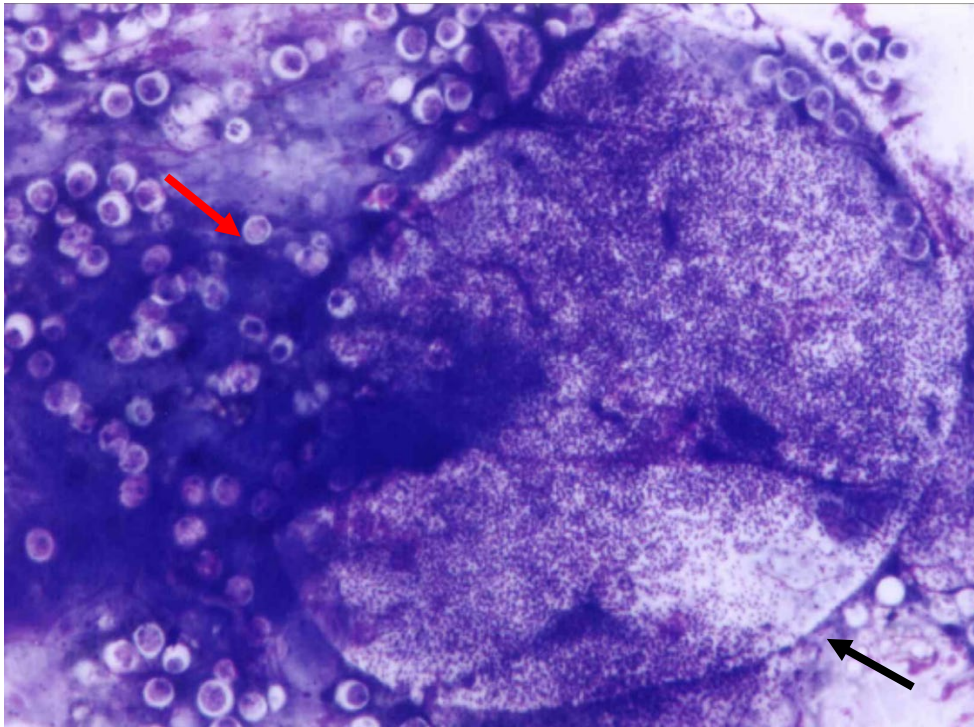
Otros microorganismos

Muchos hongos y organismos similares a hongos que infectan a perros y gatos pueden formar hifas en el tejido. Estos incluyen patógenos oportunistas (microflora comensal, por ejemplo *Candida albicans*), y hongos saprofitos que causan zigomicosis, hialohifomicosis y eohifomicosis. Los organismos fúngicos a menudo inducen una respuesta inflamatoria granulomatosa y con muchos eosinófilos. Aunque las características de las hifas como el ancho, la ramificación, tabiques, formación de pseudohifas, tinción e imágenes negativas pueden sugerir un organismo específico, el diagnóstico definitivo requiere cultivo y evidencia histopatológica de invasión tisular.

Rhinosporidium seeberi

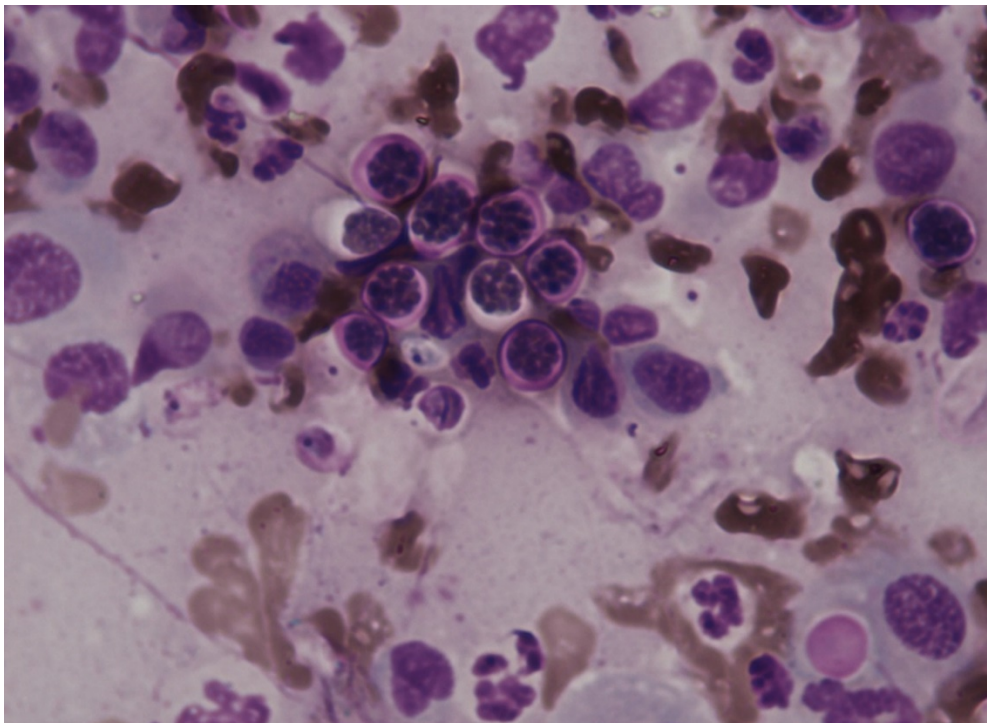
Rhinosporidium seeberi es un patógeno eucariótico Mesomycetozoea (una clase entre hongos y animales). Generalmente se encuentra en regiones tropicales y se asocia con ambientes acuáticos (Greene 2012). La rinosporidiosis se caracteriza en perros y gatos por crecimientos nasales polipoides con una superficie granular. Se diagnostica al encontrar endosporas maduras redondas u ovales en exudados nasales o en improntas tisulares. Las endosporas maduras tienen aproximadamente de 7 a 15 μm de diámetro, se tiñen de rosa brillante, con estructuras rosadas intensas rodeadas de paredes celulares dobles. Pueden hallarse esporangios grandes de 100 a 450 μm (Figura 5.12 y 5.13) (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Figura 5.12. *Rhinosporidium seeberi*.



Presencia de endosporas maduras (flecha roja) en el interior de esporangios (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj.20X

Figura 5.13. *Rhinosporidium seeberi*.



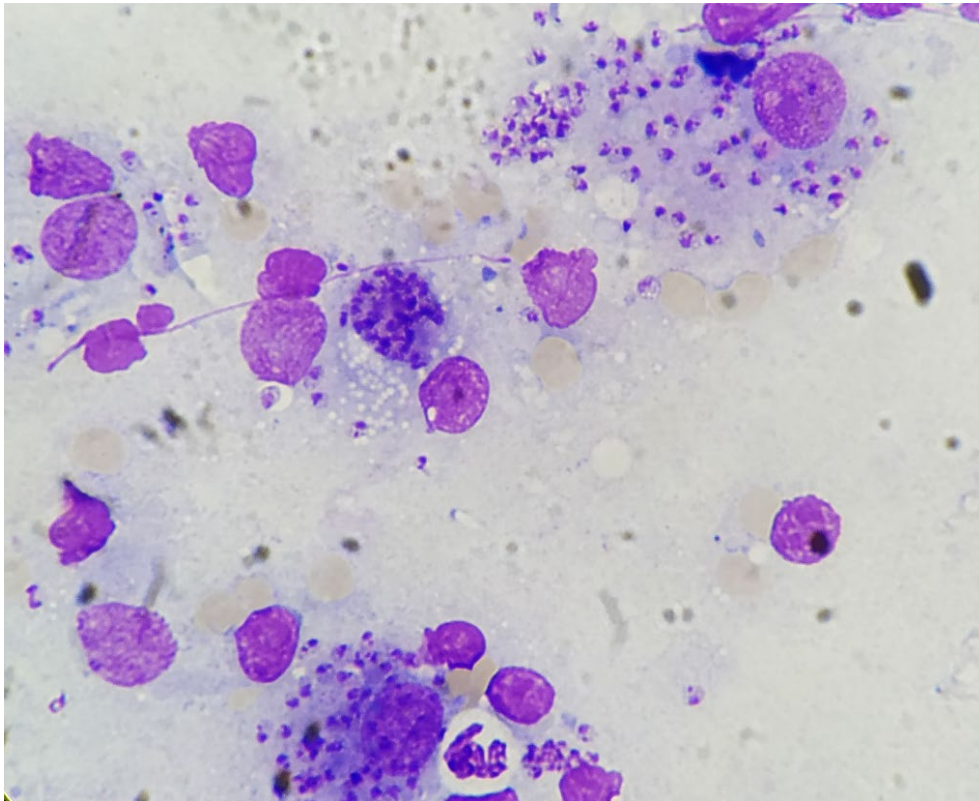
Presencia de endosporas maduras. Tinción 15, Biopur®.Obj.100X.

Protozoos

Leishmania spp.

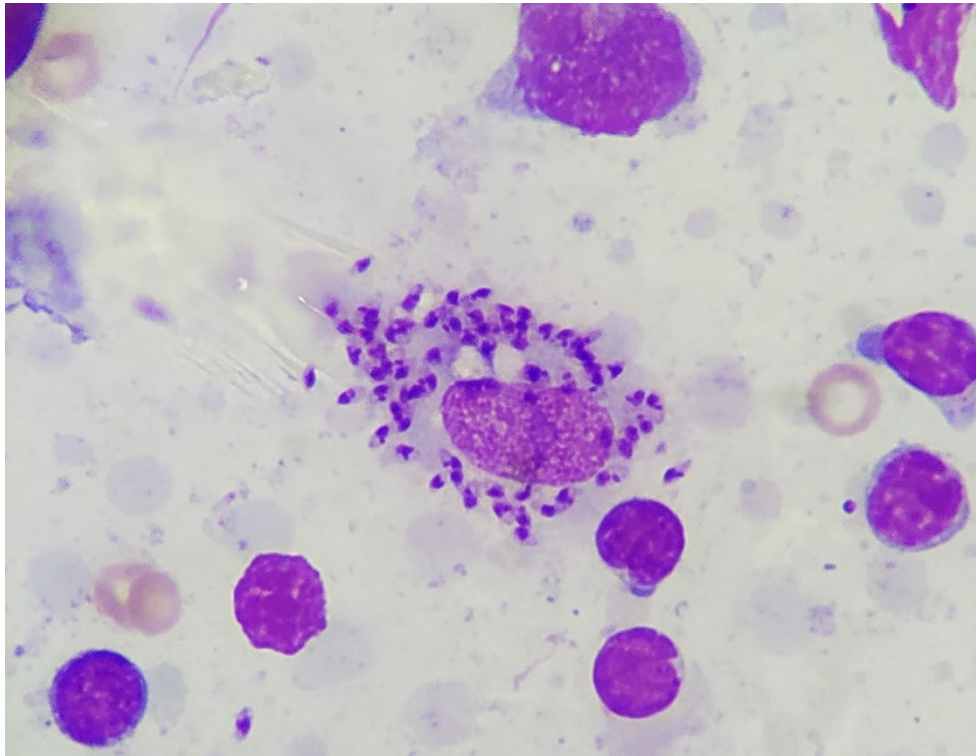
Los perros son el principal reservorio de *Leishmania infantum* (chagasi), que causa la leishmaniasis visceral humana. Es endémica en la cuenca del Mediterráneo, Oriente Medio y América del Sur. Los flebótomos son el principal vector de transmisión en áreas endémicas, y solo un pequeño porcentaje de perros infectados desarrollan la enfermedad clínica. Los organismos se pueden encontrar en cualquier tejido o líquido corporal. La infección produce lesiones cutáneas, linfadenomegalia y esplenomegalia. Los amastigotes de *Leishmania* spp. se pueden ver en la impresión o frotis de lesiones ulcerativas, aspirados de nódulos, linfonódulos, bazo o médula ósea, que a menudo tienen inflamación piogranulomatosa o granulomatosa (Greene 2012). Los amastigotes son ovoides, de aproximadamente 2,5 a 5 μm de largo y de 1,5 a 2 μm de ancho, y contienen un núcleo ovalado de color rosa a púrpura y un cinetoplasto pequeño, de color azul oscuro a púrpura, en forma de bastoncillo (Figura 5.14 y 5.15) (Albanese 2017, Lane 2015, Raskin 2016).

Figura 5.14. *Leishmania* spp.



Presencia de amastigotes libres y en el interior de macrófagos. Tinción May Grunwald Giemsa. Obj.40X.
(Cortesía Dr. Ricardo Sánchez, ROSLAB Concordia, Entre Ríos)

Figura 5.15. *Leishmania* spp.



Presencia de amastigotes en el interior de macrófagos. En esta imagen se hace visible el cinetoplasto. Tinción May Grunwald Giemsa. Obj. 100X. (Cortesía Dr. Ricardo Sánchez, ROSLAB Concordia, Entre Ríos)

Referencias

- Albanese F (2017). Cytology of Canine and Feline Non-neoplastic Skin Diseases. En F Albanese (Ed), *Canine and feline skin cytology*. (77-290). First edition. Cham, Switzerland: Springer International Publishing
- Greene CE (2012). Rhinosporidiosis. En CE Greene (Ed), *Infectious Diseases of dog and cat* (702-704). Fourth edition. St. Louis, USA: Saunders Elsevier.
- Gross TL (2005). Infectious nodular and diffuse granulomatous and pyogranulomatous diseases of the dermis. En TL Gross, PJ Ihrke, EJ Walder, VK Affolter (Eds), *Skin disease of the dog and cat*. (273-319). Second Edition. Ames, USA: Blackwell Science Ltd.
- Lane LV (2020). Selection infectious agents. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell and Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat* (44-64). Fifth Edition St. Louis, USA: Elsevier.
- Raskin RE (2016). Skin and subcutaneous tissues. En RE Raskin y DJ Meyer (Eds), *Canine and feline cytology, a color atlas and interpretation guide* (34-90). Third Edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 6

Estudio citológico de la piel

Mariana Machuca, Adriana Massone y Luciano Casas

En dermatología veterinaria, la evaluación citológica es uno de los métodos complementarios más utilizados, pues nos permite definir procesos neoplásicos, inflamatorios e infecciosos y establecer su estirpe celular, orientando al clínico en la dirección diagnóstica apropiada. En ocasiones es posible hallar agentes etiológicos primarios, secundarios y oportunistas. Además, muchas veces se puede confirmar o descartar un diagnóstico presuntivo, controlar la evolución del proceso y evaluar la eficacia del tratamiento.

La citología cutánea habitualmente solo requiere la sujeción física del paciente, aunque, en ocasiones, en pacientes indóciles o en lesiones con ubicaciones molestas para el animal, como por ejemplo la cara, es necesario realizar una sedación previa a la toma de muestras. El estudio citológico de la piel es un procedimiento incruento, rápido, sencillo de realizar, de bajo costo y que habitualmente se utiliza en la consulta clínica diaria. Generalmente, aporta datos suficientes como para reducir la lista de diagnósticos diferenciales y desarrollar un efectivo plan de diagnóstico.

Las lesiones cutáneas son variadas, pudiendo incluir masas sólidas o quísticas, erosiones, úlceras, pústulas, vesícula, tractos fistulosos, y procesos difusos con cambios secundarios diversos. Cabe destacar que la citología tendrá valor diagnóstico, solo cuando se evalúa en forma conjunta con el resto del examen físico y otros estudios complementarios, tales como estudios de sangre, ultrasonografías, ecografías, etc.

Preparación de la zona y técnica de muestreo

La preparación de la zona de la que se van a obtener las muestras y la elección de la técnica más adecuada, dependerán del tipo de lesión.

Tipos de lesiones

Masas

Previo a tomar una muestra se debe rasurar la zona, limpiar y desinfectar con alcohol etílico al 70%, diacetato y gluconato de clorhexidina al 1-4% y/o iodopovidona. En masas de consistencia firme se puede utilizar la punción aspiración con aguja fina (PAAF) con el fin de exfoliar mayor cantidad de células. Otra opción es realizar punción con aguja fina (PAF). De las masas que

contienen líquido, pueden hacerse extendidos en forma directa o bien enviarlos en un tubo con EDTA para su citocentrifugación y posterior extendido. Cuando una masa posee cavidades quísticas y áreas sólidas deben tomarse muestras de ambas (Fisher 2020).

Erosiones y úlceras

Se recomienda realizar improntas sobre la superficie de las lesiones ulcerativas o erosiones, sin previa limpieza de la zona. A continuación, se deberá realizar una tricotomía de la zona en animales de pelaje largo, limpiar la úlcera con solución salina estéril, lavando secreciones y costras, para finalmente secar la lesión con un material absorbente y tomar nuevas muestras mediante improntas o raspados. A diferencia de las improntas, los raspados de lesiones ulcerativas permiten exfoliar una abundante cantidad de material (Fisher 2020).

Pústulas y vesículas

Tanto en caninos como en felinos, es difícil encontrar pústulas o vesículas intactas, pues son frágiles y transitorias. Cuando se observa una vesícula, la biopsia se debe realizar de inmediato, sin previa preparación de la zona (tricotomía y limpieza). Con una aguja estéril, se debe punzar la pústula o vesícula y realizar un extendido del material contenido en la aguja sobre un portaobjetos. Una vez realizada la punción, pueden hacerse improntas o raspados (Fisher 2020).

Trayectos fistulosos

Se recomienda introducir un hisopo seco o embebido en solución salina estéril en el trayecto fistuloso, dependiendo de si la fístula presenta o no algún tipo de secreción. Luego se realizan los extendidos, haciendo girar el hisopo sobre un portaobjetos limpio y seco (Fisher 2020).

Lesiones húmedas o seborreicas

Las muestras se toman mediante raspados superficiales, improntas o hisopados, según el tipo de lesión presente (Fisher 2020).

Evaluación citológica

Desde el punto de vista de la citología, las lesiones cutáneas pueden ser clasificadas como inflamatorias (infecciosas y no infecciosas), con contenido fluido y neoplásicas. En la elaboración de un diagnóstico diferencial, resultan imprescindibles los datos aportados por una historia clínica completa y, muchas veces, es de utilidad el razonamiento ordenado basado en algoritmos. Las lesiones inflamatorias infecciosas están desarrolladas en el capítulo 5 (Agentes infecciosos).

Según el o los tipos de células predominantes, las lesiones inflamatorias pueden ser primariamente clasificadas como purulentas, piogranulomatosas, granulomatosas, eosinofílicas o linfoplasmocíticas. Esta evaluación inicial puede orientar en la búsqueda de probables agentes etiológicos.

Lesiones inflamatorias no infecciosas

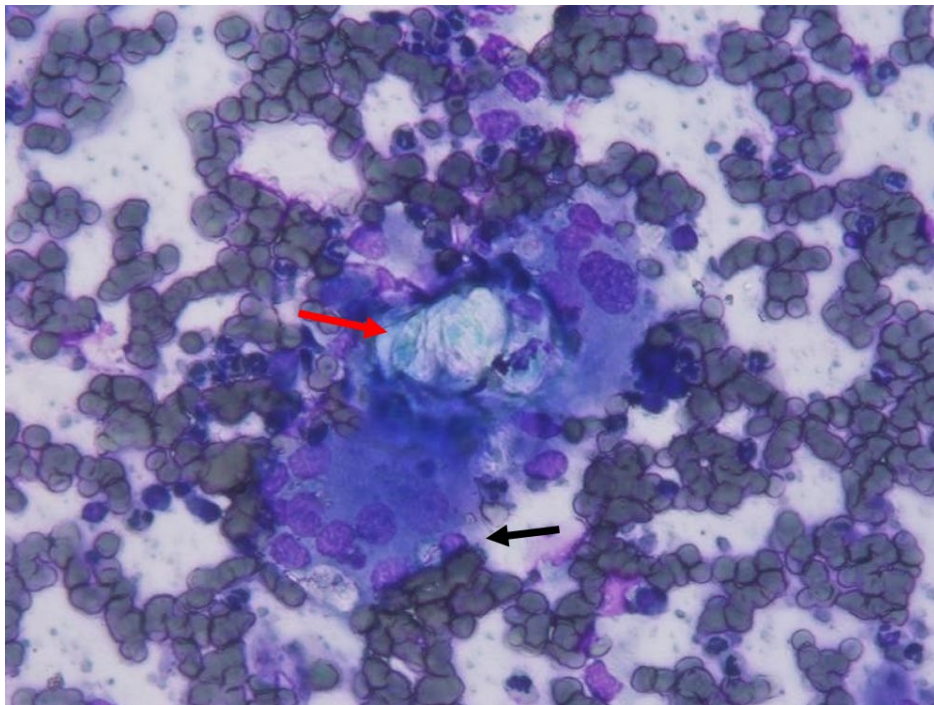
Respuesta a inyecciones, incluyendo vacunaciones

En muchos casos, la historia clínica es suficientemente orientativa, pero el examen citológico sirve para descartar procesos infecciosos o neoplásicos. En las muestras abundan las células mononucleares, con predominio de macrófagos o de linfocitos y células plasmáticas, según su sitio de extracción. Lo más característico es la presencia de un material amorfo, homogéneo, brillante, de color rosado intenso, tanto dentro como fuera de los macrófagos. También pueden observarse células fusiformes reactivas, con características citológicas que pueden sugerir una neoplasia. Sin embargo, su escasa cantidad es de ayuda en el diagnóstico diferencial (Fisher 2020).

Granulomas estériles de cuerpo extraño

Generalmente son piogranulomas con mezclas variables de neutrófilos y macrófagos (incluyendo células epitelioides y gigantes). El cuadro citológico puede incluir proporciones menores de eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas. En algunos casos puede constatare la presencia de material refractario (Figura 6.1), sobre todo con el uso de luz polarizada (Fisher 2020).

Figura 6.1. *Granuloma estéril de cuerpo extraño.*

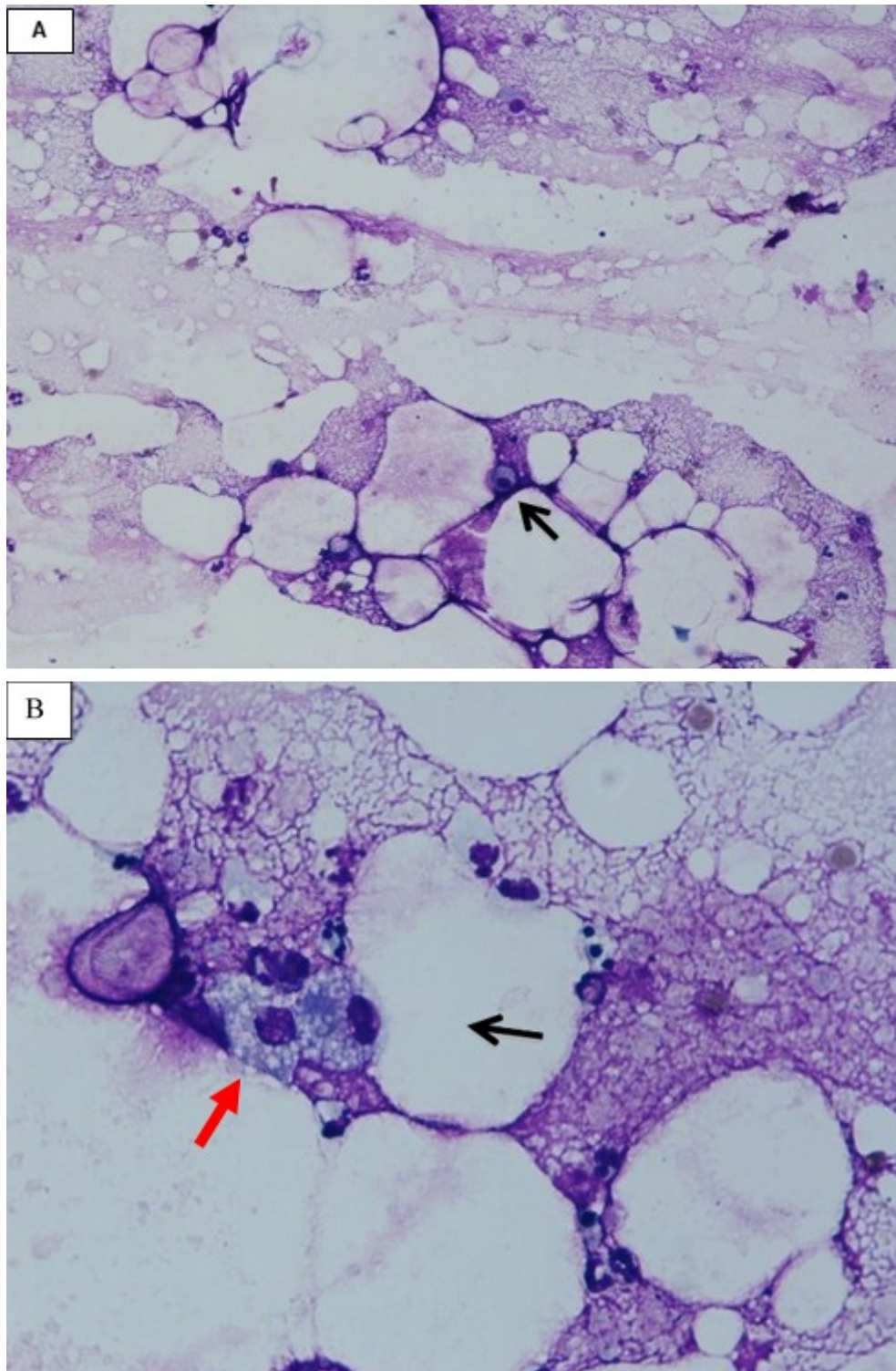


Célula gigante multinucleada (flecha negra). Macrófagos y escasos neutrófilos rodeados por material extraño refractario (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Paniculitis

En la necrosis e inflamación del tejido adiposo subcutáneo puede observarse una mezcla de células adiposas, gotas lipídicas libres, macrófagos, células gigantes y células fusiformes reactivas. Las tres últimas células pueden presentar vacuolas de tamaño variable, indicativas de ingestión de lípidos (Figura 6.2 A y B) (Fisher 2020).

Figura 6.2 A y B. Paniculitis.



A) Macrófagos y múltiples gotas lipídicas (flechas negras). Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X. **B)** Macrófagos (flecha roja) y gotas lipídicas (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

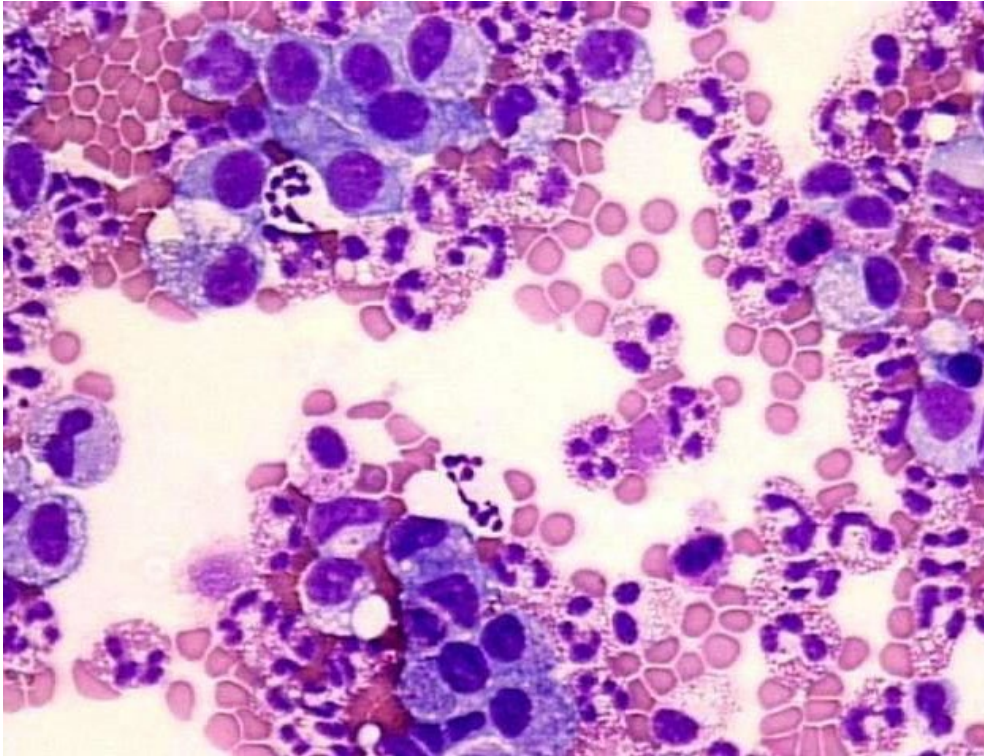
Complejo eosinofílico

En las lesiones características predominan los eosinófilos y gránulos eosinofílicos libres, como resultado de la ruptura celular. Los neutrófilos y macrófagos tienden a ser escasos, lo

mismo que los fibroblastos, los que pueden presentar atipia celular, a veces marcada. En algunos casos no se observan eosinófilos (Figura 6.3).

La presencia de gran cantidad de eosinófilos también puede asociarse con reacciones por hipersensibilidad, necrosis del colágeno, parásitos, hongos, bacterias y neoplasias (mastocitoma, carcinoma mucinoso). Por tal motivo, su hallazgo debe ser seguido por la extracción de biopsias para estudios histopatológicos (Fisher 2020).

Figura 6.3. *Proceso eosinofílico. Granuloma eosinofílico.*



Predominio de eosinófilos con escasos neutrófilos y moderada cantidad de macrófagos. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Lesiones con contenido fluido

Hematoma

El líquido obtenido es rojo o rojo parduzco y contiene numerosos hematíes y cantidad variable de neutrófilos y macrófagos. Estos generalmente contienen eritrocitos intactos (eritrofagia) o hemosiderina. No se observan plaquetas (Fisher 2020).

Absceso

El líquido obtenido suele ser cremoso y de color amarillo, rosado o parduzco. Los extendidos muestran una densa población celular con más del 90% de neutrófilos, escasos macrófagos y ocasionales linfocitos. La proporción de neutrófilos degenerados varía con la causa. Los abscesos debidos a inyecciones de base oleosa pueden contener material refractivo (Fisher 2020).

Quistes serosos

El líquido obtenido es acuoso, transparente hasta amarillo parduzco y de baja celularidad. Se observan macrófagos y células que tapizan el quiste, de forma y tamaño variable, con núcleo central o excéntrico y citoplasma frecuentemente vacuolado (Fisher 2020).

Lesiones neoplásicas

Los tumores primarios de la piel y anexos se clasifican sobre la base de la diferenciación histopatológica e incluyen neoplasias y lesiones de tipo tumoral. Su alta prevalencia, y el hecho de que sean los más visibles y accesibles, hacen que constituyan un motivo frecuente de consulta clínica. Sus características citológicas pueden ayudar a distinguir neoplasias benignas de malignas y, en muchos casos, identificar su origen. No obstante, en la mayor parte de los casos se hace necesario el estudio histopatológico para la formulación del diagnóstico definitivo y para la evaluación de otros aspectos anatomopatológicos que contribuyen a predecir el comportamiento biológico de la enfermedad neoplásica.

Entre los datos aportados por el clínico que resultan de suma utilidad para una orientación inicial se incluyen la edad, la raza, la descripción macroscópica y la ubicación, según su localización anatómica y la(s) capa(s) comprometidas, indicando si se trata de masas intraepidérmicas, dermoepidérmicas, dérmicas o subcutáneas.

Por conveniencia, para favorecer un razonamiento secuencial y una mejor evaluación de los hallazgos citológicos, las neoplasias cutáneas se clasifican en:

- Tumores de células redondas
- Tumores de origen epitelial
- Tumores de origen mesenquimático
- Tumores melanocíticos

Las células tisulares en las muestras citológicas pueden provenir de tejidos normales, hiperplásicos, displásicos y/o neoplásicos. Las características generales de las células neoplásicas se describen en el capítulo 2.

Tumores de células redondas

Los tumores de células redondas forman una categoría en forma separada, y su clasificación se basa en su apariencia citológica/histológica, ya que se encuentran en forma de células aisladas, carecen de uniones de membrana celular o adherencias de matriz extracelular y presentan una forma redondeada. Por consiguiente, la morfología de las células es la característica que las agrupa. La mayoría de los tumores de células redondas tienen un origen hemolinfático y/o mesenquimático. Dentro de este grupo podemos identificar:

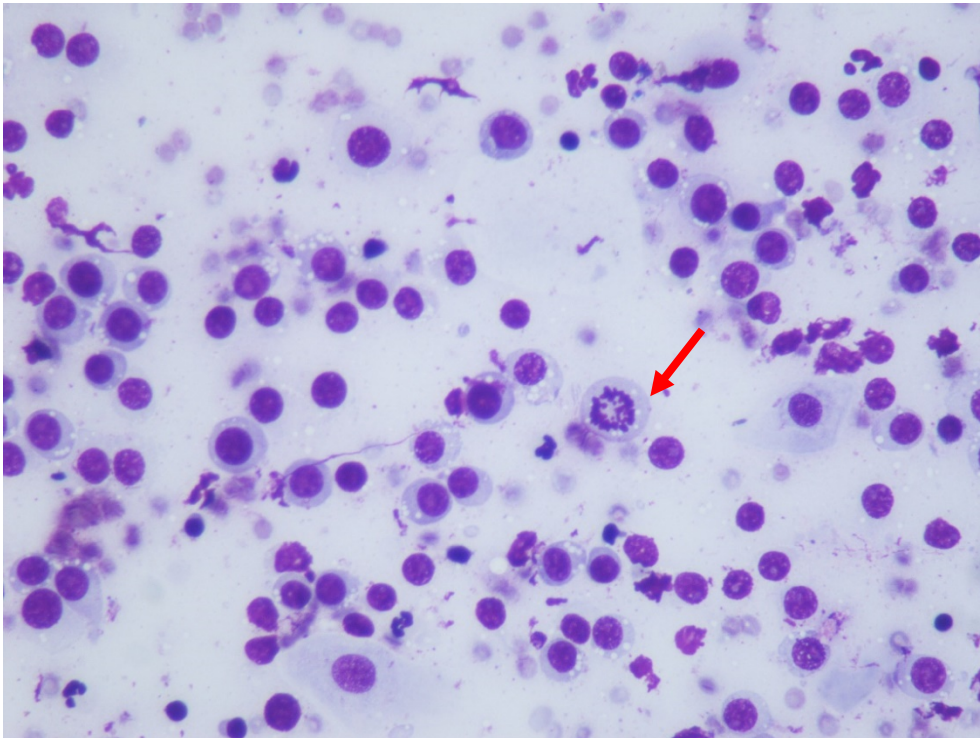
1. Tumor venéreo transmisible
2. Mastocitoma
3. Linfoma
4. Plasmacitoma extramedular
5. Tumores histiocíticos

En el diagnóstico diferencial deben tenerse en cuenta los tumores de células basales y los melanomas, los que, ocasionalmente, pueden presentar algunas características citológicas similares, fundamentalmente en la forma celular. En todos, las células se desprenden fácilmente, por lo que, generalmente, podemos encontrar abundante cantidad de células en las preparaciones. Si los extendidos son demasiado espesos, solamente se podrá observar la morfología celular en los bordes del preparado. Las células, al igual que las epiteliales, son redondeadas o ligeramente ovals y de bordes netos, pero, al igual que las mesenquimáticas, aparecen separadas entre sí, sin tendencia a formar grupos. Como regla general, las características citológicas asociadas con malignidad en neoplasias epiteliales y mesenquimáticas no son de gran utilidad para predecir el comportamiento biológico de los tumores de células redondas (Jacocks 2020).

1. Tumor venéreo transmisible (TVT)

Es una neoplasia que se presenta en los caninos de diferentes partes del mundo, siendo más frecuente en zonas urbanas tropicales y subtropicales. La neoplasia compromete principalmente los órganos genitales externos, aunque son frecuentes las localizaciones extragenitales, incluyendo la piel. El origen de las células neoplásicas es desconocido, pero es transmitido por implantación de células (Hendrick 2017, Jacocks 2020).

Los extendidos presentan gran cantidad de células redondas de tamaño variable. El citoplasma es de moderado a abundante, azulado o escasamente coloreado, y contiene variables cantidades de vacuolas pequeñas. Los núcleos son redondos, centrales, con uno o dos nucléolos evidentes y un patrón de cromatina finamente granular. Las figuras mitóticas son muy frecuentes y, en algunos casos, es posible observar figuras mitóticas anormales, aunque este hallazgo no es un criterio de malignidad en esta neoplasia. También es posible observar la presencia de linfocitos y células plasmáticas en la neoplasia en regresión (Jacocks y col. 2020) (Figura 6.4). Asimismo, algunos autores proponen una clasificación, basada en la morfología del núcleo, en tipo histiocitoide y tipo plasmacitoide, no encontrándose aun bibliografía que permita establecer alguna relación de los mismos con su comportamiento biológico.

Figura 6.4. *Tumor venéreo transmisible.*

Gran cantidad de células redondas del TVT. Figura mitótica aberrante (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

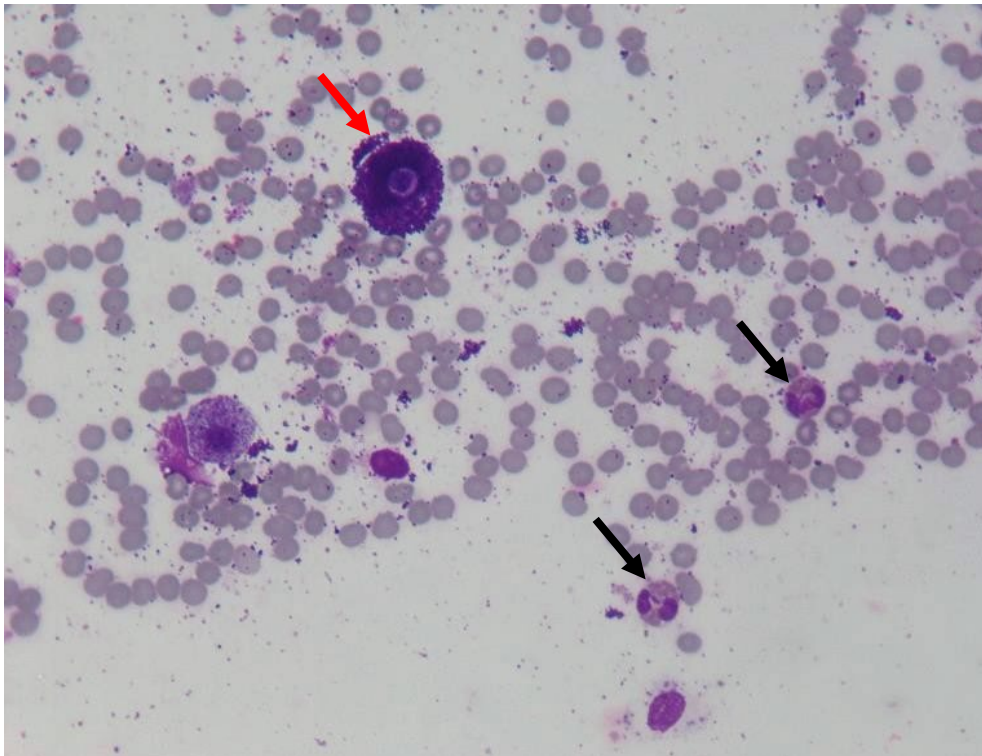
2. Mastocitoma

Es una de las neoplasias más comunes en caninos y felinos. Pueden ser cutáneos, subcutáneos o viscerales, observándose en los felinos un comportamiento relativamente benigno en las presentaciones cutáneas. En los caninos, y para el diagnóstico histopatológico, se han planteado gradaciones de los mastocitomas cutáneos. Las mismas se basan en las propuestas de Patnaik y col. 1984 (grados 1, 2 y 3) y de Kiupel y col. 2011 (alto y bajo grado de malignidad), siendo esta última gradación la más utilizada en la actualidad. En los mastocitomas subcutáneos no se aplican gradaciones y suelen ser menos agresivos. Asimismo, en los felinos tampoco se utilizan gradaciones (Jacocks y col. 2020). Para estudios citológicos de mastocitomas caninos se ha propuesto la utilización de una gradación basada en la clasificación de Kiupel. La misma considera a la neoplasia de alto grado cuando se observan, al menos, dos de los cuatro criterios de malignidad (Figura 6.5) y de bajo grado cuando hay ausencia o un solo un criterio de malignidad (Figura 6.5) (Camus y col. 2016, Kiupel 2017). Se consideran criterios de malignidad citológica:

- Anisocariosis más del 20%
- Figuras mitóticas
- Binucleación o multinucleación
- Pleomorfismo nuclear

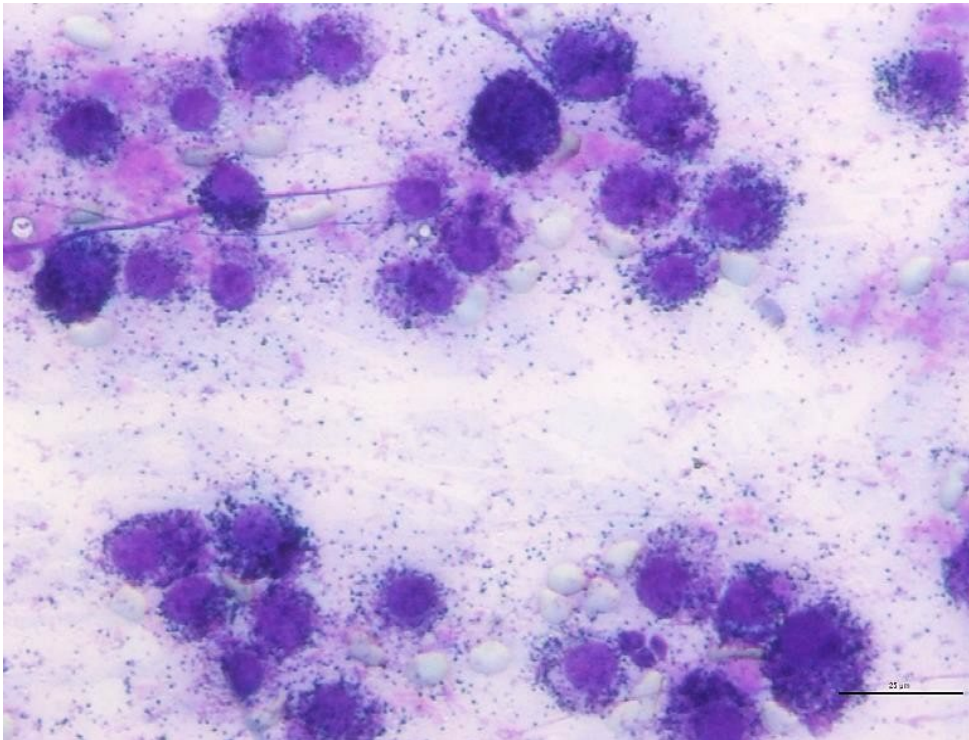
Además, cuando se pueden identificar bien las células neoplásicas, se los considera como bien diferenciados. Las células son redondas, de tamaño uniforme, relativamente grandes y contienen cantidades variables de gránulos citoplasmáticos rojo purpúreos, los que pueden, en ocasiones, enmascarar la imagen del núcleo. En estos casos es más frecuente que sean de bajo grado de malignidad, aunque siempre se tienen en cuenta los criterios antes descriptos. Como las células se rompen con facilidad, los gránulos pueden encontrarse libres entre el material de fondo. También pueden observarse cantidades variables de eosinófilos. En los tumores más indiferenciados, las células tienen menor cantidad de gránulos y se caracterizan por un evidente pleomorfismo celular y nuclear, con células multinucleadas, siendo estos últimos criterios los considerados para asignarle un alto grado de malignidad (Jacocks 2020).

Figura 6.5. Mastocitoma de bajo grado.



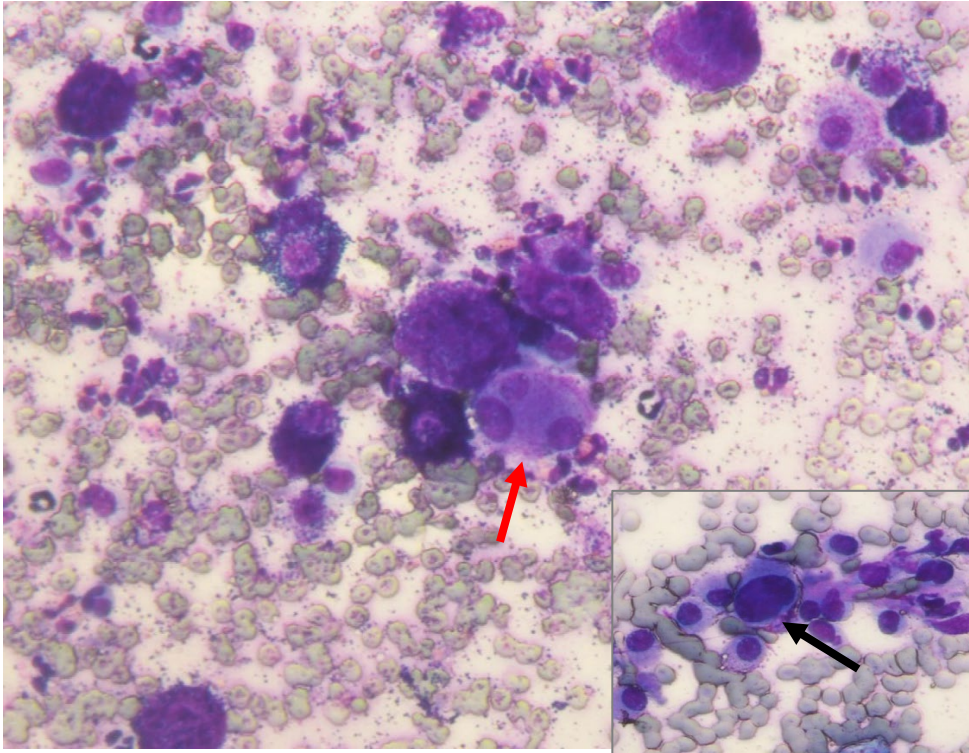
Mastocitos bien diferenciados (flecha roja) con abundante cantidad de gránulos citoplasmáticos y libres. Presencia de eosinófilos (flechas negras). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 6.6. Mastocitoma de bajo grado.



Abundantes mastocitos bien diferenciados. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X).

Figura 6.7. Mastocitoma de alto grado.



Presencia de célula multinucleada (flecha roja). Pleomorfismo nuclear (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

3. Linfoma

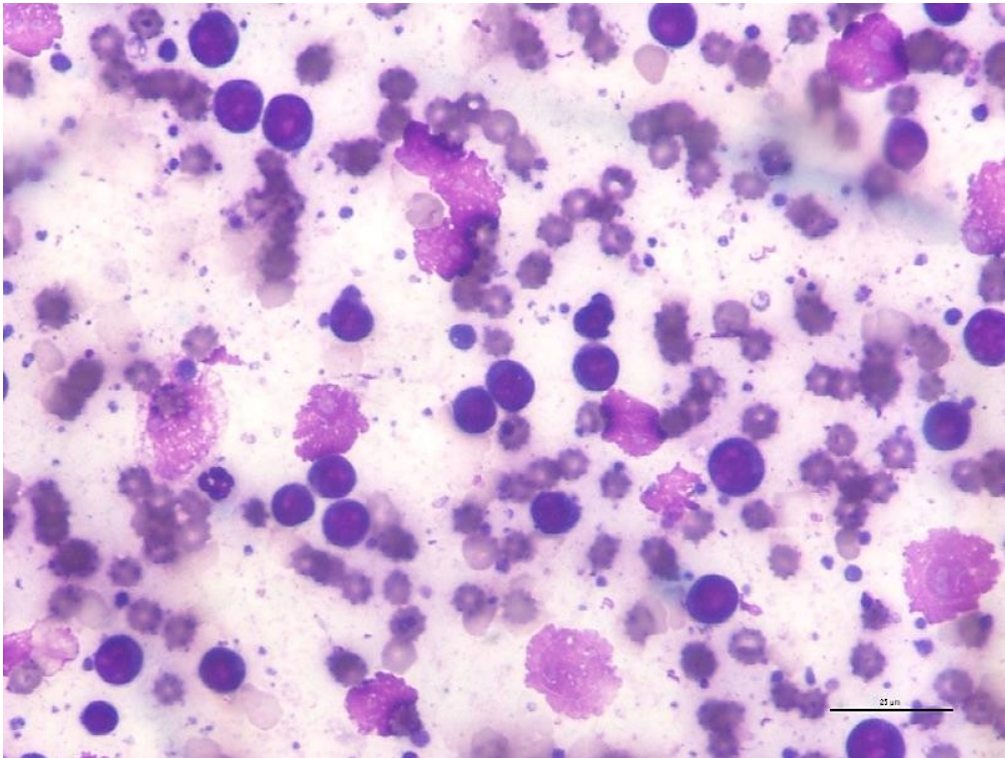
La forma de presentación cutánea de esta neoplasia no es tan frecuente en caninos y felinos. La descripción detallada de los linfomas se encuentra en el capítulo 7. Los linfomas cutáneos pueden clasificarse como:

- Linfoma cutáneo epiteliotrópico de células T
 - Micosis fungoide
 - Reticulosis pagetoide
 - Síndrome de Sézary
- Linfoma cutáneo no epiteliotrópico de células T o B
 - Linfoma periférico inespecífico
 - Linfoma de células T subcutáneo “similar a paniculitis”
 - Linfoma anaplásico de células T grandes

En los linfomas epiteliotrópicos las células neoplásicas son células T, con tropismo por la epidermis y los anexos. Estas células linfoides suelen ser uniformes con bajo índice mitótico. En los linfomas no epiteliotrópicos, las células neoplásicas son células T o B, infiltran principalmente la dermis y las formas linfoblásticas e inmunoblásticas son las más frecuentes, siendo el índice mitótico en esta presentación de moderado a alto (Valli 2017). Cabe recordar que, para arribar a este diagnóstico, se requiere la realización del estudio histopatológico (Jacocks y col. 2020, Hendrick 2017).

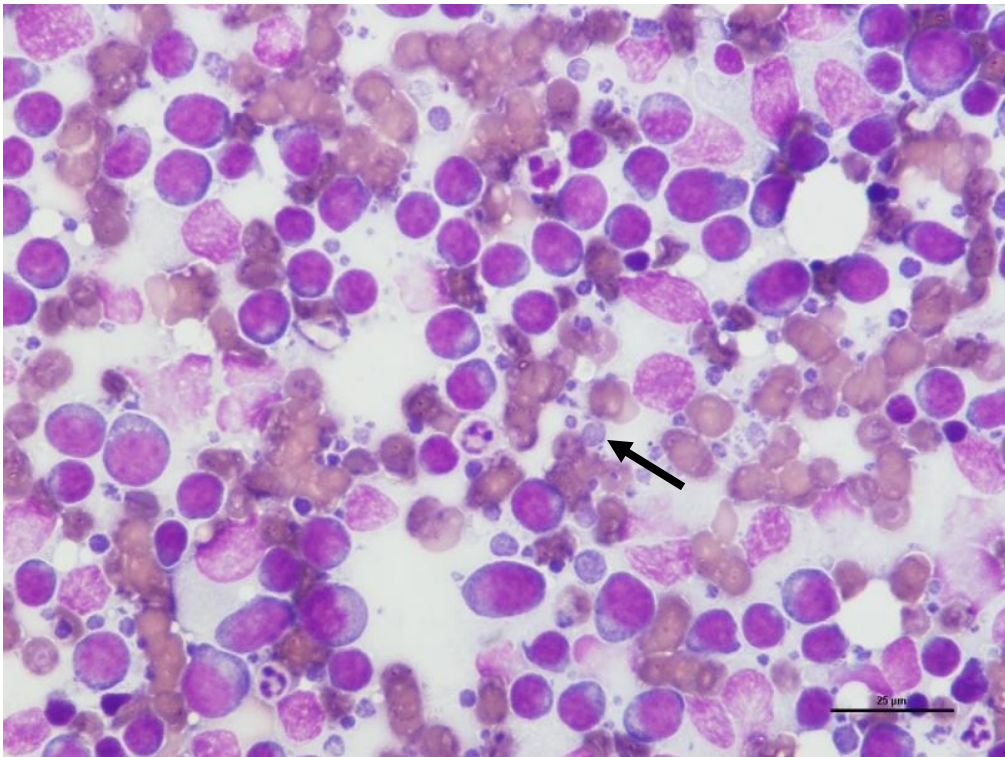
Para la identificación de células linfoides, T o B, es necesaria la aplicación de técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) y/o inmunocitoquímica (ICQ), utilizando anticuerpos específicos anti-CD3 para identificación de linfocitos T y anti-CD79 α y/o CD20 para linfocitos B. Asimismo, en el estudio citológico se pueden evaluar algunos criterios que pueden ayudar al clínico en la formulación de un pronóstico de la enfermedad. Tal como se planteó en el capítulo 7, mediante el estudio citológico se puede clasificar al linfoma por el tamaño de las células (grandes, medianas y pequeñas) (Figura 6.8 y 6.9), comparando con el glóbulo rojo y, también, aportar datos sobre el índice mitótico (alto y bajo) (Valli 2017).

Figura 6.8. *Linfoma de células pequeñas.*



Población homogénea de linfocitos pequeños. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 6.9. *Linfoma de células grandes.*



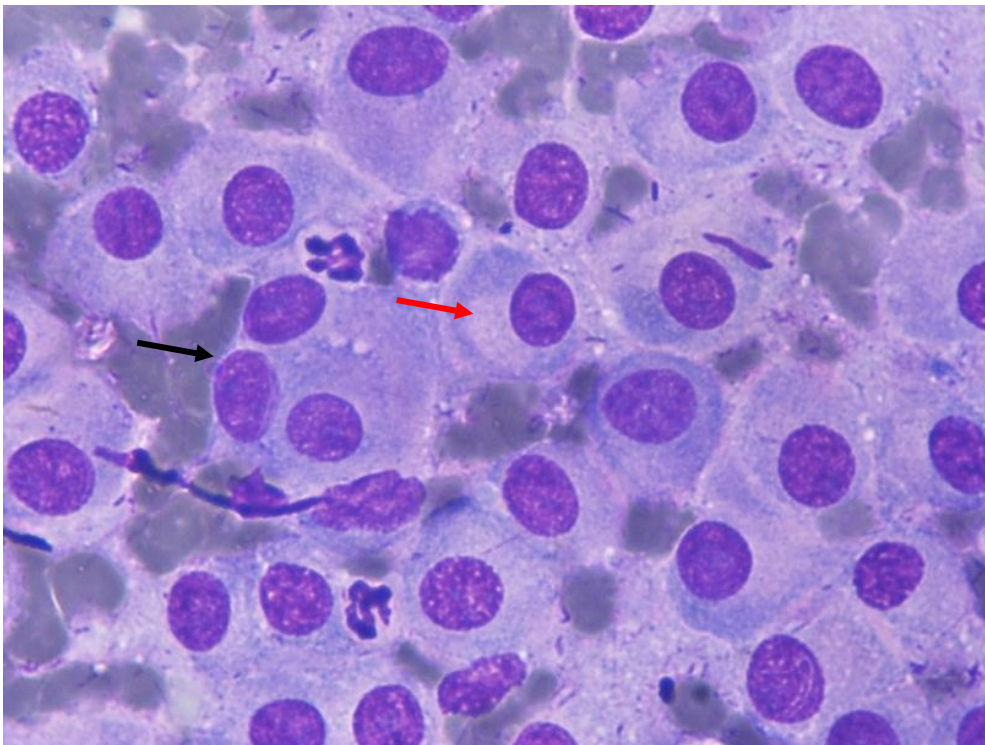
Linfoblastos y cuerpos linfoglandulares (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

4. Plasmacitoma extramedular

Es una neoplasia de las células plasmáticas, incluida en el grupo de los desórdenes linfoproliferativos. En caninos y felinos, los tumores de células plasmáticas pueden presentarse como mieloma múltiple, generalmente originado en la médula ósea, como plasmacitoma solitario óseo y como plasmacitoma extramedular, el que puede ser cutáneo o no cutáneo (formas viscerales). El plasmacitoma cutáneo solitario tiene un comportamiento biológico más benigno. Además, hay formas diseminadas, más agresivas, de más frecuente presentación en los caninos.

Las células son redondeadas, con citoplasma moderado, de color celeste, observándose generalmente un halo incoloro perinuclear que se corresponde con el aparato de Golgi, imagen que permite identificar este tipo celular (Figura 6.10). El núcleo es oval y ligeramente excéntrico. Se puede observar moderado grado de anisocitosis, anisocariosis y formas bi y multinucleadas. En algunos casos, en el fondo del preparado es posible observar una matriz extracelular rosada amorfa, que se interpreta como material de tipo amiloideo (Jacocks y col. 2020).

Figura 6.10. Plasmacitoma.




Célula trinucleada (flecha negra). Célula plasmática con halo incoloro perinuclear (aparato de Golgi) (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

5. Enfermedades histiocíticas

Este grupo de enfermedades puede presentarse en felinos y en caninos. La presentación es diferente en cada una de las especies (tabla 6.1). Esta clasificación es posible realizarla mediante el estudio histopatológico (Moore 2017).

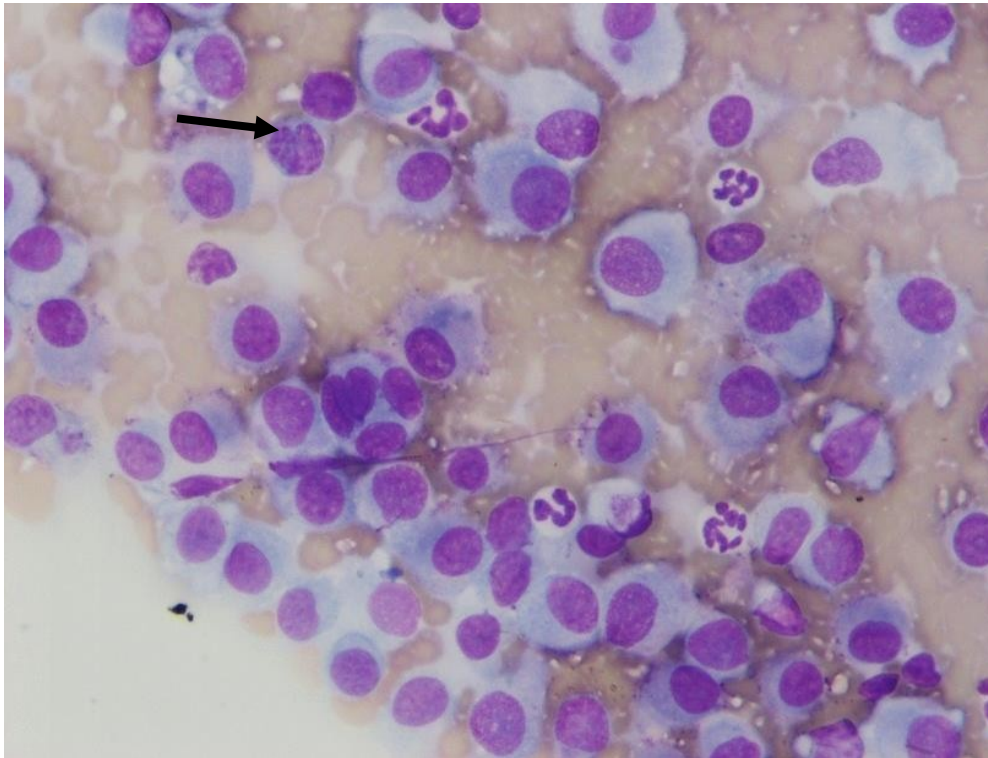
Tabla 6.1. *Enfermedades histiocíticas en felinos y caninos.*

Especie	Formas de presentación
	<p>Histiocitosis progresiva Histiocitosis de células de Langerhans pulmonar Sarcoma histiocítico</p>
	<p>Histiocitoma canino Histiocitosis de células de Langerhans cutánea Histiocitosis reactiva: cutánea y sistémica Complejo sarcoma histiocítico: sarcoma histiocítico, sarcoma histiocítico hemofagocítico, sarcoma histiocítico articular y del SNC</p>

El histiocitoma canino es una neoplasia benigna, solitaria, que ocurre en perros jóvenes de hasta 3 años. Los preparados citológicos, en general, son moderadamente celulares y suele observarse una moderada cantidad de material amorfo de fondo. Las células son grandes, ligeramente redondeadas, con citoplasma moderado a abundante, de color azul claro con pequeñas vacuolas. El núcleo es redondeado a oval, ligeramente excéntrico, con una indentación o escotadura semejando una forma arriñonada (Figura 6.11).

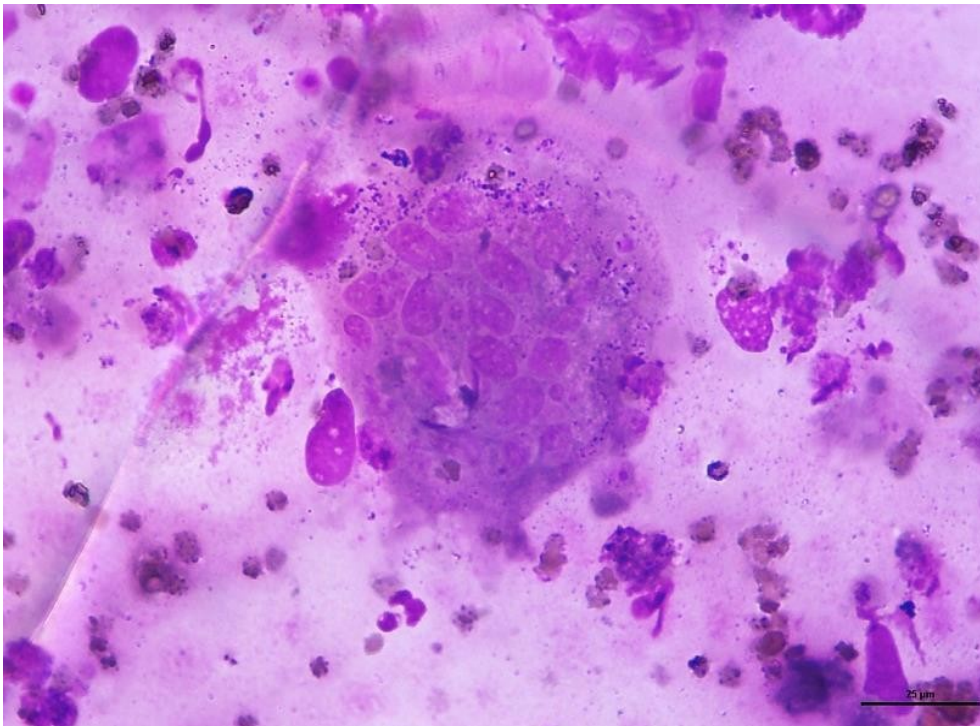
El complejo sarcoma histiocítico puede presentarse tanto en el perro como en gato, observándose lesiones en la piel, tejido subcutáneo, bazo, linfonódulos, médula ósea, sistema nervioso y articulaciones. En las preparaciones de los sarcomas histiocíticos, se observa marcada anisocitosis, anisocariosis y nucléolos evidentes. El marcado pleomorfismo celular es un hallazgo distintivo. También se observan células gigantes multinucleadas en este complejo (Figura 6.12). En la variante hemofagocítica se encuentran frecuentemente macrófagos con fagocitosis de glóbulos rojos (Jacocks 2020, Raskin 2016).

Figura 6.11. *Histiocitoma cutáneo canino.*



Células histiocíticas con núcleos dentados (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 6.12. *Sarcoma histiocítico.*



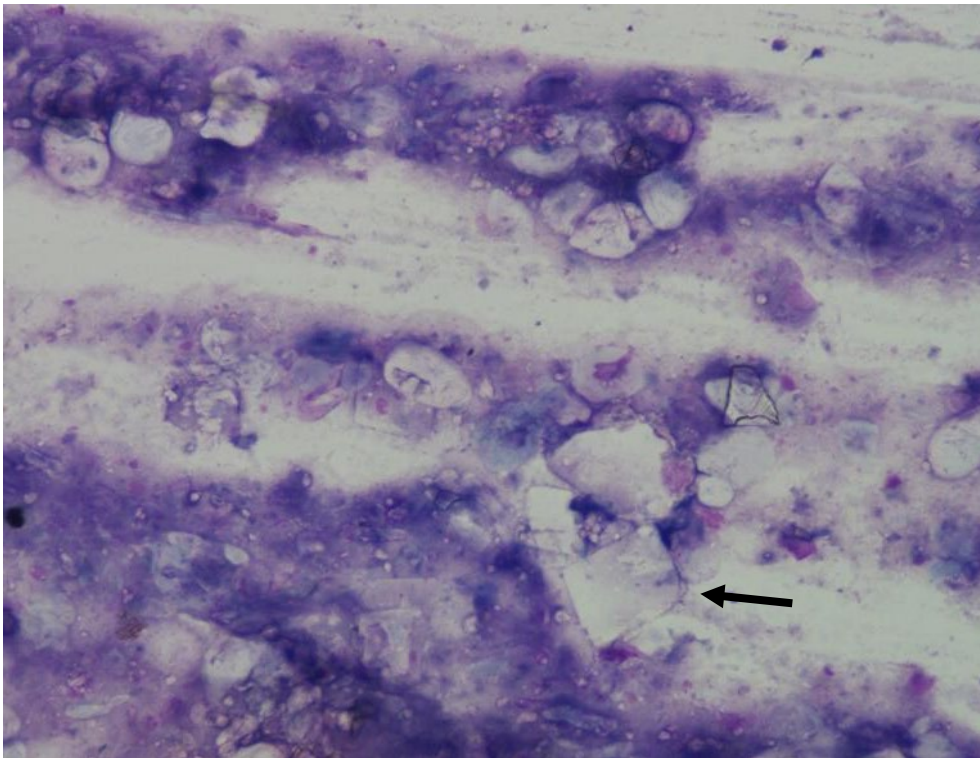
Célula gigante multinucleada (más de 10 núcleos) y citoplasma granular. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Tumores de origen epitelial

1. Quistes foliculares y tumores foliculares quísticos

Se incluyen en este grupo los quistes foliculares y epidérmicos, los tumores del folículo piloso (tricoepitelioma y pilomatricoma) y el queratoacantoma. En general, son lesiones benignas, aunque los tumores del folículo piloso, como el tricoepitelioma y el pilomatricoma, pueden ser malignos, por lo que deberán ser caracterizados mediante histopatología. En todos, el estudio citológico demuestra un predominio de células epiteliales maduras, cornificadas, individuales o en grupos, mezcladas con detritus celulares amorfos y basofílicos, masas o láminas de queratina (de color azul) y cristales de colesterol (Figura 6.13). Frecuentemente las estructuras quísticas se rompen y liberan material queratinizado, pudiendo observarse inflamación piogranulomatosa como resultado de reacciones de cuerpo extraño (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.13. *Quiste de origen epitelial.*



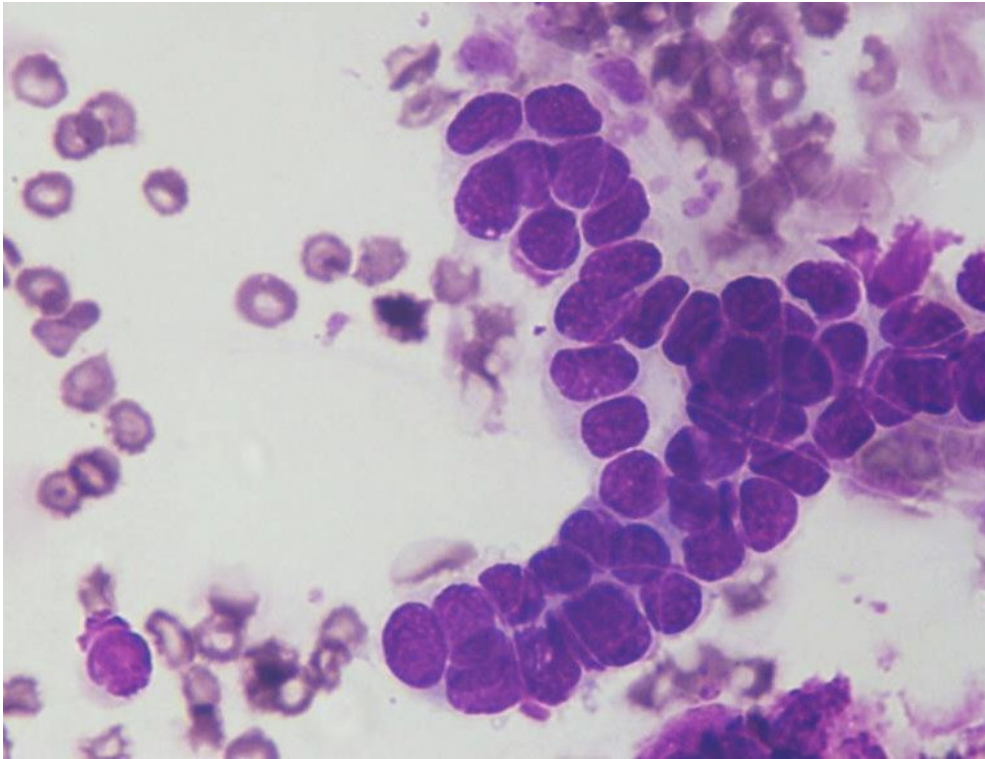
Células queratinizadas maduras y cristales de colesterol (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

2. Tumores de células epiteliales de tipo basal

Se incluyen aquí los tumores de células basales en el gato (basalioma), el tricoblastoma (de origen folicular) en el perro (Figura 6.14), como así también el epiteloma y el carcinoma de células basales. Estas neoplasias son frecuentemente masas solitarias, firmes, alopécicas que pueden ser quísticas y a veces estar ulceradas. Las preparaciones suelen ser altamente celulares; sus células son cuboidales, pequeñas, uniformes, basófilicas, con núcleo grande y con tendencia

a agruparse, inclusive con la formación de cortos cordones o empalizadas. Las células tumorales pueden ser pigmentadas, especialmente en el gato (Fisher 2020).

Figura 6.14. Tricoblastoma.



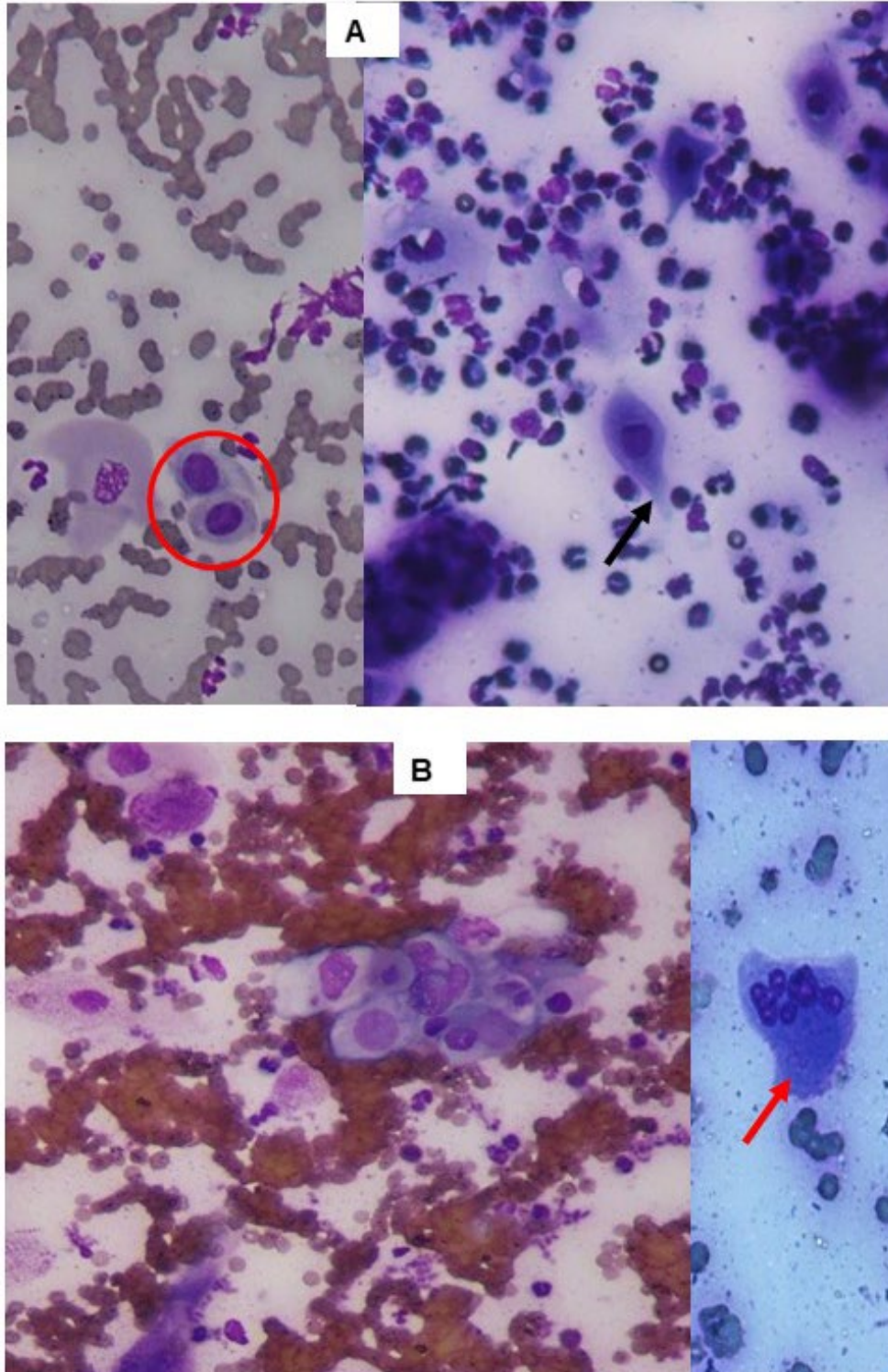
Células epiteliales basales agrupadas en filas (patrón de cinta). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

3. Carcinoma de células escamosas

Esta neoplasia es común, tanto en el perro como en el gato, es localmente invasiva y se presenta generalmente en zonas despigmentadas y expuestas al sol. Son frecuentes la ulceración y la formación de costras. El cuadro citológico varía mucho según el grado de diferenciación de cada caso. Las células de los tumores bien diferenciados pueden ser muy semejantes a las epiteliales normales o a las displásicas que pueden observarse en dermatosis o dermatitis crónicas. Los queratinocitos normales son grandes, angulosos, con una relación N:C 1:8 a 1:10. Las células bien queratinizadas presentan picnosis, cariorexis o ausencia de núcleo y en los extendidos aparecen aisladas. En los carcinomas pueden observarse células maduras aisladas y grupos de células, a veces demasiado gruesos, con distintos grados de atipia como: marcada variación de tamaño de las células, citoplasma azulado y hasta azul verdoso, el núcleo usualmente redondo, grande y angular, con menor relación N:C, nucléolos prominentes de distinto tamaño y forma, dos o más núcleos y pequeñas vacuolas perinucleares. También es frecuente observar células con núcleos inmaduros y citoplasmas ya queratinizados (Figura 6.15). Los tumores pobremente diferenciados pueden contener solamente ocasionales células queratinizadas, con un predominio de células más pleomórficas como las características “células en renacuajo” (Figura 6.15 A). Esto a veces dificulta mucho la interpretación citológica (de Buen de Argüero y Guzmán

Becerril, 2014). Las figuras mitóticas pueden ser frecuentes al igual que las células multinucleadas (Figura 6.15 B). (Fisher 2020, Raskin 2017)

Figura 6.15 A y B. Carcinoma de células escamosas.

