

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Escuela de Química Biológica

LA COLORACION DE PAPANICOLAOU EN EL
DIAGNOSTICO PRECOZ DEL CANCER UTERINO
MEDIANTE EL USO DEL FROTIS CERVICAL

Tesis Doctoral presentada por
CARLOS RIVAS CIERRA
En el Acto de su Incorporación

1958

San Salvador

El Salvador

Centro América

T
616.99466
R618c
1958
F.C.C.Q.Q.
E. 1



063500

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

Dr. ROMEO FORTIN MAGAÑA

Secretario

Dr. JOSE ENRIQUE CORDOVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Decano

Dr. VICTOR ORTIZ

Secretario

Dr. JOSE M. TEJADA

Director de la Escuela de Química Biológica

Dr. MANUEL SALINAS ARIZ

A mis padres:

Carl. y Dr. Arturo Rivas Mena

Blanca C. de Rivas Mena

A mis hermanos:

Wallace Rivas Cierra

Edwin Rivas Cierra

Arturo Rivas Cierra

AGRADECIMIENTOS:

A la Doctora Stella G. de Grabowski por el generoso aporte de material experimental.

A los Doctores Salvador Batista Mena y Andrés Goens por haber facilitado abundante literatura sobre el tema.

A los Laboratorios Unidos y Alvarez Alemán, lo mismo que al Laboratorio Clínico Patológico del Hospital Rosales por haber puesto a mi disposición las facilidades necesarias para el desarrollo de esta Tesis.

C O N T E N I D O

- I.- INTRODUCCION
 - II.- CONSIDERACIONES GENERALES.
 - A. El contenido celular de la Vagina, Cervix, Endocervix y Endometrio.
 - B. La Citología en el Cáncer.
 - III.- OBTENCION DE LAS MUESTRAS.
 - A. Obtención del frotis cervical. Biopsia Superficial.
 - B. Preservación del frotis para el Estudio Citológico.
 - C. Forma de reportar los resultados.
 - IV.- LA COLORACION DE PAPANICOLAOU.
 - A. Materiales y Métodos.
 - B. Técnica.
 - C. Resultados.
 - V.- CONCLUSIONES.
 - VI.- RESUMEN
 - VII.- BIBLIOGRAFIA
-

INTRODUCCION

El Cáncer se conoce desde los tiempos más remotos en la historia de la medicina. Fué probablemente Paul de Aegina, a principios de la Era Cristiana, el primer experto en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. Virchow, en la era del microscopio, nos dió la primera definición celular del cáncer. Investigadores desde ese entonces han estudiado las secreciones del cuerpo humano en su afán de hallar las células que llevan consigo el estigma de los crecimientos malignos.

Hace un poco más de 25 años que el Dr. George N. Papanicolaou de la Universidad de Cornell, New York, junto con el Profesor A. Babes de Budapest, reportaron poder reconocer las células malignas procedentes de secreciones vaginales humanas. Este descubrimiento, así como muchos en la historia de la medicina, no fué verdaderamente apreciado sino hasta que se comprobó su utilidad práctica. No ha sido sino hasta en los últimos años que la importancia de este descubrimiento se ha podido apreciar en su valor.

Hasta 1941, fecha en que el Dr. Papanicolaou perfeccionó su técnica, fué que se popularizó el uso del frotis vaginal como medio del estudio citológico en el diagnóstico precoz del cáncer. Meigs, Graham y col., confirmaron los hallazgos de células neoplásticas en casos de tumores

malignos. (1)

Desde 1943, Ayre (2) ha hecho énfasis sobre los métodos rutinarios de raspados cervicales como método preferencial para la obtención de las muestras para el diagnóstico del cáncer del útero. En 1944, Ayre describió un método de raspado selectivo el cual se conoce como biopsia superficial.

En los últimos años la aplicación de la citología exfoliativa en el diagnóstico precoz del cáncer se ha extendido rápidamente a través de todo el mundo. El valor de este método de estudio se basa en el hecho de que es posible descubrir cánceres asintomáticos y a tiempo para poder tratarlos efectivamente; el procedimiento para la obtención de las muestras es sumamente sencillo, la coloración es relativamente barata y la interpretación de los frotis, bastante segura, cuando están en las manos de personas con experiencia suficiente en la materia. Los exámenes citológicos pueden repetirse cuantas veces sean necesarios sin ningún dolor ni malestar para el paciente. El valor potencial de este estudio es tan grande que instituciones mundialmente reconocidas ofrecen becas y dinero para el entrenamiento de personas interesadas en citología exfoliativa. Además de sus grandes posibilidades en salubridad pública,

este método de estudio es sumamente útil en la diferenciación entre el cáncer y otras enfermedades en cualquier parte del cuerpo donde se puedan obtener secreciones o líquidos. (3)

Es un hecho verdaderamente desafortunado que no hayan suficientes personas que se dediquen a este tipo de trabajo en el Laboratorio, para así poderle prestar una ayuda más efectiva al médico en el diagnóstico precoz del cáncer. Podrá creerse que es necesario ser médico para poder realizar este trabajo; a este respecto nos dice Lombard (4) que la identificación de las células depende en pura habilidad y en la familiaridad que existe entre las células en estados benignos y malignos y que el conocimiento médico y científico tienen únicamente una importancia secundaria. Podemos notar igualmente que hay textos de referencias (5), recomendados por médicos especializados en la materia, que han sido escritos por personas que no son médicos y que sus diagnósticos son respetados científicamente.

Mc Laren y col., (6) informan sobre el estudio citológico verificado en 5000 pacientes, en los cuales se encontró, por personas técnicas, 33 casos positivos fuera de 34 que fueron comprobados por biopsia histológica.

El Laboratorio Clínico, desde muchas décadas atrás ha prestado grandes servicios a la medicina y es bien sabido de sus adelantos en Microbiología, Inmunología, Bioquímica,

Hematología, etc. Sin embargo, no fué sino hasta que Papanicolaou descubrió e identificó correctamente las células características del cáncer, que la ciencia de la citología Exofoliativa ha tomado gran auge.

Es el propósito de este trabajo presentar mis pocas experiencias personales relativas a la coloración de Papanicolaou y sobre el estudio citológico de estos frotis cervicales de manera general, con el deseo de que mis experiencias sirvan como un acicate para promover el estudio y uso de este procedimiento dentro de nuestro ambiente. Bien dijo Papanicolaou, el Fundador de la Citología Moderna, que la Citología era una ciencia en su infancia, que se convertiría en un titán. (2)

CONSIDERACIONES GENERALES

A. El contenido celular de la Vagina, Cervix, Endocervix y Endometrio.

El tracto femenino genital está cubierto de tejido epitelial escamoso el cual está constituido por tres zonas. Estas son: la germinal, basal o intermedia y la zona superficial. Todas estas zonas desprenden sus células, características al microscopio, en el flujo vaginal. La secreción vaginal tiene una consistencia mucóidea y contiene una gran cantidad de células descamadas, leucocitos, histiocitos, a veces hematies, parásitos y hongos y una gran cantidad de

bacterias. La cantidad de las células y su apariencia dependerá en gran parte de la fase del ciclo menstrual en que se encuentre y en la actividad de los ovarios. Las células superficiales son las que predominan durante el ciclo sexual normal. Es sumamente importante tener un conocimiento adecuado de todas las células normales que se encuentran en el flujo vaginal. (2), (7), (8) y (9).

El epitelio de la vagina y del cervix es responsable por dos funciones muy importantes: la de Secreción o de producción del glicógeno y la otra protectora, la de Cornificación. A medida que las células se descaman, pierden la mayor parte de su glicógeno. Normalmente, la cornificación es incompleta. En estados patológicos, ej. Leukoplakia, se puede observar completa keratinización. (10)

Las estructuras características y los cambios en el ciclo del epitelio vaginal y cervical, se pueden observar en la constitución del flujo vaginal. (10) Así pues, examinando frotis de secreción vaginal, podemos observar los cambios de ciclo o modificaciones que ocurren a diario.

El frotis vaginal resulta ser un verdadero criterio para la evaluación y extensión de actividad folicular igualmente que para observar el efecto del tratamiento a base de hormonas estrogénicas y gonadotrópicas en la amenorrea y la menopausia. (10) (11).

Es sumamente importante poder identificar todas las células que provienen de las zonas del tejido epitelial escamoso, pues este conocimiento resulta ser indispensable para facilitar el reconocimiento de las células normales o las células procedentes de tumores malignos.

Hace un momento expliqué que el tejido epitelial escamoso del tracto genital estaba constituido de tres zonas de células: Germinal, Basal y Superficial. A continuación trataré de presentar una descripción generalizada de la arquitectura de estos tres tipos de células. En este respecto es de notarse que Ayre enumera seis tipos de células procedentes del tejido epitelial escamoso. En realidad él considera tres tipos de células diferenciables de la zona superficial que son: hipercornificada, cornificada y precornificada. Igualmente Ayre reconoce dos tipos de células de la zona basal, las parabasales y las basales propiamente dichas. El sexto tipo de célula corresponde a la célula intermedia.

Las células de la zona germinal muy rara vez se encuentran en los frotis de secreción vaginal y por lo tanto no nos ocuparemos de ellas. Las células transicionales o basales varían grandemente en su tamaño pero son relativamente mucho más pequeñas que las células superficiales. Estas células pueden ser redondas o angulares con un citoplasma basofílico. El núcleo es grande y granuloso. Esta es la cé-

lula normal más pequeña de la variedad epidermoidea. Frotis en los cuales aparece abundancia de este tipo de células, corresponden a estados en los cuales las hormonas estrogénicas o foliculares se encuentran en cantidades mínimas.

Las células superficiales son las más fáciles de reconocer. Estas son células relativamente grandes de citoplasma abundante y núcleo bastante pequeño, según el grado de maduración. Estas células se denominan cornificadas o precornificadas según su desarrollo. El citoplasma de estas células es transparente y casi siempre toma la coloración acidofílica.

Hasta ahora he tratado sobre el tejido epitelial escamoso y de su contenido celular, a continuación hablaré sobre el tejido epitelial columnar, el cual sirve de revestimiento al endometrio y al endocervix.

El epitelio columnar del endocervix está constituido por una sola capa de células que se denominan células endocervicales. Este tipo de células no ocurre muy frecuentemente en el flujo vaginal. La forma de las células varía grandemente. Algunas son redondas, otras son cuboidales o columnares. El citoplasma es bastante pálido y tiene tendencia a ser fino o gruesamente vacuolado. Este tipo de células es fácil de confundirlo con las células de características malignas, probablemente debido a que hay muy poca

descamación de ellas y esto contribuye a ocasionar confusión. Un punto muy importante de notar en las células endocervicales es que, la forma del núcleo varía muy poco. Estas células son muy abundantes en la fase folicular, en condiciones inflamatorias y durante los embarazos. (8)

Las células endometriales se encuentran normalmente en el frotis únicamente cerca o durante el período menstrual. Las células son casi siempre redondas y difíciles de reconocer cuando aparecen solas. Estas células se traslapan y aparecen en grupos. El núcleo está constituido de una granulación fina con límites marcados. El estudio de los frotis endometriales es sumamente útil para evaluar los cambios de ciclo del endometrio y de la acción de la hormona luteal. (8)

Una de las ventajas en la colección de la secreción vaginal, en vez de raspados cervicales, para el estudio citológico, es el hecho de que en la secreción vaginal podemos diferenciar células procedentes del endometrio, endocervix, vagina, etc. y desde luego determinar si éstas llevan consigo la imagen de malignidad sin tener que usar procedimientos especiales para la obtención de los tipos de células antes mencionados.

B. La Citología en el Cáncer.

El cáncer es un nuevo crecimiento es decir, un neoplas-

ma. Decimos que es un nuevo crecimiento debido a que sus células después de haber desarrollado características cancerosas, crecen en una forma nueva y diferente de sus descendientes no malignos. Algunos neoplasmas son benignos y otros no lo son. Bien podríamos decir que el cáncer es una excrecencia anormal de células del cuerpo. Cada grupo de células normales tiene su función y espacio suficiente para desarrollar sus propias actividades sin traspasar sus linderos. Este orden continúa hasta la muerte de la persona. Las células cancerosas se caracterizan precisamente por no seguir este orden. Sus células, sin dirección lógica, constituyen un tumor maligno. Las células cancerosas mueren rápidamente debido a su exagerado desarrollo y, en su lugar, y sobre los restos, se desarrollan nuevas células como tentáculos que permiten que se visualice clínicamente el tumor. El diagnóstico de la enfermedad es entonces inequívoco. Hasta el momento no hay ninguna representación bioquímica del tejido canceroso. Existe evidencia de variación bioquímica y biológica entre los tejidos cancerosos del mismo lugar de origen (3). Lindner (12) es de la opinión que los cambios bioquímicos asociados con la muerte de la célula son los responsables por los distintos cambios morfológicos que son característicos de las células cancerosas; son estos cambios precisamente los que hacen que el diagnóstico citológico, mediante el frotis de Papanicolaou, sea más fácil y

bastante exacto. Las células cancerosas nunca son tan grandes como el tamaño de un huevo humano y ni tampoco tan especializadas como las células espermatoideas (13).

Con la excepción del carcinoma en situ, que permanece localizado, se reconoce la malignidad como un crecimiento invasivo de células en el tejido normal. Debido a esto, las células cancerosas destruyen no solamente el tejido sino igualmente penetran los vasos sanguíneos y ductos linfáticos y son acarreadas a lugares distantes, donde el proceso invasivo continúa y se forman focos secundarios y que se llama metástasis.

Como se verá, en síntesis, este trabajo trata enfática-mente sobre los crecimientos malignos del útero, que ocupan el segundo lugar en importancia después del seno, en la mu-jer, que lleva preponderancia. Esta estimación ha llegado a alcanzar hasta el 30 por ciento en casos de crecimientos cancerosos del mismo (8).

Las diferencias existentes entre las células benignas y malignas son más que nada de grado y no de clase. Algunas de las características de malignidad, como por ejemplo el au-mento de tamaño del núcleo, variaciones en tamaño y forma del citoplasma, etc., se pueden observar en células normales.

Los tumores pueden ser grandes o pequeños, estar en la superficie o escondidos, pero mientras se encuentren sus cé-

lulas características, se podrán localizar y combatir a tiempo. Este razonamiento es análogo al de encontrar huevecillos de tricocéfalo en las heces fecales y reportar la presencia del parásito.

Por consiguiente, al estudiar las células que se han desprendido del tejido, es necesario recordar dos cosas: que no hay criterio infalible que seguir sobre la malignidad de las células, pero sí, existen grados y combinaciones de cambios que pueden considerarse típicos de malignidad y que en la mayor parte de los casos, la evaluación de estos cambios depende en el conocimiento del tejido de origen y el tipo de cáncer que produce (8). La experiencia del citólogo será la que podrá juzgar sobre los límites de lo benigno y lo maligno.

Hay muchas variedades de malignidad en el útero, pero las formas más comunes son: Carcinoma Epidermoide, el cual se desarrolla del epitelio escamoso del cervix y el Adenocarcinoma de las glándulas del endometrio y del endocervix. El primero es el más común y alcanza sus más altas estadísticas en las edades de cuarenta a cincuenta años (8).

Graham y col., (7) clasifican las células malignas que causan el carcinoma escamoso del cervix, en dos grupos: Células Diferenciadas y No Diferenciadas. La distinción se basa en la presencia de citoplasma y la demarcación de los

bordes celulares. Las células diferenciadas tienen el citoplasma bien definido y los bordes celulares un poco menos. Las células malignas no diferenciadas tienen el citoplasma no muy bien definido y no se pueden observar los bordes celulares.

Dentro de las células malignas diferenciadas se pueden observar tres tipos: 1- Células en Fibra, las cuales tienen forma alargada con los núcleos hipercromáticos y alargados. 2- Células de Renacuajo, las cuales tienen por cabeza el núcleo y por cola el citoplasma, y 3- un tipo de célula parecido a la célula basal más joven pero con la excepción que tienen el núcleo hipercromático y la relación núcleo-citoplasma anormal.

En general entre menos diferenciadas son las células cancerosas éstas son más malignas.

El estudio celular de malignidad referente a las células columnares del endometrio y endocervix es diferente que el de las células que causan el carcinoma epidermoide del cervix. Los núcleos de estas células columnares son generalmente hipercromáticos y las células son pequeñas, lo cual hace difícil visualizar el citoplasma. El reconocimiento de éstas células depende en una serie de detalles en vez de evidencia intrínseca de cambios malignos dentro de la célula. Como he dicho anteriormente, las células

endometriales no se encuentran corrientemente en el frotis de manera que al encontrarlas hay que estudiarlas detenidamente.

El laboratorio siempre trata de incluir en sus reportes el tipo de tumor del que proceden las células malignas. Cuando se trata de células no diferenciadas, esto resulta practicamente imposible. Al encontrarse células no diferenciadas, algunos autores reportan: "Hallazgo consistente con carcinoma escamoso celular" (27). El médico que solicita el examen prefiere que se le reporte el tipo de tumor pues tiene gran valor en casos no sospechados. El reporte le indica al médico el lugar adonde puede encontrarse el tumor y así poder orientar la toma de la biopsia histológica para poder comprobar la presencia del tumor.