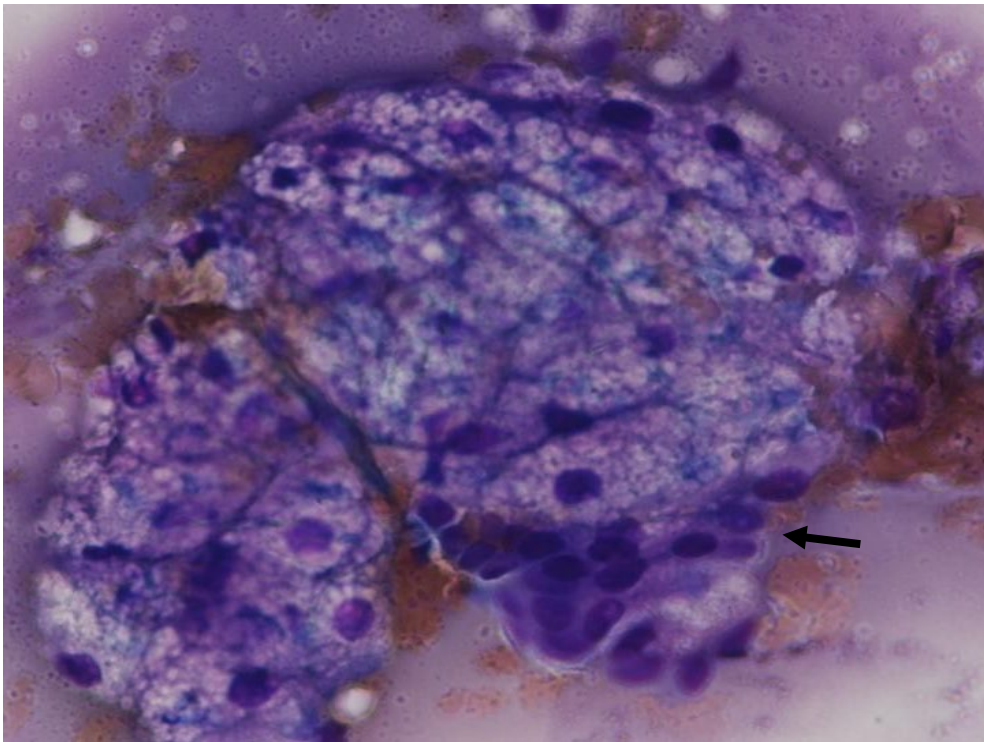


A) Células cornificadas con núcleo (círculo rojo) y "células en renacuajo" (flecha negra). B) Células cornificadas con anisocariosis y célula multinucleada (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

4. Hiperplasia/adenoma/epitelioma/carcinoma de glándulas sebáceas

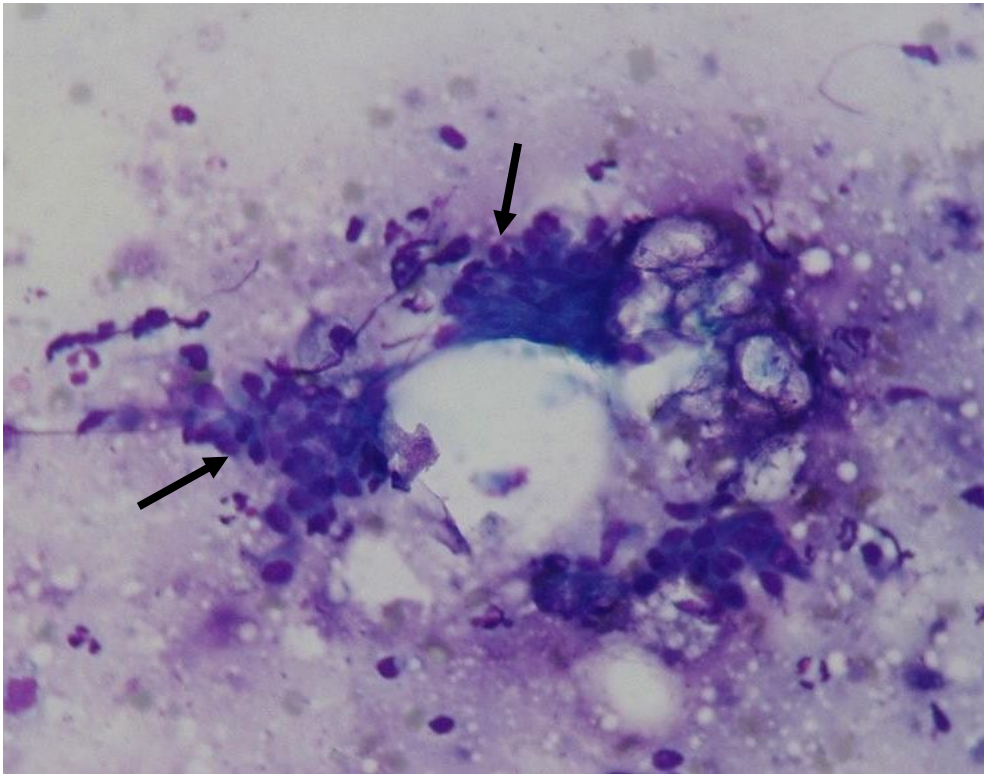
Estas neoplasias son comunes en el perro y menos frecuentes en el gato. Las lesiones suelen ser solitarias, bien delimitadas, intradérmicas y multilobuladas. Las células típicas de las glándulas sebáceas son grandes, de citoplasma espumoso y núcleo pequeño, central o ligeramente excéntrico, e intensamente coloreado. Periféricamente se ubican las células de reserva (basales), no secretorias, de citoplasma azulado y relación N:C alta, las que deben tenerse en cuenta cuando se evalúan los criterios de malignidad (Figura 6.16). Resulta imposible diferenciar hiperplasias de adenomas. En los epiteliomas abundan las células pequeñas y uniformes (de reserva) y son escasas las células grandes y espumosas (Figura 6.17). Los carcinomas presentan numerosos criterios de malignidad y solo unas pocas células diferenciadas con citoplasma espumoso son las que permiten identificar el origen (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.16. Adenoma de glándulas sebáceas.



Grupo de células sebáceas y periféricamente células basales de reserva (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 6.17. *Epitelioma sebáceo.*

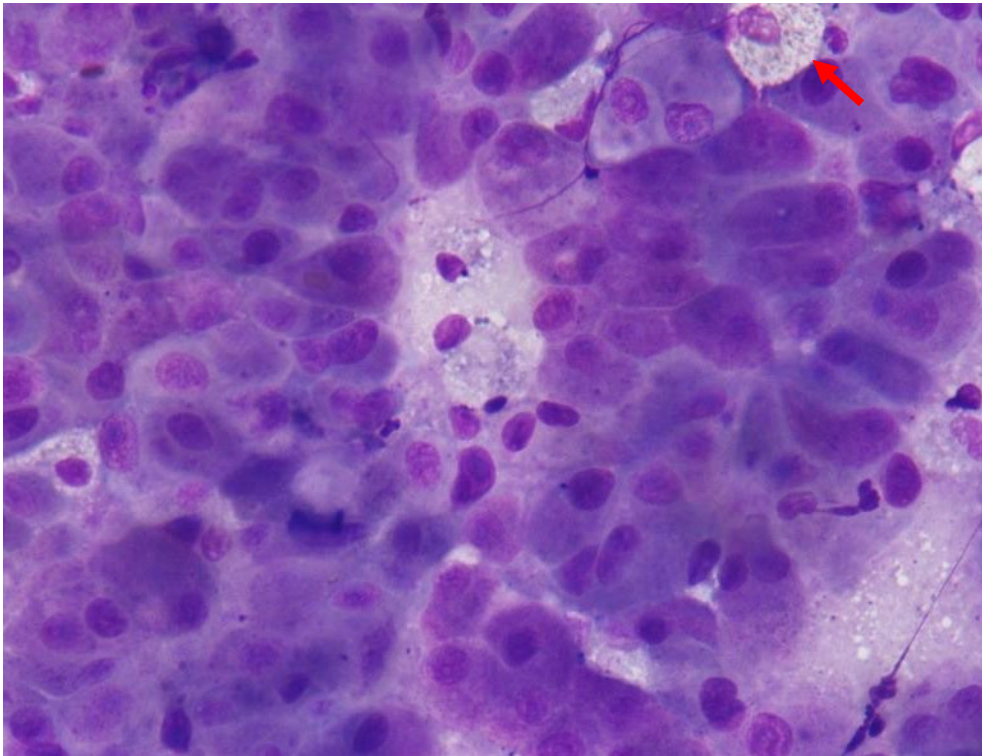


Predominio de células epiteliales basales de reserva (flechas negras). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

5. Hiperplasia/adenoma/carcinoma de glándulas hepatoides (perianales)

Es una neoplasia frecuente en perros machos enteros. Puede ser solitaria o múltiple, de localización generalmente perianal, aunque también se la encuentra en la cola y en el prepucio y, menos frecuente, en otras localizaciones. Se consideran glándulas sebáceas modificadas cuya célula típica es similar al hepatocito, de forma poliédrica, con citoplasma grande, rojo azulado, a veces grisáceo, finamente granular y núcleo central con uno o dos nucléolos visibles (Figura 6.17). También presentan células de reserva. La diferenciación entre hiperplasias, adenomas y carcinomas presenta las mismas dificultades que las mencionadas en los tumores de glándulas sebáceas (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.18. Adenoma de glándulas hepatoides (perianales).

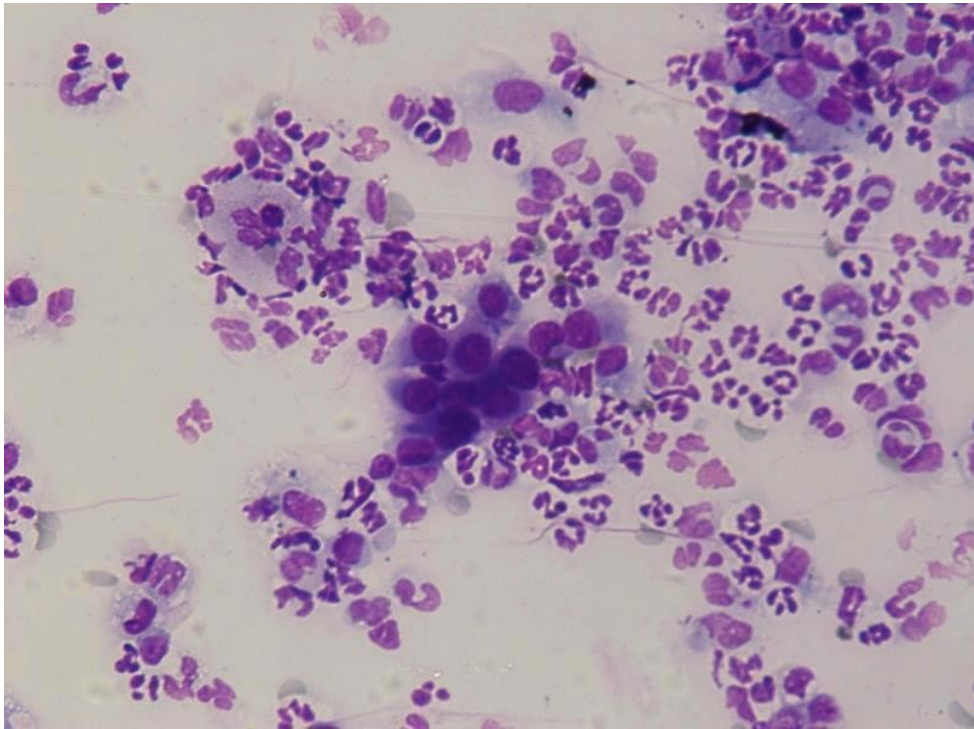


Células hepatoides típicas y algunas células con diferenciación sebácea (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

6. Adenoma/carcinoma de glándulas sudoríparas apocrinas

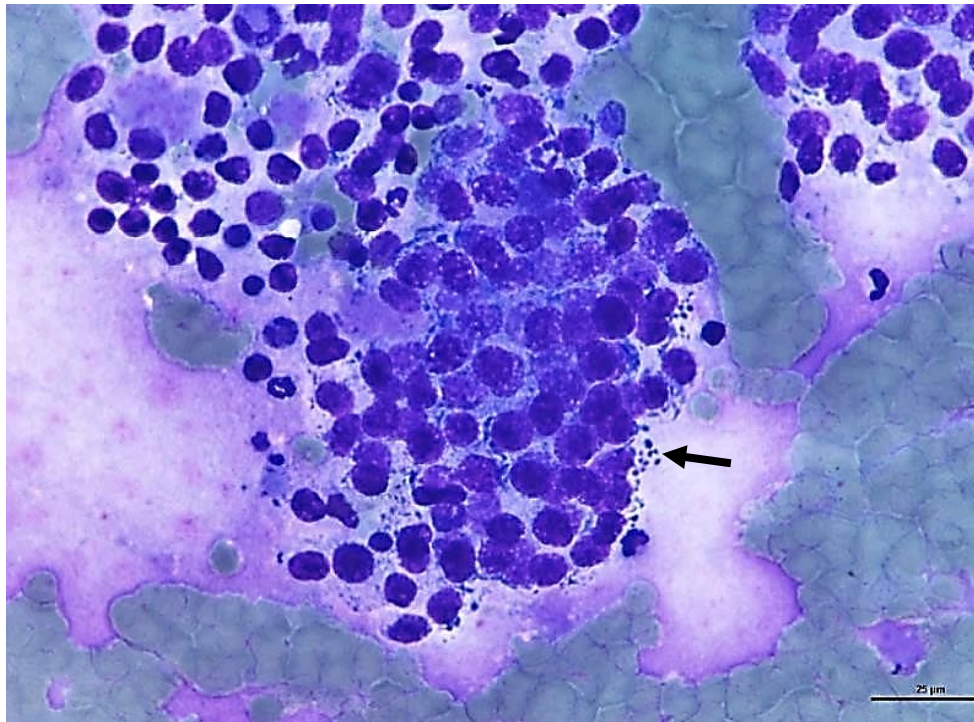
Esta neoformación se observa más frecuentemente en perros que en gatos, es generalmente multilobulada, en algún caso quística y la localización más frecuente es en la cabeza y el cuello. Las células suelen exfoliarse en pequeños grupos, con tendencia a formar acinos. Las células son redondas o cuboidales, de mediano tamaño, de bordes difusos, con núcleo algo excéntrico y citoplasma granular, con una o más vacuolas secretorias. Puede resultar difícil distinguir los tumores de glándulas sudoríparas de los de otras glándulas, como las sebáceas, y aun de los de glándulas ceruminosas (Figura 6.19). En la zona perianal hay glándulas sudoríparas apocrinas que se originan en el saco anal. La neoformación es más frecuente en perros viejos, y en general se observan formas malignas (adenocarcinomas), siendo las características similares a las células descritas con numerosos criterios de malignidad, principalmente anisocariosis y macrocariosis (Figura 6.20) (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.19. Carcinoma de glándulas sudoríparas apocrinas.



Células exfoliadas formando acinos con inflamación secundaria (neutrófilos). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Figura 6.20. Adenocarcinoma de glándulas sudoríparas apocrinas modificadas (sacos anales).



Células con anisocariosis y citoplasma puede contener una o más gotas de secreción (Flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

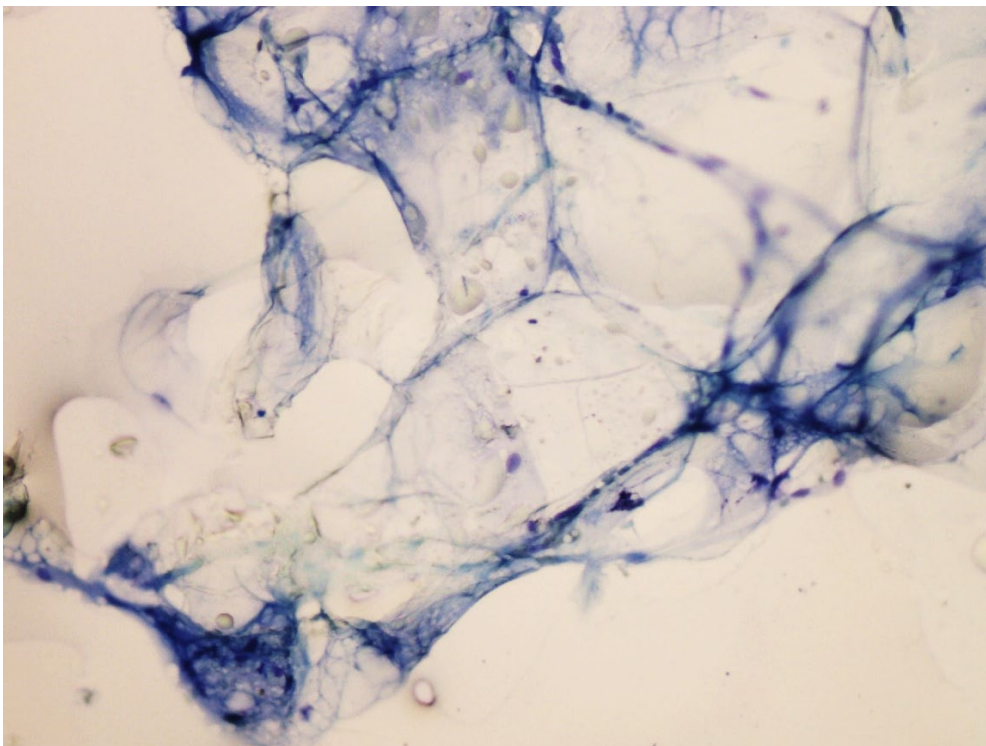
Tumores de origen mesenquimático

Los tumores de origen mesenquimático o tumores de células fusiformes son aquellos que se caracterizan por células alargadas, de bordes difusos, con preparaciones frecuentemente poco celulares, aunque, a veces, algunos de estos pueden exfoliar mayor cantidad de células. En muchas ocasiones es difícil diferenciar estas neoplasias y la utilización de las técnicas de inmunocitoquímica suelen ser de utilidad diagnóstica. En este grupo se pueden incluir el lipoma/liposarcoma, los sarcomas de tejidos blandos y el hemangiosarcoma (Fisher 2020, Raskin 2017).

1. Lipoma/lipoma infiltrativo/tejido adiposo subcutáneo

Es una neoplasia más común en perros que en gatos, siendo más frecuente en las hembras de edad avanzada. Puede presentarse como una masa solitaria o múltiple, generalmente en el tronco y en proximal de los miembros. Los aspirados contienen de escasa a moderada cantidad de lipocitos de características normales y abundante material lipídico libre, pues las células se rompen fácilmente. Los extendidos presentan un aspecto oleoso y brillante y con el nuevo azul de metileno se confirma indirectamente la presencia de lípidos (el agua y la grasa no se mezclan). Los colorantes de tipo Romanovsky contienen alcoholes que disuelven las grasas. Los lipocitos intactos aparecen como enormes globos que pueden contener un núcleo pequeño, condensado, desplazado hacia la membrana celular por grandes glóbulos grasos (Figura 6.21) (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.21. *Lipoma.*

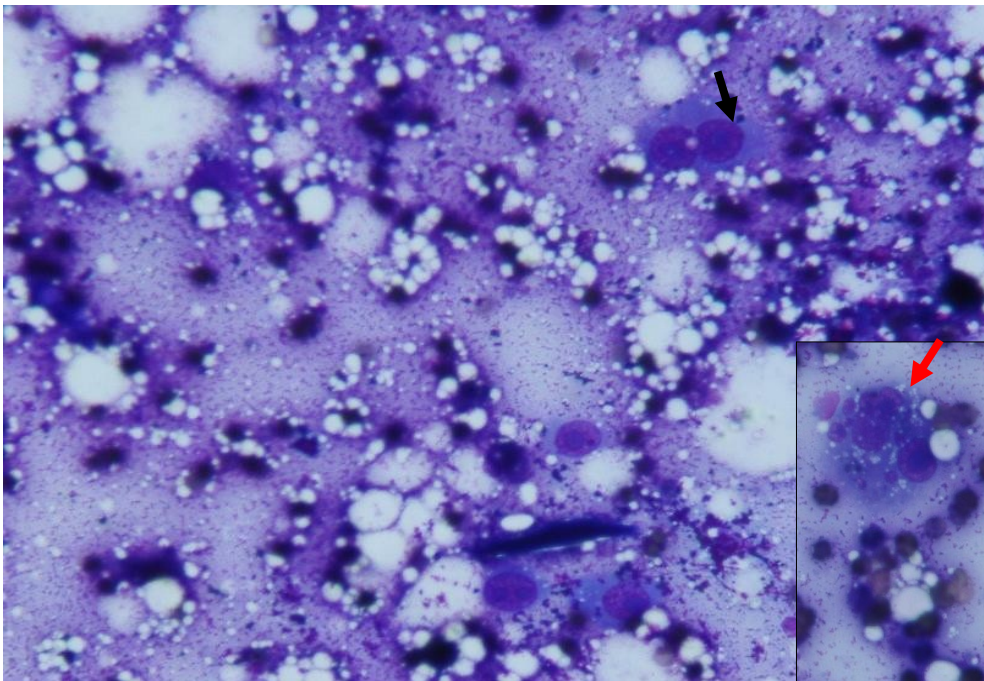


Lipocitos maduros normales Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

2. Liposarcoma

Es una neoplasia poco común, tanto en perros como en gatos. Generalmente son masas solitarias y su localización más frecuente es en la piel del abdomen. Los extendidos de los tumores más diferenciados pueden presentar características algo similares a las descritas anteriormente, aunque con un predominio de lipoblastos con distintos grados de anaplasia. Son característicos los bordes celulares difusos y la presencia de vacuolas (glóbulos lipídicos) en cantidad y de tamaños variables. También pueden observarse células multinucleadas. Los núcleos suelen ser vesiculares, grandes, con nucléolos evidentes (Figura 6.22) (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.22. Liposarcoma.



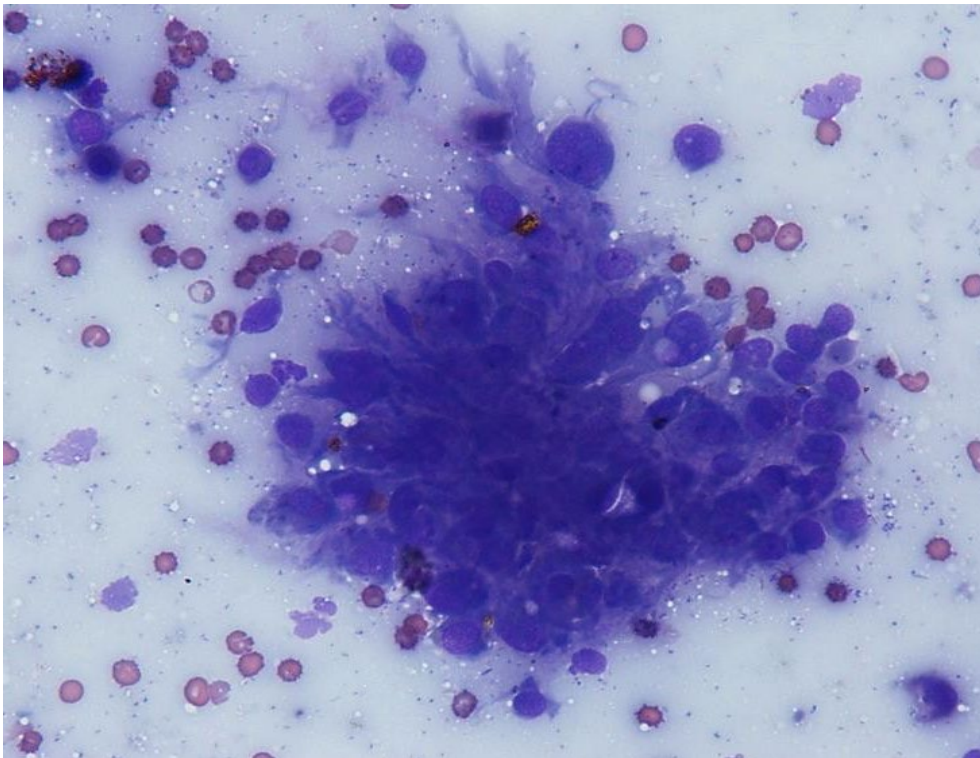
Lipoblastos con macrocariosis y nucléolos evidentes (flecha negra). Abundante material lipídico libre. Célula multinucleada (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

3. Sarcomas de tejidos blandos

Este grupo está constituido por tumores mesenquimáticos dérmicos y subcutáneos, benignos y malignos, de difícil diferenciación citológica y que tienden a comportarse de manera similar, independientemente de su origen. Desde el punto de vista de la citología es posible incluir en este grupo las siguientes neoplasias: fibroma/fibrosarcoma, mixoma/mixosarcoma, tumor de la vaina del nervio periférico y hemangiopericitoma. El aspecto macroscópico y la localización resultan de gran importancia en el diagnóstico diferencial (Fisher 2020, Hendrick 2017). Las células son fusiformes, exfoliadas principalmente en forma aislada, aunque en el hemangiopericitoma suelen aparecer formando pequeños remolinos (Figura 6.23). Los bordes celulares son difusos,

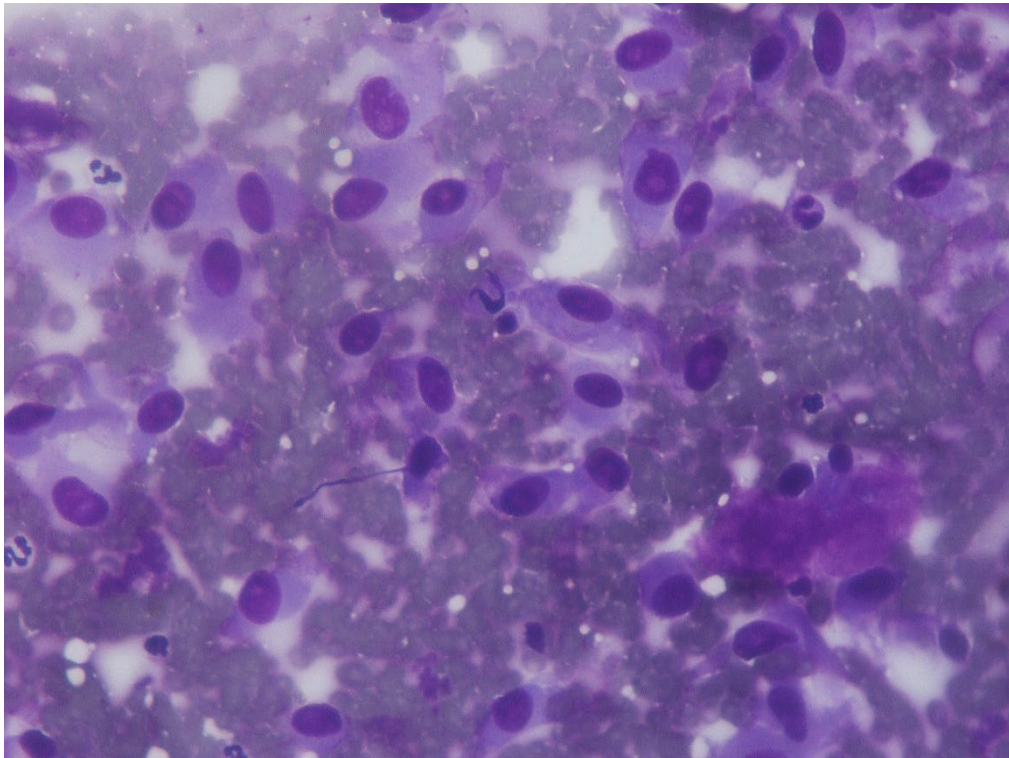
con núcleo grande, generalmente central y nucléolo evidente (Figura 6.24 y 6.25). En el hemangiopericitoma es posible observar que las células presentan núcleos redondos a ovals, citoplasma moderado, con pequeñas vacuolas, con bordes celulares poco definidos y con uno de los extremos en forma de “velo” (Figura 6.26). Cabe consignar que los tejidos de granulación activos contienen numerosos fibroblastos jóvenes y con rápida división, los que pueden interpretarse erróneamente como indicativos de malignidad. La cantidad de figuras mitóticas por campo (mayor aumento) en los fibrosarcomas pueden ayudar en la formulación del pronóstico. A veces es necesario evaluar el fondo de la preparación, por ejemplo, la presencia de abundante material mucinoso en tumores mixomatosos o de material fibrilar rosado en los fibrosarcomas. (Fisher 2020, Raskin 2017).

Figura 6.23. *Sarcoma de tejidos blandos.*



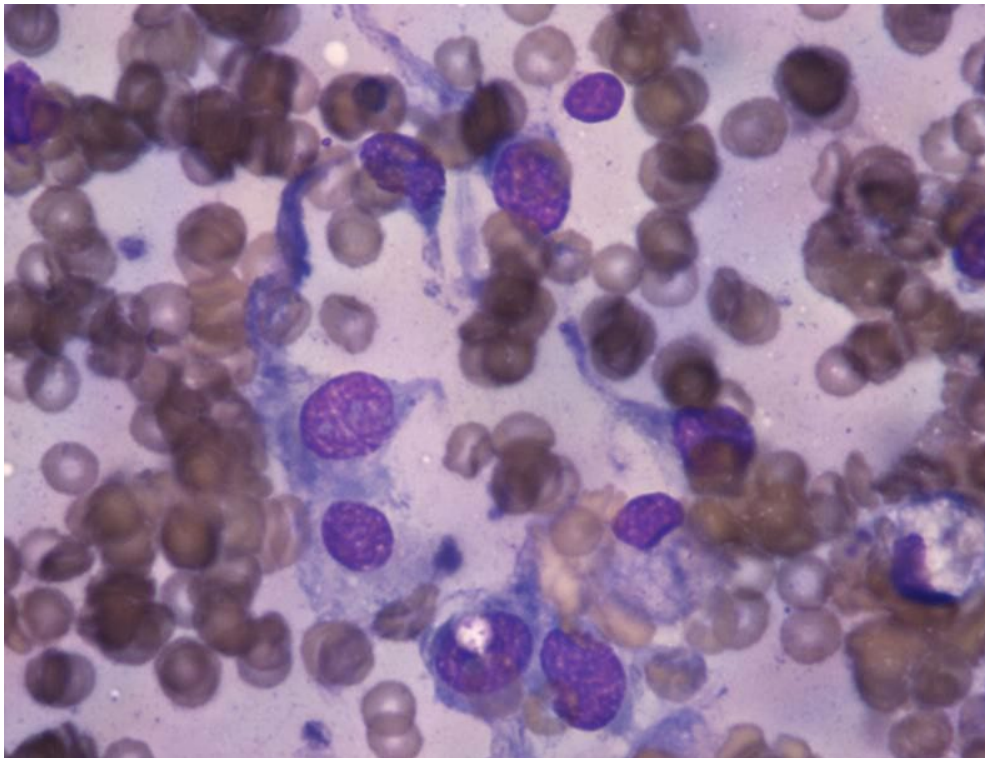
Células fusiformes con tendencia a formar remolinos. Hallazgo característico de los hemangiopericitomas. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 6.24. *Sarcoma de tejidos blandos.*



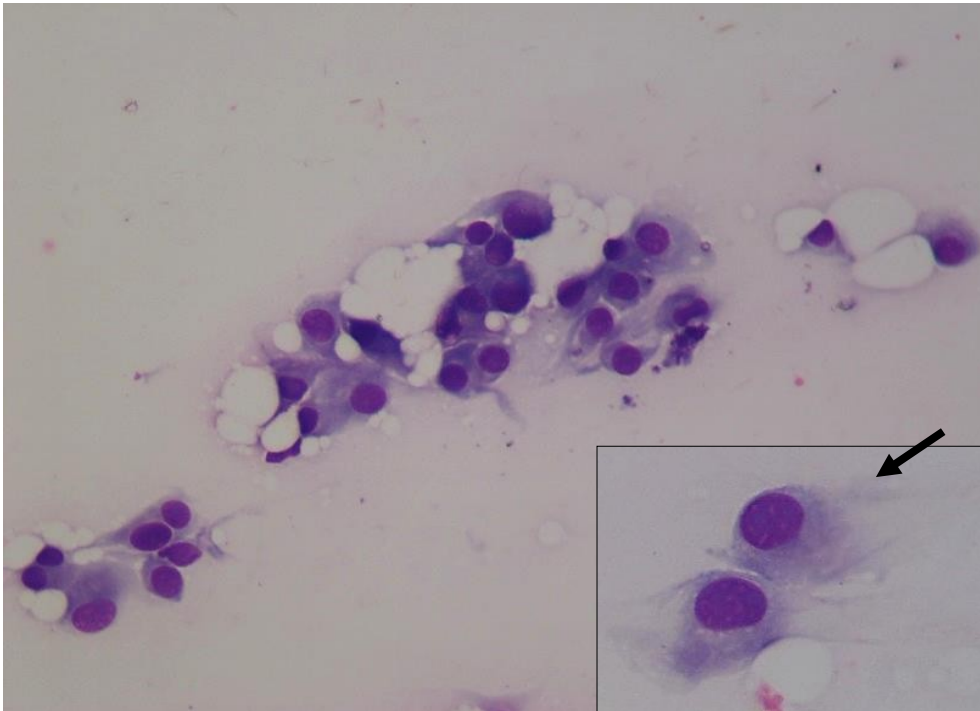
Células mesenquimáticas con núcleos prominentes. Material amorfo y rosado de fondo (matriz extracelular). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Figura 6.25. *Sarcoma de tejidos blandos.*



Células mesenquimáticas pleomórficas con macrocariosis y nucléolos evidentes. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

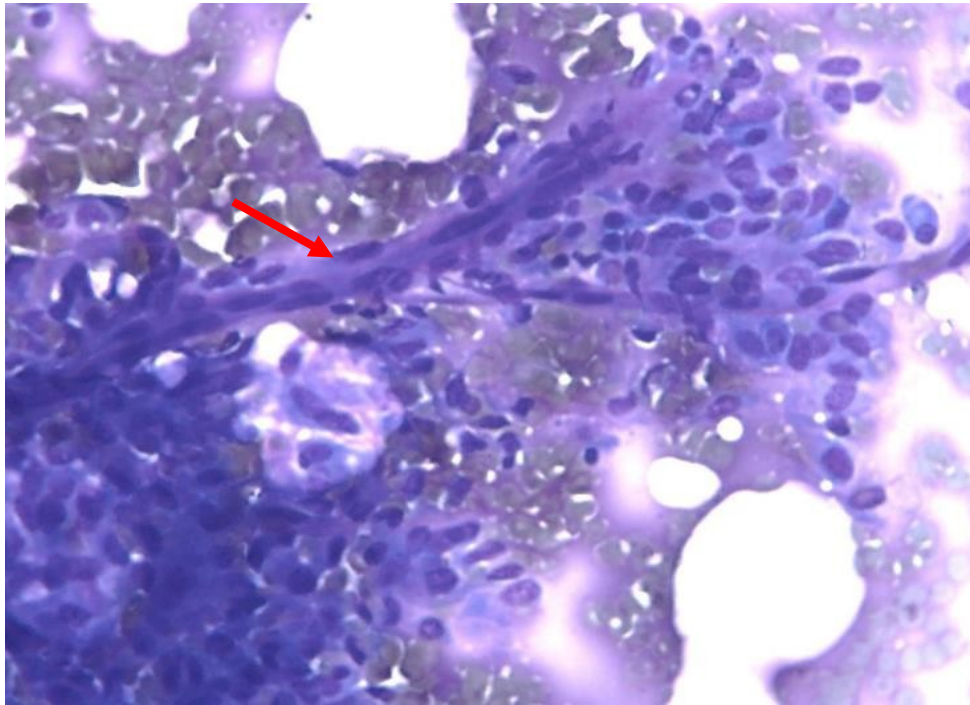
Figura 6.26. *Sarcoma de tejidos blandos.*



Células fusiformes exfoliadas en grupos con núcleos son ovales o redondos. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X. En el recuadro se observa el citoplasma en velo (Flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X. Estos hallazgos son característicos del hemangiopericitoma canino.

4. Hemangiosarcoma

Esta neoplasia puede observarse en perros y gatos y se asocia con la exposición a la radiación solar, siendo más frecuente en las zonas de piel fina y con escasa cubierta pilosa, como son algunas zonas del abdomen de los caninos y de la cabeza de los felinos. Las lesiones suelen ser ulceradas y hemorrágicas. El diagnóstico citológico de esta neoplasia es dificultoso, pues las preparaciones suelen tener muchos glóbulos rojos y escasas células. Las células son fusiformes, con pleomorfismo marcado y criterios nucleares de malignidad. En ocasiones es posible observar eritrofagocitosis asociada con la neoplasia. (Fisher 2020, Raskin 2017). La observación de células fusiformes, con núcleos prominentes y con distribución lineal, que recuerdan la estructura de un vaso sanguíneo son de gran ayuda en el diagnóstico (Figura 6.27).

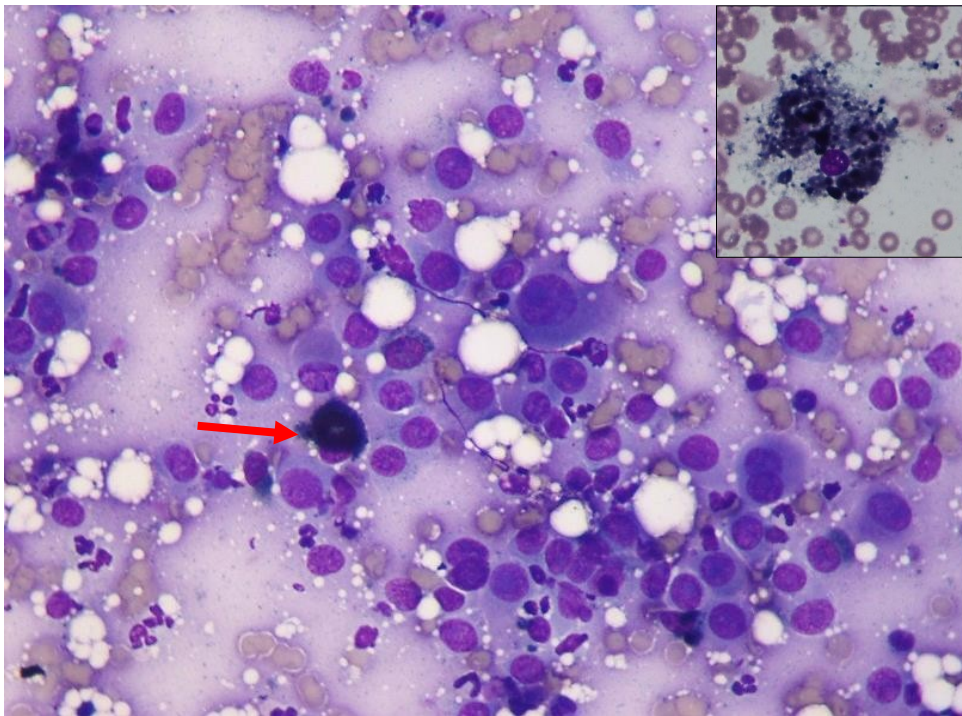
Figura 6.27. Hemangiosarcoma.

Células fusiformes pleomórficas. Estructura lineal que recuerda la imagen de un vaso sanguíneo (Flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Tumores melanocíticos

En este grupo se incluyen el melanoma benigno, también denominado **melanocitoma** y el **melanoma**, que es la forma maligna de la enfermedad. Este tipo de neoplasias es frecuente tanto en perros como en gatos y se presenta generalmente en animales viejos, en forma de masas solitarias, en cualquier región del cuerpo, aunque en perros, cuando aparecen en el dedo o en la cavidad oral, tienen un curso clínico más agresivo. Los aspirados contienen escasa a moderada cantidad de células, las que aparecen aisladas o en pequeños grupos. Los citólogos los consideran “los grandes imitadores”, pues sus células pueden ser redondas, ovales, estrelladas o fusiformes y la melanina citoplasmática puede ser desde imperceptible hasta tan abundante que impida la observación de cualquier detalle celular (Figura 6.28). Pueden aparecer muchos gránulos de melanina de color parduzco a negruzco en el material de fondo. La observación de varios criterios de malignidad induce a la formulación de un diagnóstico de melanoma, pero su ausencia no garantiza que la neoplasia sea benigna. Debido a la existencia de otros tumores que pueden contener melanina, a la existencia de melanófagos en otras lesiones cutáneas y a la posibilidad de confusiones con otros pigmentos (hemosiderina) y células (gránulos de las células cebadas y de queratohialina de las epiteliales escamosas), se debe ser muy cauteloso en la interpretación de los hallazgos. La melanina en los melanocitos neoplásicos se observa en forma de finos gránulos en el citoplasma, a diferencia de los melanófagos, donde la melanina se presenta en grumos gruesos (Figura 6.28). El estudio histopatológico debería ser el paso siguiente para confirmar el diagnóstico (Fisher 2020, Goldschmidt 2017, Raskin 2016).

Figura 6.28. Melanoma.



Presencia de células pleomórficas y melanocito neoplásico con finos gránulos de melanina (Flecha roja). Recuadro: melanófagos con vacuolas grandes repletas de melanina. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Referencias

- de Buen de Argüero N, Guzmán Becerril M. (2014). Citología de la piel y los tejidos blandos. En N de Buen de Argüero (Ed), *Atlas de Citopatología Veterinaria* (105-158). Primera edición. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Intermédica.
- Fisher DJ. (2020). Cutaneous and Subcutaneous Lesions. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell and Tyler's. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (71-101). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Goldschmidt MH, Goldschmidt KH. (2017). Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. En DJ Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (88-141). Fifth edition. Ames, USA: Wiley & Sons, Inc.
- Hendrick MJ. (2017). Mesenchymal Tumors of the Skin and Soft Tissues. En DJ Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (142-175). Fifth edition. Ames, USA: Wiley & Sons, Inc.
- Jacocks K, Hoepf N, De Nicola DB. (2020). Round Cells. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell and Tyler's. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (65-73). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Kiupel, M. (2017). Mast Cell Tumors. En DJ Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (176-202). Fifth edition. Ames, USA: Wiley & Sons, Inc.

- Moore PE. (2017). Canine and Feline Histiocytic Diseases. En: DJ Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (321-336). Fifth edition. Ames, USA: Wiley & Sons, Inc.
- Raskin RE. (2016). Skin and Subcutaneous Tissues. En RE Raskin y DJ Meyer (Eds), *Canine and Feline Cytology, A color atlas and interpretation guide* (34-90). Third edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ, Linder KE. (2017). Tumors of the Hemolymphatic System. En DJ Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (203-321). Fifth edition. Ames, USA: Wiley & Sons, Inc.

CAPÍTULO 7

Estudio citológico de los linfonódulos

*Ana Guzmán Loza, María Cecilia Castellano[†]
y Adriana Massone*

El término linfadenopatía se refiere a cualquier anomalía de los linfonódulos. Si bien la linfadenomegalia es el hallazgo más frecuente, los cambios de consistencia, las alteraciones de los contornos, el dolor y las modificaciones en la movilidad, también deben ser considerados al momento de ser evaluados.

El estudio citológico de los linfonódulos está indicado cada vez que se perciban en ellos alguno de estos signos que sugieren evidencia clínica de linfadenopatía. La misma suele ser evidente y fácil de detectar en los linfonódulos superficiales. Si es solitaria o regional suele estar relacionada a procesos patológicos localizados en las respectivas áreas de drenaje, tales como inflamaciones o tumores. En los linfonódulos profundos, la linfadenopatía puede ser un hallazgo durante la palpación profunda del abdomen o mediante estudios por imágenes. Puede relacionarse a neoplasias primarias, metastásicas o infecciones sistémicas. Si es generalizada, los diagnósticos diferenciales deberán incluir neoplasias hematopoyéticas (linfomas y/o leucemias), procesos inmunomediados (lupus eritematoso sistémico) o infecciones sistémicas de cualquier origen. En todos los casos, el estudio citológico de estas estructuras constituye una de las herramientas más valiosas para la evaluación de la linfadenopatía, permitiendo, en la mayoría de las situaciones, definir el diagnóstico. También, con el fin de reconocer metástasis potenciales y estadificar al paciente oncológico, es aconsejable aplicar este método para el estudio de los linfonódulos cercanos o involucrados en el área de un tumor primario, aun cuando los mismos presenten un aspecto normal durante el examen clínico (Blauvelt 2020). Las principales indicaciones para la evaluación de los linfonódulos mediante el estudio citológico se encuentran resumidas en la Tabla 7.1.

Algunos de los hallazgos citológicos que se describirán en relación con los linfonódulos pueden ser aplicados también al tejido linfoide ubicado en otros sitios corporales.

Técnicas para la toma de muestras

La localización subcutánea y de fácil acceso de muchos linfonódulos (submandibular, axilar, cervical superficial o preescapular, inguinal superficial y poplíteo) facilita la detección temprana

de cambios y los hace factibles de ser analizados mediante citología. Las muestras se obtienen mediante la técnica de punción con aguja fina (PAF) y punción/aspiración con aguja fina (PAAF). Para ello se recomiendan agujas 21G o 25G, para disminuir la destrucción celular y moderar la presión ejercida durante la aspiración debido a la fragilidad de las células linfoides. Cuando se trata de linfonódulos superficiales, pueden abordarse directamente sin necesidad de tricotomía, preparación de la zona y/o anestesia. El muestreo de linfonódulos intratorácicos o intraabdominales puede requerir, en algunos casos, preparación quirúrgica del área y sedación del paciente; esto no es indispensable para realizar la maniobra, ya que depende del tipo de paciente y de la facilidad de manejo del mismo. Muchas veces los linfonódulos mesentéricos o ilíacos presentan un marcado aumento de tamaño, lo que permite inmovilizarlos manualmente y tomar la muestra sin complicaciones. En general, para el muestreo de los linfonódulos profundos, sean intratorácicos o intraabdominales, resulta siempre útil el auxilio de la ultrasonografía para guiar la aguja durante el procedimiento.

Cuando se presenta una linfadenopatía generalizada, no es aconsejable tomar muestras de los linfonódulos submandibulares como primera opción, debido a su constante actividad relacionada con la cavidad bucal. Tampoco se debería elegir para el muestreo aquellos linfonódulos que presenten el mayor aumento de tamaño, ya que pueden presentar zonas de necrosis y/o hemorragias que malogren la muestra. Los linfonódulos cervical superficial y poplíteo son de fácil acceso y la mejor elección en estos casos (Blauvelt 2020).

Si bien la toma de muestras no es un procedimiento dificultoso, errores comunes, tales como punzar la glándula salival submandibular o el tejido adiposo periférico, pueden ocurrir.

Tabla 7.1. Indicaciones de PAAF/ PAF y evaluación citológica del linfonódulo.

Indicaciones de PAAF/ PAF y evaluación citológica del linfonódulo
Diagnóstico de enfermedades infecciosas
Diagnóstico de hiperplasia o linfadenopatía reactiva (por ej: hiperplasia reactiva generalizada en gatos jóvenes)
Diagnóstico de neoplasia metastásica y asociación de posible sitio primario
Diagnóstico de linfoma. De ser posible, estimando su origen
Conocimiento de la malignidad del proceso (linfoma o metástasis de mastocitoma), con el objetivo de monitorear la evolución y respuesta a la quimioterapia
Muestreo de sitios múltiples o sitios inaccesibles para cirugía para decidir medidas terapéuticas
Toma de muestras para estudios de clonalidad

Nota: Adaptada de The role of Fine-Needle Aspiration Cytology of Lymph Nodules. En Blauvelt M y Messick JB 2020. The lymph nodes. En Valenciano AC y Cowell RL, Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. (171-181). Fifth edition. St. Luis, USA: Elsevier. (229–246).

Hallazgos citológicos

Linfonódulo normal

El linfonódulo normal está compuesto principalmente por linfocitos pequeños maduros (75% al 85% de la población total). Poseen núcleo redondo o ligeramente escotado, con patrón de cromatina condensada y un nucléolo no visible (Blauvelt 2020). El índice núcleo-citoplasma es alto, ya que el primero ocupa casi toda la célula y el citoplasma es escaso, color azul claro (Meza León 2014). Su tamaño es de 7 μm a 10 μm (equivalente a 1 a 1,5 veces el tamaño del eritrocito). Estas células pueden ser de estirpe B o T, no resultando posible diferenciar esto solo por su morfología.

Las células jóvenes e inmaduras no deben superar, en conjunto (medianas y grandes), el 15% de la población del linfonódulo. Reconocer estas células puede ser muy útil para definir y/o aproximar el origen de la proliferación linfoide, ya que presentan características particulares que orientan a su origen (Rassel 2018).

- **Centroцитos:** células linfoides jóvenes, pequeñas a medianas, diámetro nuclear 10-14 μm , que superan el tamaño de los glóbulos rojos en 1,5 a 3 veces aproximadamente, núcleo de cromatina densa, no aglomerada, con una hendidura y sin nucléolo visible. Poseen mayor cantidad de citoplasma claro que un linfocito maduro. Son células B foliculares.
- **Centroblastos:** Células linfoides inmaduras intermedias a grandes, diámetro nuclear 14-21 μm , cantidad moderada de citoplasma azulado, ocasionales vacuolas citoplasmáticas, núcleo excéntrico y redondo, cromatina laxa finamente granular, nucléolos múltiples, a menudo periféricos. Son células B foliculares.
- **Inmunoblastos:** células linfoides grandes, diámetro nuclear hasta 28 μm , abundante citoplasma azul oscuro, vacuolas citoplasmáticas ocasionales, núcleo redondo, cromatina finamente granular con un nucléolo central prominente. Pueden tener origen B o T.
- **Linfoblastos:** células linfoides inmaduras, con núcleo de límites irregulares, de cromatina fina, de 7 a 14 μm de diámetro y nucléolo poco evidente. Citoplasma color azul pálido y más abundante que el del linfocito maduro. Origen B o T.
- **Células medias macronucleoladas:** linfocitos intermedios o pequeños de diámetro nuclear de 10 a 14 μm , citoplasma azulado y abundante y núcleo redondo, único y central con un nucléolo prominente. Son células B, de la zona marginal del folículo y solo se ven en la especie canina.

Los **cuerpos linfoglandulares** corresponden a restos citoplasmáticos producidos por la apoptosis de linfocitos y son característicos del tejido linfoide. Son redondos, de tamaño y forma similar a las plaquetas, homogéneos, azul claro a celestes. Si bien se relacionan generalmente con procesos patológicos del linfonódulo, pueden hallarse en linfonódulos sin alteraciones.

También pueden aparecer, por errores en la aspiración o en la extensión del material, núcleos desnudos y tumefactos, los cuales se ven de color rosa uniforme. Estos restos celulares libres no tienen significación y no deben confundirse con células inmaduras.

Se pueden observar **células plasmáticas** (menos del 3%), y sus precursoras. Las células plasmáticas poseen núcleo pequeño, redondo, con cromatina condensada. El citoplasma es abundante, de color azul oscuro y con una zona clara perinuclear, la que se corresponde con la zona del aparato de Golgi. Se relacionan con procesos de respuesta humoral o con procesos neoplásicos de origen B. Las mismas se encuentran en los cordones medulares del linfonódulo.

Los **macrófagos** poseen abundante citoplasma con vacuolas y restos celulares en su interior, lo que da su apariencia de “cielo estrellado”.

Los histiocitos y las células endoteliales, comunes en los linfonódulos, raramente son aspirados intactos.

Las células inflamatorias, neutrófilos, eosinófilos y/o células cebadas no deben superar el 1%.

Tres procesos generales pueden ser analizados mediante la citología y pueden ser causales de linfadenomegalia en uno o varios linfonódulos: hiperplasia reactiva, inflamación y neoplasia (primaria o metastásica).

Tabla 7.2. Células en un aspirado de linfonódulo normal.

SUBTIPO CELULAR	PORCENTAJE	ORIGEN
Linfocitos pequeños	Mayor al 80%	T / B
Centrocitos	10%	B folicular
Centroblastos	1 al 5%	B folicular
Inmunoblastos	1 al 5%	T7B
Linfoblastos	Menor al 1%	T/B
Células medias macronucleoladas	Menor al 1% (solo en perros)	B zona marginal
Células plasmáticas	Menos del 2%	B cordones medulares
Células en flama	Menos del 1%	B cordones medulares
Células de Mott	Menos del 1%	B cordones medulares
Dendríticas	Menos del 1%	Folículo
Interdigitantes	Menos del 1%	Paracorteza
Macrófagos	Menos del 2%	Paracorteza y senos medulares
Inflamatorias	Menos del 5% Menos del 3%	Neutrófilos Eosinófilos y Mastocitos

Nota: Adaptada de Subtypes of cells that may be identified in cytologically normal lymph node samples. En Comazzi, S y MacNeill, AL (2017). Cytology of lymphoid tissues. En Barger AM y MacNeill AL, Small animal cytologic diagnosis. (209-239). First edition. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group.

Hiperplasia reactiva

A veces no existe una clara diferencia entre la imagen citológica de un linfonódulo normal y uno reactivo. El punto de discusión es, precisamente, esta diferenciación, ya que la mayoría de los linfonódulos son reactivos en cierto grado. En ambos, el tipo celular predominante es el linfocito pequeño y maduro. Las células plasmáticas, en el linfonódulo reactivo, pueden representar entre el 5% y el 10 % de la población celular (Figura 7.1). Algunas de estas células, muy activas (células de Mott), pueden estar repletas de corpúsculos esféricos, escasamente coloreados centralmente y con borde neto de color azul violáceo. Los mismos se denominan cuerpos de Russell y representan la secreción de inmunoglobulinas. También pueden observarse las células en flama, caracterizadas por su borde citoplasmático rosa brillante.

Además, se puede observar un aumento en la cantidad de linfocitos inmaduros, llegando hasta el 15 %, y aun hasta el 25%, de la población celular (Blauvelt 2020). El aumento de centroblastos, centrocitocitos y células plasmáticas es indicativo de una hiperplasia folicular con respuesta humoral a una estimulación antigénica. El incremento de células pequeñas, con forma de “espejo de mano”, puede asociarse a una hiperplasia paracortical por respuesta de tipo celular. En ambos casos el diagnóstico diferencial es la proliferación neoplásica y deberá relacionarse lo observado con el cuadro clínico, si bien pueden ser necesarios estudios histopatológicos o, inclusive, de marcación específica mediante técnicas de inmunohistoquímica para el diagnóstico definitivo del proceso.

Acompañando a estas células, se observan cuerpos linfoglandulares. Los macrófagos superan el 2% (Meza León 2014).

La linfadenopatía por hiperplasia reactiva puede ser localizada o generalizada, relacionada con infecciones por virus de la leucemia felina, virus de la inmunodeficiencia felina, *Mycoplasma haemofelis*, *Ehrlichia canis*.

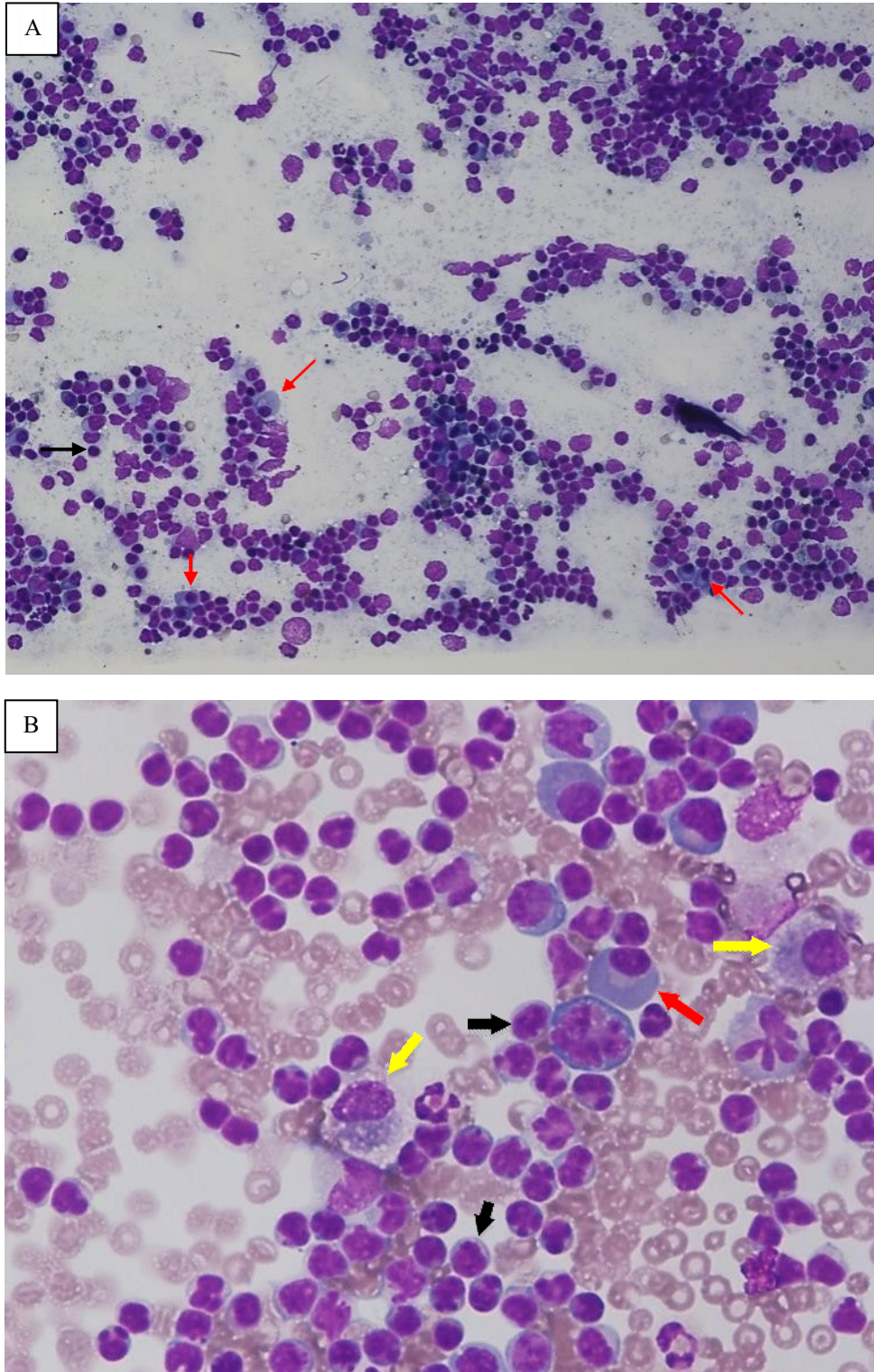
En gatos (jóvenes principalmente) a veces puede ser difícil distinguir la hiperplasia reactiva del linfoma. En estos casos se sugiere realizar el estudio histopatológico y, en forma complementaria, la inmunohistoquímica (IHQ) y/o inmunocitoquímica (ICQ), lo que permite determinar el fenotipo T o B del infiltrado. En otros países se utilizan técnicas de PCR (PARR= PCR de reacomodación de receptores de antígenos) para determinar la clonalidad de las células (Blauvelt 2020).

Linfoadenitis

Puede ser primaria o secundaria; en la primera, el linfonódulo en sí mismo está inflamado o necrótico, mientras que en la segunda existe un proceso inflamatorio o necrótico en el área de drenaje. El aumento de tamaño del linfonódulo puede ir acompañado de dolor y, en el estudio citológico, se caracteriza por la presencia de células inflamatorias: neutrófilos, eosinófilos y macrófagos solos o asociados, lo que permite clasificarla en:

- **Supurativa:** se observan linfocitos y neutrófilos (más del 5%), algunos con cambios degenerativos, también detritus celulares y estructuras bacterianas. La mayoría de las infecciones bacterianas produce una respuesta inflamatoria con neutrófilos (exudado purulento) (Figuras 7.2 y 7.3).

Figura 7.1. Hiperplasia reactiva.



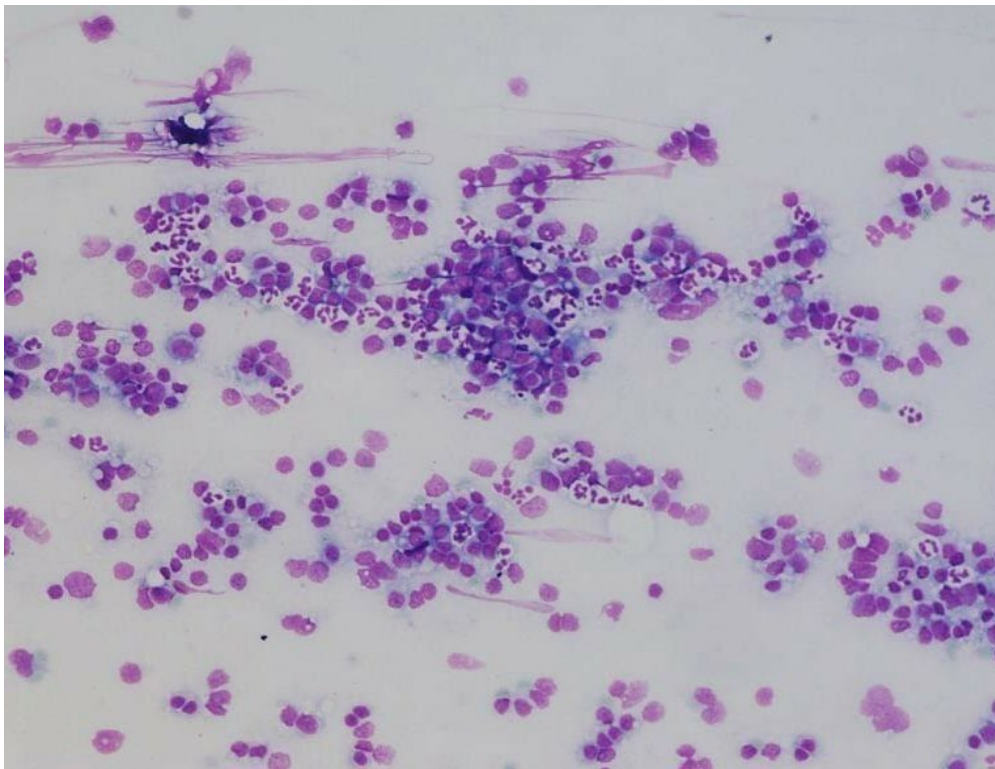
Linfocitos intermedios y grandes (flechas negras), células plasmáticas (flechas rojas) y macrófagos (flecha amarilla). **A)** Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X **B)** Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

- **Piogranulomatosa:** se observan neutrófilos y macrófagos en similar porcentaje.
- **Granulomatosa:** predominan los macrófagos gigantes multinucleados y células epitelioides. Los macrófagos aumentan en la inflamación, pero también lo hacen en la hiperplasia y, ocasionalmente, en las neoplasias. Las células epitelioides se caracterizan por presentar un citoplasma rosado con pequeñas vacuolas y escasos restos celulares. También pueden contener microorganismos. Estas células se encuentran agrupadas.

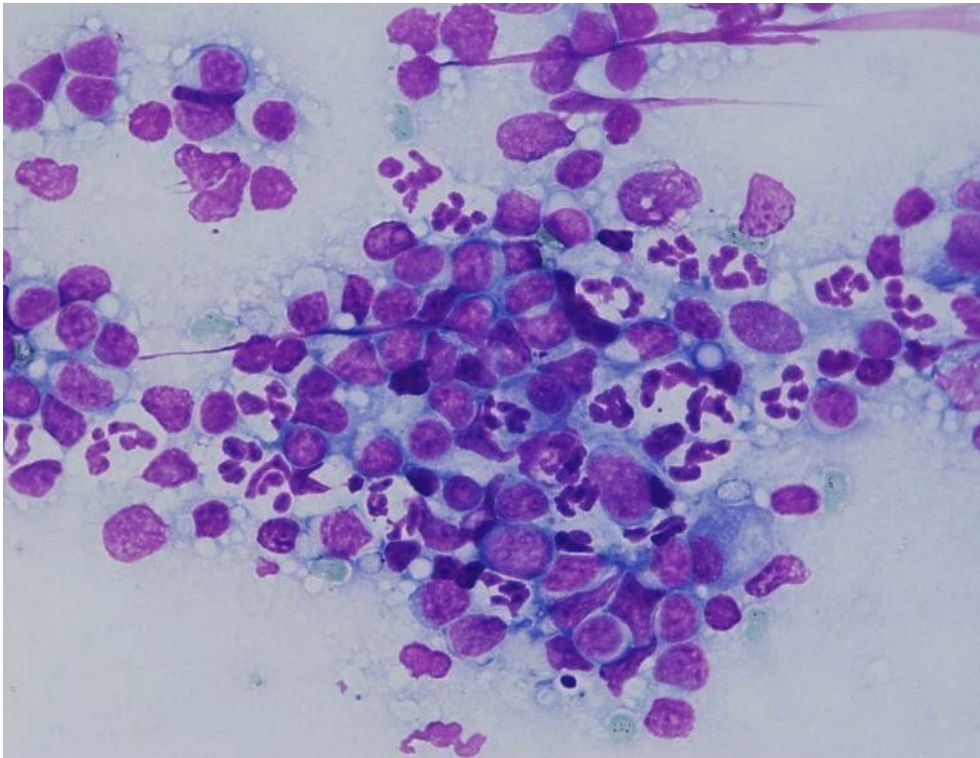
Algunos microorganismos tales como *Mycobacterium spp.*, *Cryptococcus spp.* (Figura 7.4), *Toxoplasma spp.*, *Histoplasma spp.* y *Leishmania spp.* producen esta respuesta.

- **Eosinofílica:** se observan eosinófilos en un porcentaje mayor al 3%. En procesos alérgicos de la piel y tracto respiratorio y digestivo se pueden hallar eosinófilos en el aspirado de los linfonódulos satélites.

Figura 7.2. *Linfoadenitis supurativa.*



Neutrófilos (más del 5%) y linfocitos intermedios y grandes. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

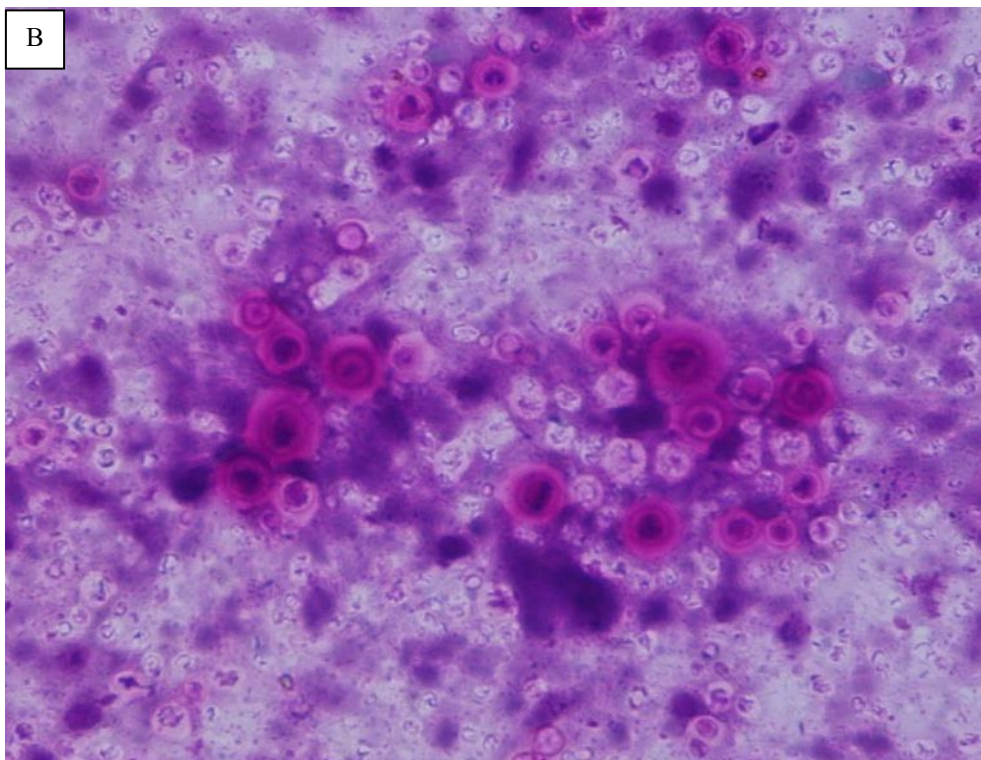
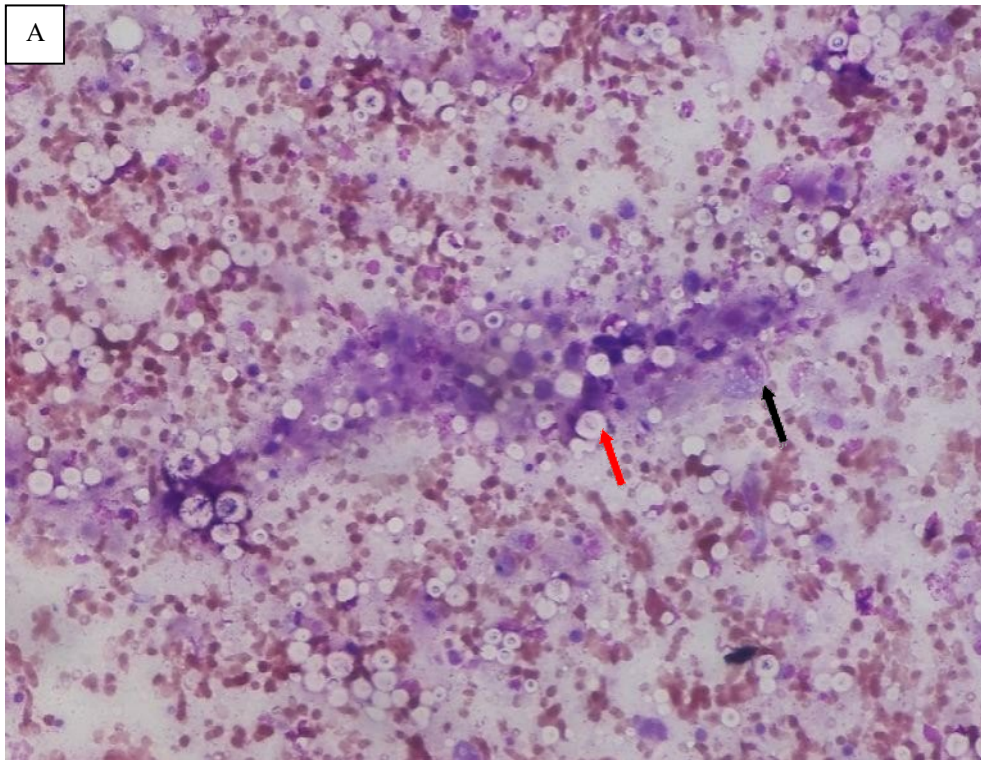
Figura 7.3. *Linfoadenitis supurativa.*

Neutrófilos (más del 5%) y linfocitos intermedios y grandes. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Linfoma

Los linfomas son las neoplasias hematopoyéticas más frecuentes en los caninos, siendo, en esta especie, la presentación multicéntrica la más vista. Se caracterizan en la citología por la presencia de linfocitos inmaduros. Cuando estos constituyen más del 50 % de la población total, generalmente excediendo el 80%, se formula el diagnóstico de linfoma sin mayores inconvenientes. En este tipo de tumores la citología permite confirmarlo en el 90% de los perros y en el 70% de los gatos, por lo cual es un punto esencial del proceso diagnóstico. En los estadios iniciales de la enfermedad, y en casos con tratamiento previo con corticoides, la cantidad de linfocitos inmaduros es mucho menor y, por lo tanto, el diagnóstico es más difícil. Los linfocitos neoplásicos pueden ser más grandes que los neutrófilos, con núcleo grande y redondo, cromatina nuclear dispersa y nucléolo evidente, con alteración de la relación núcleo-citoplasma. El citoplasma color azul intenso o azulado y finamente vacuolado puede tener una notoria zona perinuclear más clara. Las mitosis son más numerosas que en la hiperplasia. La presencia de macrófagos con material fagocitado indica una intensa proliferación y apoptosis. Los cuerpos linfo glandulares son más numerosos que en la hiperplasia (Figura 7.5).