Generalmente los cambios de importancia, para dictaminar sobre la malignidad de las células, se encuentran en el núcleo; y los cambios del citoplasma, tomados por si solos, rara vez tienen significancia. El núcleo de las células cancerosas es generalmente de color negro oscuro, a esta característica se le llama hipercromatismo. Sin embargo, este es un atributo de todas las células activas, benignas o malignas. La interpretación de la célula maligna consiste en las irregularidades de tamaño y la dispersión de los gránulos de cromatina del núcleo, comparados con la

célula en los estados benignos. En las células malignas se puede observar una masa heterogénea en el contenido nuclear. El agrandamiento del nucleolo es probablemente una de las características más importantes por si solo. Estudios hechos por Foot (8) han demostrado que el promedio del diámetro del nucleolo al núcleo es mayor en las células malignas que en las células benignas. Sin embargo, algunas células malignas no tienen núcleos prominentes.

La membrana nuclear es generalmente más gruesa en las células malignas. Núcleos de diferentes tamaños y diferencias en el tamaño de las células, anisonucleosis y anisocitosis respectivamente, constituyen las características más importantes en la interpretación de las células malignas pues estos cambios no ocurren, generalmente, en estados benignos. Podemos concluir diciendo que las características más comunes en estados malignos son: macronucleolus, hipercromatismo y polimorfismo.

Algunos investigadores han propuesto la existencia de un estado precanceroso. Stewart y Symeonides (2) usan el término "neuro-carcinoma" para referirse a aquellas células que no son consideradas benignas ni tampoco malignas, es decir, una clase de puente entre los dos estados. Ayre ha descrito células denominadas de "complejo celular precanceroso" y él reconoce que este tipo de células se ob-

tiene optimamente, en los casos precancerosos, haciendo raspados superficiales de la unión escamo-columnaria del cervix. Ayre explica sobre las características que predominan en este tipo de células como por ejemplo: cornificación excesiva, células cornificadas atípicas, células gigantes, multilobulación, halo perinuclear, etc. El estatus de este estado no es reconocido por todos los investigadores. U-
nos de ellos suponen que las células que exhiben estas características precancerosas, regresarán espontáneamente a lo normal. El verdadero status tendrá que quedar asentado a través de estudios posteriores.

OBTENCION DE LA MUESTRA

A. Obtención del Frotis Cervical. Biopsia Superficial.

Muchos expertos en la materia reconocen que la toma de la muestra para estudios de citología es relativamente sencilla, pero que la coloración e interpretación de las láminas es algo que sólo puede perfeccionarse a través de largos períodos de experimentos y estudio concentrado.

Hay varios métodos para la obtención de la muestra. A pesar de que los frotis usados en el presente estudio fueron hechos, en su mayoría, con secreciones de raspados del cervix, demostraré la forma de coleccionar las muestras procedentes de la vagina, unión escamo-columnar (biopsia superficial), endocervix y endometrio, pues todos los métodos tienen su lu-

gar e importancia.

La técnica que se usa actualmente para la colección de la secreción vaginal es la original descrita por Papanicolaou y es relativamente sencilla. El siguiente equipo es necesario:

- 1.- Una pipeta de vidrio de 15 a 20 centímetros de largo por 0.5 cms. de diámetro, la cual termina en punta redondeada. Esta pipeta es ligeramente curva para facilitar la obtención de la muestra del fondo de saco posterior. Esta es la denominada pipeta de Papanicolaou.
- 2.- Un bulbo de hule, al otro extremo de la pipeta, que sirve para succionar.
- 3.- Un bote para depositar las láminas en posición vertical.
- 4.- Una solución fijadora que consiste de alcohol etílico al 95% y éter, en cantidades iguales.
- 5.- Láminas limpias y secas.
- 6.- Clips, para sujetar las láminas y a la vez no permitir que éstas se junten, dentro del bote con la solución fijadora.

El paciente no siente ningún dolor en absoluto, y el procedimiento es rápido. Colocar al paciente en posición ginecológica y separar los labios de la vulva con los dedos de una mano. Introducir la pipeta de Papanicolaou, con el

bulbo de hule comprimido en el fondo del saco posterior de la vagina. Soltar la presión en el bulbo. La succión recogerá la secreción, que a su vez contendrá las células, etc. La punta de la pipeta deberá estar en el fondo del saco exactamente, antes de empezar a aspirar para poder recoger todas las células que normalmente se hayan desprendido de los tejidos adyacentes, o las células que hayan sido acarreadas a esta región. Al soltar la presión del bulbo, es bueno pasar la pipeta alrededor de los lados de la vagina para poder recoger el mayor número de células posible. Se saca la pipeta y el contenido se expulsa sobre las láminas, a manera de que la secreción quede distribuida en forma pareja. Las láminas no deben quedar muy gruesas pues esto impide una fijación y coloración satisfactoria. Colocar las láminas en la solución fijadora. Luego se colorean.

Es de suma importancia observar las siguientes precauciones:

- 1.- No permitir que las secreciones se sequen. Sumergirlas en el líquido fijador inmediatamente. Si se secan, pierden sus características de coloración.
- 2.- La pipeta deberá estar completamente seca. El agua destruye el detalle celular.
- 3.- Indicar a la paciente no ducharse el día del examen.

Es muy conveniente hacer dos preparaciones de cada mues

tra pues en esta forma podemos revisar más células en el caso de que hayan células sospechosas y luego tendremos una lámina adicional en caso de que nos falle la coloración. El uso del espéculo y lubricante es contraindicado.

La biopsia superficial selectiva, descrita por Ayre en 1947, (2) tiene la particularidad que por este medio podemos coleccionar células vivas y frescas, de un lugar pre-escogido, la unión escamo-columnar. El cáncer del cervix se desarrolla más frecuentemente en la región de la unión del epitelio columnar del endocervix y epitelio escamoso. Algunos investigadores, entre ellos Te Linde y Galvin (2) son de la opinión de que el punto más vulnerable para el comienzo del cáncer escamoso del cervix es la unión escamo-columnar. El método de Ayre nos proporciona la obtención de las células de esta región adonde probablemente ocurren los primeros cambios malignos en las células.

Ayre usa una espátula especial de madera (las cuales pueden adquirirse, lo mismo que todos los reactivos necesarios para verificar los exámenes citológicos, en varias ca-



sas comerciales *) la cual se parece a una baja lengua corriente, pero con la diferencia que un extremo es redondeado y el otro tiene una forma de gancho. El diseño de la espátula de Ayre tiene por objeto, que el extremo que parece gancho, sirva de eje para apoyarlo en un lugar del cervix, en este caso, en el os interno, Así pues la espátula se podrá girar 360 grados alrededor y haciendo una ligera presión sobre el cervix, podremos recoger células de la unión escamocolumnar. El otro extremo redondeado de la espátula, sirve para obtener células en el caso de que haya erosión en el os externo. El cervix se visualiza mediante el uso del espéculo bi-valvular. La espátula debe de estar seca para que las células se adhieran a ella. Una vez hemos obtenido la secreción, la depositamos en las láminas y luego las depositamos en el frasco fijador. De aquí se procederá a colorearlas.

Las muestras procedentes del endocervix y endometrio deberán ser obtenidas por médicos ginecólogos con experiencia en la obtención de esta clase de muestras. Es de notarse

* "Clay-Adams", 141 East 25th St., New York 10, N.Y.,

"Scientific Products" (Division of American Hospital Supply Corporation) 1210 Leon Place, Evanston, Illinois, U.S.A.

que es un procedimiento difícil y peligroso. La obtención debe verificarse en condiciones estériles.

Para coleccionar las secreciones de las antes mencionadas cavidades, se puede usar la cánula de Cary (2). Esta cánula de metal se añade a una jeringa, y mediante el uso de un espéculo bi-valvular, para visualizar el cervix, se introduce en la cavidad endocervical o endometrial. Estas secreciones contienen células procedentes de los antes mencionados lugares casi en su totalidad. Las secreciones se colocan en láminas y posteriormente se fijarán y colorearán, en la manera descrita anteriormente.

Estudios verificados por Ayre (2) desde 1943, indican lo útil que es el uso del frotis cervical para la obtención de las muestras para investigar el cáncer del cervix. La técnica es sencilla y los resultados son muy satisfactorios. En esta técnica se usa el espéculo bi-valvular para visualizar el cervix y con la pipeta de colección de Papanicolaou se recoge el material, incluyendo el mucus, principalmente, el cual contiene todo tipo de células debido a su consistencia atrapadora. La secreción obtenida se coloca en láminas y se procede a fijarlas como se ha descrito anteriormente para luego colorearlas. Una de las ventajas de esta técnica consiste en que las células del cervix toman la coloración mucho mejor que las otras células procedentes de

otros lugares. Esto parece se debe al pH, el cual es óptimo en las secreciones cervicales, en cuanto a la coloración se refiere. Estas células cervicales guardan su morfología mucho mejor que las células vaginales pues no permanecen largos períodos de tiempo, como sucede en el flujo vaginal, en el cual flotan las células. El contenido de estas secreciones parece tener suficientes elementos celulares para poder verificar un estudio satisfactorio.

Hasta el momento se han descrito varios métodos para la colección de las muestras para estudios citológicos. Todas estas técnicas han necesitado de la asistencia de una persona entrenada, de preferencia un médico ginecólogo, para la obtención de las secreciones. A continuación describiré algunas técnicas actualmente en uso en las cuales no es necesaria la ayuda de una segunda persona pues la misma paciente se puede coleccionar sus mismas muestras y enviarlas directamente al laboratorio en el frasco con solución fijadora.

Gallo (14) cita la técnica de Nieburgs del Tampax Modificado (tapón intra-vaginal). Mediante el uso del tampax, se coloca en la punta de éste, que contiene algodón, un tejido apelotonado de nylon atado con un hilo en la misma forma que el tampax. Se usa el mismo cartucho de cartón para insertarse el tejido de nylon y luego el tampax. Se deja

en su lugar de 12 a 24 horas y luego se quitan con su cor-
dón, uno para el tejido y otro para el tampax. La pelotita
se coloca entre dos láminas, para que las células se adhie-
ran a ellas y se colocan las láminas en el frasco fijador.
Este método concentra las secreciones utero-vaginales.

Bader y col., (15) describen un método modificado del
Tampón, algo parecido al Tampax. Ellos usan un cilindro
de cabeza pacha y cubierta de tejido de nylon abultado pa-
ra que produzca un efecto ligeramente abracivo en el cer-
vix. Usaron un cilindro más grande que los usados ante-
riormente, para obtener un mejor contacto con el cervix.
El resultado de sus estudios comparó en un 97% de exacti-
tud con los frotis cervico-vaginales. Este método propor-
ciona frotis mejor preservados.

Scott y col., (16) usan el método del Tampón de Draghi.
Este consiste en un cilindro comprimido de algodón con su
parte central y mecha; la parte distal de este cilindro es-
tá envuelta en una base de nylon con poro fino. A su vez,
el cilindro de algodón está situado dentro de un envase de
cartón, el cual sirve de ayuda para poderlo sumergir con ma-
yor facilidad. El Tampón lo puede insertar una enfermera
o aún, la misma paciente. Ellos consideran que el tiempo
que permanece el Tampón dentro de la vagina y la manera de
acarrear las células adheridas a éste, a las láminas, son

los factores que determinan la eficacia de este método. Los resultados obtenidos son tan buenos como los obtenidos en los exámenes citológicos de rutina.

Alexander y Papanicolaou (17) sugieren el uso del método del Tampón de Draghi en casos de exámenes a la población en masa y en casos para detectar cánceres cervicales y endometriales. Ellos obtuvieron, mediante el método del Tampón de Draghi, 87% frotis positivos en los casos que se sabía había cáncer endometrial.

B. Preservación del frotis para el estudio citológico.

Una vez se haya hecho el frotis con la secreción obtenida, nuestro próximo objetivo es cuidar de que esta secreción conserve todos los elementos celulares que contenía al momento de la obtención de la muestra. Algunas veces los frotis contienen suficiente material celular para poder verificar un examen satisfactorio, pero resulta que ya en la lámina coloreada, sólo podemos observar una que otra célula.

A continuación expondré la manera de que no se pierdan las células de los frotis y así tener un número satisfactorio de células al verificar el examen al microscopio.

Generalmente, las secreciones cervico-vaginales se mantienen bastante bien en las láminas durante el proceso de fijación y coloración. Esto no ocurre con otros líquidos,

especialmente la orina, de la cual es difícil obtener suficientes células para verificar un examen satisfactorio (18). Algunas veces las secreciones no son muy abundantes o probablemente no hay suficientes elementos celulares en la secreción. A veces ocurre que las láminas se agitan demasiado dentro del frasco fijador y esto hace que se "laven". Otra posibilidad, y ésta es más frecuente, es que al colorear las láminas, se sumergen violentamente a través de los 22 frascos por los que tiene que pasar la lámina durante el proceso de coloración y esto cause que las células se desprendan del frotis. Durante la coloración hay cierto "lavado" que esperar, pero generalmente no es mucho. Si el material sobre las láminas es muy poco, se puede colocar sobre la lámina una gota de albúmina de huevo (estéril) para que las células se adhieran firmemente a la lámina.

Cuando la clínica del médico no está situada muy cerca del laboratorio, entonces hay que enviar los frotis por correo o a través de segundas personas. Esto implica peligro de perder la muestra durante el transporte. Como he hecho ver anteriormente, las láminas no deben permitirse que se sequen durante la fijación ni durante el proceso de coloración pues esto influye en el detalle morfológico de las células. Hay varios métodos que se pueden utilizar para poder sacar las láminas del frasco fijador y evitar la necesi-

dad de tener que mandar los frotis con todo y frasco fijador, lo cual implica peligro de quebrarse o que se derrame el líquido. El gasto del transporte es también digno de considerarse.

Papanicolaou y Bridges (19) recomiendan el uso de una solución de resina sintética, denominada Diaphane (2 partes de alcohol al 95% y 1 parte de Diaphane). Se usa una cantidad muy pequeña, 0.25 cc por lámina, sobre la muestra. Se puede poner una lámina limpia contra la que tiene el frotis y así envolverlas en un papel corriente. En esta forma el frotis queda protegido y las células se conservan muy bien hasta que sean recibidas en el laboratorio, adonde se sumergirán durante 20 minutos en el fijador de alcohol-éter y luego se procederá a colorearlas.

En la técnica descrita por Nieburgs (20) se envían los frotis secos al laboratorio. Nieburgs propone el siguiente método: poner una gota de alcohol-éter (mezcla de alcohol al 95% y éter, en partes iguales) sobre el frotis y permitir que éste se seque. Al llegar los frotis al laboratorio, se rehidratarán durante cinco minutos para luego colorearlos. El líquido para rehidratar es el siguiente:

- 1.- 0.5 cc de "Tween 80" en 1.1 cc de agua destilada.
- 2.- Mezclar en cantidades iguales de alcohol al 70% y éter.
- 3.- Añadir 25% de sol. (1) a (2).

Allard y Bauer (21) sugieren el siguiente método: Añadir 5 cc. de glicerina al frasco fijador de alcohol-éter corriente. Se fijan los frotis dentro de esta solución fijadora (1/2 hora es suficiente) y luego se sacan. Los frotis secos se pueden enviar al laboratorio sin ningún otro tratamiento. Al llegar los frotis al laboratorio, sólo se sumergen en el alcohol-éter y se procede a colorearlos. Este método resulta ser el más práctico y satisfactorio.

C. Formas de reportar los resultados obtenidos.

Son varias las formas que se usan actualmente para reportar los hallazgos de los frotis cervico-vaginales, pero antes de explicar sobre las diferentes formas de reporte, haré una comparación sobre los resultados obtenidos según el método celular o Citológico y el del tejido o Histológico. Quiero hacer ver claramente, que el estudio Citológico no suplanta al estudio Histológico, mas bien, deben de usarse conjuntamente en los casos de que se haya encontrado citología positiva, para poder comprobar la presencia del tumor.

Método Celular

Método del Tejido

Grados de Patología Celular

Grado 0:Normal.

Grado I:Inflamatoria.

Grado II:Células anaplásticas de complejo celular pre-canceroso."Nearo Carcinoma", un estado citológico del cáncer.

Grado III:Cáncer

A.Pre-invasivo.

B.Células de morfología maligna sospechosas.

C.Evidencia conclusiva de malignidad.

Normal a Cervicitis.
(Aguda o crónica)

Hiperplasia Basal.

Varios grados de Anaplasia.

Carcioma Intra-epitelial.

Carcinoma escamoso celular invasivo.

Carcinoma Escamoso Celular del Cervix. Integración de diagnósticos citológicos e Histológicos.

(Tomado de "Cancer Cytology of the Uterus", por J.E.Ayre.)

El Centro Citológico del Cáncer, del Instituto del Cáncer de Miami, EE.UU., reporta los resultados obtenidos, en dos partes. En la primera parte reportan el grado de patología celular. Se reconocen los siguientes grados:

Grado 0: No hay células cancerosas.

Grado I: Células inflamatorias.

Grado II: Células anaplásticas.

Grado III: A. Células del tipo pre-invasivo.

B. Células sospechosas de morfología maligna.

C. Evidencia conclusiva de malignidad.

El Cento reporta un grado "extra" con la denominación "Células Atípicas", el cual incluye células de naturaleza dudosa. Los grados 0 y I se consideran NEGATIVOS. Los grados II y III, POSITIVOS. El "grado extra" lo consideran "DUDOSO".

Es de notarse que todos estos reportes contienen información adicional referente al índice estrogénico o porcentaje de células cornificadas. Igualmente contienen información sobre si la antes mencionada cornificación (o maduración de las células) se considera: Normal, disminuida, o aumentada, según la edad del paciente o el estado del ciclo menstrual. Ellos recomiendan a los pacientes que tengan un grado 0, de repetirse el examen dentro de un año. El grado II, menos de un año y el grado III (A o B) que se confirme el resultado por medio de una biopsia histológica para confirmar el tumor. El reporte incluye un espacio para poder reportar otros hallazgos como bacterias, tricomonas, hemáties, etc.