Figura 7.4. Linfadenitis granulomatosa por criptococosis.



A) Macrófagos (flechas negras) y *Cryptococcus neoformans* (flechas rojas). Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X. **B)** PAS positivo, se ve de color rosa intenso la gruesa cápsula. Tinción PAS. Obj. 60X.

La apariencia morfológica de las células neoplásicas y el índice mitótico pueden utilizarse para clasificar los linfomas. En la actualidad, en medicina veterinaria, se aplican pautas provenientes de dos clasificaciones para linfomas utilizadas en medicina humana y que contribuyen a la predicción del comportamiento biológico. Si bien existen otros parámetros descriptivos que se utilizan para la clasificación de los linfomas, se considera que los siguientes son los de mayor utilidad.

Estimación del índice mitótico mediante la observación de cinco campos (Objetivo 40X):

- Índice mitótico bajo: 0-1 figuras mitóticas
- Índice mitótico moderado: 2-4 figuras mitóticas
- Índice mitótico alto: 5 o más figuras mitóticas

Determinación del tamaño celular en comparación con el del glóbulo rojo:

- Pequeño: 1 a 1,5 veces el tamaño de un glóbulo rojo
- Mediano: 1,5 a 2 veces el tamaño de un glóbulo rojo
- Grande: 3 veces o más el tamaño de un glóbulo rojo (Figura 7.5)

Forma del núcleo: escotado o no escotado, redondo, pleomórfico, binucleado

Patrón de cromatina: granular, fina o gruesa, condensada, en agregados o en acúmulos

Nucléolos: cantidad, tamaño y disposición

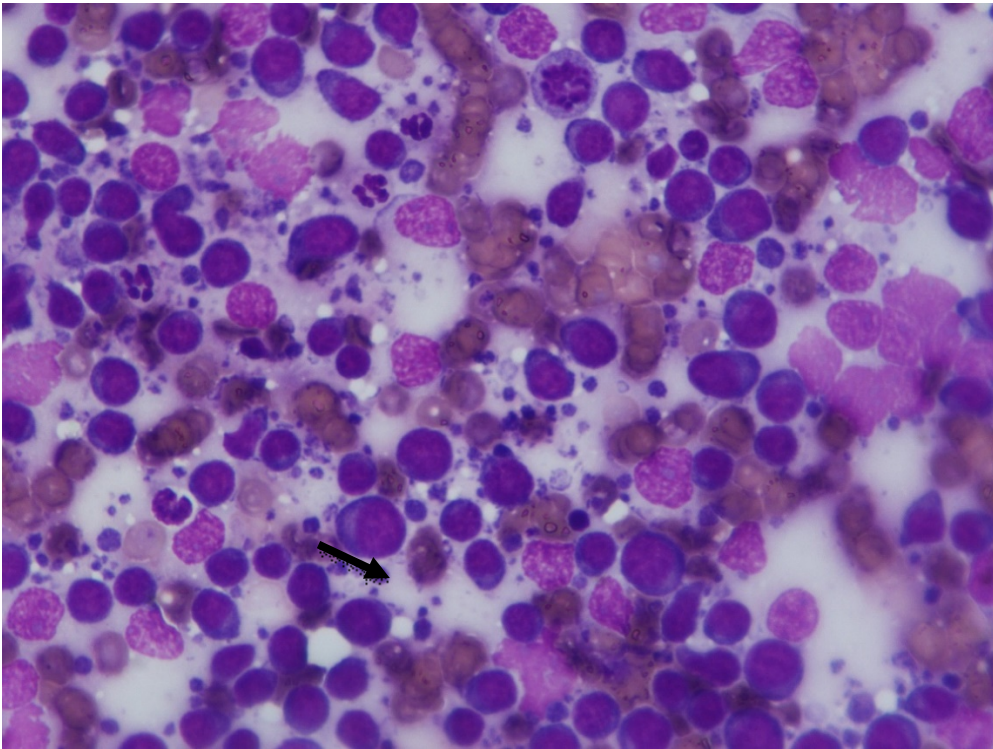
Citoplasma: cantidad, color, presencia de gránulos, prolongación semejando un “espejo de mano” (Figura 7.6)

El **grado de malignidad** de la neoplasia en caninos se establece mediante la determinación del tamaño celular y del índice mitótico en la observación histopatológica

- Bajo grado de malignidad o indolente: bajo o medio índice mitótico y tamaño celular pequeño
- Alto grado de malignidad: alto índice mitótico y tamaño celular mediano a grande
- Los linfomas felinos son considerados en dos grupos principalmente relacionados con el tamaño celular, linfoma linfocítico (bajo grado) y linfoma linfoblástico (alto grado). Existe un tercer tipo, el linfoma granular, caracterizado por la presencia de gránulos en el citoplasma. Este tipo de linfoma es de localización intestinal, altamente agresivo y de mal pronóstico. Estos gránulos no se tiñen con Tinción 15, necesitando tinción de Giemsa para ponerlos en evidencia.

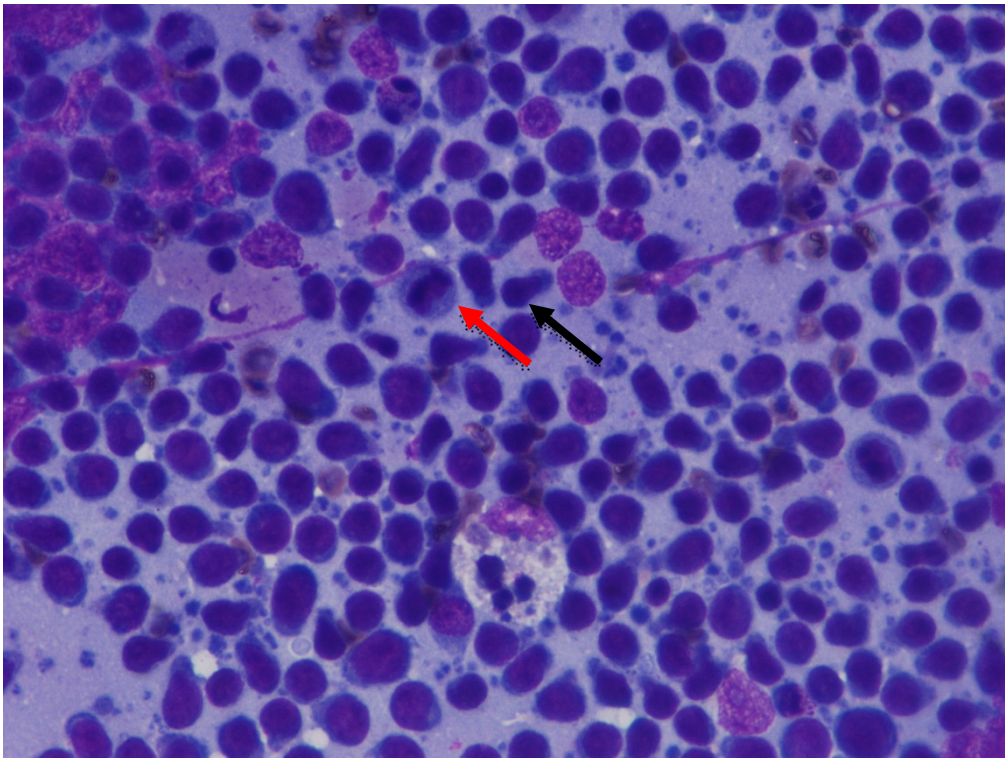
Si bien la mayoría de los linfomas caninos y felinos son de tipo no Hodgkin, de acuerdo con la clasificación en medicina humana, en la especie felina y, en menor medida, en los caninos también puede presentarse un linfoma tipo Hodgkin identificable por la presencia de las células de Reed-Sternberg. Estas células son binucleadas con macrocariosis y un gran nucléolo en cada uno, similar a ojos de la lechuga (Blauvelt 2020) (Figura 7.7). Además, pueden identificarse grandes células atípicas (linfocitos B) cuyos núcleos recuerdan a “pochoclos” (Valli 2007). Este tipo de linfoma generalmente compromete uno o varios linfonódulos de la cabeza o cuello y se considere indolente ya que presenta sobrevida mayor a un año en los animales afectados.

Figura 7.5. *Linfoma de células grandes.*

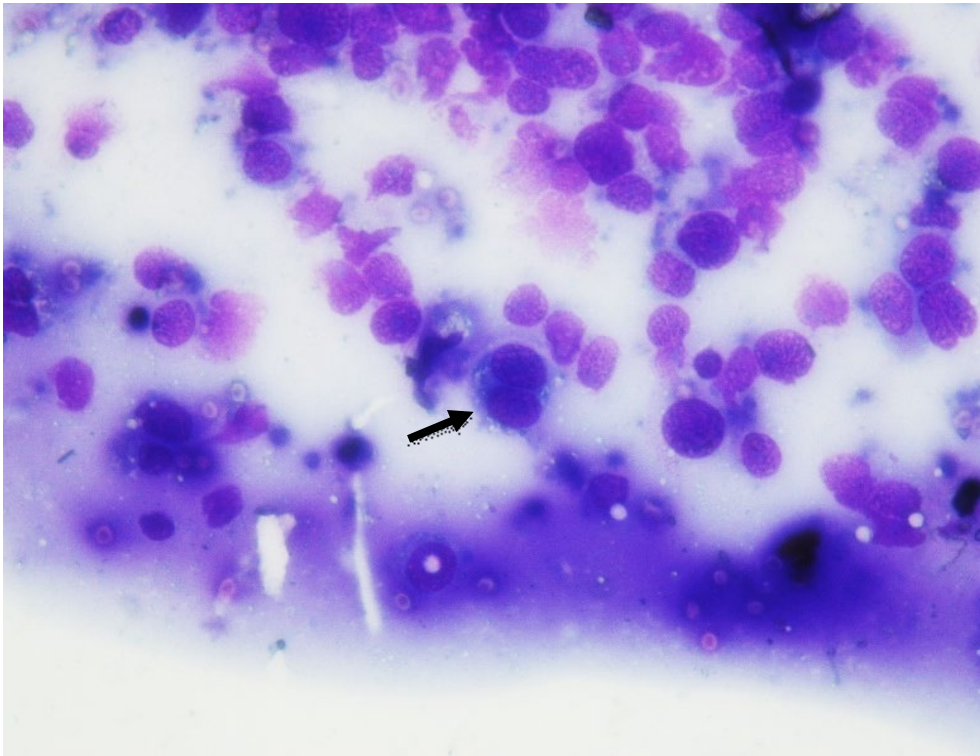


Células linfoides inmaduras y grandes, abundantes cuerpos linfoglandulares (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj.60X.

Figura 7.6. *Linfoma de células medianas.*



Células linfoides inmaduras y numerosas "células en espejo de mano" (flecha negra) y mitosis (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Figura 7.7. Linfoma tipo Hodgkin.

Células linfoides inmaduras y la presencia de células de Reed- Sternberg (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

La citología suele ser suficiente para establecer el diagnóstico de linfoma en perros. En gatos a veces no es posible formular un diagnóstico definitivo en linfomas linfocíticos, pero sí en linfomas linfoblásticos y granulares. Si bien los hallazgos citológicos confirman el linfoma, se debe recordar que no todas las neoplasias linfoides son iguales, ya que se originan de diferentes expansiones clonales en determinadas áreas del linfonódulo, lo cual les confiere características particulares. La determinación inmunofenotípica permite mediante el uso de anticuerpos específicos (CD 3 para linfocitos T y CD79a para linfocitos B), establecer su origen. La variedad del subtipo celular, sumado al comportamiento clínico, se relaciona con la respuesta al tratamiento y el pronóstico. La aspiración de la médula ósea es recomendable para estadificar al paciente con linfoma con mayor precisión y evaluar las líneas hematopoyéticas (Blauvelt 2020).

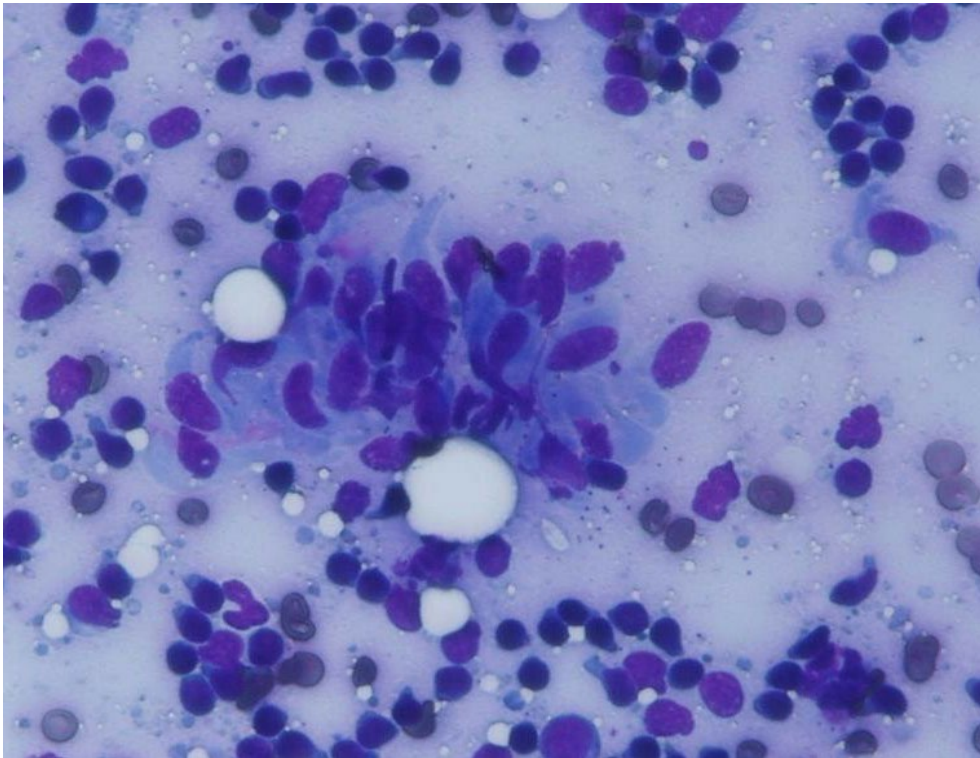
Metástasis

La presencia de células que normalmente no se encuentran en el linfonódulo o el aumento de ciertos grupos celulares (células cebadas) orientan hacia el diagnóstico de una metástasis. Los carcinomas pueden dar origen a metástasis en los linfonódulos satélites. En estos casos, las células epiteliales se observan solas o en grupos, son grandes y no guardan similitud con las células propias de los linfonódulos. Los melanomas también pueden producir

metástasis en los linfonódulos. En estos casos, los melanocitos se distinguen por los pigmentos granulares pardonegruzcos de sus citoplasmas. Estas células deben diferenciarse de macrófagos que han fagocitado melanina proveniente de tejidos pigmentados correspondientes al área de drenaje del linfonódulo. Los melanocitos o los melanófagos pueden confundirse con macrófagos con hemosiderina en su interior. Los gránulos de hemosiderina tienden a ser variables en tamaño, de color azul intenso a negruzcos, grandes en relación con los gránulos de melanina. Las metástasis de sarcomas se caracterizan por la presencia de un número variable de células fusiformes (Figura 7.8).

También podemos hallar células cebadas provenientes de un mastocitoma. Más del 3 % de células cebadas sugiere la presencia de neoplasia. En los mastocitomas más indiferenciados (grados II o III), la mayoría de las células son grandes, con escasos gránulos en su interior. En el aspirado de linfonódulos se pueden hallar células provenientes de un tumor venéreo transmisible.

Figura 7.8. *Metástasis de neoplasia mesenquimática.*



Grupo de células de origen mesenquimático en el linfonódulo. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

La sensibilidad en la detección de una escasa cantidad de células metastásicas puede incrementarse con el uso de inmunohistoquímica. (Blauvelt 2020).

Referencias

- Avallone G, Rasotto R, Chambers JK, Miller AD, Behling-Kelly E, Monti P, Berlato D, Valenti P, Roccabianca P (2021). Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine Veterinary Pathology 1-20. Article reuse guidelines: [sagepub.com/journals-permissions](https://www.sagepub.com/journals-permissions) DOI: 10.1177/0300985821999831 journals.sagepub.com/home/vet
- Blauvelt M y Messick JB (2020). The lymph nodes. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat.* (171-181). Fifth edition. St. Luis, USA: Elsevier. (229–246).
- Comazzi, S y MacNeill, AL (2017). Cytology of lymphoid tissues. En Barger AM y MacNeill AL, *Small animal cytologic diagnosis.* (209-239). First edition. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group.
- Meza León, A. B.; García Ortuño, L.E. (2014) Citología de linfonódulos. En De Buen De Argüero N, *Atlas de citopatología veterinaria.* (313-329). Primera Edición. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Intermédica.
- Ressel L. (2018) Normal cell morphology in canine and feline cytology. (1-184). First edition Oxford, UK: John Wiley & Sons, Inc.
- Valli VE. (2007). Hodgkin's lymphoma. En Valli VE, *Veterinary Comparative Hematopathology.* (491-499). First edition. Ames, USA: Blackwell Publishing.

CAPÍTULO 8

Estudio citológico de la cavidad nasal

Gonzalo Julián Madariaga y Sebastián Iveli

La evaluación citológica de la cavidad nasal provee información de gran valor diagnóstico, la que, cuando se correlaciona con la historia clínica, los hallazgos clínicos y los estudios de imágenes, influye directamente en el manejo del paciente con signos de enfermedad de las vías aéreas superiores o deformidad facial (Burkhard 2016).

Muchas veces la toma de muestras de la cavidad nasal es, por sus características anatómicas, un verdadero desafío. Las indicaciones para el estudio citológico incluyen las descargas nasales crónicas o recidivantes, la epistaxis y la presencia de masas intranasales, con o sin deformación facial o exteriorización de las mismas por los orificios nasales.

La realización de otros métodos complementarios, previos al estudio citológico, nos permite ubicar mejor la lesión. Así, los estudios radiológicos, la TAC (tomografía axial computada), la RM (resonancia magnética) o la endoscopía brindan información valiosa a la hora de definir el método de obtención de la muestra. La administración de antibióticos durante la semana previa al estudio citológico reduce los procesos infecciosos e inflamatorios locales que pueden dificultar la interpretación de los hallazgos citológicos

Técnica para la toma de las muestras

Las muestras para citología pueden obtenerse de distintas formas: hisopados nasales, lavados nasales, aspiración con catéter, punción con aguja fina (PAF) o punción aspiración con aguja fina (PAAF).

Hisopado nasal: es la técnica más sencilla para la obtención de muestras dentro de la cavidad nasal. Se coloca el hisopo dentro de la misma a través del ollar o narina y se lo gira repetidas veces a medida que contacta con la superficie para luego realizar los extendidos, haciéndolo rodar sobre un portaobjetos. Esta técnica poco invasiva nos permite tomar muestras de la porción rostral de la cavidad nasal. Es apta para tomar muestras de exudado y lesiones superficiales, aunque no es adecuada para procesos que ocurren más profundamente y pueden quedar enmascarados por células de la inflamación e infecciones bacterianas secundarias (Wellman 2020).

Lavados nasales: esta técnica requiere que el paciente esté anestesiado e intubado. Se inserta un catéter blando (cuya longitud se estima previamente midiendo desde el ollar hasta el

ángulo medial del ojo) hasta la lámina cribosa del etmoides. Una vez colocado el catéter, se le acopla una jeringa de 10 ml con solución fisiológica o Ringer lactato estériles y se expulsa el contenido a través del mismo para luego, sin desacoplar la jeringa, aspirar el líquido previamente expulsado. La maniobra de expulsar y aspirar el líquido se repite hasta que veamos un cambio notorio de coloración o de densidad. Una vez obtenida la muestra, se retira el catéter, se desacopla la jeringa, se coloca una gota sobre un portaobjetos y se realiza el extendido tipo frotis. Si el líquido obtenido es translúcido, se centrifuga durante 5 minutos a 1500 rpm, se retira el sobrenadante y se realiza otro extendido resuspendiendo el sedimento. Se pueden realizar varios extendidos para tinciones especiales (Gram, PAS). Si se obtuviera algún fragmento de tejido, se pueden realizar improntas sobre un portaobjetos, remitiéndose, asimismo, el material para su estudio histopatológico fijado en formol al 10% (Wellman 2020).

Aspiración con catéter: para realizar esta técnica, el paciente debe estar sedado o anestesiado. Puede utilizarse como catéter una sonda urinaria de tipo Tomcat®; la misma se corta en su extremo con un bisel a 45°, para que sea cortante. La sonda se acopla a una jeringa de 10 ml y se aspira varias veces a medida que avanza hacia el interior de la masa. Luego se retira y se realiza el extendido sobre un portaobjetos. Si se obtuvieran trozos de tejido, seguir el procedimiento anteriormente descripto.

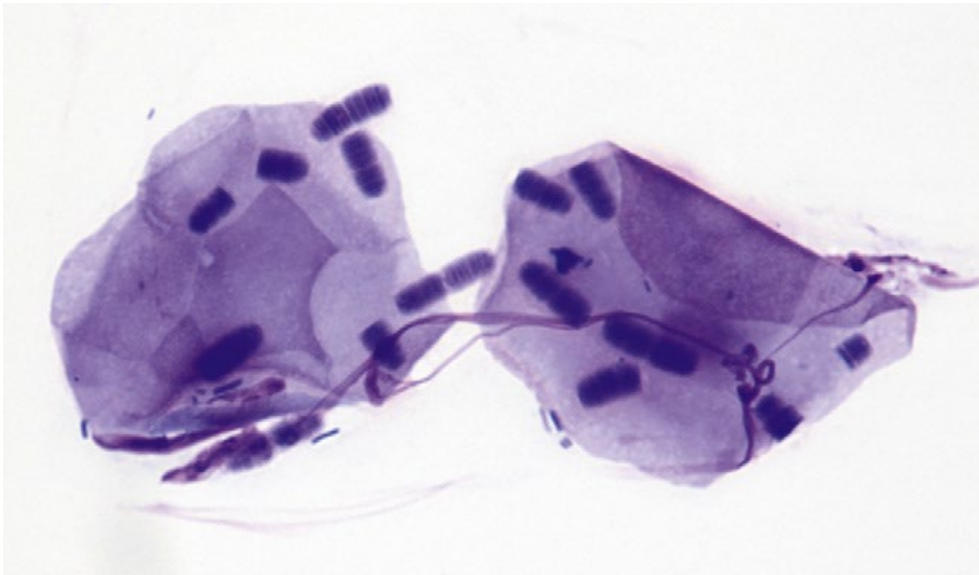
PAF o PAAF: estas técnicas se utilizan cuando se exhibe la neoformación a través del orificio nasal o a través del hueso nasal dañado (zona de osteólisis), realizándose punción, con o sin jeringa, según la densidad del tejido. Se recomienda, además, realizar la PAF o PAAF del linfónodo mandibular, aunque se halle normal a la palpación, ya que muchas veces la citología del mismo permite, no sólo el diagnóstico, sino también la estadificación de la neoplasia.

En general, utilizando técnicas más invasivas y agresivas se logra obtener muestras más representativas, mientras que con las técnicas no invasivas solo en la mitad de los casos se obtiene material útil para realizar un diagnóstico. (Burkhard 2016)

Hallazgos citológicos normales

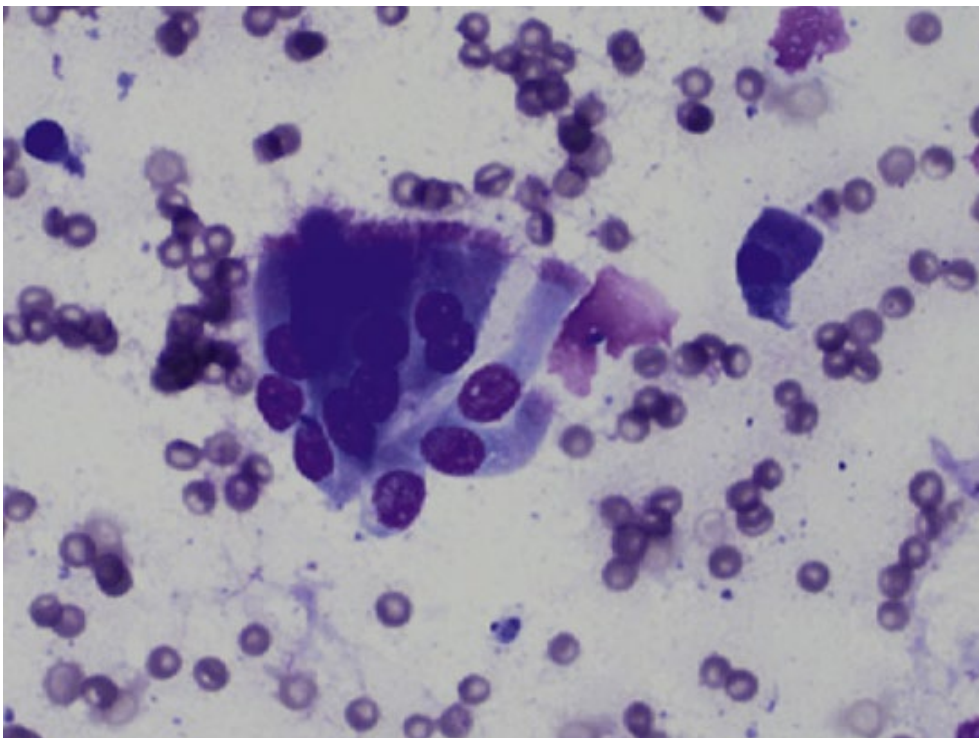
El epitelio que recubre la cavidad nasal normal varía según la localización dentro de la misma. Es por ello que las células obtenidas de la porción más rostral de la cavidad nasal son epiteliales escamosas redondas a poligonales exfoliadas en forma individual y pueden estar queratinizadas (narinas y orofaringe) (Figura 8.1). A partir de los cornetes nasales pueden obtenerse células columnares del epitelio respiratorio típico (células cilíndricas ciliadas y células caliciformes (sin cilias)), exfoliadas en forma individual y en pequeños grupos (Figura 8.2). Las células basales son redondas, pequeñas y con citoplasma azul. La presencia de bacterias, adheridas a la superficie de las células epiteliales, en poca cantidad, y en ausencia de neutrófilos, es un hallazgo normal (Burkhard 2016). Una de ellas es una bacteria gram negativa, con forma de bastón, que se dispone en pilas de monedas, llamada *Conchiformibius* spp. (anteriormente *Simonsiella* spp.) (Wellman 2020).

Figura 8.1. Células epiteliales queratinizadas.



Presencia de *Conchiformibius* spp. Tinción 15, Biopur®. Obj.100X.

Figura 8.2. Células cilíndricas ciliadas.



Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Inflamación

Los procesos inflamatorios de la cavidad nasal pueden tener un origen infeccioso o no infeccioso. Las rinitis no infecciosas incluyen cuerpos extraños, rinitis alérgica, rinitis linfoplasmocítica y pólipos nasales.

Las rinitis bacterianas primarias son poco comunes en perros y gatos. Las infecciones bacterianas suelen ser secundarias y ocasionadas por flora mixta. Los extendidos se caracterizan por el predominio de neutrófilos, poblaciones homogéneas de bacterias intracelulares o libres y una cantidad variable de macrófagos. Sin embargo, aun con estos resultados, no pueden descartarse procesos tales como infecciones virales o micóticas, cuerpos extraños o neoplasias.

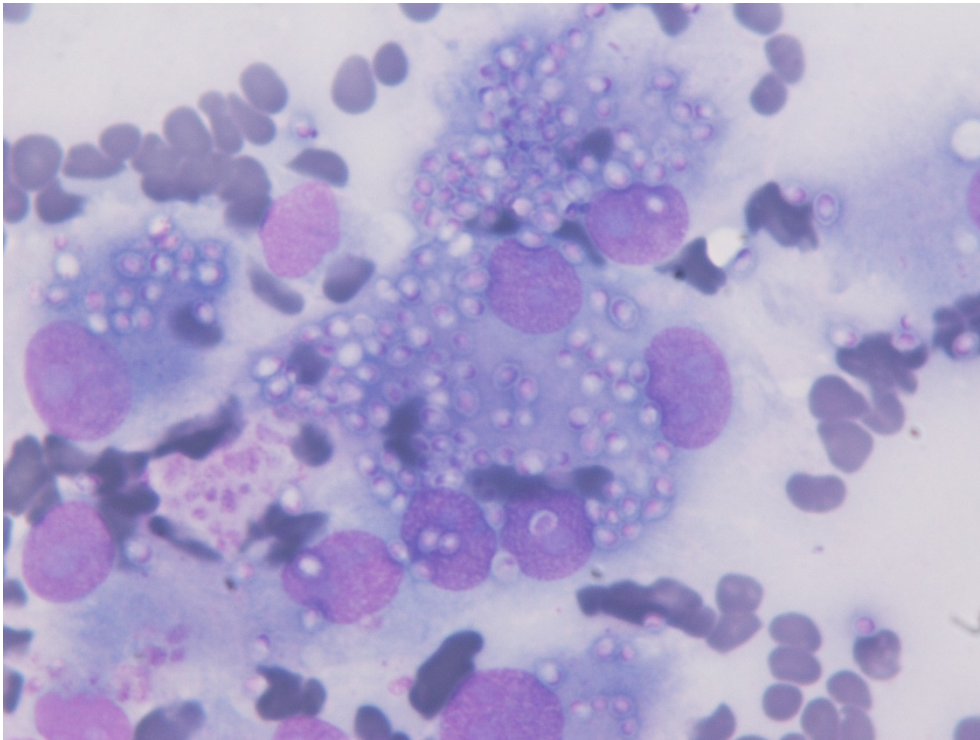
Las rinitis alérgicas se caracterizan por un predominio de eosinófilos y cantidad variable de neutrófilos y células epiteliales del tracto respiratorio (Wellman y Radin, 2020).

Las infecciones micóticas son raras y pueden ser ocasionadas por *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Histoplasma capsulatum* y *Cryptococcus neoformans*. Generalmente se observan estructuras filamentosas (hifas), en ocasiones sin afinidad por los colorantes, que corresponden a *Aspergillus* o *Penicillium* y no pueden diferenciarse, excepto mediante cultivo. Para poner en evidencia las hifas pueden realizarse coloraciones especiales como nuevo azul de metileno, PAS o Grocott. En los extendidos se encuentran cantidades variables de macrófagos y neutrófilos como parte de la respuesta piogranulomatosa. Los histoplasmas son hongos dimórficos que generalmente se observan como levaduras pequeñas, de 2 a 4 µm de diámetro, redondas a ovales con un núcleo excéntrico en forma de medialuna (Figura 8.3). Los criptococos se observan como organismos redondeados, de 4 µm a 15 µm de diámetro (sin cápsula), rodeados por una cápsula que se visualiza como un halo claro, alcanzando un diámetro total de 8 a 40 µm (Lane 2020) (Figura 8.4). En la Tabla 8.1 se enuncian los hongos dimórficos más frecuentes y las características más distintivas para su identificación.

La rinosporidiosis es una infección causada *Rhinosporidium seeberi*, un patógeno eucariota que pertenece a la clase Mesomycetozoea dentro del Reino Protista, que se encuentra en regiones tropicales y asociadas a ambientes acuáticos. Se caracteriza por producir lesiones polipoides en cavidad nasal y tracto respiratorio. En el exudado nasal se observan múltiples endosporas redondeadas, de 7 a 15 µm de diámetro, rosa brillante, con glóbulos eosinofílicos en su interior, y rodeadas por una pared de doble capa. En ocasiones pueden, además, observarse grandes esporangios (100 a 450 µm de diámetro) con endosporas inmaduras en su interior (Lane 2020).

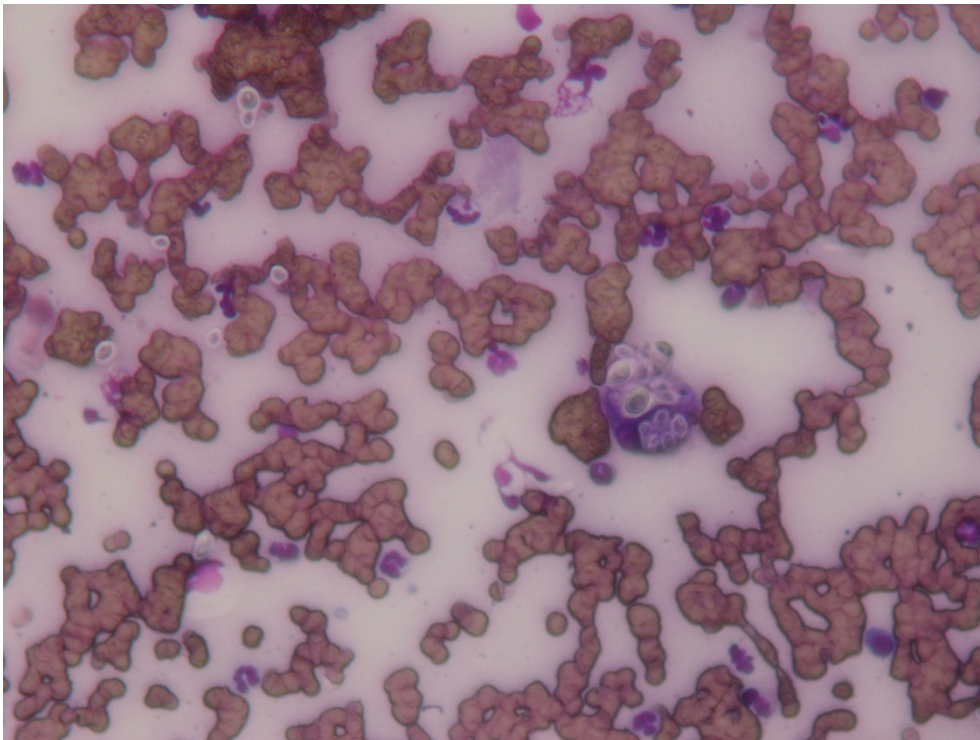
Cuando el proceso obedece a la presencia de cuerpos extraños (generalmente vegetales), estos pueden ser ocasionalmente vistos durante el examen microscópico. No obstante, en general, sólo pueden reconocerse células características de la inflamación crónica secundaria.

Figura 8.3. *Histoplasma spp.*



Abundantes microorganismos intracitoplasmáticos en células gigantes multinucleadas Tinción 15, Biopur®. Obj. 100X.

Figura 8.4. *Cryptococcus spp.*



Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Tabla 8.1 Hongos dimórficos comunes que forman levaduras en el tejido.

Levadura	Características distintivas de la levadura
Levaduras pequeñas	
<i>Sporothrix schenckii</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Redondo, ovalado a fusiforme (en forma de cigarro) • 1 a 3 µm de ancho × 3 a 9 µm de largo • Citoplasma azul claro, núcleo excéntrico de rosa a púrpura, pared celular delgada y transparente • Brotación de base estrecha
<i>Histoplasma capsulatum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Redondo a ovalado, NO fusiforme • 2-4 µm de diámetro • Citoplasma azul claro a medio; núcleo excéntrico en forma de media luna, de color rosa a púrpura; delgada pared celular clara • Brotación de base estrecha • Formas raras de hifas en tejido
Levaduras medianas	
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Esférico • 8-20 µm de diámetro • Azul intenso, con pared doble gruesa y refractaria • Brotación de base amplia • Formas raras de hifas en tejido
<i>Cryptococcus spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Redondo a ovalado a alargado • 4-15 µm de diámetro sin cápsula; 8–40 µm de diámetro con cápsula • Rosa a púrpura y granular con cápsula gruesa, incolora a rosa claro; las formas recubiertas rugosas carecen de la cápsula • Brotación de base estrecha • Formas raras de hifas
Levaduras grandes	
<i>Coccidioides spp.</i>	<p>Esférulas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Redondo • 10-200 µm de diámetro • Protoplasma azul, a menudo doblado o arrugado • Endosporulación <p>Endosporas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Redondo a ovoide • 2-5 µm de diámetro • Citoplasma de claro a azul claro, núcleos excéntricos de azul oscuro a púrpura, pared celular transparente y delgada

Nota. Adaptado de *Common Dimorphic Fungi That Form Yeasts in Tissue*, de Laura V. Lane y col., 2020, *Selected infectious agents*. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (44-64) Fifth Edition. St. Louis, USA: Elsevier.

Neoplasias

Las neoplasias primarias de la cavidad nasal son poco comunes en perros y gatos. Los tumores benignos (adenoma, papiloma, fibroma, condroma, osteoma y leiomioma) son raros y difíciles de diagnosticar mediante el estudio citológico.

La mayoría de las neoplasias son malignas y localmente invasivas, pero las metástasis son raras. Las neoplasias de origen epitelial (adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas y carcinomas indiferenciados) son más frecuentes que las de origen mesenquimático (condrosarcoma, osteosarcoma y fibrosarcoma). Los tumores de células redondas más frecuentes son el tumor venéreo transmisible, el linfoma y el mastocitoma. Esporádicamente fueron reportados el carcinoma adenoescamoso, el leiomioma, el sarcoma histiocítico, el hemangiosarcoma, el liposarcoma, el melanoma, el plasmacitoma y los carcinoides (Wellman 2020).

Los adenocarcinomas exfolian células redondas a poligonales dispuestas en grupos que presentan un patrón acinar. Las células suelen presentar anisocitosis, anisocariosis, cambios en la relación N:C y citoplasma basófilo con cantidad variable de vacuolas claras o una gran vacuola. Los núcleos son redondos, ligeramente irregulares, de cromatina en hebras gruesas y uno o múltiples nucléolos.

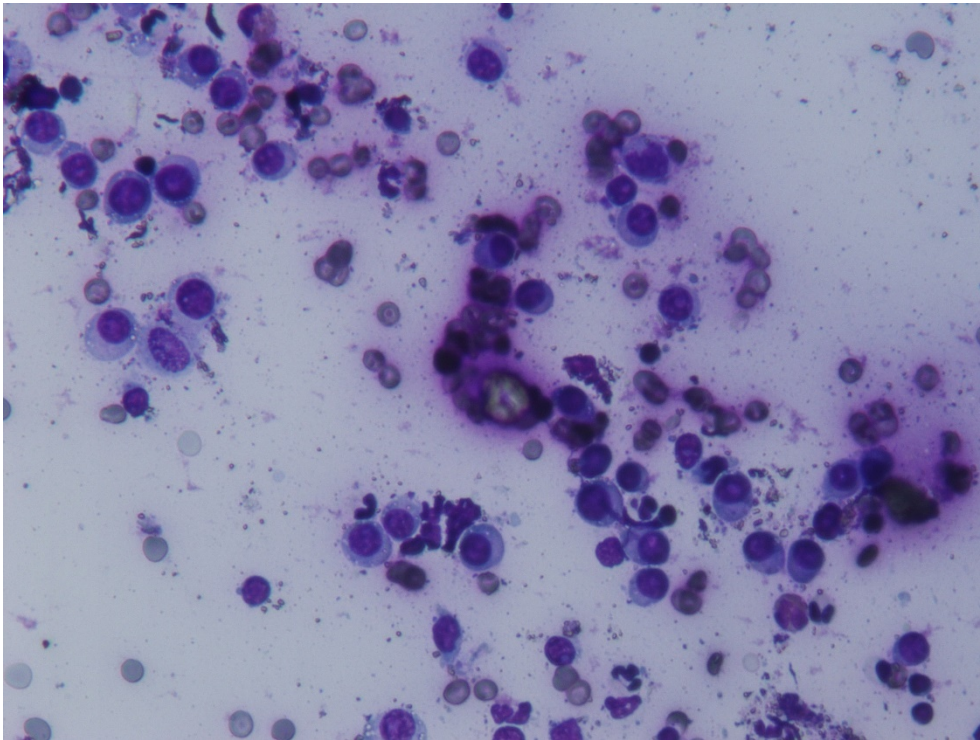
Los carcinomas de células escamosas presentan características citológicas similares a las descritas en otras localizaciones y son localmente invasivos, pudiendo causar osteólisis.

Los condrosarcomas son más frecuentes en perros jóvenes. Los aspirados suelen tener abundante matriz extracelular amorfa eosinofílica, que recuerda al cartílago, y baja celularidad. La presencia de uno o varios condrocitos dentro de espacios lacunares cartilagosos es una característica distintiva de esta neoplasia. Las células son redondas a ovales, con núcleo redondo a oval. Ocasionalmente puede haber células binucleadas, y cromatina granular, nucléolos múltiples y abundante citoplasma vacuolado.

Los extendidos de osteosarcomas pueden presentar escasa a abundante cantidad de células exfoliadas en forma individual. Las células son redondas a ovales, con núcleo redondo a oval, excéntrico, de cromatina finamente granular, con uno o múltiples nucléolos prominentes, y abundante citoplasma basofílico que en ocasiones presenta gránulos irregulares de color rosado. Pueden observarse cantidades variables de osteoclastos multinucleados y matriz extracelular eosinofílica (matriz osteoide).

El tumor venéreo transmisible (TVT) es una neoplasia frecuente en los genitales externos, aunque puede ocurrir en otras áreas del cuerpo, incluyendo la cavidad nasal (Figura 8.5). En la presentación extragenital las células no son tan típicas como en el TVT genital (ej. vacuolas menos evidentes) dificultando la diferenciación de otras neoplasias de células redondas y carcinomas pobremente diferenciados. Habitualmente, en los extendidos también se observan células normales de la cavidad, células inflamatorias y detritos celulares.

Figura 8.5. *Tumor venéreo transmisible.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Referencias

- Burkhard MJ (2016). Respiratory tract. En Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and feline cytology. A color atlas and interpretation guide*, (138 – 153) Third Edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Lane LV, Yang PY y Cowell RL (2020). Selected infectious agents. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (44-64) Fifth Edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Wellman ML y Radin MJ (2020). Nasal exudates and masses. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (121-130) Fifth Edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 9

Estudio citológico de las cavidades oral y orofaríngea

*Nicolás Guido, Sebastián Iveli, Natalia Caggiano
y Mariana Machuca*

El sencillo abordaje de la cavidad oral facilita la recolección de muestras para estudios citológicos, aunque las tonsilas representan una excepción, ya que su posición en el extremo aboral de la boca dificulta el acceso para este tipo de procedimientos. Si bien esta técnica permite formular, en muchos casos, un diagnóstico definitivo, facilitando el establecimiento de un pronóstico y un tratamiento adecuados, en otros solo posibilita acotar la lista de diagnósticos diferenciales o, en última instancia, elegir un método complementario más concluyente. Está indicada, principalmente, para la evaluación de lesiones sobreelevadas (masas y placas), úlceras, trayectos fistulosos y tonsilas aumentadas de tamaño (Bernreuter 2020).

Técnicas para la toma de muestras

Para realizar una técnica correcta y segura, en pacientes indóciles, se recomienda la sedación o la anestesia (Schappa Faustich 2021), más aun si se requiere explorar las estructuras caudales de la cavidad oral, como es el caso de las tonsilas (cavidad orofaríngea). Si se sospecha de neoplasias malignas, frecuentes en la cavidad oral, se deben evaluar, de forma complementaria, los linfonódulos locales y utilizar técnicas de diagnóstico por imágenes de la cabeza, tórax y abdomen para corroborar la posible invasión local o metástasis. Debido a la gran vascularización de la mucosa oral es necesario extremar las precauciones para evitar la hemodilución de la muestra (Bernreuter 2020).

Para garantizar la obtención de material adecuado deben combinarse, de ser posible, varias técnicas. Para lesiones proliferativas (masas y placas) la técnica de elección es la punción aspiración por aguja fina (PAAF) ya que permite explorar la profundidad de la lesión y evitar, de esta manera, la inflamación secundaria superficial. Sin embargo, en presencia de lesiones fibrosas y poco exfoliativas (ej.: tumores mesenquimáticos), el raspado permite, con frecuencia, obtener mayor cantidad de células, aunque también agentes oportunistas secundarios que dificultan el diagnóstico primario. En el caso de lesiones planas y/o ulceradas deben utilizarse las técnicas de raspado e impronta, teniendo en cuenta que es frecuente que los procesos secundarios (ej.:

inflamación séptica sobreagregada) impidan reconocer al proceso primario y deban utilizarse otros métodos, como la histopatología, para arribar al diagnóstico definitivo.

Hallazgos citológicos más frecuentes

Las muestras citológicas de las cavidades oral y orofaríngea pueden contener células normales del tejido, células inflamatorias y/o células neoplásicas. La evaluación citológica permite distinguir lesiones inflamatorias de lesiones neoplásicas y, en este último caso, reconocer su origen embriológico (epitelial, mesenquimático o de células redondas). Es importante recordar que, en ocasiones, es difícil discriminar el proceso patológico primario que da origen a la lesión ya que, por un lado, una neoplasia puede sufrir ulceraciones y procesos inflamatorios secundarios y, por el contrario, un proceso inflamatorio primario puede desprender células epiteliales o mesenquimáticas displásicas reactivas capaces de manifestar algunos criterios de malignidad, a pesar de no poseer un origen neoplásico. En estos casos, se recomienda la evaluación histopatológica.

Hallazgos normales

Las cavidades oral y orofaríngea se encuentran recubiertas por un epitelio plano estratificado con diversos grados de queratinización, por lo que debe considerarse normal el hallazgo de células escamosas superficiales maduras e intermedias, dispersas en el extendido. La queratinización de estas células es más notable en las muestras obtenidas del paladar duro, encías y superficie dorsal de la lengua (Jergens 2016). También suelen observarse fibroblastos, fibrocitos, células epiteliales glandulares (glándulas salivales y sus conductos) y células linfoides provenientes de las tonsilas. La cantidad de estos tipos celulares suele ser escasa en tejidos normales, en tanto que, una gran cantidad, suele indicar un fenómeno hiperplásico o neoplásico. La microbiota normal se evidencia por la presencia poblaciones bacterianas mixtas (bacilos, cocos y espiroquetas) adheridas a las células escamosas o libres en el fondo de la preparación (Camus 2017). Por tal motivo, el hallazgo de una población homogénea debe considerarse patológico. *Conchiformibius* spp. (anteriormente: *Simonsiella* spp.) es habitante normal de la región y no debe ser considerada una bacteria patógena. Las muestras obtenidas de las tonsilas suelen estar compuestas, principalmente, por células linfoides maduras y pequeñas (aproximadamente el 80%), algunas de tamaño intermedio y unos pocos linfoblastos (Bernreuter 2020).

Lesiones no neoplásicas

Las **estomatitis** pueden ser el resultado de trastornos inmunomediados, traumas, cuerpos extraños, uremia e infecciones bacterianas, virales o fúngicas (Jergens 2016). En las muestras

obtenidas de procesos inflamatorios agudos predominan los neutrófilos, mostrando, en ocasiones, cambios degenerativos debido a la acción de endotoxinas bacterianas (Bernreuter 2020). La evidencia de una población bacteriana homogénea, más aún si estos microorganismos se encuentran dentro de neutrófilos, indica el origen séptico de la inflamación.

Los procesos inflamatorios granulomatosos, generalmente provocados por cuerpos extraños o infecciones micóticas (Bernreuter 2020), exfolian una población más heterogénea, compuesta por macrófagos, células gigantes, neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas, con una cantidad variable de fibroblastos y fibrocitos.

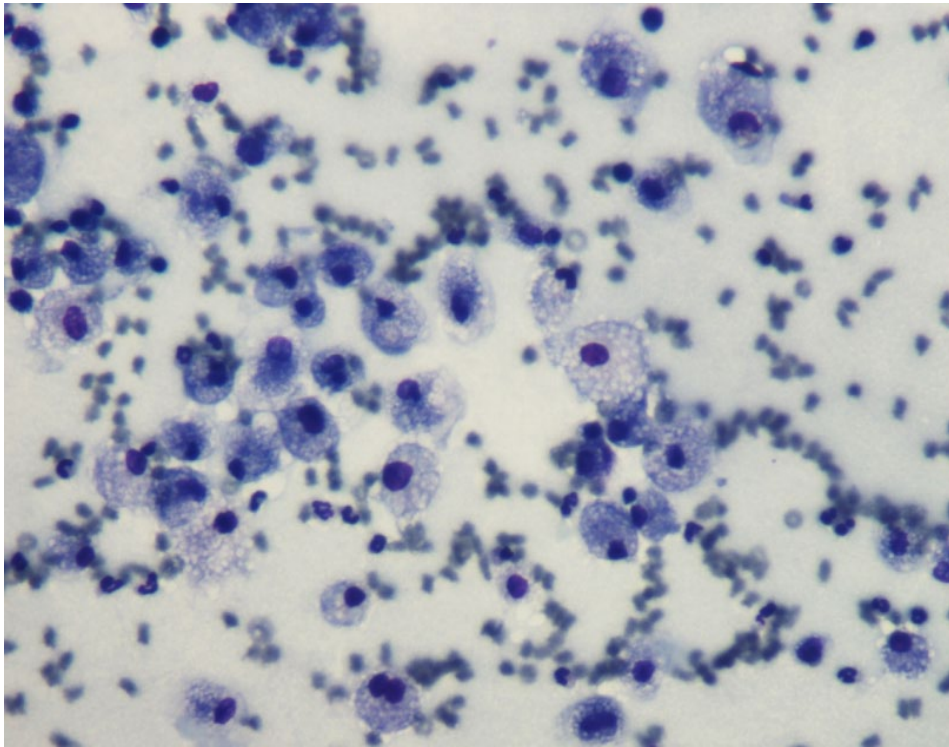
La estomatitis/glositis linfocítica-plasmocítica es una entidad frecuente que afecta a felinos de edad avanzada, generalmente asociada a periodontitis y caracterizada por la presencia de lesiones ulcerativas y crónicas en la mucosa de las fauces, paladar duro y lengua (Uzal 2016). Las muestras obtenidas a partir de estas lesiones se caracterizan por el predominio de linfocitos maduros y células plasmáticas (Bernreuter 2020).

De los 3 tipos de lesiones que componen el **complejo granuloma eosinofílico felino**, solo el granuloma lineal y la úlcera indolente afectan la cavidad oral y la unión mucocutánea (Mauldin 2016). En estos casos, los eosinófilos son el hallazgo predominante, acompañados por una cantidad variable de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. En ocasiones, ciertas infecciones micóticas o reacciones de cuerpo extraño también exfolian abundantes eosinófilos, por lo que deben diferenciarse del granuloma eosinofílico mediante otros métodos complementarios.

La **hiperplasia reactiva de las tonsilas** se evidencia, en los extendidos citológicos, por un predominio de linfocitos maduros pequeños con un incremento de las células plasmáticas mientras que se observa una escasa cantidad de linfoblastos (Bernreuter 2020)

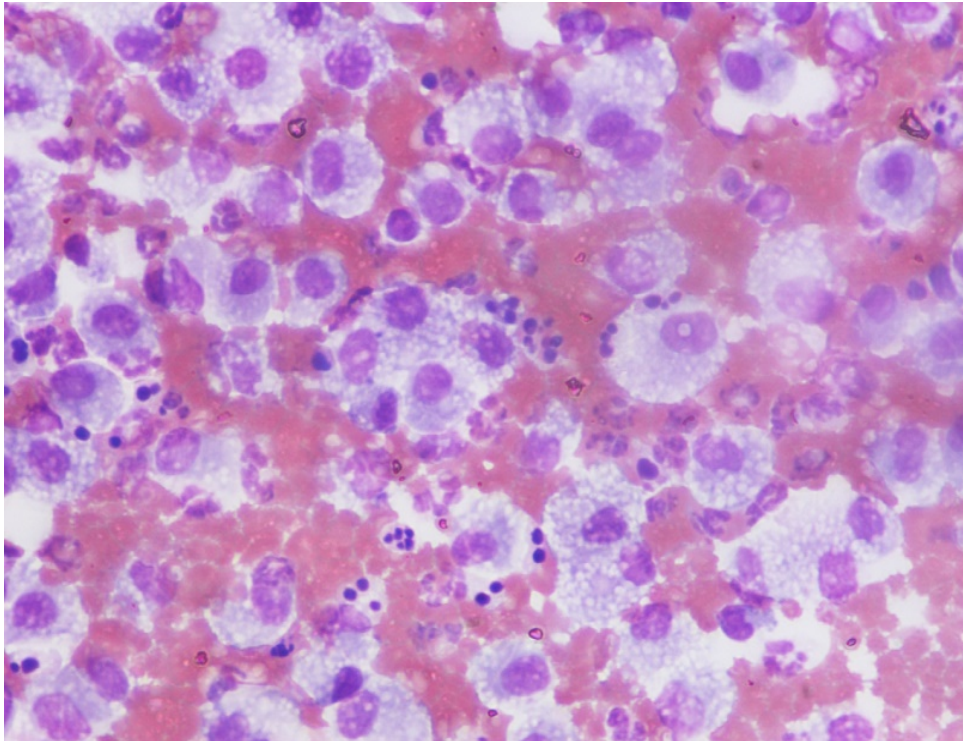
En los aspirados de **sialoceles intraorales** se observan grupos de células salivales, caracterizadas por su núcleo pequeño y su abundante citoplasma vacuolado. Es característica la presencia de un fondo homogéneo, rosa violáceo, semejante a un material mucinoso. Es frecuente evidenciar, además, ya sea de forma individual o en grupos, macrófagos con abundante citoplasma espumoso. Los mismos, en ocasiones, suelen ser difíciles de diferenciar de las células salivales normales. Asimismo, pueden encontrarse escasos glóbulos rojos y ocasionales neutrófilos (Figura 9.1). Por el contrario, la presencia de células inflamatorias suele ser muy abundante en los procesos inflamatorios de las glándulas salivales (**sialoadenitis**) (Figura 9.2).

Figura 9.1. Sialocele.



Células salivales de características normales. Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Figura 9.2. Sialoadenitis.



Células salivales y células inflamatorias. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Lesiones neoplásicas

Las neoplasias de las cavidades oral y orofaríngea pueden ser de origen epitelial, mesenquimático, melanocítico, de células redondas o tumores odontogénicos. Como en el resto de los tejidos, las neoplasias de origen mesenquimático poseen menor sensibilidad diagnóstica debido a, por un lado, la escasa exfoliación que brindan y, por otro, a la dificultad de diferenciar, en los preparados citológicos, las células mesenquimáticas neoplásicas de fibrocitos y fibroblastos displásicos procedentes de lesiones inflamatorias y reactivas (Jergens 2016). Las neoplasias orales en caninos y felinos presentan una elevada incidencia y, en su mayoría, exhiben un comportamiento maligno y, por lo tanto, un mal pronóstico. Esta elevada proporción de tumores malignos es aún más marcada en felinos (hasta un 90%). En los caninos, las neoplasias melanocíticas constituyen los tumores malignos más frecuentes de la cavidad oral, seguidas por el carcinoma de células escamosas y los fibrosarcomas en tercer lugar. Por el contrario, los melanomas son raros en felinos, siendo el carcinoma de células escamosas la neoplasia maligna más frecuente, seguido por los fibrosarcomas (Munday 2017)

Neoplasias epiteliales

Los **papilomas** son las neoplasias benignas más frecuentes de la cavidad oral. Suelen exfoliar una cantidad variable de células escamosas maduras e intermedias, por lo que la citología solo brinda información inespecífica, siendo su aspecto macroscópico verrucoso característico lo que facilita su reconocimiento. La histopatología es indispensable para su correcto diagnóstico.

El **carcinoma de células escamosas**, si bien se puede localizar en cualquier sitio de la cavidad oral, es más frecuente en la superficie ventral de la lengua en felinos y en la zona de las tonsilas en caninos. A pesar de que suelen ser invasivos localmente, afectando habitualmente al tejido óseo contiguo, las metástasis a linfonódulos regionales son raras siendo aún más infrecuentes las que se dirigen hacia los pulmones (Uzal 2016). Los hallazgos citológicos de los carcinomas de células escamosas son similares a los descritos en el capítulo 6 de citología de la piel. El aspecto de las células exfoliadas varía de acuerdo al grado de diferenciación, a la magnitud del tejido necrótico asociado y al nivel de compromiso del hueso subyacente (Bernreuter 2020).

Los **adenocarcinomas**, procedentes de las glándulas salivales, rara vez son reportados en la cavidad oral. Se caracterizan por exfoliar células muy pobremente diferenciadas, con criterios de malignidad, y que, en ocasiones, es posible observar el material de secreción extracelular o en el citoplasma de éstas células.

Neoplasias mesenquimáticas

Los **fibrosarcomas** suelen tener un comportamiento agresivo, siendo frecuente la invasión hacia el hueso subyacente y ocasionalmente, las metástasis a los linfonódulos regionales y pulmones. Llamativamente, algunos fibrosarcomas con escasos criterios citológicos de malignidad exhiben un comportamiento notablemente agresivo (Uzal 2016). Al igual que la mayoría de las neoplasias mesenquimáticas, suelen ser poco exfoliativos, por lo que se recomienda combinar técnicas de muestreo como AAF y raspado para aumentar la probabilidad de obtener células representativas de la

lesión. Los extendidos obtenidos de sus presentaciones más malignas exfolian mayor cantidad de células y exhiben una población de células fusiformes, grandes, con núcleo oval, cromatina reticular y uno o más nucléolos grandes que pueden alcanzar el tamaño de un eritrocito. Pueden aparecer figuras mitóticas aberrantes. Suelen presentar moderada a marcada anisocitosis y anisocariosis y ocasionales células multinucleadas. Es frecuente la inflamación secundaria y, por lo tanto, la presencia de células inflamatorias mixtas. Los fibrosarcomas bien diferenciados exfolian poca cantidad de células y exhiben escasos criterios de malignidad. La presencia de células inflamatorias en estos extendidos dificultan el diagnóstico ya que pueden ser confundidos con un proceso inflamatorio primario con fibroplasia reactiva secundaria; en estos casos es necesaria la histopatología para formular un diagnóstico definitivo (Bernreuter 2020).

Otros sarcomas de tejidos blandos hallados, aunque con menor frecuencia, son el **liposarcoma**, que suele presentar escasos criterios de malignidad, por lo que es difícil de diferenciar de otros tumores mesenquimáticos y el **hemangiosarcoma**, que habitualmente exfolia escasa cantidad de células y, al igual que el anterior, requiere estudios histopatológicos para su reconocimiento (Bernreuter 2020).

Melanoma

Los **melanomas** de la cavidad oral son, habitualmente, muy agresivos, por lo que suelen invadir tejidos contiguos y originar metástasis en linfonodos regionales y pulmones (Munday 2017). De esta manera, es indispensable acompañar la evaluación de la lesión primaria con estudios citológicos de los linfonodos mandibulares y radiológicos del tórax. Citológicamente, se caracterizan por la presencia de células de fusiformes a redondas, de núcleo oval a redondo con elevada relación N:C y nucléolos prominentes. La presencia de gránulos de melanina de color negro en el citoplasma suele facilitar el diagnóstico, aunque estos pueden ser muy escasos o estar ausentes (formas amelánicas) (Bernreuter 2020). Debido a la notable variabilidad celular que exhiben los melanomas y a la escasa pigmentación que en ocasiones manifiestan, en muchos casos se debe recurrir a la histopatología para su correcto diagnóstico e, incluso con esta técnica, puede ser un desafío clasificarlos correctamente.

Tumores de células redondas

El **linfoma**, aunque de baja incidencia en la cavidad oral (Schappa Faustich 2021), es la neoplasia más frecuente de las tonsilas. En los linfomas de alto grado, la mayor parte de las células linfoides son grandes linfoblastos con uno o más nucléolos prominentes (Bernreuter 2020). Los extendidos obtenidos de linfomas de grado bajo o intermedio pueden ser confundidos con una hiperplasia reactiva, por lo que la biopsia escisional o incisional es necesaria para su diagnóstico correcto.

El **tumor venéreo transmisible** se observa en la cavidad oral con cierta frecuencia en nuestro país. Otros tumores de células redondas reportados en la cavidad oral, aunque con baja incidencia, son el **mastocitoma**, el **plasmocitoma** y los **procesos histiocíticos**. Los hallazgos citológicos son similares a los descriptos en el capítulo 6.

Tumores odontogénicos

La clasificación de los tumores odontogénicos (antiguamente denominados épolis) se basa en la terminología aplicada a los tejidos embrionarios del diente en desarrollo, así como del diente ya desarrollado. En su mayoría exhiben un comportamiento benigno, aunque algunas neoplasias odontogénicas pueden ser agresivas localmente. La citología de estas lesiones solo arroja resultados inespecíficos ya que exfolian pocas células y sus extendidos suelen estar compuestos por algunas células escamosas superficiales y escasas células mesenquimáticas bien diferenciadas. El diagnóstico en este grupo requiere el uso de la histopatología (Bernreuter 2020).

Referencias

- Bell, C. y Soukup, J. (2014). Nomenclature and classification of odontogenic tumors - part II: clarification of specific nomenclature. *J Vet Dent*, 31(4), 234-243.
- Bernreuter, D.C. (2020). Oropharynx and Tonsils. En A.C. Valenciano y R.L. Cowell (Eds.), *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. (131-140). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Bonfanti, U., Bertazzolo, W., Gracis, M., Roccabianca, P., Romanelli, G., Palermo, G. y Zini, E. (2015). Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: a prospective study on 114 cases. *The Veterinary Journal*, 205, 322–327.
- Camus, M.S. (2017). Oral Cavity Cytology. En A.M. Barger y A.L. MacNeill (Eds.), *Small animal cytologic diagnosis* (303-315). First edition. Boca Raton, USA: Taylor y Francis Group.
- Jergens, A.E., Hostetter, S.J. y Andreasen, C.B. (2016). Oral Cavity, Gastrointestinal Tract and Associated Structures. En R.E. Raskin y D.J. Meyer (Eds.), *Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide* (220-246). Third edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Mauldin, E.A. y Peters-Kennedy, J. (2016). Integumentary System. En M. Grant Maxie (Ed.), *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals Vol. I*. (509-736). Sixth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Munday, J.S., Löhr, C.V. y Kiupel, M. (2017). Tumors of the Alimentary Tract. En D.J. Meuten (Ed.), *Tumors in domestic animals* (499-601). Fifth edition. Ames, USA: John Wiley & Sons Inc.
- Schappa Faustich, J., Stepaniuk, K.S., Robinson, N.A. y Piedra-Mora, C. (2021). Oral Cavity. En L.C. Sharkey, M.J. Radin y D. Seelig (Eds.), *Veterinary cytology* (361-379). First edition. Hoboken USA: Wiley-Blackwell.
- Uzal, F.A., Plattner, B.L. y Hostetter, J.M. (2016). Alimentary System. En M. Grant Maxie (Ed.), *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals Vol. II*. (1-257). Sixth edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 10

Estudio citológico del sistema urinario

Mariana Machuca y Alicia del Amo

La indicación para el estudio citológico del aparato urinario, en cualquiera de sus estructuras anatómicas, es el reconocimiento de una masa. El clínico debe tratar de reconocer cuál es el mecanismo que generó su desarrollo para luego poder planificar el tratamiento más eficaz. Una gran proporción de las masas están comprendidas por procesos neoplásicos malignos de localización renal, tales como los carcinomas, adenocarcinomas, cistadenocarcinomas múltiples del pastor alemán, linfomas, más frecuentes en los felinos, y carcinomas de células transicionales vesicales en los caninos. Estos son algunos de los ejemplos que pueden ser diagnosticados mediante el reconocimiento celular, pudiéndose prescindir, en muchos casos, del estudio de la arquitectura tisular, es decir, del estudio histopatológico. De este modo, tanto el clínico, como el cirujano recurren a menudo a este tipo de toma de muestras para resolver el diagnóstico de una masa renal o vesical y proceder con eficacia en consecuencia. A modo de ejemplo, se programa la laparotomía con aspiración de una masa renal con fines diagnósticos mediante estudio citológico previo a una nefrectomía, permaneciendo el paciente anestesiado mientras se estudian los extendidos. Esto demora su tiempo quirúrgico, pero permite resolver con celeridad el diagnóstico y el tratamiento, evitando así una nueva cirugía.

Técnica de toma de muestras

La punción aspiración con aguja fina (PAAF) de la masa es el método más apropiado. Cuando la masa es palpable se puede acceder a ciegas por vía percutánea, fijando la masa con una mano y utilizando la otra para realizar la aspiración. Esta técnica es más sencilla en las masas renales del felino, dado su fácil reconocimiento y sujeción del órgano. En los caninos se suele efectuar la punción recurriendo a la guía mediante ultrasonografía (Ewing 2020, Borjesson 2016).

La misma técnica se utiliza en masas palpables vesicales. En algunas alteraciones que provocan engrosamiento difuso de la pared vesical pueden realizarse estudios citológicos, los que permiten diferenciar procesos inflamatorios crónicos de neoplasias infiltrativas difusas.

También es posible realizar el examen de la orina. Este debe ser realizado en muestras preferentemente recién obtenidas. Se descarta la primera micción de la mañana, ya que esta ha estado almacenada durante varias horas en la vejiga y los efectos citotóxicos de la orina pueden alterar la morfología de las células exfoliadas. La muestra se puede obtener mediante micción

espontánea, cistocentesis o sondaje con catéteres uretrales. Si se trata de una masa vesical, es aconsejable tratar de lesionar la masa con la sonda para que exfolien mayor cantidad de células. Una vez obtenida la muestra, se centrifuga y se realizan extendidos con el sedimento. No debe almacenarse en cercanía de ácidos o formol, ya que se alteran las células y se dificulta su posterior estudio. Otra porción de la muestra puede ser conservada en la heladera, durante lapsos breves, hasta su remisión (Ewing 2020, Borjesson 2016).

Hallazgos citológicos

En la orina de animales normales, solo unas pocas células están presentes. Las células uroteliales pueden observarse solas o en grupos. Son grandes, redondeadas u ovals, con un citoplasma rosado o azul pálido y con pequeñas vacuolas. Cuando se observan grupos de células uroteliales, la interpretación tiene que ser cuidadosa, ya que puede tratarse, tanto de neoplasias como de procesos inflamatorios, y aun de urolitiasis. También se pueden observar algunas células epiteliales escamosas que, en los machos, provienen de la última porción de la uretra y, en las hembras, de la vagina o de la vulva. Es frecuente observar algunos pocos neutrófilos y eritrocitos. Los neutrófilos en las muestras frescas aparecen normales. No obstante, si la muestra de orina fue conservada a temperatura ambiente por más de una hora, pueden aparecer cambios en las células (Borjesson 2016).

En la inflamación de las vías urinarias se observa abundante cantidad de neutrófilos, los cuales pueden evidenciar cambios degenerativos e incluso estar acompañados por regular cantidad de bacterias. Asimismo, en los procesos crónicos se pueden encontrar macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. La hematuria puede ser observada durante el tratamiento con drogas quimioterápicas (ciclofosfamida) y en procesos inflamatorios y neoplásicos del tracto urinario o del tracto genital.

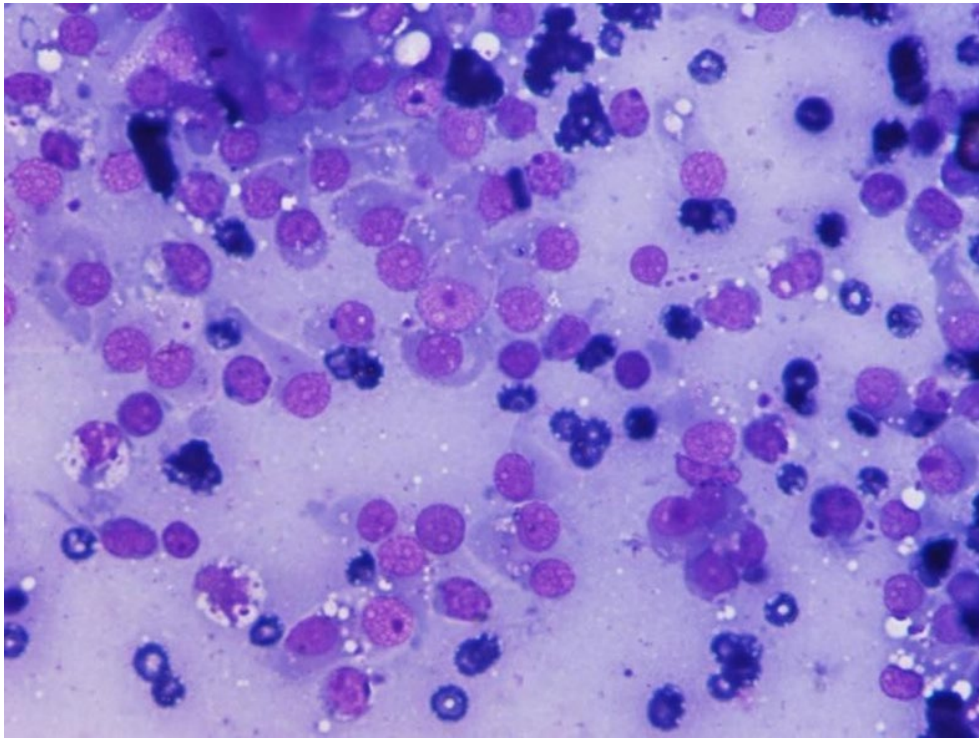
En ocasiones, la hiperplasia del urotelio va acompañada de metaplasia escamosa e inflamación. Estos hallazgos se asocian a litiasis y a ciertos agentes tóxicos.

Las aspiraciones renales desprenden de moderada a escasa cantidad de células en neoplasias de origen epitelial (Figura 10.1). En los linfomas de los felinos se suelen obtener preparados citológicos de valor diagnóstico. En las vías urinarias, las neoplasias malignas de origen epitelial son más frecuentes que las benignas y que los sarcomas (Ewing 2020, Borjesson 2016).

Los tumores que exfolian a la orina con mayor facilidad son los carcinomas de células de transición o carcinomas uroteliales (Figura 10.2). Las neoplasias de uretra son similares a las vesicales, aunque mucho menos frecuentes. En la orina de animales con carcinoma de células de transición suele observarse una regular cantidad de células aisladas o agrupadas. Si bien es frecuente observar numerosos criterios de malignidad en estas neoplasias, en ocasiones se reconocen grupos celulares sin características de malignidad. En estos casos es difícil diferenciarlos de procesos proliferativos hiperplásicos.