En la segunda sección del reporte, el Centro clasifica el frotis entre cinco posibles clases:

Clase 1. No hay células anormales ni atípicas. (NEGATIVO)

Clase 2. Hay células atípicas pero sin anomalías.
(NEGATIVO)

Clase 3. Células con anormalidades sospechosas pero no concluyentes de malignidad. (SOSPECHOSO O DUDOSO)

Clase 4. Células y grupo de células bastante concluyentes de malignidad. (POSITIVO)

Clase 5. Células y grupo de células concluyentes de malignidad. (POSITIVO)

En los reportes de Clases 3, 4 y 5 se recomienda la toma de la biopsia histológica para comprobar la presencia del tumor.

El Hospital de la Clínica Ochsner de New Orleans, usa el siguiente tipo de reporte:

Clase 0: Muestra insatisfactoria para estudio.

Clase I: No hay malignidad.

Clase II: Células atípicas.

Clase III: Sospechoso de malignidad.

Clase IV: Positivo de malignidad.

López-Cardozo (4) usa cinco grados, que corresponden a las Clases I a V de Papanicolaou, en el caso de células de tumor:

Grado I: Definitivamente Negativo.

Grado II: Probablemente Negativo.

Grado III: Posiblemente Positivo.

Grado IV: Probablemente Positivo.

Grado V: Definitivamente Positivo.

La forma de reportar los hallazgos citológicos por el Centro Citológico del Cáncer es el más satisfactorio, pues no sólo se indica sobre la presencia o ausencia del cáncer sino que nos proporciona otra información pertinente al estado endocrinológico de la paciente. Las formas que usan contienen el cuestionario de información para contestar, de esta manera sólo se tiene que indicar mediante flechas, o muy poca información adicional escrita, lo cual le deja más tiempo al Citólogo para dedicar mayor tiempo al examen microscópico.

LA COLORACION DE PAPANICOLAOU.

A. Materiales y Métodos.

La mayor parte de los métodos que se usan actualmente para la coloración de los frotis cervico-vaginales son modificaciones del método original de Papanicolaou. La razón es obvia, los reactivos y técnica de Papanicolaou nos proporcionan frotis con los núcleos bien coloreados y el citoplasma perfectamente transparente. La coloración del núcleo es muy importante para la interpretación correcta de los frotis. Como hemos visto anteriormente, los cambios de

mayor significancia ocurren en el núcleo. Algunas de las coloraciones antiguas, teñían demasiado el citoplasma de las células y era posible, a veces, equivocarse el citoplasma de las células epiteliales, con los hematíes.

A continuación describiré los materiales y métodos que usé para la coloración de los frotis empleados en el presente trabajo.

1. Frascos para las soluciones y colorantes:

Se necesitan frascos de vidrio claro de una capacidad aproximada de 200 cc. Se usan 22 frascos con sus tapaderas las cuales deben quedar bien ajustadas a los botes ya que las soluciones son alcohólicas, lo mismo que los reactivos, y se evaporan con mucha facilidad. El uso de los frascos pequeños del café instantáneo resulta ideal y barato. El autor usa los frascos de café antes mencionados y ha tenido muy buen resultado con ellos. La tapadera se ajusta bien y el tamaño es muy conveniente para colorear de 6 a 8 láminas a la vez. La boca del bote es lo suficientemente ancha para colorear los frotis con amplitud.

2. Soluciones de alcohol etílico.

Se usan soluciones de alcohol etílico al 95% de diferentes concentraciones. Se necesitan concentraciones de 50, 70, 80, 95 por ciento y alcohol absoluto. Estas se preparan con agua destilada.

3. Solución de ácido clorhídrico al 0.5%.

4. Solución diluida de carbonato de litio.

Se prepara una solución saturada de carbonato de litio y se usa 1 cc. de esta solución saturada en 99 cc. de agua destilada.

5. Colorantes de Hematoxilina de Harris.

Cuando se necesita bastante solución para colorear bas tantes frotis al día, se prepara un stock de un litro, la cual dura bastante tiempo. La fórmula es la siguiente:

Hematoxilina	5 Gramos
Bisulfato Alumínico de Amonio	100 Gramos
Alcohol Etilico	50 cc.
Agua	1,000 cc.
Agente para madurar	2.5 Gramos de óxido de mercurio
Tiempo y temperatura	100 Grados, pocos min.
Acido	40 cc. de Acido Acético
Duración	Varios años

Disolver la hematoxilina en alcohol. Diluir el bisulfato alumínico de amonio en agua y hervir. Añadir solución de hematoxilina muy despacio al estar la solución de bisulfato alumínico de amonio hirviendo. Añadir el óxido de mercurio. Cuando la solución se ponga violeta oscura, apartarla del fuego y enfriarla rápidamente. Añadir el ácido acético.

6. Solución de OG-6.

Naranja G.	5 Gramos
Alcohol al 95%	1,000 cc.
Acido Fosfotúngstico	0.15 Gramos

Esta solución es duradera. El Naranja G. se puede obtener del National Aniline & Chemical Co., Inc.

7. Solución del EA-36.

Tanto el colorante EA-36 como el OG-6 pueden obtenerse ya preparados de la casa: Ortho Pharmaceutical Corporation, Raritan, N.J. Estos colorantes ya preparados, listos para usarse, son muy buenos; el único inconveniente es, que resultan un poco caros. Los colorantes en polvo, para preparar las soluciones de trabajo, pueden obtenerse de la casa: National Aniline and Chemical Co. La fórmula de la preparación de la solución de trabajo es la siguiente:

Light Green S.F. Yellowish	0.5% sol. en alcohol al 95%.	45 cc.
Bismarck Brown	0.5% sol. en alcohol al 95%.	45 cc.
Eosin Yellowish	0.5% sol. en alcohol al 95%.	45 cc.
Acido Fosfotúngstico		0.200 Gm.
Carbonato de Litio	Solución saturada	1 gota

Estos colorantes son más solubles en agua que en alcohol, por lo tanto se recomienda diluir el polvo en agua y luego añadir la solución al alcohol. El tiempo que dura la coloración es relativo al uso que se le dé.

8. Reactivo de Xylene (Xylol).

Se puede obtener de J. T. Baker Chemical Co. Phillips.

burg, N. J.

9. Bálsamo del Canadá o Permount.

Cualquiera de estas dos clases de pegamento es buena.

10. Goteros.

11. Reloj.

El autor usa un reloj de alarma "Interval Timer", el cual está graduado en minutos y segundos.

12. Cristalería.

Se usan láminas y laminillas corrientes.

13. Caja de madera para archivar láminas.

14. Lapicero con punta de diamante.

Este lapicero es sumamente útil pero no es indispensable ya que se pueden identificar los frotis con un pedazo de esparadrapo o cinta de papel engomada. El número de frotis, que corresponde al paciente, se escribe sobre la parte interna de la cinta adhesiva para que no se despinte al mojar-se en las soluciones.

15. Clips Metálicos.

Se usan los clips corrientes. Estos sirven para no permitir que los frotis se junten dentro de los frascos.

16. Plato caliente eléctrico.

En realidad se puede usar cualquier superficie calien

te que sirva para "cocer" el pegamento entre la lámina y la laminilla.

B. Técnica.

El proceso de la coloración de los frotis se inicia después que las láminas han permanecido sumergidas en el frasco que contiene la solución fijadora de alcohol-éter, durante 15 minutos o más. La solución fijadora coagula las proteínas que se encuentran en el frotis, especialmente en el mucus, y hace que las células se adhieran a la lámina para colorearlas.

A continuación enumeraré los pasos a seguir en la coloración de Papanicolaou, según su técnica original (22). He seguido ciertas modificaciones en el proceso de coloración por haber obtenido mejores resultados con dichas modificaciones.

1. Alcohol etílico al 70%	Sumergirlas 10 veces
2. Alcohol etílico al 50%	Sumergirlas 10 veces
3. Agua destilada	Sumergirlas 10 veces
4. Hematoxilina de Harris	Tres minutos
5. Agua corrida del chorro	Un minuto
6. Solución de ácido clorhídrico al 0.5%	Sumergirlas 5 veces
7. Agua corrida del chorro	4 minutos
8. Solución diluida de Carbonato de Litio	1 minuto
9. Agua corrida del chorro	1 minuto
10. Alcohol etílico al 50%	Sumergirlas 10 veces
11. Alcohol etílico al 70%	Sumergirlas 10 veces
12. Alcohol etílico al 80%	Sumergirlas 10 veces
13. Alcohol etílico al 95%	Sumergirlas 10 veces
14. Colorante Naranja OG-6	1 minuto
15. Alcohol etílico al 95%	Sumergirlas 10 veces
16. Alcohol etílico al 95%	Sumergirlas 10 veces

17. Colorante EA-36	2 minutos
18. Alcohol etílico al 95%	Sumergirlas 10 veces
19. Alcohol etílico al 95%	Sumergirlas 10 veces
20. Alcohol etílico al 95%	Sumergirlas 10 veces
21. Alcohol absoluto	4 minutos
22. Xylol.	5 minutos

Es importante dejar escurrir completamente las láminas cuando se saquen de un frasco para ponerlas en el siguiente pues haciéndolo así, se evita que los colorantes se diluyan.