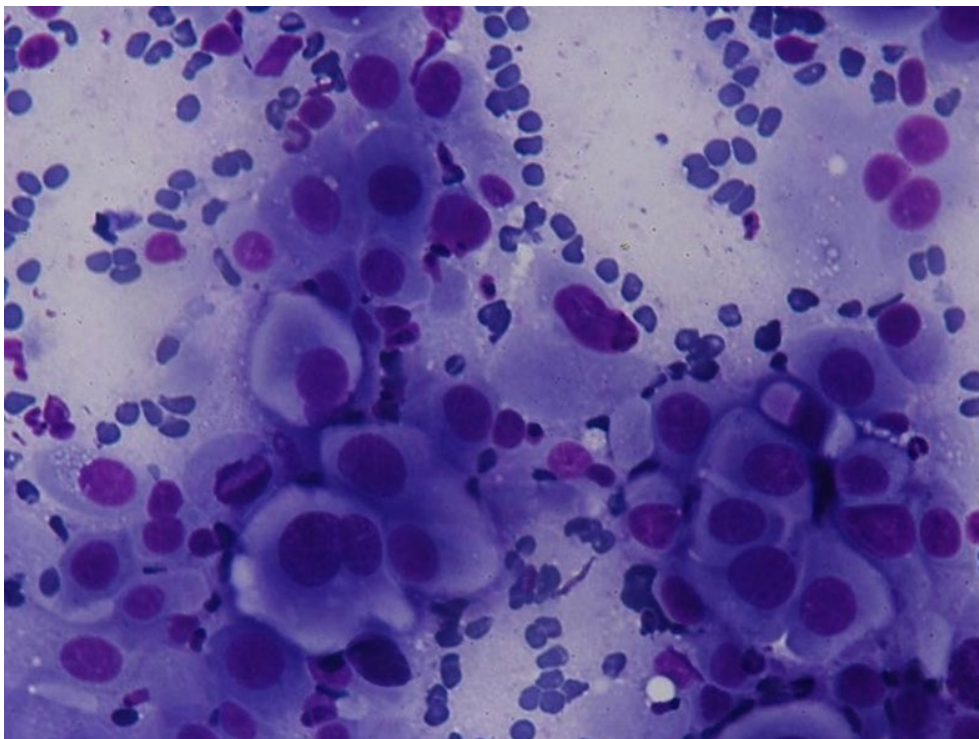
Los papilomas son las neoplasias benignas más frecuentes. Los mismos crecen hacia la luz de la vejiga y, raramente, exfolian células a la orina. En general, no pueden diferenciarse de las células uroteliales normales, por lo que la citología no es un buen método diagnóstico.

Figura 10.1. *Carcinoma renal.*



Moderada cantidad de células epiteliales uniformes con moderado grado de anaplasia, con citoplasma violáceo, en algunos casos con vacuolas. Tinción Wright. Obj. 60X.

Figura 10.2. *Carcinoma de células de transición.*



Células uroteliales con pleomorfismo, anisocitosis, anisocariosis y amoldamiento nuclear. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Referencias

- Borjesson DL, DeJong K. (2016). Urinary tract. En RE Raskin y DJ Meyer (Eds), *Canine and feline cytology. A color atlas and interpretation guide*, (284-294) Third Edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Ewing PJ, Meinkoth JH, Cowell RL, Tyler RD. (2020). The kidney. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (363-378) Fifth Edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 11

Estudio citológico de la mama

Gonzalo Julián Madariaga

Las mamas son órganos pares que se localizan en ventral del cuerpo, a ambos lados de la línea mediana ventral. La perra presenta cinco pares de mamas: torácica craneal (M1), torácica caudal (M2), abdominal craneal (M3), abdominal caudal (M4) e inguinal (M5). La gata presenta cuatro pares de mamas: axilar o torácica craneal (M1), torácica o torácica caudal (M2), abdominal o abdominal craneal (M3) e inguinal o abdominal caudal (M4). (Goldschmidt y col, 2017). Son glándulas sudoríparas modificadas, compuestas por ductos ramificados y alvéolos recubiertos por una a dos capas de células epiteliales cúbicas a cilíndricas, rodeadas de células mioepiteliales. Se encuentran inmersas en un tejido fibrovascular que las divide en lóbulos.

La mayoría de las lesiones mamarias son fácilmente palpables, lo que permite la toma de muestras mediante PAF o PAAF de manera sencilla y rápida. El objetivo principal es tratar de diferenciar procesos inflamatorios de neoplásicos y, de ser posible, neoplasias benignas de malignas (Allison y Walton 2020).

Las neoplasias mamarias presentan desafíos especiales para el estudio citológico. Esto se debe, en parte, a la presencia de varios tipos celulares, epiteliales y mioepiteliales, con capacidades diferentes de exfoliación y a la posibilidad de desarrollar áreas de metaplasia (transformación) cartilaginosa u ósea. Por otro lado, existe una gran variedad de tipos histológicos de neoplasias mamarias en función de las características celulares y la disposición de las diferentes poblaciones celulares en el tejido. Es por ello que el grado de certeza para diferenciar neoplasias mamarias benignas de malignas mediante citología varía desde un 33% a un 93%.

Se recomienda realizar varios aspirados en diferentes direcciones a fin de asegurar que las muestras sean representativas. La no identificación de células neoplásicas malignas en el estudio citológico puede deberse a errores en la elección de el/los sitio/s para la toma de muestras y la cantidad de aspirados realizados. Este problema es directamente proporcional al tamaño del tumor, siendo necesario tomar más cantidad de muestras en aquellos de gran tamaño para asegurar la representatividad de las mismas. Estudios recientes que correlacionan citología e histopatología sugieren, al menos, cuatro aspirados por cada tumor y la participación conjunta de dos patólogos en el diagnóstico citológico para obtener un grado de certeza mayor (Allison y Walton 2020).

Un ejemplo de indicación para el estudio citológico es el carcinoma inflamatorio, el que mediante PAAF fina suele exfoliar células de ayuda para el diagnóstico. La PAAF de los linfonódulos regionales puede ser de utilidad, ya que el hallazgo de células carcinomatosas es de gran valor

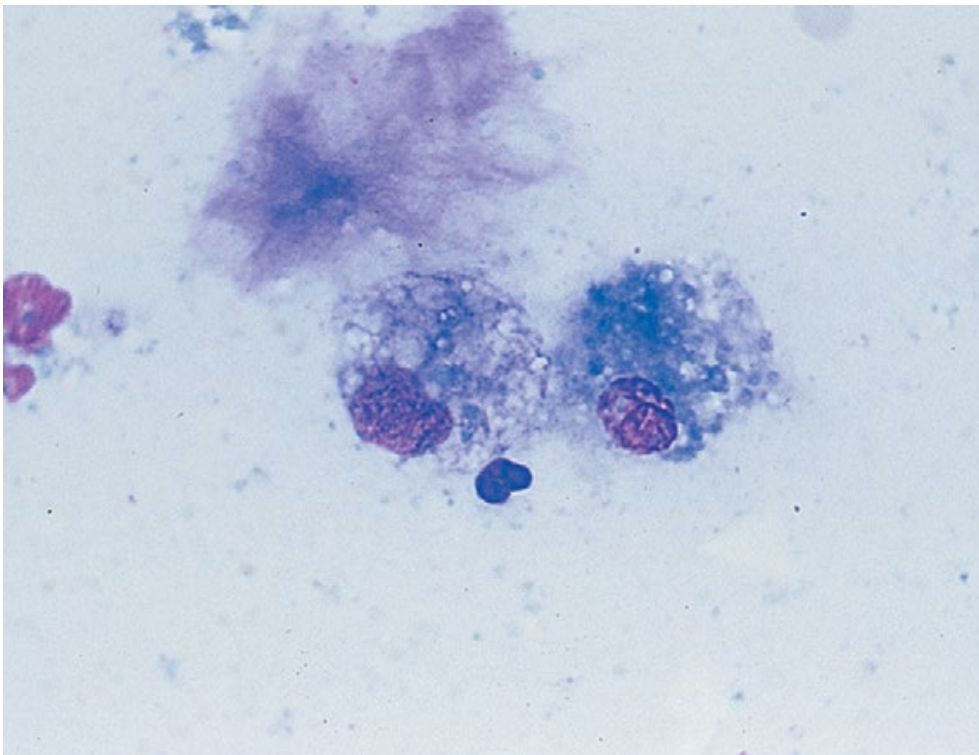
para la estadificación clínica del paciente. Las muestras deben ser múltiples para aumentar las posibilidades de hallar las células metastásicas. No obstante, la ausencia de tales células no descarta la presencia de metástasis.

Hallazgos citológicos

La secreción mamaria normal consiste en gotas lipídicas y proteicas y escasas células epiteliales vacuoladas que recuerdan macrófagos activos (Figura 11.1). Puede observarse escasa cantidad de linfocitos y neutrófilos.

Los aspirados a partir del tejido mamario normal no suelen contener células y solo se observan glóbulos rojos. Eventualmente, pueden observarse células secretorias exfoliadas en grupos y dispuestas en acinos. Las células presentan citoplasma basófilo y núcleo denso con escaso pleomorfismo. Las células de los ductos presentan núcleo basal, ovoide, y escaso citoplasma. Las células mioepiteliales aparecen como células fusiformes o como núcleos desnudos. Pueden observarse gotas lipídicas y adipocitos (Allison y Walton 2020).

Figura 11.1. *Mama normal.*

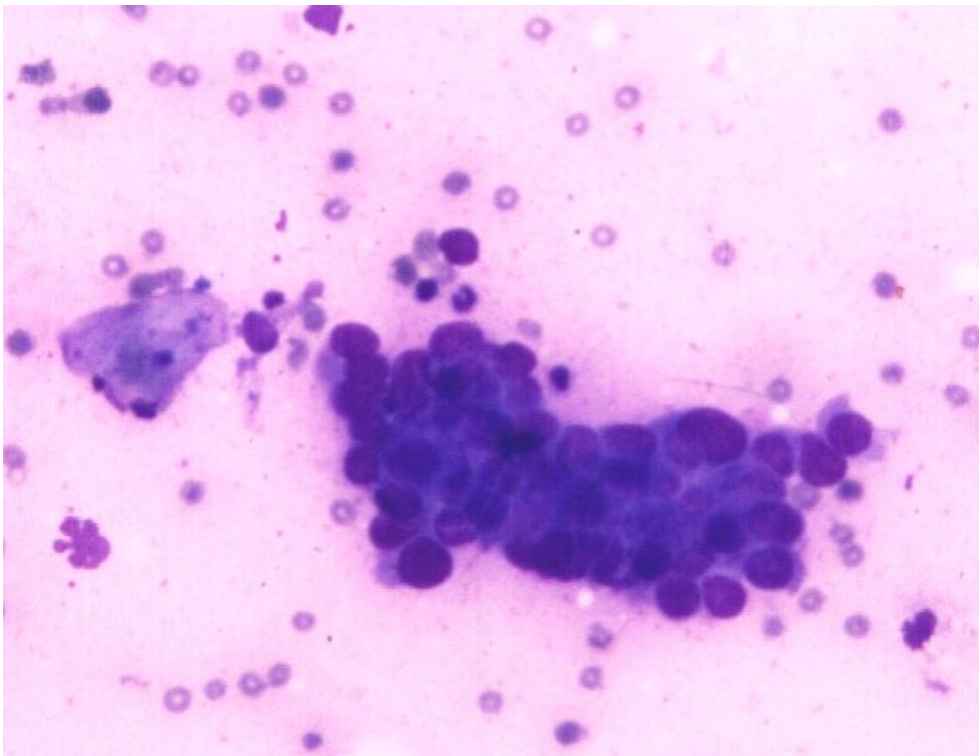


Células epiteliales de núcleo redondo a oval, con abundante citoplasma vacuolado. Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Ante la sospecha de mastitis pueden realizarse extendidos a partir de la secreción. En los mismos se observa gran cantidad de células inflamatorias (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) y detritos celulares. Frecuentemente se observan bacterias dentro de las células fagocíticas.

El estudio citológico de neoplasias mamarias contiene regular a abundante cantidad de células epiteliales exfoliadas en forma aislada y en grupos, en algunos casos formando estructuras acinares (Figura 11.2). Las células pueden exhibir escaso pleomorfismo nuclear y celular, orientando hacia un proceso benigno, o exhibir criterios de malignidad tales como macrocariosis, anisocariosis, pleomorfismo nuclear y celular, multinucleación y núcleos anormalmente grandes, orientando hacia un proceso maligno. Además, tanto en las neoplasias mamarias benignas como malignas, las células epiteliales pueden estar acompañadas por cantidad variable de células de origen mioepitelial, cartílago y/o hueso (neoplasias complejas y mixtas). Cabe destacar que muchas neoplasias mamarias, consideradas benignas histológicamente, pueden exhibir abundantes criterios de malignidad, como por ejemplo el carcinoma in situ, dando una impresión falsa de malignidad. Es por ello que se recomienda realizar el estudio histopatológico para determinar si se trata de una neoplasia mamaria benigna o maligna, el tipo histológico y el grado de malignidad.

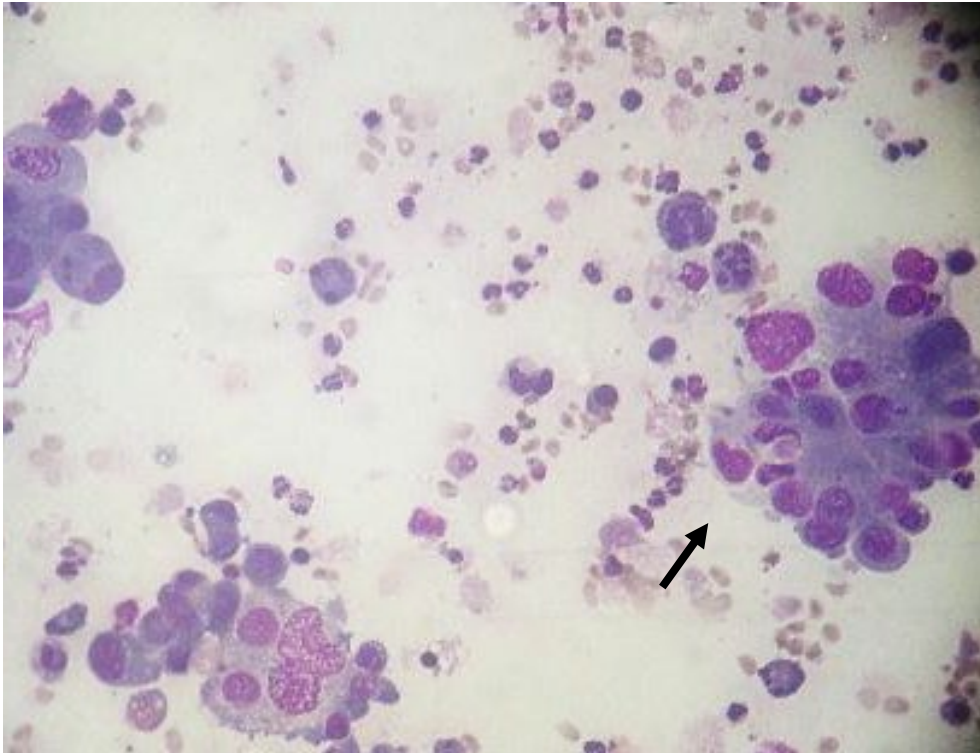
Figura 11.2. *Adenocarcinoma mamario.*



Grupos de células epiteliales de núcleo redondo a oval y moderada cantidad de citoplasma. Las células presentan macrocariosis, anisocariosis, amoldamiento nuclear y moderado pleomorfismo. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

El carcinoma mamario inflamatorio es un diagnóstico diferencial de la mastitis. Para esta entidad el estudio citológico es indispensable ya que, de confirmarse, la mastectomía está contraindicada. En los extendidos obtenidos mediante PAAF se observan células epiteliales con diverso grado de anaplasia y escasas células inflamatorias (Figura 11.3).

Figura 11.3. *Carcinoma inflamatorio.*



Grupos de células epiteliales de núcleo redondo a oval y moderada cantidad de citoplasma. Las células presentan macrocariosis, anisocariosis, amoldamiento nuclear y marcado pleomorfismo nuclear y celular. Formación de acinos glandulares (Flecha negra). Escasa cantidad de neutrófilos, macrófagos y linfocitos. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Referencias

- Allison RW y Walton RM (2020). Subcutaneous Glandular Tissue: Mammary, Salivary, Thyroid, and Parathyroid. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*, (102-119) Fifth Edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Goldschmidt MH, Peña L y Zappulli V (2017). Tumors of the Mammary Gland. En Meuten DJ, *Tumors in Domestic Animals*, (723-765) Fifth Edition. Ames, USA: Wiley Blackwell.

CAPÍTULO 12

Estudio citológico de la glándula tiroides

Gonzalo Julián Madariaga

La glándula tiroides de los perros y gatos es una glándula endócrina constituida por dos lóbulos unidos por un istmo, que se encuentra ubicada en la región ventral del cuello, unida laxamente a los primeros anillos traqueales. Es posible encontrar en algunos caninos tejido tiroideo ectópico en el mediastino craneal, cerca de la base del corazón como así también a lo largo de la tráquea. La glándula normal no es fácilmente palpable y, por lo tanto, no se toman muestras para su examen citológico. Las anomalías palpables pueden ocurrir uni o bilateralmente como una tumefacción difusa, multinodular o como nódulos solitarios. La evidencia de masas palpables en ventral del cuello es la indicación para el estudio citológico. La citología puede ayudar a diferenciar las lesiones benignas de las malignas y, a su vez, permite diferenciar de otros procesos que puedan presentarse en la misma localización (ej. abscesos, linfadenopatías, sialoceles y neoplasias de otro origen).

Técnica de toma de muestras

La punción con aguja fina (PAF) y la punción aspiración con aguja fina (PAAF) de la masa son los métodos más apropiados, fijando la masa con una mano y punzando o aspirando con la otra. También se puede efectuar la punción guiada mediante ultrasonografía (ecoguiada).

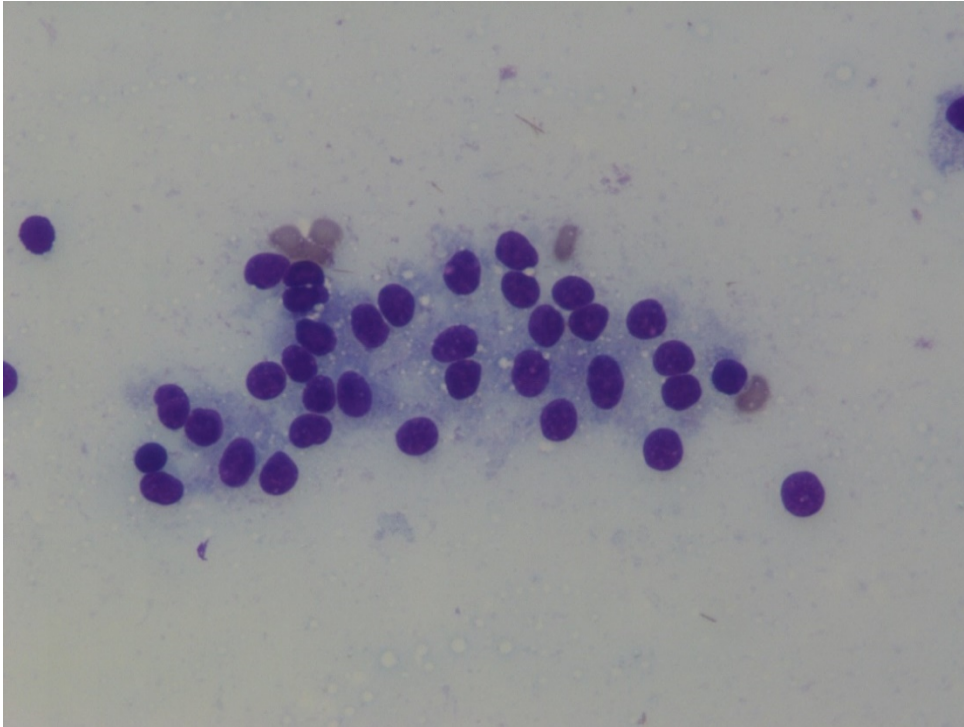
Hallazgos citológicos normales

La glándula tiroides está compuesta por numerosos folículos tapizados por una única capa de células epiteliales cúbicas a poligonales y llenos de coloide (tiroglobulina) (Allison 2020). Los folículos se encuentran separados entre sí por septos de tejido conectivo muy vascularizado y células parafoliculares (Choi 2016). La glándula está rodeada de una cápsula de tejido conectivo ricamente vascularizada.

En los extendidos de la glándula tiroides normal se pueden observar grupos de células epiteliales pequeñas. Las células presentan núcleo central con cromatina finamente granular y moderada cantidad de citoplasma basófilo granular (Figura 12.1). Los bordes citoplasmáticos son poco o mal definidos y puede observarse moderada cantidad de núcleos desnudos. El citoplasma de algunas células presenta un pigmento azul-negruzco granular que corres-

ponde a acúmulos de tirosina y tiroglobulina. Ocasionalmente pueden observarse macrófagos con pigmento en su interior debido a la fagocitosis del coloide. Puede observarse, además, coloide amorfo extracelular e intercelular rosado brillante o azul-grisáceo. Debido a la gran vascularización, es frecuente observar abundante cantidad de glóbulos rojos que, en ocasiones, dificultan la observación (Allison 2020).

Figura 12.1. *Tiroides normal.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.60X.

Lesiones quísticas

Los quistes tiroideos han sido descritos en asociación con adenomas y carcinomas en perros y gatos. El fluido aspirado puede ser seroso o de un color pardo y aspecto turbio debido a hemorragias previas y necrosis. Se observan macrófagos espumosos cargados de pigmento, linfocitos y glóbulos rojos. Ocasionalmente pueden verse cristales de colesterol y grupos de células epiteliales foliculares. Pueden medirse los niveles de hormonas tiroideas en el fluido para confirmar su origen (Allison y Walton, 2020).

Inflamación

La tiroiditis linfocítica crónica es una lesión inmunomediada que rara vez produce aumento de tamaño de la glándula en perros. Los pacientes con este síndrome generalmente son asintomáticos en los primeros estadios. En general, cuando aparecen los signos de hipotiroidismo, la glándula presenta atrofia, no es palpable y, por lo tanto, no se punza.

En los estudios citológicos se observa abundante cantidad de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, además de células epiteliales foliculares normales o con cambios degenerativos (Allison 2020).

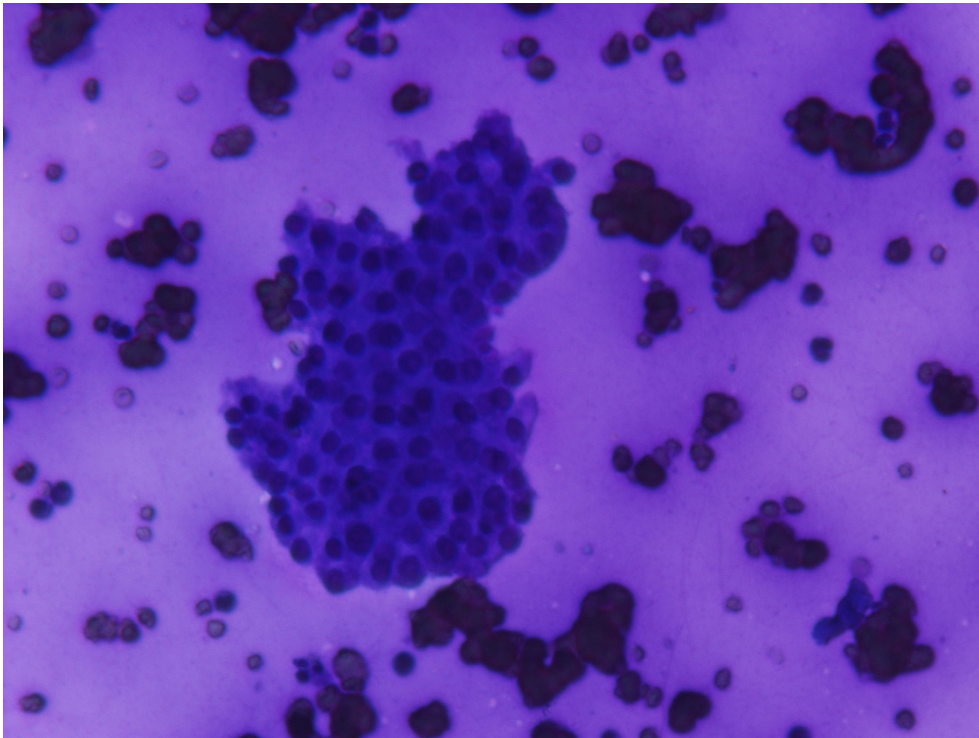
Hiperplasia y adenoma

La hiperplasia funcional multinodular (adenomatosa) y los adenomas tiroideos funcionales son las causas más comunes de hipertiroidismo en gatos viejos y suelen ser bilaterales en el 70 % de los casos (Choi 2016). Para diferenciar entre estos dos procesos se necesita realizar el estudio histopatológico para evaluar si hay compresión del tejido tiroideo adyacente y si presenta cápsula.

En los perros los adenomas tiroideos son menos comunes y, generalmente, no son funcionales, es decir, no producen hormonas tiroideas. La mayoría de los adenomas tiroideos son hallazgos incidentales durante la necropsia.

Los extendidos suelen contener abundante cantidad de glóbulos rojos, debido a la gran vascularización de la glándula, y presentan cantidad variable de células exfoliadas en grupos y núcleos desnudos (Figura 12.2). Las células foliculares presentan una apariencia uniforme, con núcleo redondo pequeño central y moderada cantidad de citoplasma basófilo, con cantidad variable de gránulos azul-negruzcos. Las células foliculares exfoliadas en grupos se disponen formando acinos y, en ocasiones, presentan material rosado (coloide) en su interior (Allison 2020).

Figura 12.2. Adenoma tiroideo.



Grupos de células epiteliales cuboidales y colóide de fondo. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Neoplasias malignas

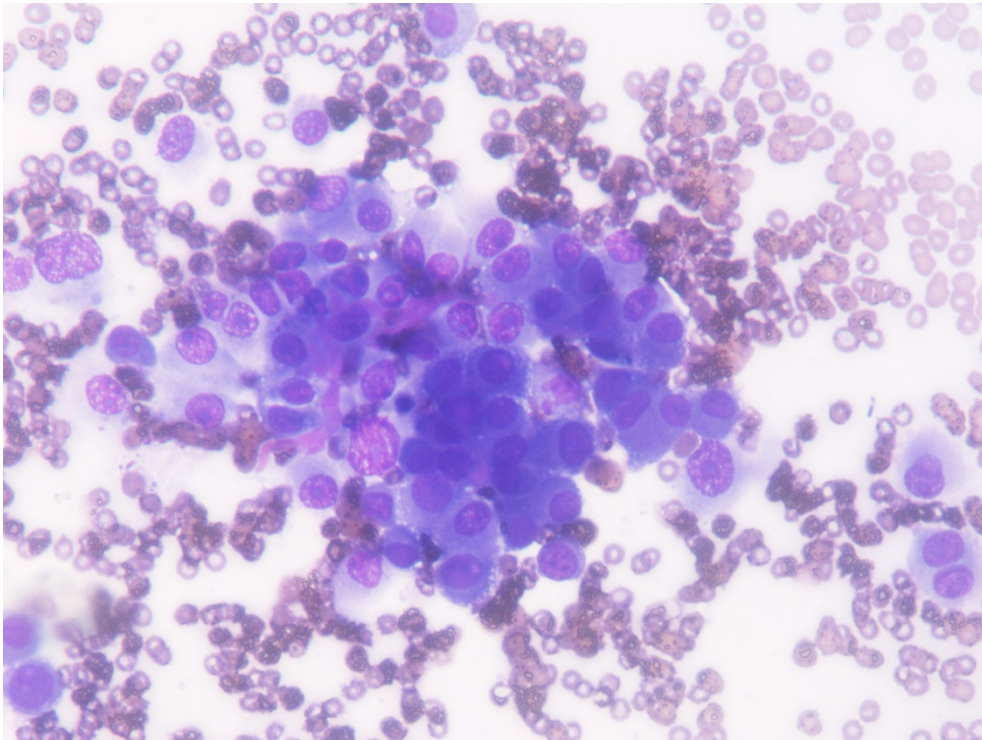
La mayoría de las neoplasias tiroideas de los caninos son carcinomas (80 a 90%), mientras que en los gatos solo representa el 5% de las neoplasias tiroideas. Los carcinomas tiroideos ocurren en perros viejos y no presentan predisposición sexual. Algunas razas como Boxer, Beagle y Golden Retriever están predispuestas a estas neoplasias. Los tumores malignos son pobremente encapsulados y se adhieren firmemente a los tejidos profundos invadiendo las venas tiroideas y generando metástasis pulmonares en forma temprana. Los tumores más grandes tienen mayor potencial para desarrollar metástasis. La mayoría de los carcinomas tiroideos no son funcionales en perros y gatos.

En los aspirados de carcinomas tiroideos suele haber mucha sangre, por lo cual muchas veces se debe repetir la toma de muestras. Cuando la sangre es escasa, se observan extendidos muy celulares con cantidad variable de coloide. Los carcinomas foliculares exfolian células en forma aislada o en grupos densos, algunas veces formando acinos. Pueden observarse gránulos de pigmento azul negruzco y/o inclusiones con forma de agujas en el citoplasma. La anisocitosis y la anisocariosis son variables. Los criterios citológicos de malignidad son sutiles o pueden estar ausentes. Puede presentar macrocariosis leve y nucléolo evidente; las figuras mitóticas no son frecuentes (Figuras 12.3 y 12.4). Cuando la anisocitosis y la anisocariosis son muy marcadas se puede realizar el diagnóstico de carcinoma tiroideo con certeza. De otra forma, es necesario el estudio histopatológico para diferenciar un adenoma de un carcinoma.

Aunque la mayoría de los carcinomas se originan a partir del epitelio folicular, también se han descrito tumores de las células C parafoliculares (carcinomas medulares) en perros. Debido a que estos últimos son bien encapsulados y tienen menor tendencia a dar metástasis, diferenciarlos de los carcinomas foliculares puede tener un valor pronóstico significativo. Las características citológicas de los carcinomas medulares son idénticas a las de los carcinomas foliculares, con células epiteliales exfoliadas individualmente o en grupos con un patrón acinar. Se ha observado material rosado amorfo (coloide) pero no presentan pigmento intracitoplasmático granular azul negruzco. Es posible diferenciar a los carcinomas foliculares de los medulares utilizando técnicas de inmunohistoquímica anti tiroglobulina, cromogranina A y calcitonina.

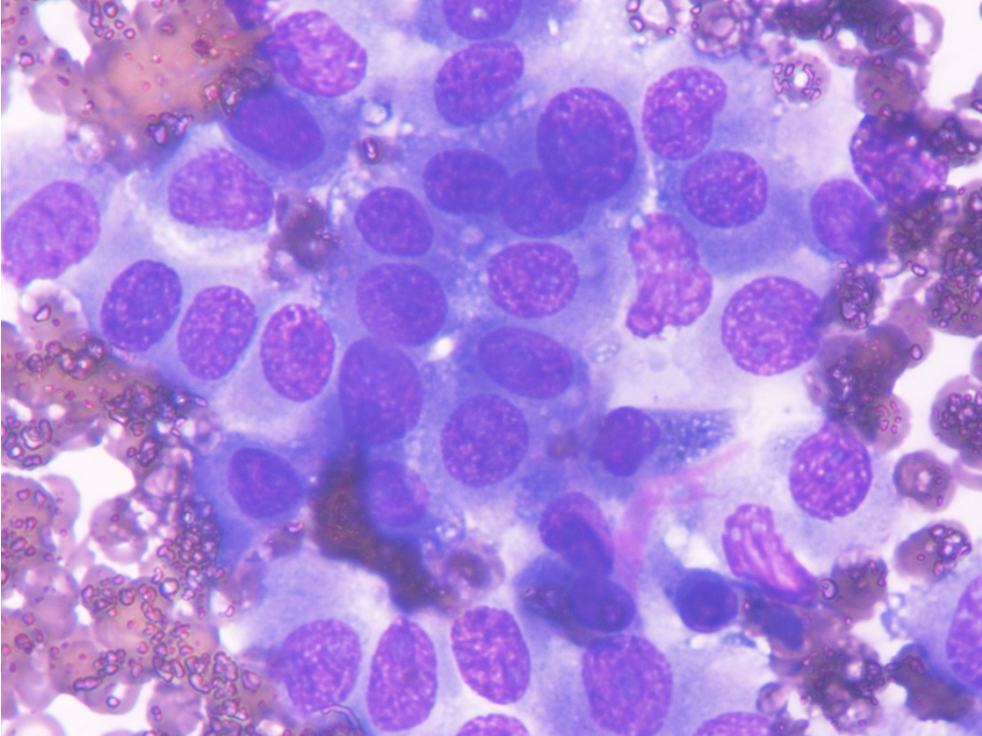
Los carcinomas indiferenciados de glándula tiroides son raros en perros y gatos. Estos tumores presentan células fusiformes sugestivas de sarcomas. Los tumores mixtos malignos también son raros y generalmente se componen de elementos epiteliales y mesenquimáticos (Allison 2020).

Figura 12.3. *Carcinoma tiroideo.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Figura 12.4. *Carcinoma tiroideo.*



Tinción 15, Biopur®. Obj.100X.

Referencias

Allison RW y Walton RM (2020). Subcutaneous glandular tissue: mammary, salivary, thyroid, and parathyroid. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. (102-119) Fifth Edition. St. Louis, USA: Elsevier.

Choi US y Arndt T (2016). Endocrine/neuroendocrine system. En Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and feline cytology, A color atlas and interpretation guide* (430-436) Third Edition. St. Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 13

Estudio citológico del sistema musculoesquelético

Natalia Caggiano, María Alejandra Quiroga, Adriana Massone y Mariana Machuca

El signo clínico cardinal asociado con la enfermedad del sistema musculoesquelético es la claudicación. Otros signos incluyen rigidez, ataxia, debilidad, dolor, fiebre y deformación de extremidades y articulaciones. Dependiendo del tipo de trastorno, pueden verse afectados también otros sistemas de la economía animal, observándose una variada signología (Barger, 2016).

La citología puede ser una ayuda valiosa en el diagnóstico de un animal con sospecha de un trastorno musculoesquelético. Pueden tomarse muestras de líquido sinovial, realizar aspirados con aguja fina de masas de tejidos blandos que involucran lesiones musculares o bien proliferativas/líticas del hueso. La citología rara vez es la prueba diagnóstica que permite definir completamente el problema, pero puede ayudar a guiar la selección de los pasos diagnósticos posteriores. Ciertos tipos de enfermedad ósea, muscular y articular, si bien generan cambios, éstos no siempre pueden detectarse mediante el estudio citológico. Asimismo, muchas veces la exfoliación es deficiente o la muestra se contamina con sangre periférica. Es vital la información obtenida en la reseña, anamnesis, examen físico, estudio radiológico, hemograma completo y bioquímica sanguínea. Cabe recordar que muchas lesiones requerirán histopatología para arribar al diagnóstico definitivo (Barger 2016, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017).

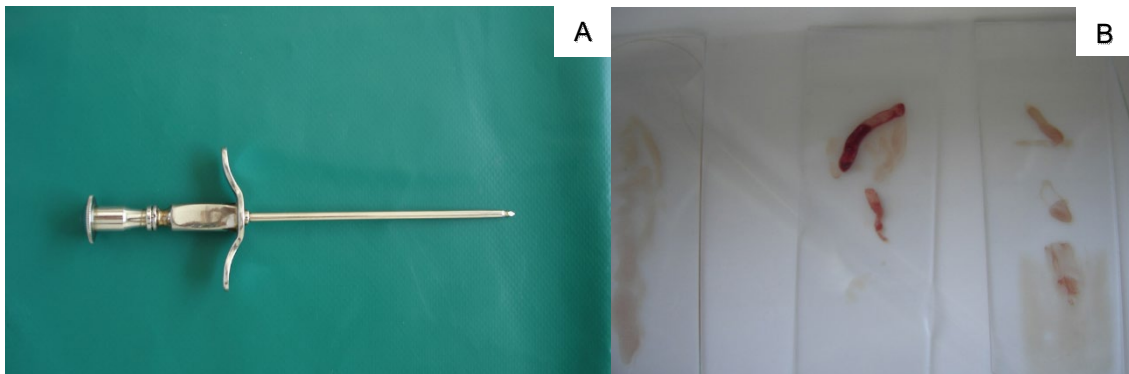
Hueso

El tejido óseo sano no se exfolia bien, contiene pocas células y una matriz extracelular abundante. Sin embargo, las enfermedades óseas inflamatorias, las neoplásicas, la osteopatía hipertrófica y el quiste óseo aneurismático suelen acompañarse de lisis ósea, por lo que exfolian gran cantidad de células (Barger 2016, Fielder 2020, Lawrence 2021).

Técnica para la toma de muestras

Si la zona afectada presenta marcada lisis cortical o proliferación ósea perióstica, se puede tomar la muestra por aspiración con aguja fina o utilizar una aguja para aspiración de médula ósea. Esta técnica resulta útil, rápida y poco invasiva; además, requiere poca o ninguna anestesia y se asocia con un menor riesgo de hemorragia, infección, implantación de tumor en el trayecto de la biopsia y fracturas. Estas serían las ventajas de esta técnica en comparación con la biopsia quirúrgica abierta o métodos con aguja gruesa. Asimismo, no se requiere de tiempo adicional para el proceso de descalcificación necesario para la histopatología ósea. La toma de muestras se realiza en lesiones líticas o proliferativas observadas en radiografías, en masas palpables o bien de anomalías observadas en el examen físico. Las masas muy mineralizadas se pueden aspirar mediante la palpación cuidadosa y la exploración de la superficie de la lesión. En aquellas lesiones en las que el hueso cortical permanece intacto, la obtención de material puede realizarse utilizando un trocar o aguja de Jamshidi calibre 11 o 13 para obtener una muestra de biopsia central de 0,3 cm de diámetro (Figura 13.1). Se deben tomar no menos de 3 muestras de la lesión y 3 del tejido que la rodea. Se pueden realizar improntas sobre portaobjetos de muestras obtenidas para estudio histopatológico antes de someterlas a fijación. El muestreo en la periferia de una lesión puede brindar una gran cantidad de osteoblastos reactivos, lo que debe tenerse en cuenta en la posterior interpretación de los hallazgos. La hemodilución es un problema común que se presenta en todas las preparaciones citológicas (Barger 2016, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017, Thompson 2017).

Figura 13.1. A) Aguja de Jamshidi. B) Biopsias obtenidas mediante el uso de dicha aguja.



Hallazgos citológicos

Citología normal

Suele ser de muy baja celularidad, 1 a 2 células por portaobjetos o menos, y a menudo con presencia de gran cantidad de glóbulos rojos. Generalmente, solo las células mesenquimáticas fusiformes del periostio se exfolian. Cuando la remodelación ósea ocurre como consecuencia de trauma, inflamación o neoplasia, se pueden observar osteoblastos reactivos. Los mismos son

redondos u ovoides, con apariencia plasmacitoide, es decir, citoplasma moderadamente basófilo, con cantidades variables de gránulos finos azurófilos y ocasionalmente un aparato de Golgi prominente. El núcleo es redondo, excéntrico, con patrón de cromatina punteado de fino a grueso y ocasionalmente nucléolo prominente. Pueden confundirse los osteoblastos reactivos con los neoplásicos, ya que a menudo los primeros muestran anisocitosis y anisocariosis leves a moderadas y pueden estar presentes en agregados. Puede haber una pequeña cantidad de matriz extracelular rosada, en estrecha asociación con las células. Los osteoclastos pueden estar presentes en lesiones con lisis o remodelación ósea y aparecen como células grandes, multinucleadas, con bordes redondeados o irregulares, proyecciones citoplasmáticas variables y abundante citoplasma azul claro con punteado rosado oscuro. Los núcleos son ovoides, uniformes, con cromatina reticular y nucléolo único pequeño, dispuestos al azar en la célula, en cantidad variable de 6 a 10 (Barger 2016, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017).

Enfermedades inflamatorias

Las lesiones inflamatorias del esqueleto, osteítis/osteomielitis, son causas importantes de enfermedad en animales domésticos, y la citología es una valiosa herramienta diagnóstica. Pueden ser causadas por bacterias u hongos. Suelen asociarse con lesiones líticas y/o proliferativas en las radiografías. Generalmente consisten en inflamación supurativa a piogranulomatosa, con una cantidad variable de neutrófilos, macrófagos y células gigantes multinucleadas. Dependiendo de la causa, podemos observar: predominio de neutrófilos en osteomielitis bacterianas e inflamación granulomatosa en osteomielitis fúngicas. Si se acompañan de proliferación ósea, pueden contener osteoblastos reactivos, osteoclastos y otras células mesenquimáticas (Barger 2016, Burton 2018, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle, 2017).

La **osteomielitis bacteriana** puede ocurrir secundaria a traumatismos, heridas por mordeduras, infecciones posquirúrgicas o cuerpos extraños y, menos frecuentemente, por diseminación hematogena de los agentes. Generalmente se produce una respuesta inflamatoria neutrofílica o supurativa. La identificación de bacterias intracelulares confirma la infección bacteriana, pero se recomienda el cultivo aeróbico y anaeróbico, sumado a pruebas de susceptibilidad. Las infecciones debidas a una sola especie son más comunes que las mixtas. Algunas causas específicas de osteomielitis bacteriana incluyen *Actinomyces* spp. y *Nocardia* spp., y se observan como estructuras ramificadas y filamentosas. Las infecciones bacterianas aerobias estafilocócicas, estreptocócicas y gramnegativas son comunes y pueden identificarse en la citología. En los gatos, la osteomielitis ocasionalmente puede ser causada por *Bartonella* spp. y *Mycobacterium* spp. (Barger 2016, Fielder, 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017).

La **osteomielitis fúngica** consiste en un proceso inflamatorio piogranulomatoso a supurativo, compuesto por neutrófilos, macrófagos activados y células gigantes multinucleadas. Los organismos no siempre se observan en el aspirado, por lo que debe realizarse más de uno y examinar todos los portaobjetos, y su ausencia no excluye la infección. Las tinciones fúngicas aplicables a preparaciones citológicas incluyen Grocott y ácido periódico-Schiff (PAS). Los organismos fúngi-

cos que pueden identificarse incluyen *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum* y, menos frecuentemente, *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Geomyces* spp. y *Sporothrix* spp.. Los organismos *Coccidioides* son esferas grandes (de 10 a 100 µm) azules o transparentes con protoplasma finamente granular. *Blastomyces* es un organismo levaduriforme redondo, con una pared de doble contorno y yema de base ancha. *Cryptococcus* es un organismo redondo con un brote de base estrecha y grueso, con una cápsula mucoide que no se tiñe con tinción de Wright. Los organismos de *Histoplasma* son pequeños (2 a 4 µm), redondos, con una cápsula delgada y núcleos rosados en forma de media luna, excéntricos y pueden observarse intracitoplasmáticos en los macrófagos. Los hongos *Aspergillus* spp. y *Geomyces* spp. pueden verse como hifas fúngicas teñidas o sin teñir (Barger 2016, Fielder 2020, Lawrence 2021).

La **osteomielitis protozoárica** es relativamente poco común. En la infección por *Leishmania* spp se ve afectado principalmente el esqueleto apendicular, con lesiones destructivas con remodelación ósea, inflamación piogranulomatosa a granulomatosa con la presencia de amastigotes intracelulares dentro de los macrófagos. Raramente, organismos protozoarios, como *Hepatozoon* spp., involucran el esqueleto, pero se han descrito inflamación neutrofílica y gamontes dentro de los neutrófilos intracelulares en aspirados de lesiones óseas proliferativas (Barger 2016, Fielder 2020; Lawrence 2021).

Enfermedades neoplásicas

La evaluación citológica permite confirmar el diagnóstico radiográfico presuntivo de las neoplasias óseas, antes de la toma de decisiones quirúrgicas agresivas.

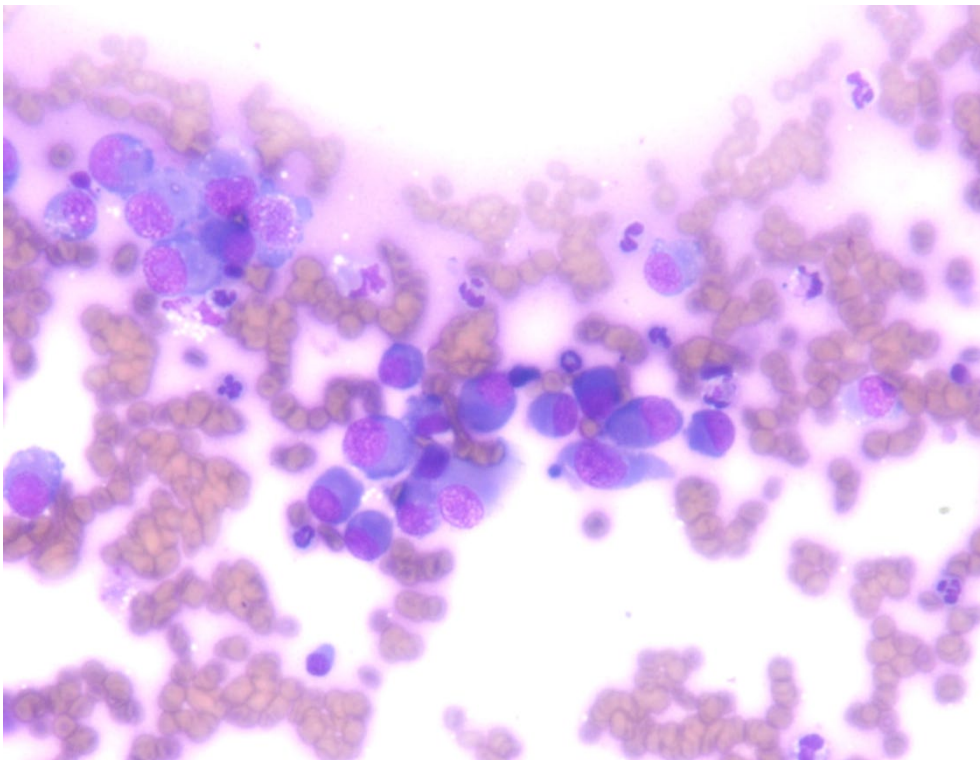
Las neoplasias óseas son relativamente frecuentes en los animales domésticos y el estudio citológico resulta útil para establecer el diagnóstico de algunas de ellas. No obstante, el estudio histopatológico es necesario no solo para la formulación del diagnóstico definitivo, sino también para la evaluación de otros aspectos anatomopatológicos que permitan predecir el comportamiento biológico de la neoplasia. Al igual que los estudios histopatológicos, la evaluación de la citología debe estar acompañada de un correcto examen clínico y radiológico.

Tumores óseos primarios

El **osteosarcoma**, proliferación maligna de osteoblastos, es el tumor óseo primario más común en perros y gatos, aunque en estos últimos los tumores óseos primarios son raros en general. Afecta el esqueleto apendicular, comprometiendo particularmente la región metafisaria de los huesos largos. En el perro las localizaciones más frecuentes son distal de radio, proximal de húmero y distal de fémur. Los aspirados de los osteosarcomas son altamente celulares, aún más que los aspirados de otras neoplasias de origen mesenquimático. Las células se pueden presentar aisladas o en grupos, pueden ser redondas o fusiformes. El citoplasma es azulado variable, a veces con un aparato de Golgi prominente, y puede contener cantidades variables de vacuolas pequeñas, claras y/o gránulos rosados finos. Estos últimos no son específicos de los osteosarcomas, pudiendo hallarse también en condrosarcomas y, menos frecuentemente, en fibrosarcomas. Los núcleos son redondos u ovals, grandes, con cromatina finamente granular, a menudo

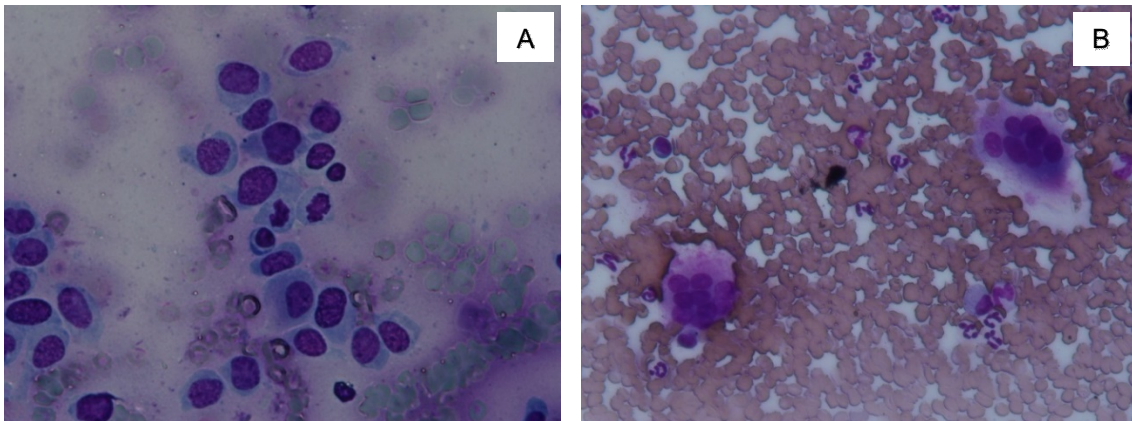
excéntricos y hasta pueden sobresalir de un extremo de la célula. Los nucléolos son prominentes, múltiples, azulados y la hiperchromasia es común. La relación N:C es variable. Presentan características de anaplasia, tales como anisocitosis, cariomegalia, anisocariosis, anisonucleoliosis, nucléolos evidentes y células bi o multinucleadas (Figura 13.2). Las figuras mitóticas atípicas pueden ser muy comunes (Figura 13.3 A). Algunos osteoblastos malignos pueden aparecer como células gigantes multinucleadas (Figura 13. B). La presencia de material osteoide color rosa brillante y algo fibrilar, rodeando a las células tumorales, brinda una evidencia importante de que la neoplasia es de origen óseo, si bien este hallazgo no se encuentra en todos los aspirados (Figura 13.4). Entre las células neoplásicas se pueden encontrar células inflamatorias, osteoblastos normales y osteoclastos, los cuales se diferencian de las células multinucleadas tumorales por sus núcleos uniformemente pequeños, sin características de malignidad (Barger 2016, Burton 2018, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017, Thompson 2017).

Figura 13.2. Osteosarcoma.



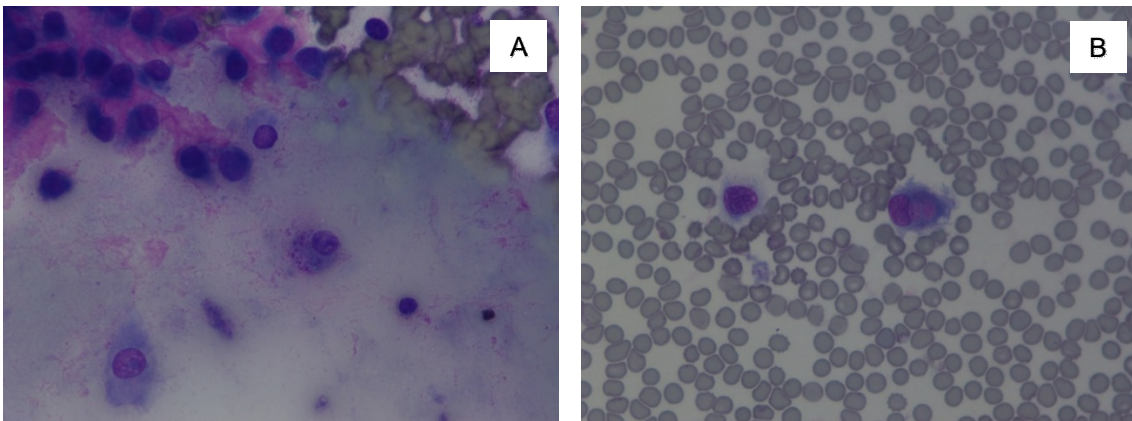
Osteoblastos con anisocitosis, cariomegalia y anisocariosis. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 13.3. Osteosarcoma.



A) Figuras mitóticas atípicas. **B)** Células gigantes multinucleadas con material osteoide intracitoplasmático. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 13.4. Osteosarcoma.



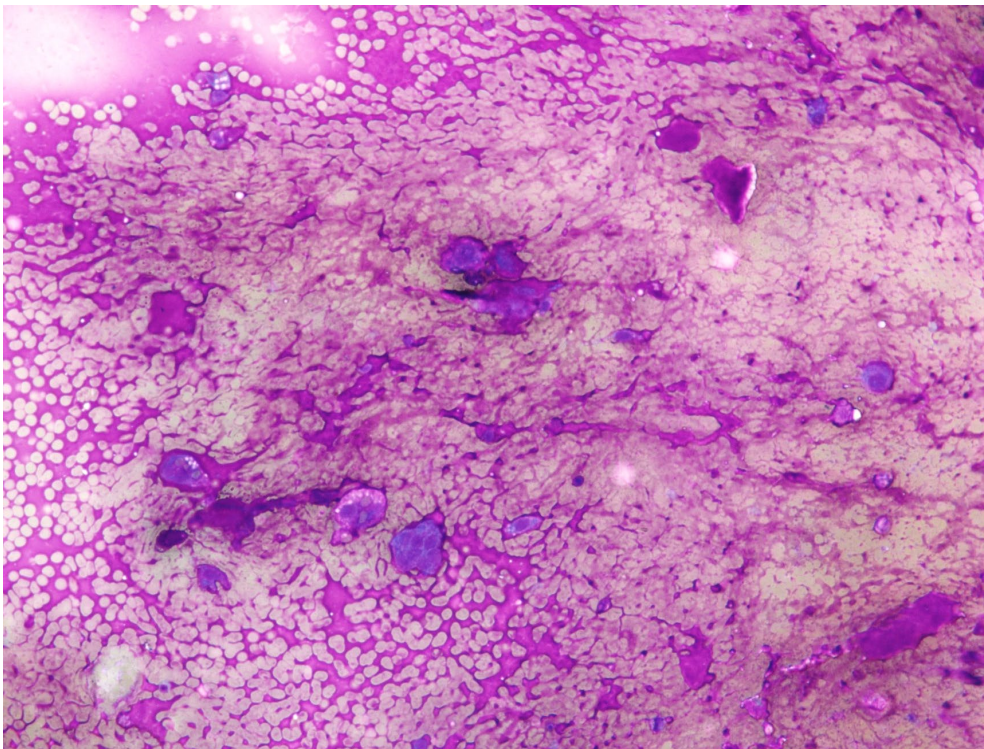
A) Material granulado rosado intenso entre las células. **B)** Material osteoide en el citoplasma de la célula. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

El uso de tinción citoquímica de células neoplásicas para la actividad de fosfatasa alcalina (ALP) ha mejorado en gran medida la precisión de la citología en el diagnóstico de osteosarcoma. La tinción de portaobjetos adicionales para ALP con sal de cloruro de tetrazolio nitroazul de toluidina/5-bromo-4-cloro-3-indolilfosfato (NBT/BCIP) aumenta la sensibilidad y especificidad de diferenciar el osteosarcoma de otros tumores óseos mesenquimáticos. Los osteoblastos reactivos y los neoplásicos se tiñen positivamente (tinción marrón oscuro-negra del citoplasma), por lo que es necesario identificar previamente los criterios de malignidad. Se recomienda la contratinción de portaobjetos con tinción de Romanowsky para examinar, si hay reacción positiva, las células y criterios de malignidad; y si son negativos, para confirmar la presencia de células neoplásicas (Barger 2016, Burton 2018, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017, Thompson 2017).

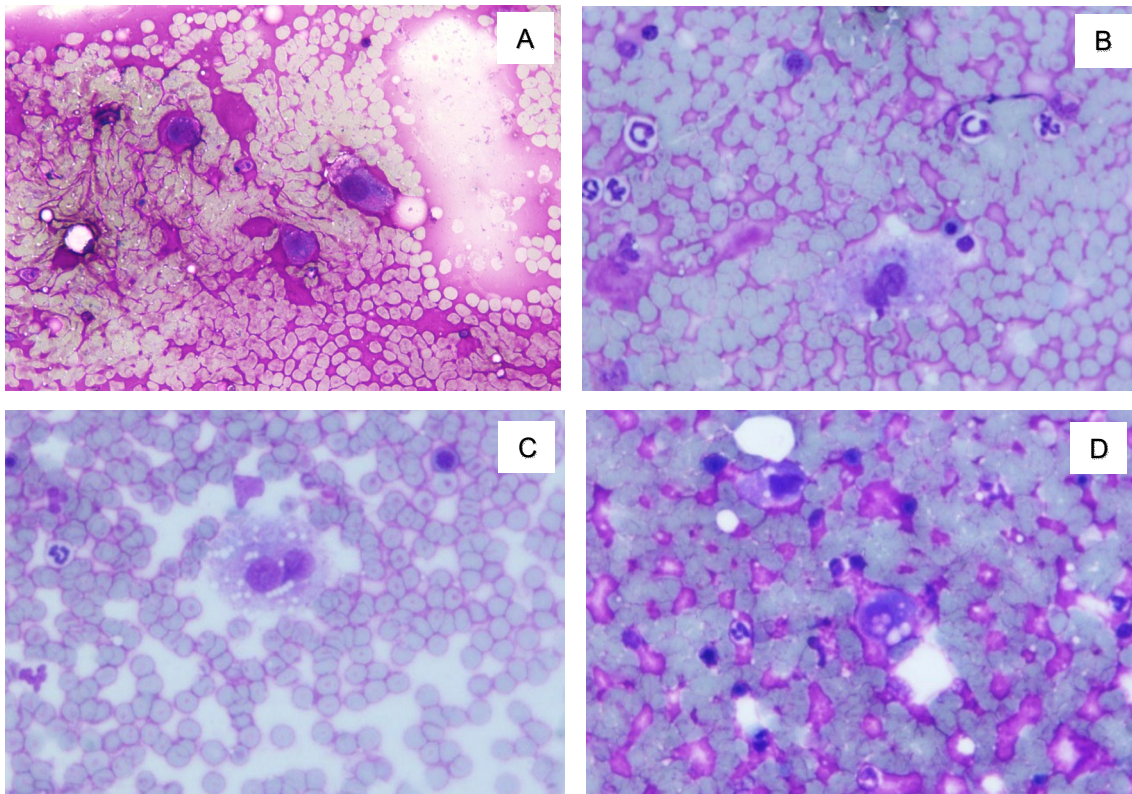
El **condrosarcoma**, proliferación maligna de condroblastos, es la segunda neoplasia ósea en frecuencia. En los caninos se presenta principalmente en costillas, cornetes nasales y pelvis, mientras que en los felinos se observa en escápula, vértebras y costillas. Como

regla general, los tumores del cartílago tienden a ser pobres en células y ricos en matriz, mientras que los osteosarcomas tienden a ser ricos en células y pobres en matriz en las preparaciones citológicas (Figura 13.5). Por ende, un hallazgo orientativo en los estudios citológicos de los condrosarcomas es la presencia de gran cantidad de un material granular rosa brillante entre las células, en el que las mismas se alojan formando lagunas (Figura 13.6). Este material corresponde a la matriz intercelular del cartílago denominada condroide. A pesar de que su observación orienta hacia el origen condroide de la neoplasia, no se encuentra en todos los aspirados. Las células tumorales son similares a las de los osteosarcomas; pueden ser redondas o fusiformes, con núcleo grande, hipercromático, central, de cromatina finamente punteada y múltiples nucléolos azulados. El citoplasma es azul oscuro, a menudo contiene varias vacuolas pequeñas y claras y, ocasionalmente, gránulos rosados finos (Figura 13.6 B, C y D). La anisocariosis es prominente y también pueden hallarse células bi o multinucleadas. Las figuras mitóticas son raras (Burton 2018, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017, Thompson 2017).

Figura 13.5. Condrosarcoma.



Escasas células y abundante material rosado intenso de fondo (matriz condroide). Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 13.6. Condrosarcoma.

A) Presencia de material rosa brillante, granular (matriz condroide) de fondo formando lagunas en las que se alojan las células. **B)** Célula binucleada con citoplasma conteniendo gránulos rosados finos. **C)** Célula binucleada con vacuolas citoplasmáticas. **D)** Célula con vacuolas intranucleares, rodeada de material rosado intenso. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

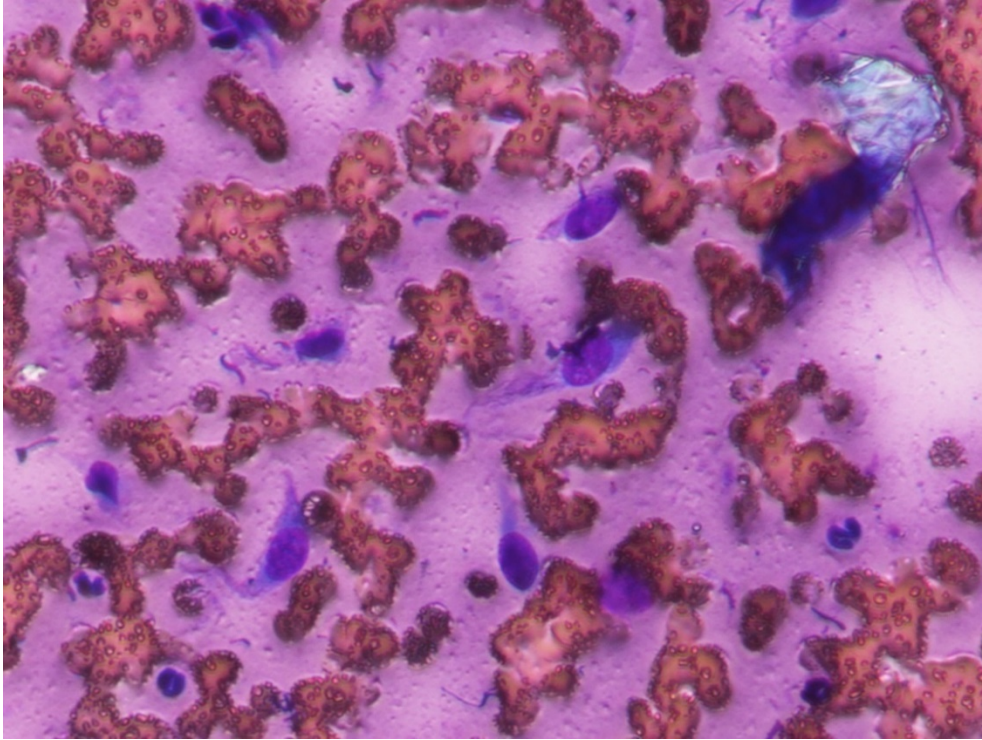
En ocasiones no es posible diferenciar un condrosarcoma de un osteosarcoma en las preparaciones citológicas; sin embargo, la caracterización de la lesión como neoplásica ya ofrece una importante información clínica. La tinción con ALP usando el sustrato NBT/BCIP puede ser valiosa para distinguir los dos tumores en las preparaciones citológicas. Si las células tumorales no se tiñen, se puede excluir el osteosarcoma, pero no se puede excluir la posibilidad de condrosarcoma si las células se tiñen positivamente, ya que algunos condrosarcomas pueden ser positivos (Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017, Thompson 2017).

En el caso de tumores benignos (osteomas y condromas) la histopatología suele ser necesaria para diferenciarlos de otras proliferaciones mesenquimáticas (Schnelle, 2017).

El **fibrosarcoma** con mayor frecuencia afecta el cráneo y los huesos apendiculares. Puede ser difícil de identificar de manera concluyente en la citología. Los extendidos pueden contener pequeña a moderada cantidad de células fusiformes, de citoplasma pequeño a moderado, color azul pálido. Los núcleos son redondos a ovoides, con cromatina finamente granular y múltiples nucléolos prominentes. La anisocitosis y la anisocariosis son moderadas a marcadas. Las células pueden estar asociadas con una pequeña cantidad de matriz extracelular rosada (áreas focales de colágeno denso) que se parece mucho a la matriz osteoide, pudiéndose observar también este material dentro del citoplasma (Figura 13.7). Se debe tener cuidado para diferenciarlo de la

fibroplasia reactiva, y se requiere histopatología para diferenciar la variante fibroblástica del osteosarcoma y el osteocondrosarcoma multilobular (Barger 2016, Burton 2018, Schnelle 2017, Thompson 2017).

Figura 13.7. Fibrosarcoma.



Células fusiformes con núcleo ovoide y múltiples nucléolos prominentes. Escasa cantidad de matriz extracelular rosada. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

La inmunorreactividad a la osteocalcina puede ser útil para distinguir entre colágeno denso y osteoide, pero la tinción con ALP de preparaciones citológicas es más sencilla y económica (Thompson, 2017).

Los **hemangiosarcomas** producen una lesión altamente destructiva, a menudo acompañada de fracturas. Los hemangiosarcomas de huesos largos se extienden a lo largo de la cavidad medular destruyendo el hueso cortical, pero generalmente no se extienden al tejido blando, tal como lo hace la mayoría de los sarcomas óseos primarios. Los extendidos a menudo son hemodiluidos, con frecuencia contienen solo unas pocas células nucleadas, y éstas pueden no representar la población neoplásica. Las células tumorales se pueden encontrar aisladas o en grupos densamente celulares; son ovoides a fusiformes; tienen un citoplasma pequeño a moderado azul y algunas contienen cantidades escasas a moderadas de vacuolas intracitoplasmáticas pequeñas. En preparaciones más celulares, los grupos de células tumorales pueden estar asociados con una escasa cantidad de matriz extracelular eosinofílica. Los núcleos son ovoides a ocasionalmente ameboides, de cromatina finamente granular, con nucléolos basófilos prominentes. Las figuras mitóticas atípicas y la hiper cromasia de los núcleos son comunes. La anisocitosis/anisocariosis es marcada, y la relación N:C, en general, es alta. Pueden mostrar eritrofagia, y se puede

identificar material granular pardo (hemosiderina) en el citoplasma de algunas células. La tinción de preparaciones citológicas con ALP es útil para excluir el osteosarcoma, pero un diagnóstico definitivo de hemangiosarcoma generalmente requerirá un examen histológico (Burton 2018, Lawrence, 2021, Schnelle 2017, Thompson 2017).

Tumores óseos metastásicos

Pueden presentarse clínicamente como tumores óseos. Los carcinomas exhiben este comportamiento con mayor frecuencia, siendo los más comunes los carcinomas de próstata, pulmón y mama. Se ve afectado con mayor frecuencia el esqueleto axial (particularmente las vértebras) y los huesos apendiculares proximales (particularmente el húmero). A menudo se afectan varios huesos. En los gatos, la metástasis de adenocarcinoma pulmonar y carcinoma de células escamosas a los dedos es de particular interés. Las características citológicas de las células neoplásicas metastásicas son similares a las de los tumores de tejidos blandos de los que se originaron, a menudo con marcados criterios de malignidad. La identificación de neoplasias metastásicas puede ser difícil porque los osteoblastos y osteoclastos reactivos a menudo acompañan a la población de células neoplásicas epiteliales agrupadas, las que parecen más pobremente diferenciadas. Las tinciones complementarias son muy útiles para el diagnóstico (Barger 2016, Burton 2018, Fielder 2020, Lawrence 2021, Schnelle 2017).

Músculo esquelético

Existen pocas enfermedades inflamatorias y neoplásicas clínicamente importantes del músculo esquelético en comparación con las de los huesos, y la enfermedad degenerativa del músculo esquelético no se diagnostica mediante la citología (Fielder 2020).

Técnica para la toma de muestras

Las muestras citológicas de lesiones del músculo esquelético pueden recogerse mediante métodos similares a los utilizados para las masas dérmicas y subcutáneas. La aspiración con aguja fina y la impronta de tejido tomado para biopsia son los métodos comúnmente utilizados (Barger 2016, Fielder 2020).

Hallazgos citológicos

Citología normal

El músculo esquelético normal exfolia poca cantidad de células y generalmente las aspiraciones o improntas solo contienen sangre. El citoplasma de los miocitos toma una coloración profundamente azulada y pueden apreciarse las estriaciones celulares. Los núcleos son periféricos,

pequeños, redondos a ovalados, con un patrón de cromatina condensada, uniformes en tamaño y forma y con un único nucléolo (Barger 2016, Benson 2021, Fielder 2020, Schnelle 2017).

Miositis

La citología es de uso limitado en el diagnóstico de la miositis. Un diagnóstico citológico presuntivo puede ser posible en muestras que contienen un infiltrado moderado de células inflamatorias en estrecha asociación con fragmentos de músculo esquelético. El diagnóstico generalmente requiere la consideración de los antecedentes, la reseña, los resultados bioquímicos sanguíneos (aumento de las enzimas creatina quinasa y aspartato transaminasa) y las pruebas electromiográficas, inmunológicas y serológicas. La evaluación histopatológica es necesaria para el diagnóstico definitivo ((Barger 2016, Benson 2021, Fielder 2020, Schnelle 2017).

Enfermedades neoplásicas

Los **tumores primarios** del músculo esquelético (rabdomiomas y rabdomiosarcomas) son poco frecuentes. En caninos los rabdomiosarcomas se pueden localizar en músculo escapular y tríceps braquial (Barger 2016, Benson 2021, Fielder 2020).

Desde el punto de vista citológico estos tumores pueden ser similares a otros tumores mesenquimáticos: los aspirados pueden estar hemodiluidos, contener baja celularidad y no ser diagnósticos. Los rabdomiomas a menudo exfolian pocas células; sin embargo, los rabdomiosarcomas pueden ser lo suficientemente celulares como para diagnosticarse como un sarcoma. Consisten en células individuales redondas a poligonales con una baja relación N:C y gran cantidad de citoplasma granular rosado a azulado. Los núcleos son redondos, centrales, de cromatina granular gruesa con nucléolos únicos pequeños. Las células pueden presentar un área paranuclear más clara, un citoplasma vacuolado con invaginaciones intracitoplasmáticas o estrías sutiles citoplasmáticas, pero a menudo están ausentes o son difíciles de encontrar. Ocasionalmente, se observan células multinucleadas, con los núcleos dispuestos en hilera, lo que se denomina célula en forma de “correa”, aunque no son específicas de esta neoplasia. Una segunda población de células más pequeñas, con una alta relación N:C y citoplasma difuso también se ve típicamente en aspirados de rabdomiomas y rabdomiosarcomas. Se cree que representan rabdomioblastos indiferenciados. En algunos rabdomiomas puede haber una población secundaria de células de reserva. Para arribar al diagnóstico de rabdomiosarcoma debemos observar criterios de malignidad como aumento del pleomorfismo, marcada anisocitosis y anisocariosis, presencia de células multinucleadas, múltiples nucléolos de tamaño variable y figuras mitóticas atípicas. Los métodos inmunocitoquímicos se han utilizado junto con la evaluación citológica para el diagnóstico de rabdomiosarcoma. Para un diagnóstico definitivo de rabdomiosarcoma o rabdomioma suelen ser necesarias la histopatología con tinciones especiales y estudios de inmunohistoquímica. En general, el músculo es vimentina negativa o débilmente reactiva, citoqueratina negativa, desmina positiva, actina positiva, y mioglobina positiva (Barger 2016, Benson 2021, Burton 2018, Fielder 2020, Schnelle 2017, Thompson 2017).

Aunque es poco frecuente en comparación con otros órganos, pueden ocurrir **metástasis** de carcinomas en el músculo esquelético. Las neoplasias que se originan en los tejidos adyacentes,

como lipomas, sarcomas de tejidos blandos, mastocitomas y enfermedades histiocíticas, son los que más comúnmente se presentan, en la clínica, como tumores del músculo esquelético. Estos tumores se originan en el tejido subcutáneo, pudiendo infiltrarse en el músculo subyacente (Benson 2021, Fielder 2020).

Articulaciones y líquido sinovial

Las articulaciones tienen una cápsula externa de tejido fibroso que se une a los huesos y estabiliza la articulación e internamente una membrana sinovial que recubre la superficie, excepto el cartílago articular. Dentro de la articulación se encuentra el líquido sinovial, compuesto de ácido hialurónico, lubricina, proteinasas y colagenasa, que nutre al cartílago articular y lubrica las superficies articulares (Barger 2016, Sherry 2014, Wood 2021).

Evaluación de líquido sinovial

El análisis del líquido sinovial forma parte de la base de datos mínima requerida en la evaluación de la enfermedad articular. Sus hallazgos deben interpretarse junto con datos de la historia clínica, hallazgos clínicos y de pruebas de diagnóstico complementarias (p. ej., cultivo, serología, título de anticuerpos antinucleares, título del factor reumatoide e imágenes). Las indicaciones para el análisis pueden incluir articulaciones con derrame y, ocasionalmente, aquellas sin derrame evidente que presentan rigidez, debilidad, pirexia, claudicación, masas, dolor o deformidad o aquellas con anomalías clínicas o citológicas previas. La artrocentesis está contraindicada en casos de celulitis o dermatitis suprayacentes, bacteriemia o coagulopatía (Barger 2016, Fernandes 2020, Sherry 2014).

Técnica para la toma de muestras

En artropatías solitarias, la artrocentesis debe realizarse en la articulación afectada, en tanto que en procesos poliartriticos debe realizarse en varias articulaciones, incluyendo aquellas que parecen menos afectadas. La recolección de líquido articular requiere: agujas hipodérmicas de 1,5 pulgadas y 22 G para perros grandes y de 1 pulgada y 25 G para perros pequeños y gatos, pudiendo necesitarse agujas más largas para codo, hombro o cadera; jeringas estériles de 3 a 6 ml; portaobjetos; tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); tubos con heparina y tubos estériles. El paciente debe estar sujeto con inmovilización física, sedación o anestesia. Se lo posiciona en decúbito lateral con la articulación a evaluar en la parte superior, se identifica el espacio articular y se prepara asépticamente la piel. La aguja debe avanzar lentamente a través de la cápsula hacia la cavidad articular, evitando dañar el cartílago; se realiza aspiración, la que se suspende al retirar la aguja para reducir la contaminación sanguínea. El objetivo de la artrocentesis es recoger algo de líquido sinovial y no drenar el espacio articular (Barger 2016, Fernandes 2020, Martínez de Merlo 2008, Schnelle 2017, Sherry 2014, Wood 2021).

El líquido sinovial debe recogerse en un tubo con EDTA para el análisis citológico, en tubo de vidrio para pruebas serológicas y en jeringa y/o tubo estériles para cultivo bacteriano, si es necesario. La preparación de uno o más extendidos directos en el momento de la recolección permite una mejor evaluación de la morfología celular y ayuda a distinguir los hallazgos reales de los artefactos *in vitro*. Es conveniente realizar preparaciones concentradas, mediante citocentrifugación (1000 a 1500 rpm durante 5 minutos) en muestras hipocelulares (Barger 2016, Fernandes 2020, Schnelle 2017).

Examen citológico

El líquido sinovial normal tiene baja celularidad, compuesta predominantemente por células mononucleares (macrófagos, células de revestimiento sinovial y linfocitos), escasos neutrófilos no degenerados y muy pocos glóbulos rojos. Los macrófagos pueden, o no, tener citoplasma vacuolado. Las células del revestimiento sinovial pueden ser redondeadas a fusiformes, con citoplasma azul moderado a abundante, núcleos redondeados u ovoides y cromatina punteada. Se debe registrar la proporción de células mononucleares que tienen restos fagocitados, otras células y microorganismos. En procesos inflamatorios se pueden encontrar mayor porcentaje de neutrófilos no degenerados, neutrófilos degenerados o eosinófilos. La morfología celular debe interpretarse con precaución en las muestras que no son frescas, ya que puede verse alterada la morfología celular (vacuolación artificial de macrófagos, picnosis y cariorrexis de células nucleadas). Se puede hacer una evaluación subjetiva de la celularidad, considerando que, en el cuerpo de un frotis normal, hay aproximadamente 2 células/campo con un aumento de 400x (obj. 40X). La celularidad de los frotis directos se clasifica como normal, ligera, moderada o marcadamente aumentada, no siendo esto aplicable en muestras concentradas. Debido a la alta viscosidad del líquido sinovial normal, las células tienden a disponerse en filas, siendo no apreciable esta característica en preparaciones hipocelulares. Dado que esto oculta gran parte de los detalles citológicos, las células nucleadas deben evaluarse en las zonas más delgadas del frotis, para una determinación más precisa del tamaño celular, las características citológicas y nucleares y la presencia de inclusiones o agentes infecciosos. El aumento de los glóbulos rojos puede deberse a una hemorragia asociada a la toma de muestra, trauma o inflamación que afecta la cápsula articular. A menudo, las células se ubican en un fondo proteico granular rosado característico (consecuencia de la presencia de ácido hialurónico) y, por lo tanto, su cantidad y densidad permite una estimación del grado de viscosidad del líquido (Barger 2016, Fernandes 2020, Martínez de Merlo 2008, Schnelle 2017, Sherry, 2014, Wood 2021).

Clasificación de la enfermedad articular

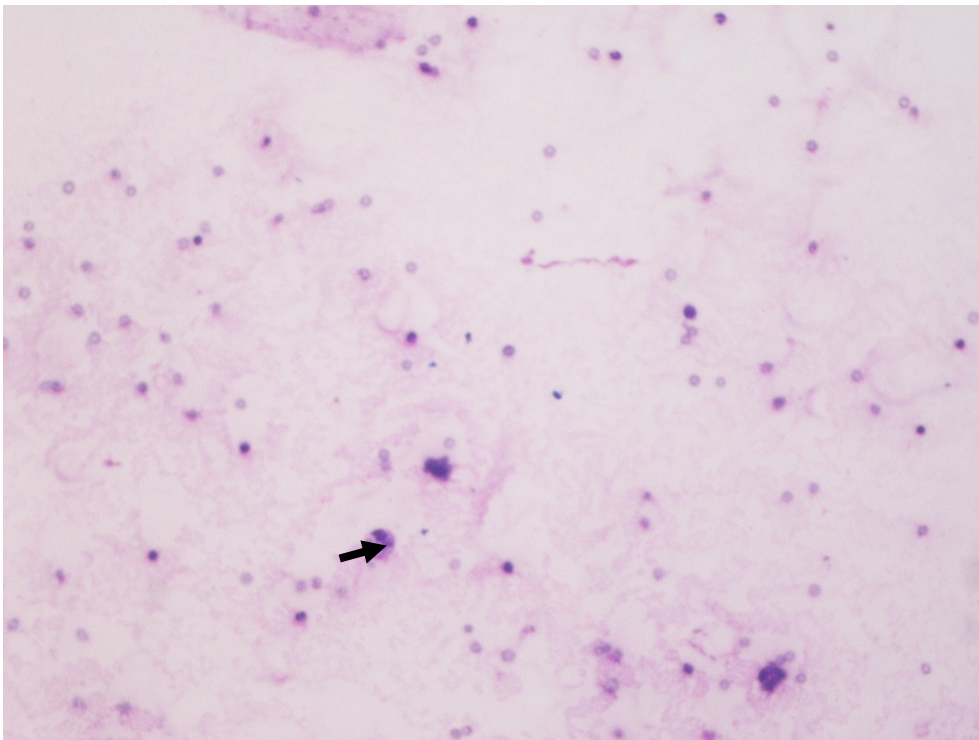
El objetivo del análisis del líquido sinovial es distinguir la enfermedad articular inflamatoria de la enfermedad articular degenerativa. La hemartrosis y la neoplasia pueden distinguirse con menos frecuencia. Una mayor diferenciación de los procesos de la enfermedad requiere la correlación con el examen físico, los datos de laboratorio y los estudios de imágenes. El análisis del

líquido sinovial solo rara vez diferencia o identifica la causa específica de entre los múltiples factores etiológicos involucrados en las enfermedades articulares (Barger 2016, Sherry 2014).

Enfermedad inflamatoria

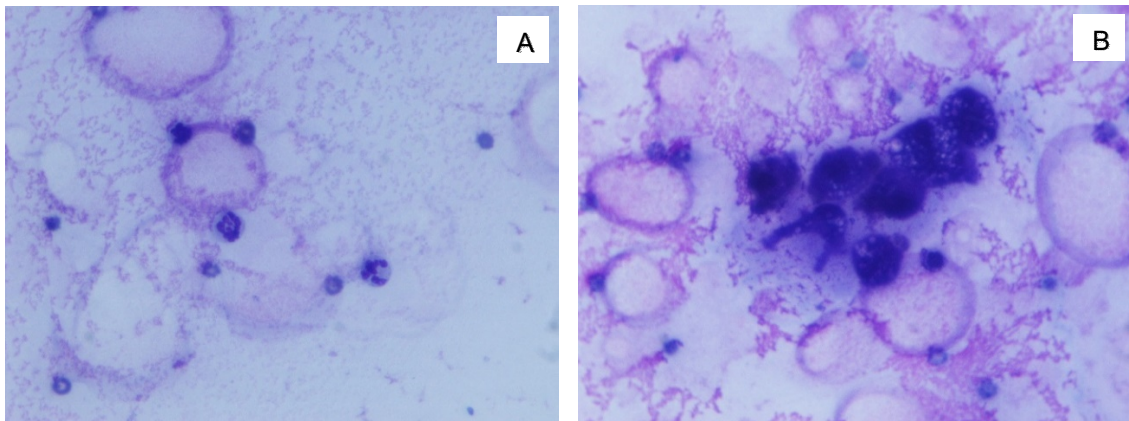
La artritis infecciosa y no infecciosa a menudo se caracteriza por una mayor cantidad de células nucleadas; en general, un aumento en la cantidad de neutrófilos y aumentos variables en la cantidad de células mononucleares, que pueden estar vacuoladas o tener restos fagocitados (Figura 13.8, Figura 13.9 y Figura 13.10). A menudo puede observarse hemorragia leve. Cuanto mayor es la reacción inflamatoria, el líquido se torna más turbio, menos viscoso y cambia su color. La concentración de proteína total aumenta y la muestra puede coagularse fácilmente. Dado que en las enfermedades infecciosas y no infecciosas puede observarse una apariencia citológica similar, la selección de pruebas de diagnóstico posteriores basadas en la presunción clínica contribuye a la diferenciación entre ambas. Si la afección es poliarticular, se recomienda obtener muestras de varias articulaciones, aun de algunas clínicamente no afectadas (Barger 2016, Fernandes 2020, Martínez de Merlo 2008, Schnelle 2017, Sherry 2014, Wood 2021).

Figura 13.8. Artritis.



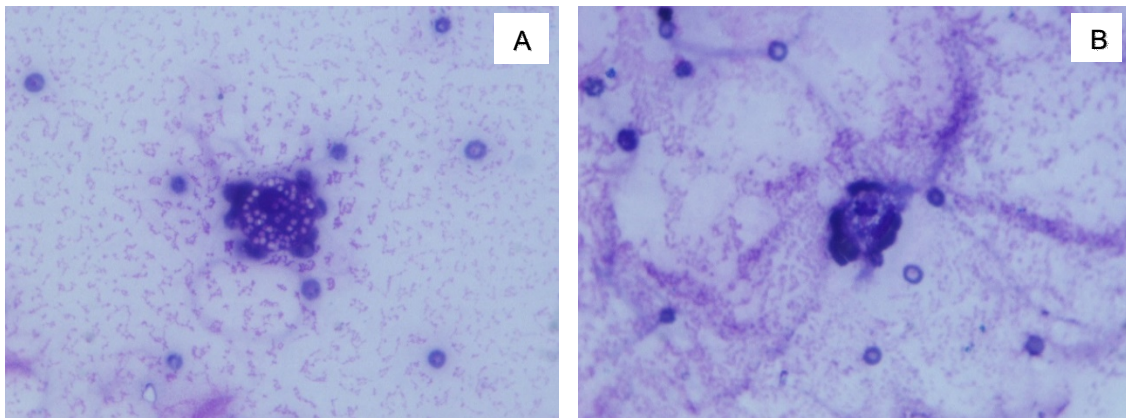
Celularidad aumentada compuesta por neutrófilos y células mononucleares vacuoladas (flecha negra) y material proteico granular rosado de fondo. Color Fast Kit, Biopack®, Obj. 20X.

Figura 13.9. Artritis.



Neutrófilos no degenerados (A), células mononucleares vacuoladas (B) material proteico granular rosado como sustancia de fondo. Color Fast Kit, Biopack®, Obj. 60X.

Figura 13.10. Artritis.



Célula mononuclear vacuolada (A), célula mononuclear con restos fagocitados en su citoplasma (B) y material proteico granular rosado como sustancia de fondo. Color Fast Kit, Biopack®, Obj. 60X.

Artritis infecciosa: es una artropatía inflamatoria, en la que el agente infeccioso causante puede cultivarse o aislarse de la membrana sinovial o del líquido articular. Aunque son poco comunes en perros y gatos, las bacterias son la causa aislada con mayor frecuencia, con muchos menos casos atribuidos a rickettsias, espiroquetas, *Mycoplasma* spp., hongos, virus y protozoos. La presentación clínica y el historial son útiles, ya que la mayoría de las artritis infecciosas de un animal adulto son monoarticulares, de inicio agudo y, a menudo, el resultado de una herida penetrante o quirúrgica. Cuando se producen artritis infecciosas poliarticulares, es probable que se deban a una diseminación hematógena de microorganismos que provienen de una onfaloflebitis en neonatos o una endocarditis bacteriana en animales adultos. A diferencia de la poliartritis inmunomediada, la artritis bacteriana, por lo general, solo afecta a una articulación. Las excepciones son los casos de enfermedad de Lyme (infección por *Borrelia burgdorferi*), infección por *Ehrlichia* spp. o poliartritis en un cuadro septicémico (Barger, 2016, Fernandes 2020, Schnelle 2017, Sherry 2014, Wood 2021).

En la artritis bacteriana se observa un predominio de neutrófilos, a menudo superior al 75%, generalmente no degenerados, con bacterias libres o fagocitadas. Por tal motivo, se recomienda

realizar el cultivo del líquido sinovial. Las artritis fúngicas son poco frecuentes, suelen ser secuelas de osteomielitis o infección diseminada y ocasionalmente, pueden observarse elementos fúngicos en el líquido sinovial (Barger 2016, Fernandes 2020, Schnelle 2017, Sherry 2014).

Artritis no infecciosa: implica un proceso inmunomediado en el cual múltiples articulaciones están involucradas concomitantemente o consecutivamente; sin embargo, en ocasiones, solo se ve afectada una articulación; siendo las articulaciones distales más pequeñas las más comúnmente afectadas. Citológicamente, se observa un aumento en la cantidad de neutrófilos no degenerados y, raramente, un aumento de linfocitos y células plasmáticas. El diagnóstico de la artritis inmunomediada depende de demostrar inflamación y descartar infección mediante cultivo, serología, PCR y/o terapia empírica. En algunos casos de enfermedad inmunomediada se podrán encontrar ragoцитos (neutrófilos que contienen pequeñas inclusiones citoplasmáticas redondeadas, de tamaño variable, color rosa a púrpura, de forma irregular) o células de lupus eritematoso (LE) (neutrófilos que contienen inclusiones citoplasmáticas rosadas, grandes, redondeadas, homogéneas con un borde liso). Se cree que el material intracitoplasmático representa material nuclear fagocitado en el caso de las células de LE o complejos inmunes fagocitados o material nuclear en los ragoцитos. Sin embargo, estas inclusiones se identifican con poca frecuencia y se debe tener cuidado de no confundirlas con bacterias intracelulares o restos celulares fagocitados. Estos son hallazgos poco frecuentes y no se debe confiar en ellos para diagnosticar una enfermedad inmunomediada (Barger 2016, Burton 2018, Fernandes 2020, Schnelle 2017, Sherry 2014, Wood 2021).

Enfermedad degenerativa

Las anomalías citológicas pueden ser detectadas antes de que los cambios radiográficos sean evidentes. Las mismas no son tan notorias como las observadas en la enfermedad inflamatoria, y consisten en un ligero aumento en la cantidad de células mononucleares (macrófagos y células sinoviales), más del 10% de ellas moderada a marcadamente vacuoladas o fagocíticas. Un traumatismo posterior puede ocasionar inflamación leve transitoria y hemorragia sobreagregadas (más neutrófilos, glóbulos rojos y eritrofagocitosis). Si el daño del cartílago articular es grave, osteoclastos, osteoblastos y condrocitos pueden desprenderse y observarse en el líquido articular (Barger 2016, Martínez de Merlo 2008, Sherry 2014).

Hemartrosis

La hemartrosis es una hemorragia dentro de un espacio sinovial, secundaria a un traumatismo, defectos de coagulación o neoplasia. La verdadera hemorragia debe distinguirse de la contaminación sanguínea en el momento de la recolección de la muestra: la observación de líquido sinovial color rojo uniforme es compatible con la hemartrosis, en oposición a una mancha roja que puede aparecer con la contaminación con sangre periférica. Si ha ocurrido una hemorragia anterior, el líquido sinovial puede aparecer amarillento u homogéneamente rojo y turbio. Citológicamente, se pueden observar eritrofagocitosis (macrófagos conteniendo eritrocitos fago-

citados) y/o macrófagos cargados de productos de descomposición de la hemoglobina: hemosiderina (material granular pardo) o cristales de hematoidina (material cristalino naranja, romboide, refráctil). Se debe tener cuidado al interpretar la eritrofagia ya que ésta puede ocurrir *in vitro* si la muestra no se evalúa rápidamente. Ocasionalmente, se observarán plaquetas en muestras con contaminación severa de sangre periférica. La hemorragia asociada con artropatías degenerativas e inflamatorias suele ser leve en comparación con la hemartrosis verdadera y, citológicamente, la eritrofangocitosis aparece junto con los cambios característicos de la causa subyacente (Barger 2016, Fernandes 2020, Schnelle 2017, Sherry 2014, Wood 2021).

Tumores articulares

En gatos y perros pueden originarse, poco frecuentemente, neoplasias dentro de las articulaciones, o pueden invadirlas desde tejidos adyacentes o pueden ser asiento de metástasis. El diagnóstico se realiza a través de la histopatología. Los cambios en el líquido sinovial están poco descritos, pero posiblemente podrían presentar características de una artropatía degenerativa o inflamatoria, con presencia de células neoplásicas poco frecuentes (Fernandes 2020, Martínez de Merlo 2008).

Los tumores sinoviales encontrados en perros en orden decreciente son: sarcomas histiocíticos, sarcomas de células sinoviales, mixomas sinoviales, fibrosarcomas, condrosarcomas, sarcomas mixtos y sarcomas indiferenciados. Los sarcomas histiocíticos y de células sinoviales también han sido descritos en gatos. La tinción inmunohistoquímica es necesaria para distinguir entre los tipos histológicos de tumores sinoviales, ya que el pronóstico varía entre ellos. Se sugiere un panel de anticuerpos que incluya citoqueratina para el sarcoma de células sinoviales y CD18 para el sarcoma histiocítico. Los sarcomas de múltiples tipos pueden tener características similares: células fusiformes o estrelladas, proyecciones citoplasmáticas tenues, cantidades variables de citoplasma moderadamente azulado, pleomorfismo nuclear y nucléolos prominentes. Las células pueden mostrar variaciones leves a marcadas en el tamaño celular, nuclear y nucleolar, así como aumentos en la relación N:C (Barger 2016, Schnelle 2017, Sherry 2014).

El sarcoma histiocítico periarticular se asocia con frecuencia a determinadas razas caninas (Rottweiler, Boyero de Berna y Retriever), existiendo una relación entre una lesión traumática previa y el posterior desarrollo tumoral. Citológicamente se observan células redondas con núcleo lobulado, citoplasma abundante azulado con vacuolización y características anaplásicas como pleomorfismo celular, multinucleación, anisocariosis, cariomegalia, cromatina en hebras gruesas, nucléolos prominentes y alto índice mitótico (Barger 2016, Burton 2018, Schnelle 2017).

El sarcoma de células sinoviales es de presentación común en articulaciones más grandes (en particular, la rodilla) en perros de razas grandes. Las características citológicas de malignidad pueden observarse, siendo difícil de diferenciarlos de otros sarcomas. La caracterización definitiva puede requerir la evaluación histológica, siendo a veces necesario recurrir a tinciones especiales o, en algunos casos, a la inmunohistoquímica (Burton 2018, Schnelle 2017, Sherry 2014).

Otras neoplasias ocasionalmente encontradas en la articulación son el linfoma y la metástasis de carcinoma bronquial, mamario o de células de transición de la glándula prostática (Barger 2016, Fernandes 2020).

Referencias

- Barger, A. (2016). Musculoskeletal System. En RE Raskin y DJ Meyer (Eds), *Canine and Feline Cytology. A color atlas and interpretation guide*. (353–368). Third edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Benson, C. J. (2021). Muscle. En LC Sharkey, MJ Radin y D Seelig (Eds), *Veterinary Cytology* (243-248). First edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Burton, A. (2018). Musculoskeletal. En A Burton (Ed), *Clinical Atlas of Small Animal Cytology* (169-188). First edition. Massachusetts, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Fernandes, P. (2020). Synovial fluid analysis. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat* (186-204). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Fielder, S. (2020). The musculoskeletal system. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat* (205-209). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Lawrence, J. y Milne, E. (2021). Bone and periarticular structures. En LC Sharkey, MJ Radin y D Seelig (Eds), *Veterinary Cytology* (249-257). First edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Martínez de Merlo, EM. (2008). Estudio citológico de líquidos orgánicos. En EM Martínez de Merlo (Ed), *Atlas de citología clínica del perro y del gato* (296–306). Primera edición. Zaragoza, España: Servet editorial - Grupo Asís Biomedica.
- Schnelle, A. (2017). Musculoskeletal cytology. En AM Barger y AL MacNeill (Eds), *Small animal cytologic diagnosis* (682-712). First edition. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group.
- Sherry, K. (2014). Cytology of synovial fluid. En J Dunn (Ed), *Diagnostic cytology of the dog and cat* (111-125). First edition. Boca Raton, USA: John Wiley & Sons, Ltd.
- Thompson, KG y Dittmer KE (2017). Tumors of bone. En DJ Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (356-424). Fifth edition. Ames, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Wood, RD y Gibson T (2021). Synovial Fluid Analysis of the Dog and Cat. En LC Sharkey, MJ Radin y D Seelig (Eds), *Veterinary Cytology* (727-735). First edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.

CAPÍTULO 14

Estudio citológico del aparato genital femenino

María Alejandra Stornelli y María Cecilia Stornelli

Citología vaginal

El estudio de la citología vaginal en caninos y felinos es un método complementario sencillo, poco costoso, no invasivo y que puede ser de gran utilidad en el estudio del aparato genital femenino.

Los cambios que ocurren en la mucosa vaginal y su epitelio durante el ciclo estral son el resultado del aumento de las concentraciones séricas de estrógenos, producto de la actividad ovárica durante el proestro y el estro. Los cambios celulares del epitelio pueden observarse en las células vaginales exfoliadas. Los estrógenos causan el engrosamiento del epitelio vaginal mediante el aumento de las capas celulares del mismo. Durante este proceso, las capas más superficiales del epitelio se alejan de los vasos de la lámina propia y progresan hacia la muerte celular. De esta manera, los cambios citológicos vaginales son reflejo de las variaciones de las concentraciones séricas de estrógenos. Es así como los diferentes tipos celulares representan distintos estadios del proceso hacia la muerte celular. Tan pronto como las células vaginales esféricas se alejan del aporte vascular, comienzan a agrandarse y su forma se vuelve más irregular. Los núcleos también sufren cambios que reflejan el proceso hacia la muerte. Comienzan a disminuir su tamaño, se vuelven picnóticos para luego desintegrarse, dando como resultado una célula anucleada (Concannon 2011, Stornelli 2020 a).

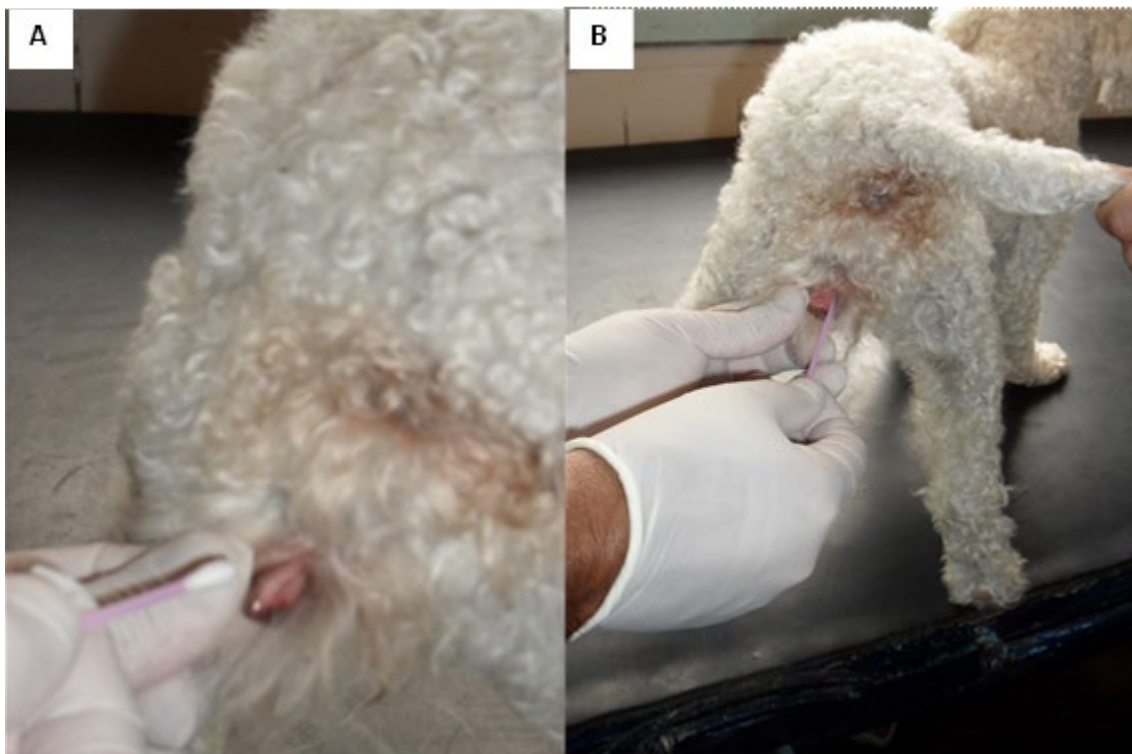
El conocimiento de la estructura histológica de la pared vaginal y de la fisiología del ciclo estral canino permite interpretar adecuadamente los resultados obtenidos y relacionarlos con los procesos fisiológicos y patológicos del paciente.

Obtención y acondicionamiento de las muestras

La obtención de muestras vaginales para la realización de extendidos puede realizarse por diversos métodos. Las técnicas utilizadas para la toma de muestras deben ser sencillas, aplicables al paciente en relación con su tamaño, causar mínimas molestias al animal y ser de bajo costo. Tanto el método del hisopado como el dedo enguantado reúnen todos los requisitos mencionados; por lo tanto, pueden considerarse como métodos de elección. La elección del método

depende de la talla del animal. Se utilizan hisopos para cualquier talla, pero el dedo enguantado solo puede ser utilizado en perras de más de 7 kg. Para realizar la técnica del hisopado, se utiliza un hisopo de algodón estéril con un palillo de 12 a 17 cm de largo, ligeramente humedecido con solución fisiológica estéril. Si se utiliza el dedo enguantado, se coloca un guante de exploración (Figura 14.1 y 14.2), utilizándose el dedo índice para la toma de muestra. Seguidamente se separan los labios vulvares con suavidad y se introduce el hisopo o el dedo por la comisura dorsal hacia craneodorsal, evitando la fosa del clítoris (Figura 14.1 y 14.2). El hisopo o el dedo se introducen con la profundidad necesaria para alcanzar el canal pelviano y luego se rotan sobre las paredes vaginales.

Figura 14.1. Toma de muestras con hisopo.



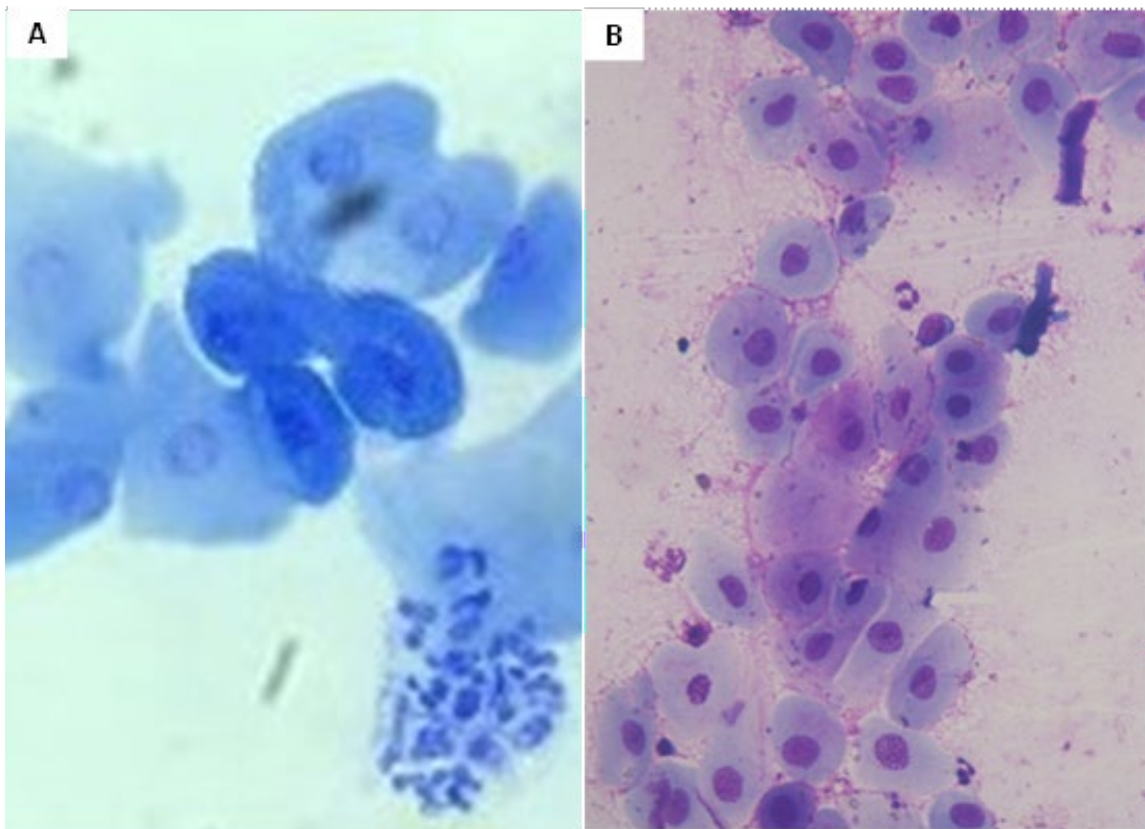
A) Separación de labios vulvares. **B)** Introducción del hisopo en la vagina.

Todo el procedimiento se realiza en pocos segundos y no causa molestias al animal. La fosa del clítoris debe ser evitada para que el extendido sea representativo de la mucosa vaginal y no de las células de la fosa del clítoris que no se modifican durante el ciclo estral y pueden confundirse con las células superficiales. Una vez realizada la toma de muestras, el hisopo o dedo enguantado se retiran y se deslizan sobre un portaobjetos seco, desengrasado y rotulado (con fecha y número de muestra). Deben realizarse dos o tres extendidos para asegurar material suficiente para una buena observación. Los extendidos deben secarse al aire y fijarse en alcohol metílico 95-100 % para su conservación, pudiendo realizarse la tinción inmediata o en los días subsiguientes. Pueden utilizarse técnicas sencillas y rápidas para realizar en el consultorio, como azul de metileno o tinción 15 (Figura 14.3), o bien técnicas más complejas que se reservan para su uso en el laboratorio, como May-Grünwald-Giemsa o Harris Shorr (Stornelli 2016 b) (Figura 14.4).

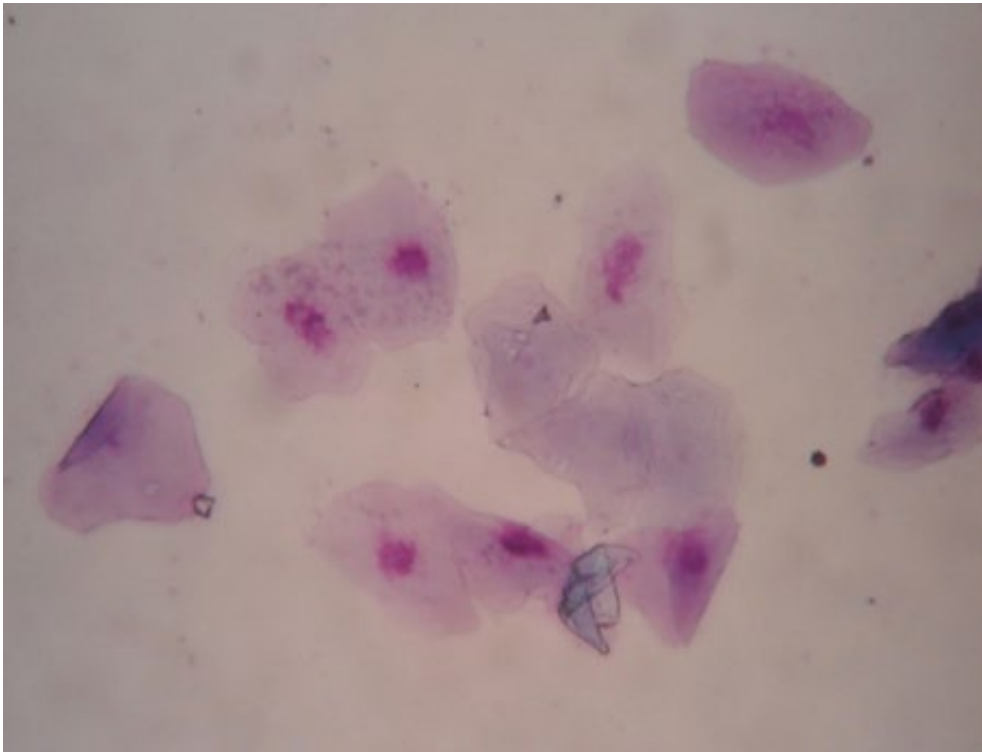
Figura 14.2. Toma de muestras con dedo enguantado.



Figura 14.3. Citología vaginal.



A) Tinción azul de metileno. Obj. 60X. **B)** Tinción 15. Biopur®. A Obj. 20 X.

Figura 14.4. Citología vaginal.

Tinción May-Grünwald-Giemsa. Obj-40X.

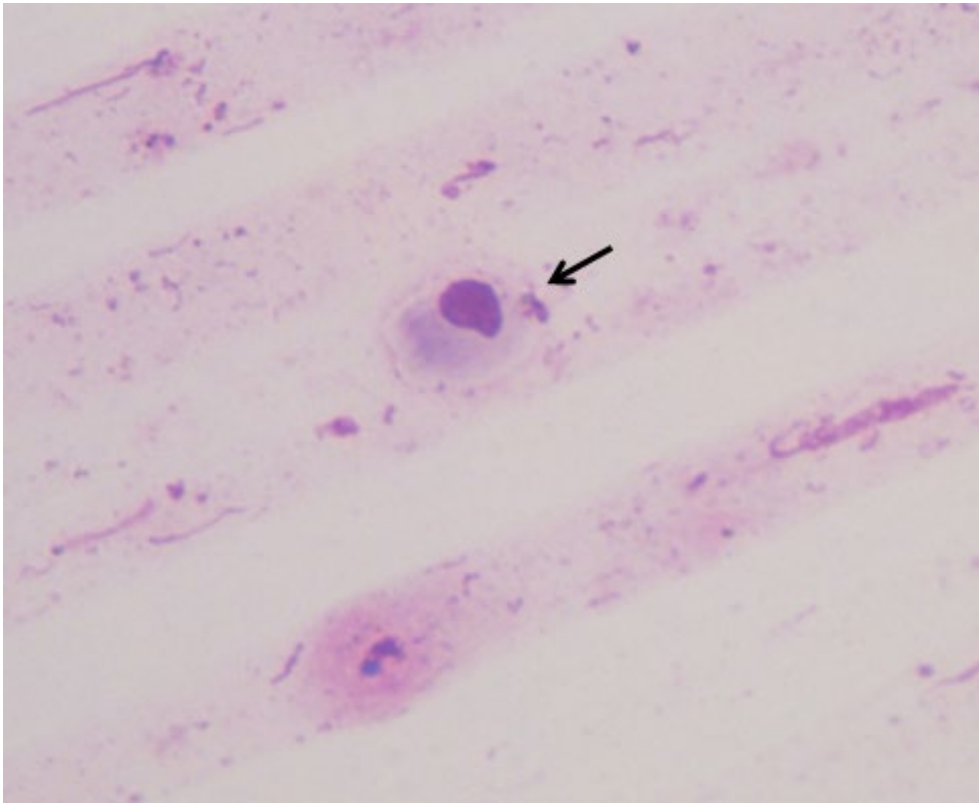
Cualquier tinción utilizada debe, al menos, permitir reconocer las diferencias morfológicas de cada tipo celular. Al utilizar azul de metileno toda la célula (núcleo y citoplasma) se ve azul, mientras que con la tinción 15 o May-Grünwald-Giemsa los núcleos se ven de color violeta rojizo y el citoplasma de color rosa violáceo. Con la tinción de Harris Shorr las células eosinófilas se tiñen de rojo y las basófilas de azul o verde azulado, los núcleos picnóticos de violeta rojizo y los no picnóticos de azul violáceo (Johnston 2001).

Particularidades morfológicas de cada tipo celular

Células basales: son las células que dan origen a todos los tipos celulares epiteliales observables en los extendidos vaginales. Son pequeñas, poseen poco citoplasma y raramente son vistas en los extendidos (Stornelli 2017).

Células parabasales: son las células vaginales más pequeñas observadas en los extendidos. Son redondas o ligeramente ovaladas, poseen núcleo grande y escasa cantidad de citoplasma en relación al tamaño nuclear. Estas células se exfolian de la capa contigua a la capa de células basales y se encuentran cerca de los vasos sanguíneos del corion (Figura 14.5) (Stornelli 2017).

Figura 14-5. Células parabasales.



Célula parabasal (flecha). Obj. 40X.

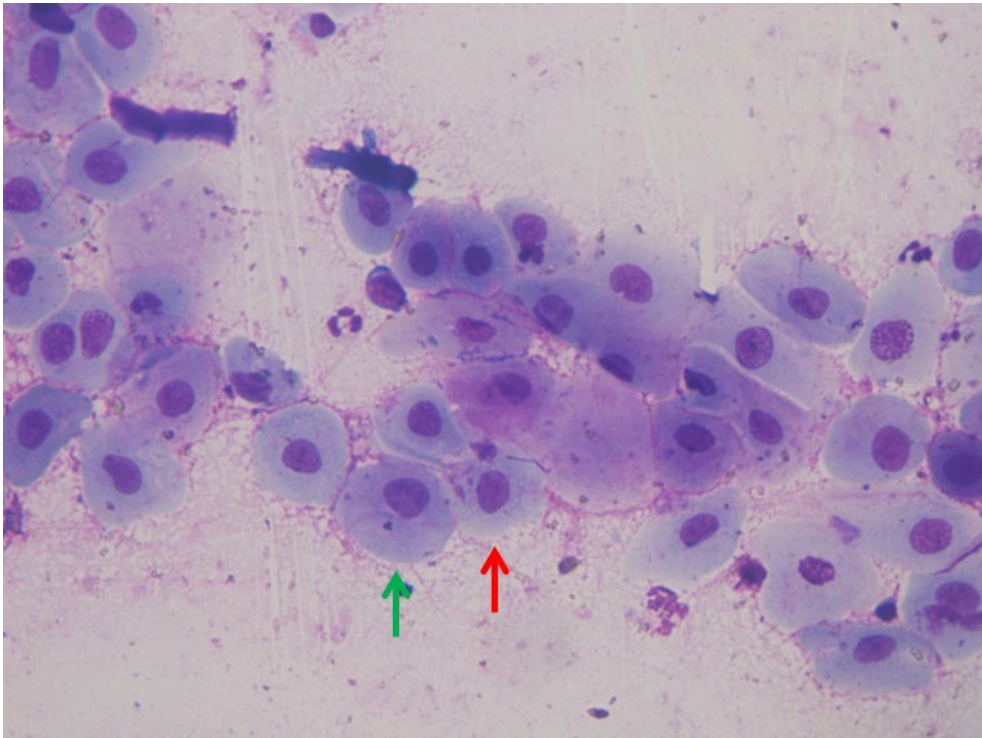
Células intermedias: su tamaño oscila desde ligeramente más grande que las parabasales hasta dos veces su tamaño. Son ovales o redondas, su núcleo es generalmente más pequeño que el de las células parabasales y poseen mayor cantidad de citoplasma. Estos cambios morfológicos representan el primer paso en la muerte celular. Se las clasifica en células intermedias pequeñas y células intermedias grandes (Figura 14.6) (Stornelli 2017).

Células superficiales: Reflejan los cambios característicos de muerte celular y están situadas en la capa celular adyacente al lumen vaginal. Son las células más grandes observadas en la citología vaginal, poseen bordes angulares, núcleo, pequeño y picnótico, o carecen de él (Figura 14.7) (Stornelli 2017).

Células metaestrais: Son células grandes y parecen poseer uno o más neutrófilos dentro de su citoplasma, pero en realidad se encuentran superpuestos sobre el citoplasma. Estas células pueden ser vistas en el diestro temprano (Figura 14.8) (Stornelli 2017).

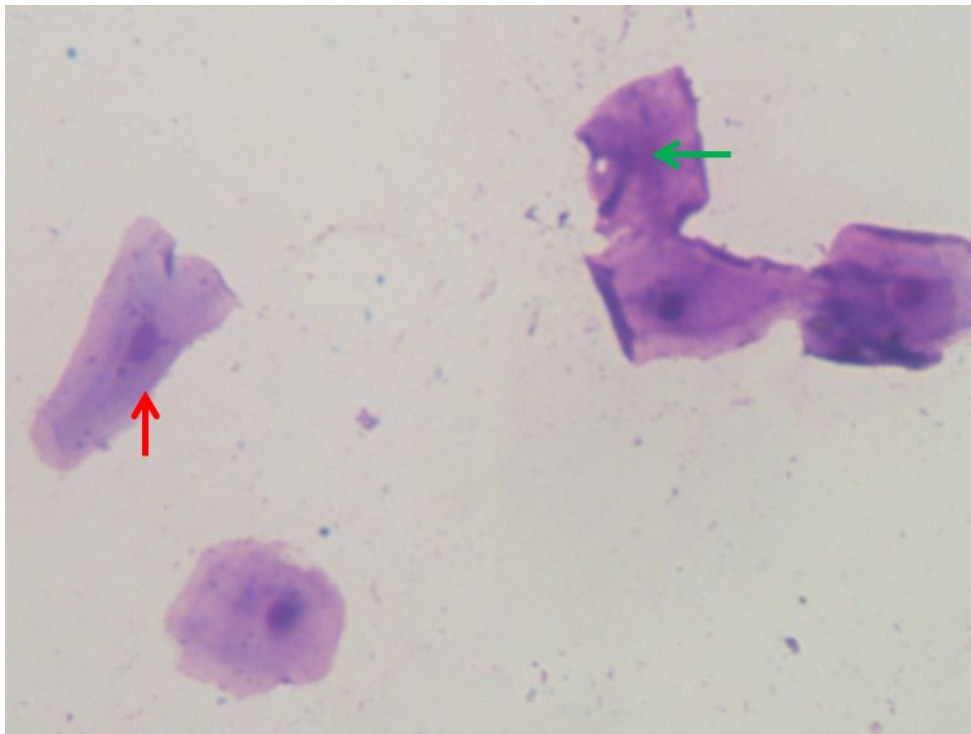
Células de la fosa del clítoris: son células fusiformes, carecen de núcleo y se colorean más intensamente, observándose más oscuras que el resto de las células del extendido vaginal (Figura 14.9) (Stornelli 2017).

Figura 14.6. *Células intermedias pequeñas y grandes.*



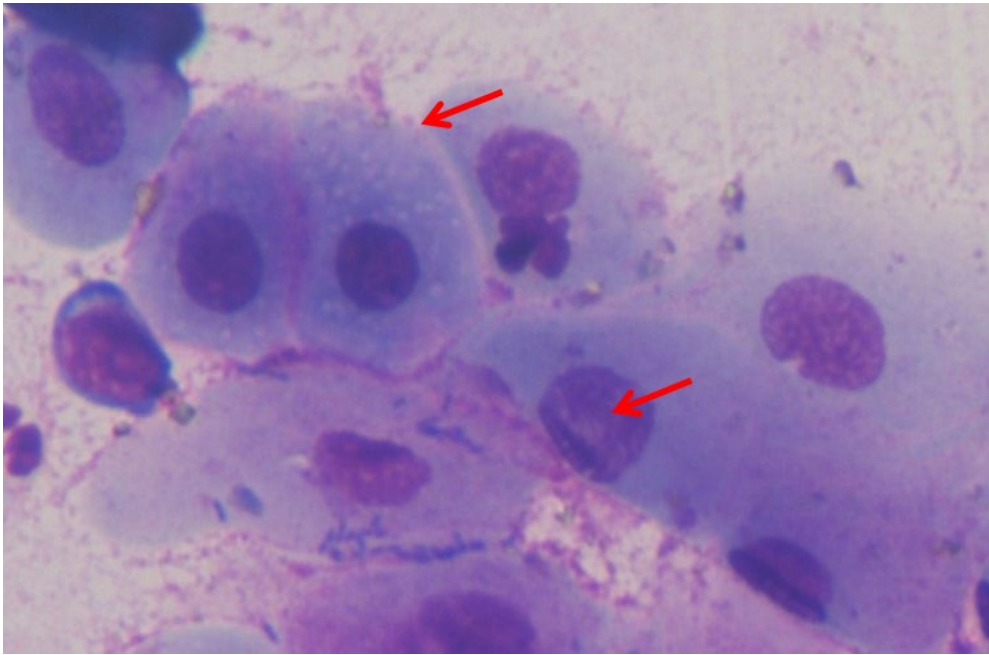
Célula intermedia pequeña (flecha roja). Célula intermedia grande (flecha verde) Obj. 40.

Figura 14.7. *Células superficiales.*



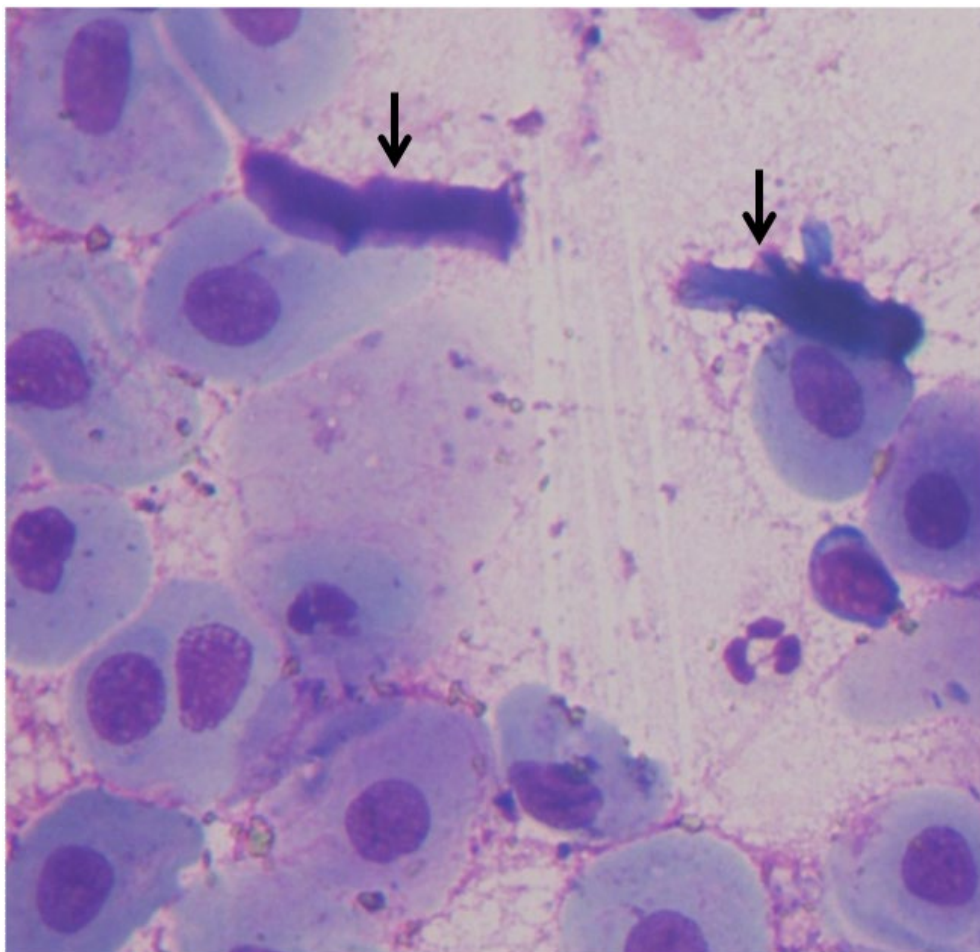
Célula superficial nucleada (flecha roja). Célula superficial anucleada (flecha verde) Obj. 40X.

Figura 14.8. *Célula metaestral.*



Célula metaestral (flecha) Obj. 40X.

Figura 14.9. *Célula de la fosa del clítoris (flechas).* Obj. 40X.



Célula de la fosa del clítoris (flechas). Obj. 40X.

Evaluación e interpretación de los resultados obtenidos en el estudio de la citología vaginal

Variaciones de la citología vaginal durante el ciclo estral en caninos

Proestro

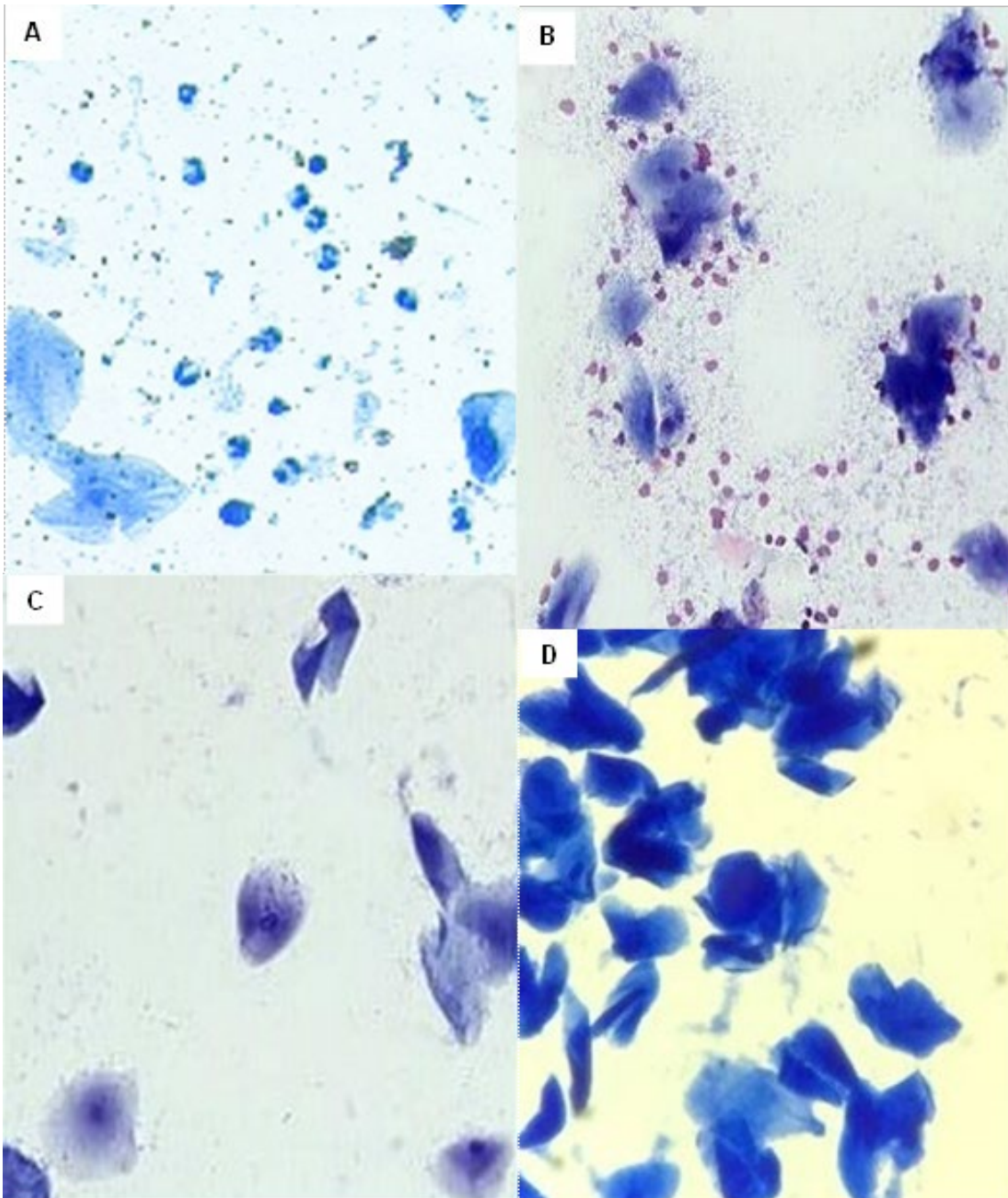
La imagen citológica del proestro refleja la presencia de folículos funcionales y en maduración con activa producción estrogénica, lo cual determina un incremento de estrógenos circulantes.

En las muestras de citología vaginal obtenidas durante el proestro temprano se observa una imagen similar a la del anestro tardío, pero con una gran diferencia, la presencia de células sanguíneas; por lo tanto, se observará una cantidad variable de eritrocitos provenientes del rápido desarrollo endometrial; junto con escasas células parabasales, numerosas células intermedias pequeñas y grandes y escasas células intermedias superficiales. Es frecuente la observación de neutrófilos, aunque en escasa cantidad, y también pueden estar presentes bacterias en pequeñas o grandes cantidades. El fondo de estos extendidos a menudo tiene aspecto sucio debido a la presencia de secreciones cervicales y vaginales viscosas que se tiñen ligeramente (Figura 14.10 A). En el proestro medio, el primer indicio de un efecto estrogénico continuo sobre la citología vaginal es la desaparición de los neutrófilos. Estas células ingresan al lumen vaginal a través del epitelio vaginal, pero luego ya no pueden atravesar la pared vaginal debido al mayor espesor epitelial por acción de los estrógenos. Los neutrófilos no deberían ser observados nuevamente hasta el diestro. La cantidad de células parabasales e intermedias pequeñas disminuye y son reemplazadas por células intermedias grandes e intermedias superficiales. Los eritrocitos pueden o no estar presentes y el fondo es sucio o claro (Figura 14.10 B). En el proestro tardío el frotis vaginal no contiene neutrófilos, la presencia de eritrocitos es variable y el fondo es claro. Más del 80% de las células vaginales son superficiales con núcleos picnóticos o anucleadas (Figura 14.10 C) (Stornelli 2012, Stornelli 2016 a).

Estro

Durante el estro, la citología vaginal se mantiene constante y no existen modificaciones que sugieran el pico de LH o de ovulación o el momento de la fertilización. Las células superficiales nucleadas y anucleadas siempre representan más del 60% de las células vaginales totales y, a menudo, alcanzan el 100%. No se observan neutrófilos, disminuye la cantidad de eritrocitos que pueden o no estar presentes y el fondo del extendido está limpio. Si bien el porcentaje de células superficiales puede fluctuar, nunca será menor al 60% y, por lo general, se mantiene entre el 80 y el 100% (Figura 14.10 D) (Stornelli 2012, Stornelli 2016 a).

Figura 14.10. Proestro y estro.



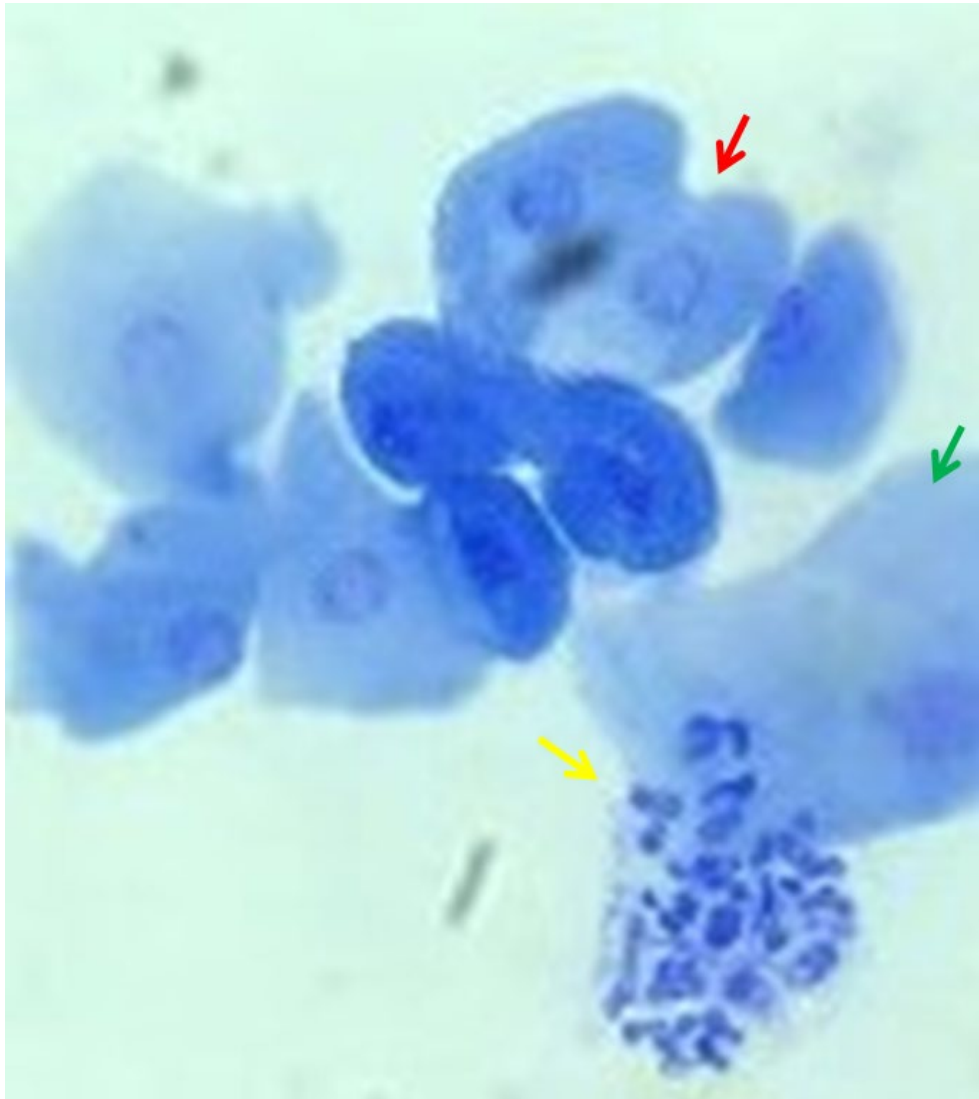
A) Proestro temprano. B) Proestro medio. C) Proestro tardío. D) Estro. Obj. 40X.

Diestro

La citología vaginal de una perra que comienza el diestro está claramente demarcada de la que se observa en una perra al final del estro, ya que el porcentaje de células superficiales cae hasta casi el 20% y el resto de las células son, por lo general, intermedias. Esto marca un cambio abrupto y evidente en la citología. Suelen reaparecer los leucocitos en el frotis, pero esto no siempre ocurre. Algunas veces pueden observarse células denominadas metaestrales, que son células epiteliales vaginales con uno o dos neutrófilos superpuestos, pero también pueden ser observadas en otros momentos del ciclo en los que se encuentren neutrófilos, como el proestro

temprano, y células espumosas que son células epiteliales vaginales con citoplasma espumoso. Luego de los primeros días del diestro, la citología vaginal es similar a la del anestro, con leucocitos y eritrocitos en cantidades escasas y células epiteliales que corresponden a intermedias y parabasales (Figura 14.11) (Stornelli 2012, Stornelli 2020).

Figura 14.11. Diestro.

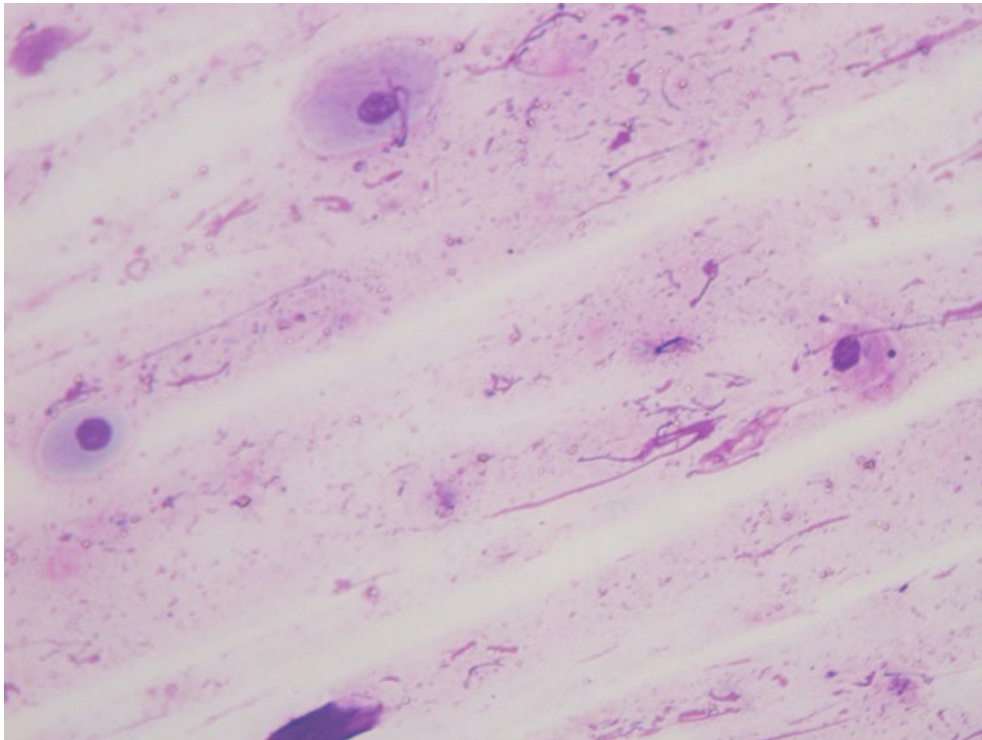


Células intermedias flecha roja, célula superficial flecha verde, neutrófilos flecha amarilla. Obj. 40X.

Anestro

En este estadio, en los extendidos vaginales predominan las células parabasales e intermedias pequeñas. Los neutrófilos pueden o no estar presentes y los eritrocitos suelen no observarse. Pueden o no encontrarse bacterias que forman parte de la flora normal y la apariencia del fondo del extendido puede ser clara o sucia (Figura 14.12) (Stornelli 2012).

Figura 14.12. Anestro.



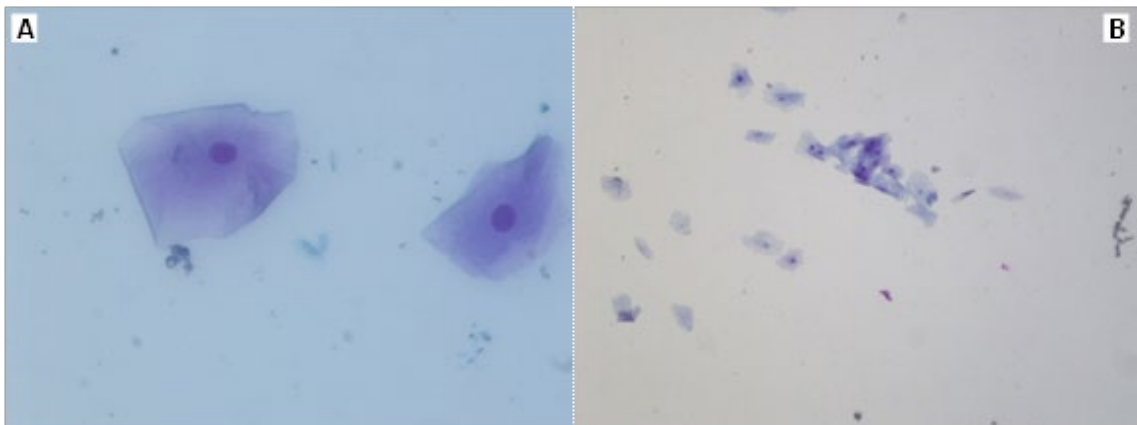
Anestro. Obj. 40X.

Citología vaginal en felinos

En la gata podemos observar imágenes citológicas características del celo (fase folicular, proestro y estro), del interestro y del anestro (Stornelli 2007).

Citología vaginal del estro: puede observarse el predominio de células superficiales (nucleadas con núcleo picnótico o células anucleadas) y fondo limpio (Figura 14.13) (Stornelli 2020 b).

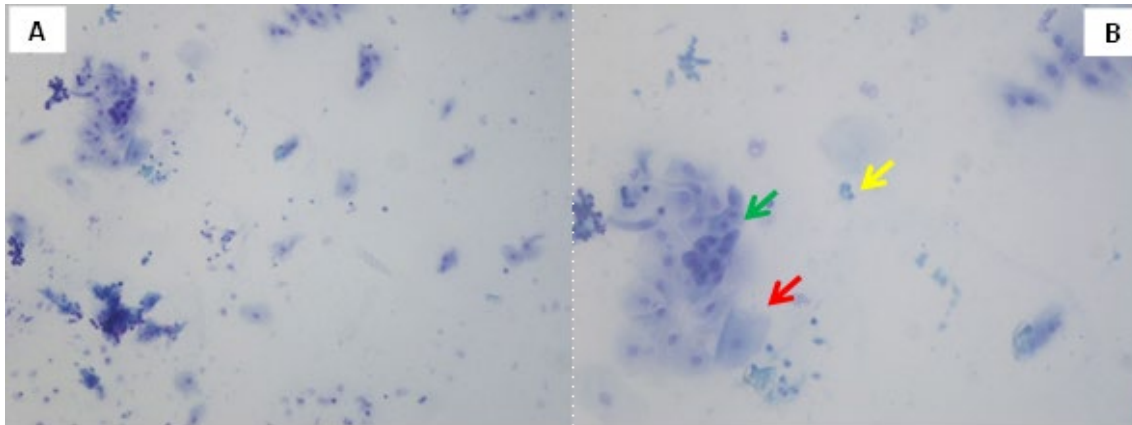
Figura 14.13. Citología vaginal del estro en felinos.



Estro. A) Obj 40X, B) Obj. 10X.

Citología vaginal de interestro: se observa un predominio de células intermedias grandes y células intermedias pequeñas, con presencia de algunas células superficiales y ocasionalmente alguna célula parabasal (Stornelli 2020 b) (Figura 14.14).

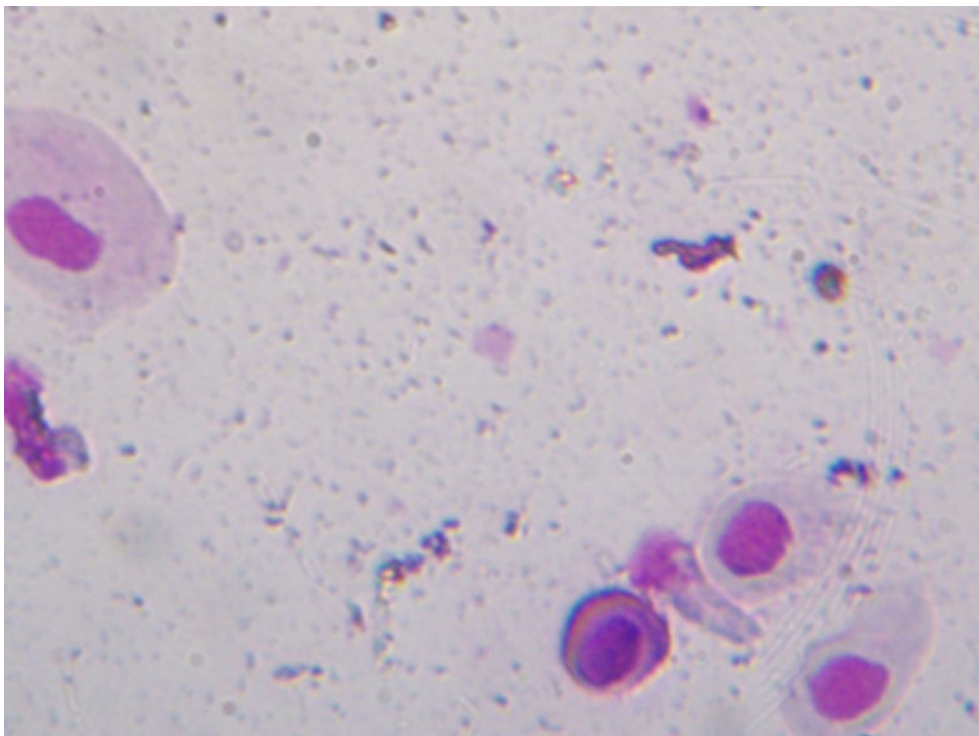
Figura 14.14. Citología vaginal del interestro en felinos.



A) Interestro. Obj. 100X. B) célula superficial (flecha roja), célula intermedia (flecha verde). Neutrófilo flecha amarilla. Obj. 40 X.

Citología vaginal de anestro: se observa escasa celularidad con predominio de células parabasales y escasas intermedias al inicio o al final del anestro, observándose solo parabasales en el anestro profundo (Figura 14.15) (Stornelli 2020 b).

Figura 14.15. Citología Vaginal del anestro en felinos.



Anestro. Obj. 40 X.

Citología vaginal: relación con diversos procesos fisiológicos y patológicos

La evaluación de la citología vaginal nos brinda información de gran utilidad en el examen reproductivo. Nos permite el estudio de procesos fisiológicos, como por ejemplo estimación del momento del ciclo estral, así como aproximación diagnóstica y evolución de procesos patológicos, como por ejemplo quistes foliculares.

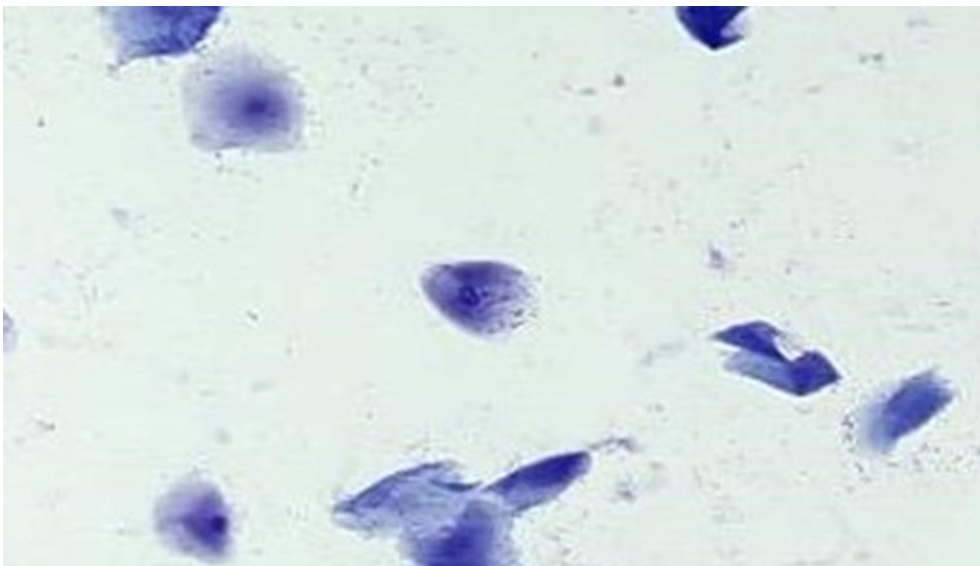
Si bien este método es muy útil, sencillo y de bajo costo, deben también considerarse sus limitaciones y así evitar errores en el diagnóstico; por ejemplo, la observación aislada de una muestra de citología vaginal, muchas veces es insuficiente para arribar a un diagnóstico.

Estimación del momento del ciclo estral canino: como se mencionó anteriormente, la evaluación de la citología vaginal permite estimar el momento del ciclo estral en que se encuentra la hembra (Stornelli 2016 b).

Aproximación para la identificación del momento de servicio

La evaluación de la citología vaginal nos permite conocer cuándo la hembra se encuentra en proestro tardío o estro. Si se complementa el estudio con la realización de vaginoscopía y determinación de progesterona sérica, podremos aproximar el momento de mayor fertilidad y realizar el servicio (Figura 14.16).

Figura 14.16. *Proestro tardío-estro.*

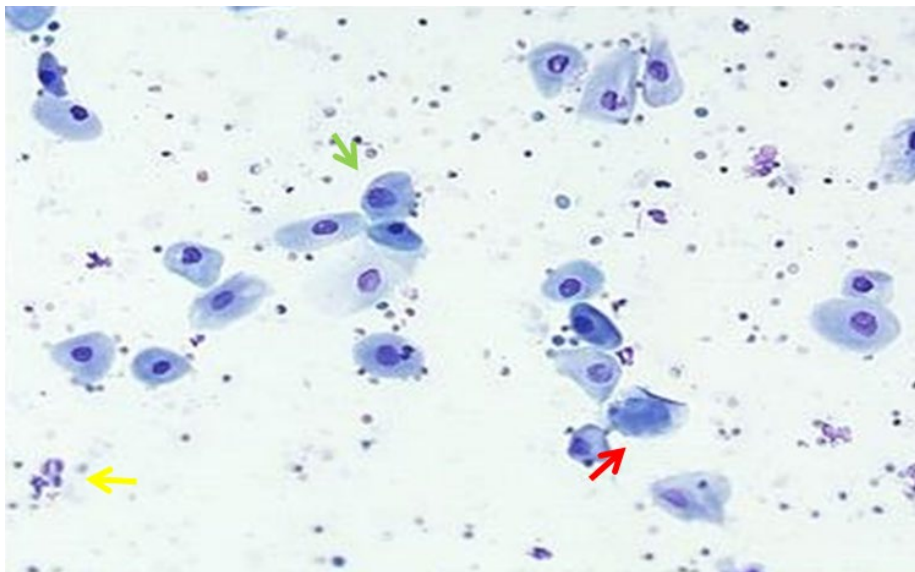


Proestro tardío-estro. Obj. 40X.