C. Resultados.

El éxito de una buena coloración no estriba en seguir direcciones únicamente. Una buena coloración es el producto de tener cuidado, inteligencia y ser observador hasta de los detalles, aparentemente insignificantes. Personas que siguen las mismas indicaciones pueden obtener resultados buenos, mediocres o malos. El Citólogo, o la persona que colorée las láminas, deberá estar listo para juzgar, a la inspección microscópica, si la coloración está trabajando bien. No es necesario decir nuevamente, que la coloración de las células es uno de los pasos más importantes en la investigación del cáncer mediante el estudio citológico. La interpretación de un frotis puede hacerse incorrectamente debido a una mala coloración.

Al sacar los frotis de la solución del ácido clorhídrico es muy importante lavarlos bien en agua, pues he observado que el exceso de ácido sobre la lámina remueve demasia-

da hematoxilina y esto resulta en una mala tinción del núcleo de la célula.

El paso de la solución del carbonato de litio tiene el propósito de fijar el colorante nuclear, cambiando el pH. de la célula, a un medio alcalino. Es conveniente lavar el frotis satisfactoriamente en esta solución, pues he observado que de no hacerlo así, se dejan de obtener buenas coloraciones citoplásmicas y a veces sucede que el núcleo se decolora excesivamente.

La colocación del pegamento sobre la lámina tiene que hacerse en una manera cuidadosa, pues de lo contrario resulta que se nos contamina el gotero, al poner la gota sobre la lámina, debido a que algunas células se desprenden del frotis y se adhieren al gotero; el exceso de pegamento sobre la lámina es contraproducente pues he notado que muchas células se quedan en el borde de la laminilla y se hace difícil una observación adecuada. El exceso del pegamento igualmente, hace que éste se adhiera al objetivo seco fuerte del microscopio lo cual impide una observación clara.

Las láminas coloreadas con su laminilla y pegamento, se pusieron sobre una superficie caliente, en este caso, sobre un platillo eléctrico, para acelerar el proceso de unión permanente de la laminilla a la lámina y hacer posible una observación al microscopio inmediatamente. Se notó que es-

te procedimiento, mediante el uso de un par de barritas de vidrio para hacer presión contra la laminilla, evitó la formación de burbujas de aire, las cuales casi siempre se forman en estos casos, proporcionándome frotis con bastante superficie observable al microscopio.

Algunas de las láminas se identificaron mediante el uso de un pedacito de esparadrapo colocado al extremo de la lámina. La identificación se hacía mediante números o nombres, escritos con pluma fuente. Debido al contacto del esparadrapo con los colorantes, resultaba que los números no se podían distinguir y esto constituía un verdadero problema al querer identificar las láminas. Para no perder el frotis que tanto trabajo había costado obtenerlo y colorearlo, debido a que no se podía identificar, experimenté usando varias soluciones de diferente naturaleza, tratando de neutralizar el complejo colorante que se había formado sobre los números escritos con tinta. Usé soluciones de alcohol etílico y metílico en agua destilada y luego, soluciones alcohólicas con diferentes concentraciones de varios ácidos. Encontré, después de algunos experimentos, que la combinación de alcohol etílico de 90 grados con ácido clorhídrico comercial, en la proporción de 90 cc. de alcohol a 10 cc. del ácido me producía el mejor resultado. Experimenté igualmente usando tinta de bolígrafo y obtuve el mismo resultado. Al escribir los núme-

ros con lápiz se obtuvo el mismo buen resultado.

Debido a que hay varias clases de pegamento en el mercado, decidí probar cuál de todos me daba el mejor resultado. Usé Permunt, Gum Dammar y Bálsamo del Canadá. Comprobé que tanto Permunt como Bálsamo del Canadá era tan bueno el uno como el otro. Los dos son satisfactoriamente transparentes y se mantienen bien en solución. El uso del Gum Dammar, diluido en xylol, no me dió buen resultado. El índice de refracción de la solución preparada no es tan bajo como el de las antes mencionadas soluciones; esto podría atribuirse a que las piedritas de Gum Dammar contienen basuritas que no se pueden eliminar completamente mediante filtración. Noté que el xylol se evaporaba con facilidad y esto producía una concentración de la solución, la cual cada vez se hacía más viscosa.

Una pequeña parte de la coloración de los frotis fué hecha según la técnica original de Papanicolaou. Después de algunos experimentos observé que la prolongación del tiempo en algunas de las soluciones me producía un mejor resultado, así pues que introduje ciertas modificaciones a la técnica original las cuales expongo a continuación. Estas modificaciones las usé en la coloración de la mayor parte de los frotis.

TABLA I. - Modificaciones a la Técnica Original de Papanicolaou.

Soluciones alcohólicas (Todas)	Sumergir 6 veces
Colorante OG-6	1 1/4 minutos
Colorante de Hematoxilina	3 1/4 minutos
Colorante EA-36	2 1/4 minutos
Alcohol Absoluto	8 minutos
Xylol	8 minutos

La coloración de Papanicolaou es excelente para colorear los frotis cervico-vaginales y como prueba de ello, presento algunos de los resultados obtenidos en las interpretaciones personales de los 294 casos que he tenido oportunidad de estudiar. A continuación presentaré los resultados de 129 casos. Los frotis usados en el trabajo a continuación fueron estudiados en los Laboratorios "Unidos" y "Alvarez-Alemán" de esta ciudad. Los frotis fijados fueron enviados al laboratorio. Los frotis estudiados fueron tomados por médicos ginecólogos a pacientes que consultaron por examen ginecológico de rutina. A estos pacientes se le hizo estudio citológico para excluir malignidad.

TABLA II. - Citología de Rutina a pacientes de Médicos de clientela privada.

<u>Clasificación (*)</u>	<u>Número de Pacientes</u>	<u>Porcentaje</u>
Clase I	103	80.0
Clase II	11	8.5
Clase III	3	2.2
Clase IV	5	3.9
Clase V	1	.8
Signos de Radiación	6	4.6
Total de casos	129	100.0

No deben de tomarse estos datos como un índice de la incidencia del Cáncer Genital en las pacientes de clientela privada pues por la presencia de radiación en las células de algunas, se puede deducir que no se trataba de pacientes asintomáticos únicamente.

También deseo presentar los resultados obtenidos de algunos casos que fueron remitidos a la Clínica Precoz del Cáncer del Hospital Rosales de esta ciudad, por médicos de las salas generales, especialmente del servicio de Ginecología. A estos pacientes se les encontró sospechosos y se les indicó estudio citológico e histológico. Los frotis usados en

(*) Instituto del Cáncer.

el trabajo a continuación fueron tomados por médicos ginecólogos y enviados al Laboratorio Clínico del mismo hospital para ser coloreados y estudiados. En todos estos frotis usé los tiempos indicados según la técnica original de Papanicolaou, con muy leves modificaciones.

TABLA III. Pacientes con estudio Citológico e Histológico, provenientes del Hospital Rosales.

<u>Registro</u>	<u>Nombre</u>	<u>Muestras</u>	<u>Edad</u>	<u>Citología</u>		<u>Histología</u>
1.	A-63547	V.de L.	Cervix	52 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
2.	A-66780	A.M.B.	Cervix	60 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
3.	154445	T.M.M.	Cervix	60 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
4.	A-69867	M.G.G.	Cervix	31 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
5.	A-69032	T.D.J.	Cervix	43 a.	Clase III	Carcinoma Espino-cel.
6.	119831	L.M.B.	Cervix	36 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
7.	A-70429	M.S.Q.	Cervix	45 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
8.	A-70592	B.H.G.	Cervix	21 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
9.	18201	V.L.A.	Vagina	40 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
10.	A-70874	E.C.O.	Cervix	53 a.	Clase IV	Carcinoma Baso-celular
11.	A-69502	M.R.L.	Cervix	45 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
12.	53896	R.A.R.	Cervix	49 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
13.	166169	D.R.D.	Vagina	35 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
14.	A-71967	J.N.D.	Vagina	23 a.	Clase I	Cervicitis Crónica
15.	A-26307	M.J.R.	Cervix	46 a.	Clase III	Carcinoma Espino-cel.
16.	A-72647	E.G.M.	Cervix	48 a.	Clase III	Carcinoma Transicional
17.	A-73936	B.D.Z.	Vagina	60 a.	Clase IV	Carcinoma Espino-cel

Nuevamente quiero hacer ver que los datos presentados en la tabla tres, no deben de considerarse como un dato estadístico de incidencia de cáncer pues en muchas de las láminas que se enviaron al Laboratorio, que pertenecían a pacientes

que se les comprobó malignidad mediante la biopsia histológica, no se pudo emitir dictamen citológico dado el caso de que los frotis estaban a veces constituidos exclusivamente de mucus y sangre.