Identificación del primer día del diestro

El parto, en la perra, ocurrirá 56 a 58 días después del primer día del diestro identificado mediante citología vaginal. Es así que la realización y la observación de una serie de extendidos vaginales a partir de la detección del celo permiten reconocer el primer día del diestro y estimar la fecha probable de parto y elección del momento para realizar una cesárea programada. Al identificar el primer día del diestro, podremos realizar la estimación de la edad gestacional y realizar controles gestacionales y seleccionar adecuadamente los estudios complementarios indicados en cada etapa de la gestación, a fin de controlar la salud materna, la viabilidad fetal y la cantidad de fetos gestados. Esto permite la detección temprana de afecciones que pueden ocurrir durante la gestación, y de esta manera se incrementan las posibilidades de que ocurra la gestación sin complicaciones. Es así que, en diversas situaciones (suplementación gestacional con progesterona por hipoluteidismo, alta probabilidad de distocia, gestación de un feto único, entre otras) nos permite realizar una cesárea programada en el momento preciso, evitando el nacimiento de cachorros prematuros que tendrán menor viabilidad neonatal o la muerte de los mismos dentro del útero, por no ocurrir el nacimiento en el momento adecuado (Figura 14.17).

Figura 14.17. Diestro.



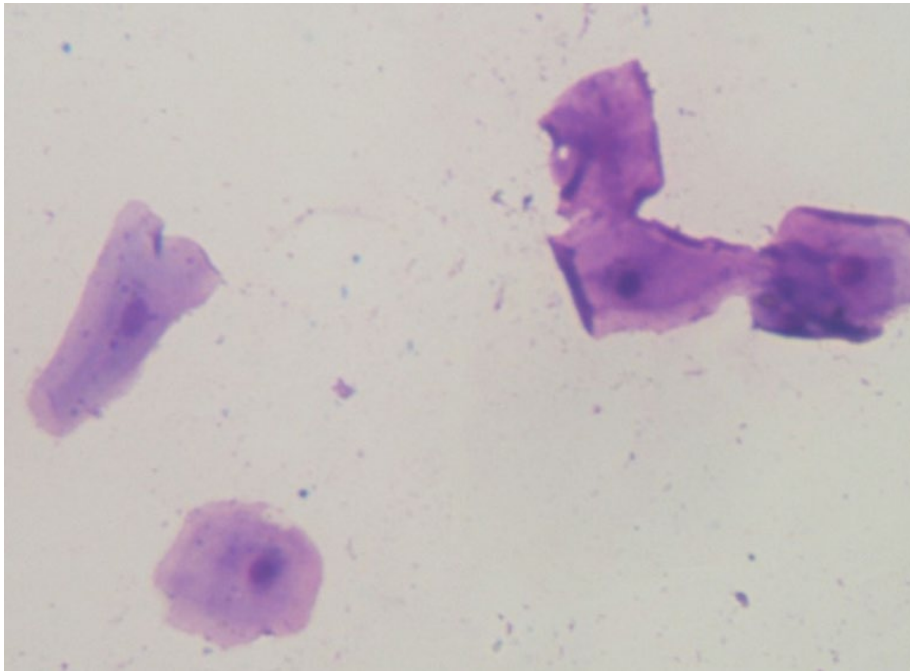
Célula superficial flecha roja, célula intermedia flecha verde. Neutrófilo flecha amarilla. Obj. 40X.

Reconocimiento de la acción estrogénica

Administración de estrógenos exógenos

La administración de estrógenos exógenos, con el fin de inhibir la implantación embrionaria, puede causar alteraciones funcionales que ponen en riesgo la vida del animal. Mediante el estudio de la citología vaginal puede arribarse al diagnóstico presuntivo de administración exógena de estrógenos al observar los cambios que ocasionan en el epitelio de la mucosa vaginal, observándose en el extendido predominio de células superficiales (Figura 14.18).

Figura 14.18. *Acción estrogénica.*

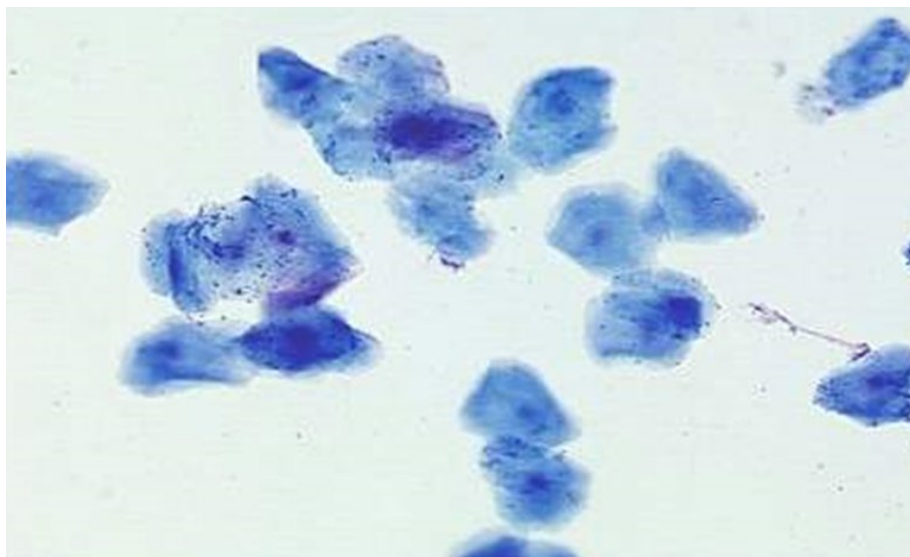


Células superficiales. Obj. 40X.

Reconocimiento de estro fragmentado

Las hembras jóvenes, durante su primer o segundo celo, pueden presentar ciclos que se repiten cada 3 a 6 semanas, en los cuales ocurre solo la fase folicular (estro fragmentado). Esto puede confundirse con intervalos interestrales acortados. Un seguimiento mediante citología vaginal, con predominio de células superficiales en los extendidos, permite aproximar el diagnóstico, arribándose al diagnóstico definitivo mediante la aplicación de otros métodos complementarios, como la determinación de progesterona sérica (Figura 14.19).

Figura 14.19. *Acción estrogénica, estro fragmentado.*



Estro fragmentado, células superficiales. Obj. 40X.

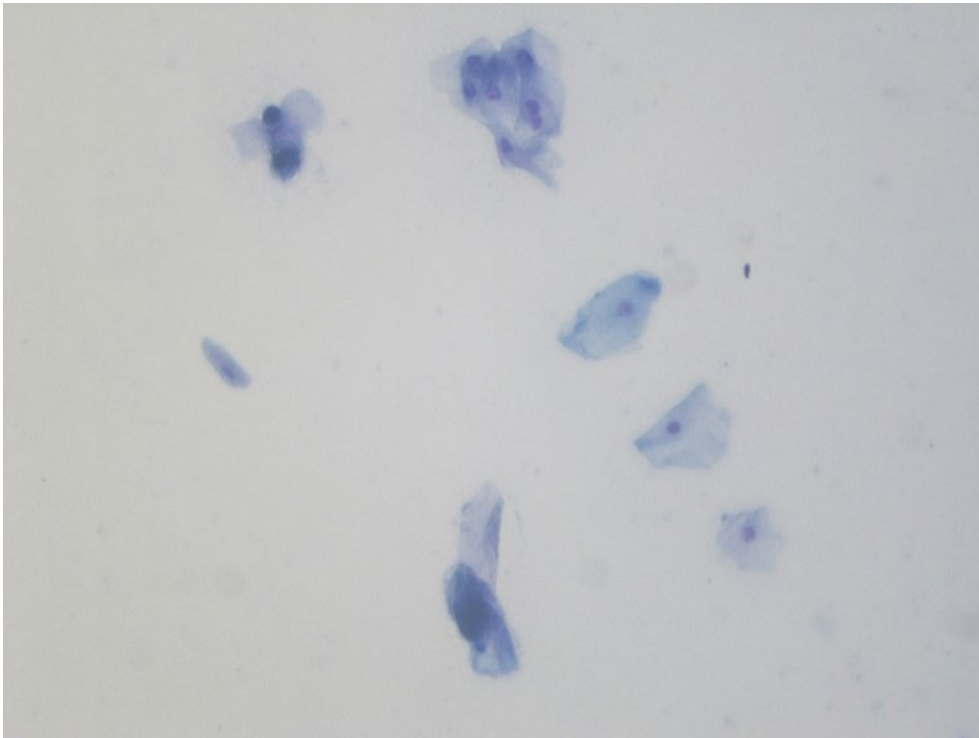
Diagnóstico de estro persistente

Los quistes foliculares ováricos son una de las causas de estro persistente. La citología vaginal permite identificar la acción estrogénica persistente, y será el primer paso en su aproximación diagnóstica. Otros métodos complementarios, como la ultrasonografía, permiten formular el diagnóstico definitivo (Figura 14.20).

Detección de celos silentes

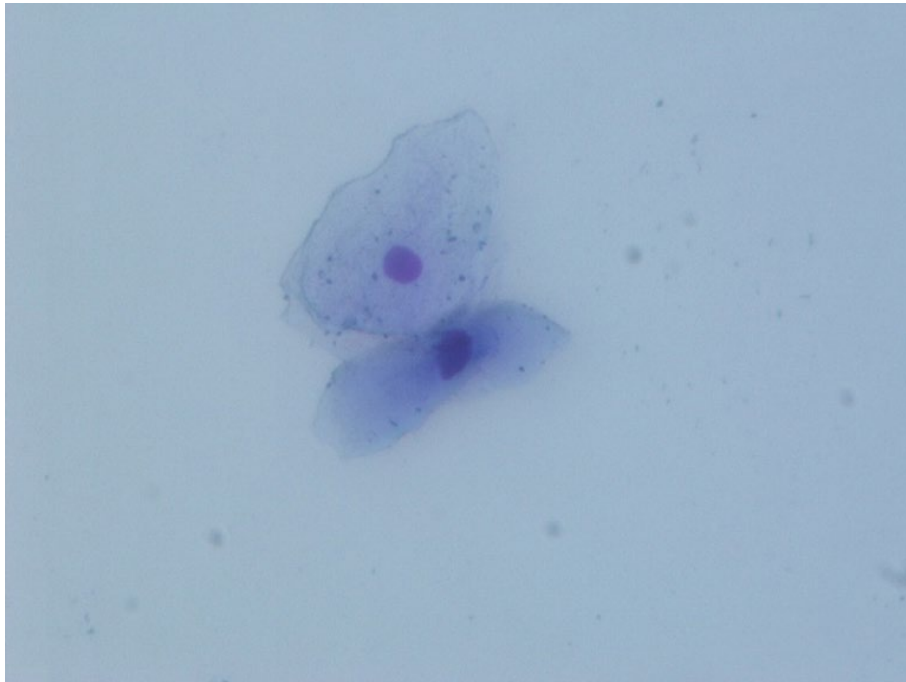
La imagen citológica vaginal característica de la acción estrogénica con predominio de células superficiales, permite identificar la ocurrencia de celos con escasas manifestaciones externas (Figura 14.21).

Figura 14.20. *Acción estrogénica, estro persistente.*



Acción estrogénica. Estro persistente, células superficiales. Obj. 40X.

Figura 14.21. *Acción estrogénica. Detección de celos silentes.*

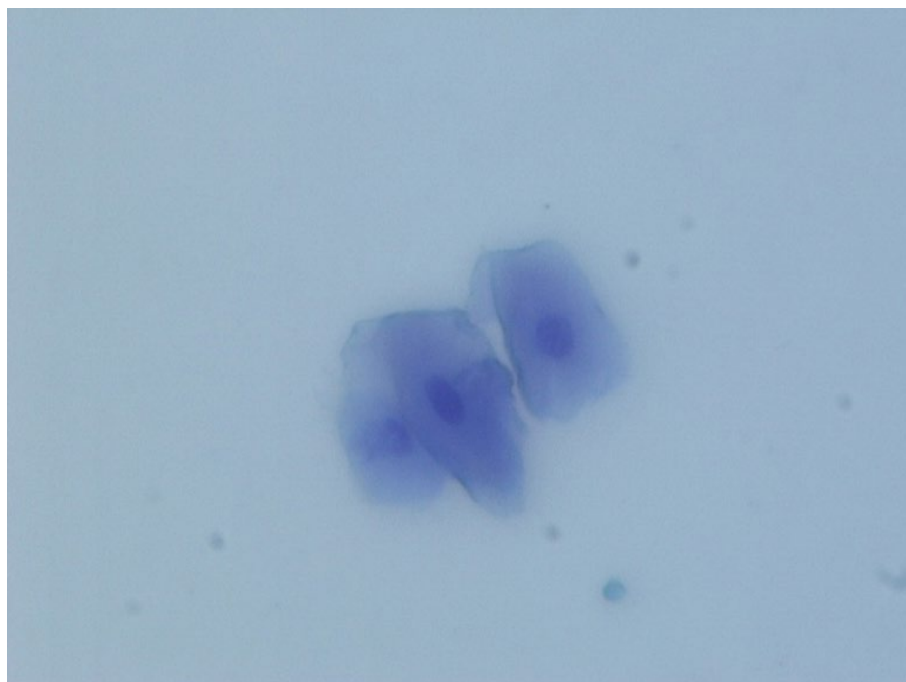


Acción estrogénica. Detección de celos silentes, células superficiales. Obj. 40X.

Aproximación diagnóstica en el síndrome de ovario remanente

En perras ovariectomizadas la aparición cíclica de descarga vulvar sanguinolenta, atracción de machos, con citología vaginal compatible con proestro es un indicador de presencia de tejido ovárico (Figura 14.22).

Figura 14.22. *Acción estrogénica. Síndrome de ovario remanente.*

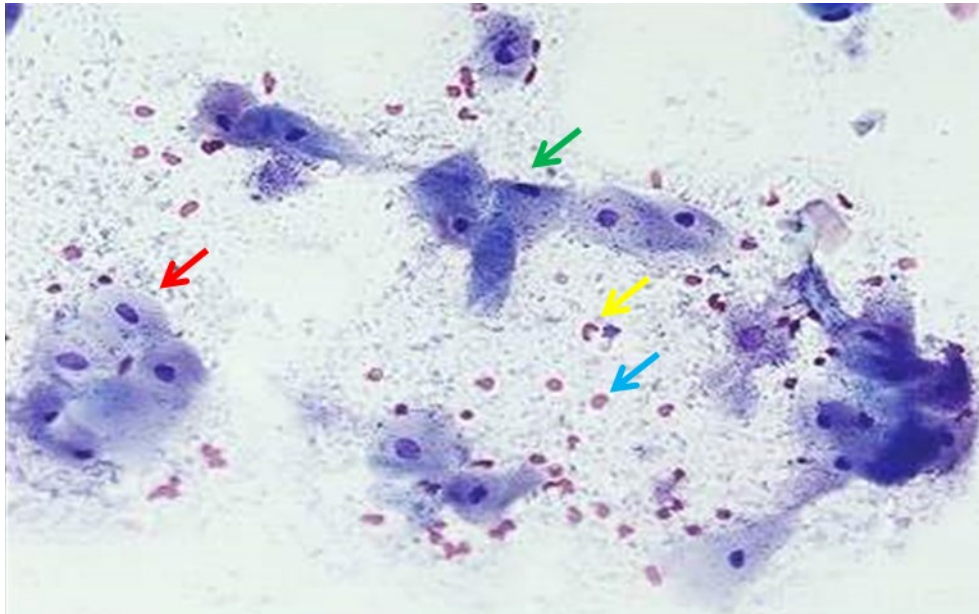


Acción estrogénica. Síndrome de ovario remanente, células superficiales. Obj. 40X.

Aproximación diagnóstica del edema vaginal del proestro (hiperplasia vaginal)

La hiperplasia vaginal ocurre debido a una respuesta exagerada de la mucosa vaginal a la acción estrogénica, lo cual causa el agrandamiento edematoso de la pared vaginal. Al realizar la observación de la citología vaginal, se observará una imagen compatible con proestro o estro (Figura 14.23).

Figura 14.23. Acción estrogénica. Edema vaginal del proestro.

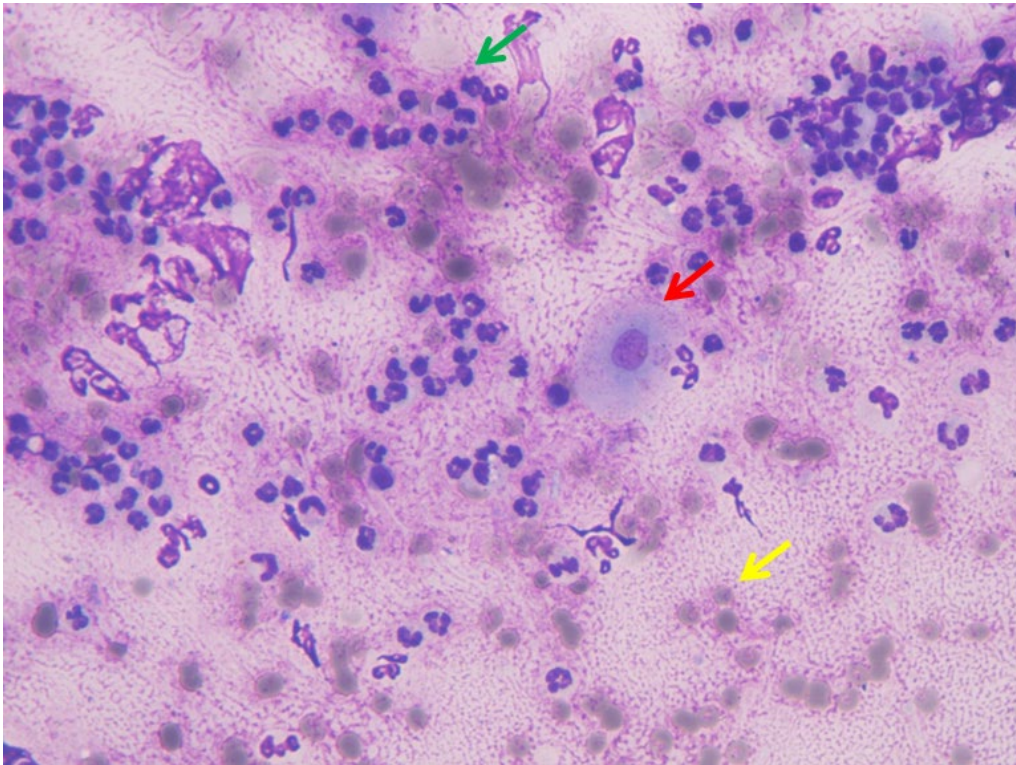


Acción estrogénica. Edema vaginal del proestro. Células superficiales (flecha verde), células intermedias (flecha roja), eritrocitos (flecha celeste), neutrófilo (flecha amarilla). Obj. 40X.

Aproximación al diagnóstico de vaginitis y endometritis infecciosa

Si bien mediante la utilización de la citología vaginal se puede identificar la presencia de un proceso inflamatorio en vagina o útero, no es posible conocer la localización del mismo y se requerirán otros métodos complementarios, como ecografía y realización de un hemograma para arribar al diagnóstico. En los extendidos vaginales, se observa una gran cantidad de células inflamatorias con predominio de neutrófilos, muchos de los cuales en vías de degeneración y con bacterias en su citoplasma. Es importante recordar que en el diestro temprano y el proestro temprano pueden observarse neutrófilos y bacterias, pero en menores cantidades, y la imagen citológica no persiste en el tiempo (Figura 14.24).

Figura 14.24. *Endometritis infecciosa.*

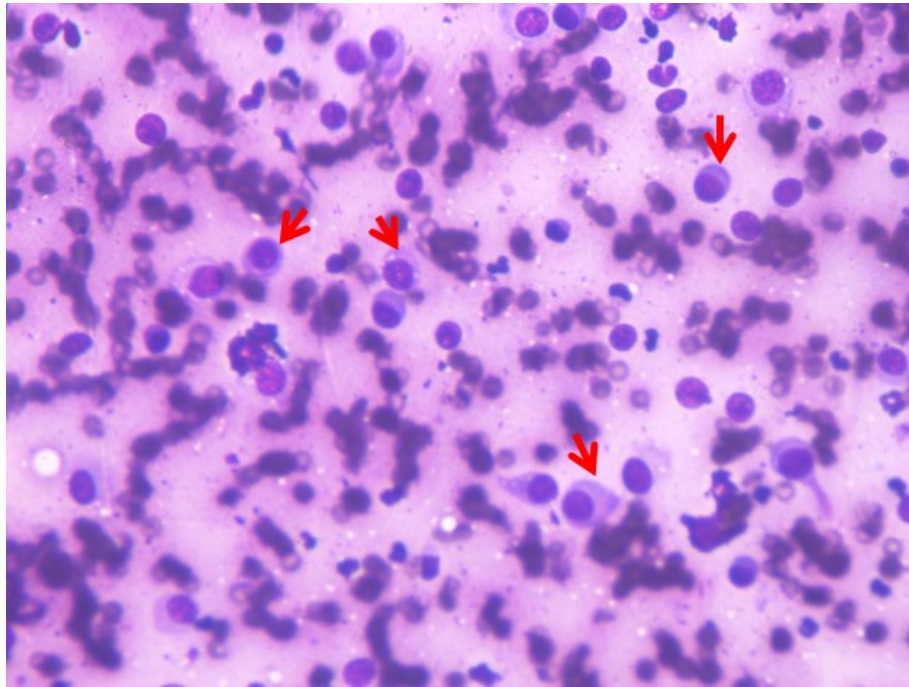


Célula intermedia (flecha roja), neutrófilo (flecha verde), eritrocito (flecha amarilla). Obj. 40X.

Aproximación diagnóstica de tumores

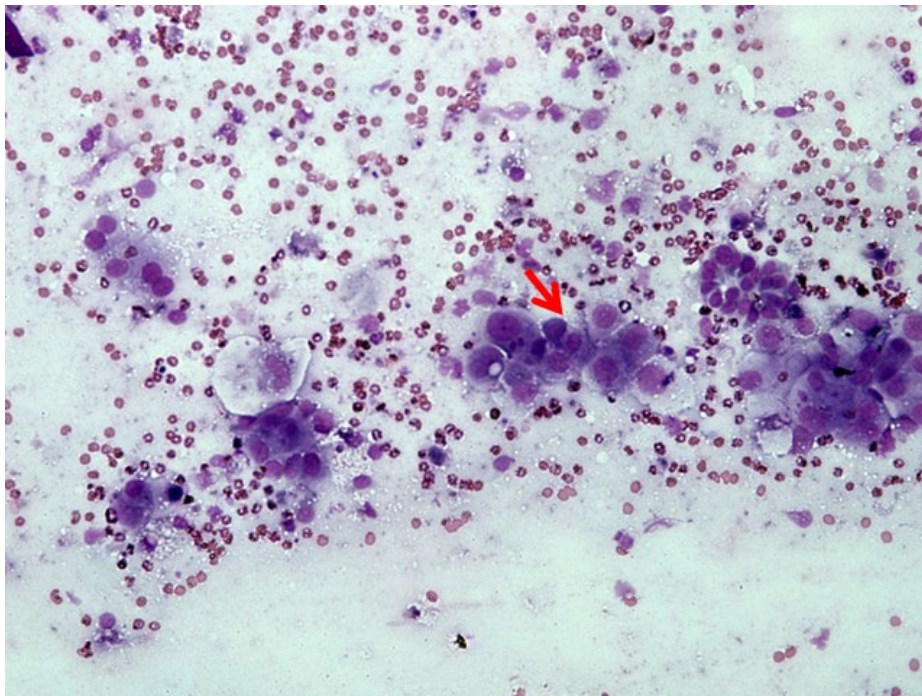
Mediante la observación de extendidos de citología vaginal se puede arribar al diagnóstico de tumores ubicados en el lumen vaginal de origen genital o producto de la invasión de neoplasias del aparato urinario, que exfolien células que aparecen en los extendidos. Los tumores que más frecuentemente son diagnosticados mediante citología vaginal son: tumor venéreo transmisible, carcinoma de células escamosas y carcinoma de células transicionales que invaden la vagina (Figura 14.25 y 14.26).

Figura 14.25. Tumor venéreo transmisible.



Células redondas (flecha roja). Obj. 40X.

Figura 14.26. Carcinoma



Células anaplásicas (flecha roja). Obj. 40X.

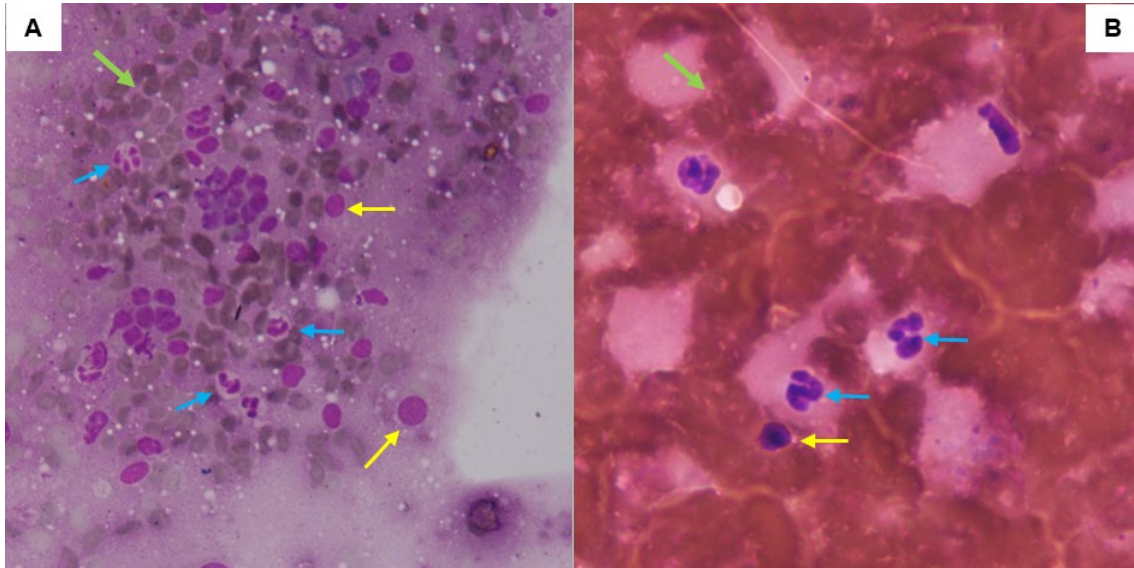
Aproximación diagnóstica de subinvolución de los sitios placentarios

En perras que presentan descarga vulvar de más de treinta días posparto y con presencia de células trofoblásticas en extendidos vaginales, se puede formular un diagnóstico definitivo de esta entidad.

Citología endometrial

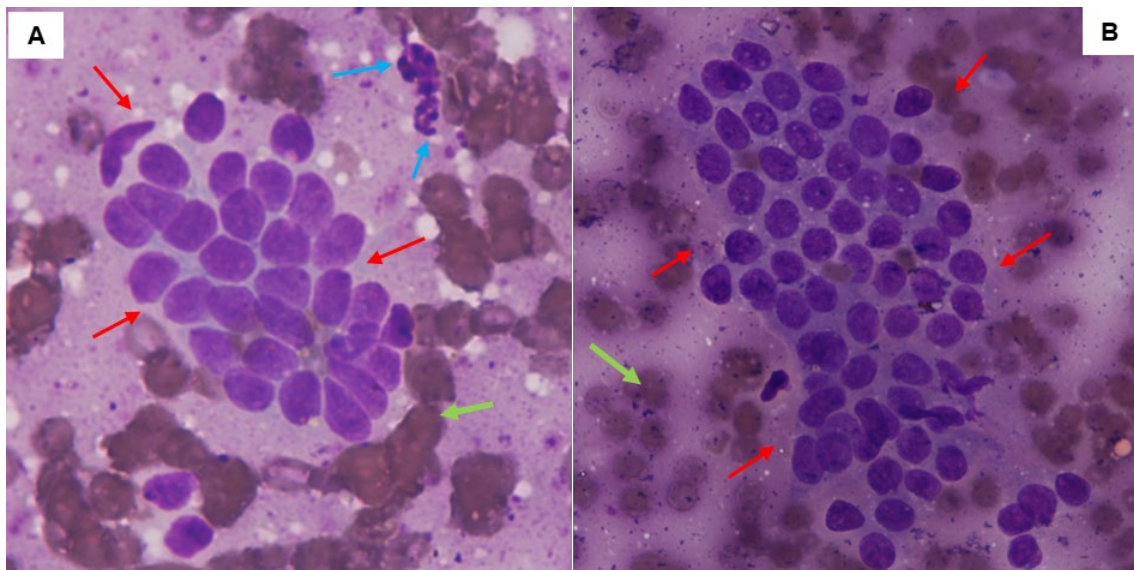
El estudio de las muestras de citología endometrial obtenidas mediante cateterismo transcervical, endoscopia, laparoscopia o laparotomía permitirá la aproximación diagnóstica del estado del endometrio. El estudio de la población de células endometriales y células inflamatorias permite evaluar si el endometrio muestra reacción inflamatoria superficial en caninos y felinos (Figura 14.27, 14.28, 14.29 y 14.30) (Coralli 2021, Praderio 2019, Praderio 2021).

Figura 14.27. Citología endometrial de canino.



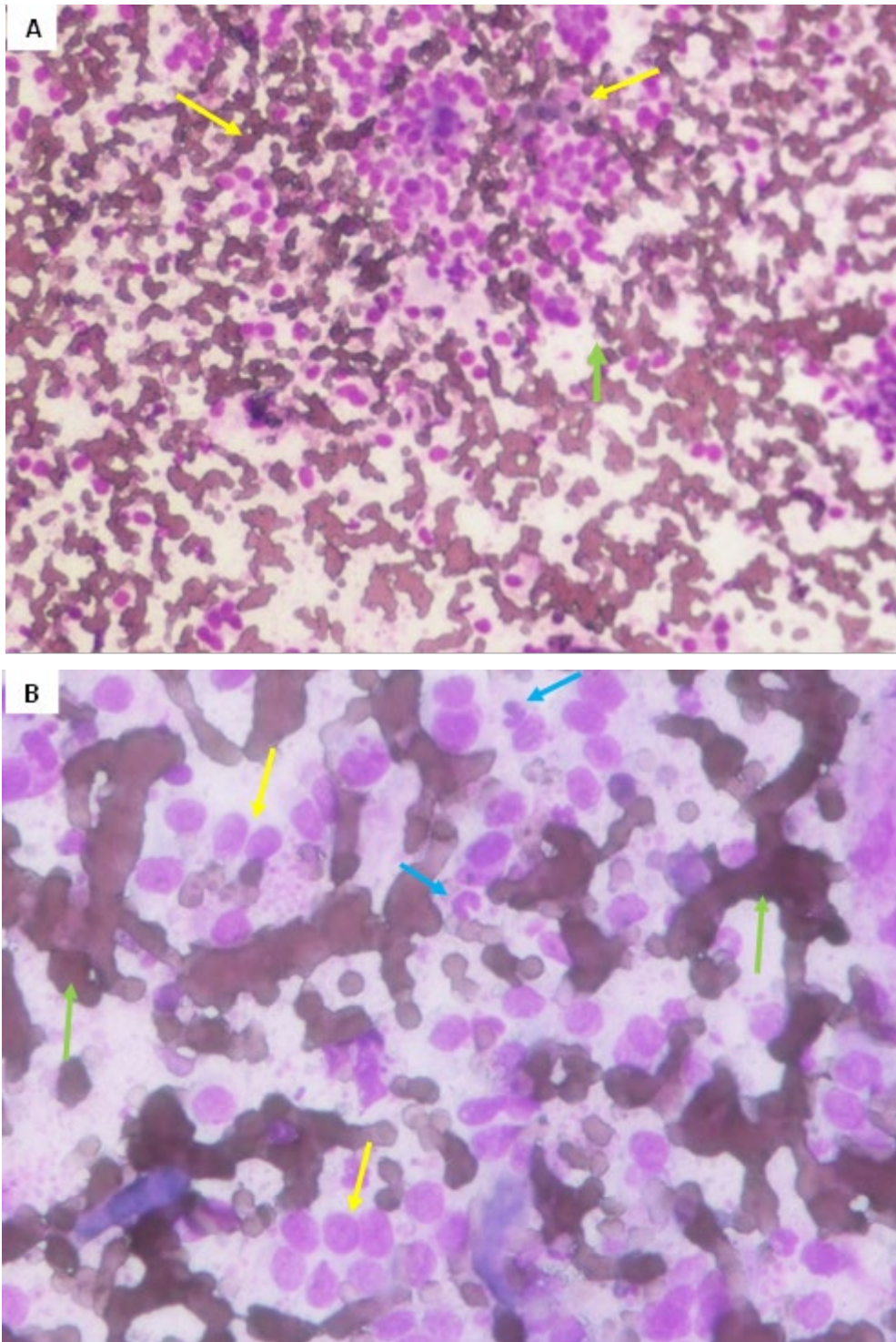
Células del epitelio endometrial (flechas amarillas), neutrófilos (flechas celestes) y glóbulos rojos (flechas verdes). **A)** Obj. 20X. **B)** Obj. 40X.

Figura 14.28. Citología endometrial de canino.



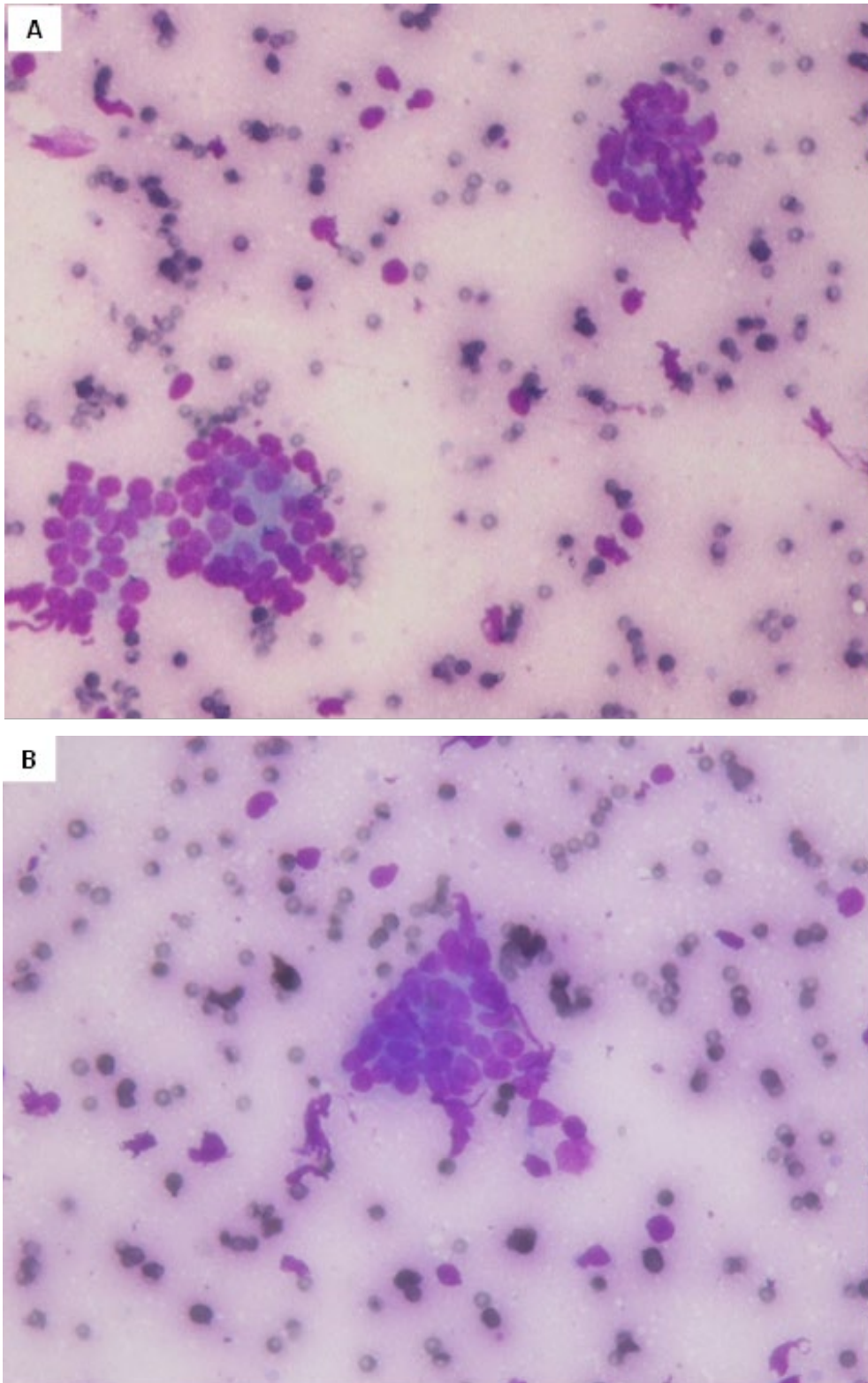
Células del epitelio endometrial descamadas en grupo (flechas rojas), neutrófilos (flechas celestes) y eritrocitos (flechas verdes). **A)** Obj. 60X, **B)** Obj. 40X.

Figura 14.29. *Citología endometrial de felino.*



Células del epitelio endometrial (flechas amarillas), neutrófilos (flechas celestes) y eritrocitos (flechas verdes). A) Obj. 20X, B) Obj. 40X.

Figura 14.30. *Citología endometrial de felino.*



Células del epitelio endometrial descamadas en grupo. Tinción 15 Biopur®. A y B) Obj. 40X.

Referencias

- Coralli FL, Praderio RG, García Mitacek MC, García MF, Stornelli MA. Estudio morfológico de endometrio en la gata doméstica (*Felis silvestris catus*): datos preliminares. Investigación Joven. Vol. 7 (2020) <https://revistas.unlp.edu.ar/InvJov/index>
- Concannon PW (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124, 200–210.
- Johnston SD, Kuztritz MVR, Olson P (2001). The Canine Estrous Cycle. En Johnston SD, Kuztritz MVR, Olson P *Canine and feline Theriogenology*. (262-264). Philadelphia: WB Saunders.
- Praderio RG, García Mitacek MC, Núñez Favre R, Rearte R, de la Sota RL, Stornelli MA. (2019). Uterine endometrial cytology, biopsy, bacteriology, and serum C-reactive protein in clinically healthy diestrus bitches. *Theriogenology*. 131:153-161.
- Praderio RG, García Mitacek MC, García MF, Coralli FL, Stornelli MA. (2021). Endometritis en perras clínicamente sanas: una nueva mirada sobre las afecciones uterinas. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*. 41(2):75-84.
- Stornelli MA. Particularidades fisiológicas de la reproducción en felinos. (71-76) *Rev Bras Reprod Anim*, 31(1) 2007.
- Stornelli MC, García Mitacek MC, Giménez F, Bonaura MC, Videla Dorna I; de la Sota RL, Stornelli MA. (2012). Pharmacokinetics of eCG and induction of fertile estrus in bitches using eCG followed by hCG. *Theriogenology*. 78:1056–1064.
- Stornelli MC, García Mitacek MC, Núñez Favre R, Praderio R, de la Sota RL, Stornelli MA. (2016) Prolactin, androstenedione and IGF1 serum concentrations during induced follicular growth by eCG administration in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*. 51:130-134.
- Stornelli MC, Praderio RG, García MF, Núñez Favre R, García Mitacek MC, Gómez Castro G, de la Sota RL, Stornelli MA. (2020). Serum progesterone concentration, volume, and apoptosis of corpora lutea in early, middle and late diestrus in the bitch. *Animal Reproduction Science*. 121 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106591>
- Stornelli MA, de la Sota RL. (2016) b. Manual de Reproducción de Animales de Producción y Compañía. Libros de Cátedra de la UNLP. EDULP. ISBN 978-950-34-1381-4. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/57873>
- Stornelli MA, de la Sota RL. (2017). Atlas de Reproducción de Animales de Producción y Compañía. EDULP. ISBN: 978-950-34-1532-0. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/62450>
- Stornelli, M.A. (2020) b. Fisiología Reproductiva en felinos. En Unguerfield *Reproducción de los Animales Domésticos*. Ed. Servet-Asís. ISBN 978-84-18339-26-4
- Stornelli, M.A. (2020) a. Fisiología Reproductiva en caninos. En Unguerfield *Reproducción de los Animales Domésticos*. Ed. Servet-Asís. ISBN 978-84-18339-26-4

CAPÍTULO 15

Estudio citológico del aparato genital masculino

María Alejandra Stornelli y María Cecilia Stornelli

Estudio citológico del semen

En el canino, el eyaculado se divide en tres fracciones: pre-espermática, espermática y prostática. Estas fracciones pueden colectarse y evaluarse por separado. Así, alteraciones observadas en la fracción espermática (segunda fracción) nos indicarán afecciones testiculares y alteraciones observadas en la fracción prostática (tercera fracción) nos indicarán afección prostática.

En el felino el eyaculado no posee diferentes fracciones. La eyaculación del paquete espermático y plasma seminal, se producen en forma completa en una sola fracción de segundos.

Estudio de la morfología espermática

El estudio de la cantidad y tipo de anomalías espermáticas es un indicador importante de la capacidad fecundante del semen en animales domésticos. En algunas especies, como en los caninos, el porcentaje mínimo de espermatozoides morfológicamente normales en un eyaculado de buena calidad se encuentra bien definido y no presenta variaciones estacionales. Sin embargo, en otras especies, como en los felinos, este parámetro aún no ha sido bien definido, probablemente debido a la gran variabilidad individual y estacional que presenta en la producción espermática y, por consiguiente, en la calidad del semen (García 2019, Stornelli 2017 b). Las anomalías espermáticas pueden originarse en el testículo (anomalías primarias) o en el epidídimo (anomalías secundarias). El estudio morfológico de los espermatozoides permite detectar anomalías de la cabeza, pieza intermedia y cola. Las morfoanomalías espermáticas primarias tienen su origen en la formación de la célula espermática durante el desarrollo de la hilera seminal. Las morfoanomalías secundarias, como la gota citoplasmática distal y las colas dobladas, se originan en el epidídimo y se relacionan con la maduración del espermatozoide en el mencionado órgano. La influencia de la estación del año sobre la producción espermática ha sido bien definida en el gato doméstico. Es así que el porcentaje y el tipo de morfoanomalía varía en relación a si el animal se

encuentra, o no, en la estación reproductiva (Axner 2000, Núñez-Favre 2012a, Núñez-Favre 2012 b, Núñez-Favre 2015).

Para el estudio de la morfología espermática se realiza un extendido de la segunda fracción del eyaculado en caninos y del eyaculado completo en felinos, se deja secar y luego se realiza la tinción. Puede utilizarse Tinción 15 o Wright y se observa en microscopio óptico con Obj. 100X. Pueden evidenciarse variadas alteraciones espermáticas primarias, por ejemplo, quistes o acrosomas prominentes, macro y microcefalia, cabezas globosas, piriformes, alargadas, dobles o triples, pieza intermedia doble, deshilachada o doblada, gota citoplasmática proximal, inserción excéntrica, cola doble o enrollada, defecto de Dag y falta de la porción terminal de la cola. También se observan morfoanomalías secundarias como gota citoplasmática distal y colas dobladas (Figura 15.1 y 15.2) (Bonaura 2013, Jurado 2009).

Estudio de la citología no espermática

Para realizar el estudio citológico de células diferentes a los espermatozoides que pueden encontrarse en una muestra de semen, se realizan extendidos y se colorean con Tinción 15, May Grünwald Giemsa o Wright.

La presencia de eritrocitos en los extendidos indica hemorragia, mientras que la presencia de leucocitos en elevada cantidad y macrófagos es indicativa de un proceso inflamatorio en cualquier parte de las vías urogenitales (Figura 15.3). En el semen normal pueden encontrarse una escasa cantidad de glóbulos rojos y blancos (2 a 5 por campo microscópico) y algunas células prostáticas (Stornelli 2007).

Estudio citológico de la fracción prostática canina

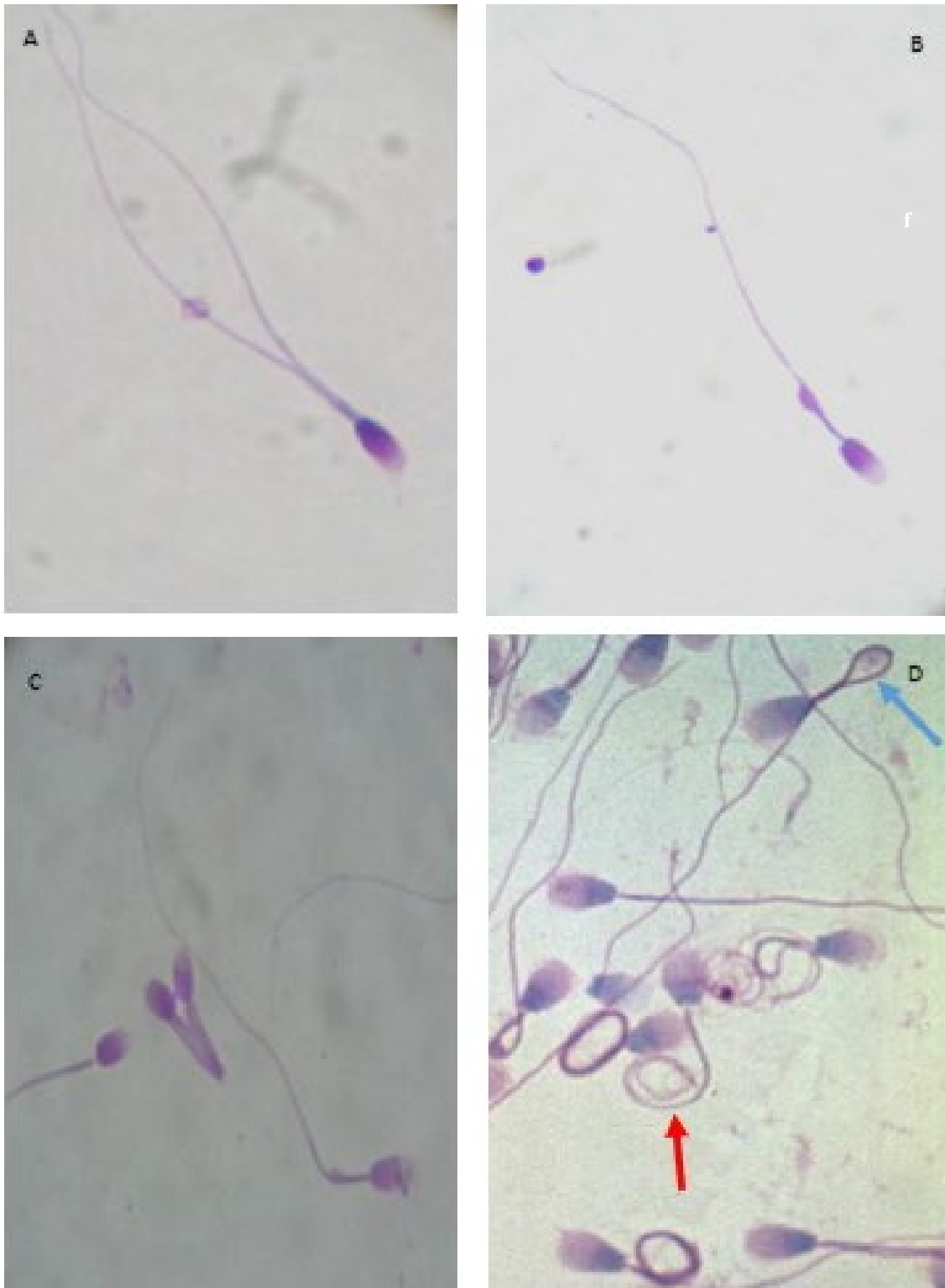
El examen citológico de la fracción prostática, tercera fracción del eyaculado, es de mucha utilidad en la evaluación de las enfermedades prostáticas (hiperplasia prostática benigna, metaplasia escamosa, neoplasias y prostatitis crónica). Una vez obtenida, se centrifuga y se recuperan las células prostáticas. Si el animal presenta una próstata normal, las células prostáticas pueden observarse aisladas o de a pares. En el caso de hiperplasia prostática benigna o metaplasia escamosa, se observan agrupaciones celulares formando empalizadas (Figura 15.4). En el caso de prostatitis bacteriana se observan abundantes neutrófilos junto con grupos de células prostáticas, debido a que la prostatitis bacteriana ocurre en próstatas con alteraciones previas (hiperplasia prostática benigna, metaplasia escamosa) que predisponen a la colonización bacteriana de la glándula (Stornelli 2016).

Las muestras para el estudio citológico de la próstata se pueden obtener mediante masaje prostático o eyaculación y colecta de la tercera fracción del eyaculado. En aquellos casos en los que no puede obtenerse secreción prostática mediante eyaculado o masaje prostático,

puede obtenerse una muestra mediante aspiración ecoguiada de la glándula, con aguja fina (AAF). La AAF y el masaje prostático están contraindicados en prostatitis bacterianas y abscesos prostáticos, ya que puede ocurrir peritonitis o bacteriemia asociadas al procedimiento (Zinkl 2008).

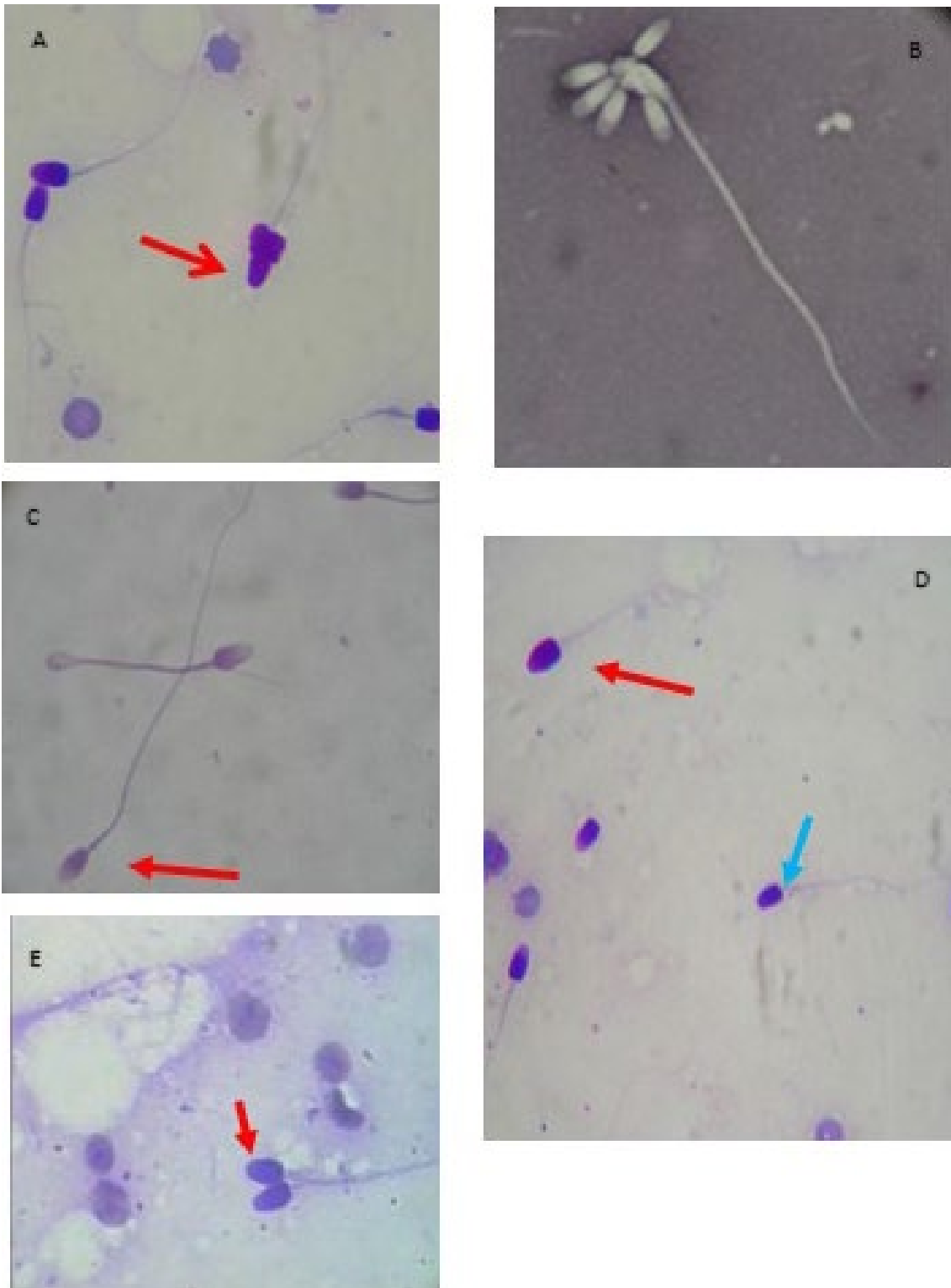
En el estudio citológico de una glándula normal, se observan células epiteliales cúbicas, agrupadas de a pares o aisladas, con citoplasma ligeramente acidófilo que posee material finamente granular y basófilo y a veces con presencia de vacuolas. El núcleo es redondo o ligeramente oval, tiende a ubicarse en la periferia y suele presentar un nucléolo pequeño. En la hiperplasia prostática benigna se puede apreciar un incremento en la cantidad de células, las cuales se agrupan en empalizadas conservando la morfología celular. Puede observarse aumento de la basofilia y vacuolización citoplasmática, núcleos redondos u ovalados, grandes y con patrón de cromatina finamente reticulada. La relación N:C puede estar incrementada y no suelen observarse nucléolos. En la prostatitis se observa abundante cantidad de neutrófilos, que pueden presentar cambios tóxicos como cariólisis y citoplasma espumoso. Pueden también observarse macrófagos en cantidad variable, con citoplasma espumoso, vacuolas, detritos y restos celulares fagocitados. Suelen observarse bacterias, tanto dentro como fuera de los macrófagos. Las células prostáticas se disponen en grupos, con incremento en la basofilia citoplasmática cuando la glándula presenta hiperplasia benigna. Cuando ocurre una acción estrogénica sobre el epitelio prostático, como en el caso del tumor de células de Sertoli, el mismo sufre una modificación, con el desarrollo de una metaplasia escamosa. Las células suelen ser grandes, en general agrupadas, y los núcleos pueden presentar picnosis y cariorrexis. En estos casos, el estudio citológico de la mucosa prepucial permite observar un predominio de células superficiales similar al extendido vaginal de una hembra en fase folicular (Figura 15.5). En las imágenes citológicas de muestras de neoplasias prostáticas, como por ejemplo el adenocarcinoma prostático, puede apreciarse celularidad de moderada a marcada, anisocariosis, núcleos grandes e irregulares y una alteración de la relación N:C. Los nucléolos suelen estar presentes y pueden ser únicos y pequeños o grandes e irregulares. Este tipo de neoplasias suele cursar con inflamación y necrosis, por lo que es frecuente observar neutrófilos y macrófagos (Figura 15.6) (Powe 2004, Stornelli 2017a, Zinkl 2008).

Figura 15.1. Anomalías espermáticas.



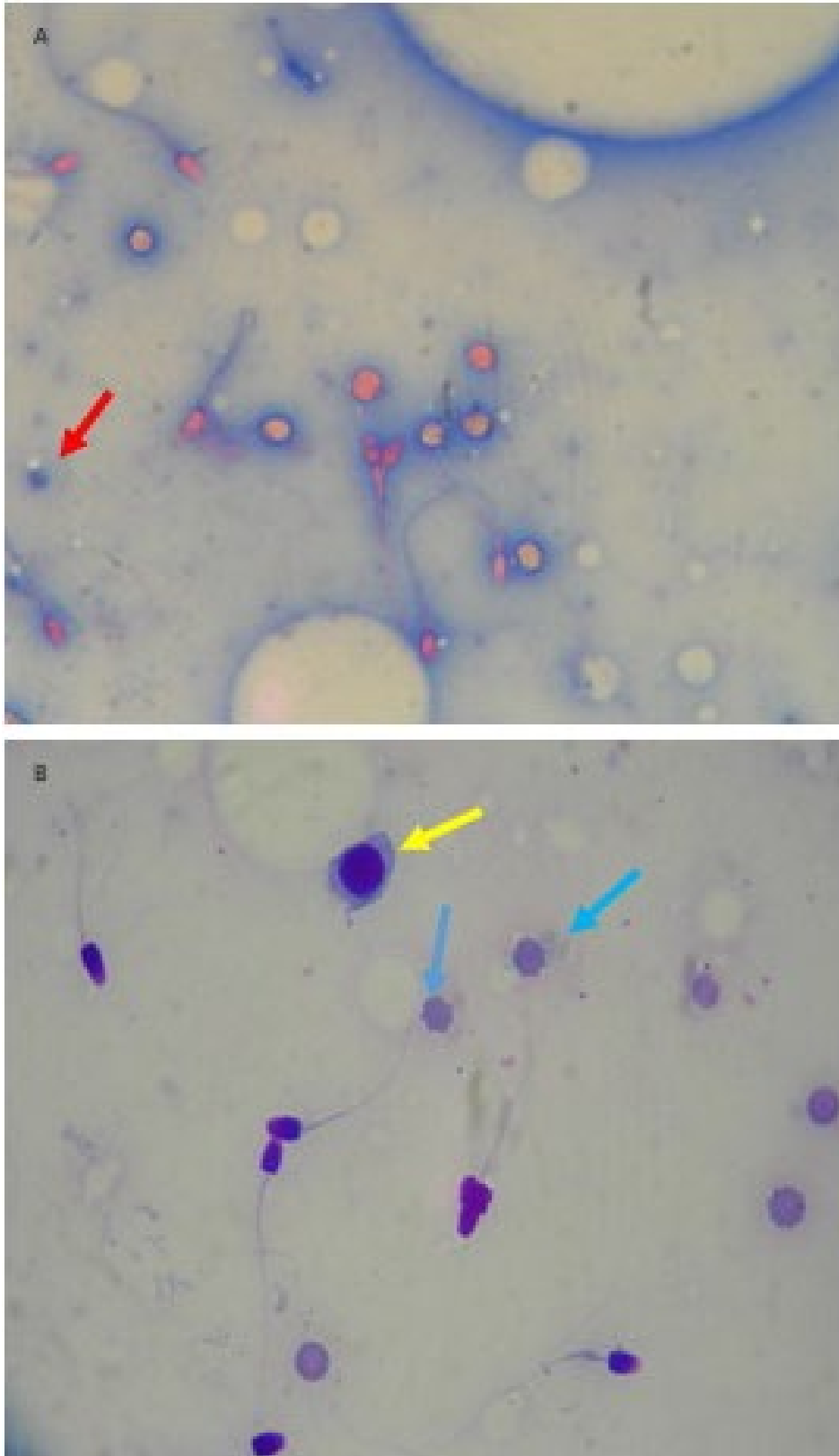
A) cola doble, B) gota citoplasmática distal, C) pieza intermedia doble y falta de porción terminal de la cola, D) cola enrollada (flecha roja), cola doblada (flecha celeste). Tinción 15 Biopur®. Obj. 100X.

Figura 15.2. Anomalías espermáticas.



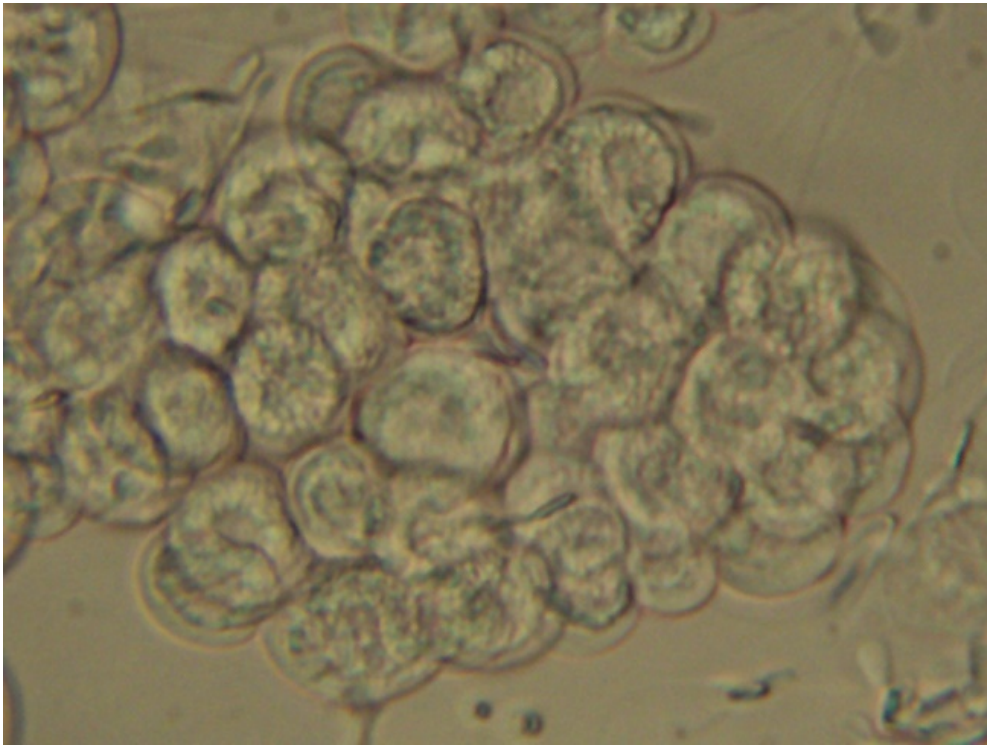
A) Cabeza inmadura (flecha roja), B) cabeza quintuple, C) inserción excéntrica de la cola (flecha roja), D) macrocefalia (flecha roja), cabeza normal (flecha celeste), E) cabeza doble (flecha roja). Tinción 15 Biopur®. Obj. 100X.

Figura 15.3. Células no espermáticas en el semen.



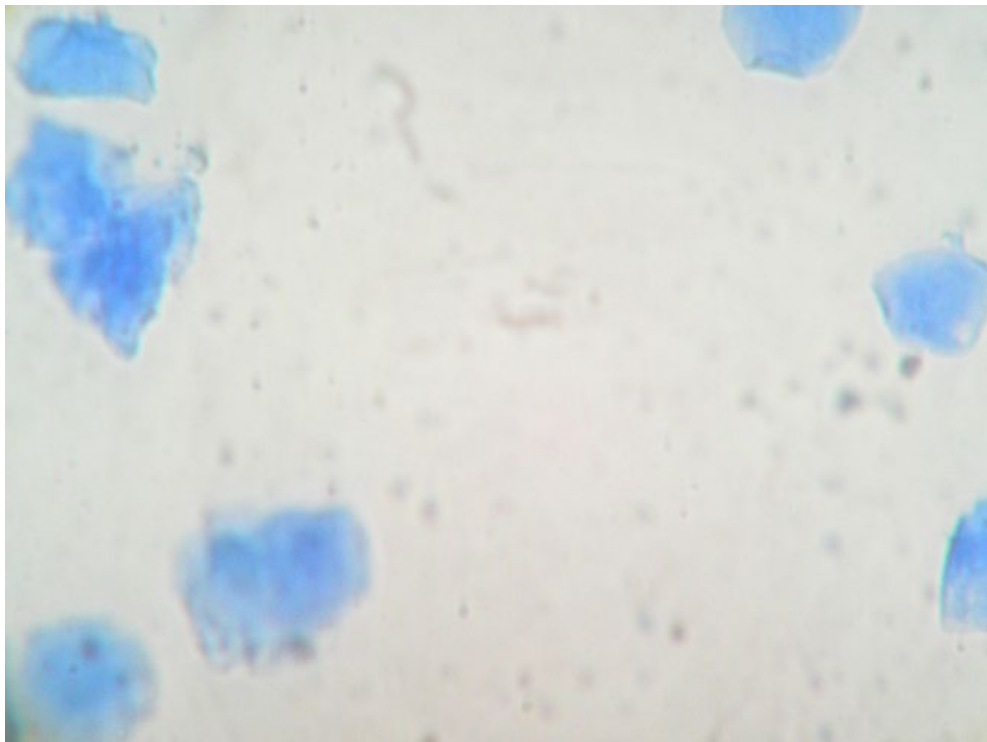
A) Neutrófilo (flecha roja). Tinción eosina nigrosina. Obj. 100X; B) eritrocito (flecha celeste), célula prostática (flecha amarilla). Tinción 15. Biopur®. Obj. 100X.

Figura 15.4. *Hiperplasia prostática.*



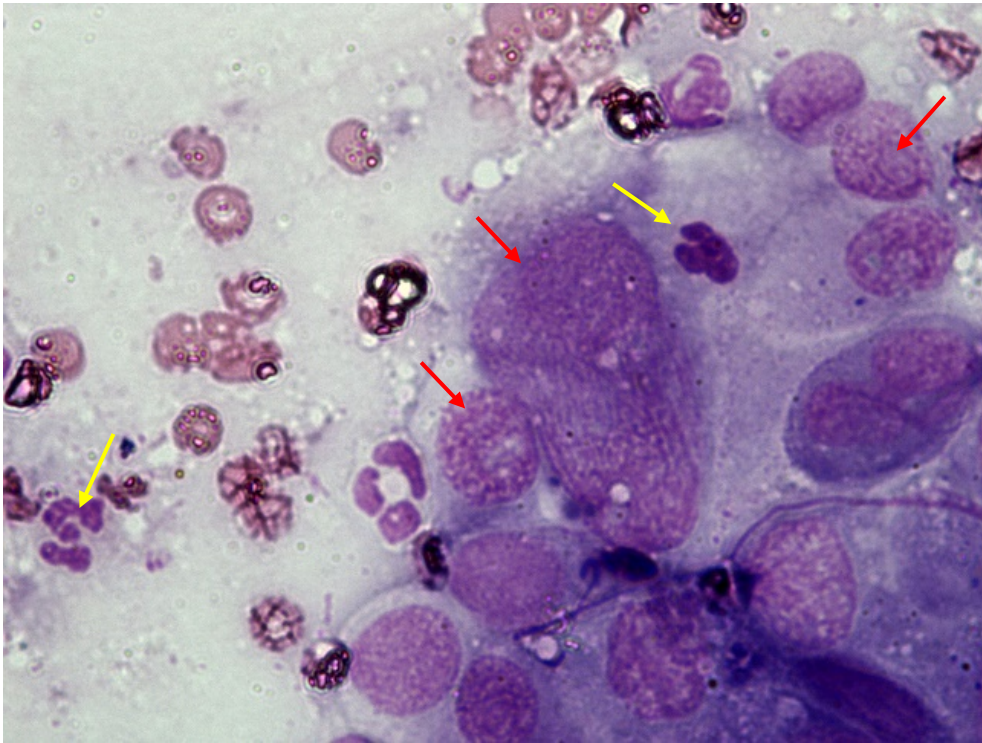
Células en empalizada. Observación en fresco, Obj. 100X.

Figura 15.5. *Extendido de mucosa prepucial de canino con tumor de células de Sertoli.*



Células superficiales. Tinción de azul de metileno. Obj. 40X.

Figura 15.6. Carcinoma prostático.



Macrocaricosis (flechas rojas), neutrófilos (flechas amarillas). Obj. 60X.

Referencias

- Axner E. (2000). "Sperm morphology and maturation in the domestic cat (*Felis silvestris catus*), with special reference to the morphology and function of the epididymis". *Acta Univ Agric Suec*, 60:9-39.
- Bonaura MC, Jurado S, Núñez Favre R, Praderio R; Tittarelli C, Stornelli MA. (2013). Alteraciones ultramicroscópicas observadas en espermatozoides felinos congelados-descongelados. *Revista de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata*. 15(2):25-33.
- García MF, Núñez Favre N, Stornelli MC, Rearte R, García Mitacek MC, de la Sota RL, Stornelli MA. (2019). Relationship between semen quality and seminal plasma cholesterol, triacylglycerols and proteins in the domestic cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. <https://doi.org/10.1177/1098612X19889072>
- Jurado SB, Stornelli MA, Peralta RV, Stornelli MC. (2009). Morfoanomalías espermáticas observadas en un canino sometido a un protocolo combinado de vincristina y doxorubicina. *Acta Microscópica*. 18(3):269-277.
- Núñez Favre R, Bonaura MC, Tittarelli CM, Mansilla-Hermann D, de la Sota RL, Stornelli MA. (2012)a. Effect of natural photoperiod on epididymal sperm quality and testosterone serum concentration in domestic cat (*Felis silvestris catus*). *Reprod Dom Anim*. 47(6):232-234.

- Núñez Favre R, Bonaura MC, Tittarelli CM, Stornelli MC, de la Sota RL, Stornelli MA. (2012)b. Effect of refractoriness to long photoperiod on sperm production and quality in tomcats. *Reprod Dom Anim.* 47(6):235-237.
- Núñez Favre R, Bonaura MC, García MF, Stornelli MC, de la Sota RL, Stornelli MA. (2015). Influencia del fotoperiodo natural sobre la morfología espermática en el gato doméstico (*Felis silvestris catus*). *Revista de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata.* 17(2): 10-15.
- Powe JR, Canfield PJ, Martin PA. (2004). Evaluation of the cytologic diagnosis of the canine prostatic disorders. *Veterinary Clinical Pathology.* 33(3):150-154.
- Stornelli MA. Evaluación de semen en el gato doméstico: análisis de rutina y metodologías especiales. (2007). *Rev Bras Reprod Anim.* 31(1):135-140.
- Stornelli MA, de la Sota RL. (2016). Manual de Reproducción de Animales de Producción y Compañía. Libros de Cátedra de la UNLP. EDULP. (2016). ISBN 978-950-34-1381-4. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/57873>
- Stornelli MA, de la Sota RL. (2017)a. Atlas de reproducción de animales de producción y compañía. EDULP. (2017). ISBN: 978-950-34-1532-0. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/62450>
- Stornelli MA. (2017)b. Semiología del aparato reproductor del macho. En Minovich F, Morales Torres C, *El gato no es un perro chico.* (309-322). Leon, México: Ed Rayo. ISBN: 978-987-42-5068-1
- Zinkl J G. (2008). The male reproductive tract: prostate, testes and semen. En Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, De Nicola EB *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat.* (369-377). St Louis, USA: Elsevier.

CAPÍTULO 16

Estudio citológico de los fluidos torácico, abdominal y pericárdico

Natalia Caggiano, Alicia del Amo y Mariana Machuca

Las superficies visceral y parietal de las cavidades peritoneal, pleural y pericárdica están revestidas por células mesoteliales y bañadas por una mínima cantidad de líquido seroso que es un ultrafiltrado de la sangre, transparente, incoloro a amarillento, bajo en proteínas y células (Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016; Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

La acumulación anormal de líquido en estos espacios se denomina **efusión**, y resulta de un desequilibrio entre la producción y la eliminación del mismo debido a cambios en la presión hidrostática y oncótica capilar, aumento de la permeabilidad capilar e integridad del drenaje linfático. Otros tipos de líquido, como sangre, quilo, bilis u orina, pueden filtrarse a una cavidad corporal (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020)

La recolección y evaluación del líquido de las cavidades corporales es un procedimiento rápido, económico y de bajo riesgo que permite obtener información útil para el diagnóstico diferencial y, a veces, definitivo, pronóstico y tratamiento de enfermedades que causan efusiones torácica, abdominal o pericárdica (Martínez de Merlo 2008, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021) .