La importancia de los resultados presentados, se manifiesta a través de dos hechos muy útiles: Primero, que a los pacientes que se les practicó el estudio citológico de rutina, se comprobó la ausencia de enfermedad en el tracto genital, evitando en esta forma, la toma de la biopsia, la cual es molesta dado el caso de que es un procedimiento quirúrgico. Segundo, que a los pacientes que se les encontró citología clase III y IV se les indicó la toma de la biopsia para poder, en esta forma, comprobar la presencia del tumor y se confirmó.

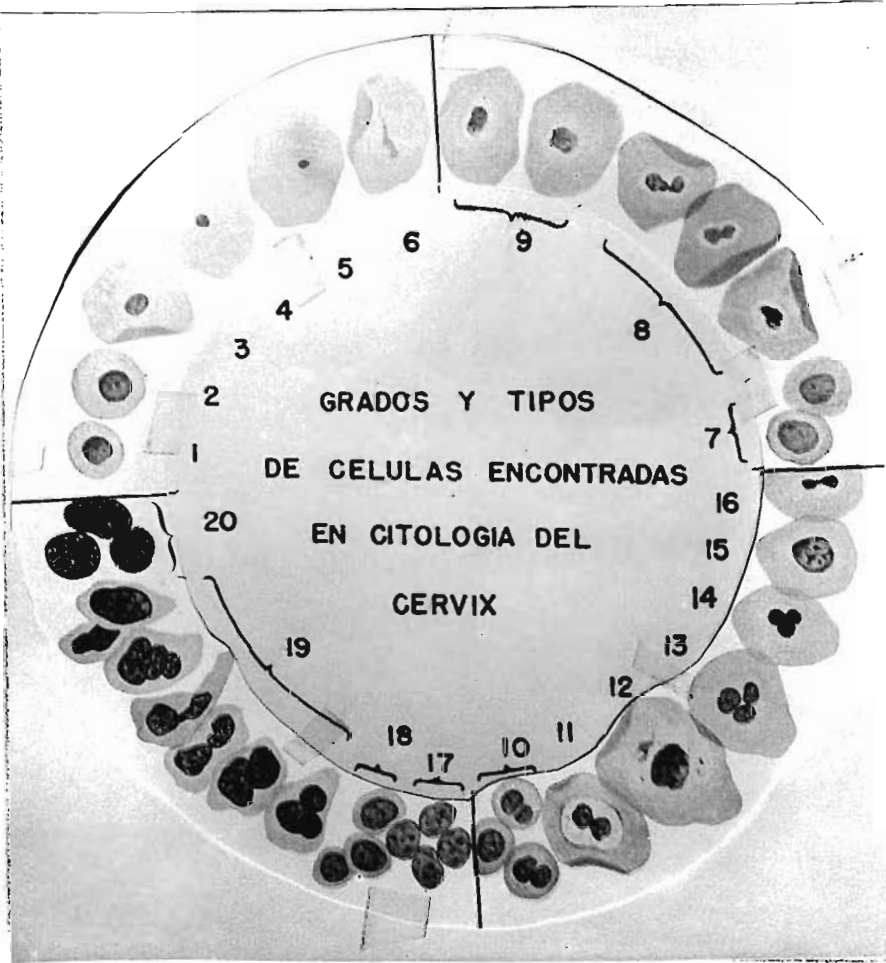
Se ha podido ver que el estudio citológico, usando la coloración de Papanicolaou, ofrece un método muy valioso para descubrir tumores, a veces invisibles, de células de arquitectura anormal.

CONCLUSIONES.

1. La coloración de Papanicolaou es un procedimiento sencillo, barato y relativamente rápido para colorear frotis de citología del tracto genital.
2. El estudio citológico, para investigar el cáncer precoz en la mujer, es de suma utilidad debido a que mediante este método de estudio, es posible detectar el cáncer en sus estados primitivos. Los cambios morfológicos en la célula ocurren antes de que haya una manifestación en el tejido.
3. Entre las grandes ventajas que ofrece el estudio citológico, tenemos el de la obtención de la muestra. Los frotis son muy fáciles de hacer y la interpretación de ellos, nos brinda un máximo de seguridad.
4. El método citológico no sustituye al método histológico; más bien, deben de usarse conjuntamente en casos de citología sospechosa o positiva.
5. En Endocrinología Ginecológica es de gran valor, pues permite el estudio de los efectos hormonales en las diferentes porciones del tracto genital en la mujer.
6. El estudio citológico se puede aplicar igualmente en casos de tumores de la boca, faringe, estómago, piel, etc.

R E S U M E N.

1. Se hace una reseña histórica del Cáncer Ginecológico y el inicio del estudio citológico como método de rutina para la investigación del cáncer en la mujer.
2. Se expone el tipo de células que se encuentran en el tracto genital. Se habla sobre su apariencia morfológica, tanto en los estados normales como malignos.
3. Se demuestra la técnica para obtener las secreciones, que servirán para el estudio citológico, del tracto genital y sobre la forma de preservar estas secreciones.
4. Se expone la técnica de coloración de Papanicolaou, como método valioso para las coloraciones de los frotis cervico-vaginales. Se hacen sugerencias de tipo técnico para obtener mejores resultados con los frotis.
5. Se presentan los resultados obtenidos en dos tipos de pacientes a quienes se les verificó examen citológico.



ILUSTRACION Nº 1

ILUSTRACION No. 1.-

A. Células Normales:

1. Basales.
2. Parabasales.
3. Intermedias.
4. Pre-Cornificadas.
5. Cornificadas.
6. Hiper-Cornificadas.

B. Células Inflamatorias:

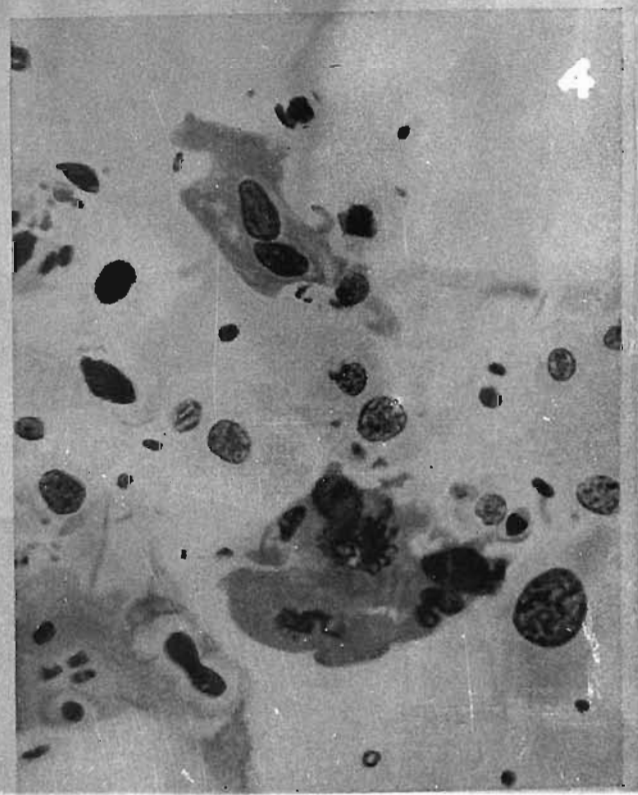
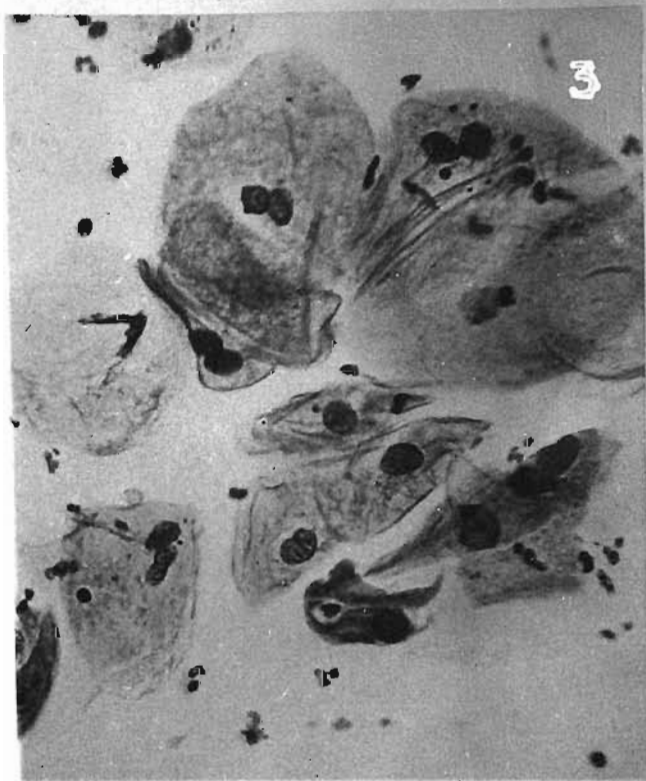
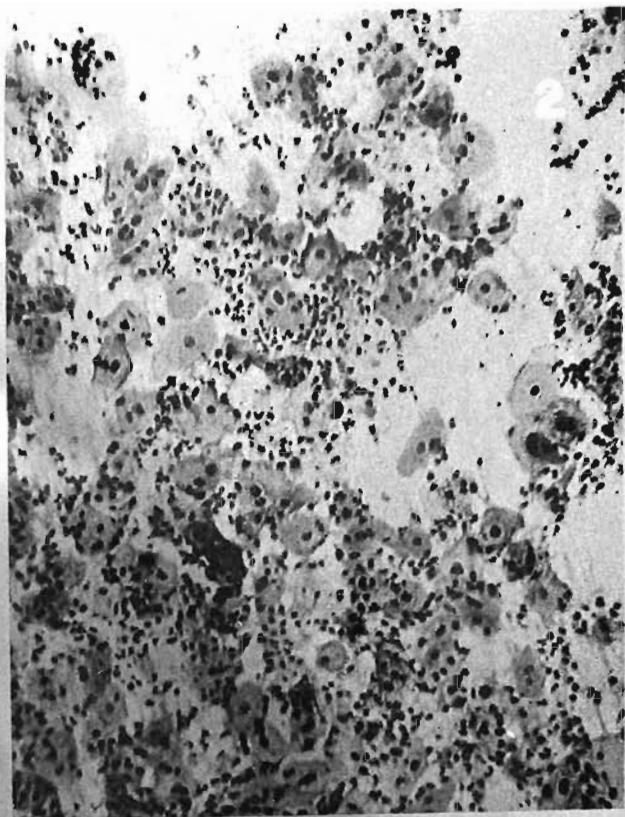
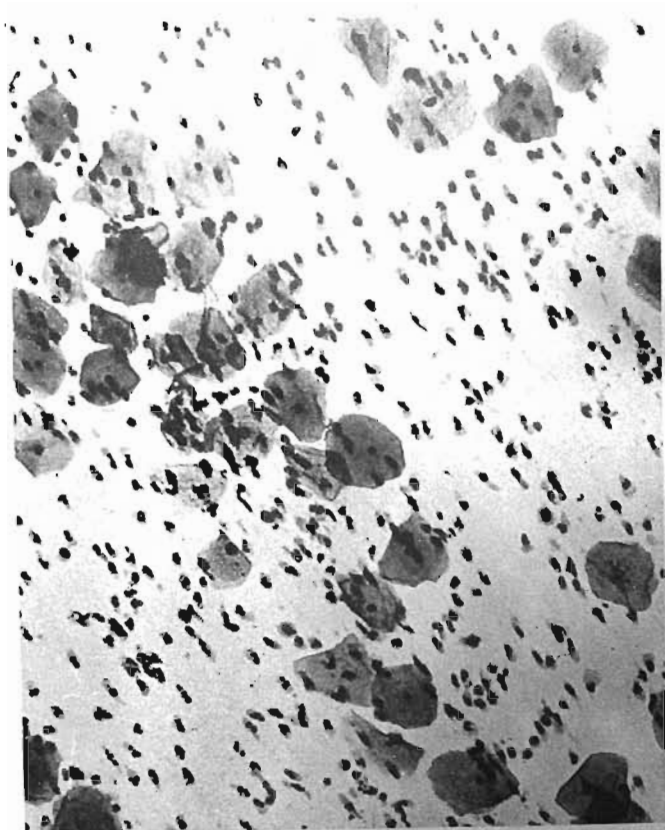
7. Basales.
8. Intermedias.
9. Inflamatorias Superficiales.

C. Células Pre-Cancerosas:

10. Basales.
11. Con Halo Perinuclear.
12. Gigantismo Celular.
13. Multinucleadas.
14. Multilobuladas.
15. Precoces.
16. Tipo de Campana.

D. Células Cancerosas:

17. Pre-invasivas.
18. Basales.
19. Diferenciadas.
20. No Diferenciadas.



ILUSTRACION No. 2.-

NUMERO UNO:

Células del tipo Normal. En esta fotografía se puede observar uniformidad en el tamaño del núcleo de las células. La mayor parte de las células son del tipo cornificadas y pre-cornificadas. Hay regular cantidad de glóbulos blancos, los cuales no tienen mayor importancia en los frotis cervicales.

NUMERO DOS:

Células del tipo inflamatorio. Las células no presentan el grado de claridad que exhiben las células normales. El tamaño y forma de los núcleos varía un poco.

NUMERO TRES:

Células del tipo pre-canceroso. Los cambios en el núcleo son más evidentes que los de la foto 1 y 2, pero no tan radicales como los de la foto 4. En esta foto se puede observar: Núcleos grandes, células doble-nucleadas, células gigantes y células del tipo campana.

NUMERO CUATRO:

Células del tipo canceroso. Células demuestran irregularidades en tamaño, forma y reacción al colorante. Se pueden observar suficientes células características de Carcinoma.

B I B L I O G R A F I A.

1. J. ERNEST AYRE, Atlas de Citología Cervical. Abbot Laboratories, North Chicago, Ill., U.S.A. Copyright 1949.
2. J. ERNEST AYRE, Cáncer Cytology of the Uterus. Grune and Stratton. New York, 1951.
3. ISRAEL KLEINER, Human Biochemistry. The C. V. Mosby Company. St. Louis, 1954.
4. P. LOPEZ CARDOZO, Clinical Cytology. L. Stafleu, Holland 1954.
5. M. WINTROBE, Clinical Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia 1946.
6. H. C. MAC LAREN, C. W. TAYLOR and M. E. ATTWOOD, The Value of Cytology in Gynecology. J. Obst. Gyn. British Empire, 63;801, 1956.
7. R. M. GRAHAM Y COL., The Cytologic Diagnosis of Cancer. W. B. Saunders Company, Philadelphia-London, 1958.
8. O. GATES AND S. WARREN, A Handbook for The Diagnosis of Cáncer of The Uterus by The Use of Vaginal Smears. Harvard University Press. Cambridge, Mass., 1950.
9. A. ALVAREZ BRAVO Y COL., La Citología Vaginal y la Citología del Sedimento Urinario en el embarazo. Ginecología y Obstetricia de México. XII;2,67, 1957.
10. PAPANICOLAOU, G. N., H. TRAUT AND A. MARCHETTI, The Epithelia of Woman's Reproductive Organs. New York; The Commonwealth Fund. 1948.
11. CORRINGTON, E. R., Menorragia en Mujeres Jóvenes. Sinopsis Médica Internacional. Habana, Cuba, 1957.
12. LINDNER, A., Suggested Explanation for the Accuracy of the Papanicolaou Method for the Cytologic Diagnosis. A Histochemical Study. The A. Jour. of Clinical Pathology, 29; 1,43-48. 1958.
13. COWDRY, W. B., Cáncer Cells. Saunders Company. Philadelphia Penna.

14. GALLO, DELFINO., Concentración de la Citología Vaginal en el Diagnóstico del Cáncer Uterino. Ginecología y Obstetricia de México. XII:III; 68. 1957.
15. G. M. BADER, T. R. SIMON, L. G. KOSS AND E. DAY, A Study of the Detection-Tampon Method as a Screening Device for Uterine Cancer. Surgery-Gynecology and Obstetrics with International Abstracts of Surgery. Vol. 105; 6, 558. 1957.
16. SCOTT, R. B., BROWN, A. B. and REAGAN, J. W., Comparative Results in the Routine Papanicolaou and The Draghi Tampon Cytologic Studies in Atypical Hyperplasia of the Cervix and Uterine Cancer. Surgery-Gynecology and Obstetrics with International Abstracts of Surgery. Vol. 105; 2, 153. 1957.
17. BRUNSCHWIC, A., and PAPANICOLAOU, G. N., Detection of Endometrial Adenocarcinoma by the Tampon Smear Method. Cancer 10:120., Philadelphia. 1957.
18. SOLOMON, SIBERBLATT AND HYMAN, Comparison of Dry Smear Technics With Wet Technics For The Cytologic Study Of Urine. Technical Bulletin of The Registry of Medical Technologists. Vol. 27:4. 1957.
19. PAPANICOLAOU, G. N. and BRIDGES, E. L., Simple Method for Preserving Fresh Smears from Drying and Deterioration During Mailing. The Jour. of the Am. Med. Assoc., Vol. 164: 12., 1957.
20. NIEBURGS. H. E., Simplified Cytology for Office Practice. American Jour. of Clin. Pathology, Vol. 27:5, 1957.
21. ALLARD, G. G., and BAUER, A. C., Review of Shipping Methods for Cervico-vagina Smears and A Suggested Simplified Procedure. Am. Jour. of Clinical Pathology, Vol. 29:4. 1958.
22. PAPANICOLAOU, G. N., A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 95:438-439, 1942.