Técnicas de toma de muestras

Líquido pleural: Las imágenes radiográficas y ecográficas evalúan la cantidad y la localización de la acumulación de líquido y guían la toracocentesis. La tranquilización y la anestesia local sólo son necesarias si el paciente no coopera o se debe drenar gran cantidad de líquido. El animal se mantiene inmovilizado de pie o en decúbito esternal. Se prepara quirúrgicamente la zona, se perfora el sexto, séptimo u octavo espacio intercostal en la unión costochondral, evitando los vasos intercostales ubicados en el borde caudal de cada costilla. Para los perros grandes, se requiere una aguja de calibre 18 a 20 y 1½ pulgada o un catéter de polietileno intravenoso 20 a 16 G de 1 a 2 pulgadas y en gatos y perros pequeños se prefiere una aguja de mariposa ("butterfly") de ⅞ de pulgada, calibre 19 o 21 (Figura 16.1). Se utilizan jeringas de 10, 20 ó 60 ml

(según el volumen a extraer) y tubos con EDTA (para recuento celular, determinación de proteínas totales y estudio citológico), sin anticoagulantes (para determinaciones bioquímicas) y estériles con medio de transporte (para cultivo bacterianos y fúngicos). Si el volumen a extraer es escaso, la jeringa se conecta al catéter, se aspira el líquido y se retira el catéter con la jeringa colocada; si es mayor, se debe conectar un tubo de extensión y una llave de tres vías al catéter (preferentemente) o a la aguja para prevenir la formación de neumotórax. Si sólo se obtiene un volumen mínimo, la citología es el análisis prioritario (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Líquido abdominal: Las radiografías antes de la abdominocentesis son útiles para excluir otras entidades en las que ésta está contraindicada como preñez, piómetra, megalovejiga y hemangiosarcoma esplénico. Debe vaciarse la vejiga previamente para evitar una cistocentesis accidental. Se prepara quirúrgicamente un área con el ombligo en el centro. La punción se realiza 2 cm por detrás o por delante de la cicatriz umbilical, sobre la línea media, con el animal en estación o en decúbito lateral. Se puede utilizar para penetrar el abdomen una aguja de calibre 20 a 22, de 1 a 1½ pulgadas; una aguja de calibre 16 a 20, de 1½ a 2 pulgadas, "*butterfly*" 19 G o un catéter (Figura 16.1). Se punza y, cuando comienza a salir el líquido, se conecta a una jeringa de 3 o 6 ml aspirando suavemente. Si no se obtiene líquido, se puede realizar una abdominocentesis de cuatro cuadrantes, tomando el ombligo como punto central, o realizar un lavado peritoneal. El mismo está contraindicado en casos de sospecha de neoplasia; se realiza con el animal en decúbito dorsal, se inserta un catéter de gran calibre, se instilan 20 ml/kg de peso corporal de solución salina estéril tibia, se hace rodar al animal hacia ambos lados y se masajea para distribuir el líquido por todo el abdomen y finalmente se extrae el líquido para su evaluación (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Líquido pericárdico: Es necesario sedar al paciente y realizar anestesia local para evitar la punción cardíaca o la laceración de la arteria coronaria o pulmonar. Se prepara quirúrgicamente el área desde la tercera hasta la octava costilla del lado derecho, en el tercio inferior a medio y se coloca el paciente en decúbito lateral izquierdo o esternal. La punción se realiza en el cuarto o quinto espacio intercostal en la unión costocondral, utilizando un catéter de calibre 16 a 18 con una válvula de tres vías a la que se conecta una jeringa de 30 o 60 ml. Debe mantenerse una presión negativa sobre la jeringa mientras se perfora la pared torácica, avanzando con cuidado la aguja en la dirección del corazón hasta encontrar resistencia (pericardio), se sentirá una liberación cuando la aguja ingrese al saco pericárdico y, a menudo, se verá un destello de sangre (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Valenciano 2020).

Figura 16.1. *Equipo básico para toracocentesis, abdominocentesis o pericardiocentesis.**Jeringa, llave de tres vías, aguja de mariposa (butterfly) y catéter endovenoso.*

Manejo de muestras

Las siguientes pruebas básicas deben realizarse con los líquidos de las efusiones y los datos que aportan y su interpretación son los mismos cualquiera sea la cavidad de la que procedan:

- evaluación de las características macroscópicas (volumen, color, turbidez, olor, viscosidad);
- recuento de células nucleadas, por métodos automáticos con contadores celulares electrónicos o por métodos manuales con un hemocitómetro; aunque también puede estimarse en la extensión citológica, siempre que el líquido no se haya centrifugado;
- concentración de proteínas totales por refractometría, espectrofotometría o análisis automatizado o, de forma semicuantitativa, con tiras reactivas de orina, empleando el sobrenadante obtenido después de centrifugar la muestra;
- eventualmente puede ser necesario realizar ciertas determinaciones bioquímicas (se harán comentarios específicos a lo largo del capítulo);
- estudio citológico se realiza para determinar un diagnóstico específico. Es un procedimiento de gran utilidad diagnóstica, ya que la colecta se considera un signo clínico y no una enfermedad primaria. Dicho estudio conlleva una extrema dificultad en cuanto a su interpretación citológica, ya que requiere un conocimiento exhaustivo de los diferentes tipos celulares y debido

a que existe una gran variabilidad dentro de una misma población y semejanza entre poblaciones celulares diferentes (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Los hallazgos durante el examen citológico pueden ser compatibles con diferentes procesos: 1) infecciosos (pleuritis, peritonitis, peritonitis infecciosa felina, piotórax), 2) inflamatorios (de órganos intracavitarios o de abscesos cerrados), 3) neoplásicos (linfomas, carcinomas, adenocarcinomas, hemangiosarcomas, mastocitomas, mesoteliomas), 4) autoinmunes (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoidea), 5) traumáticos (quilotórax, uroabdomen, hemo-peritoneo, ruptura de vías biliares), 6) hemodinámicos (insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión portal, hipoproteinemia).

La evaluación de la muestra debe realizarse lo antes posible para evitar la degeneración celular. Si las muestras se envían a un laboratorio de referencia, los tubos deben enviarse refrigerados junto con portaobjetos preparados en el momento de la recolección, para preservar la morfología celular y, de ser posible, frotis de sedimento (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Vap 2021).

Preparación y tinción de los extendidos

La forma de realizar las extensiones citológicas varía dependiendo del recuento celular o de las características macroscópicas del líquido obtenido. Para muestras muy celulares se realiza un frotis directo mediante una técnica de frotis sanguíneo; para muestras con baja celularidad se recomienda la técnica de concentración o frotis del sedimento de una muestra centrifugada utilizando una técnica de extensión de frotis de sangre o de aplastamiento. Las muestras se pueden centrifugar durante 5 minutos a 1500 rpm para obtener el sedimento con el cual se preparará un frotis. Si está disponible, puede utilizarse una citocentrífuga, en la cual se coloca una pequeña cantidad de líquido y se depositarán células directamente en un solo punto en monocapa en el portaobjetos, obteniéndose preparaciones de alta calidad que mejoran la visibilidad de las características citoplasmáticas, quedando la morfología celular perfectamente preservada. El frotis se seca al aire y luego se tiñe con una tinción hematológica, siendo las tinciones Romanowsky de base metanólica las ideales. Cuando sea necesario, pueden ser útiles otras tinciones como la tinción de Gram, Ziehl-Neelsen, rojo Sudán o azul de toluidina (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Evaluación microscópica

El estudio de las efusiones es uno de los principales retos del citólogo. Las evaluaciones microscópicas permiten la diferenciación de las poblaciones celulares, observando el tipo celular predominante y la distribución de otros tipos celulares y la identificación de neoplasias

malignas, la presencia o no de microorganismos y material extraño (Martínez de Merlo 2008, Thrall 2021, Vap 2021).

Es poco probable que se realice la aspiración del escaso líquido que existe en las cavidades en condiciones normales ya que, en ausencia de colecta, la toma de muestras no está indicada y, además, resulta muy dificultosa. En el líquido normal se observan células mesoteliales en reposo y un bajo número de macrófagos, linfocitos pequeños y neutrófilos. La apariencia de las células tumorales depende de las propiedades exfoliativas del tumor en cuestión. El mesotelio se volverá hiperplásico o reactivo fácilmente cuando hay un aumento de líquido en la cavidad corporal o inflamación. La extrema variabilidad de las células que normalmente forman parte de los líquidos orgánicos, fundamentalmente las mesoteliales, pueden confundir al citólogo, ya que muchos cambios reactivos pueden atribuirse erróneamente a cambios neoplásicos. Las células mesoteliales y epiteliales, pueden mostrar características semejantes, lo que dificulta su diferenciación (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Vap 2021).

Células y estructuras vistas en efusiones

Neutrófilos

Los neutrófilos están ausentes o presentes en cantidades muy bajas en el líquido normal, pero se encontrarán en mayor cantidad con acumulación crónica de líquido o con inflamación. Citológicamente, existen dos clases de neutrófilos: a) degenerados, cuyo citoplasma debe examinarse en busca de bacterias fagocitadas y está indicada la realización de un cultivo cuando se observan en los frotis y b) no degenerados, sugestivos de inflamación no séptica; sin embargo, las bacterias no productoras de toxinas potentes, como *Actinomyces* spp., agentes infecciosos, como *Ehrlichia* y *Toxoplasma* spp. y varios hongos pueden estar asociadas con este tipo de neutrófilos. La hipersegmentación y picnosis nuclear es un hallazgo común en los neutrófilos envejecidos, y éstos a menudo se ven fagocitados por macrófagos (citofagia). Las efusiones también pueden contener neutrófilos tóxicos, los que se desarrollan en la médula ósea en respuesta a la granulopoyesis acelerada causada por la inflamación (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

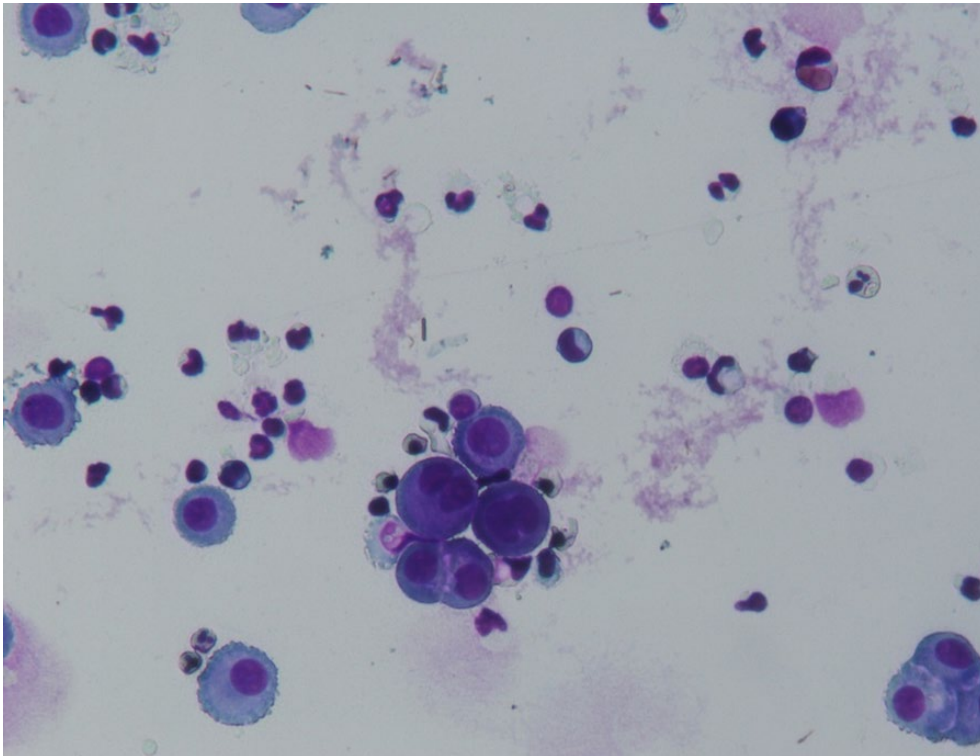
Células mesoteliales

Las células mesoteliales recubren las cavidades y se activan fácilmente proliferando y exfoliándose ante la inflamación o acumulación de líquido de cualquier tipo. Un mayor número de grupos de células mesoteliales es un hallazgo común en la reactividad. En las efusiones, están presentes en cantidades bajas o moderadas y se observan como células individuales o en grupos, de tamaños variables, similares a células epiteliales. Son grandes, redondas, de bordes celulares definidos, con cantidades moderadas de citoplasma azulado claro a oscuro y núcleo central, redondo a ligeramente ovoide, de cromatina en patrón reticular fino y uno o dos nucléolos redondos. Las células mesoteliales reactivas pueden tener un borde indentado (ribete) o corona

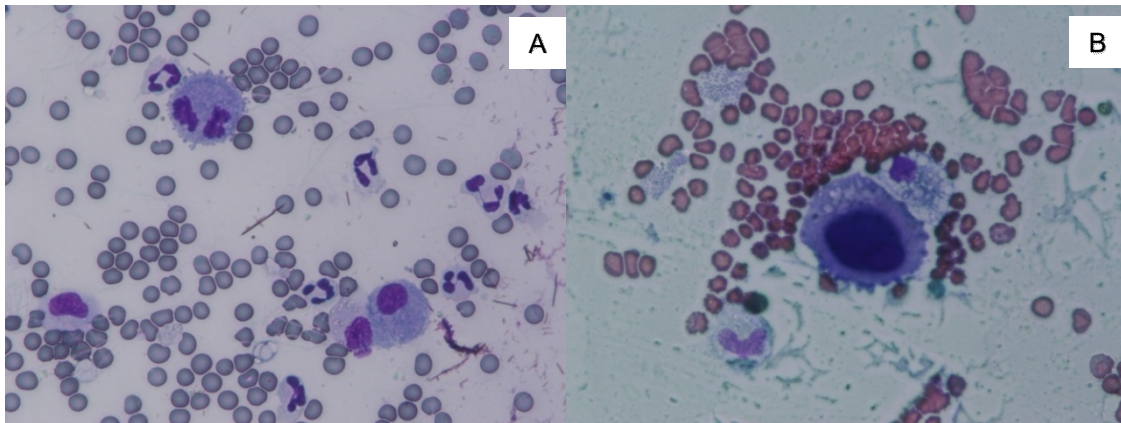
citoplasmática "con flecos", color rosa a rojo que constituye el glucocáliz de las células mesoteliales recientemente exfoliadas y ayuda a identificarlas y diferenciarlas de los macrófagos. Las figuras mitóticas y las células bi o multinucleadas se observan ocasionalmente, ya que son células en proliferación (Figura 16.2 y Figura 16.3). También puede presentar anisocitosis y anisocariosis con un patrón de cromatina uniforme y nucléolos prominentes lo que hace que puedan confundirse con células neoplásicas (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Pueden absorber lípidos del líquido de efusión adquiriendo características de células secretoras por lo que deben diferenciarse del adenocarcinoma o mesotelioma evaluando críticamente las poblaciones de células en busca de criterios de malignidad. Por lo general, desarrollan morfología epitelial o fibroblástica y actividad fagocítica con estimulación inflamatoria específica y exhiben características mesenquimales y epiteliales, expresando desmina, citoqueratina y filamentos intermedios de vimentina en la IHQ (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Valenciano 2020).

Figura 16.2. *Células mesoteliales reactivas.*



Algunas células presentan un borde indentado y otras son binucleadas. Color Fast Kit, Biopack®. Obj. 40X.

Figura 16.3. Células mesoteliales reactivas.

A) Célula mesotelial en mitosis. **B)** Célula mesotelial con corona citoplasmática "con flecos". Color Fast Kit, Biopack®. Obj. 60X.

Macrófagos

Los macrófagos de las efusiones se parecen a los tisulares. Son células grandes y redondas, con abundante citoplasma gris pálido a azul claro, a menudo vacuolado o conteniendo material fagocitado (células, microorganismos y/o desechos) y núcleo redondo, ovalado o en forma de frijol, con patrón de cromatina reticular condensada y pequeños nucléolos redondos (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Linfocitos

Los linfocitos se observan en pequeñas cantidades en las efusiones, observándose en mayor proporción en los gatos que en los perros. Son las células predominantes en las efusiones linfocíticas y quilosas y en las secundarias a una neoplasia linfoide. Los linfocitos pequeños y medianos tendrán un aspecto similar a los linfocitos periféricos, con citoplasma escaso azul, núcleo redondo que casi llena la célula, con patrón de cromatina denso, con una relación N:C uniformemente alta. Los linfocitos reactivos pueden verse en las efusiones inflamatorias y suelen ser más grandes, con citoplasma basófilo más abundante y un aclaramiento perinuclear que confiere un aspecto plasmocitoide (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Valenciano 2020).

Células plasmáticas

Las células plasmáticas son similares en tamaño a los linfocitos pequeños, con cromatina nuclear más densa, citoplasma azul abundante, generalmente con un área clara perinuclear (aparato de Golgi). Algunas están presentes en efusiones inflamatorias y su presencia se asocia a cronicidad (Martínez de Merlo 2008, Thrall 2021).

Otros elementos que pueden observarse en las efusiones

Los eosinófilos, mastocitos, eritrocitos, células neoplásicas y microorganismos pueden observarse en las efusiones y se tratarán en los apartados correspondientes.

Clasificación general de las fusiones

La clasificación de la efusión ayuda a dirigir el mecanismo general de acumulación de líquido y puede proporcionar una lista preliminar de diagnósticos diferenciales. Sin embargo, la efusión siempre debe interpretarse a la luz de la historia, los hallazgos del examen físico, los datos de laboratorio, la información de imágenes y, lo que es más importante, los resultados del examen citológico del líquido, que pueden ser diagnósticos o indicar un proceso (Valenciano 2020).

Tradicionalmente, las efusiones abdominal, torácica y pericárdica se han clasificado como trasudados, trasudados modificados o exudados, según el recuento total de células nucleadas y la concentración de proteínas totales. Las proteínas totales son las que permiten diferenciar entre trasudados y trasudados modificados y el recuento de células nucleadas discrimina mejor entre trasudados modificados y exudados, cuando el valor de proteínas totales no excluye una u otra categoría. Si bien estas categorías pueden ser útiles desde el punto de vista clínico, no siempre reflejan con precisión la fisiopatología subyacente de la efusión, muchas efusiones no entran en ninguna de las categorías o son variedades y/o combinaciones de procesos trasudativos y exudativos como las efusiones biliosa, hemorrágica, quilosa o neoplásica y deben interpretarse con otros hallazgos clínicos y diagnósticos. Además, el término "trasudado modificado" suele ser la categorización menos específica desde el punto de vista del diagnóstico, describiendo un trasudado con una mayor concentración de proteínas, y se torna inapropiado, ya que muchos fluidos así clasificados no se forman como trasudados con la modificación posterior de recuento total de células nucleadas y proteína sino que, a menudo, son el resultado de la trasudación crónica de líquido o el paso a través de una membrana por lo que el término "trasudado rico en proteínas", describe más apropiadamente los mecanismos fisiopatológicos (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Valenciano 2020).

Un enfoque alternativo es categorizar los fluidos como trasudados o exudados usando un corte de recuento total de células nucleadas de 3000 células/ μ l. Los trasudados se pueden clasificar en trasudados bajos en proteínas (<2.5 g/dl) o trasudados ricos en proteínas (>2.5 g/dl) (Burton 2018, Skeldon 2014, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Trasudados bajos en proteínas (trasudados puros)

Son generalmente translúcidos, transparentes e incoloros, con concentraciones de proteínas menores de 2,5 g/dl y, a menudo, contienen menos de 1500 células/ μ l. Se forman cuando se altera la dinámica de los fluidos, debido a disminución de la presión oncótica y/o aumento de la presión hidrostática o drenaje linfático alterado. Las células que se encuentran son principalmente células mesoteliales, macrófagos, linfocitos pequeños, y un número reducido de neutrófilos no degenerados. Las causas más frecuentes son: alteraciones hemodinámicas (hipertensión portal, compresión de la vena cava), hipoproteinemias o neoplasias no exfoliantes. La utilidad del

estudio citológico en estos procesos es limitada, de manera que, generalmente, se llega al diagnóstico mediante otros estudios complementarios. Las células mesoteliales están activadas, por lo que son muy pleomórficas y pueden presentar vacuolas, o ser binucleadas (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Trasudados ricos en proteínas (trasudados modificados)

Es un trasudado que cambia sus características físicas. Es el aspecto habitual de los trasudados modificados por la adición de algún tipo celular (eritrocitos, células neoplásicas). La acumulación de un trasudado en una cavidad corporal provoca un aumento de la presión, que irrita las células mesoteliales que responden proliferando y desprendiéndose en la efusión. Con el tiempo, las células mesoteliales mueren y liberan agentes quimiotácticos que atraen fagocitos para eliminar los restos celulares. Por tanto, los trasudados modificados son trasudados que han estado presentes el tiempo suficiente para provocar una reacción inflamatoria leve. Es un tipo de efusión relativamente no específico que se puede asociar a cualquier enfermedad o suceso que aumente la permeabilidad vascular y/o aumente la presión hidrostática del sistema vascular o linfático, pudiendo ser una etapa de transición en el desarrollo de un exudado. El color del líquido puede variar de incoloro, ambarino a blanco o rosado y puede ser ligera o moderadamente turbio. La concentración de proteínas es superior a 2,5 g/dl y la celularidad es baja, entre 1500 y 5000 células/ μ l. El principal constituyente celular es la célula mesotelial reactiva, pero también se encuentran neutrófilos no degenerados, macrófagos y pocos linfocitos pequeños. Las condiciones comunes asociadas con los trasudados ricos en proteínas son insuficiencia cardíaca congestiva derecha (observándose principalmente efusión abdominal en perros y pleural en gatos), hipertensión portal y neoplasias. Algunos procesos, como la peritonitis infecciosa felina y la ruptura de la vesícula biliar o vejiga, cursan inicialmente con trasudados ricos en proteínas que, de forma crónica, evolucionan hacia exudados no sépticos (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Exudados

Los exudados se forman en respuesta a mediadores inflamatorios que aumentan la permeabilidad vascular secundaria a la inflamación infecciosa o no infecciosa. La inflamación puede ser el proceso primario o puede ocurrir como consecuencia de una efusión preexistente. Macroscópicamente pueden ser de color variable (amarillo, anaranjado, pardo, blanquecino o rojizo), pero a menudo son ligera a francamente turbios, densos. Se caracterizan por contener proteínas superiores a 3,0 g/dl, y un recuento de células nucleadas superior a 5000/ μ l. Citológicamente se observan numerosas células inflamatorias, generalmente neutrófilos, pero también aumentan los

macrófagos y, hasta cierto punto, los linfocitos. Los exudados pueden ser infecciosos (sépticos) o no (no sépticos) (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Una efusión séptica puede resultar de la diseminación hematógena o linfática de una septicemia, de la extensión de una pleuroneumonía o del compromiso o perforación GI, o por la introducción de organismos a través de la penetración directa en la cavidad corporal (traumatismo, cuerpo extraño, cirugía y centesis previa). Los diagnósticos diferenciales para la inflamación no séptica incluyen peritonitis infecciosa felina (PIF), efusión biliosa, neoplásica, irritación postoperatoria, pancreatitis, cuerpo extraño gastrointestinal, hematoma esplénico con necrosis, linfangiectasia, uroabdomen y causas idiopáticas (Valenciano 2020, Vap 2021).

La mayoría de las efusiones inflamatorias son citológicamente inespecíficas en términos de diagnóstico etiológico. Sin embargo, la citomorfología proporciona pistas importantes sobre la causa subyacente. Se clasifican de acuerdo con las reglas estándar para la inflamación como neutrofílicas, mixtas o macrófagicas. En las efusiones neutrofílicas los neutrófilos (no degenerados o degenerados) comprenden más del 70% de las células e indican irritación activa grave. Las efusiones inflamatorias mixtas y macrófagicas reflejan una irritación menos grave y se encuentran en efusiones agudas que se resuelven o en asociación con agentes etiológicos menos irritantes que las bacterias (organismos fúngicos o cuerpos extraños). Las reacciones mixtas se caracterizan por una mezcla de neutrófilos y macrófagos. En la inflamación macrófagica, los macrófagos son las células predominantes observadas. Si predominan los eosinófilos, la inflamación es eosinofílica, y si predominan los linfocitos, la efusión se clasifica como efusión rica en linfocitos (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021).

Trastornos específicos que causan efusiones

Muchos líquidos de las cavidades corporales tienen características diagnósticas y citológicas que permiten realizar un diagnóstico más específico.

Efusión séptica

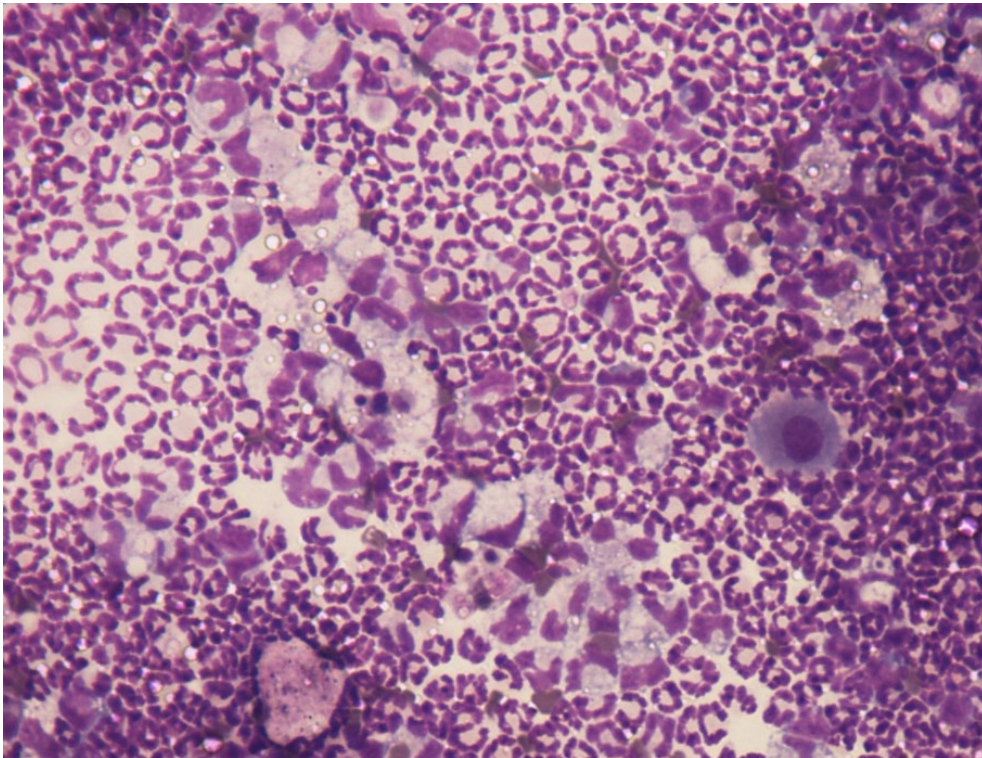
La peritonitis séptica más comúnmente se asocia con pérdida de contenido gástrico o intestinal debido a cuerpos extraños, isquemia, enfermedad inflamatoria gastrointestinal grave o neoplasia en perros y gatos, en tanto que el piotórax comúnmente se asocia con heridas penetrantes (Burton 2018, Schwendenwein 2017).

La fuente de peritonitis más común de infección es el tracto gastrointestinal; otras fuentes son la fuga del tracto urogenital, los abscesos intraabdominales y el sistema hepatobiliar. La cavidad oral y el tracto respiratorio superior son fuentes comunes de microorganismos en el piotórax. Efusiones pericárdicas se han asociado a infecciones bacterianas por *Bartonella* spp.

Los derrames sépticos a menudo son muy celulares (> 5000 células/ μl) y tienen una proteína total elevada ($> 3,5$ g/dl). Macroscópicamente se caracterizan por ser líquidos ligeros a francamente turbios, densos, de color variable que va del amarillo al anaranjado o pardo (Burton 2018, Thrall 2021, Vap 2021).

Los exudados sépticos por lo general, se relacionan con neutrófilos degenerativos. La presencia de microorganismos incluso en pequeño número es significativa, pueden encontrarse intracelulares fagocitados lo que confirma la sepsis, y también pueden estar extracelularmente. Si los neutrófilos están degenerados, el extendido debe examinarse cuidadosamente en busca de bacterias dentro de los fagocitos (principalmente neutrófilos), siendo esto más fácil en los bordes de los extendidos o en preparaciones citocentrifugadas (Figura 16.4). Si no se ven organismos, el líquido debe cultivarse. Se recomiendan cultivos microbianos y pruebas de susceptibilidad, o cultivo e identificación de hongos. Las bacterias son las causas más comunes de efusión séptica, en las tinciones de Romanowsky se tiñen de azul a rosado no reflejando sus propiedades de tinción de Gram. Si se observan múltiples tipos de bacterias, particularmente en grandes cantidades, se debe sospechar una ruptura gastrointestinal. Rara vez se han reportado agentes fúngicos (*Paecilomyces*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides* spp., *Histoplasma*, *Cryptococcus* spp. y *Candida*) que se tiñen de azul a incoloro con tinciones de tipo Romanowsky y parasitarios -protozoos- (*Neospora* spp., *Toxoplasma* spp., *Leishmania* spp.). Núcleos libres de células nucleadas rotas pueden observarse en efusiones sépticas, debido al aumento de la fragilidad celular. En los derrames sépticos puede observarse un aumento de precipitados y detritos celulares como sustancia de fondo (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Mediante tinción de Gram de las bacterias en la efusión puede determinarse si la población es homogénea (pleuritis o peritonitis primaria) o heterogénea (posiblemente secundaria a ruptura de víscera hueca). En ocasiones las bacterias no se observan en los preparados, pero la degeneración de los neutrófilos permite interpretar que hay o que hubo contacto de esas células con toxinas bacterianas. En exudados neutrofilicos, se justifica una investigación exhaustiva en busca de un agente infeccioso. Ocasionalmente, los macrófagos pueden contener neutrófilos cargados de bacterias fagocitados (leucofagia). Puede haber neutrófilos degenerados en casos de sepsis; sin embargo, la presencia de neutrófilos no degenerados o la ausencia de organismos citológicamente visibles, no excluye la posibilidad de una etiología infecciosa. Algunas bacterias (especialmente *Nocardia* y *Actinomyces* spp.) producen toxinas más débiles y los cambios degenerativos pueden no ser tan pronunciados. El uso previo o simultáneo de antibióticos puede reducir el número de bacterias. La detección de agentes infecciosos mediante evaluación microscópica puede ser difícil, por lo que las características citológicas como la presencia de neutrófilos degenerados deben complementarse con cultivo bacteriano. Se recomienda la realización de un cultivo para cualquier exudado neutrofilico, aunque los neutrófilos no presenten cambios degenerativos (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Valenciano 2020).

Figura 16.4. Efusión séptica.

Neutrófilos degenerados, macrófagos vacuolados y una célula mesotelial reactiva. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X

Peritonitis infecciosa felina

Las efusiones asociadas a la peritonitis infecciosa felina (PIF) son exudados ricos en proteínas (a menudo superiores a 4 g/dl) con baja celularidad (2000 a 6000/ μ l), siendo la única efusión inflamatoria en la que el líquido tiene estas características. Macroscópicamente el líquido es color amarillo pálido a intenso (Figura 16.5), bastante viscoso, y puede contener hebras de fibrina o formar coágulos parciales en estación o espuma cuando se agita, debido al alto contenido de proteína (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

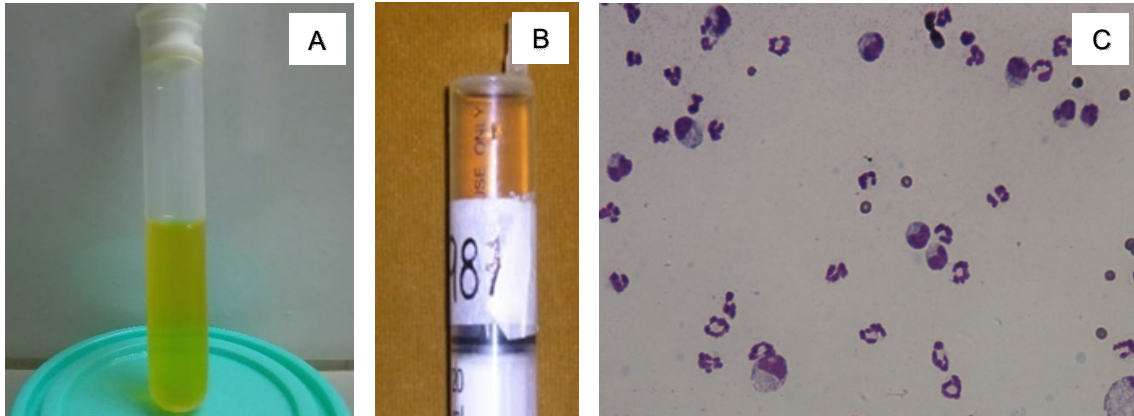
Citológicamente, suelen tener un número bajo de células entre las que predominan los neutrófilos no degenerados, observándose también macrófagos activados y raramente, linfocitos de tamaño intermedio (Figura 16.5 C y Figura 16.6). Es característico observar un precipitado eosinofílico granular de fondo debido a la gran concentración proteica de la efusión; ocasionalmente puede observarse “semilunas” proteicas basófilas que constituyen un artefacto de secado que sugiere un alto contenido proteico (Figura 16.6). Aunque estos hallazgos no son diagnósticos de PIF, cuando se correlacionan con los hallazgos clínicos, se puede realizar un diagnóstico presuntivo de PIF (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

La prueba de Rivalta evalúa subjetivamente el alto contenido de proteínas en las efusiones de PIF. La electroforesis de la efusión o del suero revela una gammapatía policlonal (Thompson 2016, Vap 2021).

Una prueba citológica más específica para PIF implica inmunofluorescencia del coronavirus felino intracelular (FCoV) dentro de los macrófagos de la efusión. Un resultado positivo es diagnóstico, pero un resultado negativo no elimina a la PIF de los diagnósticos diferenciales (Thompson 2016, Vap 2021).

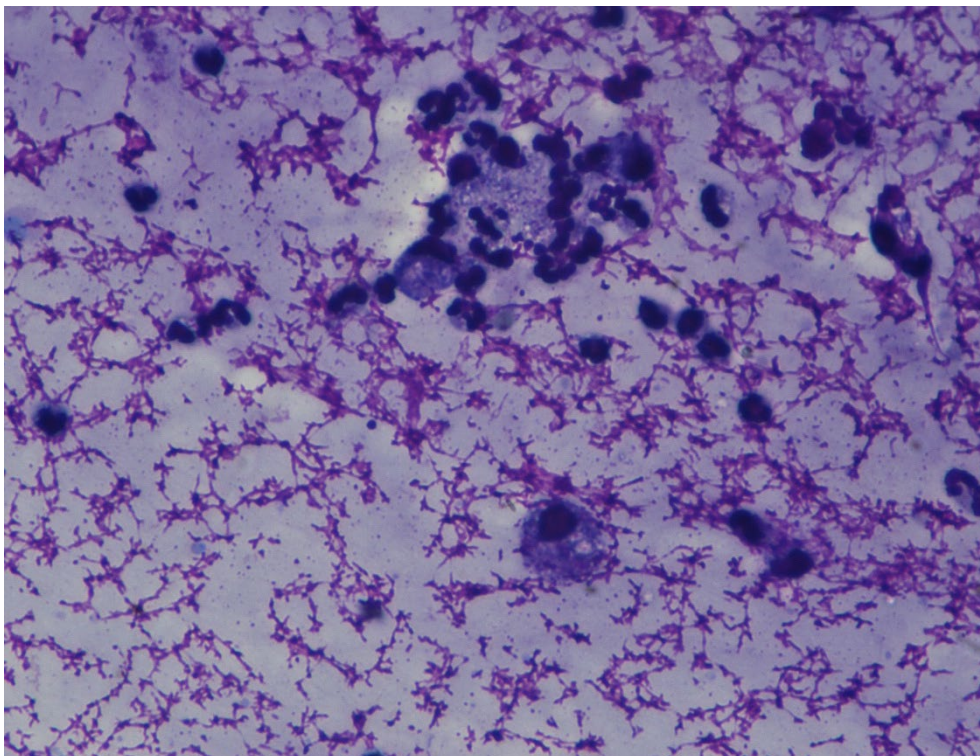
La histopatología sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico, a menudo en combinación con la inmunohistoquímica para demostrar el antígeno viral dentro de las lesiones (Skeldon 2014, Thrall 2021, Vap 2021, Valenciano 2020).

Figura 16.5. Peritonitis infecciosa felina.



Aspecto macroscópico, líquido amarillo claro (A) a amarillo intenso (B). (C) Neutrófilos no degenerados y macrófagos activados. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Figura 16.6. Peritonitis infecciosa felina.



Material citocentrifugado. Neutrófilos no degenerados, macrófagos activados y material rosado granular de fondo. Color Fast Kit, Biopack®. Obj. 60X.

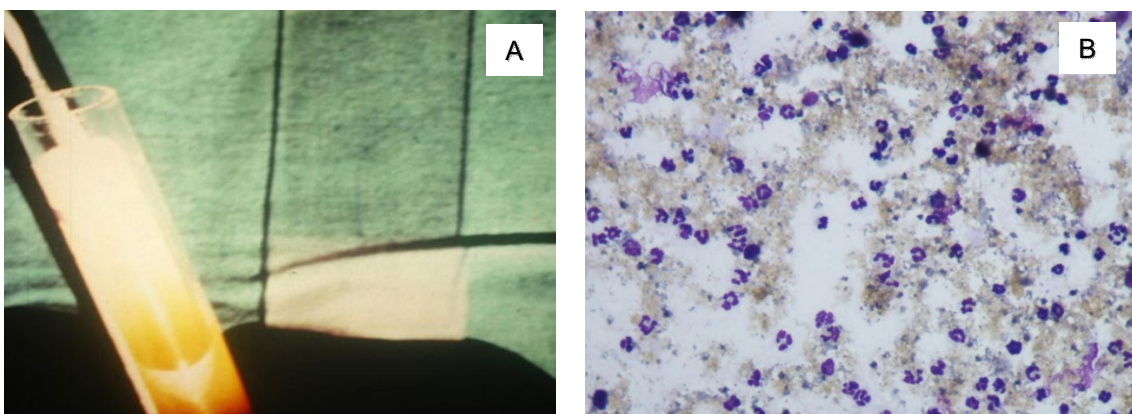
Peritonitis biliosa

La peritonitis biliosa ocurre cuando la bilis se filtra hacia la cavidad abdominal debido a la ruptura de la vesícula biliar o del conducto colédoco. La bilis es una sustancia muy irritante y provoca una respuesta inflamatoria exudativa. Macroscópicamente, el líquido puede ser marrón, verde a amarillo anaranjado y puede ser ligera a francamente turbio (Figura 16.7 A.). A medida que la respuesta se vuelve cada vez más celular, esta coloración puede enmascarse. Constituye un trasudado modificado o exudado no séptico, con concentraciones de proteínas superior 2,5 g/dl y recuento de células totales que oscila entre 9000 y 78000/ μ L (Burton, 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Valenciano 2020, Vap 2021).

Citológicamente, la característica más llamativa es la presencia de pigmento biliar que se ve como pigmento verde azulado o amarillo verdoso en el citoplasma de neutrófilos, células mesoteliales reactivas y macrófagos, o bien material granular, amorfo ocre libre (Figura 16.7 B y Figura 16.8). En reacciones más crónicas pueden observarse cristales dorados romboidales a amorfos de pigmento biliar en el citoplasma de los macrófagos. La respuesta inflamatoria a la bilis se compone de neutrófilos no degenerados con un número variable de macrófagos y células mesoteliales reactivas dependiendo de la duración del proceso (Figura 16.7 B). Muy raramente la ruptura del colédoco puede ocurrir en su desembocadura en el duodeno, de manera que la perforación de su pared permite el pasaje de contenido intestinal al peritoneo desarrollándose una peritonitis séptica con degeneración de los neutrófilos (Burton 2018, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

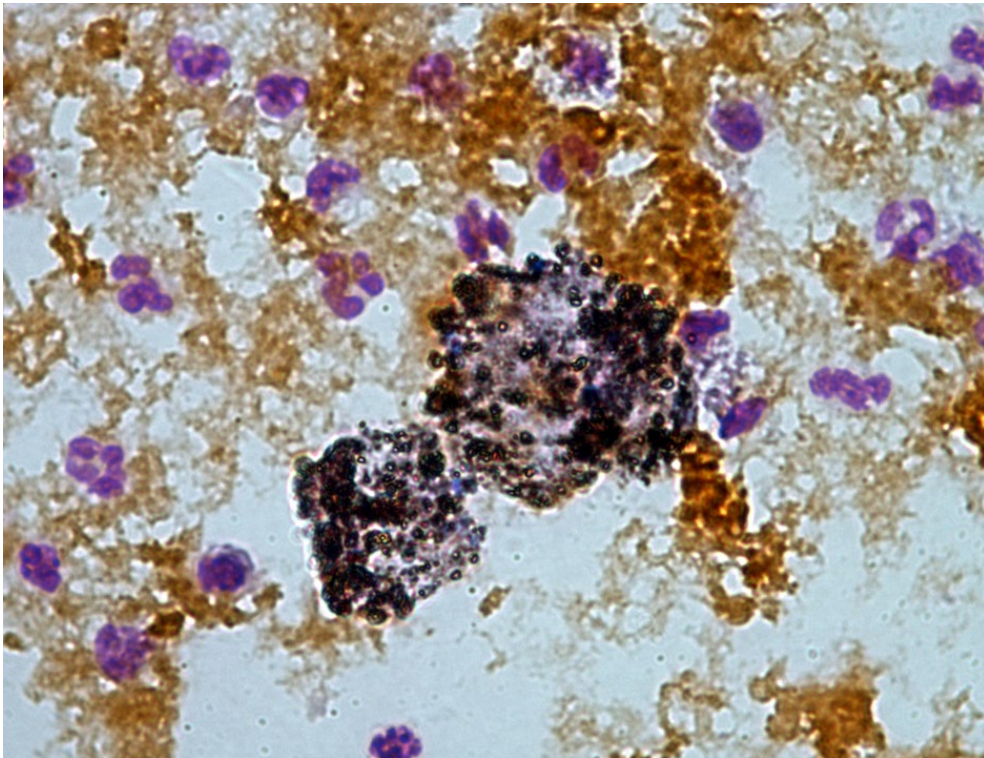
El diagnóstico es ayudado por la medición de la concentración de bilirrubina en el líquido, que es al menos 2 a 2,5 veces mayor que la concentración sérica (Burton 2018, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Figura 16.7. Efusión biliosa.



A) Aspecto macroscópico, líquido amarillo anaranjado, turbio. **B)** Neutrófilos no degenerados y material granular, amorfo ocre como sustancia de fondo. Tinción 15, Biopur®. Obj. 10X.

Figura 16.8. Efusión biliar.



Pigmento verde azulado o amarillo verdoso en el citoplasma macrófagos y material granular, amorfo ocre libre. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Uroabdomen

El uroabdomen se produce a consecuencia de la ruptura de la vejiga y, menos frecuentemente, de las vías urinarias. La orina actúa como un irritante químico y causa inflamación que conduce a un proceso exudativo no séptico. El líquido puede oler a amoníaco. Los recuentos de células nucleadas suelen ser inferiores a 6000 células/ μ l y el contenido total de proteínas es generalmente inferior a 3 g/dl. Los neutrófilos pueden estar degenerados o presentar cariorrexis, picnosis o cariólisis con bordes nucleares irregulares debido a su exposición al irritante. También pueden observarse células mesoteliales reactivas y macrófagos vacuolados. Bacterias y cristales urinarios pueden estar presentes si lo estaban en la vejiga en el momento de la ruptura. El estudio citológico no es de gran aporte para arribar al diagnóstico. Una concentración de creatinina en el líquido abdominal 2 veces mayor a la del suero y una relación de potasio en el líquido/potasio sérico mayor a 1,4 a 1 confirmarán el uroabdomen. (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Efusión quilosa

Las efusiones quilosas contienen quilo, es decir, líquido linfático rico en quilomicrones. Los quilomicrones son lipoproteínas ricas en triglicéridos que se absorben en el intestino tras la ingestión de alimentos con alto contenido de lípidos y son transportados a través de los vasos linfáticos y el conducto torácico al torrente sanguíneo. Las efusiones quilosas ocurren debido a un drenaje linfático deteriorado o fugas de quilo debido a compromiso de los vasos linfáticos situados en algún lugar entre el intestino delgado y el conducto torácico y la vena cava craneal. Esto puede ser causado por ruptura traumática del conducto torácico (poco común en medicina veterinaria) u obstrucción linfática (neoplasias, granulomas) con aumento de presión del flujo linfático, linfangiectasia del conducto torácico y ruptura (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

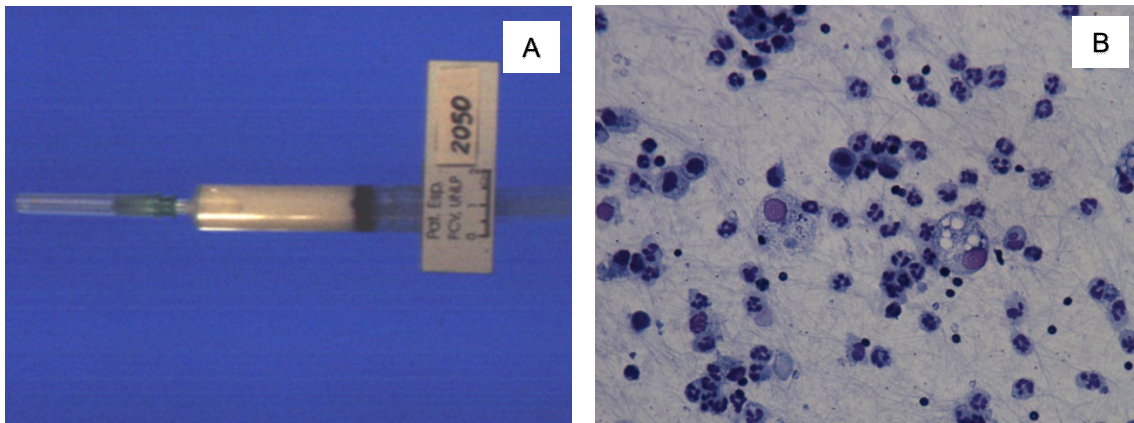
Las efusiones pleurales quilosas son más frecuentes en gatos y suelen ser bilaterales, en tanto que las efusiones abdominales quilosas ocurren con menos frecuencia. Entran en las categorías de trasudado modificado o, más frecuentemente, exudado, dependiendo del grado de cronicidad (Burton 2018, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Macroscópicamente, la descripción clásica de una efusión quilosa es un líquido "lechoso" que no se aclara después de la centrifugación. Es opaco y puede variar en color de blanco, amarillo a blanco rosado, dependiendo de la cantidad de grasa de la dieta y la presencia o ausencia de hemorragia (Figura 16.9 A) (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Desde el punto de vista citológico, los linfocitos pequeños (maduros) son el tipo de célula predominante en las efusiones recientes. El quilo es un irritante y, con el tiempo, los neutrófilos no degenerados y/o macrófagos con lípidos fagocitados (pequeñas vacuolas citoplasmáticas claras), se vuelven prominentes, aunque continúan observándose los linfocitos pequeños, con menor número de linfocitos reactivos y células mesoteliales reactivas (Figura 16.9 B y Figura 16.10). Es frecuente encontrar células rotas, ya que el lípido actúa como detergente, lo que hace que las células sean particularmente frágiles. Las efusiones quilosas se caracterizan por vacuolas de lípidos transparentes de tamaño variable en el fondo de la muestra. El aumento de neutrófilos ocurre consecuentemente a inflamación inducida por toracocentesis repetidas o por la presencia de quilo en la cavidad. La infección bacteriana en las efusiones quilosas es poco común debido al efecto bacteriostático de los ácidos grasos en el quilo. Con tinciones de grasa como Sudán III se tiñen positivamente las gotitas de lípidos muy pequeñas dentro de neutrófilos y macrófagos y en el fondo (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014; Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

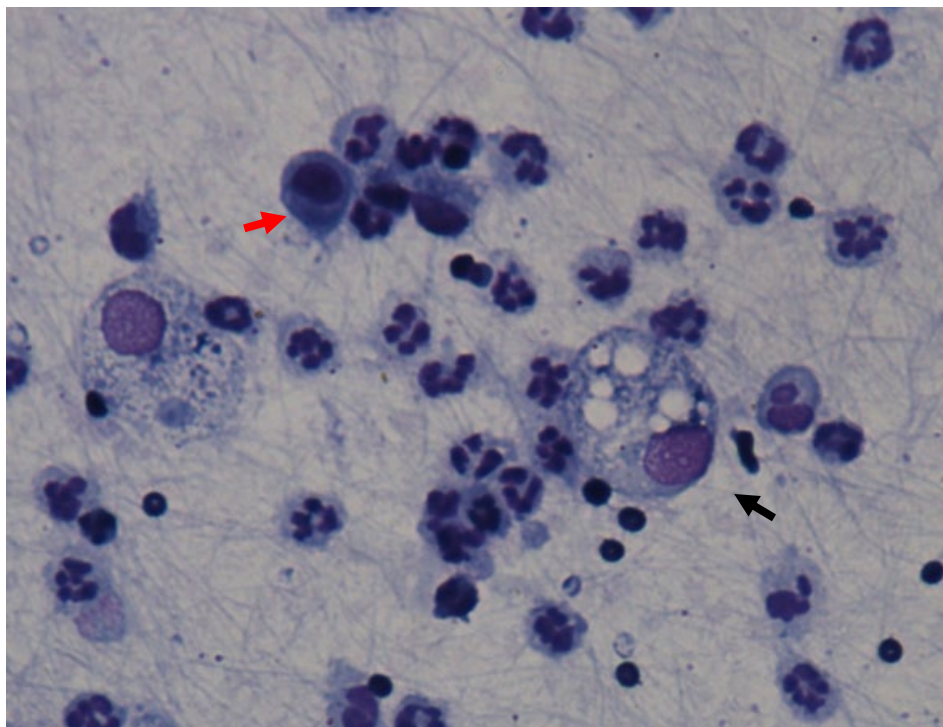
Una efusión quilosa tiene una concentración de triglicéridos mayor que la concentración sérica y una proporción de colesterol a triglicéridos menor a 1. La medición de niveles altos de triglicéridos en líquidos confirma el diagnóstico (Burton 2018, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Figura 16.9. Efusión quilosa.



A) Aspecto macroscópico, líquido de aspecto lechoso, opaco. **B)** Neutrófilos no degenerados, macrófagos y células mesoteliales reactivas. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 16.10. Efusión quilosa.



Detalle de la figura 16.9 (B). Neutrófilos no degenerados, macrófago con lípidos fagocitados (flecha negra), célula mesotelial reactiva (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Pseudoquilo

"Pseudoquilo" es un término médico que describe fluidos blancos, homogéneos, que no contienen quilo. Se ha descrito en medicina humana, pero no está bien descrito en medicina veterinaria, por lo que constituye una entidad debatida y el término rara vez es apropiado por lo que ya no se usa. Suelen asociarse con trasudados modificados de duración prolongada (por ejemplo cardiopatías felinas, linfomas, aunque también otras causas neoplásicas o inflamatorias) (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Las efusiones pseudoquillosas son líquidos turbios, blancos, amarillentos a cremosos, muy semejantes al quilo que, mediante centrifugación, pierden el aspecto lechoso, observándose un sedimento blanquecino. La turbidez es causada por lipoproteínas ricas en colesterol de baja densidad. La apariencia macroscópica es el resultado de restos celulares, complejo de globulina de lecitina, colesterol de las membranas celulares o todos estos. Los fagocitos que se atraen son ricos en enzimas que digieren las proteínas, no así los lípidos complejos. En consecuencia, el contenido de lípidos de las células se acumula en derrámela efusión. Citológicamente, se caracteriza por la presencia de material de degradación celular, como cristales de colesterol extracelulares, transparentes, planos, con muescas, la falta de un componente celular linfocítico significativo, pocas células mesoteliales reactivas, neutrófilos no degenerados y macrófagos. La determinación de los triglicéridos y colesterol de la muestra es fundamental para diferenciar entre una efusión quillosa o pseudoquillosa. Las efusiones pseudoquillosas tienen alto contenido de colesterol y bajo contenido de triglicéridos en comparación con el suero. La alta concentración de colesterol es causada por la desintegración de las paredes celulares que quedan atrapadas en la cavidad corporal (Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Efusión hemorrágica

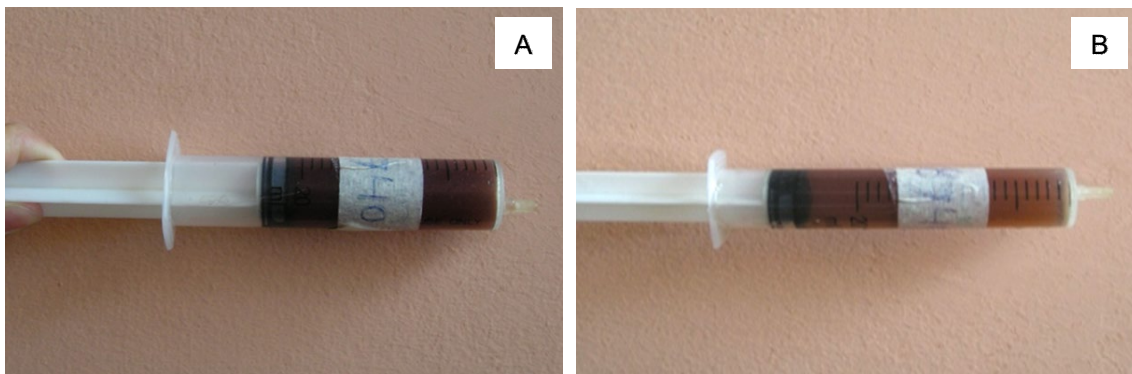
Las efusiones hemorrágicas pueden ser causadas por traumatismos, coagulopatías, ruptura espontánea de neoplasias vasculares (principalmente hemangiosarcoma). Presenta una concentración de proteínas ligeramente menor y un hematocrito igual o mayor que la sangre periférica, ya que el suero se reabsorbe más rápidamente que los eritrocitos (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Macroscópicamente el líquido varía de serosanguinolento a rojo (Figura 16.11). La verdadera hemorragia imparte una coloración rosada o roja durante todo el proceso de recolección, y el líquido no coagula; por el contrario, las muestras que en un principio son claras y en el transcurso de la toma de muestra se vuelven rojizas son indicativas de contaminación y coagulan en el tubo sin anticoagulante (Burton 2021, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thrall 2021, Vap 2021).

La citología puede diferenciar las verdaderas efusiones hemorrágicas de la contaminación en el momento de la recolección de la muestra o la aspiración inadvertida de un órgano por ejemplo hígado o bazo. Aun así, resulta difícil diferenciar la contaminación sanguínea de la hemorragia aguda o hiperaguda; siendo en este caso fundamental la evaluación de los signos clínicos, los hallazgos del examen físico y los datos de laboratorio. Las efusiones hemorrágicas de más de 24 horas de duración contienen predominantemente glóbulos rojos con relativamente pocos leucocitos, no contienen plaquetas, presentan macrófagos reactivos con eritrocitos fagocitados (eritrofagocitosis) y/o productos de degradación de los glóbulos rojos por ejemplo hemosiderina y cristales de hematoïdina, estos últimos también pueden verse dentro de neutrófilos. Estas células se observan mejor en el borde del extendido. La hemosiderina aparece como un pigmento pardo (Figura

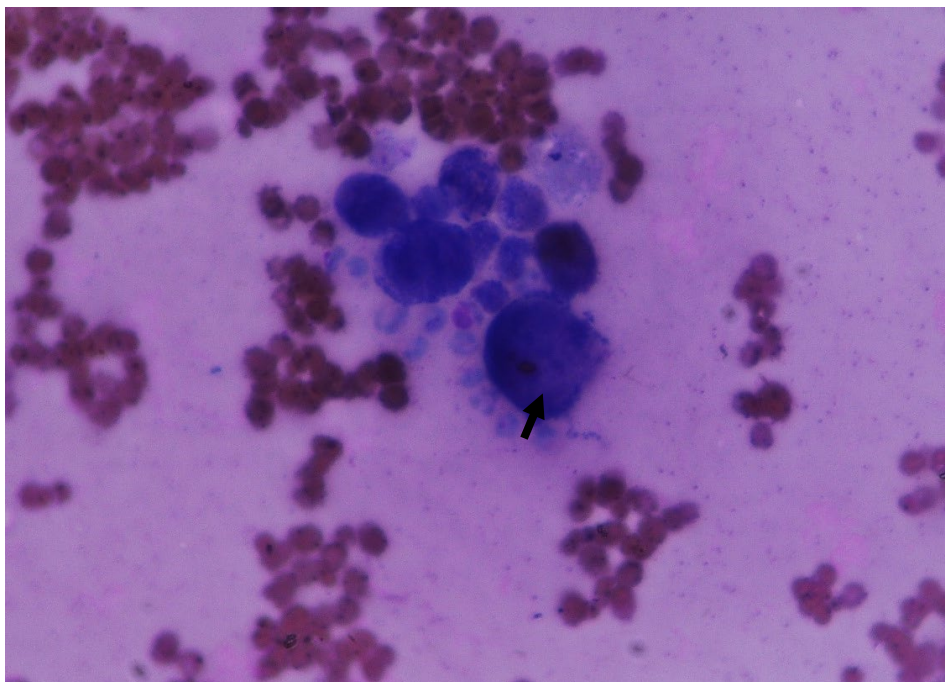
16.18) y los cristales de hematoïdina son romboides de color amarillo/naranja brillante (Figura 16.12). Una tinción positiva con azul de Prusia confirma el pigmento rico en hierro como hemosiderina. La eritrofagocitosis se evidencia aproximadamente un día después de iniciada la hemorragia, la hemosiderina es visible aproximadamente a los tres días y los cristales de hematoïdina sugieren un proceso hemorrágico crónico. La observación de plaquetas, generalmente en el borde del extendido, y la falta de eritrofagocitosis o productos de degradación de la hemoglobina indica hemorragia hiperaguda o contaminación de la sangre periférica durante la extracción. Cuando se detectan células hematopoyéticas en una efusión hemorrágica, se debe considerar la punción accidental del bazo o la rotura esplénica (Burton 2018, Burton 2021, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Figura 16.11. *Efusión hemorrágica.*



Aspecto macroscópico. Líquido rojo (A) o serosanguinolento (B)

Figura 16.12. *.Efusión hemorrágica*



Macrófago con cristal de hematoïdina en su interior (flecha negra). Abundante cantidad de eritrocitos. Color Fast Kit, Biopack®. Obj. 60X.

Efusiones neoplásicas

La neoplasia es una causa frecuente de efusiones en las cavidades corporales en perros y gatos. La apariencia macroscópica, el recuento celular y la concentración de proteínas no tienen utilidad diagnóstica, por lo que resulta imprescindible la identificación de células tumorales en el examen citológico del líquido para poder establecer un diagnóstico de neoplasia. De todos modos, muchos tumores no exfolian células y la ausencia de las mismas no descarta la neoplasia. La detección de una masa mediante imágenes de diagnóstico y el análisis de líquido junto con la citología por aspiración con aguja fina de dicha masa aumenta la probabilidad de identificar una neoplasia (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Se observa una variada cantidad de células neoplásicas. Su aspecto generalmente orienta hacia el tipo celular (epitelial, mesenquimático, de células redondas, melanocíticas), pero sólo en ocasiones es de utilidad para establecer el órgano o sitio de origen. Es muy importante recordar que la ausencia de células neoplásicas no permite descartar la existencia de un tumor (Schwendenwein 2017).

Las efusiones neoplásicas pueden ser trasudados modificados o exudados. Un trasudado modificado hemorrágico o serosanguinolento sin otra causa aparente suele asociarse a neoplasias no exfoliativas. Pueden ser exudados no inflamatorios o inflamatorios, cuando hay inflamación concurrente o paraneoplásica. A menudo hay células mesoteliales reactivas y neutrófilos (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

La detección de células tumorales en efusiones hemorrágicas puede pasarse por alto en tumores mesenquimáticos que no se exfolian fácilmente (por ejemplo, hemangiosarcoma). Se recomienda la evaluación exhaustiva de los bordes del extendido ya que las células tumorales a menudo se acumulan en esta área. Consecuentemente, en las efusiones hemorrágicas secundarias a neoplasias es fundamental la correlación de signos clínicos, antecedentes, datos de laboratorio, estudios de imágenes y aspiración con aguja fina (PAAF) de anomalías encontradas en la cavidad corporal (Schwendenwein 2017, Valenciano 2020).

En perros y gatos, las causas comunes de efusiones neoplásicas son linfoma (pleural) y adenocarcinoma o carcinoma (pleural y peritoneal), con mastocitoma y mesotelioma como causas menos comunes. Los sarcomas generalmente no exfolian células, aunque se reportan células de osteosarcoma y células de mixosarcoma en efusiones pleurales y de hemangiosarcoma en pericárdicas (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Las células neoplásicas en una efusión deben distinguirse de las células mesoteliales reactivas. La presencia de inflamación concurrente en el líquido puede confundir el diagnóstico de neoplasia, especialmente si las células neoplásicas no están presentes en un gran número y/o si no presentan criterios citológicos significativos de malignidad. Distinguir un carcinoma o adenocarcinoma de un mesotelioma, y un mesotelioma de células mesoteliales

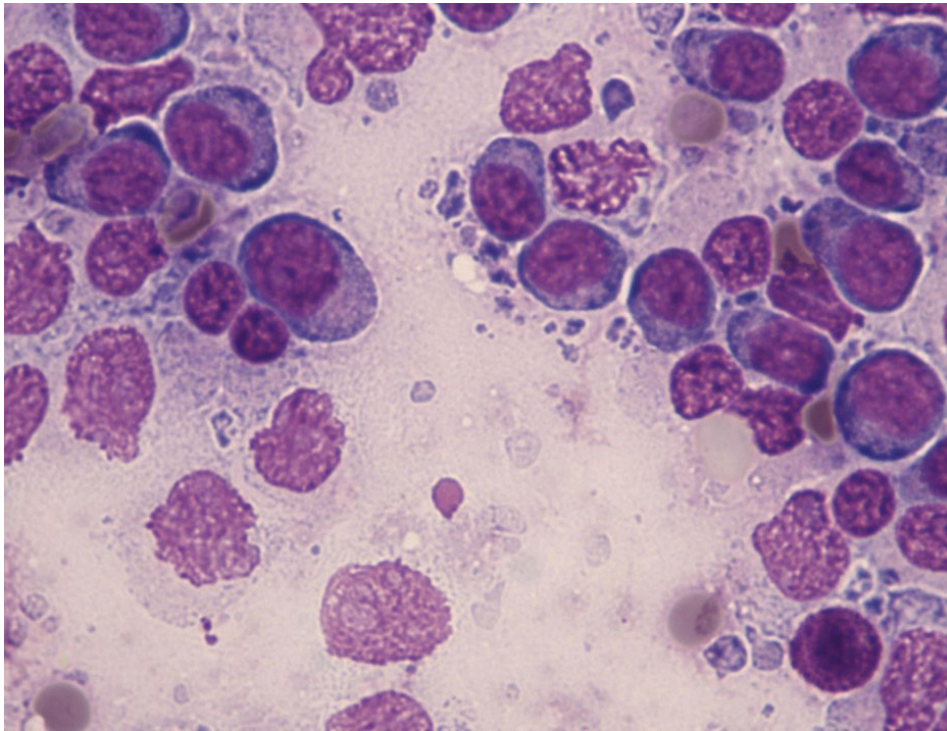
hiperplásicas y reactivas es un desafío particular, a menos que se identifique un tumor primario o se realicen tinciones especiales. Teniendo en cuenta la gran variabilidad en la morfología de las células mesoteliales reactivas, al menos 4-5 criterios citomorfológicos de malignidad y una celularidad adecuada, deben estar presentes en una población celular sospechosa antes de que una efusión se considere neoplásica. Pocos criterios de malignidad en un bajo número de células, especialmente en combinación con reacción inflamatoria, no deben sobreinterpretarse. Las tinciones citoquímicas especiales para identificar filamentos intermedios específicos de tejido, como citoqueratina, vimentina y desmina, son útiles para establecer un diagnóstico definitivo (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Si se sospecha la existencia de una neoplasia maligna luego de la citología, se deberá confirmar su presencia mediante la histología

Las neoplasias más comúnmente diagnosticadas son:

Linfoma

Las efusiones asociadas a linfoma son relativamente comunes cuando se afectan linfonódulos intracavitarios, son hallazgos más frecuentes en efusiones torácicas (a partir de linfomas tímicos y mediastínicos). Citológicamente son muy celulares y contienen una población monomórfica de linfoblastos, células grandes, redondas, con una relación N:C elevada, moderada cantidad de citoplasma azulado, ligeramente vacuolado, con núcleos redondos, de tamaño variable, con nucléolos evidentes y moderado número de mitosis (Figura 16.13). Puede mezclarse un número variable de glóbulos rojos, células mesoteliales reactivas y células inflamatorias. El linfoma de células pequeñas, poco frecuente, puede ser difícil de diagnosticar solo mediante citología, ya que sus células son similares a los linfocitos normales por lo que se justifican las pruebas de diagnóstico complementarias. La evaluación de las células linfoides del líquido mediante inmunocitoquímica con anticuerpos contra las moléculas CD3 (célula T) y CD79a o CD20 (célula B) puede proporcionar información útil para una fenotipificación mínima (Burton 2018, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Figura 16.13. Linfoma.

Linfoblastos con moderada cantidad de citoplasma azulado, núcleo redondo y nucléolos evidentes y núcleos desnudos. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Carcinoma o adenocarcinoma

Las efusiones asociadas con carcinomas y adenocarcinomas pueden ser el resultado de una neoplasia primaria o secundaria. Las efusiones pleurales generalmente son causadas por adenocarcinoma pulmonar o metástasis de carcinoma de células de transición, carcinoma de mama en las hembras o carcinoma de próstata en los machos. Las efusiones abdominales se asocian con carcinomas que se diseminan por implantación en la superficie peritoneal entre los que se incluyen colangiocarcinoma, adenocarcinoma de páncreas, adenocarcinoma de ovario y carcinoma de mama en hembras y carcinoma de próstata en machos (Burton 2018, Thompson 2016).

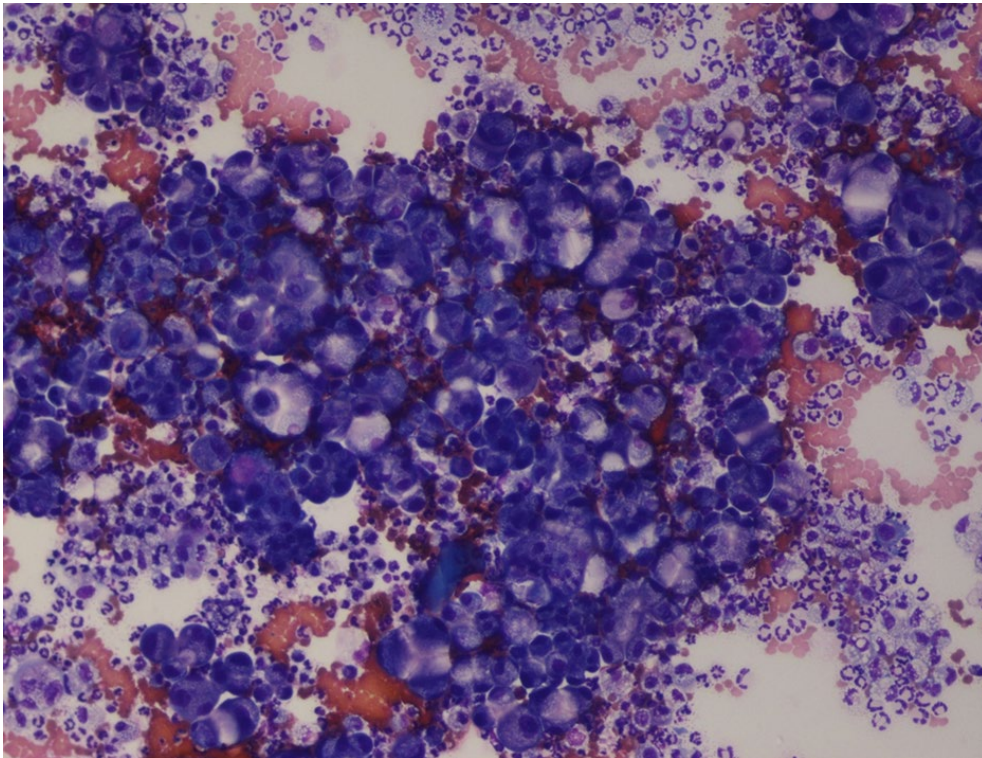
El origen de la neoplasia generalmente no se puede determinar en función a la citología de las efusiones. Los carcinomas y adenocarcinomas a menudo se pueden diagnosticar mediante la evaluación citológica de las efusiones sobre la base de un número significativo de células exfoliadas y numerosos criterios nucleares de malignidad. Con estos hallazgos, los estudios de imágenes pueden identificar masas u organomegalia, lo que lleva a una punción aspiración con aguja fina o una biopsia de tejido para una caracterización adicional (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

Las células de carcinoma con frecuencia se exfolian en grandes cantidades, en grupos, a menudo en una disposición papilar (carcinoma) o acinar (adenocarcinoma). Son grandes, redondas a poligonales, con abundante citoplasma a menudo extremadamente basófilo que puede oscurecer los detalles nucleares. El citoplasma puede contener grandes vacuolas transparentes, que empujan el núcleo hacia la periferia celular formando un globo o una célula “en anillo de sello”; numerosas vacuolas citoplasmáticas finas y espumosas, o material

secretor eosinófilo intracitoplasmático lo que sugiere una naturaleza secretora del tejido de origen. Los núcleos son redondos con cromatina granular gruesa y un gran nucléolo prominente. Pueden existir pleomorfismo celular, anisocitosis y gigantismo celular (Figura 16.14, Figura 16.16 y Figura 16.17). Es importante documentar criterios nucleares de malignidad como anisocariosis; gigantismo nuclear; cromatina nuclear gruesa; multinucleación ocasional; nucléolos grandes, extraños o angulares, múltiples; anisonucleoliosis; amoldamiento nuclear; alta relación N:C; multinucleación; numerosas figuras mitóticas y mitosis aberrantes (Figura 16.15). Se puede observar canibalismo celular, es decir neutrófilos dentro células neoplásicas, en tumores altamente malignos (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020).

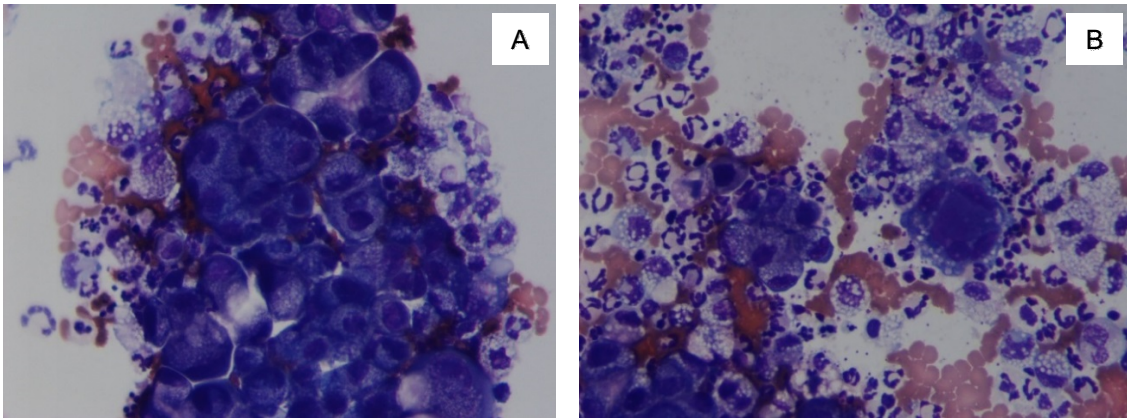
Las células epiteliales neoplásicas pueden ser difíciles de distinguir de las células mesoteliales reactivas. Puede hacerse un diagnóstico de neoplasia epitelial si la población celular cumple cinco criterios nucleares de malignidad. Además, las células epiteliales son generalmente más grandes que las células mesoteliales y presentan un mayor número de elementos, fuertemente unidos que se disponen tridimensionalmente con superposición de núcleos. La inmunocitoquímica es útil para clasificar las células como epiteliales mediante una tinción positiva para citoqueratina. Siempre es importante además, correlacionar la citología con las imágenes y los hallazgos clínicos (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall, 2021).

Figura 16.14. Adenocarcinoma.



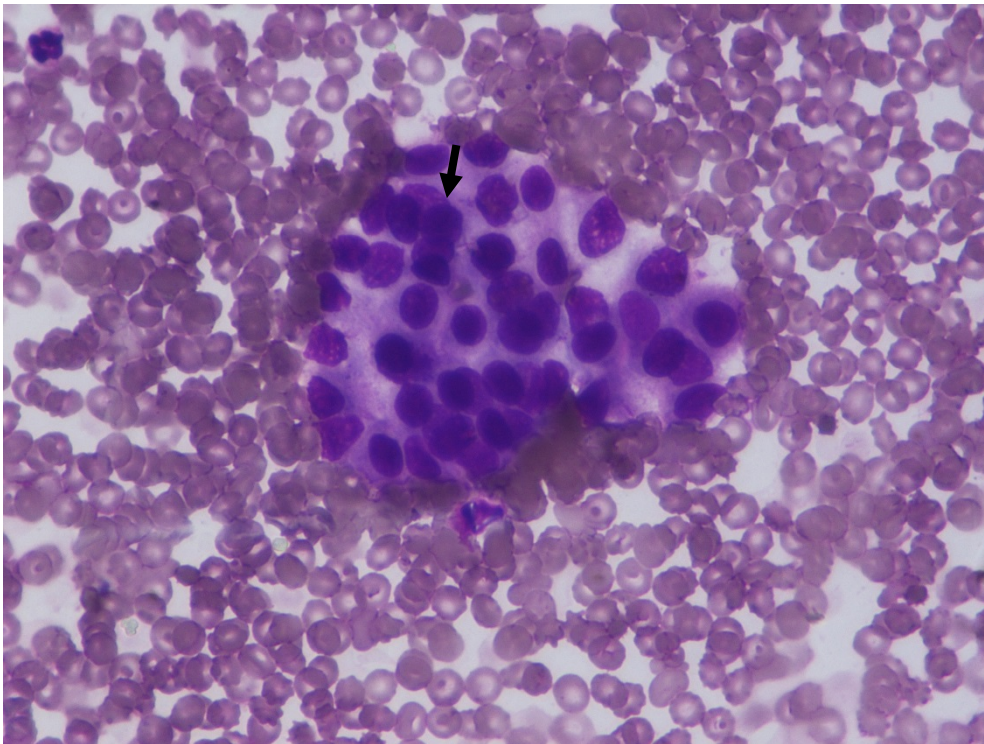
Células dispuestas en grupos con pleomorfismo celular. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 16.15. Adenocarcinoma.

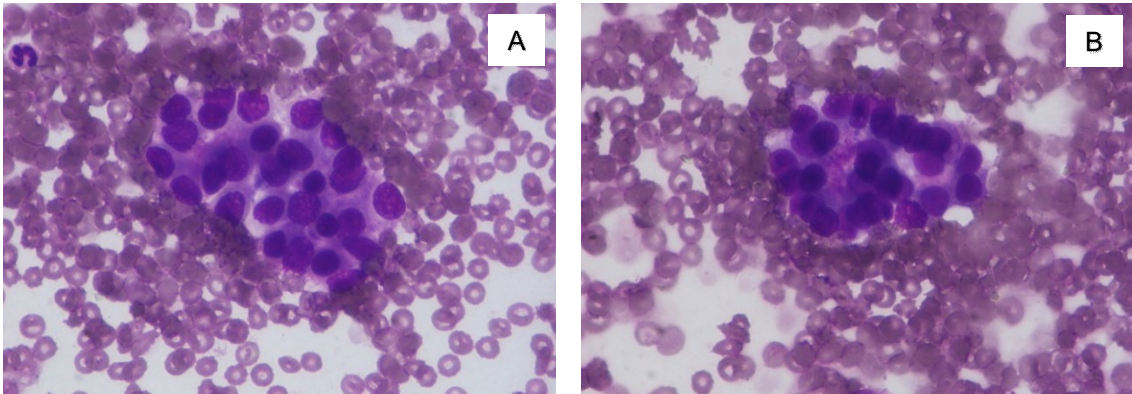


A) Células con citoplasma vacuolas citoplasmáticas finas, anisocariosis. **B)** Célula multinucleada, macrófagos, neutrófilos no degenerados y célula mesotelial reactiva. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 16.16. Carcinoma.



Células dispuestas en grupos con pleomorfismo celular moderado. Célula binucleada (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Figura 16.17. Carcinoma.

A) Células con anisocitosis y anisocariosis. **B)** Células poliédricas en grupos compactos con disposición acinar. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Mastocitoma

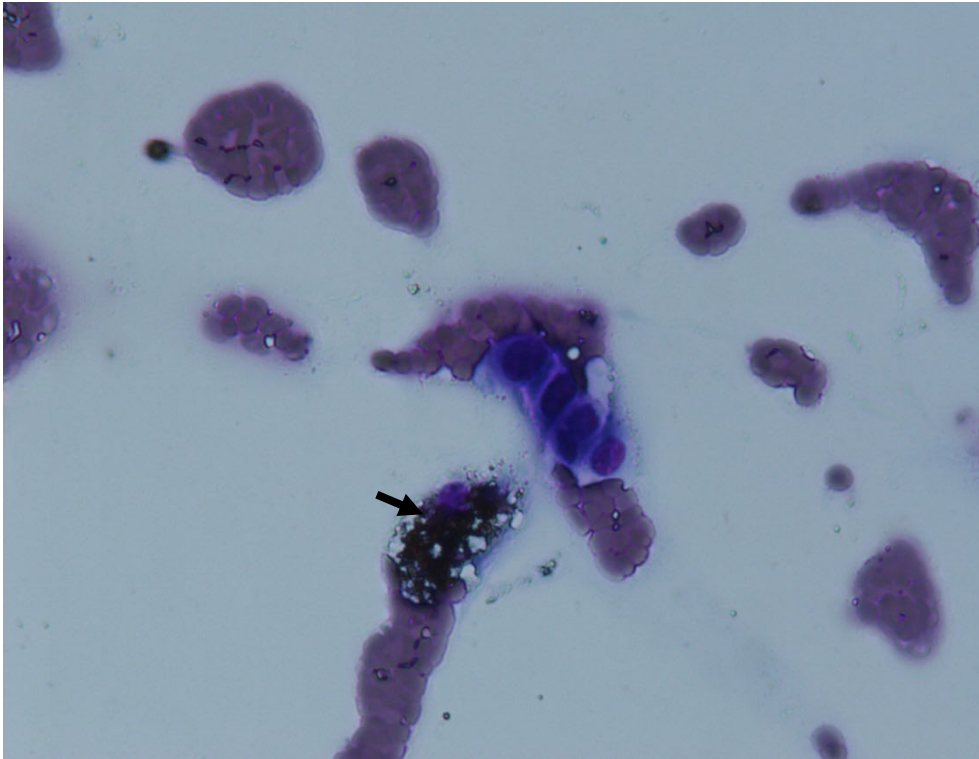
Las efusiones asociadas a mastocitomas son raras en el perro y más comunes en los gatos, en los cuales los órganos internos que con mayor frecuencia se ven afectados son hígado, linfónodos bazo y tracto gastrointestinal. Los mastocitomas dentro de las cavidades exfolian un gran número de células, exhibiendo gran variabilidad en tamaño y granularidad. Los mastocitos neoplásicos son células redondas con un núcleo redondo a ovalado, central con cantidad intermedia de gránulos citoplasmáticos color rojo purpúreos o púrpura que suelen agruparse en un polo de la célula. Esto permite evaluar fácilmente las características nucleares que incluyen anisocariosis y nucléolos irregulares prominentes. Los mastocitos mal diferenciados con una granulación mínima pueden ser difíciles de identificar. Las tinciones de tipo Romanowsky a menudo no tiñen bien los gránulos de mastocitos, como sí lo hace la tinción de Wright-Giemsa, Wright modificada o azul de toluidina. Puede haber variables cantidades de eosinófilos acompañantes, pocos neutrófilos no degenerados, células mesoteliales y macrófagos. Cabe señalar que los tumores pleomórficos (anisocitosis, anisocariosis, nucléolos prominentes, multinucleación) y tumores de mastocitos poco granulares pueden encontrarse en una efusión (Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Sarcoma

Los sarcomas que involucran órganos intracavitarios no se detectan fácilmente mediante la evaluación citológica de las efusiones, ya que exfolian un reducido número de células a los fluidos. La ruptura del tumor (por ejemplo, hemangiosarcoma esplénico, hepático o cardíaco) y la formación de una efusión hemorrágica despiertan sospechas; sin embargo, producen efusiones de celularidad baja. En este caso, la inspección del borde del extendido, de muestras concentradas o de preparaciones de capa leucocitaria, aumentan la sensibilidad para la detección de células tumorales mesenquimales. Generalmente abundan los glóbulos rojos. De identificarse células neoplásicas, son fusiformes, medianas a grandes y con marcada variación en el tamaño celular, nuclear y nucleolar. Pueden observarse alteración de la relación N:C, angularidad nucleolar y basofilia citoplasmática (Figura 16.18). Puede haber células mesoteliales

reactivas El diagnóstico definitivo se realiza histológicamente (Burton 2021, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Valenciano 2020).

Figura 16.18. Hemangiosarcoma.



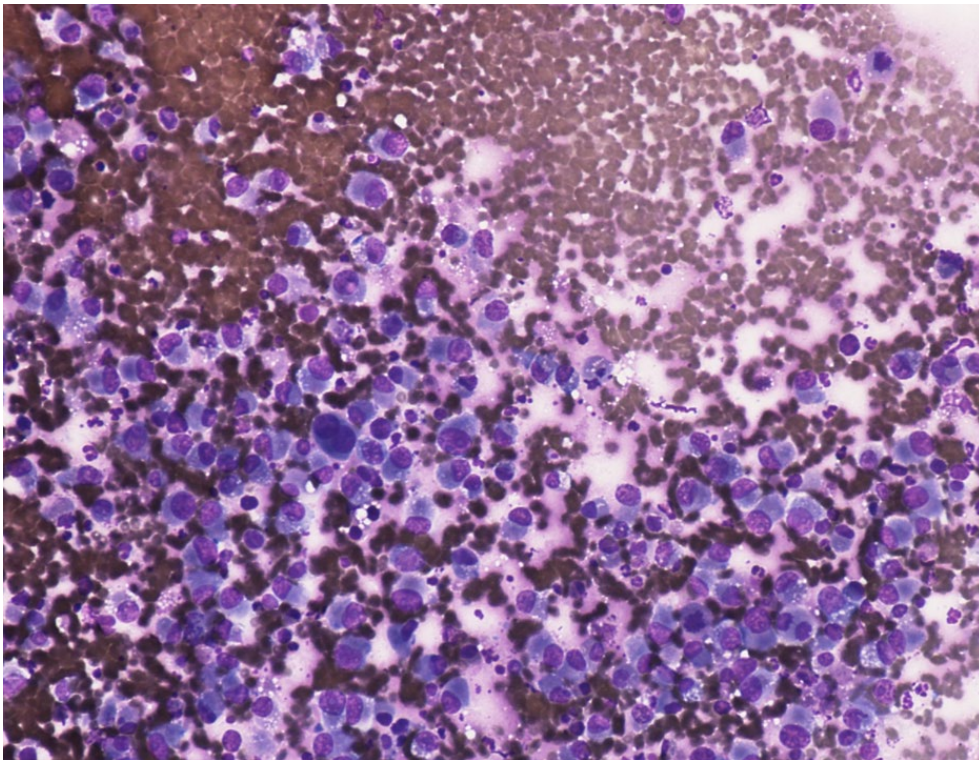
Líquido pericárdico. Escasa cantidad de células fusiformes, con basofilia citoplasmática. Macrófago con hemosiderina (flecha negra). Color Fast Kit, Biopack®. Obj. 40X.

Mesotelioma

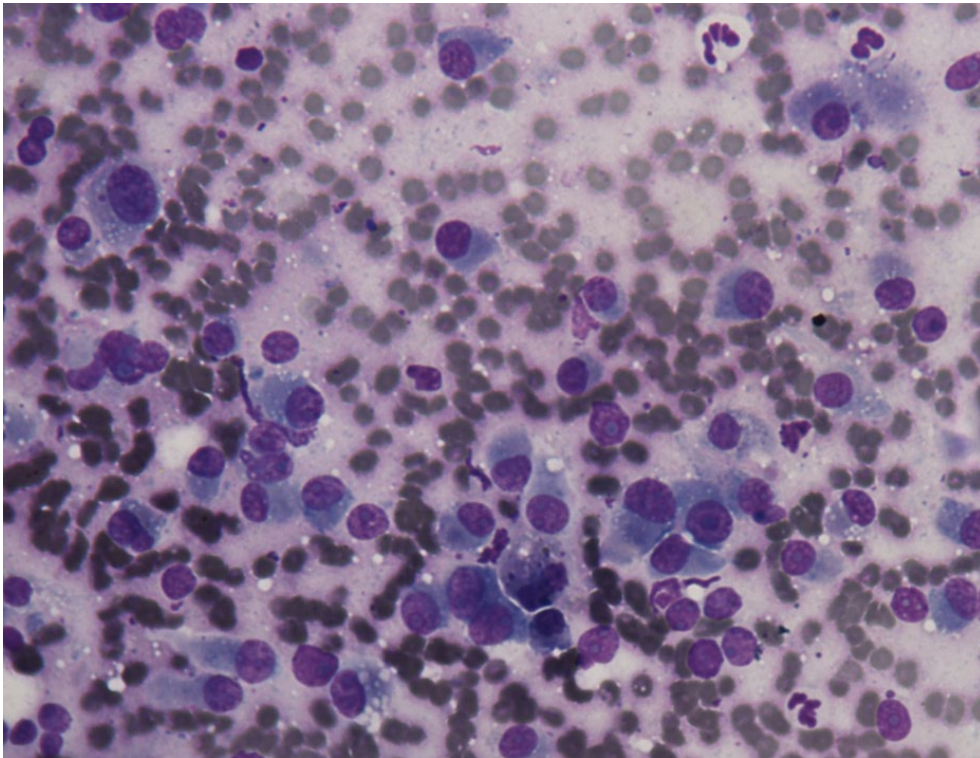
El mesotelioma es un tumor poco común que surge del revestimiento mesotelial de las serosas de las cavidades. La efusión suele ser sanguinolenta. Los líquidos presentan una elevada celularidad; las células se encuentran aisladas o en pequeños grupos. Son redondas a ligeramente poligonales aunque también pueden ser fusiformes. Esta variación en la citomorfología probablemente surge de los múltiples subtipos histológicos. Contienen una cantidad variable de citoplasma claro o ligeramente azul, vacuolado, de bordes bien definidos, con uno o más núcleos centrales, de tamaño variable, de cromatina gruesa granular agrupada irregularmente, hipercrómicos, múltiples nucléolos grandes, prominentes, de forma variable. Es frecuente observar amoldamiento nuclear. Muchas células conservan el borde del glucocáliz con flecos. Las características malignas incluyen macrocitos, macrocariosis, anisocariosis, multinucleación, relación N:C alta y variable y, gran cantidad de figuras mitóticas con mitosis aberrantes e incluso canibalismo celular (Figura 16.19 y Figura 16.20). Pueden estar presentes cantidades bajas de linfocitos pequeños, neutrófilos y glóbulos rojos (Burton 2018, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Citológicamente, es difícil de diagnosticar debido a la variabilidad de las células mesoteliales reactivas y a la semejanza de las células del mesotelioma con las de carcinomas o adenocarcinomas. Por lo tanto, se debe tener precaución al evaluar poblaciones sospechosas por criterios de malignidad, debiendo observarse al menos cinco criterios nucleares fuertes de malignidad antes de realizar un diagnóstico presuntivo. Cuando las células mesoteliales exhiben criterios marcados de malignidad puede ser casi imposible diferenciar entre mesotelioma, carcinoma o adenocarcinoma. Evidenciar células mesoteliales con criterios de malignidad poco evidentes, no permite diferenciar entre hiperplasia mesotelial y mesotelioma. A menudo, se necesita una combinación de antecedentes, hallazgos de imágenes (identificación de un tumor primario), citología e histopatología para distinguir el mesotelioma de la neoplasia epitelial. Si no se identifica un tumor primario, puede ser necesaria la histopatología del mesotelio. Para llegar al diagnóstico definitivo de mesotelioma, a menudo es necesaria la IHC. Las células de mesoteliomas suelen expresar citoqueratina, vimentina y desmina, lo que permite la diferenciación de los carcinomas, que normalmente solo expresan citoqueratina (Burton 2018, Burton 2021, Martínez de Merlo 2008, Schwendenwein 2017, Skeldon 2014, Thompson 2016, Thrall 2021, Valenciano 2020, Vap 2021).

Figura 16.19. Mesotelioma.



Abundante cantidad de células aisladas o en pequeños grupos redondas a ligeramente poligonales. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

Figura 16.20. Mesotelioma.

Células redondas a ligeramente fusiformes con citoplasma ligeramente azul, núcleo central y nucléolos prominentes y anisocitosis. Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

Efusiones pericárdicas

La efusión pericárdica es común en el perro y menos común en el gato, en el que casi nunca causa taponamiento cardíaco. Las causas más comunes en el perro son la neoplasia cardíaca y efusión pericárdica idiopática. El hemangiosarcoma es la neoplasia cardíaca más comúnmente reportada, otras son linfoma, mesotelioma, quimiodectoma y carcinoma de tiroides; causas menos comunes incluyen enfermedad cardíaca (insuficiencia cardíaca congestiva derecha), enfermedades inflamatorias o infecciosas (bacterianas y micóticas), uremia, ruptura de la aurícula izquierda debido a la degeneración mixomatosa de la válvula mitral y agrandamiento auricular extremo, traumatismos, coagulopatías y defectos congénitos. La efusión pericárdica idiopática suele ser sanguinolenta con células mesoteliales reactivas. La histología pericárdica revela fibrosis, inflamación leve, hemorragia e hiperplasia mesotelial. En gatos la efusión es a menudo secundaria a insuficiencia cardíaca congestiva o peritonitis infecciosa felina, pero puede ser causada por neoplasia cardíaca primaria, como linfoma (Burton 2021, Skeldon 2014, Thompson 2016, Valenciano 2020).

La evaluación citológica del líquido pericárdico rara vez revela una causa específica y resulta ser más valiosa para diagnosticar infección e inflamación. En perros, muchas efusiones pericárdicas son hemorrágicas independientemente de la causa. El rendimiento diagnóstico generalmente es bajo de la citología del líquido pericárdico, por lo que está justificada particularmente si

una masa consistente con hemangiosarcoma o un tumor de base cardíaca se observa ecocardiográficamente o si otras características sugieren infección o linfoma. El derrame pericárdico a menudo se asocia con hiperplasia mesotelial de moderada a marcada. En consecuencia, la citología a menudo no puede diferenciar la hiperplasia de células mesoteliales de la neoplasia. A diferencia del hemangiosarcoma, que puede causar hemorragia pericárdica y exfoliar grandes células endoteliales neoplásicas individualizadas, otras neoplasias de origen mesenquimatoso no suelen verter células neoplásicas en derrames. A menudo se requieren más pruebas (por ejemplo, ecografía, pruebas de coagulación, pericardiectomía) para determinar la causa subyacente del derrame pericárdico (Burton 2021, Thompson 2016, Valenciano 2020).

Referencias

- Burton A (2018). Body cavity Fluids. En A Burton (Ed), *Clinical Atlas of Small Animal Cytology* (155–168). First edition. Massachusetts, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Burton Sy Côté E (2021). Pericardial fluid. En LC Sharkey, MJ Radin y D Seelig (Eds), *Veterinary Cytology* (687–694). First edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Martínez de Merlo EM (2008). Estudio citológico de líquidos orgánicos. En EM Martínez de Merlo (Ed), *Atlas de citología clínica del perro y del gato* (296–306). Primera edición. Zaragoza, España: Servet editorial - Grupo Asís Biomedica.
- Schwendenwein I (2017). Body cavity effusions. En AM Barger y AL MacNeill (Eds), *Small animal cytologic diagnosis* (307–366). First Edition. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group.
- Skeldon, N y Dewhurst, E (2014). Biochemical and cytological evaluation of body cavity effusions. En J Dunn (Ed), *Manual of diagnostic cytology of the dog and cat* (89-109). First Edition. Florida, USA: John Wiley & Sons, Ltd.
- Thompson C y Rebar A (2016). Body cavity fluids. En RE Raskin y DJ Meyer (Eds), *Canine and Feline Cytology A color atlas and interpretation guide* (191–219). Third edition, St. Louis, USA Elsevier.
- Thrall MA (2021). Abdominal and thoracic fluid analysis in dogs and cats. En LC Sharkey, MJ Radin y D Seelig (Eds), *Veterinary Cytology* (695–714). First edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Valenciano Ay Rizzi T (2020). Abdominal, Thoracic, and Pericardial Effusions. En AC Valenciano y RL Cowell (Eds), *Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (229–246). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.
- Vap L y Sprague W (2021). Laboratory techniques for fluid analysis. En LC Sharkey, MJ Radin y D Seelig (Eds), *Veterinary Cytology* (667–686). First Edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.

CAPÍTULO 17

Estudio citológico de la médula ósea

Lorena Fontana y Romina Pretti

La médula ósea (MO) es el principal órgano hematopoyético y en ella se generan las diferentes células sanguíneas (series mieloide, eritroide y megacariocítica).

Las células sanguíneas tienen una vida media relativamente corta, por lo que deben ser producidas continuamente para mantener su cantidad en la sangre. La formación de las células sanguíneas recibe el nombre de hematopoyesis.

En el embrión, la hematopoyesis comienza en el saco vitelino. Durante el desarrollo fetal temprano, el hígado y el bazo son los principales órganos hematopoyéticos. La médula ósea y los órganos linfoides periféricos se transforman en lugares hematopoyéticos significativos durante la segunda mitad del desarrollo fetal de los mamíferos.

En el adulto, la hematopoyesis tiene lugar en la médula ósea. Los linfocitos, a diferencia del resto de las células sanguíneas, luego de su producción en la médula ósea pueden multiplicarse y diferenciarse fuera de ella.

La evaluación de la MO se indica siempre que exista una anomalía no explicable o persistente en el hemograma. La información que brinda puede ser de valor diagnóstico y pronóstico. Sin embargo, todo depende de una apropiada toma de muestras y del manejo de la misma (Aceña 2001, Feldman 2000).

La evaluación de la MO está indicada, entre otros, en los siguientes casos:

- Anemia arregenerativa
- Leucopenia y trombocitopenia
- Policitemia, leucocitosis o trombocitosis de origen desconocido
- Neoplasia hematopoyética
- Hiperproteinemias con gammapatía monoclonal o policlonal (por ejemplo, como en los casos de mielomas, linfomas, leishmaniasis y ehrlichiosis)
- Hipercalcemia de origen desconocido
- Fiebre de origen desconocido
- Estudio complementario para determinar los diferentes estadios de linfoma y evaluar pronóstico y tratamiento
- Determinación de depósitos de hierro, en casos de hipoferremia
- Determinación de agentes infecciosos (como *Leishmania* spp.)

La evaluación de la MO está contraindicada en casos de coagulación intravascular diseminada (CID) y en la falla hepática severa.

Técnicas para la toma de muestras

Se conocen dos técnicas para la obtención de muestras de MO:

- Aspiración
- Biopsia

Las diferencias entre una y otra son el costo, la facilidad de obtención y la rapidez en su posterior examen.

En la aspiración apreciamos la morfología celular en forma individual, pudiéndose determinar la relación mieloide/eritroide. En la biopsia se aprecia la estructura de la MO en conjunto y está indicada en casos de médulas hipocelulares (sospecha de hipoplasia o aplasia) o mielofibrosis. La biopsia lleva más tiempo de procesamiento y su observación es hecha por un patólogo.

En este capítulo solo se hace referencia a la aspiración de médula ósea (Aceña 1992).

Materiales para la extracción

- Antiséptico
- Anestésico local (lidocaína al 2%)
- Jeringas de 5 y 10 ml
- Agujas de aspiración/biopsia medular tipos Jamshidi, Jamshidi-Illinois o Rosenthal (o en su defecto agujas 40/12 o 50/12)
- Portaobjetos
- Placa de Petri o placa de vidrio

Opcionalmente, para evitar la coagulación de la muestra aspirada, se añade una gota de EDTA a la jeringa de aspiración.

Otra manera de evitar la coagulación es agregar 10 ml de solución fisiológica a un tubo estéril que contenga 0,25-0,3 ml de EDTA, quedando una solución al 2,5-3%. Se toma del mismo 0,5 ml en la jeringa que vamos a utilizar para aspirar la MO.

Lugares para la toma de muestras

Crestas ilíacas y epífisis proximales del fémur y del húmero para aspiración, aunque también es posible la obtención de biopsias.

Costillas y esternones: En estos lugares se realiza aspiración, aunque la cantidad que se obtiene es menor.

La punción esternal es la técnica más utilizada en medicina veterinaria por su fácil realización (Figuras 17.1 y 17.2). Se dificulta en animales obesos y en perros y gatos pequeños por la posibilidad de ingresar al tórax.

Procedimiento

La posición del paciente durante el procedimiento depende del sitio de aspiración.

Colocar al animal en decúbito lateral cuando se elige punción esternal, la epífisis proximal del húmero o la del fémur o bien en decúbito lateral o ventral cuando se elige la cresta ilíaca.

Preparar la zona mediante depilación y desinfección de un área de aproximadamente 6 cm de diámetro (utilizándose como antisépticos iodopovidona, clorhexidina).

Infiltrar con anestésico local (lidocaína al 2% de 0,5 a 1 ml) el tejido subcutáneo, músculos adyacentes y periostio del lugar donde se va a insertar la aguja. Luego de infiltrar volver a realizar la desinfección de la zona.

En los caninos, generalmente no es necesaria la sedación, pero en los felinos es aconsejable una ligera sedación.

Se debe insertar la aguja hasta hacer contacto con el hueso y realizar movimientos de rotación a derecha e izquierda hasta penetrar en la cavidad medular (Figura 17.1).

La muestra suele aparecer lentamente en la jeringa; si lo hace rápidamente es probable que esté hemodiluida (Figura 17.2). Es suficiente obtener 0,5-1 cm³ de aspirado. En caso de no obtener muestra al realizar el vacío con la jeringa en repetidas ocasiones, lo más aconsejable es retirar y cambiar la aguja (Harvey 2012).

Figura 17.1. Punción esternal.



Extracción de médula ósea.

Figura 17.2. Punción esternal.



Extracción de médula ósea.

Procesamiento de las muestras

Si no se utiliza anticoagulante en la jeringa los extendidos se deben realizar rápidamente, ya que pocos segundos son suficientes para que se coagule la muestra. En cambio, si se utiliza anticoagulante, tenemos más tiempo para realizar los mismos, pero no más de 10 minutos, ya que las células de la MO son muy frágiles y se alteran.

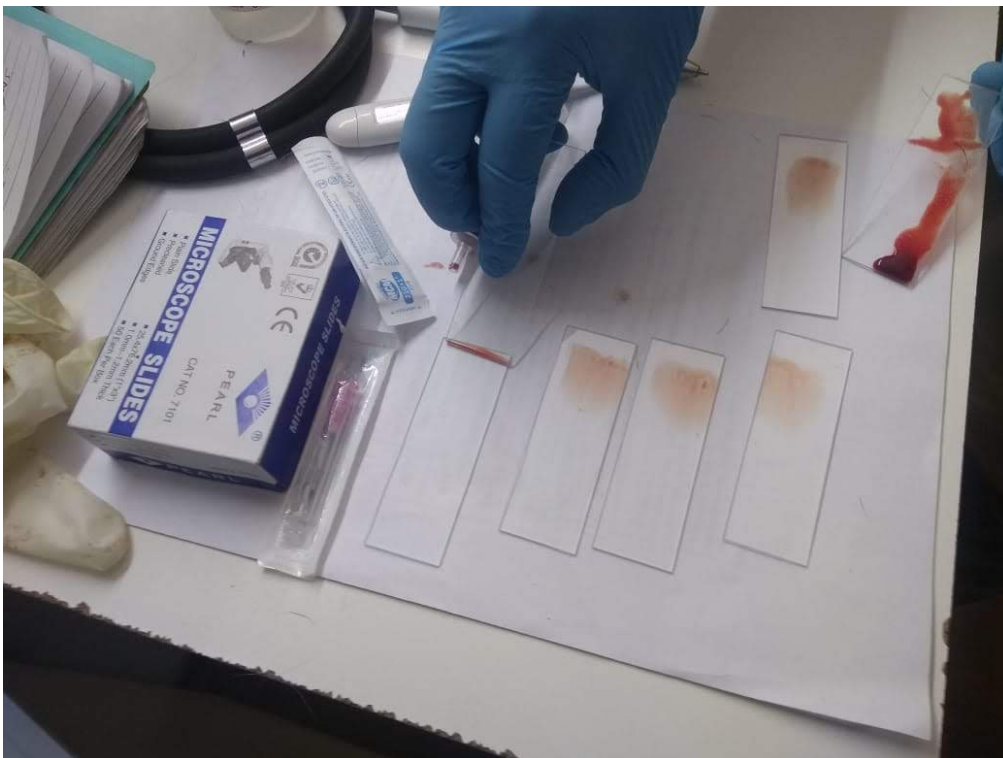
La muestra se coloca en una placa de Petri o una placa de vidrio (10 x 10 cm), la cual se inclina ligeramente; el contenido medular se observa macroscópicamente como pequeños “granos blancos” que se corresponde con tejido medular, de ahí vamos tomando pequeñas alícuotas de la MO con un extensor y se realizan extendidos sobre varios portaobjetos (Figura 17.3 y 17.4).

Cualquiera sea la forma de obtención de los extendidos se dejan secar a temperatura ambiente, antes de proceder a la coloración (Figura 17.4) (Fernández Algarra 2012).

Figura 17.3. *Extendido del material medular obtenido.*



Figura 17.4. *Extendidos de material medular sobre portaobjetos.*



Métodos de tinción

Las preparaciones de muestras aspiradas, una vez secas, se tiñen con las mismas técnicas que las empleadas para frotis sanguíneos (tipo Romanowsky). Por lo tanto, pueden utilizarse tinciones de metanol Giemsa, May-Grünwald-Giemsa o una tinción rápida como es la Tinción 15 Biopur®, o similar.

Para el estudio de los depósitos de hierro se requiere una tinción específica como la de Pearls o Azul de Prusia.

Posibles complicaciones

Las complicaciones en el paciente por la técnica de aspiración de médula ósea son poco frecuentes, pero pueden presentarse reacciones adversas al sedante y/o anestésico empleado, al igual que daños en los tejidos circundantes por el paso de la aguja y sangrado en el sitio de punción.

Referencias

- Aceña MC., Liste E., Gascón EM. (1992). Biopsia de médula ósea en perro: técnica y utilidad diagnóstica. *Clinica Veterinaria de Pequeños Animales*, 12 (2), 107-116
- Aceña MC., Gascón Pérez F. (2001). Las alteraciones de la médula ósea en el perro y el gato. *Clinica Veterinaria de Pequeños Animales*, 21 (3), 232-248.
- Feldman BF., Zinkl JG. (2000). Schalm's veterinary hematology. Fifth edition. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins
- Fernández Algarra C. (2012). Citología de la Médula Ósea y sangre. *Reduca (recursos educativos) Serie Veterinaria*, .4 (1), 70-76.
- Harvey JW. (2012). Bone Marrow Examination. En Harvey JW (Ed), *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas*. (243-259). St. Luis, USA: Saunders, Elsevier inc.

CAPÍTULO 18

Inmunocitoquímica

*Carolina Gabriela Aspitia, Mariana Machuca
y Adriana Massone*

La detección de antígenos mediante técnicas inmunológicas y reacciones químicas en tejidos, inmunohistoquímica (IHQ), y preparados citológicos, inmunocitoquímica (ICQ), es una de las técnicas utilizadas en patología diagnóstica. El fundamento de estas técnicas consiste en la localización de componentes tisulares/celulares mediante la utilización de anticuerpos específicos y moléculas marcadoras (reacción enzima-sustrato que transforma un cromógeno incoloro en un producto final coloreado). Se pueden realizar utilizando anticuerpos (Ac) monoclonales (que reconocen un epítipo único, una cadena de 4 a 8 aminoácidos en una proteína) o policlonales (que reconocen varios epitopes, produciendo un aumento de la afinidad del anticuerpo en detrimento de su especificidad). Los Ac, tanto monoclonales como policlonales, son utilizados en diferentes técnicas de laboratorio, ya sea conjugados con diferentes elementos tales como sustancias fluorescentes (fluoresceína, rodamina), enzimas (fosfatasa alcalina, peroxidasa), formando parte de inmunocomplejos (PAP), o bien sin conjugar. Estos anticuerpos “reaccionan” a diversos antígenos (Ag), que definimos como toda sustancia o partícula animada o inanimada, de cualquier constitución química, que, introducida a un organismo superior por cualquier vía, o bien perteneciente al mismo, no sea reconocida como propia e induzca en éste una respuesta humoral y/o celular detectable tanto “*in vivo*” como “*in vitro*” (Ramos-Vara 2016).

Como todas las técnicas de IHQ/ICQ se basan en la conjugación de distintos marcadores con moléculas de inmunoglobulinas, es importante comprender las interacciones entre las mismas y los antígenos. La inmunoglobulina G (IgG) es el tipo de anticuerpo más utilizado en IHQ/ICQ. Su estructura está compuesta por una región variable que se une al epítipo del antígeno (Fab) y una porción constante (Fc) específica del animal en el cual se sintetizó. El Ac primario detecta el epítipo específico que se desea marcar, y el Ac secundario se une a la fracción constante de la inmunoglobulina (anticuerpo secundario anti-especie) Luego de producida la unión Ag-Ac, el marcador es localizado, generalmente mediante una reacción tintorial, permitiendo identificar la reacción del Ag problema con la célula o el tejido. En la actualidad, las técnicas más utilizadas son las que emplean la peroxidasa del rábano picante y la fosfatasa alcalina (Burry 2011).

La inmunocitoquímica (ICQ), inmunocitología o inmunomarcación de preparados citológicos es un método que complementa el estudio citológico convencional, contribuyendo a mejorar la precisión diagnóstica y aportando, en casos particulares, datos de valor pronóstico. Esta marcación se realiza sobre preparados citológicos, obtenidos mediante los métodos tradicionales de toma de muestras para citología o bien mediante preparaciones especiales.

Preparación y fijación de la muestra

Las muestras se obtienen mediante los métodos tradicionales antes descriptos (ver capítulo 1) y, en caso de obtenerse específicamente para ICQ, deben colocarse sobre portaobjetos positivados, silanizados o recubiertos en poly-L-lisina para permitir una mayor adhesión entre el portaobjeto y las células (Ramos-Vara 2016).

Según las características de la muestra obtenida, la misma se procesa de la siguiente forma:

- Citocentrifugado: se realiza en muestras con bajo volumen celular. Es el tipo de procesamiento recomendado para evaluar antígenos citoplasmáticos o de membrana, ya que preserva la citomorfología.
- Extendido celular: se utiliza para muestras con bajo a moderado volumen celular. Si bien se han obtenido resultados reproducibles para antígenos nucleares, es menos apropiado para utilizar con marcadores citoplasmáticos o de membrana. Presenta mayor tinción de fondo o “background” debido a la ruptura celular producida por el extendido (Skoog 2011).
- Bloques celulares embebidos en parafina: recomendado para muestras con abundante contenido de células. Los bloques celulares se obtienen mediante la fijación de células con formol o etanol seguida de citocentrifugación. Algunos de los protocolos indican una fijación en alcohol 70% en un tubo Eppendorf de 0,6 ml, y posterior centrifugación a 2800 x g durante 10 minutos. Luego, se extrae el sobrenadante y se agrega agarosa líquida al 2%. Finalmente, el tubo se centrifuga como en el paso anterior y se obtiene un sedimento sólido o “pellet sólido”. El mismo se incluye en bloques de parafina (Zanoni y col, 2012). Estas muestras, al procesarse de forma similar a los cortes de tejidos, pueden requerir procedimientos de recuperación anti-génica (Shi 2011, Skoog 2011).
- Monocapa de células obtenidas con ThinPrep o citología en base líquida (LBC): las muestras se obtienen mediante colectas de líquidos, hisopados, “cytobrush” (raspados con cepillo) o raspados y se colocan en un medio líquido comercial para su mejor preservación. Luego, a partir de esa muestra se realiza el centrifugado y extendido en monocapa, para luego realizar ICQ. Este método es de mayor costo y no se han encontrado diferencias significativas con los citocentrifugados tradicionales (Fetsch 2002, Skoog 2011).

La fijación de los preparados citológicos resulta indispensable para conservar una adecuada cantidad de células, obtener suficiente adhesión al portaobjetos, mantener la morfología celular

y la antigenicidad y eliminar los fluidos proteináceos y eritrocitos que generan coloración de fondo. Por un lado, en el caso de los antígenos nucleares se recomienda el uso de formol tamponado al 4-10%, seguido de metanol-acetona. De poder fijarlos con estas soluciones se puede recurrir a la recuperación antigénica utilizando microondas. Por otro lado, en el caso de los antígenos de membrana y citoplasmáticos se recomienda la fijación con formol seguida de etanol (en general utilizado al 95%) (Skoog 2011).

Además, existen recomendaciones de fijación según los marcadores utilizados:

- Para marcadores en melanomas y células linfoides se recomienda la inmersión durante 5-10 minutos en acetona a temperatura ambiente.
- Para marcadores epiteliales se recomienda utilizar alcohol 95% o una mezcla v/v 1:1 de metanol y etanol 100% durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Para antígenos nucleares se recomienda el uso de formol tamponado al 3,7%. durante 15 minutos (Fetsch 2004).

Si bien los mejores resultados se obtienen con muestras procesadas específicamente para ICC, el procedimiento podría realizarse en preparaciones previamente teñidas con tinciones tipo Romanowsky o Papanicolaou, previa decoloración o sin decoloración (Ramos-Vara 2016). Cabe destacar que los portaobjetos obtenidos por las diferentes técnicas y posteriormente fijados pueden mantenerse sin perder inmunorreactividad hasta 2 semanas a 2-8° C o a -70° C para una conservación más prolongada (Fetsch 2004; Skoog 2011).

Pretratamiento de la muestra

Estos procedimientos incluyen el bloqueo de actividades endógenas, el bloqueo de uniones inespecíficas y la recuperación antigénica. El bloqueo de actividades endógenas hace referencia al bloqueo de la peroxidasa endógena, la fosfatasa alcalina endógena y la actividad endógena de la biotina, mediante el uso de sustratos específicos para las mismas (por ejemplo, la inmersión en H₂O₂ al 3% en agua destilada para el bloqueo de la peroxidasa endógena). Por otro lado, el bloqueo de uniones específicas de las inmunoglobulinas a las células se realiza mediante la incubación de las mismas con albúmina sérica bovina o con suero normal de la especie a la cual pertenece el anticuerpo secundario. Por último, la recuperación antigénica se realiza mediante el uso de enzimas proteolíticas (como, por ejemplo, proteinasa K) o la inmersión de los portaobjetos en soluciones tamponadas a altas temperaturas. La misma dependerá tanto de los antígenos blanco como de los anticuerpos utilizados (Ramos-Vara 2016).

Estos procedimientos disminuyen el “background”, evitando la interpretación errónea de inmunomarcaciones inespecíficas, y para aumentar la sensibilidad de la técnica al recuperar la estructura tridimensional de las proteínas y sus cargas electroestáticas (Ramos-Vara 2014).

Interpretación

La precisión de los resultados obtenidos a partir de esta técnica depende, en gran medida, de la sensibilidad y la especificidad de los anticuerpos de los que se dispone. El nivel desigual de aceptación alcanzado por las técnicas de IHQ e ICQ se debe, fundamentalmente, a ciertos inconvenientes técnicos y de interpretación que limitan el alcance de esta última.

Los resultados de la inmunomarcación se consideran de valor diagnóstico cuando permiten confirmar una presunción o de valor de rechazo cuando permiten descartarla.

Resulta difícil unificar los datos encontrados en la bibliografía acerca del aporte concreto de la ICQ, ya que se han comunicado experiencias con células provenientes de los tejidos más diversos y utilizando paneles heterogéneos de anticuerpos. A pesar de ello, la mayoría de los autores coincide en afirmar que la inmunocitología es una herramienta que supera en sensibilidad y especificidad a la citología convencional. En general, se sostiene que la ICQ tiene valor diagnóstico en un 55-65% de los casos.

Es importante al momento de interpretar los resultados de la técnica poder diferenciar, en primer lugar, la inmunomarcación específica de los falsos positivos. Estos últimos se pueden deber a material pobremente fijado, utilización de fijadores inadecuados, bloqueo insuficiente de la peroxidasa endógena o tinción de fondo inespecífica. En segundo lugar, los falsos negativos pueden deberse a una fijación inadecuada (por ejemplo, el uso de fijación con alcoholes en anticuerpos nucleares) o a una concentración muy baja del anticuerpo primario (Skoog 2011).

Además, para poder realizar una correcta interpretación de la inmunomarcación, debemos conocer el concepto de “perfil de personalidad del anticuerpo”. El mismo, introducido por Yaziji y col. (2006), se define por la localización de la señal esperada (citoplasmático, nuclear, de membrana o intersticial), el patrón de marcación del anticuerpo (homogéneo, filamentoso o granular) y el patrón característico obtenido en tejidos y tumores (% de células que expresan el antígeno blanco).

En un análisis retrospectivo de muestras de fluidos y de material obtenido a partir de lesiones sólidas mediante aspiración con aguja fina, Shield y col. (1996) encontraron que la inmunomarcación fue de utilidad en el 75,8 % de los casos.

Aplicaciones

- Diferenciación entre procesos reactivos y procesos neoplásicos malignos. Metzgeroth y col. (2008) llevaron a cabo un estudio en el que analizaron 1234 muestras provenientes de efusiones serosas, con la finalidad de comprobar si la inmunocitología mejoraba la precisión diagnóstica de la citología convencional en la identificación de efusiones debidas a carcinomas. De las 619 efusiones causadas por procesos malignos, 314 fueron correcta-

mente identificadas mediante citología mientras que, con la inmunocitología realizada utilizando un panel de 3 anticuerpos, la cantidad de diagnósticos correctos ascendió a 561. De las 615 efusiones debidas a procesos no malignos, 50 casos fueron erróneamente clasificadas como causadas por carcinomas (falsos positivos) mediante citología. En la ICQ no se observaron falsos positivos.

- Determinación del tejido de origen de una neoplasia. Este podría ser el caso de neoplasias indiferenciadas, primarias o metastásicas. Por ejemplo, las neoplasias melanocíticas pueden ser confundidas con otras neoplasias pobremente diferenciadas, tales como carcinomas, linfomas y sarcomas. Según los estudios realizados por Sheffield y col. (2002), la inmunohistoquímica utilizando un panel de al menos 3 anticuerpos, resulta de gran ayuda para el diagnóstico en estos casos. Una aproximación diagnóstica puede realizarse utilizando citoqueratinas (carcinoma) (Figura 18.1), vimentina (sarcoma), S-100 (melanoma, tumores de la vaina del nervio periférico y neoplasias de origen nervioso) y CD18 (procesos histiocíticos) (Ramos-Vara 2016). Por esta razón, el uso de marcadores mediante ICQ puede mejorar la eficacia de la identificación de tumores, en los casos que la morfología no permita llegar a un diagnóstico preciso.
- Estadificación de una neoplasia. La ICQ puede aplicarse en la investigación del estado del linfonódulo regional. Según lo expresado por Stefanovic y col. (2016) en un trabajo realizado en pacientes con carcinomas mamarios, la inmunomarcación de células tumorales en aspirados de médula ósea podría ser considerado como un buen marcador de diseminación de la enfermedad y, por lo tanto, reemplazar, o bien complementar, a la biopsia del linfonódulo regional.
- Evaluación del pronóstico de una lesión tumoral conocida. Entre los factores utilizados, la evaluación de indicadores de proliferación tumoral, receptores hormonales y oncogenes (con mayor frecuencia en tumores mamarios) es una herramienta útil para evaluar el pronóstico tumoral y el desarrollo de la enfermedad.

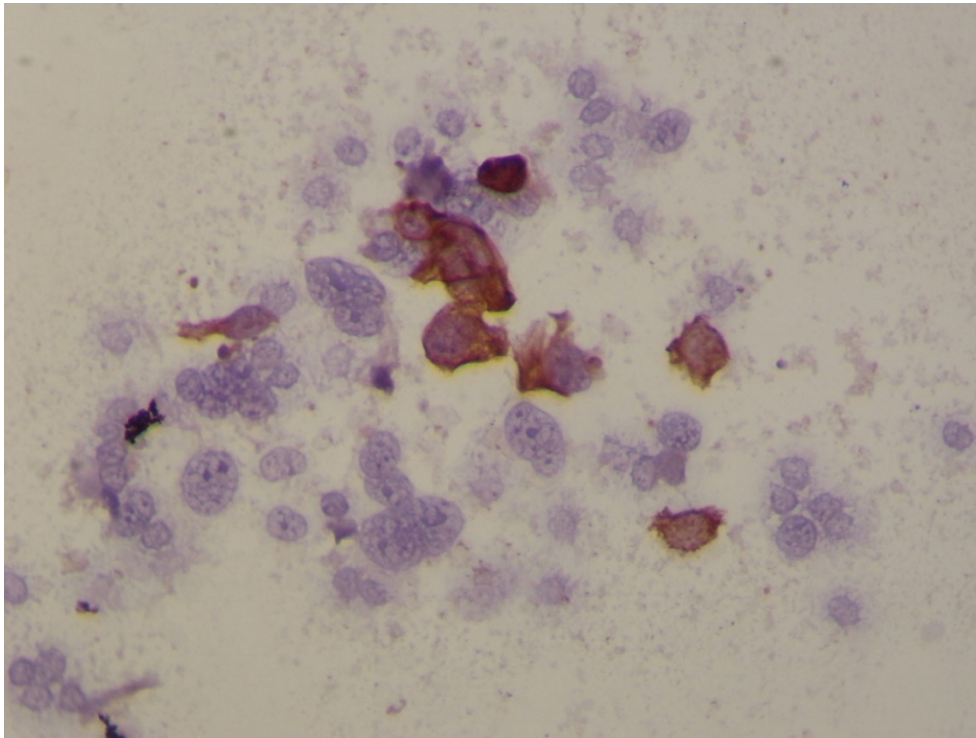
La difusión de la técnica de ICQ es limitada. En medicina humana se utiliza rutinariamente en algunos centros asistenciales y se ha incorporado en estudios clínicos controlados. En medicina veterinaria, su utilización es experimental. El costo de los anticuerpos para conformar un panel que asegure utilidad de la técnica condiciona, en buena medida, la implementación de la misma, a excepción de aquellos laboratorios en los que la IHQ se realiza de rutina. El conocimiento de los alcances de la ICQ por parte de los profesionales podría incrementar su demanda y así favorecer la puesta en marcha del método en el laboratorio de patología y el entrenamiento del personal en la interpretación de los resultados (Ramos-Vara 2016). La siguiente lista de anticuerpos incluye algunos de los más utilizados en patología diagnóstica (Tabla 18.1).

Tabla 18.1 Anticuerpos más utilizados en patología diagnóstica.

Antígeno	Especie	Proveedor	Uso	Localización en tejidos	Localización celular
Actina muscular	Perro	Dako	Neoplasias musculares	Músculo esquelético, miocardio	Citoplasmática
Actina de músculo liso	Perro	Dako	Neoplasias de músculo liso	Estómago, intestino	Citoplasmática
CD3	Perro	Dako	Linfoma de células T	Linfonódulo, bazo	Membrana
CD18	Perro	Universidad de California-Davis	Procesos histiocíticos	Linfonódulo, bazo	Membrana
CD20	Perro, gato	Thermo Scientific	Linfoma de células B	Linfonódulo, bazo	Membrana
CD31	Perro/gato	Dako	Neoplasias del endotelio vascular y neoplasias megacariocíticas	Piel, vasos.	Membrana
CD79a	Perro/gato	Cell Marque	Linfoma de células B	Linfonódulo, bazo.	Membrana
CD117 (c-kit)	Perro, gato	BioGenex	Mastocitomas, GIST*, melanomas	Mastocitomas	Membrana y citoplasmática
Citoqueratina AE1-AE3	Perro, gato	Leica	Marcador general de células epiteliales	Piel	Citoplasmática
Pan-Citoqueratina	Perro	Dako	Marcador general de células epiteliales	Epitelio glandular o escamoso	Citoplasmática
Desmina	Perro	Dako	Neoplasias musculares	Piel, estómago, intestino	Citoplasmática
Enolasa neuro específica	Perro	Dako	Marcador neuroendocrino	Páncreas	Citoplasmática
Antígeno relacionado al Factor VIII (vWF)	Perro, gato	Dako	Neoplasias del endotelio vascular y neoplasias megacariocíticas	Piel, vasos	Membrana
HLA-DR (MHC-II)	Perro	Dako	Células presentadoras de antígenos y linfocitos	Histiocitoma, linfonódulo	Membrana
Proteína glial fibrilar ácida	Perro	Dako	Neoplasias nerviosas (gliales)	Cerebro	Citoplasmática
Ki-67	Perro	Dako	Marcador de proliferación nuclear	Linfoma	Nuclear
Melan-A	Perro, gato	Dako	Neoplasias melanocíticas, neoplasias productoras de esteroides	Melanoma	Citoplasmática
MIFT	Perro	Dako	Neoplasias melanocíticas	Melanoma	Nuclear
PCNA	Perro, gato	BioGenex	Marcador de proliferación	Linfoma, linfonódulo	Nuclear
S-100	Perro, gato	Leica	Marcador de células nerviosas, neoplasias neuroendocrinas	Cerebro, nervios	Citoplasmática-nuclear
Sinaptofisina	Perro	Dako	Marcador neuroendocrino	Páncreas	Citoplasmática
Tirosinasa	Perro, gato	Dako	Neoplasias melanocíticas	Melanoma	Citoplasmática
Vimentina	Perro, gato	BioGenex	Marcador de tumores mesenquimáticos	Piel, estómago	Citoplasmática

* Tumor del estroma gastrointestinal

Nota. Adaptado de Cross-reactivity of antibodies among different species, Ramos-Vara J. A. y Borst L. B., 2017, *Immunohistochemistry: Fundamentals and Applications in Oncology*. En Meuten D. J., *Tumors in Domestic Animals*, (44-87) Fifth Edition. Ames, Iowa, USA: John Wiley & Sons Inc.

Figura 18.1. *Inmunomarcación positiva a citoqueratina.*

Células epiteliales obtenidas de neoplasia pulmonar múltiple (metástasis). Citoqueratina. LSAB, Obj. 100X.

Factores pronósticos: su uso en oncología veterinaria

En las últimas décadas, la medicina veterinaria ha logrado reducir la mortalidad asociada a las enfermedades infecciosas de los animales de compañía. Es por ello que el promedio de vida de los mismos se ha prolongado considerablemente. En consecuencia, las enfermedades llamadas de la “edad avanzada”, dentro de las cuales se incluyen las neoplásicas, han adquirido una particular importancia. Actualmente se considera que entre el 15 y el 20% de los animales adultos que reciben atención médica padece procesos neoplásicos. Así, la oncología veterinaria ha surgido como una disciplina compleja y de interés creciente, cuyo propósito es resolver los distintos problemas que plantean los pacientes que padecen una enfermedad tumoral (Cuitiño 2011).

El diagnóstico asertivo de la neoplasia, su grado de malignidad y el reconocimiento de su diseminación regional o sistémica constituyen elementos fundamentales para la predicción del comportamiento biológico y para la planificación del tratamiento.

Existe un acuerdo general acerca de que las neoplasias se originan de la expansión clonal de una sola célula que sufrió transformación maligna. La progresión tumoral es el proceso por el cual las células transformadas adquieren más características deletéreas para el huésped. Algunos de los clones que emergen son localmente más agresivos, mientras que otros presentan más probabilidad de generar metástasis, o bien son menos susceptibles a la terapia.

Además de la cinética celular, otros factores modifican la tasa de crecimiento y progresión tumoral. Se ha prestado considerable atención a los mecanismos por los que los tumores adquieren su abastecimiento sanguíneo, ya que del sostén trófico depende su crecimiento y los procesos implicados pueden ser blancos de procedimientos terapéuticos.

Con el objetivo de identificar posibles indicadores pronósticos, una gran variedad de proteínas se encuentra en estudio. Se denominan marcadores tumorales a las sustancias detectables en tejidos tumorales o fluidos corporales de pacientes con neoplasias. Según el origen, pueden ser sintetizadas por las propias células tumorales o por otras, inducidas por ellas. Estas moléculas se clasifican en: moléculas nuevas, moléculas conocidas pero expresadas en forma ectópica, en cantidades anómalas o en momentos del desarrollo diferentes del habitual y moléculas conocidas pero estructuralmente alteradas. Idealmente, estos marcadores deberían reunir las siguientes características: ser producidos mientras el tumor está presente, ser específicos del tumor o el órgano, ser detectables en todos los pacientes con el mismo tipo de tumor y tener una concentración paralela al crecimiento de la masa tumoral o alguna característica asociada a la progresión. Estos marcadores se analizan en diferentes muestras: tejido tumoral, fluidos o células aisladas. El hallazgo de determinadas proteínas o metabolitos puede caracterizar un tipo tumoral o ser informativo con respecto a la progresión del tumor, entre otras posibilidades.

Los objetivos del uso de marcadores tumorales son:

- predecir la susceptibilidad de un individuo a un tumor en particular
- establecer o confirmar un diagnóstico
- asignar un grado de acuerdo a la agresividad y riesgo metastásico de un tumor
- mejorar la clasificación
- lograr una mejor estadificación
- brindar información pronóstica
- monitorear la enfermedad en curso
- establecer o dirigir la terapia al predecir la sensibilidad o resistencia del tumor
- monitorear o estudiar la biología de un tumor para aplicaciones posteriores

Entre los marcadores tumorales, los marcadores de pronóstico son las moléculas capaces de brindar información sobre el comportamiento del tumor y la evolución clínica que tendrá el paciente. El objetivo es asociar el marcador con el período de tiempo libre de enfermedad y el tiempo de supervivencia global. Los marcadores predictivos son moléculas útiles para seleccionar pacientes con alta probabilidad de responder exitosamente a un tratamiento determinado.

Entre los marcadores generales más utilizados en el pronóstico de las neoplasias se incluyen:

- anticuerpo anti PCNA (antígeno nuclear de proliferación celular). Se utiliza para medir la proliferación celular. No se han encontrado correlaciones con el tiempo de supervivencia en distintos tipos de tumores (Scase, 2018; Webster y col, 2007).
- anticuerpo anti proteína nuclear Ki67. También se utiliza para medir proliferación celular. Se cree que podría contribuir a la condensación de cromosomas y estar involucrada en la fragmentación de la envoltura nuclear durante la división celular (Webster 2007).

- anticuerpos anti Factor VIII. Uno de ellos, el factor de von Willebrand, es un marcador de angiogénesis, la que se considera un proceso crítico en la progresión y diseminación de las neoplasias.
- anticuerpo anti CD31, también conocido como PECAM-1 (molécula de adhesión plaquetaria de la célula endotelial-1). Es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que interviene en la adhesión celular.
- anticuerpo anti VEGF (factor de crecimiento de endotelios vasculares). VEGF ha sido identificado como uno de los factores más relevantes de angiogénesis tumoral y es el único mitógeno que actúa especialmente sobre las células endoteliales.
- anticuerpo anti CD117 o Proteína KIT. Si bien esta proteína se encuentra en la membrana de mastocitos normales, su detección en el interior del citoplasma en mastocitomas caninos se ha asociado a un aumento de la recidiva local del tumor, una disminución del tiempo de supervivencia y un aumento del grado tumoral. Por esta razón, se la considera una herramienta pronóstica valiosa en mastocitomas caninos (Kiupel 2004; Reguera 2000).

Conclusiones

La inmunocitoquímica es aceptada actualmente como una técnica de gran utilidad en citología. La misma aumenta la precisión del diagnóstico citológico, sobre todo en neoplasias pobremente diferenciadas o metástasis alejadas del sitio primario de lesión, y permite la identificación de marcadores para aplicar terapias oncológicas efectivas.

Además, el uso de marcadores pronósticos permite una mayor predicción del comportamiento del tumor, su respuesta al tratamiento y su eventual recidiva.

Referencias

- Argyle, D. J., Nasir, L. (2003). Telomerase: A potential diagnostic and therapeutic tool in canine oncology. *Veterinary Pathology*, 40(1), 1-7. <https://doi.org/10.1354/vp.40-1-1>
- Burry, R. W. (2011). Controls for immunocytochemistry: An update. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 59(1), 6-12. <https://doi.org/10.1369/jhc.2010.956920>
- Cuitiño, M. C. (2011). *Neoplasias melanocíticas en caninos: evaluación de marcadores inmunohistoquímicos que contribuyen a la formulación del diagnóstico y del pronóstico* [Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/https://doi.org/10.35537/10915/1589>
- Fetsch, P. A.; Abati, A. (2004). Ancillary techniques in cytopathology. En *Atlas of diagnostic cytopathology* (pp. 745-775).

- Fetsch, P. A., Simsir, A., Brosky, K., Abati, A. (2002). Comparison of three commonly used cytologic preparations in effusion immunocytochemistry. *Diagnostic Cytopathology*, 26(1), 61-66. <https://doi.org/10.1002/dc.10039>
- Kiupel, M., Webster, J. D., Kaneene, J. B., Miller, R., Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2004). The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 41(4), 371-377. <https://doi.org/10.1354/vp.41-4-371>
- Kow, K., Bailey, S. M., Williams, E. S., Withrow, S., Lana, S. E. (2006). Telomerase activity in canine osteosarcoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4(3), 184-187. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2006.00106.x>
- Long, S., Argyle, D. J., Nixon, C., Nicholson, I., Botteron, C., Olby, N., Platt, S., Smith, K., Rutteman, G. R., Grinwis, G. C. M., Nasir, L. (2006). Telomerase reverse transcriptase (TERT) expression and proliferation in canine brain tumours. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 32(6), 662-673. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2006.00776.x>
- Metzgeroth, G., Kuhn, C., Schultheis, B., Hehlmann, R., Hastka, J. (2008). Diagnostic accuracy of cytology and immunocytology in carcinomatous effusions. *Cytopathology*, 19(4), 205-211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2303.2007.00468.x>
- Ramos-Vara, Jose A.; Avery, Paul R.; Avery, A. C. (2016). Advanced Diagnostic Techniques. En *Canine and Feline Cytology* (3rd ed., pp. 460-494). St Luis Usa: Elsevier
- Ramos-Vara, J. A., Miller, M. A. (2014). When Tissue Antigens and Antibodies Get Along: Revisiting the Technical Aspects of Immunohistochemistry-The Red, Brown, and Blue Technique. *Veterinary Pathology*, 51(1), 42-87. <https://doi.org/10.1177/0300985813505879>
- Reguera, M. J.; Rabanal, R. M.; Puigdemont, A.; Ferrer, L. (2000). Canine mast cell tumors express stem cell factor receptor. *The American Journal of Dermatopathology*, 22(1), 49-54.
- Scase, T. (2018). Canine Mast Cell Tumors: Correlation of Apoptosis and Proliferation Markers with Prognosis. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951-952., 10-27.
- Sheffield, M. V., Yee, H., Dorvault, C. C., Weilbaecher, K. N., Eltoun, I. A., Siegal, G. P., Fisher, D. E., Chhieng, D. C. (2002). Comparison of five antibodies as markers in the diagnosis of melanoma in cytologic preparations. *American Journal of Clinical Pathology*, 118(6), 930-936. <https://doi.org/10.1309/EWK9-LUPR-6BC5-1GXV>
- Shi, S. R., Shi, Y., Taylor, C. R. (2011). Antigen retrieval immunohistochemistry: Review and future prospects in research and diagnosis over two decades. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 59(1), 13-32. <https://doi.org/10.1369/jhc.2010.957191>
- Shield, P. W., Perkins, G., Wright, R. G. (1996). Immunocytochemical staining of cytologic specimens: How helpful is it? *American Journal of Clinical Pathology*, 105(2), 157-162. <https://doi.org/10.1093/ajcp/105.2.157>
- Skoog, L., Tani, E. (2011). Immunocytochemistry: An indispensable technique in routine cytology. *Cytopathology*, 22(4), 215-229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2303.2011.00887.x>
- Stefanovic, S., Diel, I., Sinn, P., Englert, S., Hennigs, A., Mayer, C., Schott, S., Wallwiener, M., Blumenstein, M., Golatta, M., Heil, J., Rom, J., Sohn, C., Schneeweiss, A., Schuetz, F., Domschke, C. (2016). Disseminated Tumor Cells in the Bone Marrow of Patients with

- Operable Primary Breast Cancer: Prognostic Impact in Immunophenotypic Subgroups and Clinical Implication for Bisphosphonate Treatment. *Annals of Surgical Oncology*, 23(3), 757–766. <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4895-3>
- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Miller, R. A., Kaneene, J. B., Kiupel, M. (2007). Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: Associations with c-KIT and its role in prognostication. *Veterinary Pathology*, 44(3), 298-308. <https://doi.org/10.1354/vp.44-3-298>
- Yaziji, H., Barry, T. (2006). Diagnostic immunohistochemistry: What can go wrong? *Advances in Anatomic Pathology*, 13(5), 238-246. <https://doi.org/10.1097/01.pap.0000213041.39070.2f>
- Zanoni, D. S., Grandi, F., Cagnini, D. Q., Bosco, S. M. G., Rocha, N. S. (2012). Agarose cell block technique as a complementary method in the diagnosis of fungal osteomyelitis in a dog. *Open Veterinary Journal*, 2(1), 19-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/26623286%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4655780>

Los autores

Coordinadores

Machuca, Mariana Alejandra

Médica Veterinaria (1995), Doctora en Ciencias Veterinarias (2007), Profesora Asociada, Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Docente de: "Curso de Citología diagnóstica en pequeños animales", Especialidad de Diagnóstico de Laboratorio. FCV.UNLP. Integrante del Laboratorio de Patología Especial Veterinaria "Dr. B. Esptein" y del Servicio Centralizado de Diagnóstico e Investigación de las Enfermedades de los Cerdos, FCV, UNLP. Coautora/autora de: "Lawsonia intracellularis in pigs: Progression of lesions and involvement of apoptosis". *Vet. Pathol.* 54 (4) 620-628. 2017; Compendio de Clínica y Sanidad de los Cerdos. De la Granja al Laboratorio. EDULP, 2019; Dermatitis autoinmunes en caninos: estudio retrospectivo. (2004-2016). *Rev. Vet.* 30 (1): 70-75, 2019. Directora de proyectos de investigación en el área de patología animal. Directora del Departamento de Ciencias Preclínicas, FCV, UNLP.

Massone, Adriana Raquel

Médica Veterinaria, doctora en Ciencias veterinarias de la FCV, UNLP. Profesora Asociada de la Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Docente de: "Curso de Citología diagnóstica en pequeños animales", Especialidad de Diagnóstico de Laboratorio. FCV.UNLP. Desarrollo de la actividad profesional en el área de la patología animal con énfasis en patología de pequeños animales, dermatopatología. Directora de proyectos de investigación en el área de patología de caninos y felinos. Integrante del LAPEVET, FCV, UNLP. Co autora de "Persistent activation of the mammalian target of rapamycin signalling pathway in cutaneous squamous cell carcinomas in cats". *Veterinary Dermatology*. "Introducción a las técnicas inmunohistoquímicas y aplicación en Patología". En: *Técnicas histológicas: Fundamentos y aplicaciones*. Editores: Samar ME, Ávila RE y Esteban Ruiz FJ.

Quiroga, María Alejandra

PhD, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo (2006). Doctora en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV, UNLP) (2003). Médico Veterinario, FCV, UNLP (1986). Profesora Titular de la Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Docente de la Especialización en Producción y Sanidad

Porcina, FCV, UNLP. Directora del Laboratorio de Patología Especial Veterinaria “Dr. B. Epstein” (LAPEVET) FCV, UNLP. Directora del Servicio Centralizado de Diagnóstico e Investigación de las Enfermedades de los Cerdos (DIAPORC), LAPEVET, FCV, UNLP. Directora de proyectos de investigación acreditados por UNLP y por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, FONCyT en sanidad porcina.

Autores

Aspitia, Carolina Gabriela

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Auxiliar Diplomado, dedicación exclusiva, Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Auxiliar Diplomado, dedicación simple, Cátedra de Virología, FCV, UNLP. Docente del curso de posgrado “Citología diagnóstica en pequeños animales”, Cátedra de Patología Especial FCV, UNLP. Médica veterinaria en el área de clínica de pequeños animales en la actividad privada. Desarrollo de la actividad profesional en el área de la patología y virología animal, con énfasis en cerdos y pequeños animales (necropsia, diagnóstico anatomopatológico macroscópico y microscópico, técnicas de inmunohistoquímica y diagnóstico molecular). Participación en proyectos de investigación en el área de la patología y virología porcina y de pequeños animales.

Caggiano, Natalia Cecilia

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesora Adjunta dedicación semiexclusiva, Curso de Patología Especial, FCV, UNLP. Ayudante de Primera dedicación semiexclusiva, Cátedra de Clínica Médica de Pequeños Animales del Hospital Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de Buenos Aires (UBA). Docente del curso de posgrado “Citología diagnóstica en pequeños animales”, Cátedra de Patología Especial FCV, UNLP. Médica veterinaria en el área de clínica de pequeños animales en la actividad privada. Coautora del capítulo “Tuberculosis”. En Gisbert, MA Las enfermedades zoonóticas de los animales de compañía. 1° ed. Editorial Intermédica. 2021. Docente-Investigador en proyecto sobre estudios multidisciplinarios de los principales procesos mórbidos en animales de compañía, LAPEVET, FCV, UNLP

Castellano, María Cecilia†

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (1975).-Doctora en Ciencias Veterinarias, FCV, UNLP (1987). Profesora Adjunta a cargo de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales. FCV, UNLP. Desarrollo profesional en clínica médica de pequeños animales (dermatología y oncología). Multifocal renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis in the dog. (2005) Compendium on Continuing Education for the Practising

Veterinarian. 27(11):846.853. Rhinosporidiosis. Cap.83, pp793-795. En: Greene CE(ed). Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3th edition.2006. Canine mammary carcinomas: influence of histological grade, vascular invasion, proliferation, microvessel density and VEGFR2 expression on lymph node status and survival time. Veterinary and Comparative Oncology, 2016. Directora de proyectos de investigación en patología y clínica de caninos y felinos domésticos.

Casas, Luciano Agustín

Médico Veterinario, egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Profesor Adjunto a cargo de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales FCV-UNLP. Coordinador del Curso de Clínica de caninos y felinos domésticos. Jefe del Servicio de Clínica de Pequeños Animales del Hospital Escuela FCV-UNLP. Auxiliar diplomado de la Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica FCV-UNLP. Docente del Curso optativo Farmacología Clínica. Docente del curso de posgrado “Citología diagnóstica en pequeños animales”, FCV, UNLP Actualmente Vicepresidente de la Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía Argentina (AVEACA). Docente-Investigador en proyecto sobre estudios multidisciplinarios de los principales procesos mórbidos en animales de compañía, Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, FCV, UNLP.

del Amo, Alicia Noemí

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata. (UNLP) 1978. Docente Universitario y Docente Autorizado en la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales. Otorgados por la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP 1990. Especialista en Clínica de Caninos y Felinos Domésticos. Otorgado por el Colegio de Veterinarios de la Provincia de Buenos Aires. 1997. Ex Profesor Adjunto ordinario dedicación exclusiva, a cargo de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales, FCV, UNLP. Ex Jefe del Servicio de Clínica e Internación de Pequeños Animales del Hospital Escuela FCV. UNLP. Ex Coordinadora del curso: “Clínica de Caninos y felinos domésticos”. “Actualización de trauma encéfalo-craneano” Parte 1 y 2. Petersen, P; De Palma, V; del Amo, AN. *Revista Praxis*, 2da Ed.- agosto- 2020:37-45 y 3ra Ed. 2020:2-30.

Fontana, Lorena Lucía Laura

Médica Veterinaria. Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos en el Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios. FCV-UNLP. Docente del curso de Análisis Clínicos Veterinarios y de la Especialización de Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, FCV-UNLP. Directora técnica de un laboratorio de diagnóstico veterinario de pequeños animales privado. Docente Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaría de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNLP. Publicaciones: “Atlas de hematología veterinaria, Técnicas e interpretación del hemograma en pequeños animales”, 2020. “Atlas de orina, análisis de orina e interpretación de los resultados en caninos, felinos y equinos”, en prensa.

Guido, Nicolás Matías

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos dedicación semiexclusiva, Curso de Patología Especial, FCV, UNLP. Docente del curso de posgrado “Citología diagnóstica en pequeños animales”, Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Médico veterinario en el área de clínica de pequeños animales en la actividad privada. Docente-Investigador en proyecto sobre estudios multidisciplinares de los principales procesos mórbidos en animales de compañía, Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, FCV, UNLP. Docente-Investigador en proyecto sobre evaluación y diagnóstico de lesiones y causas de muerte en equinos de carrera, Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, FCV, UNLP.

Guzmán Loza, Ana

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos dedicación simple Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Jefe de Trabajos Prácticos dedicación simple Cátedra de Enfermedades de Caninos y Felinos Domésticos, FCV, UNLP. Auxiliar Diplomado dedicación simple Cátedra de Clínica de Pequeños Animales, FCV, UNLP. Docente del Curso de Posgrado “Citología diagnóstica en pequeños animales”. Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP. Integrante Laboratorio de Patología Especial Veterinaria “Dr. B. Epstein” (LaPEVet) FCV, UNLP. Integrante en proyecto sobre estudios multidisciplinares de los principales procesos mórbidos en animales de compañía. LaPEVet, FCV, UNLP. Médica Veterinaria en el área de clínica y citodiagnóstico de pequeños animales en la actividad privada.

Iveli, Sebastián

Médico Veterinario egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP) en el año 2008. Profesor Adjunto de la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales de la FCV-UNLP. Docente del Curso de Clínica de caninos y felinos domésticos, Departamento de Clínicas. Miembro del Servicio de Clínica de Pequeños Animales del Hospital Escuela FCV-UNLP. Es director y codirector de pasantías realizadas por la Cátedra de Clínica de Pequeños Animales de la FCV-UNLP. Disertante de posgrado a nivel nacional e internacional. Su área de desarrollo es la Medicina Interna de Pequeños Animales tanto en docencia, investigación y extensión.

Madariaga, Gonzalo Julián

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesor Adjunto dedicación exclusiva, Curso de Patología Especial, FCV, UNLP. Docente del curso de posgrado “Citología diagnóstica en pequeños animales”, Cátedra de Patología Especial FCV, UNLP. Miembro de Consejo Directivo del Laboratorio de Patología Especial Ve-

terinaria “Dr. B. Epstein” (LAPEVET) FCV, UNLP. Docente-Investigador en proyecto sobre estudios multidisciplinarios de los principales procesos mórbidos en animales de compañía, Laboratorio de Patología Especial Veterinaria “Dr. B. Epstein” (LAPEVET), FCV, UNLP.

Pretti, Romina Valeria

Medica Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, año 2001. Especialista en Diagnostico de Laboratorio Veterinario en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, año 2017. JTP simple en la Cátedra de Patología Especial, JTP semidedicación en el Laboratorio Central de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP. Pasante en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA, en el área de Patología Clínica, Tema: oncohematología, año 2004.

Stornelli, María Alejandra

Médica Veterinaria, FCV. UNLP. Doctora en Ciencias Veterinarias, FCV. UNLP. Especialista en Docencia Universitaria, UNLP. Profesora Asociado de la Cátedra de Reproducción Animal, FCV, UNLP. Subdirectora del Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal (INIRA). -Coordinadora del Servicio de Clínica Reproductiva de caninos y felinos (Hospital Escuela FCV. UNLP). Representante Argentino, Standing Committee, International Congress of Animal Reproduction. Directora del Departamento de Clínicas. FCV. UNLP. Autor de: Relationship between semen quality and seminal plasma cholesterol, triacylglycerols and proteins in the domestic cat; Serum progesterone concentration, volume, and apoptosis of corpora lutea in early, middle and late diestrus in the bitch.; Effect of cat seminal plasma and purified llama ovulation-inducing factor (b-NGF) on ovarian function in queens.

Stornelli, María Cecilia

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV, UNLP) (1994). -Doctora en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (FCV, UNLP) (2012). -Especialista en Docencia Universitaria UNLP 2021.-Profesor Adjunto de la Cátedra de Reproducción Animal y Análisis Clínicos Veterinarios. FCV, UNLP. -Desarrollo de la actividad profesional en el área Reproducción en Pequeños Animales (Clínica reproductiva y Biotecnologías de la Reproducción) y Análisis Clínicos Veterinarios. Categoría III del Programa de Incentivos a los Docentes Investigadores. FACULTAD DE CS. VETERINARIAS. Integrante del Proyecto de Incentivos: Monitoreo de la salud animal y utilización de biotecnologías reproductivas para mejorar la eficiencia reproductiva en animales de interés productivo y de compañía II.

Citología en caninos y felinos domésticos : herramientas para la interpretación diagnóstica / Mariana Alejandra Machuca ... [et al.] ; Coordinación general de Mariana Alejandra Machuca ; Adriana Raquel Massone ; María Alejandra Quiroga. - 1a ed - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; EDULP, 2024.
Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-950-34-2368-4

1. Citología. 2. Diagnóstico. 3. Neoplasias. I. Machuca, María Alejandra, coord. II. Massone, Adriana Raquel, coord. III. Quiroga, María Alejandra, coord.
CDD 636.089

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

EduLP integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2024
ISBN 978-950-34-2368-4
© 2024 - EduLP

n
naturales


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA