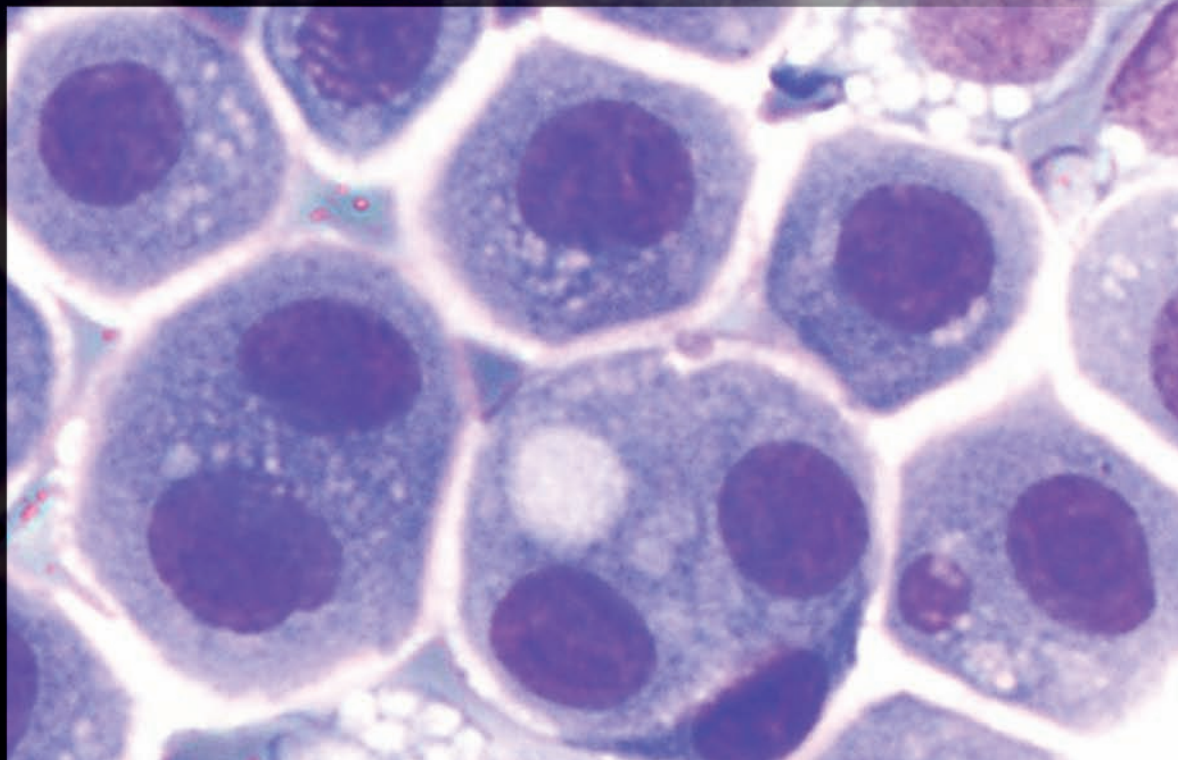
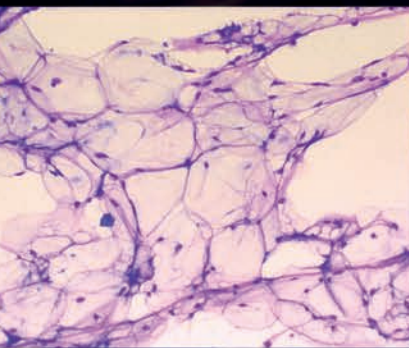
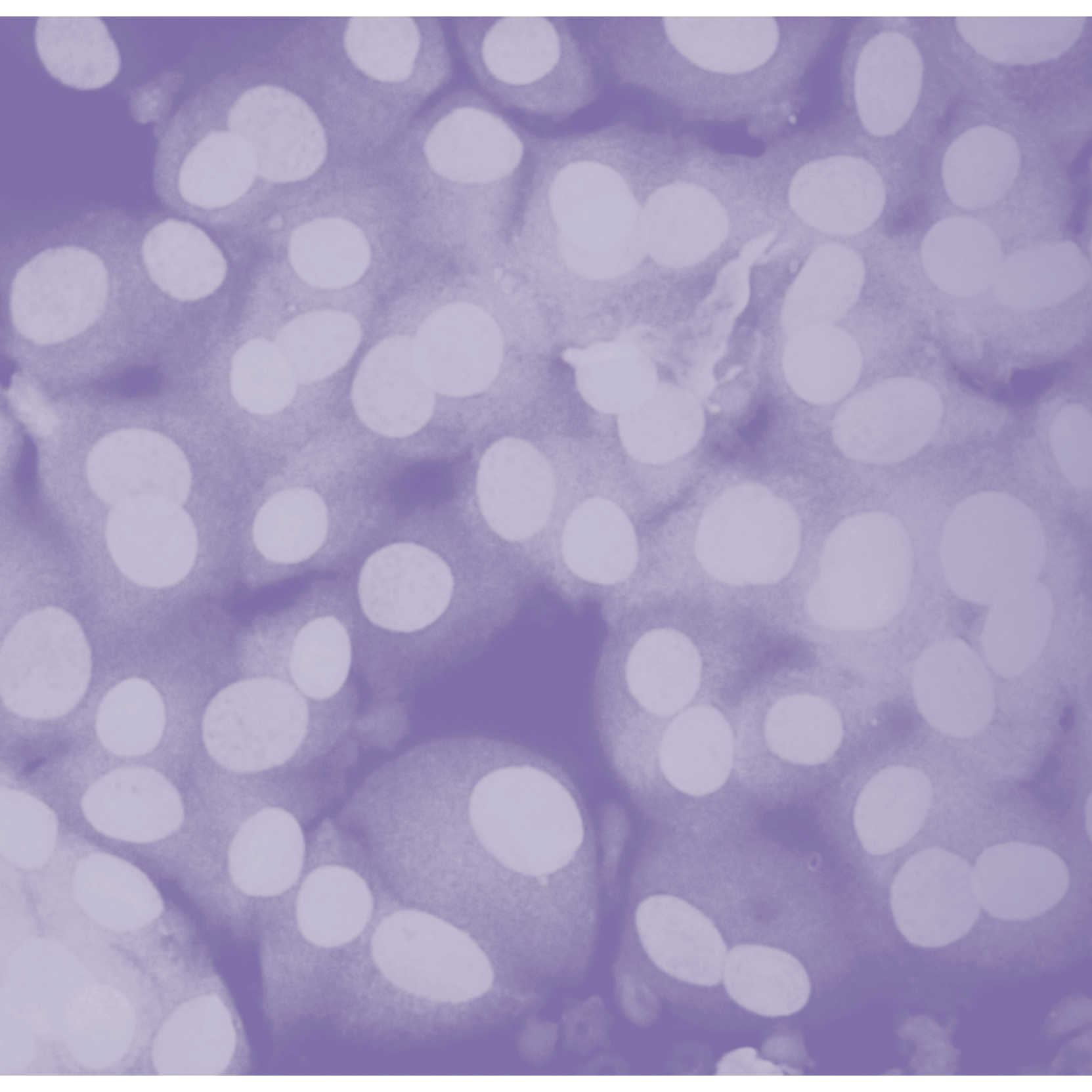


Atlas de **citología clínica** del **perro** y del **gato**

Elena M. Martínez de Merlo







Atlas de citología clínica del perro y del gato

Reservados todos los derechos.

No puede reproducirse ni total ni parcialmente, almacenarse en un sistema de recuperación o transmitirse en forma alguna por medio de cualquier procedimiento, sea este mecánico, electrónico, de fotocopia, grabación o cualquier otro sin el previo permiso escrito del editor.

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra solo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley. Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos) si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra (www.conlicencia.com; 91 702 19 70 / 93 272 04 47).

Advertencia:

La ciencia veterinaria está sometida a constantes cambios evolutivos, del mismo modo que la farmacología y el resto de las ciencias también lo están. Así pues, es responsabilidad ineludible del veterinario clínico, basándose en su experiencia profesional, la determinación y comprobación de la dosis, el método, el periodo de administración y las contraindicaciones de los tratamientos aplicados a cada paciente.

Ni el editor ni el autor asumen responsabilidad alguna por los daños y/o perjuicios que pudieran generarse a personas, animales o propiedades como consecuencia del uso o la aplicación correcta o incorrecta de los datos que aparecen en esta obra.

© 2008 Grupo Asís Biomedica S.L.

Plaza Antonio Beltrán Martínez, nº 1, planta 8 - letra I

(Centro empresarial El Trovador)

50002 Zaragoza - Spain

Diseño y compaginación:

Servet editorial - Grupo Asís Biomedica S.L.

www.grupoasis.com

Impreso por: Gráficas Lizarra S.L.

Ctra. Tafalla, km. 1

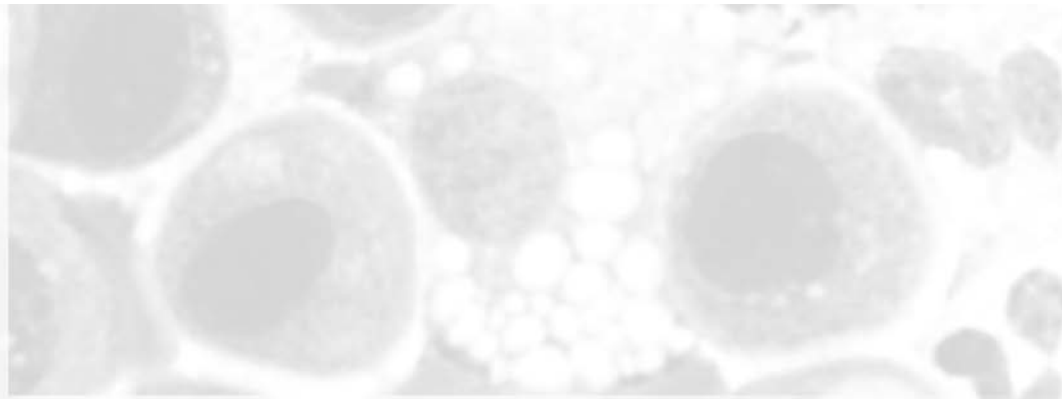
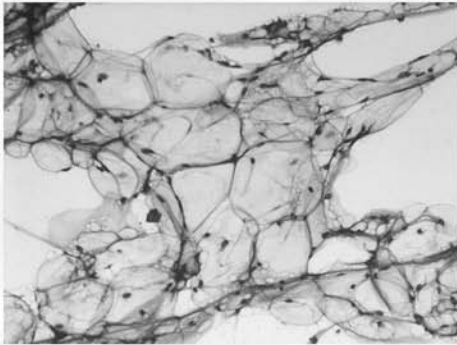
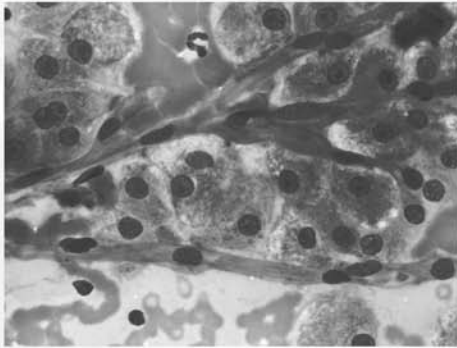
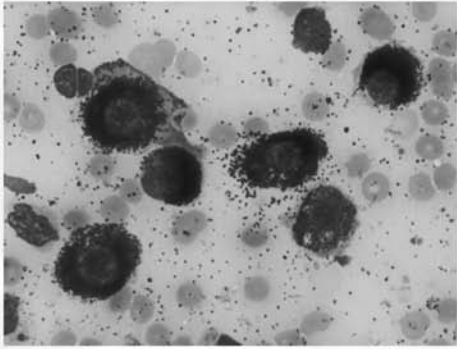
31132 Villatuerta

Navarra, España

ISBN: 978-84-935971-7-7

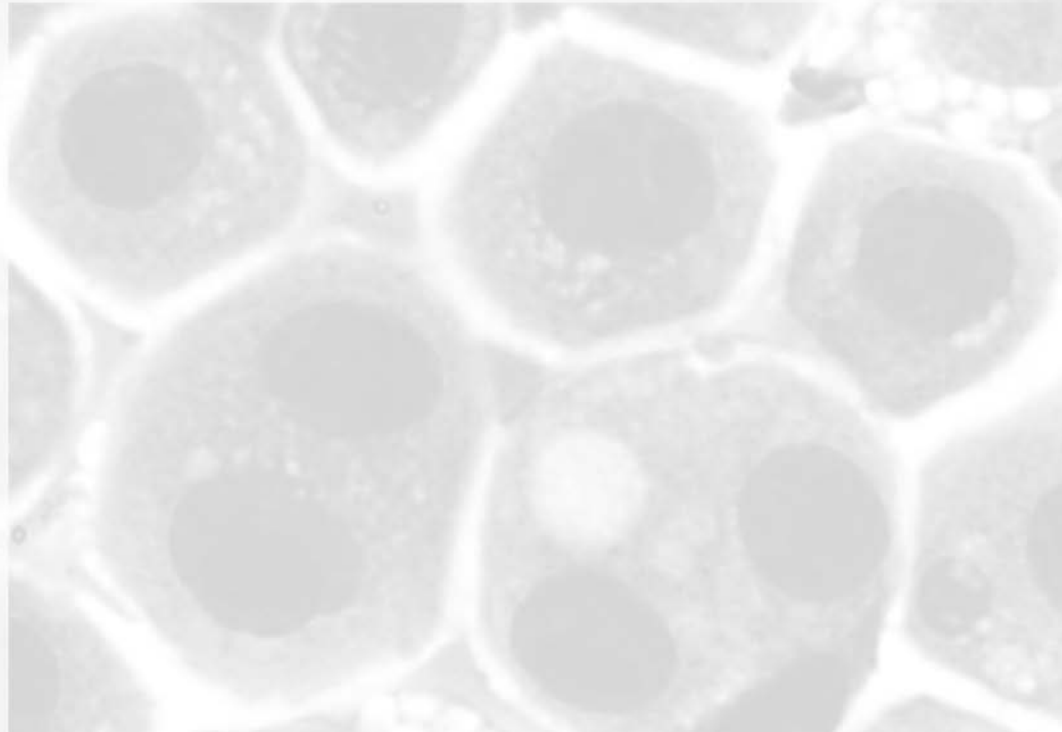
D.L.: NA-2757-2008

Impreso en España



Atlas de **citología clínica** del **perro** y del **gato**

Elena M. Martínez de Merlo





Autora

Colaboradores

Elena M. Martínez de Merlo

Licenciada en Veterinaria por la UCM en 1987; Doctora en Veterinaria por la UCM en 1993. Desde 1998 es Profesora Titular del Dpto. de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM, adscrita a la asignatura de Patología Médica y de la Nutrición de 4º curso de licenciatura. Realiza actividad clínica en el Hospital Clínico Veterinario Complutense (HCVC), siendo responsable de la consulta de oncología y del diagnóstico citológico del Servicio de Biopatología Clínica. Directora del Diploma de Formación Continua de la UCM “interpretación citológica en pequeños animales”, que actualmente se encuentra en su cuarta edición. Ha impartido numerosos cursos, conferencias y talleres prácticos sobre diagnóstico citológico, incluyendo los congresos anuales de las principales asociaciones profesionales españolas. También es autora o coautora de numerosos artículos en revistas nacionales e internacionales sobre aplicación del diagnóstico citológico a la clínica.

M. Luisa Fermín Rodríguez

Profesora Titular del Dpto. de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM. Jefe de Servicio de Biopatología Clínica del HCVC donde realiza la mayor parte de su actividad asistencial.

Cristina Fragío Arnold

Profesora Titular del Dpto. de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM. Parte de su actividad asistencial en el HCVC se centra en la consulta de hematología clínica y en la interpretación de extensiones de médula ósea.

José Luis González Arribas

Profesor Titular del Dpto. de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM. Responsable de la consulta de Dermatología del HCVC.

Manuel Lázaro Rubio

Veterinario clínico, propietario de la clínica veterinaria “Mirasierra” de Madrid. Forma parte del Grupo de Estudio en Reproducción y Pediatría en Animales de Compañía (GERPAC) de AVEPA.

Alfonso Rodríguez Álvaro

Profesor Titular del Dpto. de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM, y Elisa González Alonso Alegre, Profesor Contratado Doctor del mismo Departamento, forman el equipo de la consulta de Oftalmología del HCVC.

Prefacio

La primera vez que realicé una citología en un paciente con un nódulo cutáneo tuve la suerte de diagnosticar un mastocitoma. Gracias a esta primera experiencia, descubrí que la mayoría de los bultos que presentaban nuestros pacientes no eran lipomas (como “concepto genérico”), sino adenomas de glándulas sebáceas, carcinomas de células escamosas, inflamaciones piogranulomatosas o paniculitis. A partir de ese momento, se abrió un amplio abanico de posibilidades diagnósticas que redundó, positivamente, en el manejo de estos animales.

Y, desde ese día, ya hace muchos años, no he dejado de formarme en el extraño mundo de la citología. No podía ni imaginar la de horas que le iba a dedicar sentada al microscopio, intentando extraer el máximo de información de un grupo celular, de un citoplasma teñido de azul o de un nucléolo. Y el campo se fue ampliando... hígado, pulmón, próstata, lavados traqueales. Lo que tampoco podía imaginar es que esta actividad, casi una afición, iba a constituir uno de los pilares de mi carrera profesional.

El interés de los clínicos de pequeños animales por esta técnica diagnóstica se ha generalizado. Actualmente, la clínica de pequeños animales no se concibe sin que dentro del protocolo diagnóstico de una gran variedad de patologías se incluya un examen citológico. Como he podido comprobar, cualquier curso, taller práctico o conferencia que tenga por objetivo la citología tiene asegurada una masiva asistencia de profesionales interesados y con conocimientos cada vez más profundos de las ventajas e inconvenientes (nunca hay que olvidar las limitaciones) de esta técnica.

Después de tantas horas dedicadas a esta actividad, con miles y miles de portaobjetos evaluados, consideré que merecía la pena realizar un esfuerzo más y favorecer la difu-

sión de las imágenes más representativas obtenidas en estos años. Y esta es la razón del atlas que tenéis en vuestras manos. Sabía, por supuesto, que ya hay numerosos atlas publicados sobre el tema, pero la ventaja de este tipo de publicaciones es que ninguna “sobra”. Cuantos más atlas consultemos, mayores probabilidades tendremos de encontrar una imagen semejante a la que tenemos en nuestro microscopio; por supuesto, también será altamente probable que ninguno de ellos nos proporcione el diagnóstico para nuestra complicada citología, que, además, suele pertenecer a nuestro paciente más querido o a nuestro cliente más complejo. Si este atlas llega a formar parte de vuestra biblioteca de consulta habitual y, al menos, os sirve para ayudaros al diagnóstico de alguno de estos casos, habremos cumplido nuestro objetivo, os lo aseguro.

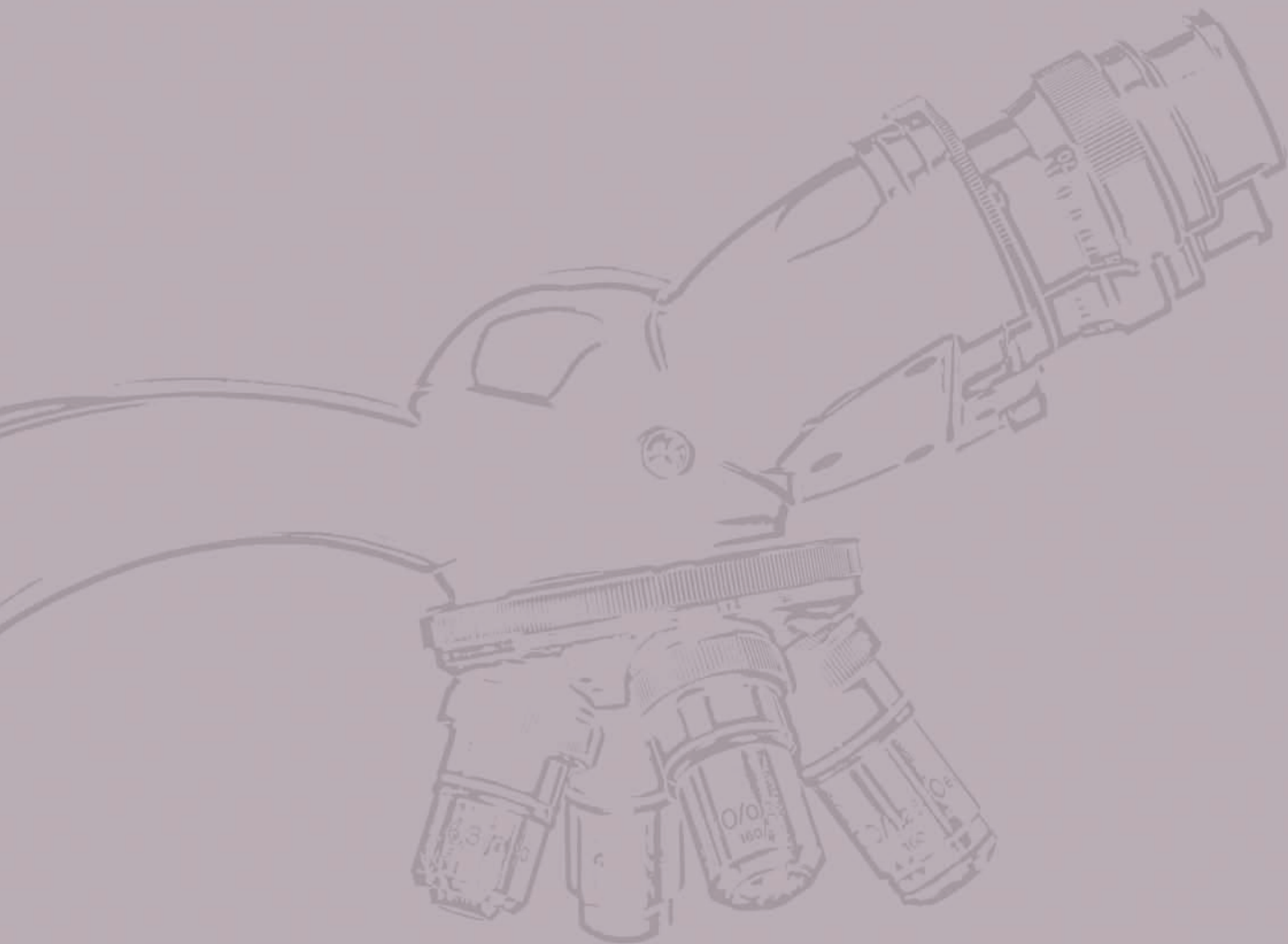
Tengo la enorme suerte de haber contado con ayuda para la realización de este atlas. Compañeros de reconocido prestigio en sus campos de especialidad (dermatología, oftalmología, hematología y reproducción) han participado en este proyecto, dedicándole tiempo y esfuerzo. Sé que sin ellos no podría haber cumplido mis objetivos al plantear este atlas. Son, todos ellos, amigos y, sobre todo, quiero destacar sus cualidades personales y su inmensa dedicación a su trabajo.

También quiero agradecer a Servet su fe en el proyecto y su flexibilidad en los momentos de crisis.

Pero, sobre todo, quiero agradecer a todos los compañeros que me han manifestado su interés en la citología, ya que son los verdaderos responsables de que este proyecto se haya realizado.

Elena M. Martínez de Merlo

Índice



Introducción

Conceptos generales de interpretación citológica

Introducción	4
Preparación de las muestras	6
Recogida y extensión de muestras.....	6
Fijación y tinción de las muestras.....	10
Protocolo de interpretación citológica	12
Interpretación citológica	17
Diagnóstico citológico de inflamación	17
Diagnóstico citológico de procesos tumorales.....	21
Estirpe celular	21
Criterios de malignidad.....	25
Envío de muestras citológicas a laboratorios especializados	32
Bibliografía	32

Diagnóstico citológico de masas cutáneas y subcutáneas

Indicaciones del estudio citológico	34
Recogida y manejo de las muestras	34
Interpretación citológica	35
Lesiones inflamatorias.....	36

Lesiones inflamatorias no infecciosas	36
Lesiones inflamatorias de origen infeccioso.....	39
Lesiones quísticas	40
Lesiones neoplásicas	40
Tumores de células redondas.....	41
Tumores epiteliales.....	50
Tumores epiteliales glandulares.....	50
Tumores epiteliales no glandulares	53
Tumores conjuntivos.....	58
Tumores melánicos	64
Bibliografía	66

Citología de ganglios linfáticos

Indicaciones del estudio citológico de los ganglios linfáticos	68
Toma de muestras, extensión y tinción	69
Interpretación citológica	72
Tipos celulares y otros elementos que pueden estar presentes en una citología ganglionar	74
Citología de un ganglio normal.....	76
Diagnóstico citológico de linfadenitis.....	77
Diagnóstico citológico de hiperplasia reactiva (hiperplasia linfoide benigna).....	80
Diagnóstico citológico de procesos neoplásicos	84
Linfosarcoma.....	84
Ganglio metastásico	91
Bibliografía	98

Citología del tracto digestivo: hepática, pancreática y gastrointestinal

Citología hepática	100
Indicaciones del estudio citológico.....	100
Recogida y manejo de muestras.....	100
Interpretación citológica.....	101
Tejido normal.....	103
Nódulos de hiperplasia o regeneración.....	104
Enfermedad inflamatoria.....	106
Hematopoyesis extramedular.....	107
Tumores.....	108
Cambios metabólicos y degenerativos.....	117
Alteraciones de pigmentos.....	120
Citología de páncreas	121
Indicaciones del estudio citológico.....	121
Recogida y manejo de muestras.....	121
Interpretación citológica.....	122
Citología de páncreas normal.....	123
Citología de procesos inflamatorios.....	123
Citología de procesos neoplásicos.....	124
Citología del tracto gastrointestinal	125
Indicaciones del estudio citológico.....	125
Recogida y manejo de las muestras.....	125
Interpretación citológica.....	126
Bibliografía	130

Citología esplénica

Indicaciones del estudio citológico	132
Recogida y manejo de las muestras	133
Interpretación citológica	134
Citología esplénica normal.....	135
Hiperplasia esplénica (reactiva).....	136
Inflamación esplénica.....	138
Hematopoyesis extramedular.....	138
Neoplasia esplénica.....	140
Tumores hematopoyéticos.....	140
Sarcomas esplénicos.....	145
Bibliografía	146

Citología del aparato reproductor

Citología del aparato reproductor del macho	148
Citología testicular	148
Indicaciones del estudio citológico.....	148
Recogida y procesado de las muestras.....	148
Interpretación citológica.....	148
Citología de próstata	151
Indicaciones del estudio citológico.....	151
Recogida y procesado de las muestras.....	151
Interpretación citológica.....	151
Citología de próstata normal.....	152
Prostatitis.....	153

Hiperplasia	154
Metaplasia escamosa	155
Neoplasia	156
Citología prepucial	157
Citología del aparato reproductor de la hembra	159
Citología vaginal	160
Indicaciones del estudio citológico	160
Recogida y manejo de las muestras	161
Interpretación citológica	162
Determinación de la fase del ciclo estral en la perra	162
Determinación de la fase del ciclo estral en la gata	171
Utilidad clínica de la citología vaginal	171
Determinación del momento fértil	171
Monta indeseada	172
Predicción de la fecha del parto y/o realización de cesárea	172
Prevención del celo	172
Estudios de infertilidad	172
Detección de celos silenciosos	172
Celos partidos	172
Quistes foliculares ováricos	173
Síndrome del remanente ovárico	173
Vaginitis	173
Piometra o metritis	174
Metrorragia	175
Tumores vaginales	175
Bibliografía	176

Citología del aparato respiratorio: citología nasal, lavados traqueales y broncoalveolares, citología pulmonar y de masas mediastínicas

Citología de la cavidad nasal	178
Indicaciones del estudio citológico	178
Recogida y manejo de las muestras	178
Interpretación citológica	180
Celularidad normal observada en las muestras nasales	181
Citología de procesos inflamatorios	185
Citología de procesos neoplásicos	188
Citología de las vías respiratorias (lavado traqueal y broncoalveolar)	193
Indicaciones del estudio citológico	193
Recogida y manejo de las muestras	194
Interpretación citológica	195
Elementos citológicos que pueden observarse en LTB y LBA ...	196
Diagnóstico citológico en LTB y LBA	202
Citología del parénquima pulmonar	210
Indicaciones del estudio citológico	210
Recogida y manejo de las muestras	210
Interpretación citológica	211
Citología de parénquima pulmonar normal	213
Citología de procesos inflamatorios e irritativos	214
Citología de procesos neoplásicos	216
Citología de masas mediastínicas	218
Indicaciones del estudio citológico	218
Recogida y manejo de las muestras	218
Interpretación citológica	218
Bibliografía	220

Citología del tracto urinario

Citología renal	222
Indicaciones del estudio citológico	222
Recogida y procesado de las muestras	223
Interpretación citológica	224
Citología renal normal	225
Procesos inflamatorios	228
Procesos neoplásicos	228
Citología vesical y uretral	232
Indicaciones del estudio citológico	232
Recogida y manejo de las muestras	232
Interpretación citológica	233
Imagen citológica normal	235
Procesos inflamatorios	236
Procesos neoplásicos	237
Bibliografía	242

Citología de la superficie ocular

Indicaciones del estudio citológico conjuntival o corneal	244
Recogida y procesado de muestras	244
Interpretación citológica	245
Citología conjuntival	245
Raspados conjuntivales con predominio de neutrófilos.....	248
Raspados conjuntivales en los que aparecen eosinófilos.....	254
Raspados conjuntivales en los que aparecen células inflamatorias mononucleares.....	255

Otras utilidades de los raspados conjuntivales.....	256
Citología corneal	257
Bibliografía	259

Citología del conducto auditivo externo

Introducción	262
Indicaciones del estudio citológico	262
Recogida y manejo de las muestras	262
Interpretación citológica	263
Citología del oído sano	264
Citología del oído con otitis	265
Bacterias	265
Levaduras	268
Células inflamatorias	268
Parásitos	270
Bibliografía	270

Estudio citológico de líquidos orgánicos

Líquido peritoneal, pleural y pericárdico	272
Indicaciones del estudio citológico.....	272
Recogida y manejo de las muestras.....	273
Interpretación citológica.....	275
Tipos celulares presentes en líquidos orgánicos.....	276
Clasificación de líquidos orgánicos y características citológicas	282
Trasudados y trasudados modificados.....	282
Exudados.....	284

Derrames quilosos y pseudoquilosos.....	288	Citología del frotis sanguíneo	
Derrames hemorrágicos.....	289	Introducción	322
Derrames neoplásicos.....	290	El frotis sanguíneo perfecto	322
Líquido sinovial	296	Examen microscópico del frotis sanguíneo	326
Indicaciones del estudio citológico.....	296	Realizar un barrido del frotis con el objetivo	
Recogida y manejo de las muestras.....	297	de 10x y observar	326
Interpretación citológica y tipos celulares que pueden		Examinar la zona en monocapa del frotis	
estar presentes en el líquido articular.....	299	con el objetivo de 100X para	326
Características citológicas del líquido articular normal.....	300	Eritrocitos	327
Características citológicas del líquido articular patológico	301	Morfología del eritrocito y características de la población	
Hemartrosis.....	302	eritroide en sangre periférica del perro y del gato sano	327
Artropatías degenerativas.....	303	Alteraciones morfológicas de los eritrocitos	
Artropatías inflamatorias.....	305	de interés clínico	328
Artropatías neoplásicas.....	306	Alteraciones en la disposición de los eritrocitos	328
Líquido cefalorraquídeo	307	Pilas de moneda	328
Indicaciones del estudio citológico.....	307	Aglutinación	329
Recogida y manejo de las muestras.....	307	Alteraciones en el tamaño del eritrocito	330
Interpretación citológica.....	310	Anisocitosis	330
Características citológicas del LCR normal.....	312	Macrocitosis	330
Alteraciones citológicas sin modificación		Microcitosis	331
del recuento de células nucleadas.....	314	Alteraciones en la coloración del eritrocito	331
Alteraciones citológicas con modificación		Hipocromía.....	331
del recuento de células nucleadas.....	315	Policromatofilia.....	331
Pleocitosis neutrofílica	315	Alteraciones en la forma del eritrocito.....	334
Pleocitosis mononuclear linfocítica	316	Poiquilocitosis.....	334
Pleocitosis mixta	318	Equinocito	334
Pleocitosis eosinofílica.....	318	Acantocito.....	335
Bibliografía	319	Queratocito	335

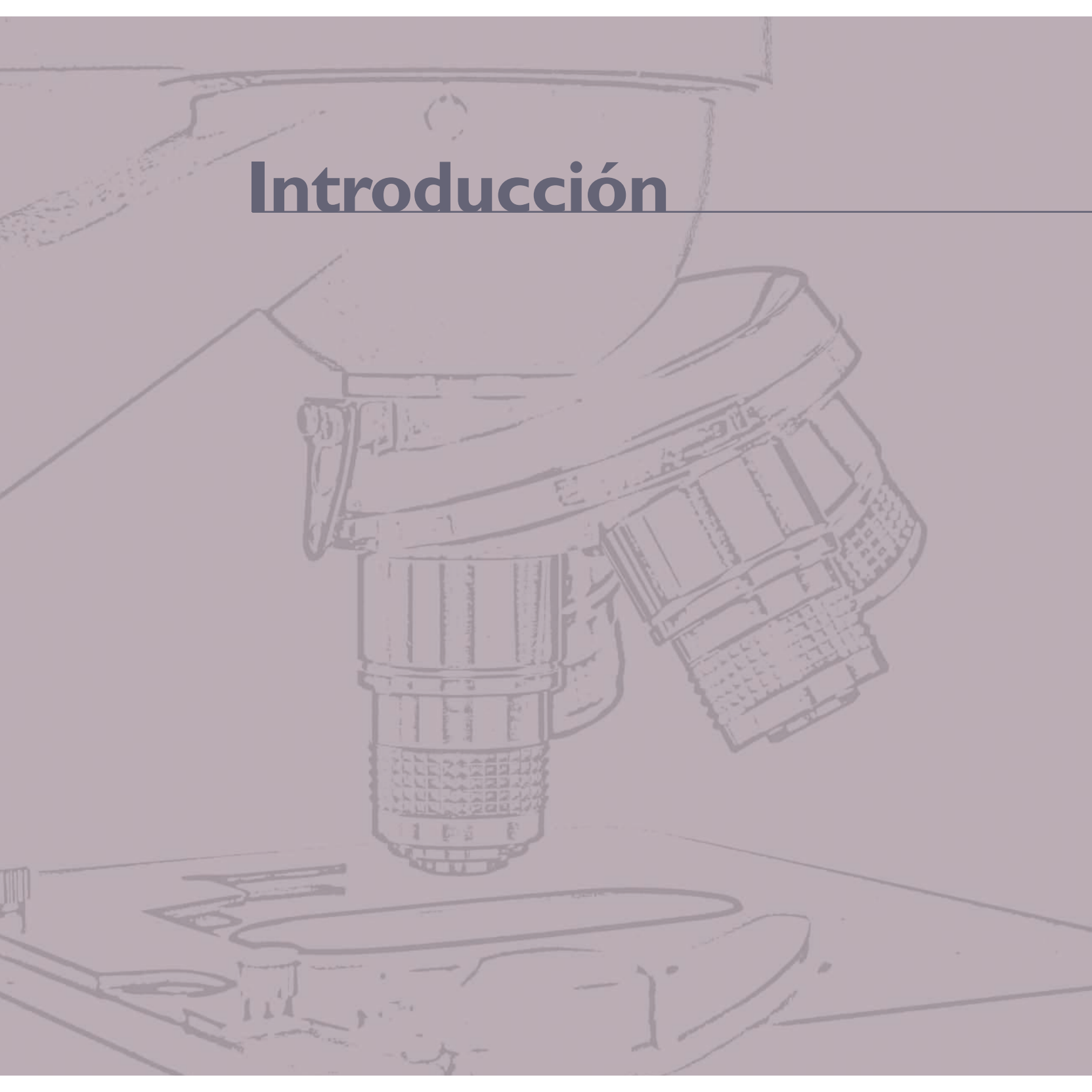
Esquistocito	335	Neutrófilos hipersegmentados	354
Eliptocito	336	Linfocitos reactivos	355
Esferocito	336	Inclusiones citoplasmáticas de agentes infecciosos	355
Excentrocito	336	Inclusiones de moquillo canino	355
Leptocito	337	<i>Hepatozoon canis</i>	355
Estomacocito	337	<i>Ehrlichia</i> spp.	355
Inclusiones citoplasmáticas eritrocitarias	340	Bacterias, hongos y protozoos	355
Punteado basófilo	340	Plaquetas	358
Cuerpos de Howell-Jolly	340	Morfología de las plaquetas del perro	
Cuerpos de Heinz	340	y del gato sano en sangre periférica	358
Inclusiones de moquillo canino	342	Alteraciones morfológicas de las plaquetas	
Hematíes nucleados	342	de interés clínico	358
Parásitos eritrocitarios	342	Plaquetas activadas	358
<i>Babesia</i> spp.	342	Macroplaquetas	359
<i>Mycoplasma haemofelis</i>	345	Microplaquetas	359
<i>Theileria felis</i>	345	Parásitos plaquetarios	359
Artefactos en los hematíes	345	<i>Anaplasma platys</i>	359
Leucocitos	348	Bibliografía	362
Morfología de los leucocitos y características de la población			
leucocitaria en sangre periférica del perro y del gato sano ..	348		
Neutrófilo segmentado	348		
Neutrófilo en banda	348		
Eosinófilo	348		
Basófilo	348		
Linfocito	349		
Monocito	349		
Alteraciones morfológicas			
de los leucocitos de interés clínico	352		
Neutrófilos tóxicos	352		
Desviación a la izquierda	353		

Citología de la médula ósea

Indicaciones del estudio citológico	364
Recogida y procesado de las muestras	366
Interpretación citológica	372
Tipos celulares presentes en la MO y morfología	372
Serie eritroide	372
Serie granulocítica o mielóide	376
Serie monocítica	381

Serie megacariocítica.....	382
Serie linfocítica	385
Otras células	386
Evaluación clínica de aspirados de médula ósea	388
Evaluación de la calidad de la muestra	388
Evaluación de la celularidad	389
Evaluación del número relativo y morfología de los megacariocitos.....	391
Evaluación de la relación mieloide: eritroide (ratio M:E) y recuento diferencial	392
Evaluación de la maduración y morfología de las series eritroide y mieloide.....	393
Morfología y maduración de la serie eritroide.....	394
Morfología y maduración de la serie granulocítica	395
Evaluación de la presencia y morfología de otros tipos celulares habituales en MO	401
Células linfoides	401
Monocitos y macrófagos.....	402
Evaluación de la presencia de otras células o microorganismos.....	402
Bibliografía	408

Introducción



Una de las principales ventajas del diagnóstico citológico es que puede ser realizado por los veterinarios de forma inmediata en la propia clínica, siempre que se disponga de unos conocimientos básicos. El principal objetivo de este atlas es facilitar los conceptos de interpretación citológica necesarios para que los veterinarios clínicos de pequeños animales se familiaricen con la materia y sean capaces de obtener el máximo rendimiento de esta técnica diagnóstica de forma rápida y segura.

No se puede aprender interpretación citológica si no se dispone de imágenes que muestren, al menos, los caracteres celulares básicos de las principales patologías inflamatorias o neoplásicas que pueden afectar a los pequeños animales. No obstante, elaborar un atlas de imágenes citológicas constituye un reto para los autores. Por un lado, se busca que sea lo más completo posible, con numerosas imágenes representativas; pero, por otro lado, es completamente imposible reflejar todos los matices citológicos, ya que las posibilidades diagnósticas llegan a rozar el concepto de “infinito”. Los autores de este atlas hemos intentado cumplir el primer objetivo, mostrando la generalidad; además, nuestro propósito ha sido profundizar lo más posible en los diagnósticos citológicos más exactos y concretos. Por supuesto, somos conscientes de que faltan imágenes de los procesos menos frecuentes o más atípicos, en los que sólo una amplia experiencia propia puede resolver las dudas de la interpretación.

La estructura del atlas que presentamos es la clásica de cualquier atlas de interpretación citológica. Creemos que los capítulos que hemos abordado permiten obtener una imagen general de todas las aplicaciones del diagnóstico citológico en pequeños animales.

Presentamos un primer capítulo de conceptos generales, en el que se abordan los conceptos más genéricos necesarios para iniciarse en esta técnica diagnóstica: técnicas de obtención de muestras, preparación de las extensiones y su tinción, protocolo general de interpretación y las bases necesarias para realizar un diagnóstico preliminar. Todos estos conceptos básicos se aplicarán en el resto de capítulos.

Hemos estructurado los capítulos específicos siguiendo un esquema común. En primer lugar, se exponen las indicaciones del estudio citológico, es decir, su utilidad en cada caso en particular y qué tipo de información se puede obtener; a continuación, se proporcionan los datos sobre recogida y manejo de muestras que difieran de lo expuesto en el primer capítulo. El bloque más amplio de cada capítulo se refiere a la interpretación citológica, que incluye el protocolo diagnóstico más adecuado para cada caso, la descripción de los tipos celulares normales y, por último, los patrones citológicos que definen las diferentes patologías inflamatorias o neoplásicas específicas de cada órgano o sistema. Estos capítulos específicos incluyen las masas cutáneas y subcutáneas, los ganglios linfáticos, el tracto digestivo, el bazo, el aparato reproductor; el aparato respiratorio, el tracto urinario, la superficie ocular; el conducto auditivo, los líquidos orgánicos, frotis sanguíneos y médula ósea.

Salvo las imágenes de citologías vaginales, realizadas por Manuel Lázaro en su Clínica Veterinaria "Mirasierra" de Madrid, el resto proceden de muestras obtenidas de pacientes atendidos en el Hospital Clínico Veterinario Complutense (HCVC) de la Facultad de Veterinaria de Madrid. Agradecemos la colaboración de todos los compañeros que realizan actividad clínica en dicho hospital. Todos ellos son conscientes de la importancia del diagnóstico citológico y no dudan en aplicarlo en sus especialidades.

De nuevo con la excepción de las citologías vaginales, teñidas con tinciones rápidas, el resto de las imágenes han sido teñidas con la técnica May Grunwald-Giemsa por los técnicos del Servicio de Biopatología del HCVC, a los que agradecemos su trabajo y esfuerzo.

Sólo en el capítulo de citología del conducto auditivo externo se ha especificado el tipo de aumentos a los que se han realizado las fotografías, ya que, sin este dato, las imágenes no proporcionan información suficiente. En el resto de capítulos, la mayoría de las fotos se han realizado con objetivo intermedio (40x) para campos generales y con objetivo de inmersión (100x) para detalles específicos. Son pocas las imágenes obtenidas con el objetivo (10x), para casos puntuales en la evaluación de médula ósea o citologías vaginales en las que era necesario reflejar las primeras impresiones.

conceptos
generales de
interpretación
citológica

Introducción

La citología puede definirse como el examen morfológico de células aisladas o en grupos, liberadas de su tejido de origen. El objetivo del estudio citológico es definir la patogenia de una lesión, diferenciando entre tejido normal, inflamatorio, hiperplásico o neoplásico.

La citología debe considerarse un paso intermedio entre el estudio clínico y el histopatológico y constituye un dato fundamental para poder establecer un pronóstico, diseñar un protocolo terapéutico y monitorizar el curso de la enfermedad y los efectos de la terapia. Si el estudio citológico es compatible con la existencia de un proceso inflamatorio, puede informar sobre su curso e, incluso, su etiología; si se establece la existencia de una neoplasia, la citología puede permitir definir el origen del tumor y su grado de malignidad. En algunas ocasiones, el examen citológico es la única prueba necesaria para diagnosticar un tumor (mastocitoma, tumor venéreo transmisible); en otros, puede proporcionar datos suficientes para sospechar de su existencia y, en consecuencia, establecer cuáles son las pruebas diagnósticas posteriores necesarias para confirmar esta presunción (biopsia, búsqueda de metástasis).

Las ventajas de la citología son numerosas y justifican su utilidad como técnica diagnóstica que debe emplearse de forma rutinaria en la clínica. En primer lugar, constituye una técnica simple y de ejecución rápida, lo que minimiza el estrés del animal. Requiere un material mínimo disponible en todos los centros veterinarios. Por ello, es una prueba barata y al alcance de cualquier propietario. Por otro lado, es una técnica muy poco invasiva, de forma que se minimizan los riesgos de infección, hemorragia o diseminación de un posible proceso neoplásico; además, es una técnica poco dolorosa, por lo que, en la mayoría de los casos, no requiere sedación ni anestesia del paciente, de forma que los riesgos para el mismo

disminuyen aún más. Estas ventajas permiten que sea posible repetir la técnica cuantas veces sea necesario, lo que ampliará su capacidad diagnóstica. El procesado de la muestra se realiza de forma casi inmediata y, por último, puede ser interpretada por el clínico, con un proceso de aprendizaje básico, lo que permite obtener resultados fiables rápidamente, acelerando, de esta forma, el proceso diagnóstico o la toma de decisiones terapéuticas.

Sin embargo, la citología no es una técnica exenta de limitaciones. En primer lugar, no muestra la arquitectura tisular, esencial para el diagnóstico y el pronóstico de muchos procesos neoplásicos, por ejemplo, los tumores mamarios; además, no proporciona datos sobre márgenes, estroma ni grado de invasión, fundamentales para definir el pronóstico oncológico. En segundo lugar, algunas lesiones, generalmente de naturaleza mesenquimatosa, exfolian de forma limitada, y, en ocasiones, no se obtiene suficiente material para poder emitir un diagnóstico. Por último, la muestra obtenida puede no ser representativa de toda la lesión, ya que muchas de ellas, por su naturaleza o su tamaño, son heterogéneas y la muestra obtenida de un determinado punto puede no reflejar el conjunto de la lesión.

Todas estas limitaciones condicionan que, salvo excepciones, la citología no pueda considerarse una técnica de diagnóstico definitiva. En la mayoría de los casos, se emitirá un diagnóstico de "compatible con...". Por ello, la citología nunca debe considerarse un sustituto del examen histológico de una lesión, sino una técnica preliminar y complementaria de la biopsia. Se han realizado estudios que definen que la sensibilidad diagnóstica de la citología oscila entre el 33 y el 66%, dependiendo de la localización de la lesión. Es más elevada en lesiones cutáneas y subcutáneas, mientras que la menor sensibilidad corresponde a muestras hepáticas. Este mismo estudio

concluye que los falsos negativos son más frecuentes que los falsos positivos y que es más eficaz en el diagnóstico de procesos neoplásicos que displásicos o hiperplásicos.

Además de las limitaciones intrínsecas del diagnóstico citológico mencionadas anteriormente, hay que considerar que existen dificultades técnicas que pueden limitar su eficacia diagnóstica. Aproximadamente, el 40% de las muestras citológicas obtenidas no son representativas, y, aunque en muchos casos se debe a que no se obtienen suficientes células, en muchos otros el problema reside en una mala calidad de la extensión por defectos en la toma de muestras, en la extensión o en la tinción.

El tipo de muestras que pueden examinarse desde el punto de vista citológico es muy variado.

Incluye:

- Masas cutáneas o subcutáneas.
- Ganglios linfáticos.
- Órganos internos sólidos.
- Médula ósea.
- Vagina.
- Líquidos orgánicos:
 - Fluidos como el líquido cefalorraquídeo, el líquido sinovial o la orina.
 - Efusiones de cavidades orgánicas: abdominal, pleural, pericárdica.
- Superficies epiteliales del árbol respiratorio mediante lavados nasales, traqueales o bronquiales.
- Conducto auditivo externo.
- Conjuntiva.

Preparación de las muestras

Recogida y extensión de muestras

La toma de muestras citológicas se puede realizar con diferentes técnicas, dependiendo de la localización y naturaleza de la lesión o de los objetivos de la técnica. La toma de muestras más habitual se realiza mediante punción-aspiración con aguja fina (**PAAF**) o mediante punción con aguja fina (**PAF**). Otras técnicas, como la impronta o el raspado, tienen especificaciones más limitadas.

La realización de PAAF o PAF requiere un material mínimo: jeringas de 6-12 ml, agujas de 22-25 G, cuya longitud dependerá del tamaño, localización y profundidad de la lesión y portaobjetos de buena calidad, nuevos, no reciclados y limpios de polvo u otros residuos. Es aconsejable emplear portaobjetos que tengan un extremo esmerilado, lo que permite rotularlos con lápiz que permanece indeleble; de esta forma, se evita la pérdida de identificación durante el proceso de tinción, así como que la muestra quede contaminada por la tinta de bolígrafos o rotuladores.

La PAAF y la PAF son técnicas muy similares. La principal diferencia entre ellas reside en que la segunda asegura una mayor integridad de las células obtenidas, por lo que constituye la técnica de elección en tejidos muy frágiles, cuyas células se rompen con facilidad. Los ganglios linfáticos son el principal ejemplo de este tipo de tejidos y en ellos es obligado el empleo de PAF. También es recomendable emplear PAF en lesiones muy vascularizadas ya que se minimiza la contaminación sanguínea. En lesiones poco exfoliativas puede ser recomendable emplear la PAAF, ya que se asegura un mayor contenido celular.

En ambos casos, la toma de muestras no debe realizarse sobre zonas ulceradas de la lesión, ya que en estas áreas sólo se refleja el

proceso inflamatorio. Deben hacerse bien sobre zonas íntegras o introduciendo la aguja por debajo de la úlcera para asegurarse la toma de muestras de zonas representativas de la lesión. Otra consideración a tener en cuenta es la aplicación de estas técnicas en lesiones de gran tamaño. Es habitual que la zona central esté necrótica y/o inflamada, por lo que la toma de muestras en esta área puede conducir a errores de interpretación. En estos casos, es conveniente tomar las muestras de zonas más periféricas.

Al ser técnicas poco invasivas y normalmente no dolorosas, resulta apropiado realizar varias punciones en diferentes zonas de la lesión, con el fin de incrementar la capacidad diagnóstica al tratar de obtener una mayor cantidad de células y ampliar el número de áreas evaluadas, de forma que se minimice la desventaja de la técnica sobre lesiones heterogéneas.

Para la realización de ambas técnicas en masas externas y ganglios se requiere una mínima asepsia y, normalmente, ni siquiera es necesario rasurar la zona. Tampoco es estrictamente necesario el empleo de guantes. En el caso de aplicarlas sobre masas u órganos intracavitarios, es fundamental realizar una limpieza quirúrgica de la zona. Sin embargo, hay que tener en cuenta que conviene eliminar todos los restos de antisépticos, sobre todo si se emplea povidona yodada, ya que el colorante del mismo puede contaminar las muestras y dificultar su interpretación. En el caso de masas internas palpables o de órganos difusamente afectados pueden realizarse a ciegas. No obstante, tanto en estos casos como si se pretende evaluar lesiones focales, es mucho más adecuado ayudarse de la ecografía para asegurar la obtención de material de la zona alterada.

El propósito de la PAAF es obtener una mínima cantidad de material que no pase del cono de la aguja. La aguja conectada a la jeringa se introduce en la lesión y se procede a realizar varias aspiraciones, cada una de ellas de, aproximadamente, tres cuartos del volumen de la jeringa. Si no se aspira lo suficiente, puede que no se obtenga la cantidad de material necesaria para el diagnóstico. Puede redirigirse la aguja en varias direcciones en una única toma de muestras. Es importante liberar la presión negativa antes de retirar la aguja, para evitar que el material pase a la jeringa y que la muestra se contamine de tejidos próximos. La aspiración debe interrumpirse si se observa la entrada de sangre en el cono de la aguja, lo que implica que se está

produciendo una excesiva contaminación sanguínea. Para minimizar la hemodilución deben evitarse las agujas de gran calibre, a pesar de que permiten obtener mayor cantidad de células, y evitar realizar aspiraciones excesivas o prolongadas. Salvo en lesiones quísticas, el material nunca debe alcanzar el cono de la jeringa (fig. 1).

Una vez realizada la aspiración, se separa aguja y jeringa, se llena la jeringa de aire antes de volver a conectarlas y se expulsa el material de forma rápida en el extremo de un portaobjetos.

La PAF supone realizar la toma de muestras sin ejercer ningún tipo de succión. La aguja se introduce en la lesión y se mueve varias veces sin llegar a sacarla, en diferentes direcciones y profundidades. Los pases de la aguja deben ser rápidos y a la suficiente profundidad: introducir un mínimo de 1,5 cm (si el tamaño de la lesión lo

Figura 1. PAAF de una masa cutánea.



permite) a una frecuencia de tres pases por segundo (fig. 2). Una vez recogido el material, se conecta la aguja a una jeringa llena de aire y se procede a su expulsión sobre el portaobjetos. La técnica puede realizarse con la aguja conectada a una jeringa llena de aire antes de introducirla en la masa con el fin de proceder más rápidamente a la extensión.

Cuando se realiza la expulsión del material obtenido por PAAF o PAF, la punta de la aguja y el portaobjetos deben estar muy próximos. Si se realiza a distancia, el material se dispersa en múltiples gotas que se secan rápidamente, lo que impide la realización de una correcta extensión. En el caso de obtener gran cantidad de material es conveniente distribuirlo en varios portaobjetos para evitar que las extensiones queden demasiado gruesas. La extensión debe realizarse de forma muy rápida para evitar que la muestra se seque.

La forma de realizar la extensión es primordial para obtener muestras de buena calidad en las que sea posible realizar un diagnóstico citológico correcto. Una buena extensión debe asegurar una monocapa celular que pueda teñirse uniformemente. En general, se pretende conseguir una extensión en forma de llama que ocupe un máximo de $2/3$ del portaobjetos; de esta forma se evita una excesiva dispersión de células o que éstas se dispongan en los bordes, lo que provoca su deformación y no permite una correcta tinción. La extensión debe realizarse con un movimiento continuo para evitar la formación de cúmulos celulares, y sin aplicar una presión excesiva para favorecer la integridad celular:

Aunque existen varias técnicas de extensión, la más adecuada para muestras obtenidas

Figura 2. PAF de ganglio preescapular:



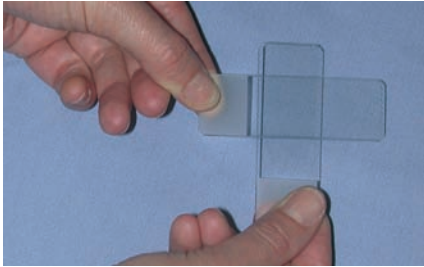
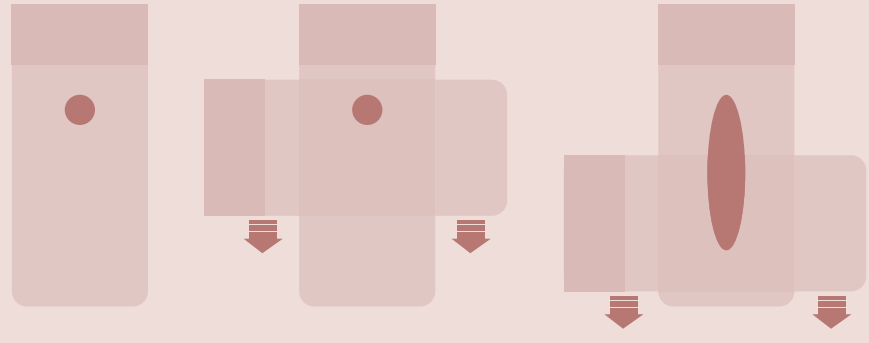


Figura 3. Extensión de una muestra mediante la técnica de *squash*.

por PAAF o PAF es la denominada *squash* o por "aplastamiento", que consiste en colocar un segundo portaobjetos sobre la gota de muestra, en posición horizontal y, en el momento en que se establece el contacto, proceder a deslizar el segundo portaobjetos sobre el primero con un movimiento suave, rápido y continuo (fig. 3). En muestras muy contaminadas con sangre puede realizarse la técnica aplicada en frotis sanguíneos, acercando el borde corto del segundo portaobjetos a la muestra desde delante de la misma, manteniendo un ángulo aproximado de 30-40°, para proceder a su deslizamiento desde el momento en que contacte con la gota de material.

Técnica de *squash*



Además de la PAAF y la PAF, puede realizarse la toma de muestras mediante improntas, raspados o con hisopos.

Las **improntas** pueden obtenerse de lesiones externas o de muestras obtenidas durante actos quirúrgicos o necropsias. En lesiones externas sólo son útiles en zonas ulceradas; en la mayoría de los casos, se obtiene poco material de las capas más externas, generalmente inflamadas, queratinizadas o contaminadas. Por ello, no es una técnica demasiado útil. Para incrementar la capacidad diagnóstica es conveniente tomar muestras antes y después de lavar la úlcera con suero salino; asimismo, debería combinarse con el estudio del tejido situado por debajo de la úlcera mediante toma de muestras con PAAF o PAF. Las improntas procedentes de tejidos extirpados permiten evaluar la celularidad de la superficie de corte, que suele ser abundante y estar bien conservada; no obstante, no permite acceder a zonas internas de la lesión. Antes de realizar la impronta, es necesario lavar la superficie

de corte y eliminar los restos de sangre con un papel secante. Posteriormente, se procede a presionar la superficie del tejido varias veces sobre diferentes partes de un mismo portaobjetos, dejando suficiente espacio entre las improntas. No se realiza, posteriormente, ningún tipo de extensión adicional.

Los **raspados** permiten obtener muestras de áreas superficiales. Constituye la técnica de elección para tomar muestras de conjuntiva y también se emplea en lesiones cutáneas planas y secas. En otras localizaciones, sin embargo, es una técnica poco empleada. Se obtiene, en general, gran cantidad de material, pero sujeto a las limitaciones mencionadas anteriormente en las improntas. El raspado se realiza deslizando sobre la superficie el borde romo de una hoja de bisturí o, en el caso de la conjuntiva, con espátulas romas. El material obtenido se coloca sobre un portaobjetos y se procede a su extensión con las técnicas descritas anteriormente.

Las muestras procedentes de la superficie vaginal y del conducto auditivo externo suelen obtenerse mediante un hisopo de algodón. El material se extiende sobre un portaobjetos mediante un movimiento rotatorio.

Fijación y tinción de las muestras

En general, es suficiente con fijar las extensiones al aire para favorecer la adherencia celular al portaobjetos y evitar su pérdida durante la tinción. En caso de que la tinción se retrase pueden fijarse con metanol (2-3 gotas durante 2 minutos) o con el primer paso de las tinciones rápidas.

La **tinción** constituye el siguiente paso que va a definir la calidad de la muestra. Por ello, deben tomarse todas las precauciones para que sea correcta. Existen numerosas técnicas de tinción. Es importante que el clínico se familiarice con una de ellas y la emplee como referencia. Las técnicas Romanowsky (Giemsa, Wright, May-Grünwald-Giemsa) son las más empleadas en citología. Estas técnicas emplean una combinación de azul de metileno, eosina y azur de metileno, que tiñen, respectivamente, el núcleo, el citoplasma y los gránulos. Todas ellas proporcionan una excelente tinción del citoplasma y una tinción correcta del núcleo, por lo que permiten, en general, una evaluación citológica adecuada. Las técnicas de tinción rápida carecen de azur de metileno, por lo que tiñen los gránulos con dificultad. Son muy útiles para el clínico por su rapidez, son adecuadas para una evalua-

ción preliminar y suelen ser válidas para la mayor parte de las muestras, pero, comparadas con otras técnicas, es más difícil realizar un examen citológico detallado, sobre todo cuando la observación y definición de gránulos es fundamental (médula ósea, mastocitomas). En laboratorios especializados pueden aplicarse otras tinciones no rutinarias, químicas y/o inmunológicas, que permiten establecer diagnósticos a niveles semejantes a los establecidos en muestras histológicas.

Es necesario usar siempre colorantes en buen estado y filtrados, evitando la exposición de las muestras y los colorantes al polvo y a otros contaminantes ambientales.

Los problemas más frecuentes relacionados con la tinción son: una tinción excesiva por un tiempo prolongado de exposición; una tinción débil por el empleo de colorantes en mal estado o una exposición demasiado corta; una tinción irregular en muestras gruesas, donde las zonas de mayor acumulación captan todo el colorante y dejan sin teñir las zonas con menor número de células y, finalmente, la presencia de precipitados por emplear colorantes contaminados.

Lo más indicado en muestras con claros defectos de tinción es repetir la toma de muestras. Si esto no es posible, se pueden intentar métodos de corrección. De esta forma se pueden decolorar las muestras excesivamente teñidas con 2-3 gotas del fijador o de metanol. Las muestras débilmente teñidas pueden volver a introducirse en el colorante, pero, en este caso, es necesario hacerlo de forma progresiva, comprobando cada pocos segundos el estado de la tinción para evitar el efecto contrario.

En general, deben seguirse las instrucciones de los diferentes métodos de tinción, pero puede ser necesario realizar pequeñas adaptaciones dependiendo del tipo de muestra; de esta forma, en las muestras gruesas deben incrementarse los tiempos de tinción, mientras que las hipocelulares requieren un menor tiempo.

Las extensiones teñidas se pueden preservar con cubreobjetos adheridos mediante resinas sintéticas; en las citologías cubiertas se resaltan los detalles, lo que favorece la interpretación; asimismo, conservan las preparaciones libres de polvo y evitan la pérdida de color. No debe aplicarse un exceso de resina y es necesario evitar la formación de burbujas de aire que distorsionen la imagen al microscopio.

Tinción de May-Grünwald-Giemsa

- 1 Cubrir la extensión con May-Grünwald durante 3 minutos.
- 2 Diluir al 50% el colorante sobre la extensión con tampón fosfato (pH 7) y mantener durante 2 minutos.
- 3 Lavar con agua.
- 4 Cubrir la extensión con Giemsa diluido al 10% con tampón fosfato (pH 7) durante 10 minutos.
- 5 Lavar.

Protocolo de interpretación citológica

La interpretación de muestras citológicas debe realizarse con microscopios de buena calidad que dispongan, al menos, de objetivos de 10x, 40x y 100x (aceite de inmersión) aumentos. La interpretación debe realizarse siguiendo un protocolo que permita elegir las mejores zonas para realizar un estudio citológico detallado.

La clave de la interpretación citológica es realizarla exclusivamente sobre muestras de buena calidad, que se definen como citologías en las que predominan las células intactas, bien teñidas y bien distribuidas, en las que se diferencia perfectamente el núcleo del citoplasma. Como norma general de interpretación citológica, hay que considerar que el diagnóstico viene definido por el conjunto de la población; no es necesario tratar de identificar todas las células y no se puede emitir un diagnóstico basado en las características de una única célula.

Cuando la extensión de la muestra no se realiza correctamente, las células no se disponen en la monocapa idónea para realizar su evaluación. Además de las extensiones demasiado gruesas, el defecto más frecuente es que la población se distribuya en gotas gruesas (fig. 4).

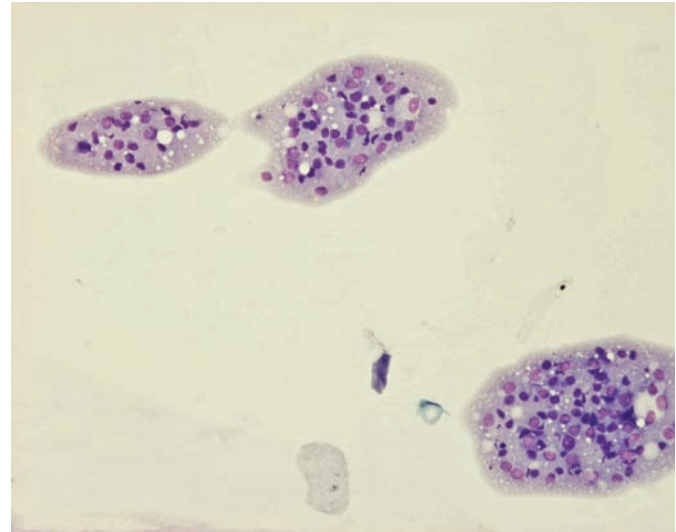


Figura 4. Extensión citológica incorrecta en forma de grumos.

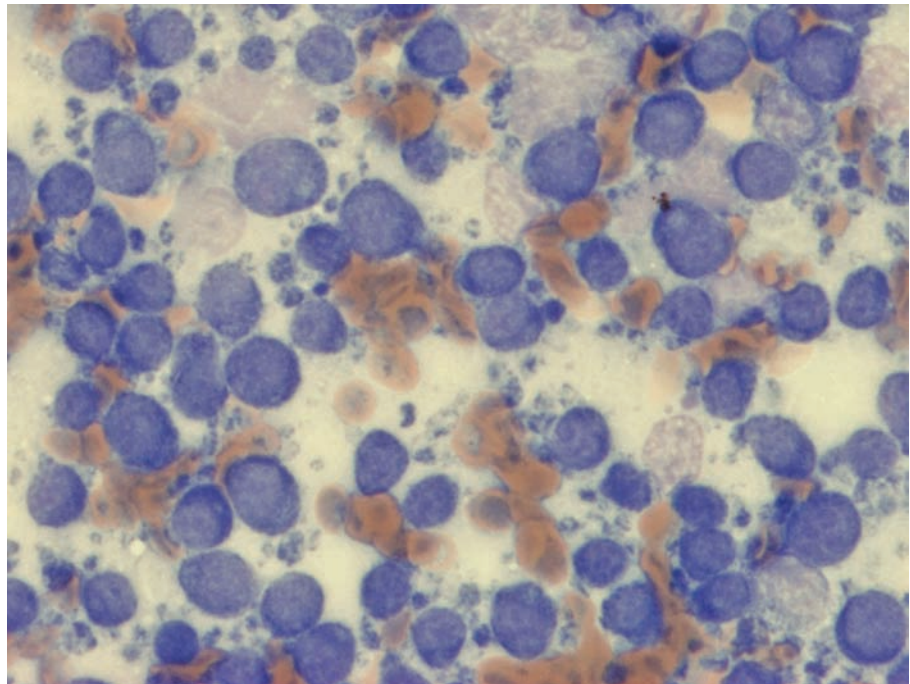
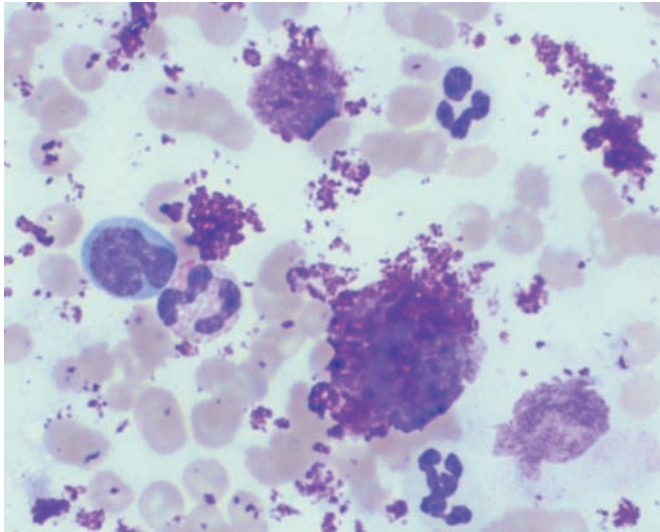


Figura 5. Citología excesivamente teñida.



La tinción de las células es básica para poder llevar a cabo una interpretación fiable. Las muestras gruesas y/o excesivamente teñidas no permiten definir el límite entre núcleo y citoplasma (fig. 5). Esto también ocurre en citologías escasamente teñidas, a lo que se une que los nucléolos resaltan en exceso, lo que puede conducir a interpretar falsamente un criterio de malignidad (fig. 6). Los precipitados de colorantes, polvo u otros contaminantes dificultan la visión de las células y sus detalles (fig. 7).

Figura 6. Citología débilmente teñida. Los nucléolos aparecen más prominentes por el defecto en la tinción.

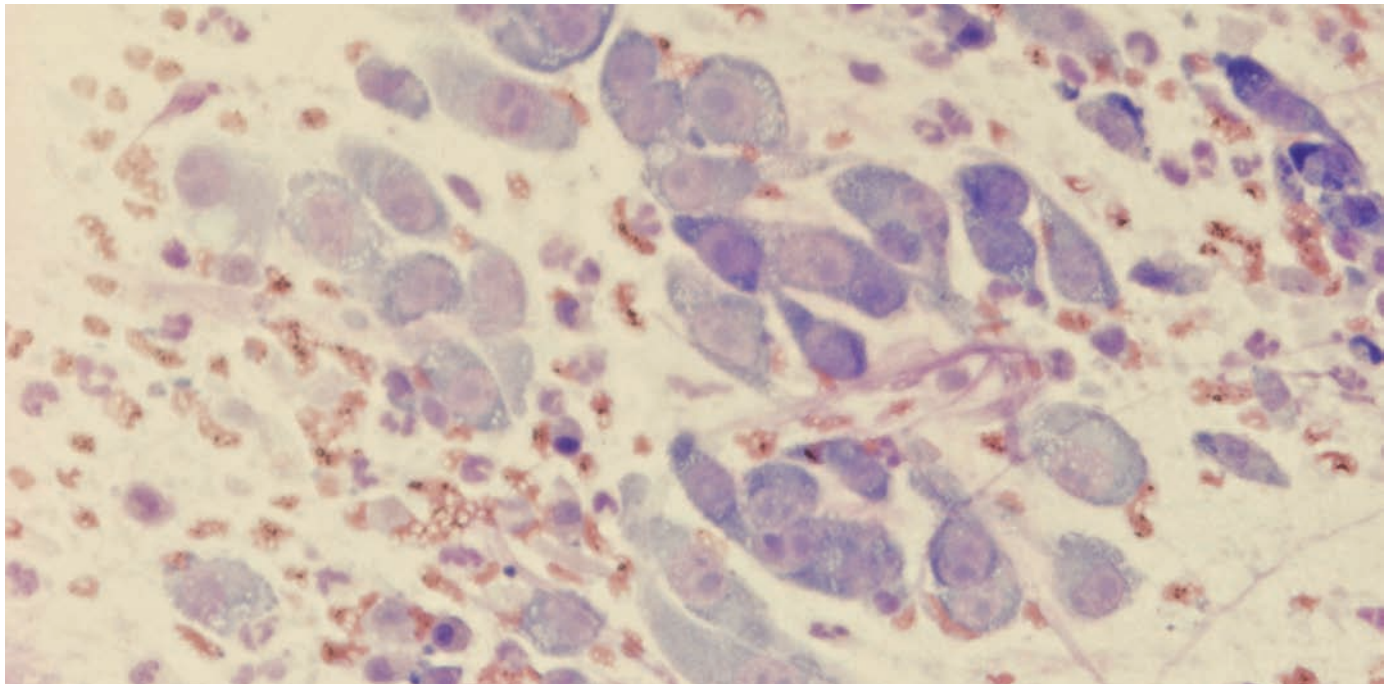
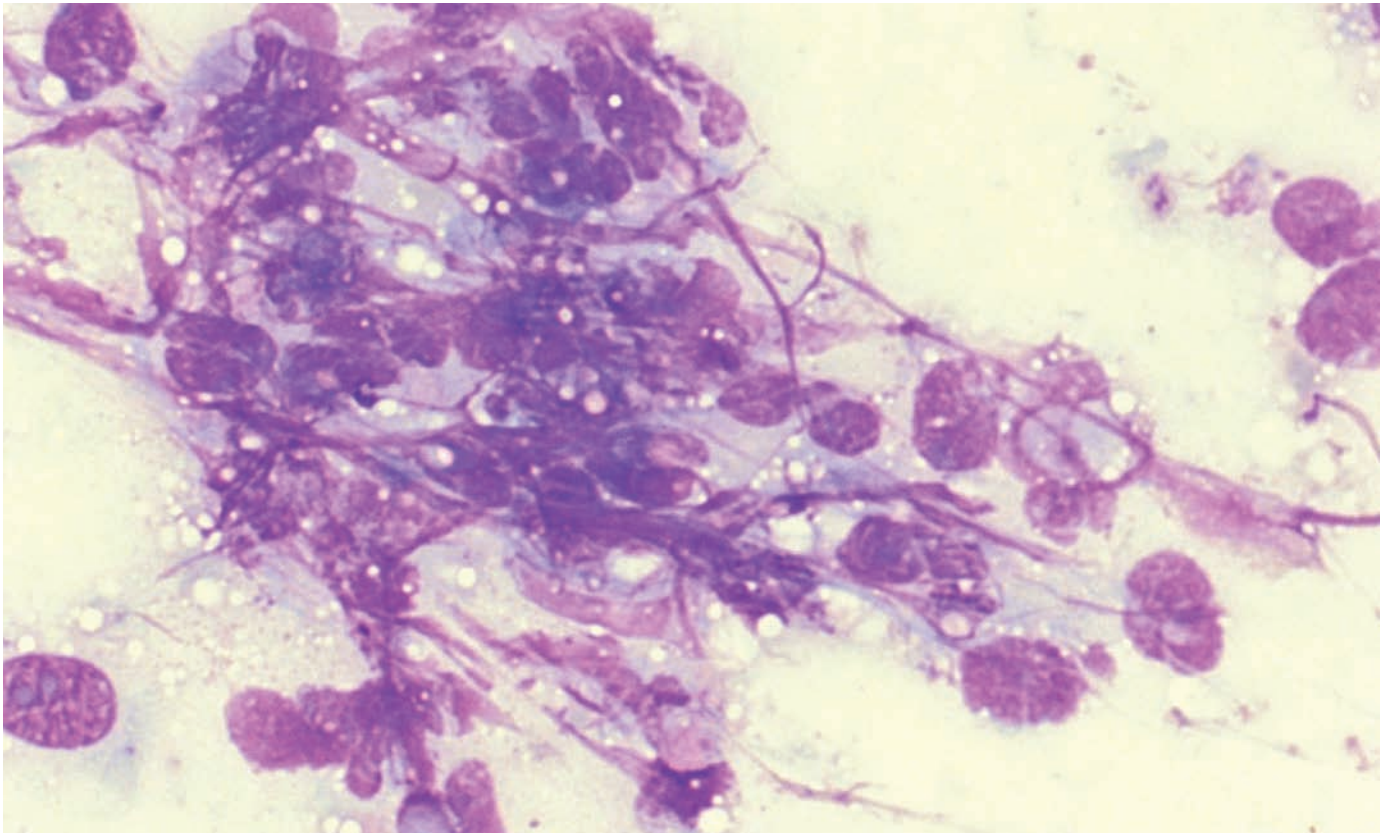


Figura 7. Presencia de precipitados (gel de ecografía).

Muchas citologías pueden presentar un cierto número de células rotas, observándose núcleos desnudos, bandas de material nuclear o fragmentos del citoplasma. Si existe un número suficiente de células intactas, estas muestras pueden emplearse para emitir un diagnóstico, pero hay que tener en cuenta que las células rotas no deben valorarse, sobre todo para la definición de criterios de malignidad. Si predominan las células rotas, la muestra debe desecharse y proceder a una nueva recogida (fig. 8).

Una de las principales complicaciones de la interpretación citológica es la evaluación de muestras hemodiluidas. Un cierto grado de contaminación sanguínea es inevitable, pero si es excesiva puede suceder que sólo se observen hematíes y leucocitos, sin que destaquen las células tisulares. Además, una excesiva hemodilución puede conducir a importantes errores de interpretación, ya que puede ser difícil determinar si la sangre es realmente contaminante o si, por el contrario, es consecuencia de la naturaleza de la lesión (hematomas, neoplasias vasculares).

Figura 8. Citología de mala calidad en la que predominan células rotas.



Para diferenciar si la sangre es contaminante o propia de la lesión se debe valorar:

- 1 La presencia de plaquetas significa contaminación, ya que la hemorragia es reciente (fig. 9).
- 2 La presencia de eritrofagocitosis implica que la hemorragia es crónica y, por lo tanto, no se ha producido durante la toma de muestras (fig. 10). En ocasiones, no se observa el hematíe intacto dentro del macrófago, sino restos de pigmento procedentes de la degradación de la hemoglobina (hematoidina, hemosiderina) que aparecen de color azulado, marrón o en forma de cristales de color dorado.
- 3 La morfología de los leucocitos: los leucocitos procedentes de contaminación sanguínea conservan la morfología observada en los frotis sanguíneos. Si los neutrófilos, linfocitos o monocitos proceden de la lesión que se está evaluando suelen mostrar características de degeneración, activación o capacidad fagocítica.

Figura 9. Citología contaminada con sangre. La presencia de plaquetas indica que la hemorragia es reciente, probablemente se ha producido durante la toma de muestras.

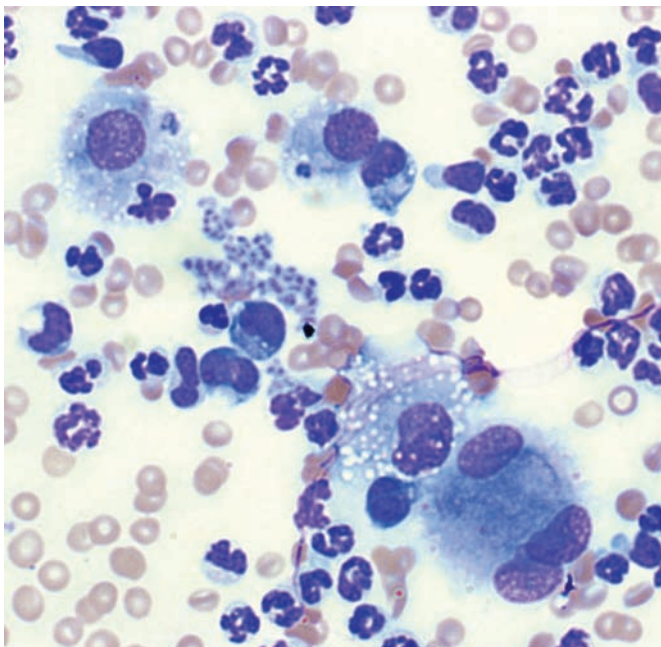
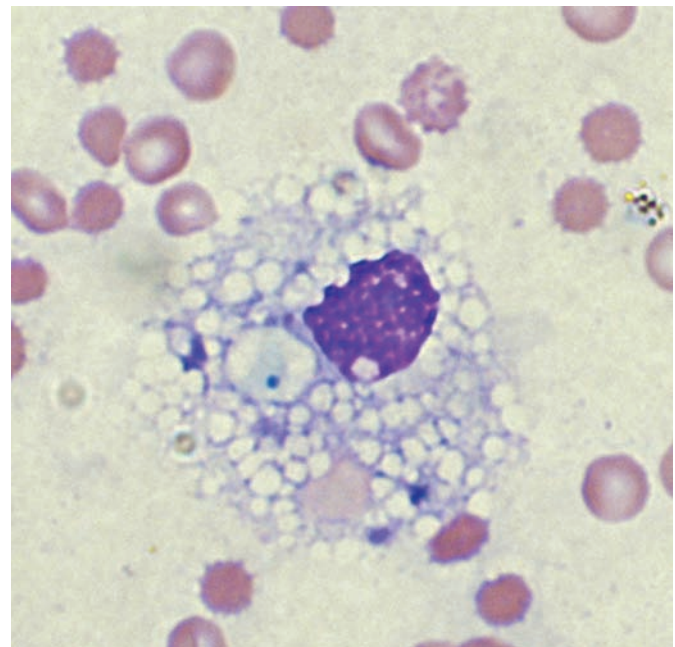


Figura 10. Citología contaminada con sangre. La presencia de eritrofagocitosis indica que la hemorragia es crónica y, por lo tanto, no se ha producido durante la toma de muestras.



En cualquier caso, en muchas ocasiones puede surgir la duda de si las células leucocitarias observadas proceden de la sangre o de la propia lesión. En estos casos, se debe comparar los resultados de la citología con los de una muestra de sangre periférica del paciente.

El protocolo de interpretación citológico debe iniciarse con la evaluación a bajos aumentos (10x) de todas las extensiones realizadas. Con ello, se establece la calidad de la extensión, definiendo si existe un número suficiente de células intactas y bien teñidas. Este primer contacto debe permitir seleccionar las extensiones más representativas que serán las únicas empleadas para emitir un diagnóstico. Nunca debe intentarse realizar un diagnóstico sobre muestras de mala calidad, ya que las posibilidades de proceder a interpretaciones erróneas son muy elevadas.

A continuación, también a bajos aumentos, se realiza una evaluación preliminar sobre las áreas de la extensión elegidas por su mayor calidad. De esta forma, se valora la celularidad, el tipo celular predominante, la distribución celular y pueden observarse grandes estructuras como cristales, cuerpos extraños, parásitos o hifas de hongos.

Sobre estas zonas más representativas deben incrementarse los aumentos (40x), lo que permitirá determinar el tipo de proceso, evaluando si las células son predominantemente inflamatorias o tisulares. Asimismo, se puede cuantificar e identificar las células residuales o reactivas así como intentar identificar el origen de posibles células neoplásicas.

Finalmente, con aumentos altos (100x con aceite de inmersión), se describen los detalles celulares, tanto a nivel nuclear como citoplasmático, se definen los posibles criterios de malignidad, se visualizan microorganismos y cuerpos de inclusión y, en general, se evalúan todas las características que permitan establecer el diagnóstico más concreto posible.

En muestras de buena calidad, cualquier veterinario clínico con un aprendizaje básico puede ser capaz de emitir un diagnóstico en pocos minutos de los procesos más habituales en la clínica de pequeños animales. Las citologías más complejas pueden requerir la evaluación de patólogos o citólogos especializados, pero, en la mayoría de los casos, el clínico ya ha obtenido una información mínima que permite orientar el diagnóstico hasta que reciba los resultados.

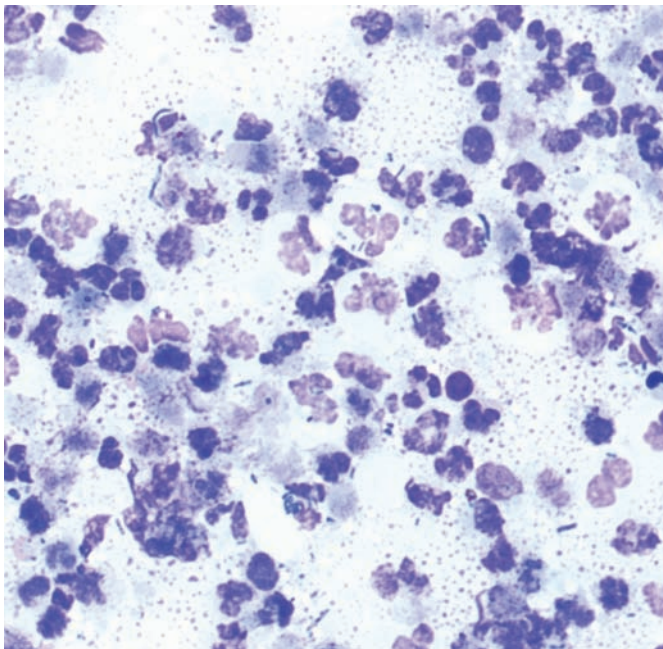
Interpretación citológica

El principal objetivo de la citología es diferenciar entre proceso inflamatorio y neoplásico. El predominio de células inflamatorias, unido a una ausencia o escasez de células tisulares, define la citología inflamatoria. Por el contrario, el predominio de células tisulares indica que la lesión es neoplásica (o hiperplásica). Hay un tercer tipo de procesos en los que se observa una mezcla de células inflamatorias y tisulares que, generalmente, presentan signos de activación; estas citologías son las más difíciles de interpretar, ya que pueden corresponder a procesos inflamatorios con activación tisular secundaria o a procesos neoplásicos con inflamación secundaria.

Diagnóstico citológico de inflamación

Figura 11. Inflamación aguda de origen séptico. Se observan numerosos neutrófilos degenerados, restos celulares y abundantes bacterias, algunas en el interior de los neutrófilos. No confundir el material necrótico extracelular con bacterias.

Las células inflamatorias que se deben reconocer son: neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, células gigantes, eosinófilos e, incluso, mastocitos. La proporción de cada tipo celular permite definir el tipo y curso de la inflamación.

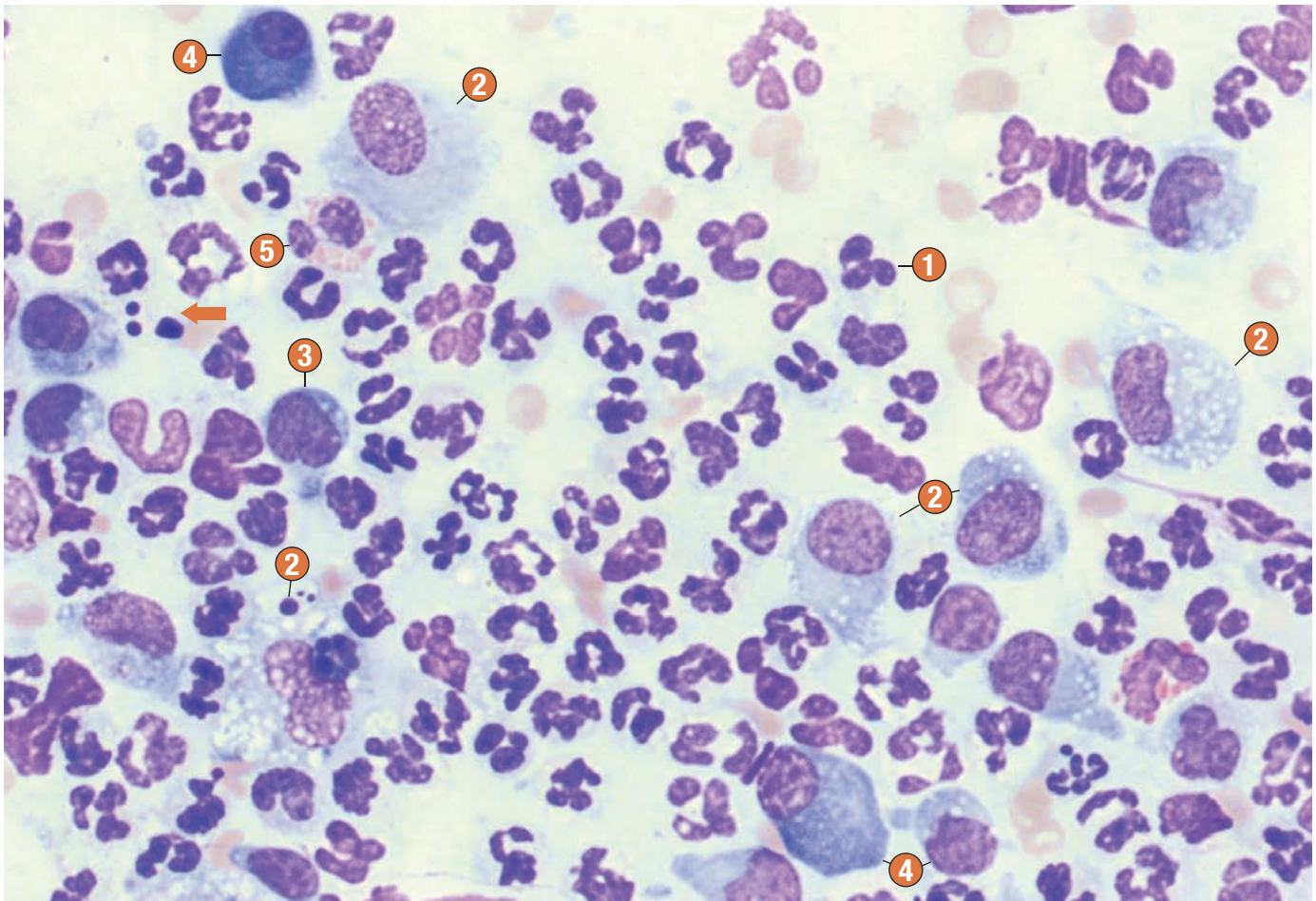


En las inflamaciones agudas, el tipo celular predominante (más del 70% de la población celular) es el neutrófilo, caracterizado por su núcleo lobulado o segmentado. En lesiones antiguas, los neutrófilos presentan fenómenos de hipersegmentación y, finalmente, se desarrollan procesos de picnosis que consiste en la condensación de la cromatina nuclear en esferas pequeñas, múltiples e intensamente teñidas. La presencia de neutrófilos degenerados suele ser consecuencia de una infección bacteriana. Los principales cambios degenerativos afectan al núcleo en forma de cariólisis (pérdida de la lobulación nuclear y ruptura de la membrana nuclear, que se manifiesta con núcleo pálido e hinchado) y cariorrexis (fragmentación nuclear y formación de "polvo" nuclear) (fig. 11). Si los neutrófilos no se encuentran degenerados no se excluye la presencia de bacterias, pero puede corresponderse también con otros procesos inflamatorios no infecciosos.

En las inflamaciones crónicas aparecen, junto a los neutrófilos, un porcentaje superior al 15% de otros tipos celulares, fundamentalmente macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y células gigantes que pueden llegar a ser multinucleadas (figs. 12 y 13).

Los macrófagos se caracterizan por una extrema variabilidad en su morfología, lo que puede provocar errores de interpretación. En principio son semejantes a monocitos sanguíneos, pero, a medida que se activan, el núcleo se redondea y el citoplasma aumenta de

Figura 12. Inflamación crónica.

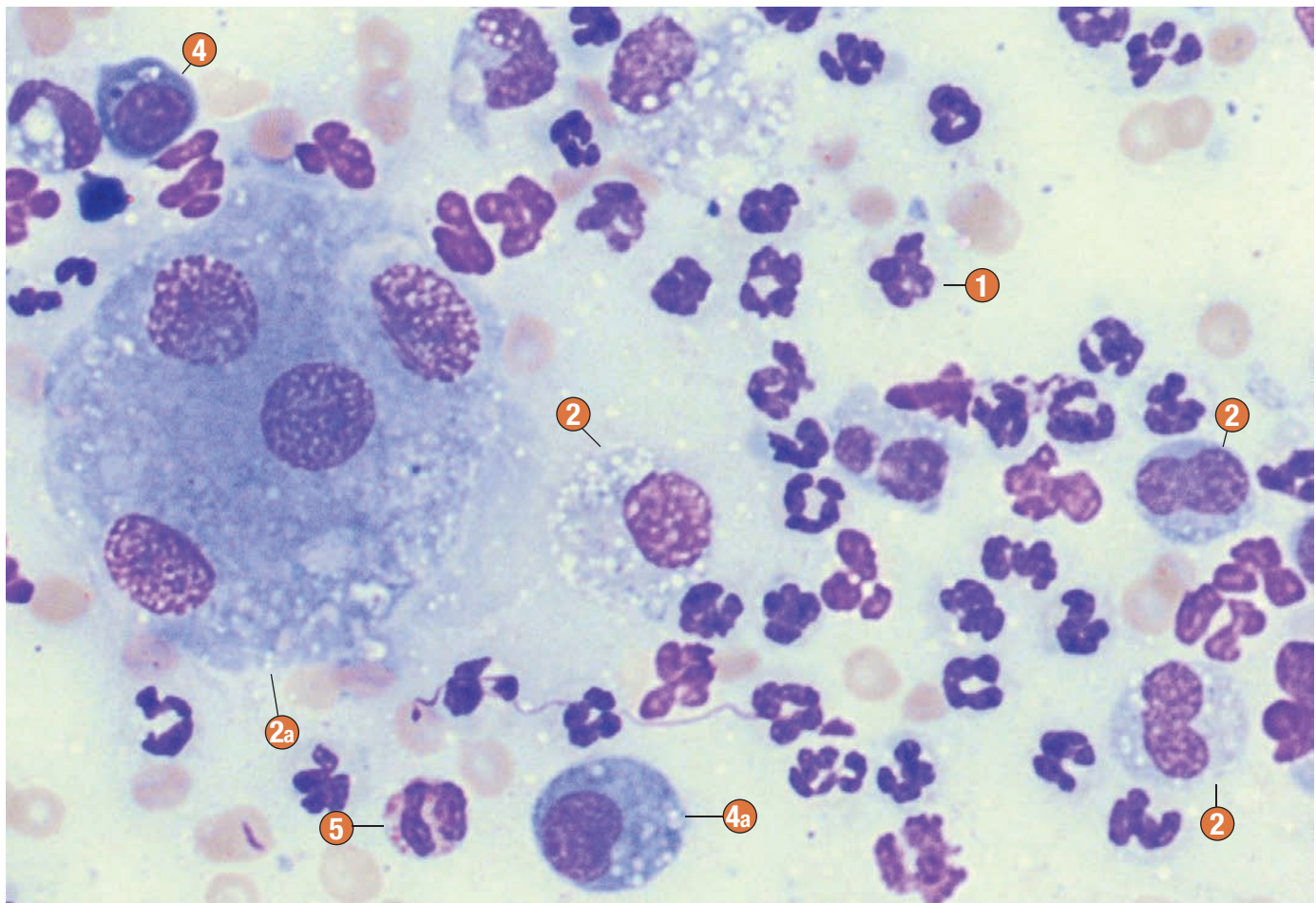


1 Neutrófilo; **2** Macrófagos; aparecen en diferentes estadios de activación; **2a** Célula gigante multinucleada de origen macrofágico; **3** Linfocito; **4** Célula plasmática; **4a** Célula plasmática de Mott; **5** Eosinófilo. Señalado con la punta se flecha se observa un neutrófilo con picnosis de su núcleo.

tamaño y aparece un número variable de vacuolas, que ocupan todo el citoplasma en fases de activación máxima (macrófagos espumosos, células en anillo de sello). En muchas ocasiones, se observa material fagocitado en el interior de las vacuolas; pueden ser células intactas (leucofagocitosis, eritrofagocitosis) o restos celu-

lares que no deben confundirse con microorganismos. En procesos más crónicos, aparecen macrófagos multinucleados, que pueden llegar a adquirir proporciones de células gigantes. Es importante no atribuir a los macrófagos criterios de malignidad, a pesar de que los cambios de activación nuclear puedan ser muy evidentes.

Figura 13. Inflamación crónica.



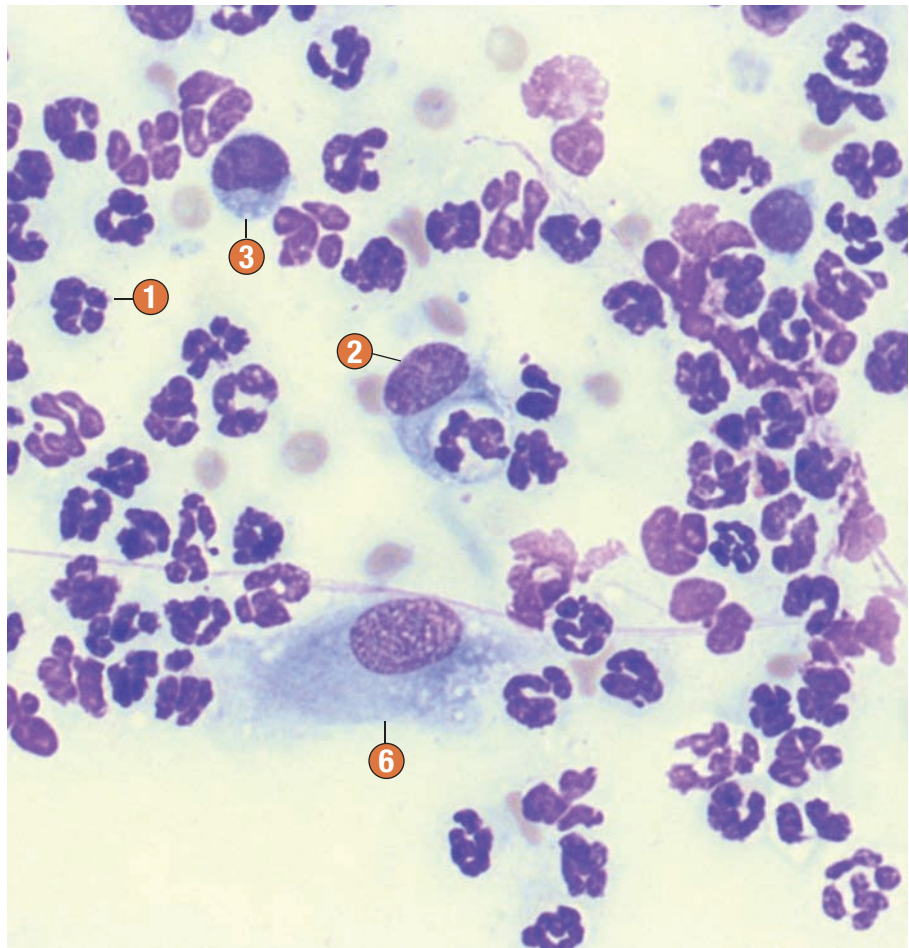
Los linfocitos son células más pequeñas que los neutrófilos, de citoplasma escaso y núcleo redondo e intensamente teñido; pueden activarse y adquirir un tamaño ligeramente mayor con un incremento en su cantidad de citoplasma.

Las células plasmáticas son células ovaladas, de núcleo excéntrico y citoplasma en cantidad moderada intensamente basófilo, que puede presentar un área clara cerca del núcleo que corresponde con el aparato de Golgi. Algunas células plasmáticas activadas pueden presentar numerosas vacuolas citoplasmáticas (células de Mott).

Las inflamaciones eosinofílicas se caracterizan por la existencia de una población de eosinófilos superior al 10%. Los eosinófilos son células ligeramente mayores que los neutrófilos, tienen el núcleo segmentado y contienen numerosos gránulos rosados o anaranjados. En ocasiones, pueden acompañarse de mastocitos, células de núcleo redondo y con abundantes gránulos de color púrpura (metacromáticos) en su citoplasma.

Las células tisulares, tanto epiteliales como conjuntivas, pueden experimentar procesos de hiperplasia y activación como reacción a la inflamación. Estas células hiperplásicas pueden asemejarse a células neoplásicas (fig. 14). El predominio de células inflamatorias comparado con las presuntas células neoplásicas puede matizar el diagnóstico. La cavidad nasal, pulmón, vejiga de la orina, próstata y mesotelio son tejidos en los que se produce una intensa hiperplasia en respuesta a la inflamación.

Figura 14. Inflamación crónica.



1 Neutrófilo; 2 Macrófago con imagen de leucofagocitosis; 3 Linfocito; 6 Fibroblasto activado de forma secundaria a la inflamación.

Diagnóstico citológico de procesos tumorales

Las citologías en las que predominan las células tisulares corresponden, generalmente, a procesos neoplásicos. En sentido estricto, podrían corresponder también a procesos hiperplásicos; sin embargo, en la mayoría de las ocasiones, el estudio citológico no permite diferenciar entre un tejido normal y un tejido hiperplásico o entre una hiperplasia y una neoplasia benigna.

Una vez que se ha reconocido la existencia de células tumorales, hay que tratar de identificar su origen (epitelial, conjuntivo, células redondas) y, por último, definir los caracteres de malignidad, lo que va a constituir el principal factor pronóstico del proceso.

Estirpe celular

En función de su origen, los tumores pueden clasificarse en tumores epiteliales, conjuntivos o mesenquimatosos y de células redondas. No obstante, los tumores muy indiferenciados pueden perder las características que definen su estirpe y deben definirse como tumores de “estirpe indeterminada”.

Las células de estirpe epitelial tienden a exfoliar en gran cantidad, distribuidas en grupos fuertemente cohesionados, aunque también pueden observarse células aisladas (en mayor proporción en tumores malignos). Las células suelen ser de tamaño grande, de forma redondeada o poliédrica, con citoplasma de bordes bien definidos (fig. 15). El núcleo, generalmente redondeado y de cromatina fina-

mente condensada, puede estar ligeramente excéntrico. Es frecuente observar nucléolos, más prominentes en tumores malignos. La relación núcleo: citoplasma de las células epiteliales es variable dependiendo del estrato al que pertenezcan. Las células procedentes de tejidos glandulares presentan vacuolas citoplasmáticas (fig. 16) y pueden disponerse en formaciones acinares (fig. 17).

Las células de estirpe conjuntiva o mesenquimatosas exfolian con dificultad, ya que se encuentran incluidas en una densa matriz fibrosa. Por ello, las citologías suelen presentar una escasa celularidad, aunque en tumores malignos puede ser muy abundante (fig. 18). Las células bien diferenciadas suelen ser pequeñas o de tamaño medio, de morfología fusiforme con elongaciones en una o dos direcciones, con bordes citoplasmáticos mal definidos y núcleo redondeado u ovalado de cromatina fina y nucléolos poco visibles (fig. 19). En el caso de tumores malignos las células pueden perder la típica morfología fusiforme y suelen ser ovaladas o de morfología variable (fig. 20).

Los tumores de células redondas se caracterizan por exfoliar una gran cantidad de células de forma aislada, aunque si la celularidad es muy elevada pueden aparecer apiladas. Son células pequeñas o de tamaño medio y morfología redonda con un núcleo también redondo. La cantidad de citoplasma es variable, dependiendo del tipo celular; pero, en general, presenta bordes bien definidos (figs. 21-23).

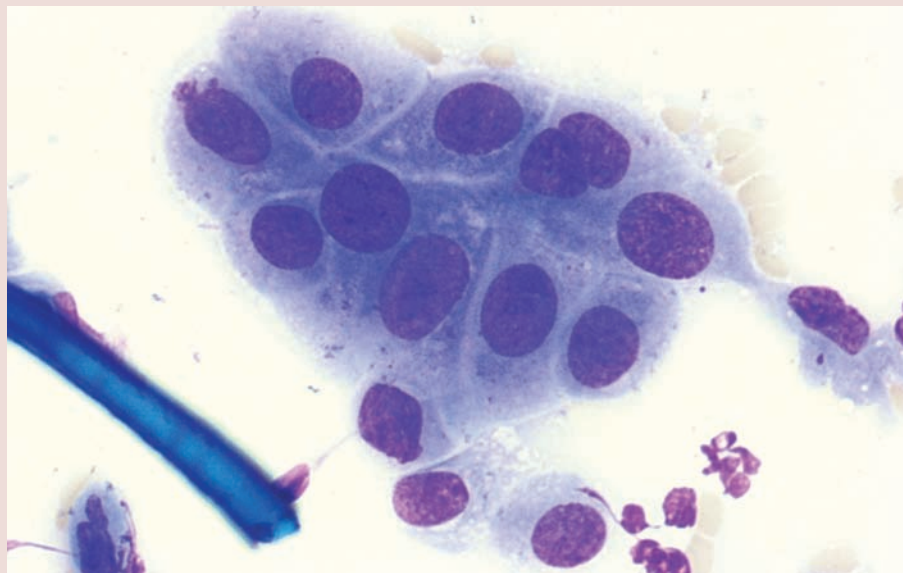
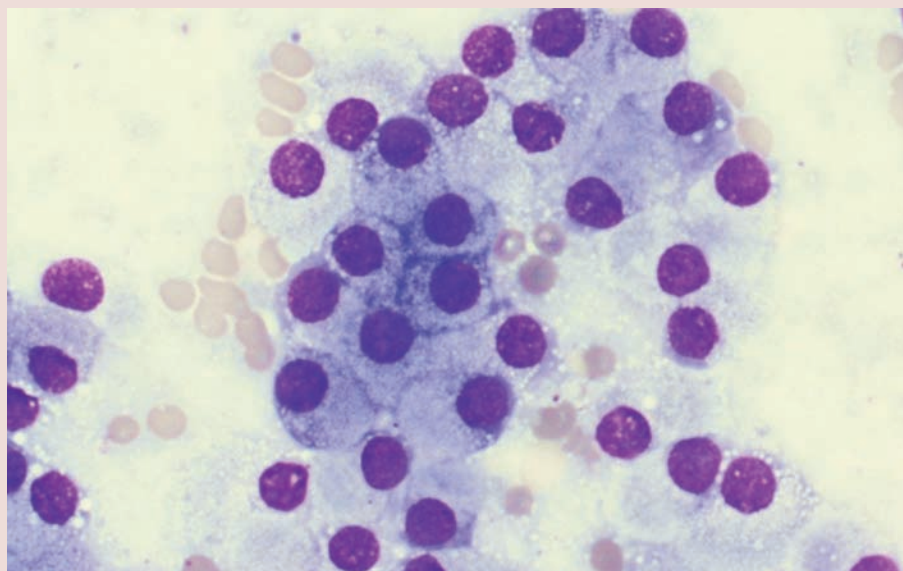


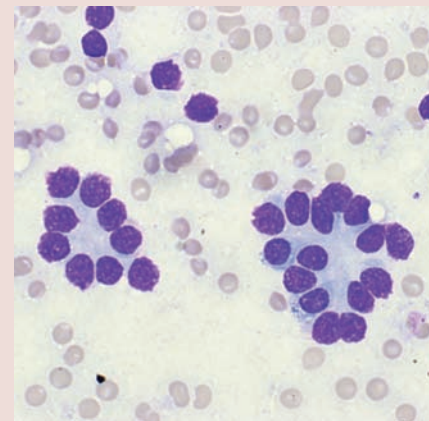
Figura 15. Grupo de células epiteliales.

Figura 16. Grupo de células epiteliales glandulares con vacuolas citoplasmáticas.



Células de estirpe epitelial

Figura 17. Células epiteliales glandulares dispuestas en estructuras acinares.



Células de estirpe conjuntiva

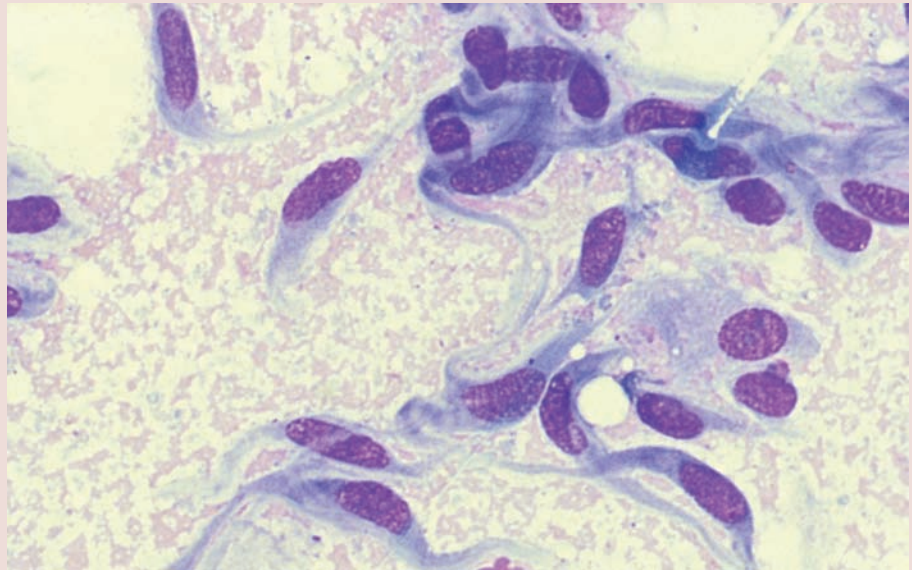


Figura 18. Células conjuntivas fusiformes incluidas en una matriz fibrosa extracelular.

Figura 19. Células conjuntivas, predominantemente fusiformes. Estas células exfolian de forma individual, pero si la celularidad es muy abundante, la proximidad puede dar la imagen de falsos grupos.

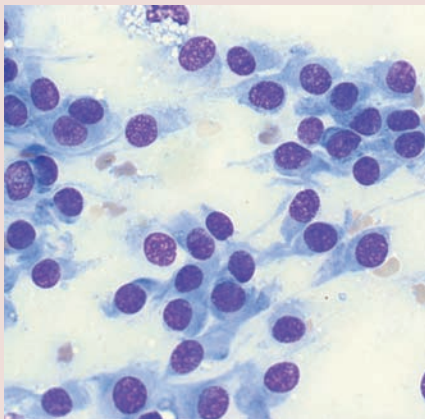
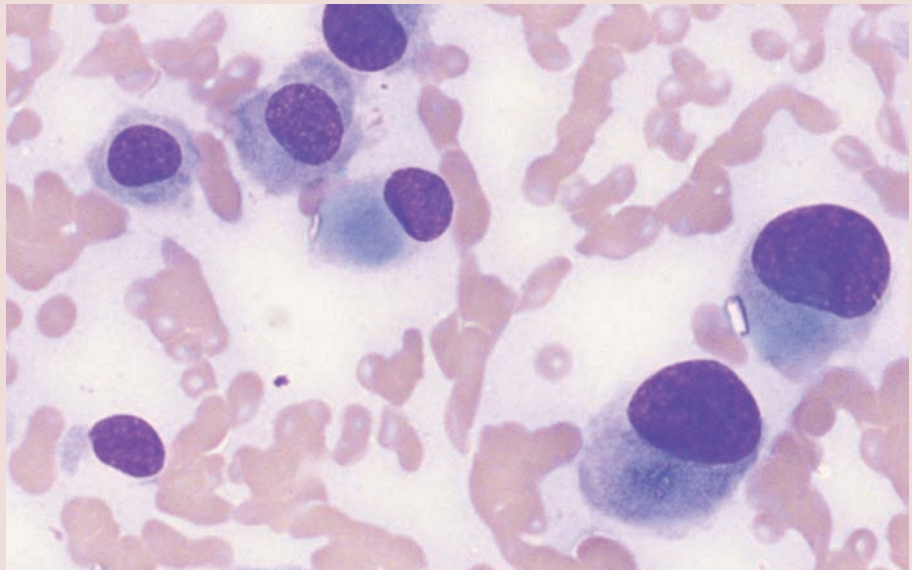


Figura 20. Tumor conjuntivo maligno con presencia de células ovaladas y redondeadas, de bordes citoplasmáticos mal definidos.



Tumores de células redondas

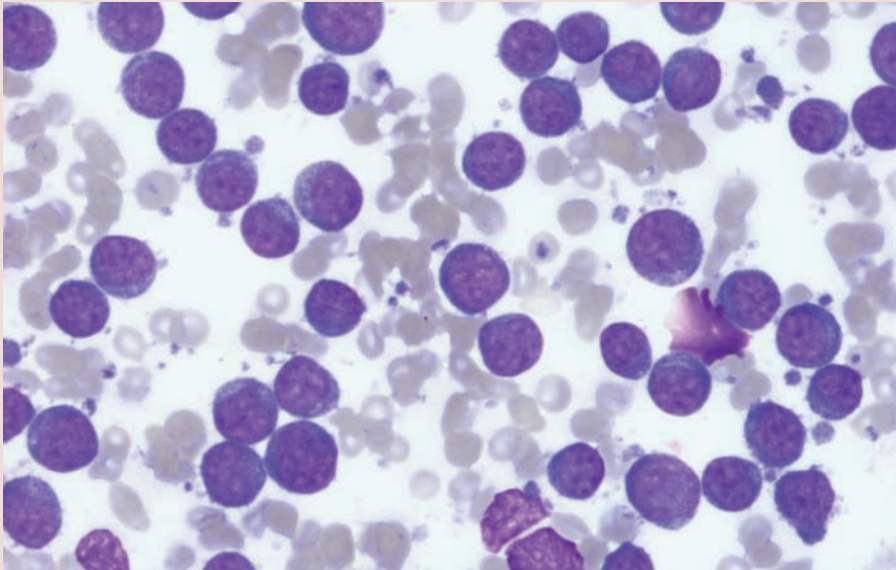


Figura 21. Tumores de células redondas.

Figura 22. Tumores de células redondas.

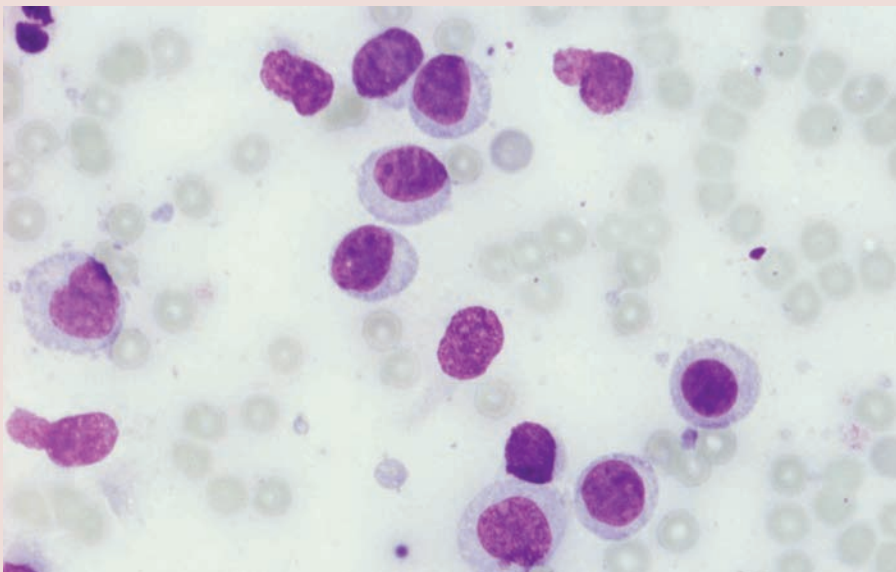
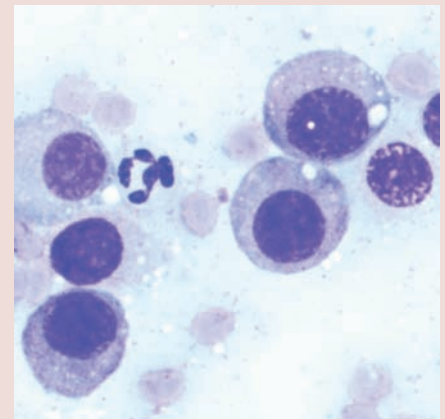


Figura 23. Tumores de células redondas.



Criterios de malignidad

El diagnóstico citológico de neoplasia se completa con la descripción de los criterios citológicos de malignidad, que se definen a tres niveles: población celular, núcleo y citoplasma.

Hay que ser extremadamente cautos a la hora de definir los criterios citológicos de malignidad. Sólo pueden ser evaluados en células intactas bien teñidas, ya que la rotura celular o los defectos de tinción pueden conducir a importantes errores diagnósticos. Asimismo, las células tisulares reactivas en el curso de procesos inflamatorios pueden manifestar cambios que pueden ser confundidos con criterios de malignidad. Por el contrario, tumores malignos, pero bien diferenciados, pueden no manifestar suficientes criterios citológicos de malignidad.

Los **criterios celulares** de malignidad se manifiestan en la población celular en su conjunto:

- En los tumores conjuntivos, caracterizados por la escasez de células, un incremento de la celularidad constituye un criterio de malignidad, ya que es una manifestación de la pérdida de cohesión celular (fig. 24).
- La presencia de grupos celulares voluminosos y con disposición anárquica, irregular y desorganizada de sus elementos es un carácter de malignidad en tumores epiteliales (fig. 25).
- La presencia de células de diferente tamaño (anisocitosis), algunas de las cuales pueden ser gigantes (macrocitosis), es un carácter de malignidad en la mayoría de los tejidos (fig. 26) (el ganglio linfático es el máximo exponente de tejido excepcional en este sentido). Hay que tener en cuenta que todas las poblaciones presentan ligeros cambios en el tamaño de sus células, por lo que la valoración de este criterio de malignidad exige que un porcentaje significativo de células presenten cambios evidentes (células de tamaño 1,5 veces mayor que el normal).
- Los tumores malignos epiteliales y conjuntivos pueden presentar un importante pleomorfismo celular; es decir, células de diferente forma (fig. 27); por el contrario, los tumores malignos linfoides suelen caracterizarse por el monomorfismo de su población.
- En general, un índice mitótico elevado indica malignidad, aunque este hallazgo debe valorarse siempre en función del tipo celular y del tipo de tumor. Mucho más definitivo que el incremento del índice mitótico es la presencia de mitosis anómalas o atípicas que siempre es indicativa de malignidad (fig. 28).

Criterios celulares

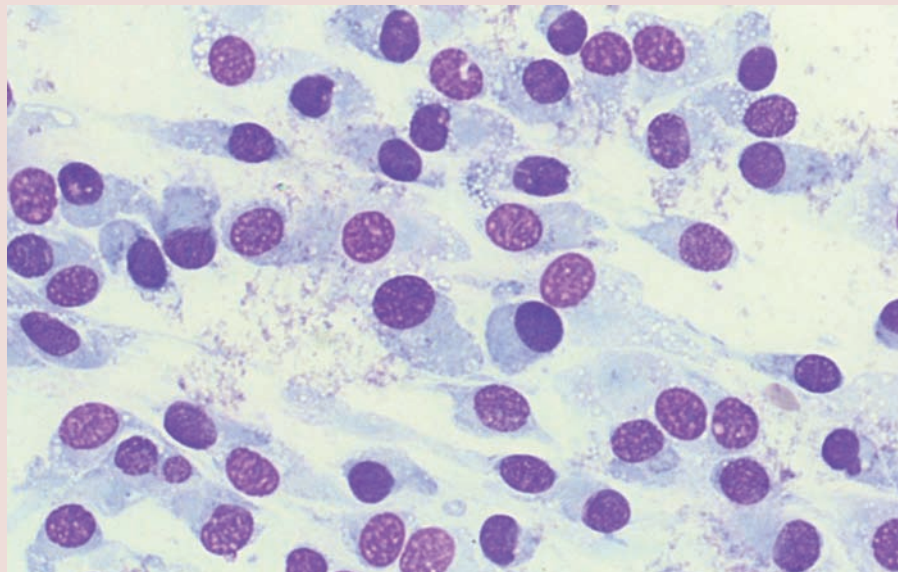
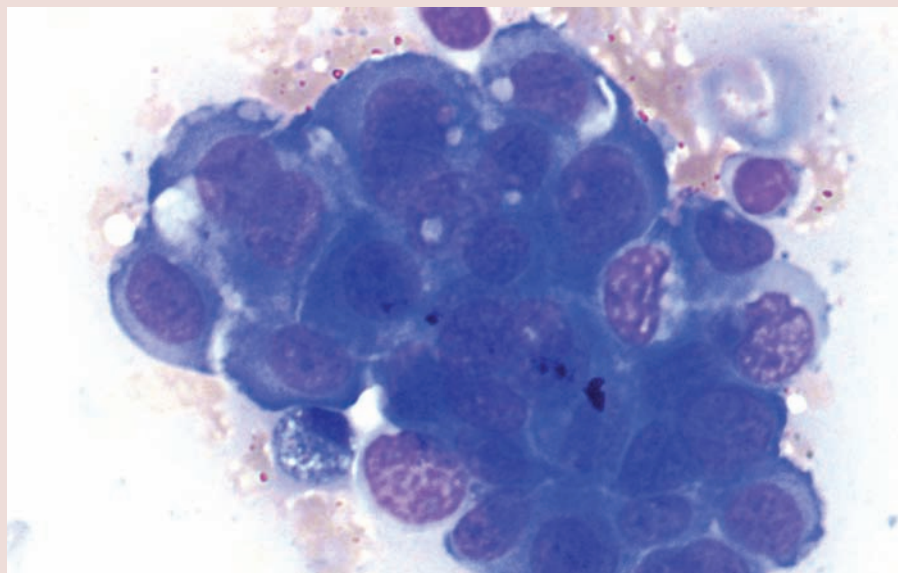


Figura 24. Tumor conjuntivo maligno que exfolia gran cantidad de células.

Figura 25. Tumor epitelial maligno que forma grupos desorganizados.



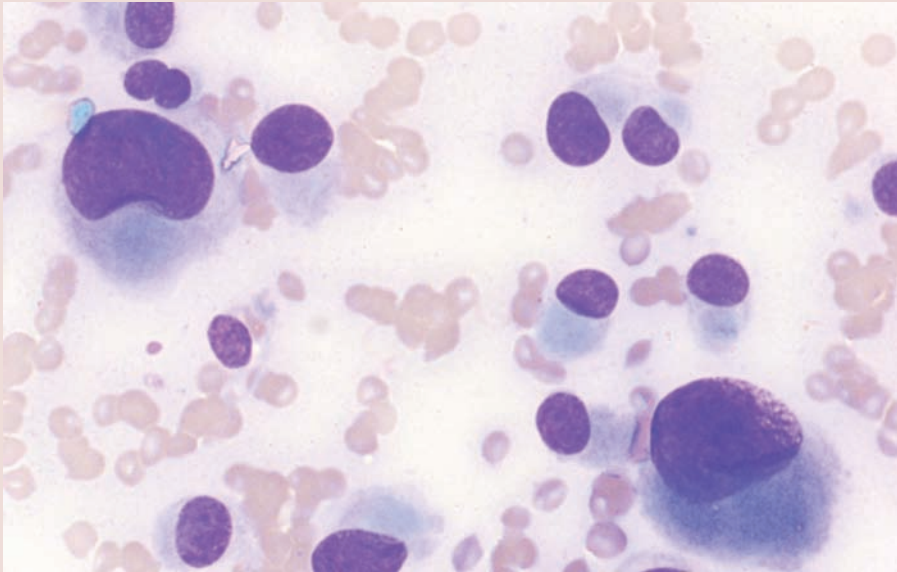


Figura 26. Tumor conjuntivo maligno con anisocitosis y macrocitosis. El tamaño de las células gigantes supera en más de 1,5 veces el del resto de las células del campo.

Figura 27. Células con morfología variable (pleomorfismo) en un tumor conjuntivo maligno.

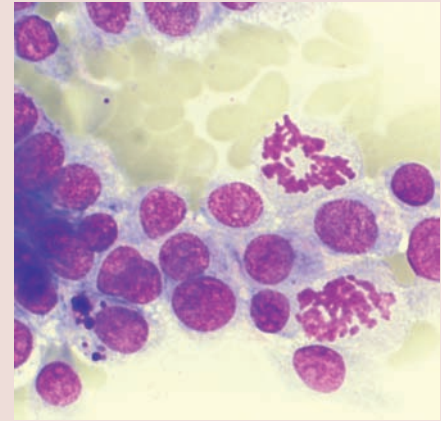
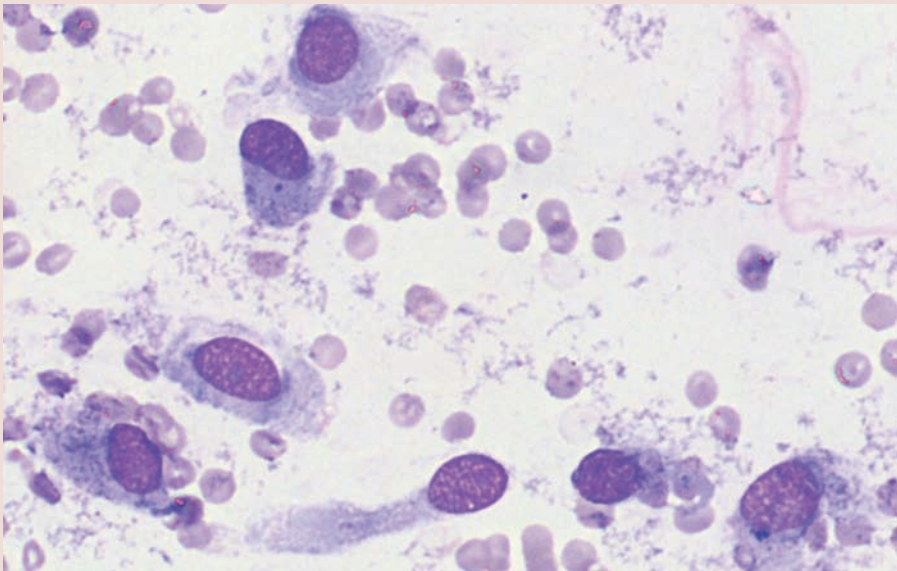


Figura 28. Aumento del número de mitosis atípicas.

Los **criterios nucleares** son los más importantes a la hora de establecer el grado de malignidad de un tumor; los más frecuentes y fáciles de evaluar son:

- Incremento del tamaño nuclear; lo que conduce a un aumento de la relación núcleo:citoplasma (fig. 29).
- Núcleos de forma irregular (fig. 30).
- Anisocariosis o diferencia en el tamaño de los núcleos; en ocasiones, se observan núcleos gigantes (fig. 31).
- Incremento del contenido en cromatina y distribución irregular de la misma (cromatina condensada o heterogénea) (fig. 32).
- Los nucléolos de las células normales deben ser únicos, redondos y de pequeño tamaño (1-2 μm). La presencia de nucléolos múltiples, de formas anormales y/o de gran tamaño ($> 5 \mu\text{m}$) es signo de malignidad (fig. 33). El tamaño de los hematíes suele tomarse como referencia en estos casos (un hematíe normal de perro mide 7-8 μm , mientras que los felinos miden 5-6 μm).
- Presencia de células con núcleos múltiples, siempre que no pertenezcan a un tejido con esta característica en condiciones de normalidad (fig. 34) (por ejemplo, osteoclastos, megacariocitos, hepatocitos, histiocitos o células mesoteliales). Las células multinucleadas implican que la división celular no ha acompañado a la nuclear. El carácter de malignidad se incrementa si se observa anisocariosis en una única célula (fig. 35).
- Presencia de imágenes de moldeado o amoldamiento (*molding*) entre núcleos de diferentes células o dentro de una misma célula multinucleada; en este fenómeno uno de los núcleos se apoya y presiona sobre otro, provocando una deformación en el mismo, como consecuencia de la falta de inhibición por contacto (fig. 36).

Los **criterios citoplasmáticos** de malignidad reflejan las alteraciones que se producen derivadas de una actividad de síntesis incrementada o anómala, o por una falta de diferenciación. Los criterios citoplasmáticos siempre deben considerarse como complementarios y secundarios a los cambios nucleares, de forma que nunca puede establecerse que un tumor es maligno basándose exclusivamente en ellos. Incluyen:

- Fuerte basofilia citoplasmática.
- Vacuolización en células que normalmente no presentan vacuolas.
- Imágenes de falsos fagocitos (fig. 37).
- Pérdida de gránulos citoplasmáticos específicos (en mastocitomas y melanomas).

En los tejidos normales, procesos hiperplásicos o tumores benignos no deben apreciarse criterios de malignidad (fig. 38). En general, un tumor puede considerarse maligno cuando se observan más de tres caracteres nucleares de malignidad o más de cuatro en conjunto (fig. 39). Las muestras que presentan entre uno y tres criterios nucleares de malignidad deben ser evaluadas histológicamente para definir su naturaleza real.

Criterios nucleares

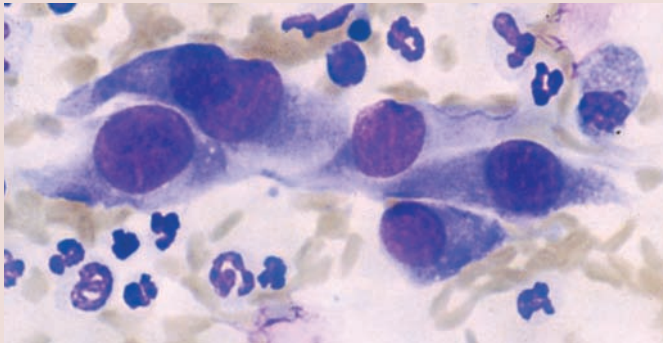


Figura 29. Tumor conjuntivo maligno (células fusiformes) con incremento de la relación núcleo: citoplasma.

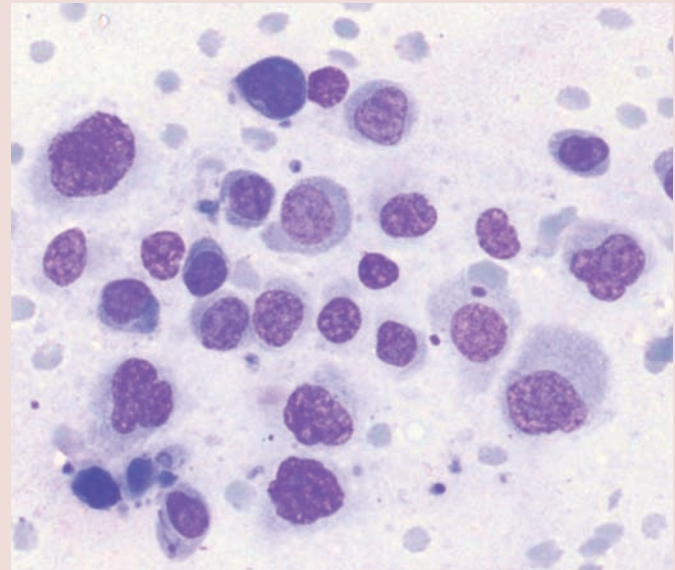


Figura 30. Diferencias en la forma de los núcleos.

Figura 31. Tumor epitelial maligno en el que se observan núcleos de diferente forma y tamaño.

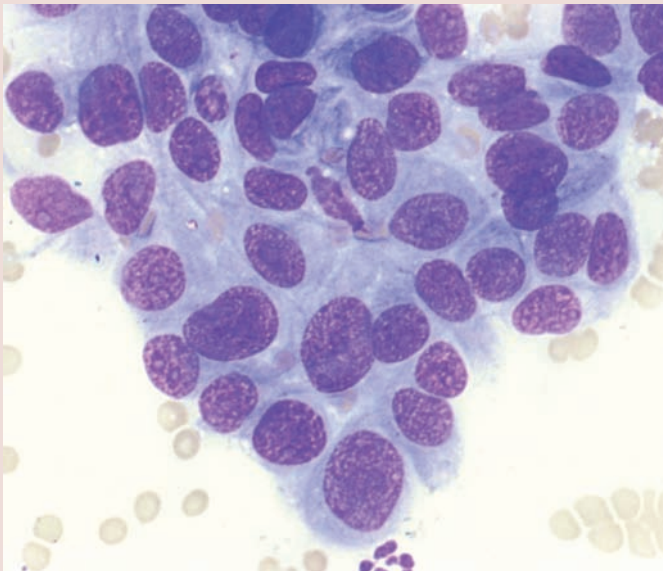
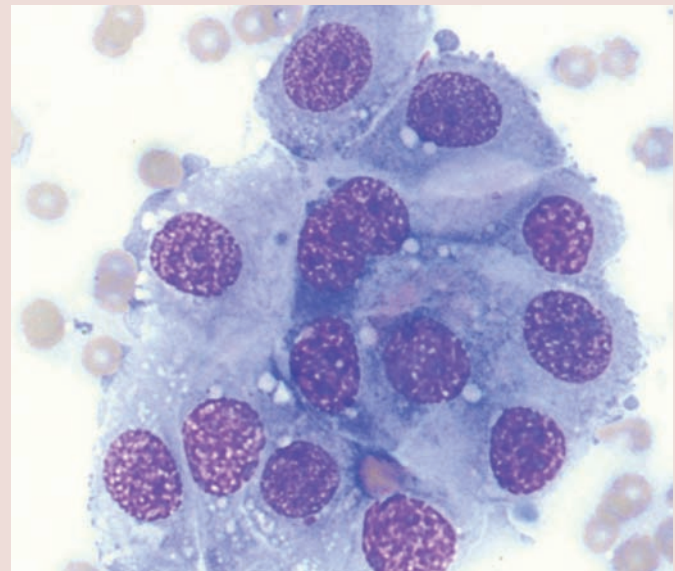


Figura 32. Grupo de células epiteliales con un patrón de cromatina condensado y heterogéneo.



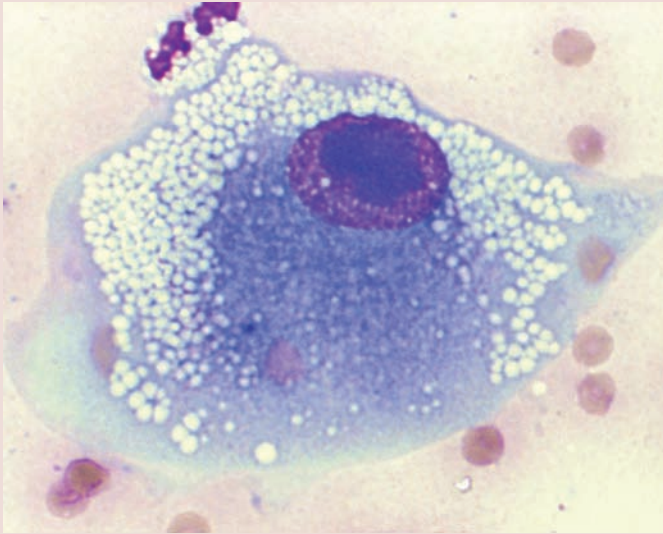


Figura 33. Nucléolo de gran tamaño ($> 5 \mu\text{m}$; la comparación se establece con el tamaño de los hematíes) y de forma irregular.

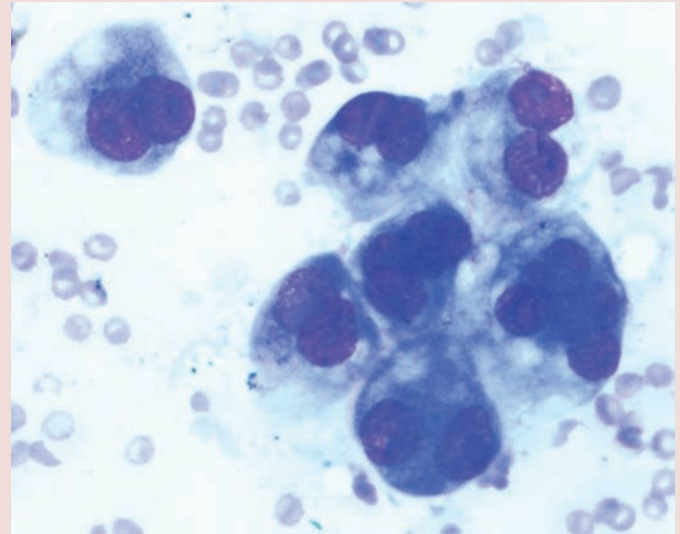


Figura 34. Numerosas células multinucleadas.

Figura 35. Tumor maligno. La célula multinucleada presenta anisocariosis. Adicionalmente, las células contiguas muestran núcleos gigantes, anisocariosis, patrón heterogéneo de cromatina y nucléolos de gran tamaño.

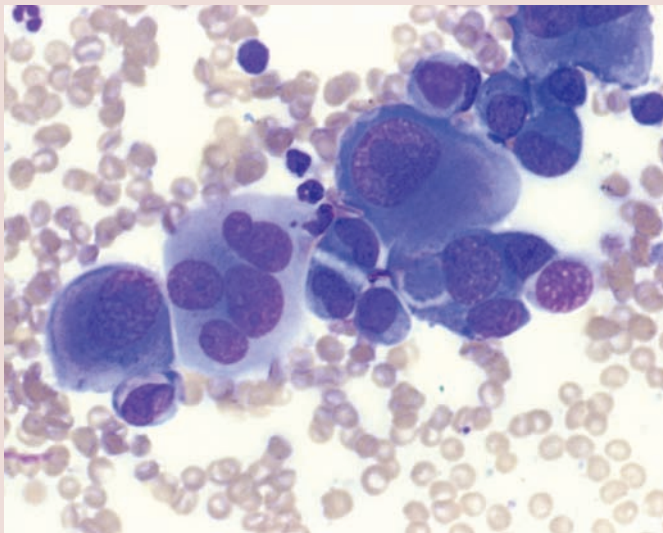
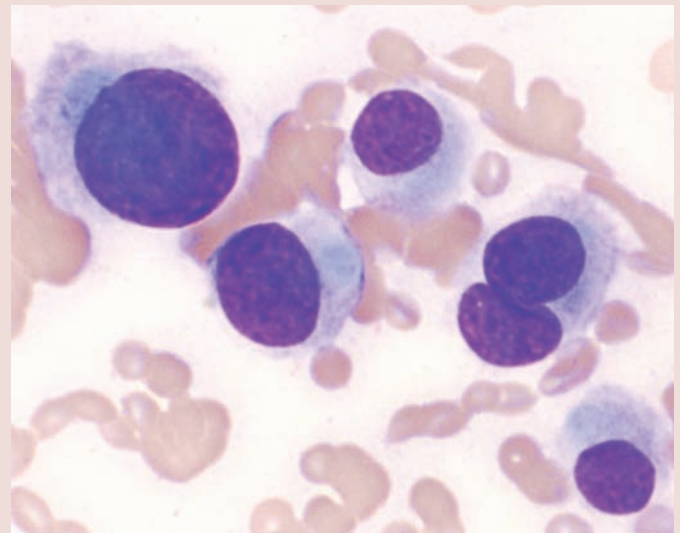


Figura 36. Célula binucleada con efecto de "amoldamiento". Se observa, además, anisocariosis y presencia de núcleos gigantes.



Criterios citoplasmáticos

Figura 37. Imagen de falsa fagocitosis en células de un carcinoma de células escamosas.

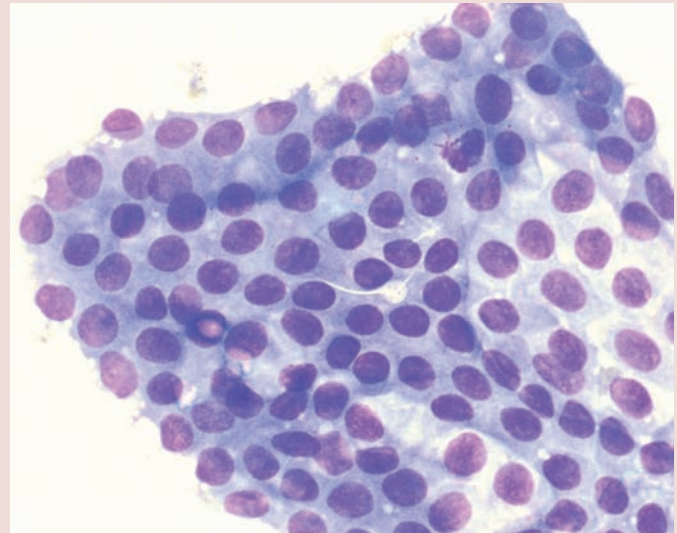
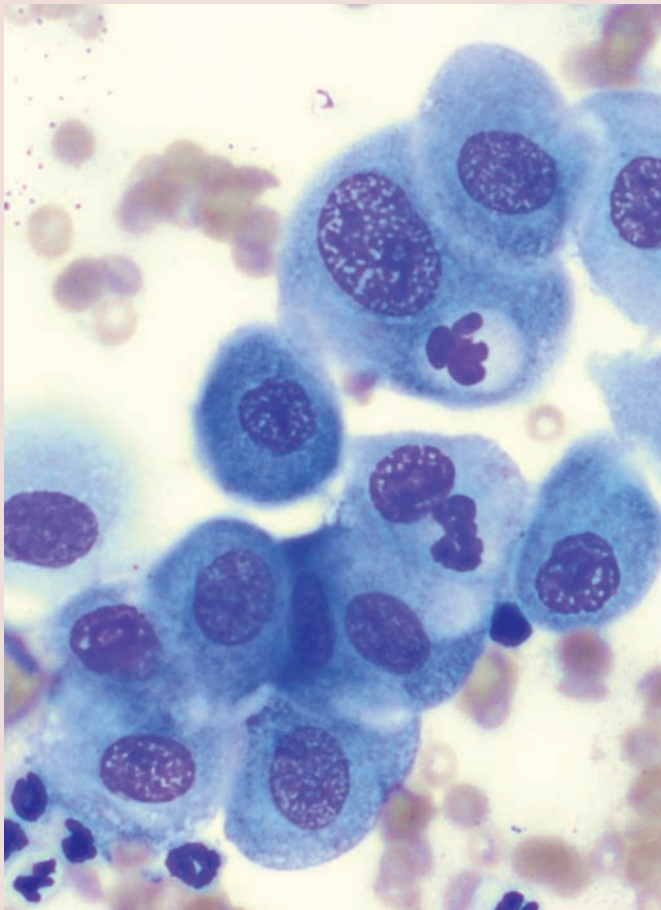
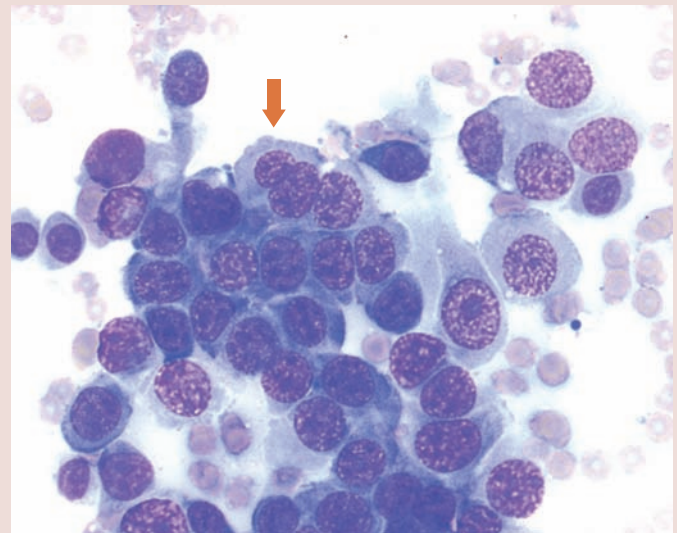


Figura 38. Tejido epitelial sin características de malignidad: grupo bien organizado con núcleos prácticamente homogéneos.

Figura 39. Tumor epitelial con más de tres caracteres nucleares de malignidad: grupo desorganizado, anisocariosis, patrón de cromatina variable, heterogéneo en la mayoría de las células, nucleólos prominentes y múltiples, células binucleadas, imágenes de amoldamiento (señalado con punta de flecha).



Envío de muestras citológicas a laboratorios especializados

En el caso de que se vayan a remitir las muestras citológicas a un laboratorio especializado, bien porque el clínico no está familiarizado con la interpretación citológica, bien para confirmar un diagnóstico, es necesario cumplir una serie de requisitos, con el fin de que el citólogo disponga de todas las facilidades para emitir su propia interpretación.

En primer lugar, las muestras deben enviarse correctamente identificadas y en envases adecuados para que los portaobjetos no sufran daño durante el transporte (fig. 40). Es preferible enviar muestras fijadas y sin teñir, con el fin de que en el laboratorio empleen la técnica de tinción a la que están habituados. Por último, las extensiones deben acompañarse de datos clínicos suficientes como para que el citólogo disponga de toda la información necesaria para que su interpretación se ajuste el máximo posible a los hallazgos del paciente.

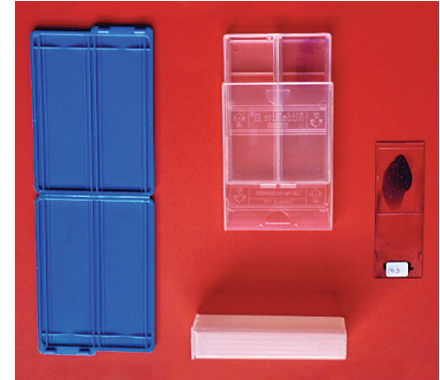


Figura 40. Imágenes de envases adecuados para el transporte de citologías.

Bibliografía

- ALLEMAN, AR. Y BAIN, PJ.: Diagnosing neoplasia: the cytologic criteria for malignancy. *Vet. Med.*, marzo 2000, pp. 204-223.
- BAKER, R. Y LUMSDEN, JH.: *Color atlas of cytology of the dog and cat*. St. Louis: Mosby, 2000.
- COHEN, M., BOHLING, MW, WRIGHT, JC. et al.: Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases. *JAVMA* 2003, n° 222, pp. 964-967.
- COWELL, RL.: Cytology, Part I. *The Vet. Clin. North Am.*, 2002, n° 32.
- COWELL, RL.: Cytology, Part II. *The Vet. Clin. North Am.*, 2003, n° 33.
- COWELL, RL., TYLER, RD. Y MEINKOTH, JH.: *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ed. St. Louis: Mosby, 1999.
- DUNN, J. Y VILLIERS, E.: General principles of cytological interpretation. In practice, octubre 1998, pp.: 429-437.
- FOURNEL-FELURY, C., MAGNOL, JY GUELF, JF.: *Color atlas of cancer cytology of the dog and cat*. CNVSPA, Paris, 1994.
- MENARD, M., PAPAGEORGES, M.: Fine needle-biopsies: how to increase diagnostic yield. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, junio 1997, pp. 738-740.
- REPPAS, G. Y CANFIELD, P.: Citología diagnóstica de lesiones cutáneas en el perro y en el gato. *Vet. Intern.*, 1995, n° 1, pp. 8-30.
- ROGERS, KS, BARTON, CL. Y HABRON, JM.: Cytology during surgery. *Comp. Cont. Educ. Pract.*, 1995, n° 18, pp. 153-162.
- THRALL, MA.: Cytologic examination of cutaneous and subcutaneous lumps and lesions. *Vet. Med.*, marzo 2000, pp. 224-241.
- VILLIERS, E. Y DUNN, J.: Collection and preparation of smears for cytological examination. In practice, julio/agosto 1998, pp. 370-377.

diagnóstico
citológico de
masas
cutáneas y
subcutáneas

Indicaciones del estudio citológico

El estudio citológico es una técnica esencial en el diagnóstico de masas cutáneas y subcutáneas. La presencia de estas lesiones es un problema frecuente, fácilmente detectable por los propietarios o los veterinarios y, por lo tanto, uno de los motivos de consulta más habituales en la clínica de pequeños animales.

Las escasas dificultades y riesgos de la técnica de obtención de muestras en estas lesiones fácilmente accesibles permiten que el diagnóstico citológico alcance su máxima aplicación en estas localizaciones. Aunque el estudio citológico no puede sustituir al diagnóstico histopatológico, es posible conseguir diagnósticos presuntivos o, incluso, definitivos, que faciliten la emisión de pronósticos fiables y la toma de decisiones terapéuticas.

Prácticamente no existe ninguna contraindicación para realizar un estudio citológico de una masa cutánea o subcutánea: el material necesario para realizar la toma de muestras está al alcance de cualquier clínico con un mínimo desembolso económico; los riesgos de hemorragia, infección o diseminación de un posible proceso tumoral son mínimos o inexistentes; por último, en la mayoría de los casos, es una técnica indolora que puede realizarse sin necesidad de sedar o anestesiarse al paciente.

Recogida y manejo de las muestras

En la mayoría de las ocasiones, la obtención de muestras citológicas de masas cutáneas o subcutáneas se realiza mediante PAAF o PAF. La elección de una u otra técnica depende de las características de la lesión. La PAF está especialmente indicada en lesiones que exfolian células con facilidad y en aquellas en las que existe una mayor probabilidad de contaminación sanguínea. La realización de una PAAF es conveniente en masas de origen conjuntivo, en las que existe una mayor dificultad para obtener material representativo.

En cualquier caso, la punción puede realizarse fácilmente. Sólo los pacientes más agresivos o nerviosos requieren una inmovilización manual; en la mayoría de los casos, los animales no reaccionan negativamente a la toma de muestras. Se requiere una mínima asepsia, pero, en general no suele ser necesario el empleo de guantes, el rasurado de la zona o la aplicación de limpiezas de tipo quirúrgico. Las muestras deben obtenerse de diferentes puntos

de la masa, evitando las zonas más centrales (sobre todo en lesiones de gran tamaño, cuyo centro suele experimentar cambios necróticos) y las áreas ulceradas. Es necesario interrumpir la toma de muestras cuando se detecte el primer indicio de hemorragia, para evitar una excesiva contaminación sanguínea. En las lesiones quísticas puede aprovecharse la punción para proceder a su vaciado y, si es necesario, remitir una muestra para realizar estudios microbiológicos.

Con el material obtenido se realiza una extensión, generalmente aplicando las técnicas de *squash* o "aplastamiento". Sólo en muestras muy hemorrágicas puede realizarse una extensión con el sistema del frotis sanguíneo. Si se obtiene gran cantidad de líquido, la muestra debe procesarse de forma similar a cualquier otro líquido orgánico y aplicar técnicas de concentración si la celularidad es reducida.

La realización de otras técnicas para obtener muestras es poco frecuente. Sólo en lesiones muy ulcerativas o en aquellas planas y secas puede valorarse la necesidad de emplear un raspado. En el primer caso es conveniente asegurarse previamente de que se han eliminado los restos más superficiales contaminados e inflamados de forma secundaria.

Todas las muestras se tiñen con las técnicas citológicas habituales.

Interpretación citológica

Las muestras obtenidas deben evaluarse siguiendo el protocolo habitual del diagnóstico citológico.

La observación a pequeños aumentos (10x) permite elegir las muestras más representativas y las áreas de la extensión más adecuadas para un estudio más detallado. Asimismo, se determina el grado de contaminación sanguínea y se realiza la primera valoración de los tipos celulares obtenidos y su forma de distribución.

La observación de las zonas más representativas a mayores aumentos (40x y 100x con aceite de inmersión) permite la identificación de las células, definiendo su origen (inflamatorio o tisular), la estirpe tisular y la posible presencia de criterios citológicos de malignidad. Asimismo, el estudio a grandes aumentos permite identificar posibles agentes infecciosos.

En general, el estudio citológico no pretende identificar todas las células presentes en una muestra; en muchas ocasiones es suficiente con definir el tipo celular predominante.

El estudio citológico de muestras representativas de buena calidad permite la diferenciación entre lesiones inflamatorias, lesiones no inflamatorias no tumorales de origen quístico y lesiones tumorales. Además, su evaluación en profundidad puede establecer el tipo u origen de la inflamación o el tipo y grado de malignidad de una lesión neoplásica. Determinados caracteres celulares permiten, además, establecer criterios para emitir diagnósticos más específicos de varios tipos de neoplasia.

En muchos casos, el estudio citológico permite emitir un diagnóstico presuntivo o, incluso, definitivo de la masa cutánea o subcutánea evaluada. Sin embargo, en ocasiones, la interpretación citológica no es sencilla: la presencia de varios tipos celulares (citologías mixtas con células inflamatorias y tisulares o la presencia de células de diferentes estirpes tisulares) o la incapacidad para diferenciar las células tisulares reactivas de las neoplásicas son las principales limitaciones de la citología. En estos casos, la citología no alcanza la suficiente fiabilidad y puede ser arriesgado emitir un diagnóstico, incluso para citólogos experimentados. El reconocimiento de estas limitaciones es muy importante, ya que evitará emitir un diagnóstico que puede ser erróneo. En estos casos es preferible emitir un informe que describa que el origen de la lesión es incierto, evitando un diagnóstico poco fiable.

Lesiones inflamatorias

Las lesiones cutáneas y subcutáneas de origen inflamatorio se caracterizan por el predominio de células inflamatorias en diferentes proporciones, dependiendo del tipo y curso del proceso. La principal limitación del diagnóstico citológico de inflamación es

que, en general, no descarta que el origen real del proceso sea neoplásico. Además, es importante tener en cuenta que la mayoría de las lesiones inflamatorias pueden acompañarse de células tisulares hiperplásicas y displásicas, con características reactivas que pueden ser muy intensas y semejantes a cambios neoplásicos, lo que requiere una extremada precaución en su interpretación.

Lesiones inflamatorias no infecciosas

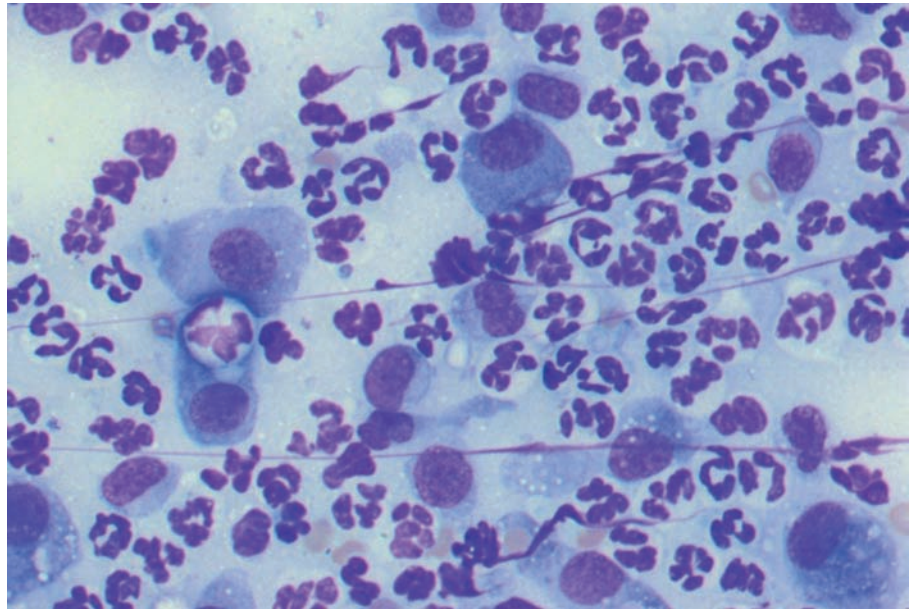
Las lesiones cutáneas y subcutáneas inflamatorias asépticas presentan un elevado número de células inflamatorias en ausencia de microorganismos.

Las reacciones a cuerpos extraños se caracterizan por la presencia de una inflamación piogranulomatosa con una población mixta de neutrófilos y macrófagos y un número variable de linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos o mastocitos. Los macrófagos presentan diferentes grados de activación con imágenes de leucofagocitosis y la presencia de células gigantes multinucleadas. Con frecuencia se observan células tisulares reactivas (fig. 1).

La administración de inyecciones, fundamentalmente con productos vacunales, puede desencadenar una reacción inflamatoria, especialmente en gatos, caracterizada por la presencia de numerosas células mononucleares, linfocitos y macrófagos, con un número variable de neutrófilos (que no constituyen la población predominante) (fig. 2). En muchos casos se aprecia la presencia de abundante material brillante, eosinófilo y granular, extracelular o en el interior de los macrófagos, que no debe confundirse con gránulos de los mastocitos.

La inflamación o necrosis estéril de la grasa subcutánea (paniculitis) se caracteriza por la presencia de células que se distribuyen alrededor de grandes espacios claros (gotas de grasa). La celularidad

Figura 1. Reacción a cuerpo extraño (inflamación piogranulomatosa).



suele ser inflamatoria, constituida por neutrófilos en casos agudos (poco frecuentes) o macrófagos en lesiones crónicas, incluyendo células gigantes multinucleadas (fig. 3). Sin embargo, es frecuente observar un número variable de células conjuntivas reactivas de morfología fusiforme, que pueden llegar a constituir la población predominante. Si los cambios reactivos son intensos pueden llegar a confundirse con neoplásicos (fig. 4). Todas las células observadas pueden contener vacuolas claras que indican la presencia de grasa y, en ocasiones, impide su diferenciación de verdaderos adipocitos.

En las reacciones eosinofílicas se incrementa el número de eosinófilos. En las lesiones del complejo granuloma eosinofílico felino constituye la población predominante; es frecuente observar una elevada cantidad de gránulos extracelulares procedentes de la rotura celular. Un escaso número de otros tipos celulares (linfocitos, células plasmáticas, fibroblastos) puede estar presente. Las reacciones de hipersensibilidad o los granulomas parasitarios se caracterizan por la presencia de una mezcla de células inflamatorias en las que destaca una proporción elevada de eosinófilos (superior al 10%) y un número variable de mastocitos (fig. 5). En ocasiones, las reacciones eosinofílicas pueden ser el primer indicio de la presencia de un mastocitoma.

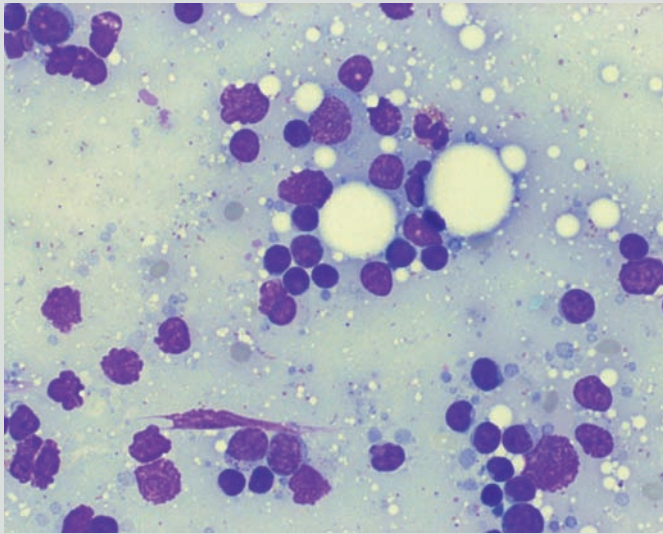


Figura 2. Reacción a inyección, con predominio de células mononucleares.

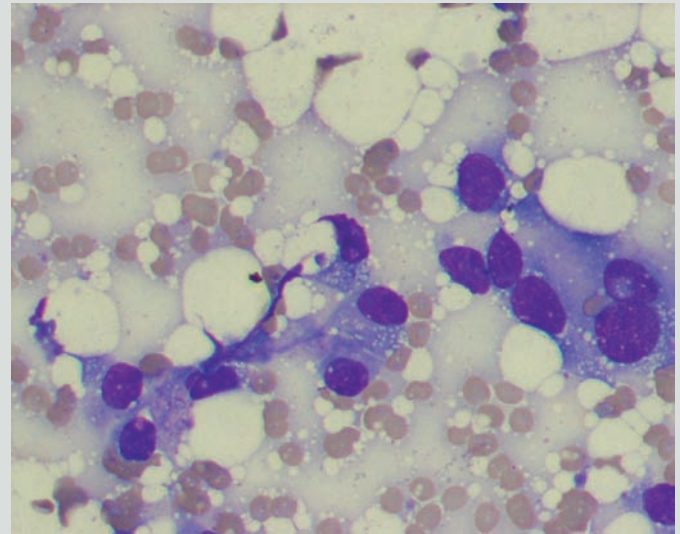


Figura 3. Pancreatitis. Se observan abundantes células macrofágicas (incluyendo multinucleadas) alrededor de gotas de grasa.

Figura 4. Pancreatitis. Predominio de células conjuntivas alrededor de gotas de grasa.

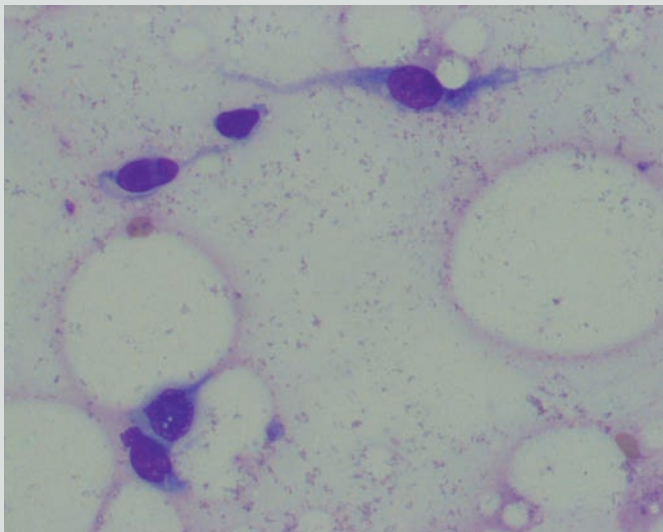
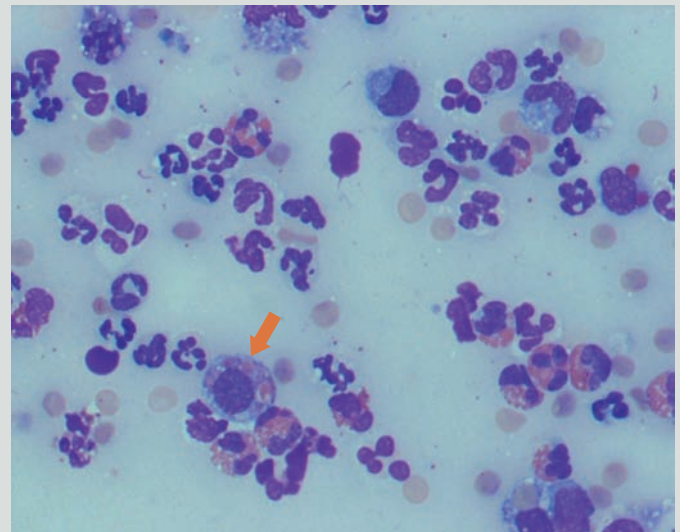


Figura 5. Inflamación eosinofílica; señalado con flecha se observa un macrófago fagocitando gránulos de eosinófilos.

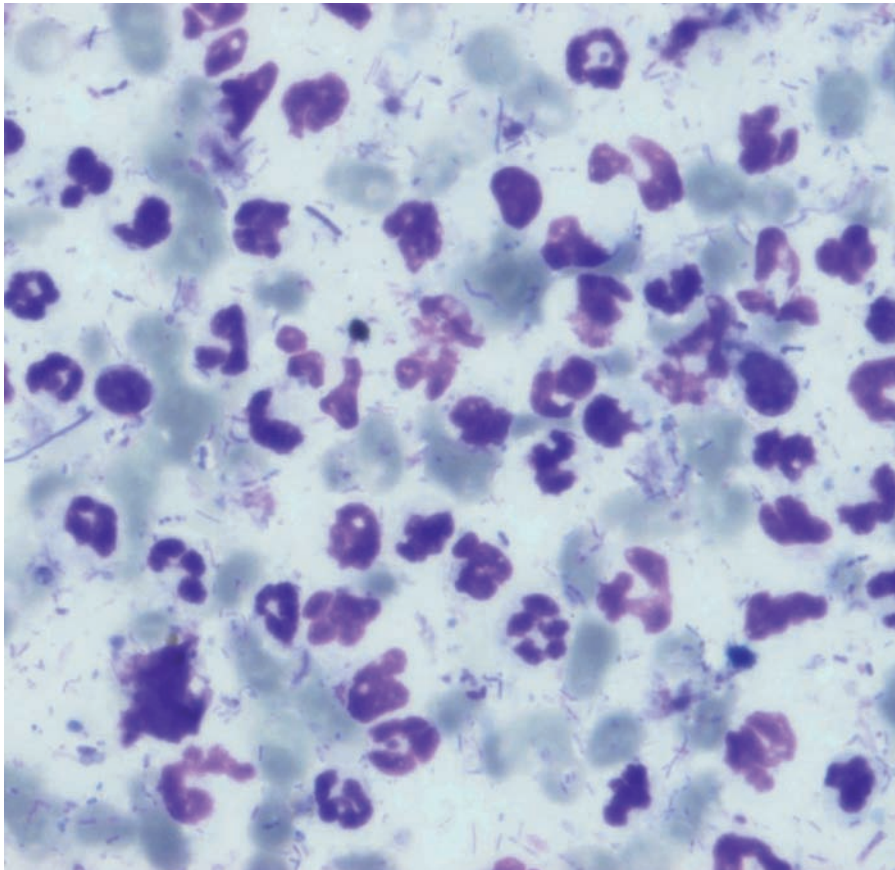


Las reacciones inmunomediadas se caracterizan por el predominio de neutrófilos no degenerados y un número escaso de otros tipos celulares, como linfocitos o células plasmáticas. Generalmente, la citología no tiene la suficiente sensibilidad para diagnosticar estos procesos.

Lesiones inflamatorias de origen infeccioso

En algunas lesiones inflamatorias de origen infeccioso es posible identificar el microorganismo causante del proceso; sin embargo, en otras ocasiones, el agente etiológico no se visualiza, aunque su presencia se puede sospechar por el tipo celular predominante o por los cambios que induce en las células inflamatorias.

Figura 6. Inflamación bacteriana. Se observan neutrófilos degenerados y abundantes bacterias, incluyendo formas filamentosas.



Las infecciones por bacterias simples se caracterizan por la presencia de abundantes neutrófilos degenerados; sólo pueden identificarse como agentes causales las bacterias observadas en el interior de los neutrófilos. Las bacterias mayores filamentosas (*Nocardia*, *Actinomyces*) pueden producir una reacción neutrofílica o piogranulomatosa (fig. 6). Las micobacterias se asocian a reacciones granulomatosas con predominio de macrófagos; no se tiñen con las técnicas citológicas habituales, aunque es posible apreciar su imagen negativa en el interior de los macrófagos.

La presencia de leishmanias en el punto de inoculación puede provocar la aparición de un granuloma cutáneo, con predominio de células mononucleares, fundamentalmente células plasmáticas, macrófagos, histiocitos y linfocitos. Puede asociarse una hiperplasia reactiva de células conjuntivas. Aunque es frecuente observar amastigotes en el in-

terior de los macrófagos o de forma extracelular; su presencia puede sospecharse en cualquier reacción inflamatoria en la que se observe un elevado porcentaje de células plasmáticas (fig. 7).

Los granulomas cutáneos secundarios a infecciones fúngicas sistémicas (blastomicosis, criptococosis, histoplasmosis, etc.) son poco frecuentes en España; la morfología de los diferentes agentes es ampliamente descrita en tratados especializados. Existen otros microorganismos fúngicos que producen lesiones cutáneas variadas (diferentes especies de dermatofitos, candidiasis, *Malassezia* spp.) que pueden diagnosticarse mediante raspados cutáneos, en los que es posible visualizar al agente junto a una mezcla de células inflamatorias.

Lesiones quísticas

El **quiste folicular** se caracteriza por la presencia de abundante cantidad de queratina y células epiteliales de descamación con escasas células nucleadas. La queratina aparece basófila con bordes angulares y ausencia de núcleo. Pueden observarse gránulos de melanina en número variable (fig. 8). Ocasionalmente, se observan células epiteliales bien diferenciadas. Si el quiste se rompe y libera queratina en el tejido adyacente, se produce una intensa inflamación piogranulomatosa (fig. 9). Citológicamente, es imposible diferenciar un quiste folicular de un tumor de folículo piloso.

En los **hematomas** se observa la presencia de sangre y macrófagos con imágenes de eritrofagocitosis o presencia de productos de degradación de la hemoglobina (fig. 10). No se observan plaquetas, a no ser que sea una hemorragia reciente. Muchas lesiones citológicamente compatibles con hematomas pueden corresponderse con tumores vasculares (hemangioma o hemangiosarcoma) que no han exfoliado células neoplásicas.

Cuando se realiza la punción de un **seroma** se suele obtener un volumen significativo de líquido claro; las citologías del mismo suelen presentar escasa celularidad compuesta por células mononucleares de revestimiento (similares a las células mesoteliales), que se caracterizan por ser células redondeadas con citoplasma ligeramente basófilo en cantidad moderada y núcleo redondo, irregular y parcialmente excéntrico; estas células pueden activarse a macrófagos (fig. 11). En lesiones crónicas se incrementa el número de neutrófilos y hematíes.

Los **sialoceles o mucocelos** salivares contienen un fluido viscoso. En la citología se aprecia una matriz granular abundante que se corresponde con los depósitos de mucina. Las células predominantes son de gran tamaño con abundante citoplasma con numerosas vacuolas (células espumosas); pueden observarse imágenes de eritrofagocitosis o la presencia de productos de degradación de la hemoglobina. Su núcleo es redondo, de pequeño tamaño; las células multinucleadas son frecuentes (fig. 12). El origen más probable de estas células es macrofágico, aunque no puede descartarse que se trate de células epiteliales. La presencia de una población mixta de células espumosas y neutrófilos permite diagnosticar una sialoadenitis (fig. 13).

Lesiones neoplásicas

La información mínima que se puede obtener de una citología de tumores que asientan en tejido cutáneo y subcutáneo es su estirpe celular y la presencia o ausencia de criterios citológicos de malignidad. Algunos tumores presentan características citológicas específicas, cuyo conocimiento permite emitir un diagnóstico más concreto.

La citología no tiene la suficiente sensibilidad como para diferenciar entre hiperplasia y tumor benigno o, incluso, tumor maligno bien

diferenciado. Por el contrario, los tumores malignos poco diferenciados suelen reconocerse fácilmente y la fiabilidad del diagnóstico citológico suele ser muy alta. En ocasiones, los tumores son tan anaplásicos que es imposible reconocer las características citológicas específicas, lo que impide su correcta clasificación; en estos casos, en general, los criterios de malignidad son muy evidentes. Por ello, el informe citológico debe establecer que se trata de un tumor maligno de estirpe indeterminada y esperar al diagnóstico histopatológico para definir el tipo tumoral específico.

Tumores de células redondas

Los tumores de células redondas incluyen el **linfosarcoma, histiocitoma, tumor venéreo transmisible, mastocitoma y plasmocitoma extramedular**. Algunos tumores de células basales o melanomas pueden presentar características citológicas semejantes a tumores de células redondas.

En general, los tumores de células redondas son fáciles de diagnosticar citológicamente, ya que suelen exfoliar gran cantidad de células con características específicas que permiten definir su origen exacto.

El linfosarcoma cutáneo se diagnostica por el predominio de células linfoides. Los linfosarcomas linfoblásticos se caracterizan por la presencia de numerosos linfoblastos: células grandes (el diámetro de su núcleo oscila entre dos y cuatro veces el de un hematíe), de núcleo redondo, aunque puede ser ligeramente irregular; con cromatina fina y difusa y que pueden presentar uno o varios nucléolos. La cantidad de citoplasma, fuertemente basófilo y con apariencia granular, es moderada (fig. 14). Los linfosarcomas epiteliotrópicos (micosis fungoides) suelen mostrar características de células histiocíticas, similares a monocitos, con núcleos más pleomórficos y citoplasma más amplio y más claro. La presencia de cuerpos linfoglandulares caracteriza los linfosarcomas y permite diferenciarlos de otros tumores de células redondas. Es prácticamente imposible diagnosticar linfosarcomas linfocíticos mediante técnicas citológicas, ya que predominan los linfocitos maduros que no pueden diferenciarse de células normales.

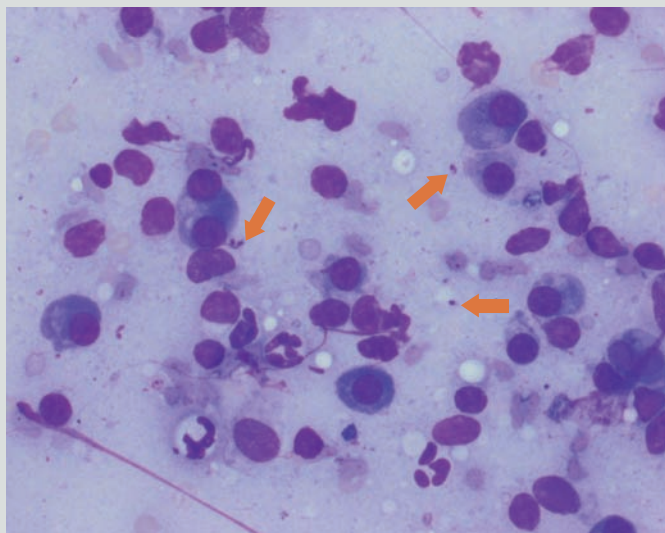


Figura 7. Granuloma producido por leishmanias. Se observa un elevado número de células plasmáticas y la presencia de amastigotes (señalados con flechas).

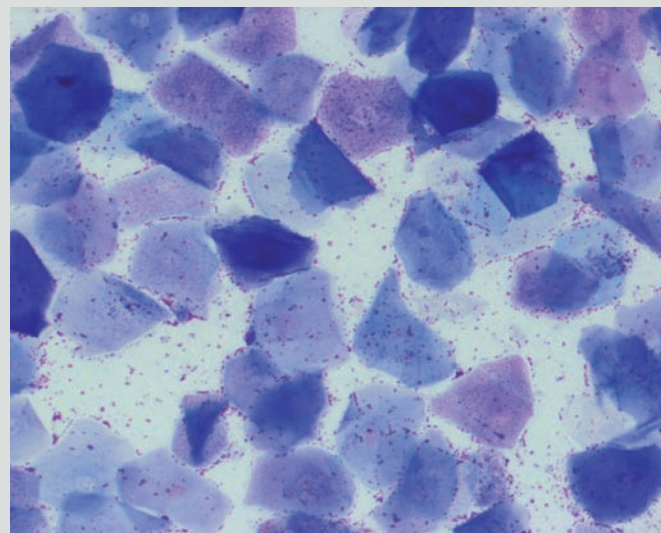


Figura 8. Quiste folicular; sólo se observa queratina. La imagen citológica es semejante en tumores de folículo piloso.

Figura 9. Quiste folicular con reacción inflamatoria asociada.

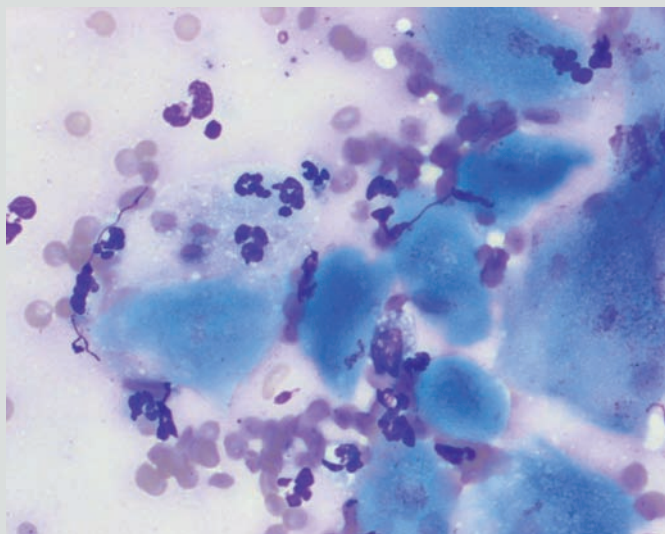
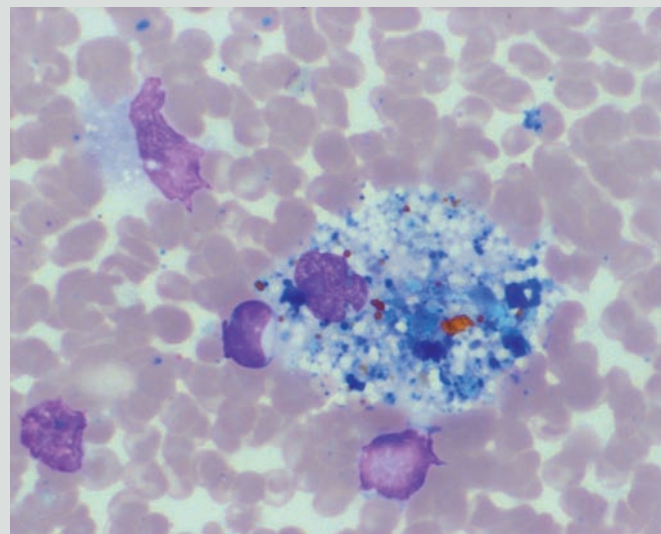


Figura 10. Macrófago con pigmento derivado de productos de degradación de la hemoglobina; su presencia implica eritrofagocitosis previa.



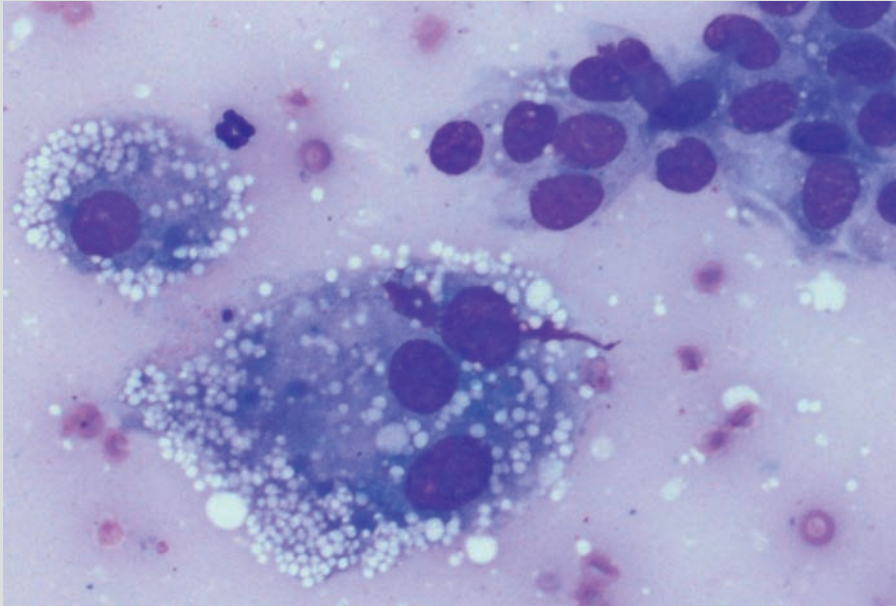


Figura 11. Grupo de células de revestimiento procedente de un seroma con activación de células macrófágicas.

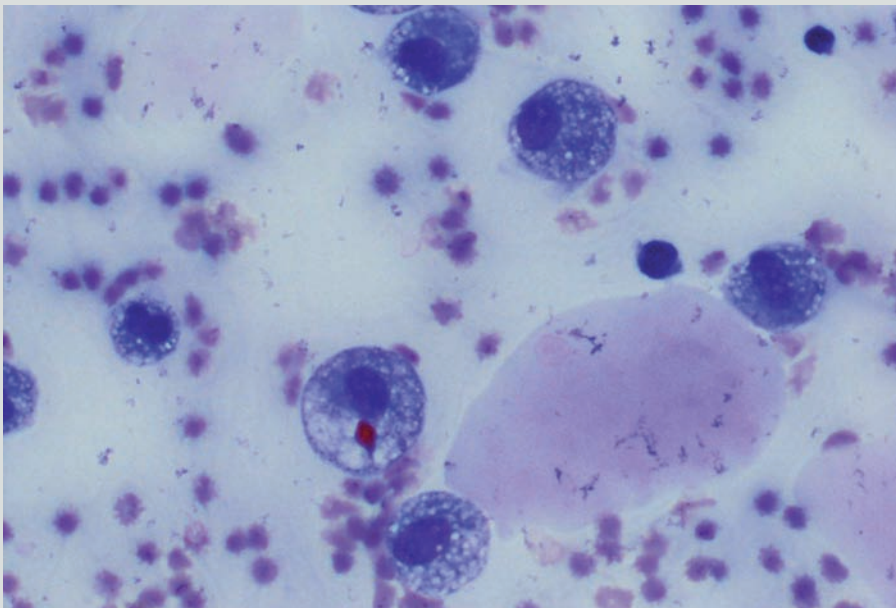


Figura 12. Sialoceles. Se observan numerosos macrófagos espumosos (uno de ellos presenta un cristal de hematoidina) y matriz extracelular indicativa de su alta viscosidad.

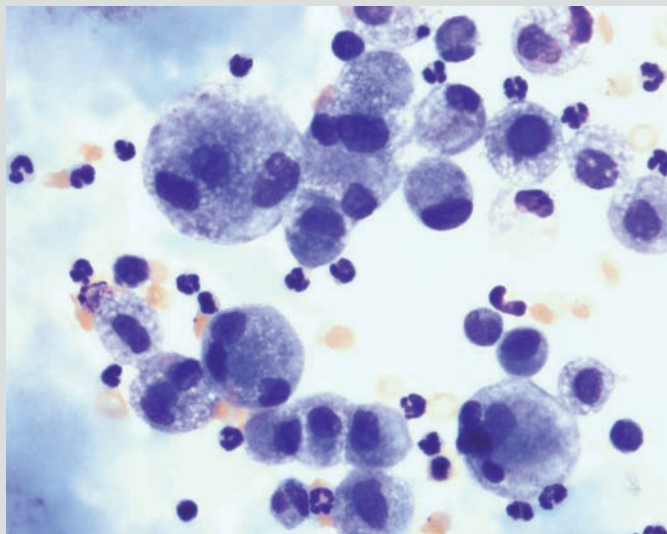


Figura 13. Sialoadenitis. Se observan numerosos macrófagos espumosos, muchos multinucleados y una población abundante de neutrófilos.

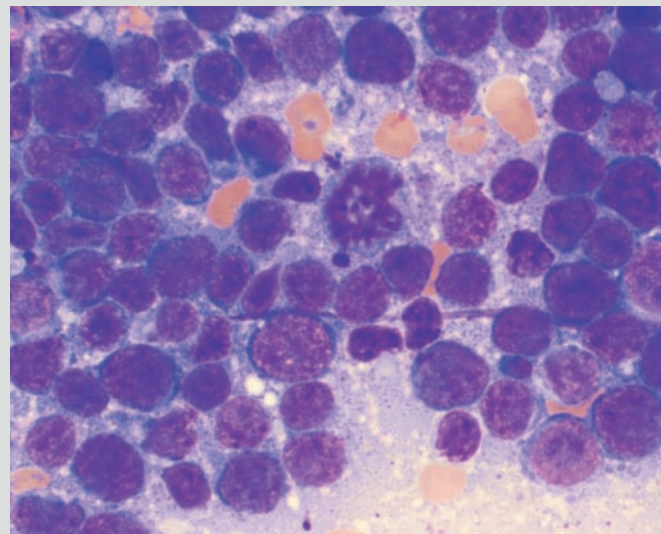


Figura 14 . Linfosarcoma cutáneo.

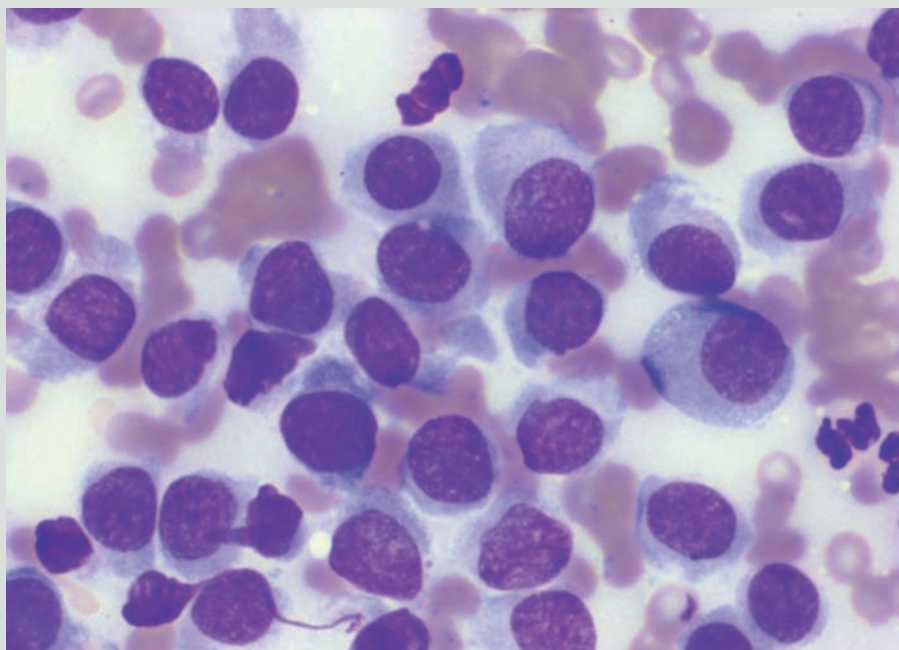


Figura 15. Histiocitoma. Los núcleos presentan ligeras irregularidades en forma y tamaño.

El histiocitoma se caracteriza por la presencia de células redondas, mayores que los neutrófilos, con citoplasma amplio, pálido o ligeramente basófilo, y pequeñas vacuolas ocasionales; los límites citoplasmáticos pueden no estar tan bien definidos como en otros tumores de células redondas, sobre todo si las células se disponen sobre una matriz rica en proteínas que tiñe el fondo de la preparación. Los núcleos suelen ser pleomórficos con formas redondas, ovaladas o arriñonadas (fig. 15). En general, presentan cromatina fina y no se observan nucléolos prominentes. Los histiocitomas de animales jóvenes suelen ser benignos, pero en las citologías puede observarse una activación nuclear significativa, incluyendo la presencia de células bi o multinucleadas o mitosis que, aunque infrecuentes, pueden ser atípicas. La presencia de un número significativo de linfocitos maduros indica que el proceso se encuentra en regresión (fig. 16). En ocasiones, puede ser difícil diferenciar un histiocitoma de una reacción inflamatoria crónica en la que predominen las células mononucleares o, incluso, de un linfosarcoma histiocítico. Los procesos histiocíticos malignos pueden tener repercusión cutánea; las células son más anaplásicas, con formas multinucleadas frecuentes y otros caracteres nucleares de malignidad significativos.

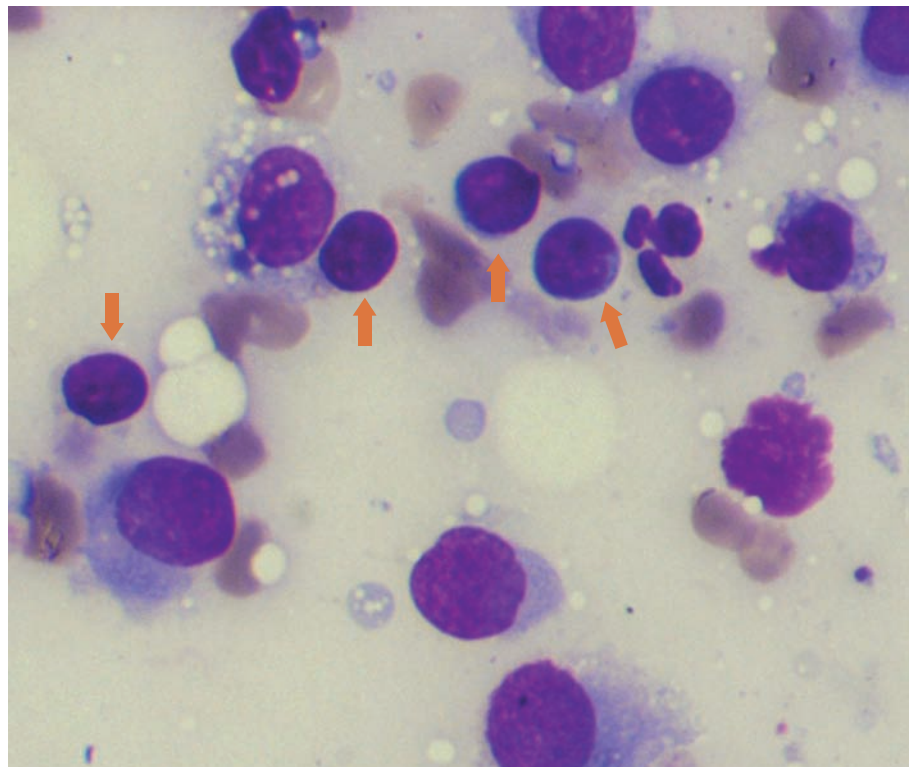


Figura 16. Histiocitoma en regresión; junto a la población de histiocitos se observa un infiltrado de linfocitos (señalados con flechas).

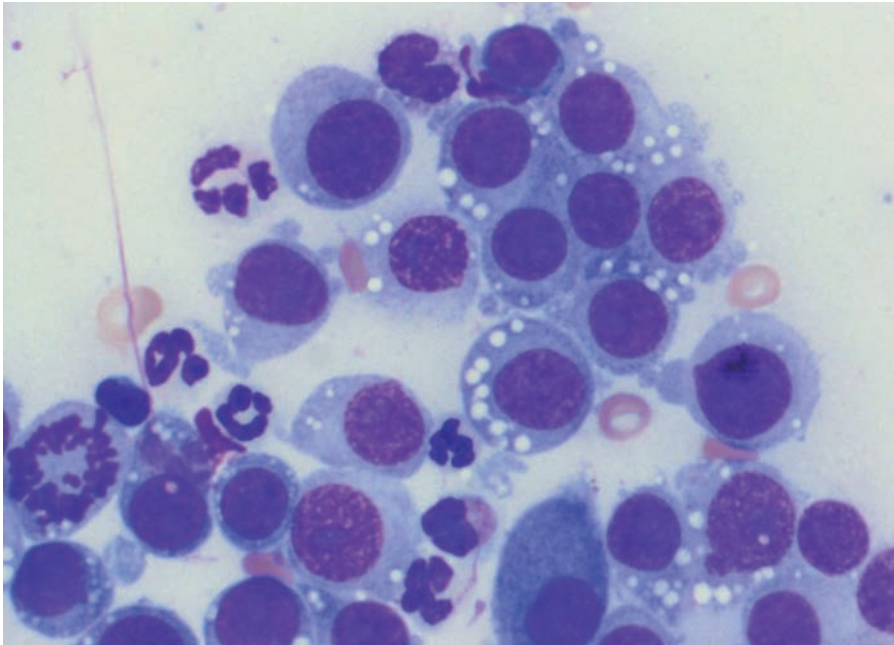


Figura 17. Tumor venéreo transmisible; se observa una población de células redondas (una de ellas en mitosis) con vacuolas redondas, claras y bien definidas.

Aunque es poco frecuente, puede diagnosticarse la presencia de un tumor venéreo transmisible de asentamiento cutáneo (extragenital). Las células, claramente redondas, presentan un citoplasma basófilo que se caracteriza por la presencia de pequeñas vacuolas claras en número variable; generalmente, se observan numerosos criterios nucleares de malignidad y abundantes mitosis atípicas. Suele acompañarse de un infiltrado inflamatorio compuesto de neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas (fig. 17).

El mastocitoma es uno de los tumores más sencillo de diagnosticar mediante citología. Para diferenciar el mastocitoma de reacciones inflamatorias, la población de mastocitos debe superar el 50% de la celularidad total. Los mastocitos son células de tamaño pequeño/medio, equivalentes en tamaño al diámetro de 1-3 neutrófilos, y que se caracterizan por la presencia de gránulos metacromáticos citoplasmáticos de color púrpura-rojizo. Además de reconocer la existencia de un mastocitoma, la citología permite aproximar el grado de diferenciación, basándose en dos parámetros fundamentales: el número y morfología de los gránulos y la presencia o ausencia de criterios nucleares de malignidad.

- En los mastocitomas bien diferenciados, las células presentan granulaciones abundantes y gruesas que ocupan todo el citoplasma; pueden ser tan numerosos y compactos que no pueden observarse individualmente salvo en células en degranulación. Su núcleo, redondo/ovalado, aparece como una zona de coloración rosácea menos teñida, debido a que los gránulos tienen mayor afinidad por el colorante, o, incluso, puede que no se llegue a observar; oculto por las granulaciones. Es frecuente la presencia de un gran número de gránulos libres, debido a procesos de degranulación (fig. 18).
- Los mastocitomas de grado intermedio de diferenciación presentan gránulos evidentes en la mayoría de las células, pero son más finos y dispersos y pueden localizarse en el citoplasma con un cierto grado de polarización; los núcleos, bien visibles, pueden ser homogéneos o presentar atipias moderadas (fig. 19).
- Los mastocitomas indiferenciados presentan gránulos muy finos y escasos y criterios nucleares de malignidad evidentes (fig. 20). En los más anaplásicos, los mastocitos pierden prácticamente todos sus gránulos, lo que dificulta su diferenciación de otras células redondas como células linfoides, histiocitos, células plasmáticas o macrófagos (fig. 21). La evidencia de estos escasos gránulos es más difícil con técnicas de tinción rápida.

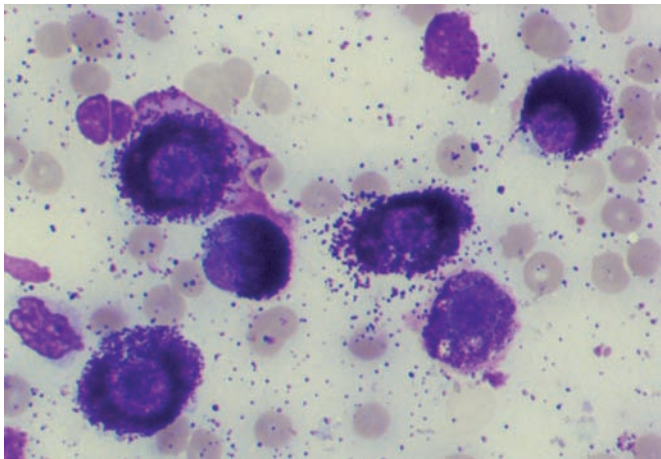


Figura 18. Mastocitoma bien diferenciado. Se observan mastocitos con un elevado número de granulaciones que oscurecen el núcleo; la presencia de numerosos gránulos extracelulares es consecuencia de la degranulación de los mastocitos.

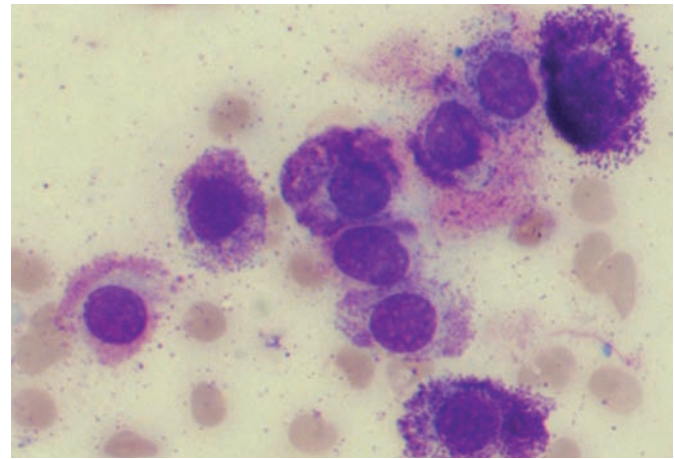


Figura 19. Mastocitoma de grado intermedio de diferenciación; aunque los gránulos son evidentes, en la mayoría de las células son finos y dispersos.

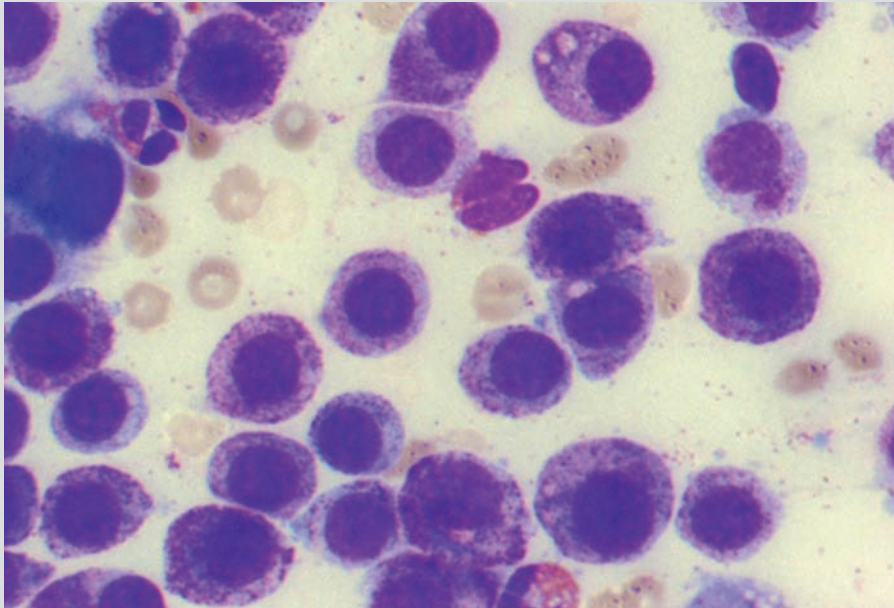


Figura 20. Mastocitoma poco diferenciado. La mayoría de los mastocitos presentan escasos gránulos (inapreciables en algunos de ellos). La presencia de eosinófilos ayuda al diagnóstico citológico.

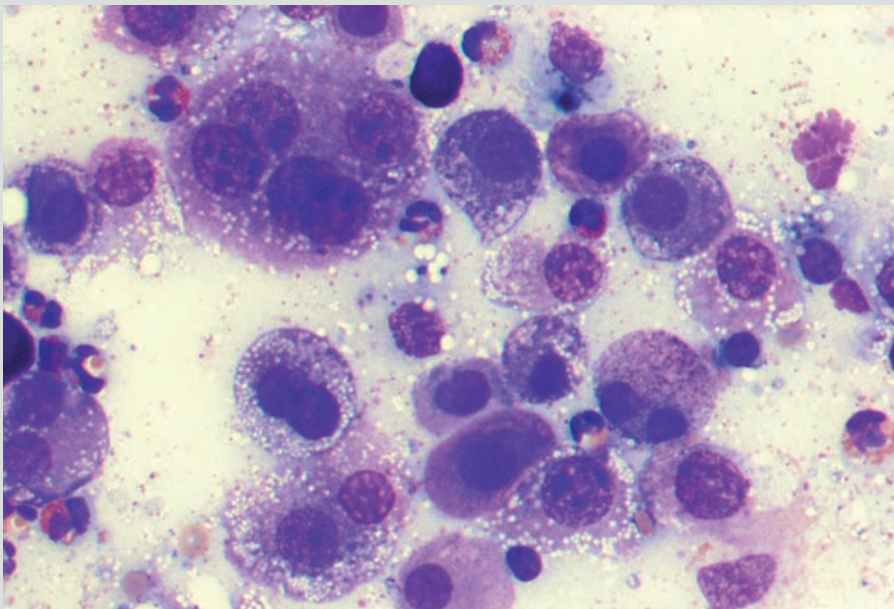


Figura 21. Mastocitoma poco diferenciado. Los mastocitos prácticamente carecen de gránulos y presentan una morfología semejante a células macrófagicas; los criterios nucleares de malignidad son evidentes; el infiltrado de eosinófilos ayuda al diagnóstico citológico.

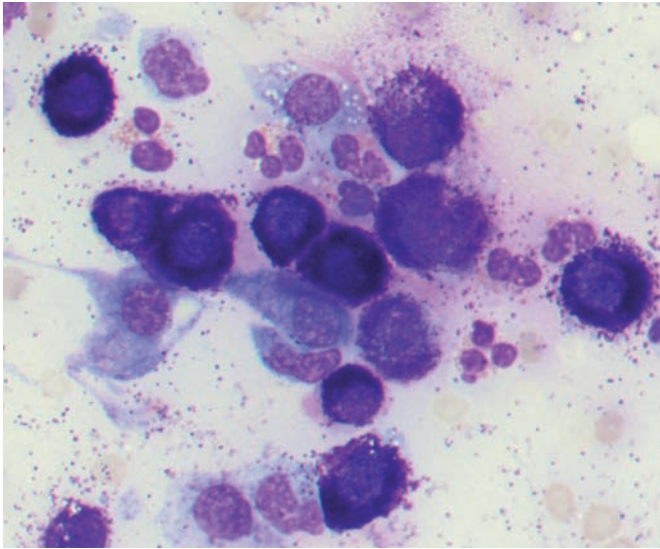
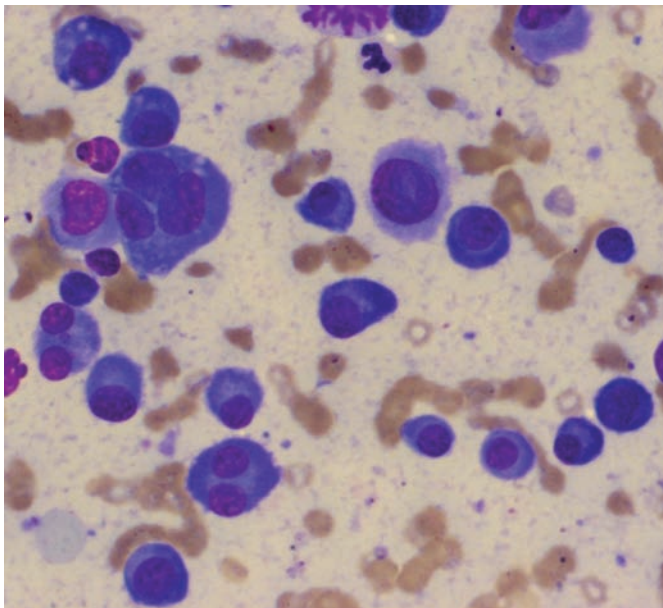


Figura 22. Mastocitoma bien diferenciado con un infiltrado significativo de eosinófilos y células conjuntivas muy activadas.



En la mayoría de los casos, los mastocitomas presentan un infiltrado de eosinófilos, que puede llegar a constituir una clave diagnóstica; de esta forma, la presencia de eosinófilos junto a una población indiferenciada de células redondas sugiere la presencia de un mastocitoma poco diferenciado y lo permite diferenciar de otros tumores de células redondas. También es frecuente la observación de un infiltrado de células conjuntivas muy activas, cuyo número puede ser muy elevado, sobre todo en los tumores bien diferenciados (fig. 22).

Los plasmocitomas extramedulares cutáneos son tumores que proceden de células plasmáticas. Citológicamente, las células pueden presentar las características típicas de células plasmáticas: células redondas u ovaladas, con una cantidad moderada de citoplasma fuertemente basófilo con una zona de palidez perinuclear (efecto Golgi) y núcleo redondo con cromatina condensada, normalmente en posición excéntrica. Sin embargo, en ocasiones, los plasmocitomas presentan células más indiferenciadas, de citoplasma más grisáceo y sin áreas claras perinucleares. Pueden aparecer células con marcada anisocariosis, presencia de células binucleadas o multinucleadas y variaciones en el cociente núcleo:citoplasma (fig. 23). Los plasmocitomas bien diferenciados pueden confundirse con intensas reacciones inflamatorias en respuesta a estímulos fuertemente antigénicos, como, por ejemplo, los granulomas inducidos por amastigotes de leishmanias.

Figura 23. Plasmocitoma cutáneo. Se observan numerosas células plasmáticas con atipias nucleares significativas.

Tumores epiteliales

En los tumores epiteliales, el propósito de la citología es, como mínimo, diferenciar entre tumor glandular o no glandular y benigno/maligno.

Tumores epiteliales glandulares

Los tumores glandulares, independientemente de su origen, se caracterizan por formar grupos celulares voluminosos con disposición papilar o acinar y porque sus células presentan un citoplasma vacuolizado. Estas vacuolas pueden ser múltiples, de pequeño tamaño (microvacuolas), múltiples y de tamaño variable pero muy evidentes (macrovacuolas) o aparecer como una única vacuola de gran tamaño que ocupa prácticamente todo el citoplasma y desplaza el núcleo a la periferia (células en anillo de sello). En ocasiones, se observa un material eosinofílico (rosa pálido) entre las células que se corresponde con los productos secretados. En función de los criterios de malignidad puede establecerse el diagnóstico de adenoma o adenocarcinoma.

Las células de los tumores de glándulas sebáceas presentan abundante citoplasma pálido con numerosas vacuolas pequeñas y uniformes (aspecto espumoso). El núcleo es pequeño, redondo y oscuro, y puede encontrarse desplazado excéntricamente (fig. 24). Estas células pueden diferenciarse de los macrófagos por la ausencia de actividad fagocítica y el tamaño y forma uniforme de sus vacuolas. Es difícil diferenciar entre hiperplasias y adenomas, aunque los tumores suelen acompañarse de células basales de reserva indiferenciadas que no contienen vacuolas. Los carcinomas presentan marcada anisocariosis y anisocitosis, con núcleos de forma irregular y nucléolos múltiples. Son más frecuentes las células de reserva que las secretoras, aunque ocasionalmente se observan células en anillo de sello (fig. 25).

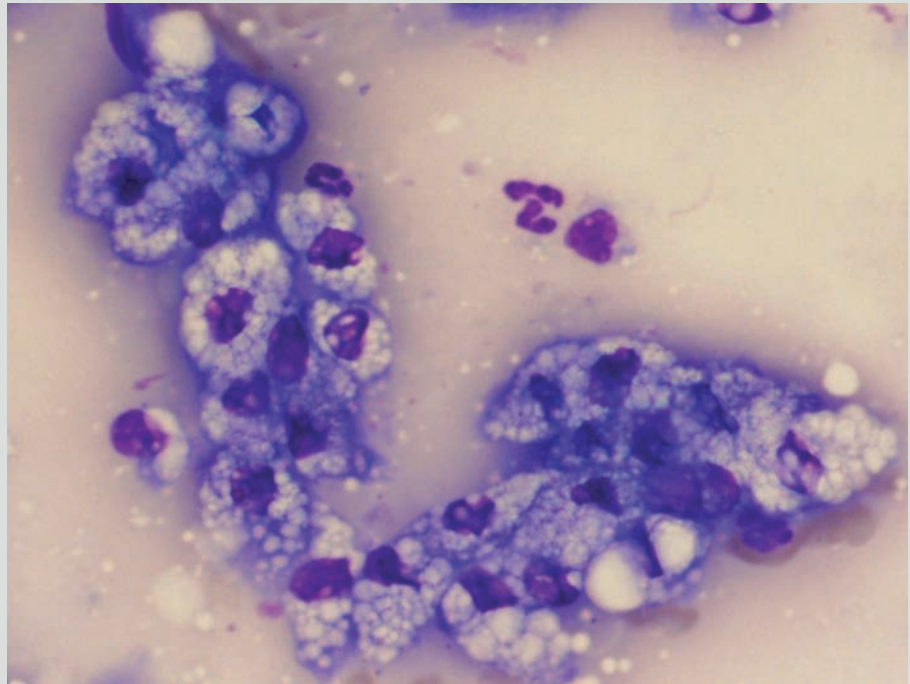


Figura 24. Hiperplasia/adenoma de células sebáceas. Las células, caracterizadas por su citoplasma intensamente vacuolizado, forman grupos bien diferenciados.

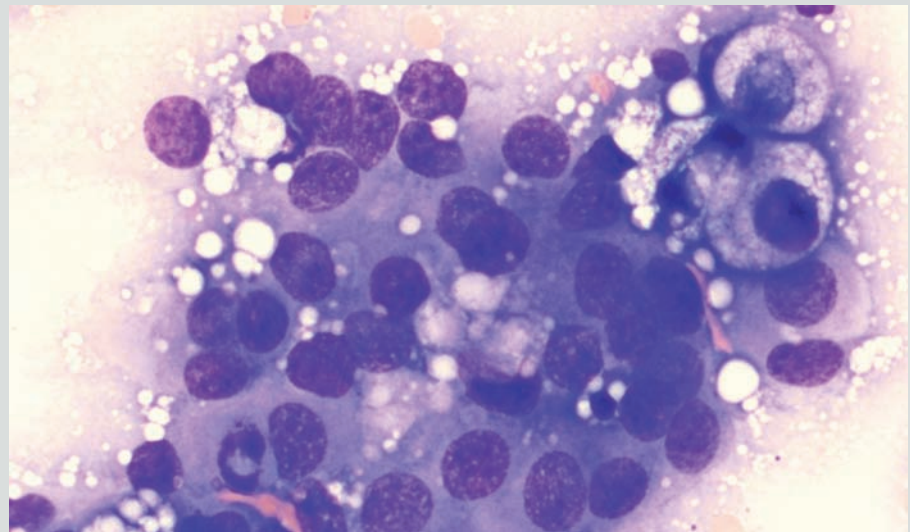


Figura 25. Adenocarcinoma de células sebáceas. Predominan las células de reserva (no vacuolizadas) con atipias nucleares, aunque se observan células sebáceas más diferenciadas en la periferia del grupo.

Los tumores de glándulas perianales presentan células redondas o poliédricas, que forman grupos de tamaño variable, aunque también pueden observarse elementos aislados. Su citoplasma es muy característico: suele ser abundante, ligeramente basófilo o grisáceo, finamente vacuolizado o “apolillado” (semejante al de los hepatocitos; de ahí su denominación como células hepatoides). El núcleo se localiza en posición central y puede presentar condensaciones de cromatina y uno o dos pequeños nucleólos (fig. 26). En la periferia de los grupos pueden observarse células de reserva más pequeñas, de núcleo ovalado y menor cantidad de citoplasma (fig. 27). Ocasionalmente, se intercalan células de diferenciación sebácea. Es prácticamente imposible diferenciar, citológicamente, entre adenomas y adenocarcinomas, ya que la mayoría de los tumores perianales presentan 1 o 2 criterios citológicos de malignidad; además, en tumores acompañados de fuerte reacción inflamatoria (lo que es frecuente por la alta incidencia de ulceración), las células pueden presentar atipias secundarias a la inflamación.

Los tumores de glándulas sudoríparas o apocrinas son difíciles de diagnosticar mediante citología, ya que no presentan características citológicas específicas. Muchos de ellos constituyen estructuras quísticas con formación de abundante líquido, cuyo análisis muestra la presencia de células atípicas junto a células de revestimiento y células inflamatorias.

Las lesiones mamarias son muy difíciles de clasificar mediante citología. Muchos procesos inflamatorios o hiperplásicos presentan características similares a los tumores benignos o malignos bien diferenciados. Además, muchos tumores mamarios son mixtos con componente epitelial y conjuntivo. Por último, si el tumor mamario presenta zonas quísticas, las células de revestimiento de estas áreas pueden presentar más atipias que el propio tejido sólido neoplásico. Por todo ello, no se recomienda basar el diagnóstico de los tumores mamarios en el estudio citológico. La única utili-

dad del diagnóstico citológico es establecer un diagnóstico diferencial con otros tumores cutáneos o subcutáneos localizados en el área mamaria (lipomas, mastocitomas).

Los tumores de glándulas salivares suelen ser malignos, aunque pueden ser bien diferenciados y presentar mínimas atipias nucleares. Las células pueden presentar una disposición acinar o características de células en anillo de sello con presencia de material de secreción. Su citoplasma suele ser fuertemente basófilo (fig. 28). En ocasiones, pueden diagnosticarse carcinomas con diferenciación escamosa, semejantes a los carcinomas de células escamosas en otras localizaciones.

Los tumores de sacos anales y los tiroideos presentan las características típicas de tumores neuroendocrinos.

Los tumores de sacos anales exfolian una gran cantidad de células en forma de “sábanas” con bordes citoplasmáticos poco diferenciados. Se observa una gran cantidad de núcleos desnudos incluidos en una matriz citoplasmática clara sin membrana celular. Las células intactas presentan un núcleo de gran tamaño central con un pequeño nucléolo. La cantidad de citoplasma es significativamente menor que en las células de las glándulas perianales. Aunque los tumores de sacos anales habitualmente son malignos, los cambios citológicos suelen ser moderados, limitándose a una ligera anisocariosis (fig. 29).

Los tumores de tiroides suelen ser malignos, pero citológicamente pueden presentarse como benignos o bien diferenciados. Son tejidos muy vascularizados, por lo que es frecuente que en las preparaciones exista una importante contaminación sanguínea. Las células presentan citoplasma en cantidad moderada, claro o ligeramente basófilo y suelen formar grandes grupos. Estos grupos pueden aparecer como núcleos libres incluidos en una matriz

pálida con ciertas células en las que se distinguen los bordes citoplasmáticos (fig. 30). Algunas pueden presentar gránulos en el citoplasma, azul-negruzcos (gránulos de tirosina) en número y tamaño variable (fig. 31). Este hallazgo no es constante. También es posible observar material coloide amorfo y fuertemente eosinofílico que puede presentarse de forma difusa o adherirse a los grupos celulares (fig. 32). Los adenocarcinomas indiferenciados pueden presentar numerosas atipias nucleares.

Aunque de forma poco frecuente, algunos adenocarcinomas de glándulas subcutáneas (por ejemplo, mama) o de localizaciones internas pueden metastatizar a piel. Citológicamente es prácticamente imposible identificar su origen primario, aunque los caracteres de malignidad suelen ser muy evidentes. Los carcinomas inflamatorios mamarios muestran un importante infiltrado inflamatorio junto a células glandulares atípicas.

Tumores epiteliales no glandulares

Aunque existen numerosos tipos de tumores epiteliales no glandulares, los más frecuentes y fáciles de diagnosticar mediante una citología son:

Los tumores de células basales forman grupos compactos o estructuras en empalizada de células epiteliales de pequeño tamaño con escaso citoplasma, núcleo redondo y un elevado cociente núcleo:citoplasma. Pueden aparecer células aisladas de morfología redondeada. Los núcleos suelen ser homogéneos, salvo por pequeñas diferencias de tamaño (fig. 33). En ocasiones pueden asociarse a células sebáceas (fig. 34). En gatos, los tumores de células basales pueden estar pigmentados y presentar melanina; en esta especie están descritos los tumores basales malignos, cuyos núcleos presentan atipias significativas.

Los tumores epiteliales de estratos intermedios están constituidos por células cuyo tamaño aumenta y cuya relación núcleo:citoplasma disminuye a medida que se acercan a estratos más superficiales. Los núcleos son relativamente homogéneos en tumores benignos (fig. 35) y con atipias significativas en tumores malignos (fig. 36).

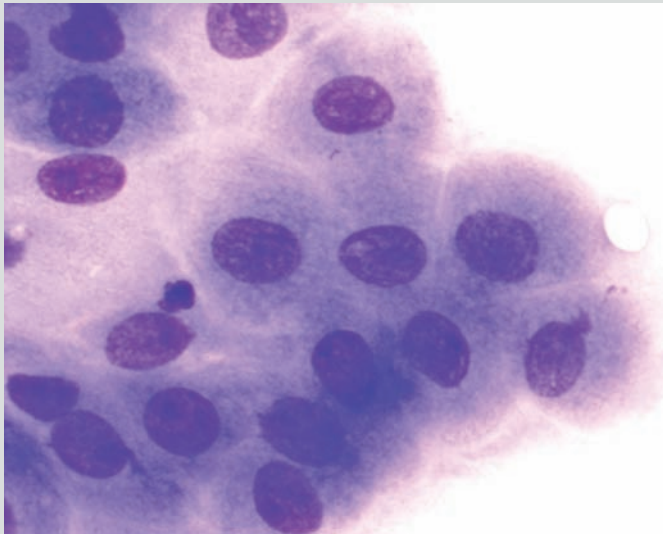


Figura 26. Tumor de glándulas perianales. El citoplasma, amplio y finamente vacuolizado, es muy característico. Los núcleos presentan un patrón de cromatina condensado y nucleólos prominentes.

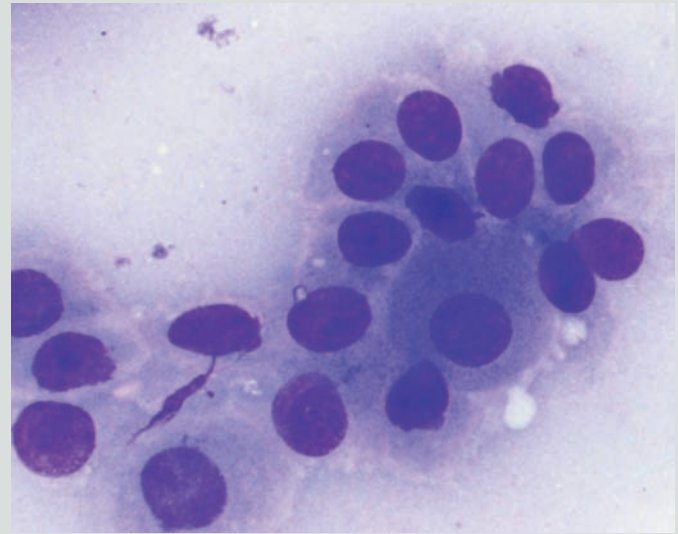


Figura 27. Célula perianal, de citoplasma amplio finamente vacuolizado, rodeado de células de reserva.

Figura 28. Adenocarcinoma de glándula salivar. Junto a las células glandulares con evidentes atipias citológicas, se observan depósitos de matriz granular.

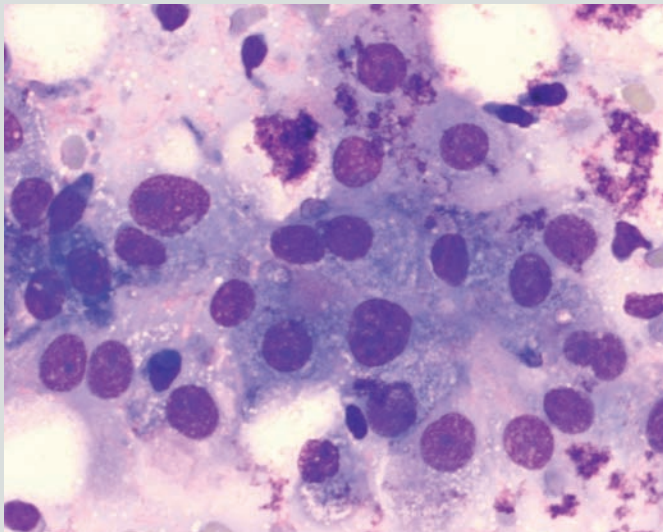
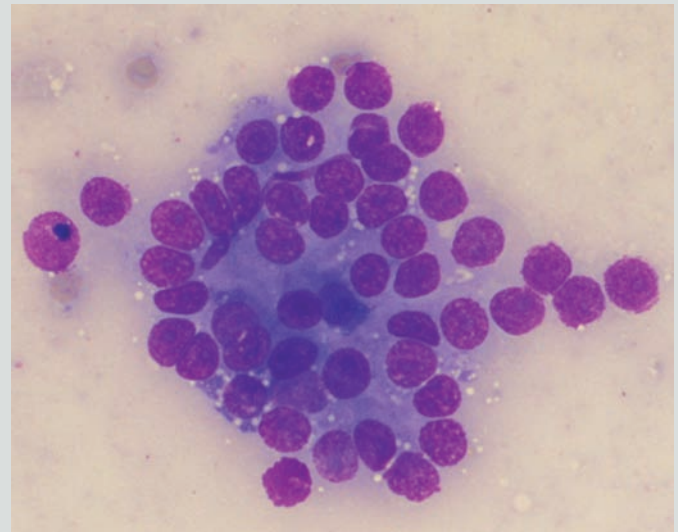


Figura 29. Tumor de saco anal. Aunque los núcleos presentan escasas atipias citológicas, lo más probable es que se trate de un carcinoma.



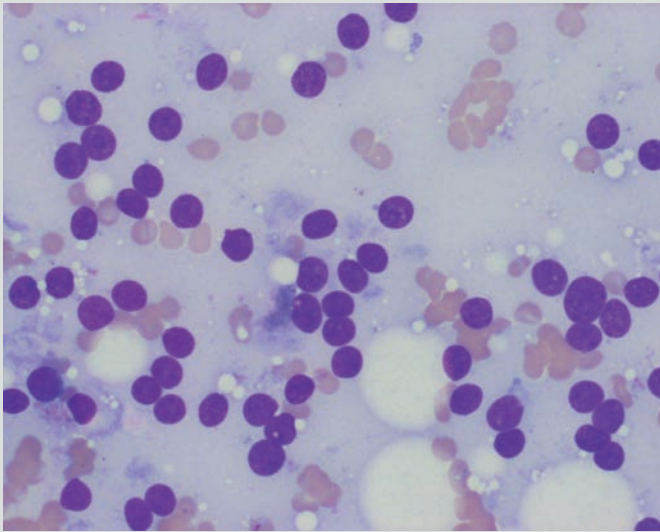


Figura 30. Tumor de tiroides. Se observa gran contaminación sanguínea y numerosos núcleos desnudos, algunos de ellos incluidos en una matriz pálida; esta imagen es típica de tumores neuroendocrinos.

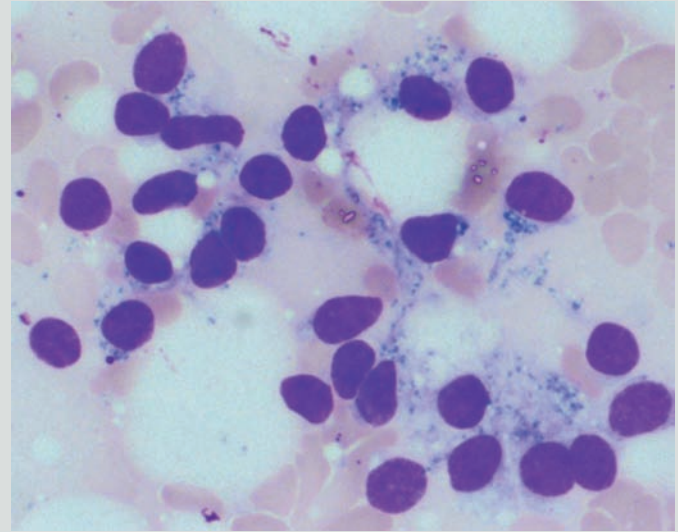


Figura 31. Tumor de tiroides. Las células presentan gránulos de tirosina negruzcos en su citoplasma.

Figura 32. Tumor de tiroides. Entre las células se observa una matriz rosada coloidal; a pesar de las escasas atipias nucleares, puede tratarse de un tumor maligno.

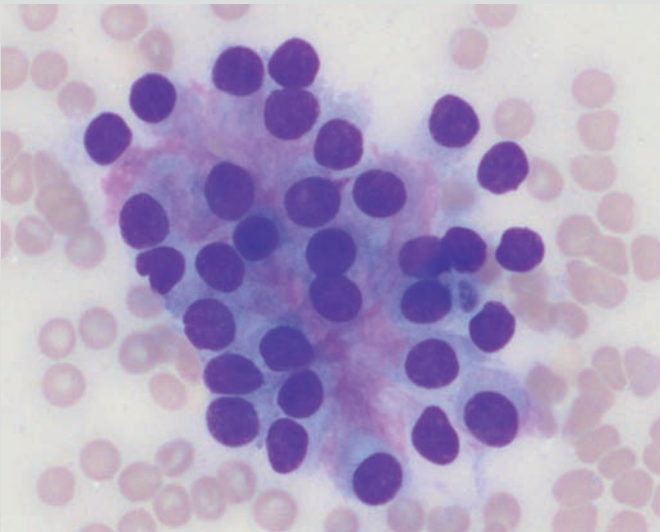
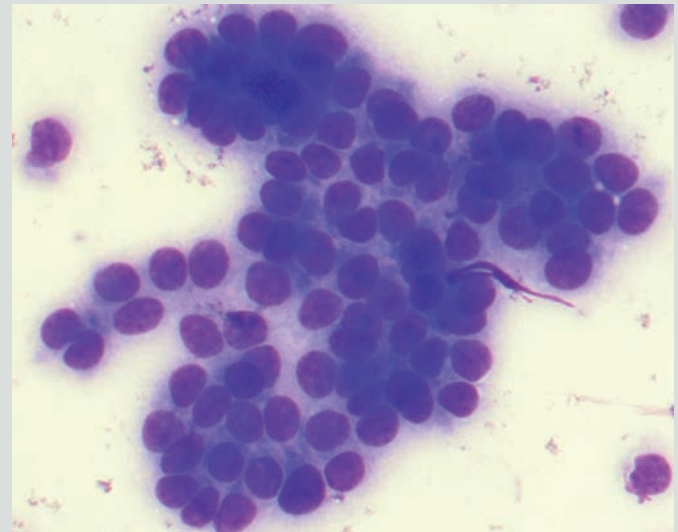


Figura 33. Tumor de células basales. Las células, con escaso citoplasma, forman grupos compactos. A pesar de las ligeras irregularidades nucleares, su comportamiento suele ser benigno.



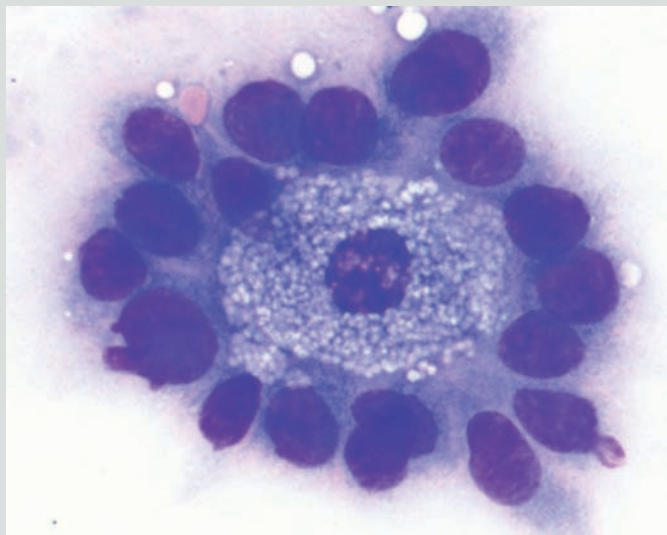


Figura 34. Célula sebácea rodeada de células basales.

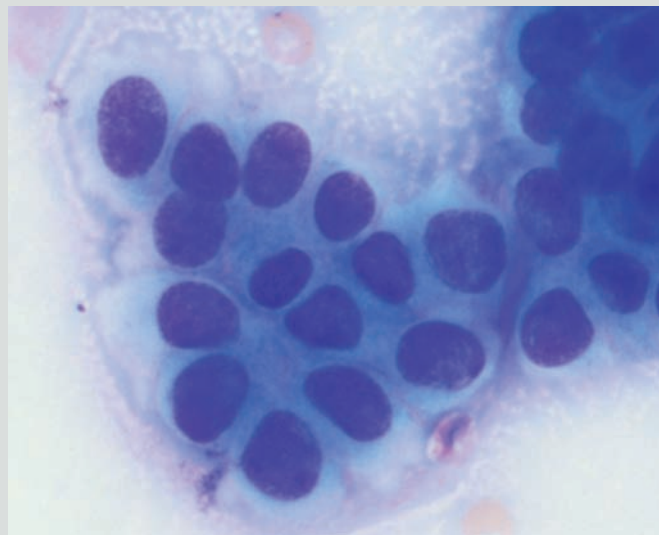


Figura 35. Tumor epitelial de estratos intermedios, probablemente benigno.

Figura 36. Tumor epitelial maligno de estratos intermedios.

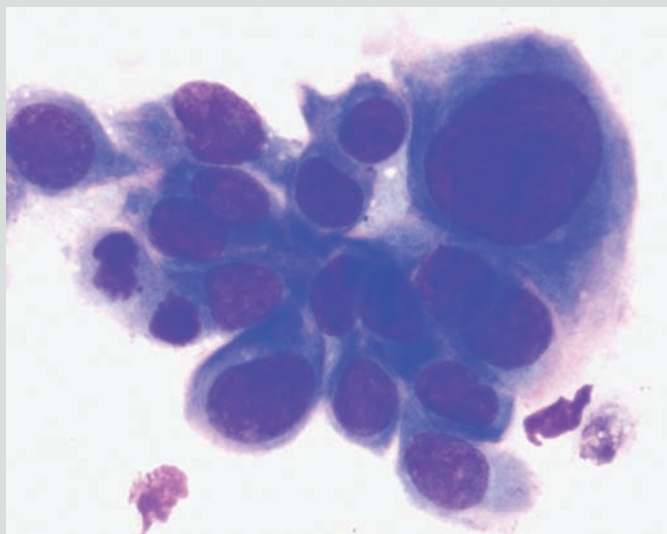
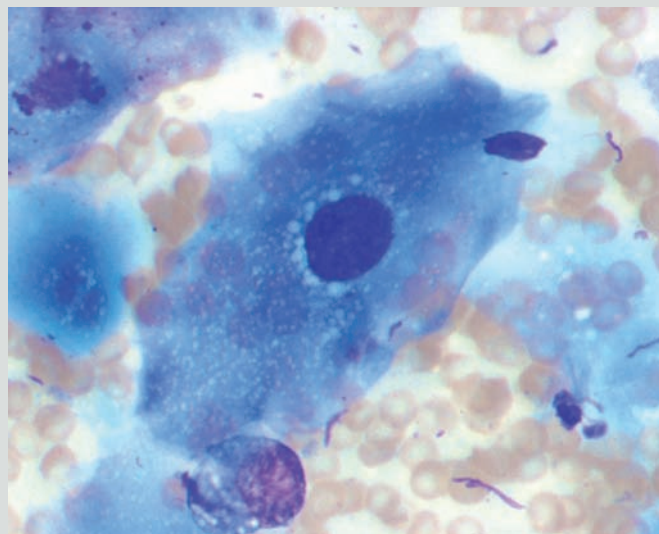
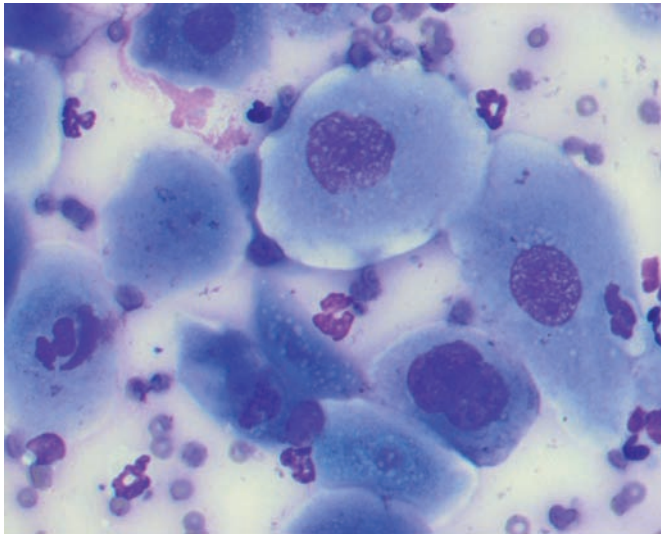


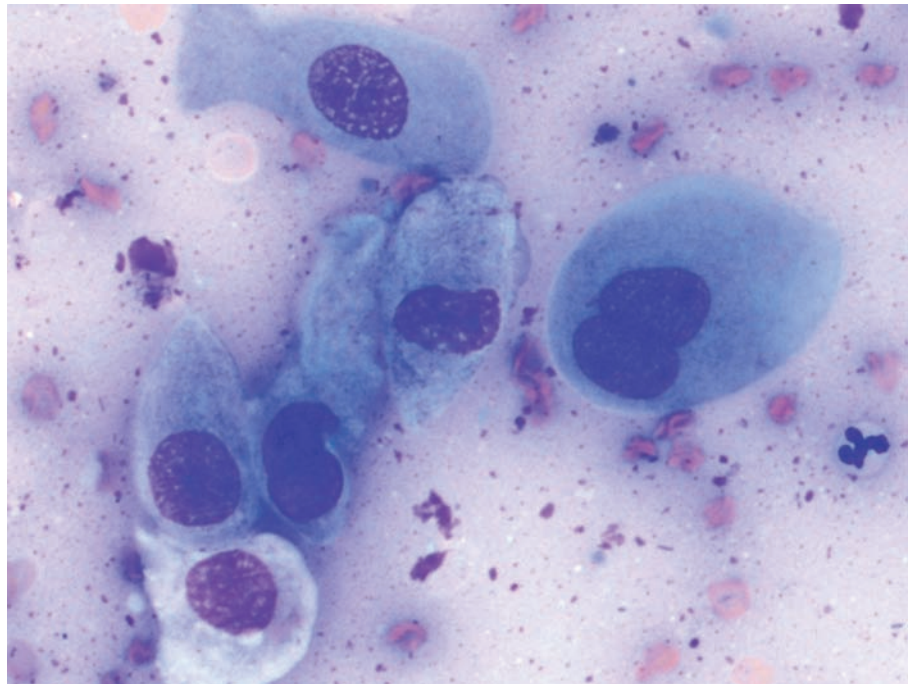
Figura 37. Célula basófila, poligonal, procedente de un carcinoma de células escamosas. Además de maduración asincrónica, se observa vacuolización perinuclear.





Los carcinomas de células escamosas presentan células aisladas o en pequeños grupos con escasa cohesión; son células grandes, globosas o poligonales, de citoplasma fuertemente basófilo (fig. 38). Además de otros criterios citológicos de malignidad, las células presentan maduración asincrónica (falta de correlación entre el tamaño nuclear y la cantidad de citoplasma, de forma que aparecen células grandes con abundante citoplasma que retienen un núcleo grande, funcional, no picnótico) (fig. 39) y/o vacuolización perinuclear (fig. 37). Estos tumores suelen acompañarse de gran infiltrado inflamatorio, por lo que hay que interpretar con precaución la presencia de las células escamosas, para diferenciar las neoplásicas de células reactivas por el proceso inflamatorio. Las células de carcinomas bien diferenciados apenas se distinguen de células normales o hiperplásicas.

Figuras 38 y 39. Carcinoma de células escamosas. Las células, globosas o poligonales, presentan maduración asincrónica junto a otros criterios nucleares de malignidad.



Los tumores de folículo piloso no pueden diferenciarse citológicamente. Las preparaciones suelen contener células escamosas superficiales y queratina, hallazgos semejantes a los descritos en los quistes foliculares.

Tumores conjuntivos

En general, los tumores conjuntivos son muy semejantes citológicamente. En los tumores benignos (fibroma, mixoma, hemangioma, leiomioma) es difícil conseguir muestras representativas, ya que se obtiene una escasa cantidad de células. Los tumores malignos (fibrosarcoma, hemangiopericitoma, neurofibrosarcoma o schwannoma, mixosarcoma, liposarcoma, hemangiosarcoma, sarcoma de células gigantes o histiocitoma fibroso maligno) suelen exfoliar una mayor cantidad de células con criterios citológicos de malignidad.

Es muy difícil determinar el origen de un tumor conjuntivo en función de la observación citológica. El objetivo de la citología se limita, en general, a diferenciar entre tumores conjuntivos benignos y sarcomas y, si es posible, entre sarcomas de bajo grado histológico y los sarcomas de alto grado de malignidad con características de anaplasia.

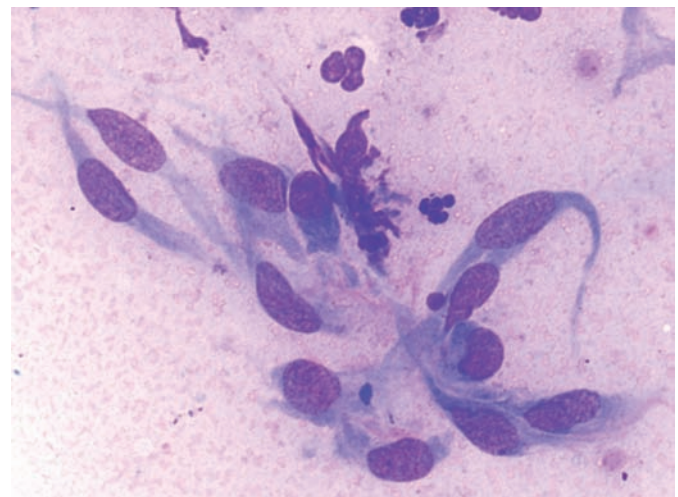
Es difícil distinguir citológicamente los tumores conjuntivos benignos de lesiones en las que se produce hiperplasia de células conjuntivas (proliferaciones mesenquimatosas). En ambos casos, el número de células de la muestra no es elevado y las células, marcadamente fusiformes, presentan, como máximo, ligeros cambios nucleares (fig. 40).

Es muy importante tener en cuenta que en los tejidos de granulación aparecen células conjuntivas (fibroblastos reactivos) que pueden ser difíciles de diferenciar de fibroblastos malignos. Por ello, es necesario interpretar con precaución las muestras que

contengan muchas células inflamatorias o las tomadas de áreas cicatriciales.

Cuando se realiza la punción de un lipoma, se obtienen gotas de grasa transparentes que no se secan al extenderse sobre el portaobjetos. En la mayoría de los casos, la grasa obtenida se disuelve con los colorantes, por lo que las muestras son acelulares cuando se observan al microscopio. En algunas ocasiones, es posible observar áreas de tejido adiposo, caracterizadas por la presencia de células grandes con una membrana fina que rodea a un gran volumen de citoplasma claro; su núcleo es pequeño, normalmente excéntrico. Estos adipocitos maduros se mantienen unidos por densas bandas de tejido fibroso (fig. 41). Los liposarcomas muestran abundante celularidad, con células de núcleos grandes, redondeados e hipercromáticos, generalmente deformados por vacuolas citoplasmáticas claras, más o menos voluminosas. Sin embargo, cuanto más indiferenciado es el liposarcoma, menos evidentes son las vacuolas lipídicas (fig. 42).

Figura 40. Células conjuntivas, fusiformes, procedentes de un proceso de hiperplasia (proliferación mesenquimatosas) o de un tumor benigno.



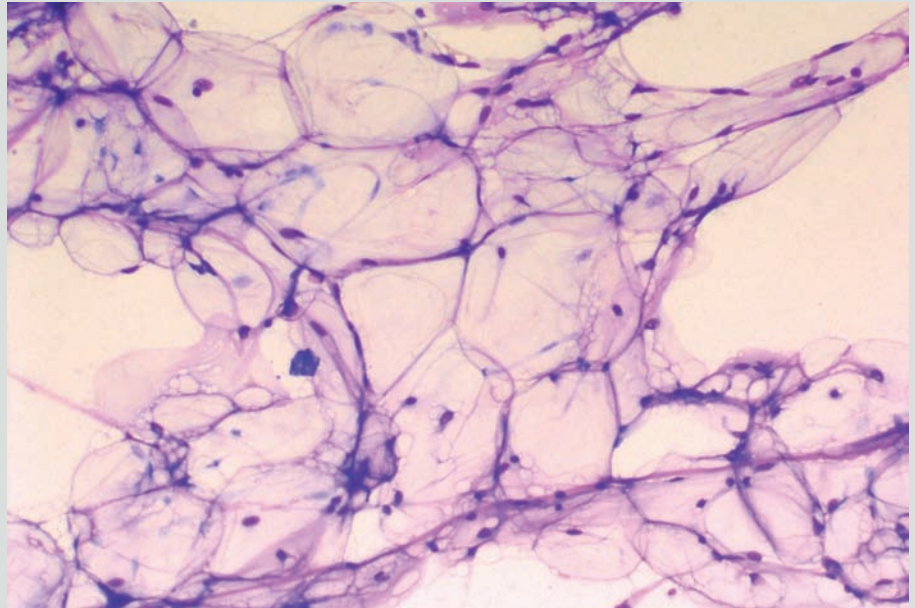
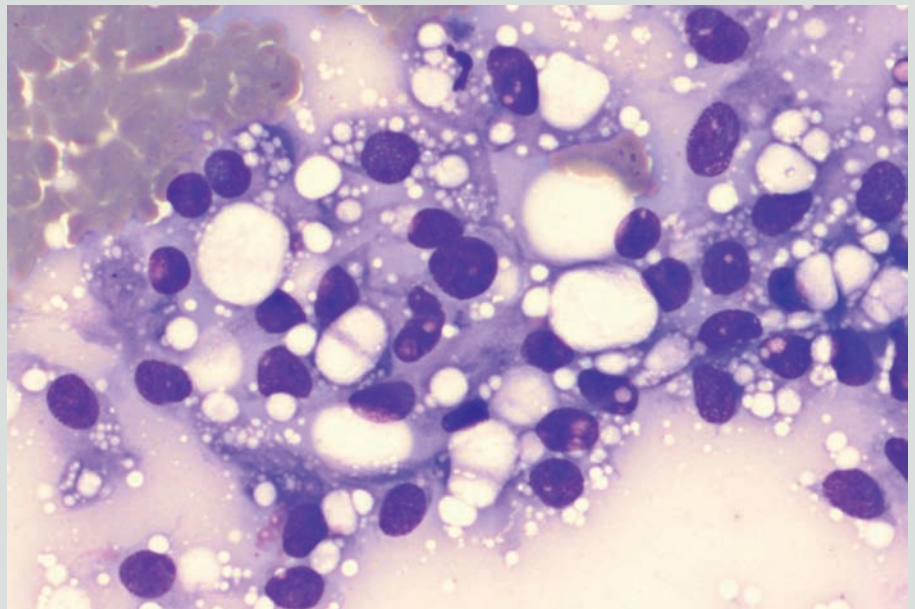
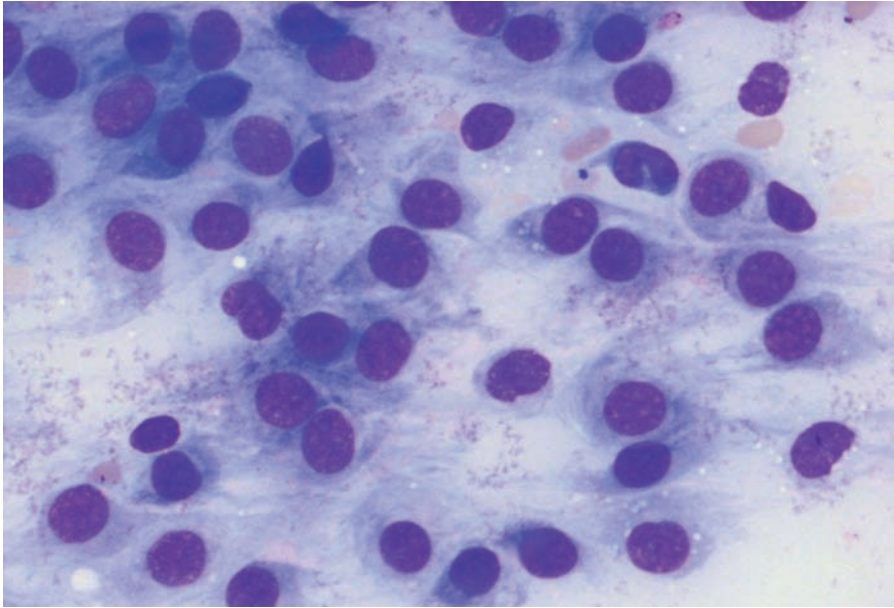


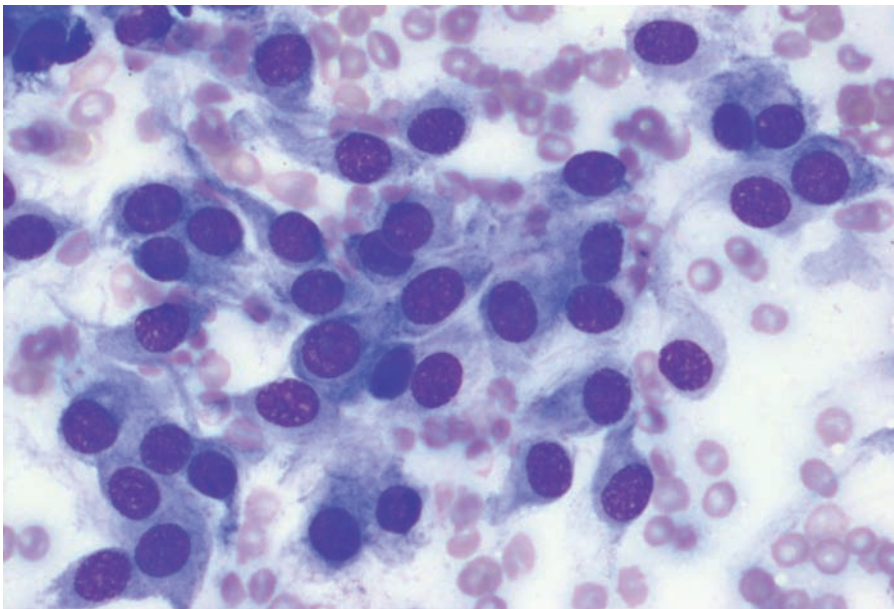
Figura 41. Lipoma.

Figura 42. Liposarcoma. Se observan células con vacuolas lipídicas y criterios citológicos de malignidad.





Las muestras procedentes de sarcomas de bajo grado (hemangiopericitomas, schwannomas o neurofibromas y algunos fibrosarcomas) muestran características similares, de forma que es imposible diferenciarlos citológicamente. Se caracterizan por exfoliar una alta cantidad de células, que pueden llegar a formar "seudogrupos"; suelen ser células de pequeño tamaño, predominantemente fusiformes y, en ocasiones, contienen pequeñas vacuolas citoplasmáticas. Normalmente, las células presentan criterios de malignidad, pero no suelen superar más de tres criterios nucleares o, en caso de hacerlo, son cambios ligeros o moderados y sólo evidentes en algunas células (figs. 43 y 44).



Figuras 43 y 44. Sarcomas de bajo grado, caracterizados por una abundante población de células conjuntivas, que pueden presentar pequeñas vacuolas citoplasmáticas. Los criterios nucleares de malignidad, aunque presentes, son poco evidentes.

Los sarcomas de alto grado muestran una población celular más o menos abundante en la que destacan numerosos caracteres de malignidad. Las células pueden mantener su apariencia fusiforme o perder las características típicas que identifican su origen conjuntivo, predominando formas ovaladas, redondeadas, o estrelladas, de bordes citoplasmáticos relativamente bien definidos. En general, los criterios nucleares de malignidad son muy marcados y afectan a la mayoría de la población. En un gran número de casos, el diagnóstico citológico debe limitarse a definir la presencia de un sarcoma anaplásico de origen desconocido, aunque, en ocasiones, algunas características permiten matizar este diagnóstico genérico (fig. 45).

En la citología de los tumores vasculares suele obtenerse una gran cantidad de sangre, siendo necesario diferenciar entre hematoma, hemangioma y hemangiosarcoma. Sólo en el caso de observar escasas células conjuntivas muy anaplásicas es posible sospechar de un hemangiosarcoma.

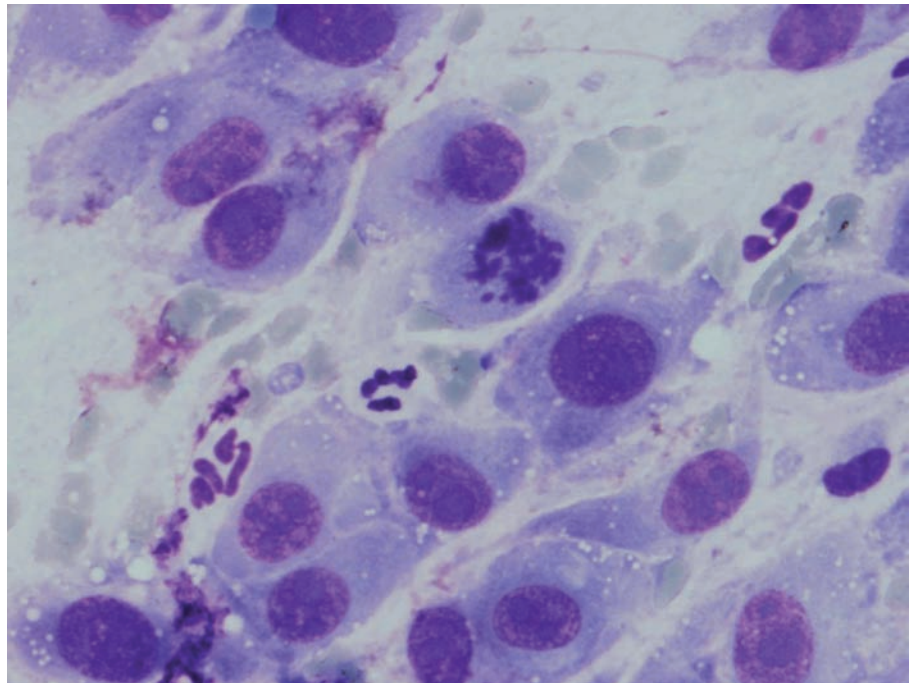


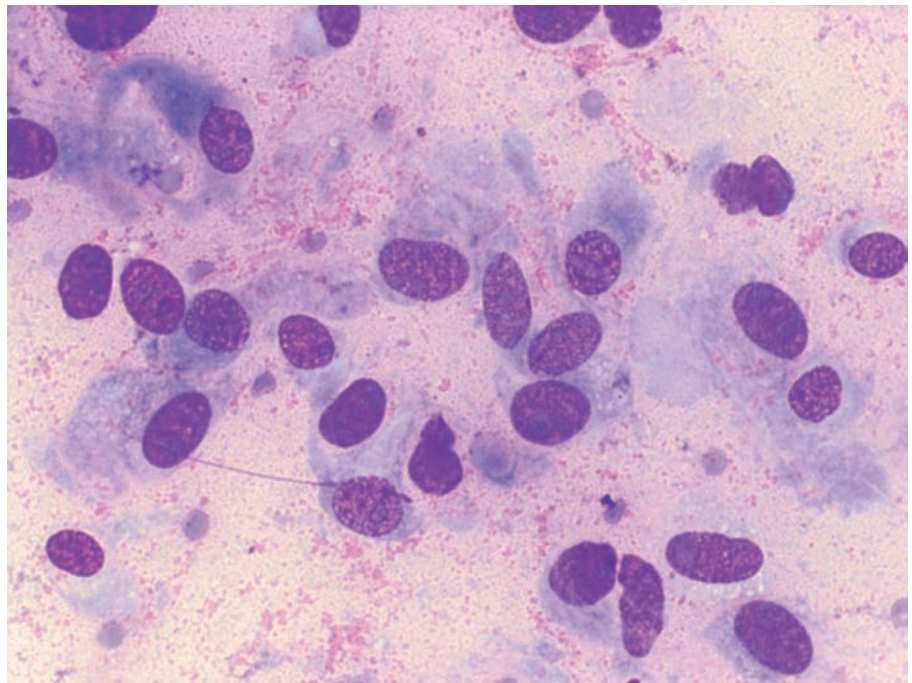
Figura 45. Sarcoma de alto grado con evidentes criterios citológicos de malignidad. El diagnóstico histopatológico fue de mixosarcoma.

Es frecuente que en las punciones de mixosarcomas y de muchos sarcomas felinos asociados a puntos de inyección se obtenga cierta cantidad de líquido viscoso (semejante a saliva o líquido articular); en las citologías se observa una celularidad sarcomatosa más o menos abundante rodeada de una matriz granular proteica que tiñe el fondo de la extensión (fig. 46).

El histiocitoma fibroso maligno o tumor de células gigantes combina células conjuntivas con células redondas y un número significativo de células gigantes multinucleadas, que pueden llegar a contener 20 o 30 núcleos (fig. 47).

Los osteosarcomas extraóseos que asientan en tejidos blandos presentan la misma imagen que cuando proceden del tejido óseo. Las células predominantes son los osteoblastos, células de tamaño medio o pequeño, de morfología variable (redondeada hasta completamente fusiforme), con un núcleo en posición excéntrica y citoplasma fuertemente basófilo que puede contener vacuolas o gránulos eosinofílicos (fig. 48). Se acompañan de células multinucleadas (osteoclastos) y el conjunto de la población se incluye en una matriz de color rosa brillante (fig. 49). Tanto en osteosarcomas óseos como extraóseos, los osteoblastos presentan numerosos caracteres de malignidad, de los que destaca la presencia de nucléolos múltiples y abundantes mitosis.

Figura 46. Sarcoma felino asociado a un punto de inyección. La población celular está rodeada de una matriz granular extracelular.



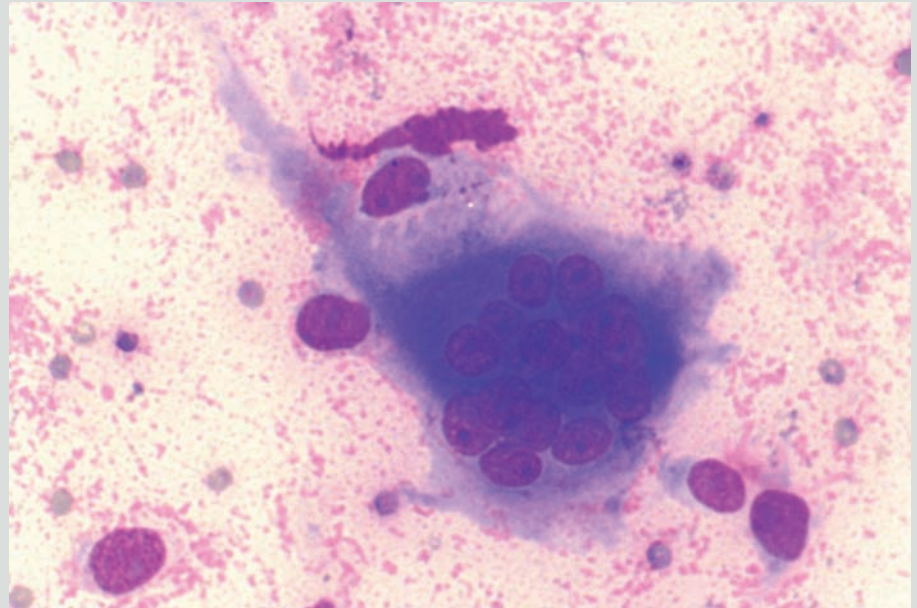


Figura 47. Sarcoma felino asociado a un punto de inyección. Se observa una célula multinucleada (muy abundante en histiocitomas fibrosos malignos).

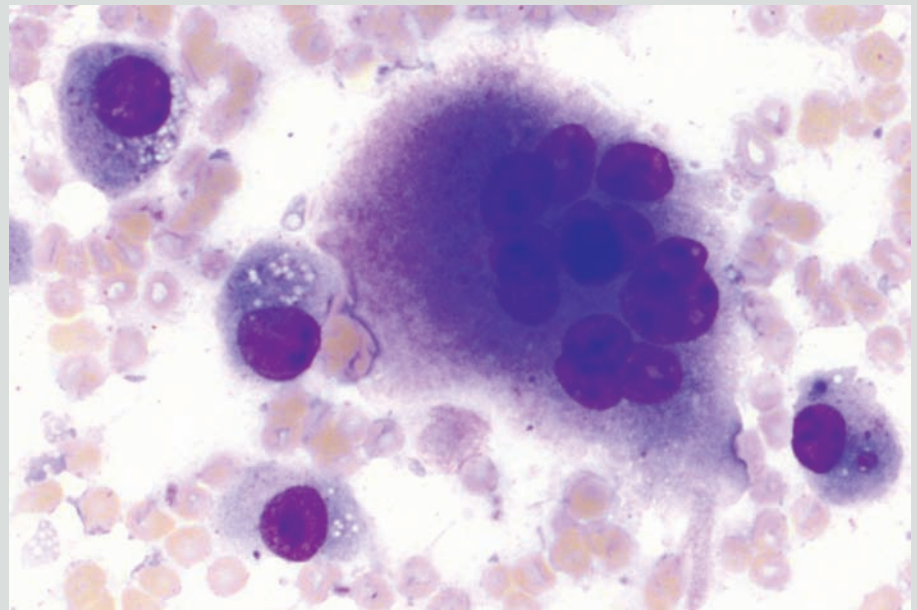


Figura 48. Sarcoma óseo. Se observan osteoblastos con granulaciones citoplasmáticas acidófilas y un osteoclasto.

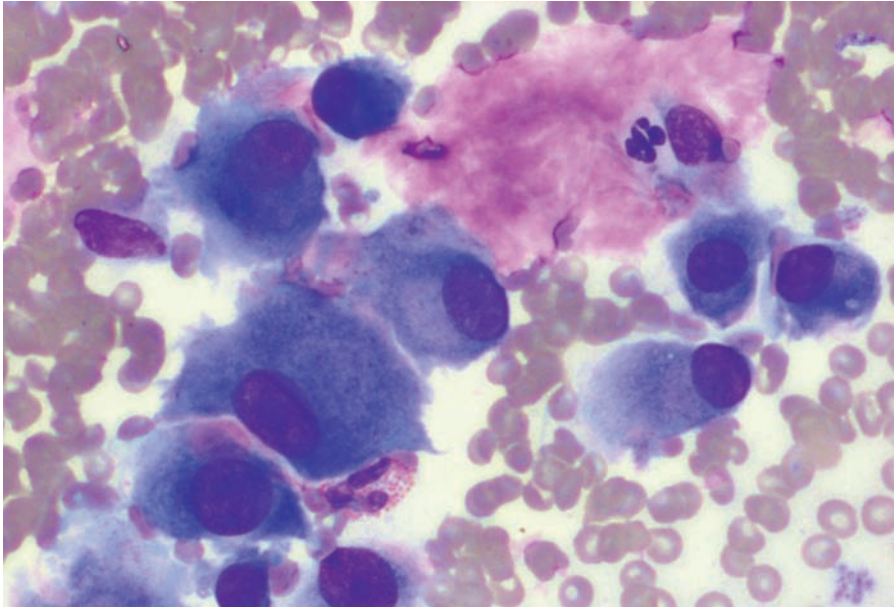


Figura 49. Sarcoma óseo. Se observan numerosos osteoblastos con criterios citológicos de malignidad y matriz osteoide.

Tumores melánicos

No es posible clasificar los melanomas dentro de ningún tipo celular, ya que pueden presentarse como epiteliales, conjuntivos o de células redondas, incluso dentro de un mismo tumor. La presencia de gránulos de melanina en forma de granulaciones finas homogéneas, marrón-negruzcas permite establecer el diagnóstico. Pueden ser tan abundantes que impidan la observación del núcleo. La ausencia o presencia de criterios nucleares de malignidad permite clasificarlos como benignos o malignos (fig. 50).

Los melanomas más indiferenciados presentan sólo pequeñas cantidades de melanina en algunas células (fig. 51). Los melanomas completamente amelánicos son poco frecuentes y muy difíciles de diagnosticar, ya que pierden su característica distintiva. Suelen ser tumores muy pleomórficos con múltiples criterios de malignidad. El melanoma amelánico debe formar parte de los diagnósticos diferenciales si se observa una población de células anaplásicas e indiferenciadas que presentan características de todas las estirpes celulares.

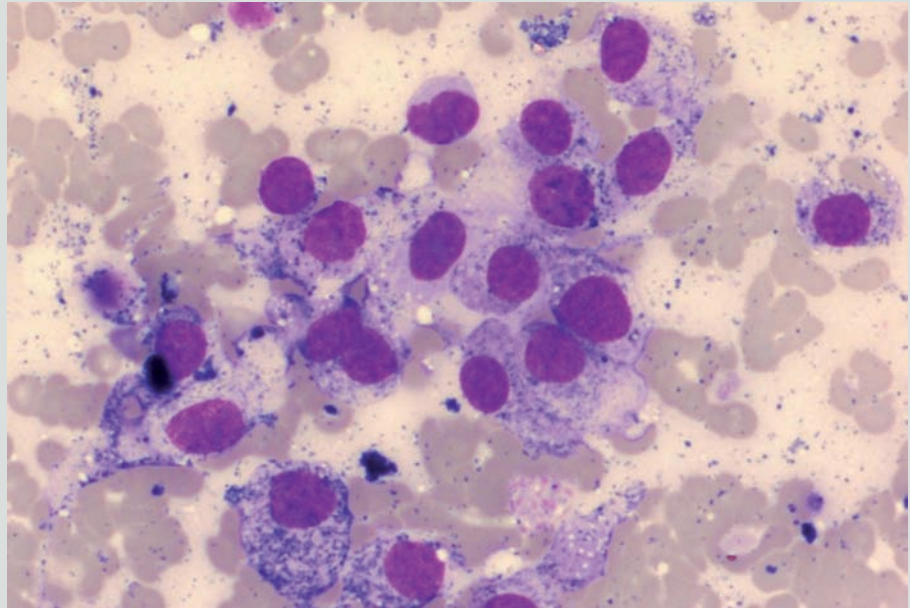
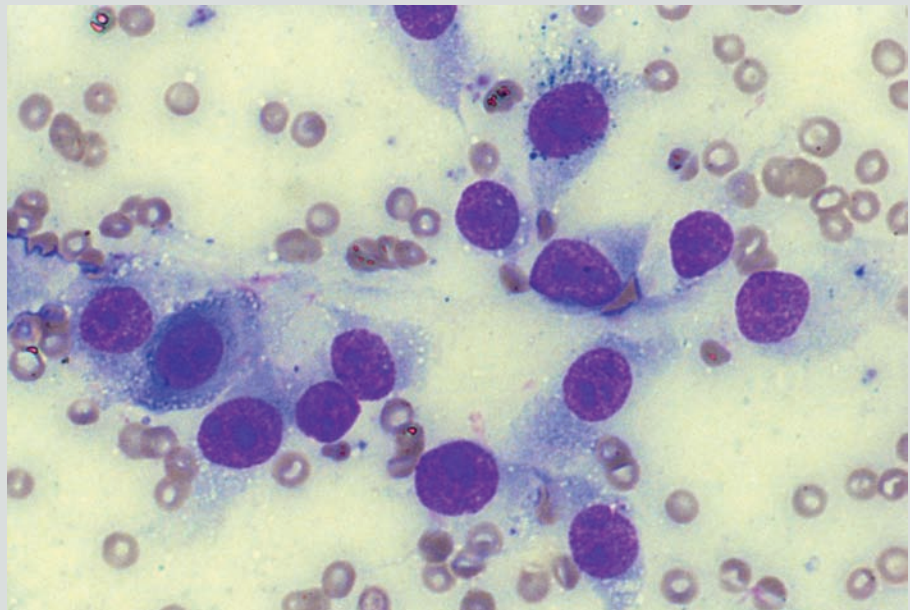


Figura 50. Melanoma melánico. Las células presentan abundante cantidad de pigmento melánico.

Figura 51. Melanoma escasamente melánico. Se observa una población de células de estirpe conjuntiva con criterios citológicos de malignidad; sólo una de ellas presenta pigmento melánico.



Bibliografía

- ALLEMAN, AR. Y BAIN, PJ.: Diagnosing neoplasia: the cytologic criteria for malignancy. *Vet. Med.* 2000, n° 95, pp. 204-223.
- BAKER, R. Y LUMSDEN, JH.: The skin. En: *Color atlas of cytology of the dog and cat*. Ed. Mosby, St. Louis, 2000, pp. 39-70.
- CLINKENBEARD, KD.: Diagnostic cytology: mast cell tumors. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1991, n° 13, pp. 1697-1704.
- COHEN, M., BOHLING, MW., WRIGHT, JC. et al.: Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases. *JAVMA*. 2003, n° 222, pp. 964-967.
- FOURNEL-FELURY, C., MAGNOL, JP. Y GUELFY, JF.: Skin and superficial soft tissue tumors. En: *Color atlas of cancer cytology of the dog and cat*. CNVSPA, Paris, 1994, pp. 159-219.
- KLAASEN, JK.: Cytology of subcutaneous glandular tissues. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2002, vol 32, pp. 1237-1266.
- MENDELSON, C., ROSENKRANTZ, W. Y GRIFFIN, CE.: Practical cytology for inflammatory skin diseases. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 2006, n° 21, pp. 117-127.
- MEINKOTH, JH., COWELL, RL.: Recognition of basic cell types and criteria of malignancy. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2002, n° 32, pp. 1209-1235.
- REINHARDT, S., STOCKHAUS, C., TESKE, E. et al.: Assessment of cytological criteria for diagnosing osteosarcoma in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 2005, n° 46, pp. 65-70.
- REPPAS, G. Y CANFIELD, P.: Citología diagnóstica de lesiones cutáneas en el perro y en el gato. *Vet. Intern.* 1995, n° 1, pp. 8-30.
- SHELLY, SM.: Cutaneous lesions. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, vol 33, pp. 1-46.
- SHULL, RM., MADDUX, JM.: Subcutaneous glandular tissue. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999, pp. 88-96.
- THRALL, MA.: Cytologic examination of cutaneous and subcutaneous lumps and lesions. *Vet. Med.* 2000, n° 95, pp. 224-241.
- TYLER, RD., COWELL, RL., MEINKOTH, JH.: Cutaneous and subcutaneous lesions. En: Cowell, RL, Tyler, RD y Meinkoth, JH (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999, pp. 20-51.

citología
de ganglios
linfáticos

Indicaciones del estudio citológico de los ganglios linfáticos

El estudio citológico de los ganglios linfáticos es una herramienta diagnóstica fundamental en la clínica de pequeños animales. Numerosas enfermedades cursan con afectación ganglionar debido al importante papel que juegan los ganglios linfáticos en la inmunidad celular y humoral. Asimismo, sus funciones en el drenaje linfático los convierten en órganos diana de reacción en procesos inflamatorios localizados o de metástasis en procesos neoplásicos.

El estudio citológico de muestras ganglionares constituye la técnica diagnóstica de elección en cualquier aumento del tamaño de los ganglios linfáticos, tanto localizado como generalizado. Permite, en la mayor parte de los casos, diferenciar enfermedades linfoides benignas (procesos reactivos o inflamatorios) de malignas (tumores primarios o secundarios) de forma rápida y sencilla. En procesos neoplásicos localizados es conveniente realizarla en todos los ganglios de la zona de drenaje, incluso aunque no estén aumentados de tamaño, con el fin de poder establecer el estadio clínico de la enfermedad.

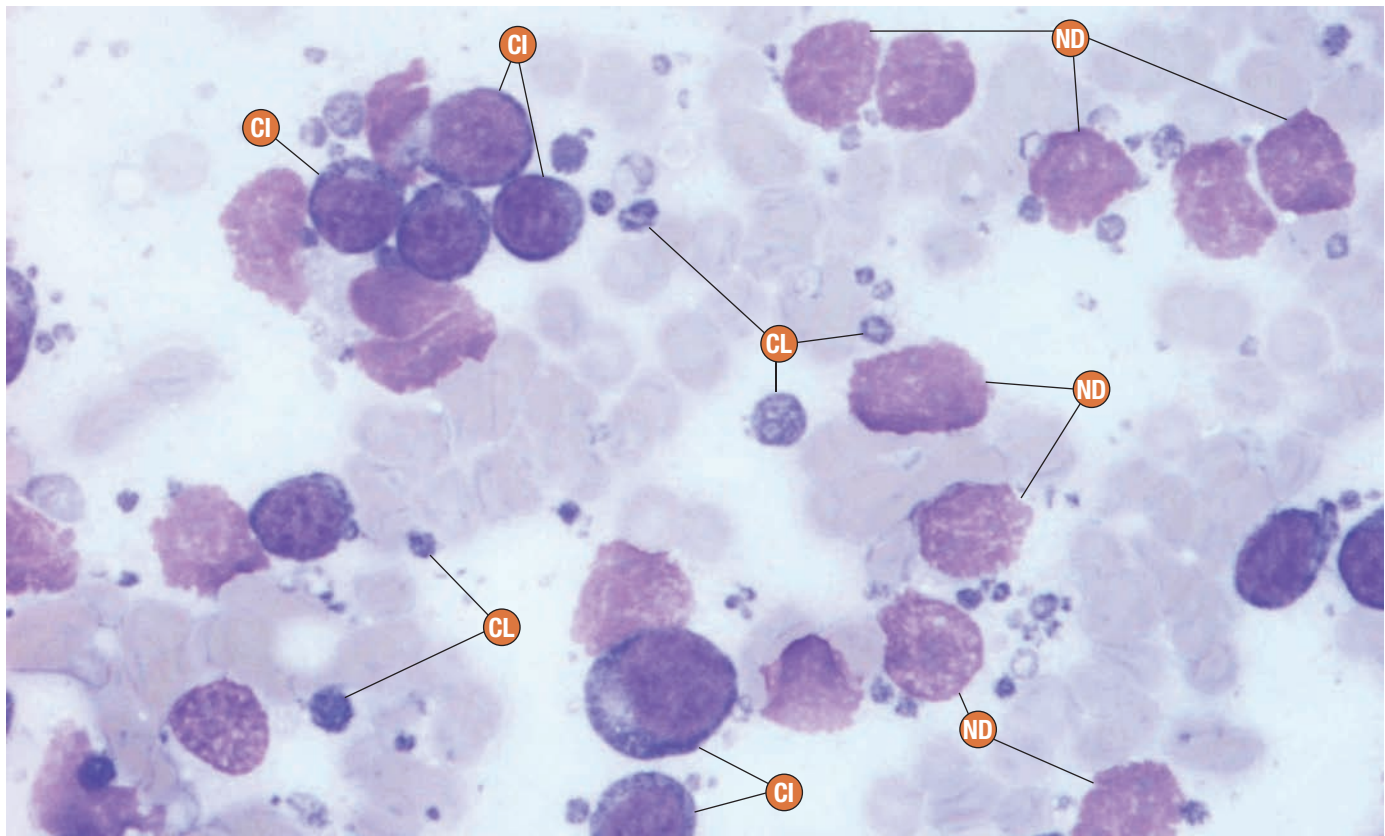
En los casos en que el estudio citológico de los ganglios linfáticos no permita establecer un diagnóstico, al menos presuntivo, debe procederse a realizar una biopsia mediante la exéresis de un ganglio completo que permita su estudio histopatológico. Además, en procesos neoplásicos, si el ganglio regional se extirpa junto al tumor primario, siempre debe remitirse al laboratorio de histopatología para confirmar o descartar la presencia de células metastásicas.

Toma de muestras, extensión y tinción

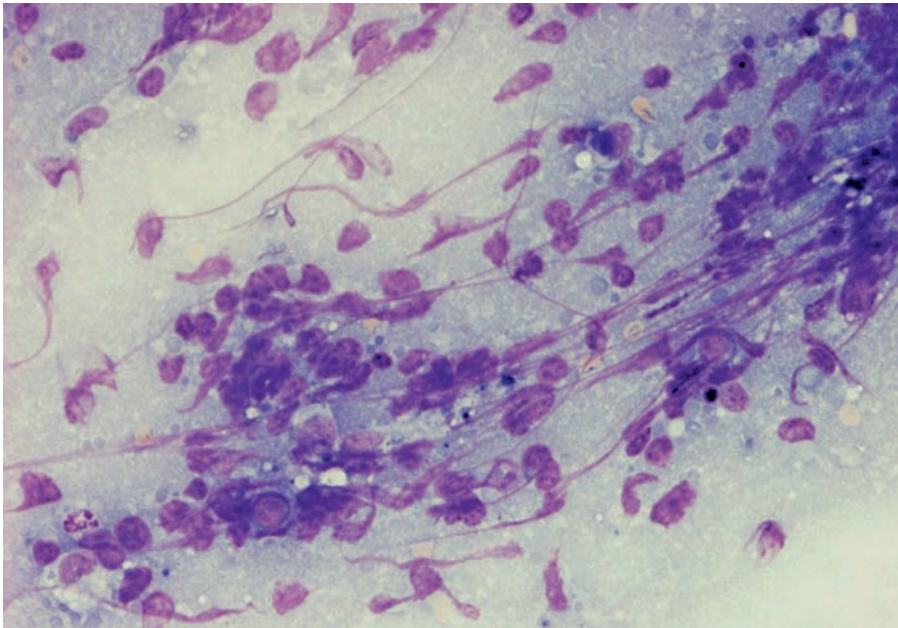
Las muestras citológicas deben obtenerse antes de instaurar cualquier tratamiento, sobre todo si se sospecha de linfosarcoma. Esto es especialmente importante si se emplean corticoides, ya que su efecto linfo lítico reduce el valor diagnóstico de la muestra.

El tejido linfoide se caracteriza por su fragilidad. Es muy fácil, por lo tanto, que se produzca una rotura celular masiva, dificultando el diagnóstico citológico debido al elevado porcentaje de restos celulares (fig. 1). Para minimizar la rotura celular se recomienda realizar una toma de muestras mediante la técnica de **PAF, sin aspirar**. La riqueza de la población linfoide permite que, en la mayoría de los casos, se obtenga una población suficiente para poder emitir un diagnóstico

Figura 1. Extensión ganglionar con presencia de numerosas células rotas; se observan abundantes núcleos desnudos y cuerpos linfoglandulares y escasas células intactas.



ND Núcleo desnudo; **CL** Cuerpo linfoglandular; **CI** Células intactas.



citológico. Además, esta técnica permite disminuir la hemodilución o la obtención de material necrótico, lo que es frecuente en linfadenopatías (generalmente neoplásicas) de gran tamaño. También deben extremarse las precauciones al proceder a la extensión de la muestra. Debe realizarse con mucha suavidad, evitando ejercer una presión excesiva que intensifique la rotura celular (fig. 2).

Figura 2. Extensión ganglionar con predominio de células rotas; es imposible realizar un diagnóstico citológico.

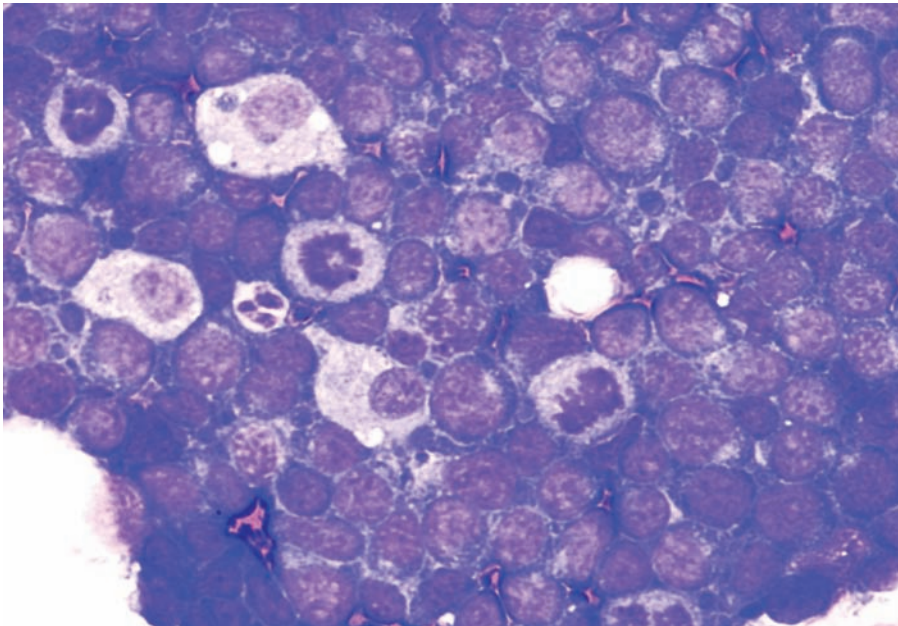


Figura 3. Extensión ganglionar demasiado gruesa. Es difícil definir los detalles de las células de forma individual y, por lo tanto, determinar a qué estadio de maduración pertenecen.

La elección del ganglio linfático que vaya a ser objeto de la punción depende de los hallazgos clínicos. En casos de linfadenopatía generalizada debe aplicarse sobre, al menos, dos ganglios diferentes; se deben evitar los que se encuentran reactivos incluso en condiciones normales, como los que drenan la cavidad oral o el tracto gastrointestinal (submandibulares, mesentéricos). Los ganglios submandibulares también deben evitarse por su proximidad a las glándulas salivares, que provoca que, frecuentemente, las muestras procedan de estas últimas. En caso de afectación local, deben tomarse varias muestras, en diferentes direcciones y profundidades. En general, las punciones de ganglios superficiales no son dolorosas (salvo en casos de inflamaciones agudas) y pueden llevarse a cabo sin sedar al paciente. Para evaluar ganglios intracavitarios (torácicos o abdominales) es conveniente realizar la toma de muestras ayudados por la ecografía para incrementar la seguridad diagnóstica. Puede ser necesario sedar al paciente para evitar movimientos bruscos durante la punción de ganglios profundos o poco accesibles.

Los ganglios están rodeados de una capa de grasa, que puede llegar a ser muy gruesa. Si la punción no se realiza a la suficiente profundidad, es posible que sólo se obtenga tejido adiposo o que el tejido linfoide se mezcle con gotas de grasa. La cantidad de tejido linfoide puede ser suficiente para realizar un diagnóstico, o ser escaso y estar mal distribuido. En estos últimos casos es preferible repetir la toma de muestras para intentar conseguir extensiones de mejor calidad.

En muchas ocasiones, la gran riqueza celular del tejido linfoide da lugar a extensiones demasiado gruesas (fig. 3). Para evitar este problema deben realizarse múltiples preparaciones con el material obtenido de una sola punción. Las muestras gruesas se tiñen de forma irregular; sobre todo en la zona central; por ello, es necesario basar el estudio citológico en las áreas periféricas donde las células se encuentran en monocapa o incrementar los tiempos de tinción para permitir que todas las células capten el colorante de forma adecuada.

Las técnicas de tinción Romanowsky (incluyendo las técnicas rápidas) son adecuadas, en la mayor parte de los casos, para resaltar los detalles celulares que permiten el diagnóstico.

En casos de linfosarcoma, existen numerosos estudios que confirman la posibilidad de realizar tinciones inmunohistoquímicas en muestras citológicas para definir el fenotipo celular. Por ello, puede resultar útil reservar alguna extensión para realizar estas tinciones específicas que deben llevarse a cabo en laboratorios especializados.

Interpretación citológica

La validez del diagnóstico citológico de los ganglios linfáticos depende de que las muestras sean adecuadas, valorando tanto la cantidad como la calidad de las células. Una cantidad insuficiente de material o la presencia de numerosas células rotas o degeneradas conlleva una falta de representatividad de la muestra. En ocasiones, estos problemas son consecuencia de las alteraciones necróticas del tejido, pero, en muchas otras, depende de la toma de muestras. Por lo tanto, siempre es recomendable evaluar varias extensiones y, en caso de muestras de baja calidad, repetir la aspiración.

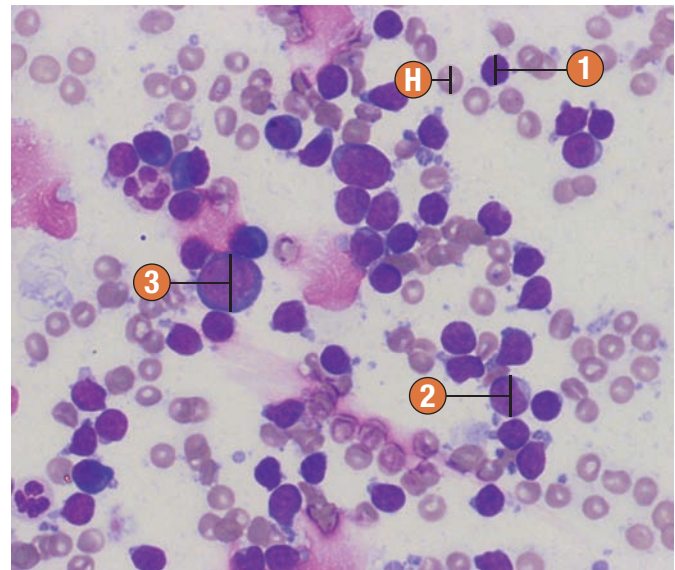
El aumento de tamaño ganglionar puede deberse a tres causas: inflamación, hiperplasia o neoplasia. La aplicación de la citología ganglionar en la clínica reside en diagnosticar uno de estos tres procesos. Su diferenciación se basa en definir la presencia de los diferentes tipos celulares y, sobre todo, en establecer la proporción de cada uno de ellos (tabla 1). Salvo en casos muy claros (por ejemplo, linfosarcomas de alto grado en fases avanzadas), la interpretación citológica del ganglio linfático requiere el conteo diferencial de los distintos tipos celulares. La variabilidad del tejido linfoide requiere que dicho recuento se realice sobre un número suficiente de células (300-500 células) en diferentes campos de la extensión y que se comparen los resultados en todas las preparaciones. En ocasiones, las diferencias entre campos o preparaciones pueden ser tan grandes que sea complicado decantarse por un diagnóstico. En estos casos es necesario realizar un estudio histopatológico que confirme el origen del proceso.

La clasificación de las células linfoides en sus diferentes estadios de maduración es un concepto básico para la interpretación citológica. Las diferencias entre estadios se realizan en función del tamaño de su núcleo y, en menor medida, de la cantidad de citoplasma. Como prácticamente todas las extensiones de ganglio linfático presentan algún grado de contaminación sanguínea, para definir el tamaño nuclear se

emplea como comparación el tamaño del hematíe que es constante en una misma especie (un hematíe normal de perro mide 7-8 μm , mientras que los felinos miden 5-6 μm) (fig. 4). La diferenciación celular también puede establecerse comparando el tamaño de la célula linfoide con el de un neutrófilo, pero hay que tener en cuenta que el tamaño de los neutrófilos no es tan constante como el del hematíe, por lo que la comparativa está sujeta a una mayor variabilidad.

Un estudio más profundo de las muestras citológicas, llevado a cabo por citólogos muy expertos, puede proporcionar información adicional referente a los estadios específicos de maduración linfoide y algunos tipos celulares más difíciles de clasificar (como las células dendríticas).

Figura 4. Comparación entre el tamaño de un hematíe y el tamaño nuclear de un linfocito pequeño, de un linfocito medio y de un linfocito grande o linfoblasto.



1 Linfocito pequeño; 2 Linfocito medio; 3 Linfoblasto; H Hematíe.

Tabla 1: Proporción de los tipos celulares presentes en las principales patologías ganglionares

	Ganglio normal	Linfadenitis	Ganglio reactivo/ hiperplásico	Metástasis	Linfosarcoma
Linfocitos maduros	75-95%	75-90%	> 50%	Predominio (si no existe una invasión masiva)	< 50%
Linfoblastos	< 5%	5-10%	10-25%	5-10%	> 50%
Células plasmáticas	< 5%	< 5%	> 5%**	Hiperplasia	Escasas o ausentes
Macrófagos	0,04%	Hasta un 2% (procesos granulomatosos)	Hasta un 2%	Aumento	Escasas o ausentes
Neutrófilos	0,1%	> 5% (procesos purulentos)	Aumento en casos de necrosis	Aumento en casos de necrosis	Aumento en casos de necrosis
Eosinófilos	0,3%	> 3% (procesos de hipersensibilidad)	Escasos	Aumento en metástasis de mastocitoma	Escasas o ausentes
Mastocitos	0,02% (> en gatos)	< 3% (procesos de hipersensibilidad)	Escasos	> 3% en metástasis mastocitoma	Escasas o ausentes
Células neoplásicas no linfoides	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
Restos celulares	Moderada cantidad	Abundantes	Abundantes	Abundantes	Muy abundantes
Mitosis	Escasas	Escasas	Escasas	Atípicas en la población neoplásica	Frecuentes, atípicas

** Su porcentaje puede ser muy elevado en reacciones intensas.

Tipos celulares y otros elementos que pueden estar presentes en una citología ganglionar

- 1— Linfocitos pequeños** Tienen una morfología semejante a los linfocitos observados en sangre circulante. Son células pequeñas (menores que los neutrófilos), con un núcleo redondo de tamaño semejante a un hematíe, con cromatina densa sin nucléolos, y citoplasma escaso azul pálido.
- 2— Prolinfocitos o linfocitos de tamaño medio** Son de tamaño similar a un neutrófilo; su tamaño nuclear es semejante a dos hematíes; tienen una cromatina menos densa, en la que puede observarse un nucléolo, y mayor cantidad de citoplasma que puede rodear completamente el núcleo.
- 3— Linfoblastos o linfocitos grandes** El tamaño de los linfoblastos es variable, dependiendo de su grado de maduración, pero, en general, siempre son mayores que los neutrófilos; el diámetro de su núcleo oscila entre dos y cuatro veces el de un hematíe. El núcleo suele ser redondo, aunque puede ser ligeramente irregular; la cromatina se dispone de forma más fina y difusa, y pueden observarse uno o varios nucléolos. La cantidad de citoplasma, fuertemente basófilo y con apariencia granular; es moderada. En algunas células puede distinguirse un área más clara que se corresponde con el aparato de Golgi. Según la morfología celular (forma del núcleo, número y distribución de los nucléolos, intensidad de la basofilia citoplasmática y presencia de vacuolas) se puede definir el tipo celular específico: centrocito, centroblasto o inmunoblasto. Sin embargo, todos ellos pueden incluirse en un genérico "linfoblasto" adecuado para un diagnóstico citológico básico.
- 4— Células plasmáticas** Las células plasmáticas derivan de los linfocitos B estimulados antigénicamente. Son células de tamaño medio, ovaladas, con núcleo redondo excéntrico de cromatina condensada, y citoplasma en cantidad moderada fuertemente basófilo en el que destaca un área perinuclear más clara (aparato de Golgi). Las células plasmáticas muy activadas pueden presentar vacuolas citoplasmáticas, denominadas cuerpos de Russell, que se corresponden con acúmulos de inmunoglobulinas; en casos de hiperactivación, las células plasmáticas pueden presentar todo su citoplasma ocupado por los cuerpos de Russell, en cuyo caso se conocen como células de Mott. Las células plasmáticas inmaduras son de mayor tamaño, con un citoplasma más amplio, de un color grisáceo, que puede contener vacuolas, pero en el que el aparato de Golgi es menos evidente.
- 5— Células reticulares y endoteliales** Del estroma ganglionar: generalmente no se observan intactas, sino en forma de núcleos desnudos.

- 6** — **Macrófagos** Estas células fagocíticas pueden contener restos celulares o microorganismos en sus vacuolas citoplasmáticas. En procesos granulomatosos pueden aparecer como células gigantes multinucleadas o adquirir un aspecto semejante a células epiteliales, caracterizadas por citoplasma basófilo con escasas vacuolas y pocos restos fagocitados (células epiteloides), que deben diferenciarse de células epiteliales reales de origen metastásico.
- 7** — **Neutrófilos** Los neutrófilos presentes en los ganglios linfáticos son semejantes a los observados en otros tejidos.
- 8** — **Eosinófilos** Los eosinófilos presentes en los ganglios linfáticos son semejantes a los observados en otros tejidos.
- 9** — **Mastocitos** Caracterizados por la presencia de gránulos citoplasmáticos metacromáticos.
- 10** — **Células metastásicas** Suelen ser semejantes a las del tumor primario.

Otros elementos

- ND** — **Núcleos desnudos** Son núcleos liberados de las células rotas. Son estructuras hinchadas, de color rosado, en contraste con el color azulado de las células intactas. La cromatina rota de estos restos puede adquirir la apariencia de nucléolos. Es importante no confundir los núcleos desnudos con linfoblastos de gran tamaño.
- CL** — **Cuerpos linfoglandulares** Estas estructuras, características del tejido linfoide, son restos de citoplasma de las células rotas. Son redondos, de tamaño variable, homogéneos y basófilos. No deben confundirse con plaquetas o microorganismos.
- Pigmentos** Es frecuente observar restos de hemosiderina o melanina, fundamentalmente en el interior de macrófagos, aunque también puede encontrarse de forma extracelular como consecuencia de la rotura celular. La hemosiderina, producto de degradación de la hemoglobina, se tiñe de color azul verdoso o marrón. La melanina es más oscura (color negro) y puede observarse en el interior de macrófagos (melanófagos) o en melanocitos metastásicos.

Citología de un ganglio normal

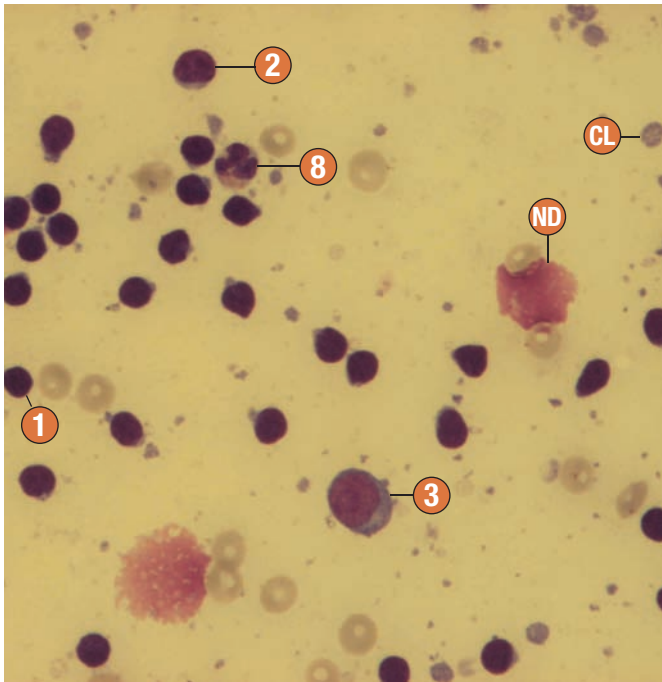
Los ganglios linfáticos normales se caracterizan por la variabilidad celular: Por lo tanto, en las extensiones citológicas de un ganglio normal se advierte la presencia de diferentes tipos celulares (fig. 5).

La célula predominante en un ganglio normal es el linfocito pequeño, que debe constituir un 75-95% de la población total. El 5-25% restante está formado por una mezcla de otros tipos celulares, con mayor número de linfocitos de tamaño medio. El número de linfoblas-

tos y de células plasmáticas es bajo, normalmente inferior al 5% (fig. 6). Ocasionalmente, se observa un pequeño número de células inflamatorias (neutrófilos: 0,1%; macrófagos: 0,04%; eosinófilos: 0,3% o mastocitos: 0,02%). En los gatos es frecuente encontrar un número superior de mastocitos, incluso en ausencia de eosinófilos.

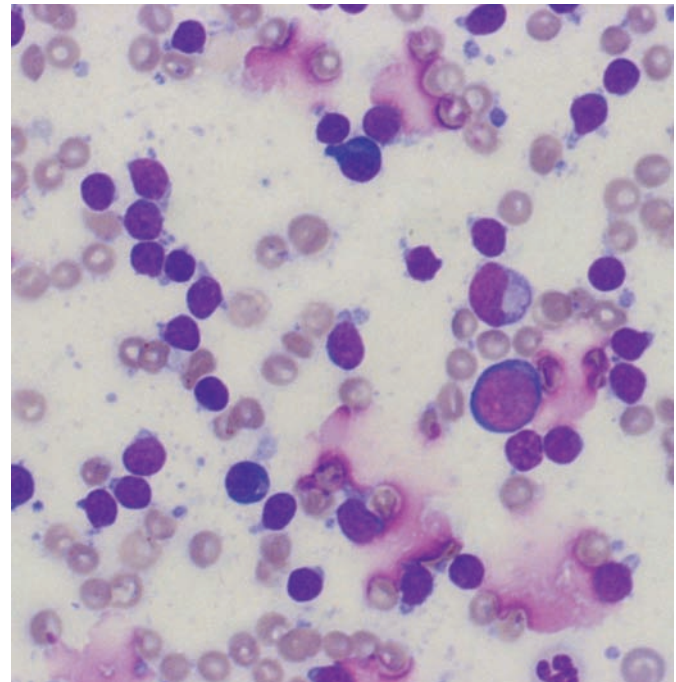
No es raro observar mitosis en ganglios normales, pero en número escaso y sin atipias significativas.

Figura 5. Citología de un ganglio normal.



1 Linfocito pequeño; 2 Linfocito de tamaño medio; 3 Linfoblasto; 8 Eosinófilo; ND Núcleo desnudo; CL Cuerpo linfoglandular.

Figura 6. Citología de un ganglio normal en la que se observa un predominio de linfocitos pequeños; el número de linfocitos de tamaño medio y linfoblastos es escaso.

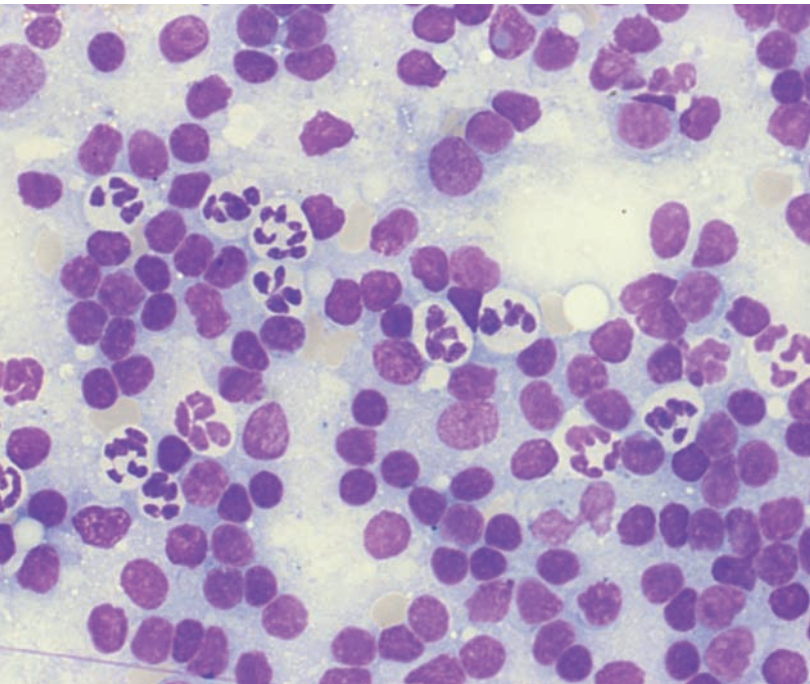


Diagnóstico citológico de linfadenitis

En general, la linfadenitis se caracteriza por el incremento en el número de células inflamatorias, que, en casos extremos, pueden llegar a predominar sobre las células linfoides. Aunque pueden aparecer inflamaciones puras, es frecuente que se observe una mezcla de las diferentes células inflamatorias (neutrófilos, macrófagos, eosinófilos y mastocitos). Los linfocitos pequeños se mantienen como el tipo celular linfoide predominante, aunque aumenta ligeramente el número de linfoblastos y células plasmáticas.

Los ganglios afectados por linfadenitis purulenta (inflamaciones agudas, de origen séptico o aséptico) presentan un aumento del número de neutrófilos que supera el 5% de la población total (fig. 7). En procesos sépticos, presentan caracteres degenerativos; si existen bacterias, son más fáciles de observar en las áreas periféricas de la extensión.

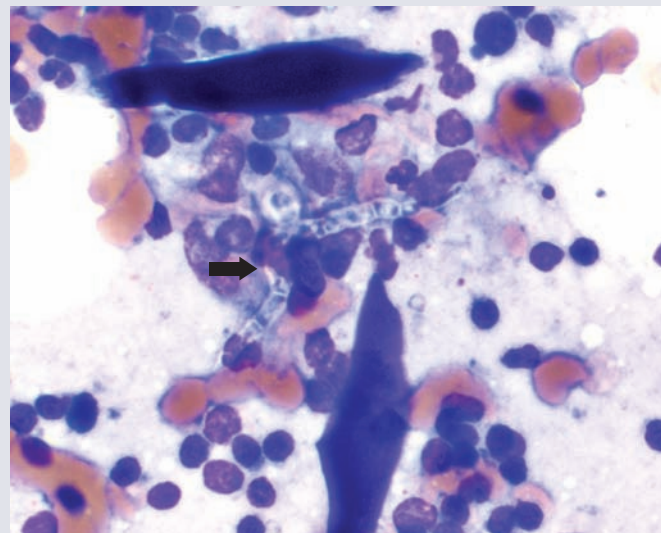
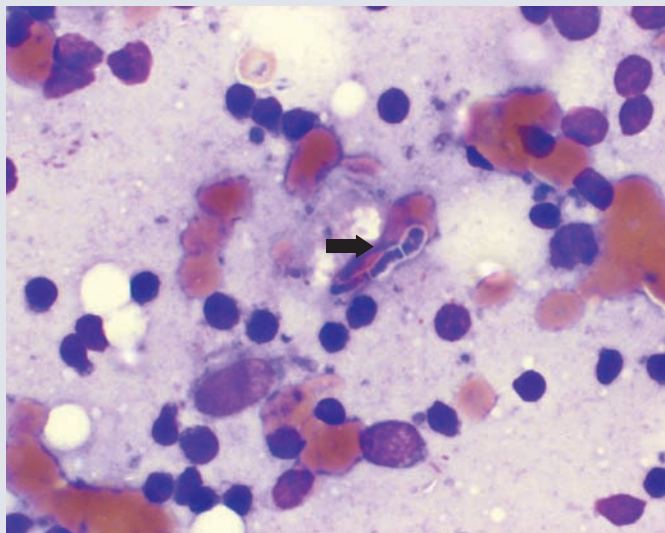
Figura 7. Linfadenitis purulenta; se observa un incremento del número de neutrófilos no degenerados (inflamación aséptica).



En casos de linfadenitis crónica se observa un aumento del número de macrófagos. En ocasiones, puede observarse fagocitosis del agente etiológico responsable del proceso (amastigotes de leishmanias, hifas y otras estructuras fúngicas). Pueden aparecer células gigantes multinucleadas o células epitelioides. Las infecciones por micobacterias suelen producir una respuesta granulomatosa pura, mientras que las enfermedades fúngicas (aspergilosis (figs. 8a y 8b), histoplasmosis, blastomicosis, coccidiomicosis, criptococosis (figs. 9a y 9b)) o parasitarias suelen cursar con reacciones mixtas piogranulomatosas. La incidencia de procesos fúngicos en España es escasa; por el contrario, la de enfermedades parasitarias, como la leishmaniosis, es muy elevada, por lo que esta enfermedad constituye el principal diagnóstico diferencial de la linfadenitis crónica (figs. 10a y 10b).

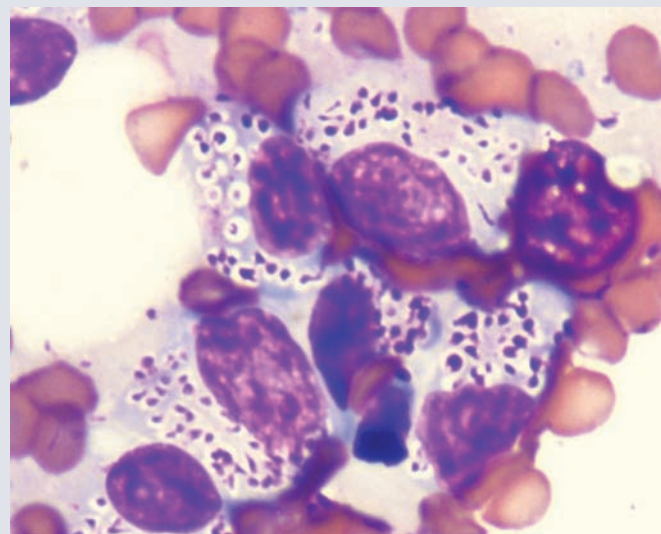
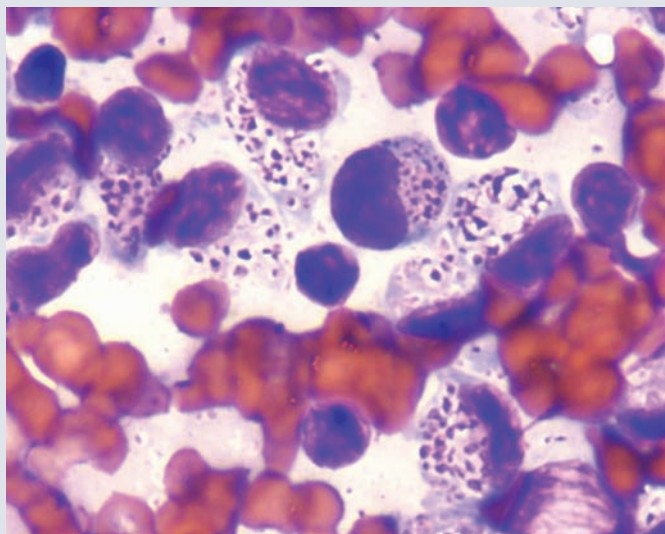
Los ganglios que responden a procesos de hipersensibilidad presentan un aumento significativo de eosinófilos (mayor del 3%) y mastocitos (menor del 3%) (fig. 11). La linfadenitis eosinofílica también forma parte del complejo del granuloma eosinofílico felino y de procesos parasitarios, incluyendo microfilarias.

Aspergilosis



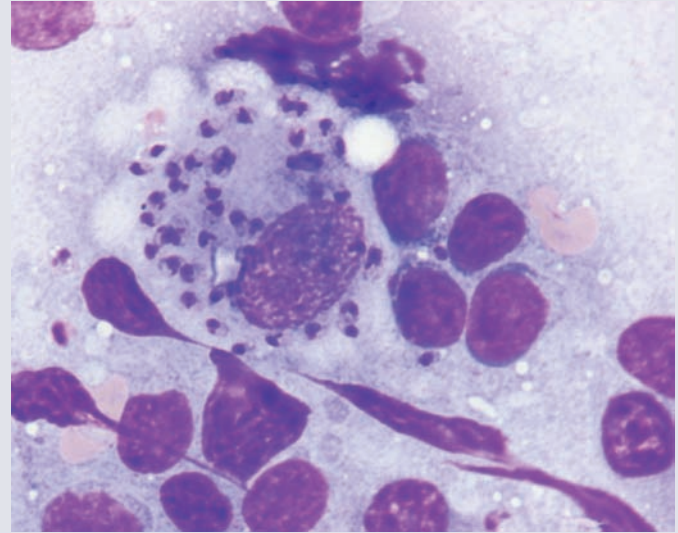
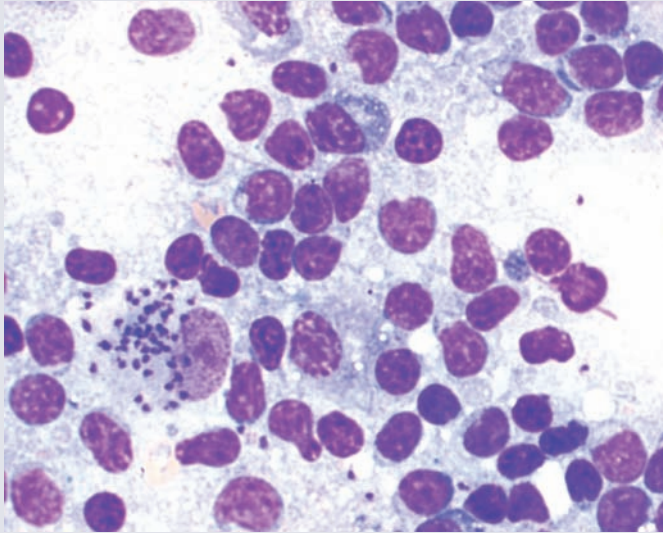
Figuras 8a y 8b. Aspergilosis; señaladas con flechas se observan las hifas de *Aspergillus* spp.

Criptococosis



Figuras 9a y 9b. Linfadenitis granulomatosa; se observan numerosos macrófagos cargados de *Cryptococcus* spp.

Leishmaniosis



Figuras 10a y 10b. Se observan macrófagos fagocitando numerosos amastigotes de *Leishmania infantum*.

Linfadenitis eosinofílica



Figura 11.

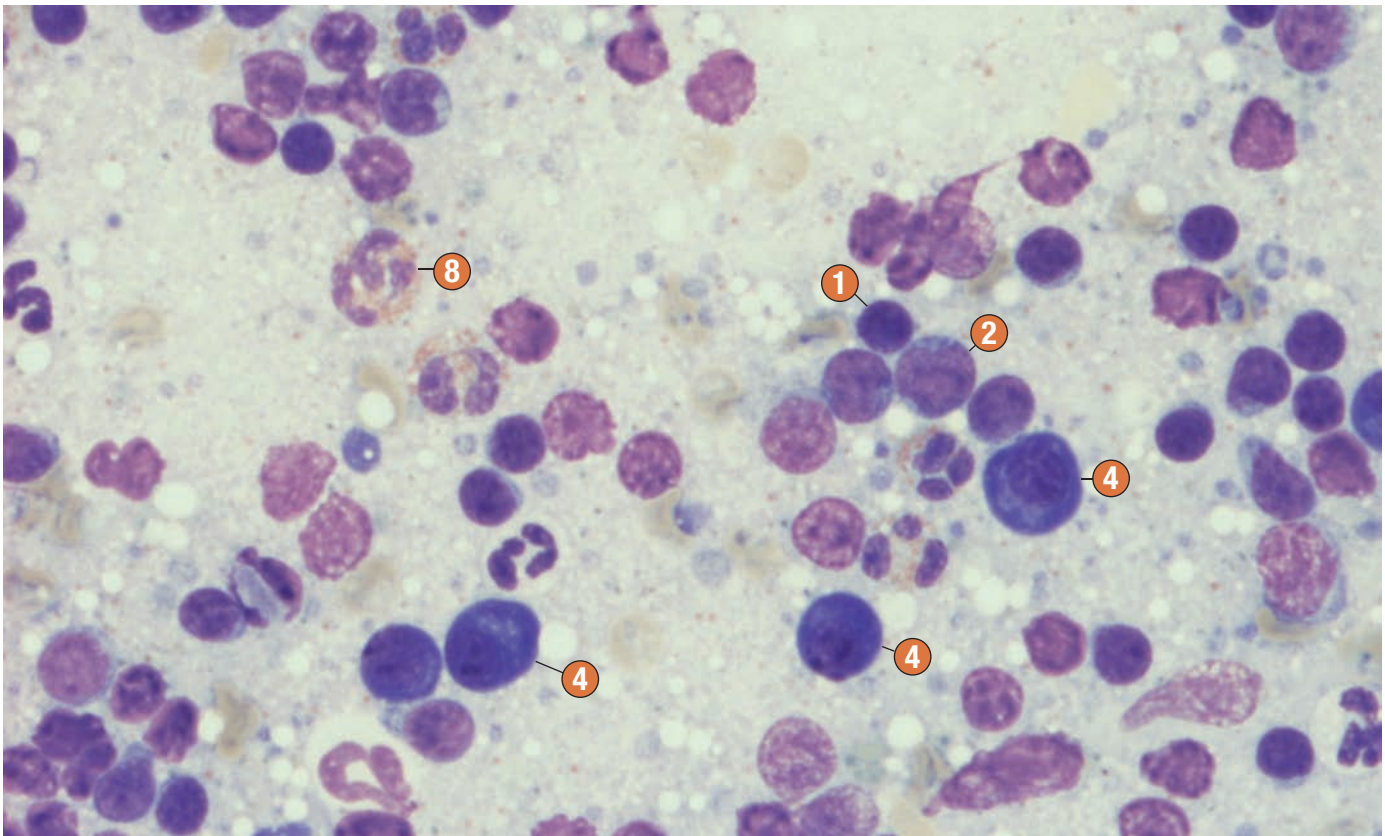
1 Linfocito pequeño; 2 Linfocito de tamaño medio; 8 Eosinófilo.

Diagnóstico citológico de hiperplasia reactiva (hiperplasia linfoide benigna)

Los ganglios, sometidos a altas concentraciones antigénicas que estimulan el sistema inmune, desarrollan respuestas de hiperplasia o activación. Las reacciones ganglionares pueden ser localizadas (ganglios que drenan zonas inflamadas) o generalizadas, como en casos de infecciones felinas víricas o ehrlichiosis y leishmaniosis canina. En ocasiones, estos antígenos también atraen células inflamatorias, por lo que es frecuente que se observe un patrón mixto de linfadenitis y ganglio reactivo (fig. 12).

Figura 12. Ganglio reactivo con componente eosinofílico.

1 Linfocito pequeño; 2 Linfocito de tamaño medio; 4 Célula plasmática; 8 Eosinófilo.



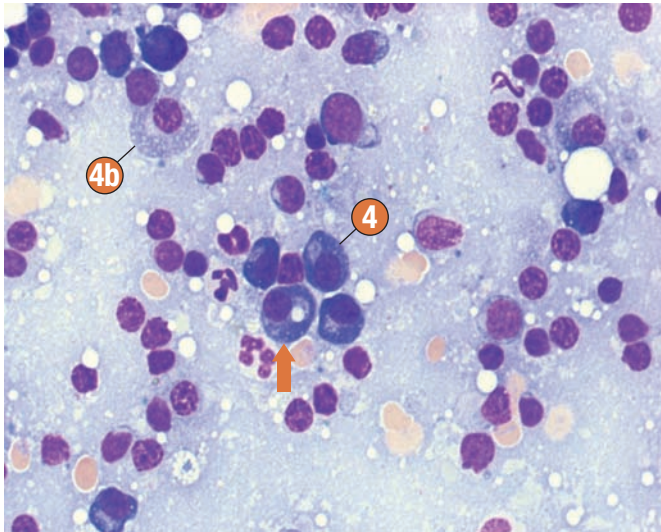


Figura 13. Ganglio reactivo con aumento del número de células plasmáticas; señalada con una flecha se observa una célula plasmática con un cuerpo de Russell.
4 Célula plasmática madura; **4b** Célula plasmática inmadura.

La forma más frecuente de hiperplasia reactiva se caracteriza por una reacción de células plasmáticas (fig. 13). Se mantiene la imagen pleomórfica con predominio de linfocitos pequeños que superan el 50% de la población total. Sin embargo, se observa un incremento en el número de linfoblastos, en diferentes fases de maduración, que pueden alcanzar un 15-25% de la población total (fig. 14). La hiperplasia de linfoblastos puede ser tan intensa que alcance valores semejantes a fases iniciales de linfosarcoma (fig. 15). También se observa un aumento de macrófagos, que puede superar el 2%. El hallazgo más característico del ganglio reactivo es el incremento de células plasmáticas, cuyo número suele superar el 10%; en casos de gran activación se observan células de Mott y formas inmaduras (figs. 16-18). Si la hiperplasia plasmática es severa, el incremento de células plasmáticas no es proporcional al aumento de linfoblastos y puede alcanzar valores superiores al 25%. En casos extremos debe establecerse un diagnóstico diferencial con el mieloma múltiple (figs. 19 y 20), cuya diferenciación reside más en el aspecto morfológico de las células (anisocitosis, presencia de células multinucleadas) que en su número.

Las enfermedades víricas felinas (leucemia o inmunodeficiencia) pueden desencadenar una reacción hiperplásica linfoide extrema con incremento masivo de diferentes tipos de linfoblastos y ausencia, o presencia escasa, de células plasmáticas, que puede llegar a ser difícil de diferenciar del linfosarcoma (figs. 21 y 22).

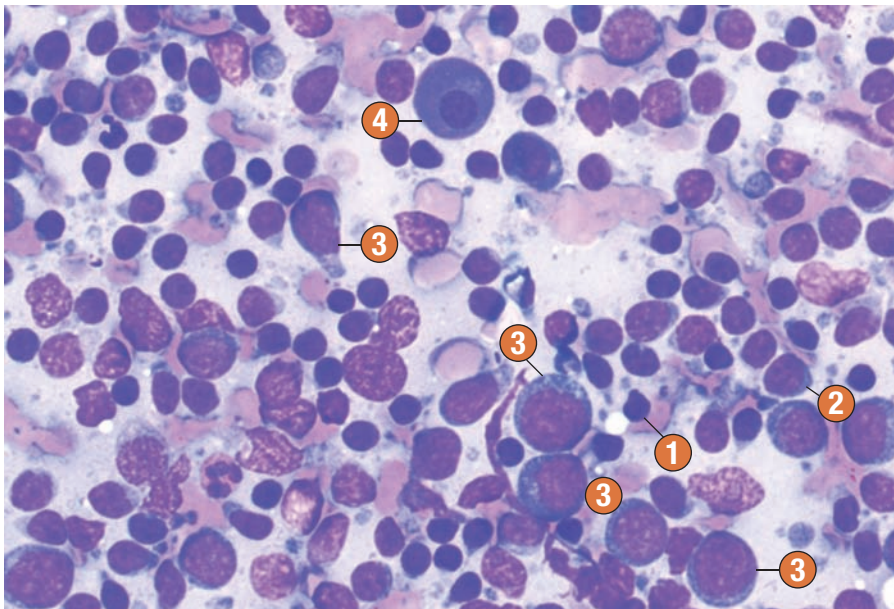


Figura 14. Ganglio reactivo con hiperplasia de linfoblastos.

- 1** Linfocito pequeño;
- 2** Linfocito de tamaño medio;
- 3** Linfoblastos;
- 4** Célula plasmática.

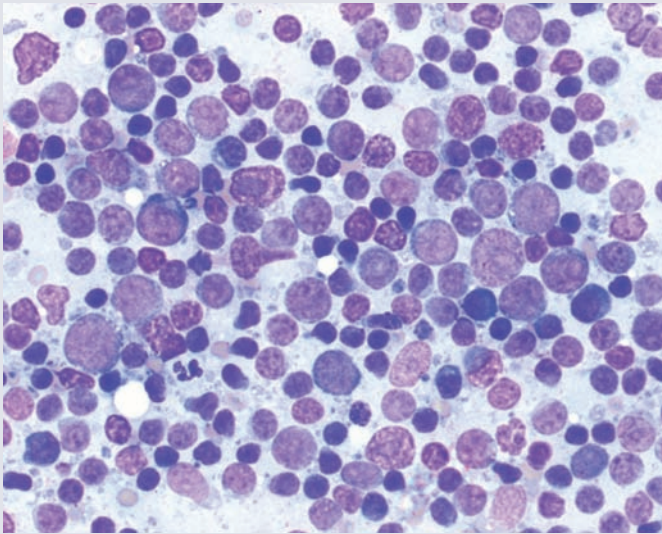


Figura 15. Ganglio reactivo con intensa hiperplasia de linfoblastos. La presencia de linfoblastos de diferentes tamaños y de células plasmáticas permite diferenciarla de una imagen de linfosarcoma.

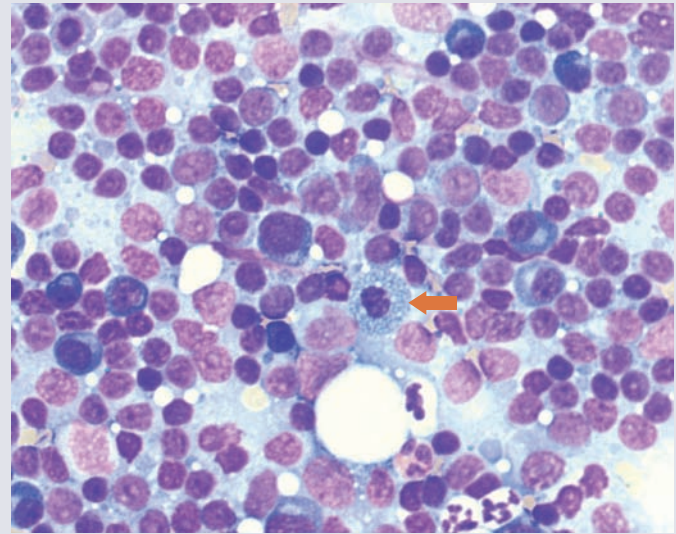
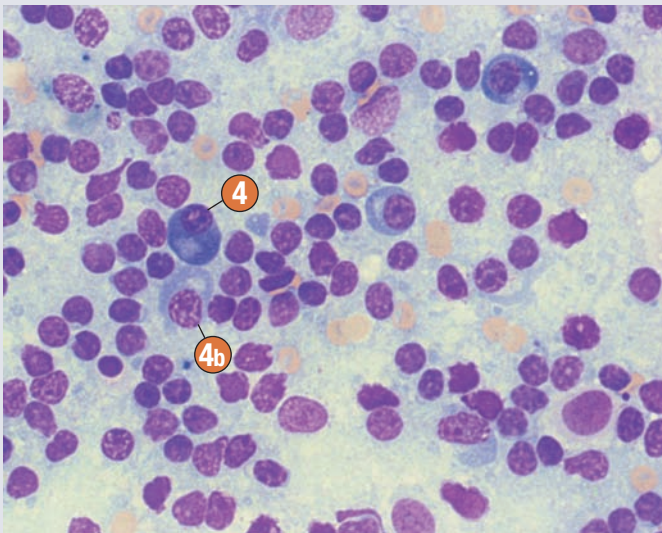


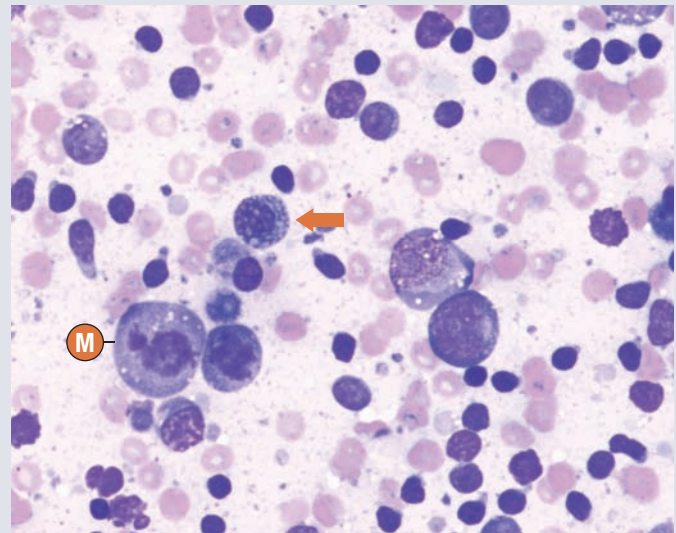
Figura 16. Ganglio reactivo con hiperplasia de células plasmáticas. Señalada con flecha se observa una célula de Mott.

Figura 17. Ganglio reactivo con hiperplasia de células plasmáticas.



4 Célula plasmática madura; 4b Célula plasmática inmadura; M Mitosis.

Figura 18. Ganglio reactivo con hiperplasia de células plasmáticas. Señalada con flecha se observa célula de Mott.



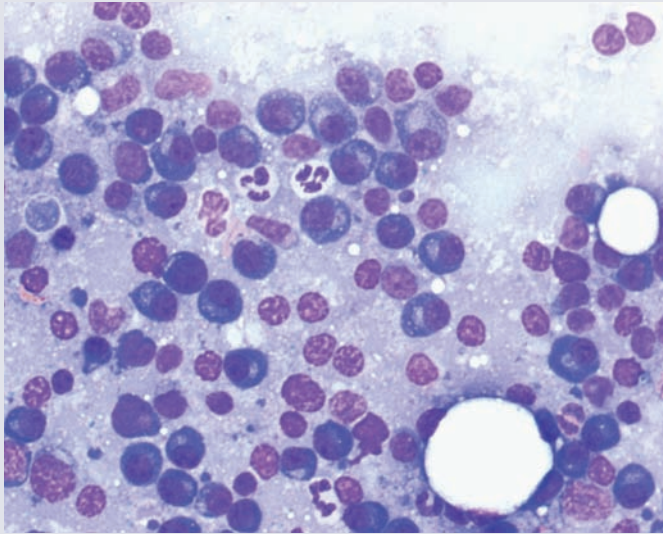


Figura 19. Ganglio reactivo con hiperplasia masiva de células plasmáticas. Debe establecerse diagnóstico diferencial con mieloma múltiple.

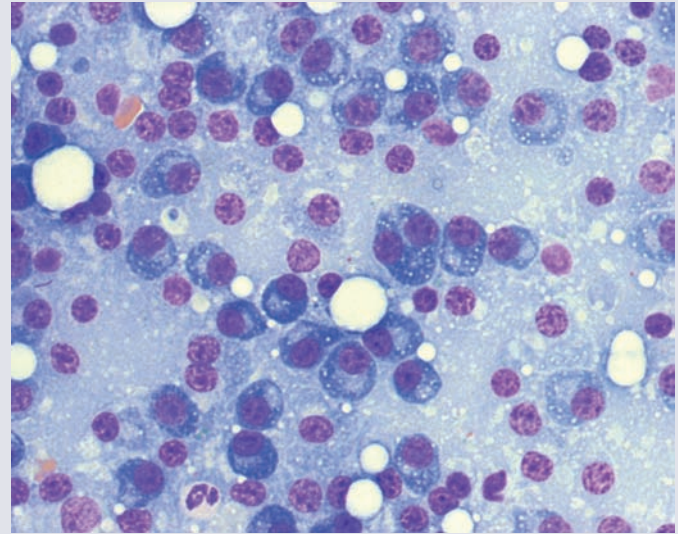


Figura 20. Ganglio reactivo con hiperplasia masiva de células plasmáticas. Debe establecerse diagnóstico diferencial con mieloma múltiple.

Figura 21. Hiperplasia linfoide felina benigna asociada a retrovirus. La imagen citológica es muy semejante a la del linfosarcoma.

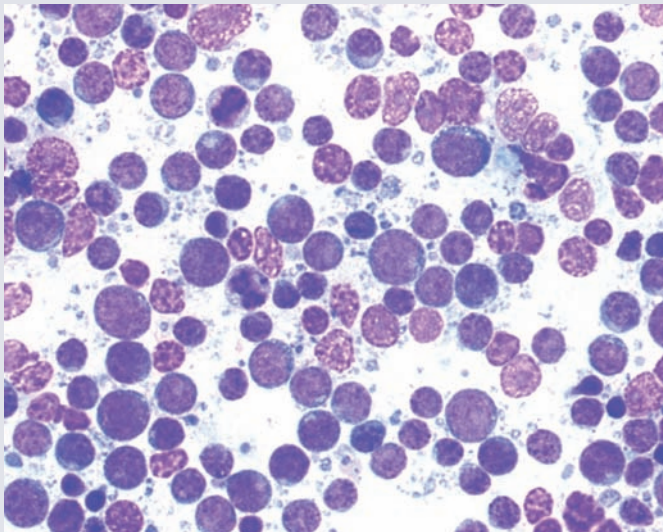
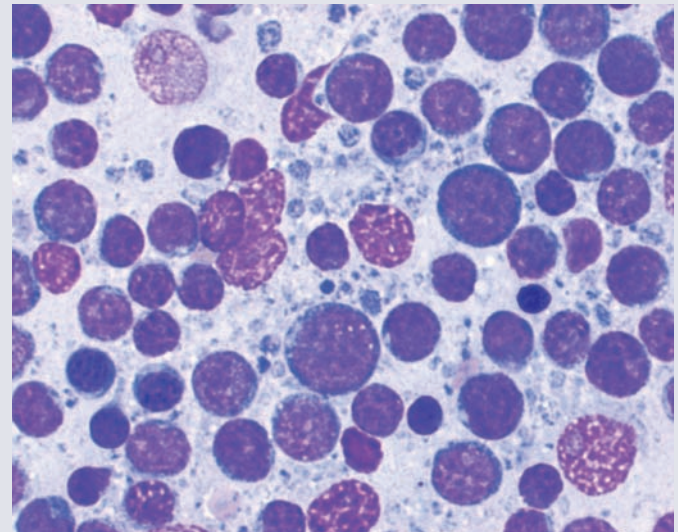


Figura 22. Hiperplasia linfoide felina benigna asociada a retrovirus. La imagen citológica es muy semejante a la del linfosarcoma.



Diagnóstico citológico de procesos neoplásicos

Los ganglios linfáticos pueden verse afectados por neoplasias primarias (linfosarcoma) o constituir focos metastásicos de tumores por diseminación linfática desde su localización primaria.

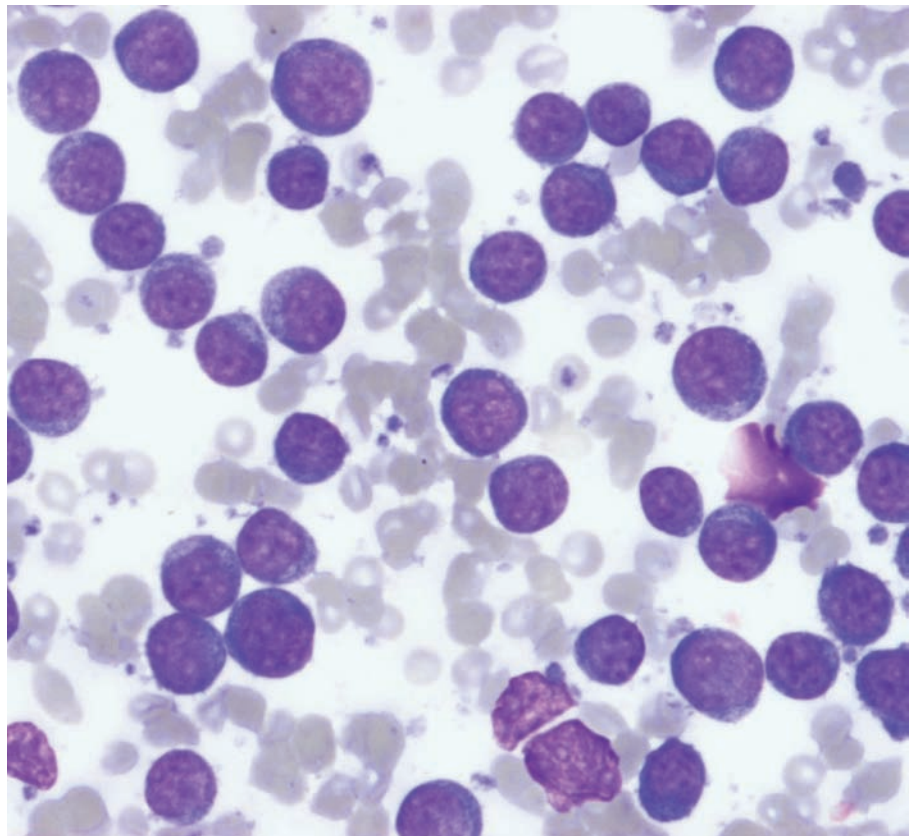
En general, la citología es útil para diagnosticar las neoplasias localizadas en el tejido ganglionar al observarse células linfoides neoplásicas, o células de otras estirpes que constituyen el tumor secundario. Sin embargo, en algunos casos en los que la infiltración tumoral se produce de forma muy rápida y se acompaña de un gran incremento del volumen ganglionar, se produce una necrosis tisular masiva. En estos casos, en la citología se observa una matriz amorfa y restos celulares degenerados acompañados o no de células intactas. La obtención de material necrótico de forma continuada en varias punciones es altamente sugestiva de proceso neoplásico.

Linfosarcoma

El estudio citológico de los ganglios linfáticos permite diagnosticar el 90% de los linfomas caninos. En la especie felina no se alcanza este nivel de sensibilidad, ya que, en ocasiones, es difícil diferenciar las neoplasias linfoides de las hiperplasias de linfoblastos en gatos jóvenes infectados por retrovirus.

En el linfoma se produce la suspensión de la maduración de un clon maligno de células linfoides. A medida que la enfermedad avanza, la población ganglionar normal es sustituida por una población, más o menos homogénea, de linfoblastos. En general, la característica que sobresale en el diagnóstico citológico de los linfomas es la

Figura 23. Linfoma canino. La imagen citológica muestra una población homogénea de linfoblastos, con ausencia del resto de células normales de ganglio.



pérdida del pleomorfismo típico de ganglios normales o hiperplásicos, ya que se observa una imagen monótona de células en semejante estadio de maduración (fig. 23). Este concepto, más que la propia morfología celular o la presencia de los típicos caracteres citológicos de malignidad, es la base del diagnóstico, ya que morfológicamente es imposible diferenciar un linfoblasto normal de uno neoplásico. Cuando las células inmaduras constituyen más del 50% de la población linfoide, puede diagnosticarse un linfosarcoma; cuanto mayor sea este porcentaje, mayor seguridad diagnóstica (figs. 24 y 26). En estadios iniciales del proceso, antes de alcanzar un porcentaje suficiente de células inmaduras, es más complicado confirmar el diagnóstico (figs. 25 y 27).

Figura 24. Linfosarcoma canino. El porcentaje de linfoblastos alcanza el 90% de las células linfoides.

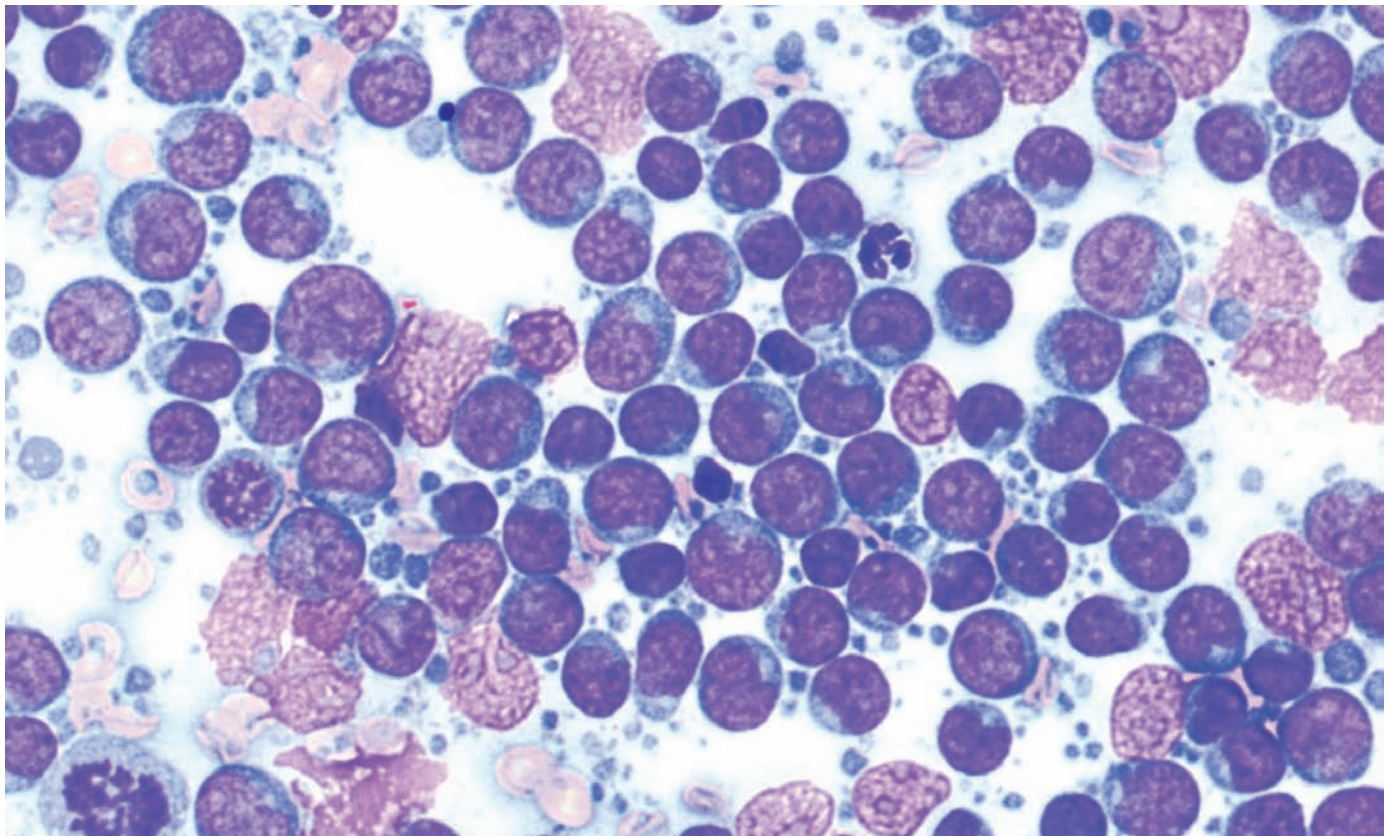
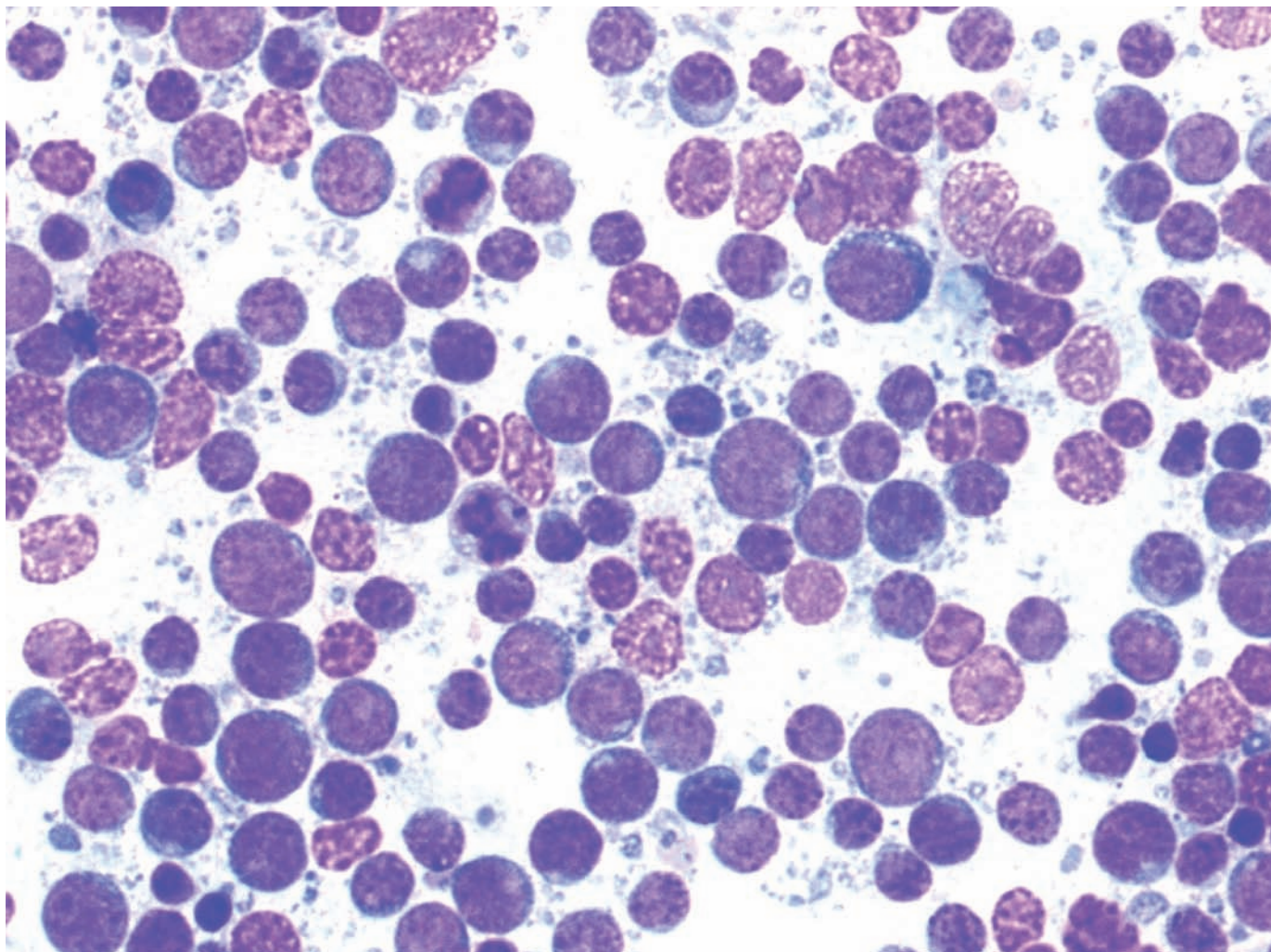


Figura 25. Linfosarcoma canino. La población de linfoblastos es, aproximadamente, un 50%, pero todavía se observa un elevado porcentaje de linfocitos pequeños.



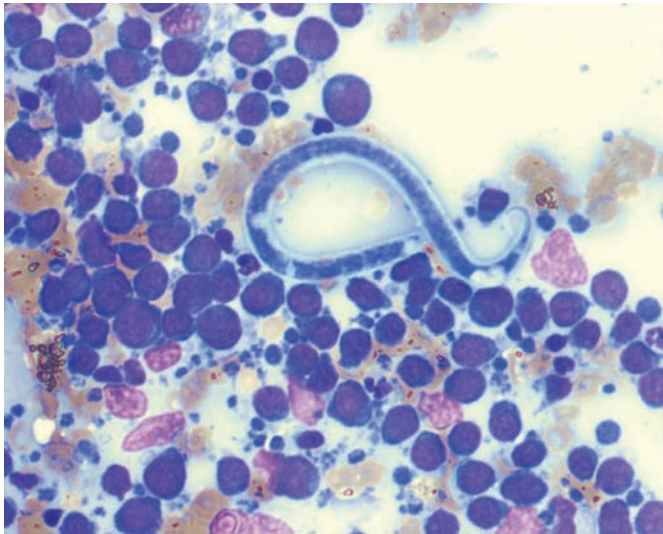


Figura 26. Linfosarcoma canino con predominio de linfoblastos. Se observa una microfilaria, consecuencia de la contaminación sanguínea.

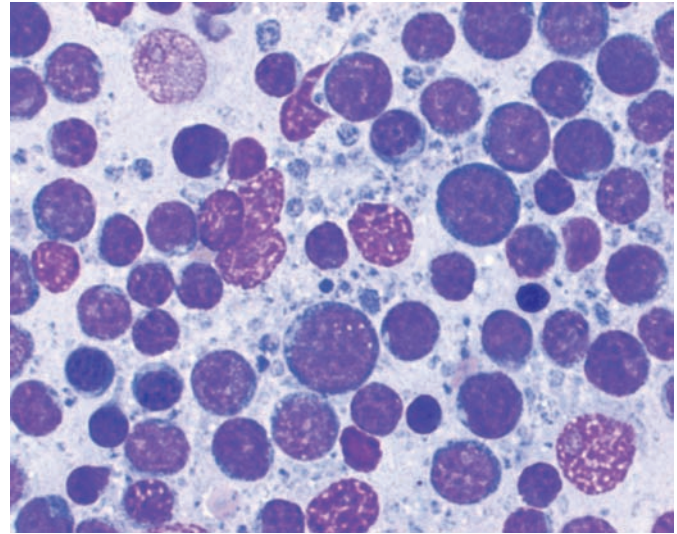
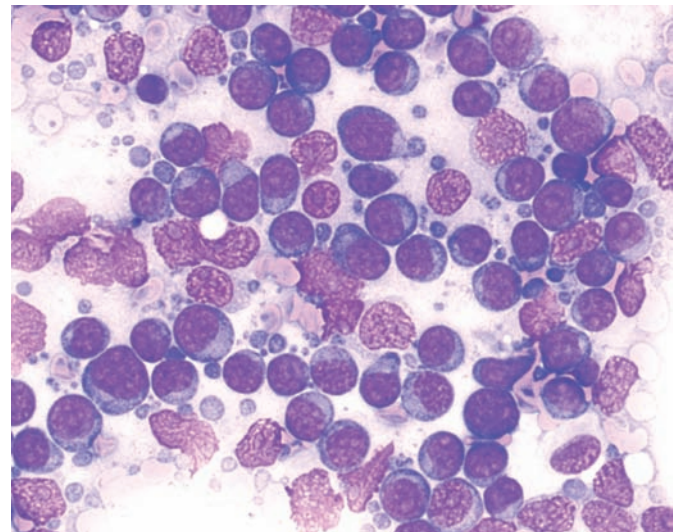


Figura 27. Recaída de linfosarcoma canino tras la quimioterapia. Todavía no se observa un porcentaje de linfoblastos superior al 50%, pero todos los linfoblastos son muy inmaduros, sin que se observen estadios intermedios de maduración.

Figura 28. Linfosarcoma canino. Se observan numerosos núcleos desnudos y cuerpos linfoglandulares. El recuento diferencial debe realizarse sólo sobre células intactas; no se deben confundir los núcleos desnudos con linfoblastos.

Otras características que acompañan a la citología de linfosarcoma son:

- Mayor cantidad de cuerpos linfoglandulares y núcleos desnudos (fig. 28) (que no deben confundirse con linfoblastos), ya que el tejido linfoide neoplásico es todavía más frágil que el normal. En extensiones en las que predominan las células rotas puede ser difícil diagnosticar un linfosarcoma, ya que los linfoblastos son las células que más fácilmente se rompen y, por lo tanto, su porcentaje puede ser infravalorado.
- Escasa cantidad o ausencia de células plasmáticas, lo que permite establecer la diferencia con ganglios reactivos.



- Escasas células inflamatorias, salvo en los casos de necrosis tisular; en los que se produce un aumento del número de macrófagos con imágenes de fagocitosis de restos celulares. La presencia de numerosos macrófagos en algunos linfosarcomas proporciona una imagen denominada de "cielo estrellado" (fig. 29).
- Aumento del número de mitosis, con formas atípicas (fig. 30). La presencia de 2-3 mitosis por campo, empleando 100x aumentos (con aceite de inmersión), suele ser indicativo de linfosarcomas de alto grado.

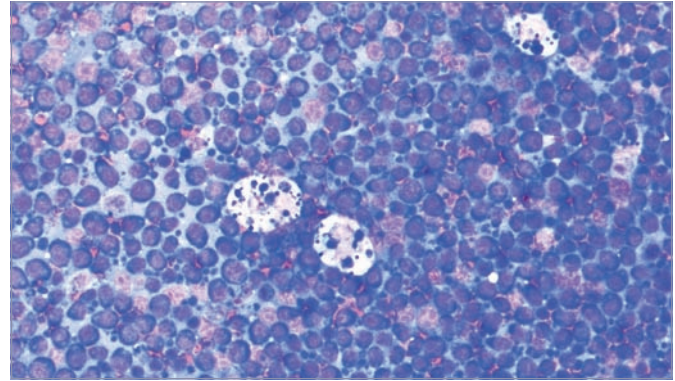
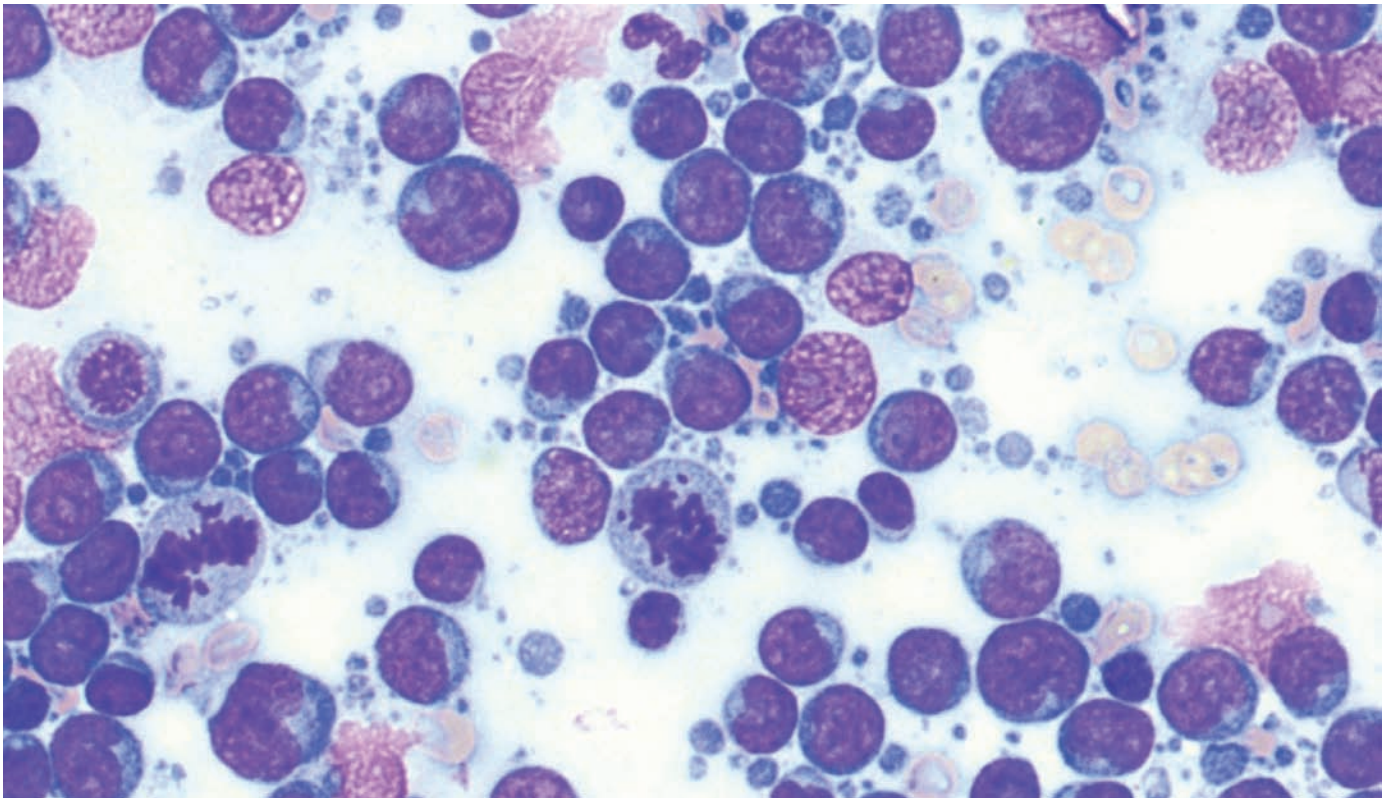


Figura 29. Linfosarcoma canino. Se observan numerosos macrófagos fagocitando restos celulares (imagen de "cielo estrellado").

Figura 30. Linfosarcoma canino. Se observan dos mitosis atípicas.



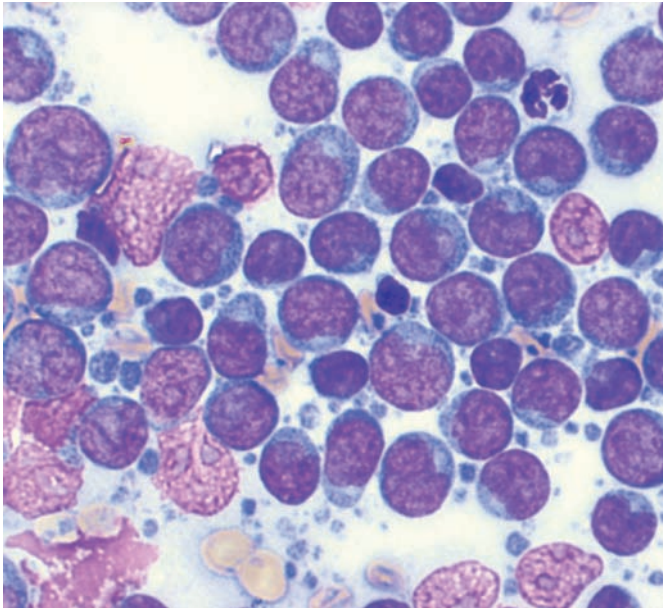


Figura 31. Linfosarcoma canino de alto grado; predominio de linfoblastos grandes e inmaduros.

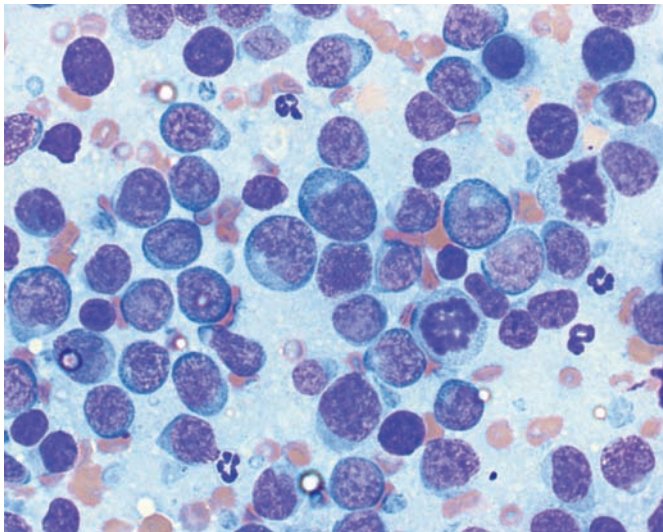
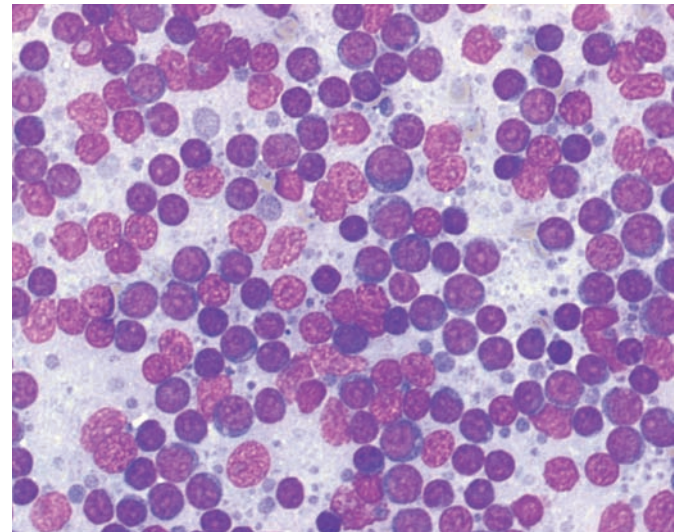


Figura 32. Linfosarcoma canino de alto grado; predominio de linfoblastos grandes e inmaduros.

El clon celular del que proceden las células neoplásicas marca la morfología celular predominante. La mayoría de los linfosarcomas en el perro son de alto grado (figs. 31 y 32), que proceden de células muy inmaduras (linfoblastos cuyo tamaño nuclear es mayor de 3 hematíes) y fáciles de diferenciar de linfocitos normales. El linfosarcoma de bajo grado procede de linfocitos pequeños (fig. 33) (tamaño nuclear entre 1 y 2 hematíes) y puede ser muy difícil establecer una diferenciación con hiperplasias linfoides. En estos casos, la ausencia de otros tipos celulares (prolinfocitos, linfoblastos, células plasmáticas) puede ayudar al diagnóstico, pero en la mayoría de los casos es necesario confirmar el diagnóstico mediante histopatología (fig. 34). En la especie felina existe una mayor proporción de linfosarcomas de bajo grado, por lo que la citología no tiene la misma sensibilidad diagnóstica que en el caso del perro.

Figura 33. Linfosarcoma canino de bajo grado: predominan los prolinfocitos y los linfoblastos de pequeño tamaño.



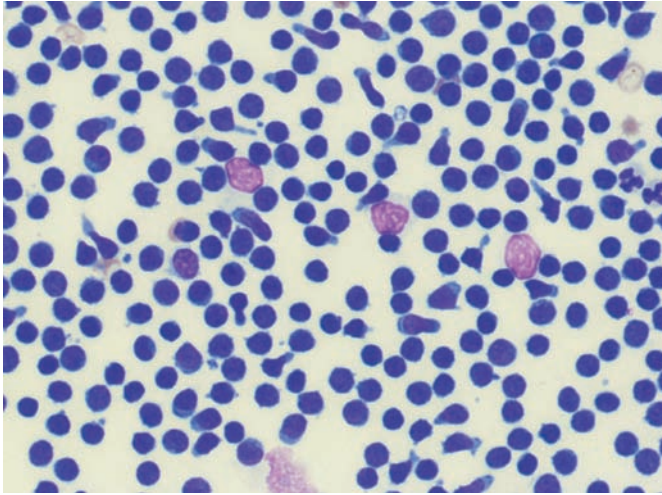


Figura 34. Linfosarcoma canino de bajo grado (linfocítico). La imagen citológica carece de otros estadios linfoides; sólo se observan linfocitos pequeños (muchos de ellos deformados en el momento de la extensión). Esta forma de linfosarcoma es difícil de diagnosticar mediante citología.

Existen algunos tipos de linfosarcoma canino cuya imagen citológica difiere de la habitual. En algunos casos, entre los que se incluye la diseminación de linfomas cutáneos epiteliotrópicos (micosis fungoides) a ganglio linfático (fig. 35), la citología muestra un predominio de linfoblastos con morfología histiocítica, de citoplasma más abundante y más claro y núcleos que pueden presentar indentaciones o lobulaciones. De forma excepcional, pueden diagnosticarse linfomas pleomórficos (fig. 36), cuyas células son muy inmaduras, de gran tamaño con numerosas irregularidades en su forma y en su volumen nuclear, observándose abundantes células multinucleadas.

Según el tipo celular neoplásico, el proceso puede clasificarse según alguno de los esquemas propuestos para el perro (Kiel, *Working Formulation*), aunque esta diferenciación no es básica para establecer un diagnóstico. Además, esta clasificación de linfomas es más fiable en muestras procesadas por histopatología. La determinación del fenotipo celular (linfocitos T o B) puede establecerse con técnicas inmunohistoquímicas que se realizan en laboratorios especializados.

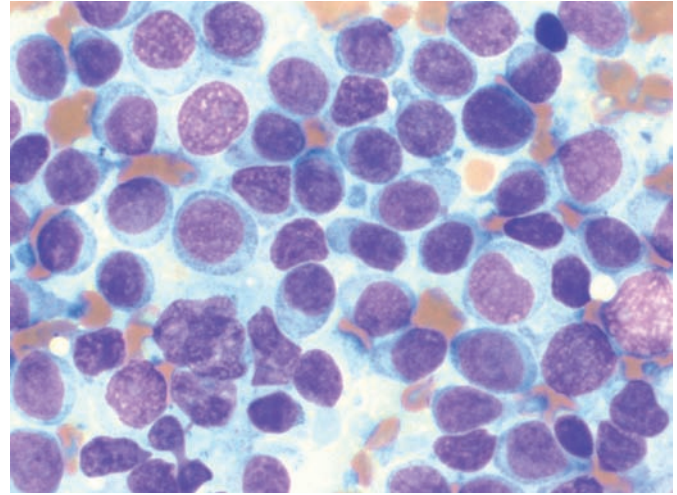
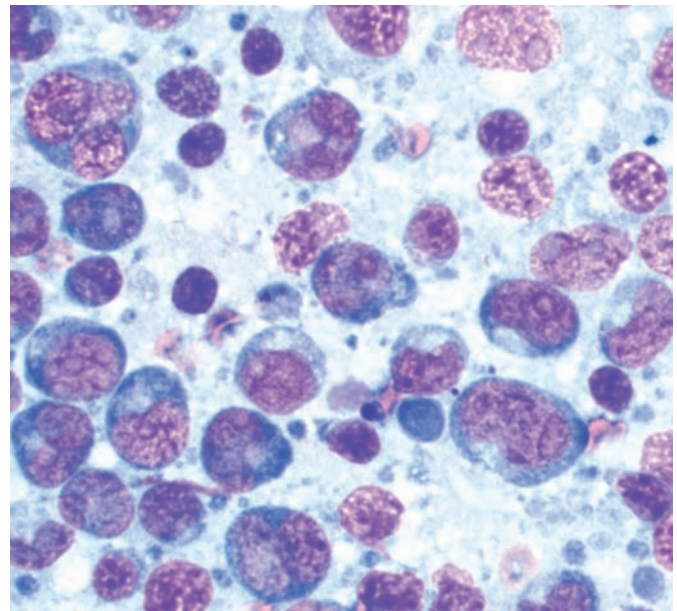


Figura 35. Diseminación a ganglio de un linfoma epiteliotrópico en el que se observan linfoblastos de tipo histiocítico.

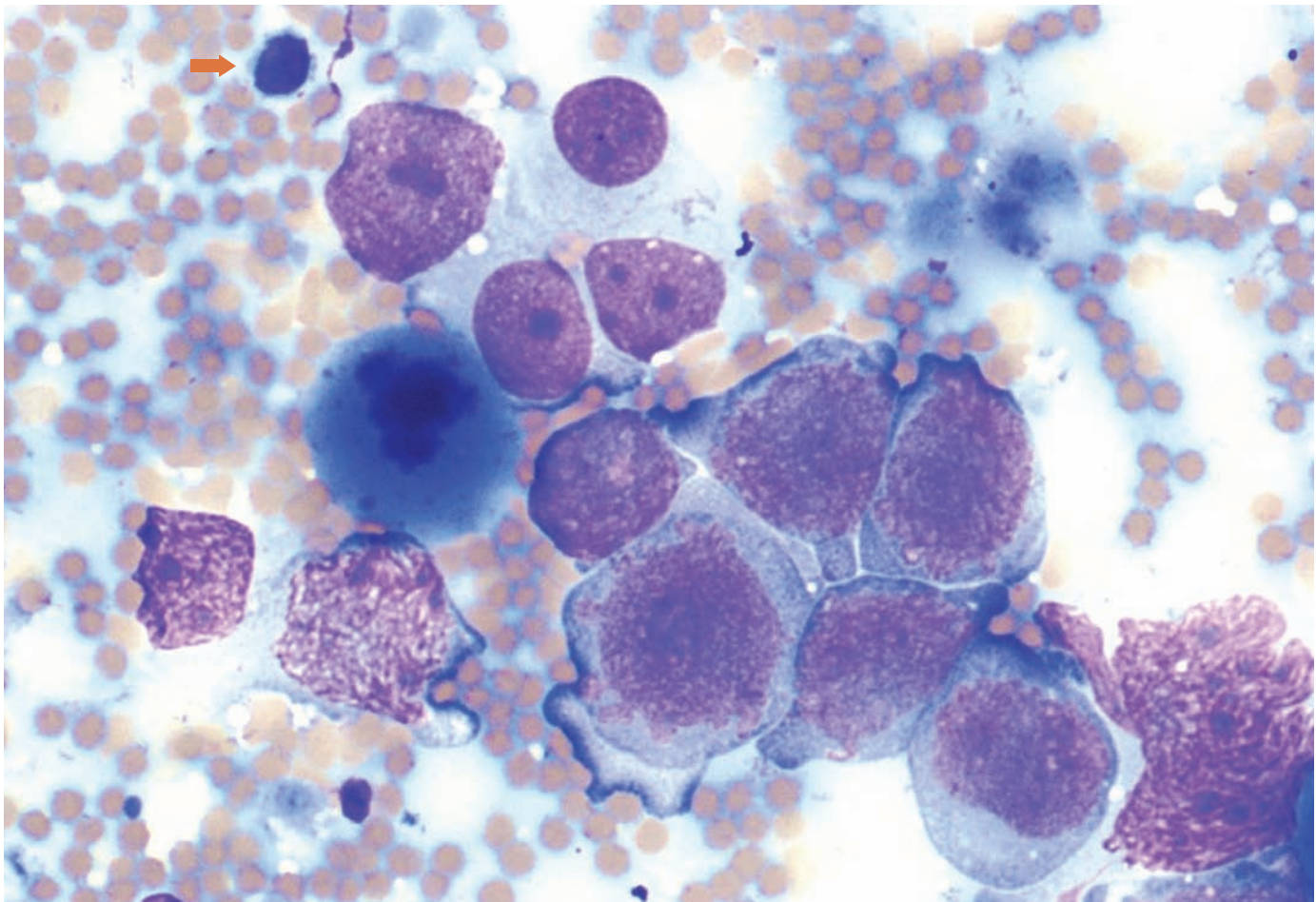
Figura 36. Linfoma pleomórfico de células grandes atípicas.



Ganglio metastásico

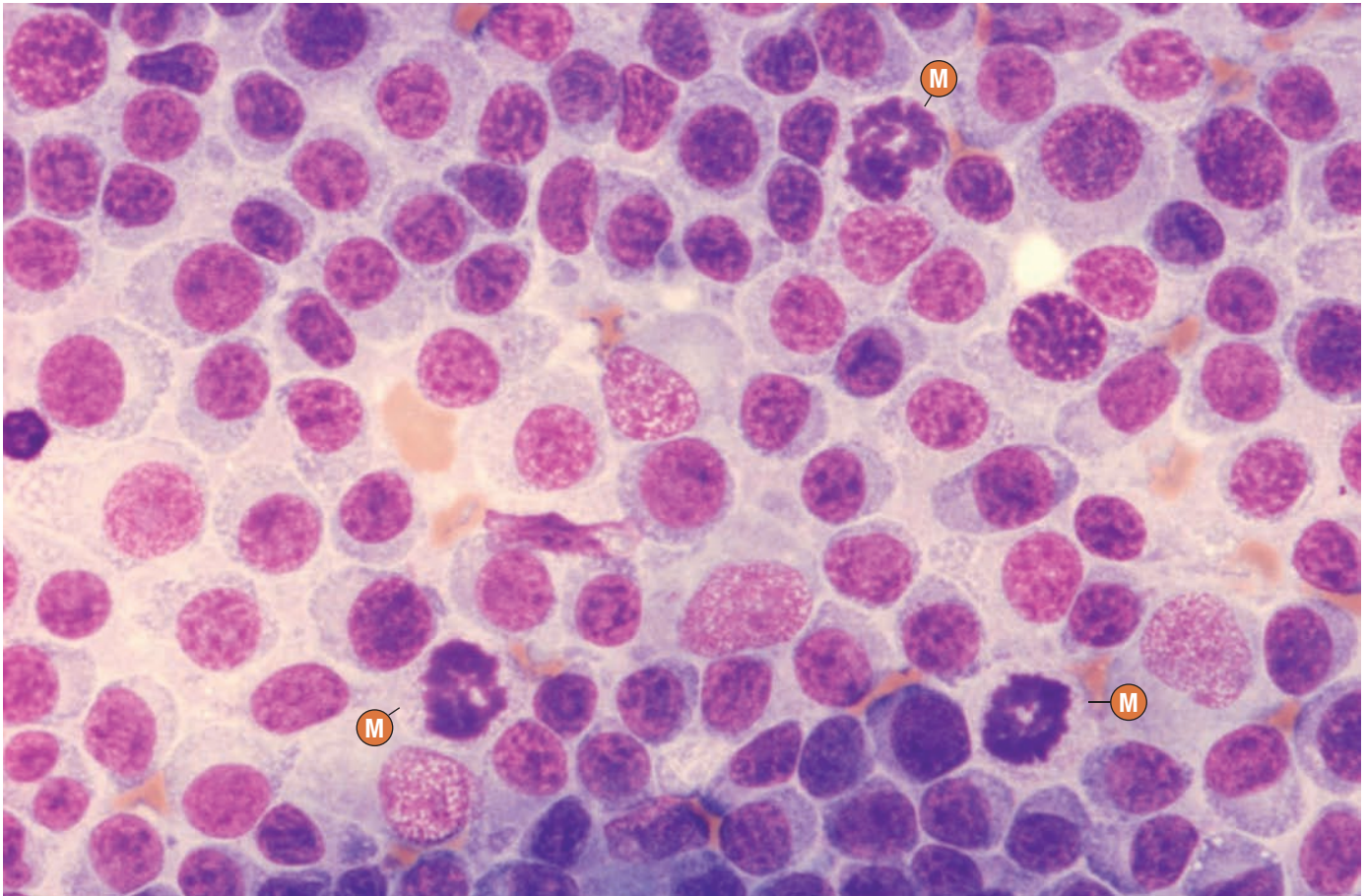
El diagnóstico de metástasis ganglionar es sencillo, ya que se basa en la observación de células que no forman parte del tejido ganglionar normal o en un incremento del número de células presentes habitualmente. Los tumores que metastatizan con mayor frecuencia a ganglio linfático son los carcinomas, mastocitomas y melanomas. Las metástasis de otros tipos tumorales son más raras (fig. 37). También puede producirse afectación ganglionar secundaria en procesos leucémicos mieloides, linfoides o en el curso del mieloma múltiple.

Figura 37. Metástasis ganglionar de un seminoma. Las células tumorales tienen un tamaño muy superior a los linfoblastos y presentan una morfología más irregular. La población linfóide es escasa (célula linfóide señalada con flecha).



La imagen citológica depende del grado de afectación. La población linfoide puede mantenerse dentro de la normalidad o, con mayor frecuencia, aparecen cambios reactivos con aumento del número de células plasmáticas; en casos avanzados, las células tumorales pueden sustituir completamente al tejido linfoide, por lo que a veces es imposible asegurar que la muestra procede realmente de un ganglio linfático (fig. 38).

Figura 38. Metástasis ganglionar de un melanoma amelanítico. La población metastásica ha sustituido completamente a la población linfoide. La imagen debe ser diferenciada de linfosarcoma, aunque las células metastásicas presentan mayor cantidad de citoplasma y más claro que los linfoblastos.



M Mitosis atípica.

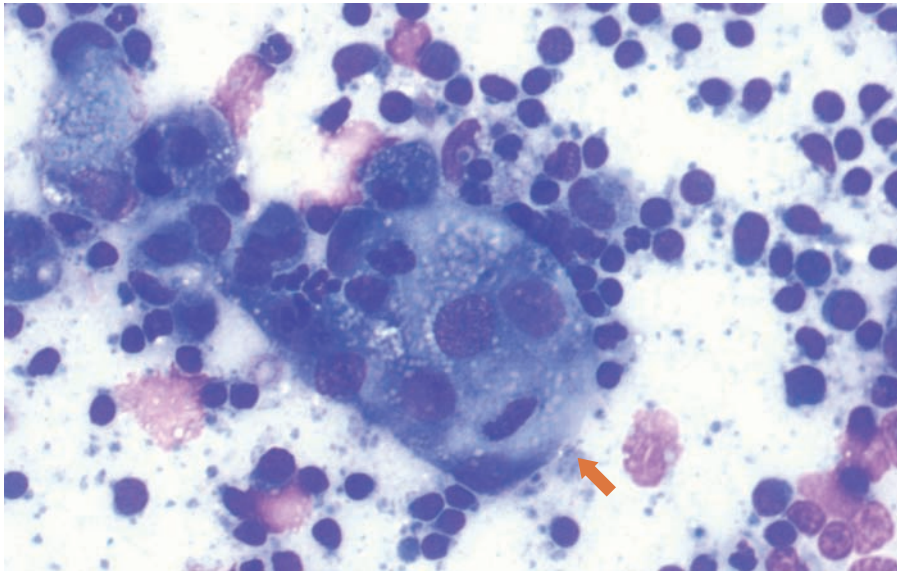
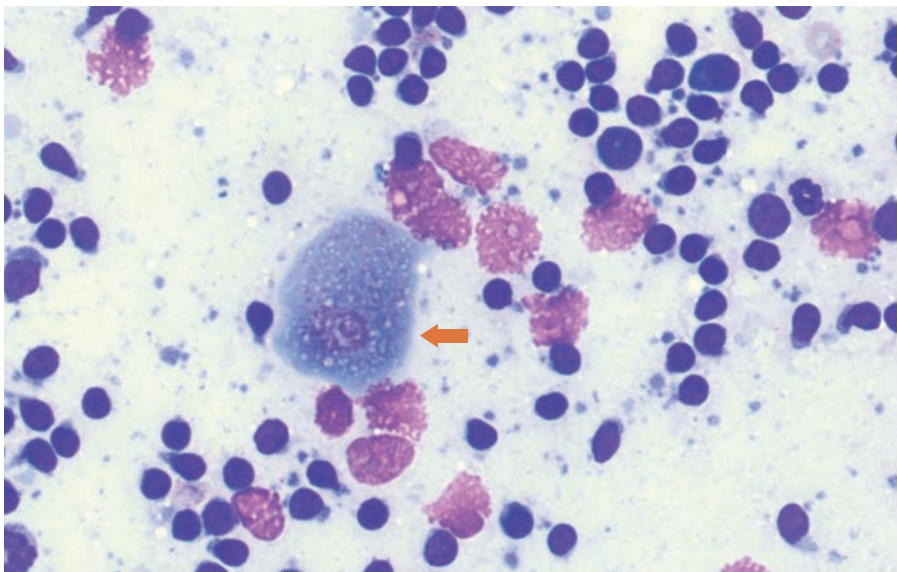


Figura 39. Metástasis ganglionar de un adenocarcinoma. Señalado con flecha se observa un grupo de células metastásicas con características de tejido epitelial glandular.

Figura 40. Metástasis ganglionar de carcinoma de células escamosas. Señalada con flecha se observa una célula escamosa metastásica.



No obstante, la ausencia de células neoplásicas no linfoides en una citología ganglionar no descarta la presencia de las mismas. Los tumores que invaden ganglio de forma difusa son fáciles de diagnosticar, ya que las células metastásicas se evidenciarán en cualquier punto del ganglio donde se realice la punción. Sin embargo, en ocasiones, los tumores colonizan el ganglio focalmente o en áreas muy profundas, de forma que la punción puede realizarse sobre áreas no invadidas y, por lo tanto, en la preparación obtenida no se observarán las células metastásicas.

En los casos en que el tumor primario todavía no se haya extirpado, es conveniente tomar muestras del mismo simultáneas a la punción ganglionar; de esta forma, al conocer el tipo celular, es más fácil evidenciar la presencia de células metastásicas.

Las células de carcinoma deben diferenciarse de células del estroma ganglionar y, sobre todo, de células epitelioides de tipo macrófago. Pueden invadir el ganglio de forma individual o formar los grupos característicos del tejido epitelial (figs. 39 y 40). Cuando las muestras se obtienen de los ganglios submandibulares es importante no confundir las células de glándula salivar normal, que puede puncionarse por error; con células epiteliales metastásicas. Las células glandulares normales forman grupos,

pero presentan una relación núcleo:citoplasma homogéneo y su citoplasma presenta un aspecto espumoso por la abundancia de vacuolas (fig. 41).

Los mastocitos son células que pueden encontrarse en ganglios normales y, en mayor número, en linfadenitis o ganglios reactivos; por lo tanto, hay que tener precaución para determinar si los mastocitos observados corresponden a enfermedad metastásica. Si el mastocitoma está bien diferenciado, la metástasis debe diagnosticarse en función del incremento del número de mastocitos: en general, el hallazgo de más de un 3% suele ser indicativo de infiltración tumoral (fig. 42). Las metástasis de mastocitomas más indiferenciados son más fáciles de distinguir que las constituidas por mastocitos normales. No obstante, en mastocitomas muy indiferenciados puede observarse la presencia de una población atípica de células redondas, en las que no se evidencian los gránulos que definen al mastocito (fig. 43). En estos casos es necesario realizar un examen exhaustivo de toda la preparación para intentar localizar alguna célula con gránulos escasos y dispersos y/o la presencia de eosinófilos.

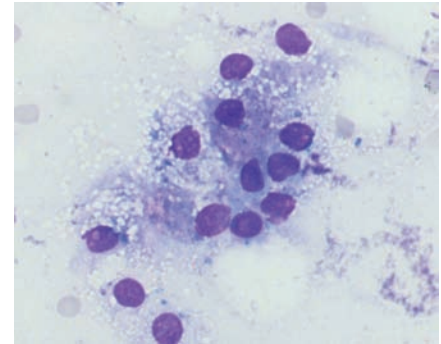
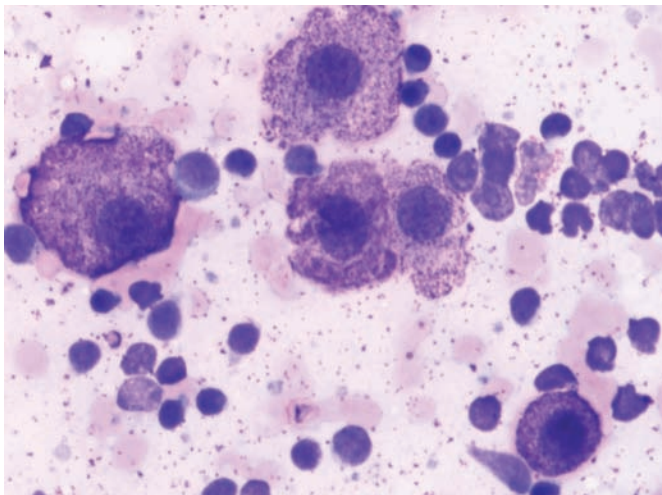


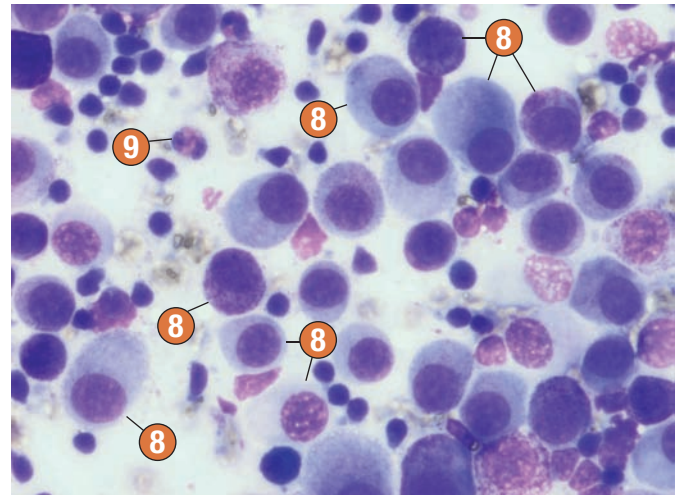
Figura 41. Grupo de células epiteliales normales procedentes de glándula salivar submandibular puncionada de forma errónea al intentar acceder al ganglio submandibular.

Figura 42. Metástasis ganglionar de un mastocitoma de grado intermedio de diferenciación. Los mastocitos neoplásicos deben superar el 3% de la población total para diferenciarlos de mastocitos normales reactivos. Se observan numerosos gránulos extracelulares procedentes de la degranulación de los mastocitos neoplásicos.



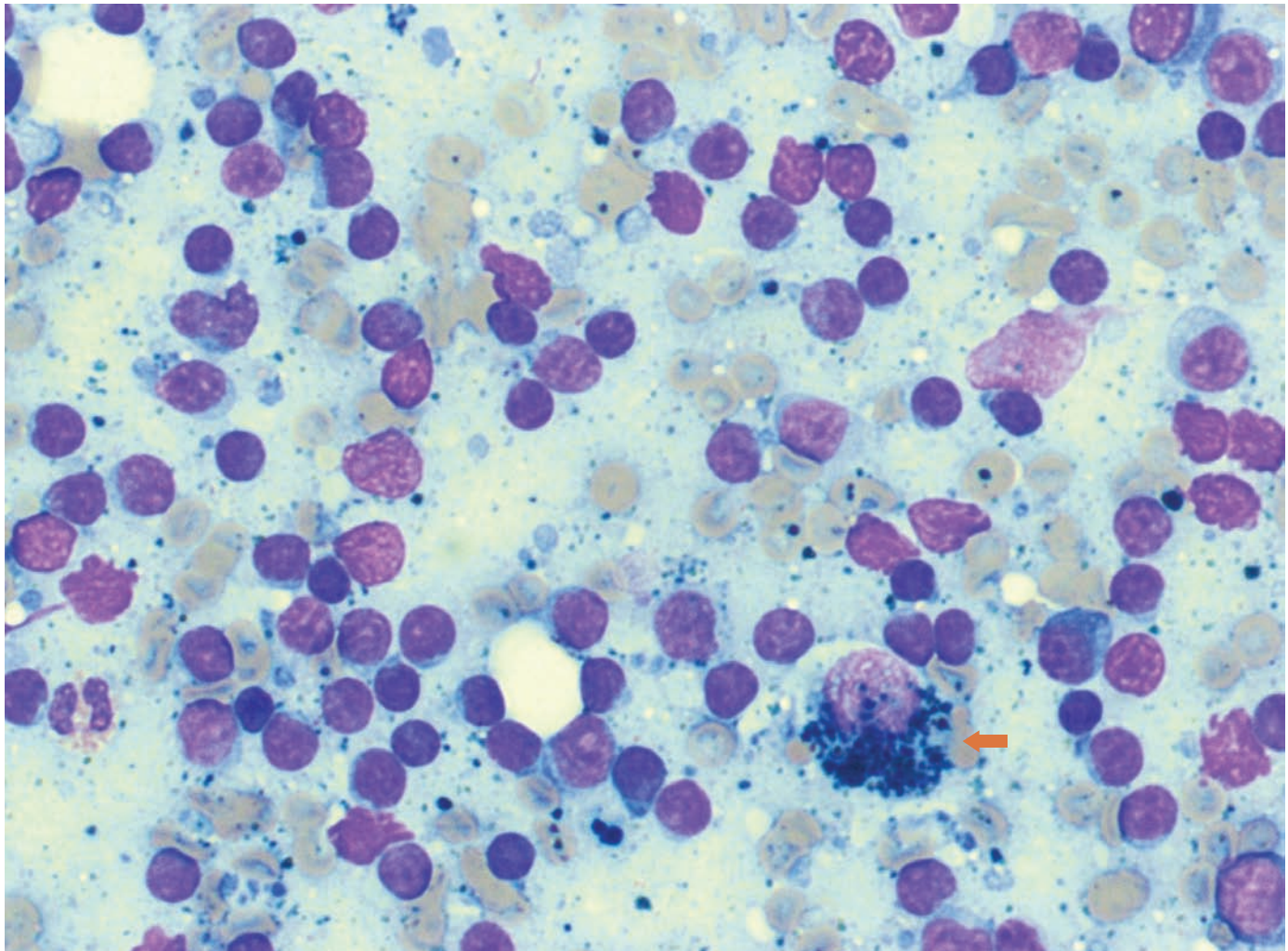
8 Mastocito neoplásico; 9 Eosinófilo.

Figura 43. Metástasis ganglionar de un mastocitoma poco diferenciado. Se observan numerosos mastocitos neoplásicos con escasos gránulos citoplasmáticos (fáciles de diferenciar de mastocitos normales). También se observa un eosinófilo.



Los melanófagos (macrófagos cargados de melanina) son células habituales en ganglios linfáticos, fundamentalmente en aquellos que drenan lesiones pigmentadas. Puede ser difícil diferenciar entre melanófagos (fig. 44) y melanocitos (fig. 45). En general, los cúmulos de

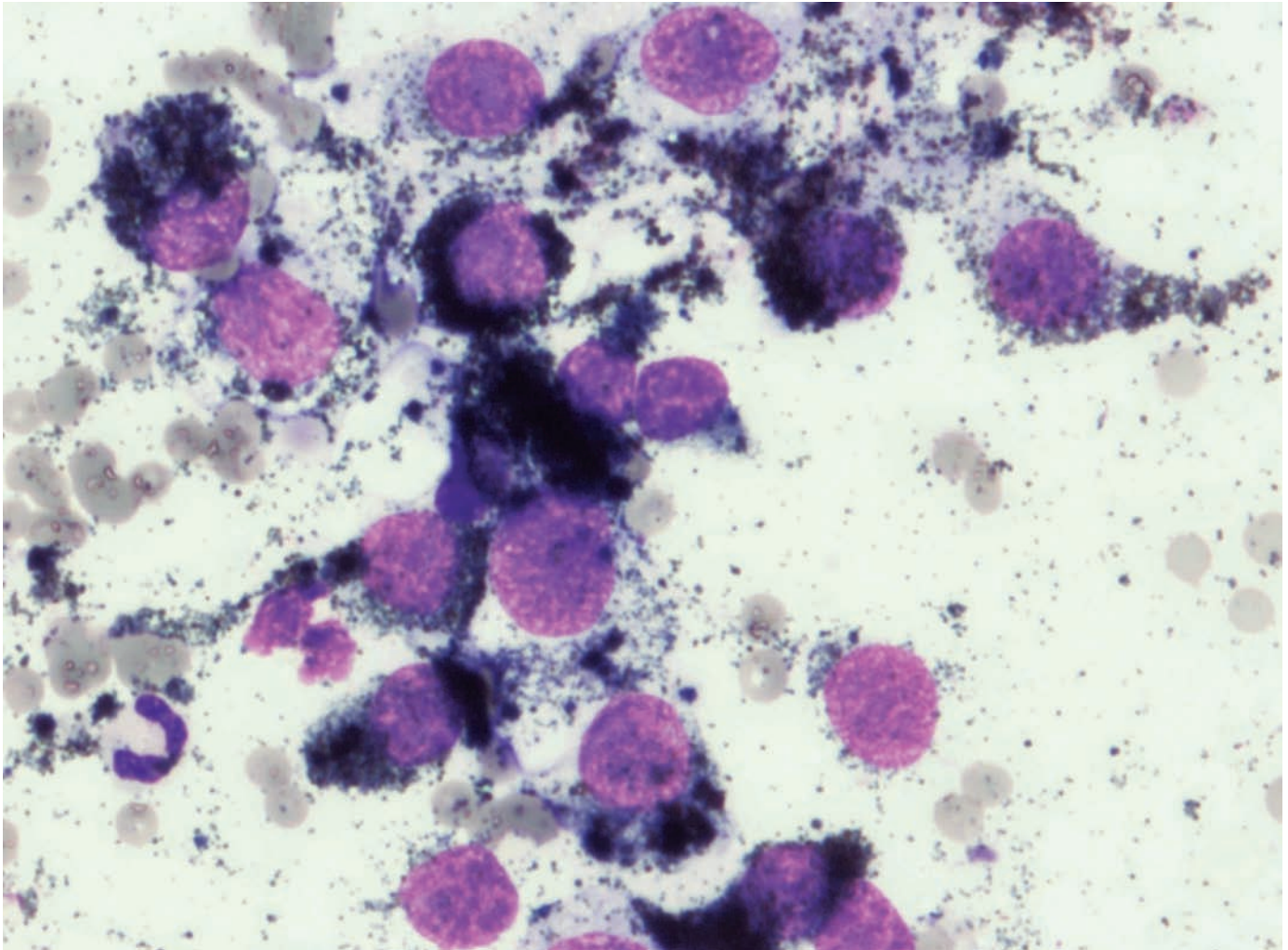
Figura 44. Ganglio reactivo. Señalado con flecha se observa un macrófago cargado de melanina (melanófago).



melanina en macrófagos son más gruesos y de color más débil y pueden observarse en el interior de las vacuolas; en los melanocitos, son más finos y dispersos, y de color negro más intenso. El diagnóstico

citológico de las metástasis de melanomas amelánicos puede ser muy difícil, ya que se observan células atípicas indiferenciadas que carecen de la melanina que caracteriza a los melanocitos.

Figura 45. Metástasis ganglionar de un melanoma melánico. No se observa tejido linfoide, sólo melanocitos neoplásicos.



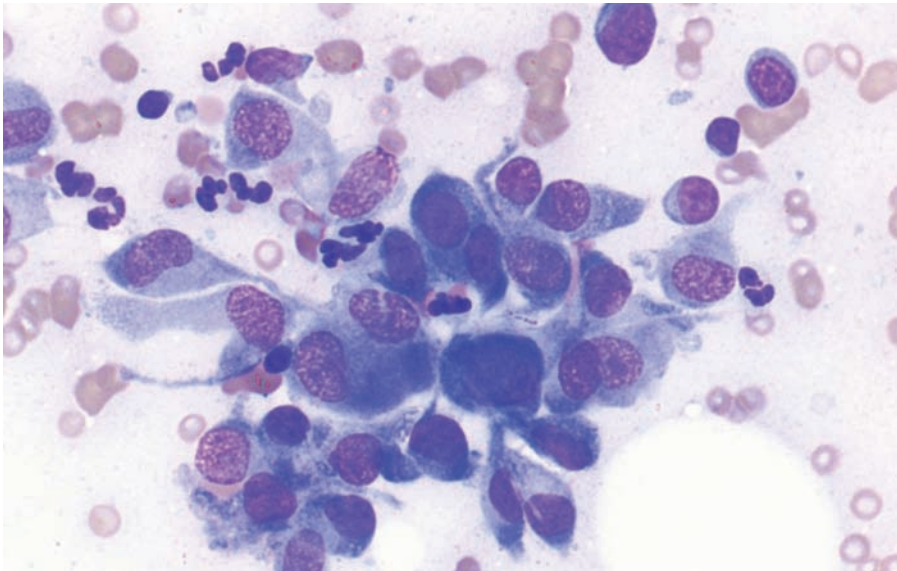
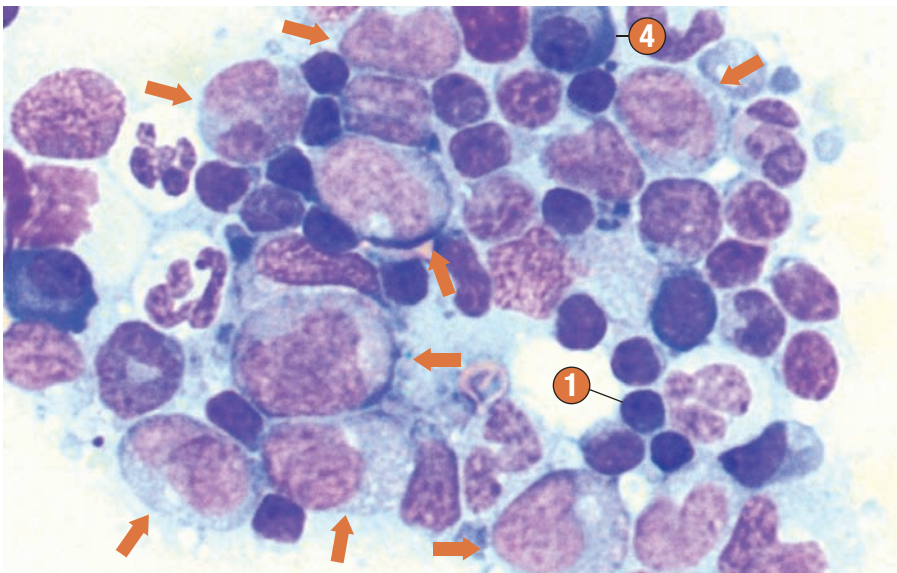


Figura 46. Metástasis ganglionar de un sarcoma; se observan escasas células linfoides y la presencia de células fusiformes neoplásicas.

Figura 47. Infiltración ganglionar en el curso de una leucemia mieloblástica. Señalados con flechas se observan los mieloblastos que pueden ser difíciles de diferenciar de linfoblastos.



1 Linfocito pequeño; 4 Célula plasmática.

Es poco frecuente que los sarcomas metastaticen a ganglio (fig. 46); se diagnostican por la observación de células fusiformes claramente atípicas en un número significativo.

Las células de los procesos leucémicos pueden infiltrar de forma secundaria los ganglios linfáticos. En ocasiones, sobre todo en procesos de células muy inmaduras, puede ser difícil diferenciar blastos mieloides de linfoblastos (fig. 47). Ocasionalmente, puede producirse hematopoyesis extramedular a nivel ganglionar; por lo que pueden observarse precursores de las diferentes series sin que exista afectación leucémica de la médula. En procesos linfoproliferativos, además, puede ser complicado definir si la afectación ganglionar es secundaria a una leucemia o es consecuencia de un linfosarcoma primario. La infiltración de ganglios por células de mieloma conduce a un gran incremento de células plasmáticas; puede ser difícil diferenciar de procesos reactivos muy intensos. En general, los cambios en la morfología celular son más fiables que su número para diagnosticar un mieloma. Así mismo, es importante considerar el resto de hallazgos clínicos que acompañan al mieloma múltiple para poder emitir un diagnóstico definitivo.

Bibliografía

- BAKER, R Y LUMSDEN, JH: The lymphatic system. En Baker, R y Lumsden, JH (ed). *Color atlas of cytology of the dog and cat*. St. Louis: Ed Mosby, 2000. pp. 71-77.
- CANIATTI, M, ROCCABIANCA, P, SCANZIANI, E et al. Canine lymphoma: immunocytochemical analysis of fine needle aspiration biopsy. *Vet. Pathol.* 1996, n° 33, pp. 204-212.
- COWELL, RL, DORSEY, KE Y MEINKOTH, JH: Lymph node cytology. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, vol 33, pp: 47-67.
- DUNCAN, JR: The lymph nodes. En: Cowell, RL, Tyler, RD y Meinkoth, JH (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 97-102.
- FOURNEL-FELURY, C, MAGNOL, JP Y GUELFY, JF: The lymph node. En: Fournel-Felury, C, Magnol, JP y Guelfy, JF (ed). *Color atlas of cancer cytology of the dog and cat*. Paris: CNVSPA, 1994. pp. 243-264.
- THRALL, MA: Cytology of lymphoid tissue. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1987, n° 9, pp. 51-58.
- TWOMEY, LN, ALLEMAN, AR: Cytodiagnosis of feline lymphoma. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 2005, n° 27, pp. 17-31.

Elena M. Martínez de Merlo

citología
del **tracto**
digestivo:
hepática, pancreática
y gastrointestinal

Citología hepática

Indicaciones del estudio citológico

La evaluación morfológica del hígado constituye una herramienta fundamental en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas; otras pruebas diagnósticas (exploración física, pruebas laboratoriales, técnicas de diagnóstico por la imagen) son útiles para definir la existencia de enfermedad, pero, en la mayoría de los casos, no permiten establecer el origen del proceso.

El estudio citológico hepático es una técnica que permite, de forma rápida y con escasos riesgos, obtener material para establecer un diagnóstico presuntivo, descartar ciertos diagnósticos diferenciales y, en algunos casos, proporcionar un diagnóstico definitivo. Por todo ello, la citología puede considerarse como un primer paso en el estudio del tejido hepático; si los resultados son dudosos o no significativos, es indiscutible la necesidad del estudio histopatológico del hígado. Estas muestras pueden obtenerse mediante biopsias incisionales quirúrgicas o biopsias percutáneas con aguja.

La citología hepática está indicada cuando se detectan alteraciones de las enzimas y/o de las pruebas de funcionalidad hepáticas o cuando se observan cambios radiológicos o ecográficos en el hígado. Asimismo, es útil para determinar la afectación hepática en enfermedades sistémicas o para definir el estadio clínico en procesos neoplásicos.

La evaluación citológica hepática puede realizarse tanto en procesos difusos (hepatomegalia generalizada) como focales (hepatomegalia lobar o presencia de lesiones nodulares). Pueden obtenerse muestras simultáneamente de varios puntos, lo que incrementa su capacidad diagnóstica. Constituye la técnica diagnóstica de elección en pacientes cuya sintomatología sistémica no permita abordar téc-

nicas más invasivas (por ejemplo, pacientes con coagulopatías o con elevado riesgo anestésico).

El objetivo de la citología hepática es diferenciar entre procesos degenerativos o reactivos, procesos inflamatorios y procesos neoplásicos (primarios o metastásicos).

La principal limitación de la citología hepática reside en la incapacidad para definir alteraciones arquitecturales en pequeños grupos de hepatocitos, lo que impide el diagnóstico en determinados procesos hepáticos.

Recogida y manejo de muestras

Las muestras hepáticas se obtienen mediante PAAF o PAF. Al ser técnicas poco invasivas, no suele existir riesgo de hemorragia, salvo en pacientes con trombocitopenia severa; si los valores de plaquetas son normales, no es necesaria la realización de pruebas sanguíneas de coagulación. Si el paciente es colaborador, la toma de muestras puede realizarse sin necesidad de sedación o anestesia, aunque la limitación de movimientos del animal mediante una ligera sedación puede ser útil, sobre todo cuando es necesario acceder a lesiones focales de pequeño tamaño.

En casos de hepatopatía difusa, puede realizarse una punción a ciegas. Previamente, se procede al rasurado y limpieza quirúrgica de la zona (conviene eliminar los restos de antiséptico posteriormente, sobre todo si se trata de povidona yodada, para evitar la contaminación de la muestra). Con el animal en decúbito dorsal, ligeramente desviado a la derecha y con la cabeza ligeramente elevada, se inserta la aguja (con un ángulo de 30-45° en perros y casi verticalmente en gatos) en la línea media entre el arco costal izquierdo y el final del xifoideas para acceder al lóbulo izquierdo, que es el más grande; además,

en esta posición, la vesícula biliar se localiza a la derecha de la línea media. Puede colocarse al animal en decúbito esternal o lateral derecho; en este caso, la aguja se introduce por la izquierda, inmediatamente caudal a la última costilla. Si el lóbulo no se palpa más allá del arco costal, conviene realizar una radiografía para determinar el espacio intercostal más adecuado para realizar la punción. Si se realiza una PAAF, la aspiración debe ser rápida, aplicando el vacío en cuanto se alcanza el órgano y liberándolo antes de extraer la aguja. En las PAF, la aguja se mueve rápidamente 8 o 10 veces hacia delante y hacia atrás sin cambiar su ángulo.

En lesiones focales es conveniente realizar una punción ecoguiada, lo que permite asegurar que la muestra procede del área que se desea evaluar y, por lo tanto, se incrementa la seguridad diagnóstica. El apoyo ecográfico también asegura la toma de muestras en lesiones difusas.

Las muestras obtenidas mediante PAAF o PAF se extienden, fijan y tiñen con las técnicas citológicas habituales. Puede ser conveniente reservar algunas extensiones por si puede ser necesario realizar tinciones específicas como PAS (para evidenciar el glucógeno), azul de Prusia (para evidenciar hierro), Sudan III (para evidenciar grasa) o, incluso, técnicas inmunohistoquímicas.

Interpretación citológica

Existen diferentes estudios sobre la fiabilidad del diagnóstico citológico en hepatopatías, con resultados muy variables que oscilan entre un 30 y un 60%. Estos porcentajes están influenciados por la técnica de toma de muestras (se incrementa significativamente en técnicas ecoguiadas), la preparación del citólogo y el tipo de proceso patológico. La mayor parte de los estudios coinciden en que los resultados más fiables se producen en hepatopatías degenerativas (sobre todo la lipídica), hepatitis supurativa (neutrofílica) y linfosarcoma. Por el contrario, es difícil llegar a un buen diagnóstico en adenomas hepatocelulares, nódulos de hiperplasia, fibrosis e inflamación crónica, ya que existe un alto porcentaje de falsos negativos y positivos.

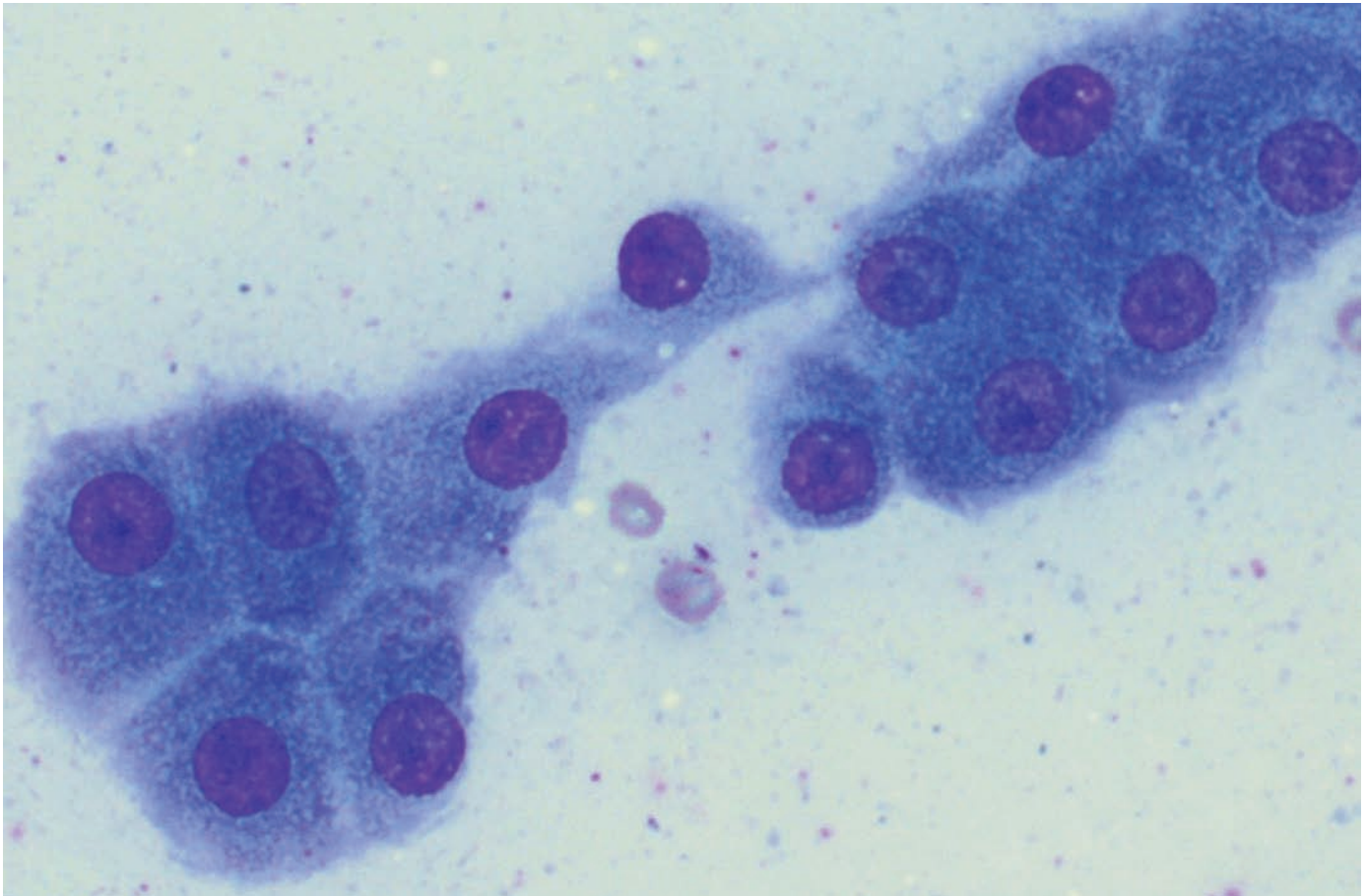
La contaminación sanguínea de las muestras hepáticas es inevitable, lo que puede interferir en la interpretación; su valoración es especialmente importante en procesos inflamatorios, ya que hay que diferenciar si las células inflamatorias observadas proceden de la sangre o del parénquima hepático.

En pacientes con ascitis, es importante tener en cuenta que células inflamatorias procedentes del líquido abdominal pueden ser mal interpretadas como pertenecientes al parénquima hepático.

Se consideran muestras no representativas aquellas en las que la celularidad es escasa o en las que las células no están intactas por defectos en la toma y procesado de las muestras.

Si las muestras son representativas, el estudio citológico del hígado permite establecer siete categorías; sin embargo, en muchas ocasiones, se observan características de más de una categoría en una única muestra.

Figura 1. Citología hepática: grupos de hepatocitos normales.



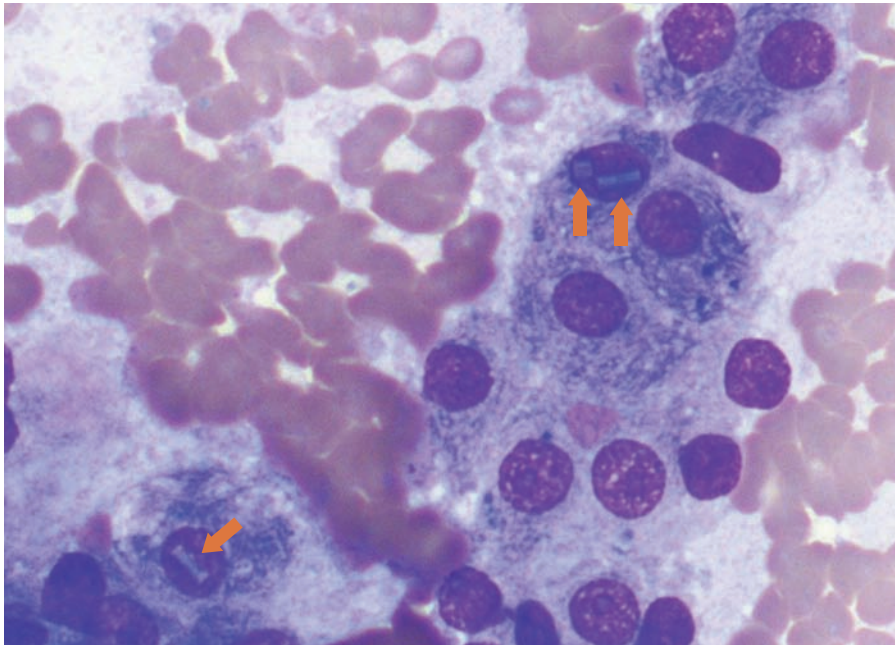
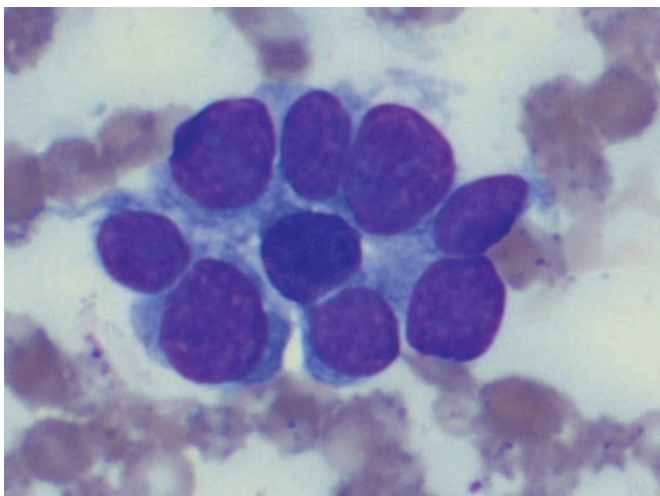


Figura 2. Citología hepática: hepatocitos con inclusiones nucleares cristalinas (señaladas con flechas).

Figura 3. Citología hepática: grupo de células de epitelio biliar.



Tejido normal

Las muestras obtenidas de un hígado normal se caracterizan por la presencia de hepatocitos y cantidades variables de sangre. Los hepatocitos suelen exfoliar en grupos bien organizados, aunque pueden aparecer aislados. Son células grandes (4-8 veces el diámetro de un hematíe), de morfología redonda, oval o poligonal, con bordes bien definidos. Pueden existir variaciones en el tamaño celular, pero la relación núcleo: citoplasma permanece constante. El citoplasma es abundante y ligeramente basófilo, de apariencia granular o finamente vacuolizado; puede contener pigmento biliar. El núcleo, redondo y en posición central o ligeramente excéntrica, presenta cromatina

ligeramente condensada y un nucléolo único prominente en muchas células; ocasionalmente se observan células binucleadas o nucléolos múltiples (fig. 1).

En los núcleos de algunos hepatocitos pueden observarse inclusiones cristalinas rectangulares, de las que se desconoce su significación (fig. 2).

Pueden observarse, en ocasiones, grupos compactos de células del epitelio biliar constituidos por células cuboidales o columnares más pequeñas que los hepatocitos y con un núcleo redondo central de cromatina densa sin nucléolos y escaso citoplasma. Estos grupos no suelen agrupar más de veinte células (fig. 3).

En muestras normales pueden observarse macrófagos y mastocitos ocasionales.

Nódulos de hiperplasia o regeneración

Los nódulos de hiperplasia son frecuentes en perros viejos y consisten en una proliferación focal de hepatocitos. La regeneración se produce como una respuesta inespecífica a diferentes procesos que provocan daño hepatocelular (fundamentalmente inflamaciones crónicas).

Las características citológicas de los nódulos de hiperplasia y regeneración son semejantes. Predominan los hepatocitos activados, que presentan un ligero incremento del tamaño celular y nuclear, ligera anisocitosis y anisocariosis, mayor basofilia, cambios citoplasmáticos ligeros compatibles con acumulación de glucógeno e incremento del

número de células binucleadas (figs. 4 y 5). Pueden aparecer mitosis. En ocasiones se acompañan de un aumento de células del epitelio biliar. Algunos nódulos contienen focos de hematopoyesis extramedular. Puntualmente, sobre todo en procesos de regeneración, se producen cuadros de fibrosis, caracterizados por la presencia de fibroblastos o bandas de material fibroso rosado (fig. 6). Los nódulos de hiperplasia/regeneración pueden ser difíciles de diferenciar de tejido normal y de adenomas o carcinomas bien diferenciados (fig. 7). Ocasionalmente, los cambios displásicos son tan marcados que pueden asemejar cambios neoplásicos malignos (fig. 8).

Figura 4. Citología hepática: nódulo de regeneración. Hiperplasia de hepatocitos acompañada de fibrosis.

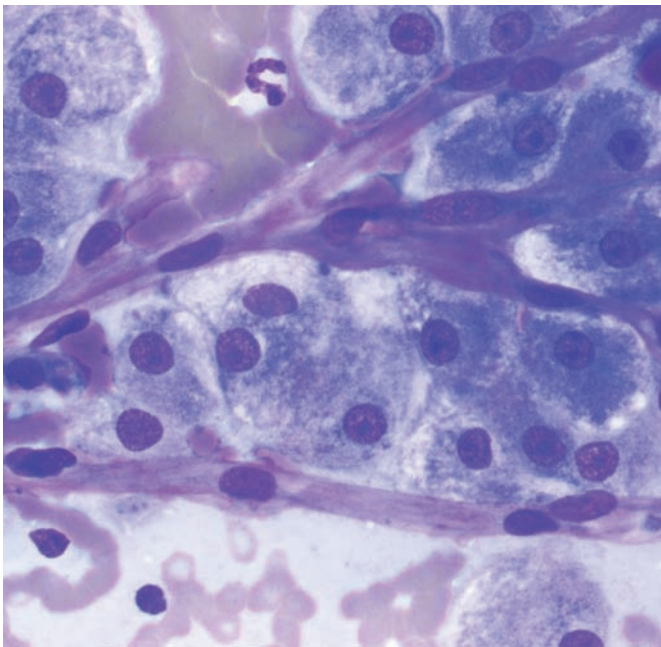
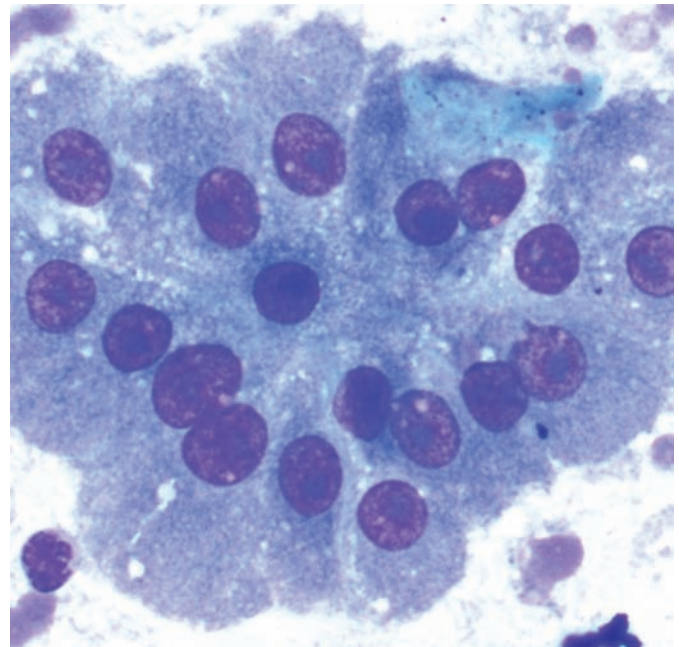


Figura 5. Citología hepática: grupo de hepatocitos activados, con incremento del tamaño y de la basofilia citoplasmática, y con ligeros cambios degenerativos.



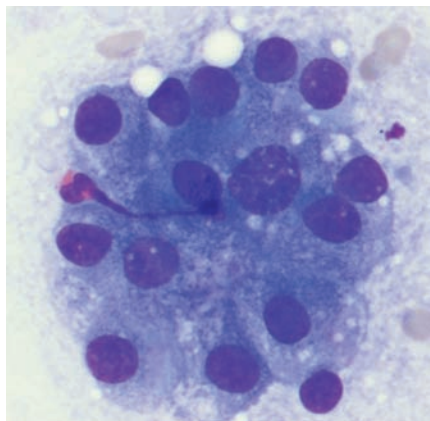


Figura 6. Citología hepática: grupo de hepatocitos activados, que muestran cambios nucleares como anisocariosis y alteraciones en el patrón de cromatina.

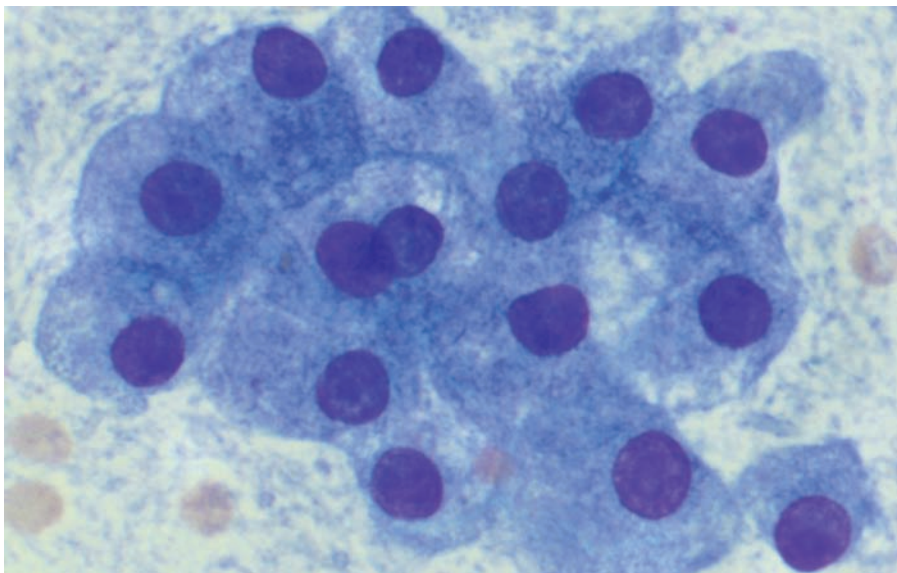
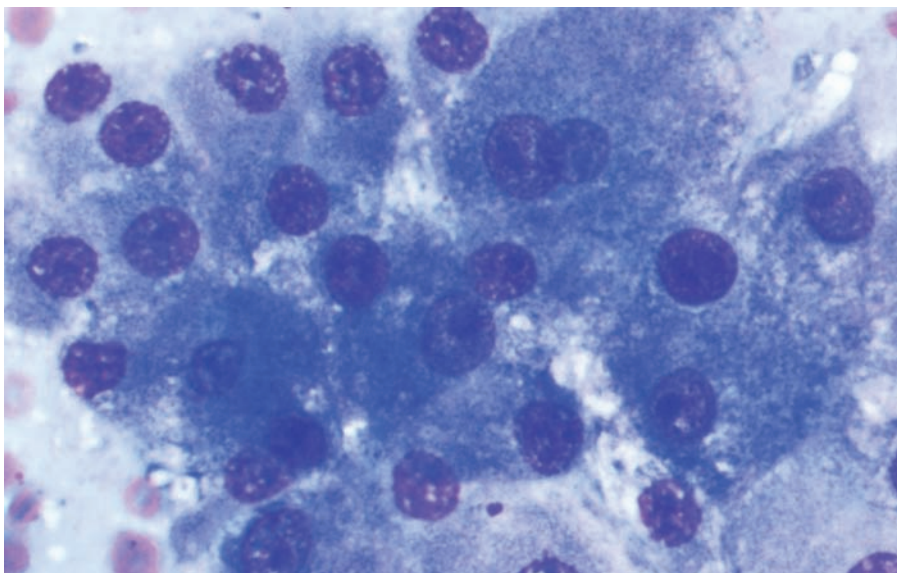


Figura 7. Citología hepática: grupo de hepatocitos activados, difíciles de diferenciar de hepatocitos normales, o de tumores benignos o bien diferenciados.

Figura 8. Citología hepática: grupo de hepatocitos activados con cambios severos que pueden confundirse con células neoplásicas.



Enfermedad inflamatoria

La principal dificultad para definir la existencia de un problema inflamatorio en hígado es que, normalmente, las muestras se acompañan de una gran contaminación sanguínea. En casos de leucocitosis, puede ser difícil diferenciar si la presencia de neutrófilos es consecuencia de la contaminación sanguínea o realmente infiltran el parénquima hepático. En caso de duda, puede ser necesario comparar los resultados con una muestra de sangre periférica. También puede ser útil comparar el número de neutrófilos entre las zonas que rodean grupos de hepatocitos y aquellas en las que sólo se observa sangre.

Cuando la presencia de células inflamatorias es masiva (sobre todo en procesos supurativos), la citología suele ser sencilla de interpretar; sin embargo, los procesos crónicos son más difíciles de diagnosticar y no puede excluirse su existencia, incluso en ausencia de un número significativo de células inflamatorias.

Las muestras inflamatorias se caracterizan por la presencia de hepatocitos normales y/o reactivos y células inflamatorias.

■ **Inflamación neutrofílica (hepatitis supurativa):** caracterizada por la presencia de abundantes neutrófilos, cuyo número supera los esperados por la contaminación sanguínea; pueden estar degenerados en procesos bacterianos (colangiohepatitis o diseminación hematógena). Los hepatocitos suelen ser escasos o, incluso, no llegar a observarse (fig. 9). En las colangiohepatitis se observan imágenes de colestasis. Generalmente, el porcentaje de linfocitos y macrófagos no supera el 10%.

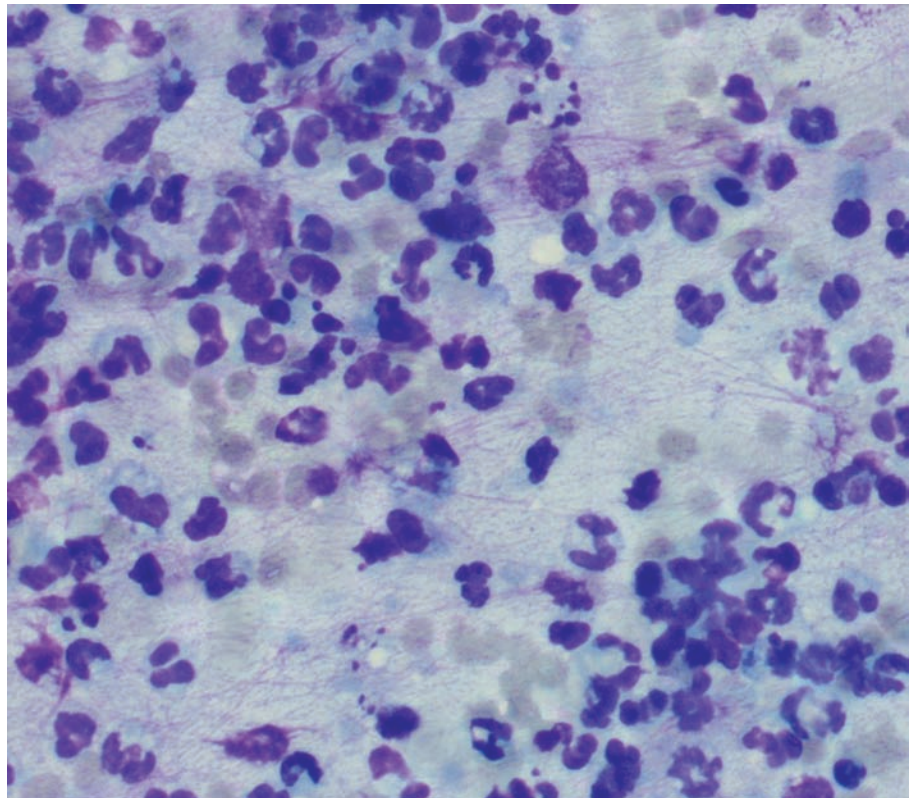


Figura 9. Citología hepática: inflamación neutrofílica con incremento del número de neutrófilos degenerados. No se observan hepatocitos.

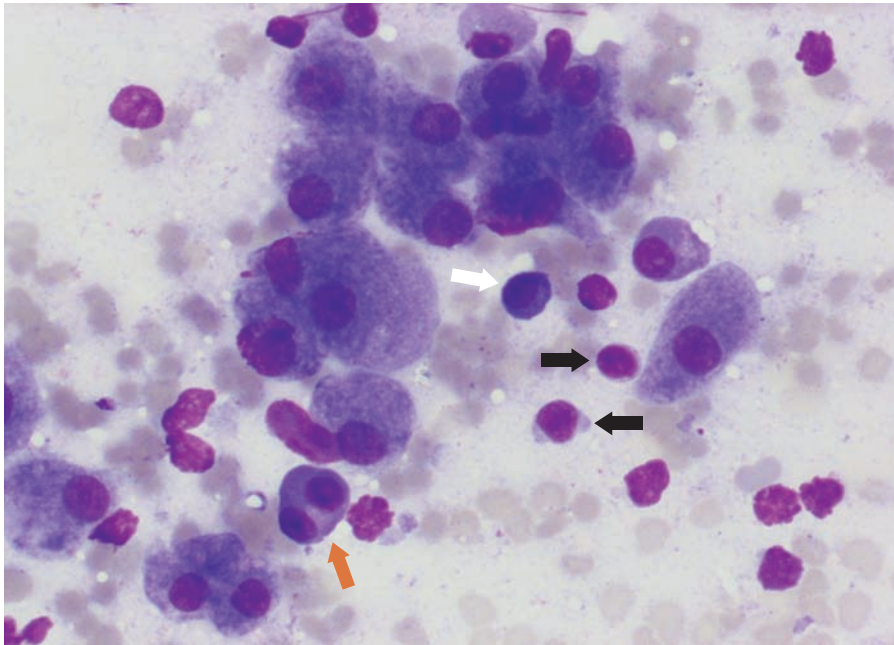


Figura 10. Citología hepática: inflamación linfoplasmocitaria. Se observan hepatocitos activados, linfocitos pequeños (señalados con flechas negras) y células plasmáticas (señalada con flecha blanca), una de ellas binucleada (señalada con flecha de color).

■ **Inflamación mixta:** caracterizada por una mezcla de neutrófilos, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas; en algunos casos, se observan macrófagos gigantes multinucleados. La inflamación se asocia a cambios reactivos en los hepatocitos, fibrosis, colestasis y proliferación de células biliares. Esta imagen se asocia a hepatitis crónica activa, infecciones fúngicas, protozoarias (leishmaniosis) y por micobacterias, peritonitis infecciosa felina y enfermedades inmuno-mediadas. En muchas ocasiones, la citología no permite identificar la causa, siendo necesario el estudio histopatológico.

■ **Inflamación linfocítica o linfoplasmocitaria:** caracterizada por un infiltrado de linfocitos pequeños con un número variable de plasmáticas (fig. 10). Son procesos más frecuentes

en la especie felina. El número de linfocitos puede ser tan bajo que no pueda diferenciarse de la normalidad. Como en los procesos mixtos, puede observarse activación de hepatocitos, fibrosis, colestasis y proliferación de células biliares. Si el número de linfocitos es muy grande, hay que diferenciarlo de leucemias crónicas y linfoma de células pequeñas (sobre todo en gatos). Esta inflamación forma parte del complejo de hepatitis crónicas progresivas, que son procesos difíciles de diagnosticar mediante citología.

■ **Inflamación eosinofílica:** es poco frecuente y acompaña a reacciones de hipersensibilidad, parásitos, enteritis eosinofílica y mastocitoma diseminado.

Hematopoyesis extramedular

La presencia de diferentes estadios de maduración de células hematopoyéticas, con predominio de formas intermedias o tardías, caracteriza los focos de hematopoyesis extramedular que se producen como respuesta a la anemia o enfermedad inflamatoria sistémica o en nódulos de hepatitis crónica. Normalmente, predomina la serie eritroide. Es necesario diferenciarla de procesos mieloproliferativos (en la hematopoyesis predominan formas intermedias o maduras, mientras que en las leucemias predominan las formas blásticas) y procesos inflamatorios (en los que predominan los leucocitos maduros).

Tumores

Existen numerosos tumores que pueden localizarse en el hígado, tanto de forma primaria como metastásica.

- 1 Adenoma y carcinoma hepatocelular**

Las células de los adenomas y algunos carcinomas bien diferenciados son similares a los hepatocitos normales o reactivos, por lo que, en muchos casos, es imposible diferenciarlos de tejido normal o nódulos de hiperplasia (fig. 11). Los carcinomas menos diferenciados presentan características evidentes de malignidad (fig. 12). La presencia de inflamación, grupos de hepatocitos de apariencia normal y necrosis en combinación con hepatocitos atípicos requiere estudio histopatológico porque las respuestas regenerativas en el tejido hepático pueden asemejarse a neoplasia (fig. 13).
- 2 Adenoma y adenocarcinoma de conducto biliar (colangiocarcinoma)**

En estos tumores, predominan las células de epitelio biliar sobre los hepatocitos. Los benignos o malignos bien diferenciados se caracterizan por la presencia de grupos de células pequeñas cuboidales, con núcleos fuertemente teñidos redondos-ovalados y un patrón de cromatina finamente reticular (fig. 14). Los adenocarcinomas presentan criterios de malignidad, aunque suelen carecer de nucléolos (fig. 15). Puede ser difícil diferenciar algunos carcinomas biliares de carcinomas metastásicos.
- 3 Carcinomas anaplásicos**

Las células pierden las características típicas de hepatocitos o células de epitelio biliar; por lo que generalmente no pueden diferenciarse de carcinomas metastásicos (figs. 16 y 17).
- 4 Tumores neuroendocrinos**

Procedentes de las células APUD del sistema biliar o metástasis de tumores de páncreas (insulinomas), feocromocitomas y tumores de tiroides. Citológicamente es imposible diferenciarlos. Las citologías se caracterizan por la presencia de numerosos núcleos desnudos cuyo número supera al de células intactas (fig. 18). Las células intactas son más pequeñas que los hepatocitos, de morfología redonda o poliédrica y aparecen aisladas o en pequeños grupos; en general, presentan núcleos redondos con cromatina densa y citoplasma abundante pálido que puede presentar vacuolas. Las células suelen presentar escasos criterios de malignidad y, con frecuencia, se encuentran incluidas en una matriz basófila o rosada (fig. 19).

- 5 — **Sarcomas** Con la excepción del hemangiosarcoma, la mayoría de los sarcomas hepáticos son metastásicos. Se observan células con características de tejido conjuntivo y signos citológicos de malignidad (fig. 20).
- 6 — **Linfosarcomas** En la mayoría de los casos, los linfosarcomas se caracterizan por la presencia de numerosos linfoblastos (más del 50% de las células nucleadas de la muestra), aunque pueden diagnosticarse con porcentajes mucho más bajos, incluso de un 5% (fig. 21). Los linfosarcomas linfocíticos son más frecuentes en la especie felina; en estos casos, la población neoplásica está formada por linfocitos pequeños bien diferenciados, lo que puede complicar el diagnóstico al ser difícil distinguir del infiltrado inflamatorio que acompaña a la colangiohepatitis no supurativa o linfoplasmocitaria (fig. 22).
- 7 — **Enfermedades mieloproliferativas** La infiltración hepática que se produce en el curso de las leucemias mieloides debe diferenciarse de hematopoyesis extramedular; inflamación y linfosarcoma. En los dos primeros casos el principal criterio de diferenciación es el predominio de células blásticas frente a formas más maduras. La diferenciación entre blastos mieloides y linfoides puede llegar a requerir estudios inmunohistoquímicos (fig. 23).
- 8 — **Histiocitosis maligna** Caracterizada por la presencia de abundantes células redondas de gran tamaño con abundante citoplasma de color claro que puede estar vacuolizado y numerosas atipias nucleares. En tumores bien diferenciados, puede ser imposible distinguir las de macrófagos (fig. 24).
- 9 — **Mastocitomas** En los que se observa la presencia de abundantes mastocitos (fig. 25).

Carcinoma hepatocelular

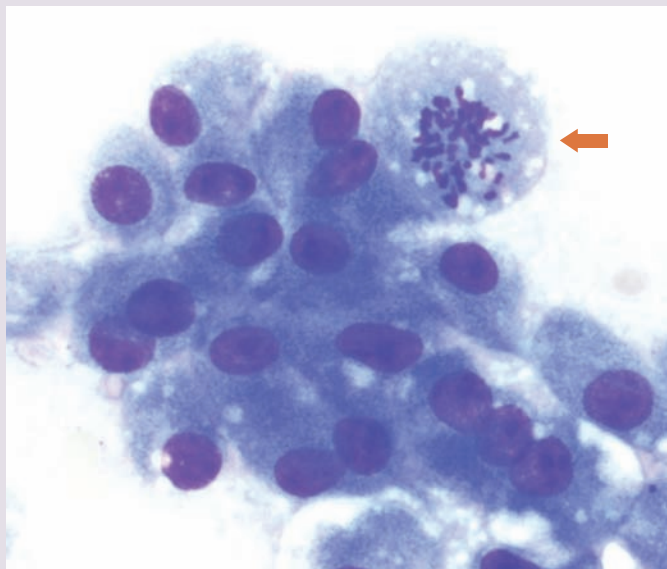


Figura 11. Citología hepática: carcinoma hepatocelular bien diferenciado, difícil de distinguir de hepatocitos activados. Señalada con flecha se observa una mitosis atípica, único criterio evidente de malignidad.

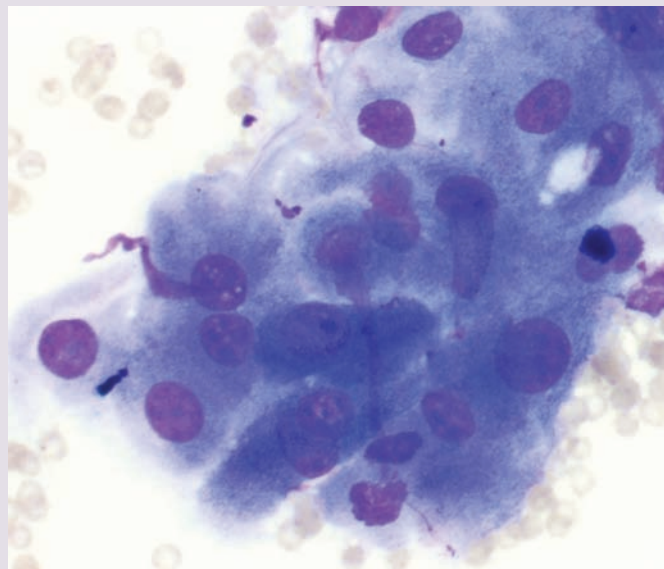


Figura 12. Citología hepática: carcinoma hepatocelular: Se observan alteraciones en la disposición del grupo, anisocariosis muy marcada y nucléolos múltiples.

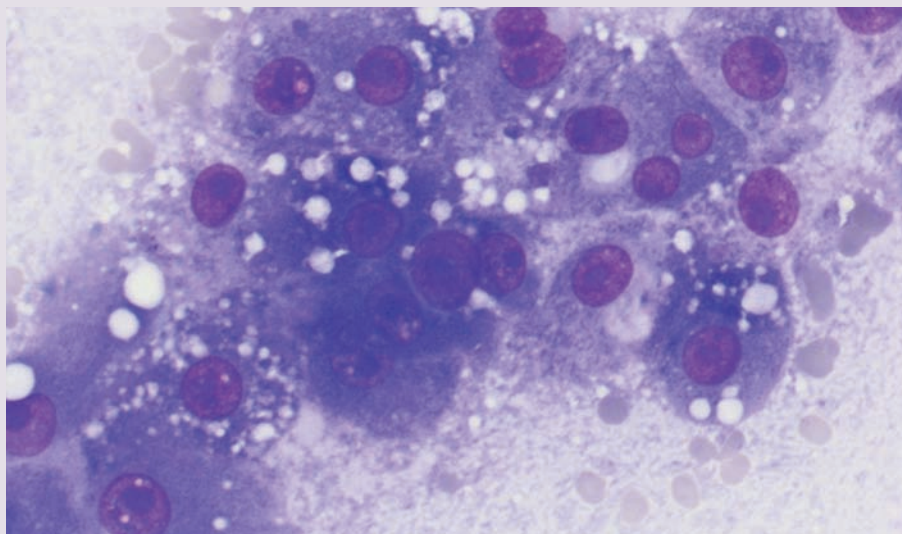
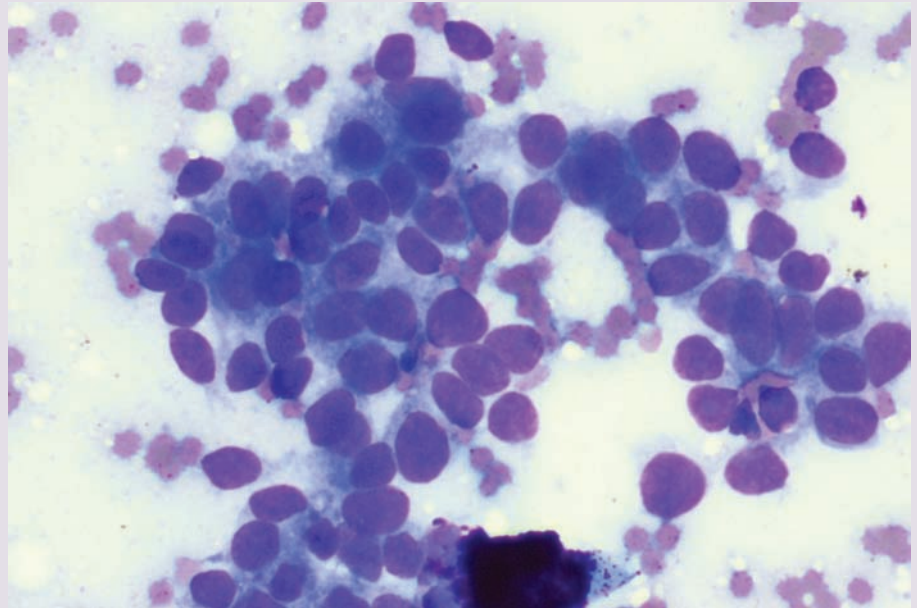
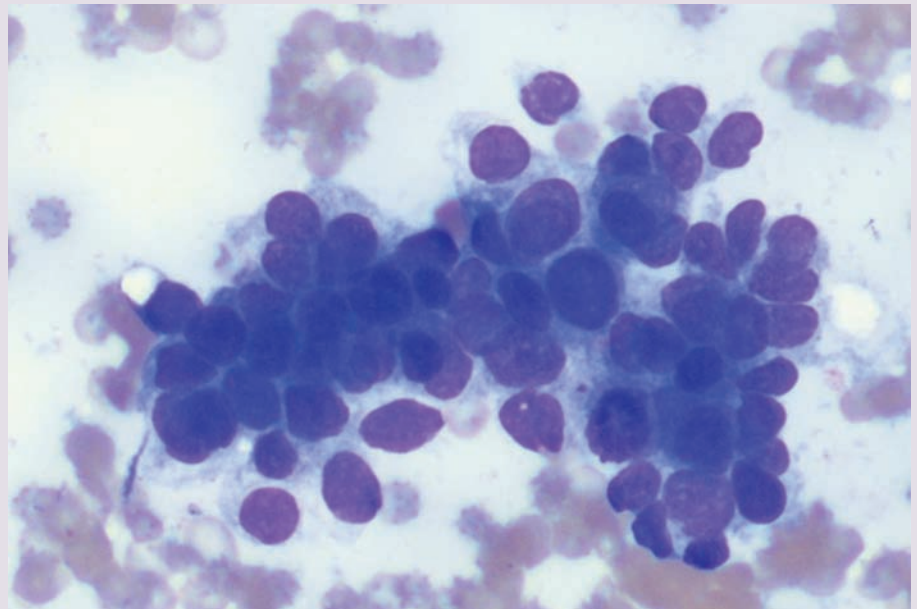


Figura 13. Citología hepática: carcinoma hepatocelular: Se observa anisocariosis marcada, imágenes de moldeado nuclear y presencia de nucléolos de gran tamaño.

Colangiocarcinoma



Figuras 14 y 15. Citología hepática: colangiocarcinoma. Predominan las células de epitelio biliar en grupos desorganizados y con anisocariosis moderada.



Carcinoma

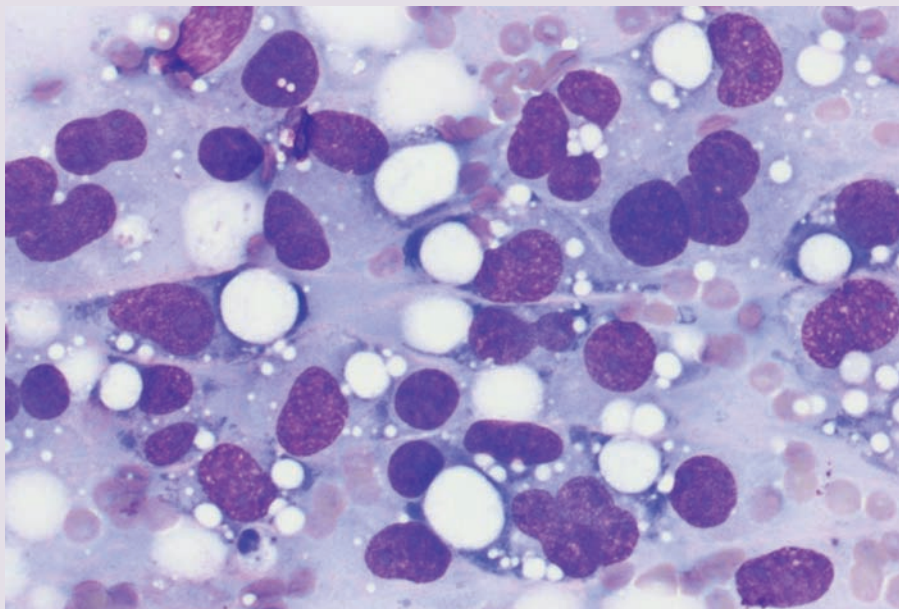


Figura 16. Citología hepática: carcinoma hepático indiferenciado, rico en lípidos. Los hepatocitos presentan grandes vacuolas citoplasmáticas resultantes de la acumulación de lípidos.

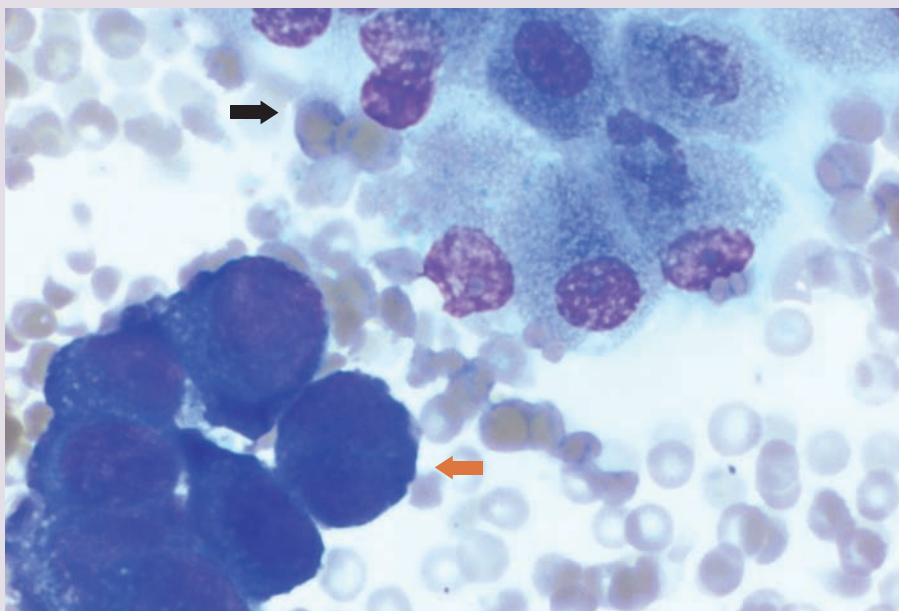


Figura 17. Citología hepática: carcinoma metastásico. Se observan hepatocitos normales (señalados con flecha negra) y un grupo de células epiteliales malignas (señaladas con flecha de color). Es imposible diferenciarlo de colangiocarcinoma indiferenciado.

Tumor neuroendocrino

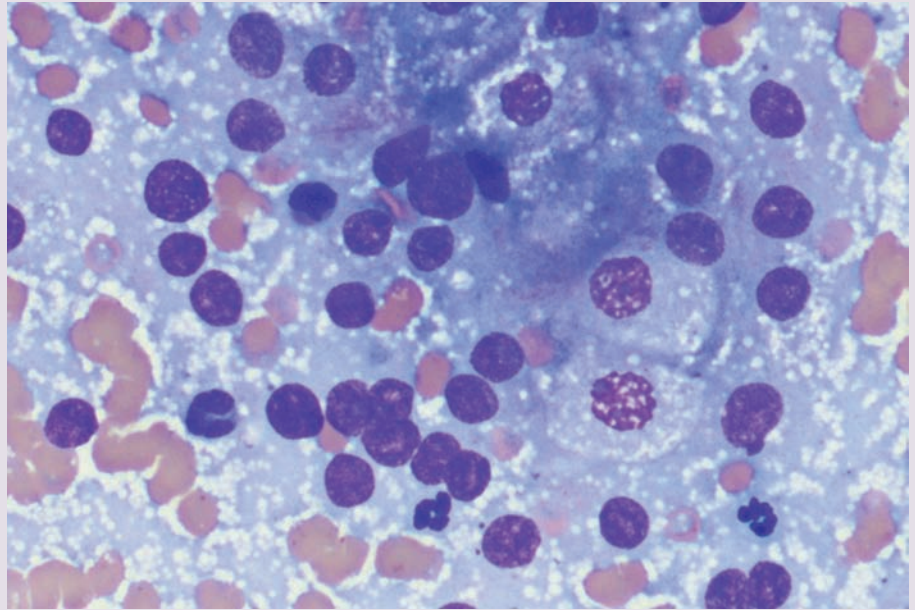


Figura 18. Citología hepática: tumor neuroendocrino. Se observan numerosos núcleos desnudos incluidos en una matriz basófila.

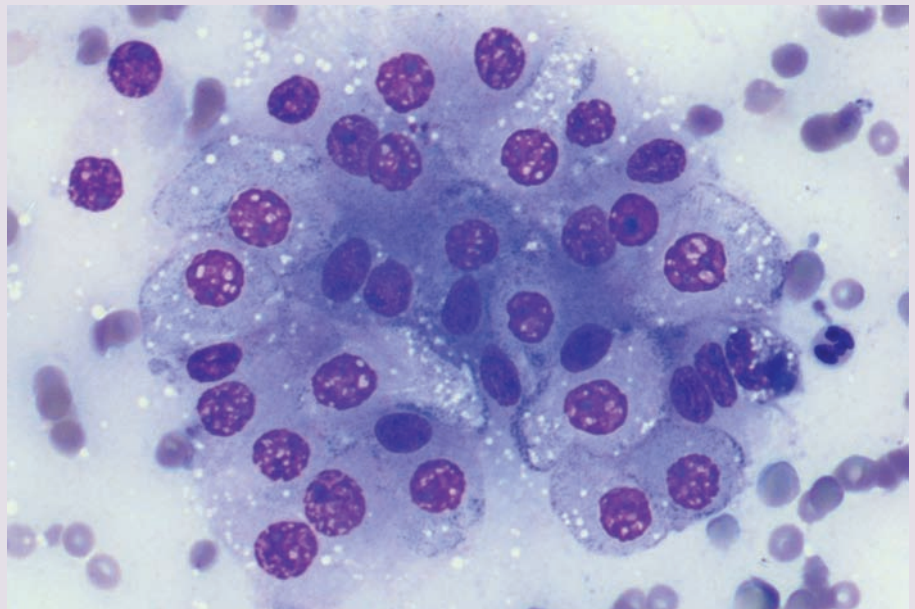


Figura 19. Citología hepática: tumor neuroendocrino. Grupo de células de morfología poliédrica, núcleos redondos con cromatina densa y citoplasma pálido abundante con vacuolas.

Sarcoma

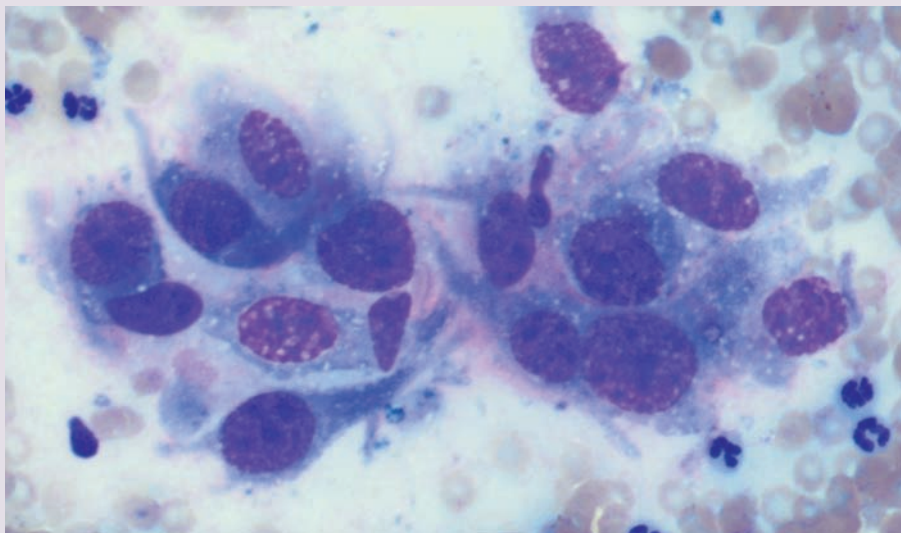


Figura 20. Citología hepática: sarcoma, caracterizado por la presencia de células conjuntivas con criterios de malignidad.

Linfosarcoma

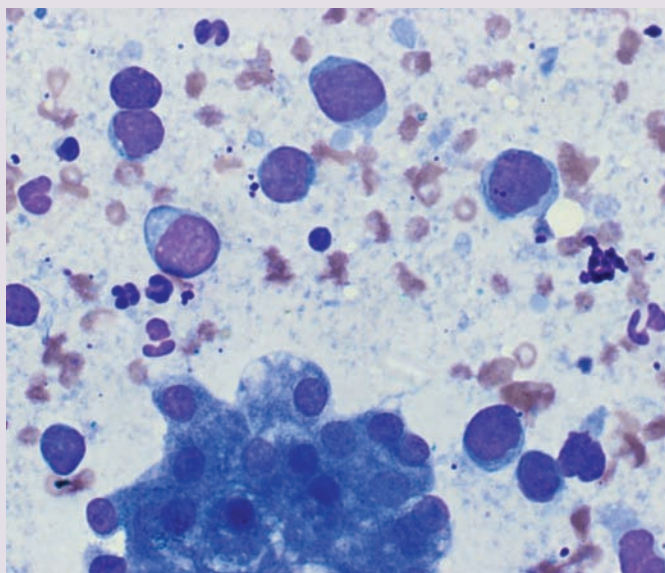


Figura 21. Citología hepática: linfosarcoma. Se observa un grupo de hepatocitos activados y numerosos linfoblastos.

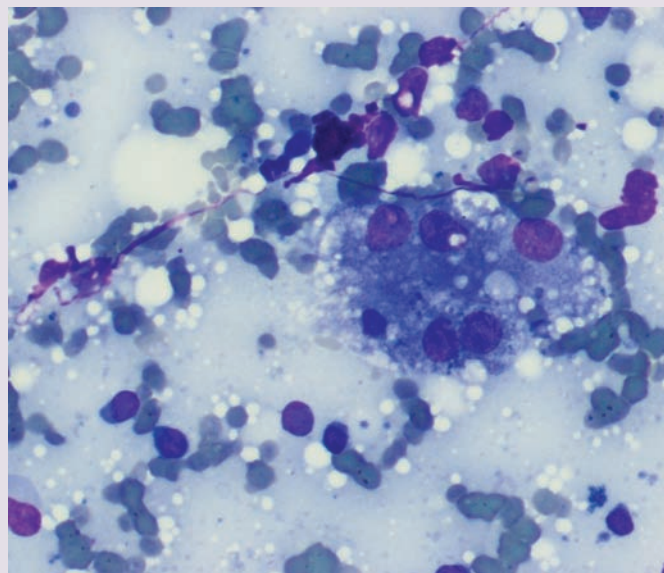


Figura 22. Citología hepática: se observa un grupo de hepatocitos con características degenerativas y un infiltrado de linfocitos maduros. Es difícil diferenciar si se trata de un linfosarcoma linfocítico o de una inflamación linfocítica.

Enfermedades mieloproliferativas

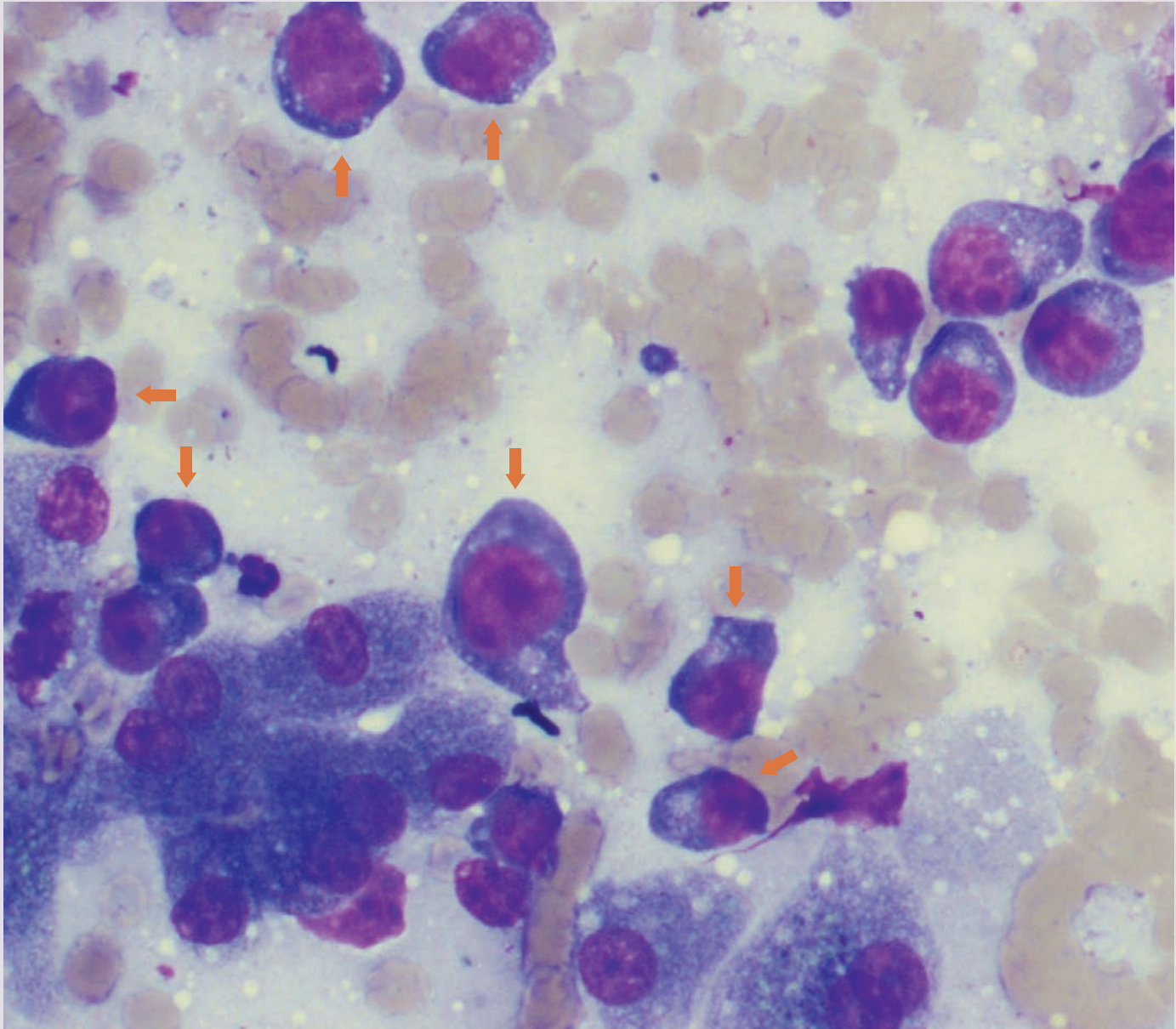


Figura 23. Citología hepática: leucemia mieloblástica. Se observan hepatocitos activados y numerosas células blásticas (señaladas con flechas).

Histiocitosis maligna

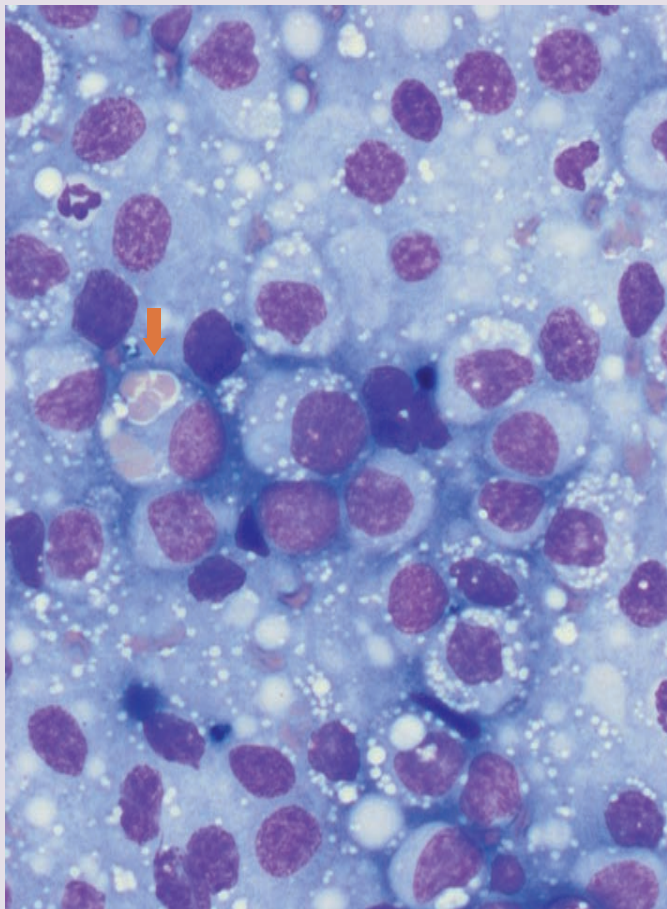


Figura 24. Citología hepática: histiocitosis maligna. Predominan las células redondas de gran tamaño con abundante citoplasma de color claro vacuolizado. Una de ellas presenta eritrofagocitosis (señalada con flecha) lo que indica su naturaleza macrofágica.

Mastocitoma

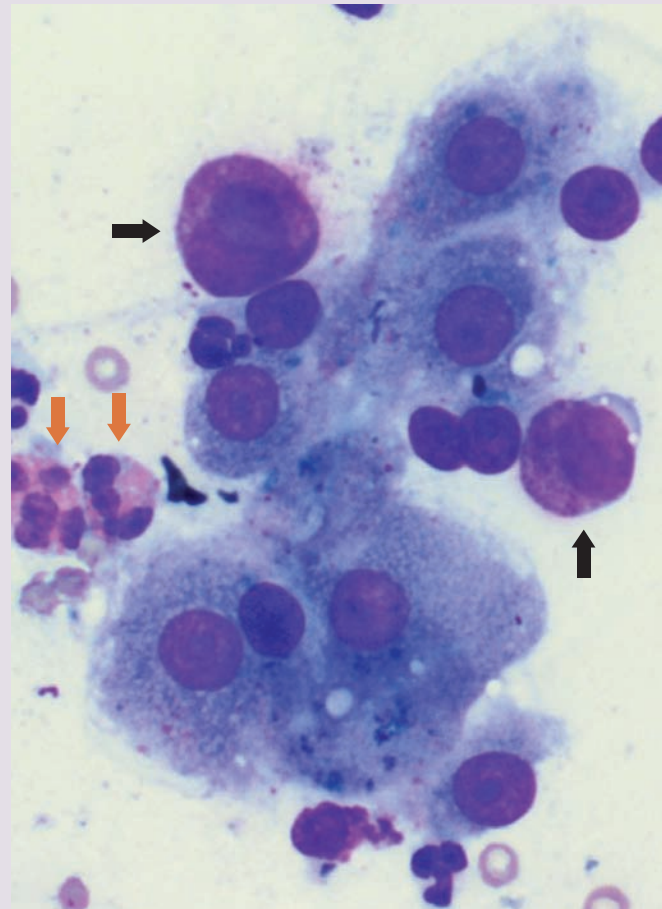


Figura 25. Citología hepática: mastocitoma. Se observan hepatocitos, mastocitos (señalados con flechas negras) y eosinófilos (señalados con flechas de color).

Cambios metabólicos y degenerativos

■ **Cambios vacuolares:** por causas metabólicas y degenerativas se producen cambios en los hepatocitos como consecuencia de depósitos intracelulares de glucógeno, lípidos o agua. Todos ellos se caracterizan por la aparición de vacuolas citoplasmáticas, cuya apariencia permite diferenciar el origen del proceso.

■ **Degeneración lipídica:** en la degeneración lipídica se produce la acumulación de lípidos en vacuolas claras bien definidas que dilatan el citoplasma. Las vacuolas pueden ser múltiples y de pequeño tamaño o una grande que desplaza el núcleo a la periferia. También se observan vacuolas semejantes en el espacio intercelular (figs. 26 y 27). La acumulación de vacuolas puede ser tan intensa que distorsione la morfología celular, de forma que puede ser difícil reconocer hepatocitos (fig. 28). Para realizar una interpretación correcta debe valorarse la severidad de la acumulación (ligera, moderada, severa) y el número de hepatocitos afectados. En gatos, la degeneración lipídica es un proceso frecuente (fig. 29); los cambios más importantes acompañan al síndrome de lipidosis hepática, aunque pueden ser moderados o ligeros y secundarios a diabetes mellitus, pancreatitis, colangiohepatitis y linfoma u otros tumores. En perros es un proceso menos frecuente, normalmente asociado a diabetes mellitus, y suele cursar con un grado ligero a moderado.

Figura 27. Citología hepática: degeneración lipídica. Los hepatocitos presentan vacuolas múltiples de pequeño tamaño y únicas de gran tamaño que desplazan el núcleo a la periferia. También se observan en el espacio intercelular.

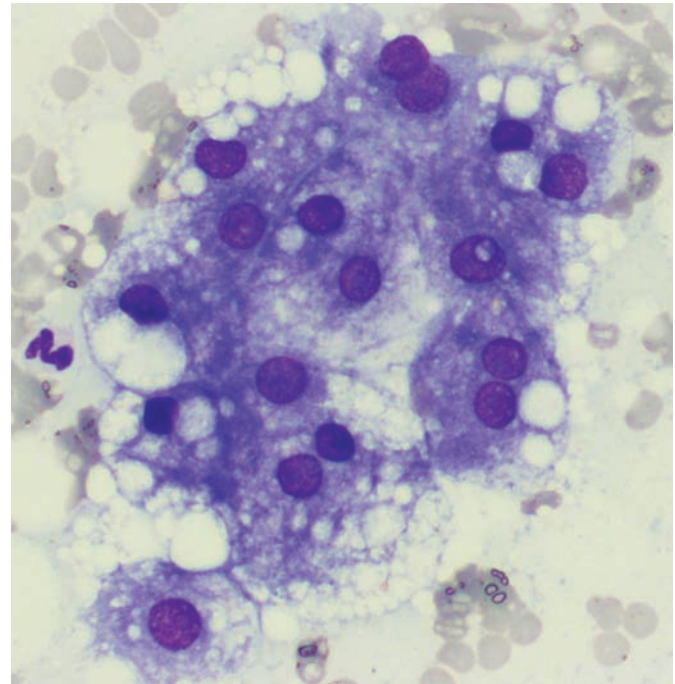
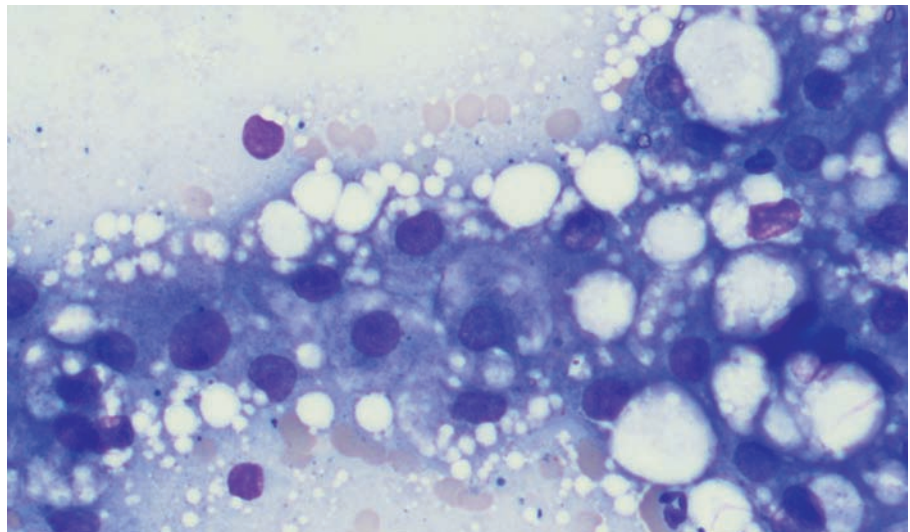


Figura 26. Citología hepática: degeneración lipídica. Los hepatocitos presentan vacuolas bien definidas que dilatan el citoplasma y desplazan el núcleo.



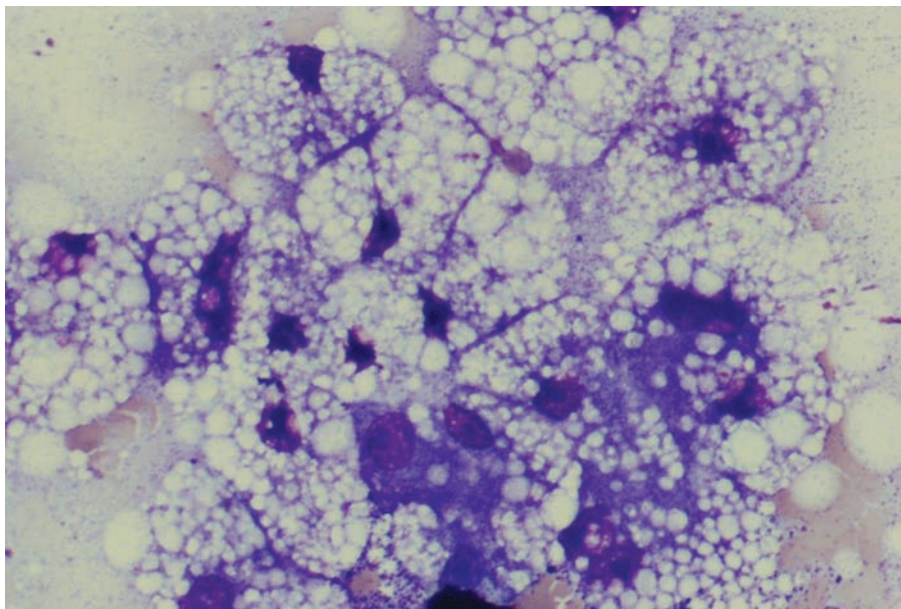


Figura 28. Citología hepática: degeneración lipídica (lipidosis felina). La acumulación de vacuolas es tan importante que distorsiona completamente la morfología celular.

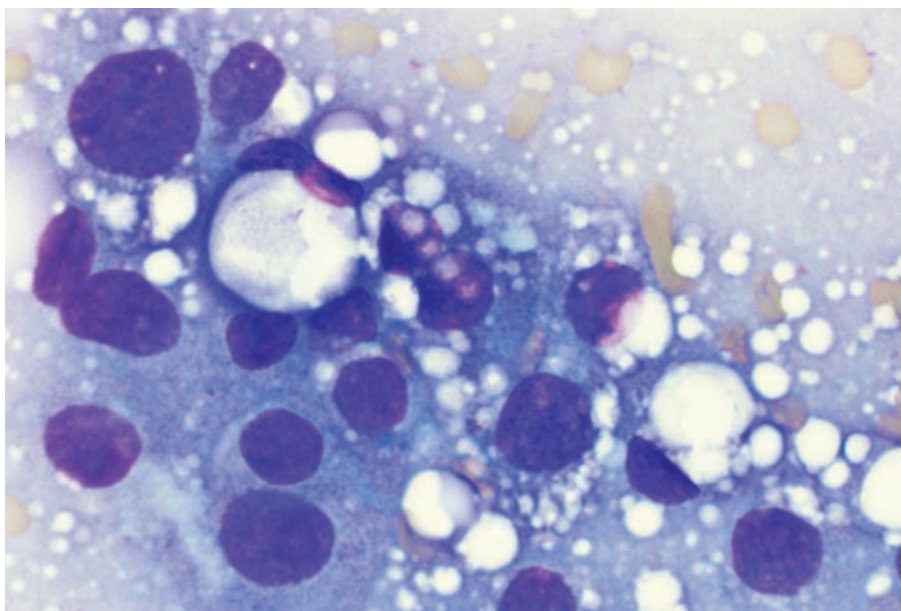
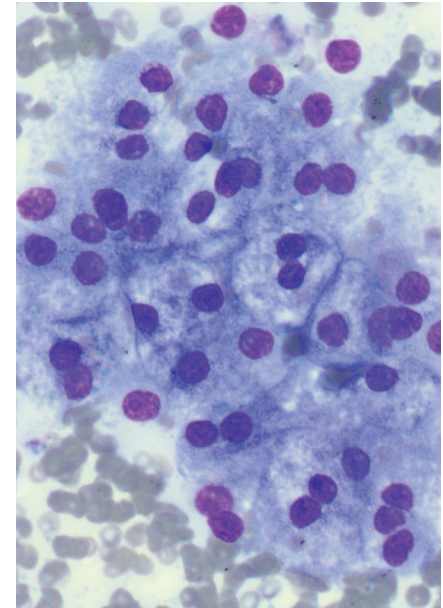
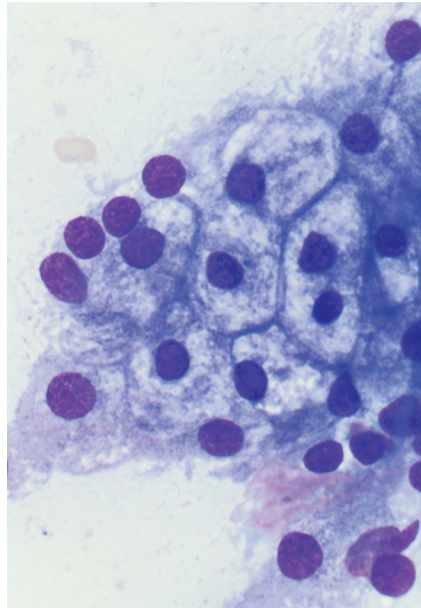


Figura 29. Citología hepática: degeneración lipídica. Los cambios nucleares son tan marcados que sugieren la presencia de un carcinoma hepatocelular primario.

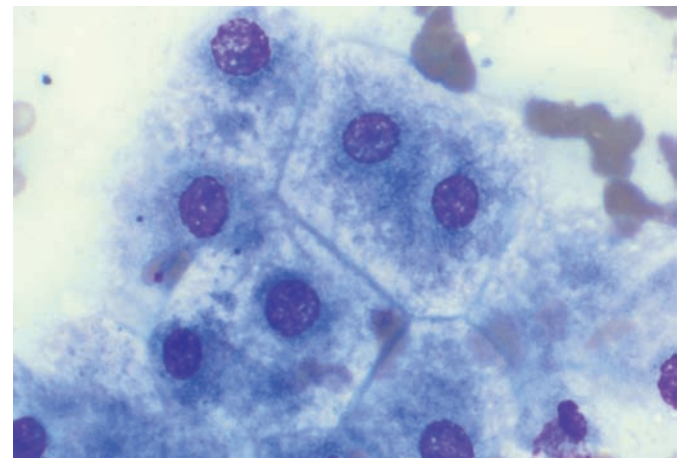
■ **Degeneración no lipídica:** el acúmulo de agua o glucógeno conduce a una degeneración de los hepatocitos caracterizada por la dilatación del citoplasma (los hepatocitos duplican o triplican el tamaño) con una apariencia espumosa y con zonas claras difusas, sin que se distingan vacuolas claramente definidas (figs. 30 y 31); los cambios más evidentes se producen en la periferia de las células (fig. 32). En casos graves, los hepatocitos adquieren caracteres de gigantismo. Combinados con grupos degenerados, pueden observarse otros de hepatocitos normales. La causa más frecuente de degeneración no lipídica es el acúmulo de glucógeno por hepatopatía esteatóidea; sin embargo, puede producirse una degeneración idiopática en ausencia de hiperadrenocorticismos o exposición a glucocorticoides. La degeneración por glucógeno no puede diferenciarse citológicamente de la degeneración hídrica asociada a isquemia hepatocelular, colestasis o procesos tóxicos.

■ **Necrosis:** en los procesos necróticos, los hepatocitos presentan cambios degenerativos vacuolares en el citoplasma y, en algunos grupos, pierden sus núcleos; los restos celulares se observan como material amorfo basófilo en grumos; con frecuencia, se acompaña de procesos de fibrosis. Los procesos necróticos hepáticos se producen de forma secundaria a diferentes patologías como infecciones, isquemia, hepatotoxicidad, neoplasia y enfermedades metabólicas.



Figuras 30 y 31. Citología hepática: degeneración no lipídica. Los hepatocitos presentan zonas claras difusas en su citoplasma, pero no se aprecian vacuolas definidas.

Figura 32. Citología hepática: degeneración no lipídica. Los cambios citoplasmáticos son más evidentes en la periferia celular.



Alteraciones de pigmentos

Se pueden encontrar cuatro tipos de pigmentos en los hepatocitos; sin embargo, es difícil diferenciarlos en las preparaciones citológicas teñidas por técnicas hematológicas y es necesario aplicar tinciones específicas.

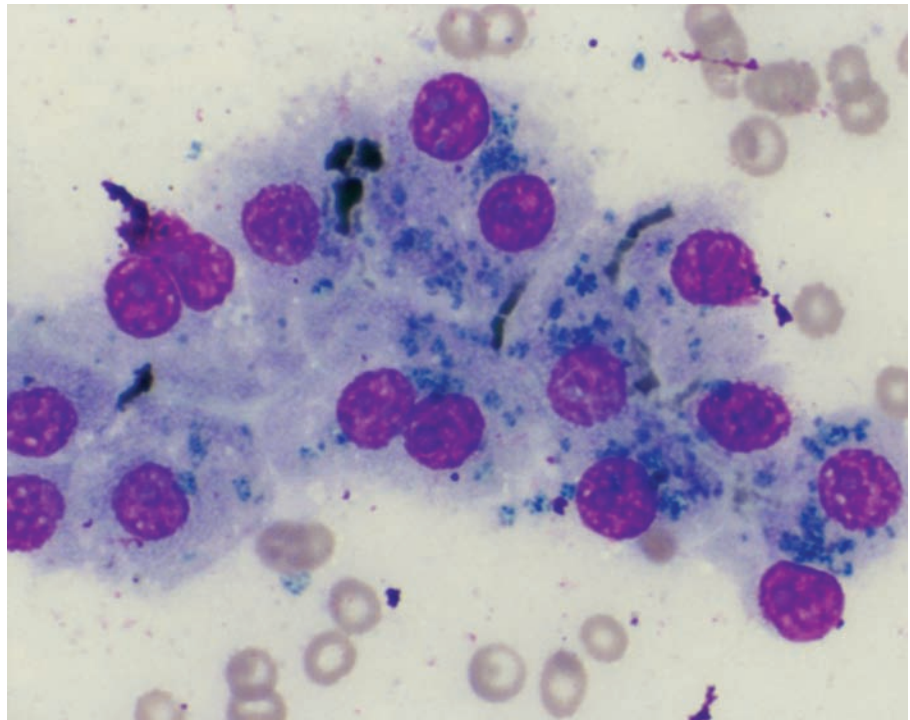
■ **Pigmento biliar:** los acúmulos de pigmento biliar aparecen como gránulos verde oscuro-negro, de pequeño tamaño, en el citoplasma de los hepatocitos o en forma de estructuras tubulares en los canalicúlos biliares entre hepatocitos adyacentes (fig. 33). La presencia de un exceso de pigmento biliar indica coléctasis, proceso que acompaña a numerosas patologías hepáticas, sobre todo inflamatorias e infiltrativas difusas.

■ **Hemosiderina:** se observa de color dorado-marrón en el interior de hepatocitos o de macrófagos. Generalmente, se asocia a procesos anémicos. La presencia de hemosiderina puede confirmarse con tinciones azul de Prusia.

■ **Cobre:** las acumulaciones de cobre que acompañan a la hepatopatía asociada al cobre y a hepatopatías crónicas en algunas razas de perros aparece como gránulos verde pálido, muchas veces difíciles de diferenciar de pigmento biliar. La tinción con ácido rubeánico confirma la presencia de cobre.

■ **Lipofucsina:** se confunde con pigmento biliar o hemosiderina, aunque no suele ser tan verde como el pigmento biliar ni tan dorado como la hemosiderina. Se encuentra frecuentemente en gatos viejos, aunque no suele ser un hallazgo patológico. Se confirma mediante tinciones de azul luxol.

Figura 33. Citología hepática: colestasis. Los hepatocitos presentan pigmento citoplasmático compatible con pigmento biliar. Entre los hepatocitos se observan estructuras tubulares por acumulación de pigmento en los canalicúlos biliares.



Citología de páncreas

Indicaciones del estudio citológico

La citología pancreática no es una técnica habitual de diagnóstico en medicina veterinaria. Sin embargo, puede emplearse para diferenciar procesos inflamatorios de neoplásicos; el riesgo de la técnica es mínimo, a pesar de la creencia habitual de que la manipulación del páncreas puede provocar una pancreatitis secundaria.

En el perro, la citología está indicada, fundamentalmente, para el diagnóstico de masas pancreáticas. Los hallazgos clínicos, ecográficos y laboratoriales suelen ser suficientes para diagnosticar pancreatitis aguda, por lo que la citología no constituye una técnica de elección, salvo cuando cursa con lesiones nodulares; es más útil en procesos inflamatorios crónicos y en procesos neoplásicos, permitiendo la diferenciación entre tumores exocrinos y endocrinos.

En medicina felina, la citología es especialmente útil en procesos inflamatorios; su eficacia diagnóstica supera a la de las pruebas bioquímicas que generalmente se encuentran normales o sólo mínimamente alteradas, incluso en procesos agudos.

Recogida y manejo de muestras

Las muestras citológicas de parénquima pancreático se obtienen mediante PAF, siempre bajo control ecográfico; también pueden ser útiles las improntas realizadas sobre muestras obtenidas quirúrgicamente.

Una vez evaluada la zona donde se va a realizar la punción, se inserta la aguja que se mueve hacia delante y hacia atrás rápidamente sin modificar su dirección. La redirección de la aguja en el interior del páncreas puede producir laceraciones, hemorragias y liberación de enzimas pancreáticas en el tejido. Es conveniente obtener muestras de dos o tres puntos diferentes de la lesión.

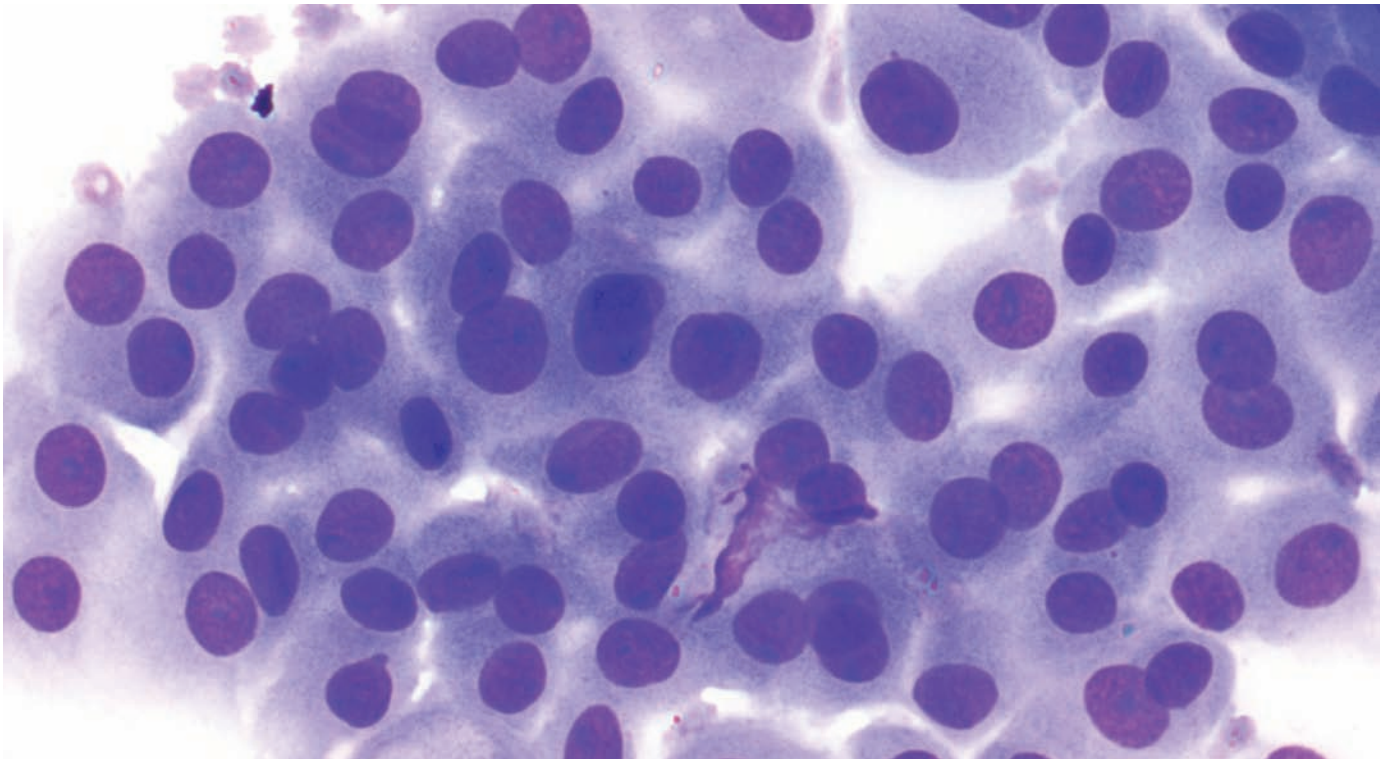
Las muestras se extienden y tiñen según las técnicas citológicas habituales.

Interpretación citológica

Hay que tener en cuenta que el páncreas se encuentra adyacente a numerosos órganos abdominales, por lo que es frecuente que las citologías pancreáticas contengan células de dichos órganos, sobre todo hepatocitos y células del epitelio gástrico, aunque incluso pueden observarse células esplénicas y del epitelio intestinal. En ocasiones, las muestras pueden contaminarse con células mesoteliales normales o reactivas que pueden confundirse con células neoplásicas en muestras poco celulares (fig. 34).

Hay que tener en cuenta que los procesos neoplásicos del páncreas pueden producir obstrucción de los conductos, lo que provoca liberación enzimática y el consecuente desarrollo de una pancreatitis. Por lo tanto, si se obtienen muestras del tejido inflamatorio que rodea la neoplasia, puede que no se obtengan muestras significativas de tumor.

Figura 34. Citología pancreática: grupo de células mesoteliales obtenido al realizar la punción de páncreas.



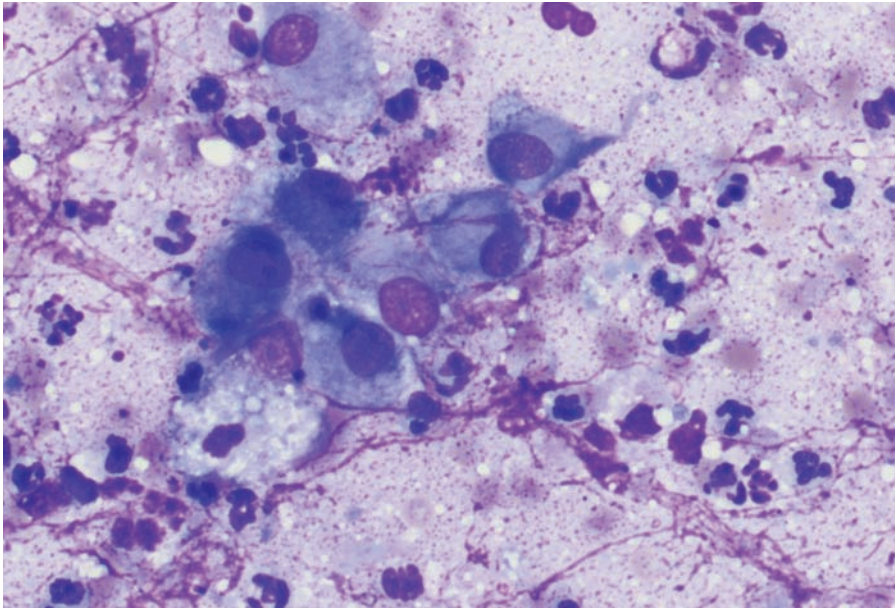


Figura 35. Citología pancreática: inflamación neutrofilica. Se observan células acinares con signos de activación.

Citología de páncreas normal

La mayoría de las células observadas en una citología pancreática son células acinares que constituyen el páncreas exocrino. Son células epiteliales que generalmente forman acinis pequeños, fuertemente cohesionados, aunque pueden observarse en grupos mayores o, incluso, de forma individual. Las células son poliédricas, con un núcleo excéntrico con un pequeño nucléolo y abundante citoplasma granular con pequeñas vacuolas.

Ocasionalmente, pueden observarse células del epitelio ductal, que forman grupos de mayor tamaño, con células cuboidales o columnares, con un núcleo redondeado y escaso citoplasma.

Rara vez se observan células de los islotes endocrinos en las citologías normales y, generalmente, se confunden con células acinares individuales.

Citología de procesos inflamatorios

Las inflamaciones agudas se caracterizan por un incremento del número de neutrófilos, intactos y degenerados, con presencia de un número variable de células acinares que pueden presentar signos de activación en respuesta a la inflamación (fig. 35). Es frecuente que se acompañen de numerosos restos celulares necróticos. La citología de una pancreatitis aguda es indistinguible de la de un absceso pancreático.

En la pancreatitis crónica se produce fibrosis y atrofia del parénquima. Las citologías muestran contaminación sanguínea con escasa celularidad, compuesta de células epiteliales (que pueden presentar importantes cambios displásicos), fibroblastos ocasionales y focos de linfocitos y neutrófilos.

Citología de procesos neoplásicos

El adenocarcinoma pancreático es la neoplasia más frecuente. Pueden proceder de células acinares o ductales; es frecuente que ambas se encuentren asociadas. El diagnóstico de tumores bien diferenciados puede ser complicado, ya que los cambios citológicos de malignidad son ligeros y difíciles de diferenciar de procesos hiperplásicos o de cambios asociados a inflamación, aunque, generalmente, la celularidad es mayor en procesos neoplásicos. Por el contrario, en los tumores poco diferenciados es frecuente observar criterios citológicos de malignidad en los grupos celulares (fig. 36).

Los tumores de páncreas endocrino (insulinomas) pertenecen al grupo de tumores neuroendocrinos. La citología muestra las características típicas de este tipo de neoplasia: se observan numerosos núcleos desnudos incluidos en una matriz basófila granular y escasas células intactas, generalmente individuales o en pequeños grupos, de núcleo excéntrico y abundante citoplasma, ocasionalmente vacuolizado (fig. 37).

Los tumores estromales son poco frecuentes e incluyen fibrosarcomas, hemangiosarcomas y liposarcomas. Las citologías muestran predominio de células mesenquimatosas perfectamente diferenciables de las células glandulares. Sin embargo, es frecuente que las células neoplásicas no exfolien con facilidad, por lo que en muchas muestras sólo se observa sangre y escasas células conjuntivas. Si los sarcomas están bien diferenciados, pueden confundirse con focos de fibrosis asociados a pancreatitis crónica.

Los tumores metastásicos en páncreas son poco frecuentes. El más fácil de diagnosticar es el linfosarcoma, por el predominio de linfoblastos; las metástasis de otros carcinomas son difíciles de diferenciar de adenocarcinomas primarios.

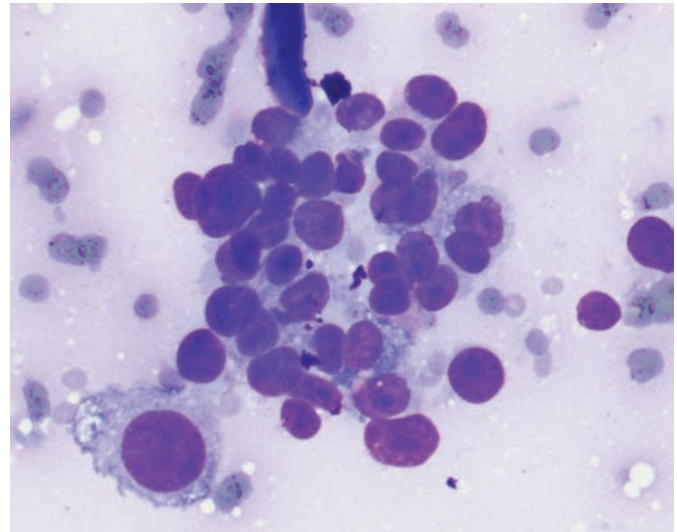


Figura 36. Citología pancreática: adenocarcinoma exocrino. Grupo de células acinares con características de malignidad.

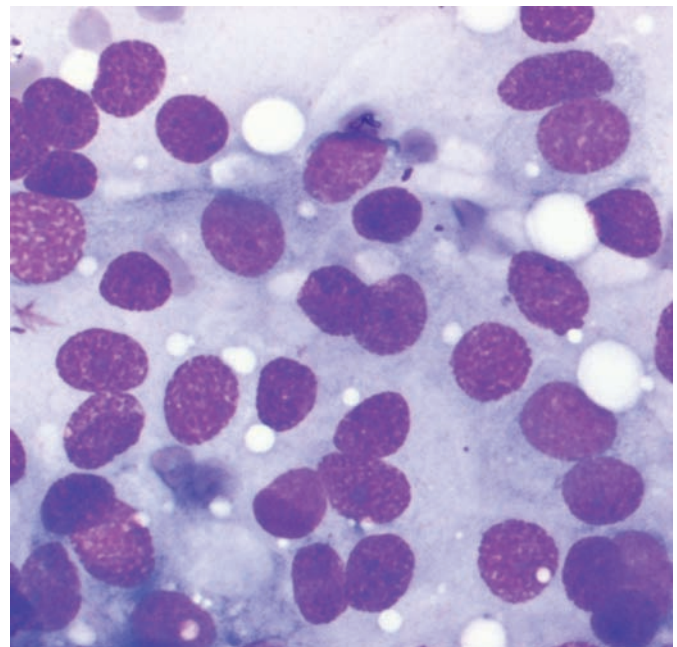


Figura 37. Citología pancreática: tumor neuroendocrino (insulinoma).

Citología del tracto gastrointestinal

Indicaciones del estudio citológico

No es muy frecuente que se realice un estudio citológico de muestras procedentes de tracto gastrointestinal. En general, es difícil acceder al mismo y obtener muestras representativas, por lo que es preferible realizar, directamente, un estudio histopatológico. Sin embargo, la citología debe considerarse como una técnica válida para realizar una evaluación de la mucosa gastrointestinal previa y complementaria a la biopsia.

Se puede realizar un estudio citológico en lesiones que provoquen un engrosamiento significativo localizado de la pared, observado mediante técnicas de diagnóstico por la imagen, preferiblemente ecografía. Los procesos difusos diagnosticados mediante endoscopia pueden evaluarse citológicamente con técnicas de improntas o cepillado. De hecho, se recomienda realizar citología incluso cuando el aspecto de la mucosa es normal. El objetivo es determinar si la lesión gastrointestinal es de origen inflamatorio o neoplásico; en este último caso, el linfosarcoma es el tumor que se diagnostica con mayor facilidad.

Recogida y manejo de las muestras

Las lesiones gastrointestinales que producen un engrosamiento significativo de la pared pueden evaluarse mediante técnicas de PAAF o PAF. En cualquier caso, es necesario realizar la punción guiada por ecografía, lo que incrementa significativamente la capacidad diagnóstica.

Se puede realizar una impronta de las biopsias gastrointestinales recogidas por endoscopia o laparotomía.

En lesiones evaluadas por endoscopia también puede realizarse una citología mediante técnicas de cepillado. Se introduce un pequeño cepillo cilíndrico guiado por el endoscopio, con el que se realizan movimientos hacia delante y hacia atrás, y rotatorios sobre la mucosa digestiva hasta que se produzca una ligera hemorragia. El material obtenido se deposita suavemente sobre un portaobjetos. Esta técnica debe realizarse antes que la recogida de biopsias.

Las técnicas de impronta y de cepillado se complementan, por lo que deben realizarse de forma conjunta.

Por último, la mucosa rectal o de porciones finales de colon puede evaluarse mediante técnicas de raspado con una pequeña espátula. En este caso, es necesario que la ampolla rectal esté libre de heces y no emplear pomadas lubricantes que puedan alterar la tinción.

Todas las muestras citológicas, independientemente del método de obtención, se tiñen con las técnicas habituales.

Interpretación citológica

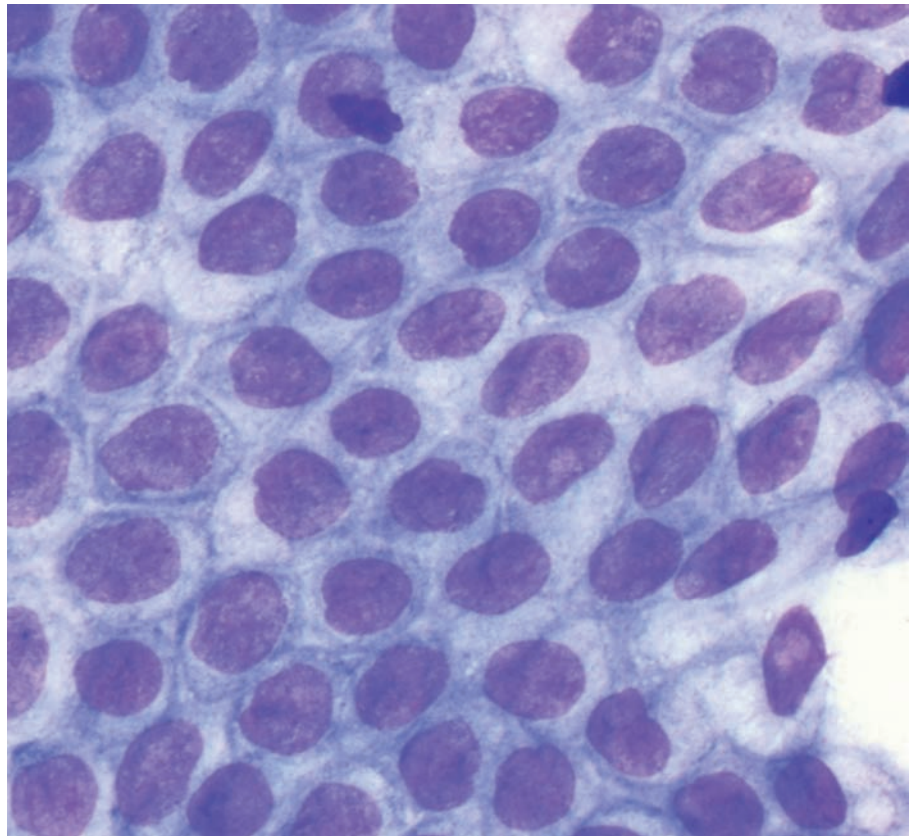
La sensibilidad del estudio citológico para el diagnóstico de lesiones de la mucosa gastrointestinal varía dependiendo, principalmente, de la técnica empleada para la recogida de muestras.

Las muestras obtenidas mediante PAAF o PAF tienen una capacidad diagnóstica del 70% en tumores intestinales y del 50% en tumores gástricos. La sensibilidad de las improntas procedentes de tumores extirpados es mayor, alcanzando valores superiores próximos al 100%. La citología es más útil para diagnosticar linfosarcoma, sin embargo su eficacia diagnóstica en tumores mesenquimatosos (sobre todo musculares) es mucho menor; ya que su capacidad de exfoliación es muy inferior. En general, se considera que la especificidad de la técnica para diagnosticar tumores es muy elevada (superior al 98%), lo que indica que cuando la citología demuestra la existencia de un proceso neoplásico, la posibilidad de error es mínima.

La citología endoscópica presenta una alta fiabilidad diagnóstica, con niveles de falsos positivos y falsos negativos muy bajos (3,5% y 7,6%, respectivamente). En general, es muy útil para diferenciar entre mucosa normal e infiltrada por células inflamatorias o neoplásicas.

En las muestras procedentes del tracto gastrointestinal normal se observan células epiteliales columnares o cuboidales, distribuidas en grupos con apariencia de colmena (fig. 38) o empalizada (fig. 39). En algunos tramos, se observan vacuolas o productos de secreción intracitoplasmáticos en posición apical (fig. 40). Las muestras rectales pueden presentar también células

Figura 38. Citología gástrica: grupo de células epiteliales cuboidales dispuestas con aspecto de colmena.



escamosas y una mezcla de diferentes tipos bacterianos. Si las muestras proceden de las placas linfoides distribuidas por todo el tracto intestinal, se observa un predominio de linfocitos en diferentes fases de maduración.

Figura 40. Citología gástrica: grupo de células secretoras con vacuolas en posición apical.

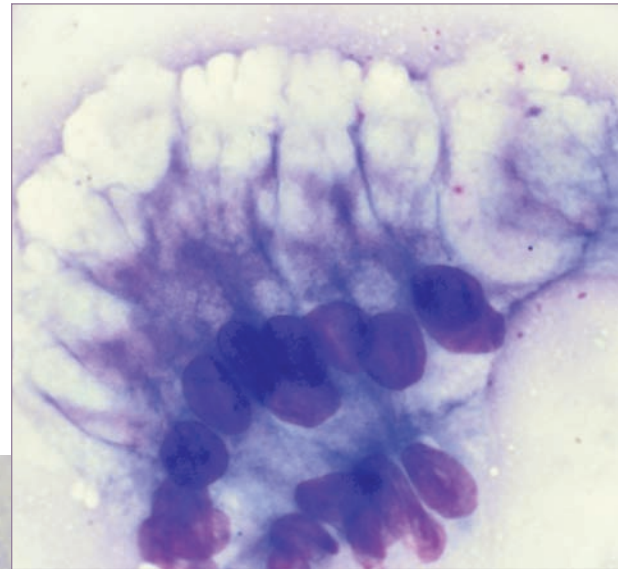
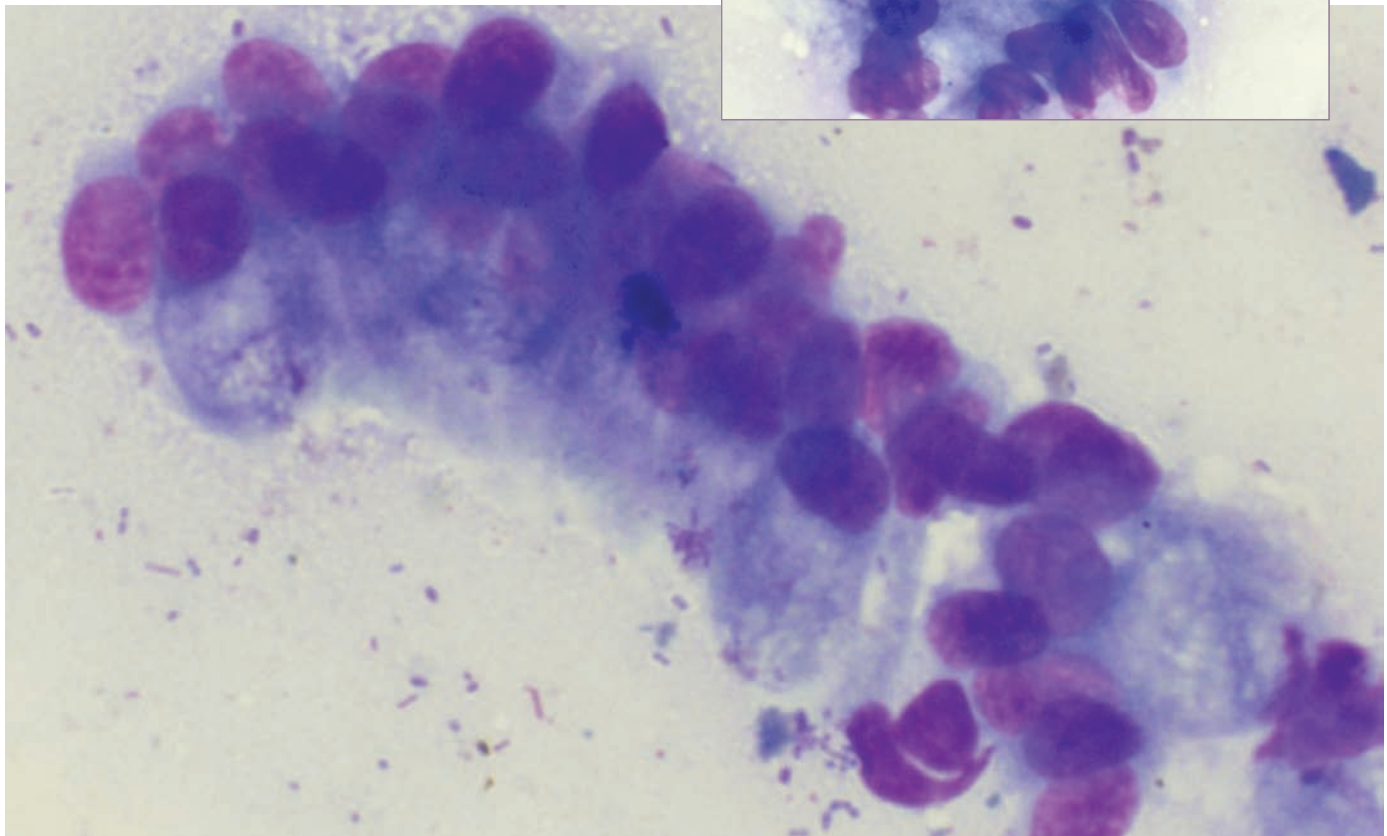
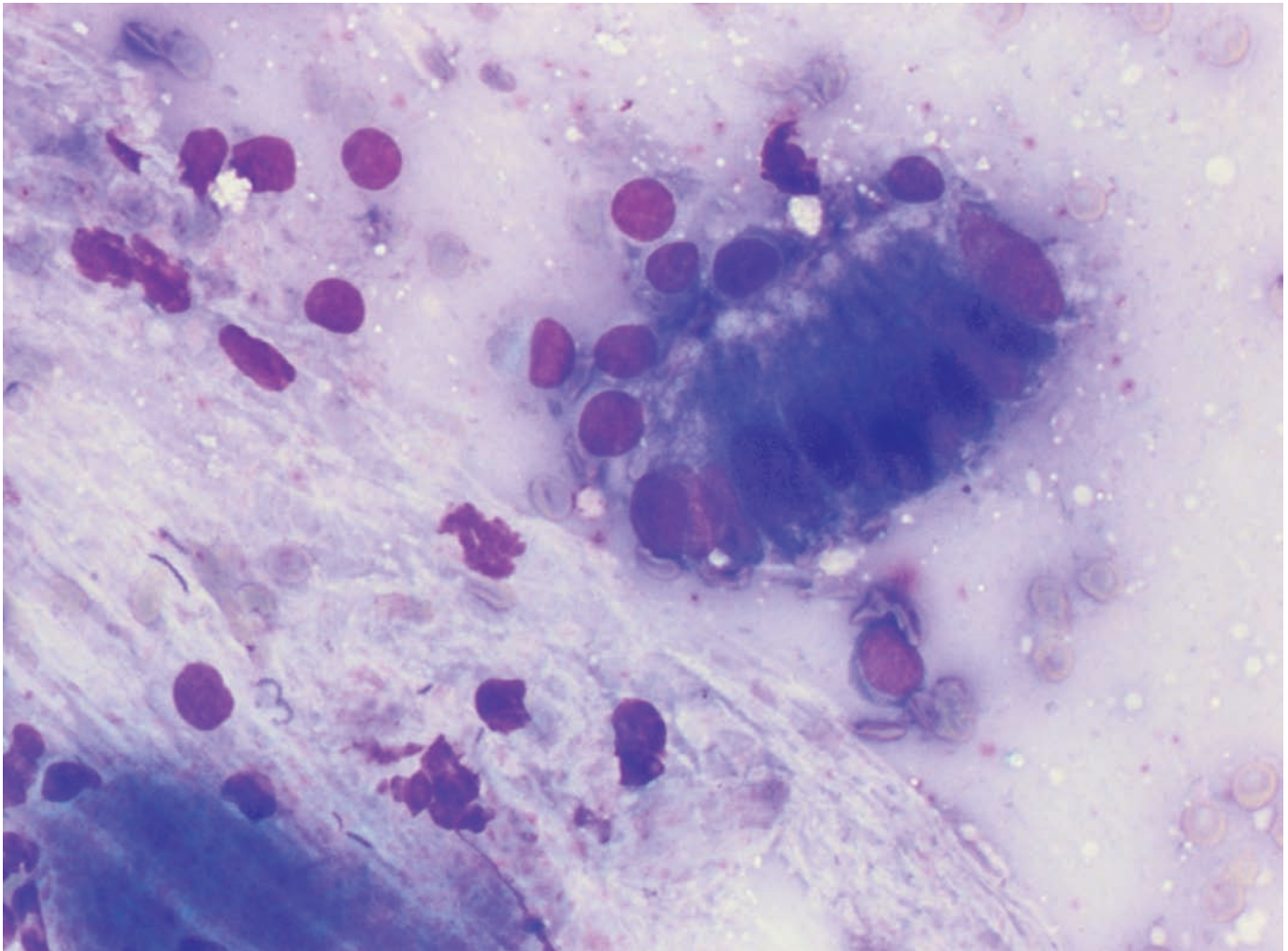


Figura 39. Citología intestinal: grupo de células epiteliales columnares. Se observan numerosas bacterias pleomórficas.



Los procesos inflamatorios cursan con un incremento de células inflamatorias: neutrófilos en inflamaciones agudas; linfocitos y células plasmáticas en procesos crónicos, generalmente de origen inmunomediado (fig. 41). Hay que tener en cuenta que intensas reacciones de inflamación linfoplasmocitaria pueden asemejarse a linfosarcomas bien diferenciados, sobre todo en la especie felina, por lo que las muestras deben interpretarse con precaución.

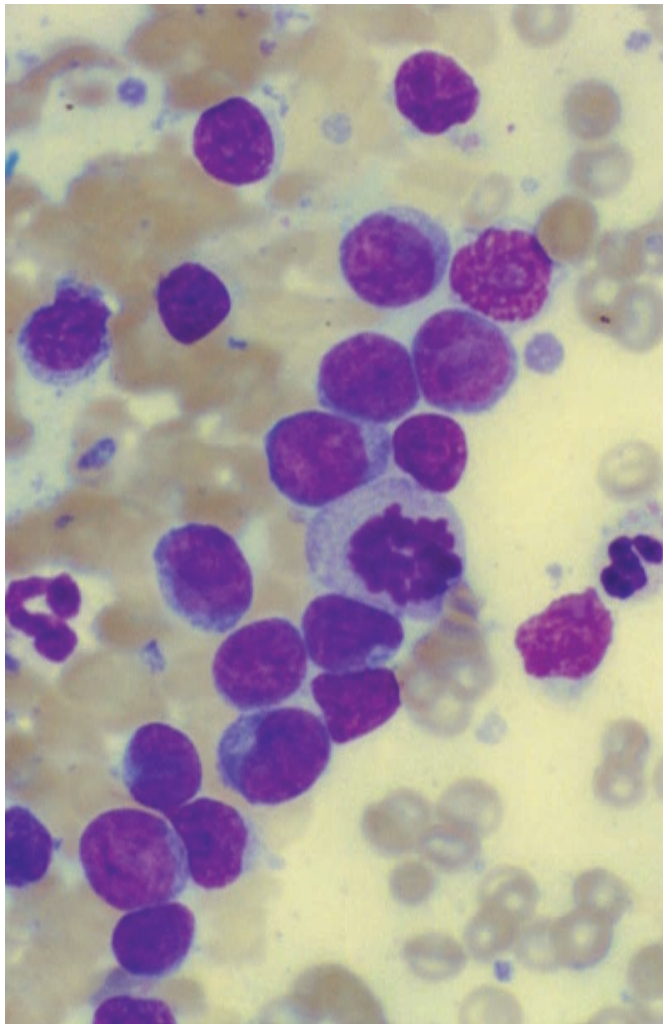
Figura 41. Citología intestinal: proceso inflamatorio crónico. Se observa una empalizada de células epiteliales y un infiltrado linfocítico.



La citología obtenida por técnicas de cepillado presenta una alta sensibilidad para detectar microorganismos gástricos (espiroquetas) que no suelen observarse en muestras histológicas.

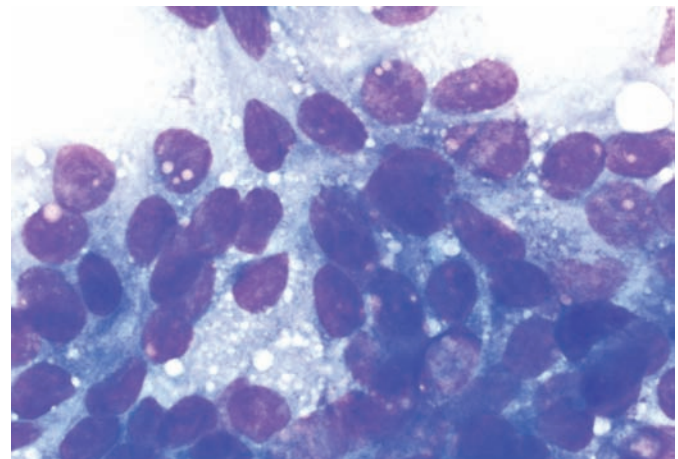
El linfosarcoma es el principal tipo de tumor que puede diagnosticarse mediante citología. En las muestras predominan los linfoblastos constituyendo una población homogénea (fig. 42). En muchos casos, el linfosarcoma asienta en la submucosa, por lo que muestras procedentes de las capas mucosas más externas pueden encontrarse libres de células tumorales.

Figura 42. Citología intestinal: linfosarcoma.



El adenocarcinoma se caracteriza por la presencia de atipias celulares y nucleares en las células epiteliales (fig. 43). Es más difícil diagnosticar adenocarcinomas gástricos, debido a su naturaleza infiltrativa y a que la fibrosis que les rodea no permite la exfoliación de células representativas. Los tumores musculares se caracterizan por un predominio de células mesenquimatosas, de morfología fusiforme; en general, estos tipos de tumores exfolian con dificultad. También pueden diagnosticarse tumores neuroendocrinos procedentes de las células APUD, de características similares a los descritos en hígado y páncreas.

Figura 43. Citología intestinal: adenocarcinoma. Se observa un grupo desorganizado de células epiteliales con anisocariosis evidente y variaciones en la morfología nuclear (comparar con epitelio normal de la figura 38).



Bibliografía

- BAKER, R. Y LUMSDEN, J.H.: The gastrointestinal tract: intestines, liver, pancreas. En : Baker, R. y Lumsden, J.H. (ed). *Color atlas of cytology of the dog and cat*. St Louis: Ed. Mosby, 2000. pp. 177-197.
- BJORNEBY, J.M. Y KARI, S.: Cytology of the pancreas. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2002, n° 32, pp.: 1293-1312.
- BLUE, J.T., FRENCH, T.V. Y MEYER, D.J.: The liver. En: Cowell, R.L., Tyler, R.D. y Meinkoth, J.H. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 183-194.
- BONFANTI, U., BUSSADORI, C. et al.: Percutaneous fine-needle biopsy of deep thoracic and abdominal masses in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* 2004, n° 45, pp. 191-198.
- BONFANTI, U., BERTAZZOLO, W., BOTTERO, E. et al.: Diagnostic value of cytologic examination of gastrointestinal tract tumors in dogs and cats: 83 cases. *JAVMA*. 2006, n° 229, pp. 1130-1133
- JERGENS, A.E., ANDREASEN, C.B. Y MILES, K.G.: Gastrointestinal endoscopic exfoliative cytology: techniques and clinical application. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 2000, n° 22, pp. 941-951.
- NEUMANIN, S. Y KAUR, F.J.: Usefulness of Ki-67 proliferation marker in the cytologic identification of liver tumors in dogs. *Vet. Clin. Pathol.* 2005, n° 34, pp. 132-136.
- RAMAIAH, S.K. Y ALLEMAN, A.R.: Cytologic evaluation of the liver: aspirations findings and limitations. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 2002, n° 24, pp. 798-811.
- RASKIN, R.E.: Liver cytology: interpreting needle biopsy samples. *Vet. Med.* 2000, n° 95, pp. 244-249.
- ROTH, L.: Comparison of liver cytology and biopsy diagnoses in dogs and cats: 56 cases. *Vet. Clin. Path.* 2001, n° 30, pp. 35-38.
- STOCKHAUS, C., VAN DEN INGH, T., ROTHUIZEN, J. Y TESKE, E.: A multistep in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic disease. *Vet. Path.* 2004, n° 41, pp. 461-470
- WANG, K.Y., PANCIERA, D.L. et al.: Accuracy of ultrasound-guided fine-needle aspiration of the liver and cytologic findings en dogs and cats. *JAVMA*. 2004, n° 224, pp. 75-78.
- WEISS, D.J. Y MORITZ, A.: Liver cytology. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2002, n° 32, p: 1267-1291.

Elena M. Martínez de Merlo

citología esplénica

El bazo forma parte del sistema hemolinfático y desempeña numerosas funciones, entre las que destacan el almacenamiento de sangre (plaquetas y hematíes maduros); metabolismo férrico; fagocitosis de hematíes, leucocitos, plaquetas y partículas extrañas; inmunoregulación y respuesta a estimulación antigénica; así como hematopoyesis extramedular. El estudio citológico de este órgano permite el diagnóstico de numerosos procesos, fundamentalmente los relacionados con trastornos hemolinfáticos.

Indicaciones del estudio citológico

Las posibles complicaciones de la citología esplénica son controvertidas. Algunos autores consideran que son mínimas, incluso en trastornos neoplásicos de origen vascular (hemangiosarcoma). De esta forma, describen que es muy poco frecuente que la punción con aguja fina (de 22 G o menores) provoque una hemorragia significativa, incluso en pacientes trombocitopénicos. Este aspecto es muy importante, ya que muchos animales en los que está indicada esta técnica diagnóstica presentan enfermedades hematológicas, que, a menudo, se asocian a disminución de los niveles de plaquetas. Asimismo, consideran que el riesgo de rotura de masas vasculares o de diseminación de procesos neoplásicos o infecciosos tampoco es significativo, debido a las características poco invasivas de la técnica. Por el contrario, otros autores describen complicaciones importantes de hemorragia y diseminación neoplásica en casos de hemangiosarcoma, por lo que aconsejan realizar esta técnica sólo en casos de esplenomegalia difusa.

Independientemente de esta controversia, la presencia de masas cavitarias, presumiblemente llenas de sangre, condiciona la realización de la técnica. Aunque los riesgos sean mínimos, es difícil poder realizar un diagnóstico diferencial entre los procesos que cursan con este tipo de alteraciones (hematomas, hemangiomas y hemangiosarcomas), por lo que, en la mayoría de las ocasiones, es preferible realizar directamente un estudio histopatológico mediante biopsia escisional del órgano (esplenectomía).

El objetivo de la citología es diferenciar entre procesos hiperplásicos o reactivos, procesos inflamatorios y procesos neoplásicos. La técnica es especialmente útil para el diagnóstico de neoplasias hemolinfáticas y puede proporcionar información importante en casos de esplenomegalia provocada por enfermedades infecciosas, hemolíticas o inmunológicas.

La citología esplénica está indicada, fundamentalmente, en tres casos:

- Evaluación de masas nodulares o focales, sobre todo si presentan un aspecto sólido (no cavitario) en la ecografía.
- Evaluación de esplenomegalia difusa o alteraciones de la ecogenicidad.
- Definición del estadio clínico de enfermedades hematopoyéticas multicéntricas o sistémicas.

Recogida y manejo de las muestras

La toma de muestras de bazo puede realizarse mediante PAAF y PAF; suele ser más recomendable la segunda, ya que esta técnica es menos lesiva para las células, fundamentalmente linfoides, y provoca una menor contaminación sanguínea.

La toma de muestras en casos de esplenomegalia difusa puede realizarse a ciegas; sin embargo, en caso de lesiones focales es recomendable emplear la ecografía como guía de la punción, ya que se incrementa significativamente la capacidad diagnóstica.

En animales colaboradores puede realizarse sin necesidad de sedación o anestesia; si el paciente es muy nervioso o agresivo, sobre todo si va a practicarse una punción de una lesión focal, es recomendable realizar una sedación que limite los movimientos del animal durante la toma de muestras; de esta forma, se evitará el riesgo de laceración y hemorragia del tejido esplénico.

A pesar de que la punción esplénica puede realizarse en pacientes con trombocitopenia, es recomendable conocer previamente el recuento de plaquetas e, incluso, las pruebas de coagulación en casos en los que se sospeche de coagulopatías (fundamentalmente coagulación intravascular diseminada) por la presencia de síntomas hemorrágicos.

La punción se lleva a cabo después de realizar una limpieza quirúrgica de la zona, aunque es recomendable eliminar restos de antisépticos y gel de ecografía antes de introducir la aguja para evitar contaminación de la muestra.

La extensión debe realizarse rápidamente, ya que la mayoría de las muestras presentan un alto contenido sanguíneo y coagulan fácilmente, lo que dificulta la interpretación citológica. Si la muestra tiene consistencia de sangre, la extensión se realiza como si se tratase de un frotis sanguíneo; si se observa la presencia de material tisular es más apropiada la técnica de *squash* o "aplastamiento".

Puede realizarse un estudio citológico mediante improntas del tejido extirpado. En este sentido, es muy importante proceder a la eliminación del exceso de sangre con materiales absorbentes antes de realizar dichas improntas para favorecer la transferencia celular al portaobjetos.

La tinción se realiza con cualquiera de las técnicas citológicas habituales. Puede ser necesario preservar algunas extensiones por si es necesario realizar tinciones complementarias (citoquímicas, inmunocitoquímicas).

Interpretación citológica

Existen pocos estudios que evalúen la fiabilidad de los diagnósticos citológicos de bazo; el más reciente describe una seguridad diagnóstica del 60% de los casos. En general, la citología esplénica es muy útil para el diagnóstico de neoplasias hematopoyéticas; también es altamente fiable en procesos de hematopoyesis extramedular (aunque no suele ser sencillo identificar la causa de la misma). Las hiperplasias reactivas son relativamente sencillas de diagnosticar, pero pueden darse casos de confusión con linfosarcomas bien diferenciados. Por el contrario, es difícil diagnosticar masas vasculares (hematomas, hemangiomas o hemangiosarcomas), y otras patologías como la torsión, fibrosis, lesiones vasculares tipo trombosis o infartos, o la amiloidosis no pueden diagnosticarse con esta técnica.

La mayor limitación del estudio citológico del bazo es la intensa contaminación sanguínea que acompaña a la mayoría de las muestras. La hemodilución condiciona la interpretación de la citología y su presencia indica la necesidad de tener en cuenta que muchas de las células observadas pueden ser exclusivamente contaminantes.

En ocasiones, puede realizarse la punción de un foco de hematopoyesis o de maduración linfoide/hiperplasia reactiva que no refleje la patología esplénica real. Por ello, es muy importante valorar y comparar todas las muestras obtenidas, así como todos los campos de cada una de ellas antes de emitir un diagnóstico citológico.

El estudio citológico de muestras esplénicas permite establecer las siguientes categorías: tejido normal, hiperplasia reactiva, procesos inflamatorios, hematopoyesis extramedular y procesos neoplásicos. En muchas ocasiones, se observa una mezcla de varias categorías, lo que dificulta el diagnóstico citológico definitivo.

Citología esplénica normal

El aspirado de bazo normal contiene sangre, células linfoides y, en ocasiones, células fusiformes procedentes del estroma.

Todos los aspirados contienen una gran cantidad de sangre (hay que tener en cuenta que el hematocrito en el interior del bazo supera el 80%), por lo que la mayoría de las muestras presentan un denso contenido de hematíes, agregados de plaquetas y coágulos de fibrina.

La pulpa blanca esplénica se evidencia fácilmente en la citología por la presencia de tejido linfóide, en el que predominan los linfocitos pequeños maduros con una pequeña proporción de linfocitos de tamaño medio y escaso número de linfoblastos y células plasmáticas (fig. 1); hay que tener en cuenta que pueden predominar los linfoblastos si la punción se realiza a nivel de folículos linfoides con centros germinales; en estos casos hay que tener la precaución de no diagnosticar un linfosarcoma basándose en la observación de estos campos (fig. 2).

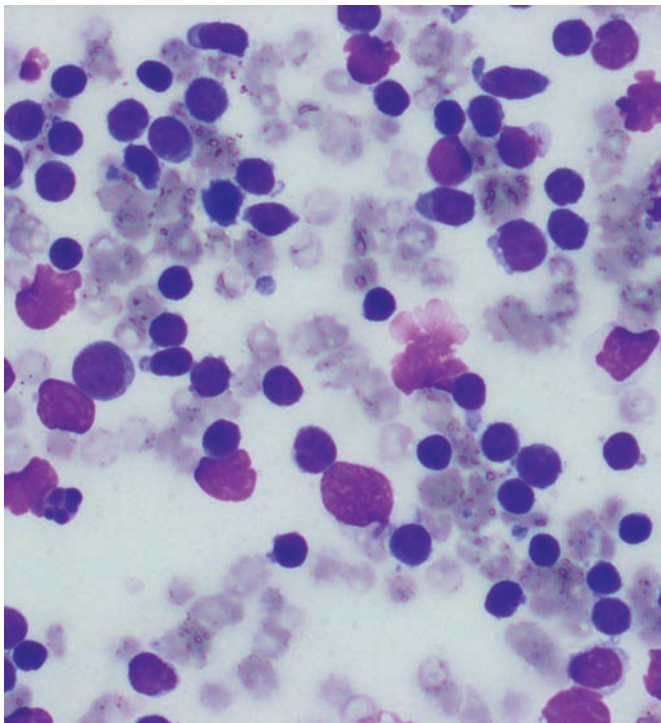


Figura 1. Citología esplénica normal: se observa gran cantidad de sangre y predominio de linfocitos pequeños, con una pequeña cantidad de linfocitos medianos y linfoblastos.

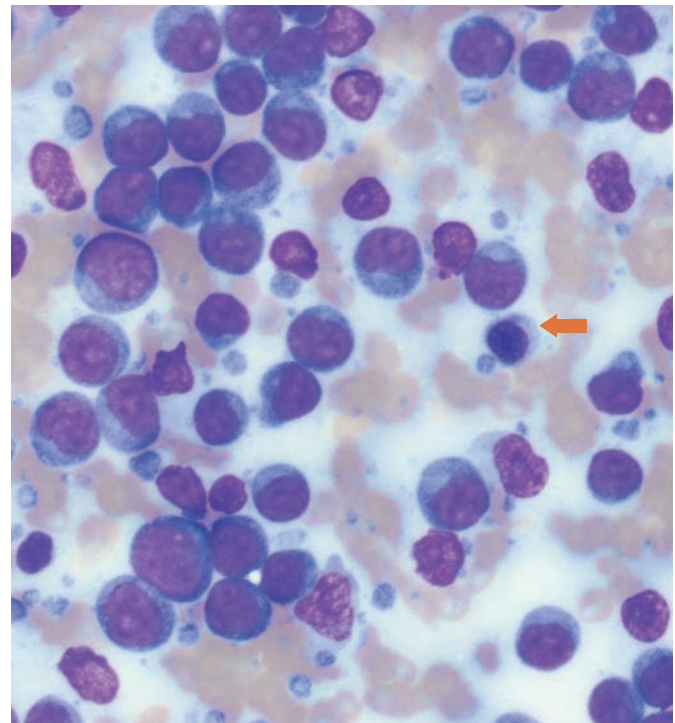
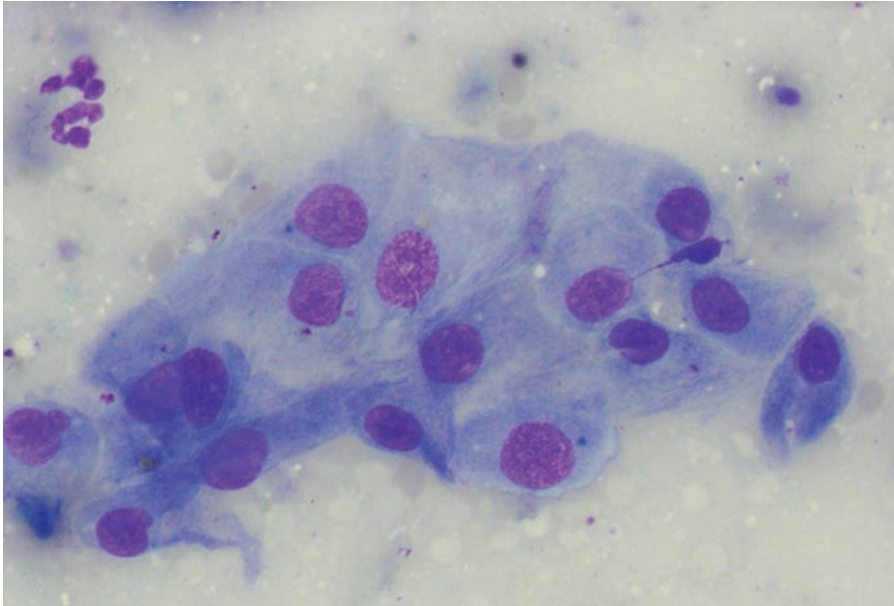


Figura 2. Citología esplénica normal: se observa un predominio de linfoblastos al haberse realizado la punción sobre un centro germinal; otros campos de la extensión no mostrarán esta imagen, lo que permite diferenciarlo de linfosarcomas. Se observa un eritroblasto acidófilo (señalado con flecha).

El tejido estromal no es siempre visible, pero cuando se observa se asegura que la muestra es esplénica. Está formado por células endoteliales, fibrocitos, mastocitos y macrófagos/histiocitos (fig. 3).

Figura 3. Células endoteliales esplénicas (tejido estromal).



Hiperplasia esplénica (reactiva)

En la hiperplasia esplénica se produce una proliferación de componentes celulares normales como respuesta a diferentes procesos reactivos, inflamatorios o neoplásicos.

Se caracteriza por un incremento de los linfocitos de tamaño medio, linfoblastos y células plasmáticas, que pueden presentar signos de activación (células de Mott) (figs. 4 y 5). Es muy marcada en procesos infecciosos tipo leishmaniosis o ehrlichiosis. Si la hiperplasia de células plasmáticas es muy intensa, puede ser difícil de diferenciar de procesos neoplásicos (plasmocitoma, mieloma), aunque en estos últimos suelen predominar las formas inmaduras (fig. 6). En ocasiones, la hiperplasia linfoide se acompaña de un aumento de eosinófilos y mastocitos.

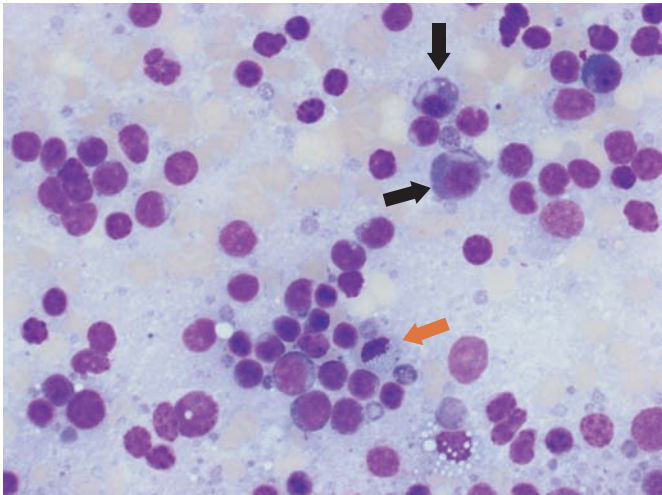


Figura 4. Proceso reactivo: se observa un incremento de los linfocitos de tamaño medio, linfoblastos y células plasmáticas (señaladas con flechas negras), incluyendo células de Mott (señalada con flecha de color).

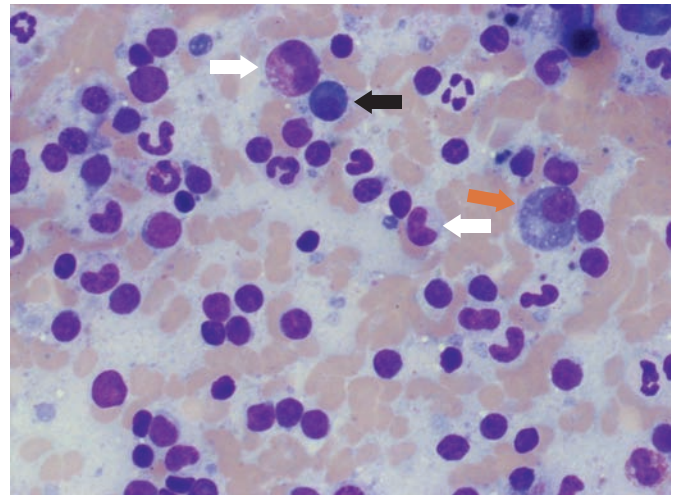


Figura 5. Proceso reactivo: se observan células plasmáticas maduras (señalada con flecha negra), e inmaduras (señalada con flecha de color), además de un metamielocito neutrófilo (señalado con flecha blanca inferior) y eosinófilo (señalado con flecha blanca superior).

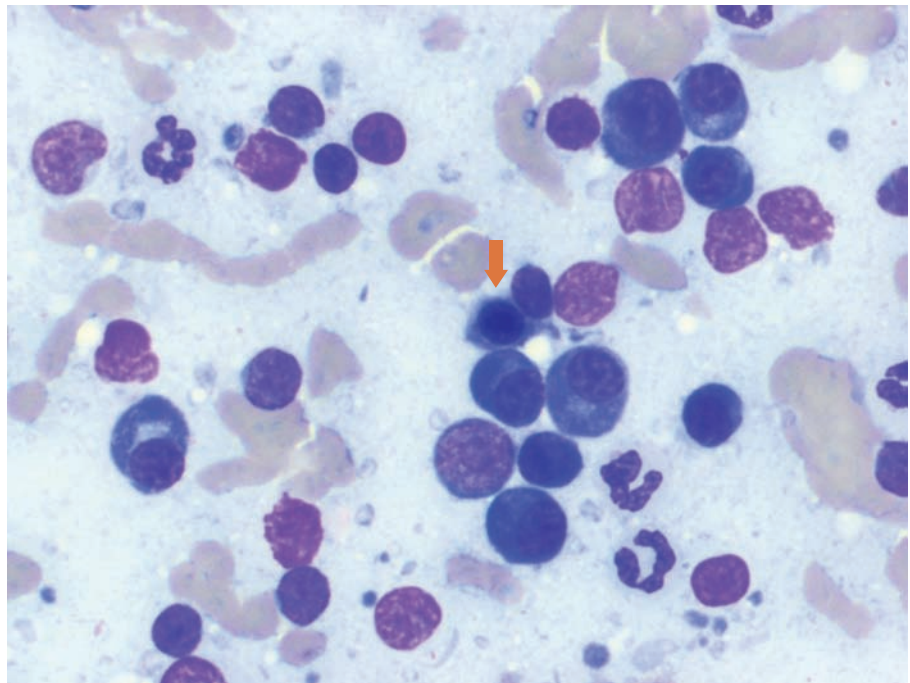


Figura 6. Proceso reactivo: se observa una intensa hiperplasia de células plasmáticas. Señalado con flecha se aprecia un eritroblasto acidófilo.

Si la enfermedad primaria requiere un incremento de la actividad fagocítica, la hiperplasia se caracteriza por un aumento del número de macrófagos, con presencia de numerosas imágenes de eritrofagocitosis y presencia de pigmentos característicos de los productos de degradación de la hemoglobina (fig. 7). Esta reacción histiocítica/macrofágica es intensa en procesos inmunomediados (anemia o trombocitopenia), hemolíticos y parasitarios. También acompaña a procesos hemorrágicos asociados a hematomas, hemangiomas y hemangiosarcomas. Si la reacción histiocítica es muy marcada, debe establecerse un diagnóstico diferencial con histiocitosis sistémicas y malignas.

Inflamación esplénica

Es frecuente que el bazo se encuentre afectado en procesos inflamatorios sistémicos.

Los procesos de hipersensibilidad y algunos procesos infecciosos (fundamentalmente fúngicos) y neoplásicos (fundamentalmente linfosarcomas) pueden acompañarse de inflamación eosinofílica.

Los procesos infecciosos son la causa principal de inflamación esplénica. El tipo de inflamación (purulenta, granulomatosa o mixta) y la morfología de las células inflamatorias dependen del tipo de agente (bacterias, hongos, protozoos), de la producción de toxinas, de la cantidad de necrosis y del curso de la enfermedad.

Hematopoyesis extramedular

En las citologías esplénicas normales y reactivas se puede observar la presencia de algunos precursores eritroides y de otras líneas celulares de estadios avanzados (fig. 8). Numerosos procesos reactivos y neoplásicos se acompañan de hematopoyesis extramedular a nivel esplénico, fundamentalmente alteraciones graves de la médula ósea

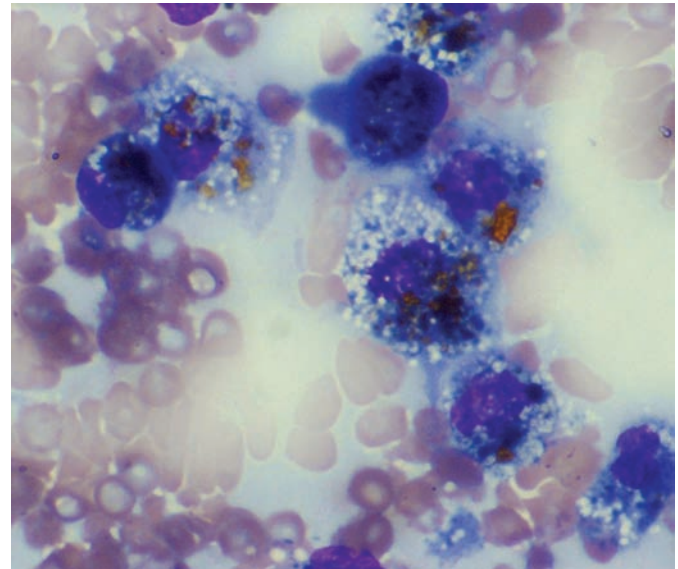
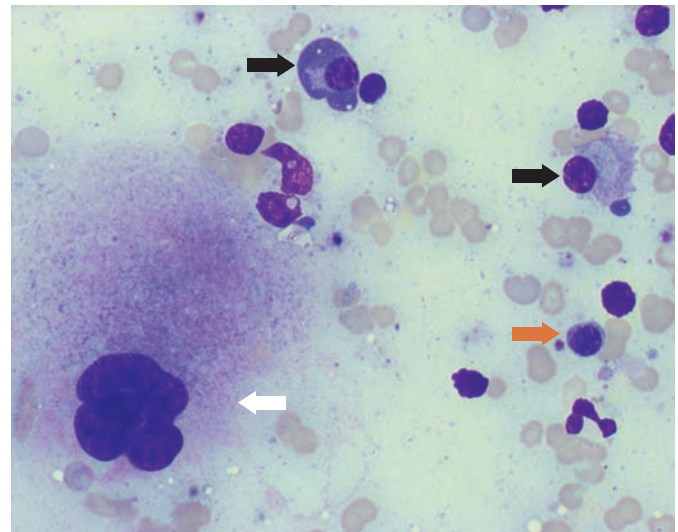


Figura 7. Proceso reactivo con incremento del número de macrófagos que contienen pigmento (productos de degradación de la hemoglobina) como consecuencia de procesos de eritrofagocitosis.

Figura 8. Proceso reactivo con presencia de células plasmáticas (señaladas con flechas negras) y células hematopoyéticas como eritroblastos policromatófilos (señalado con flecha color) y megacariocitos (señalado con flecha blanca).



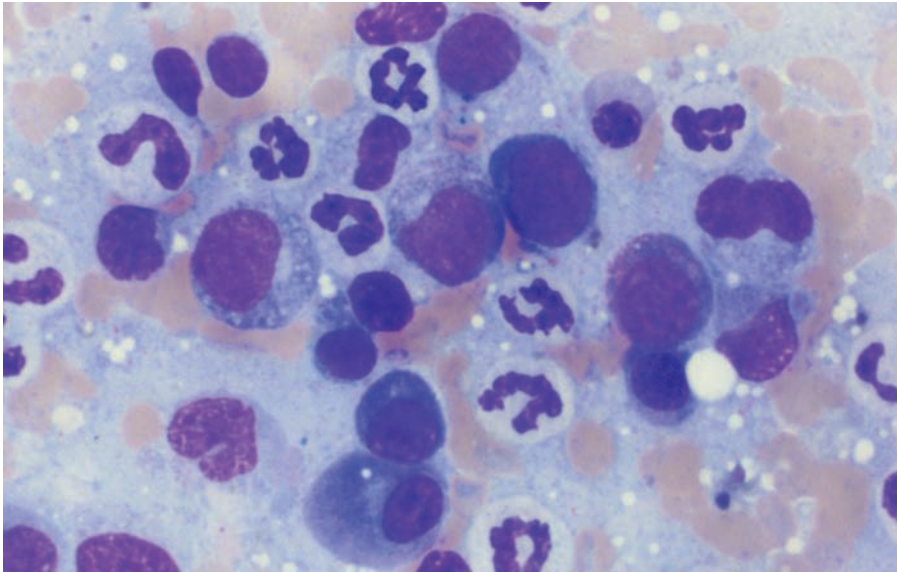
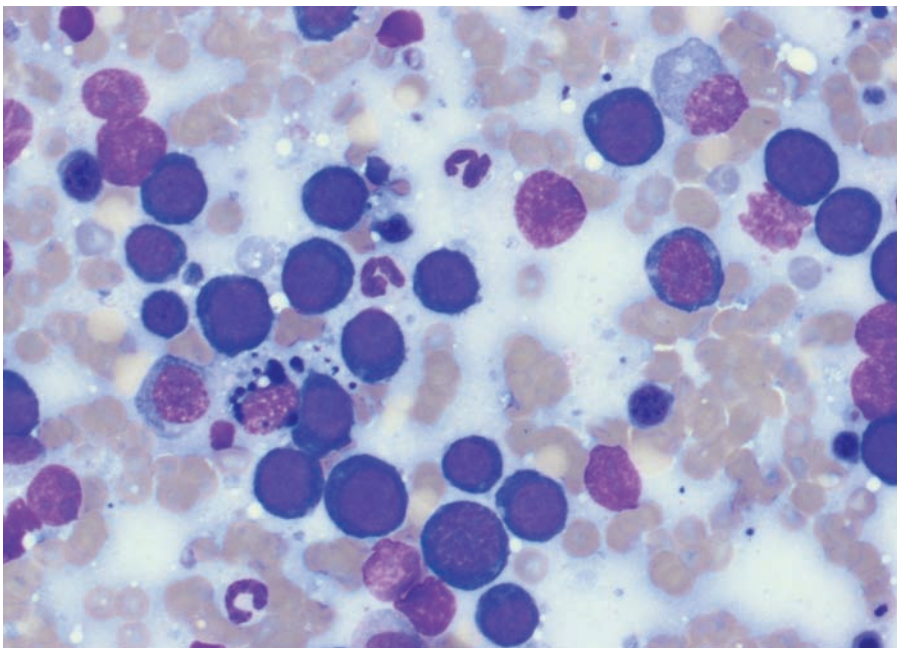


Figura 9. Hematopoyesis extramedular con presencia de precusores de la serie eritroide y mioide.



que impiden la producción de células sanguíneas (trastornos mieloproliferativos, neoplasias linfoproliferativas, síndromes mielodisplásicos) y las anemias hemolíticas crónicas. También se asocia a hemangiosarcomas esplénicos. La citología de la hematopoyesis extramedular se caracteriza por la presencia de precusores de las diferentes líneas celulares (fig. 9), aunque predominan los eritroides frente a mieloides y megacariocíticos, entremezclados con linfocitos y linfoblastos. Las células eritroides más maduras son fácilmente distinguibles, pero los precusores más inmaduros (proeritroblasto) pueden confundirse con linfoblastos. Los precusores eritroides presentan un núcleo redondo con patrón de cromatina irregular y, en ocasiones, la presencia de un nucléolo único; el citoplasma es fuertemente basófilo y rodea a todo el núcleo (fig. 10). En procesos neoplásicos mieloides o linfoides, los precusores eritroides se entremezclan con las células neoplásicas, lo que dificulta su diferenciación.

Figura 10. Hematopoyesis extramedular con predominio de precusores eritroides, fundamentalmente proeritroblastos. Hay que tener precaución para no confundirlos con linfoblastos.

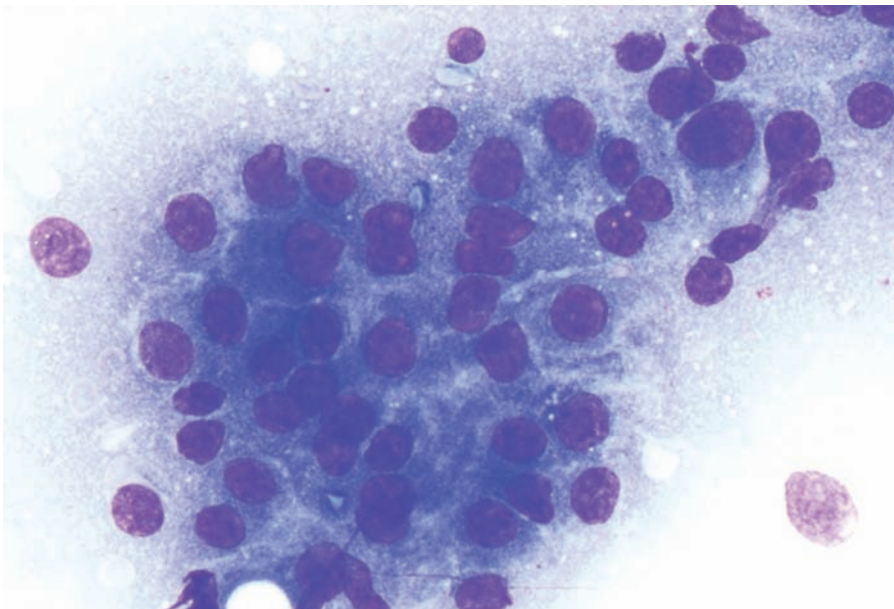
Neoplasia esplénica

Las neoplasias esplénicas más frecuentes son las hematopoyéticas y los tumores conjuntivos; los carcinomas metastásicos son menos frecuentes (fig. 11).

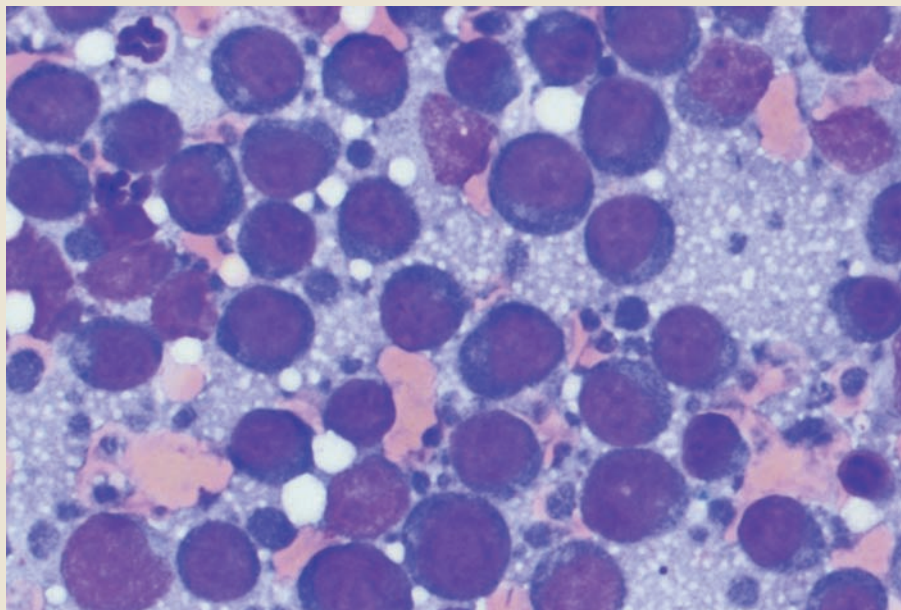
Tumores hematopoyéticos

La citología esplénica es muy útil para diagnosticar procesos hematopoyéticos. En muchas ocasiones, la neoplasia se acompaña de hemorragia, necrosis y hematopoyesis extramedular. La evaluación citológica de un bazo afectado de una neoplasia hematopoyética se caracteriza por la presencia de una imagen monomórfica que difiere del aspecto heterogéneo del órgano normal. Generalmente, la población neoplásica desplaza completamente a la normal, de forma que sólo se observan linfocitos y macrófagos ocasionales. La morfología celular depende del tipo de tumor presente; en ocasiones, las características morfológicas de las células no permiten diferenciar su origen, por lo que es necesario recurrir a técnicas inmunológicas para tipificarlas.

Figura 11. Metástasis esplénica de un carcinoma.



- En linfosarcomas y leucemias linfoblásticas predominan los linfoblastos (fig. 12). En linfosarcomas de bajo grado o leucemias linfocíticas predominan las formas linfoides más maduras; en estos casos puede ser difícil diferenciar de focos de hiperplasia reactiva (fig. 13).
- En las leucemias mieloides o mielomonocíticas se observa un predominio de precursores mieloides o una mezcla de mieloides y monocíticos (fig. 14). Es frecuente que se asocie a la presencia de precursores de otras series hematopoyéticas, por lo que, en ocasiones, puede ser difícil de diferenciar de áreas de hematopoyesis extramedular:
- Las leucemias eritroides son procesos poco frecuentes en las que predominan los precursores eritroides más inmaduros sin que se aprecie la existencia de otros estadios de maduración; a pesar de esta característica, puede ser difícil de diferenciar de la hematopoyesis extramedular (fig. 15).
- Los plasmocitomas y mielomas se caracterizan por el predominio de células plasmáticas inmaduras con características atípicas, lo que permite diferenciarlas de las células plasmáticas normales presentes en los focos de hiperplasia reactiva.
- La histiocitosis o sarcoma histiocítico muestra un predominio de histiocitos atípicos e inmaduros, que puede acompañarse de la presencia de células multinucleadas (fig. 16). En ocasiones, estos histiocitos atípicos manifiestan su capacidad fagocítica (fig. 17).
- Los mastocitomas esplénicos son más frecuentes en gatos. Pueden diagnosticarse por la presencia masiva de mastocitos más o menos diferenciados, acompañados de un número variable de eosinófilos. No hay que olvidar que los mastocitos pueden estar presentes en un número significativo en focos de hiperplasia reactiva.



Linfosarcoma esplénico

Figura 12. Linfosarcoma esplénico con predominio de linfoblastos de gran tamaño.

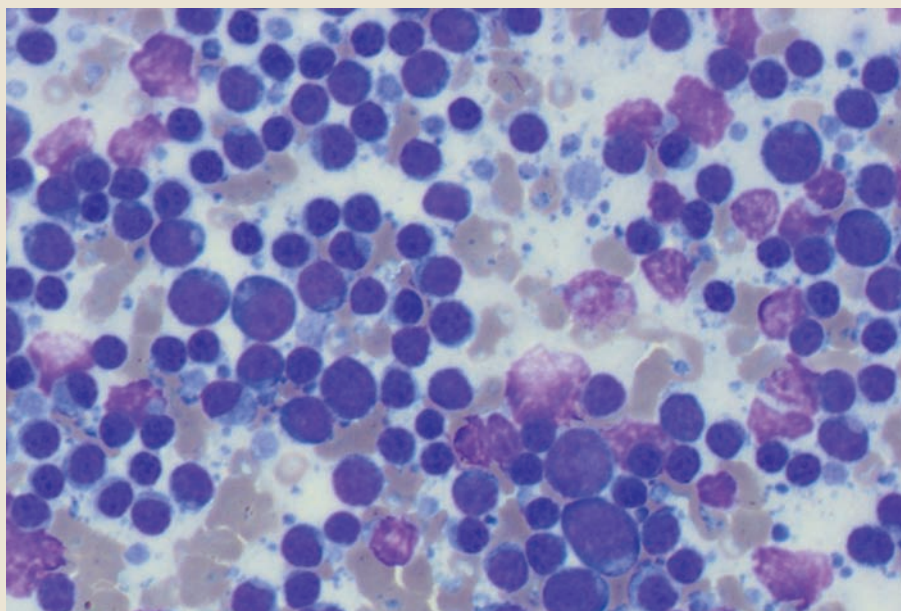


Figura 13. Linfosarcoma esplénico con predominio de linfocitos medianos y linfoblastos de pequeño tamaño.

Leucemia mieloblástica

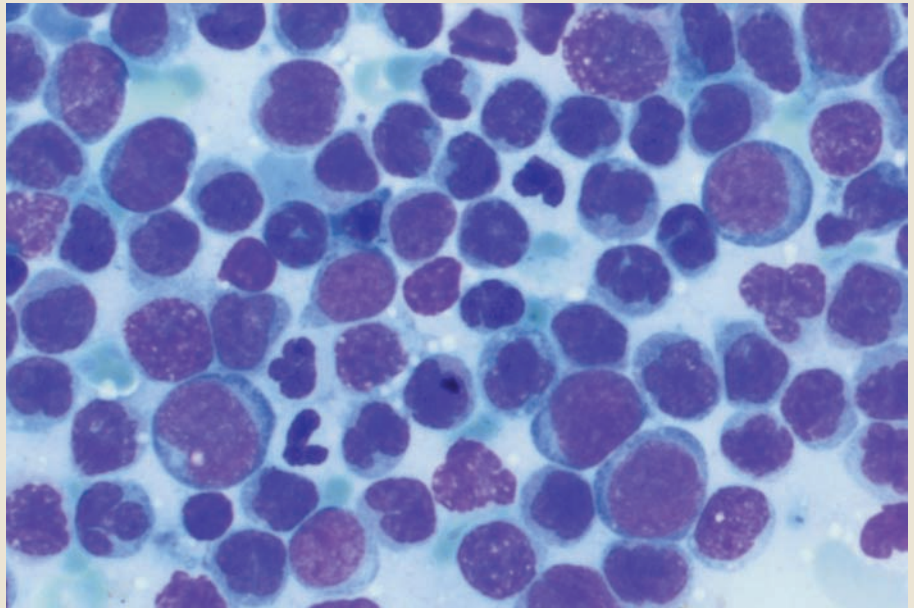


Figura 14. Infiltración esplénica por leucemia mieloblástica. Predominan los precursores mieloides.

Leucemia eritroide

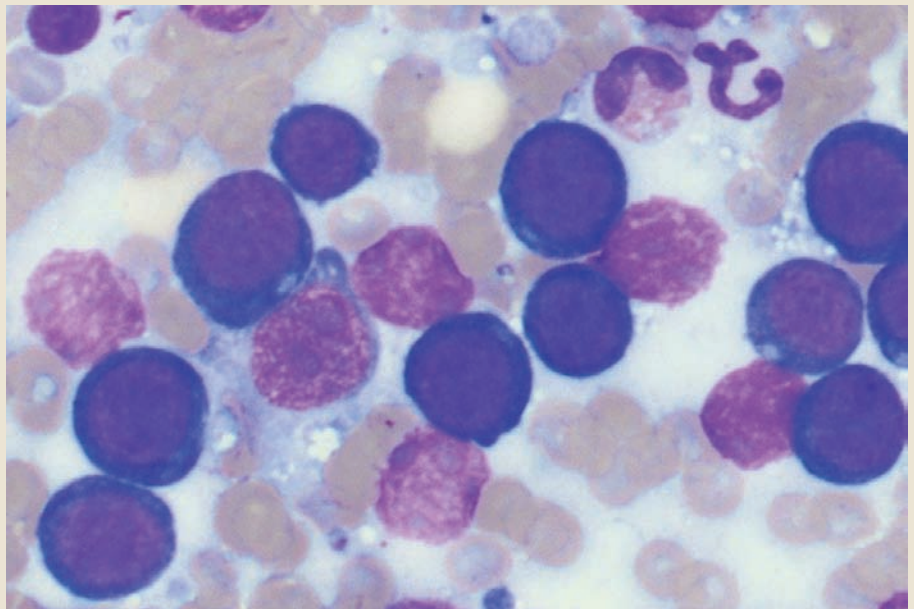


Figura 15. Infiltración esplénica por leucemia eritroide (especie felina). Se observan numerosos proeritroblastos sin otros estadios de maduración.

Histiocitosis

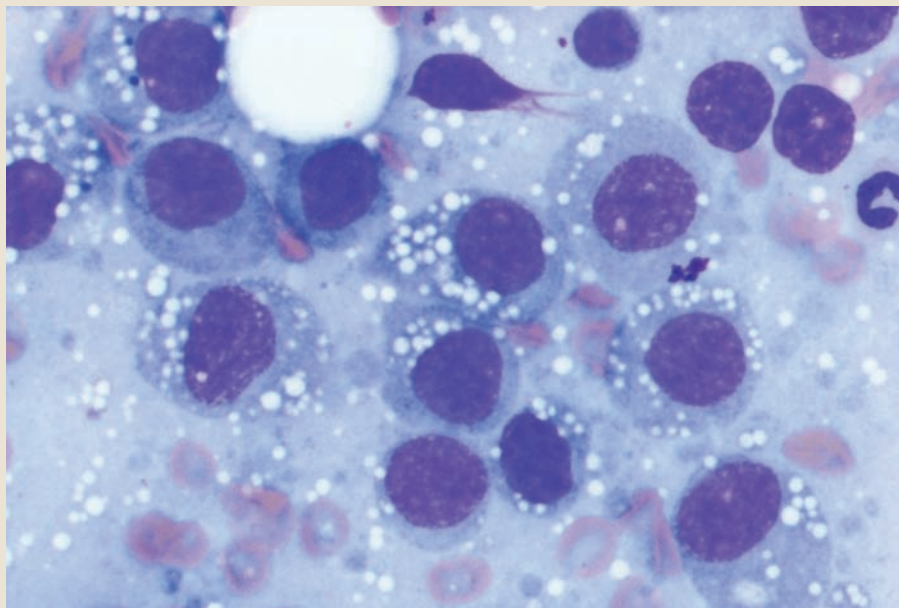


Figura 16. Infiltración esplénica por histiocitosis. Predominan las células histiocíticas atípicas.

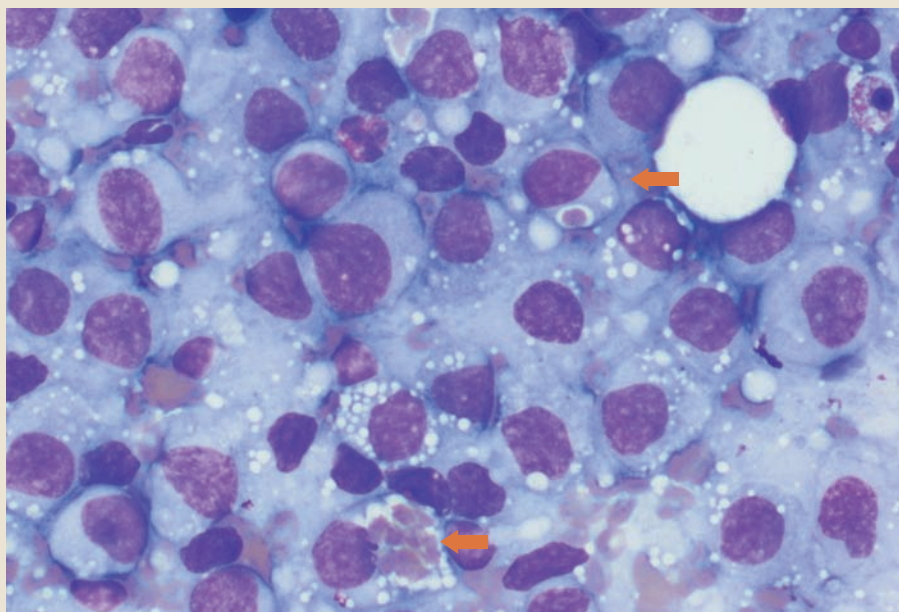


Figura 17. Infiltración esplénica por histiocitosis. Se observa un predominio de histiocitos atípicos, algunos de los cuales manifiestan capacidad macrófaga (señalados con flechas).

Sarcomas esplénicos

Las neoplasias vasculares (hemangiosarcoma) son difíciles de diagnosticar por citología, ya que las muestras sólo suelen mostrar contaminación sanguínea y sólo excepcionalmente se observan células conjuntivas con caracteres de malignidad (fig. 18). Se suelen acompañar de un incremento de macrófagos con productos de degradación de la hemoglobina, de hematopoyesis extramedular y de focos de necrosis. Es muy difícil diferenciar citológicamente los hemangiosarcomas de otras lesiones vasculares benignas como los hematomas y los hemangiosarcomas.

Otros sarcomas (fibrosarcoma, leiomioma, liposarcoma) tampoco se diagnostican fácilmente; si se consigue exfoliación, las células obtenidas muestran las características habituales de tejido conjuntivo.

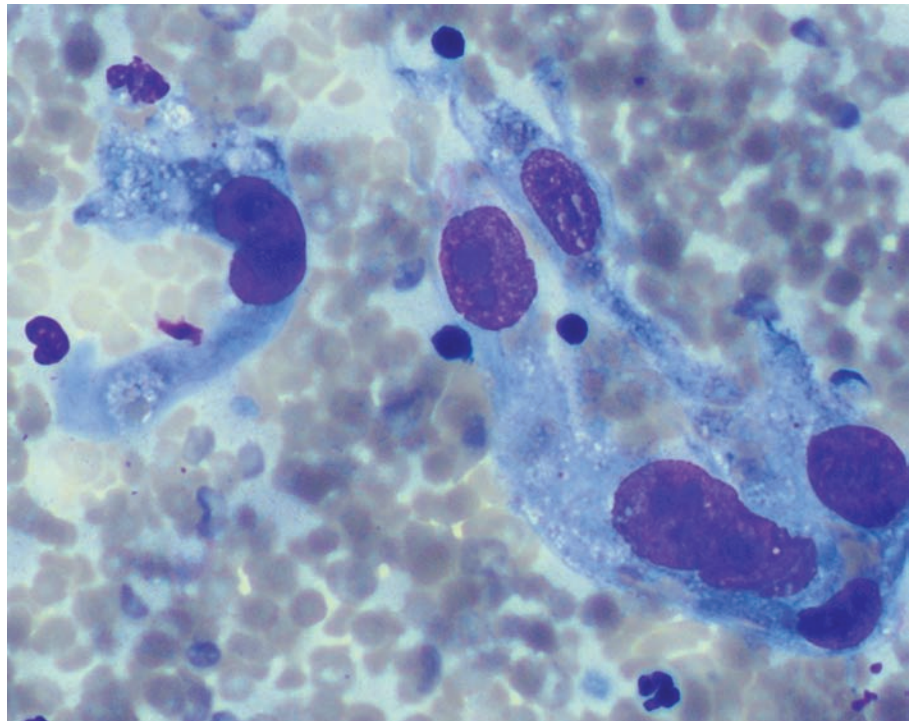


Figura 18. Hemangiosarcoma esplénico con presencia de células conjuntivas muy atípicas.

Bibliografía

- BALLEGEER, EA.; FORREST, LJ.; DICKINSON, RM. *et al.*: Correlation of ultrasonographic appearance of lesions and cytologic and histologic diagnoses in splenic aspirates from dogs and cats: 32 cases. *JAVMA*. 2007, n° 230, pp. 690-696.
- BONFANTI, U., BUSSADORI, C. *et al.*: Percutaneous fine-needle biopsy of deep thoracic and abdominal masses in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* 2004, n° 45, pp. 191-198.
- CHRISTOPHER, MM. Cytology of the spleen. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, n° 33, pp. 135-152.
- MACWILLIAMS, PS. The splenic parenchyma. En: Cowell, RL, Tyler, RD, y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 195-202.

Elena M. Martínez de Merlo y Manuel Lázaro Rubio

citología
del aparato
reproductor

Citología del aparato reproductor del macho

Citología testicular

Indicaciones del estudio citológico

En general, la principal indicación del estudio citológico de testículos es un incremento del tamaño, uni-o bilateral. Sin embargo, no es habitual realizar un estudio citológico de los testículos descendidos. Los procesos inflamatorios (orquitis, epididimitis) presentan una sintomatología clínica evidente, caracterizada, fundamentalmente, por dolor y aumento del tamaño testicular por la inflamación y el edema. Todos los procesos neoplásicos, muy frecuentes en machos de edades avanzadas, deben tratarse con técnicas quirúrgicas (orquiectomía), por lo que no suele ser necesario realizar pruebas diagnósticas previas que intenten diferenciar el tipo específico de tumor. Por el contrario, el diagnóstico citológico puede ser muy útil para identificar tejido testicular en masas intrabdominales que pueden corresponder con testículos no descendidos neoplásicos o para evaluar los ganglios en animales con tumores testiculares y linfadenopatía regional. La citología no suele proporcionar ninguna información en testículos atrofiados. No es aconsejable realizar punciones diagnósticas en animales de valor reproductor, ya que existe un riesgo significativo de ocasionar daños irreparables. La ecografía es un método diagnóstico mucho más apropiado.

Recogida y procesado de las muestras

Debido a la fragilidad del tejido testicular, es preferible obtener las muestras mediante PAF (punción con aguja fina). Tanto en masas intrabdominales como en lesiones testiculares focales es recomendable realizar la punción guiados por la ecografía, con el fin de asegurar que las muestras procedan de la lesión.

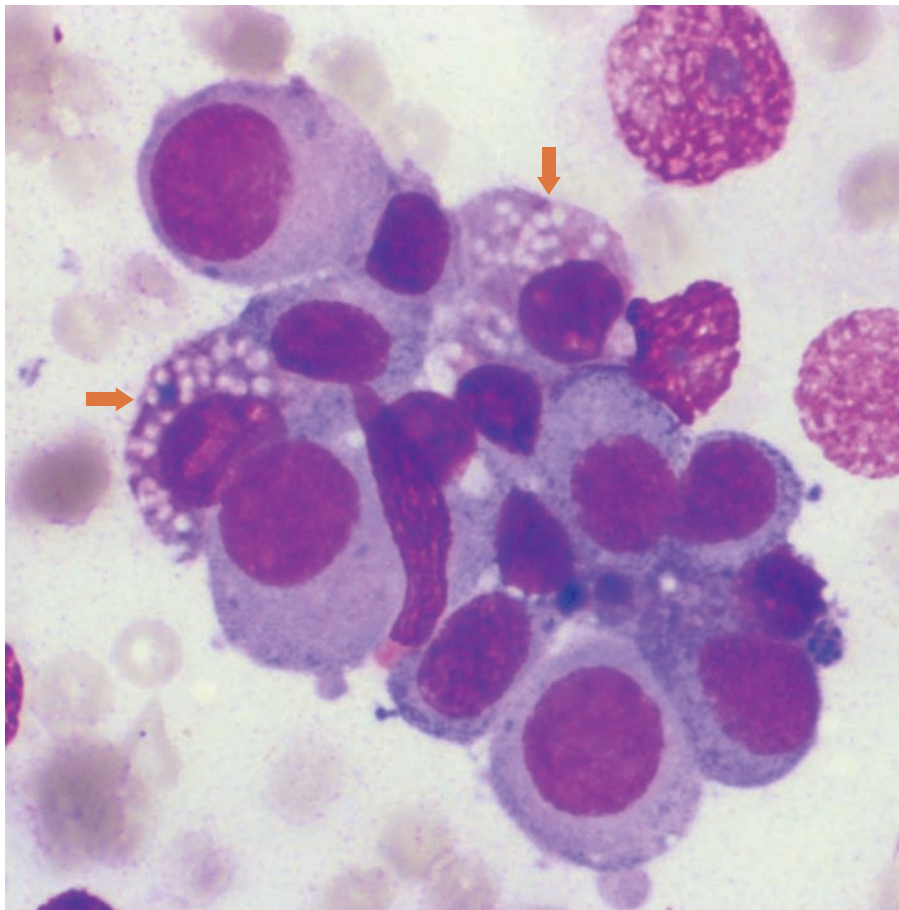
Interpretación citológica

Las muestras procedentes de testículos normales no suelen ser representativas. Contienen abundante sangre, escasos espermatozoides o precursores y, ocasionalmente, células de Sertoli (fig. 1). En general, predominan los núcleos desnudos.

Los procesos inflamatorios se caracterizan por un aumento del número de neutrófilos. Si la inflamación es secundaria a una brucelosis o a un proceso fúngico también se incrementa el número de macrófagos. Es difícil observar el microorganismo responsable de la infección.

Las citologías procedentes de tumores de células de Sertoli presentan una celularidad abundante. Las células varían en tamaño y cantidad de citoplasma. Los núcleos suelen contener cromatina finamente condensada y pueden presentar pequeños nucléolos (fig. 2). La principal característica de las células de Sertoli es la presencia de abundantes vacuolas citoplasmáticas, generalmente de pequeño tamaño y muy claras (fig. 3).

Figura 1. Citología testicular: se observa un grupo de células germinales y dos células de Sertoli (señaladas con flechas).



Las muestras procedentes de testículos afectados por seminomas muestran una cantidad moderada o abundante de células redondas que varían en tamaño y cantidad de citoplasma. Suelen predominar las células de gran tamaño con citoplasma escaso o moderado, normalmente basófilo. En general, los núcleos son grandes, con cromatina finamente condensada y pueden presentar nucléolos muy prominentes (fig. 4). Es frecuente observar núcleos múltiples y numerosas figuras mitóticas (fig. 5).

Los tumores intersticiales son los más difíciles de diagnosticar mediante citología. En general, las muestras son escasamente celulares; las células suelen tener abundante citoplasma basófilo y, ocasionalmente, presentan pequeños gránulos negros. Pueden contener pequeñas vacuolas. Los núcleos son pequeños y uniformes y pueden mostrar un nucléolo.

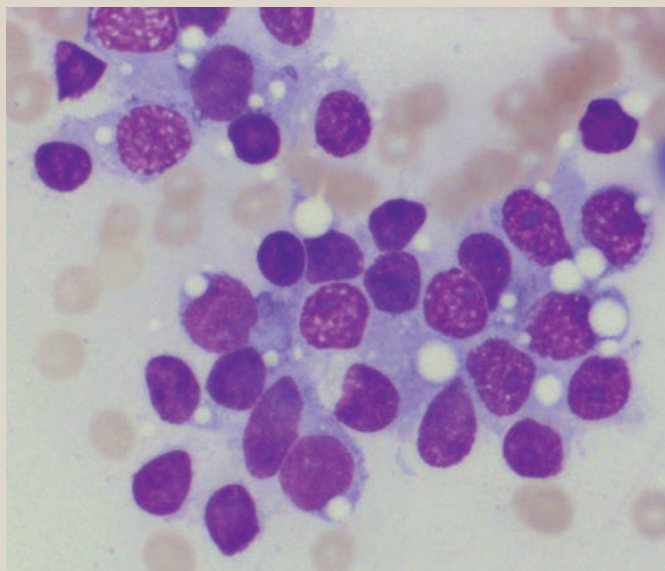


Figura 2. Citología testicular: tumor de células de Sertoli.

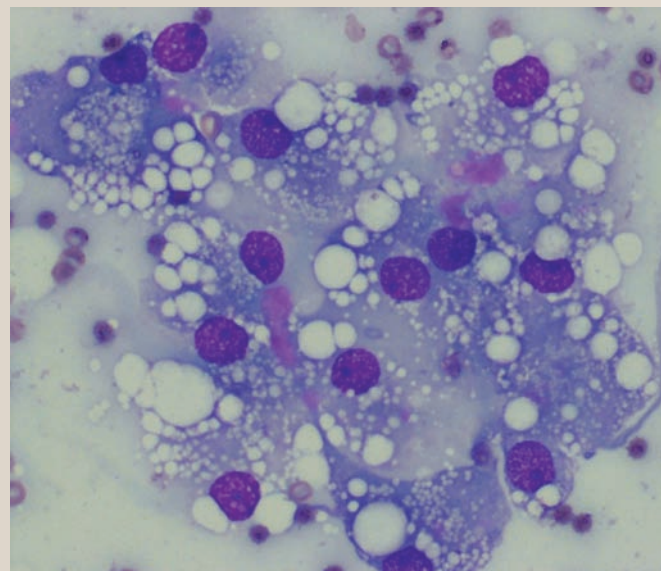


Figura 3. Citología testicular: tumor de células de Sertoli.

Figura 4. Citología testicular: seminoma. Se observan dos células germinales de gran tamaño y numerosos núcleos desnudos.

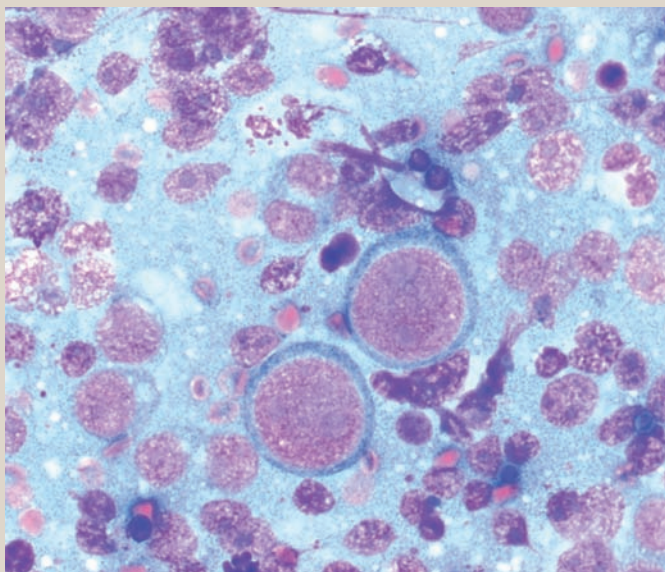
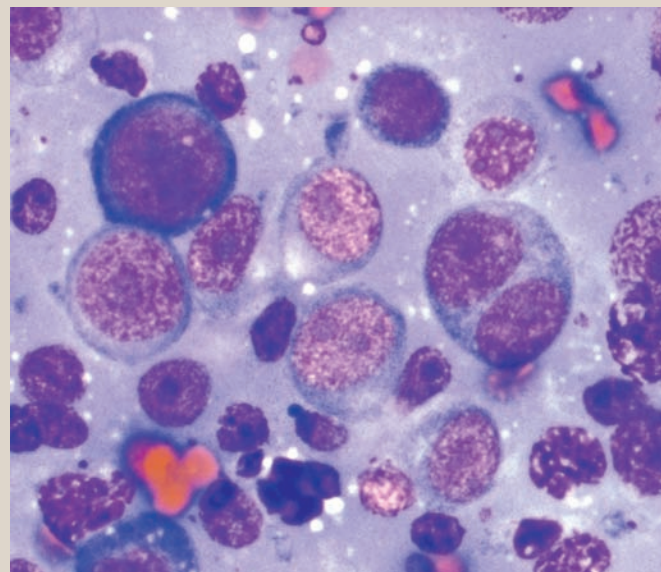


Figura 5. Citología testicular: seminoma. Se observan células germinales de gran tamaño, una de ellas binucleada.



Citología de próstata

Indicaciones del estudio citológico

La principal indicación del estudio citológico de la próstata es su aumento de tamaño, sobre todo si este hallazgo se une a cambios en la ecogenicidad normal de la glándula (especialmente si el parénquima es heterogéneo). El objetivo de la citología es diferenciar procesos neoplásicos de los inflamatorios, hiperplásicos o metaplásicos, con el fin de poder definir el pronóstico y abordaje terapéutico del paciente. También es útil en lesiones quísticas para caracterizar el tipo de contenido y, si es necesario, proceder a su cultivo microbiológico.

Recogida y procesado de las muestras

Las muestras más útiles para el diagnóstico proceden de realizar PAAF o PAF con control ecográfico, que permite elegir la mejor zona para realizar la punción (zona de parénquima más heterogénea, formaciones quísticas). Se recomienda realizarla bajo sedación para evitar movimientos bruscos del animal durante la toma de muestras. Existen otros métodos para obtener material de la próstata, pero los resultados no son tan adecuados. En glándulas muy aumentadas de tamaño puede realizarse la punción a ciegas, dirigida por palpación rectal, a través de la pared abdominal o de la región perineal. Finalmente, las muestras pueden recogerse realizando un lavado a través de una sonda uretral introducida hasta la zona prostática combinado con un masaje digital de la glándula.

El material obtenido se extiende y tiñe con los métodos citológicos habituales. En lesiones quísticas, el líquido recogido debe procesarse como otros líquidos orgánicos, procediendo a su concentración mediante centrifugación o citocentrifugación.

Interpretación citológica

Las muestras procedentes de próstata suelen contener suficiente celularidad como para emitir un diagnóstico. Como en el resto de muestras citológicas, es imposible descartar un proceso neoplásico aunque la imagen citológica sea compatible con otros procesos no tumorales.

Citología de próstata normal

El tejido normal de la próstata es un epitelio glandular que forma grupos bien organizados (aparición de "colmena") (fig. 6) compuestos por células cúbicas de núcleo central y citoplasma ligeramente acidófilo y finamente granular (fig. 7). En muestras obtenidas por masaje y lavado también pueden aparecer células escamosas (contaminantes de zonas próximas de uretra, salvo en procesos de metaplasia) y células transicionales, de mayor tamaño que las epiteliales, que generalmente exfolian de forma individual y presentan un citoplasma homogéneo ligeramente basófilo y una menor relación núcleo:citoplasma.

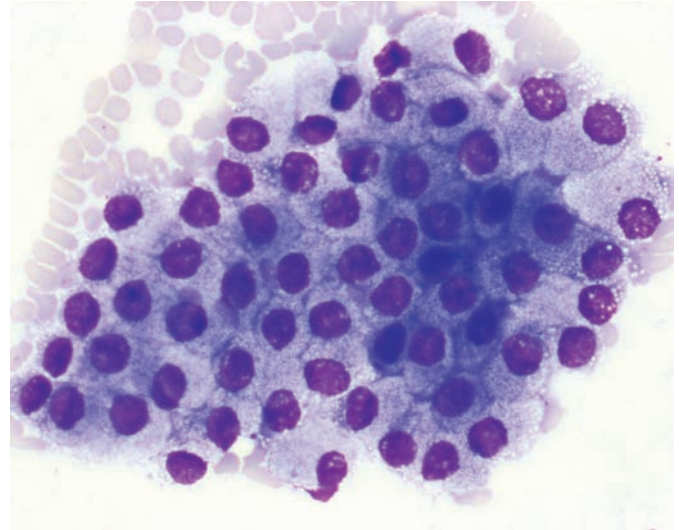


Figura 6. Citología prostática: grupo de células glandulares con apariencia de "colmena".

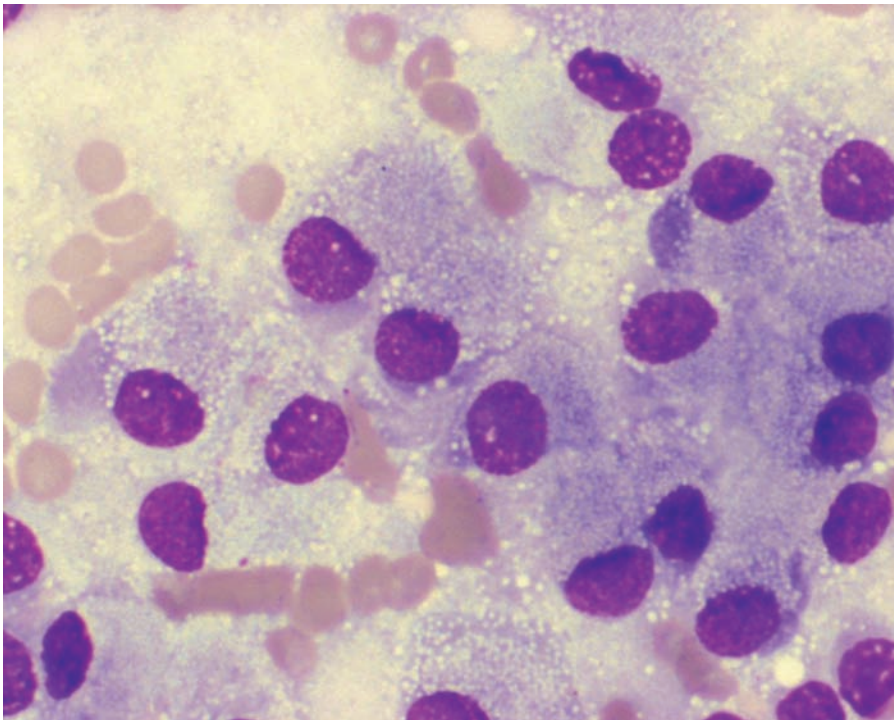


Figura 7. Citología prostática: células glandulares de núcleos homogéneos y citoplasma finamente vacuolizado.

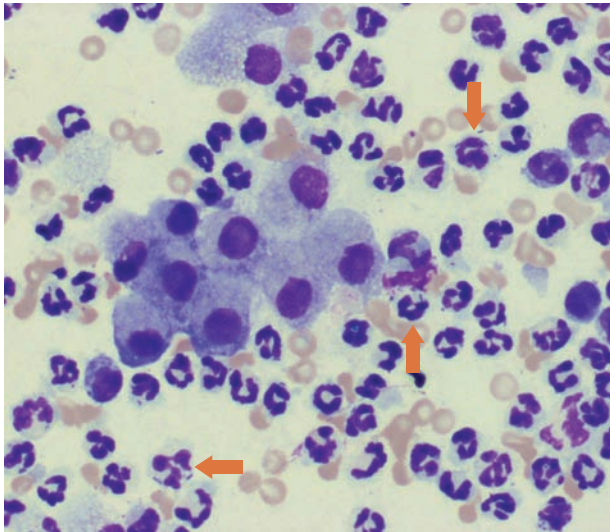


Figura 8. Citología prostática: prostatitis. Señalados con flechas se observan neutrófilos fagocitando bacterias.

Prostatitis

Las células predominantes en las prostatitis agudas son neutrófilos, mientras que en procesos crónicos también se incrementa el número de macrófagos. En las inflamaciones sépticas, los neutrófilos manifiestan cambios degenerativos y, frecuentemente, se observan bacterias. Si las muestras proceden de punción directa de la próstata, puede considerarse que estas bacterias son las responsables de la inflamación; sin embargo, si el material se recoge mediante lavado o masaje, es necesario que se encuentren en el interior de los neutrófilos para descartar que procedan de otras lesiones inflamatorias localizadas en el tracto urinario o genital (fig. 8). En los procesos inflamatorios, las células epiteliales experimentan cambios displásicos o reactivos, de forma que pierden cohesión y se incrementa su basofilia citoplasmática (fig. 9).

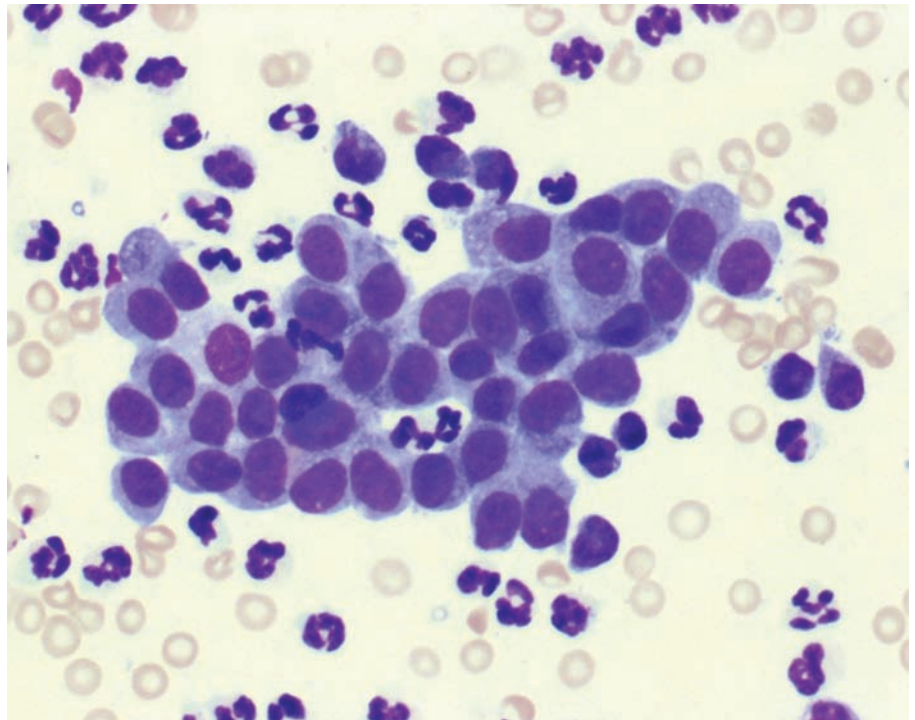
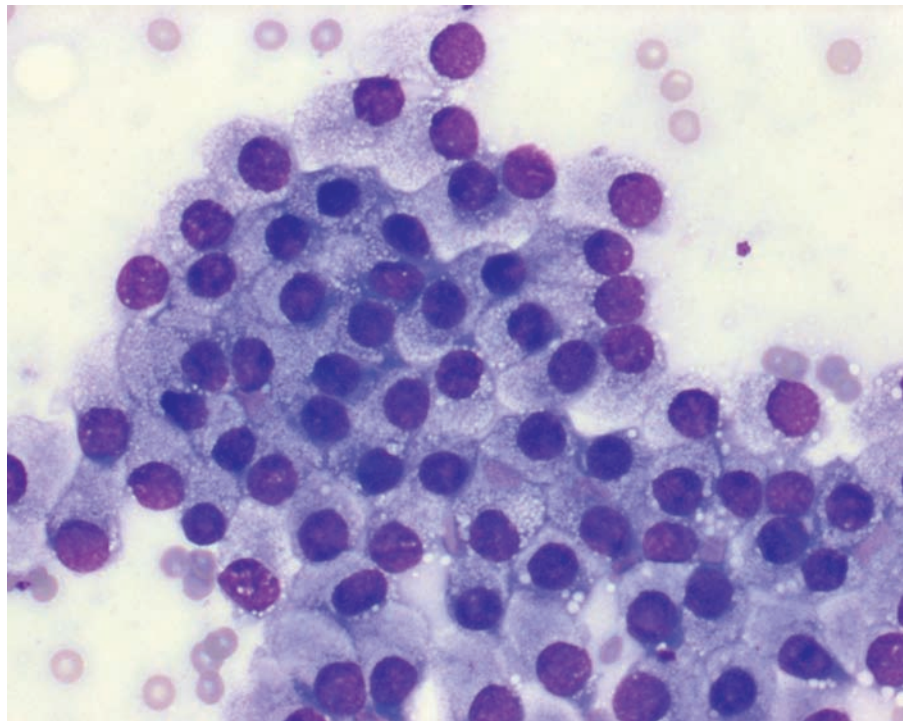
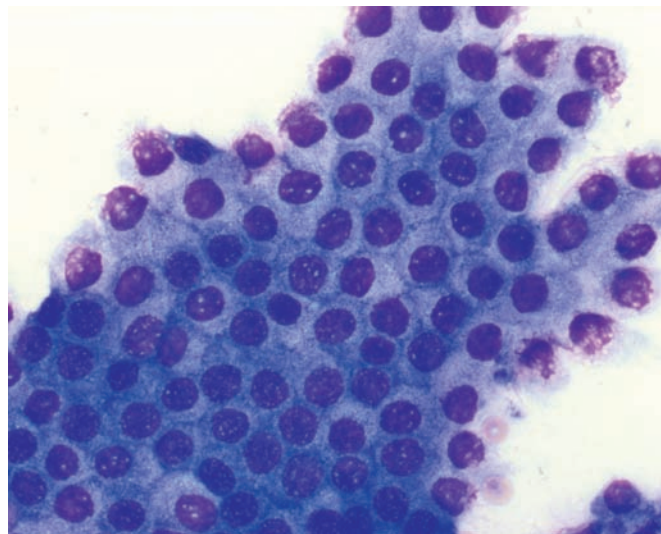


Figura 9. Citología prostática: prostatitis. Las células glandulares experimentan cambios displásicos como reacción a la inflamación.

Hiperplasia

La hiperplasia benigna es la patología más frecuente responsable del aumento de tamaño de la próstata. Puede acompañar a lesiones inflamatorias o desarrollarse en ausencia de las mismas. Las células epiteliales son básicamente semejantes a las normales, aunque pueden presentar un incremento de la relación núcleo:citoplasma, con un citoplasma más basófilo (figs. 10 y 11). Además de formar grupos, pueden observarse células individuales.

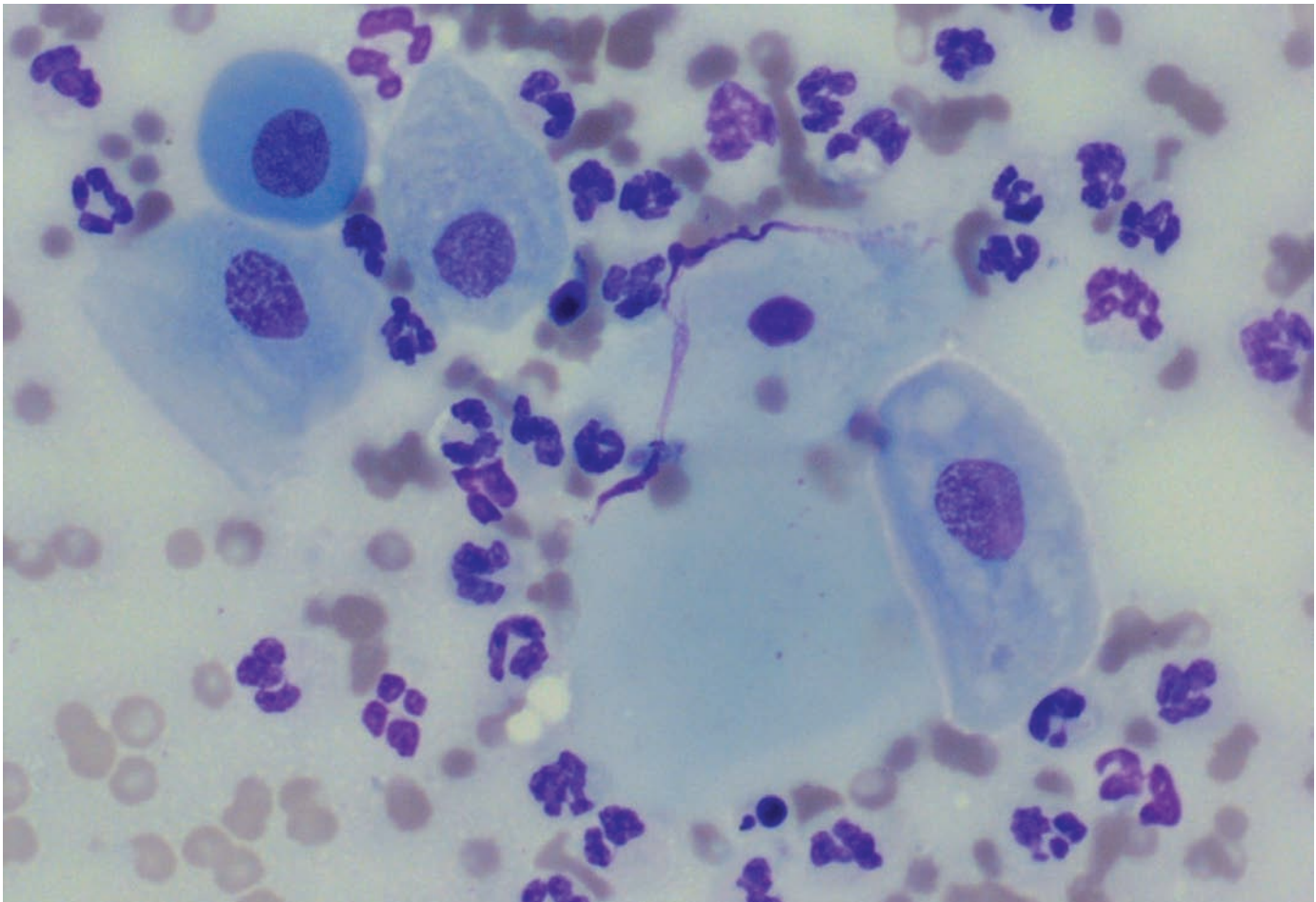


Figuras 10 y 11. Citología prostática: hiperplasia benigna. Las células glandulares presentan un ligero incremento de la relación núcleo:citoplasma y una mayor basofilia citoplasmática.

Metaplasia escamosa

En procesos metaplásicos, el epitelio glandular es sustituido por abundantes células escamosas, de gran tamaño, aplanadas y con núcleo picnótico o con procesos de cariorexisis. Ocasionalmente, se observan células hiperplásicas o inflamatorias (fig. 12). La metaplasia suele desarrollarse asociada a tumores testiculares de células de Sertoli, pero también puede ser consecuencia de procesos inflamatorios o irritativos crónicos.

Figura 12. Citología prostática: metaplasia escamosa, con predominio de células escamosas de diferentes morfologías.



Neoplasia

Los adenocarcinomas son los tumores más frecuentes de la próstata. Las células epiteliales forman grupos desorganizados o pierden su cohesión en los tumores más anaplásicos (fig. 13). En general, suelen ser tumores muy agresivos que manifiestan evidentes caracteres citológicos de malignidad (fig. 14). A no ser que formen estructuras acinares, son difíciles de diferenciar de carcinomas de células transicionales (fig. 15).

Figura 14. Citología prostática: adenocarcinoma.

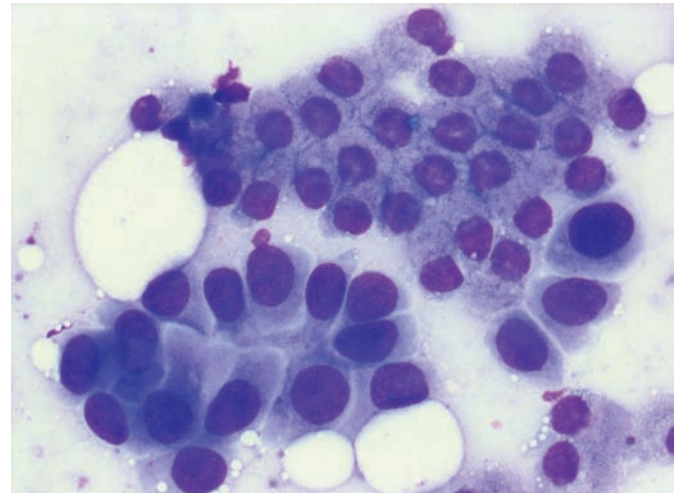
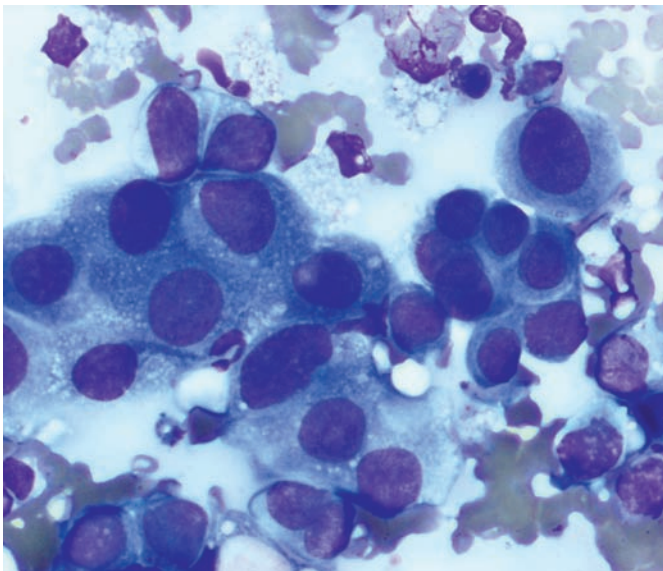
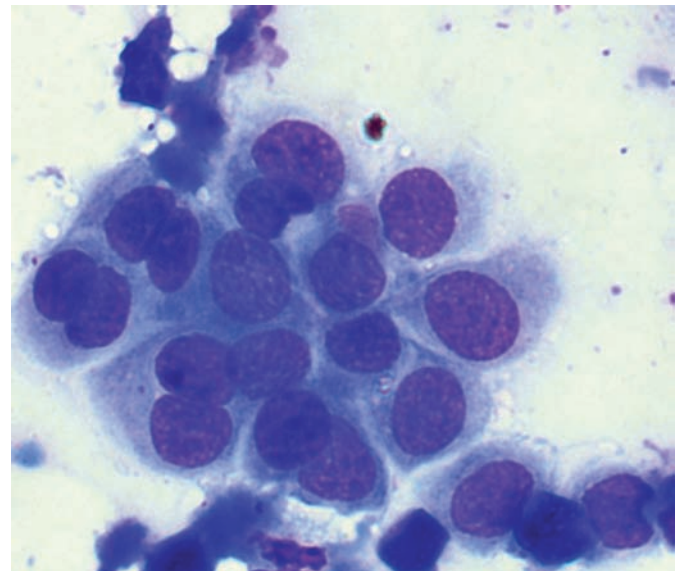


Figura 13. Citología prostática: adenocarcinoma. Se observan claramente las diferencias entre las células normales y las neoplásicas.

Figura 15. Citología prostática: adenocarcinoma. La disposición de las células en una estructura semejante a un acini permite identificar su origen glandular:



Citología prepucial

Puesto que el origen embrionario de prepucio y vagina es el mismo, las células que forman sus respectivos epitelios son muy similares. El frotis prepucial se realiza introduciendo un hisopo en el prepucio, hasta la base peniana, extendiéndolo y tiñéndolo de igual forma que el vaginal. La imagen prepucial normal es la que correspondería a un diestro o anestro en frotis vaginal, con células parabasales e intermedias (fig. 16). Una indicación interesante de los frotis prepuciales es la detección de tumores testiculares productores de estrógenos (tumores de células de Sertoli o seminomas), que se manifiestan con una imagen similar al estro, con células epiteliales superficiales queratinizadas (fig. 17).

La mucosa peniana o prepucial puede verse afectada por diferentes tipos de tumores, tanto benignos como malignos. El más frecuente es el tumor venéreo transmisible (TVT). Los TVT pertenecen a la estirpe de tumores de células redondas. Se caracterizan por exfoliar un elevado número de células de morfología redonda, con bordes citoplasmáticos bien definidos. El citoplasma se caracteriza por presentar vacuolas claras, muy bien delimitadas, de diferentes tamaños. El núcleo, también redondeado, se suele disponer en posición central. Es muy frecuente observar signos evidentes de actividad nuclear: anisocariosis,

condensación de cromatina, nucléolos prominentes, así como un elevado número de mitosis atípicas (fig. 18). Estas células neoplásicas se suelen acompañar de un intenso proceso inflamatorio; aunque pueden predominar los neutrófilos en lesiones ulceradas y/o contaminadas, es más frecuente observar un infiltrado mononuclear constituido por linfocitos y células plasmáticas. También pueden observarse células escamosas normales de la zona.

En pene y mucosa prepucial también pueden localizarse procesos inflamatorios, como las balanopostitis con una clara imagen citológica de infección (fig. 19), así como granulomas parasitarios (leishmaniosis) o reacciones de cuerpo extraño.

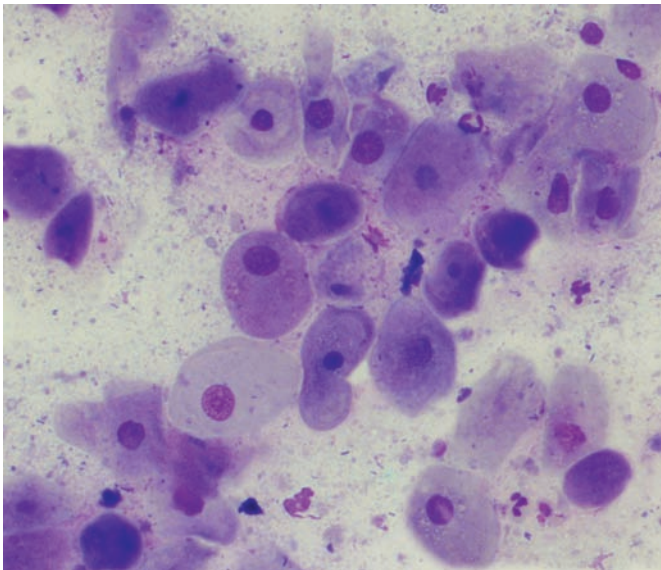


Figura 16. Citología de mucosa peniana o prepucial: predominio de células intermedias.

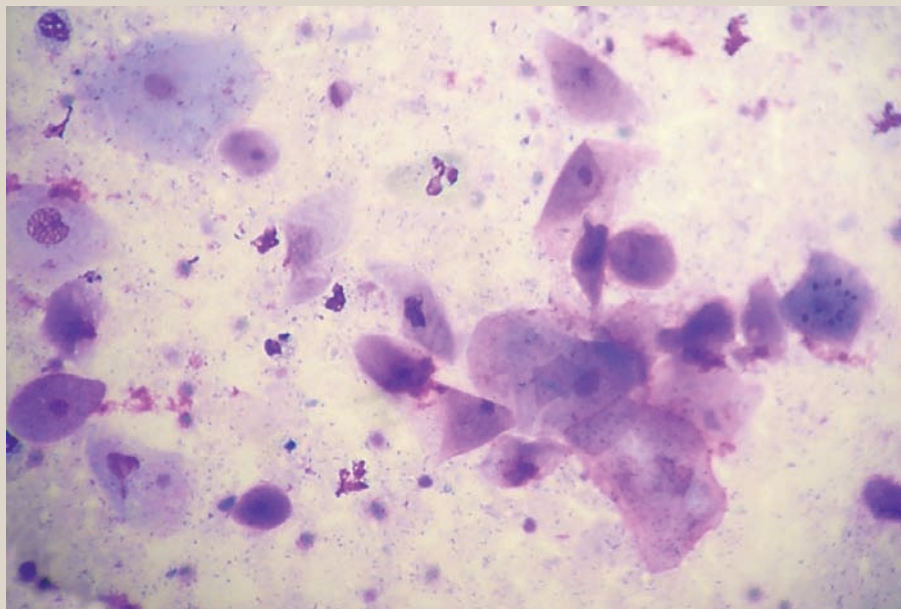


Figura 17. Citología de mucosa peniana: tumor de células de Sertoli, con predominio de células superficiales.

Figura 18. Tumor venéreo transmisible: las células se caracterizan por sus vacuolas citoplasmáticas; se observa una mitosis atípica y numerosas células inflamatorias.

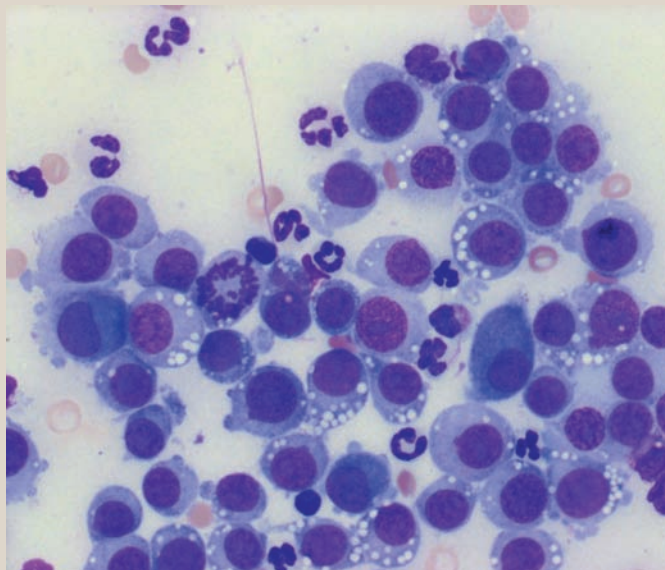
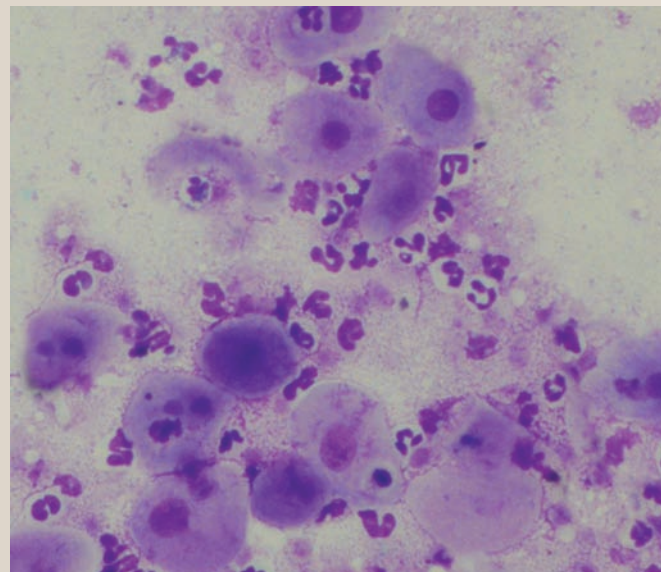


Figura 19. Citología prepucial: balanopostitis con presencia de abundantes neutrófilos.



Citología del aparato reproductor de la hembra

La principal indicación de la citología aplicada al aparato reproductor es la citología vaginal. Es muy poco frecuente que se realice un estudio citológico de otras estructuras (ovario, útero), ya que, en la mayoría de las ocasiones, todas las lesiones de estos órganos se tratan directamente mediante técnicas quirúrgicas, independientemente de su naturaleza. La única excepción la constituye la presencia de masas intrabdominales de origen indeterminado por ecografía. Los principales tumores ováricos son adenocarcinomas, caracterizados por la presencia de una abundante celularidad estructurada en grupos o acinis; pueden ser difíciles de diferenciar de los tumores de células de la granulosa, semejantes citológicamente a los tumores testiculares de células de Sertoli. Otros tipos tumorales son los disgerminomas, caracterizados por la presencia de células germinales atípicas, semejantes a las descritas en los seminomas testiculares (fig. 20) y los teratomas, en los que se observa una mezcla de células inflamatorias, restos de queratina, células escamosas y células epiteliales.

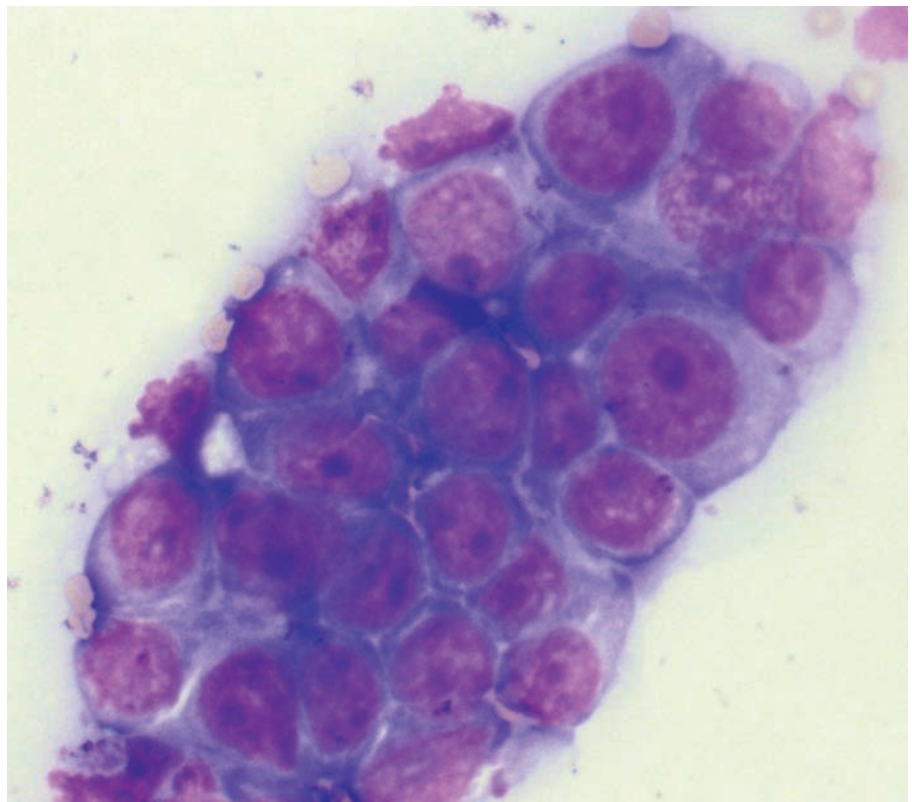


Figura 20. Citología ovárica: disgerminoma.

Citología vaginal

Indicaciones del estudio citológico

La citología vaginal constituye un método de diagnóstico fácil y económico, indoloro y con resultados fiables, con el que todo clínico que realice algún tipo de seguimiento de la reproducción debe estar familiarizado. La principal indicación de la citología vaginal es identificar la fase del ciclo sexual en que se encuentra una hembra, ya que permite apreciar los cambios que se producen en la mucosa vaginal como resultado de la mayor concentración de estrógenos durante el proestro y el estro: el epitelio vaginal pasa de tener de 2 a 4 capas de grosor en anestro, a múltiples capas durante el proestro y estro, lo que origina una gran exfoliación celular. Además, permite obtener información adicional sobre distintas patologías (vaginitis, celos silentes, etc.), pudiendo ser además un gran auxiliar en múltiples situaciones (montas indeseadas, predicción de la fecha del parto, etc.).

En la gata, al ser una hembra de ovulación inducida, el empleo de la citología vaginal es menos frecuente, ya que puede provocar alteraciones en el ciclo, debido a que la introducción del hisopo para tomar la muestra estimula la ovulación. Además, no permite hacer un seguimiento del ciclo como sucede en la perra.

A pesar de la utilidad de la citología vaginal en el manejo de diferentes aspectos de la reproducción, especialmente en la perra, hay que tener en cuenta que presenta ciertas limitaciones, en cuyo caso es necesario recurrir a otras técnicas diagnósticas.

Limitaciones de la citología vaginal

- No permite saber si se ha producido o no la ovulación y, en su caso, en qué momento.
- No sirve como diagnóstico de la gestación.
- Su realización exige unos datos mínimos de la exploración de la hembra, con información aportada por el propietario.
- Es poco eficaz en el diagnóstico de tumores.

Recogida y manejo de las muestras

Para la correcta realización de un frotis vaginal se utilizan hisopos con una longitud de 10-17 cm, humedecidos previamente con suero fisiológico, especialmente si no existe secreción, para favorecer la dispersión celular y mejorar la capacidad diagnóstica. El hisopo se introduce separando los labios vulvares, dirigiéndolo primero en un ángulo de 45°, pegado a la pared caudodorsal de la vagina para evitar la fosa clitorídea (pues produce dolor y ofrece imágenes erróneas) y posteriormente, se continúa de forma horizontal, intentando llegar al fondo de la vagina, craneal al meato urinario. Después de realizar movimientos giratorios con el hisopo, frotando contra la pared vaginal, se procede a su extracción. Se realizan 2 o 3 trazos sobre un portaobjetos, girando suavemente el hisopo, sin presionar ni pasar dos veces por el mismo sitio para evitar dañar las células. Conviene usar de dos a cuatro portaobjetos para disponer de un mayor campo de observación y, si es necesario, realizar distintas tinciones. Tras secar unos instantes, debe fijarse inmediatamente y proceder a su tinción.

En los frotis vaginales pueden aplicarse distintos tipos de tinción, dependiendo de las preferencias del clínico. Todas ellas presentan ventajas e inconvenientes.

Las tinciones hematológicas son las más empleadas en la clínica. Aunque pueden utilizarse técnicas tipo Wright o Wright-Giemsa, es más habitual emplear las tinciones rápidas, ya que las primeras no ofrecen ventajas significativas y son más laboriosas. En general, las tinciones hematológicas rápidas proporcionan suficiente calidad cromática en las células vaginales, aunque tiñen del mismo color todas las células, sin diferenciar la coloración de las queratinizadas. Además, permiten identificar fácilmente las células sanguíneas y las bacterias. Debido a la menor afinidad de las células vaginales por los colorantes, **es conveniente prolongar los tiempos de tinción por encima de los habituales en otros tipos de citologías.**

Otra técnica de tinción, muy rápida y económica, que puede aplicarse en citologías vaginales es el nuevo azul de metileno. Es una técnica monocromática, en la que todas las células vaginales se tiñen de azul; su principal limitación es que no tiñe las células sanguíneas. Las tinciones tricromáticas (Papanicolau) o de Harris-Schorr tienen la ventaja de que permiten la diferenciación celular; ya que definen variaciones de coloración en función del grado de madurez. Las células queratinizadas se tiñen de naranja-rojo (tinción acidófila), mientras que

las no queratinizadas lo hacen de azul-verde (tinción basófila). Es la ideal en citologías del ciclo, pero su principal limitación es que son técnicas laboriosas que requieren mucho tiempo (más de 15 minutos). Existe una variante comercial simplificada (Diagnoestrus®), cuya aplicación resulta práctica en la clínica, aunque proporciona coloraciones mucho más pálidas y, por ello, más difíciles de interpretar.

Interpretación citológica

Antes de realizar la interpretación citológica de una muestra vaginal, es imprescindible conocer datos previos sobre la sintomatología de la hembra, de esta forma, una correcta anamnesis proporciona datos sobre los días previos de manchado, si existen patologías previas o, incluso, sobre la conducta de la hembra.

La interpretación de la citología vaginal debe ser metódica y cuidadosa, revisando toda la extensión. Primero se evalúa a bajos aumentos (10x) para obtener una imagen en conjunto del tipo de células predominantes; posteriormente se introducen mayores aumentos (40x) para identificar los detalles que caracterizan las distintas células. Rara vez es necesario emplear máximos aumentos (100x con aceite de inmersión).

Es importante tener en cuenta que la introducción accidental del hisopo en la fosa del clítoris proporciona imágenes erróneas, ya que el epitelio de esta región muestra siempre células de tipo escamoso, similar al del estro, independientemente de la fase del ciclo y de la concentración estrogénica del momento; además, las citologías muestran muchos detritus celulares y leucocitos que se encuentran acumulados en esta zona.

Determinación de la fase del ciclo estral en la perra

Durante el ciclo estral de la perra se diferencian cuatro fases: proestro, estro, diestro o metaestro y anestro. Los cambios del epitelio responden a las variaciones en la secreción hormonal ovárica. El incremento de estradiol durante el proestro estimula la división del epitelio vaginal; la posterior disminución de los estrógenos, al final del proestro y en el estro, provoca la degeneración celular; con muerte, queratinización y descamación de

Tinción de Harris-Schorr

- 1 Sumergir 10 veces en alcohol de 70°.
- 2 Sumergir 10 veces en alcohol de 50°.
- 3 Lavar con agua destilada.
- 4 Hematoxilina de Harris, 2 minutos.
- 5 Lavar con agua destilada.
- 6 Alcohol amoniacal, 1 minuto.
- 7 Lavar con agua destilada.
- 8 Sumergir una vez en alcohol de 70°.
- 9 Sumergir una vez en alcohol de 95°.
- 10 Colorante de Schorr, 2 minutos.
- 11 Sumergir una vez en alcohol de 95°.
- 12 Sumergir una vez en alcohol de 100°.

las células. La clasificación celular se basa en el tamaño y forma de las células, en la presencia o ausencia de núcleo y en la morfología nuclear (si existe) (fig. 21). Los distintos tipos celulares son consecuencia de la evolución de las células de las capas más profundas o basales en su proceso de maduración, muerte y recambio, influidas por la situación hormonal del momento. Desde las capas más profundas del epitelio hasta la superficie, en orden de madurez creciente, se diferencian:

- Las células **basales** no se observan en las citologías vaginales, ya que no se consigue su exfoliación. Son células de pequeño tamaño, de morfología redondeada, basófilas y con escaso citoplasma.
- Las células **parabasales** son células epiteliales pequeñas, basófilas, redondas u ovals, con núcleo grande (fig. 22). Aunque es normal que estén presentes en hembras prepúberes, exfoliando de forma abundante y en grupos, son poco frecuentes en otras edades (sólo en diestro, anestro y proestro muy temprano).
- Las células **intermedias pequeñas** tienen una cantidad de citoplasma variable; son menos redondeadas, de un tamaño aproximadamente doble al de las parabasales y con un núcleo de tamaño similar (fig. 23).
- Las células **intermedias grandes** también son basófilas y similares a las anteriores, pero más grandes y con los bordes celulares angulados que suelen estar plegados (fig. 24). El núcleo puede empezar a degenerar.
- Las células **superficiales** son las más grandes; son las únicas células acidófilas del frotis. Son células queratinizadas, que pueden presentar núcleo o no. En caso de existir, su núcleo es pequeño y picnótico, con bordes angulados (fig. 25). Este proceso de degeneración celular se denomina "cornificación", y pueden aparecer vacuolas en el citoplasma. Algunos autores denominan a estas células anucleadas y totalmente queratinizadas como "escamas". Las células con núcleo picnótico pequeño y las anucleares tienen el mismo significado, y no indican cambios diferentes en la fase del ciclo estral.

Representación esquemática de las principales células presentes en las citologías vaginales y sus tamaños relativos

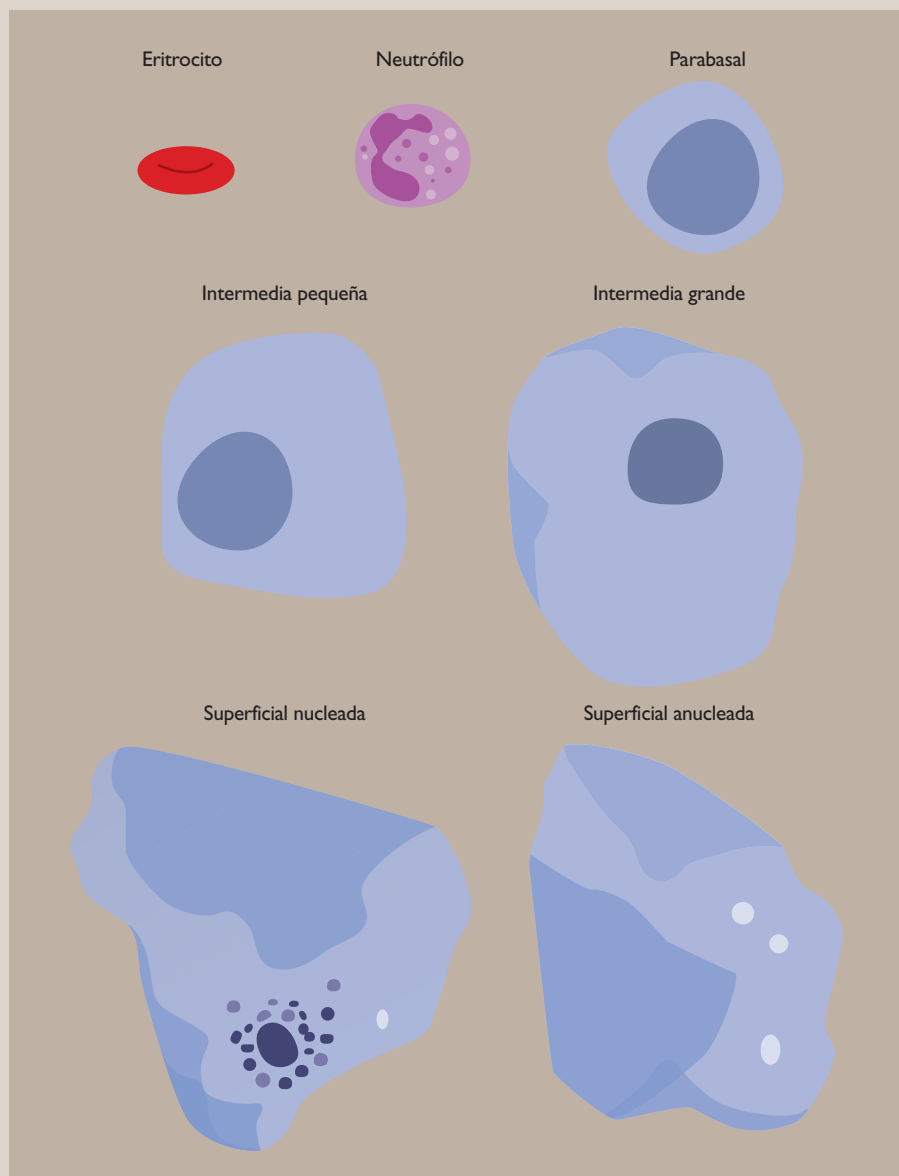


Figura 21.

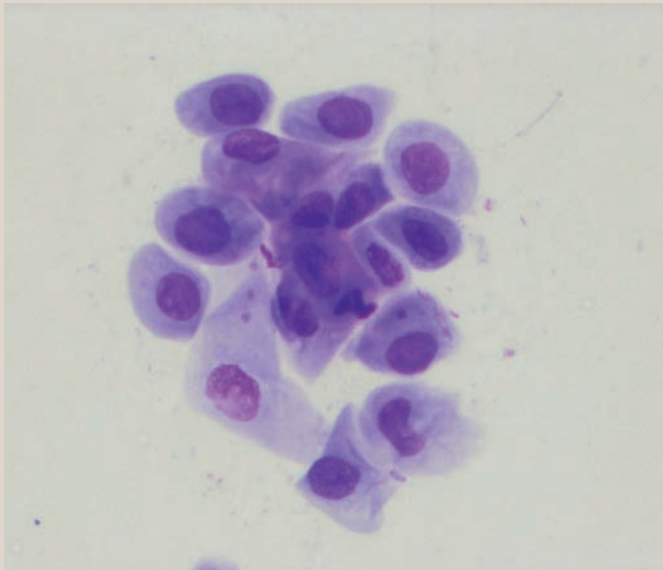


Figura 22. Citología vaginal: células parabasales.

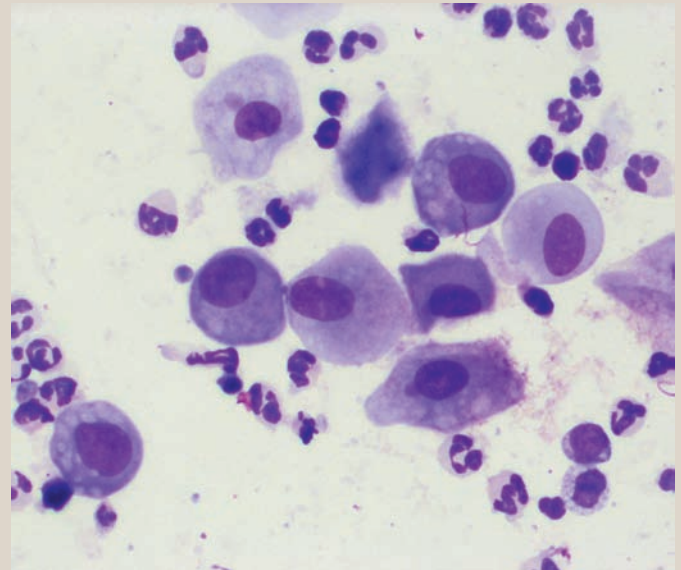


Figura 23. Citología vaginal: células intermedias pequeñas.

Figura 24. Citología vaginal: células intermedias grandes.

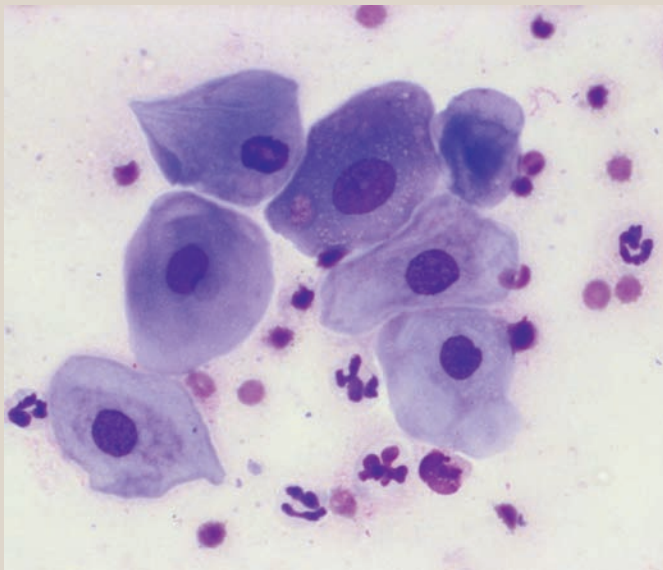
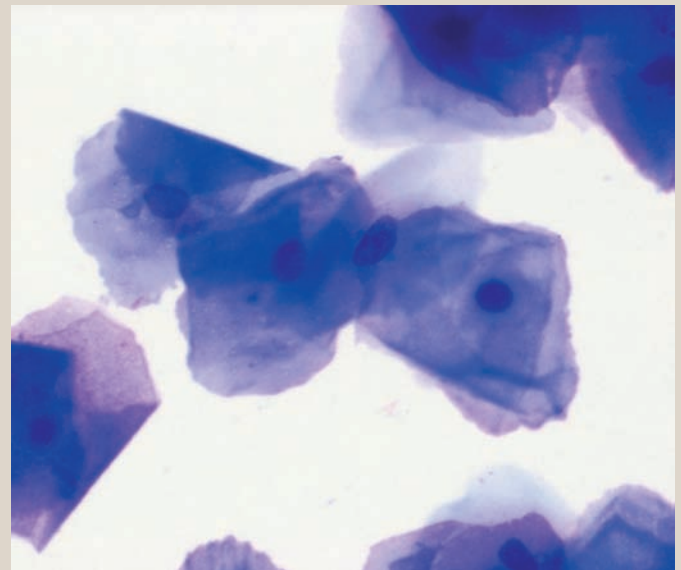


Figura 25. Citología vaginal: células superficiales.



En condiciones fisiológicas y siempre según la fase del ciclo, en las citologías vaginales se observan células epiteliales parabasales, intermedias y superficiales, eritrocitos, leucocitos y bacterias. Las imágenes citológicas de los distintos estadios del ciclo estral se basan en el predominio de unos u otros tipos celulares y su progresión en los frotis consecutivos (figs. 26 a 31). Las características citológicas de las distintas fases se resumen en la siguiente tabla.

Además de las células descritas, es posible identificar otros tipos de células o estructuras en las citologías, que no suelen tener importancia diagnóstica, como la presencia de células binucleadas (fig. 32), células con citoplasma vacuolizado (fig. 33) como parte del normal proceso de degeneración celular; las denominadas células de metaestro (fig. 34), que son células con neutrófilos en su citoplasma y aparecen en cualquier fase en la que exista un número elevado de neutrófilos, células con cuerpos citoplasmáticos o restos nucleares (fig. 35), restos de tinción sobre las células y, también, la presencia de mucosidad vaginal, generalmente relacionada con procesos inflamatorios. La presencia de eritrocitos es frecuente durante todo el proestro en la mayoría de las perras, si bien es posible que aparezcan también durante el estro o, incluso, que no se muestren en ninguna fase del ciclo, siempre de forma fisiológica.

La evaluación de las fases del ciclo es un proceso dinámico, en el que es imprescindible conocer unos antecedentes mínimos de la hembra, ya que con una imagen aislada es posible confundir un proestro temprano y un diestro o, incluso, un metaestro inicial con una piometra.

Características citológicas de las distintas fases del ciclo estral de la perra.

Etapa	Células epiteliales (en negrita las predominantes)	Eritrocitos	Leucocitos	Bacterias
PROESTRO				
Temprano	Parabasales, intermedias pequeñas y grandes (coloración basófila)	abundantes	presentes/escasos	frecuentes
Medio	Intermedias pequeñas y grandes, superficiales nucleadas (coloración basófila, algo acidófila)	en disminución	escasos	frecuentes
Tardío	Intermedias grandes, superficiales con o sin núcleo (>80%) (coloración acidófila)	presentes/pocos	ausentes	frecuentes
ESTRO	Superficiales con o sin núcleo (90-100%) (coloración acidófila)	presentes/ninguno	ausentes	frecuentes
METAESTRO O DIESTRO	Parabasales, intermedias pequeñas, superficiales (<20%) (coloración basófila)	ausentes	abundantes los primeros 15-20 días; luego desaparecen	escasas/ausentes
ANESTRO	Parabasales, intermedias pequeñas (coloración basófila)	ausentes	escasos	escasas/ausentes

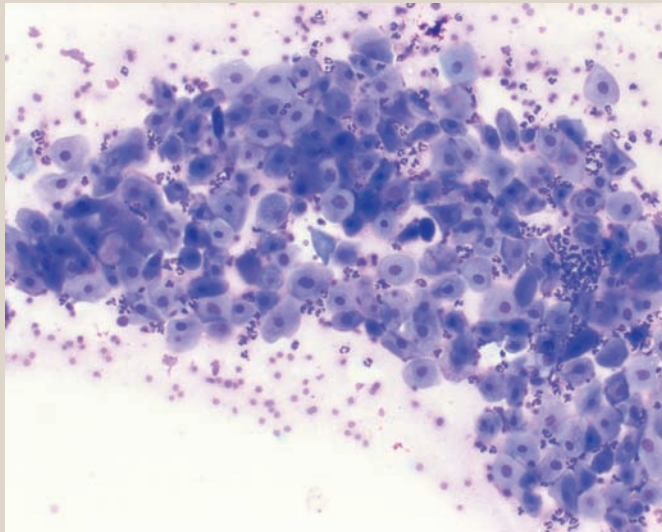


Figura 26. Citología vaginal en fase de proestro inicial: elevada celularidad, predominio de células epiteliales parabasales e intermedias, con abundante presencia de eritrocitos y algunos neutrófilos.

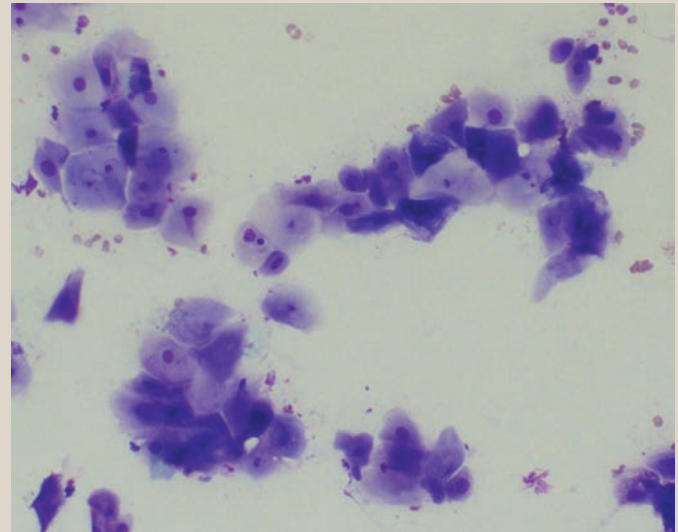


Figura 27. Citología vaginal en fase de proestro intermedio: aumento progresivo de las células epiteliales superficiales al ir avanzando el proestro, disminución del número de eritrocitos y ausencia de neutrófilos.

Figura 28. Citología vaginal en fase de estrus: con un predominio casi absoluto de las células epiteliales superficiales, tanto anucleadas como con núcleo picnótico pequeño.

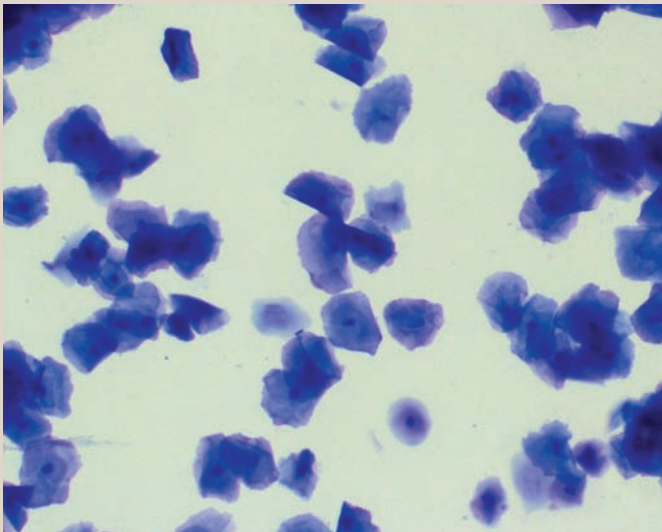
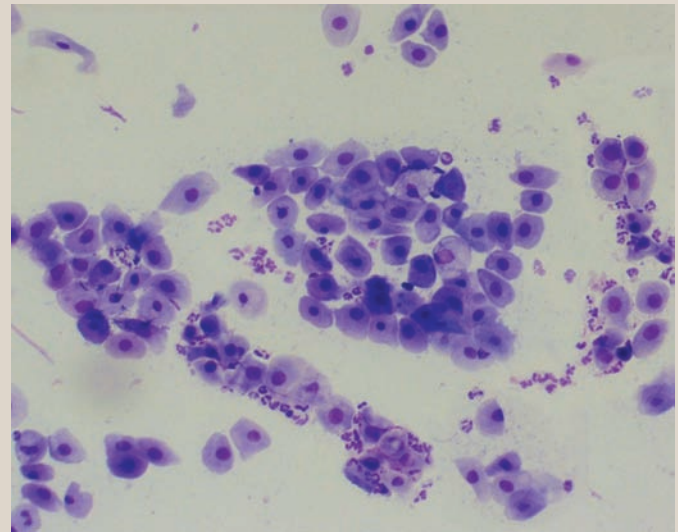


Figura 29. Citología vaginal en fase de diestro inicial: se produce un cambio brusco en la citología, con aparición de células parabasales e intermedias en una proporción mayor del 50%, agrupadas o en empalizada, acompañadas de gran cantidad de neutrófilos.



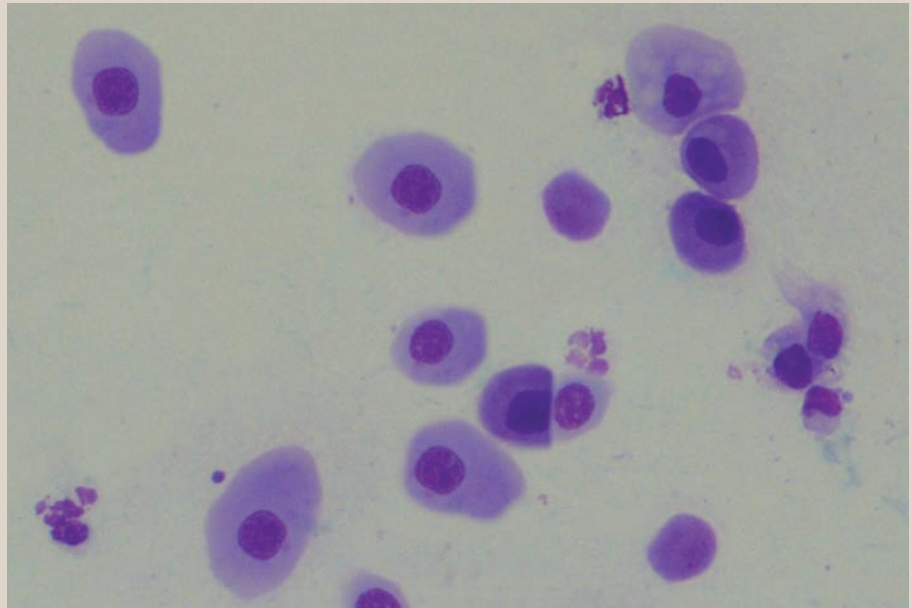


Figura 30. Citología vaginal en fase de diestro avanzado: predominio de células intermedias y parabasales, con desaparición progresiva de neutrófilos y menor celularidad.

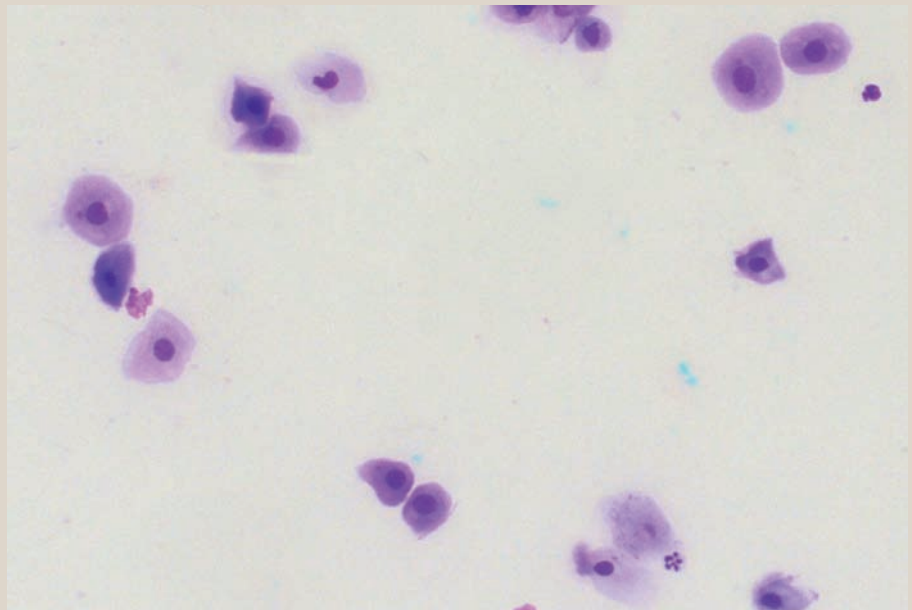


Figura 31. Citología vaginal en fase de anestro: escasa celularidad, células parabasales e intermedias.

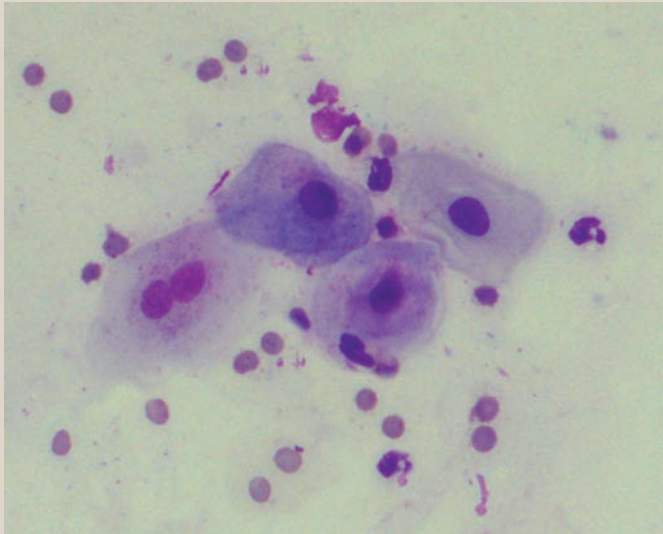


Figura 32. Citología vaginal: célula epitelial binucleada, sin significado clínico.

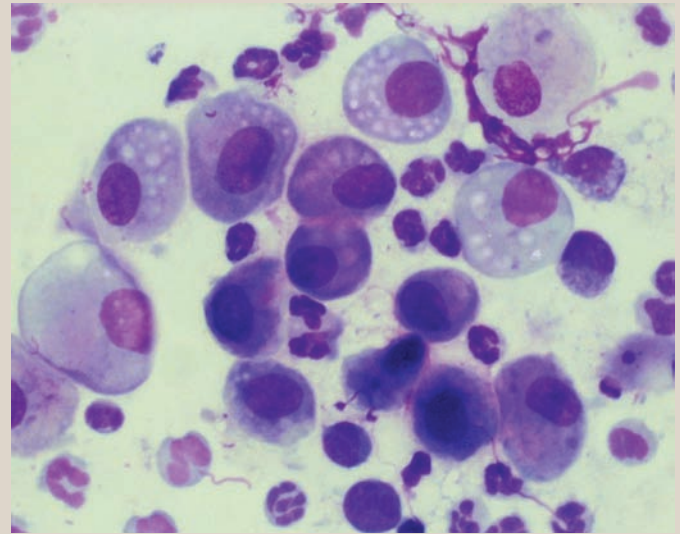


Figura 33. Citología vaginal: células epiteliales intermedias con citoplasma vacuolizado, presentes en muchas citologías vaginales como parte del proceso degenerativo celular.

Figura 34. Citología vaginal: células de metaestro, con uno o varios neutrófilos en su citoplasma, aparecen en cualquier fase con presencia elevada de neutrófilos.

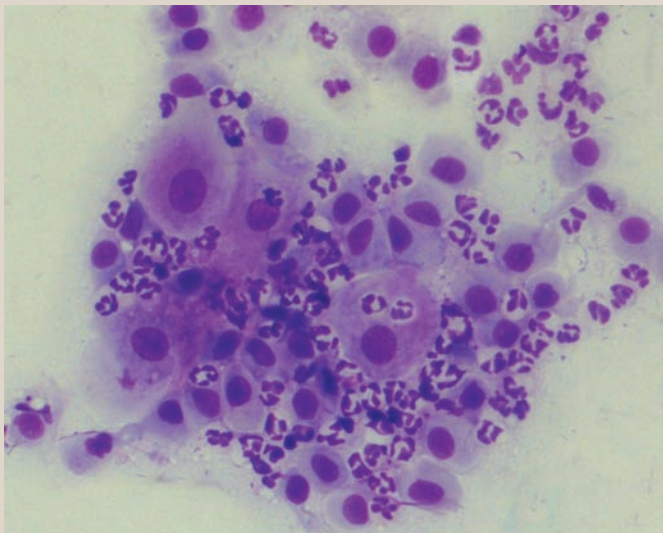
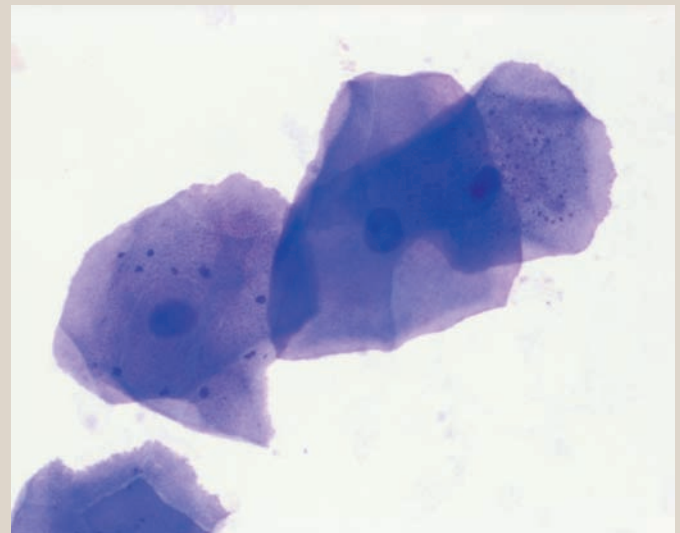


Figura 35. Citología vaginal: célula epitelial superficial con cuerpos citoplasmáticos, sin significado clínico.



Determinación de la fase del ciclo estral en la gata

Las células presentes en una citología vaginal en la gata son similares a las descritas para la especie canina.

El ciclo de la gata se caracteriza porque no existe una diferenciación clara entre estro y proestro, por lo que se habla de un “proestro-estro” o simplemente “estro”. También se diferencia entre una fase breve de inactividad sexual o “interestro” y otra más larga, similar a la de la perra, o “anestro”. En las épocas de mayor actividad sexual (fotoperiodo largo) se suceden periodos de proestro-estro seguidos de un interestro, con una duración de unas tres semanas y de nuevo proestro-estro e interestro y así sucesivamente, hasta que llega una época de menor actividad, en la que aparece el anestro. En el caso de producirse una ovulación, generalmente motivada por la monta, tras el proestro-estro aparecerá una fase de diestro.

Las principales diferencias citológicas con la perra son la inexistencia de eritrocitos en proestro y la ausencia o presencia de un escaso número de neutrófilos en diestro. El primer día de estro (proestro-estro) aparece un 10% de células superficiales anucleadas, aumentando a un 40-60% a partir del 4º día de estro, con menos del 10% de intermedias (fig. 36). En el diestro reaparecen las células parabasales y se produce un aumento importante de las intermedias. Durante el interestro se observa una población de células mixtas, con predominio de intermedias y presencia de escasas células parabasales y superficiales anucleadas.

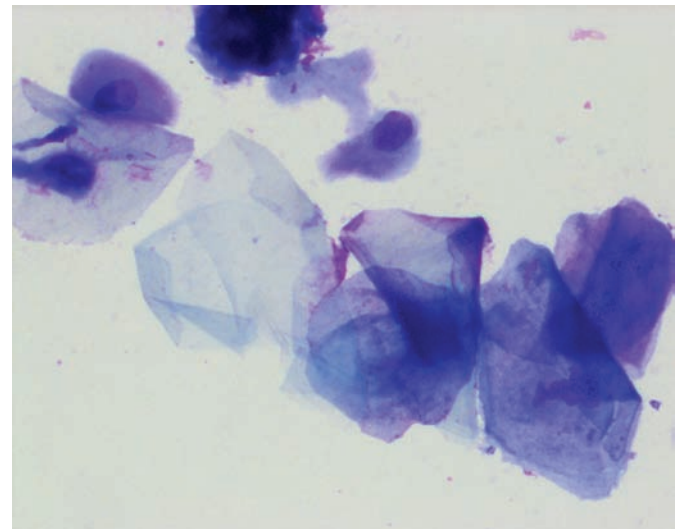
Utilidad clínica de la citología vaginal

La citología vaginal es uno de los recursos diagnósticos más usados en reproducción. Su interpretación proporciona información necesaria para numerosas situaciones clínicas.

Determinación del momento fértil

La citología vaginal es imprescindible para determinar el momento adecuado para proceder a la monta o la inseminación artificial de las hembras. Algunas perras no muestran conductas diferentes en el proestro o en el estro, aunque ovulen con normalidad, de forma que la información proporcionada por el estudio citológico es muy útil. Las perras deberían ser cubiertas, cada 3 o 4 días, durante el periodo cuyas citologías vaginales muestren más de un 90% de células superficiales, teniendo en cuenta que la supervivencia de los espermatozoides en el tracto genital femenino, tras la monta natural o inseminación con semen fresco, es de 4-6 días. En el caso de utilizar semen refrigerado o congelado es muy conveniente, además, determinar la progesteronemia o emplear otros métodos complementarios para precisar el momento exacto de la ovulación, ya que la supervivencia de los espermatozoides es mucho más corta, por lo que las inseminaciones deben ser mucho más ajustadas.

Figura 36. Citología vaginal en la gata: células epiteliales superficiales.



Monta indeseada

En este caso, la citología ofrece información sobre dos aspectos. Por un lado, puede confirmar si se ha producido o no una monta (al escaparse una hembra), puesto que en las horas siguientes se podrán ver espermatozoides en el frotis (fig. 37); por otro lado, permite determinar el momento del ciclo en que ha sido montada, ya que si es en proestro temprano o diestro, es poco probable que se produzca la fecundación, mientras que si se produjo durante el estro las posibilidades de una camada indeseada serán elevadas. Por lo tanto, la citología ayuda a decidir si es conveniente o no usar un abortivo.

Predicción de la fecha del parto y/o realización de cesárea

Según algunos autores, el parto suele producirse el día 57 ± 1 día, contados a partir del primer día de diestro citológico (en el que se produce un cambio brusco en la citología, con aparición de células parabasales e intermedias en una proporción mayor del 20-50%, mientras que las superficiales descienden a menos del 20%). La cesárea a partir de este día será, también, más segura. Si bien experimentalmente se constata que no es un método tan preciso como indican ciertas referencias bibliográficas, es indudable que el cálculo es más exacto que si se basa exclusivamente en la fecha de la monta.

Prevención del celo

Permite asegurar que la hembra se encuentra en anestro antes de utilizar medicación para evitar que salga en celo (progestágenos) y, así, reducir riesgos.

Estudios de infertilidad

La citología es un fiel indicador de actividad ovárica, al detectar el aumento de estrógenos, aunque no es útil en el caso de celos anovulatorios en los que aumenta el estradiol en ausencia de ovulación, (en estos casos, es imprescindible realizar determinaciones hormonales). La desincronización es la principal causa de "falsa infertilidad", ya que un 40% de las hembras no responden al "patrón tipo" de ciclo estral (duración 8-10 días de proestro y 7-9 días de estro, secreción sanguinolenta en proestro, aceptación del macho sólo en estro, etc.). La citología vaginal puede ser una buena herramienta para diferenciar si la hembra no acepta al macho por un problema de conducta o porque se esté intentando en el momento incorrecto, algo que sucede con gran frecuencia.

Detección de celos silenciosos

Los "celos silentes" se presentan en perras, generalmente de razas pequeñas, que no manifiestan signos externos de celo, aun cuando ovulan con normalidad. La realización de citologías seriadas cada 15 días permite detectar el proestro citológico.

Celos partidos

En las perras que presentan celos partidos, se producen signos de proestro durante 4 o 5 días que desaparecen sin evolucionar hacia estro y diestro, hasta que, pasadas varias semanas, vuelven a reaparecer, continuando entonces con un celo normal con ovulación. Esta situación no representa realmente una patología y son perras fértiles, pero es preciso definir cuál es el momento idóneo para la monta, que puede ser determinado fácilmente con el estudio citológico.

Quistes foliculares ováricos

En el caso de quistes foliculares productores de estrógenos, cuadro también denominado estro persistente o hiperestrogenismo, las citologías son típicas de proestro o estro (fig. 38).

Síndrome del remanente ovárico

En el caso de que tras una ovariectomía hayan quedado fragmentos ováricos activos, las citologías muestran características de ciclo "normal". Estos ciclos pueden aparecer, por primera vez, varios años después de la intervención quirúrgica.

Vaginitis

El diagnóstico de vaginitis requiere una valoración prudente, ya que la presencia de bacterias y leucocitos es normal en distintas fases del ciclo estral. El diagnóstico citológico se basa en la observación de un número excesivo de neutrófilos, intactos o degenerados, junto a bacterias. Al igual que en las piometras, es frecuente la presencia de mucosidad vaginal. La vaginitis puede aparecer en cualquier fase del ciclo.

Figura 37. Presencia de espermatozoides en una citología vaginal, evidencia de una monta.

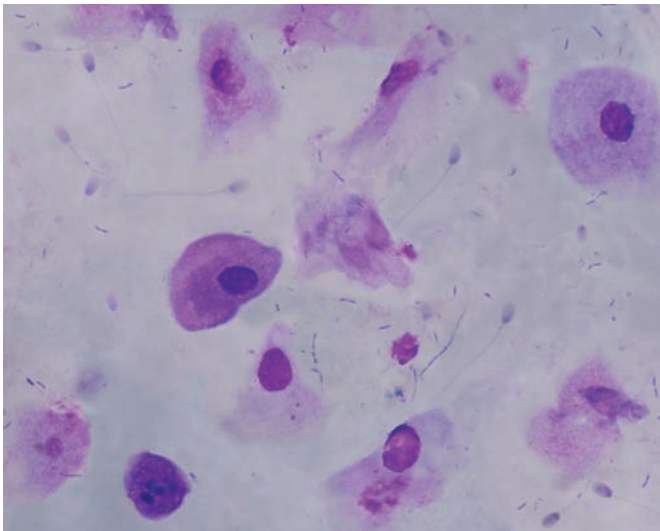
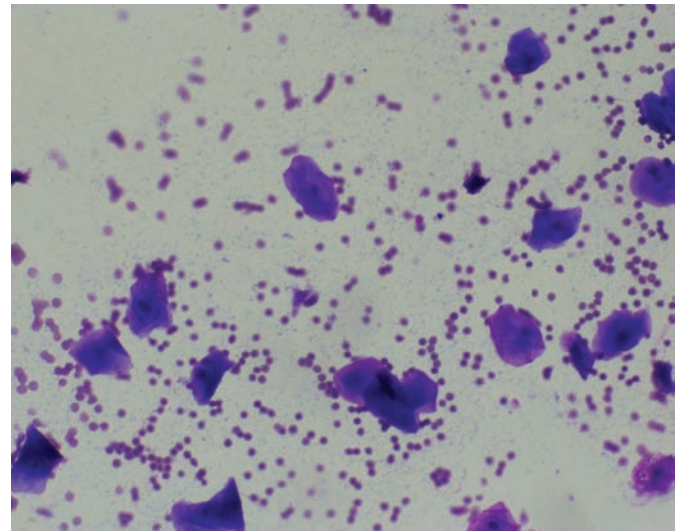


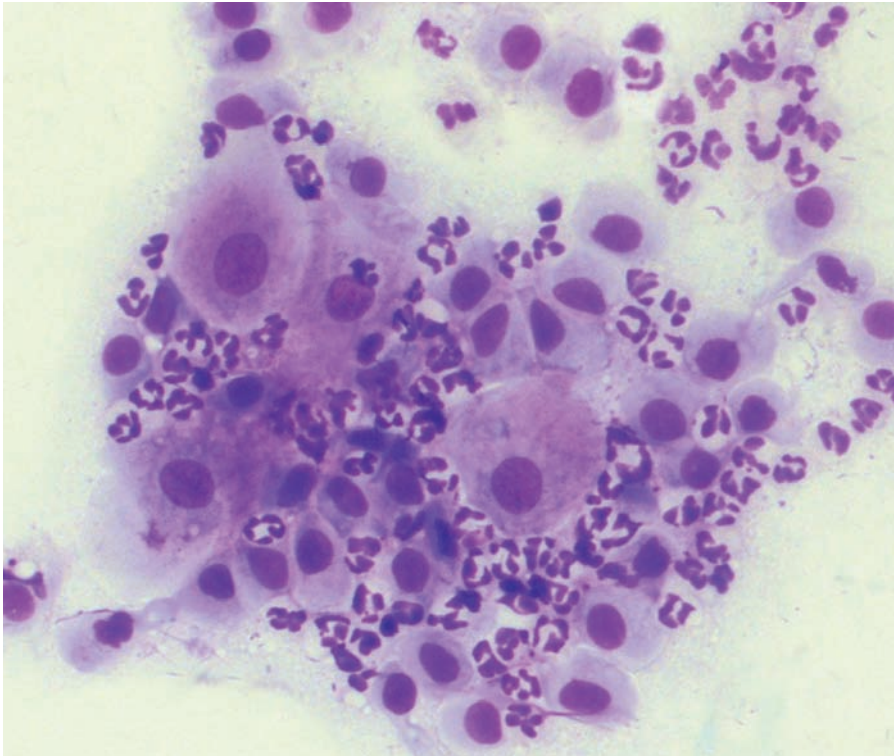
Figura 38. Citología vaginal: hiperestrogenismo por presencia de quistes ováricos; aparecen células superficiales y eritrocitos durante periodos de tiempo prolongados.



Piometra o metritis

En estos casos, las citologías muestran una imagen clara de infección (fig. 39), aunque debido a la gravedad de estos cuadros, suelen diagnosticarse por la presencia de signos sistémicos evidentes. Es importante recordar que la piometra se produce siempre durante el diestro, y que en los primeros días de esta fase es frecuente la presencia de un gran número de neutrófilos, que van desapareciendo a partir del día 15 de metaestro, por lo que la valoración debe ser prudente. Las metritis suelen aparecer en el posparto, generalmente como consecuencia de distocias o manipulaciones obstétricas.

Figura 39. Citología vaginal: piometra; se observa una gran cantidad de neutrófilos durante el diestro, que no disminuyen con el paso de los días; los signos clínicos son más importantes en el diagnóstico que la citología.



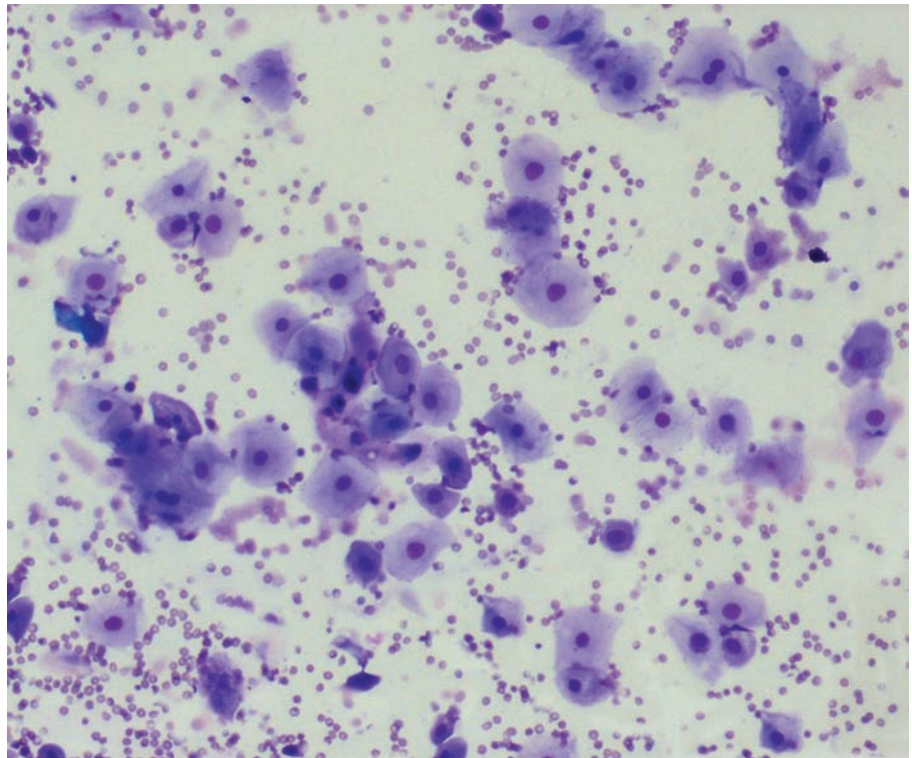
Metrorragia

La citología se caracteriza por la presencia de un elevado número de eritrocitos en diestro (fig. 40). En ocasiones, las perras afectadas presentan pérdidas sanguíneas muy abundantes.

Tumores vaginales

Es importante precisar que, excepto el TVT, la mayoría de los tumores vaginales o uterinos (leiomiomas, fibromas o carcinomas) no exfolian células con facilidad, lo que dificulta el diagnóstico citológico.

Figura 40. Citología vaginal: metrorragia; se observa la presencia de gran cantidad de eritrocitos durante el diestro.



Bibliografía

- BAKER, R. Y LUMSDEN, J.H. The reproductive tract. En: Baker, R. y Lumsden, J.H. (ed). *Color atlas of cytology of the dog and cat*. St Louis: Ed. Mosby, 2000. pp. 235-251.
- BERTAZZOLO, W., DELL'ORCO, M., BONFANTI, U. *et al*. Cytological features of canine ovarian tumours: a retrospective study of 19 cases. *J. Sm. Anim. Pract.* 2004, n°. 45, pp. 539-545.
- FELDMAN E.C. Y NELSON R.W. *Endocrinología y reproducción canina y felina*. 3ª ed. Ed. Inter-Médica, Buenos Aires 2007.
- THRALL, M.A. Y OLSON, P.N. The vagina. En: Cowell, R.L., Tyler, R.D. y Meinkoth, J.H. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 240-248.
- VIADEL, L.Y BORRÁS, D. *Atlas clínico de citología vaginal de la perra y de la gata*. 1ª ed. Ed. TemisNetwork S.L Barcelona 2003.
- ZINKL, J.G. Cytology of the male reproductive tract. En: Cowell, R.L., Tyler, R.D. y Meinkoth, J.H. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 230-239.

citología del aparato respiratorio:

citología nasal, lavados traqueales y broncoalveolares,
citología pulmonar y de masas mediastínicas

Las patologías del aparato respiratorio son muy frecuentes en la clínica de pequeños animales. La anamnesis, la exploración física y la radiología constituyen técnicas importantes para su diagnóstico. Sin embargo, sólo permiten establecer un patrón común a diferentes patologías. La aplicación de un tratamiento eficaz se basa en la determinación de la etiología del proceso, lo que requiere, en la mayoría de los casos, la observación del tipo de reacción celular que se está produciendo en los tejidos. El estudio citológico permite evaluar diferentes estructuras del tracto respiratorio (cavidad nasal, vías respiratorias y parénquima pulmonar), algunas de las cuales no son susceptibles de un estudio histológico, lo que la convierte en una técnica de diagnóstico indispensable en la clínica. Aunque no siempre proporcione un resultado definitivo, la citología permite, al menos, limitar la lista de diagnósticos diferenciales. Además, las muestras obtenidas pueden emplearse para estudios microbiológicos que completan el plan diagnóstico de los problemas respiratorios.

Citología de la cavidad nasal

Indicaciones del estudio citológico

La evaluación citológica está indicada en cualquier trastorno crónico que afecte a la cavidad y senos nasales. Todas las patologías nasales comparten una sintomatología común, que incluye desde estornudos, ronquidos y secreción nasal hasta epistaxis y deformación del plano facial en los casos más graves. Asimismo, el patrón radiológico es, en la mayoría de los casos, inespecífico y común a diferentes etiologías. El objetivo general del estudio citológico es diferenciar entre procesos inflamatorios y neoplásicos. Además, un estudio detallado permite, en muchos casos, definir el origen del proceso inflamatorio (infeccioso, irritativo o alérgico), y el tipo y grado de malignidad del tumor.

Recogida y manejo de las muestras

Existen diferentes técnicas para obtener muestras de cavidad nasal. La elección de la más adecuada depende, fundamentalmente, de la extensión y distribución de las lesiones. La relativa inaccesibilidad de la cavidad nasal complica la obtención de muestras representativas, ya que la mayor parte de las técnicas se realizan a ciegas.

Todas las muestras de cavidad nasal deben obtenerse con el animal anestesiado e intubado.

En procesos localizados que cursan con la formación de masas, la forma más sencilla, rápida y fiable de obtener muestras representativas es mediante la técnica de inserción de una cánula a través de los orificios nasales. Puede introducirse una sonda urinaria o un catéter flexible, marcados o cortados de forma que se alcance la lesión (localizada previamente por técnicas de diagnóstico por la imagen) sin lesionar la lámina cribiforme. Para ello, debe medirse previamente la distancia entre el orificio nasal y el canto medial del ojo y no superar, en ningún caso, esta longitud. Con una jeringa de 10 ml aplicada a la cánula se ejerce presión negativa para ejercer succión en el interior de la masa y obtener material suficiente para realizar un estudio citológico, previa extensión o impronta. La fiabilidad de esta técnica es alta, sobre todo en lesiones neoplásicas. En ocasiones, se consigue un cilindro de tejido, lo que permite su estudio histológico. Con esta técnica suele producirse una hemorragia ligera o moderada; por ello, siempre es necesario haber descartado coagulopatías sistémicas que puedan agravarla.

Puede también realizarse una toma de muestras empleando unas pinzas tipo cocodrilo que se introducen por las fosas nasales. En perros pequeños o gatos se recomienda introducir instrumental de legrado de hueso de pequeño tamaño. Con el material obtenido puede realizarse una impronta y, si es suficiente, proceder a su estudio histológico.

El lavado nasal consiste en introducir, a través del catéter, unos 10 ml de suero salino; para evitar su penetración en vías respiratorias más profundas, se infla al máximo el manguito del tubo endotraqueal y se colocan gasas abundantes a la altura de la nasofaringe. Se deben realizar varias aplicaciones, ejerciendo presión positiva y negativa de forma intermitente. La eficacia diagnóstica de los lavados suele ser

baja (no supera el 50%), aunque mejora si la muestra se procesa mediante técnicas de concentración (centrifugación del líquido obtenido y extensión del sedimento o empleo de citocentrífugas).

Las técnicas de cepillado nasal son muy útiles (sobre todo en la especie felina) con una alta eficacia diagnóstica. Se introduce un pequeño cepillo cilíndrico guiado por el endoscopio, con el que se realizan movimientos hacia delante y hacia atrás y rotatorios sobre la mucosa nasal. El material obtenido se deposita suavemente sobre un portaobjetos.

Sin necesidad del endoscopio, puede realizarse una técnica de raspado. Se introduce un catéter flexible a través de los orificios nasales que sirve de guía a un hilo de sutura rígido de nailon que se extrae por la cavidad oral desde la nasofaringe con unas pinzas. En el extremo del hilo se ata fuertemente una gasa que es arrastrada hasta extraerla de nuevo por los orificios nasales. Con el material adherido a la gasa procedente de la mucosa nasal se realizan varias improntas sobre un portaobjetos. La realización de un lavado nasal previo permite la eliminación de exudados y favorece la disgregación de partículas de mucosa. Esta técnica es muy útil en la especie felina y en lesiones difusas, sobre todo en zonas caudales.

El estudio citológico de extensiones directas de exudado nasal no suele ser útil para el diagnóstico, ya que, en la mayoría de los casos no se obtienen células y, si se consiguen, suelen proceder de los tejidos descamados, generalmente no representativos de la lesión.

Las lesiones que producen deformaciones faciales o del paladar duro pueden evaluarse mediante PAAF o PAF.

Las muestras obtenidas, cualquiera que sea la técnica, se tiñen con las técnicas habituales.

Interpretación citológica

La interpretación citológica de una muestra de cavidad nasal se inicia valorando su representatividad. Hay que tener en cuenta que la mayoría de las muestras se obtienen a ciegas, por lo que es difícil determinar si procede de la zona que se quiere evaluar. Por ello, las citologías nasales siempre deben interpretarse con precaución y tener en cuenta que resultados negativos o inconclusos no permiten eliminar diagnósticos de la lista de diferenciales.

La mucosa nasal está intensamente vascularizada, incluso en condiciones normales, de forma que la contaminación sanguínea es habitual. El contenido en sangre debe considerarse cuidadosamente para poder determinar si las células inflamatorias observadas pueden ser consecuencia sólo de dicha contaminación. Si el componente sanguíneo es muy abundante pueden producirse fenómenos de hemodilución que dificultan la observación de las células características de la lesión.

La presencia de células inflamatorias en elevado número no excluye el diagnóstico de neoplasia. Un alto porcentaje de tumores se acompañan de inflamación y/o necrosis, por lo que las muestras pueden no ser representativas de la lesión primaria.

Por otro lado, la observación de bacterias en las muestras no es diagnóstica de infección. En la mayoría de las muestras procedentes de mucosa nasal se observan bacterias, generalmente contaminantes no patógenas, por lo que es necesario definir otros criterios para definir la existencia de un proceso séptico, fundamentalmente la presencia de bacterias intracelulares, la variedad de poblaciones bacterianas y el aumento del número de neutrófilos con características degenerativas.

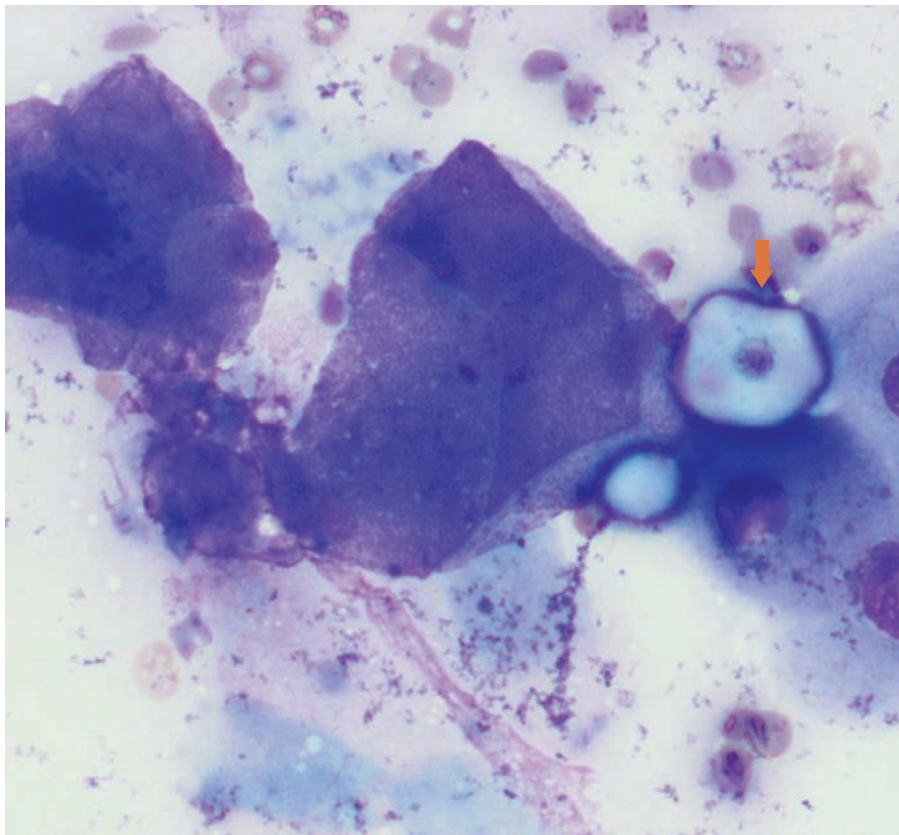
En muchas ocasiones, los tumores intranasales no exfolian adecuadamente, por lo que la muestra puede carecer de la suficiente celularidad como para emitir un diagnóstico. Sin embargo, si la muestra es representativa, un diagnóstico citológico de tumor maligno en ausencia de inflamación significativa suele ser fiable.

Celularidad normal observada en las muestras nasales

Las células predominantes en una citología nasal normal dependen del área de donde procede la muestra.

En las muestras obtenidas de la zona más próxima a los orificios externos y a la orofaringe predominan las células escamosas maduras (fig. 1), que pueden presentar bacterias libres o adheridas a la superficie celular. Las poblaciones bacterianas saprofitas son pleomórficas e incluyen especies de *Simonsiellas*. Las *Simonsiellas* son grandes bacterias agrupadas en forma de pilas de monedas que colonizan la mucosa oral normal de perros y gatos (fig. 2).

Figura 1. Citología nasal: la presencia de células escamosas indica que la muestra procede de la zona más próxima a los orificios nasales. Señalada con flecha se observa una partícula de talco.



En las muestras procedentes de la zona de los cornetes o turbinados se observan células epiteliales cuboidales basales y células columnares. Pueden aparecer individuales o agrupadas (formando empalizadas o grupos bien organizados de pocos elementos) (fig. 3). Ambos tipos pueden mostrar cilios. Las células columnares tienen forma elongada con núcleo redondo-ovalado con cromatina finamente granular en posición basal (fig. 4). Si son ciliadas, los cilios se observan en el extremo más ancho de la célula (fig. 5). Las células cuboidales son tan anchas como altas, aunque pueden aparecer con morfología redondeada; su citoplasma es fuertemente basófilo (fig. 6). Ocasionalmente, se pueden observar las células caliciformes productoras de moco; en la mayor parte de los casos son células alargadas con núcleo basal y gránulos redondos de mucina (rojo azulados) que pueden distender el citoplasma (fig. 7). En animales normales no suelen aparecer células inflamatorias.

Citología nasal

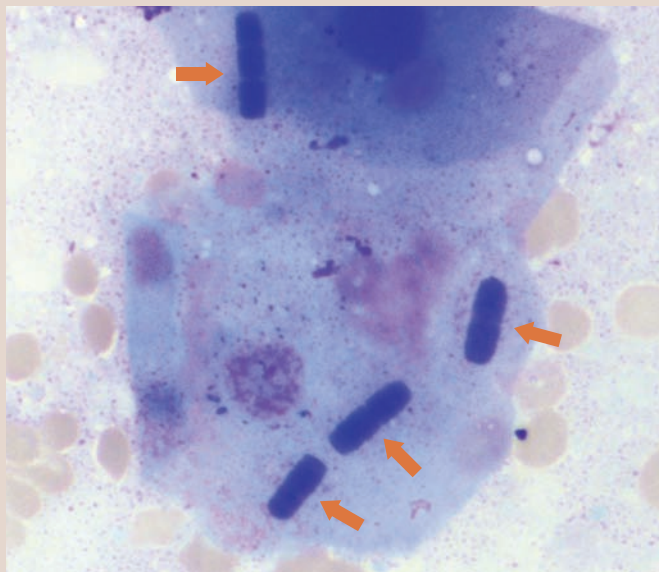


Figura 2. Citología nasal: célula escamosa con múltiples *Simonsiella* adheridas a su superficie (señaladas con flechas).

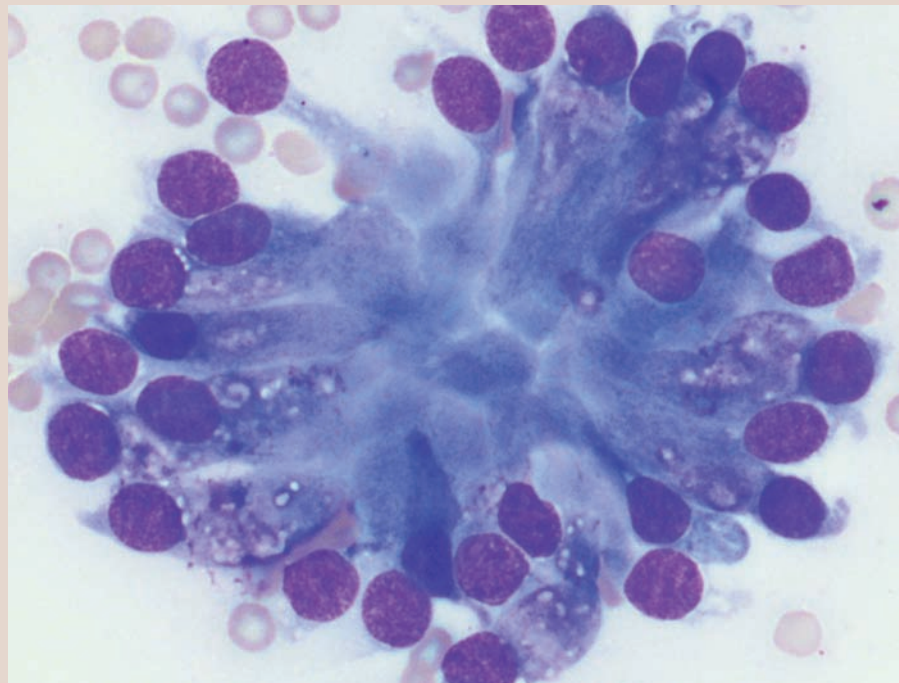
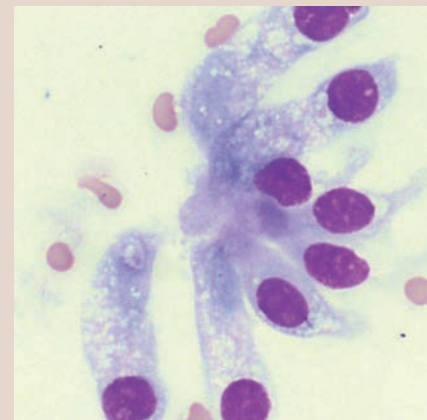


Figura 3. Citología nasal: grupo de células del epitelio respiratorio de la zona de los turbinados.

Figura 4. Citología nasal: células columnares.



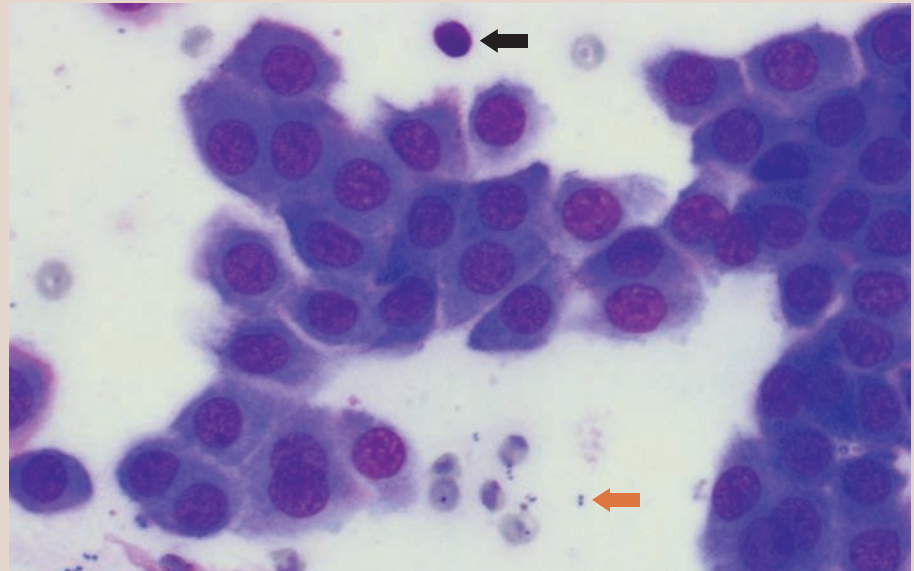


Figura 6. Citología nasal: grupo de células cuboidales. Se observa un linfocito (señalado con flecha negra) y múltiples bacterias contaminantes (señaladas con flecha de color).

Figura 7. Citología nasal: células columnares y célula caliciforme (señalada con flecha).

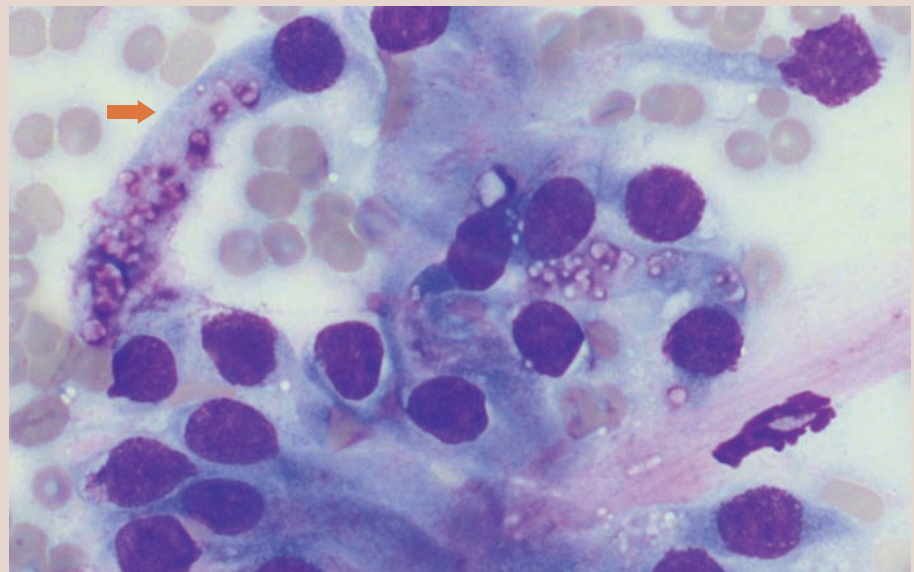
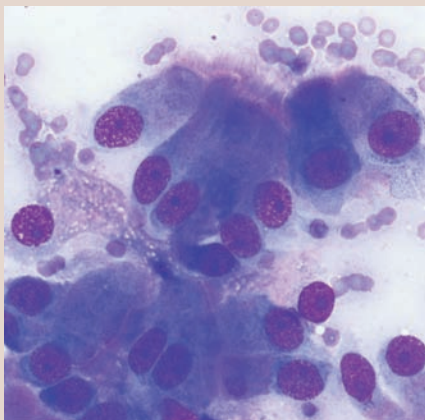


Figura 5. Citología nasal: células columnares ciliadas.



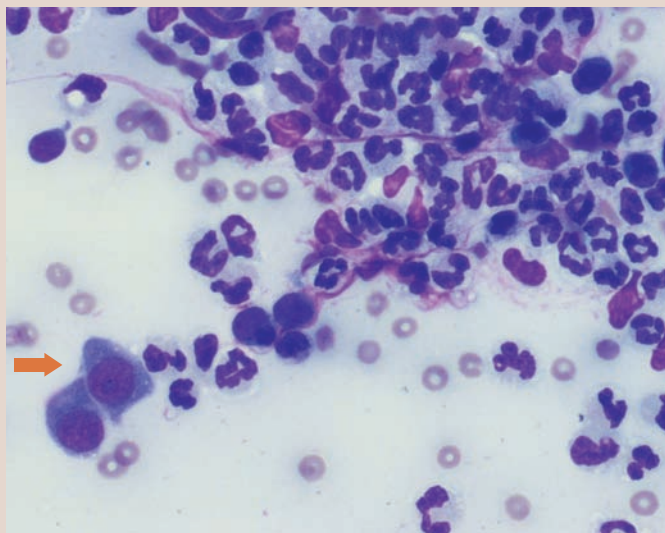


Figura 8. Citología nasal: proceso inflamatorio neutrofilico. Señaladas con flecha se observan dos células del epitelio respiratorio.

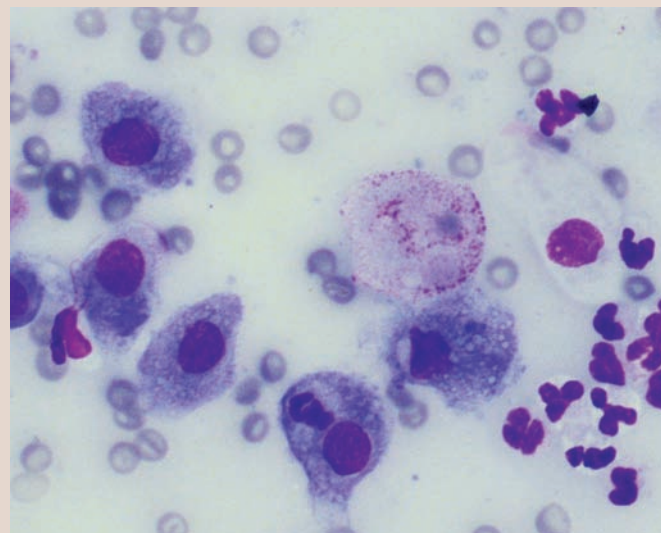


Figura 9. Citología nasal: proceso inflamatorio con presencia de neutrófilos y macrófagos.

Figura 10. Citología nasal: proceso inflamatorio. Se observan células columnares, linfocitos maduros (señalados con flechas negras), un linfocito activado (señalado con flecha blanca) y una célula plasmática (señalada con flecha de color).

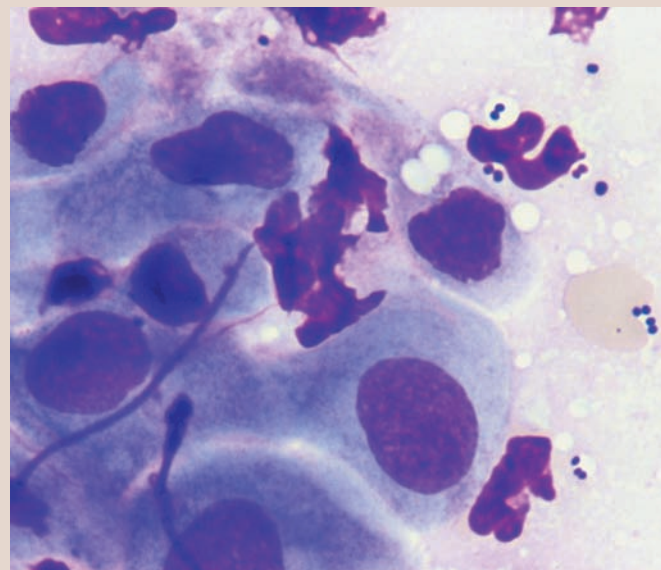
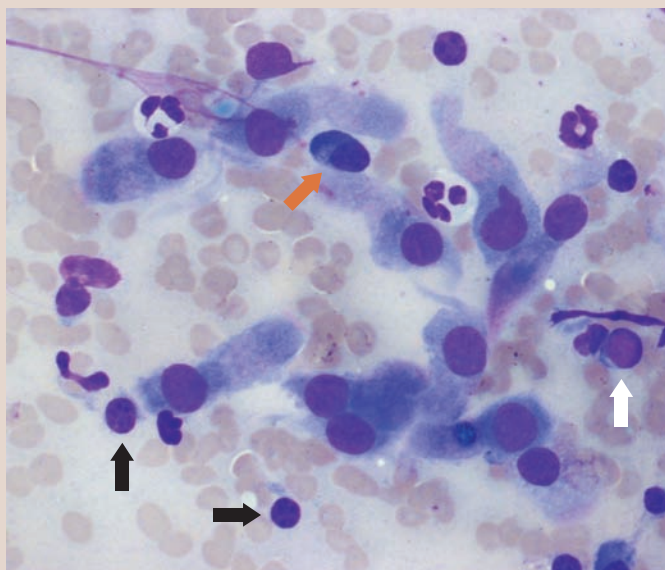


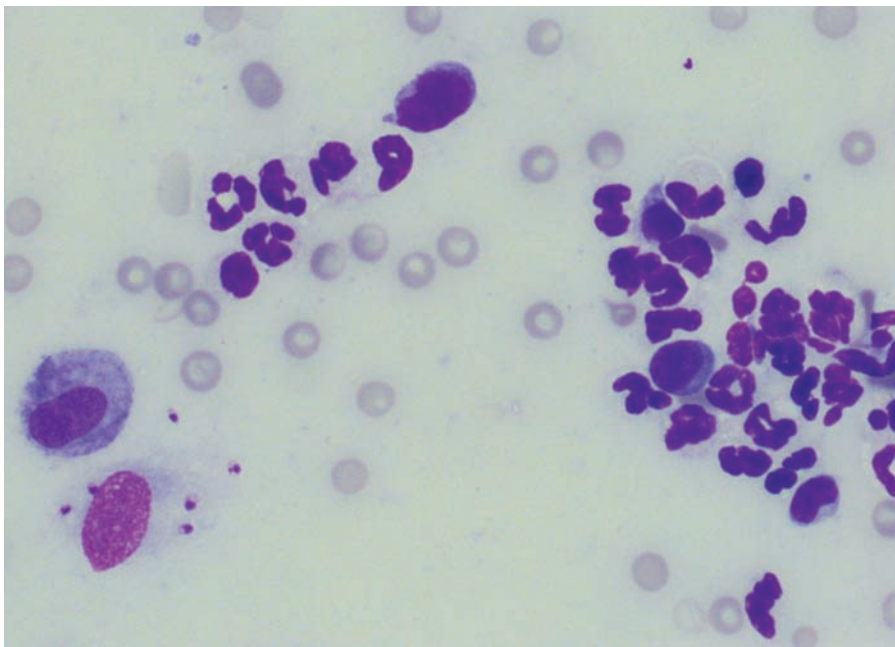
Figura 11. Citología nasal: proceso inflamatorio séptico; la presencia de numerosas bacterias monomórficas en el interior de los neutrófilos es indicativa de infección.

Citología de procesos inflamatorios

Los procesos nasales inflamatorios de origen bacteriano, vírico o fúngico se caracterizan por un aumento del número de neutrófilos (fig. 8). La mayoría de los procesos neoplásicos también se acompañan de una reacción inflamatoria significativa. En procesos alérgicos o parasitarios se produce un incremento del número de eosinófilos. Los macrófagos se asocian a cualquier tipo de inflamación, pero su número no suele ser demasiado elevado (fig. 9). La presencia de linfocitos y células plasmáticas indica activación de los folículos linfoides de la submucosa en respuesta a estímulos fuertemente antigénicos (fig. 10).

Las infecciones bacterianas se caracterizan por la presencia de bacterias intracelulares y cambios degenerativos en la población de neutrófilos. A diferencia de las poblaciones normales, que están constituidas por diferentes tipos de bacterias, las poblaciones bacterianas monomórficas suelen ser indicativas de infección (fig. 11). Estas infecciones suelen ser secundarias a otros procesos (infecciones fúngicas o víricas, neoplasias, cuerpos extraños o fístulas oronasales).

Figura 12. Citología nasal: inflamación parasitaria por leishmanias.



Aunque algunas infecciones víricas se acompañan de cuerpos de inclusión en células epiteliales, es difícil visualizarlos con las técnicas de tinción habituales en citología.

Las infecciones fúngicas más frecuentes se producen por especies de *Aspergillus* y/o *Penicillium*. Las técnicas Romanowsky tiñen las hifas con dificultad, por lo que pueden pasar desapercibidas. La búsqueda de estas estructuras debe realizarse a grandes aumentos en las áreas más periféricas; aparecen como estructuras tabicadas y ramificadas.

Los procesos parasitarios nasales son poco frecuentes, con la excepción de la presencia de leishmanias en zonas endémicas (fig. 12).

En respuesta al proceso inflamatorio, independientemente de la causa, se produce una reacción del epitelio, caracterizado por hiperplasia y la aparición de signos de activación nuclear; como incremento de la relación núcleo:citoplasma y ligera anisocariosis. Estos hallazgos pueden ser semejantes a los que aparecen en carcinomas bien diferenciados (figs. 13a y 13b).

En procesos inflamatorios crónicos puede producirse una hiperplasia o metaplasia escamosa. Las células caliciformes aumentan en procesos irritativos (fig. 14).

Los procesos alérgicos cursan con un incremento del número de eosinófilos que pueden acompañarse de mastocitos (fig. 15). El diagnóstico de rinitis alérgica debe realizarse cuando se excluyen otras causas que provoquen un aumento de eosinófilos, fundamentalmente procesos parasitarios o neoplásicos.

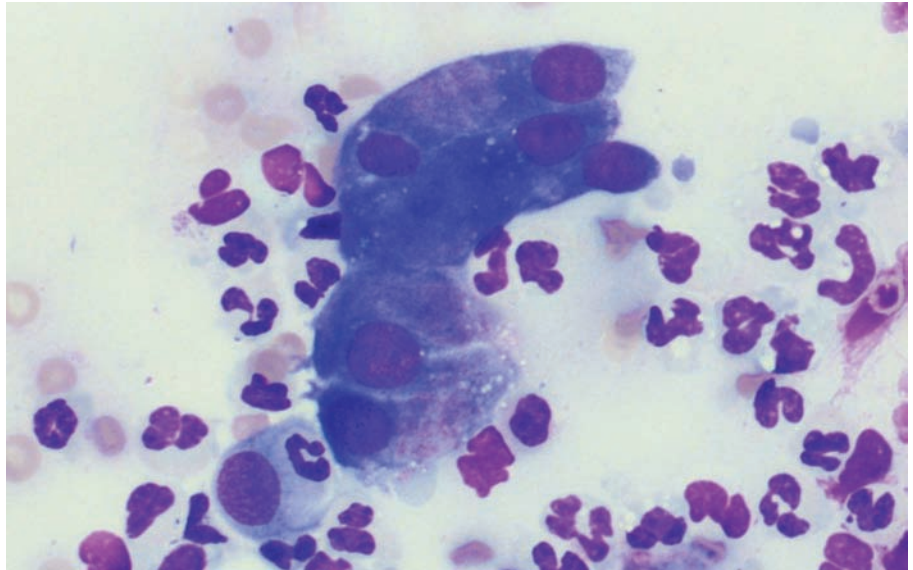


Figura 13a. Citología nasal: proceso inflamatorio con activación de células columnares.

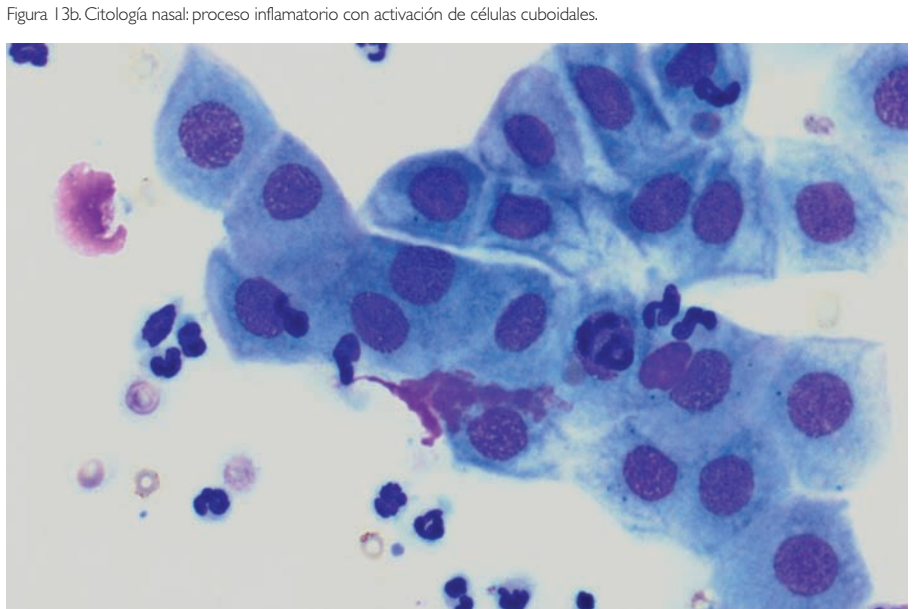


Figura 13b. Citología nasal: proceso inflamatorio con activación de células cuboidales.

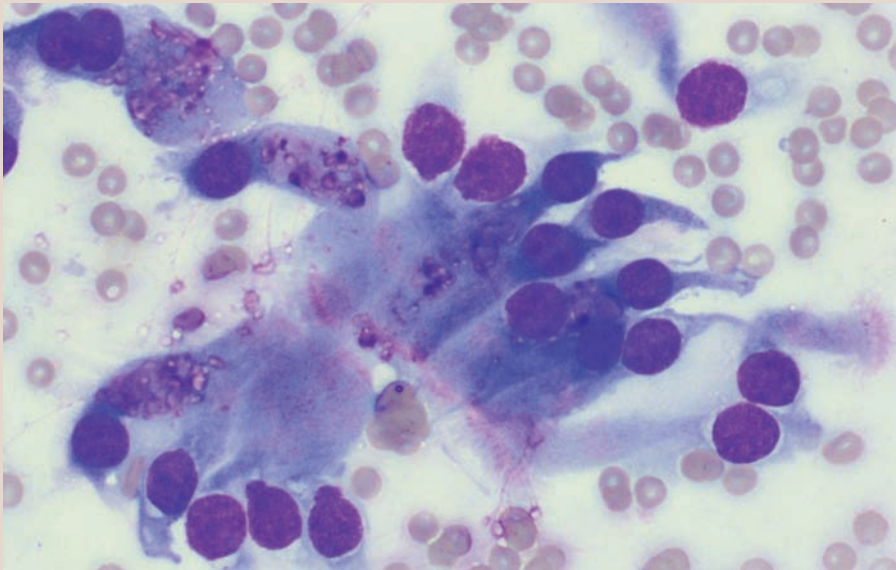
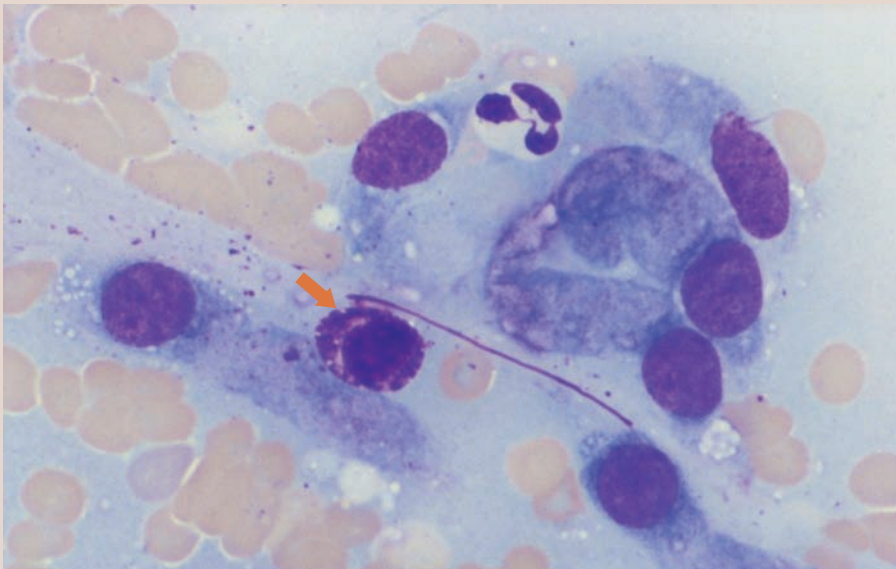


Figura 14. Citología nasal: incremento del número de células calciformes por procesos irritativos.

Figura 15. Citología nasal: proceso de hipersensibilidad con presencia de mastocitos (señalado con flecha) junto a células columnares.



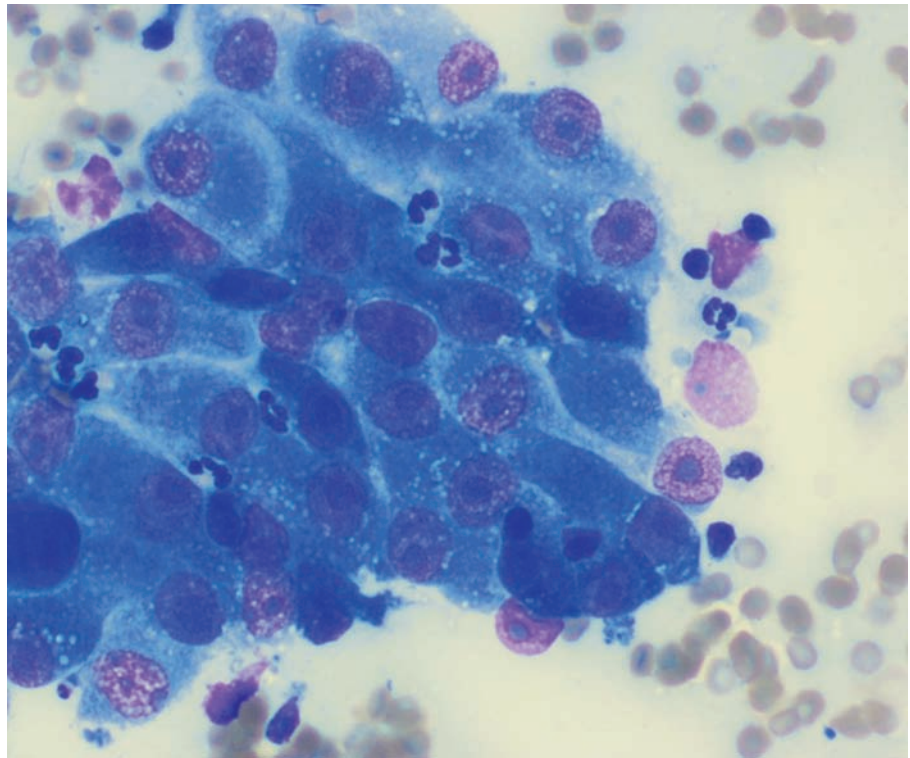
Citología de procesos neoplásicos

Los procesos neoplásicos de la cavidad nasal suelen acompañarse de inflamación, hemorragia, infecciones bacterianas y presencia de restos celulares necróticos. Todos estos hallazgos dificultan el diagnóstico citológico. Además, no siempre es posible obtener células procedentes del tumor, por lo que es importante remarcar que la ausencia de células neoplásicas en una citología no permite descartar su existencia.

Los tumores de cavidad nasal más frecuentes en pequeños animales son de origen epitelial y de comportamiento maligno.

Los carcinomas poco diferenciados suelen exfoliar células en grandes grupos desorganizados con atipias nucleares significativas, por lo que son relativamente fáciles de diagnosticar (fig. 16). Sin embargo, es más difícil llegar a un diagnóstico concluyente en carcinomas bien diferenciados (fig. 17), ya que suelen presentar sólo ligeros cambios nucleares que también pueden observarse en reacciones tisulares a procesos inflamatorios (fig. 18). La presencia de abundantes células epiteliales en ausencia de inflamación significativa suele ser indicativa de neoplasia, aunque los caracteres de malignidad no sean muy evidentes (fig. 19). Los adenocarcinomas se acompañan de un incremento de la producción de moco que aparece como una sustancia amorfa teñida en un tono rosado.

Figura 16. Citología nasal: carcinoma con numerosos caracteres citológicos de malignidad (grupo celular desorganizado, núcleos de formas y tamaños irregulares, cromatina heterogénea y nucléolos prominentes de gran tamaño).



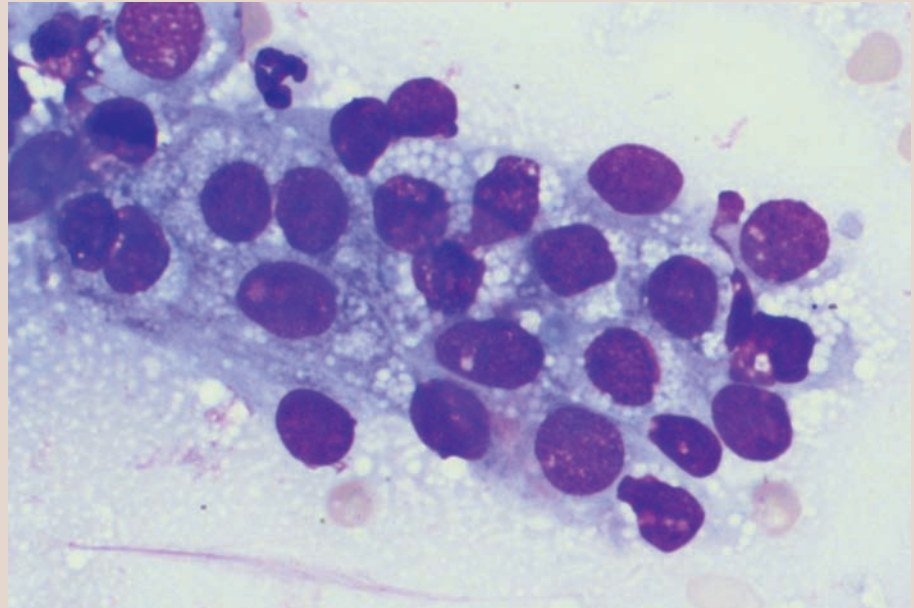


Figura 17. Citología nasal: carcinoma bien diferenciado con ligeros cambios nucleares.

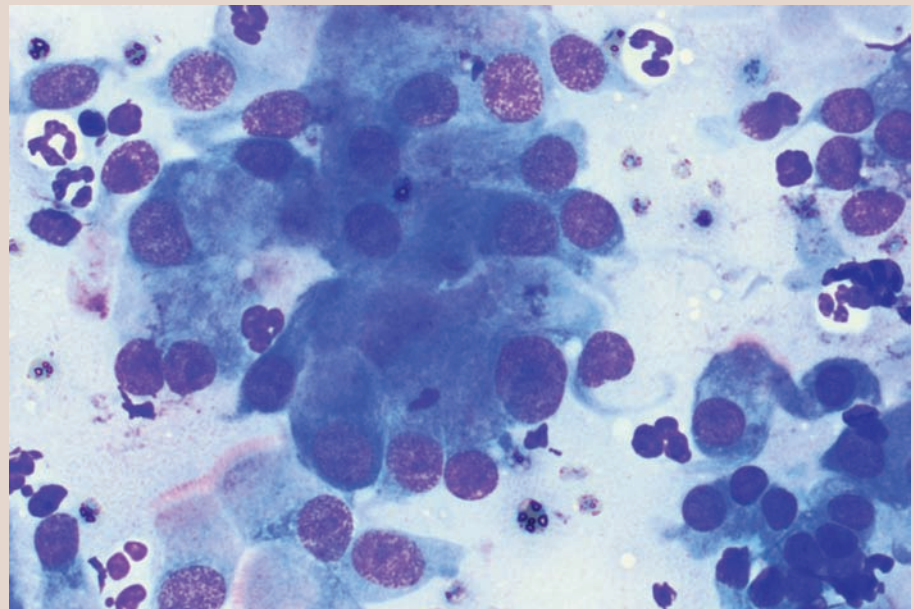


Figura 18. Citología nasal: carcinoma asociado a proceso inflamatorio; es necesario valorar si los cambios nucleares observados en las células columnares cilíadas son debidos a la inflamación o realmente demuestran un origen neoplásico.

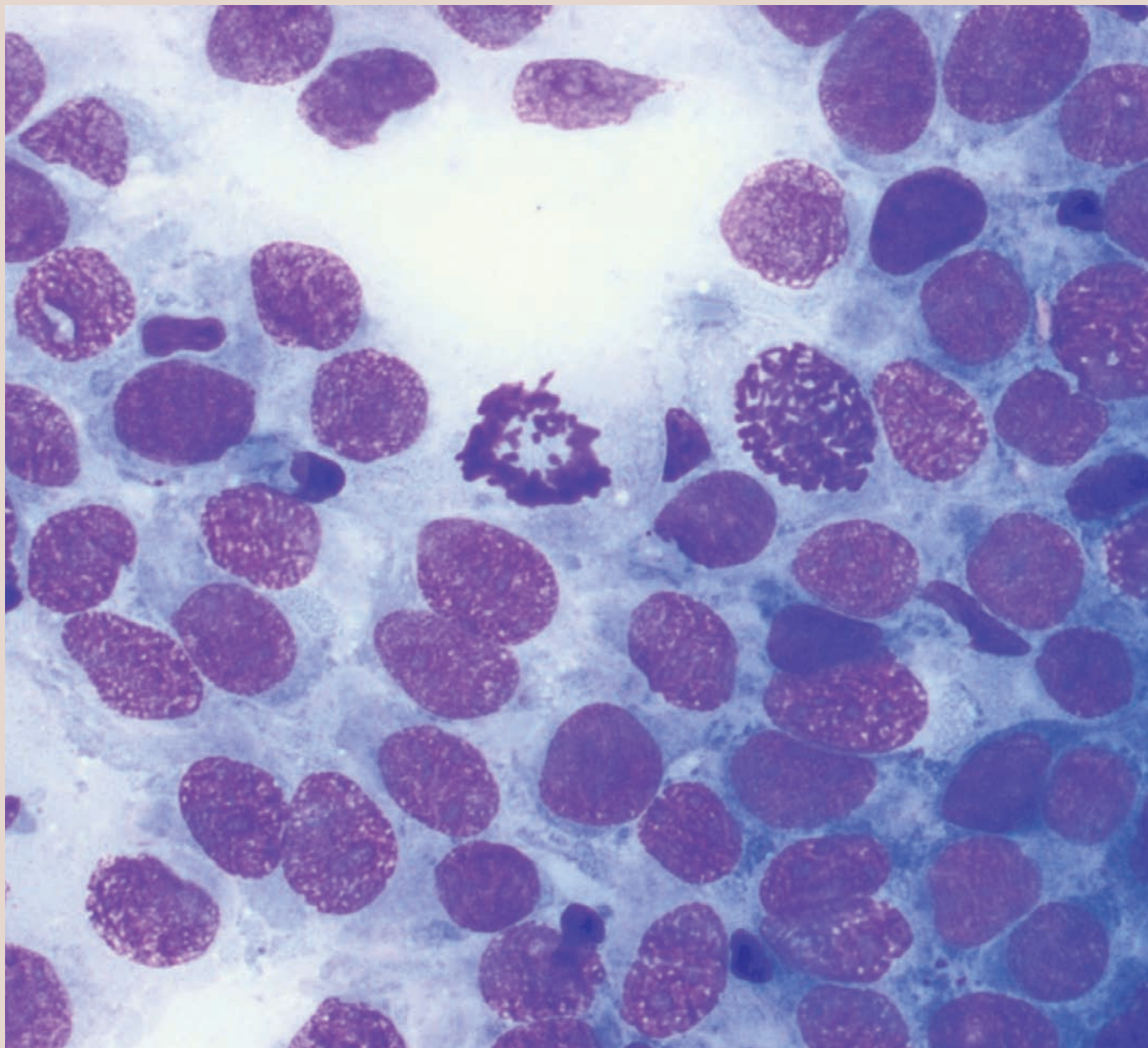


Figura 19. Citología nasal: carcinoma con presencia de mitosis atípicas.

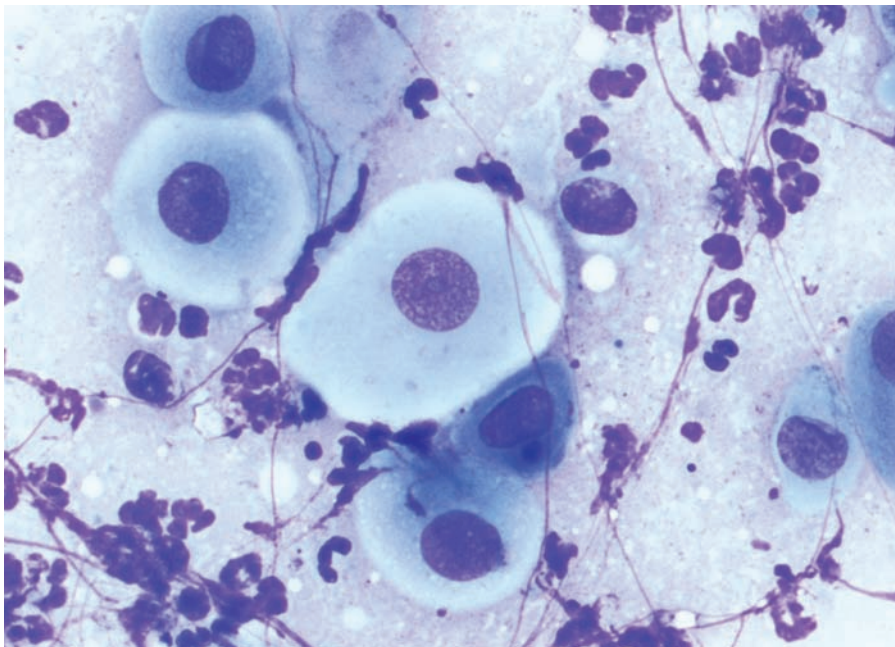
Los carcinomas de células escamosas se caracterizan por la presencia de abundantes células escamosas en diferentes estadios de maduración. Las procedentes de capas intermedias aparecen como células redondeadas de tamaño medio, mientras que las superficiales son grandes células poligonales, de citoplasma intensamente basófilo, y con signos de maduración asincrónica y vacuolización perinuclear (fig. 20).

Los tumores conjuntivos son menos frecuentes. Los más comunes son de origen óseo (osteosarcomas y condrosarcomas) y los fibrosarcomas. En general, suelen estar recubiertos de epitelio normal, por lo que es difícil obtener suficientes células. A diferencia de los tumores epiteliales, exfolian células individuales, de morfología redondeada-ovalada o fusiforme (fig. 21). Las células de tumores óseos pueden presentar granulaciones rosadas en su citoplasma basófilo y suele observarse una cantidad variable de matriz osteoide/condroide, de un color rosa intenso (fig. 22).

Los tumores de células redondas son más fáciles de diagnosticar ya que exfolian un gran número de células con características identificativas. Los linfomas son más frecuentes

en gatos y se caracterizan por una población monomórfica de linfoblastos (fig. 23); pueden diferenciarse fácilmente de hiperplasias linfoides, en las que predominan los linfocitos maduros. En los mastocitomas se produce un incremento del número de mastocitos acompañados de un número variable de eosinófilos; a diferencia de los procesos alérgicos, la población de mastocitos predomina sobre la de eosinófilos. El tumor venéreo transmisible puede localizarse a nivel nasal y se diagnostica fácilmente por la observación de numerosas células redondas con citoplasma abundante que presenta vacuolas claras bien delimitadas y de tamaño variable; los núcleos presentan numerosas atipias y las mitosis son muy frecuentes.

Figura 20. Citología nasal: carcinoma de células escamosas.



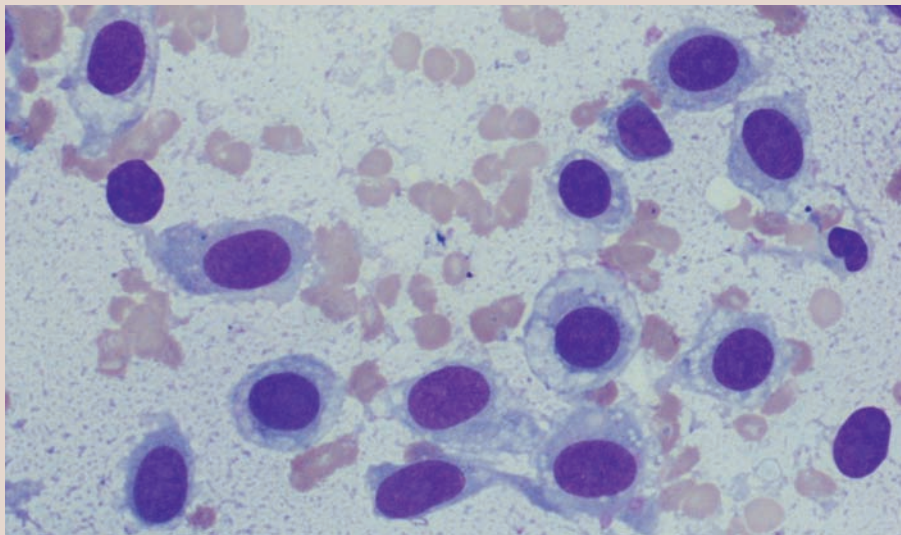


Figura 21. Citología nasal: sarcoma.

Figura 22. Citología nasal: osteosarcoma en el que se observan células neoplásicas y matriz osteoide de color rosa intenso.

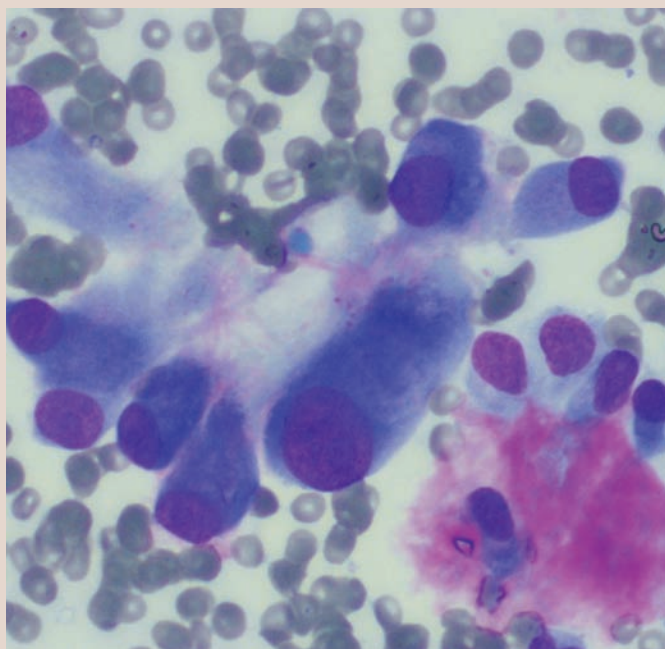
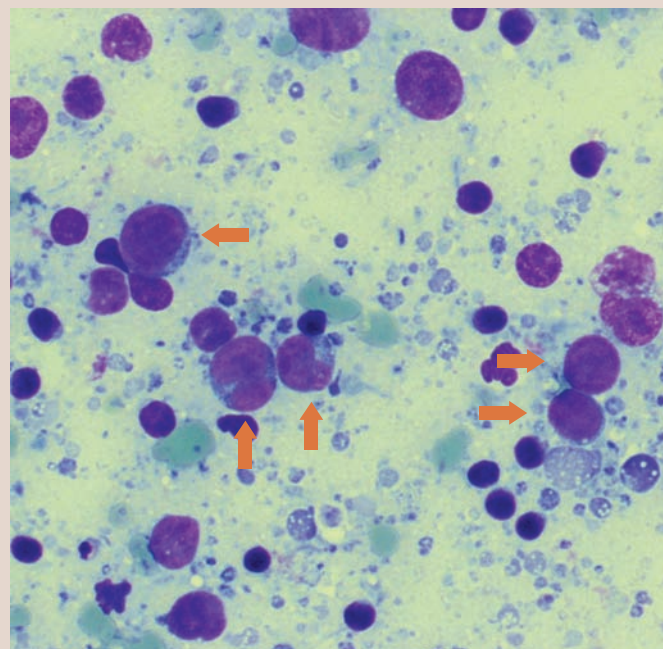


Figura 23. Citología nasal: linfosarcoma. Señalados con flechas se observan numerosos linfoblastos.



Citología de las vías respiratorias (lavado traqueal y broncoalveolar)

Indicaciones del estudio citológico

El estudio citológico de muestras procedentes de las vías respiratorias está indicado en enfermedades respiratorias difusas que afecten a tráquea, bronquios y/o alveolos. Su empleo está recomendado en cualquier animal que presente signos de enfermedad respiratoria con alteraciones difusas del patrón radiológico pulmonar. Salvo en animales con un compromiso respiratorio extremo, la citología de vías respiratorias puede aplicarse de forma rutinaria para intentar conocer el origen del cuadro respiratorio. En muchos casos, el estudio citológico permitirá establecer un diagnóstico etiológico a partir del cual aplicar un tratamiento específico (infección o neoplasia); en otras ocasiones, proporcionará una información más limitada (diferentes enfermedades pueden compartir un patrón inflamatorio común), pero, como mínimo, permitirá restringir la lista de diagnósticos diferenciales y diseñar un plan diagnóstico más complejo con técnicas más invasivas. Sólo en casos de bronquiectasia, enfisema y fibrosis la citología de vías respiratorias no proporciona información relevante.

La obtención de citologías del tracto respiratorio puede llevarse a cabo mediante un **lavado traqueobronquial (LTB)** o un **lavado broncoalveolar (LBA)**.

El LTB se realiza mediante una técnica sencilla y con escasos riesgos. Permite acceder a las vías respiratorias más altas (tráquea y grandes bronquios), pero puede alcanzar áreas más profundas. Su mayor limitación reside en la posibilidad de obtener muestras no representativas por contaminación orofaríngea. Además, las muestras se obtienen a ciegas, por lo que, en ocasiones, la citología puede no ser indicativa de la lesión. A pesar de estas limitaciones, suele ser la primera técnica recomendada para obtener muestras del tracto respiratorio. Si no se consigue un diagnóstico concluyente, debe recomendarse la toma de muestras con técnicas más invasivas.

El LBA se realiza mediante endoscopia respiratoria; es la técnica más adecuada para obtener muestras de vías bajas (bronquiolos y alveolos pulmonares) o en los casos en los que existe afectación de un lóbulo pulmonar concreto, ya que la endoscopia permite elegir exactamente la zona del lavado; de esta forma se obtiene información más significativa y precisa, ya que evita la toma de muestras de zonas no afectadas. El LBA no está exento de riesgos, entre los que destaca la necesidad de anestesia general y las posibilidades de desencadenar un edema pulmonar iatrogénico. Por supuesto, es necesario disponer de un broncoscopio de calibre adecuado.

Recogida y manejo de las muestras

El LTB se puede realizar mediante dos técnicas: transtraqueal o endotraqueal.

La primera es la de elección en perros de tamaño medio-grande. Si son colaboradores no es necesario administrar ningún tipo de fármaco tranquilizante, y basta con la aplicación de una pequeña cantidad de anestésico local en la zona donde se introduce el catéter. En pacientes más nerviosos es preciso administrar fármacos tranquilizantes o sedantes para facilitar su manejo, pero hay que tener en cuenta que deben emplearse a una dosis que no suprima el reflejo tusígeno.

Una vez que el paciente esté preparado, se procede a introducir un catéter endovenoso de un calibre mínimo de 14G (en gatos o perros de razas pequeñas o miniatura se puede utilizar un catéter de 16G) a través de la membrana del cartílago cricoaritenoides y en dirección caudal dentro de la tráquea. La realización de una pequeña incisión en la piel con una hoja de bisturí evita que el catéter se pliegue al atravesar la piel. Una vez que se accede a la laringe con el catéter venoso, se debe retirar el fiador metálico para evitar daños en la mucosa traqueal. A través del catéter endovenoso se introduce un catéter yugular flexible y largo hasta la zona de la carina (situada entre los espacios intercostales 7°-9°) por el que se administra suero fisiológico estéril atemperado. Se deben realizar varios lavados, teniendo en cuenta que la cantidad máxima total no debe superar los 0.5 ml/kg. La recuperación del suero se realiza mediante aspiraciones con las jeringas de 20 ml. Es muy útil que el paciente tosa durante la recogida, ya que favorece la obtención de una muestra suficiente y representativa.

El LTB mediante la técnica endotraqueal se suele emplear en perros pequeños, gatos o pacientes poco colaboradores o agresivos. El animal debe estar anestesiado para permitir la intubación con un tubo endotraqueal estéril, a través del cual se introduce el catéter yugular o una sonda urinaria para alcanzar la zona de la carina. El resto del proceso es exactamente igual al anterior.

El LBA se realiza con el animal anestesiado e intubado. Se introduce el endoscopio a través del tubo endotraqueal hasta la zona de la que se desea obtener la muestra. A través del canal de biopsias se instilan dos alícuotas consecutivas de suero salino estéril atemperado (25 ml en perros medios-grandes, 5 ml/kg en perros pequeños y gatos) que inmediatamente es aspirado. Puede realizarse el lavado en diferentes lóbulos.

La muestra, tanto del LTB como del LBA, se recoge en un tubo de EDTA para el estudio citológico y en tubo estéril para el estudio microbiológico, que debe incluir medios de cultivo para bacterias aerobias, anaerobias y hongos.

Los mejores resultados citológicos se consiguen con el procesado mediante citocentrifugación. Si no se dispone de dicho equipo, la muestra se centrifuga y se procede a realizar una extensión del sedimento. Cuando se obtienen lavados muy turbios, lo que indica una elevada celularidad, puede realizarse una extensión directa. Las muestras que contienen mucho moco pueden filtrarse a través de una gasa para eliminarlo, pero este procedimiento influye significativamente en el recuento celular diferencial, ya que se pierde una gran cantidad de células incluidas en el moco. En general, los recuentos celulares totales no suelen realizarse ya que no proporcionan información relevante.

Las muestras se tiñen con cualquier tinción citológica.

Interpretación citológica

En primer lugar, las muestras se evalúan a pequeños aumentos para valorar su representatividad. En muchas ocasiones, el procesado de las muestras conduce al traumatismo celular o induce fenómenos de degeneración, que afectan, en primer lugar, a las células del epitelio respiratorio, más frágiles que las inflamatorias. Además, en los LTB debe valorarse si existe contaminación orofaríngea que impedirá la interpretación citológica.

Si la muestra dispone de suficientes células intactas y no está contaminada, se procede a determinar los tipos celulares presentes, también a pequeños aumentos. La presencia de los diferentes tipos celulares que tapizan la mucosa respiratoria (células ciliadas del epitelio de tráquea y grandes bronquios o macrófagos alveolares) permite determinar de qué parte del tracto respiratorio procede la muestra. Se valora, también, la presencia o ausencia de los diferentes tipos de células inflamatorias. Por último, se debe revisar toda la extensión en búsqueda de grupos celulares atípicos que pudieran significar la presencia de un proceso neoplásico, larvas parasitarias o hifas fúngicas.

A continuación, a mayores aumentos, se procede a realizar un recuento diferencial de los diferentes tipos de células inflamatorias. Debe realizarse sobre un mínimo de 300 células en diferentes zonas de la extensión para obtener un diferencial significativo. Hay que tener en cuenta que los macrófagos son la población normal en muestras procedentes de alveolos pulmonares, por lo que su presencia no es indicativa de inflamación siempre que se encuentren en reposo. Sin embargo, los cambios de activación sí son consecuencia de procesos inflamatorios o irritativos.

Si la muestra contiene células inflamatorias abundantes debe procederse a la búsqueda de posibles microorganismos mediante los objetivos de mayores aumentos (aceite de inmersión); además, se deben evaluar posibles células neoplásicas para determinar si existen suficientes criterios citológicos de malignidad.

Elementos citológicos que pueden observarse en LTB y LBA

- 1 Moco** El moco se observa en forma de láminas amorfas de color azulrosado o bandas homogéneas que pueden estar enrolladas. Los procesos inflamatorios producen un aumento de la cantidad de moco. Si existe obstrucción bronquiolar pueden aparecer espirales de Curschmann, que se caracterizan por sus radiaciones perpendiculares (fig. 24).
- 2 Células de epitelio respiratorio** Deben ser las células predominantes en los LTB, ya que tapizan la tráquea y grandes bronquios. Incluyen células columnares (más frecuentes) y cuboidales ciliadas y no ciliadas que pueden aparecer individuales o agrupadas. Las células columnares tienen forma alargada con núcleo redondo-oval con cromatina finamente granular en posición basal. Si son ciliadas, los cilios se observan en el extremo más ancho de la célula (fig. 25). Dependiendo de su orientación puede ser difícil visualizar su forma y la presencia de cilios. Las células cuboidales son semejantes, pero son tan anchas como altas. En muchas muestras las células respiratorias se observan muy degeneradas por la baja concentración de proteínas y pueden perder los cilios, que aparecen de forma dispersa por la preparación; en este caso, hay que tener precaución y no confundirlos con cadenas bacterianas (fig. 26).
- 3 Macrófagos** Los macrófagos en reposo son la población predominante en LBA y LTB profundos ya que proceden de espacios alveolares. Son células redondeadas de bordes bien definidos, abundante citoplasma granular, grisáceo y sin vacuolas, y núcleo redondo o arriñonado en posición excéntrica. En animales que viven en ambientes urbanos, es frecuente que se observe la presencia de pigmento antracótico (fig. 27). Los macrófagos activados, como consecuencia de procesos irritativos o inflamatorios crónicos, se caracterizan por una mayor cantidad de citoplasma, vacuolizado (espumoso) y con material fagocitado (fig. 28). Pueden aparecer células binucleadas o gigantes multinucleadas (fig. 29).

- ④ — **Células caliciformes** Son células bronquiales productoras de moco, alargadas con núcleo basal y gránulos redondos de mucina (rojos, azulados o claros) que pueden distender el citoplasma. Ocasionalmente, parecen redondas (fig. 30). Deben diferenciarse de los mastocitos por su forma y el gran tamaño de sus gránulos. Pueden aparecer gránulos extracelulares, que deben diferenciarse de microorganismos. Estas células no son frecuentes, pero aumentan en cualquier proceso inflamatorio, fundamentalmente de tipo crónico.
- ⑤ — **Células inflamatorias** Neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas, mastocitos y eosinófilos. En ocasiones, los eosinófilos no presentan su típico núcleo lobulado, sino que éste aparece de forma redondaovalada en posición excéntrica (fig. 31). Los gránulos de los eosinófilos de gato no se tiñen de forma tan evidente como los del perro, y su forma es de bastón en vez de redondeada.
- ⑥ — **Eritrocitos** La presencia de hematíes indica contaminación o hemorragia pulmonar.
- ⑦ — **Células escamosas superficiales** Son células poligonales de gran tamaño con núcleo pequeño y picnótico; su presencia indica contaminación orofaríngea.
- ⑧ — **Células neoplásicas**
- ⑨ — **Otros elementos** Polvo de talco, polen de plantas.

Moco

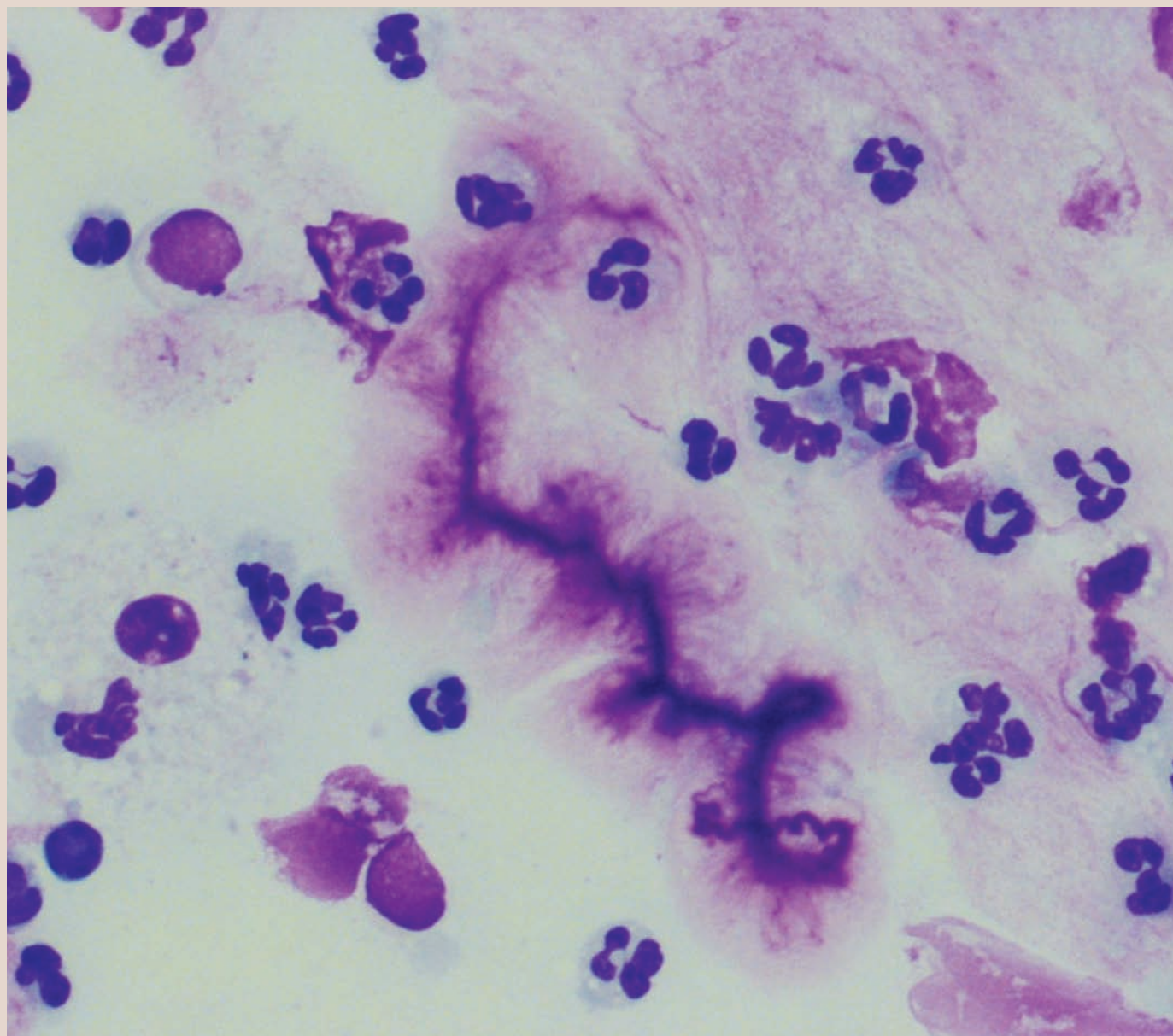


Figura 24. LTB: espiral de Curschmann.

Células de epitelio respiratorio

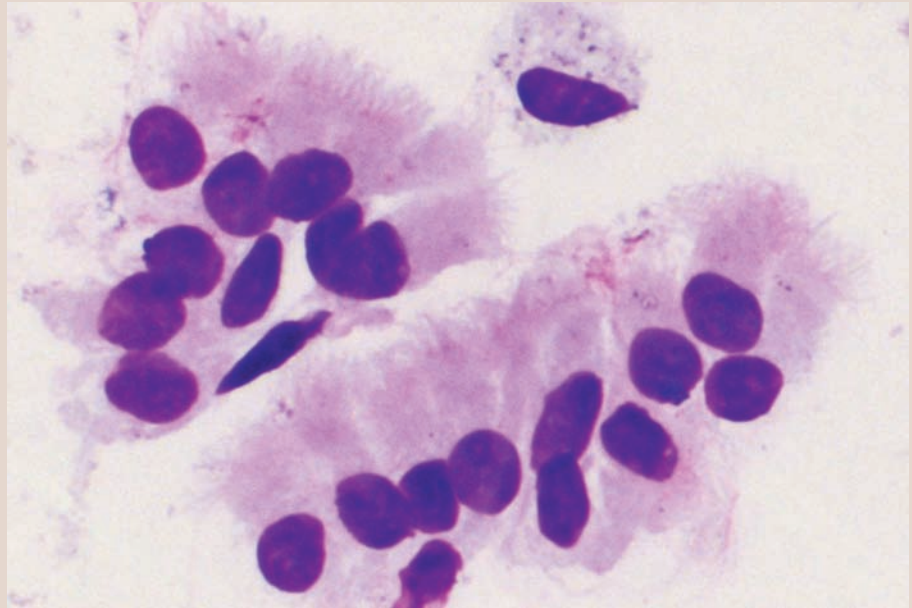


Figura 25. LTB: grupos de células columnares ciliadas.

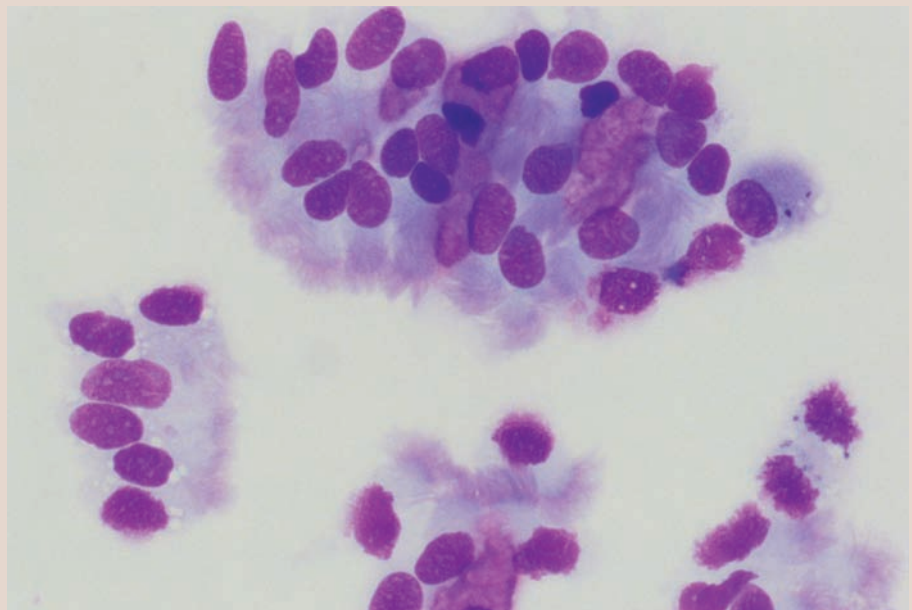


Figura 26. LTB: células columnares ciliadas; las de los grupos inferiores presentan cambios nucleares degenerativos y están perdiendo los cilios.

Macrófagos

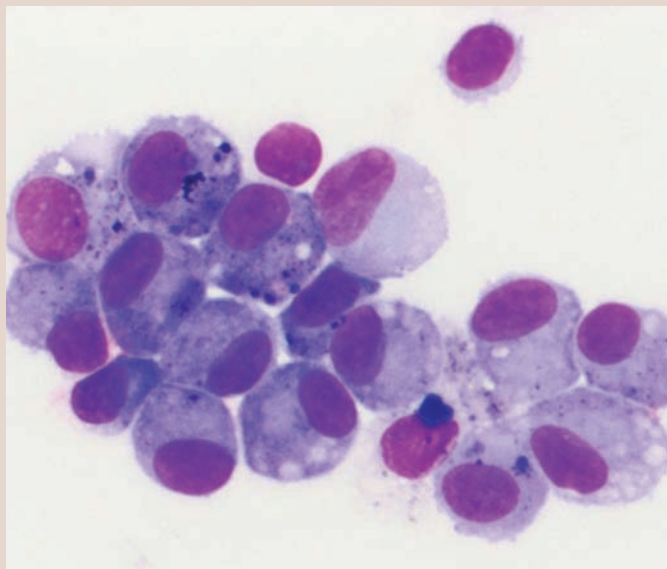


Figura 27. LTB: macrófagos alveolares en reposo. Muchos de ellos presentan pigmento antracótico, propio de animales que viven en ambiente urbano.

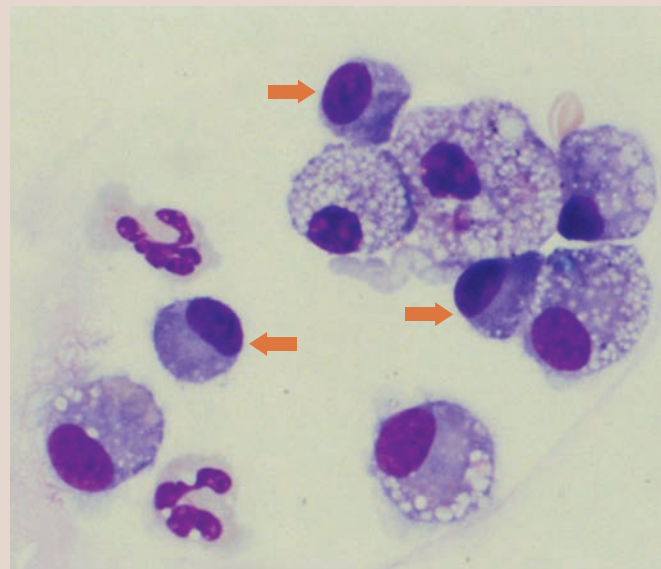


Figura 28. LTB: macrófagos activados; señalados con flechas se observan macrófagos en reposo.

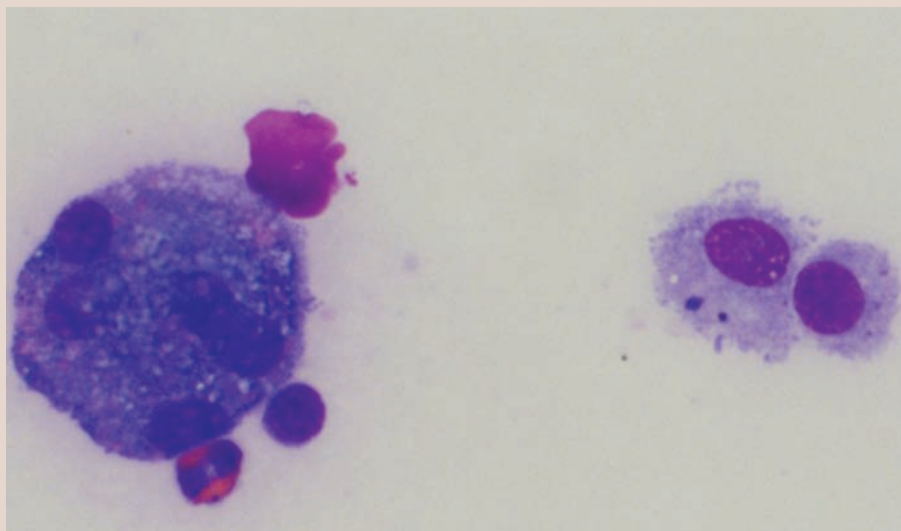


Figura 29. LTB: célula macrofágica multinucleada; a la derecha se observan dos macrófagos alveolares en reposo.

Células calciformes

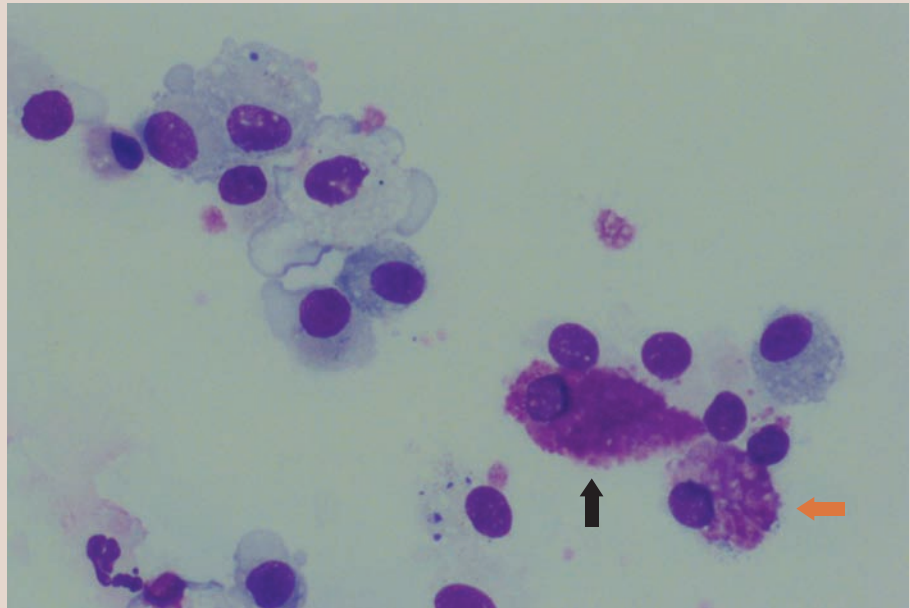


Figura 30. LTB: macrófagos alveolares en diferentes grados de activación. Señaladas con flechas se observan dos células calciformes, una de ellas elongada (señalada con flecha negra) y otra de morfología redondeada (señalada con flecha de color).

Células inflamatorias

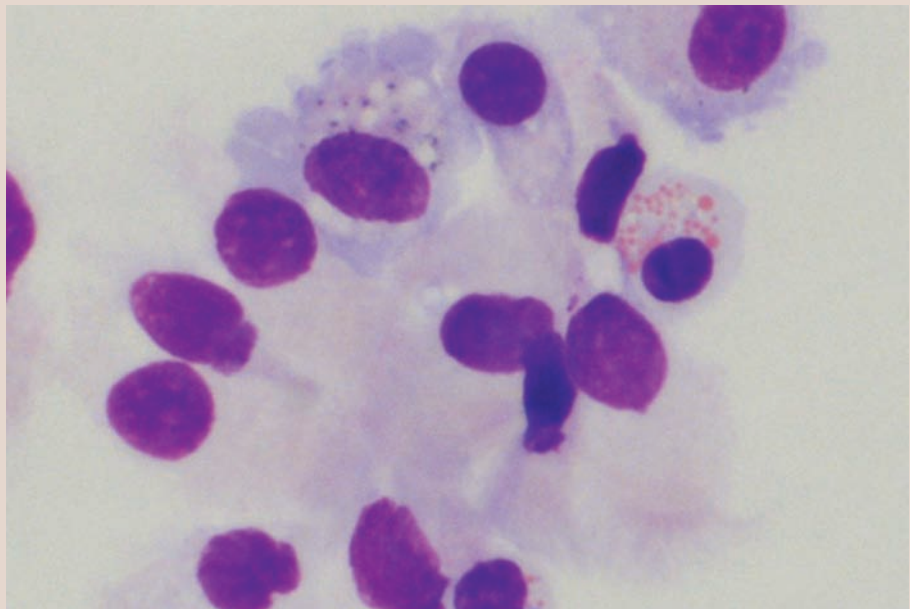


Figura 31. LTB: células ciliadas, macrófagos alveolares y un eosinófilo (de núcleo redondo).

Diagnóstico citológico en LTB y LBA

Se realiza en función del tipo, cantidad y proporción de células observadas. Hay que tener en cuenta que estos patrones no son excluyentes entre sí, de forma que es posible observar muestras que presenten características que definen diferentes categorías.

- **Muestra insuficiente:** no hay células o el número es inadecuado. En estos casos, el lavado puede repetirse, pero hay que tener en cuenta que el primero puede inducir una respuesta inflamatoria que se manifiesta, aproximadamente, a las 24 horas.
- **Contaminación orofaríngea:** es más frecuente en LTB obtenidos mediante la técnica endotraqueal. Se caracteriza por la presencia de abundantes células escamosas superficiales, con numerosas bacterias pleomórficas (fig. 32) adheridas a su superficie, incluyendo de la especie *Simonsiella* (fig. 33). Esta presencia bacteriana no se acompaña de respuesta inflamatoria. Hay que tener en cuenta que esta contaminación altera la evaluación citológica y los cultivos. Las células contaminantes desaparecen del tracto respiratorio en 48 horas, aunque la contaminación residual es mínima y no tiene por qué alterar el resultado citológico si el lavado se repite antes.

Figura 32. LTB: contaminación orofaríngea, caracterizada por la presencia de células escamosas con numerosas bacterias pleomórficas adheridas a su superficie que no desencadenan reacción inflamatoria.

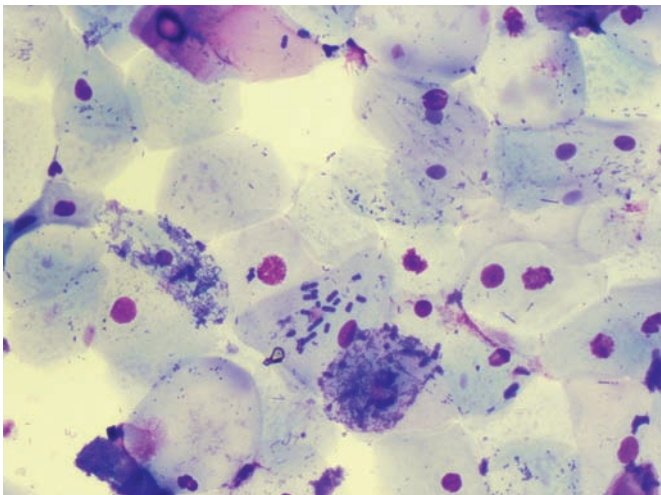
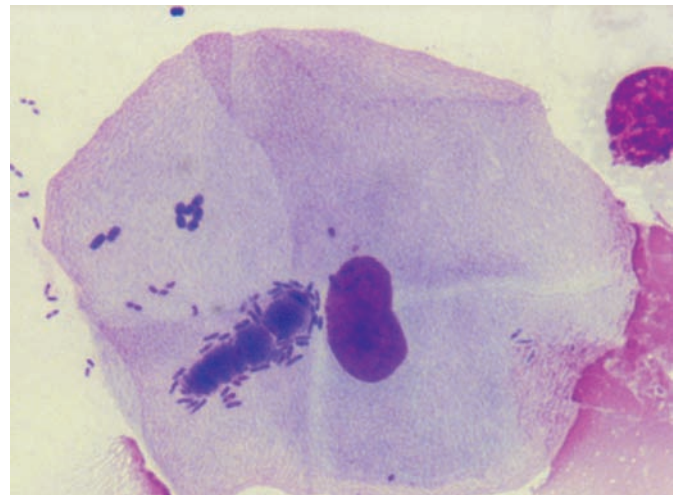


Figura 33. LTB: Contaminación orofaríngea (detalle). Se observan *Simonsiella* y otros tipos de bacterias contaminantes sobre una célula escamosa.



■ **Muestra normal:** la citología de animales sanos se caracteriza por una escasa celularidad en la que predominan, con cifras aproximadas del 70%, células ciliadas (fig. 34) (LTB) o macrófagos en reposo (fig. 35) (LBA o LTB con penetración profunda); ocasionalmente, puede observarse células caliciformes dispersas y un pequeño porcentaje de linfocitos maduros (< 5%), neutrófilos sin características degenerativas (< 5%), eosinófilos (< 5% en perros, < 25% en gatos) o mastocitos (< 2%). Puede observarse una pequeña cantidad de moco.

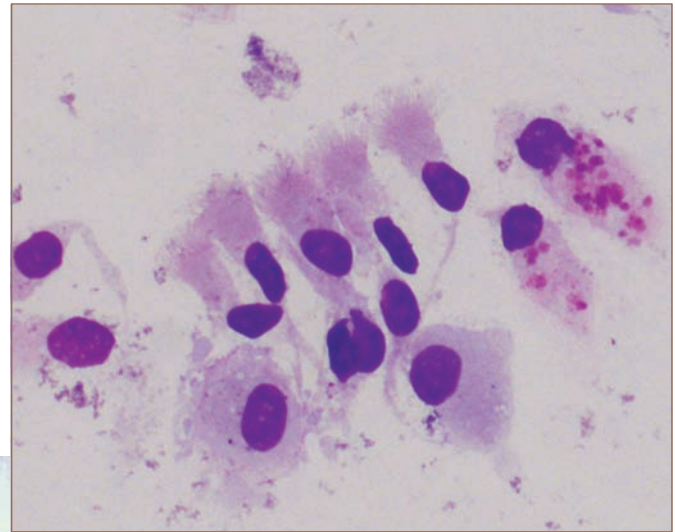


Figura 34. LTB: citología normal en la que se observan células columnares ciliadas, células cuboidales y dos células caliciformes.

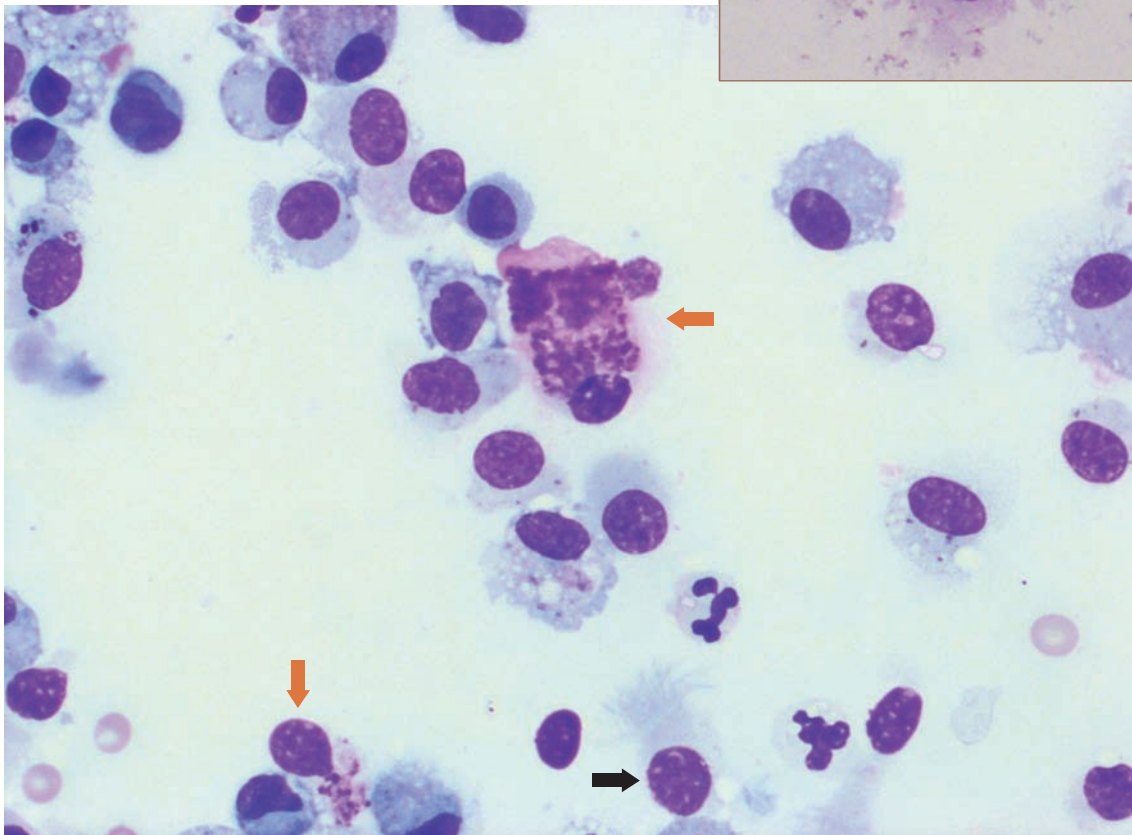


Figura 35. LTB: citología normal con numerosos macrófagos poco activados, células ciliadas (señalada con flecha negra), células caliciformes (señaladas con flechas de color) y escasos neutrófilos.

■ **Procesos inflamatorios:** en los que el tipo celular predominante caracteriza el tipo de inflamación. En todos ellos, se produce un incremento en la producción de moco, que puede acompañarse de un incremento del número de células calciformes, que es más evidente en procesos irritativos o inflamatorios crónicos. Las células del epitelio respiratorio presentan cambios reactivos en respuesta a la inflamación, por lo que hay que extremar la precaución para no confundirlas con células neoplásicas.

a) La inflamación neutrofílica se caracteriza por el incremento del número de neutrófilos, que superan el 5% de la población celular. Es normal que los neutrófilos presenten un cierto grado de degeneración (por el bajo contenido proteico de la muestra) (fig. 36), independientemente de la etiología, pero es más marcada en procesos bacterianos, en los que también es posible visualizar las bacterias intracelulares (fig. 37) (la mayoría de las neumonías bacterianas se deben a infecciones por bacilos Gram negativos). En estas muestras exudativas, además, es posible que presenten un citoplasma ligeramente eosinófilo. Además de en neumonías bacterianas (primarias o secundarias a otros procesos, como la neumonía por aspiración), el número de neutrófilos también aumenta en otros procesos infecciosos (hongos, protozoos), granulomas por cuerpos extraños, enfermedades irritativas (por ejemplo, inhalación de humo), de hipersensibilidad o neoplásicas.

Figura 36. LTB: inflamación neutrofílica. Los neutrófilos aparecen ligeramente degenerados, aunque no se observan bacterias.

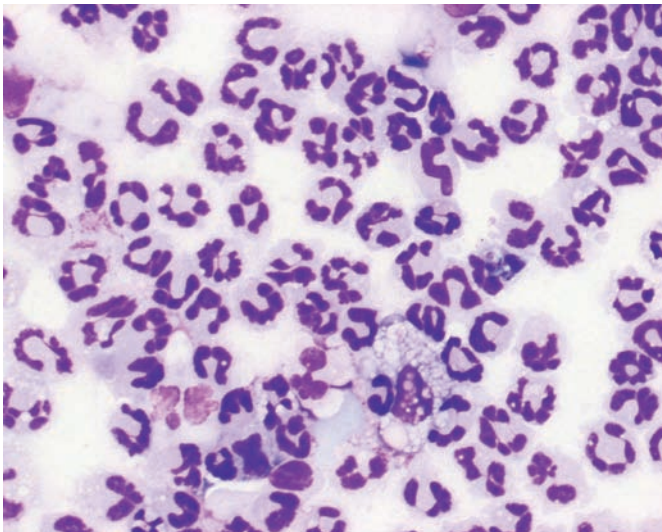
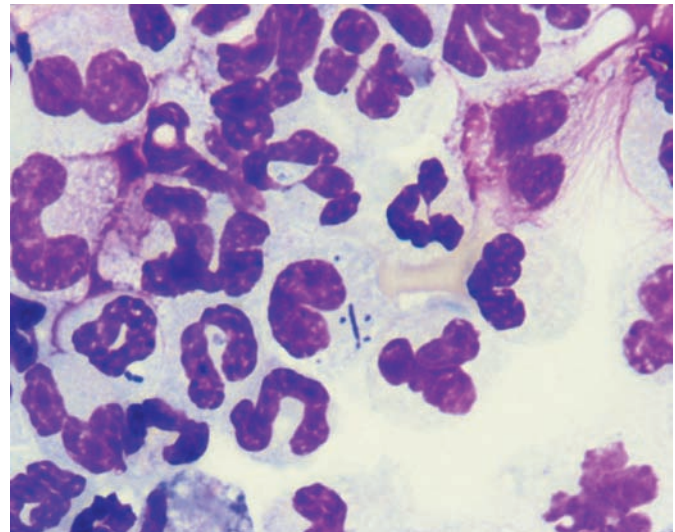


Figura 37. LTB: inflamación séptica. Se observan bacterias en el interior de los neutrófilos que presentan características degenerativas.



b) La inflamación eosinofílica se caracteriza por un incremento del número de eosinófilos que supera el 5% en perros y el 25% en gatos. Hay que tener precaución para no confundir los eosinófilos con neutrófilos de citoplasma eosinófilo. Puede existir un aumento secundario de otras células inflamatorias; en muchas ocasiones, los eosinófilos predominan en algunas áreas, pero en otras se observa un mayor número de neutrófilos. Por ello, es necesario evaluar cuidadosamente toda la extensión. La reacción eosinofílica acompaña, principalmente, a procesos alérgicos o de hipersensibilidad (asma) (figs. 38 y 39) y a procesos parasitarios (diversas especies de *Filaroides* o *Aelurostrongylus*) (fig. 40), pero también puede observarse un incremento significativo en procesos fúngicos o neoplasias (linfosarcoma y mastocitoma, principalmente).

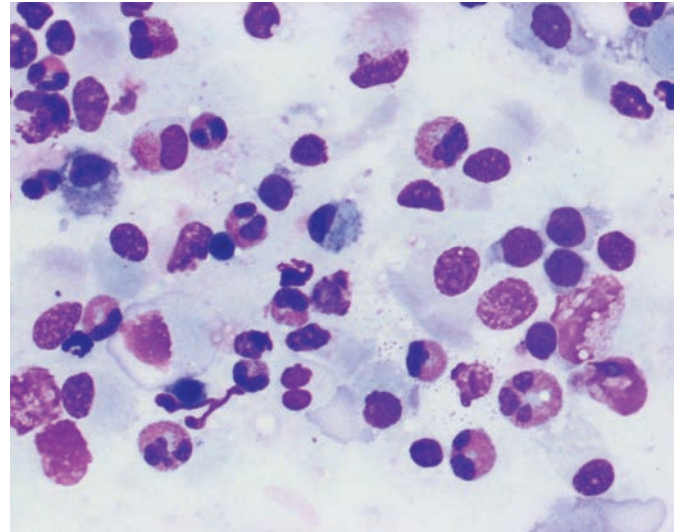


Figura 38. LTB: inflamación eosinofílica (especie felina). Se observan células ciliadas, macrófagos alveolares y numerosos eosinófilos.

Figura 39. LTB: inflamación eosinofílica (especie canina). Se observa un macrófago alveolar en reposo, neutrófilos y abundantes eosinófilos.

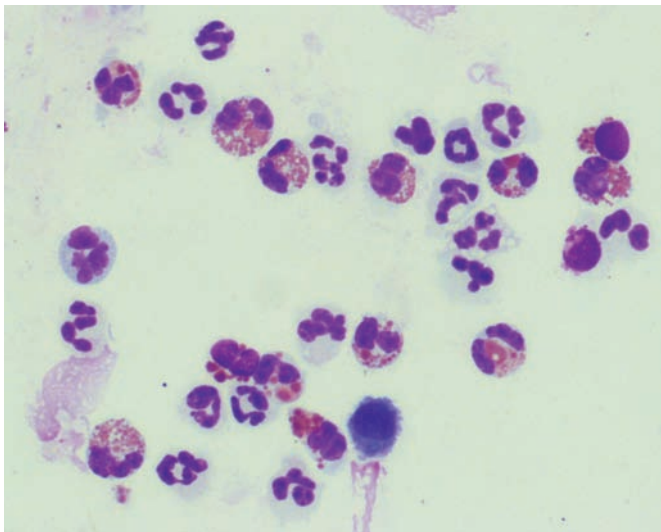
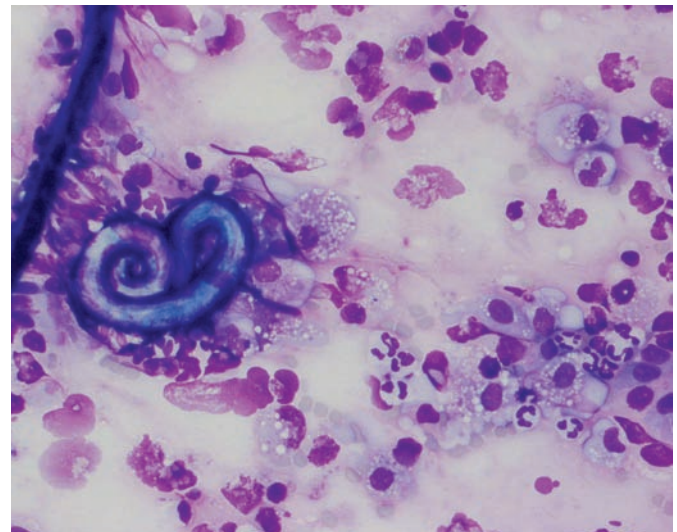


Figura 40. LTB: inflamación parasitaria. Se observa una larva de *Filaroides hirthei*.



c) La inflamación mononuclear se acompaña de un aumento del porcentaje de macrófagos con características de activación (> 70%), incluyendo células gigantes multinucleadas (fig. 41); también puede producirse un incremento del número de linfocitos (> 5%), en su mayoría maduros, aunque puede observarse un escaso porcentaje de linfocitos reactivos de gran tamaño, incluso de linfoblastos. Acompaña a procesos de irritación o inflamación crónica (bronquitis irritativa, neoplasias, infecciones crónicas, insuficiencia cardiaca congestiva o neumonía lipídica [fig. 42]). Una gran reacción de linfocitos o plasmáticas se asocia a una fuerte estimulación antigénica o a enfermedades crónicas.

d) La inflamación mixta (piogranulomatosa) presenta un incremento de más de un tipo de células inflamatorias. Suele ser la respuesta habitual de procesos fúngicos (criptococosis, blastomicosis, histoplasmosis, coccidiomicosis, aspergilosis o toxoplasmosis, entre otras), pero también se puede observar en inflamación no infecciosa o neoplasia (fig. 43).

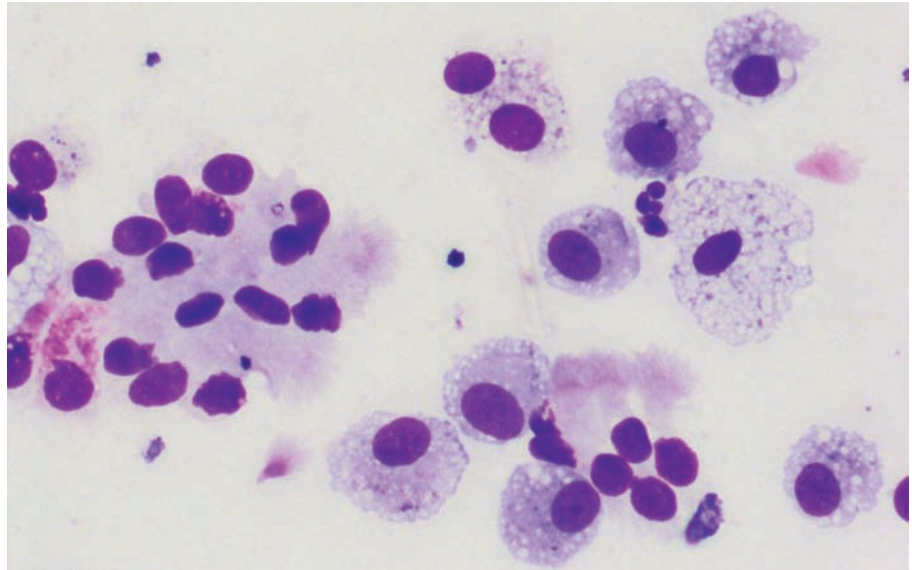
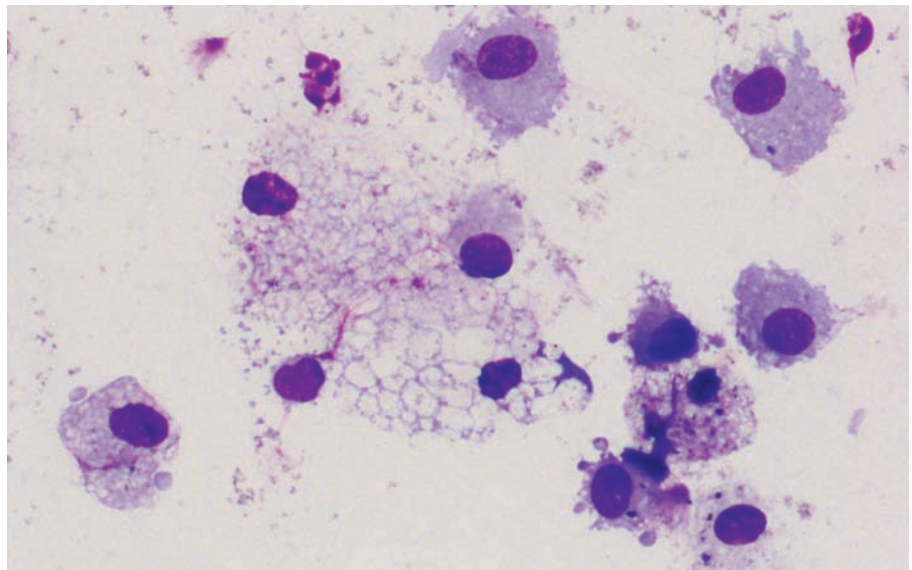


Figura 41. LTB: inflamación crónica. Se observan numerosos macrófagos alveolares activados junto a células ciliadas y dos células caliciformes.

Figura 42. LTB: inflamación crónica; predominio de macrófagos alveolares muy activados (células espumosas).



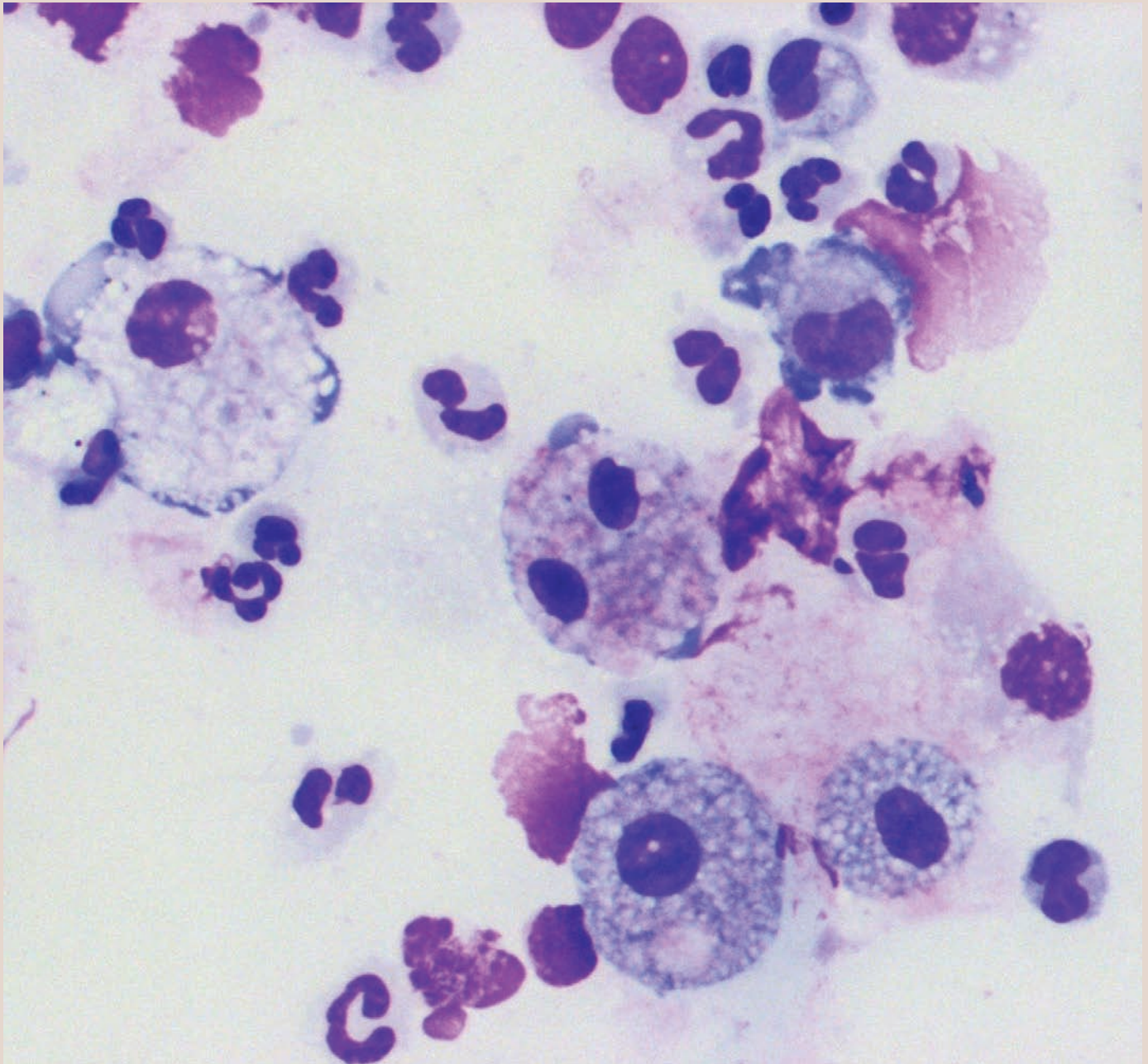


Figura 43. LTB: inflamación mixta. Se observan numerosos neutrófilos y macrófagos activados, incluyendo células binucleadas.

■ **Neoplasia:** los procesos neoplásicos no suelen detectarse con los LTB, a menos que el tumor haya invadido el árbol traqueobronquial y los bronquiolos invadidos no estén colapsados por moco (fig. 44). El LBA presenta una mayor capacidad diagnóstica, siendo especialmente útil en el diagnóstico de linfosarcoma (hasta un 66% de los LBA de perros con linfoma multicéntrico presentan linfoblastos neoplásicos).

Los tumores que se diagnostican con mayor frecuencia son linfosarcomas o carcinomas. Los primeros se caracterizan por la presencia de un porcentaje elevado de linfoblastos monomórficos (no confundir con células linfoides reactivas de gran tamaño que acompañan, en ocasiones, a los procesos inflamatorios) (fig. 45). Los carcinomas son los tumores pulmonares más frecuentes, bien primarios, bien metastásicos (fig. 46). En las citologías puede llegar a observarse la presencia de grupos o ácidos* de células epiteliales con atipias significativas. Hay que tener en

cuenta que siempre que existe inflamación se produce un cambio displásico en las células epiteliales respiratorias, caracterizado por variaciones en forma y tamaño, e incremento de la relación núcleo:citoplasma. Estos cambios son semejantes a los que experimentan las células neoplásicas, por lo que es necesario tener mucha precaución a la hora de interpretar estos resultados.

■ **Hemorragia:** si la toma de muestras se realiza correctamente, la contaminación sanguínea es mínima, por lo que la presencia de numerosos hematíes suele ser indicativa de hemorragias pulmonares en las que, además de los eritrocitos, se observan macrófagos con imágenes de eritrofagocitosis y fagocitosis de productos de hemoglobina. La hemorragia puede deberse a traumatismos, cuerpos extraños, coagulopatías, tromboembolismo, infecciones, neumonías por aspiración, hipertensión pulmonar, insuficiencia cardíaca congestiva o neoplasias (hemangiosarcoma).

Figura 44. LTB: melanoma maligno.

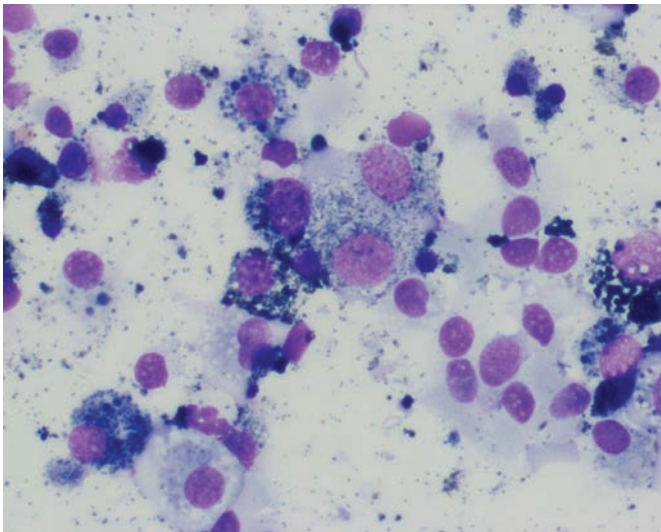
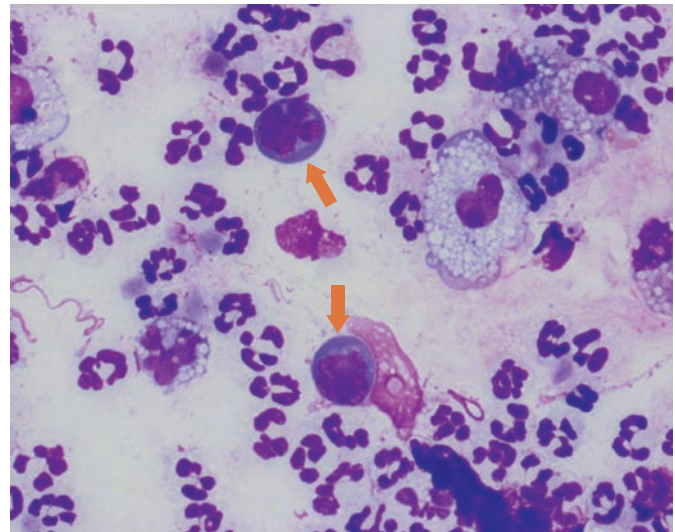
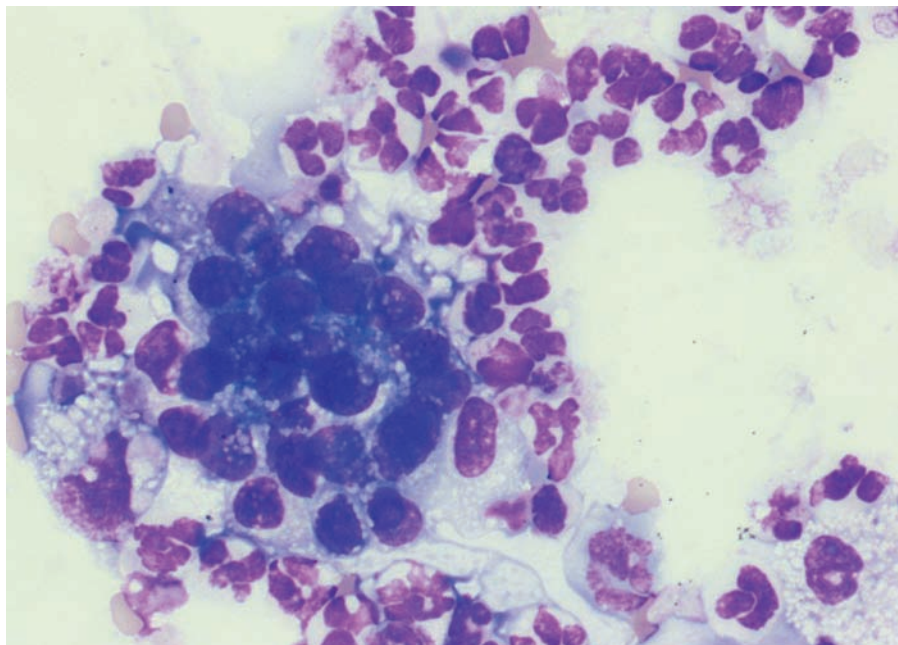


Figura 45. LTB: linfosarcoma. Se observan dos linfoblastos (señalados con flechas), uno de ellos con núcleo en forma de trébol, además de neutrófilos y macrófagos activados.



* N del E: según la nomenclatura de FA. Navarro, ácidos es el genitivo plural de la palabra latina *acinus* (*acini* en plural).



■ **Metaplasia:** respuesta adaptativa de las células epiteliales a una irritación crónica. La más frecuente es la escamosa (fig. 47), que puede diferenciarse de la contaminación orofaríngea por la ausencia de bacterias contaminantes y la presencia del resto de células procedentes del tracto respiratorio.

Figura 46. LTB: adenocarcinoma.

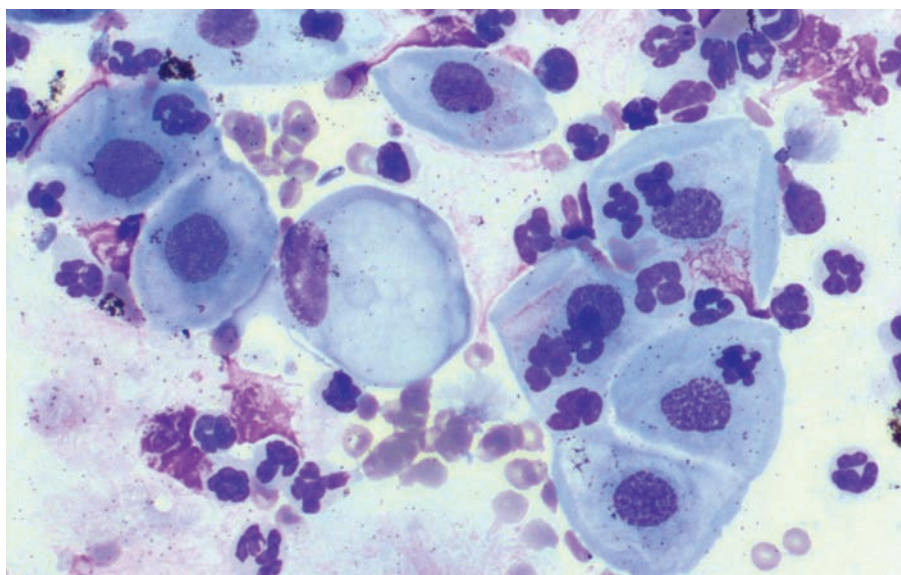


Figura 47. LTB: metaplasia escamosa.

Citología del parénquima pulmonar

Indicaciones del estudio citológico

La citología del parénquima pulmonar está indicada, fundamentalmente, en enfermedades intersticiales difusas o en grandes lesiones focales (masas o áreas de consolidación) que puedan localizarse radiográficamente y se sitúen adyacentes a la pared torácica. La citología permite diferenciar entre procesos inflamatorios (abscesos o granulomas pulmonares), de hipersensibilidad o neoplásicos. Sólo las citologías en las que se observan microorganismos o células neoplásicas pueden considerarse definitivas para emitir un diagnóstico; cualquier otra situación sólo permite apoyar un diagnóstico presuntivo. Su principal ventaja reside en que, en muchas ocasiones, evita la necesidad de realizar procedimientos más invasivos (biopsia transtorácica, toracoscopia o toracotomía), especialmente en pacientes de alto riesgo.

Sin embargo, la citología pulmonar está contraindicada en pacientes de difícil manejo, agresivos o excesivamente nerviosos, enfermedad respiratoria grave, con tos y/o disnea incontrolable, alteraciones de la coagulación, hipertensión pulmonar y quistes pulmonares o enfisema bulloso.

Los escasos estudios realizados en medicina veterinaria coinciden en que más de un 80% de las muestras permiten definir un diagnóstico, siendo especialmente útiles para identificar neoplasia (carcinoma) e infecciones de tipo micótico. Este porcentaje se alcanza, fundamentalmente, en lesiones focales, localizadas mediante radiografía o ecografía. Sin embargo, en procesos difusos o generalizados, en los que la técnica debe realizarse "a ciegas", la eficacia diagnóstica es menor. La citología pulmonar no es útil para definir cambios en la arquitectura del parénquima, como la bronquiectasia, enfisema, fibrosis y lesiones vasculares.

Recogida y manejo de las muestras

Las citologías de parénquima pulmonar se obtienen mediante PAAF o PAF.

Suele ser conveniente practicar una sedación del paciente para evitar movimientos incontrolados que incrementen las posibilidades de laceraciones pulmonares, a pesar de que dicha sedación dificulta la eliminación de secreciones respiratorias o de la hemorragia que se pueda producir. El área donde se va a realizar la punción debe rasurarse y limpiarse de forma quirúrgica.

En procesos intersticiales difusos o generalizados, el punto más adecuado para realizar la toma de muestras es el lóbulo caudal derecho en su área dorsal; en esta zona, el parénquima pulmonar es más denso, por lo que los aspirados suelen contener un mayor número de células. Con el animal en decúbito esternal, la punción se realiza en los espacios intercostales 7°, 8° o 9°, en el tercio dorsal de la distancia entre la columna vertebral y la unión costochondral. En esta área, el error más frecuente es introducir la aguja demasiado caudalmente y aspirar el hígado.

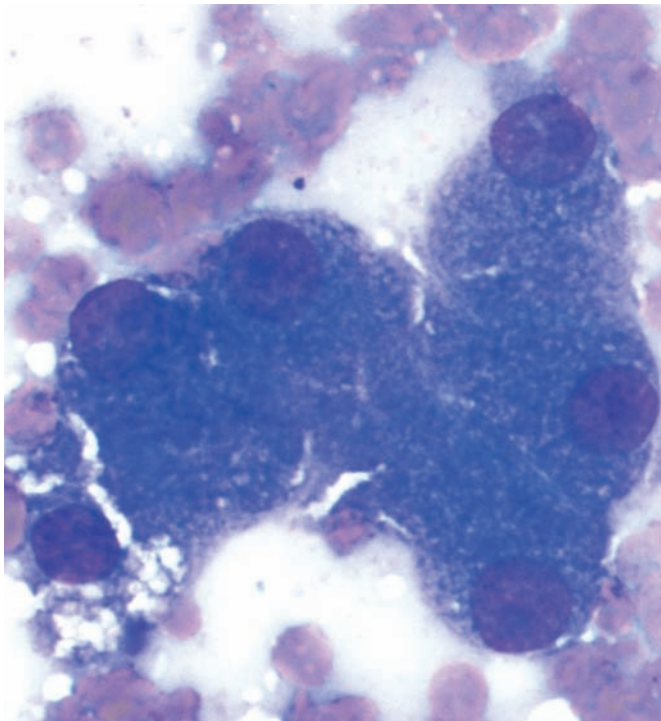
En enfermedades pulmonares focales, es conveniente realizar la PAAF o PAF guiados por la ecografía, para incrementar la representatividad de la muestra. Si no se dispone de ecógrafo puede identificarse el punto de punción con las radiografías (laterales, dorsoventrales y ventrodorsales). Para evitar lesionar pulmón sano, se recomienda realizar la toma de muestras sólo en lesiones adyacentes a la pared torácica.

Durante la toma de muestras es conveniente limitar los movimientos respiratorios, cerrando la boca y nariz del paciente. La aguja se inserta a través de la pared costal en el borde craneal de la costilla para evitar los vasos intercostales del borde caudal de la costilla adyacente. Una vez en la zona elegida, se procede a realizar dos o tres aspiraciones (si se va a realizar una técnica de PAAF) mientras la aguja se mueve ligeramente hacia delante y hacia atrás.

La principal complicación de las punciones pulmonares es el desarrollo de un neumotórax secundario que aparece en un 20-35% de los pacientes, aunque sólo es grave en un 5-6%, ya que la mayoría se resuelven espontáneamente sin producir sintomatología. Este riesgo disminuye considerablemente si la toma de muestras se practica ecoguiada sobre procesos focales adyacentes a la pared torácica.

El procesado (extensión y tinción) se realiza con las técnicas citológicas habituales.

Figura 48. Citología pulmonar: la presencia de hepatocitos indica que la punción se ha realizado en el hígado, no en el parénquima pulmonar.

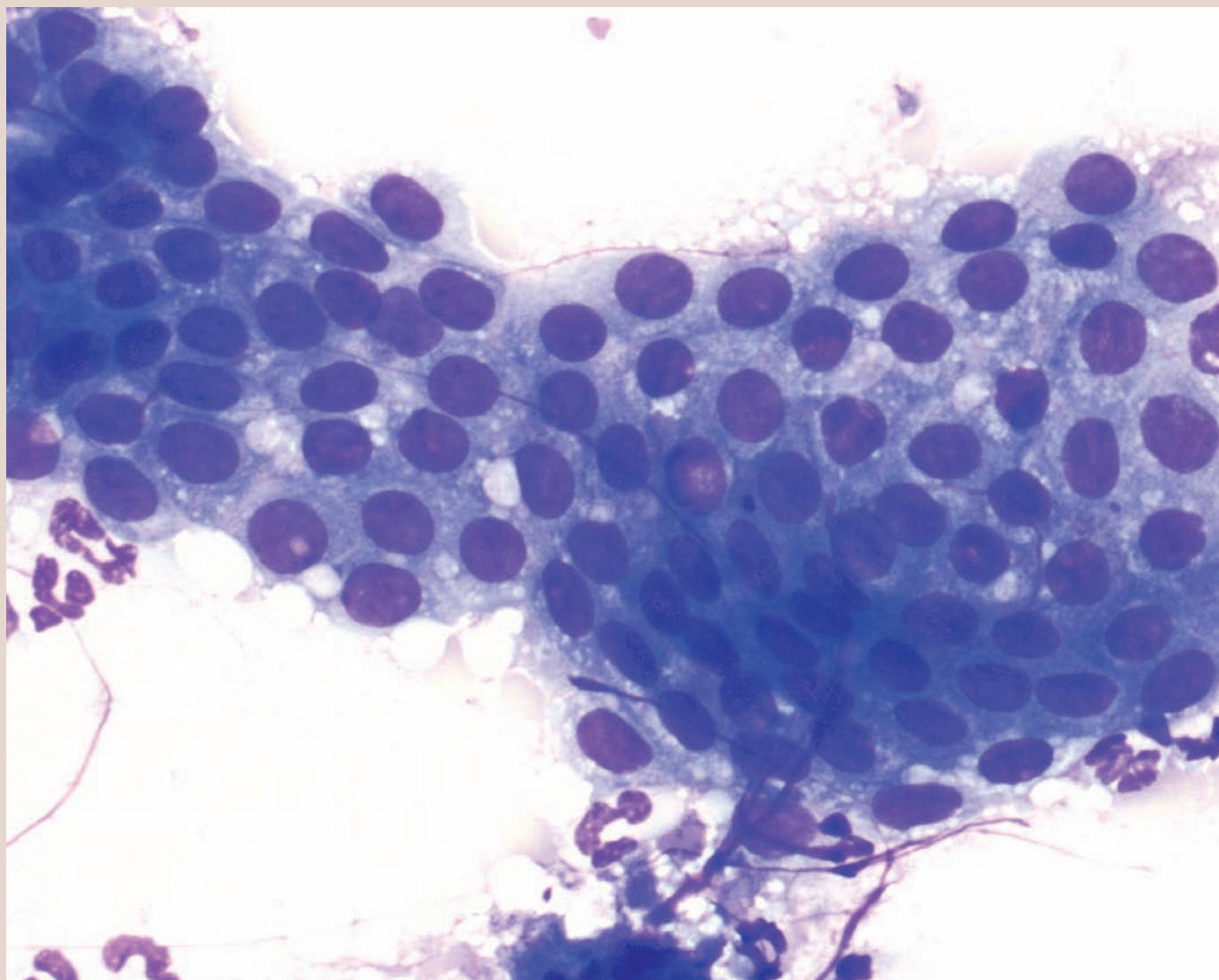


Interpretación citológica

La primera fase de la evaluación citológica es determinar si la muestra es representativa. En lesiones focales, si se obtiene bajo control ecográfico, las probabilidades de obtener una muestra representativa son muy elevadas. Sin embargo, en procesos difusos o generalizados, en los que la técnica debe realizarse "a ciegas", existe el riesgo de realizar la aspiración en un área no representativa y obtener solo células normales. Por otro lado, el pulmón es un órgano con escasa densidad de parénquima, por lo que la muestra puede ser inadecuada por su baja celularidad. Finalmente, si la aguja se introduce a excesiva profundidad, es posible realizar una punción hepática en vez de pulmonar. En este caso, es necesario reconocer los hepatocitos y no confundirlos con células neoplásicas (fig. 48).

La muestra, si es representativa, se evalúa a mayores aumentos para determinar el tipo de células predominantes con el fin de definir un origen inflamatorio o neoplásico de la lesión. Si se determina un posible origen infeccioso, debe realizarse una búsqueda del microorganismo responsable.

Figura 49. Citología pulmonar: grupo de células epiteliales alveolares.



Citología de parénquima pulmonar normal

Además de células epiteliales respiratorias (columnares y cuboidales) y células caliciformes (ya descritas en otros apartados de este capítulo), las células más frecuentes del parénquima pulmonar normal son las células alveolares y los macrófagos alveolares. Las primeras se observan en pequeña cantidad y son células epiteliales redondeadas o cuboidales con un núcleo redondeado u oval, central o basal, con cromatina ligeramente condensada y citoplasma ligeramente basófilo (fig. 49). Los macrófagos pueden ser el tipo celular predominante. Son células de gran tamaño, con abundante ci-

toplasma y un núcleo redondo excéntrico (fig. 50); ocasionalmente aparecen células binucleadas. Los macrófagos activados se caracterizan por la presencia de abundantes vacuolas citoplasmáticas (macrófagos espumosos) y pueden contener material fagocitado (fig. 51).

En muestras citológicas pulmonares normales es frecuente observar células inflamatorias (neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y linfocitos). Normalmente proceden de la contaminación sanguínea.

Figura 50. Citología pulmonar: macrófagos alveolares en reposo.

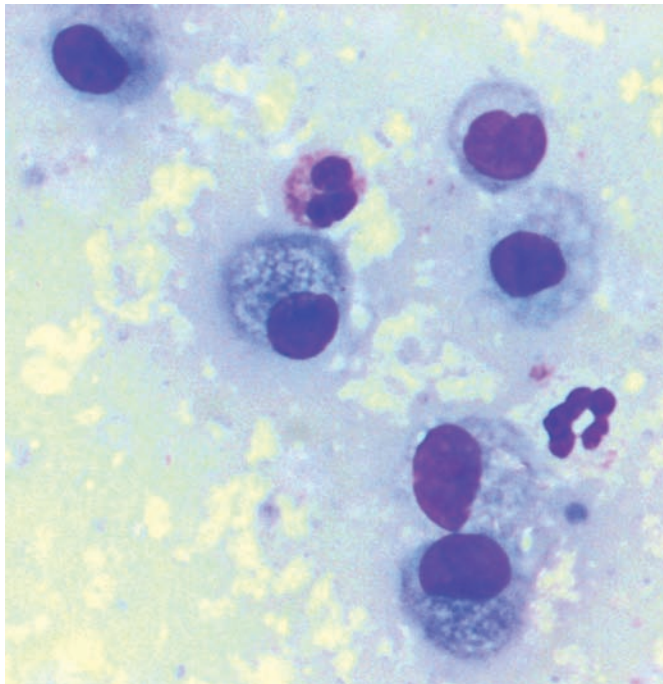
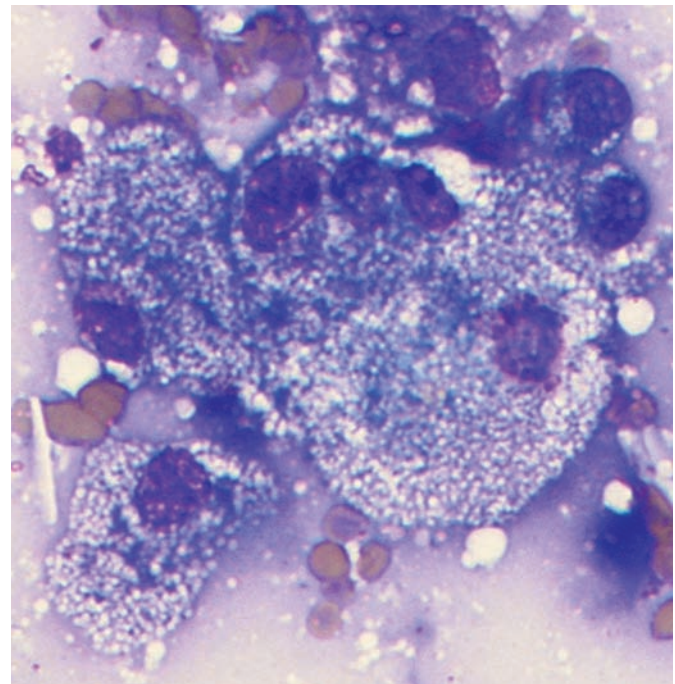


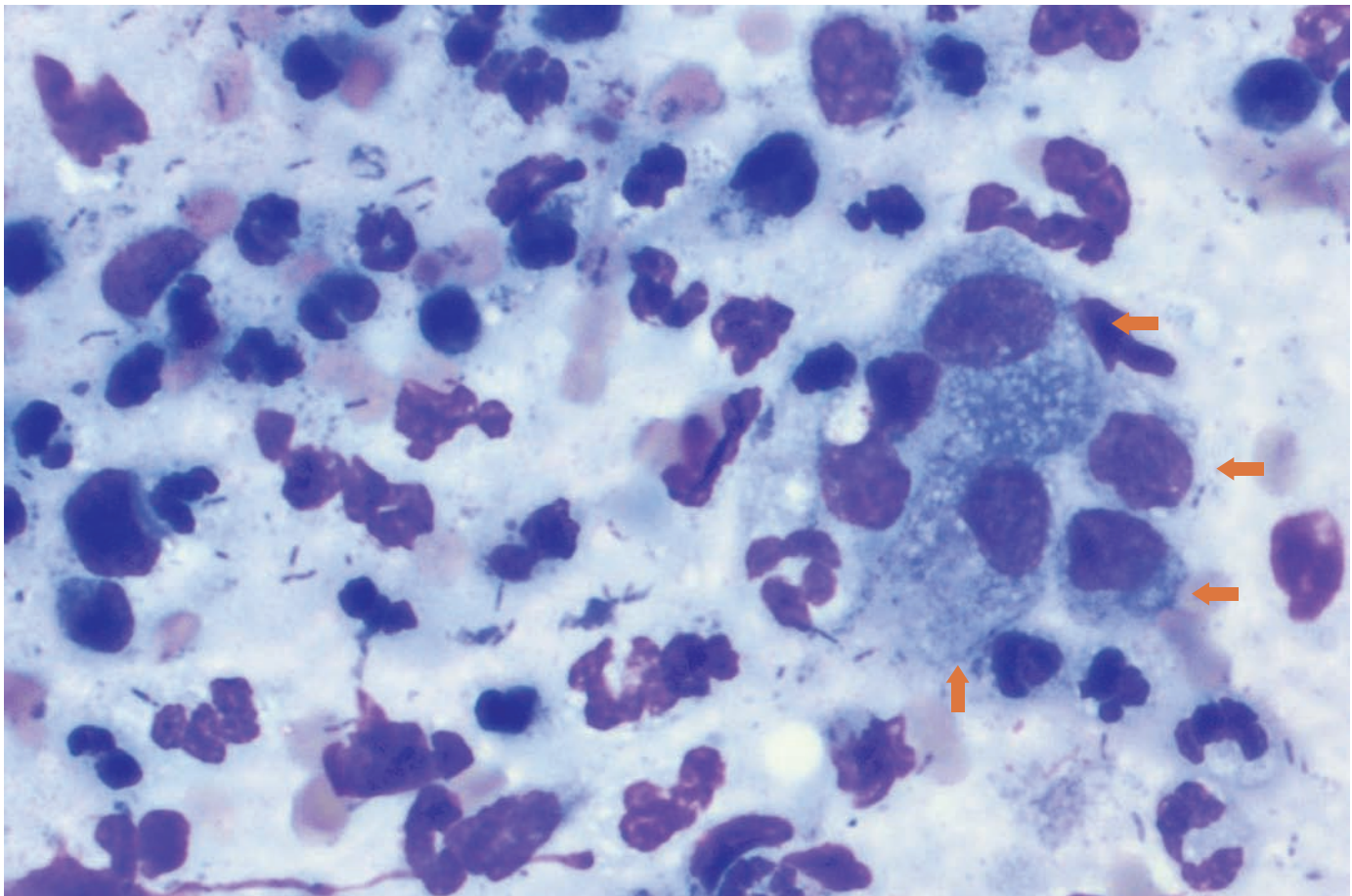
Figura 51. Citología pulmonar: macrófagos alveolares espumosos.



Citología de procesos inflamatorios e irritativos

Los procesos inflamatorios agudos se caracterizan por el incremento de neutrófilos que constituyen la población celular predominante. Puede tener una etiología infecciosa (bacterias y virus fundamentalmente; hongos y protozoos ocasionalmente) o no infecciosa (inhalación de tóxicos, neoplasia). Las infecciones bacterianas producen cambios degenerativos en los neutrófilos por efecto de las toxinas bacterianas. En algunas ocasiones es posible observar la presencia del agente etiológico intra y extracelular: Los tipos bacterianos que se observan con mayor frecuencia son cocos (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) o bacterias en cadena (*Actinomyces*, *Nocardia*) (fig. 52). Las infecciones víricas, normalmente, se contaminan de forma secundaria por bacterias. La peritonitis infecciosa felina produce una inflamación mixta con presencia de neutrófilos y macrófagos, así como de linfocitos y células plasmáticas ocasionales.

Figura 52. Citología pulmonar: proceso inflamatorio de origen infeccioso. Se observan numerosos neutrófilos degenerados, bacterias, y macrófagos alveolares activados (señalados con flechas).



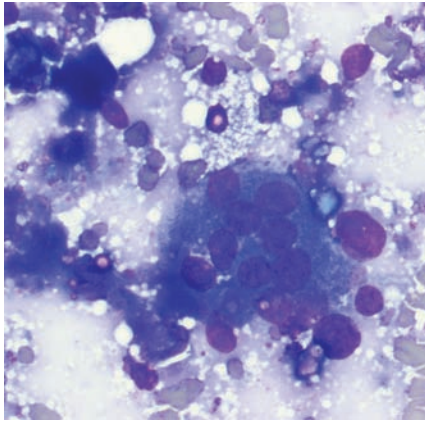


Figura 53. Citología pulmonar: inflamación granulomatosa; además de macrófagos activados se observa una célula gigante multinucleada.

Las reacciones de cuerpo extraño y las infecciones de origen fúngico o protozooario producen un proceso inflamatorio de tipo granulomatoso en el que predominan las células macrófagicas, incluyendo células gigantes multinucleadas (fig. 53).

En cualquier proceso inflamatorio, las células alveolares pueden presentar cambios displásicos como consecuencia de su activación. Hay que tener precaución para no interpretarlas como células neoplásicas (fig. 54).

En las reacciones de hipersensibilidad (alérgica o parasitaria) se observa un infiltrado por eosinófilos que aparecen en mayor cantidad de lo esperado por la contaminación sanguínea (más del 10% en perros y más del 20% en gatos [fig. 55]). Si existe un proceso inflamatorio asociado, también se observa un aumento los neutrófilos y/o macrófagos.

Como respuesta adaptativa a procesos irritativos crónicos puede producirse una metaplasia escamosa, en la que las células normales del epitelio respiratorio son sustituidas por células de tipo escamoso.

Figura 54. Citología pulmonar: proceso inflamatorio de origen infeccioso. Las células respiratorias columnares presentan cambios displásicos como reacción a la inflamación.

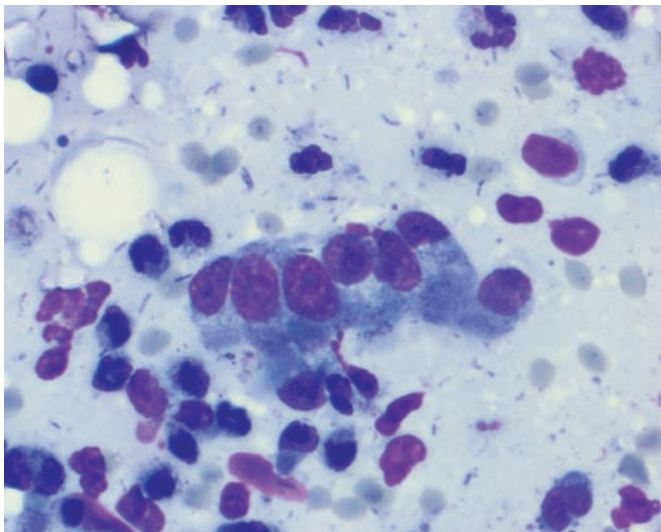
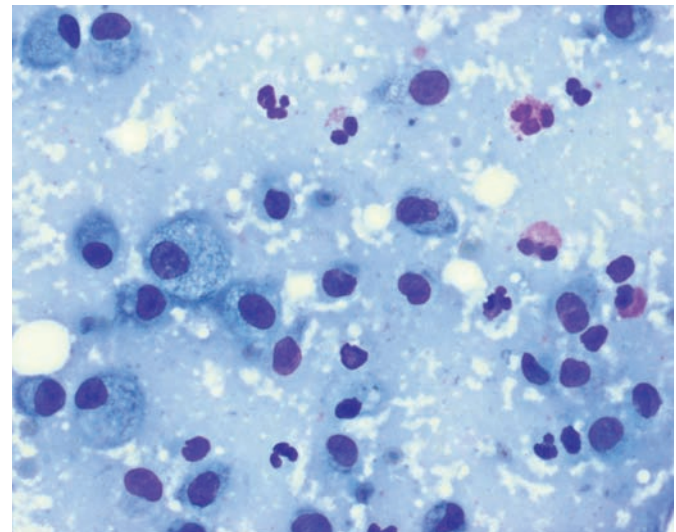


Figura 55. Citología pulmonar: reacción de hipersensibilidad. Se observan macrófagos alveolares y un aumento del número de eosinófilos.



Citología de procesos neoplásicos

La mayoría de los tumores pulmonares son malignos y de origen epitelial, tanto si son primarios como si son metastásicos. En una citología, es imposible diferenciar entre ambos.

Los carcinomas se caracterizan por la presencia de grandes grupos celulares desorganizados. Se clasifican como adenocarcinomas si las células presentan vacuolas, se estructuran en ácinos o se observan productos de secreción (fig. 56). En carcinomas y adenocarcinomas indiferenciados, los criterios citológicos de malignidad son evidentes (fig. 57); sin embargo, pueden aparecer como grupos celulares bien diferenciados, con escasas atipias celulares (fig. 58). Los carci-

nomas de células escamosas se caracterizan por la presencia de abundantes células de este tipo en diferentes estadios de maduración (fig. 59).

Los sarcomas pulmonares primarios son poco frecuentes. En su mayoría son procesos metastásicos. Es difícil diagnosticarlos, ya que exfolian pocas células; en casos de hemangiosarcomas, el principal hallazgo es la contaminación sanguínea.

Los linfosarcomas pulmonares se diagnostican fácilmente por la observación de un predominio de linfoblastos.

Figura 56. Citología pulmonar: adenocarcinoma.

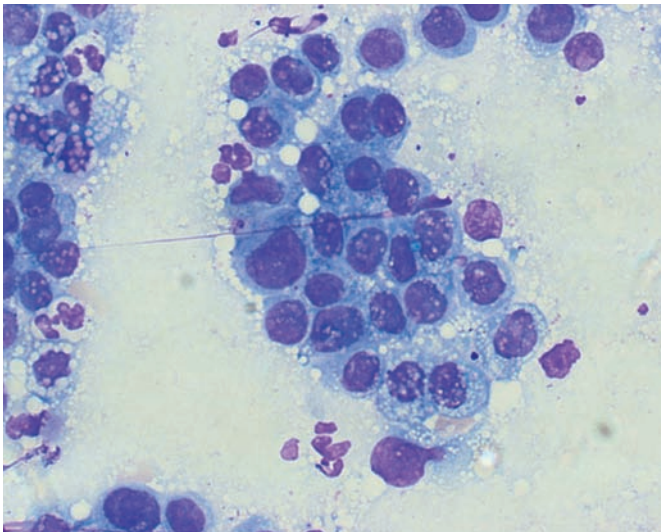
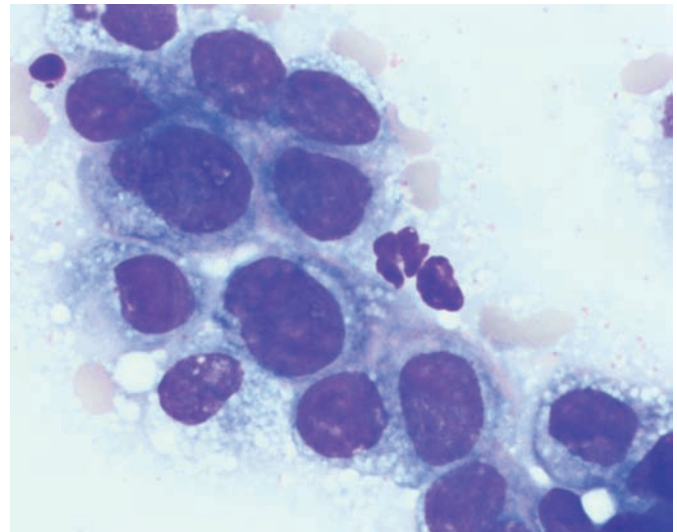


Figura 57. Citología pulmonar: carcinoma con presencia de caracteres citológicos de malignidad (diferencias en la forma y tamaño de los núcleos).



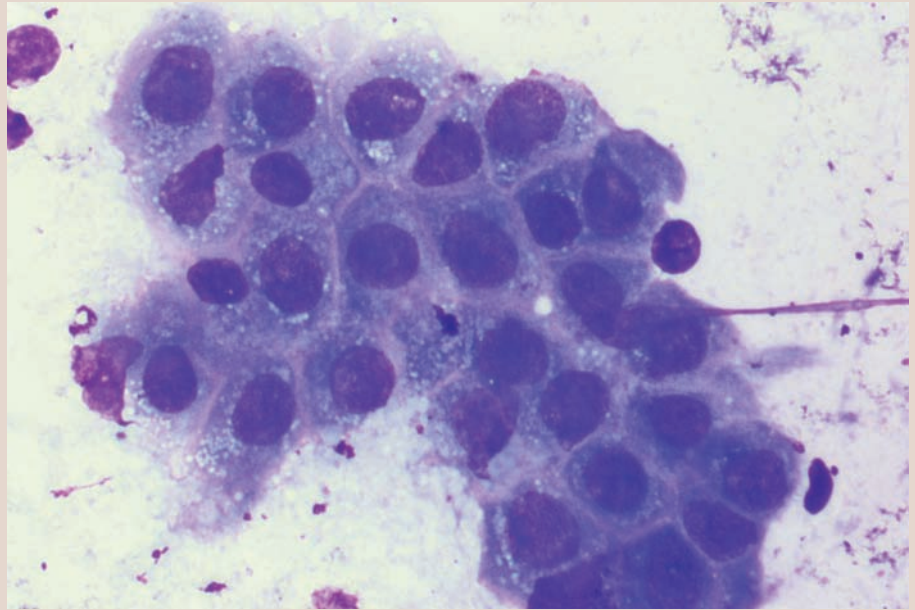


Figura 58. Citología pulmonar: carcinoma bien diferenciado; los núcleos presentan sólo ligeras atipias.

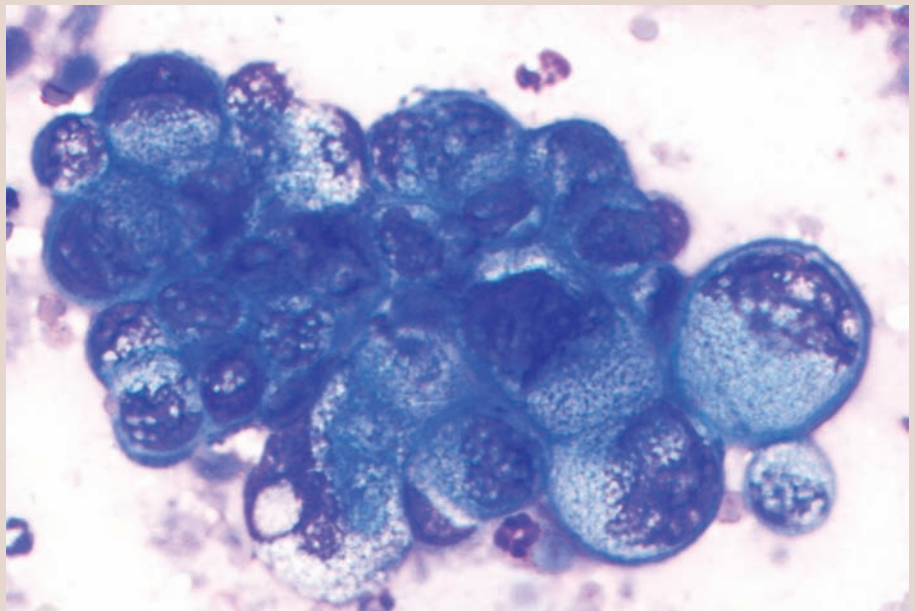


Figura 59. Citología pulmonar: carcinoma de células escamosas.

Citología de masas mediastínicas

Indicaciones del estudio citológico

La presencia de masas mediastínicas es una causa frecuente de dificultad respiratoria en perros y gatos. Generalmente se acompañan de derrame pleural, por lo que el estudio citológico del mismo puede ayudar al diagnóstico. No obstante, en muchas ocasiones, se requiere realizar una punción de la masa para estudiar su componente celular. Aunque el origen de la masa mediastínica puede ser inflamatorio, en la mayor parte de los casos se trata de procesos neoplásicos. El objetivo fundamental de la citología es diferenciar entre los diferentes tipos de neoplasias que cursan con una masa mediastínica, lo que permitirá elegir el protocolo terapéutico más adecuado.

Los tumores mediastínicos más frecuentes son el linfosarcoma y el timoma. Ambos cursan con hallazgos clínicos y radiológicos semejantes; sin embargo, el pronóstico y el tratamiento son muy diferentes. Por ello, la indicación fundamental del estudio citológico es establecer la diferencia entre ambos procesos. Ocasionalmente, los carcinomas tiroideos ectópicos y los quemodectomas pueden provocar la presencia de masas mediastínicas; la citología no suele ser útil para diagnosticar estos últimos.

Recogida y manejo de las muestras

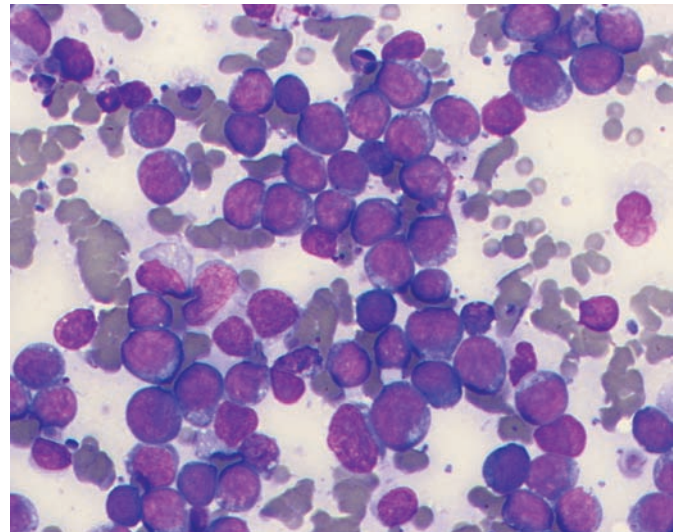
La toma de muestras de masas mediastínicas se realiza mediante PAAF o PAF. Si se sospecha de linfosarcoma es conveniente elegir la PAF para favorecer la integridad celular. Es recomendable realizar la punción bajo control ecográfico, lo que permite asegurar que la muestra procede de la masa y minimizar riesgos para el paciente.

Las muestras obtenidas se extienden y tiñen según las técnicas citológicas habituales.

Interpretación citológica

Las citologías procedentes de linfosarcomas mediastínicos presentan las características habituales de los tumores linfoproliferativos en otros ganglios. Se observa un predominio de linfoblastos, lo que confiere a la muestra una imagen monomórfica (fig. 60). Los linfoblastos pueden pertenecer a estadios muy inmaduros (linfosarcomas de alto grado) o a estadios más maduros (linfosarcomas de bajo grado).

Figura 60. Citología de masa mediastínica: linfosarcoma con predominio de linfoblastos.



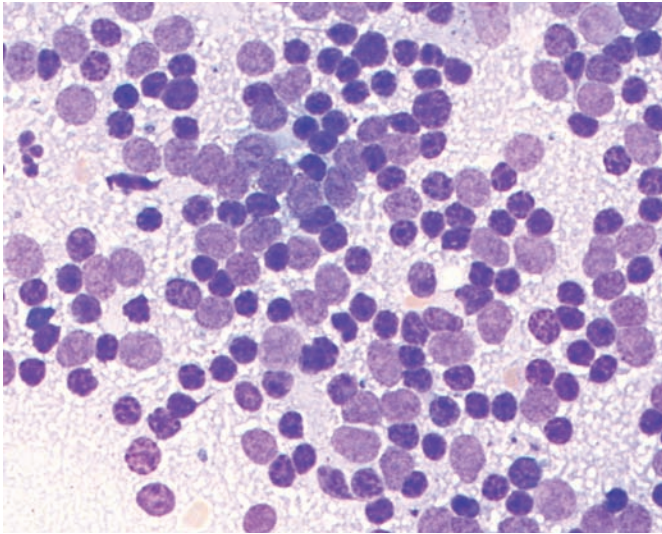
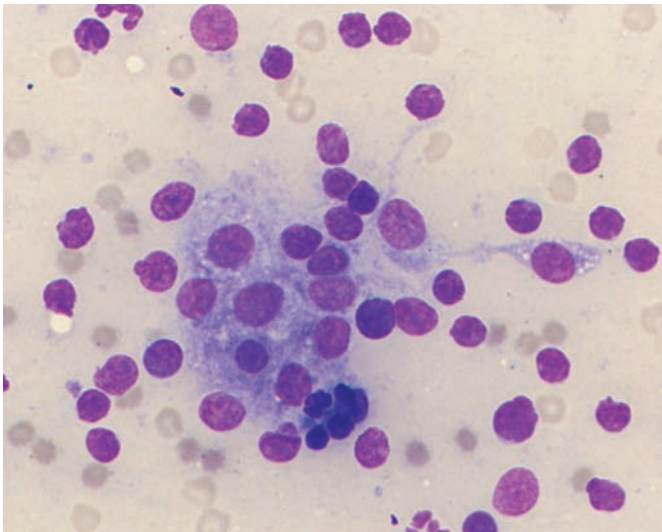


Figura 61. Citología de masa mediastínica: timoma con predominio de linfocitos maduros.

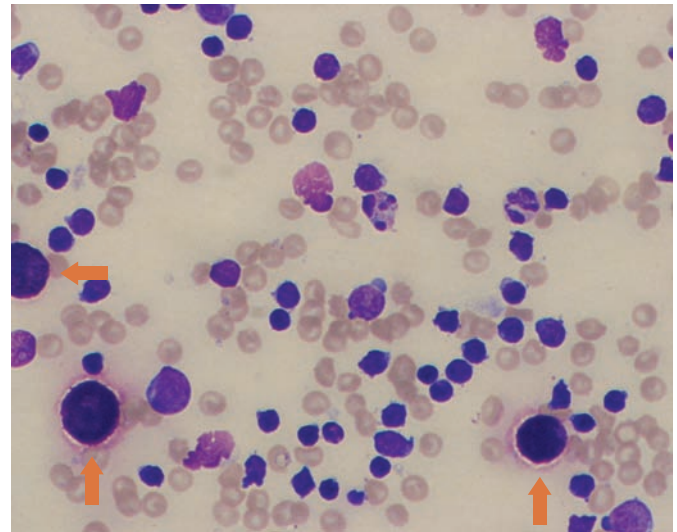
Figura 62. Citología de masa mediastínica: timoma. Se observa un grupo de células epiteliales tímicas junto a linfocitos maduros.



Los timomas son tumores procedentes del timo. Aunque pueden ser benignos o malignos, la citología no permite diferenciar entre ambos. Citológicamente, se observa una mezcla de linfocitos maduros (fig. 61) y células epiteliales tímicas. Estas últimas son células de tamaño medio o grande, que pueden tener una forma variable, desde redonda u oval hasta estrellada. Los núcleos son redondos u ovales con cromatina finamente condensada (fig. 62). Es muy frecuente observar un número significativo de mastocitos (fig. 63).

La citología de los carcinomas ectópicos tiroideos presenta las características habituales de los tumores de origen neuroendocrino, con numerosos núcleos desnudos incluidos en una matriz pálida que pueden disponerse en estructuras acinares (fig. 64). La contaminación sanguínea es un hallazgo habitual.

Figura 63. Citología de masa mediastínica: timoma. Se observan numerosos linfocitos maduros y un aumento del número de mastocitos (señalados con flechas).



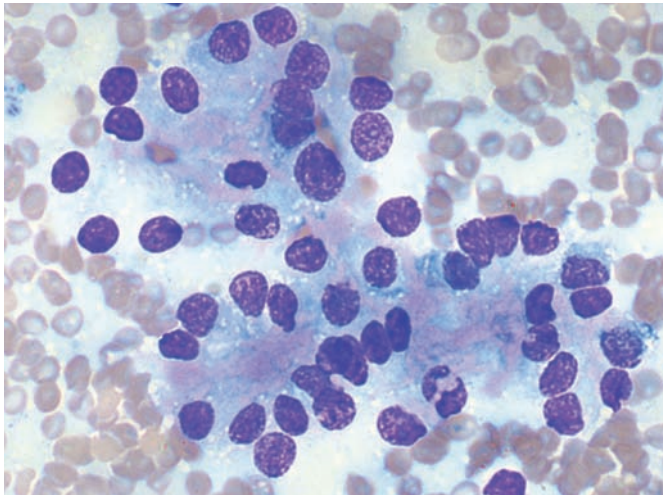


Figura 64. Citología de masa mediastínica: carcinoma tiroideo.

Bibliografía

- ANDREASEN, CB. Bronchoalveolar lavage. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, n° 33, pp. 69-88.
- ANDREASEN, CB., RAKICH, PM. Y LATIMER, KS. Nasal exudates and masses. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 52-58.
- CANIATTI, M., ROCCABIANCA, P., GHISLENI, G. et al. Evaluation of brush cytology in the diagnosis of chronic intranasal disease in cats. *J. Small Anim. Pract.* 1998, n° 39, pp. 73-77.
- CLERCX, C., WALLON, J. et al. Imprint and brush cytology in the diagnosis of canine intranasal tumors. *J. Small Anim. Pract.* 1996, n° 37, pp. 423-427.
- COWELL, RL, TYLER, RD., BALDWIN, CJ. Y MEINKOTH, JH. Transtracheal/bronchoalveolar washes. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 159-173.
- COWELL, RL, TYLER, RD. Y BALDWIN, CJ. The lung parenchyma. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 174-182.
- DEBERRY, JD., NORRIS, CR., SAMII, VF., GRIFFEY, SM. Y ALMY, FS. Correlation between fine-needle aspiration cytopathology and histopathology of the lung in dogs and cats. *JAAHA*. 2002, n° 38, pp. 327-336.
- FRENCH, TW. The use of cytology in the diagnosis of chronic nasal disorders. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1987, n° 9, pp. 59-64.
- HAWKINS, EC., MORRISON, WB., DENICOLA, DB. Y BLEVINS, WE. Cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from 47 dogs with multicentric malignant lymphoma. *JAVMA*. 1993, n° 203, pp. 1418-1425.
- MCCULLOUGH, S. Y BRINSON, J. Collection and interpretation of respiratory cytology. *Clin. Tech. in Sm. Anim. Pract.* 1999, n° 14, pp. 220-226.
- NORRIS, CR., GRIFFEY, SM., SAMII, VF. et al. Comparison of results of thoracic radiography, cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid and histologic evaluation of lung specimens in dogs with respiratory tract disease. *JAVMA*. 2001, n° 218, pp. 1456-1461.
- NORRIS, CR., GRIFFEY, SM., SAMII, VF. et al. Thoracic radiography, bronchoalveolar lavage cytopathology and pulmonary parenchymal histopathology: a comparison of diagnostic results in 11 cats. *JAAHA*. 2002, n° 38, pp. 337-345.
- PETERS, DE., MCKIERMAN, BC., WEISIGER, RM. et al. Quantitative bacterial cultures and cytological examination of bronchoalveolar lavage specimens in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2000, n° 14, pp. 534-541.

Elena M. Martínez de Merlo

citología
del tracto
urinario

A diferencia del estudio del sedimento urinario en muestras frescas, que se realiza habitualmente en el diagnóstico de cualquier patología urinaria, la evaluación citológica del tracto urinario no constituye una técnica rutinaria en la evaluación de problemas renales y de vías urinarias bajas. Sin embargo, su empleo está indicado en determinadas patologías, fundamentalmente neoplásicas, como parte del protocolo diagnóstico. Son pocas las enfermedades urinarias que se manifiestan en citología, pero, en ocasiones, la evaluación de la morfología celular permite orientar otras pruebas diagnósticas o, al menos, limitar la lista de diagnósticos diferenciales.

Citología renal

Indicaciones del estudio citológico

Las principales indicaciones para realizar un estudio citológico del parénquima renal son la observación de alteraciones en el tamaño y/o forma del órgano. Es una técnica más fácil de realizar y menos invasiva que la biopsia renal, por lo que puede emplearse de forma previa a la misma; en el caso de que la citología proporcione información relevante puede, incluso, que la biopsia ya no sea necesaria.

Es más adecuado realizar una citología en casos de renomegalia uni o bilateral (no acompañada de hidronefrosis) que en riñones de pequeño tamaño o fruncidos, en los que la citología no suele proporcionar información. El estudio citológico de riñones incrementados de tamaño es especialmente útil para confirmar o descartar la presencia de linfosarcoma, sobre todo en la especie felina. Otros procesos infiltrativos, tanto inflamatorios como neoplásicos, también pueden ponerse de manifiesto en la evaluación citológica (otros tumores, peritonitis infecciosa felina, infecciones fúngicas).

La segunda indicación del estudio citológico renal es la presencia de masas, sólidas o quísticas. En las primeras, la citología puede proporcionar importante información diagnóstica; suelen corresponderse con tumores, ya que las lesiones inflamatorias localizadas (granulomas) son muy poco frecuentes en pequeños animales. La utilidad de la citología en lesiones quísticas es más limitada, aunque permite diferenciar entre abscesos y quistes simples, tanto estériles como contaminados con infecciones secundarias.

La citología renal no es útil para diagnosticar alteraciones congénitas o hereditarias, glomerulonefritis, nefritis intersticial aguda o crónica, amiloidosis, riñones poliústicos, enfermedades vasculares (infartos), hidronefrosis o nefrocalcinosis.

Recogida y procesamiento de las muestras

El riñón es un órgano muy vascularizado, sobre todo en la especie felina, por lo que es necesario practicar la toma de muestras citológicas con técnicas que minimicen la contaminación sanguínea. Por ello, es más adecuado realizar una PAF que una PAAF.

Es conveniente asegurarse de que la hemorragia no va a ser excesiva, para lo cual es necesario realizar un recuento de plaquetas, como mínimo, en todos los pacientes (hay que valorar la necesidad de realizar otras pruebas de coagulación en función de la sintomatología del animal). También suele ser necesario limitar los movimientos del animal durante la toma de muestras, preferiblemente mediante una sedación o anestesia ligera. En la mayoría de los casos, se produce un episodio de hematuria en las horas posteriores a la punción, generalmente transitoria y sin importancia. Es muy raro que se produzca diseminación del proceso por transposición celular.

Es posible realizar la punción a ciegas en casos de renomegalia marcada en gatos, en los que es posible inmovilizar el riñón contra la pared abdominal para asegurar que la toma de muestras es adecuada. En estos casos, si el proceso es bilateral, conviene elegir el polo caudal del riñón izquierdo, para evitar el páncreas y el intestino. Sin embargo, tanto en lesiones focales en la especie felina como en cualquier caso en perros, es recomendable realizar la toma de muestras guiados por técnicas ecográficas para incrementar la capacidad diagnóstica de la muestra. En lesiones focales, deben tomarse muestras tanto de la zona central como de áreas más periféricas; en procesos difusos es conveniente introducir la aguja en la corteza renal tangencialmente; en cualquier caso, es necesario evitar la zona de la pelvis y del hilio renal. Es conveniente realizar aspiraciones de varios puntos para mejorar el rendimiento diagnóstico.

En el caso de lesiones quísticas, debe realizarse una extensión directa del líquido obtenido antes de introducirlo en un tubo con EDTA como anticoagulante y proceder a su análisis como cualquier otro líquido orgánico. Si es claro, lo que suele representar una baja celularidad, es conveniente realizar técnicas de concentración previas a la extensión citológica.

Las muestras renales se tiñen con las técnicas citológicas habituales.

Interpretación citológica

La interpretación citológica renal se ve dificultada por dos hechos. En primer lugar, el riñón es un órgano fibroso que exfolia pocas células; la realización de punciones repetidas en varios puntos permite minimizar este problema. Por otro lado, su gran componente vascular implica que la mayoría de las muestras están contaminadas con sangre. Es conveniente disponer de una muestra de sangre periférica para comparar los resultados, lo que puede ser indispensable para confirmar o descartar la presencia de un proceso inflamatorio (fig. 1).

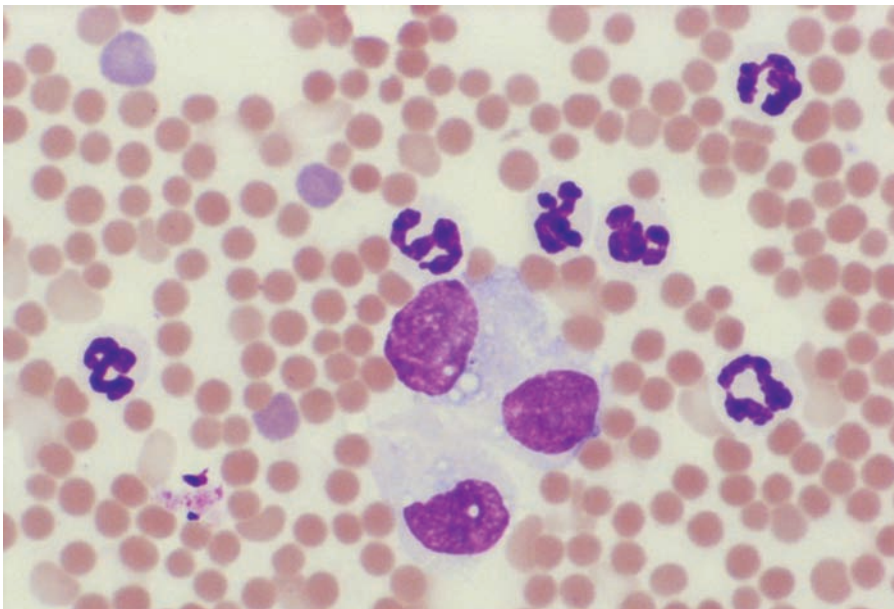


Figura 1. Citología renal: es necesario comparar con muestras de sangre periférica para determinar si los neutrófilos observados implican una reacción inflamatoria o son consecuencia de la contaminación sanguínea.

Citología renal normal

En condiciones normales, pueden observarse segmentos de túbulo (fig. 2) y células epiteliales. Las células normales del túbulo renal son células grandes (3-5 veces el tamaño de un hematíe) redondas o poligonales que pueden aparecer aisladas o en grupos. Presentan un núcleo central, en el que puede destacarse un nucléolo, y abundante citoplasma basófilo (fig. 3). En gatos suelen presentar vacuolas claras, por acúmulo de lípidos (pueden aparecer también en perros, generalmente en el curso de diabetes mellitus o en tratamientos prolongados con corticoides). La diferenciación de los diversos tipos de células epiteliales no tiene importancia diagnóstica. En condiciones de normalidad, las células deben ser relativamente homogéneas en forma y tamaño (fig. 4). En algunos casos se observan cilindros tubulares, cuya significación es semejante a la definida en el sedimento urinario (fig. 5). En ocasiones es posible aspirar fragmentos de glomérulos que aparecen en grupos circulares muy compactos de células, con núcleos de pequeño tamaño y citoplasma finamente vacuolizado (fig. 6). Es imposible diagnosticar alteraciones glomerulares en una muestra citológica.

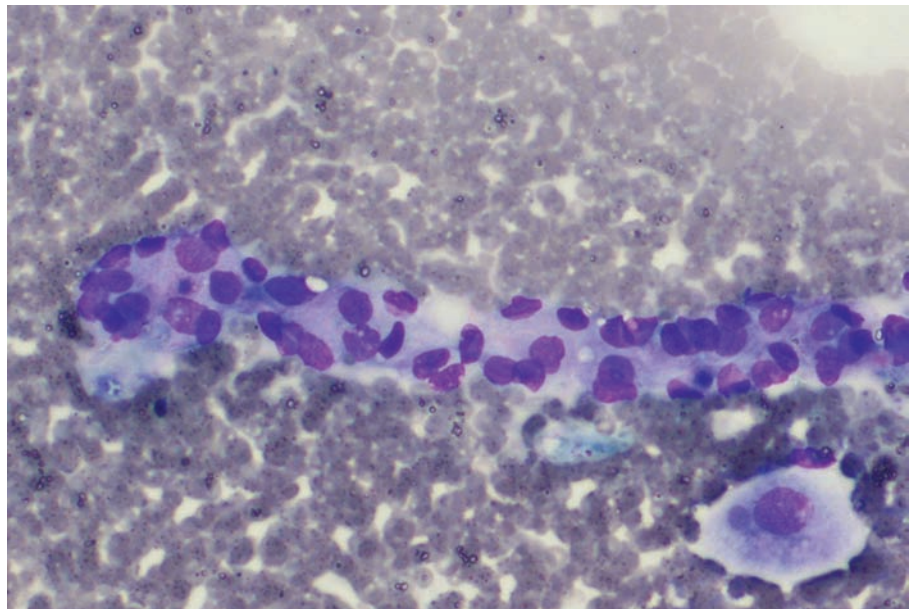


Figura 2. Citología renal: células epiteliales procedentes del túbulo renal.

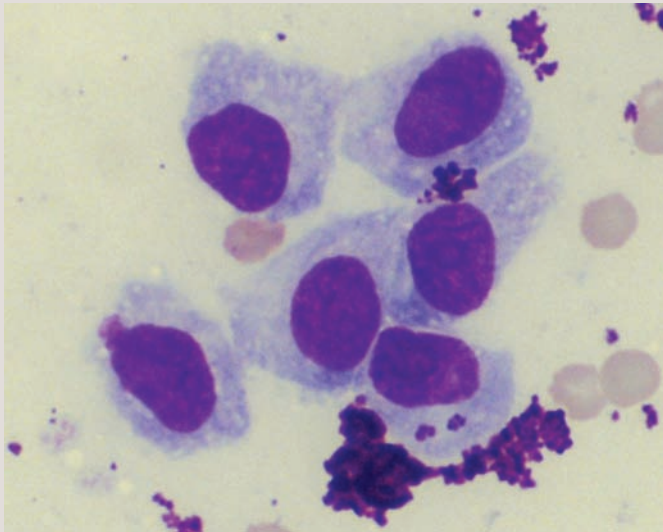


Figura 3. Citología renal: células del epitelio renal de gran tamaño y abundante citoplasma. El precipitado observado procede de restos de gel de la ecografía.

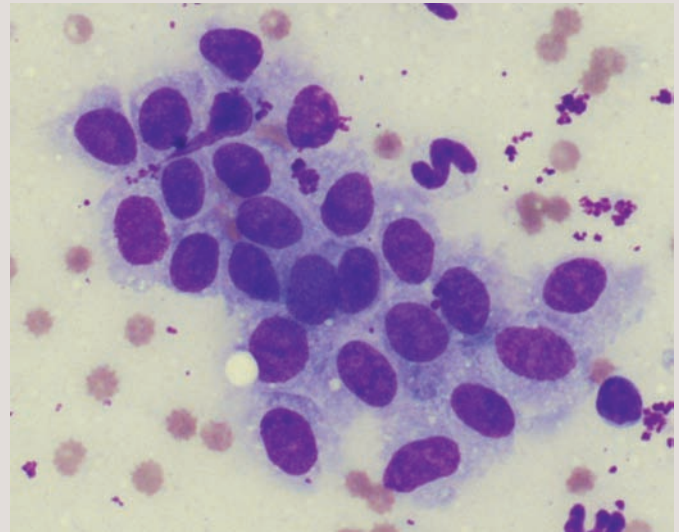


Figura 4. Citología renal: grupo de células epiteliales con núcleos relativamente homogéneos. El precipitado observado procede de restos de gel de la ecografía.

Figura 5. Citología renal: presencia de cilindros de origen tubular:

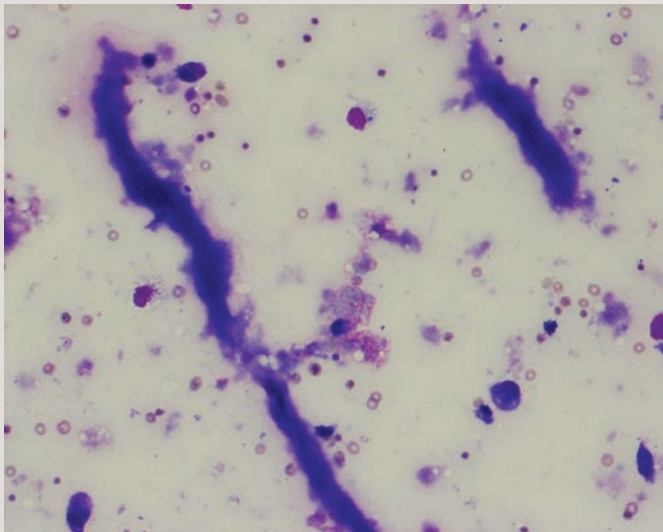
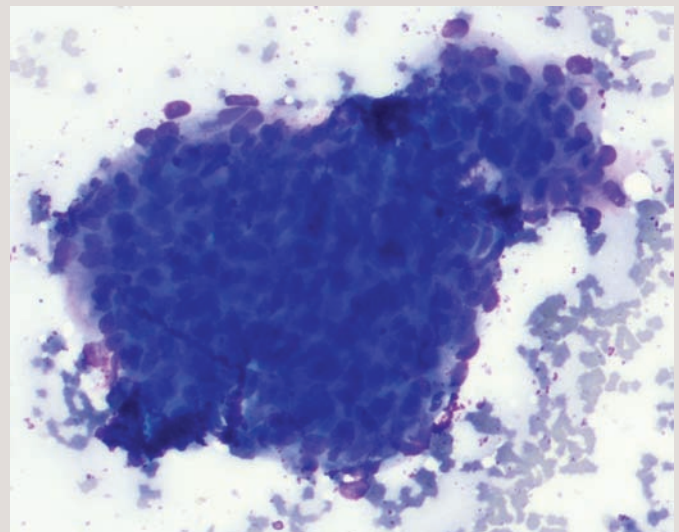


Figura 6. Citología renal: grupo celular compacto de apariencia circular compatible con estructura glomerular:



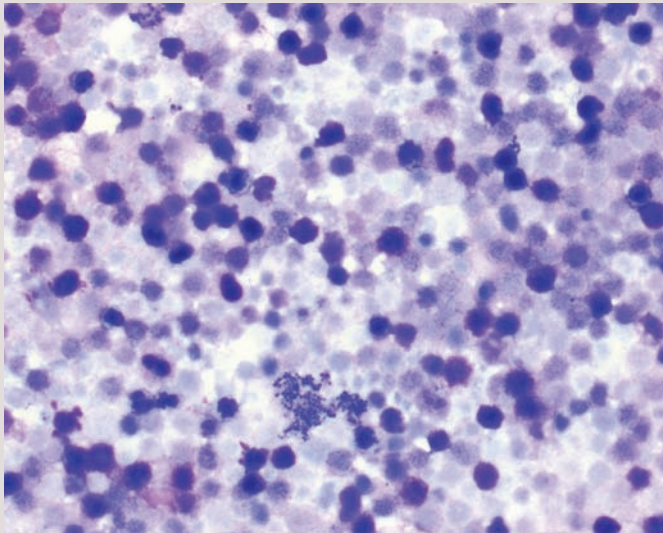


Figura 7. Absceso renal. Citología renal: se observan neutrófilos muy degenerados y abundantes bacterias.

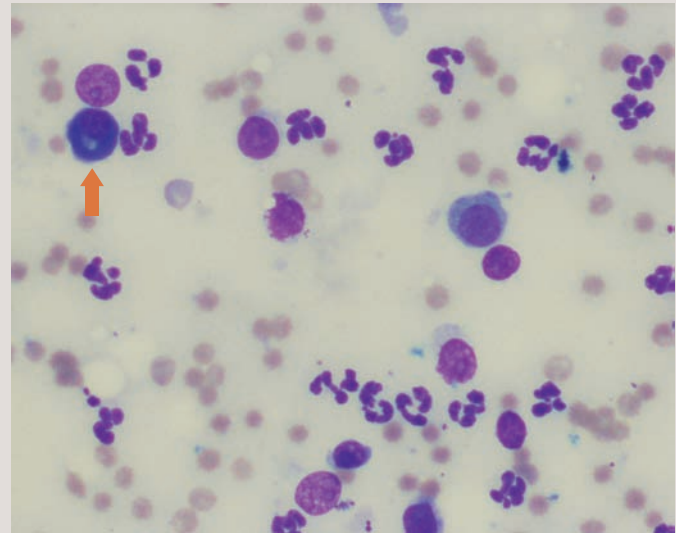


Figura 8. Citología renal: proceso inflamatorio crónico con presencia de neutrófilos, células plasmáticas (señalada con flecha) y otras células mononucleares.

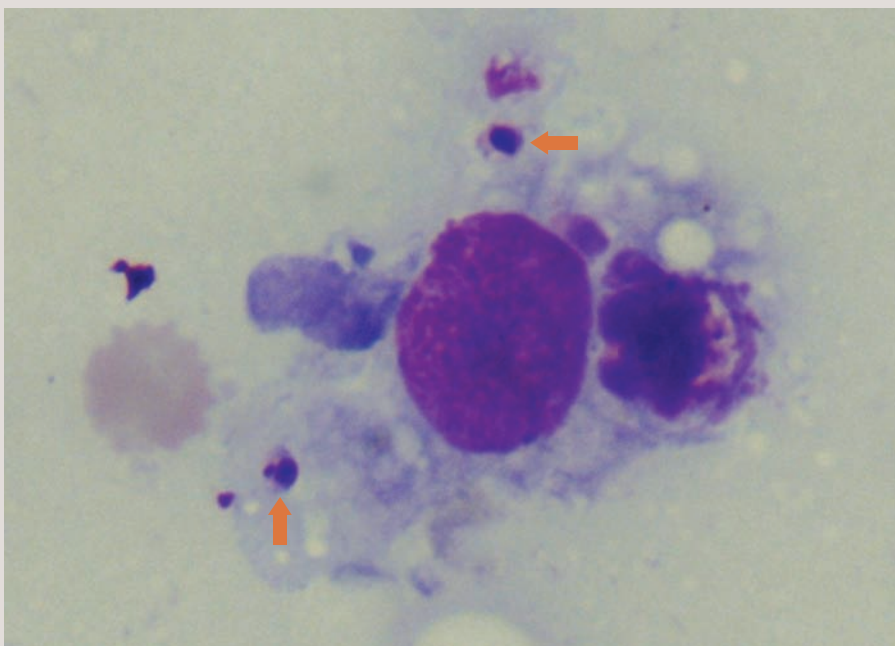


Figura 9. Citología renal: detalle de la citología anterior en la que se observa un macrófago fagocitando amastigotes de leishmania (señalados con flechas).

Citología renal

Procesos inflamatorios

Los procesos inflamatorios se diagnostican por la presencia de células inflamatorias (neutrófilos o linfocitos) en un número desproporcionado en relación a sangre periférica o por la observación de otras células inflamatorias que no acompañan a la contaminación sanguínea, como células plasmáticas o macrófagos con capacidad fagocítica. La proporción de los diferentes tipos de células inflamatorias permiten definir el tipo y curso del proceso. Los procesos inflamatorios más habituales a nivel renal que pueden diagnosticarse en citología son abscesos consecuentes a procesos bacterianos ascendentes o diseminados por vía hematológica (en los que predominan neutrófilos con características degenerativas), (fig. 7), peritonitis infecciosa felina (con presencia de lesiones piogranulomatosas en las que los neutrófilos no suelen estar degenerados; es frecuente observar una matriz proteica basófila), y procesos fúngicos o parasitarios, fundamentalmente leishmaniosis (en los que se incrementa el número de células mononucleares: linfocitos, macrófagos y células plasmáticas) (fig. 8). Hay que realizar una búsqueda cuidadosa del posible agente infeccioso responsable del proceso inflamatorio (fig. 9).

Procesos neoplásicos

Las neoplasias renales primarias más frecuentes en perros son los carcinomas. Los aspirados de tumores renales suelen mostrar mayor celularidad que la que aparece en tejido normal o con inflamación (fig. 10). La diferenciación entre tumores epiteliales benignos y malignos puede ser difícil, ya que es raro que las células muestren claros criterios de malignidad, a diferencia de lo que ocurre en otros órganos (figs. 11 y 12). Los tumores de células claras se caracterizan por la presencia de numerosas vacuolas en el citoplasma (fig. 13). Los carcinomas de células transicionales (primarios de pelvis renal o diseminados desde uréter o vejiga)

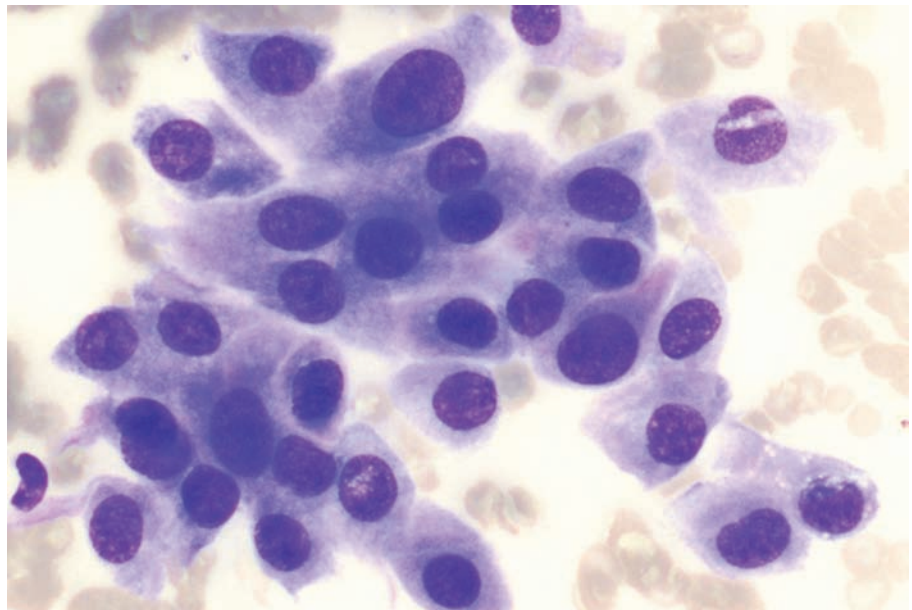


Figura 10. Citología renal: carcinoma. Las células epiteliales son más abundantes; los criterios de malignidad no son muy marcados (anisocariosis, ligeras irregularidades en la forma nuclear).

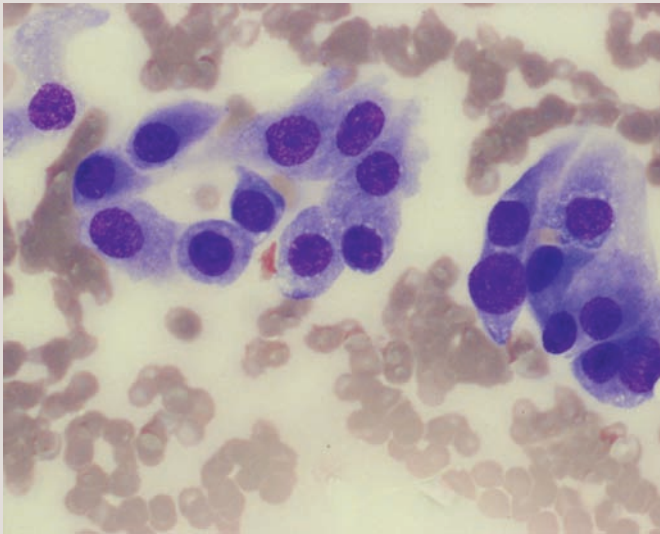


Figura 11. Citología renal: carcinoma. Las células de la izquierda de la imagen no muestran atipias significativas; sin embargo, las de la derecha presentan anisocariosis y presencia de células binucleadas.

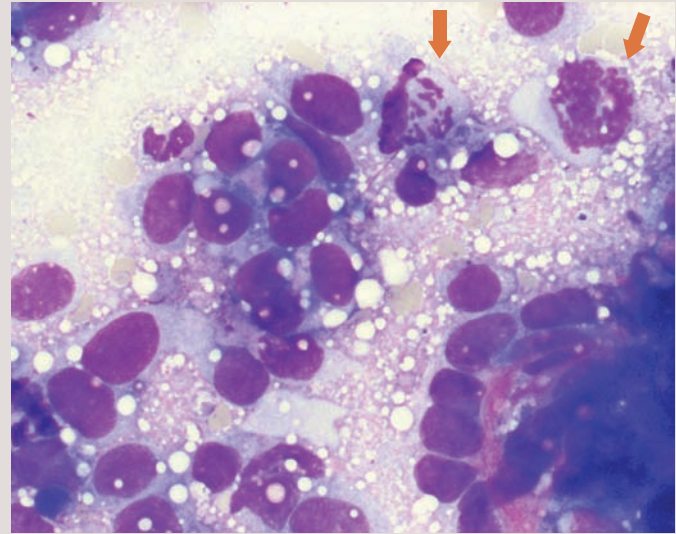


Figura 12. Citología renal: carcinoma. Presencia de numerosas células con incremento de la relación núcleo:citoplasma, variaciones en la forma y tamaño nuclear; se observan dos mitosis atípicas (señaladas con flechas).

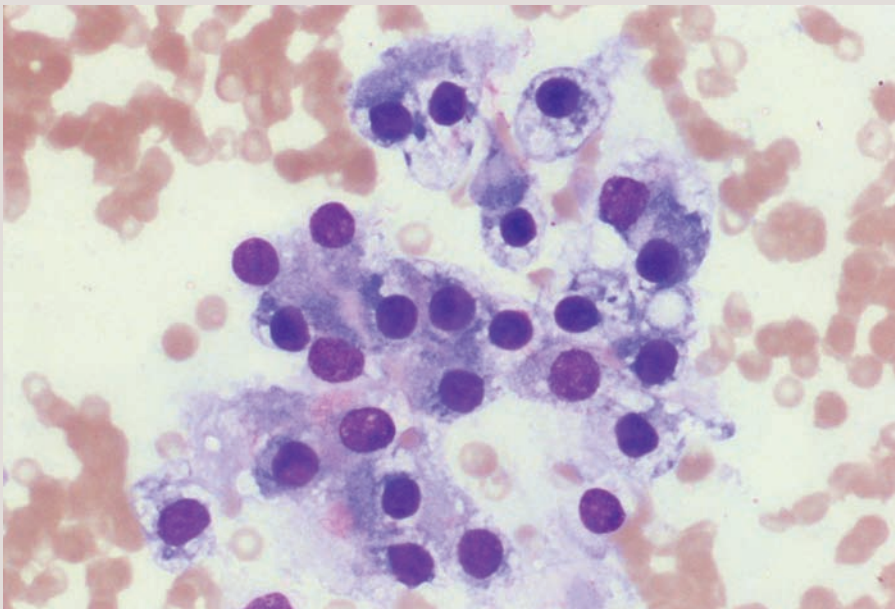


Figura 13. Citología renal: carcinoma de células claras, en las que las células presentan abundantes vacuolas citoplasmáticas; los núcleos presentan escasas atipias.

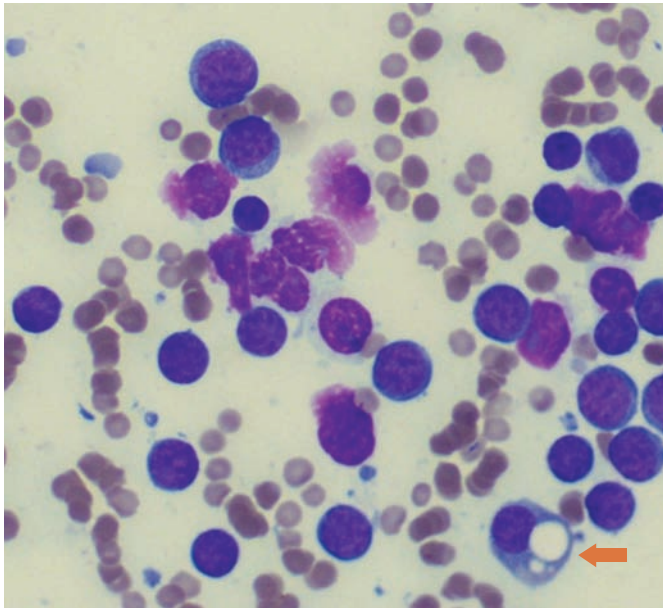


Figura 14. Citología renal: linfosarcoma (especie felina). Señalada con flecha se observa una célula del túbulo renal con presencia de vacuolas claras con contenido lipídico (normal en la especie felina).

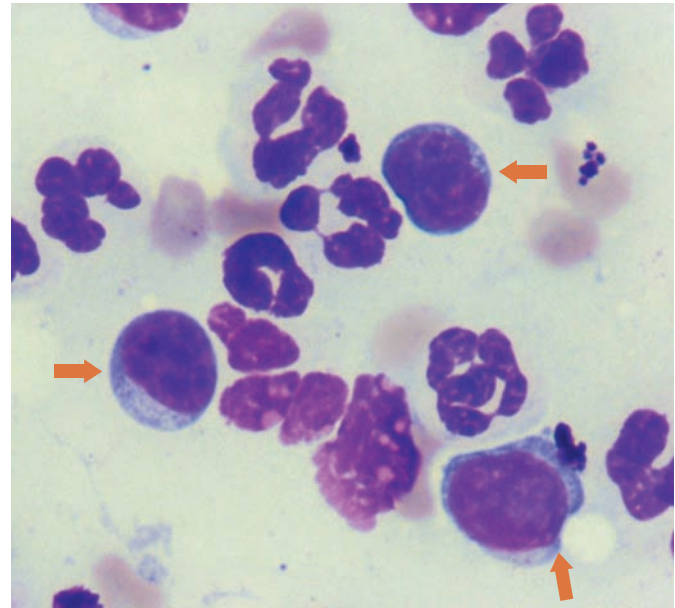


Figura 15. Citología renal: se observa una mezcla de neutrófilos y linfocitos de tamaño medio (señalados con flechas); es necesario diferenciar si se trata de un linfosarcoma linfocítico o un proceso inflamatorio crónico con activación de linfocitos.

exfolian múltiples células que forman grupos con apariencia más glandular que otros carcinomas renales; en este caso, sí es frecuente la observación de numerosos caracteres de malignidad.

Los linfosarcomas renales son frecuentes en gatos; generalmente afectan al riñón de forma difusa y bilateral, aunque pueden presentarse de forma nodular. Se caracterizan por la presencia de numerosos linfoblastos (generalmente más del 80% de la población celular) que proporcionan una imagen homogénea; dependiendo del grado de afectación, pueden observarse o no células epiteliales (fig. 14). La imagen monomórfica permite diferenciarlos de procesos inflamatorios crónicos, en los que se observa una mezcla de linfocitos pequeños, linfocitos de tamaño medio, linfoblastos en diferentes estadios de maduración y células plasmáticas (fig. 15). No obstante, el diagnóstico diferencial puede ser más complicado en linfosarcomas linfocíticos más diferenciados. Otros tumores de células redondas que pueden diagnosticarse a nivel renal son plasmocitomas extramedulares o tumores histiocíticos.

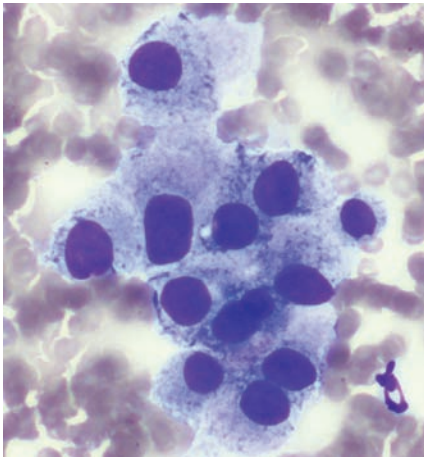


Figura 16. Citología adrenal: carcinoma de corteza adrenal.

Los sarcomas renales primarios son poco frecuentes. Otros tumores, generalmente de origen metastásico, también pueden diagnosticarse a nivel renal.

Los tumores adrenales pueden localizarse en el área de proyección renal. Si la punción se realiza a ciegas puede ser imposible diferenciar entre carcinomas de corteza adrenal y carcinomas renales, aunque las células adrenales suelen ser mayores y con citoplasma más abundante que contiene pequeñas vacuolas (fig. 16); muchas masas adrenales tienen su origen en procesos de hiperplasia o tumores benignos, por lo que la citología no muestra caracteres de malignidad (fig. 17). Los tumores de médula adrenal (feocromocitomas) muestran características de tumores neuroendocrinos, en los que predominan los núcleos desnudos incluidos en una matriz basofílica granular y escasas células intactas, generalmente individuales o en pequeños grupos, de núcleo excéntrico y abundante citoplasma ocasionalmente vacuolizado (fig. 18).

Figura 17. Citología adrenal: hiperplasia o adenoma de corteza adrenal.

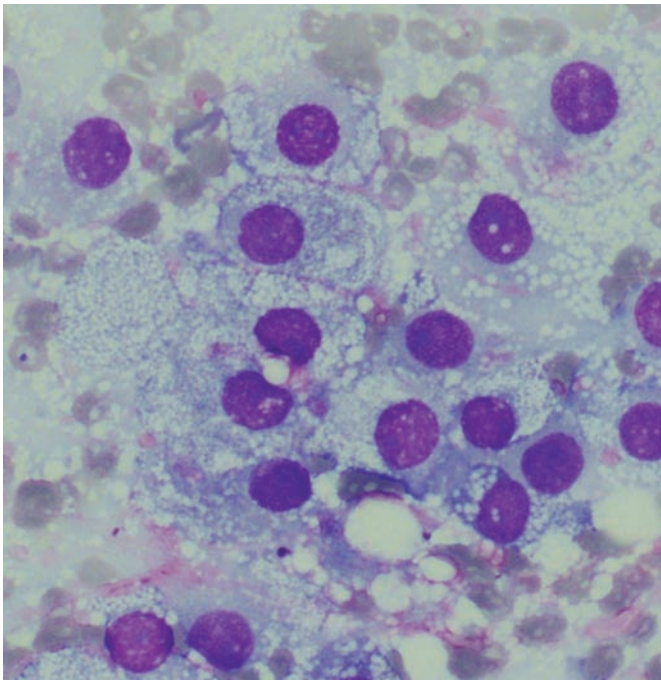
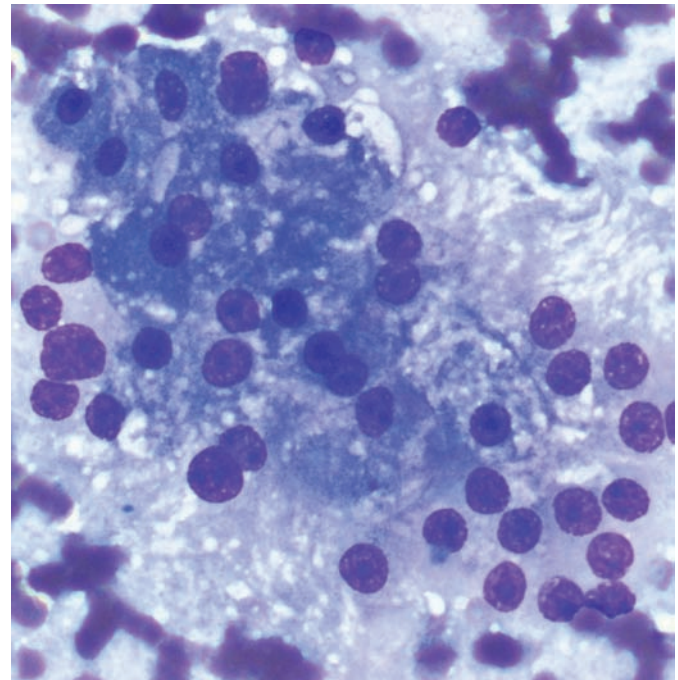


Figura 18. Citología adrenal: feocromocitoma (tumor neuroendocrino).



Citología vesical y uretral

Indicaciones del estudio citológico

Los procesos inflamatorios y neoplásicos que afectan a la vejiga y uretra cursan con una sintomatología similar (polaquiuria, estranguria, disuria, hematuria), por lo que es necesario realizar pruebas que permitan establecer un diagnóstico diferencial. El estudio del sedimento urinario con muestras en fresco (húmedas) constituye la primera aproximación a estas patologías; de esta forma, la presencia de piuria, bacteriuria, hematuria, cristaluria e incremento de la descamación celular proporciona información diagnóstica. El estudio microbiológico de orina también es indispensable en el diagnóstico de procesos infecciosos. Sin embargo, en ocasiones, es necesario profundizar en el estudio de las características morfológicas de las células que tapizan la mucosa vesical o uretral, con el fin de intentar establecer una diferenciación entre inflamación, hiperplasia o neoplasia.

La principal indicación del estudio citológico de muestras de tracto urinario inferior es la presencia de engrosamiento (focal o difuso) o de masas en la mucosa vesical o uretral, detectadas con ecografía o radiografía. Además, la realización de un estudio citológico de la orina cuando se ha observado una intensa descamación epitelial en la evaluación en fresco del sedimento urinario puede ayudar a establecer diferencias entre procesos inflamatorios o neoplásicos.

Recogida y manejo de las muestras

Las lesiones focales de la mucosa vesical pueden evaluarse mediante PAAF o PAF; la realización de esta técnica es controvertida, ya que se han descrito casos de diseminación de carcinomas vesicales a través del trayecto de la aguja con presencia de lesiones

tumorales por implantación. A pesar de que el riesgo es bajo, se recomienda reservar esta técnica sólo a aquellos casos en los que es imposible realizar un sondaje uretral.

La toma de muestras mediante sondaje proporciona buenos resultados. Puede aplicarse a masas vesicales y es la única técnica disponible en masas uretrales.

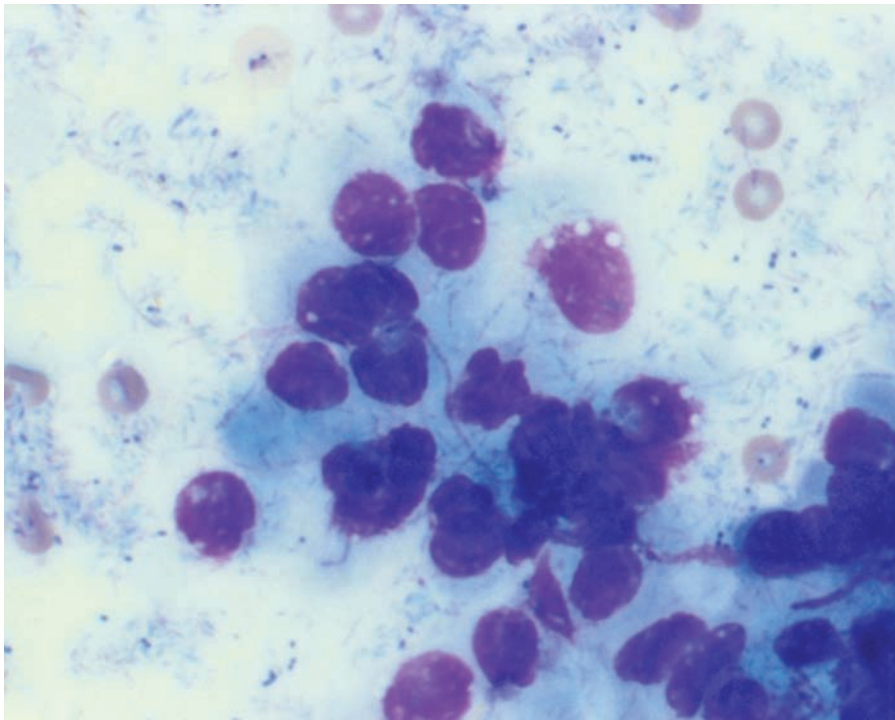
La técnica de sondaje puede realizarse sin necesidad de sedación o anestesia. En masas vesicales, después de vaciar la vejiga (la realización de varios lavados vesicales previos con suero salino asegura que las células descamadas no hayan contactado con la orina), se introduce la sonda hasta alcanzar la zona que se quiere evaluar (guiados por la ecografía), apoyando los orificios sobre la lesión. A continuación, se procede a realizar un raspado vigoroso con la punta de la sonda con el fin de conseguir una intensa descamación de la mucosa. El raspado se puede combinar con la aspiración mediante una jeringa o, incluso, con un lavado enérgico con una pequeña cantidad de suero salino. La aspiración mantenida mientras se raspa y se extrae la sonda permite conseguir un vacío que facilita la liberación de tejido en la sonda a través de sus orificios. En las masas uretrales se realiza la misma técnica, introduciendo la sonda hasta la zona afectada detectada mediante radiología o, en el caso de que haya provocado un proceso obstructivo o semiobstructivo, hasta el punto en que se manifiestan las dificultades para continuar el sondaje.

El material recogido en la punta de la sonda se expulsa sobre un portaobjetos y se procede a realizar una extensión para proceder a su tinción con las técnicas citológicas habituales. En ocasiones, sobre todo si la masa es muy friable, es posible obtener fragmentos de mucosa con los que realizar una impronta o, incluso, un estudio histopatológico.

El estudio citológico de la orina se reserva a muestras en la que se haya observado una intensa descamación celular al evaluar el sedimento en fresco. Las muestras más idóneas para la evaluación citológica proceden de micciones espontáneas; al contrario que para la realización de un urianálisis habitual, se prefiere que las muestras no se obtengan después de largos periodos de retención urinaria, ya que la permanencia prolongada de las células en el ambiente tóxico de la orina conduce a intensos fenómenos degenerativos que distorsionan significativamente su morfología. La orina debe procesarse rápidamente, preferiblemente inmediatamente después de ser recogida o tras cortos periodos en refrigeración; en ningún caso debe realizarse sobre muestras congeladas. La adición de proteínas (de suero o plasma autólogo o heterólogo) ayuda a la preservación de la morfología celular.

La orina se procesa como cualquier otro líquido orgánico. Después de centrifugar la muestra, se procede a realizar una extensión del sedimento o, si es posible, se procesa directamente con una citocentrífuga. La muestra se tiñe con las técnicas citológicas habituales.

Figura 19. Citología uretral: grupo de células epiteliales que muestran cambios nucleares degenerativos por efecto de la orina.



Interpretación citológica

El objetivo del estudio citológico de muestras procedentes del tracto urinario inferior es diferenciar entre procesos inflamatorios, hiperplásicos o neoplásicos. Sin embargo, su interpretación citológica constituye un verdadero reto, ya que numerosos factores dificultan la diferenciación fiable entre estos procesos.

En primer lugar, la orina es un ambiente inapropiado para la conservación de la morfología celular. Las células exfoliadas degeneran rápidamente, con lo que se inducen cambios nucleares (condensación de cromatina, fragmentación del núcleo, degeneración de nucléolos) y citoplasmáticos (vacuolización o fragmentación) que

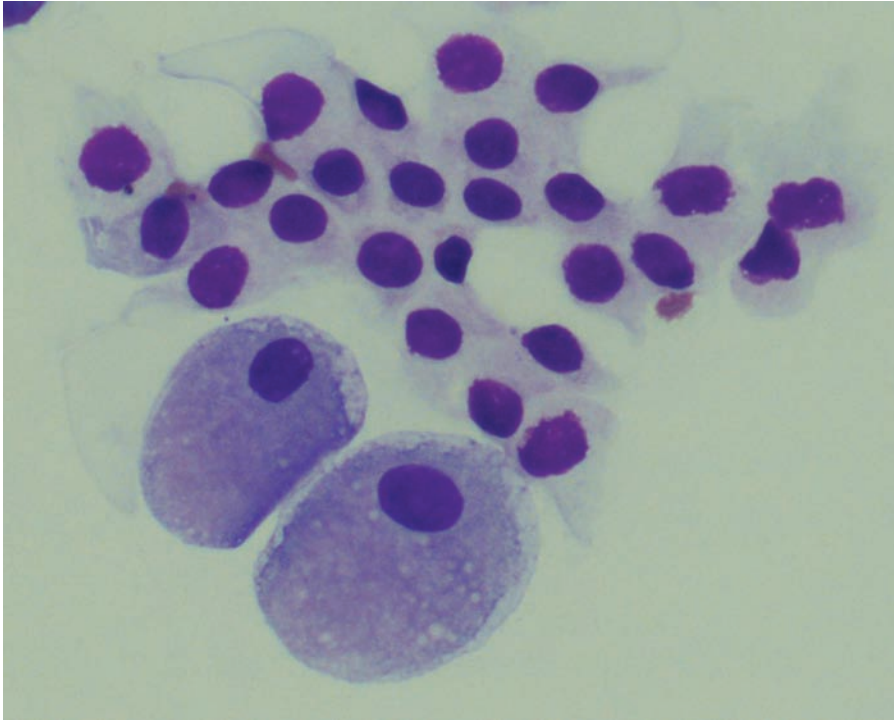


Figura 20. Citología de orina: se observan variaciones de forma y tamaño entre las células de las diferentes capas del epitelio de transición; los núcleos de algunas células basales presentan cambios degenerativos.

pueden confundirse con cambios neoplásicos (fig. 19). En segundo lugar, el epitelio que tapiza la vejiga y uretra es un epitelio de transición, muy pleomórfico, lo que implica que, incluso en condiciones de normalidad, pueden observarse diferencias morfológicas evidentes (fig. 20). En tercer lugar, los procesos inflamatorios provocan cambios displásicos en las células epiteliales, que pueden ser muy intensos. El diagnóstico de neoplasia en presencia de inflamación debe realizarse con mucha precaución, ya que los cambios celulares observados pueden ser sólo consecuencia de la reacción del epitelio. Finalmente, en procesos tumorales es frecuente que coexistan células normales y neoplásicas; incluso es posible que las primeras superen a las segundas, lo que dificulta el diagnóstico.

Por todo ello, es necesario evaluar con precaución las muestras procedentes de tracto urinario inferior y sólo establecer diagnóstico de neoplasia cuando se observan marcadas atipias celulares en ausencia de inflamación.

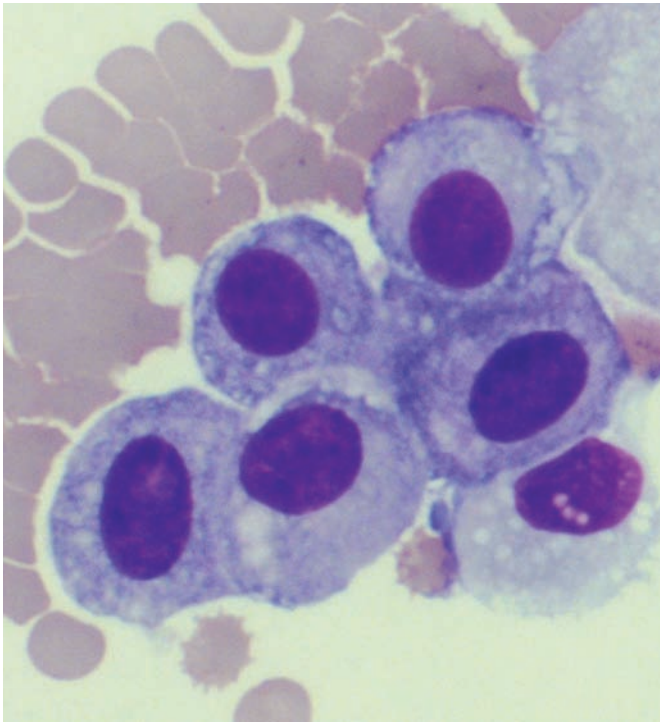


Figura 21. Citología de orina: células transicionales normales procedentes de capas basales o intermedias.

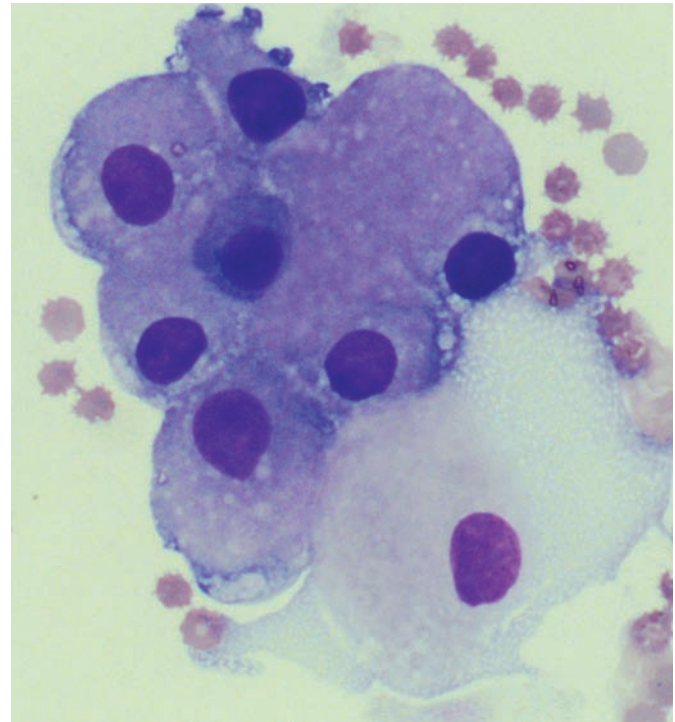


Figura 22. Citología de orina: células transicionales normales de capas superficiales que rodean a una procedente de capas más profundas.

Imagen citológica normal

Las células transicionales varían en su forma y tamaño dependiendo de la profundidad de la que procedan. Las más basales son células más pequeñas (2 a 4 veces el diámetro de un hematíe) y de citoplasma más escaso (fig. 21), mientras que las más superficiales presentan un gran tamaño (5 a 10 veces el diámetro de un hematíe), su morfología es redonda u ovalada, con abundante citoplasma pálido finamente vacuolizado, y núcleos centrales de cromatina ligeramente condensada que puede contener un pequeño nucléolo. En condiciones de normalidad exfolian de forma individual, pero también pueden observarse en grupos bien organizados (fig. 22). En orinas obtenidas por micción espontánea pueden aparecer células escamosas que proceden de la uretra terminal en machos o de la vagina en hembras. En citologías normales pueden observarse, ocasionalmente, un escaso número de neutrófilos y eritrocitos.

Procesos inflamatorios

Los procesos inflamatorios se caracterizan por un incremento del número de neutrófilos, generalmente degenerados; la presencia de bacterias es habitual (fig. 23). En procesos más crónicos también pueden observarse linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Cualquier proceso inflamatorio suele acompañarse de hematuria, por lo que es habitual observar una gran cantidad de eritrocitos.

En condiciones inflamatorias, el epitelio urinario sufre fenómenos de hiperplasia y activación. De esta forma aparecen células con variaciones de forma y tamaño y mayor basofilia citoplasmática (fig. 24). Estos cambios reactivos se intensifican por la degeneración que experimentan en la orina. A medida que progresa el proceso inflamatorio, los cambios reactivos son más evidentes y difíciles de diferenciar de procesos neoplásicos (fig. 25). Es prácticamente imposible emitir un diagnóstico de neoplasia cuando se observan cambios en las células transicionales asociadas a procesos inflamatorios. En estos casos es conveniente tratar la inflamación y, a continuación, valorar si los cambios celulares se han reducido o, por el contrario, se mantienen.

En inflamaciones o procesos irritativos crónicos, el epitelio transicional puede experimentar cambios metaplásicos hacia un epitelio escamoso (fig. 26), caracterizado por un predominio de células superficiales, poligonales, de gran tamaño, con abundante citoplasma basófilo y núcleo picnótico.

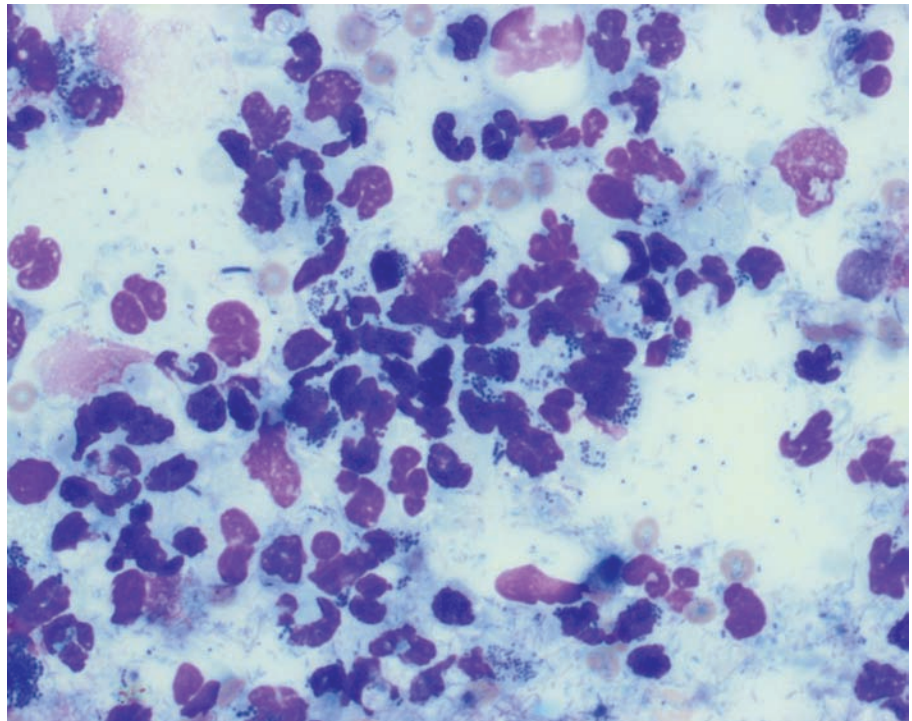


Figura 23. Citología uretral: inflamación aguda de origen séptico con presencia de neutrófilos degenerados y numerosas bacterias intra y extracelulares.

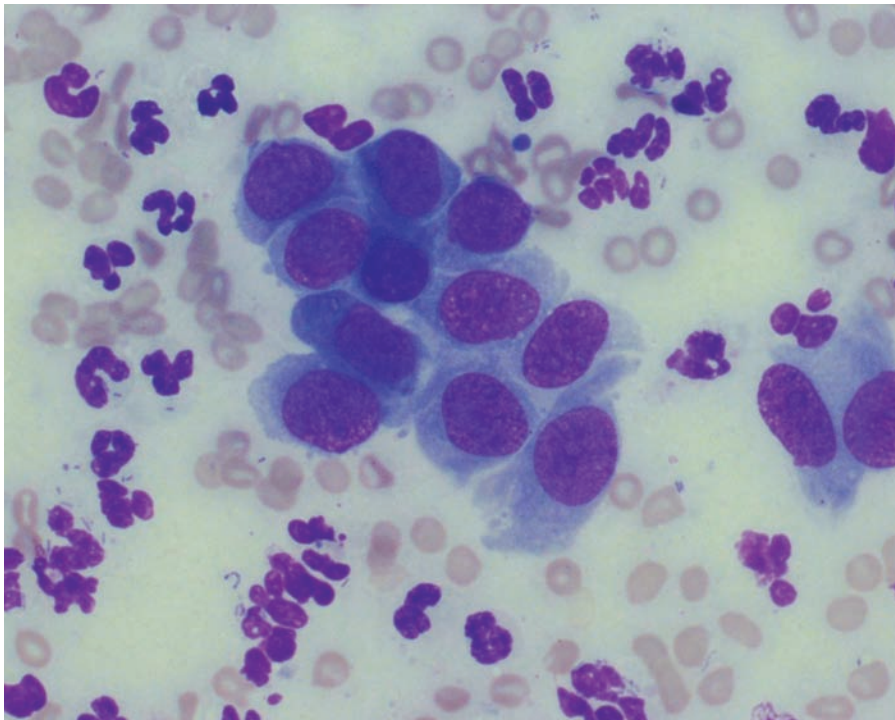
Procesos neoplásicos

Los tumores vesicales o uretrales más frecuentes son los carcinomas de células transicionales. Los tumores benignos (papilomas o pólipos) tienen una menor incidencia y son difíciles de diagnosticar por citología, ya que sólo se observa un ligero incremento de células transicionales (en vejiga) o escamosas (en uretra) (fig. 27) que no se diferencian morfológicamente de las normales.

Los carcinomas de células transicionales se caracterizan por un incremento significativo en el número de células exfoliadas, que pueden aparecer individuales o en grupos. Estos grupos suelen ser de gran tamaño, muy desorganizados, y constituidos por células que muestran cambios anaplásicos evidentes; las variaciones en la tinción citoplasmática son muy marcadas, oscilando entre la palidez y una intensa basofilia. También se observan grandes variaciones en el tamaño celular, llegándose a observar células gigantes, con núcleos que

muestran anisocariosis, nucléolos prominentes e irregulares y cromatina fuertemente condensada (fig. 28). Es frecuente la presencia de células binucleadas y se observan imágenes de moldeado celular y nuclear (fig. 29) (fig. 30). Se pueden observar mitosis, pero su ausencia no descarta neoplasia. Es frecuente que los carcinomas se asocien a inflamaciones o infecciones secundarias, lo que complica el diagnóstico al manifestarse de forma conjunta los cambios neoplásicos y los reactivos (fig. 31). En ocasiones, las células transicionales neoplásicas muestran características de células escamosas, por lo que es imposible diferenciarlos de carcinomas de células escamosas (fig. 32). Otros tumores vesicales o uretrales son poco frecuentes (fig. 33).

Figura 24. Citología de orina: proceso inflamatorio séptico y células transicionales con núcleos irregulares en forma y tamaño; es probable que estos cambios sean consecuencia de la activación inducida por la inflamación



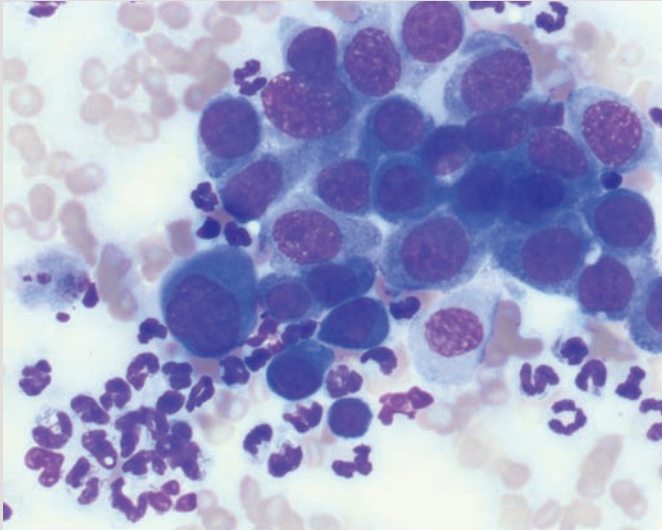


Figura 25. Citología de orina: grupo de células transicionales con marcadas atipias (grupo desorganizado, células con intensa basofilia citoplasmática, núcleos muy irregulares en forma, tamaño y patrón de cromatina; nucléolos múltiples). Podría tratarse de un carcinoma vesical, pero al estar asociada a un proceso inflamatorio séptico no puede descartarse que se trate exclusivamente de cambios reactivos.

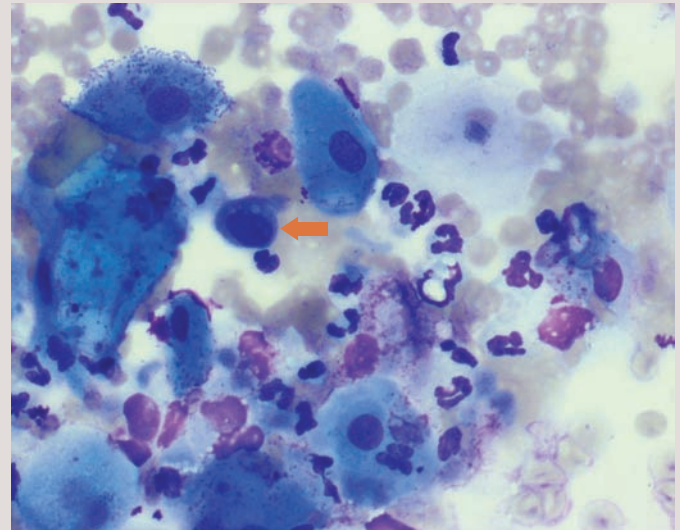


Figura 26. Citología vesical: metaplasia escamosa consecuente con inflamación o irritación crónica; se observan múltiples células escamosas superficiales junto a una célula transicional (señalada con flecha).

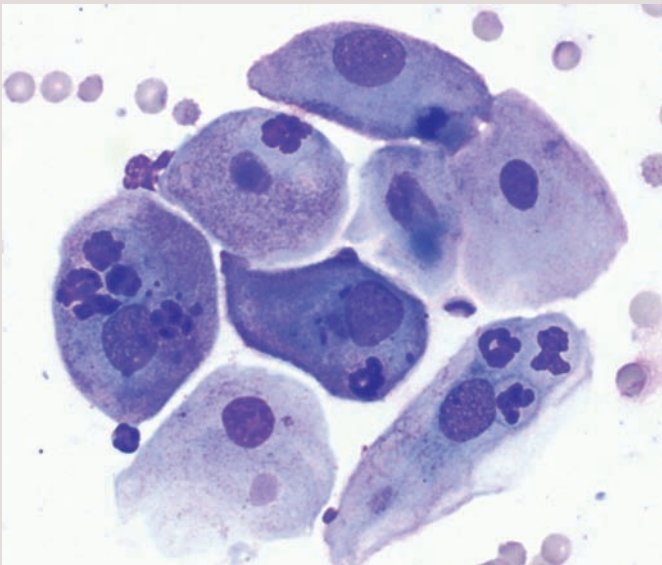


Figura 27. Citología uretral: múltiples células escamosas características de porciones terminales de la uretra con imágenes de falsa fagocitosis de neutrófilos. El diagnóstico histopatológico fue de papiloma; la imagen citológica no permite diferenciar de procesos hiperplásicos.

Citología vesical

Figura 28. Citología vesical: carcinoma de células transicionales. Se observa un grupo desorganizado de células epiteliales con anisocariosis marcada junto a una célula gigante con un macronúcleo con cromatina muy heterogénea y nucléolo prominente de gran tamaño; estas atipias se observan en ausencia de inflamación.

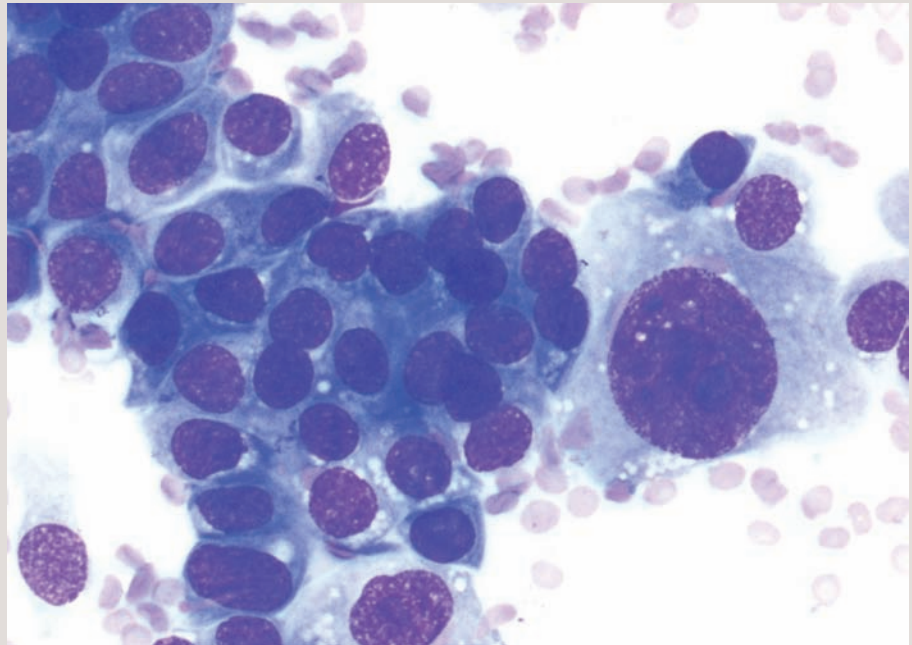
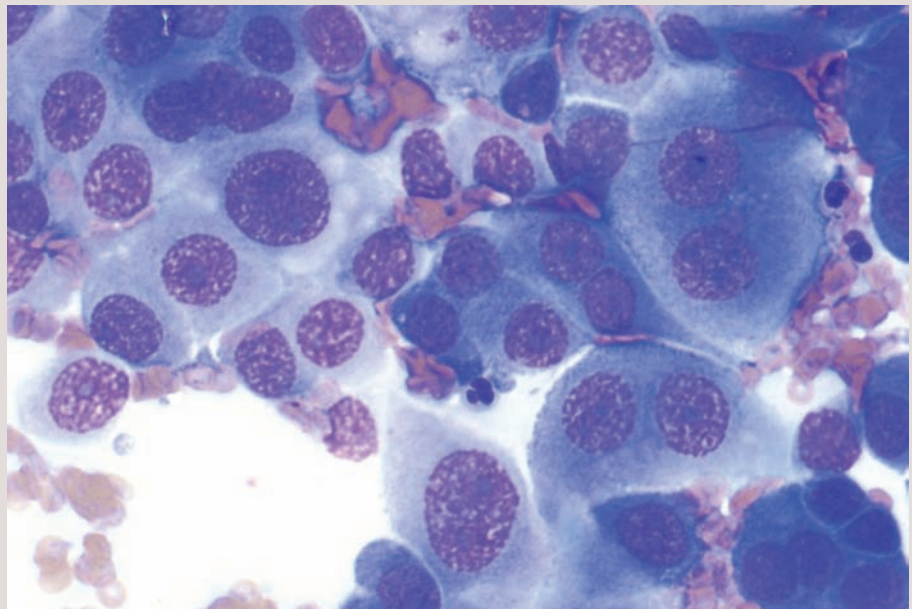


Figura 29. Citología vesical: carcinoma de células transicionales. Se observan numerosas células multinucleadas, con anisocariosis y patrón de cromatina muy irregular; así como diferentes grados de basofilia citoplasmática. Estas atipias se observan en ausencia de inflamación.



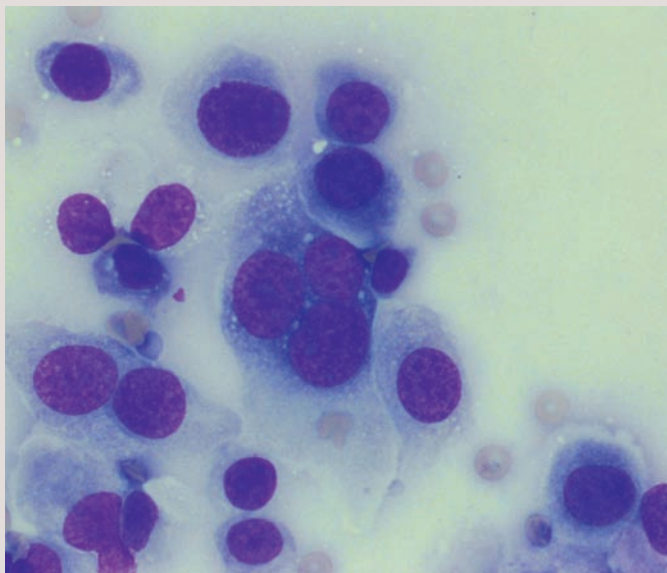


Figura 30. Citología vesical: carcinoma de células transicionales. Células de diferentes formas y tamaños, con núcleos múltiples con imágenes de moldeado, anisocariosis y nucléolos múltiples. Estas atipias se observan en ausencia de inflamación.

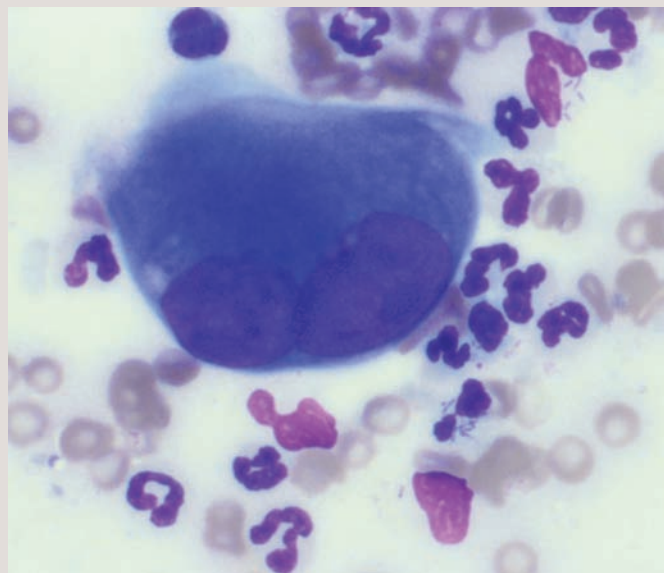


Figura 31. Citología de orina: célula transicional con marcadas atipias (célula gigante con intensa basofilia citoplasmática, núcleo múltiple con anisocariosis, nucléolos múltiples e irregulares). Podría tratarse de una célula neoplásica (carcinoma con inflamación secundaria), pero no puede descartarse que presente exclusivamente cambios reactivos.

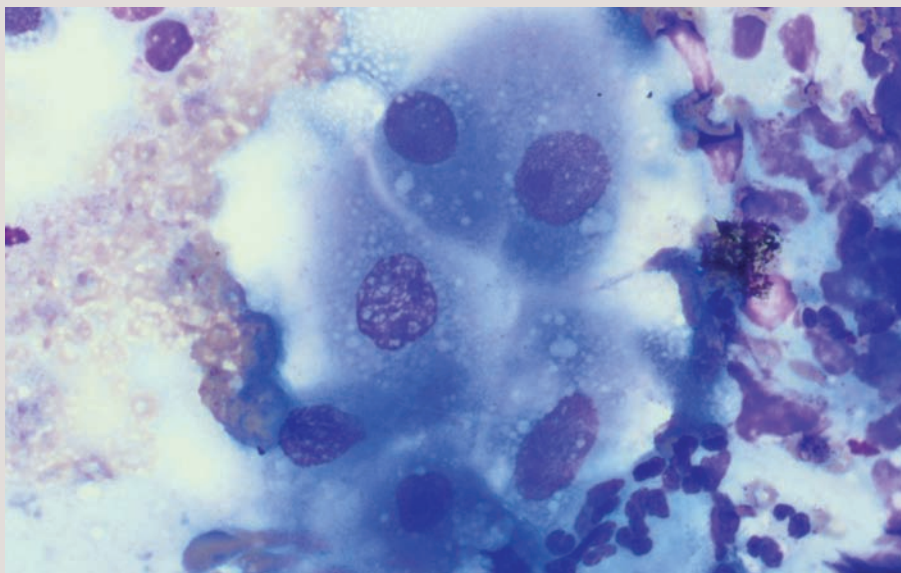
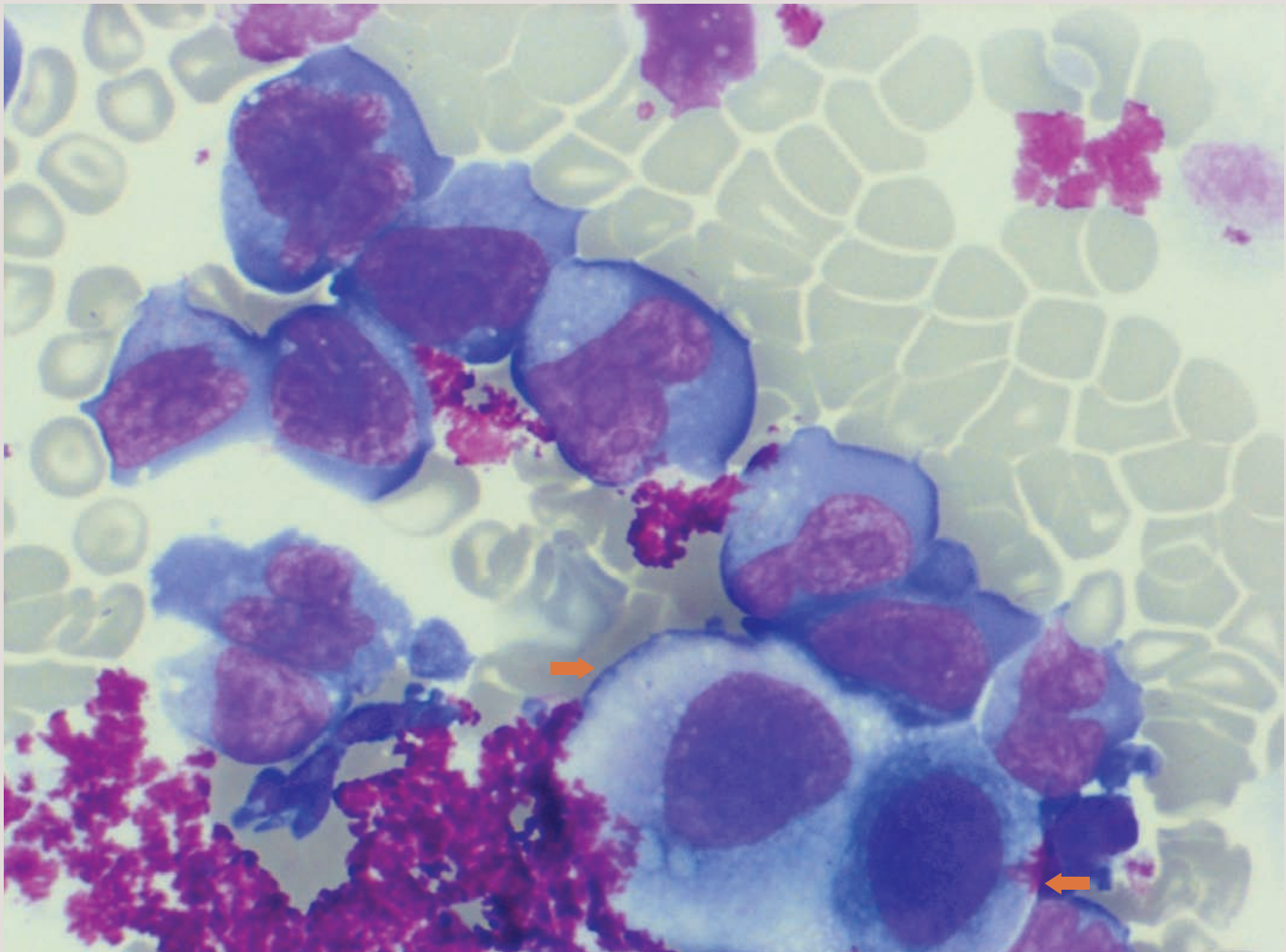


Figura 32. Citología vesical: carcinoma de células transicionales con cambios escamosos o carcinoma de células escamosas; la citología no permite la diferenciación entre ambos procesos neoplásicos.

Figura 33. Citología de orina: linfosarcoma. Rodeando a dos células vesicales (señaladas con flechas) se observan numerosos linfoblastos de núcleos muy irregulares (cambios asociados a procesos degenerativos). La citología presenta gran cantidad de precipitado de colorante o restos de gel de la ecografía.



Bibliografía

- BAKER, R. Y LUMSDEN, JH.: The urinary tract. En: Baker, R. y Lumsden, JH. (ed). *Color atlas of cytology of the dog and cat*. St. Louis: Ed. Mosby, 2000, pp. 223-234.
- BORJESSON, DL.: Renal cytology. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, n° 33, pp. 119-134.
- LAMB, CR, TROWER, ND. Y GREGORY, SP.: Ultrasound-guided catheter biopsy of the lower tract: technique and results in 12 dogs. *J. Sm. Anim. Pract.* 1996, n° 37, pp. 413-416.
- MEINKOTH, JH., COWELL, RL. Y TYLER, RD.: The renal parenchima. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 203-210.
- NYLAND, TG.; WALLACK, ST. Y WISNER, ER.: Needle tract implantation following US-guided fine needle aspiration biopsy of transitional cell carcinoma of the bladder, urethra and prostate. *Vet. Radiol. & Ultrasound*. 2002, n° 43, pp. 50-53.
- ZINKL, JG.: Urinary sediment and cytology of the urinary tract. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 211- 229.

Alfonso Rodríguez Álvaro y Elisa González Alonso-Alegre

citología
de la **superficie**
ocular

Indicaciones del estudio citológico conjuntival o corneal

En la mayoría de las conjuntivitis los signos clínicos no permiten establecer un diagnóstico etiológico. Por ello, es necesario realizar pruebas complementarias de exploración que ayuden a establecer el origen del proceso inflamatorio para poder instaurar el tratamiento más adecuado en cada caso.

Además de las técnicas microbiológicas, existen otros métodos que pueden ser de gran ayuda a la hora de establecer el origen del proceso. Así, el raspado conjuntival puede convertirse en una primera aproximación al diagnóstico. El examen citológico permite evaluar la morfología del epitelio conjuntival, la presencia y tipo de células inflamatorias, la presencia de microorganismos e, incluso, poner de manifiesto cuerpos de inclusión.

Igualmente, algunas lesiones corneales pueden tener la misma apariencia macroscópica. El examen citológico puede ayudar a caracterizar las lesiones exudativas y a diferenciar algunas lesiones proliferativas.

Recogida y procesado de muestras

La toma de muestras conjuntivales y corneales se realiza por la técnica del raspado. Es importante destacar que dicho raspado debe realizarse antes de haber instaurado una terapia, ya que ésta puede influir notablemente en la respuesta inflamatoria y morfología celular. De esta forma, hay que tener en cuenta que la administración de corticoides disminuye la respuesta inflamatoria, que el sulfato de cobre o nitrato de plata provocan una fuerte descamación de células epiteliales y un aumento del número de neutrófilos, y que la neomicina conduce a la aparición de cuerpos de inclusión basófilos en el citoplasma de las células conjuntivales.

La técnica del raspado conjuntival es sencilla: después de instilar un anestésico tópico en el saco conjuntival, se raspa con una espátula metálica (espátula conjuntival de Kimura) siempre en la misma dirección, preferentemente sobre las lesiones o folículos; en cualquier caso, deben recogerse muestras tanto de la conjuntiva palpebral o fórnix conjuntival inferior como de la conjuntiva bulbar.

La toma de muestra para la evaluación citológica de la córnea se obtiene de forma similar a la conjuntival. Tras instilar un anestésico tópico, se realizan raspados cortos, firmes y en la misma dirección con una espátula de Kimura. Si la lesión es pequeña se puede obtener la muestra mediante el raspado de la lesión con una aguja hipodérmica. Deben recogerse muestras tanto de las zonas centrales como periféricas del área afectada.

El material recogido con la espátula se extiende suavemente sobre un portaobjetos para evitar la rotura celular. Las muestras se tiñen con las técnicas citológicas habituales, aunque hay que tener en cuenta que la tinción de Gram también puede ser útil.

Interpretación citológica

El examen microscópico de las extensiones debe realizarse detenidamente y en cada una de las extensiones disponibles, ya que pueden existir variaciones significativas entre las mismas.

Citología conjuntival

En una extensión de una conjuntiva normal se observan células de distinta morfología según procedan de la conjuntiva palpebral o bulbar. También influye el estrato epitelial al que pertenecen; en general las células de estratos más profundos son más pequeñas que las de estratos más superficiales.

Las células de la conjuntiva palpebral son cilíndricas mientras que las células de la conjuntiva bulbar son escamosas y, a menudo, contienen gránulos de melanina. En ambos casos pueden observarse algunas diferencias entre los estratos profundos y superficiales. Los estratos profundos poseen un núcleo redondo rodeado por escaso citoplasma, que se tiñe más intensamente que el de las células superficiales. Las células superficiales tienen una morfología más poliédrica, su citoplasma es mayor y el núcleo es redondeado u oval, con cromatina reticular en la que es normal apreciar perfectamente los nucleolos (fig. 1). La cromatina se condensa progresivamente hasta que se produce la destrucción del núcleo. En ocasiones, como consecuencia de la extensión de las células sobre el portaobjetos, pueden producirse hernias de cromatina (fig. 2).

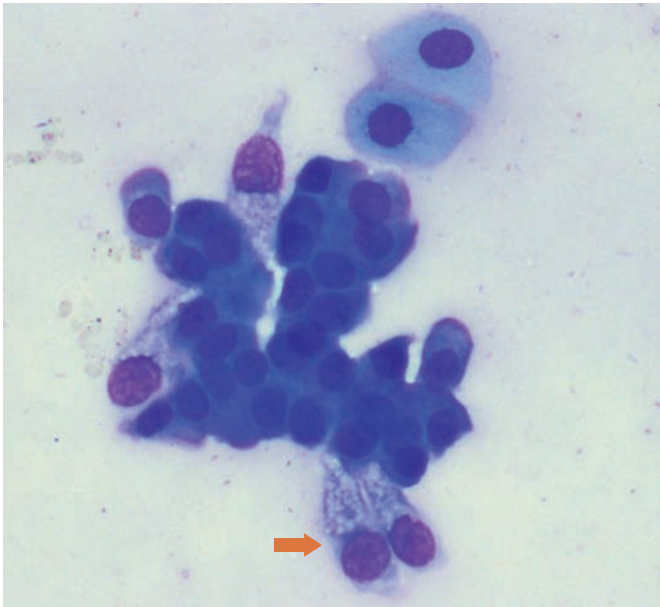


Figura 1. Células conjuntivas epiteliales de diferentes estratos y células calciformes (flecha).

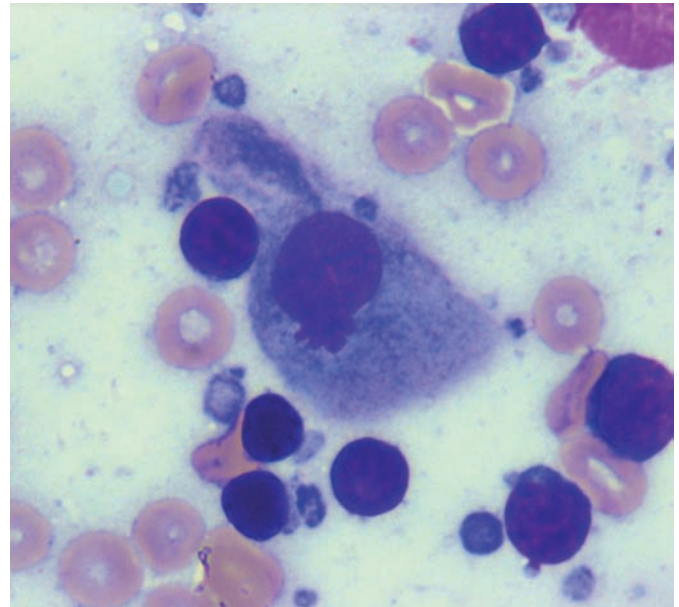
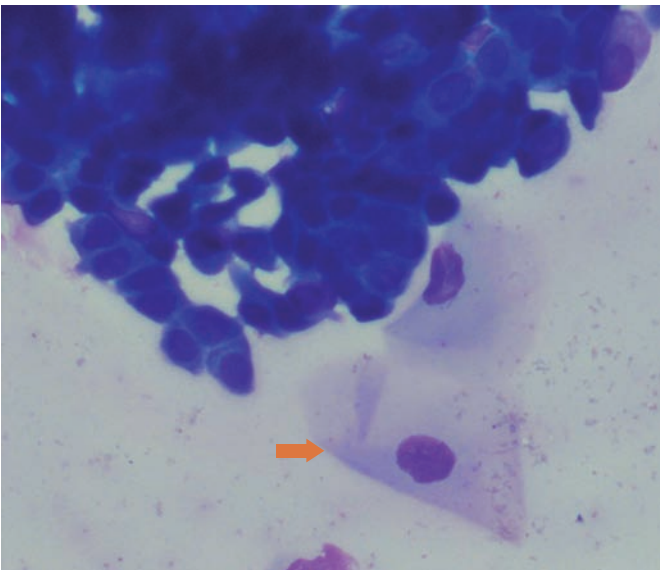


Figura 2. Hernia de cromatina en una célula epitelial superficial.



En condiciones normales el epitelio conjuntival es no queratinizado. Hay que tener cuidado a la hora de efectuar el raspado, ya que se pueden arrastrar células queratinizadas del borde palpebral, lo que puede inducir a interpretaciones erróneas. En ciertas patologías también se pueden observar células conjuntivas queratósicas o queratinizadas. Las células queratósicas son células más grandes con citoplasma pálido acidófilo. La forma del núcleo se mantiene, pero el citoplasma se vuelve poliédrico (fig. 3). Las células queratinizadas se caracterizan por poseer un núcleo picnótico que puede llegar a desaparecer. En estadios avanzados los bordes citoplasmáticos se repliegan sobre sí mismos.

Figura 3. Células queratósicas (flecha).

También es posible observar células caliciformes responsables de la secreción de mucina, componente de la película lagrimal. Son células globosas con el núcleo desplazado hacia la periferia por una gran vacuola que contiene una sustancia PAS+ que no se tiñe por el Giemsa (fig. 4).

En condiciones normales prácticamente no se observan otros tipos celulares. No obstante, en ausencia de signos inflamatorios, la presencia de cierto número de linfocitos y células plasmáticas, que proceden principalmente del tejido linfoide presente en el fórnix conjuntival, puede considerarse normal.

En las conjuntivitis, la citología conjuntival pretende

- Clasificar el tipo de reacción inflamatoria para orientar el diagnóstico.
- Poner de manifiesto elementos específicos, como bacterias o cuerpos de inclusión.

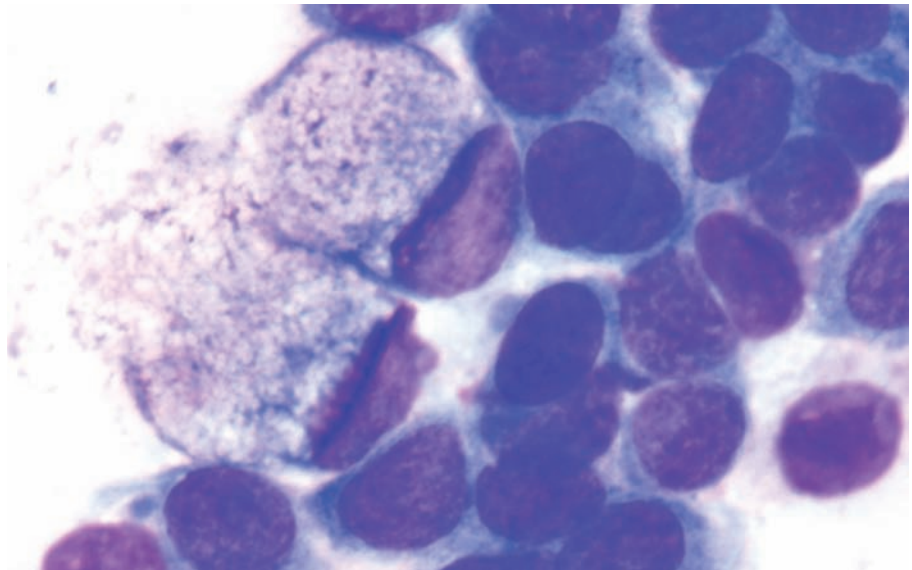


Figura 4. Células caliciformes junto a un grupo de células conjuntivales epiteliales de estratos intermedios.

Raspados conjuntivales con predominio de neutrófilos

En numerosas ocasiones las conjuntivitis en perros y gatos se caracterizan por presentar exudados en los que predominan los neutrófilos. Este tipo de reacciones pueden tener distintas causas (bacteriana, vírica, fúngica, alérgica u otras). Los neutrófilos pueden presentar características degenerativas o, por el contrario, signos de cariólisis; estos cambios no son habituales en gatos. Es frecuente la aparición de grandes células macrofágicas mononucleares en cuyo citoplasma aparecen restos celulares. Pueden proceder de células escamosas conjuntivales que adquieren capacidad macrofágica. En ellas es común observar neutrófilos fagocitados en su citoplasma (fig. 5). Otras células con capacidad macrofágica son células gigantes de origen sincitial.

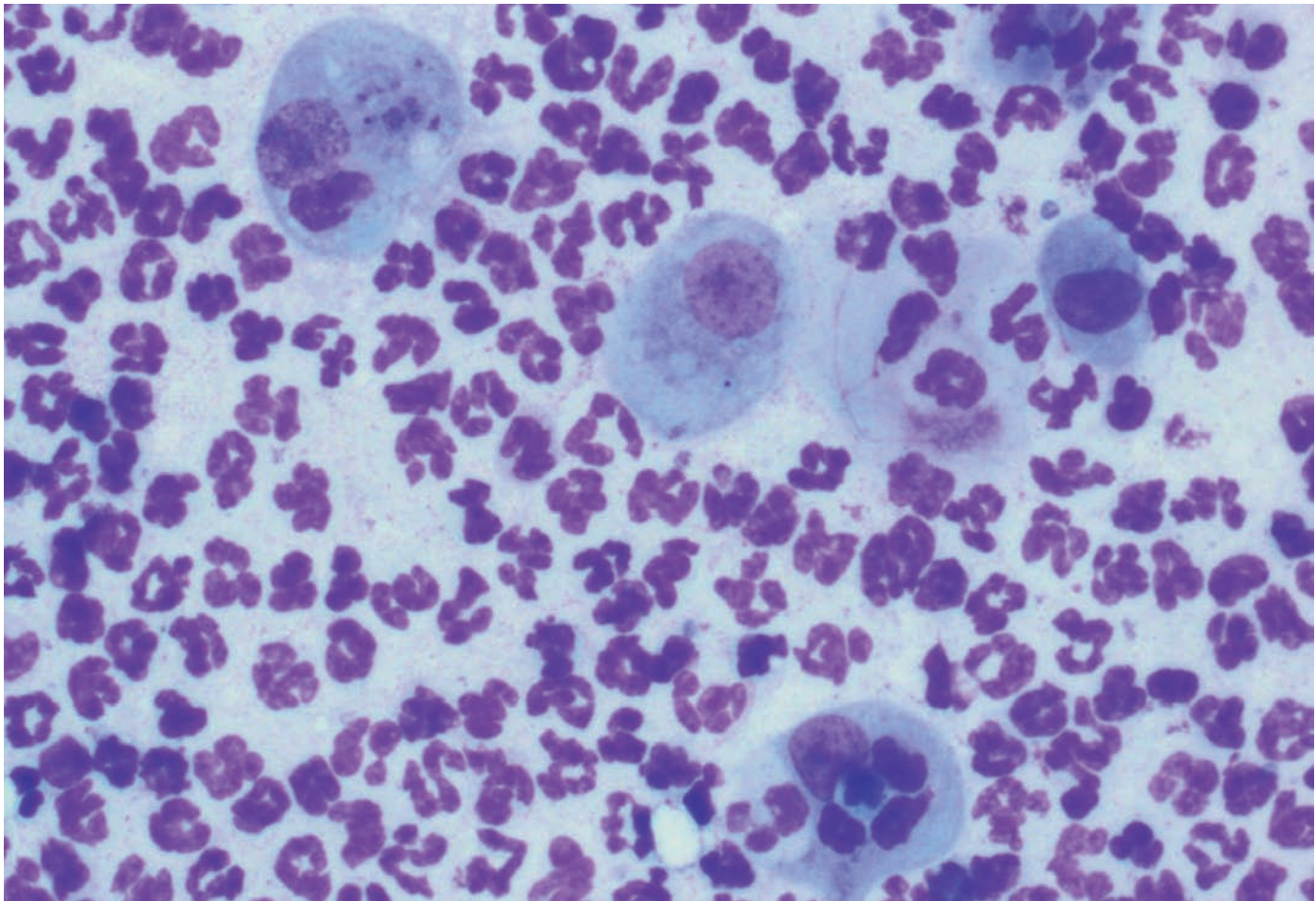
La presencia de numerosos neutrófilos con bacterias en su interior indica conjuntivitis bacteriana (figs. 6 y 7). En muchas ocasiones, la infección bacteriana es oportunista siendo secundaria a otro problema oftalmológico, como entropión, distiquiasis, queratoconjuntivitis seca, etc., o sobreinfecciones de conjuntivitis primarias (fig. 8). Las bacterias suelen ser cocos grandes o pequeños y, en menos ocasiones, bacilos. En este tipo de conjuntivitis aparecen también células epiteliales degeneradas, células macrofágicas, fibrina y moco. En las conjuntivitis bacterianas crónicas también predominan los neutrófilos, pero pueden observarse linfocitos y células plasmáticas, lo que indica una mediación inmunológica. Como consecuencia de la cronicidad pueden aparecer células metaplásicas y queratinizadas. En los gatos rara vez se aprecian bacterias en un exudado con predominio de neutrófilos, por lo que si aparecen se puede considerar muy significativo.

En el curso de la **queratoconjuntivitis seca** se observan abundantes neutrófilos (fig. 9), siendo frecuente la presencia de bacterias. Además, se caracteriza por un incremento de células paraqueratóticas y queratinizadas (fig. 10). En fases iniciales se produce un aumento de células caliciformes (fig. 11), que van disminuyendo con el tiempo. Es frecuente apreciar numerosos macrófagos y células epiteliales macrofágicas. En las extensiones hay abundante fibrina y moco.

Las **conjuntivitis asociadas al moquillo canino** se caracterizan, inicialmente, por la presencia de linfocitos. Posteriormente, se incrementa el número de neutrófilos y células plasmáticas que pueden acompañarse de células gigantes. La presencia de cuerpos de Lenz

(cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos acidófilos, fig. 12) en los primeros días de la enfermedad es patognomónico en perros no vacunados. Aparecen en las formas agudas a partir del sexto día posinfección. Sin embargo, estos cuerpos de inclusión sólo se observan en un 30% de los casos. En las formas crónicas no es habitual su presencia. En caso de sospecha de conjuntivitis asociada a moquillo canino es recomendable realizar el raspado conjuntival de la mucosa conjuntival de la membrana nictitante, ya que los cuerpos de inclusión son más numerosos en esta localización.

Figura 5. Conjuntivitis con predominio de neutrófilos e imágenes de citofagia.



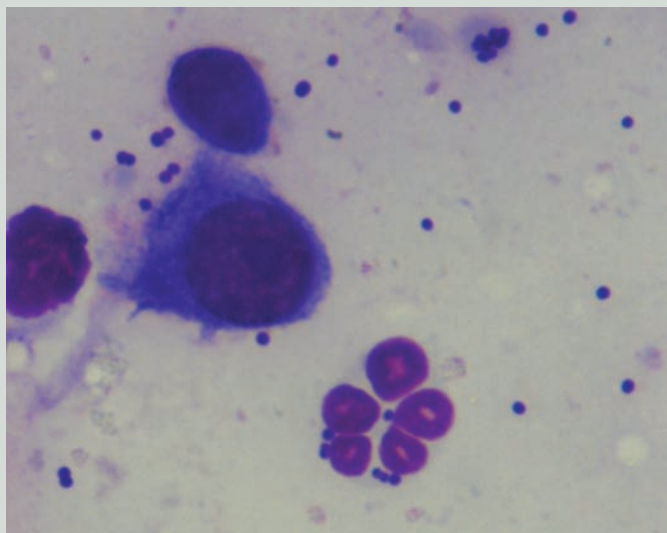


Figura 6. Conjuntivitis bacteriana.

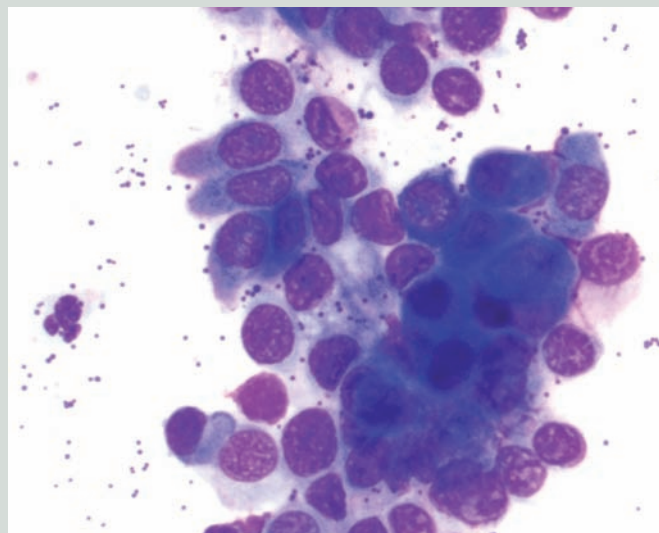


Figura 7. Conjuntivitis bacteriana.

Figura 8. Infección bacteriana sobre conjuntivitis eosinofílica.

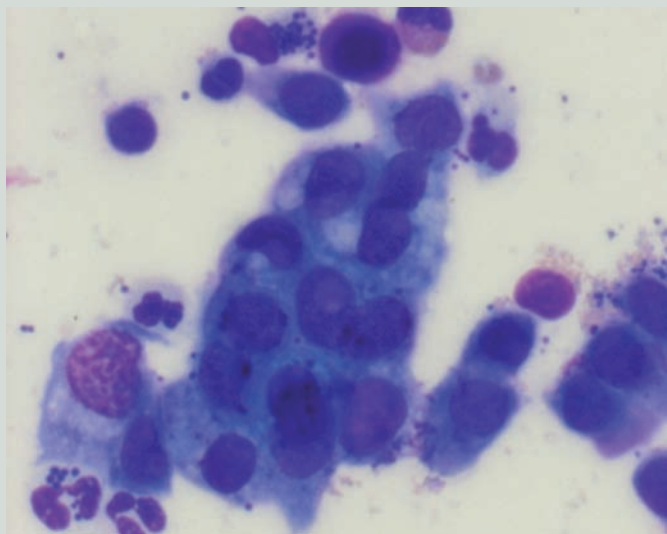
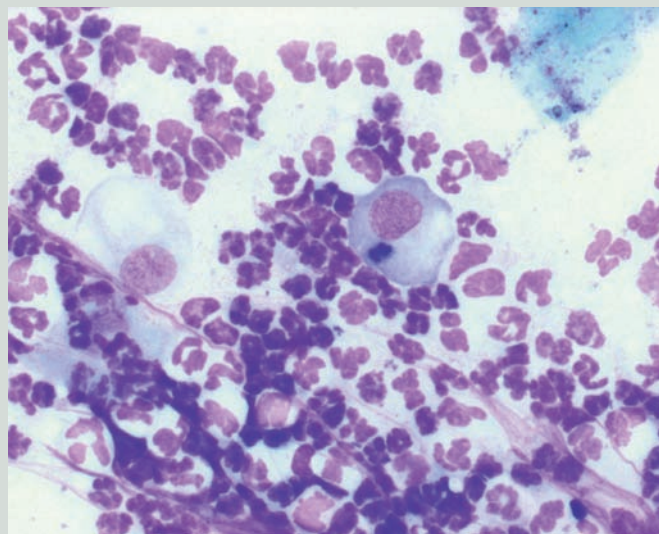


Figura 9. Queratoconjuntivitis seca; predominio de neutrófilos e imágenes de citofagia.



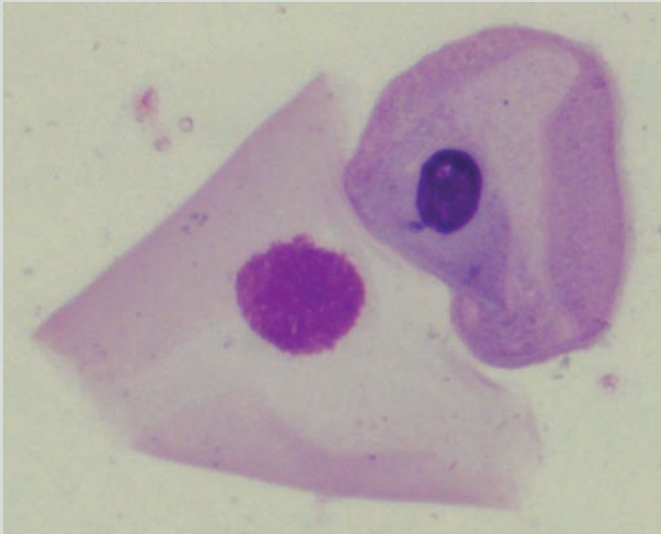


Figura 10. Queratoconjuntivitis seca; células conjuntivales queratósicas.

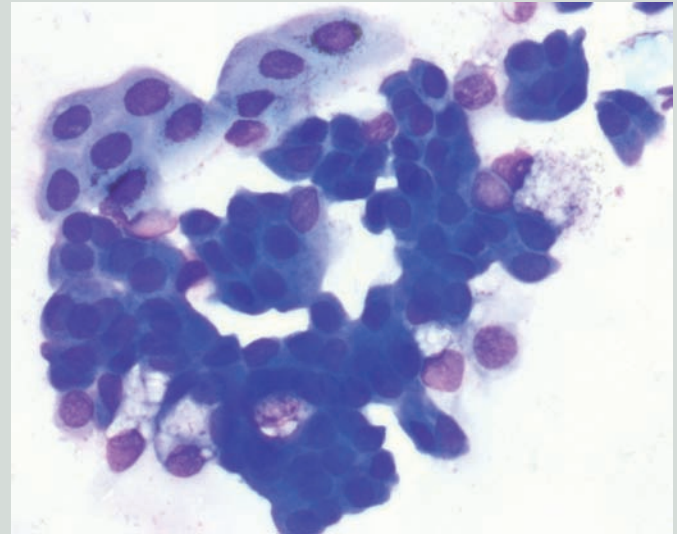
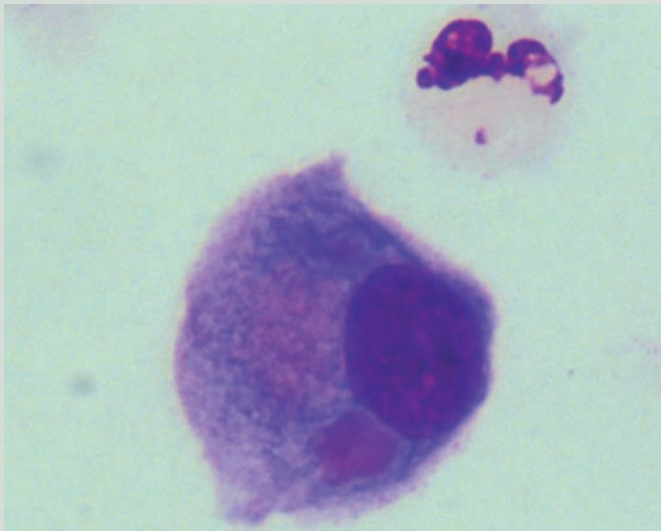


Figura 11. Queratoconjuntivitis seca; células conjuntivales e hiperplasia de células calciformes.

Figura 12. Moquillo canino: cuerpo de Lenz en el citoplasma de una célula epitelial conjuntival.



Una causa común de aparición de exudados predominantemente neutrofilicos en el gato es la infección por el **herpesvirus felino (HVF-I)**. Se considera que el diagnóstico citológico en estas infecciones virales tiene un valor limitado, ya que, aunque es posible observar inclusiones intranucleares en infecciones primarias, generalmente no son evidentes con las técnicas de tinción habituales. El método más fiable para detectar el herpesvirus felino es la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir del material obtenido por raspado conjuntival; no obstante, en ocasiones, también se detecta positividad en animales asintomáticos. En gatos con rinotraqueítis infecciosa con queratitis epitelial, la PCR detecta en un elevado número de ocasiones ADN del HVF-I, lo que indica la gran especificidad de esta técnica diagnóstica. Sin embargo, en casos de conjuntivitis crónica, queratitis estromal y secuestro corneal, la PCR puede no aportar datos concluyentes, por lo que la citología corneconjuntival proporcionaría información complementaria en algunos casos. Pueden aparecer células gigantes multinucleadas y un aumento del número de células superficiales y poliédricas. En algunos casos en los que se detecta ADN del HVF-I mediante técnicas de PCR se observan eosinófilos, aunque también pueden aparecer en otras inflamaciones conjuntivales sin implicación del herpesvirus felino.

Las conjuntivitis felinas provocadas por *Chlamydia felis* (*C. felis*) se caracterizan por la presencia de exudados con predominio de neutrófilos. Tras tres semanas posinfección el número de neutrófilos, linfocitos y macrófagos se iguala. La presencia de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos y basófilos a partir del 6º día posinfección (aparición de signos clínicos) permite emitir un diagnóstico probable de infección por clamidias. Se observan de forma solitaria y su tamaño es de 3-5 µm (fig. 13). Pueden aparecer, también, en forma de cuerpos elementales como agregados cocoides basófilos adyacentes al núcleo (fig. 14). Sin embargo, el número de inclusiones suele ser escaso y en muchas ocasiones es difícil encontrarlas, por lo que debe recurrirse a otras técnicas diagnósticas como PCR, ELISA o tinción con anticuerpos fluorescentes. Se han descrito otras infecciones por especies de clamidias diferentes de *C. felis*. Existen marcadas diferencias en la imagen citológica obtenida en estos gatos. *C. felis* siempre cursa con la presencia de exudados con predominio de neutrófilos, por lo que su ausencia permite descartar infección por este agente. Sin embargo, las especies diferentes de *C. felis* no se acompañan siempre de exudados neutrofilicos. Además, en un estudio reciente, se observó que citologías conjuntivales diagnosticadas como conjuntivitis eosinofílicas fueron todas positivas a especies diferentes de *C. felis*. Esta diversidad en la imagen citológica obtenida en infecciones por especies de clamidias diferentes de *C. felis* impide la definición de un patrón citológico que las caracterice.

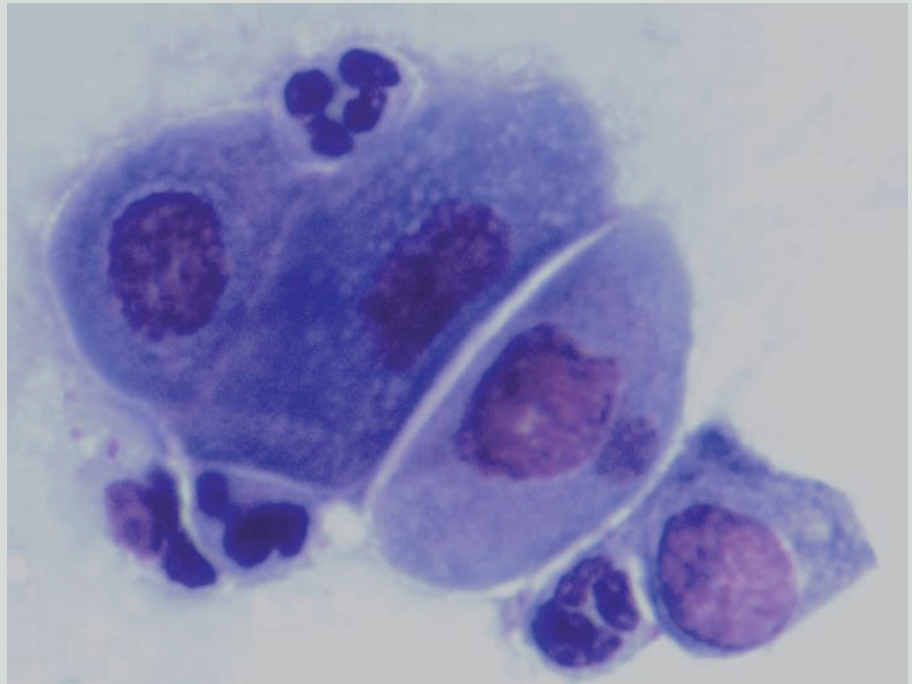
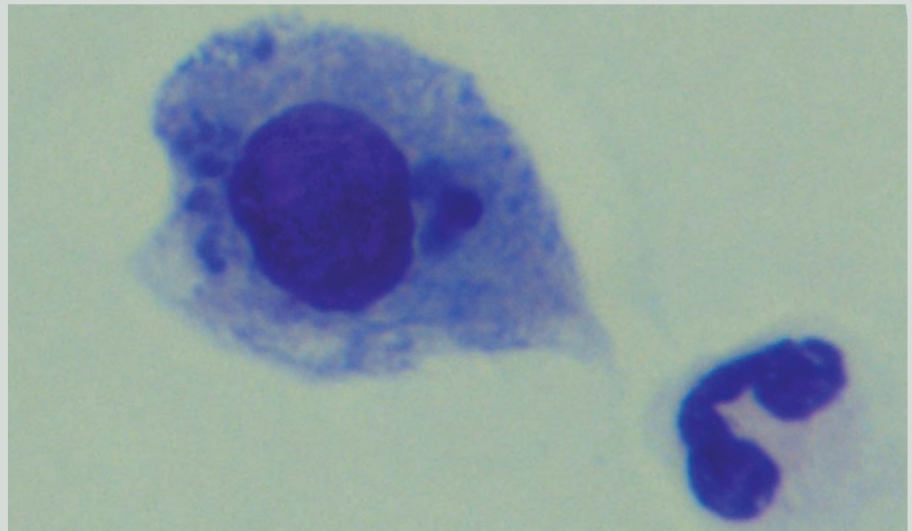


Figura 13. Cuerpos de inclusión de clamidias.

Figura 14. Cuerpos de inclusión de clamidias.



Las **conjuntivitis por micoplasmas** en el gato también pueden diagnosticarse fácilmente mediante evaluación citológica de raspados conjuntivales. La presencia de cuerpos de inclusión cocoides intracitoplasmáticos adyacentes a la membrana citoplasmática de las células epiteliales se considera patognomónica.

Raspados conjuntivales en los que aparecen eosinófilos

Las **conjuntivitis alérgicas** son difíciles de diagnosticar mediante citología conjuntival. Aunque la presencia de eosinófilos y mastocitos permite su diagnóstico, rara vez se pueden visualizar. Estas conjuntivitis pueden acompañarse de neutrófilos, siendo más frecuente la presencia de linfocitos y células plasmáticas.

La **conjuntivitis eosinofílica felina (queratoconjuntivitis proliferativa del gato)** es una enfermedad de carácter inflamatorio que afecta de forma primaria a la córnea, aunque también se ha descrito infiltración

conjuntival en ausencia de afección corneal. La afección conjuntival cursa con inflamación, despigmentación y erosión del borde palpebral, e inflamación y enrojecimiento de la mucosa conjuntival. También está presente un exudado mucoso o mucopurulento. En las citologías se pueden apreciar numerosos eosinófilos y gránulos eosinófilos dispersos por la extensión (fig. 15). También pueden observarse mastocitos que, en algunas ocasiones, son las células predominantes. Otros tipos celulares presentes en esta enfermedad son los linfocitos y células plasmáticas, aunque su porcentaje no supera el 5%. Las células epiteliales pueden presentar bajos grados de displasia. El origen de esta inflamación permanece todavía sin aclarar. Se ha relacionado con procesos alérgicos; además, algunos gatos son positivos a herpesvirus mediante la técnica de PCR. Recientemente se ha descrito una nueva teoría basada en la detección de clamidias diferentes a *C. felis* en gatos con enfermedad conjuntival. Basándose en estos hallazgos, se ha sugerido que estas especies de clamidias podrían provocar una reacción de hipersensibilidad, que se manifiesta con la presencia de eosinófilos.

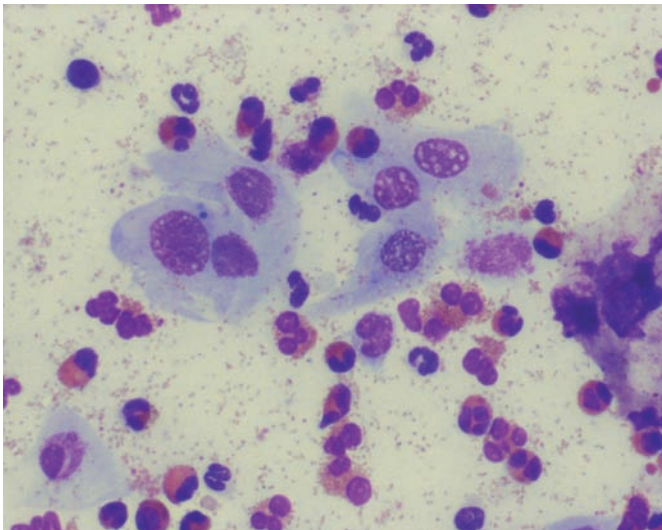


Figura 15. Conjuntivitis eosinofílica.

Raspados conjuntivales en los que aparecen células inflamatorias mononucleares

Las reacciones inflamatorias crónicas se caracterizan por un aumento del número de linfocitos y células plasmáticas, que puede acompañarse de cambios en las células epiteliales como hiperpigmentación y cambios metaplásicos. El aumento de células linfoides se corresponde con una reacción de la capa adenoide conjuntival, y puede acompañar tanto a conjuntivitis alérgicas como a infecciones bacterianas crónicas.

Las conjuntivitis asociadas a la **queratitis crónica superficial inmunomediada e infiltración linfoplasmocitaria de la membrana nictitante y las conjuntivitis foliculares** se caracterizan por la presencia de numerosos linfocitos, tanto grandes como pequeños, y células plasmáticas (fig. 16).

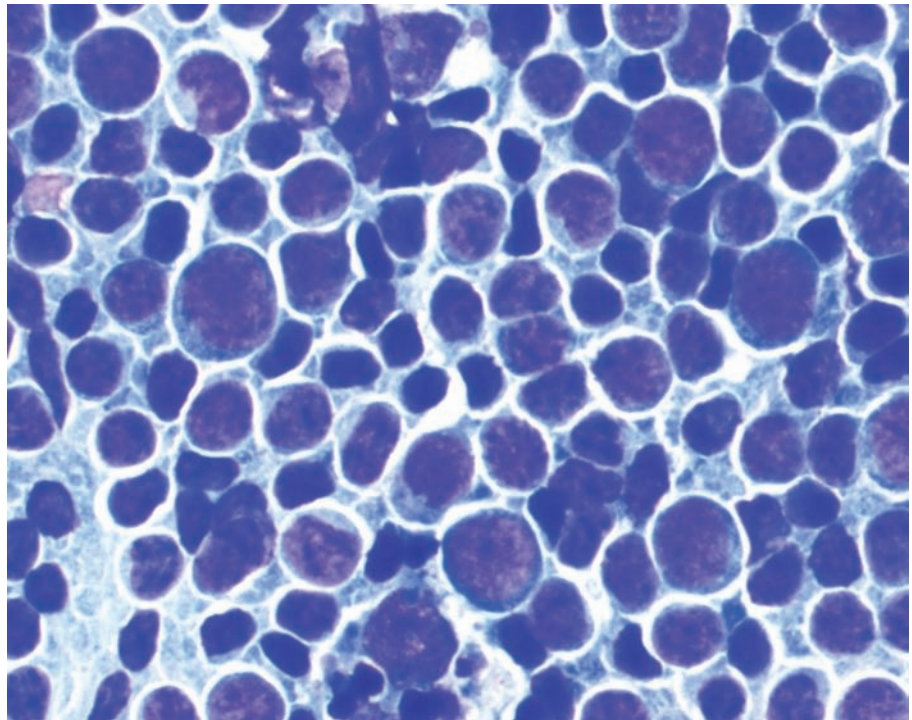
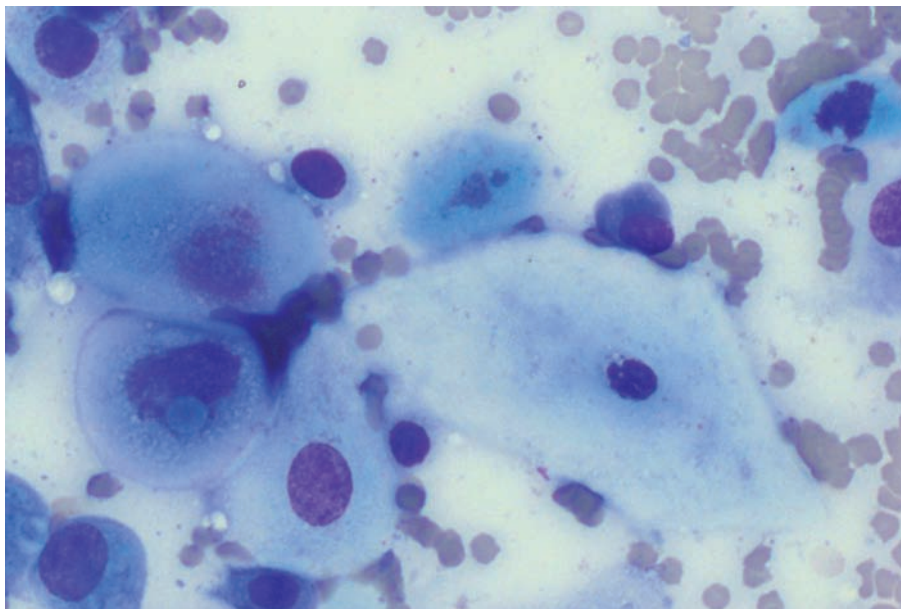


Figura 16. Conjuntivitis folicular.



Otras utilidades de los raspados conjuntivales

En algunos procesos tumorales, como el carcinoma de células escamosas (más frecuente en la especie felina) y el linfosarcoma conjuntival, los raspados conjuntivales permiten un diagnóstico rápido (figs. 17 y 18).

Figura 17. Carcinoma de células escamosas (localizado en membrana nictitante).

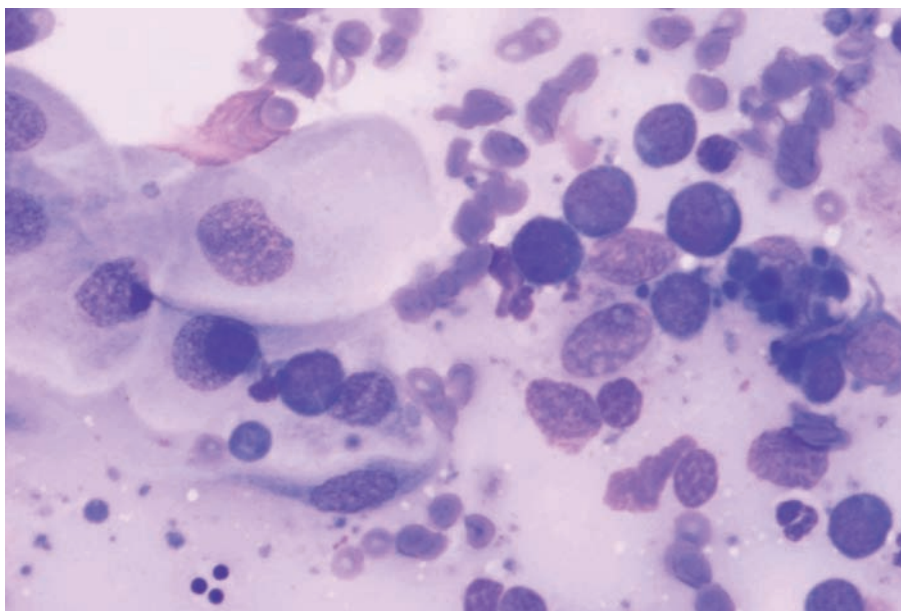


Figura 18. Linfosarcoma conjuntival; se observan células conjuntivales superficiales y un infiltrado de linfoblastos.

Citología corneal

El examen citológico de muestras corneales se utiliza, fundamentalmente, para evaluar lesiones ulcerativas y diferenciar lesiones proliferativas en el gato.

La evaluación citológica de la córnea se limita al epitelio que, en el perro y en el gato está constituido por una primera capa de células basales de morfología cilíndrica, 2 o 3 capas de células poliédricas, y, por último, 2 o 3 capas de células escamosas no queratinizadas.

La evaluación citológica de muestras corneales, en combinación con los cultivos microbiológicos, es el método más eficaz para la detección de la queratitis ulcerativa infecciosa. El diagnóstico de la queratitis ulcerativa infecciosa se basa en el hallazgo citológico de un exudado neutrofilico con bacterias intra y extracelulares.

La citología es especialmente útil en animales tratados previamente con antibióticos, en los que el resultado microbiológico suele ser negativo. Sin embargo, en un 30% de pacientes con resultado microbiológico positivo no se observaron bacterias en la citología, lo que puede ser consecuencia de una toma de muestra inadecuada. Por tanto, es importante una buena selección de la zona, o incluso de varias zonas, para asegurar una buena correlación entre ambas pruebas. Las muestras deben tomarse tanto de los bordes de la úlcera como de la zona central de la misma. Si existe un descemetocele o una úlcera extremadamente profunda sólo deben tomarse muestras de los bordes debido al peligro de perforación corneal.

Si existe contaminación bacteriana debe aplicarse una terapia muy agresiva con antibióticos tópicos, con una frecuencia de administración muy elevada (cada hora o dos horas) hasta controlar el proceso infeccioso. La elección del antibiótico más adecuado debe basarse en los resultados del cultivo microbiológico de las muestras corneales. Hasta entonces, la tinción de Gram de raspados corneales resulta de gran utilidad para orientar el tratamiento antibiótico inicial, que, posteriormente, puede modificarse en función del resultado del cultivo.

Las queratitis fúngicas son raras en el perro y el gato; la identificación de estos microorganismos en una citología corneal presenta un gran valor diagnóstico, incluso superior a los cultivos microbiológicos, ya que permite un diagnóstico más rápido.

La citología corneal también es útil en la diferenciación de algunas lesiones proliferativas. La queratitis eosinofílica (queratoconjuntivitis proliferativa) del gato es una enfermedad corneal en la que el diagnóstico citológico es primordial. Clínicamente se caracteriza por la presencia de una lesión prominente de carácter vascular; habitualmente no ulcerada, con finos depósitos blanco-grisáceos sobre su superficie. El examen citológico de estas lesiones revela la presencia de un gran número de eosinófilos y, en ocasiones, mastocitos, linfocitos y células plasmáticas (fig. 19). En varios casos con evidencia citológica de queratitis eosinofílica se ha detectado ADN del herpesvirus felino por PCR, por lo que se ha sugerido su implicación en la causa del proceso. Igualmente, en gatos con queratitis estromal de origen herpético se han detectado, ocasionalmente, inclusiones intranucleares, eosinófilos y un aumento del número de células superficiales y poliédricas, que se acompañan de algunas células inflamatorias. En gatos con secuestro corneal se han visualizado cuerpos de inclusión intranucleares e intracitoplasmáticos. Sin embargo, la implicación del herpesvirus en estos procesos es incierta.

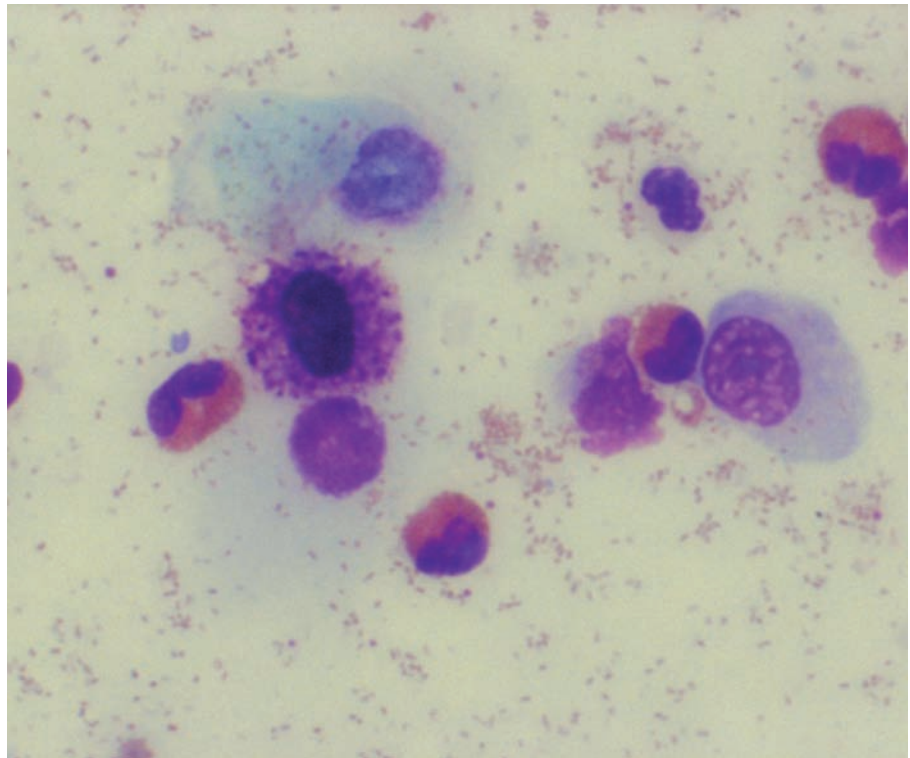


Figura 19. Queratitis eosinofílica; se observa un predominio de eosinófilos y un mastocito.

Bibliografía

- ALLGOEWER, I., SCHAFER, E.H., STOCKHAUS C., et al. Feline eosinophilic conjunctivitis. *Vet Ophthalmol.* 2003, n°. 4, pp. 69-74.
- BOMHARD, W., POLKINGHORNE, A., HUAT, L., VAUGHAN, L., VÖGLIN, A., ZIMMERMANN, D.R., SPIESS, B., POSPISCHIL, A. Detection of novel chlamydiae in cats with ocular disease. *Am J Vet Res.* 2003, n°. 64, pp. 1421-1428.
- JEGOU, J.P., LIOTET, S. Intérêt du frottis conjunctival dans le diagnostic biologique des conjonctives chez le chien et le chat. *Pratique et chirurgicale de l'animal de compagnie.* 1991, n°. 26, pp. 567-580.
- LAVACH, J.D., THRALL, M.A., BENJAMIN, M.N., SEVERIN, G.A. Cytology of normal and inflamed conjunctivas in dogs and cats. *JAVMA.* 1977, n°. 170, pp. 772-777.
- MASSA, K.L., MURPHY, C.J., HARTMANN, F.A., MILLER PE., KORSOWER, C.S., YOUNG, K.M. Usefulness of aerobic microbial culture and cytologic evaluation of corneal specimens in the diagnosis of infectious ulcerative keratitis in animals. *JAVMA.* 1999, n°. 215, pp. 1671-1674.
- PRASSE, K.W., WINSTON, S.M. The eyes and associated structures. En: Cowell, R.L., Tyler, R.D. y Meinkoth, J.H. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat.* 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 1999, pp. 68-82.
- RODRÍGUEZ, A., MONTOYA, J.A., MARTÍNEZ DE MERLO, E.M. Citodiagnóstico conjuntival en el perro. *Clínica Veterinaria de los pequeños animales.* 1991, n°. 4, pp. 241-247.
- VOLOPICH, S., BENETKA, V., SCHWENDENWEIN, I., MÖSTL, K., SOMMERFELD-STUR, I. BARBARA, N.B. Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and *Chlamydia felis* antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Vet. Ophthalmol.* 2005, n°. 8, pp. 25-32.

citología
del conducto
auditivo
externo

Introducción

La otitis externa es una enfermedad multifactorial que afecta al 10-20% de los perros y al 2-6% de los gatos. Puede ser unilateral o bilateral y se presenta con mayor frecuencia en perros de mediana edad y en gatos jóvenes.

El diagnóstico de la otitis externa se basa en la historia clínica, en los signos clínicos (dolor, prurito, sacudidas de la cabeza, secreción ótica, mal olor, alopecia, excoりaciones y dermatitis piodramática), en la exploración de los oídos y en el examen citológico de las muestras obtenidas del conducto auditivo.

Indicaciones del estudio citológico

La interpretación citológica del exudado ótico es una prueba diagnóstica sencilla, práctica, rápida y barata, que ayuda al clínico a la resolución de la otitis.

La citología ótica proporciona abundante información respecto a la presencia o no de microorganismos, al número en caso afirmativo, a la severidad de la infección y a la existencia de células inflamatorias o neoplásicas. Todos estos datos van a ser de gran utilidad como orientación diagnóstica y como guía a la hora de tomar decisiones terapéuticas racionales y de comprobar la respuesta al tratamiento.

Recogida y manejo de las muestras

La toma de muestras se debe realizar antes de introducir en el oído agentes limpiadores o cualquier tipo de terapia. Aunque la otitis sea unilateral, las muestras deben recogerse de ambos oídos. Para la obtención de la muestra se emplea un hisopo o un bastoncillo de algodón. Es preferible obtener el material de la parte profunda del conducto horizontal; sin embargo, no siempre es posible debido a que el animal tiene dolor; hay estenosis, inflamación del conducto o riesgo de perforación timpánica. En estos casos la muestra puede tomarse en la unión del conducto vertical con el horizontal, donde el cartílago forma un ángulo de 75°.

Para que el tratamiento de la otitis sea efectivo es necesario

- La identificación y el tratamiento de la causa primaria (alergia, parásitos, neoplasia, cuerpo extraño).
- La identificación y el tratamiento de los factores perpetuantes concurrentes (infección por bacterias o levaduras, edema, hiperplasia, otitis media).

A continuación, el material se deposita sobre un portaobjetos, mediante movimientos rotatorios del hisopo o bastoncillo hasta conseguir una capa fina. La muestra se tiñe con las técnicas habituales.

Si se sospecha la presencia de parásitos, se deposita una gota de aceite mineral sobre la muestra sin teñir antes de observarla al microscopio.

Interpretación citológica

La observación microscópica se debe realizar empleando progresivamente objetivos de mayor aumento. El objetivo de 40x es adecuado para identificar leucocitos, hematíes, células epiteliales, levaduras y bacterias. Con el objetivo de inmersión 100x se pueden observar bacterias pequeñas con detalle.

Para una correcta interpretación se deben observar entre 5 y 10 campos con el objetivo 40x, evaluando el número y características morfológicas de bacterias, levaduras y células.

La observación a 4x o 16x aumentos es suficiente para ver los parásitos.

En la citología óptica debemos evaluar

- El número y la morfología de las bacterias (cocos, bacilos).
- El número de levaduras.
- La presencia de hifas de hongos.
- La presencia de parásitos (ácaros).
- La presencia de leucocitos y si existen imágenes de fagocitosis.
- La existencia de células neoplásicas.
- El contenido del cerumen (células epiteliales, restos de queratina).

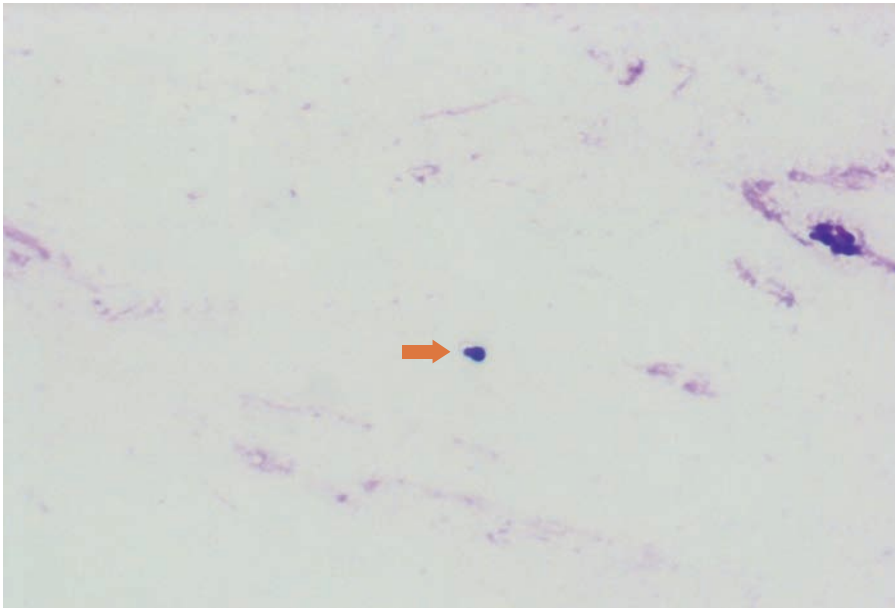
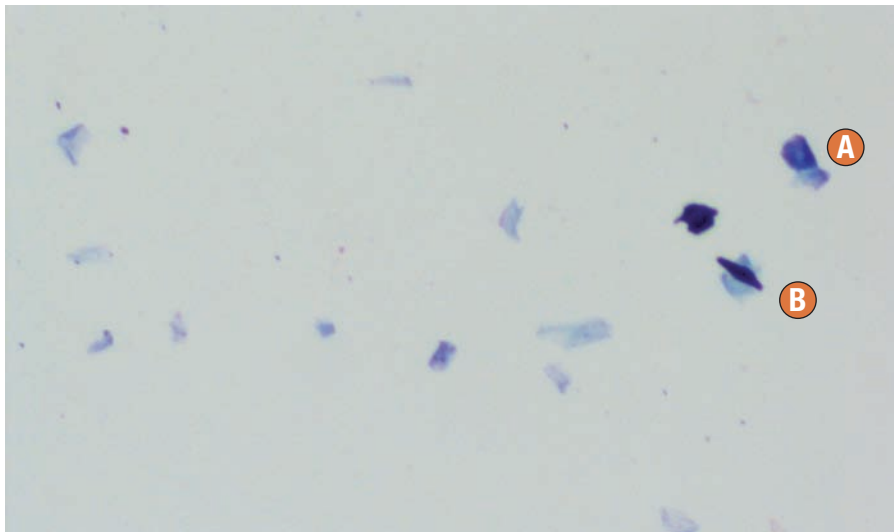


Figura 1. Oído sano (40x). Se señala con una flecha la levadura.

Figura 2. Oído sano (10x). **A** Queratinocitos anucleados; **B** Restos de queratina.



Citología del oído sano

El examen microscópico del conducto auditivo externo muestra un pequeño número de bacterias residentes: cocos (*Staphylococcus* sp. y *Streptococcus* sp.) y raramente bacilos (*Corynebacterium* sp.). También se observan levaduras (*Malassezia* sp.) libres (fig. 1) o adheridas a las células epiteliales. A veces aparecen células epiteliales queratinizadas (queratinocitos) y restos de queratina ligeramente basófila (fig. 2).

Con objetivo de 40x el número de bacterias debe ser menor de 6/campo y el número de levaduras menor de 3/campo.

Citología del oído con otitis

Bacterias

Generalmente aparecen cocos (género *Staphylococcus* y *Streptococcus*) y/o bacilos (género *Proteus*, *Pseudomonas* y otras bacterias gram-). Los cocos presentan una morfología esférica (fig. 3) y los bacilos una forma cilíndrica, cuyos extremos suelen ser redondeados o rectos (figs. 4 y 5).

En el examen citológico el número de bacterias con el objetivo de 40x se considera patológico cuando es superior a 25 microorganismos/campo (perro) y por encima de 15 microorganismos/campo (gato).

La presencia de leucocitos y los procesos de fagocitosis son una característica de infección ótica (figs. 6, 7 y 8). En conductos normales no se observan estas células y en casos de sobrecrecimiento bacteriano son muy poco frecuentes.

Como complemento a la citología se emplea el cultivo bacteriológico y el antibiograma, cuya misión es identificar el tipo de agente bacteriano y establecer una terapia apropiada. Sin embargo, presenta como principal inconveniente su incapacidad para distinguir entre bacterias residentes normales, sobrecrecimiento o infección. Esta falta de diferenciación conduce, en ocasiones, a instaurar de una terapia múltiple innecesaria o a un consumo inapropiado de antibióticos.

La combinación de citología y cultivo constituye el mejor procedimiento para identificar un sobrecrecimiento o una infección. El cultivo ayuda a seleccionar un antibiótico apropiado; la citología determina cuándo está indicada la antibioterapia sistémica, qué tipo de bacterias son las más significativas y en qué momento se debe suspender la terapia.

Sobrecrecimiento bacteriano

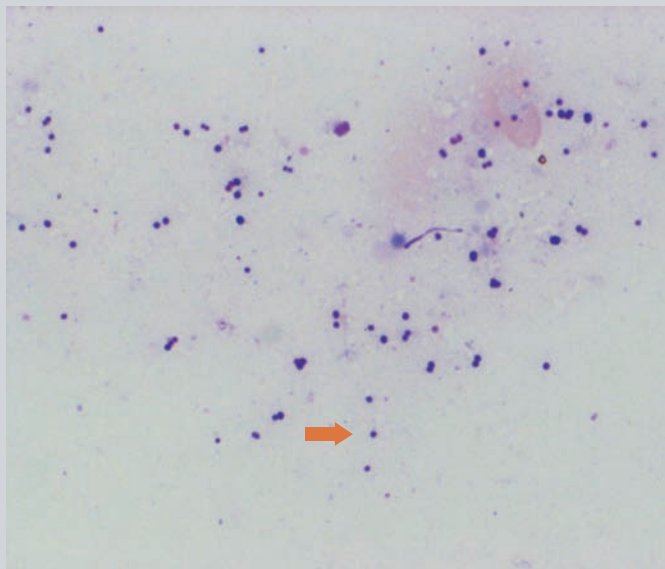


Figura 3. Sobrecrecimiento bacteriano (60x). Cocos señalados con flecha.

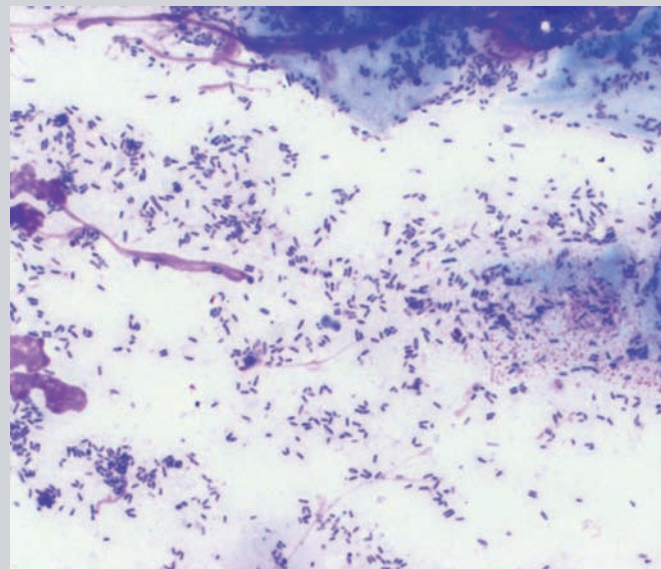
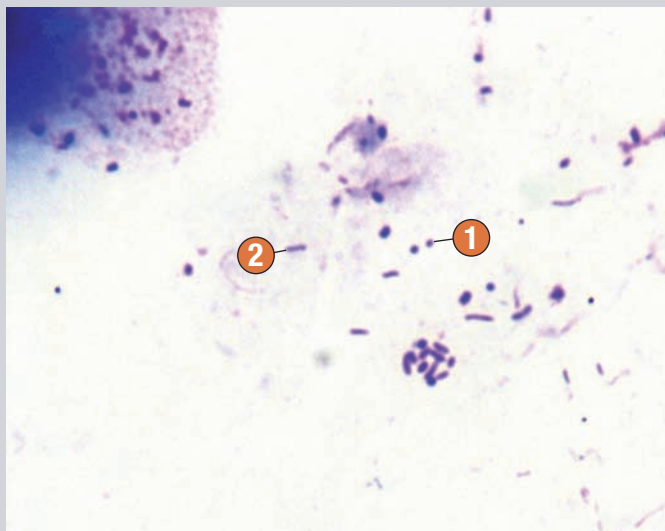


Figura 4. Sobrecrecimiento bacteriano con presencia de numerosos bacilos (60x)

Figura 5. Sobrecrecimiento bacteriano (100x). **1** Cocos; **2** Bacilos.



- ① — Cocos
- ② — Bacilos
- ③ — Levadura
- ④ — Neutrófilos
- ⑤ — Fagocitosis de cocos
- ⑥ — Células plasmáticas
- ⑦ — Eosinófilos
- ⑧ — Linfocito

Infecciones

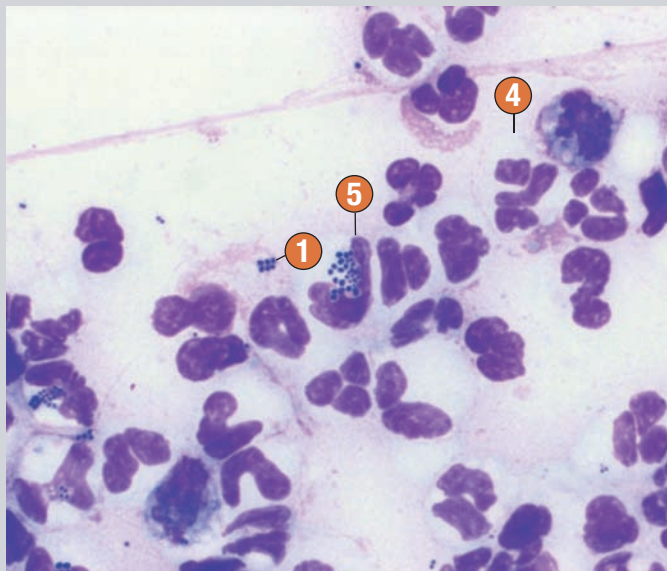


Figura 6. Infección (60x). 1 Cocos; 4 Neutrófilos; 5 Fagocitosis de cocos.

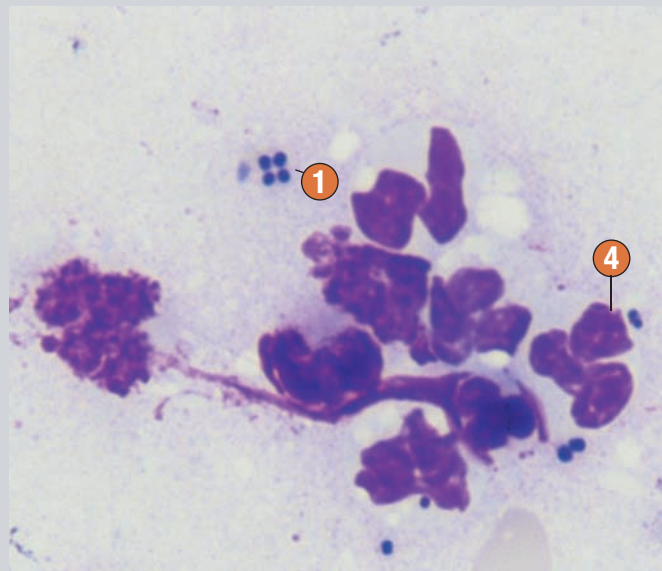


Figura 7. Infección (100x). 1 Cocos; 4 Neutrófilos.

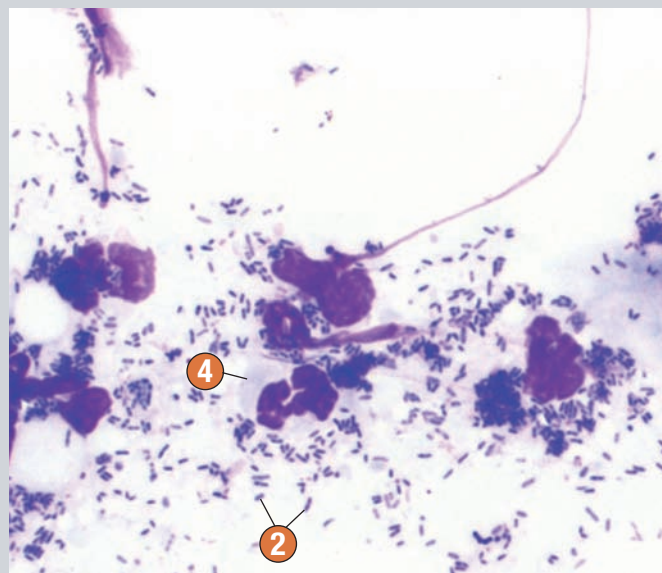


Figura 8. Infección (60x).
2 Bacilos; 4 Neutrófilos.

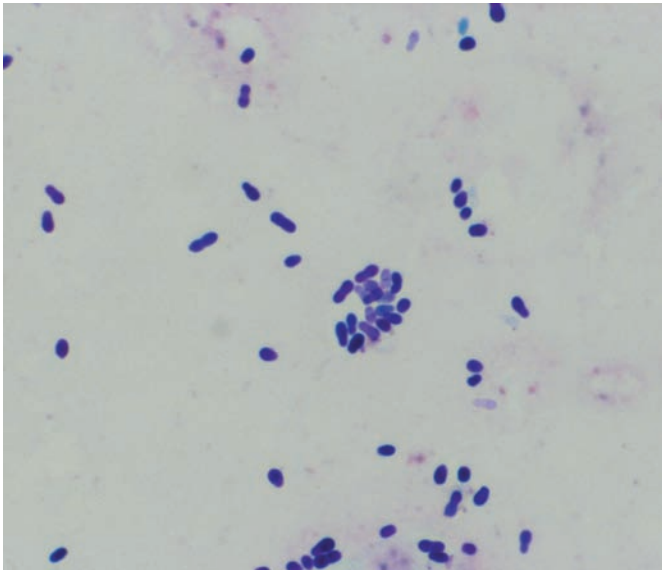


Figura 9. Sobrecrecimiento con *Malassezia* (60x).

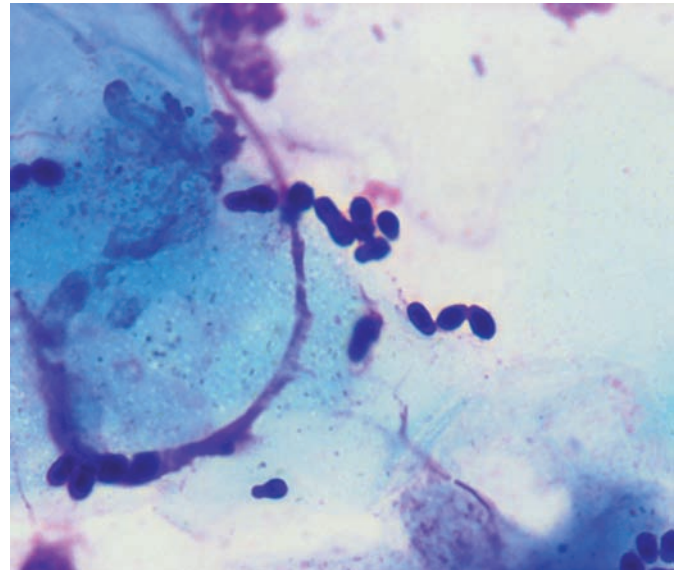


Figura 10. *Malassezia* (100x).

Levaduras

Malassezia sp. está presente con frecuencia en el conducto auditivo externo de pacientes con otitis. Su número se considera patológico en el perro cuando con el objetivo de 40x hay más de 5 levaduras/campo (fig. 9); en el gato cuando existen más de 12 levaduras/campo.

La decisión de iniciar una terapia cuando existe un sobrecrecimiento por *Malassezia* va a depender de la severidad de los síntomas clínicos, de la observación citológica (fig. 10), de los antecedentes clínicos producidos por levaduras y de la respuesta a la terapia previa. En la mayoría de casos es suficiente un tratamiento tópico.

Células inflamatorias

En un conducto con otitis se pueden observar neutrófilos (fig. 11) y/o macrófagos y/o eosinófilos (fig. 12) y/o linfocitos (fig. 13). La presencia de estas células junto a microorganismos (fig. 14) se produce como resultado de una inflamación exudativa, de un proceso ulcerativo de la pared del conducto o por extensión a partir de una otitis media. La existencia de leucocitos fagocitando bacterias indica infección.

En ocasiones, en el curso de algunas enfermedades cutáneas de etiología inmunomediada se observa la presencia de leucocitos en el interior del conducto. Este es el caso del pénfigo foliáceo, donde aparecen neutrófilos, eosinófilos y queratinocitos acantolíticos, pero ausencia de bacterias.

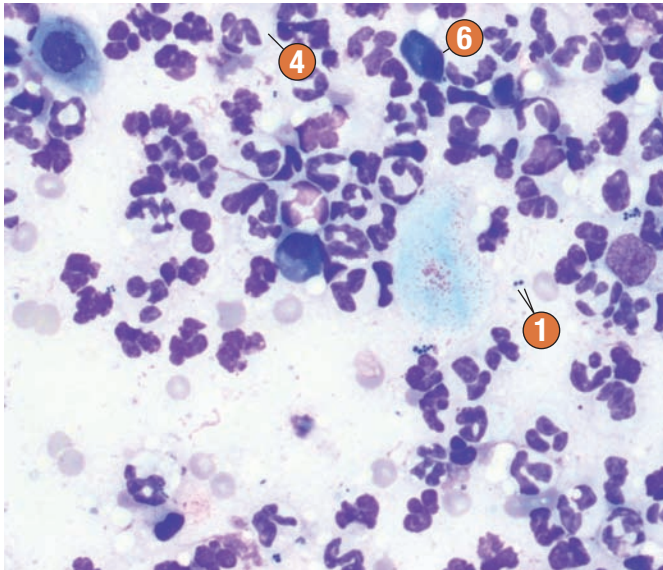


Figura 11. Infección (40x). 1 Cocos; 4 Neutrófilos; 6 Células plasmáticas.

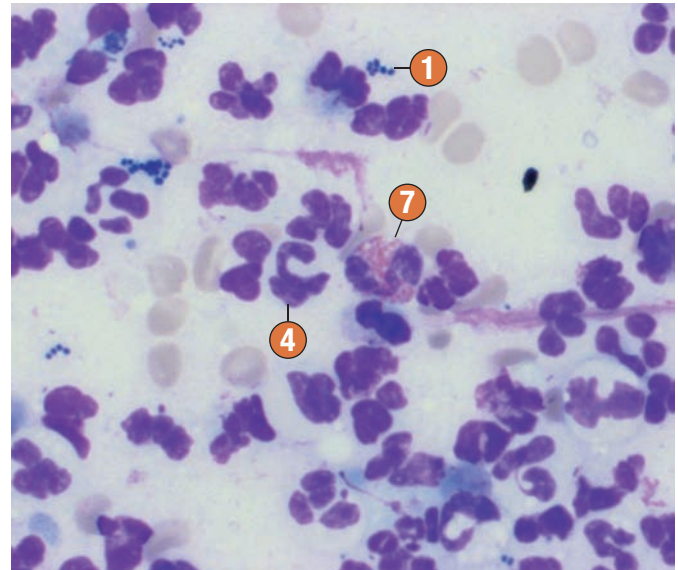


Figura 12. Infección (60x). 1 Cocos; 4 Neutrófilos; 7 Eosinófilo.

Figura 13. Infección (40x). 1 Cocos; 4 Neutrófilos; 8 Linfocito.

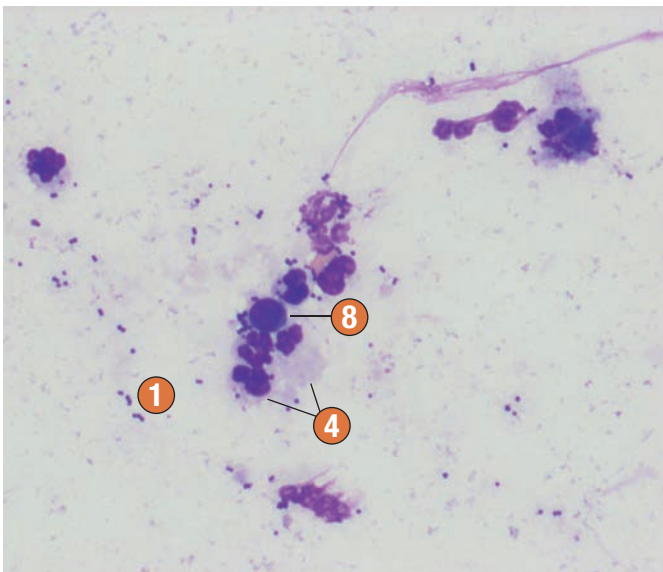
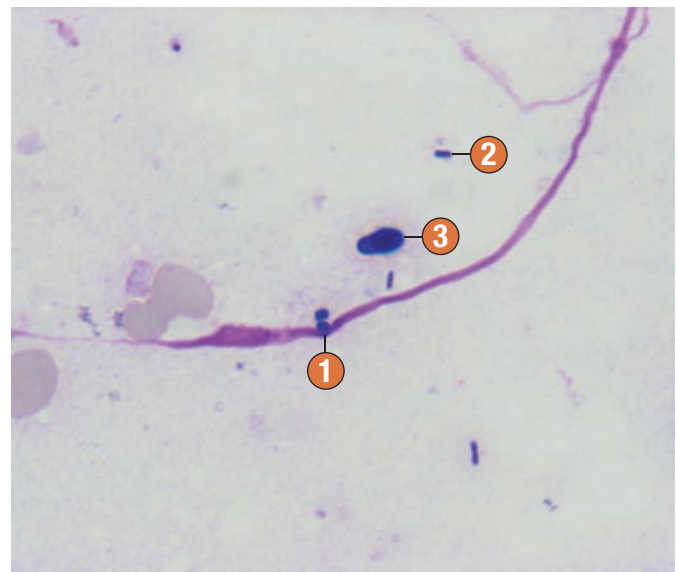


Figura 14. Sobrecrecimiento (100x). 1 Cocos; 2 Bacilos; 3 Levadura.



Parásitos

El parásito que con mayor frecuencia se observa asociado con otitis externa es *Otodectes cynotis* (fig. 15). Este parásito es el responsable de, al menos, la mitad de casos de otitis en el gato y alrededor del 10% en el perro. La visualización del ácaro puede realizarse mediante un otoscopio o a través de un examen microscópico con objetivo de 4x o de 16x.

Otros parásitos que pueden aparecer en el conducto auditivo externo son: *Demodex sp.*, *Sarcoptes scabiei*, *Notoedres cati* y *Neotrombicula autumnalis*.



Figura 15. *Otodectes cynotis* (16x).

Bibliografía

- ANGUS, JC. Otic cytology in health and disease. *Vet. Clin. Small. Anim.* 2004, n° 34, pp. 411-424.
- CHICKERING, WR. Cytologic evaluation of otic exudates. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1988, n° 18, pp. 773-782.
- COWELL, RL, TYLER, RD, BALDWIN, CJ. The external ear canal. Cowell, RL, Tyler, RD y Meinkoth, JH (ed). *Diagnostic cytology ad haematology of the dog and cat.* 2ª ed. St Louis: Ed. Mosby, 2002, pp. 83-87.
- GINEL, PJ, LUCENA, R, RODRIGUEZ, JC, ORTEGA, J. A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Vet. Dermatol.* 2002, n° 13, pp. 151-156.
- ROSSER EJ. Causes of otitis externa. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2004, n° 34, pp. 459-468.
- ROSYCHUK, RA, LUITGEN, P. Diseases of the ear. En: Ettinger, SJ, Feldman, EC (ed). *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat.* 5ª ed. Philadelphia: Ed. WB Saunders, 2000. pp. 1185-1235.
- SCOTT, DW, MILLER, WH, GRIFFIN, CE. Diseases of eyelids, claws, anal sacs, and ears. *Muller and Kirk's small animal dermatology.* 6ª ed. Philadelphia: Ed. WB Saunders, 2000. pp. 1204-1231.
- TATER, KC, SCOTT, DW, MILLER, WH, ERB, HN: The cytology of the external ear canal in the normal dog and cat. *J. Vet. Med. A.* 2003, n° 50, pp. 370-374.

estudio
citológico
de líquidos
orgánicos

El análisis de los líquidos orgánicos que puede realizarse de forma rápida, fácil y barata, es una técnica muy útil en el diagnóstico de numerosas patologías de la especie canina y felina. No siempre el estudio de los líquidos orgánicos permite alcanzar un diagnóstico definitivo, ya que enfermedades diferentes pueden cursar con un patrón citológico semejante, pero al menos, constituye un primer paso para limitar la lista de diagnósticos diferenciales. Todos los datos derivados del análisis de líquidos orgánicos son importantes. En general, incluyen el estudio de sus características físicas (color; turbidez, viscosidad), la determinación de parámetros bioquímicos (determinación de proteínas y otros parámetros útiles en algunas ocasiones: glucosa, iones, colesterol, triglicéridos, creatinina) y el estudio de sus componentes celulares (recuento de células nucleadas y estudio citológico).

La evaluación citológica de los líquidos orgánicos constituye una parte fundamental del análisis de los mismos. Cabe destacar, sin embargo, la extrema dificultad que conlleva la interpretación citológica de estas muestras, que requiere un conocimiento exhaustivo de los diferentes tipos celulares. Puede ser difícil evaluar e interpretar las citologías, incluso para citólogos expertos, debido a la extrema variabilidad dentro de una misma población y a la semejanza que existe entre poblaciones celulares diferentes.

Líquido peritoneal, pleural y pericárdico

Indicaciones del estudio citológico

Muchas enfermedades caninas y felinas cursan con derrames, que se definen como una acumulación anormal de líquido en cualquier cavidad corporal recubierta por células mesoteliales. Incluye, por lo tanto, los derrames pleurales, pericárdicos y abdominales. Dicha acumulación de fluidos puede deberse a numerosas causas: traumatismos, neoplasia, compromiso cardiovascular; alteraciones metabólicas (fundamentalmente hipoalbuminemia) y enfermedades inflamatorias/infecciosas. El análisis del líquido retenido intenta diferenciar entre estas causas, con el fin de poder establecer una etiología concreta y, por lo tanto, aplicar las medidas terapéuticas más adecuadas. Los datos obtenidos y su interpretación son los mismos en todos los derrames, independientemente de la cavidad de la que procedan.

Las pruebas básicas que deben realizarse con los líquidos orgánicos son:

- Evaluación de las características macroscópicas: debe prestarse especial atención al color (incoloro, blanquecino, hemorrágico, amarillento) y a la presencia o no de turbidez. Los líquidos con escasa celularidad son claros, mientras que la turbidez indica un incremento en el recuento celular.
- Recuento de células nucleadas: pueden emplearse métodos automáticos o manuales; hay que tener en cuenta que muchos derrames pueden contener restos celulares o de fibrina, por lo que se recomienda emplear los contadores automáticos sólo en líquidos claros y relativamente transparentes. En el caso de no obtener suficiente muestra, puede realizarse una estimación del número de células en la extensión citológica (siempre que el líquido no se haya centrifugado previamente).
- Concentración de proteínas totales: se determinan por refractometría o con técnicas bioquímicas, empleando el sobrenadante obtenido después de centrifugar la muestra.
- Estudio citológico.

Recogida y manejo de las muestras

La recogida de líquido de derrames orgánicos debe realizarse según las técnicas habituales (toracocentesis, abdominocentesis, pericardiocentesis). Una parte del líquido debe recogerse, inmediatamente, en un tubo con EDTA, que se empleará para la determinación de proteínas, el recuento de células y el estudio citológico. Otra parte del líquido debe mantenerse estéril por si interesa realizar un cultivo bacteriológico. Si se requieren determinaciones bioquímicas, el líquido debe introducirse en un tubo sin anticoagulante. Si sólo se obtiene un volumen mínimo, la citología es el análisis prioritario.

El análisis de líquidos orgánicos debe realizarse con extrema rapidez, para evitar, en la medida de lo posible, la degeneración celular que se empieza a producir a las dos horas de su recogida. Si el análisis no se va a realizar inmediatamente, las muestras deben conservarse en refrigeración. Si la muestra se va a evaluar en un laboratorio, debe remitirse una parte del líquido en su tubo (en condiciones de refrigeración) y unas extensiones realizadas de forma inmediata, secadas al aire y no teñidas. Asimismo, es necesario que el laboratorio tenga datos adicionales, como la fecha de aparición del derrame (si se conoce), la apariencia macroscópica del líquido en el momento de su recogida, la existencia o no de otras aspiraciones previas y la historia clínica del paciente.

Es necesario realizar el análisis del derrame en una primera toma de muestras. Las aspiraciones repetidas pueden alterar las características del líquido, ya que provocan inflamaciones reactivas significativas.

La combinación de los datos obtenidos del recuento celular y la determinación de proteínas permite clasificar los derrames como trasudados, trasudados modificados y exudados (tabla 1). En ocasiones, los datos obtenidos se solapan, de forma que es difícil ajustar esta clasificación. En estos casos, las proteínas constituyen el criterio fundamental para diferenciar trasudados de trasudados modificados, mientras que la celularidad es más importante para diferenciar trasudados modificados de exudados.

Las proteínas del líquido ayudan a preservar la integridad celular. Por ello, en líquidos que presentan cantidad escasa de proteínas, la adición de proteínas (unas gotas de suero o plasma autólogo) permite que las células se conserven en mejores condiciones y, por lo tanto, que la evaluación citológica sea más exacta. Por supuesto, esta adición debe realizarse siempre después de determinar la concentración de proteínas del líquido.

La forma de realizar las extensiones citológicas varía dependiendo del recuento celular obtenido. Muchos derrames presentan una celularidad escasa o moderada, por lo que es necesario llevar a cabo técnicas de concentración para evitar que las células se dispersen en exceso, lo que dificulta extremadamente realizar un estudio citológico comparativo correcto.

La citocentrifugación es la técnica ideal para realizar extensiones citológicas que permitan una correcta interpretación. Las citocentrífugas reúnen toda la celularidad en un solo punto en monocapa, de forma que la morfología celular queda perfectamente preservada (fig. 1). Sin embargo, el equipamiento necesario para realizar esta técnica es muy caro y no suele estar al alcance de los labora-

Tabla 1. Clasificación de los derrames orgánicos

	Trasudado	Trasudado modificado	Exudado
Proteínas	< 2,5	> 2,5	> 3
Número de células nucleadas/μl	< 1.000	1.000–7.000	> 7.000

torios de clínicas veterinarias, por lo que su uso está limitado a laboratorios especializados.

Si la celularidad es muy elevada ($> 7.000/\mu$ l), puede realizarse una extensión directa mediante la técnica de *squash* o de forma semejante a como se realiza un frotis sanguíneo.

Si la celularidad está por encima de 5.000 células/ μ l, puede realizarse una técnica de concentración en línea, que permite que las células se acumulen en la cola de la extensión. La extensión se inicia como si se tratara de un frotis sanguíneo, pero en vez de completarla hasta el final del portaobjetos, se procede al levantamiento brusco del portaobjetos con el que se realiza la extensión a una corta distancia del inicio.

Si la celularidad es inferior a 5.000 células/ μ l, puede realizarse una extensión en línea, pero es mucho más adecuado proceder a



Figura 1. Monocapa de células obtenida tras la citocentrifugación de un líquido orgánico.

la centrifugación de la muestra (5 minutos a 1.000-1.500 rpm) y realizar la extensión con el sedimento diluido con un máximo de 0,5 ml de sobrenadante. De esta forma, se concentrarán las células dispersas en el líquido y será más fácil realizar la interpretación citológica.

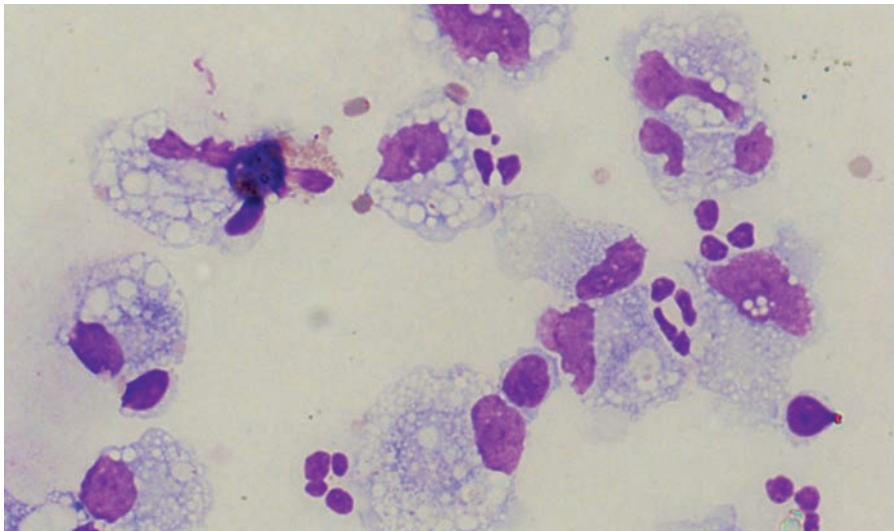
Después de secar al aire, las extensiones se tiñen con la técnica Romanowsky empleada habitualmente.

Interpretación citológica

El estudio de los derrames es uno de los principales retos del citólogo. Numerosos factores contribuyen a que sea la interpretación más difícil de todo el espectro de muestras. En primer lugar, en muchas ocasiones, la riqueza celular es baja y, a no ser que se empleen técnicas de concentración adecuadas, es complicado disponer en un mismo

campo microscópico de suficientes células para poder establecer comparativas adecuadas. En segundo lugar, si la muestra no se procesa adecuadamente, se producen rápidamente fenómenos de degeneración celular, caracterizados por procesos de hipersegmentación y/o picnosis nuclear, que pueden conducir a errores básicos de interpretación (fig. 2). En tercer lugar, la extrema variabilidad de las células que normalmente forman parte de los líquidos orgánicos, fundamentalmente las mesoteliales, pueden confundir al citólogo. Este hecho es fundamental a la hora de diagnosticar procesos tumorales, ya que muchos cambios reactivos normales pueden atribuirse erróneamente a cambios neoplásicos. Finalmente, algunos tipos celulares de estirpes diferentes, fundamentalmente células mesoteliales y epiteliales, pueden mostrar características semejantes, lo que dificulta su diferenciación. Este hecho es básico a la hora de distinguir entre mesoteliomas y metástasis de carcinomas y adenocarcinomas.

Figura 2. Células mesoteliales con características degenerativas por retraso en el procesado de la muestra.



El primer paso en la interpretación citológica es determinar la presencia sanguínea y valorar si es debida a la patología subyacente o a

procesos de contaminación durante la toma de muestras. Posteriormente, se procede a la diferenciación de las poblaciones de células nucleadas existentes, distinguiendo entre células mesoteliales (valorando sus diferencias por activación, aunque en general no se tiene en cuenta en el recuento diferencial), otras células inflamatorias y la posible presencia de células neoplásicas. En procesos inflamatorios es importante realizar una búsqueda de posibles microorganismos. Se debe realizar un recuento diferencial sobre un número suficiente de células en diferentes zonas de la extensión para poder obtener resultados significativos.

Tipos celulares presentes en líquidos orgánicos

1

Células mesoteliales

Las células mesoteliales constituyen la población normal de los derrames, ya que proceden de la superficie de la pleura, peritoneo o pericardio. En reposo, es un epitelio escamoso de células aplanadas, semejante al endotelio vascular. Sin embargo, la inflamación conduce a intensos cambios de activación e hiperplasia, desprendiéndose numerosas células de forma individual o en grupos. La propia acumulación de líquido puede inducir estos cambios hiperplásicos.

Las células mesoteliales normales y en reposo son redondas u ovales, presentan un citoplasma finamente granular; intensamente basófilo y un núcleo redondo-ovalado, en posición central, con cromatina finamente condensada y en el cual se aprecia un nucléolo poco prominente. El tamaño nuclear de las células mesoteliales normales es uniforme. Ocasionalmente, se observa un borde de apariencia vellosa que puede ser eosinofílico (corona eosinofílica). Pueden aparecer células binucleadas y mitosis (fig. 3). Estas células pueden exfoliar en grupos que asemejan un origen glandular; son grupos pequeños, de alrededor de 10 elementos, en monocapa, que se caracterizan por la uniformidad en forma y tamaño de sus núcleos (fig. 4). En perros, pueden organizarse alrededor de un núcleo central de sustancia hialina acidófila (fig. 5).

Con el tiempo, estas células mesoteliales se transforman en macrófagos. Hasta llegar al estadio de macrófago, las células mesoteliales experimentan un proceso de activación, que implica cambios morfológicos. El citoplasma se aclara y aparecen vacuolas (fig. 6): pueden observarse células con múltiples vacuolas de pequeño tamaño (figs. 7 y 8) (en estadios de máxima activación, la abundancia de vacuolas confiere al citoplasma un aspecto "espumoso" (fig. 9) o las denominadas células "en anillo de sello" (fig. 10), caracterizadas por la presencia de una gran vacuola única, transparente, que desplaza al núcleo a la periferia. En numerosas ocasiones se observan imágenes de fagocitosis o presencia de pigmentos. En algunas células puede aparecer un borde citoplasmático con procesos tipo seudópodo (fig. 11). Al ser células en evolución, los núcleos presentan variaciones en el tamaño y la forma; en general, son menos hipercrómicos que el de las células en reposo y pueden presentar nucléolos múltiples (fig. 13). Las figuras mitóticas son frecuentes, ya que son células en proliferación (fig. 14). También pueden aparecer formas multinucleadas (fig. 15).

Por todas estas características, puede ser complicado diferenciar estos estados de activación de cambios neoplásicos (fig. 16). Es necesario que el citólogo se familiarice con las características de las células mesoteliales antes de realizar un diagnóstico de neoplasia.

- ② **Neutrófilos** En la mayor parte de los derrames aparecen neutrófilos. Los neutrófilos pueden aparecer no degenerados y semejantes a los que se observan en el frotis sanguíneos o presentar características degenerativas en procesos sépticos.
- ③ **Linfocitos** Los linfocitos están presentes en la mayoría de los derrames, pero son las células predominantes en derrames quilosos y pseudoquilosos. Pueden observarse linfocitos reactivos en líquidos inflamatorios y linfoblastos en casos de linfosarcoma.
- ④ **Células plasmáticas** Su presencia se asocia a cronicidad.
- ⑤ **Hematíes** Pueden aparecer por contaminación o por la existencia de un proceso hemorrágico en la cavidad.
- ⑥ **Otras células inflamatorias** Eosinófilos y mastocitos.
- ⑦ **Células neoplásicas**

Otros elementos:

- ND **Polvos de talco** Procedentes de los guantes con los que se realiza la extracción de líquido. Pueden contaminar la muestra. Aparecen como estructuras claras, grandes, redondas o hexagonales, con una hendidura central. Es importante distinguirlos de microorganismos de gran tamaño o algún tipo celular (fig. 12).
- M **Microfilarias** En líquidos hemorrágicos pueden aparecer microfilarias que se introducen en la cavidad procedentes de sangre periférica.

Células mesoteliales

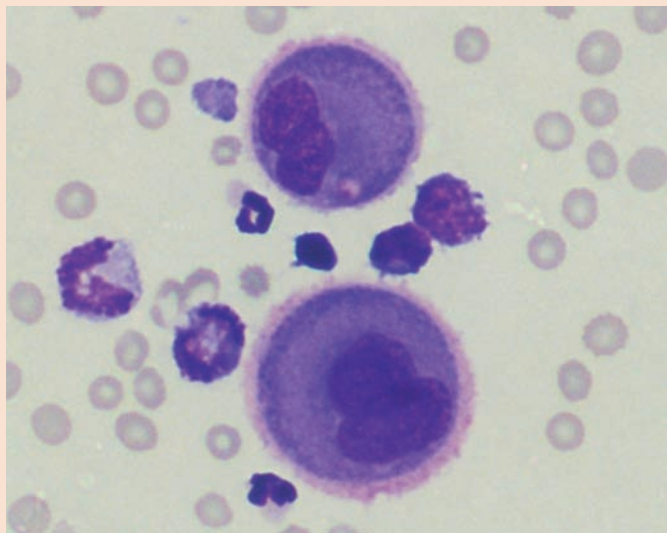


Figura 3. Células mesoteliales binucleadas en reposo con corona eosinofílica.

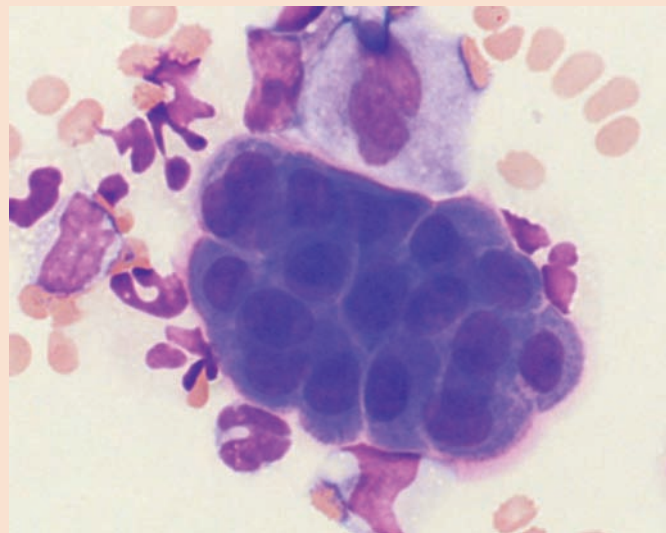


Figura 4. Grupo de células mesoteliales en reposo.

Figura 5. Grupo de células mesoteliales en reposo alrededor de un núcleo de matriz hialina.

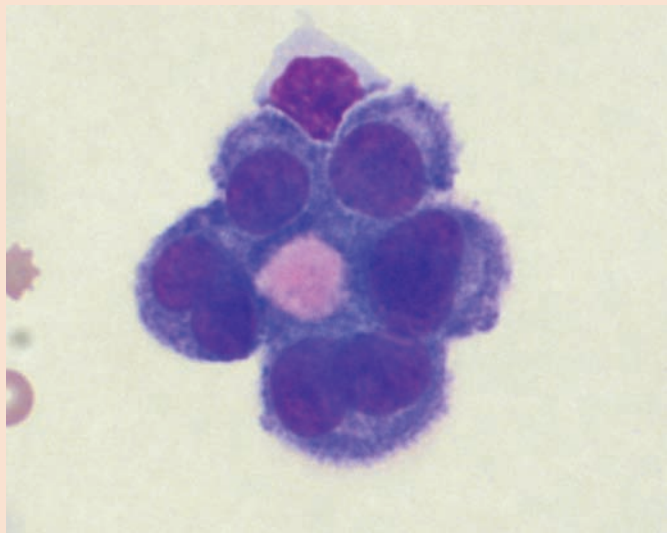
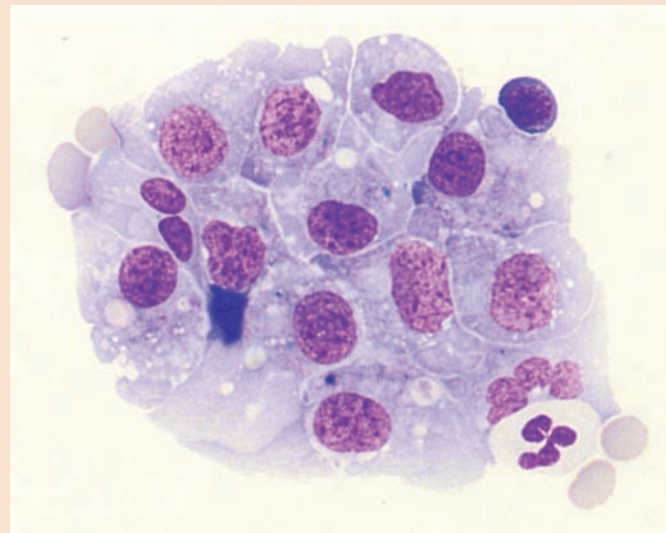


Figura 6. Grupo de células mesoteliales ligeramente activadas. Presentan mayor cantidad de citoplasma menos basófilo que las células en reposo; empiezan a aparecer vacuolas, y se observan variaciones en la morfología nuclear.



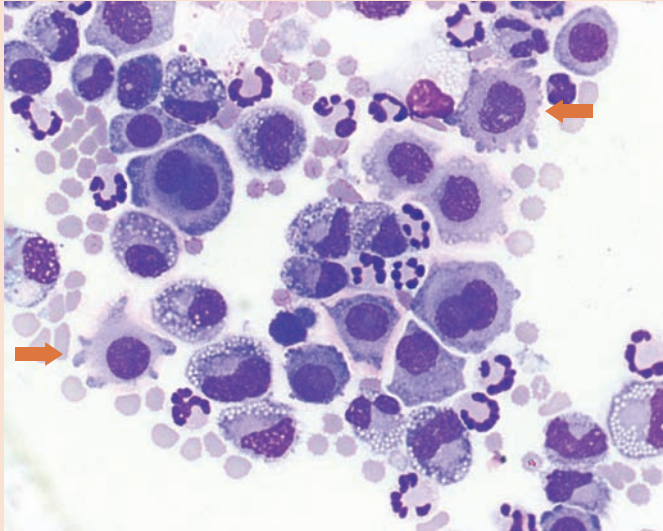


Figura 7. Células mesoteliales con un grado de activación moderado. Señaladas con flechas se observan células con prolongaciones citoplasmáticas tipo pseudópodo.

Figura 9. Células mesoteliales espumosas.

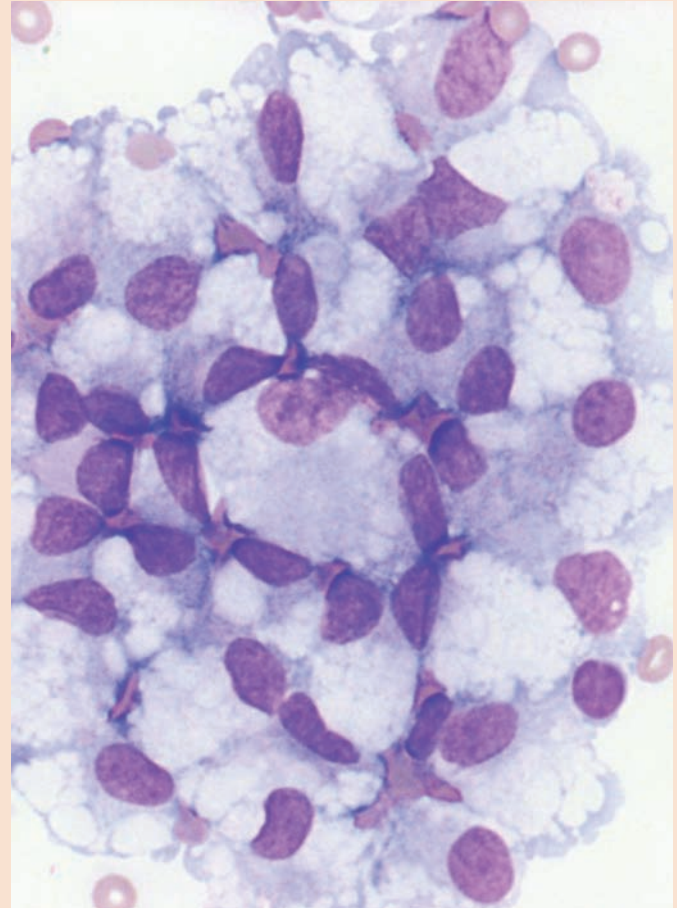
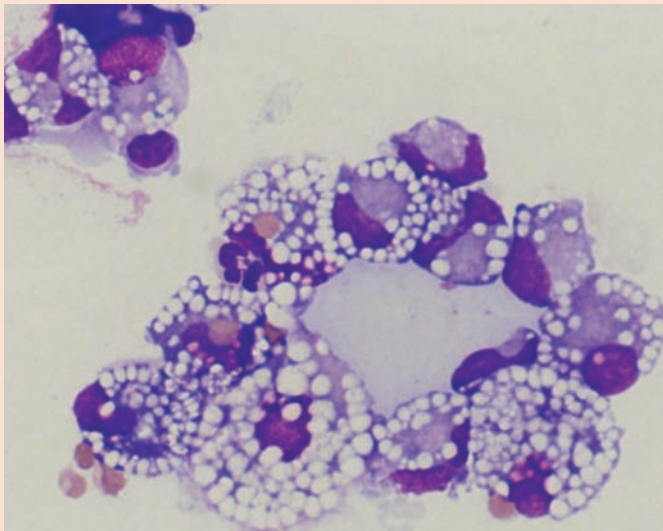


Figura 8. Grupo de células mesoteliales muy activadas con múltiples vacuolas citoplasmáticas de tamaño variable.

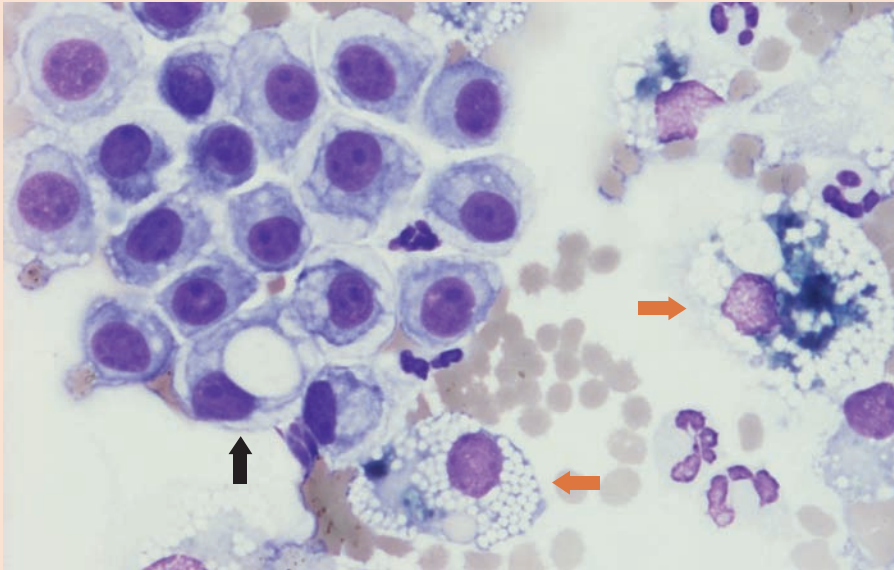


Figura 10. Células mesoteliales en diferentes grado de activación. Señalada con flecha negra: célula en anillo de sello; señalada con flecha de color: mesoteliales espumosas con imágenes de eritrofagocitosis y presencia de pigmento hemático.

Figura 11. Células mesoteliales con prolongaciones citoplasmáticas tipo pseudópodo.

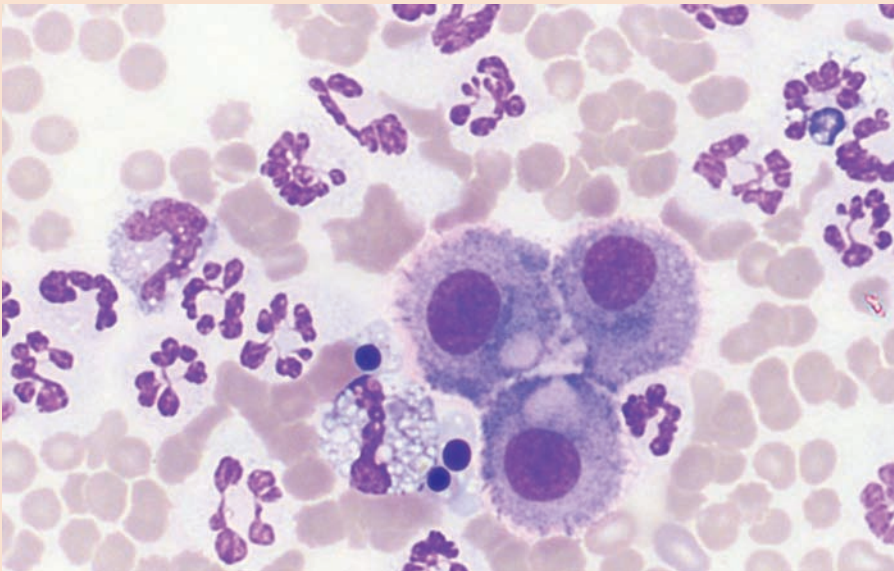


Figura 12. Señalado con flecha se observa polvo de talco.



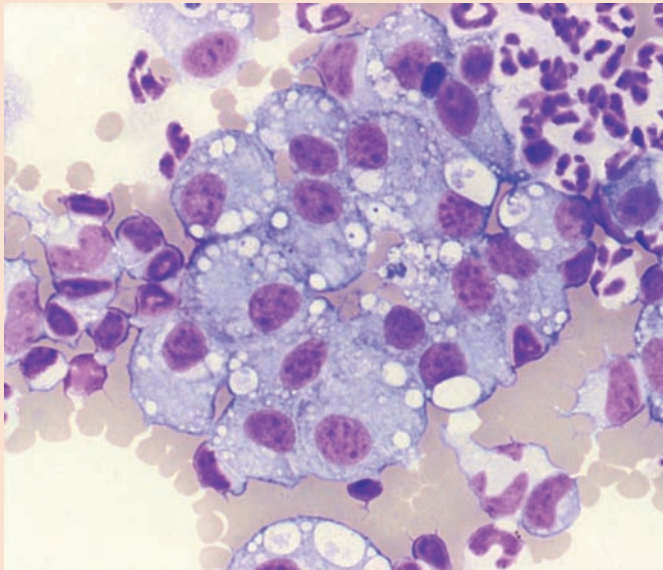


Figura 13. Células mesoteliales activadas con cromatina condensada en múltiples nucléolos.

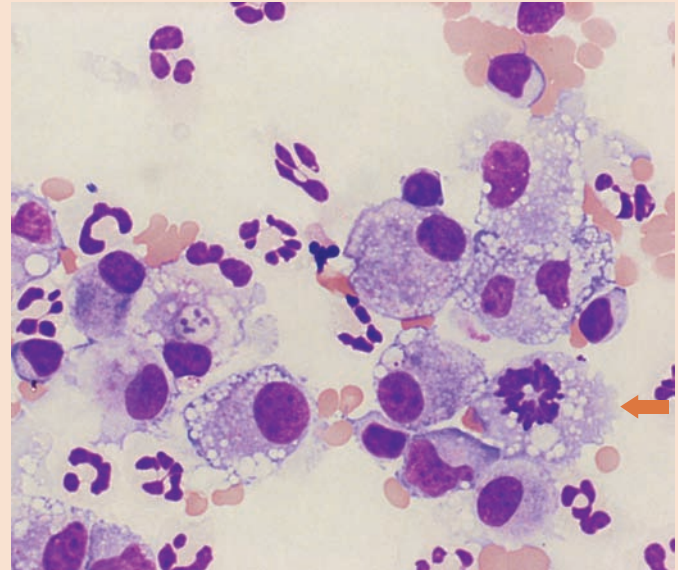


Figura 14. Células mesoteliales activadas junto a numerosos linfocitos. Señalada con flecha se observa una célula mesotelial en mitosis.

Figura 15. Células mesoteliales activadas. Señalada con flecha se observa una célula multinucleada cuyo citoplasma presenta múltiples prolongaciones tipo pseudópodo.

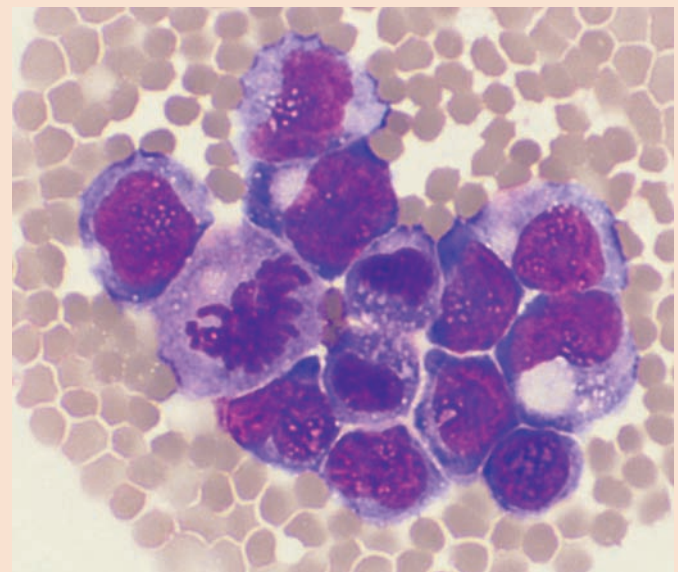
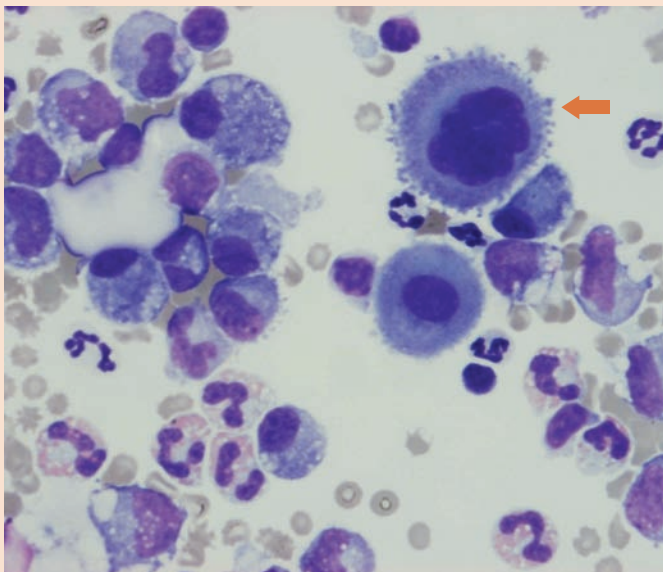


Figura 16. Grupo de células mesoteliales cuyos cambios pueden ser debidos a activación o a neoplasia.

Clasificación de líquidos orgánicos y características citológicas

Trasudados y trasudados modificados

Los trasudados puros son líquidos claros e incoloros; los modificados varían en su color de ambarino a blanco o rojizo y suelen presentar una turbidez ligera o moderada.

Las células predominantes en trasudados y trasudados modificados son las células mesoteliales en diferentes grados de activación hasta identificarse como macrófagos; también es frecuente la presencia de un número variable de linfocitos. En los trasudados modificados pueden aparecer, además, neutrófilos no degenerados; inicialmente su cantidad es escasa, pero se va incrementando con el tiempo, sobre todo si se realizan punciones repetidas (figs. 17-19).

La principal causa que provoca la aparición de trasudados puros es la hipoalbuminemia. La etiología de los trasudados modificados es más amplia, incluyendo, fundamentalmente, enfermedades cardiovasculares, neoplásicas y hepáticas asociadas a hipertensión venosa. Algunos procesos, como la peritonitis infecciosa felina exudativa y la provocada por rotura de vesícula o vejiga, cursan inicialmente con trasudados modificados que, de forma crónica, evolucionan hacia exudados no sépticos.

Figura 17. Trasudado modificado (900 células/ μ l; 3,2 g/dl de proteínas). Se observan hematíes, neutrófilos, un grupo de células mesoteliales en reposo y células mesoteliales en diferentes grados de activación.

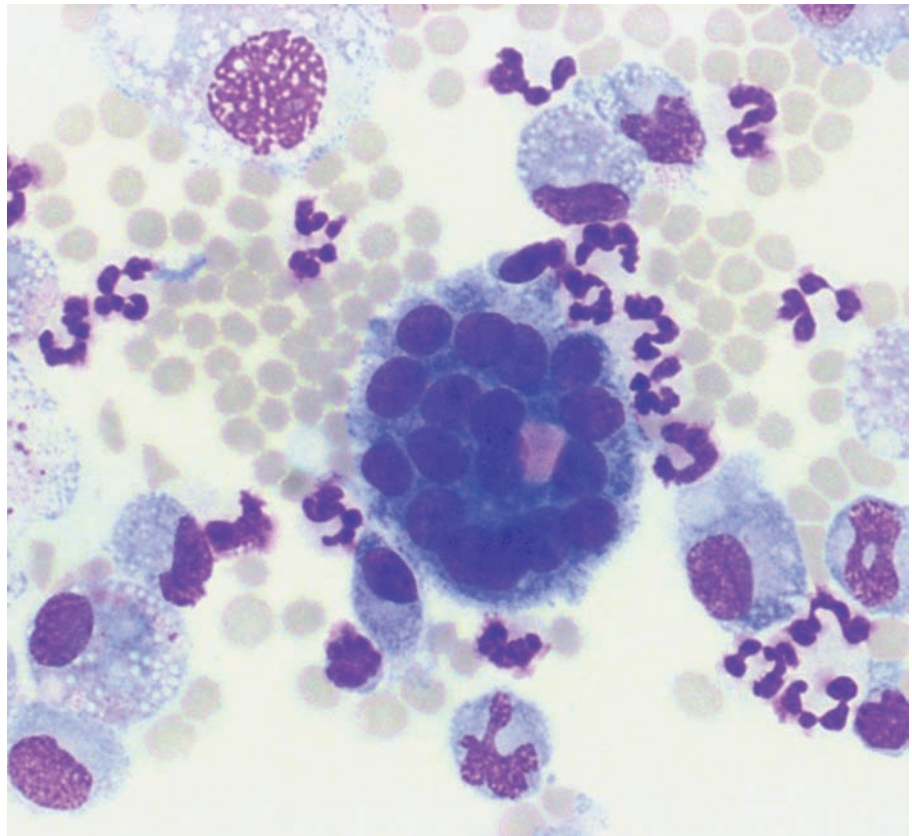


Figura 18. Trasudado modificado (1.000 células/ μ l; 3,8 g/dl de proteínas). Se observan hematíes, neutrófilos, un eosinófilo y células mesoteliales en diferentes grados de activación.

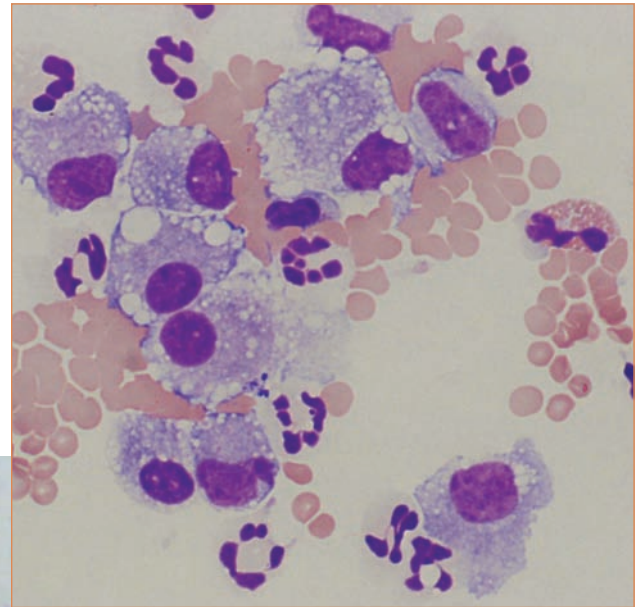
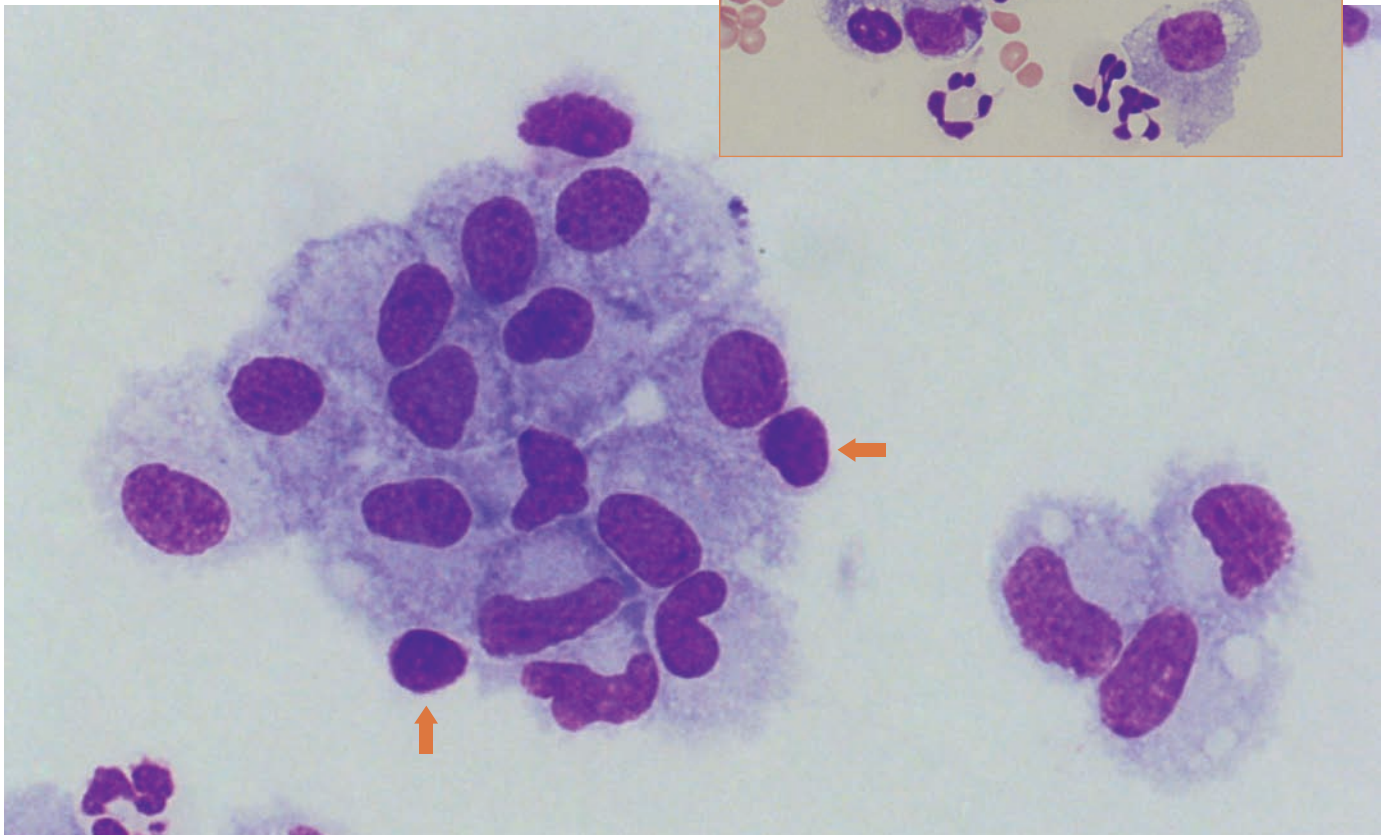


Figura 19. Trasudado (750 células/ μ l; 1 g/dl de proteínas). Se observan células mesoteliales en diferentes grados de activación y escasos linfocitos (señalados con flecha).



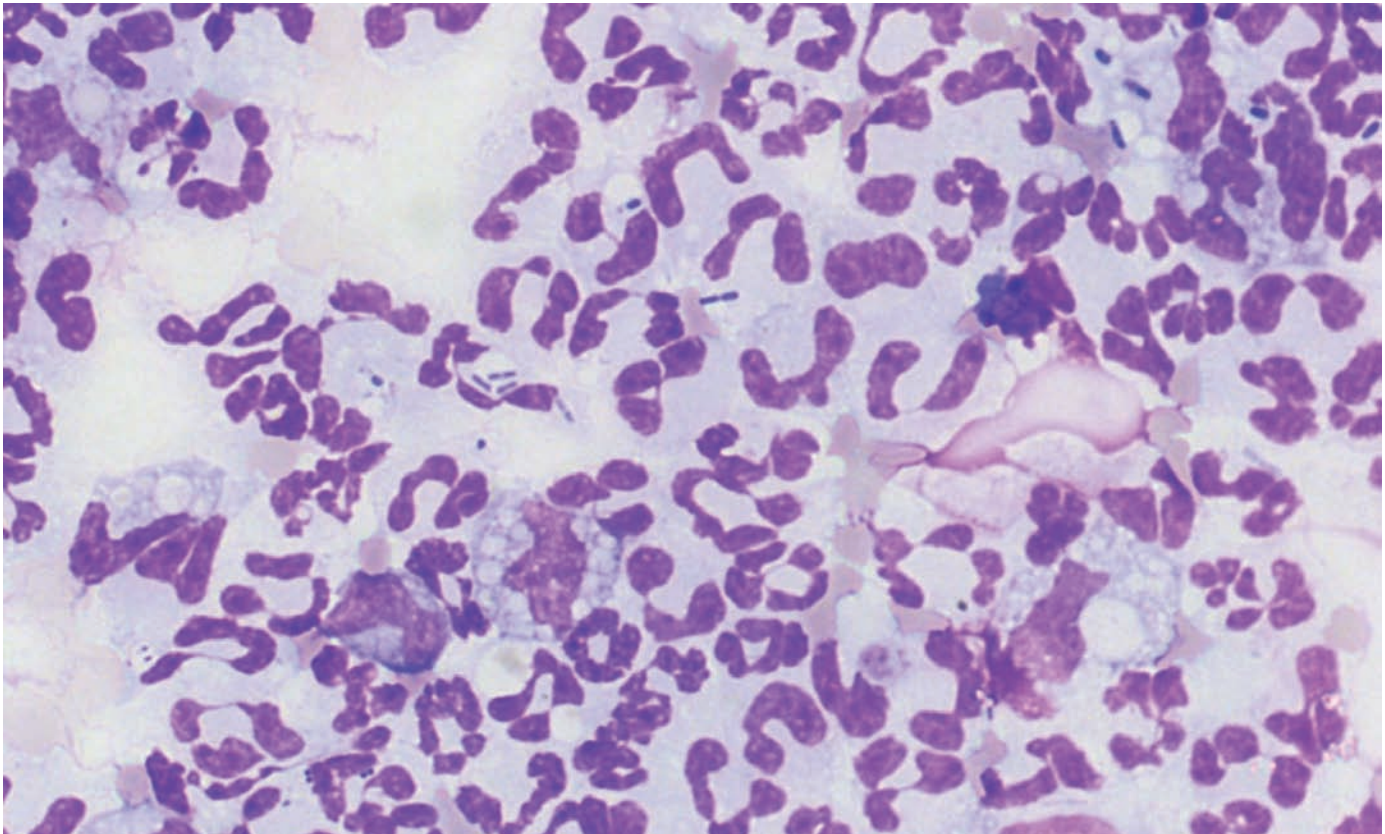
Exudados

Los exudados suelen ser líquidos ambarinos, blanquecinos o rojizos, normalmente muy turbios, y se caracterizan por un alto recuento celular en el que predominan los neutrófilos con un número variable de células mesoteliales/macrófagos, linfocitos y eosinófilos.

En los exudados sépticos, los neutrófilos presentan características degenerativas sugestivas de muerte celular en un ambiente tóxico.

Los principales cambios degenerativos afectan al núcleo en forma de cariolisis (núcleo pálido e hinchado) y cariorexix (fragmentación nuclear). Es necesario realizar una búsqueda cuidadosa de bacterias evaluando la extensión a grandes aumentos (100x con aceite de inmersión). La presencia de bacterias en el interior de los neutrófilos asegura el origen séptico del proceso (fig. 20). Ocasionalmente, pueden observarse en el interior de macrófagos que han

Figura 20. Exudado séptico (151.800 células/ μ l; 4,5 g/dl de proteínas). Se observan neutrófilos degenerados y numerosas bacterias (cocos y bacilos) en su interior.



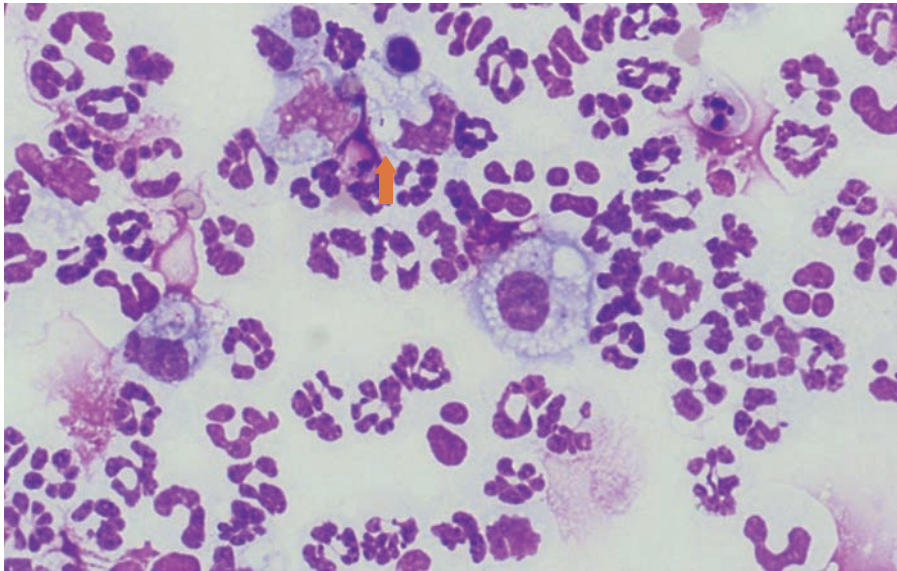
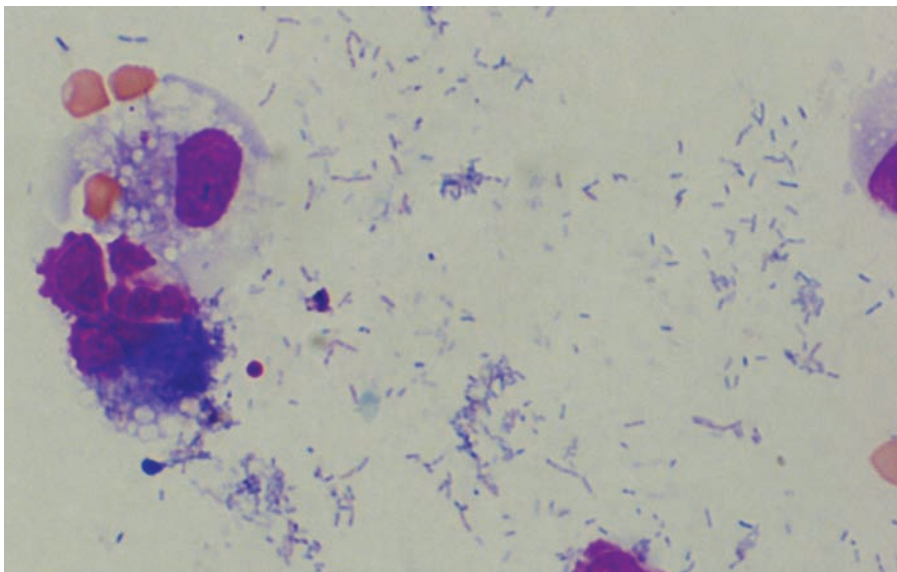


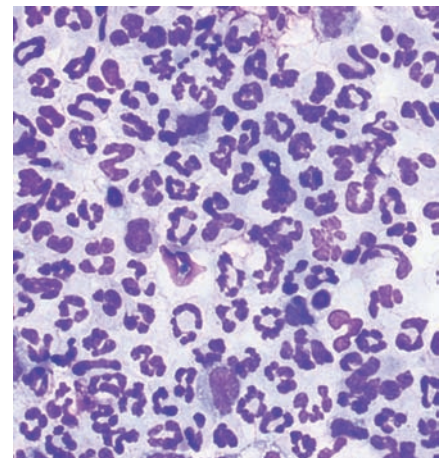
Figura 21. Exudado séptico (259.000 células/ μ l; 3,6 g/dl de proteínas). Se observan numerosos neutrófilos degenerados y células mesoteliales (macrófagos). Uno de ellos presenta bacterias intracelulares (señalado con flecha).

Figura 22. Numerosas bacterias extracelulares contaminantes. No se observa reacción inflamatoria asociada.



fagocitado previamente neutrófilos cargados de bacterias (fig. 21). Pueden aparecer, también, extracelularmente si se produce la rotura del neutrófilo, pero, en estos casos, hay que asegurarse de que no se trate de bacterias contaminantes o de flora intestinal normal (fig. 22) (por punción accidental de asas intestinales). Es importante destacar que la ausencia de bacterias no descarta una causa infecciosa, así como que la degeneración del neutrófilo también puede producirse en ausencia de bacterias (fig. 23). En exudados sépticos también puede observarse aumento de macrófagos y linfocitos, tanto en procesos agudos como crónicos.

Figura 23. Exudado séptico (56.300 células/ μ l; 4,1 g/dl de proteínas). Aunque no se observan bacterias extracelulares, la presencia de neutrófilos degenerados indica que, probablemente, la causa sea séptica.



La presencia de células plasmáticas suele ser respuesta a una estimulación antigénica crónica (fig. 24). Con menor frecuencia, la presencia de exudados sépticos se debe a la infección por hongos, protozoos o rickettsias.

Los exudados no sépticos se caracterizan por el predominio de neutrófilos no degenerados, picnóticos e hipersegmentados (fig. 25). Las causas que producen exudados no sépticos son muy variables. En general, todos los trasudados modificados terminan desarrollando características de exudado no séptico con el tiempo. Otras causas son pancreatitis, neoplasias o torsión de órganos internos.

Algunos procesos provocan exudados no sépticos con características propias. La infección por el virus de la peritonitis infecciosa felina se asocia a un líquido de color variable, aunque predomina el amarillo, y muy denso por su alto contenido en fibrina. Generalmente, existe una discrepancia importante entre el valor de las proteínas y el recuento celular, ya que el primero suele ser muy elevado ($> 4,5$ g/dl), mientras que el número de células nucleadas experimenta un incremento moderado (suelen ser inferiores a $15.000/\mu\text{l}$; lo más frecuente es que se encuentren entre 2.000 y $6.000/\mu\text{l}$) entre las que predominan neutrófilos no degenerados (60-80%) y macrófagos, acompañados de un número variable

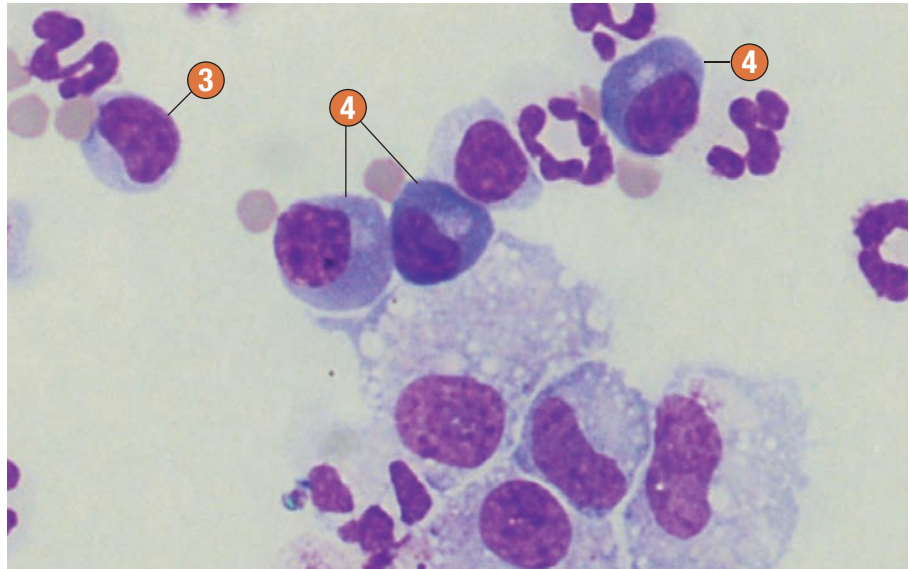


Figura 24. Células mesoteliales activadas, linfocitos activados y células plasmáticas.

3 Linfocito; 4 Célula plasmática.

Figura 25. Exudado aséptico (92.200 células/ μl y $3,6$ g/dl de proteínas). Predominio de neutrófilos no degenerados hipersegmentados. Se observa una imagen de leucofagocitosis en un macrófago en forma de "anillo de sello" (señalado con flecha).

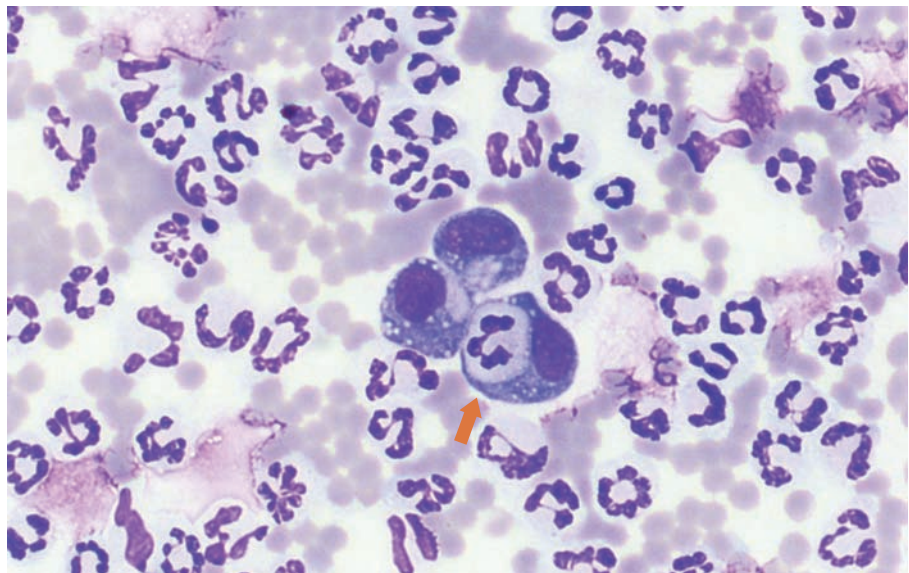
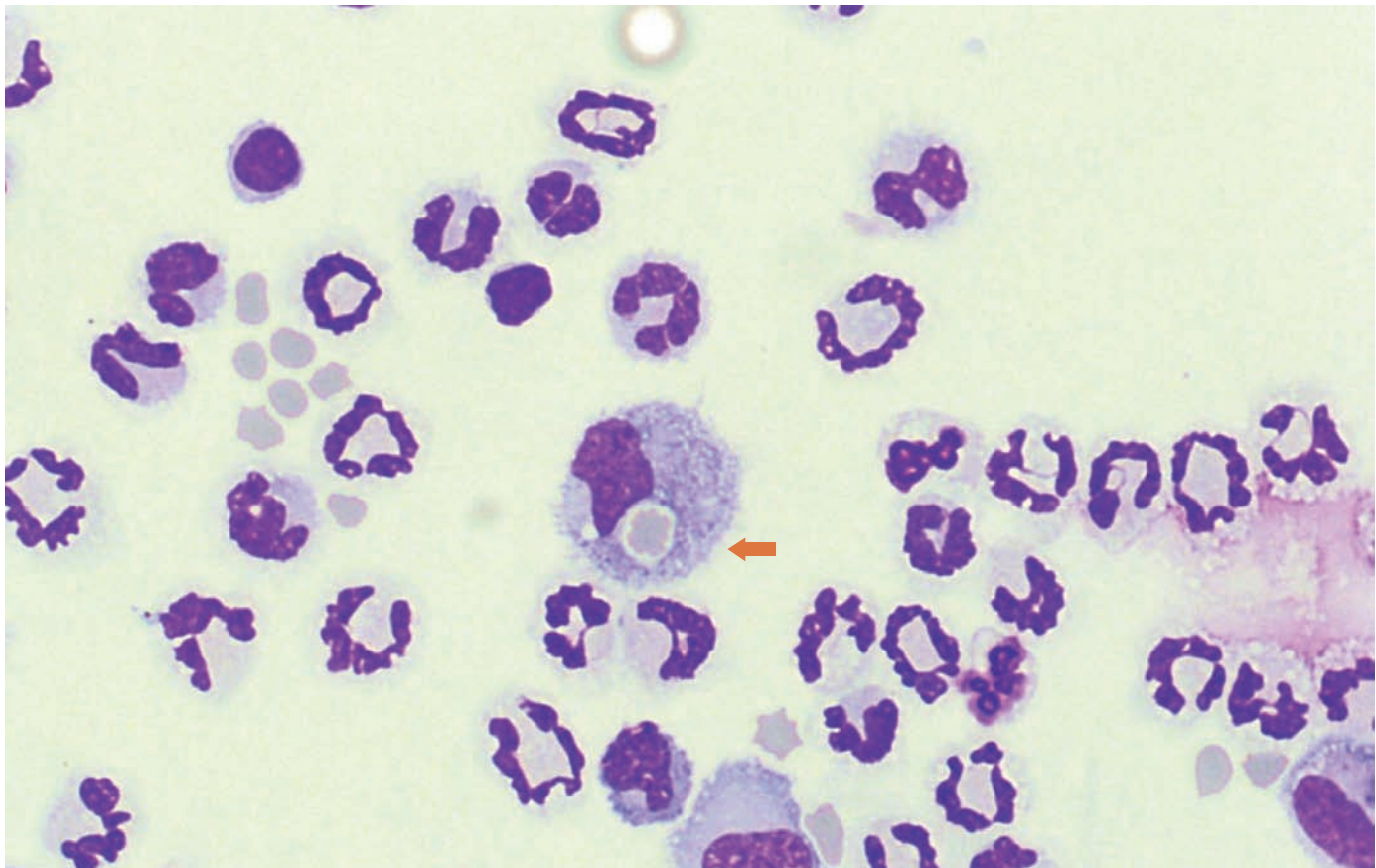


Figura 26. Exudado aséptico (5.100 células/ μ l y 6 g/dl de proteínas). Peritonitis infecciosa felina. Se observa predominio de neutrófilos no degenerados, hipersegmentados, linfocitos ocasionales y células mesoteliales (señalada con flecha se observa una imagen de eritrofagocitosis).

de linfocitos y células plasmáticas (fig. 26). Microscópicamente, el fondo puede presentar una apariencia granular por un precipitado eosinofílico que puede confundirse con bacterias. La rotura de la vesícula biliar o de la vejiga puede producir exudados no sépticos. En la primera, el valor de bilirrubina del líquido supera la del plasma; en la citología, los macrófagos pueden contener pigmento biliar amarilloverdoso. En el uroperitoneo, el valor de creatinina es muy superior al del plasma en las primeras 24 horas, aunque los niveles se igualan pasado este periodo. También es útil la determinación de potasio (valores superiores a 1,4 mEq/l son sugestivos de uroperitoneo). En uroperitoneos recientes el recuento celular y proteico puede encontrarse falsamente disminuido por la dilución provocada por la acumulación de orina en la cavidad abdominal.



Algunos derrames inflamatorios contienen un número significativo (> 10%) de eosinófilos (fig. 27). Aproximadamente el 50% de estas efusiones se asocian a neoplasia, fundamentalmente linfosarcoma, hemangiosarcoma y mastocitosis sistémica. Otras causas incluyen enfermedades parasitarias y de hipersensibilidad, y, menos frecuentemente, torsión pulmonar, neumotórax o linfangiectasia intestinal.

Derrames quilosos y pseudoquilosos

La presencia de líquidos blanquecinos o rosados y opacos, que no se aclaran después de la centrifugación, se asocia a efusiones quilosas o pseudoquilosas.

En la citología de un derrame quiloso o pseudoquiloso reciente predominan los linfocitos maduros (> 50%) (fig. 28), salvo si se asocian a linfosarcomas, en los que se incrementa significativamente el número de linfoblastos. En procesos crónicos aumenta el número de neutrófilos no degenerados y macrófagos, sobre todo si punciones previas han provocado procesos inflamatorios de forma secundaria.

La acumulación de quilo se asocia a obstrucciones del flujo linfático que terminan en situaciones de linfangiectasia. Existen derrames quilosos idiopáticos, pero la mayoría de las veces se asocian a neoplasias, granulomas o reacciones inflamatorias en mediastino, enfermedades cardiovasculares, roturas del conducto torácico o linfangiectasia intestinal.

Figura 28. Derrame quiloso (4.150 células/ μ l, 3,8 g/dl de proteínas). Se observa un predominio de linfocitos maduros (> 50%) y células mesoteliales espumosas.

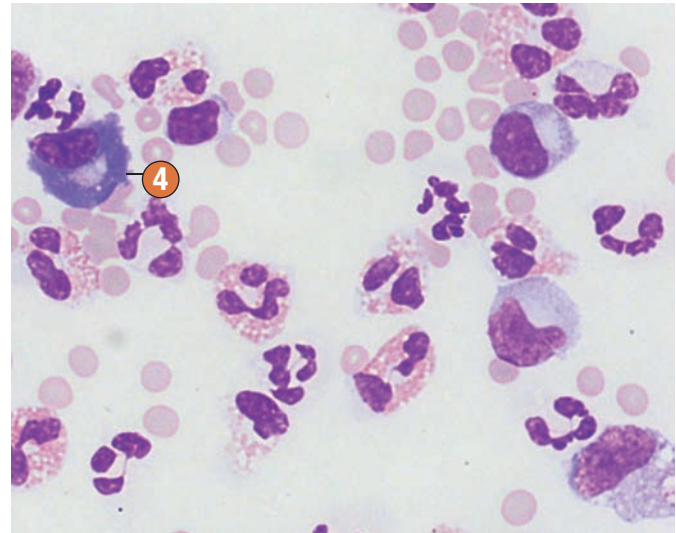
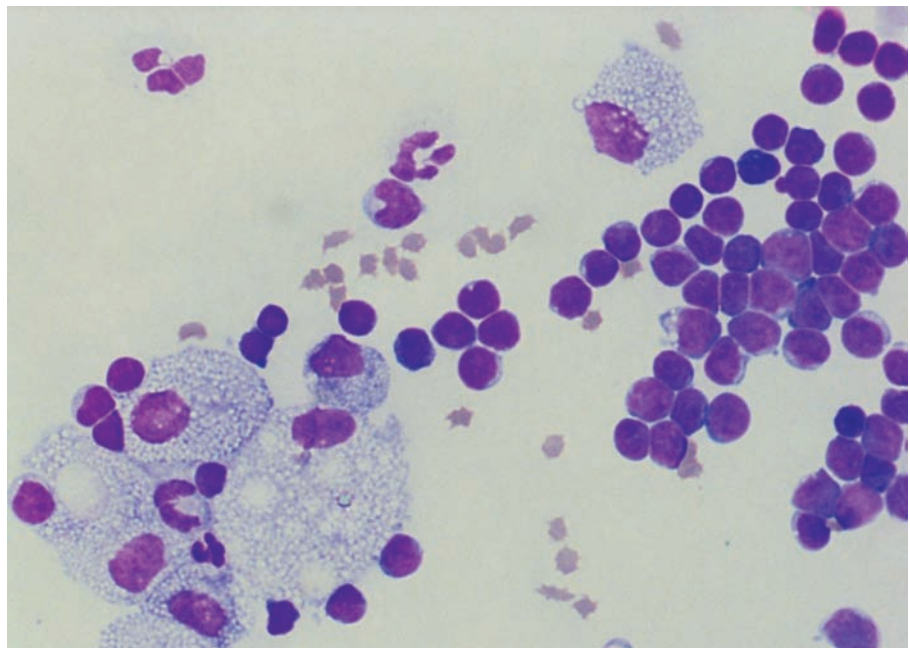


Figura 27. Derrame eosinofílico (1.400 células/ μ l, 4,2 g/dl de proteínas). El porcentaje de eosinófilos es del 49% del total de células nucleadas. Se observa una célula plasmática. 4 Célula plasmática.



Las efusiones pseudoquilosas son más raras en medicina veterinaria. A diferencia de los quilos verdaderos no contienen grasa. Suelen asociarse a cardiopatías felinas y linfosarcomas, aunque pueden producirse por otras causas neoplásicas o inflamatorias.

La determinación de los triglicéridos y colesterol de la muestra es fundamental para diferenciar entre un derrame quiloso o pseudoquiloso. En el primero, la concentración de triglicéridos es superior a la del suero y la concentración de colesterol es menor; mientras que en el derrames pseudoquilosos los hallazgos son inversos.

Derrames hemorrágicos

Los derrames hemorrágicos se producen por rotura de los vasos o alteraciones en la integridad del endotelio vascular como consecuencia de procesos inflamatorios; el hematocrito de un derrame hemorrágico debe ser, al menos, entre un 10 y un 25% del de sangre periférica. Un hematocrito superior al 5% en el líquido es indicativo de hemorragia significativa.

La hemorragia intracavitaria debe diferenciarse de la contaminación sanguínea iatrogénica que se puede producir durante la toma de muestras. Varios factores ayudan a diferenciar entre los dos procesos, aunque las hemorragias hiperagudas (producidas menos de 45 minutos antes de la toma de muestras) pueden ser imposibles de diferenciar de la contaminación. En la toma de muestras ya puede establecerse un principio de diferenciación. Las muestras procedentes de una hemorragia intracavitaria muestran, desde el primer momento, su contenido hemático; por el contrario, las muestras que en un principio son claras y con el tiempo se vuelven hemorrágicas son indicativas de que se está produciendo contaminación. Es necesario, por lo tanto, interrumpir la aspiración en el momento en que el líquido se vuelva hemorrágico. Desde el punto de vista citológico, los principales factores diferenciadores

son la presencia de plaquetas o eritrofagocitosis. Normalmente, no se observan plaquetas en efusiones hemorrágicas después de una hora de producirse; además, las hemorragias verdaderas suelen contener macrófagos activados con eritrofagocitosis (fig. 29) o hemosiderina (pigmento gris verdoso) (fig. 30) y/o hematoidina (cristales amarillos brillantes) intracitoplasmática, que aparecen a las

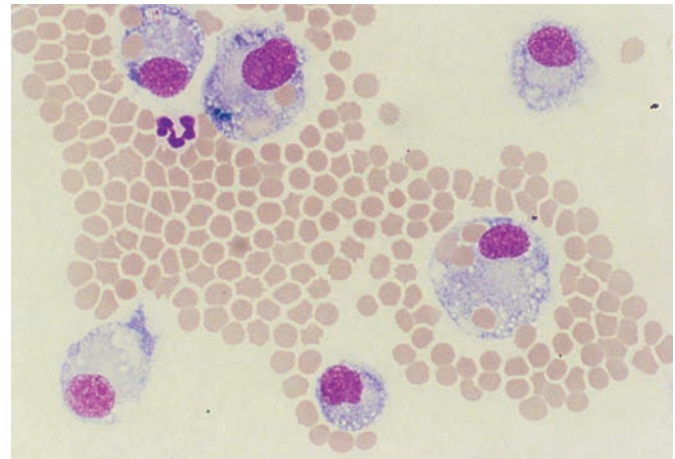


Figura 29. Derrame hemorrágico con presencia de macrófagos en proceso de eritrofagocitosis.

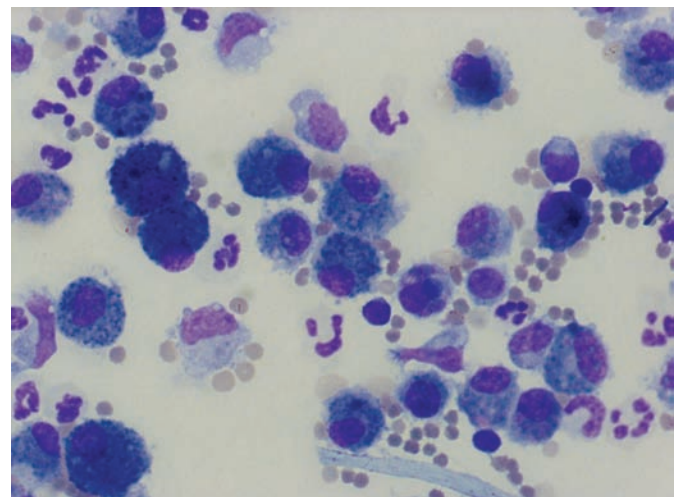


Figura 30. Derrame hemorrágico con presencia de macrófagos cargados de pigmento (producto de degradación de la hemoglobina).

24 horas de haberse producido la hemorragia. Por el contrario, la contaminación yatrogénica con sangre periférica durante la punción contiene plaquetas; además, el hematocrito del fluido es igual al de sangre periférica. En ocasiones, puede coexistir la presencia de plaquetas y eritrofagocitosis, lo que suele indicar hemorragia activa persistente.

Si el recuento de células nucleadas es significativamente mayor que el de sangre periférica, la hemorragia es consecuencia de procesos inflamatorios. Si se asocia a procesos neoplásicos, puede ser posible observar células malignas en la citología. Otras causas de derrames hemorrágicos son traumatismos, intoxicaciones por anticoagulantes, coagulopatías (incluyendo coagulación intravascular diseminada) y filariosis.

La mayoría de los derrames pericárdicos son hemorrágicos, por causas idiopáticas o neoplásicas (hemangiosarcoma, quemodectoma o mesotelioma). Es difícil visualizar células neoplásicas, por lo que la evaluación citológica suele tener escaso valor para diferenciar entre ambos procesos. Además, los derrames pericárdicos pueden producir una intensa proliferación de células mesoteliales, por lo que es frecuente que las células exfoliadas presenten características indicativas de malignidad, lo que dificulta la diferenciación con mesoteliomas. La determinación del pH en el fluido para diferenciar procesos pericárdicos benignos de neoplásicos es controvertida.

Derrames neoplásicos

Los derrames neoplásicos presentan características físicas y bioquímicas variables (normalmente se corresponden con trasudados modificados o exudados de tipo serohemorrágico), de forma que es imprescindible el examen citológico de las mismas para poder establecer un diagnóstico de neoplasia. No obstante, muchos tumores no exfolian fácilmente, por lo que no puede descartarse neoplasia aunque no se observen células malignas. Un trasudado modificado hemorrágico o serosanguinolento sin otra causa aparente suele asociarse a neoplasias no exfoliativas.

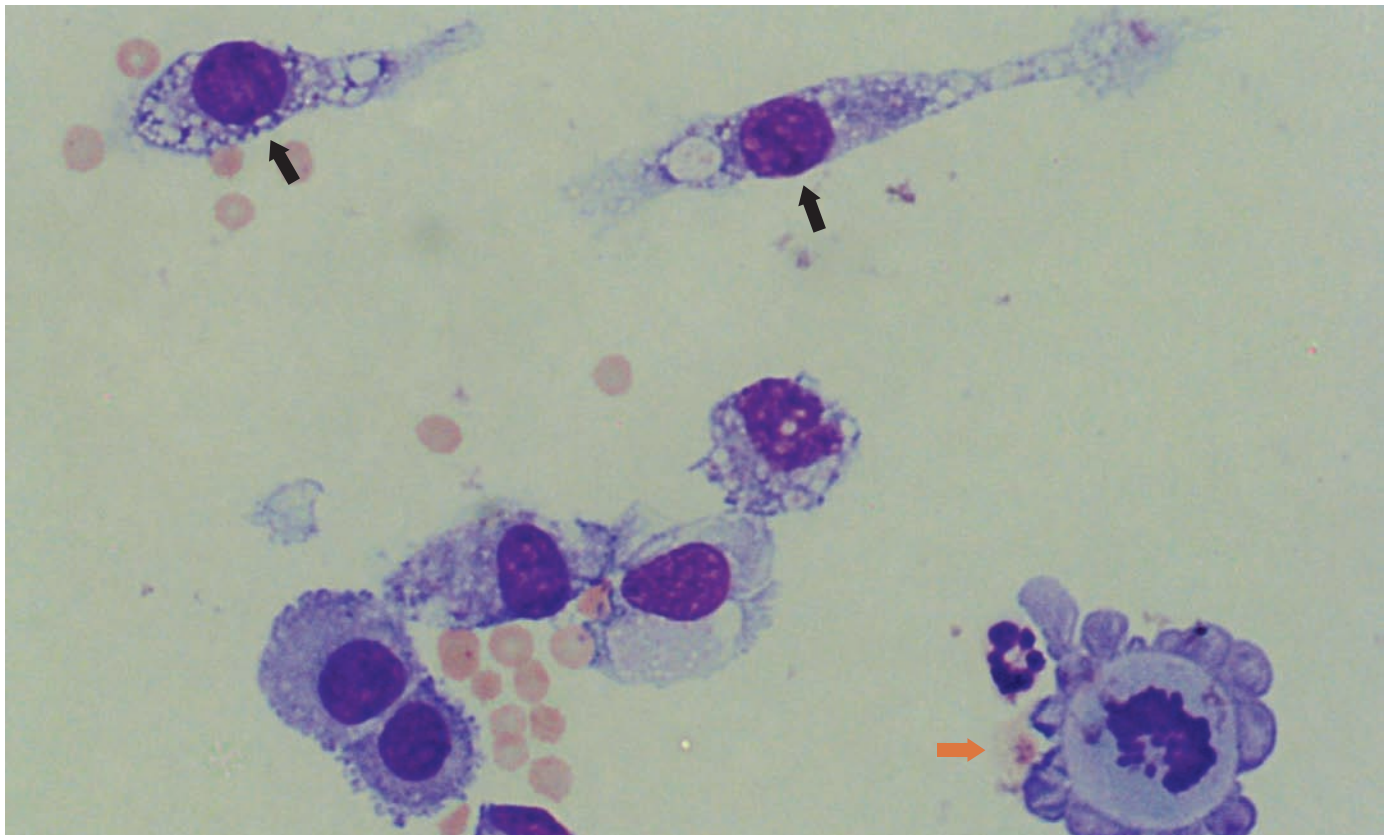
Los linfosarcomas, mastocitomas, mesoteliomas y tumores epiteliales son los que exfolian más fácilmente. El reconocimiento de las células neoplásicas es mucho más difícil en presencia de inflamación, ya que ésta conduce a cambios displásicos en células normales, fundamentalmente mesoteliales, que pueden adoptar criterios semejantes a la malignidad. Por

ello, es muy importante no confundir células mesoteliales normales reactivas con células neoplásicas.

La sensibilidad de la evaluación citológica para diagnosticar tumores malignos en cavidades es del 64% en perros y 61% en gatos; sin embargo, la especificidad es del 95% en perros y del 100% en gatos, lo que indica que existen altísimas probabilidades de neoplasia cuando los resultados citológicos así lo indican.

Es difícil diagnosticar sarcomas en líquidos orgánicos. Menos de un 25% de los casos de hemangiosarcoma pueden diagnosticarse mediante la evaluación citológica de un derrame. Es muy difícil encontrar células tumorales en derrames hemorrágicos con un hematocrito superior al 20%. Cuando están presentes, las células de hemangiosarcoma pueden perder su típica apariencia fusiforme y se observan, incluso, de forma poligonal, con un citoplasma pálido que contiene pequeñas vacuolas claras (fig. 31).

Figura 31. Derrame neoplásico (trasudado modificado: 650 células/ μ l; 3 g/dl de proteínas). Se observan células mesoteliales, una de ellas en mitosis (señalada con flecha de color), y dos células fusiformes propias de sarcomas (señaladas con flechas negras).



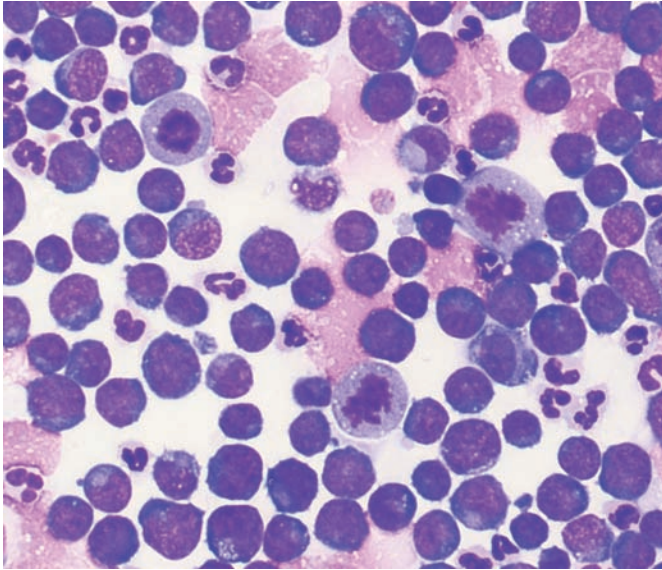


Figura 32. Derrame neoplásico. Linfosarcoma (9.300 células/ μ l; 3,4 g/dl de proteínas). Se observa una población homogénea de linfoblastos y numerosas mitosis atípicas.

El linfosarcoma es el tumor más fácil de diagnosticar mediante el estudio citológico del líquido, ya que, habitualmente, cursa con la presencia de una población numerosa de linfoblastos (fig. 32). En ocasiones, pueden ser células difíciles de reconocer; ya que en los líquidos orgánicos la morfología de los linfoblastos puede variar respecto a los tejidos sólidos, sobre todo a nivel nuclear; de esta forma, pueden perder la morfología nuclear redonda y adquirir formas irregulares (fig. 33).

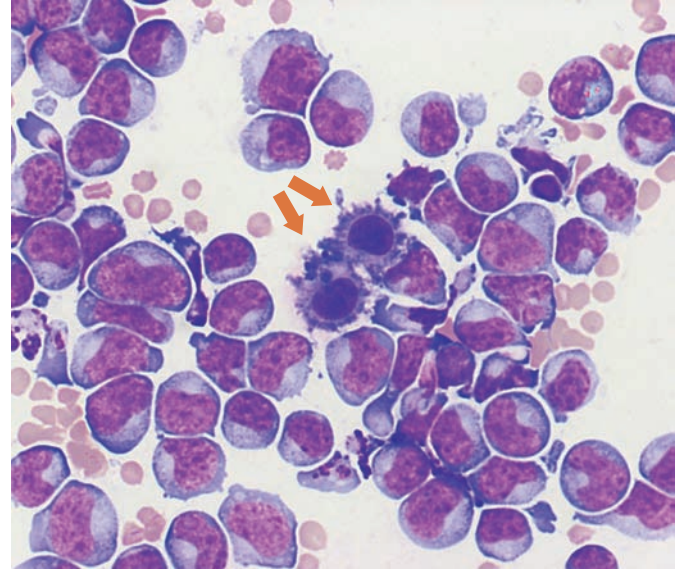


Figura 33. Derrame neoplásico. Linfosarcoma (7.600 células/ μ l; 1,2 g/dl de proteínas). Se observa un predominio de linfoblastos de gran tamaño; la morfología nuclear es muy irregular. Señaladas con flechas se observan dos células mesoteliales en reposo.

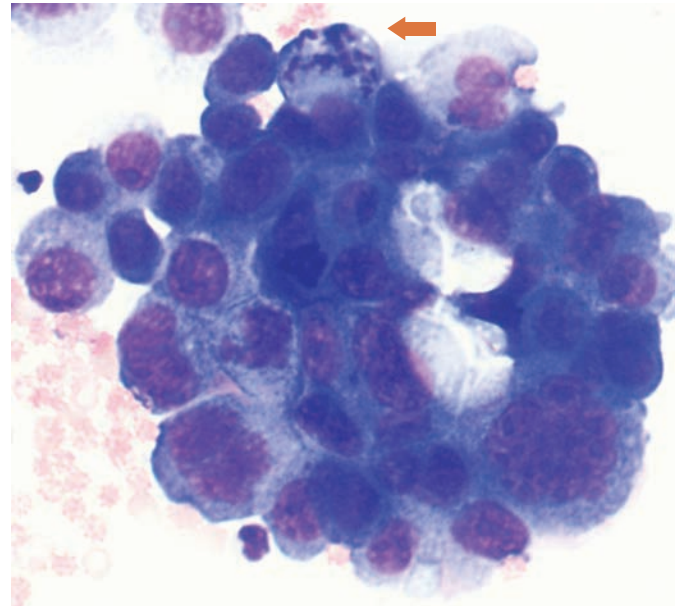


Figura 35. Derrame neoplásico. Mesotelioma (61.300 células/ μ l; 4,2 g/dl de proteínas). Grupo de células mesoteliales con variaciones nucleares significativas. Se observa una célula en mitosis (señalada con flecha).

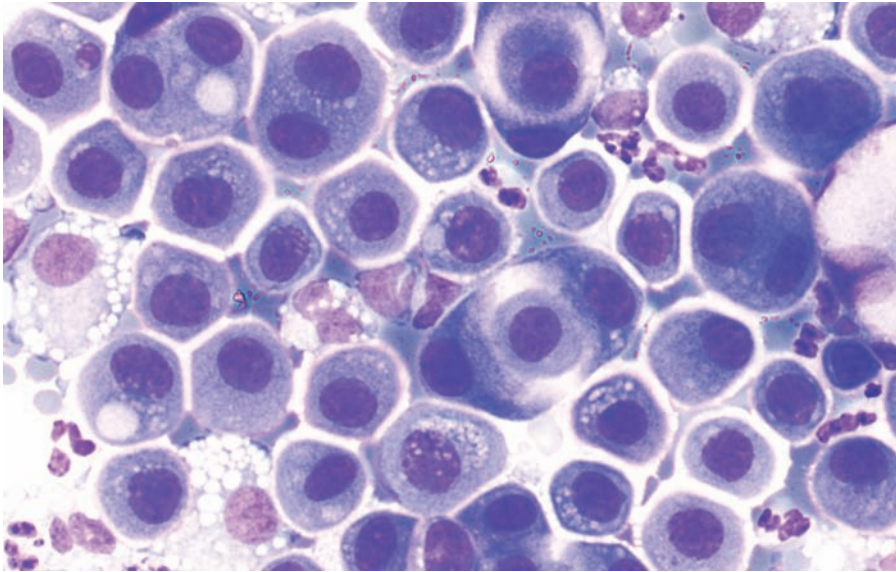
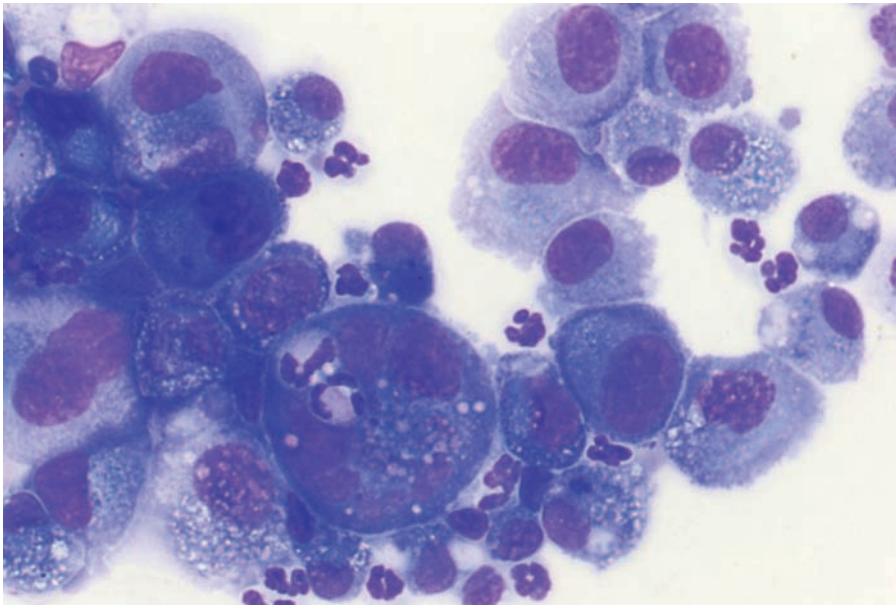


Figura 34. Derrame neoplásico. Mesotelioma (3.900 células/ μ l; 3,2 g/dl de proteínas). Citológicamente es difícil diferenciar si las atipias de las células mesoteliales se deben a cambios reactivos o neoplásicos.



Los mesoteliomas son tumores difíciles de diagnosticar por citología debido a la variabilidad de las células mesoteliales normales y a su semejanza con células procedentes de carcinomas o adenocarcinomas (fig. 34). Citológicamente, los líquidos presentan una elevada celularidad; las células neoplásicas se encuentran formando grupos, aunque también pueden observarse aisladas. Su citoplasma suele ser claro o ligeramente basófilo y vacuolizado, y presenta bordes bien definidos; las células gigantes multinucleadas y los nucléolos múltiples son frecuentes (fig. 36). Las células presentan un gran pleomorfismo dentro del mismo grupo o entre grupos (fig. 35). Es difícil diferenciar mesoteliomas anaplásicos de carcinomas, aunque su malignidad se reconoce más fácilmente.

Figura 36. Derrame neoplásico. Mesotelioma (15.000 células/ μ l; 5 g/dl de proteínas). Células mesoteliales de núcleos irregulares. Se observa una célula multinucleada con imagen de leucocitocitosis.

Los carcinomas y adenocarcinomas se diagnostican en función de sus criterios nucleares de malignidad. Las células neoplásicas suelen formar grupos. Estos grupos suelen diferenciarse de los de células mesoteliales porque presentan un mayor número de elementos, fuertemente unidos que se disponen tridimensionalmente con superposición de núcleos (fig. 37). La mayor parte de los adenocarcinomas presentan un gran número de células “en anillo de sello” (fig. 38). Las similitudes morfológicas entre células mesoteliales reactivas y células neoplásicas epiteliales dificulta fuertemente la interpretación, incluso para citólogos experimentados (fig. 39). Por ello, muchos citólogos consideran que, para diagnosticar una neoplasia epitelial en un líquido, deben observarse, al menos, cuatro criterios nucleares de malignidad.

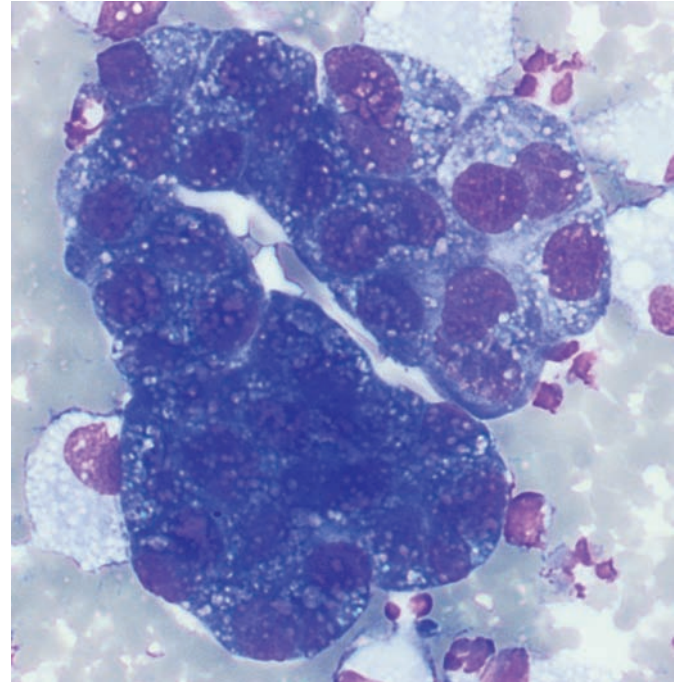
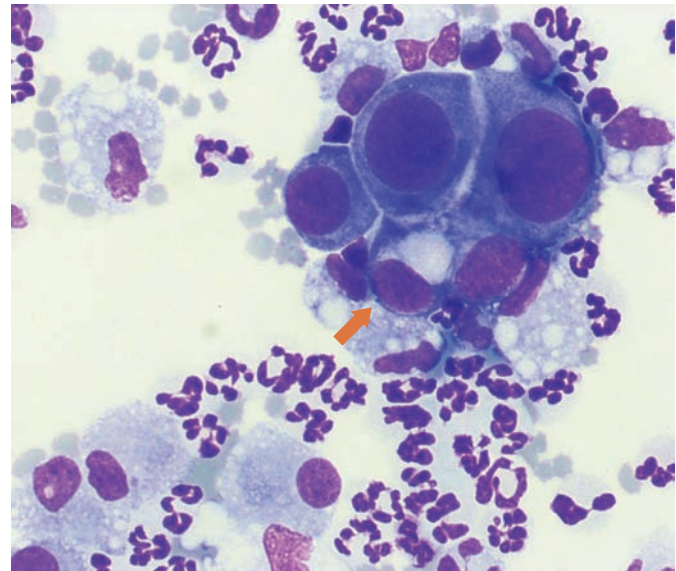


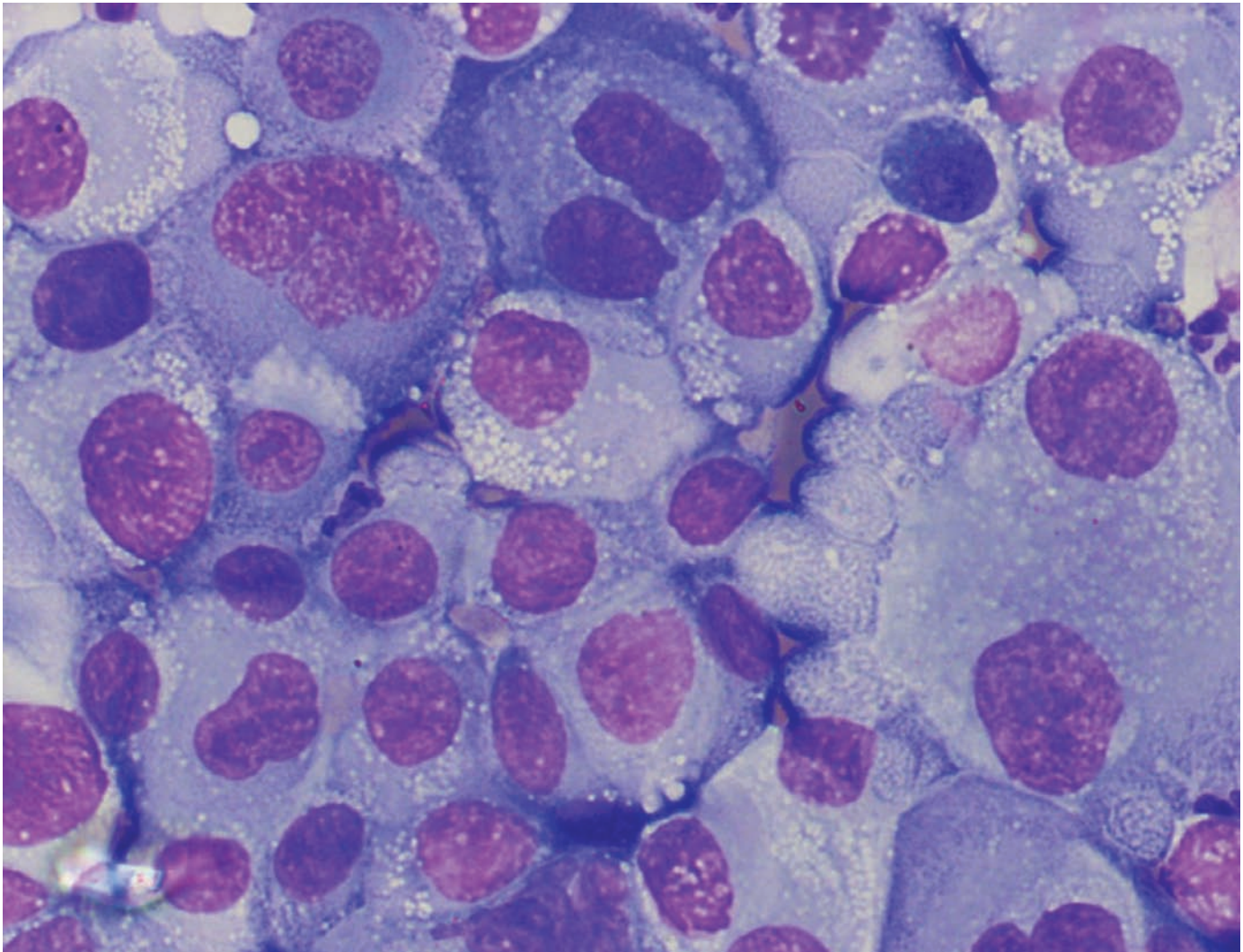
Figura 37. Derrame neoplásico. Metástasis de adenocarcinoma mamario (7.200 células/ μ l; 4,4 g/dl de proteínas). Grupo de células de adenocarcinoma.

Figura 38. Derrame neoplásico. Carcinoma pulmonar (7.600 células/ μ l; 5,4 g/dl de proteínas). Se observan numerosos neutrófilos, células mesoteliales activadas y un grupo de células neoplásicas, uno de ellas en “anillo de sello” (señalada con flecha).



Los mastocitomas se caracterizan por la presencia de grandes cantidades de mastocitos en el derrame; en los líquidos, los gránulos de los mastocitos suelen agruparse en un polo de la célula. Normalmente se asocian a la presencia de eosinófilos.

Figura 39. Derrame neoplásico. Carcinoma pulmonar (21.350 células/ μ l; 3 g/dl de proteínas). Citológicamente es difícil diferenciar células de carcinoma de células mesoteliales neoplásicas.



Líquido sinovial

Indicaciones del estudio citológico

El análisis del líquido sinovial es una herramienta diagnóstica importante, incluso esencial, junto a la exploración física y radiológica, en los animales que presentan síntomas de enfermedad articular:

Su estudio está indicado tanto en enfermedades articulares primarias como en enfermedades sistémicas que presenten algún grado de afectación articular. En general, las indicaciones del estudio del líquido articular comprenden cuatro situaciones clínicas: presencia de derrame articular con inflamación del área y dolor; cojera crónica o intermitente, sobre todo cuando no responde a tratamientos con antiinflamatorios no esteroides; marcha envarada, especialmente si se asocia a cuadros febriles; y deformación de la articulación que curse con cojera.

El análisis del líquido sinovial también es útil para evaluar la respuesta del proceso a la terapia instaurada.



Figura 40. Obtención de líquido sinovial de la articulación del carpo.

Recogida y manejo de las muestras

La articulación elegida para la obtención de líquido articular depende del cuadro clínico. En artropatías solitarias, la artrocentesis debe realizarse en la articulación afectada. En procesos de poliartritis debe realizarse una aspiración de varias articulaciones, incluyendo aquellas que parecen menos afectadas (fig. 40).

En general, la artrocentesis es un procedimiento doloroso que requiere la sedación o anestesia del paciente. Debe realizarse una limpieza quirúrgica de la zona. Una vez que la aguja se introduce en el espacio articular, el volumen del líquido obtenido depende de la articulación que se está evaluando (es mayor en la rodilla que en el carpo o el tarso) y de la alteración que padece. Es importante recordar que no debe mantenerse la aspiración cuando se extraiga la aguja, con el fin de minimizar la contaminación sanguínea y evitar la obtención de material de los tejidos blandos adyacentes.

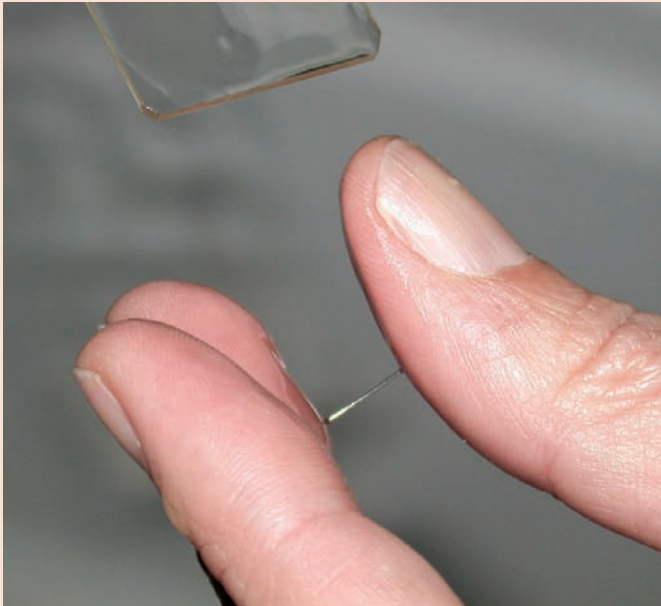
El mayor contenido proteico del líquido articular permite que la integridad de las células se conserve mejor que en otros líquidos orgánicos. Por ello, no es tan prioritario realizar el análisis de forma rápida; no obstante, se mantiene la recomendación de conservar la muestra en refrigeración hasta su análisis, que debe realizarse en un máximo de 24 h.

Las pruebas que se realicen sobre el líquido sinovial dependen del volumen conseguido en la artrocentesis. Si sólo se obtienen algunas gotas, el color y la turbidez deben valorarse en el momento de la obtención y la viscosidad en el momento de realizar la extensión (mediante la técnica de *squash*, frotis sanguíneo o extensión en línea) para, posteriormente, realizar el estudio citológico para valorar la celularidad de forma subjetiva y determinar los tipos celulares presentes. Si se obtiene mayor volumen, la muestra debe introducirse en un tubo de EDTA para realizar un recuento de células nucleadas, reservando una parte si se va a requerir un estudio microbiológico. Dependiendo de la celularidad, puede realizarse una extensión directa (recuento de células nucleadas > 5.000 células/ μ l) o, previa centrifugación, realizar una extensión del sedimento (recuento de células nucleadas entre 500 y 5.000/ μ l). Otra opción es realizar una citocentrifugación. Las muestras citológicas pueden teñirse con cualquier técnica Romanowsky.

El análisis del líquido articular incluye:

- Estudio de las características macroscópicas: volumen, color y turbidez: en articulaciones normales el volumen obtenido no suele superar los 0,3 ml. Una muestra de más de 1 ml de cualquier articulación es anormal. El líquido sinovial normal es transparente e incoloro o ligeramente amarillento. En muestras con elevada celularidad aumenta la turbidez. Los principales cambios en la coloración dependen de la presencia de sangre, bien contaminante, bien por hemartrosis.
- Determinación de la viscosidad: el líquido sinovial es muy viscoso por su alta concentración en ácido hialurónico; normalmente, el grado de viscosidad se valora subjetivamente (se coloca una gota del líquido entre el pulgar y el índice; cuando los dedos se separan, se debe formar una banda de una longitud mínima de 2,5 cm antes de romperse (fig. 41); también puede valorarse por la longitud de la banda que se forma al separar la aguja de una gota de líquido), definiéndolo como normal, disminuido o muy disminuido. La evaluación citológica también permite estimar la viscosidad.

Figura 41. Valoración de la viscosidad en un líquido articular.



- Recuento celular: aunque el recuento celular varía entre animales e, incluso, entre articulaciones, se considera que el normal debe ser inferior a 3.000 células/ μ l. No es conveniente realizar el recuento celular en contadores automáticos porque el elevado contenido en fibrina puede obstruirlos. Si no se obtiene suficiente volumen para determinar el recuento exacto, puede realizarse una aproximación subjetiva en la citología.
- Estudio citológico.

Interpretación citológica y tipos celulares que pueden estar presentes en el líquido articular

El estudio citológico de las muestras de líquido articular debe incluir la valoración del componente hemático, la estimación de la viscosidad y recuento celular (si no ha podido realizar un recuento exacto por falta de volumen), para finalizar con el recuento diferencial de las células nucleadas que permitirá, finalmente, establecer las diferencias entre líquido normal, hemartrosis y artropatías inflamatorias o degenerativas.

Las extensiones citológicas de líquido sinovial suelen presentar material eosinofílico granular extracelular que no debe confundirse con bacterias (fig. 42). Puede presentarse como láminas proteicas. Esta matriz es consecuencia de la presencia de ácido hialurónico y, por lo tanto, su cantidad y densidad permite una estimación del grado de viscosidad del líquido. Si es muy abundante, dificulta la tinción y reconocimiento de las células nucleadas. De esta forma, los neutrófilos pueden llegar a confundirse con linfocitos, ya que se observan pequeños y con un núcleo redondeado y oscuro (fig. 43). En estos casos, el reconocimiento celular debe realizarse en las áreas más periféricas de la extensión. La disposición de las células también permite estimar la viscosidad; si es normal, las células suelen observarse alineadas.

Figura 42. Matriz granular característica del líquido articular.

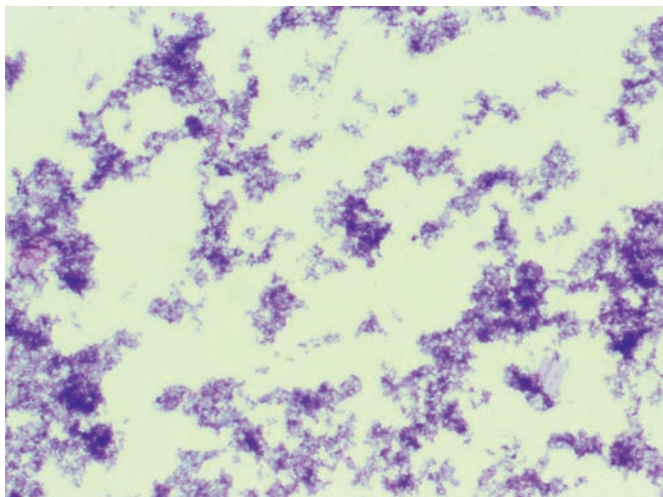
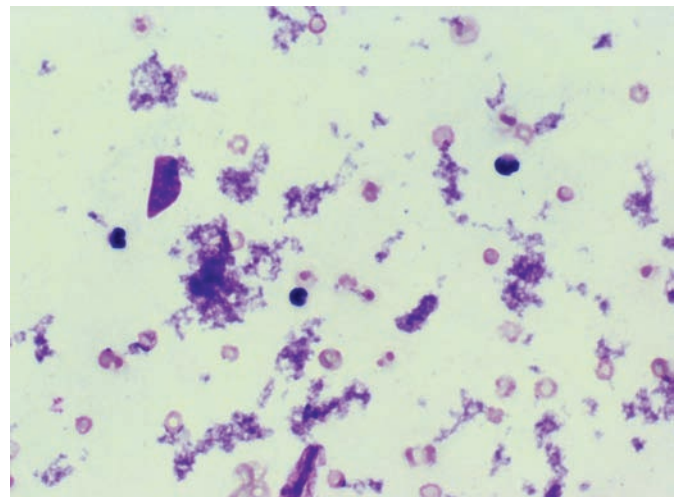


Figura 43. Las células nucleadas observadas son neutrófilos, aunque aparecen pequeños y prácticamente no se observan las lobulaciones del núcleo.



Los líquidos normales, sin contaminación sanguínea, presentan de 0 a 3 células por campo de inmersión (100x); de esta forma, puede valorarse subjetivamente el recuento celular; diferenciando entre celularidad normal o aumentada de forma ligera, moderada o marcada.

Finalmente, el estudio citológico concluye con el recuento diferencial de las células nucleadas. La población predominante del líquido articular son grandes células mononucleares con potencial macrofágico que derivan de monocitos sanguíneos, macrófagos tisulares o proceden de la membrana sinovial (sinoviocitos). Su origen es poco importante desde el punto de vista clínico, pero es importante determinar el porcentaje de células vacuolizadas y/o fagocíticas de restos, células o bacterias, que debe definirse como ligero, moderado o marcado. Debe evaluarse la morfología general de las células, describiendo cambios de cariólisis, picnosis o cariorexis. También pueden observarse neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas, así como células procedentes de capas más profundas de la superficie articular (condrocitos, osteoblastos, osteoclastos).

Características citológicas del líquido articular normal

Las extensiones del líquido sinovial normal presentan abundante matriz extracelular densa entre la que se observan, ocasionalmente, células nucleadas (fig. 44). No debe presentar hematíes. En el recuento diferencial deben predominar células mononucleares grandes (60-90%) sin características de activación, acompañadas de un número variable de linfocitos (10-40%). Los neutrófilos no deben superar el 5% y no deben observarse hematíes ni células óseas.

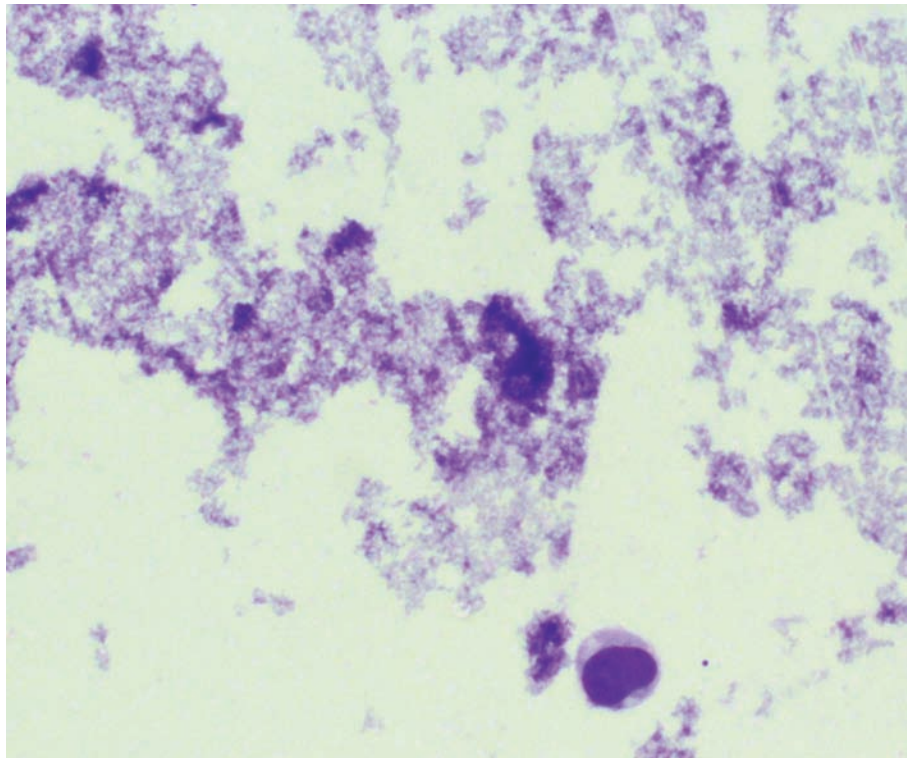


Figura 44. Líquido articular normal. Se observa abundante matriz extracelular y una célula mononuclear grande en reposo.

Características citológicas del líquido articular patológico

La evaluación citológica de un líquido articular patológico permite diferenciar la patogenia de la artropatía que padece el animal (tabla 2). Las características de viscosidad y el recuento celular se encuentran alterados en la mayoría de los procesos, de forma que el diagnóstico debe basarse en el recuento diferencial de las células presentes. Las alteraciones del líquido sinovial se incluyen en tres categorías: hemartrosis, artropatías degenerativas y artropatías inflamatorias. No obstante, en ocasiones, los líquidos muestran características de varias categorías, especialmente en procesos crónicos. Es poco frecuente diagnosticar procesos neoplásicos.

Tabla 2. Características citológicas del líquido articular patológico

	Características citológicas
Hemartrosis	Incremento del recuento de hematíes, ausencia de plaquetas, imágenes de eritrofagocitosis; predominio de células mononucleares, ligero aumento de neutrófilos.
Artropatía degenerativa	Incremento ligero-moderado de la celularidad; predominio de células mononucleares con incremento del número de células activadas.
Artropatía inflamatoria infecciosa	Incremento moderado de la celularidad; predominio de neutrófilos (\pm características degenerativas).
Artropatía inflamatoria no infecciosa	Gran incremento de la celularidad; predominio de neutrófilos (\pm características degenerativas).

Hemartrosis

La presencia de sangre en el líquido articular puede deberse a una hemorragia primaria asociada a traumatismos, a coagulopatías o secundaria a la inflamación de la cápsula articular:

En la hemartrosis, el líquido es hemorrágico desde el principio de la extracción. Si se puede centrifugar, el sobrenadante presenta una coloración amarillenta (xantocromía) por la degradación de la hemoglobina. En la citología se observa eritrofagocitosis o fagocitosis de pigmentos hemáticos (fig. 45). El recuento de neutrófilos suele estar ligeramente aumentado en hemorragias primarias por la inflamación que provoca la propia hemartrosis, pero no suele superar el 25% de las células nucleadas. La hemorragia asociada a procesos inflamatorios es, generalmente, ligera; también se observa eritrofagocitosis unida a los cambios asociados a la enfermedad primaria.

Debe establecerse un diagnóstico diferencial con contaminación sanguínea durante la toma de muestras. En este caso el líquido obtenido no es hemorrágico inicialmente, sino que se suele producir al final de la toma de muestras. El color del sobrenadante es transparente. Por último, en el estudio citológico, la contaminación se caracteriza por la presencia de plaquetas, sin eritrofagocitosis.

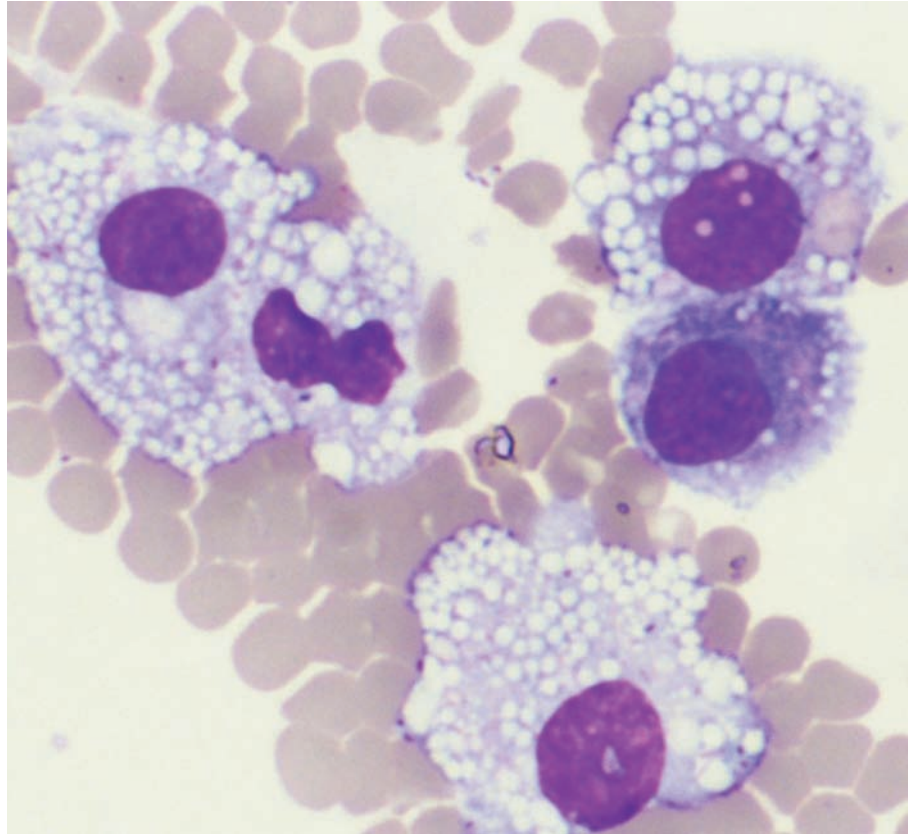


Figura 45. Hemartrosis. Se observan macrófagos con imágenes de eritrofagocitosis.

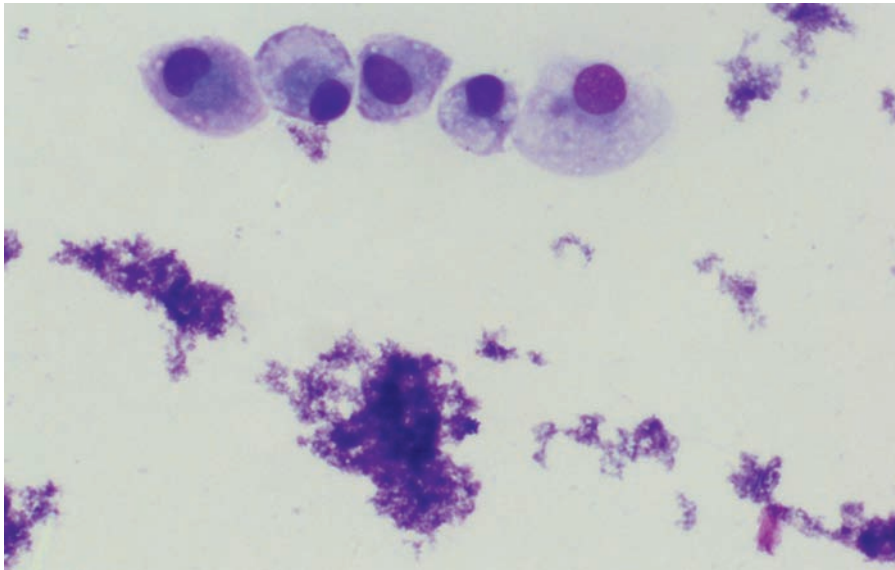
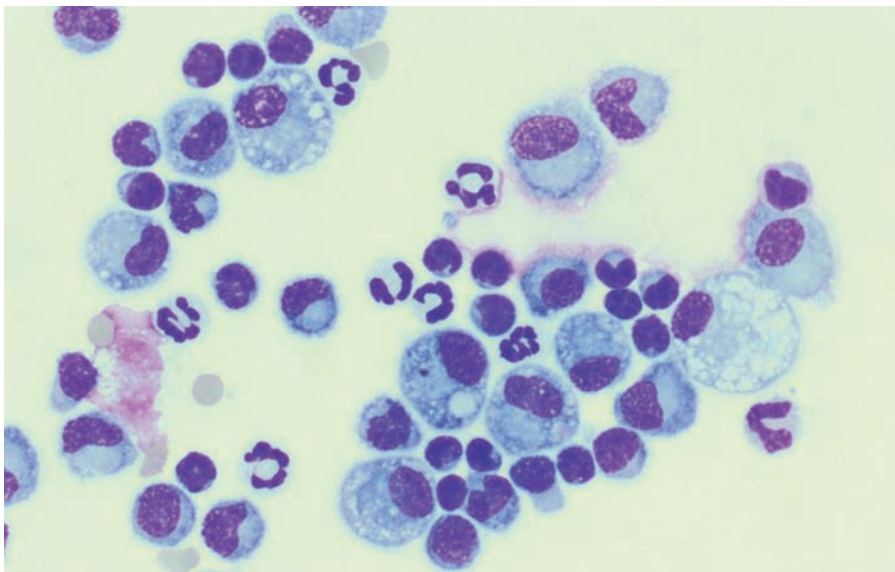


Figura 46. Artropatía degenerativa. La matriz extracelular está disminuida y se incrementa el número de células mononucleares con vacuolización citoplasmática.

Figura 47. Artropatía degenerativa. Se observa un predominio de células mononucleares grandes en diferentes fases de activación, linfocitos y neutrófilos.



Artropatías degenerativas

El líquido sinovial de las artropatías degenerativas puede mostrar alteraciones antes de que se observen en la radiografía.

La viscosidad puede ser normal, pero, generalmente, se encuentra ligeramente disminuida, lo que se refleja en la cantidad y densidad de la matriz proteica.

El recuento total de células nucleadas es normal o está aumentado de forma ligera o moderada (normalmente es menor de 5.000 células/ μ l), con predominio marcado de células mononucleares grandes, de las que más de un 10% están moderada o marcadamente vacuolizadas o fagocíticas (fig. 46). Generalmente el número de neutrófilos es normal, aunque, en algunos casos, puede estar aumentado hasta un 10-12%, sobre todo si el proceso se acompaña de cierto componente hemorrágico (fig. 47).

Si el daño articular es severo, pueden aparecer células de estratos más profundos, fundamentalmente condrocitos y osteoclastos y matriz densa no granular, de color rosado intenso, que corresponde con sustancia condroide/osteoide (fig. 48). Los condrocitos son células pequeñas, redondas o fusiformes y citoplasma basófilo; su presencia indica que la lesión articular ha alcanzado el cartílago (fig. 49). Los osteoclastos son células de gran tamaño (entre 5 y 10 veces el tamaño de un neutrófilo) de bordes citoplasmáticos irregulares, abundante citoplasma granular ligeramente basófilo y múltiples núcleos redondos (fig. 50). Cuando aparecen indican que el daño articular es tan importante que se ha producido la exposición del hueso. Deben diferenciarse de las células gigantes multinucleadas de origen macrófagico.

Figura 48. Artropatía degenerativa. Se observan numerosas células mononucleares grandes en diferentes fases de activación, linfocitos y matriz condroide/osteoide (señalada con flecha).

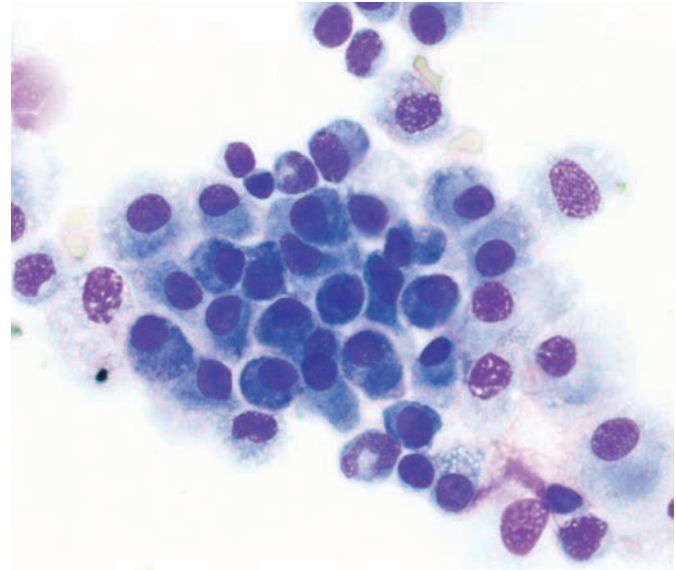
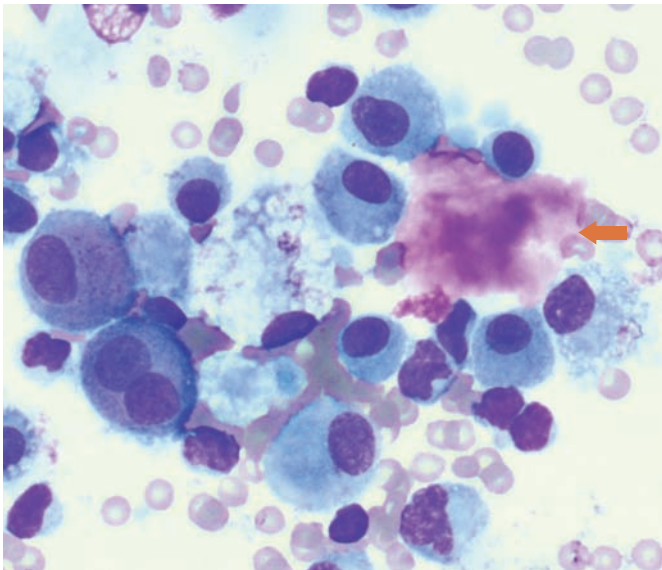
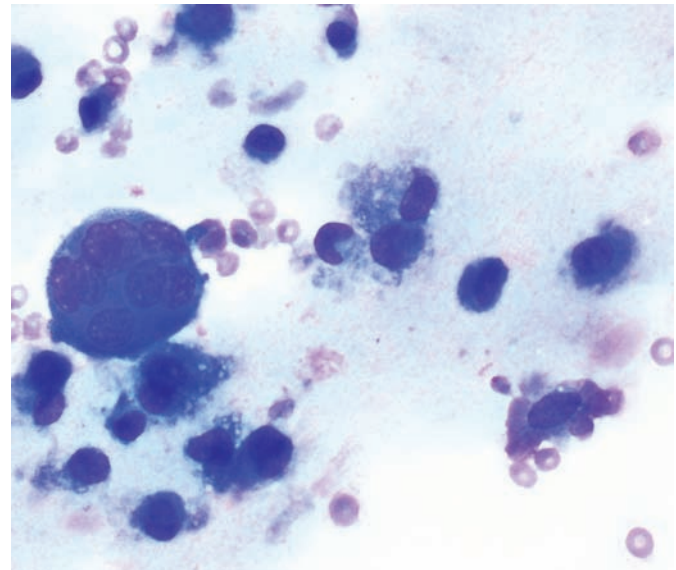


Figura 49. Artropatía degenerativa. Se observan células mononucleares grandes y numerosos condrocitos que indican que el daño articular es severo.

Figura 50. Artropatía degenerativa. Células mononucleares grandes, linfocitos y un osteoclasto.



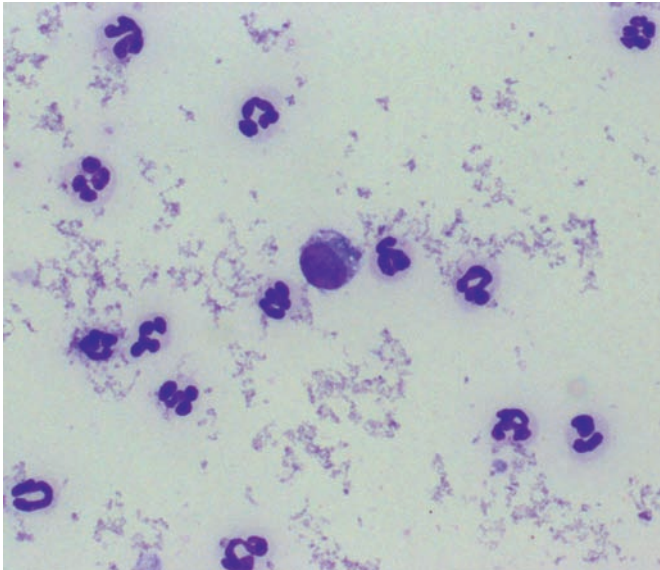
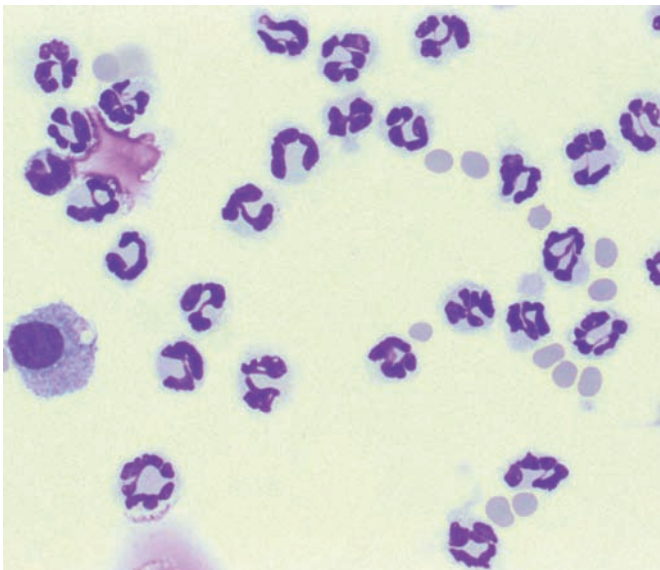


Figura 51. Artropatía inflamatoria (inmunomediada). La matriz extracelular se encuentra disminuida y la celularidad se encuentra muy aumentada, con predominio de neutrófilos no degenerados.

Figura 52. Artropatía inflamatoria (inmunomediada). No se observa matriz extracelular y la celularidad se encuentra muy aumentada, con predominio de neutrófilos no degenerados.



Artropatías inflamatorias

Existe un elevado número de causas de artropatías inflamatorias; en general, se dividen en dos grupos: infecciosas y no infecciosas. En ambas se produce un incremento de la celularidad (generalmente marcado) con un aumento moderado o marcado de neutrófilos y un incremento variable de las células mononucleares, muchas de las cuales presentan vacuolas o imágenes de fagocitosis. Es frecuente que aparezca diapedesis hemorrágica ligera. La viscosidad suele estar disminuida de forma moderada o marcada.

Las **artritis infecciosas** son muy poco frecuentes en pequeños animales; las bacterianas pueden acompañarse de cambios degenerativos en los neutrófilos, pero estos cambios degenerativos no suelen ser tan evidentes como en otros líquidos orgánicos, de forma que no puede descartarse un origen bacteriano en citologías en los que la morfología del neutrófilo se encuentra preservada; raramente se observan los microorganismos. Otras artritis infecciosas pueden estar causadas por *Borrelia* (enfermedad de Lyme), hongos, leishmanias o rickettsias.

Las **artritis no infecciosas** acompañan a un grupo heterogéneo de enfermedades, que, normalmente, son de origen inmunomediado (artritis reumatoide, síndrome poliartritis/polimiositis, poliartritis idiopática, lupus eritematoso). Los cambios en el líquido articular son comunes a todas ellas, de forma que es prácticamente imposible realizar un diagnóstico diferencial. Generalmente, el recuento celular está muy aumentado con predominio de neutrófilos (80%). No puede descartarse etiología inmunomediada aunque se observen cambios degenerativos en los neutrófilos (figs. 51 y 52).

Ocasionalmente, en casos de lupus eritematoso puede observarse la presencia de células específicas de lupus, que deben diferenciarse de macrófagos. Las células de lupus son células fagocíticas, principalmente neutrófilos, con núcleo periférico y una inclusión citoplasmática densa, rosapúrpura, que representa ADN parcialmente degradado y fagocitado.

La sinovitis plasmocítica-linfocítica (variante de artritis reumatoide) cursa con aumento de la celularidad con 10-40% de neutrófilos y aumento de células linfoides

En las poliartritis eosinofílicas se observa un incremento del número de eosinófilos, que puede alcanzar el 50%.

Artropatías neoplásicas

Los tumores que afectan a articulaciones son poco frecuentes, bien primarios (sarcoma sinovial) o por extensión secundaria (osteosarcomas, condrosarcomas, fibrosarcomas). El líquido sinovial puede presentar características degenerativas o inflamatorias; ocasionalmente pueden observarse células neoplásicas (fig. 53).

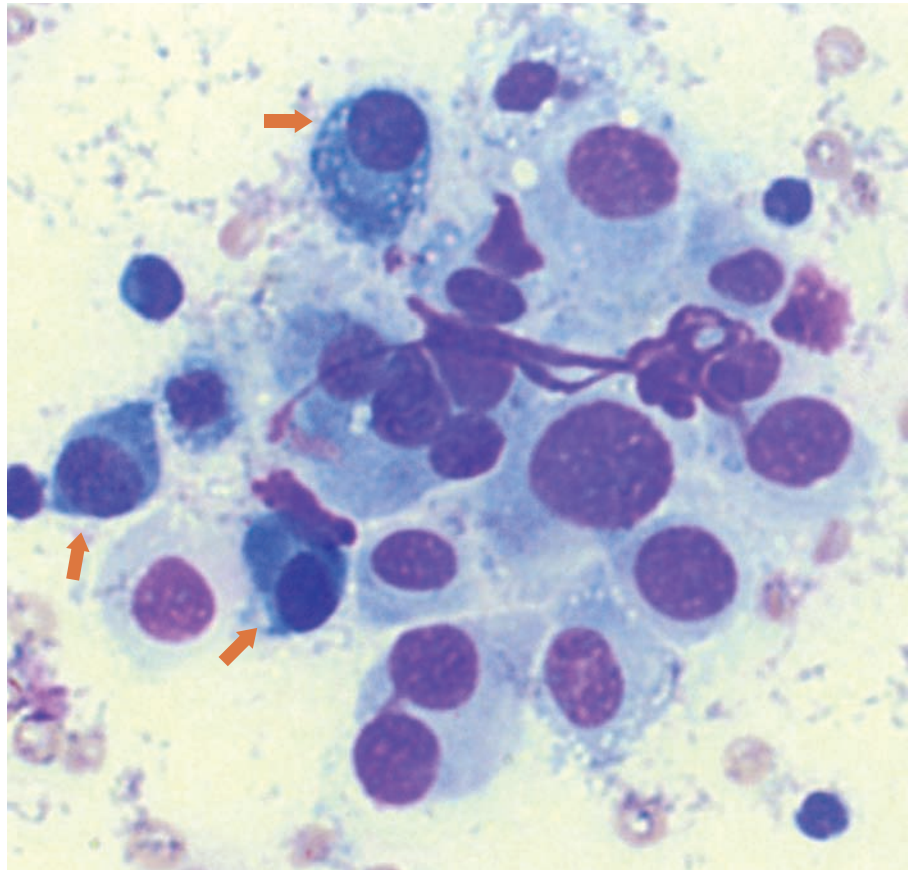


Figura 53. Sarcoma sinovial. Se observan células con características de malignidad (anisocariosis, cromatina heterogénea, célula binucleada), junto a células mononucleares activadas (señaladas con flecha) y linfocitos. La matriz extracelular se encuentra muy disminuida.

Líquido cefalorraquídeo

Indicaciones del estudio citológico

El análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) es una prueba básica en el diagnóstico de pacientes con enfermedad neurológica. Siempre es necesario interpretar los resultados del análisis del LCR junto al resto de datos del paciente (anamnesis, exploración neurológica, radiología, analítica general, etc.). El LCR es el único tejido accesible del sistema nervioso central y su estudio está justificado cada vez que se sospeche de una alteración del mismo en pacientes con hemograma y bioquímica normales. Las enfermedades inflamatorias, infecciosas, neoplásicas, traumáticas y degenerativas del sistema nervioso central producen alteraciones, en mayor o menor grado, del LCR; sin embargo, las enfermedades congénitas, metabólicas y tóxicas suelen cursar con LCR normal. Aunque es raro que el análisis del LCR permita emitir un diagnóstico definitivo (< 2% de los casos), es útil para confirmar la presencia y tipo de enfermedad neurológica primaria, incluso cuando los resultados de otras pruebas, como la resonancia magnética, sean normales; además, análisis seriados de LCR ayudan a evaluar la respuesta al tratamiento y obtener datos básicos antes de interrumpirlo. Por último, es importante obtener y analizar el LCR antes de las mielografías.

A diferencia de otras muestras, la obtención de LCR no está exenta de complicaciones. Como requiere anestesia general, está contraindicado en cualquier paciente con riesgos anestésicos elevados. Además, la obtención de LCR en pacientes con aumento de presión intracraneal o hernia tentorial puede acelerar o agravar el cuadro.

Recogida y manejo de las muestras

El procedimiento requiere anestesia general del paciente. El LCR puede obtenerse a nivel de la articulación atlantooccipital o a nivel lumbar: La elección del punto de punción depende de la localización neurológica de la lesión. La recogida del líquido se realiza por flujo libre en un tubo con EDTA para el estudio citológico, y en un tubo estéril y sin anticoagulante si son necesarios estudios microbiológicos o estudios serológicos (fig. 54). Es conveniente desechar la primera gota para minimizar la contaminación.

Figura 54. Punción en articulación atlantooccipital para obtener LCR.



Las muestras de LCR deben analizarse con extrema rapidez, generalmente en los primeros 30 minutos, ya que la velocidad de degeneración celular es muy rápida debido a su pobreza de proteínas. Después de este tiempo se producen alteraciones celulares significativas (picnosis y desintegración del citoplasma) y el recuento celular disminuye por lisis. La adición de proteínas (una gota de suero o plasma autólogo) favorece la conservación celular. En general, el clínico debe acostumbrarse a realizar en la clínica de forma inmediata el recuento celular, la determinación aproximada de proteínas, y la sedimentación y fijación de la citología. La tinción e interpretación de la citología puede realizarse en un laboratorio especializado, así como la determinación cuantitativa de proteínas.

El análisis de LCR incluye:

- **Apariencia:** el LCR normal es completamente transparente e incoloro, semejante al agua. Cualquier cambio en la coloración (hemorrágico o amarillento) o la presencia de turbidez constituyen hallazgos patológicos. Debe haber un incremento aproximado de 200 células nucleadas/ μl o de 400 hematíes/ μl para que la turbidez se detecte macroscópicamente. Una coloración rojiza es característica de un incremento de hematíes, que puede ser debido a contaminación durante la toma de muestras o a la presencia de una hemorragia o a un incremento de la permeabilidad vascular secundaria a una inflamación. Un líquido hemorrágico inicialmente, pero que se aclara en pocos segundos o empieza claro y se tiñe a medida que progresa la toma de muestras suele ser consecuencia de la contaminación, ya que el procedente de hemorragia verdadera aparece teñido de forma difusa durante toda la extracción. La centrifugación de la muestra también ayuda a diferenciar entre contaminación y hemorragia: la alteración de color que persiste después de la centrifugación sugiere hemorragia previa, mientras que la contaminación produce un sobrenadante claro. El LCR de color amarillónaranja (xantocromía) aparece a las 4-6 horas después de una hemorragia subaracnoidea y puede persistir durante 3-4 semanas.
- **Recuento celular:** la celularidad del LCR normal e, incluso, anormal, es tan baja que los sistemas automáticos hematológicos no lo detectan. Debe realizarse un recuento manual directo en una cámara hemocitométrica, sin diluyentes. Es necesario reali-

Si el volumen de LCR obtenido es escaso, el estudio puede limitarse al recuento total y diferencial de células nucleadas, ya que estos aspectos son los más importantes para poder emitir un diagnóstico.

Las citologías se tiñen con técnicas hematológicas habituales.

zar el recuento de hematíes y de células nucleadas por separado para evaluar la contaminación sanguínea.

- **Concentración de proteínas:** la concentración de proteínas en el LCR es extremadamente baja, por lo que no sirve el refractómetro ni técnicas químicas. Puede estimarse con una tira de orina, y debe confirmarse posteriormente de forma cuantitativa en un laboratorio.
- **Citología:** para realizar el recuento diferencial y el examen citológico del LCR es necesario concentrar las células, evitando su destrucción. No es conveniente centrifugar la muestra ya que se favorece la lisis celular. El mejor método de concentración es la citocentrifugación. Puede sustituirse por técnicas de sedimentación, aunque la morfología celular no se mantiene de forma óptima. La cámara de sedimentación se elabora con un cilindro de plástico de 15 mm de diámetro y 2 cm de altura fijado al portaobjetos con vaselina (por ejemplo el cilindro de una jeringa de insulina). Con una pipeta, se deposita 0,5-1 ml de LCR y se permite sedimentar durante media hora. El sobrenadante se aspira con una pipeta Pasteur, se retira el cilindro, se seca cuidadosamente el líquido sobrante con un papel secante y las células adheridas se fijan rápidamente al aire mediante agitación vigorosa. Un secado rápido y su protección del calor y la humedad es esencial para preservar la morfología celular.

Interpretación citológica

El estudio citológico del LCR debe realizarse incluso cuando el recuento celular es normal, porque pueden existir alteraciones en la morfología celular y/o en el recuento diferencial sin que se modifique el número total de células nucleadas.

Las células del LCR degeneran rápidamente. En muchas ocasiones, el proceso degenerativo es tan intenso que impide la realización del estudio citológico, ya que puede ser imposible reconocer los diferentes tipos celulares (fig. 55). A esta limitación hay que añadir las dificultades que entraña realizar un recuento diferencial significativo debido a la escasa celularidad y a la extrema dispersión de las células presentes, sobre todo si no se emplean técnicas de concentración eficaces.

Es muy poco frecuente que los hallazgos citológicos sean específicos de una única enfermedad. En la mayoría de los casos, el objetivo del estudio citológico del LCR es determinar el tipo celular predominante, lo que permite definir un patrón citológico, común a una serie de procesos. De esta forma, al menos, se limita la lista de diagnósticos diferenciales (tabla 3).

En primer lugar debe valorarse si hay hemátis, cuya presencia puede indicar la existencia de una hemorragia o, más frecuentemente, contaminación sanguínea durante la toma de muestras. A continuación, se valorará la integridad de las células nucleadas; si es adecuada, se realizará un recuento diferencial clasificando los tipos celulares observados. En muchas ocasiones, es preferible realizar este recuento diferencial a aumentos intermedios (40x), ya que permiten la observación de campos más amplios. El empleo de objetivos de gran aumento (100x con aceite de inmersión) es esencial para la búsqueda de microorganismos o cuerpos de inclusión.

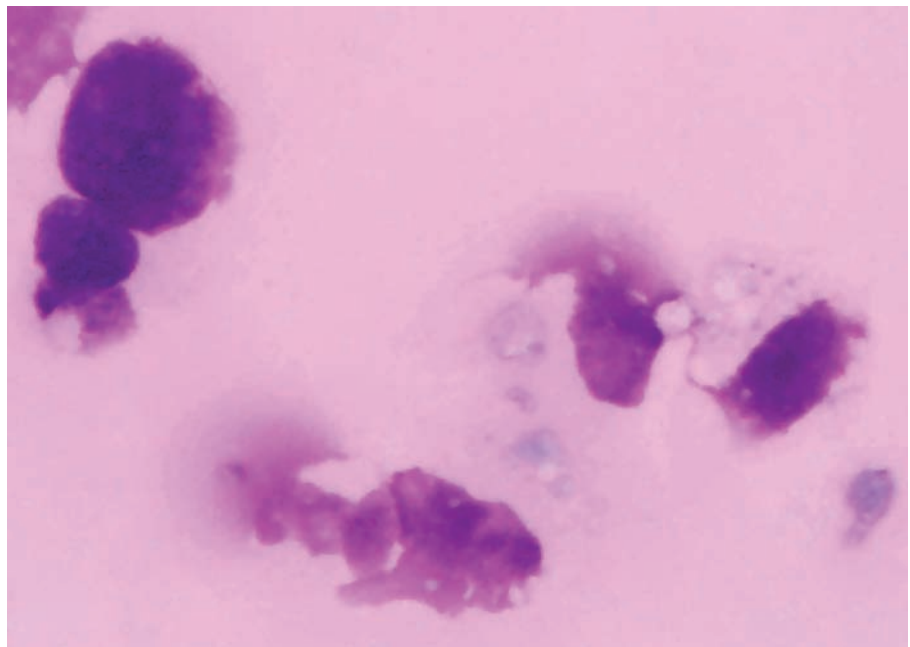


Figura 55. Citología de LCR en la que las células están tan degeneradas que son imposibles de identificar.

Tabla 3. Interpretación citológica del LCR

		Apariencia	RGR	RCN	Pr	Citología
No inflamatorias	Traumática/ compresiva	Claro	N	N/+	N/+	90% mononucleares; 30% PMN en procesos agudos.
	Degenerativa	Claro	N	N	N/++	Monocítica, macrófagos.
	Neoplásica	Claro	N/+	N/++	N/++	Raramente células tumorales; PMN y eosinófilos ocasionalmente; PMN en meningioma.
Inflamaciones infecciosas	Bacteriana	Turbio	N/++	++/+++	++/+++	> 80% PMN degenerados ± bacterias; imagen mixta en procesos crónicos.
	Vírica (menos PIF)	Claro	N	N/+	N/+	Mononuclear: 60-80% linfocitos.
	PIF	Turbio	N/+++	++/+++	++/+++	75-95% PMN; en 20-50% de los casos: imagen mixta con predominio de PMN.
	Fúngico	Claro-turbio	N/++	+/+++	+/+++	PMN inicialmente; mixta (con eosinófilos); organismos ocasionales.
	Protozoos	Claro	N/+	+/++	N/+	Mixta: predominan linfocitos, 10-20% PMN, 5-10% eosinófilos.
	Parásitos	Claro amarillento	N/++	N/++	++/+++	Mixta con bajo porcentaje de eosinófilos.
	Rickettsias	Claro	N/+	N/++	N/++	Linfocitos (ehrlichia); 80% PMN (fiebre de las Montañas Rocosas).
Inflamaciones no infecciosas	Responde a corticoides	Turbio	N/+	++/+++	+/+++	>80% PMN no degenerados.
	Necrotizante	Turbio	N/+	++/+++	+/+++	80% linfocitos.
	Vasculitis	Turbio	N/+	++/+++	+/+++	70-95% PMN no degenerados.
	Eosinofílica	Claro-turbio	N/+	+/+++	+/+++	> 50% de eosinófilos.
	Granulomatosa	Claro-turbio	N/++	+/+++	+/+++	Mixta.

RGR Recuento de hemátis; **RCN** Recuento de células nucleadas; **Pr** Proteínas; **N** Valor normal; **+** Valor ligeramente aumentado; **++** Valor aumentado de forma moderada; **+++** Valor aumentado de forma severa; **PMN** Neutrófilos; **PIF** Peritonitis infecciosa felina.

Características citológicas del LCR normal

El LCR normal debe ser completamente transparente (semejante al agua), ya que carece de hematíes y el recuento de células nucleadas es mínimo (tabla 4). La concentración de proteínas debe ser menor de 30 mg/dl.

En la citología prácticamente sólo se observan células mononucleares, con una mezcla de células monocíticas (o células mononucleares grandes) y linfocitos. Las primeras derivan de los monocitos sanguíneos; son células redondas, de forma nuclear variable (redondo, arriñonado, o en forma de banda) y citoplasma amplio y claro. La mayoría de los linfocitos son semejantes a los de sangre periférica, aunque pueden observarse formas reactivas, con mayor cantidad de citoplasma que, incluso, puede contener gránulos azurófilos o basófilos (fig. 56). Ocasionalmente pueden observarse macrófagos (formas activadas de los monocitos), caracterizados por su gran tamaño, morfología redondeada, abundante citoplasma con vacuolas e imágenes ocasionales de fagocitosis (fig. 57). La presencia de células leptomeníngeas es poco frecuente; son células de revestimiento que aparecen agrupadas, semejantes a las células mesoteliales en reposo observadas en otros líquidos orgánicos (fig. 58).

En algunas ocasiones, el LCR normal presenta un pequeño porcentaje de neutrófilos, que puede ser más significativo en muestras contaminadas con sangre. La presencia de eosinófilos siempre es anormal, excepto si proceden de contaminación.

Tabla 4. Características citológicas del LCR normal

	Perro	Gato
Recuento de células nucleadas (células/μl)	< 3	< 2
Recuento de hematíes (células/μl)	< 30	< 30
Células monocíticas (%)	87	69-100
Linfocitos (%)	4	0-27
Neutrófilos (%)	3	0-9
Eosinófilos (%)	0	0
Macrófagos (%)	6	0-3
Proteínas (mg/dl)	< 33	< 36

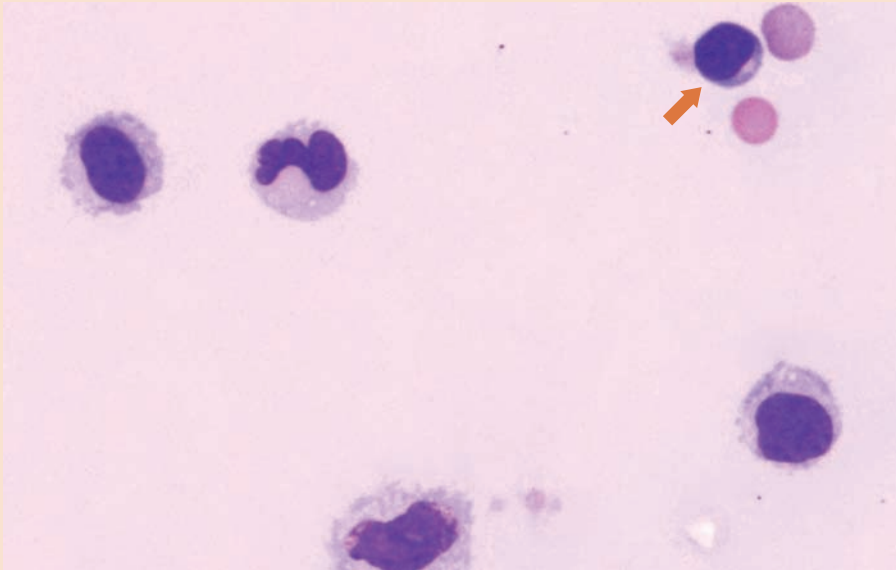


Figura 56. LCR normal (6 células/ μ l). Se observan células monocíticas y un linfocito ligeramente activado (señalado con flecha).

Figura 57. LCR normal (5 células/ μ l). Célula monocítica activada a macrófago (señalado con flecha) y un linfocito activado.

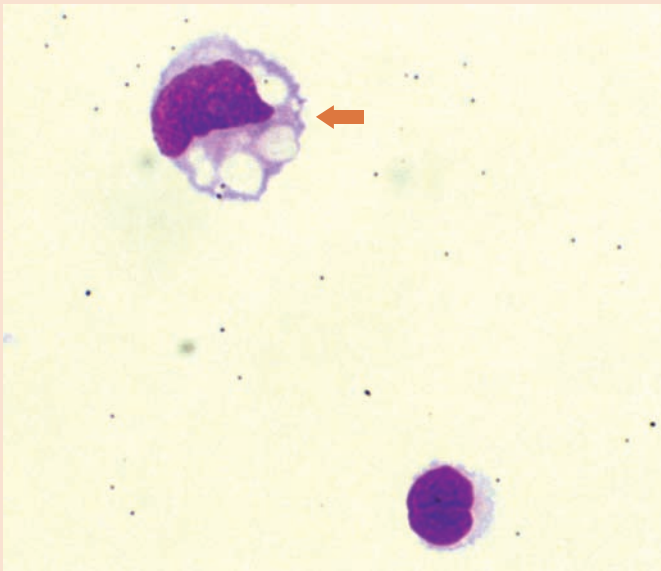
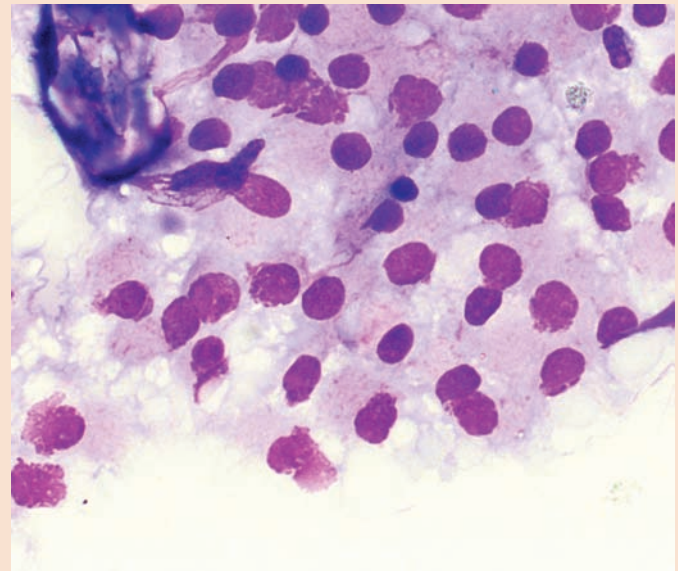


Figura 58. Grupo de células leptomenígeas.



Alteraciones citológicas sin modificación del recuento de células nucleadas

Las alteraciones del LCR se pueden producir sin modificar el recuento de células nucleadas. La presencia de hematíes o eosinófilos y un incremento en el porcentaje de neutrófilos son las modificaciones más frecuentes y se pueden producir por causas muy variables (tabla 5). Excepcionalmente, puede diagnosticarse neoplasia por la observación de células tumorales sin que el recuento total se vea afectado (fig. 59).

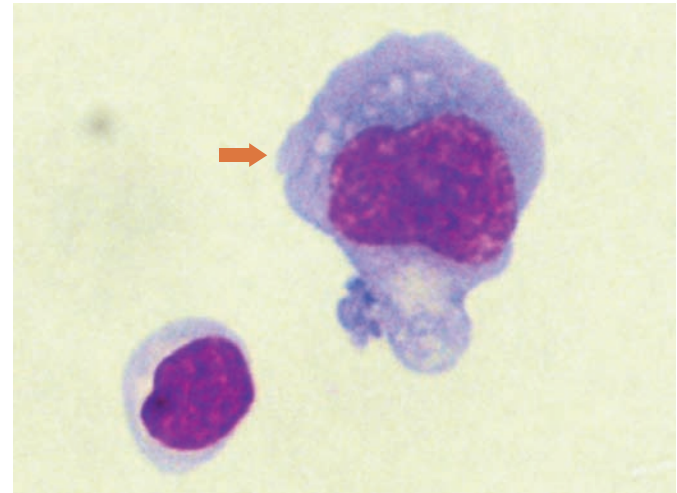


Figura 59. Linfosarcoma. LCR con recuento de células nucleadas dentro de la normalidad (2 células/ μ l), pero con un 54% de linfoblastos (señalado con flecha).

Tabla 5. Causas de alteraciones del LCR sin aumento del recuento celular

Incremento proteínas	Incremento neutrófilos	Incremento eosinófilos	Incremento hematíes
<ul style="list-style-type: none"> ■ Contaminación sanguínea ■ Hemorragias ■ Enfermedades no inflamatorias ■ Neoplasias ■ Enfermedades degenerativas 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Contaminación sanguínea ■ Lesiones agudas no inflamatorias ■ Tumores (inflamación y/o necrosis) ■ Inflamaciones ligeras 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Contaminación sanguínea ■ Hipersensibilidad ■ Parasitosis 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Contaminación sanguínea ■ Hemorragia ■ Diapedesis

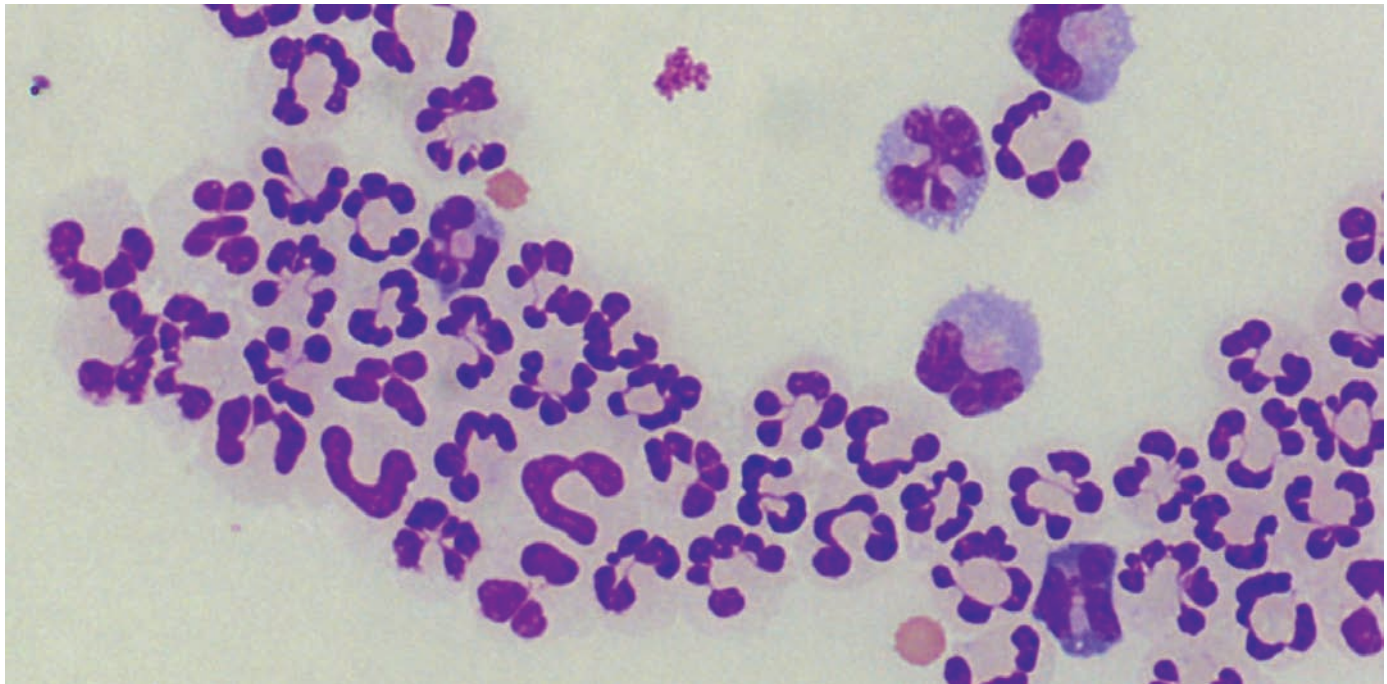
Alteraciones citológicas con modificación del recuento de células nucleadas

El aumento del recuento de células nucleadas en el LCR se denomina pleocitosis. La magnitud y tipo de células implicadas son características importantes que pueden ayudar a diferenciar enfermedades, aunque no siempre existe una fuerte correlación entre el incremento del recuento o su tipo y el diagnóstico o pronóstico del proceso. En general, se considera un aumento ligero a recuentos inferiores a 25 células/ μ l, moderado entre 26 y 100 células/ μ l y severo a recuentos superiores a 100 células/ μ l. La pleocitosis está causada por enfermedades neurológicas inflamatorias primarias o secundarias a traumatismos, neoplasia, infarto o hemorragia.

Pleocitosis neutrofílica

En el perro, el patrón de pleocitosis neutrofílica, en el que el porcentaje de neutrófilos supera el 70% del total de células nucleadas (fig. 60), se asocia, con mayor frecuencia, a la meningitis

Figura 60. Pleocitosis neutrofílica (recuento de células nucleadas de 631/ μ l con un 84% de neutrófilos no degenerados).



que responde a esteroides y a la vasculitis necrotizante. En ambos casos, el recuento celular puede ser extremadamente alto y los neutrófilos no experimentan cambios degenerativos. En gatos, la causa más habitual es la peritonitis infecciosa felina. Las meningitis bacterianas son muy raras en pequeños animales y suelen cursar con cambios degenerativos en los neutrófilos (fig. 61). Otras causas de pleocitosis neutrofilica son infecciones por rickettsias u hongos, y como resultado de necrosis del sistema nervioso central, habitualmente como respuesta a tumores, fundamentalmente meningiomas.

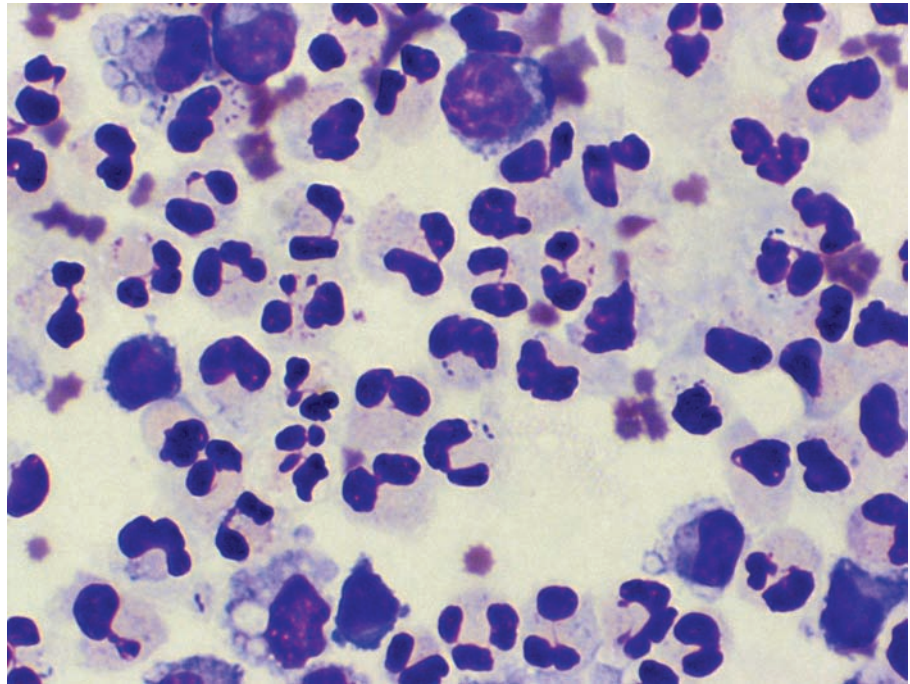


Figura 61. Pleocitosis neutrofilica de origen séptico (recuento de 271 células nucleadas/ μ l); se observan numerosas bacterias intracelulares.

Pleocitosis mononuclear linfocítica

La pleocitosis linfocítica se caracteriza por un predominio de linfocitos maduros y/o reactivos que comprenden más del 70% del total de células nucleadas (fig. 62). La causa más frecuente en el perro es el moquillo, aunque la mayoría de las infecciones víricas (con excepción de la peritonitis infecciosa felina) se asocian a este patrón. La meningoencefalitis granulomatosa puede asociarse a pleocitosis linfocítica, pero no puede descartarse en presencia de reacción neutrofilica o mixta. Los linfosarcomas que afectan al sistema nervioso central pueden cursar con incremento del recuento celular; y se diagnostican con facilidad porque predominan los linfoblastos (fig. 63). La escasa cantidad de proteínas del LCR provoca cambios en la morfología del linfoblasto, sobre todo a nivel nuclear; por lo que es frecuente observar células con núcleos irregulares, lobulados o en forma de trébol (fig. 64). Otras causas de pleocitosis linfocítica son la meningoencefalitis necrotizante de los Pugs, la ehrlichiosis (fig. 65) o la toxoplasmosis.

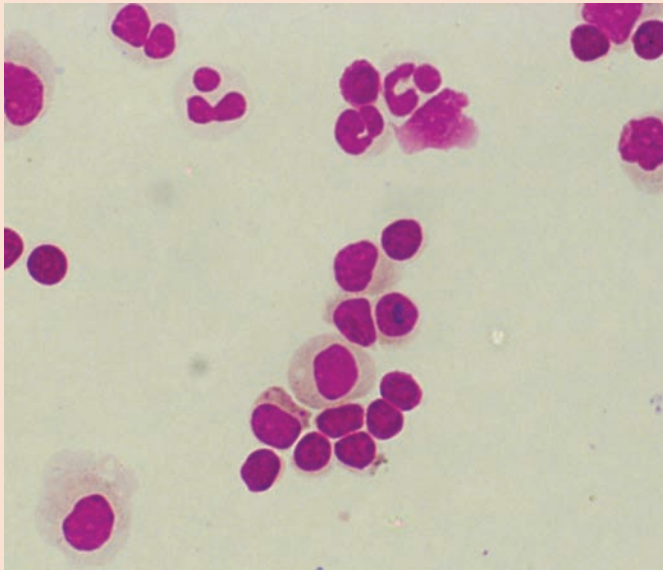


Figura 62. Pleocitosis linfocítica (recuento de 502 células nucleadas/ μ l con un 81% de linfocitos maduros y activados).

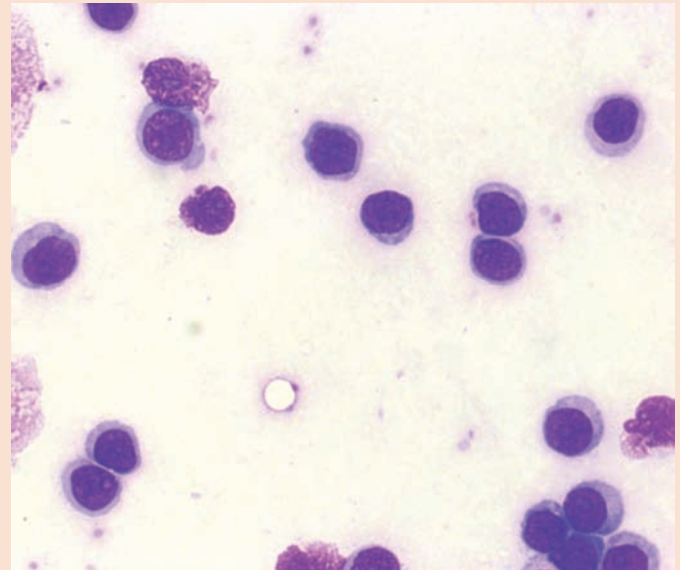


Figura 63. Linfoma (recuento de 140 células nucleadas/ μ l con predominio de linfoblastos).

Figura 64. Linfoma. La morfología de los núcleos de los linfoblastos es muy irregular:

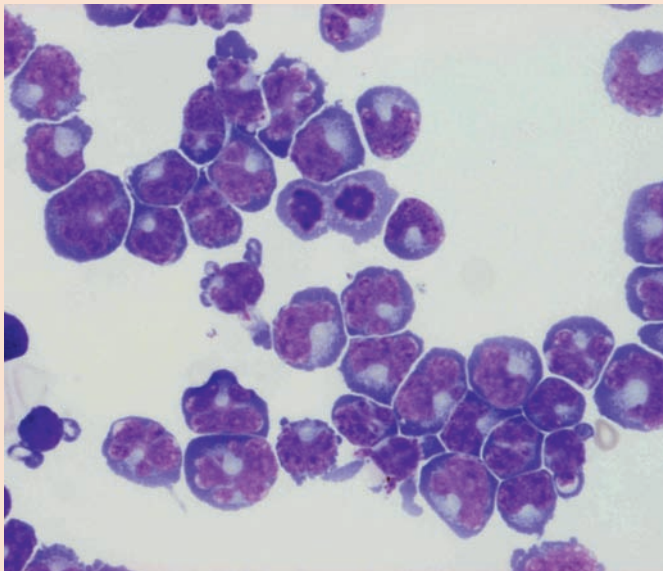
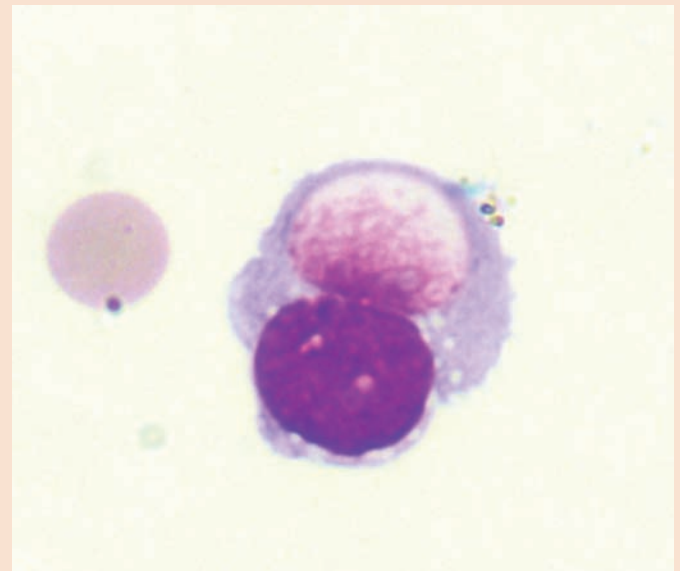


Figura 65. Mórula de *Ehrlichia* en célula mononuclear en LCR.



Pleocitosis mixta

La pleocitosis mixta cursa con incremento de linfocitos, neutrófilos, células monocíticas, macrófagos e, incluso, eosinófilos, sin que ningún tipo celular supere el 70% del total de células nucleadas (fig. 66). Se asocia a meningoencefalitis granulomatosa, procesos infecciosos que inicialmente desarrollaron pleocitosis neutrofilica, y necrosis o inflamación asociada a causas variadas como neoplasia, enfermedad del disco, traumatismos o mielomalacia.

Pleocitosis eosinofílica

El aumento de eosinófilos acompaña a numerosas infecciones, aunque también se puede producir en el curso de meningoencefalitis eosinofílica idiopática, generalmente inducida por reacciones de hipersensibilidad. La toxoplasmosis, neosporosis o migraciones larvianas también pueden cursar con eosinofilia.

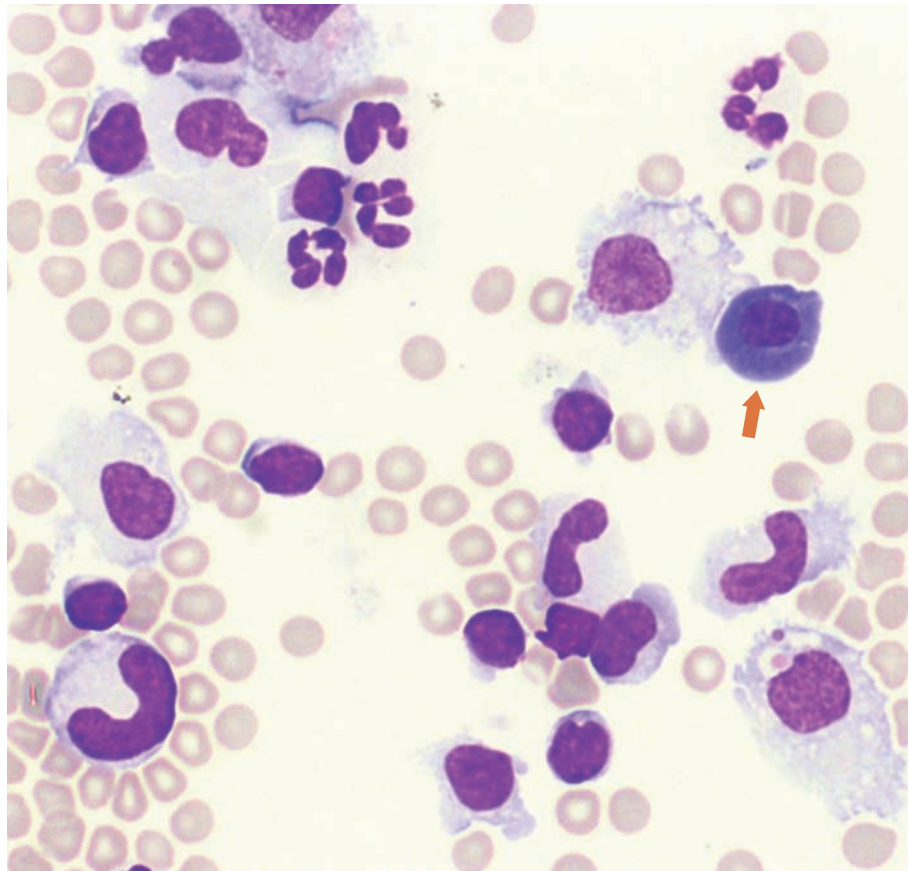


Figura 66. Pleocitosis mixta (recuento de 790 células nucleadas/ μ l con un recuento diferencial de 43% de monocitos, 22% de linfocitos y 35% de neutrófilos). Se observan abundantes hematíes y una célula plasmática (señalada con flecha).

Bibliografía

- ALLEMAN, AR. Abdominal, thoracic and pericardial effusions. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, n° 33, pp. 89-118.
- BAGLEY, RS. Y BOHN, AA. Interpreting the results of CSF analysis in dogs and cats. *Vet. Med.* 2003, n° 98, pp. 499-506.
- BOHN, AA. Y BAGLEY, RS. CSF sample handling and examination. *Vet. Med.* 2003, n° 98, pp. 489-496.
- BOHN, AA., WILLS, TB., WEST, CL., TUCKER, RL. Y BAGLEY, RS. Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs. *Vet. Clin. Pathol.* 2006, n° 35, pp. 315-320.
- CELLIO, BC. Collecting, processing and preparing cerebrospinal fluid in dogs and cats. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 2001, n° 23, pp. 786-792.
- CLEMENS, D. Arthrocentesis and synovial fluid analysis in dogs and cats. *In Practice.* 2006, n° 28, pp. 256-262.
- CLINKENBEARD, KD. Diagnostic cytology: carcinomas in pleural effusions. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1992, n° 14, pp. 187-194.
- CONNALLY, HE. Cytology and fluid analysis of the acute abdomen. *Clin. Tech. in Sm. Anim. Pract.* 2003, n° 18, pp. 39-44.
- COWELL, RL., TYLER, RD., MEINKOTH, JH. Abdominal and thoracic fluid. En: Cowell, RL., Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999, pp. 142-158.
- DUNN, J. Y VILLIERS, E. Cytological and biochemical assessment of pleural and peritoneal effusions. *In practice.* 1998, n° 20, pp. 501-505.
- FINE, DM., TOBIAS, AH. Y JACOB, KA.. Use of pericardial pH to distinguish between idiopathic and neoplastic effusions. *J. Vet. Intern. Med.* 2003, n° 17, pp. 525-529.
- FOURNEL-FELURY, C., MAGNOL, JP. Y GUELFY, JF. Effusions in coelomic cavities. En: Fournel-Felury, C., Magnol, JP. y Guelfy, JF. (ed). *Color atlas of cancer cytology of the dog and cat*. Paris: CNVSPA, 1994, pp. 69-162.
- HIRSCHBERGER, J., DENICOLA, DB., HERMANN, W. Y KRAFT, W. Sensitivity and specificity of cytologic evaluation in the diagnosis of neoplasia in body fluids from dogs and cats. *Vet. Clin. Path.* 1999, n° 28, pp. 142-146.
- MACWILLIAMS, PS. Y FRIEDRICH, KR. Laboratory evaluation and interpretation of synovial fluid. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, n° 33, pp. 153-178.
- MEINKOTH, JH. Y CRYSTAL, MA. Cerebrospinal fluid analysis. En: Cowell, RL., Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999, pp. 125-141.
- MEYER, DJ. Y FRANKS, PT. Effusions. classification and cytologic examinations. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1990, n° 12, pp. 92-99.
- PARRY, BW. Synovial fluid. En: Cowell, RL., Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999, pp. 104-119.
- STIEPEN, RL., WHITLEY, NT. Y DUBIELZIG, RR. Idiopathic or mesothelioma-related pericardial effusions: clinical findings and survival in 17 dogs studied retrospectively. *J. Sm. Anim. Pract.* 2000, n° 41, pp. 342-34.

citología
del frotis
sanguíneo

Introducción

El estudio sistemático de las células del frotis sanguíneo aporta una parte importante de la información diagnóstica que ofrece un hemograma. Esto es especialmente cierto cuando se dispone de un equipamiento correcto, un frotis sanguíneo perfecto y un observador experimentado que conoce la historia clínica del paciente. En algunos casos, el examen microscópico del frotis sanguíneo permite alcanzar el diagnóstico definitivo, en otros sirve de orientación para el tratamiento o ayuda a establecer el pronóstico. Asimismo, el estudio del frotis sanguíneo permite verificar los valores numéricos obtenidos en el hemograma.

El frotis sanguíneo perfecto

En el frotis sanguíneo perfecto las células han de mantener su morfología intacta, y debe existir un área de recuento donde las células se dispongan en una monocapa con una distribución uniforme de los leucocitos.

La gran mayoría de los frotis sanguíneos se realizan a partir de la muestra de sangre recogida en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), destinada a la obtención de los parámetros del hemograma. El EDTA es el anticoagulante de elección, ya que es el que produce menos interferencias en las apetencias tintoriales y conserva mejor la morfología de las células sanguíneas.

Para obtener el frotis sanguíneo perfecto es imprescindible realizarlo después de la toma de la muestra o, como máximo, transcurridas dos horas tras la extracción de la sangre. Esto evita la aparición de cambios en la morfología de las células, provocados por el envejecimiento de las mismas y la exposición prolongada al EDTA (fig. 1) (Tabla 1).

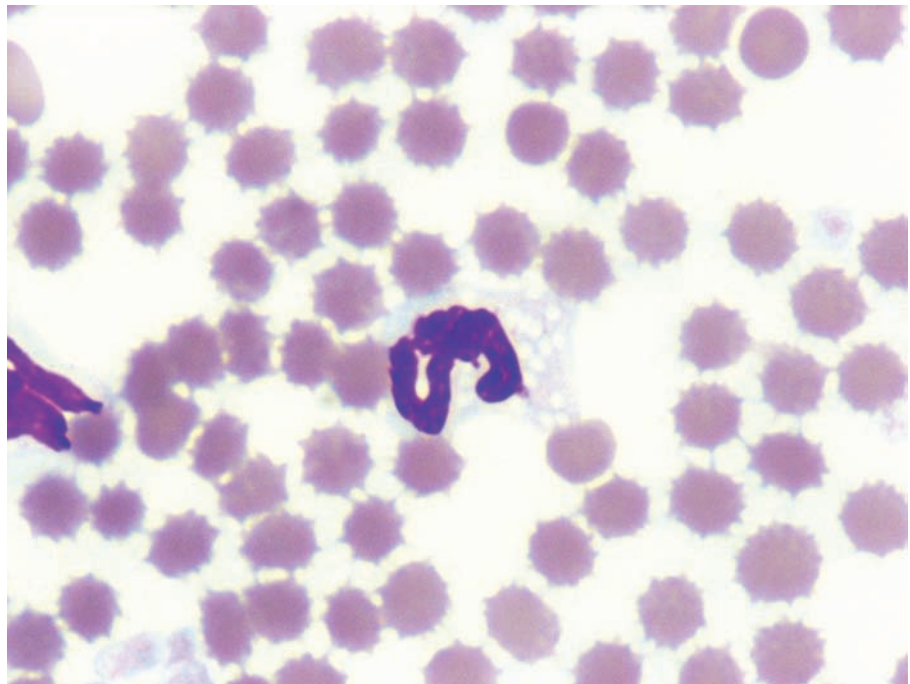


Figura 1. Frotis realizado a partir de una muestra de sangre de perro en EDTA almacenada 24 horas a temperatura ambiente; se observan hematíes crenados y un neutrófilo vacuolizado.

Tabla I. Cambios morfológicos *in vitro* de las células sanguíneas por almacenamiento prolongado de la muestra en EDTA

Hematíes	Crenación
Leucocitos	Aparición/aumento de la vacuolización citoplasmática del monocito. Hinchamiento de los núcleos ¹ . Vacuolización sin basofilia citoplasmática del neutrófilo. Picnosis, condensación y cariorrexis de los núcleos.
Plaquetas	Degranulación Agregación

¹ El neutrófilo segmentado adquiere un aspecto de neutrófilo banda.

El método más empleado para realizar el frotis sanguíneo emplea dos portaobjetos y se lleva a cabo de la siguiente forma:

- Depositar una gota pequeña de sangre (2 mm de diámetro) a 2 cm del borde de un portaobjetos limpio, seco y desengrasado.
- Apoyar un segundo portaobjetos contra la superficie del anterior; con un ángulo de 30-45°, por delante de la gota de sangre (fig. 2a) y deslizarlo hacia la gota hasta que contacte con ella; la sangre se extenderá por capilaridad entre ambos portaobjetos (fig. 2b); hay que evitar que la sangre se extienda hasta el borde del portaobjetos.
- Deslizar el segundo portaobjetos hacia el extremo opuesto con una velocidad moderada, sin interrupciones, manteniendo el ángulo y sin ejercer presión, hasta que toda la sangre se haya extendido (fig. 2c).
- Secar rápidamente al aire y teñirlo; si la tinción se retrasa, conviene fijar las células (p. ej.: fijador de las tinciones rápidas) para que se conserven perfectamente.

El frotis perfecto debe ocupar la mitad o dos terceras partes de la superficie del portaobjetos, ser más grueso al inicio y progresivamente más fino hacia la cola, ser uniforme, tener forma de llama y no alcanzar los bordes del portaobjetos (fig. 3).

Para teñir el frotis sanguíneo se emplean las tinciones Romanowsky (Wright, Wright-Giemsa, May-Grünwald-Giemsa o tinciones rápidas). En general, las tinciones rápidas producen una tinción de

calidad, pero no es tan sutil como la obtenida con las tinciones largas. Una limitación de las tinciones rápidas es que no tiñen bien los gránulos de los basófilos.

En el frotis sanguíneo se distinguen tres zonas: el cuerpo, el área de recuento o zona en monocapa y la cola (fig. 3). En el cuerpo las células están superpuestas, salvo en las muestras con un valor hematocrito bajo, siendo difícil observar los detalles celulares (fig. 4). El área de recuento o zona en monocapa es un área elíptica que comienza donde el frotis empieza a adquirir forma de llama. En ella, las células se sitúan próximas entre sí, lo que permite apreciar con claridad los detalles celulares; es aquí donde se debe estudiar la morfología de las células y hacer el recuento diferencial leucocitario (fig. 5). La cola del frotis no es una buena zona para apreciar la morfología celular; ya que muchas células aparecen distorsionadas o rotas; sin embargo, es importante observarla, así como los bordes, ya que es donde tienden a localizarse los agregados plaquetarios (fig. 6), las células grandes anormales y los parásitos sanguíneos extra-celulares (p. ej.: microfilarias) (fig. 7) o intracelulares.

Figura 2. Técnica para la realización del frotis sanguíneo con dos portaobjetos.



Figura 2a

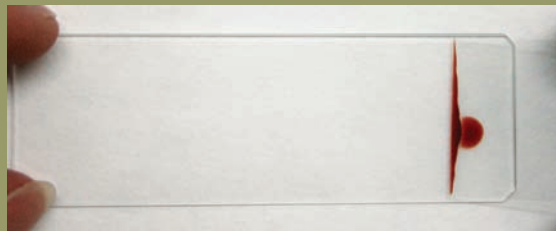


Figura 2b



Figura 2c

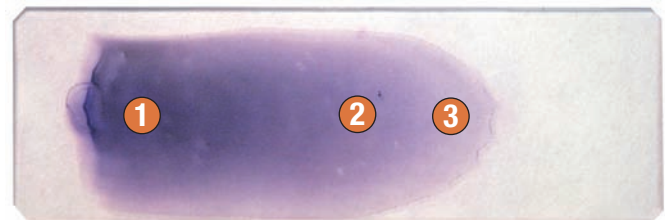


Figura 3. Frotis sanguíneo correcto; es uniforme, en forma de llama, ocupa más de la mitad del portaobjetos y los bordes son observables al microscopio.

- 1 cuerpo del frotis
- 2 zona en monocapa
- 3 cola del frotis

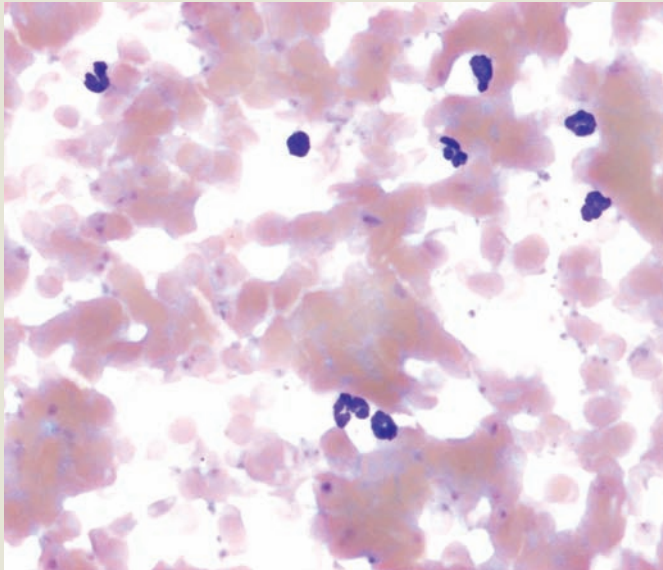


Figura 4. Cuerpo del frotis sanguíneo donde resulta difícil apreciar los detalles celulares por superposición de las células.

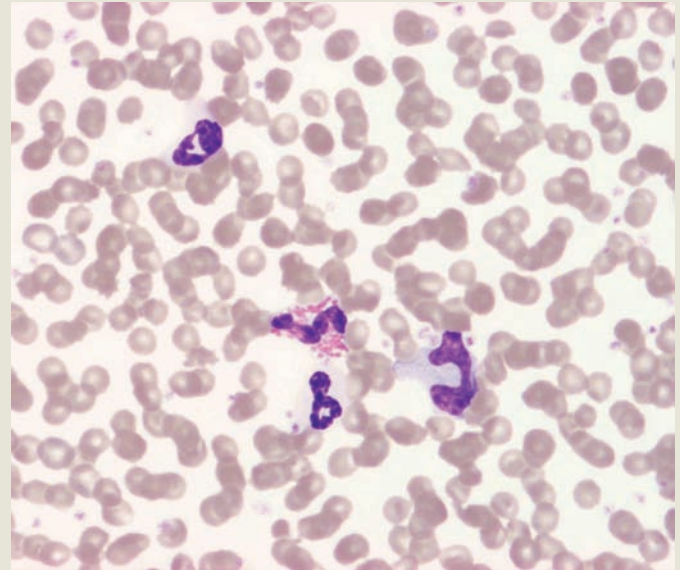


Figura 5. Área de recuento o zona en monocapa del frotis sanguíneo; la disposición de las células en una monocapa permite observar con claridad los detalles celulares.

Figura 6. Cola del frotis sanguíneo donde se aprecian grandes agregados plaquetarios.

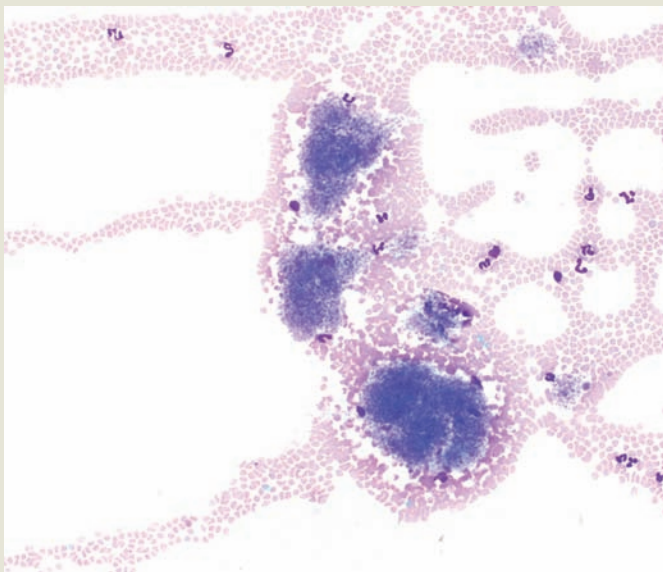
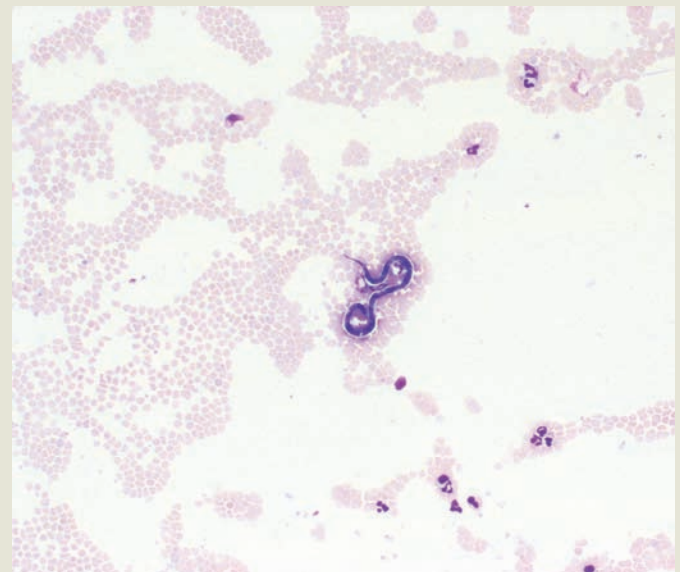


Figura 7. Cola de un frotis sanguíneo de perro con presencia de una microfilaria.



Examen microscópico del frotis sanguíneo

Para obtener la máxima información de los tres componentes celulares sanguíneos, es preciso efectuar el examen microscópico del frotis sanguíneo de forma sistemática:

Realizar un barrido del frotis con el objetivo de 10x y observar

- Si la coloración del frotis es correcta.
- Si existe una correlación entre el recuento eritrocitario y la distribución de los eritrocitos en el frotis: en casos de anemia la separación entre los hematíes es mayor y la zona en monocapa se amplía; por el contrario, en casos de poliglobulia la separación es escasa o nula y la zona en monocapa se estrecha o no existe.
- La presencia de aglutinación o de pilas de monedas eritroides en el cuerpo y en la zona en monocapa.
- Si la distribución de los leucocitos en la zona en monocapa es uniforme. Si la mayoría de los leucocitos se acumulan en los bordes y en la cola, el frotis no es de buena calidad (fig. 8). Generalmente, este defecto se produce por aplicar una presión excesiva al realizar la extensión.
- Si existe una correlación entre el recuento absoluto de leucocitos y el número de leucocitos/campo: para ello, se cuentan los leucocitos que hay por campo, en al menos 10 campos, en la zona en monocapa y se obtiene el valor medio; este valor multiplicado por 100-150 proporciona una estimación del número de leucocitos/ μ l de la muestra.
- Los bordes y la cola del frotis.

Examinar la zona en monocapa del frotis con el objetivo de 100x para

- Observar los eritrocitos: su distribución espacial y morfología (tamaño, forma, coloración), así como sus posibles alteraciones y la presencia de inclusiones citoplasmáticas y parásitos eritrocitarios.
- Realizar el recuento diferencial leucocitario y detectar las posibles alteraciones morfológicas de los glóbulos blancos.
- Contar los eritroblastos, cuando existen, a la vez que se efectúa el recuento diferencial de leucocitos.
- Realizar una estimación del número de plaquetas/ μ l: si las plaquetas no están agregadas, hay que contar las plaquetas existentes por campo, en al menos 10 campos, y obtener el valor medio; este valor multiplicado por 15.000 permite realizar una estimación del número de plaquetas/ μ l de la muestra.
- Estudiar la morfología de las plaquetas y sus posibles alteraciones.



Figura 8. Cola del frotis sanguíneo donde tienden a acumularse los leucocitos.

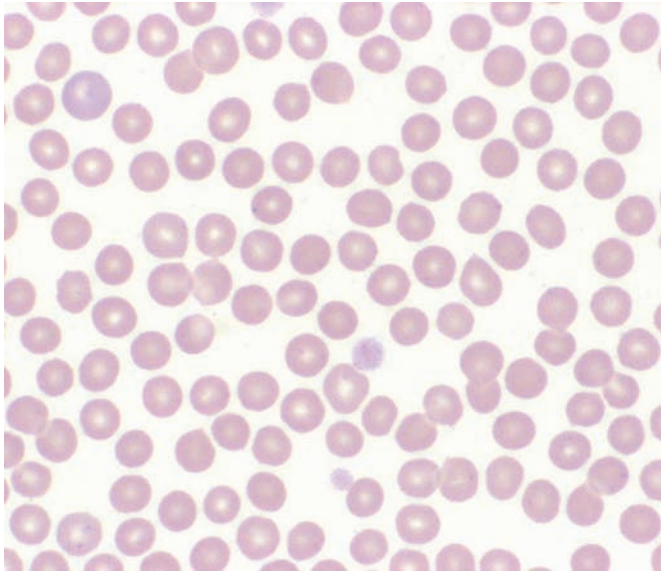
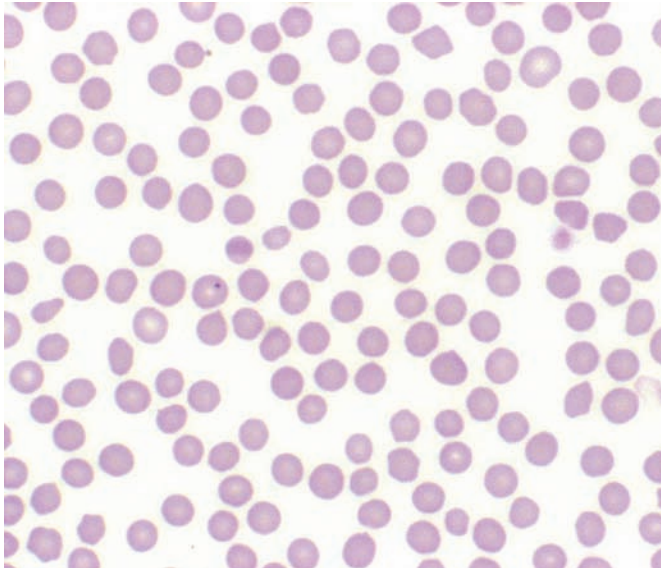


Figura 9. Morfología normal de los eritrocitos de perro; la mayoría de los hematíes muestran un tamaño semejante y una palidez central marcada.

Figura 10. Morfología normal de los eritrocitos de gato; los hematíes muestran una discreta anisocitosis y una palidez central apenas visible o inexistente.



Eritrocitos

Morfología del eritrocito y características de la población eritroide en sangre periférica del perro y del gato sano

Los eritrocitos maduros del perro y del gato son células anucleadas en forma de disco bicóncavo con una coloración rojiza o rojiza-anaranjada, cuando se tiñen con las tinciones Romanowsky. Esta coloración depende de su contenido en hemoglobina.

El eritrocito maduro normal de perro es relativamente grande (6,7-7,2 μm), uniforme en su tamaño, con un área de palidez central marcada que se corresponde con la biconcavidad de la célula (figs. 9 y 15a). En los frotis sanguíneos de perros sanos puede observarse un número reducido de hematíes policromatófilos ($\leq 1,5\%$) y de hematíes dispuestos en pilas de moneda con no más de 2-3 eritrocitos en la zona en monocapa. Los hematíes nucleados y los cuerpos de Howell-Jolly son infrecuentes.

El hematíe maduro normal de gato es más pequeño (5,5-6,3 μm), presenta un tamaño más variable (anisocitosis discreta) y una palidez central apenas visible o inexistente (figs. 10 y 15b). Al igual que en el perro, en los frotis sanguíneos de gatos sanos es posible observar hematíes policromatófilos, pero en menor número ($\leq 0,5\%$), y cuerpos de Howell-Jolly ocasionales ($\leq 1\%$). Se considera fisiológica la presencia de pilas de monedas en cantidad moderada, así como de cuerpos de Heinz de pequeño tamaño, hasta en un 10% de los hematíes.

Alteraciones morfológicas de los eritrocitos de interés clínico

Alteraciones en la disposición de los eritrocitos

Pilas de moneda

Es un alineamiento reversible de los hematíes, uno sobre otro, con una imagen semejante a una pila de monedas (fig. 11). Se forman cuando aumenta la concentración de proteínas plasmáticas, especialmente fibrinógeno y gamma globulinas. Por tanto, son abundantes en los procesos inflamatorios (p. ej.: leishmaniosis canina) y neoplásicos (p. ej.: mieloma) que cursen con hiperfibrinogenemia y/o hipergammaglobulinemia. Hay que tener en cuenta que esta alteración desaparece en la cola del frotis y que su presencia en cantidad moderada puede representar un artefacto en muestras almacenadas durante largo tiempo o en frotis sanguíneos de gato secados lentamente.

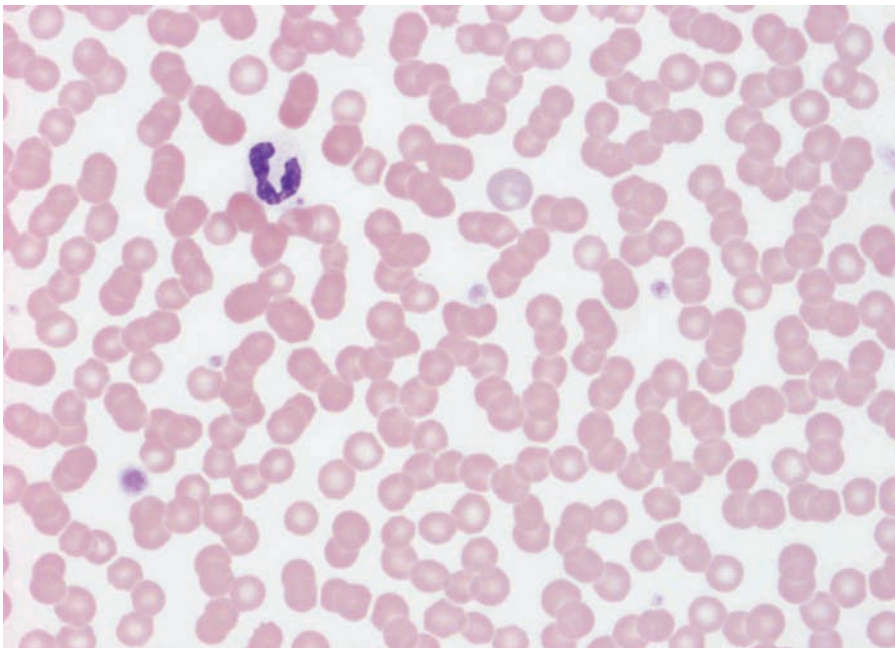


Figura 11. Frotis sanguíneo de perro donde todos los hematíes están dispuestos en pilas de moneda.

Aglutinación

La aglutinación eritroide es una adhesión no lineal de los hematíes que forman grupos irregulares o con disposición más o menos esférica (fig. 12). Si la aglutinación es marcada, puede observarse macroscópicamente como grumos en la gota de sangre depositada en el portaobjetos para realizar el frotis, pero también la sangre toma este aspecto cuando las pilas de monedas son muy abundantes. La aglutinación se produce por la adhesión de los hematíes mediada por anticuerpos, especialmente IgM, que recubren la superficie del eritrocito. Por tanto, en un paciente con anemia, la presencia de aglutinación indica que su origen es hemolítica inmunomediada, aunque su ausencia no la excluye. Si en el frotis sanguíneo se detecta aglutinación eritroide, hay que observar con detenimiento los hematíes, ya que los parásitos eritrocitarios (p. ej.: *Mycoplasma haemofelis*) pueden inducir una anemia hemolítica inmunomediada.

En ocasiones, resulta difícil diferenciar la aglutinación eritroide de las pilas de moneda cuando son muy abundantes, en particular en la sangre de gato. En caso de duda, se distinguen mediante la prueba de dilución salina.

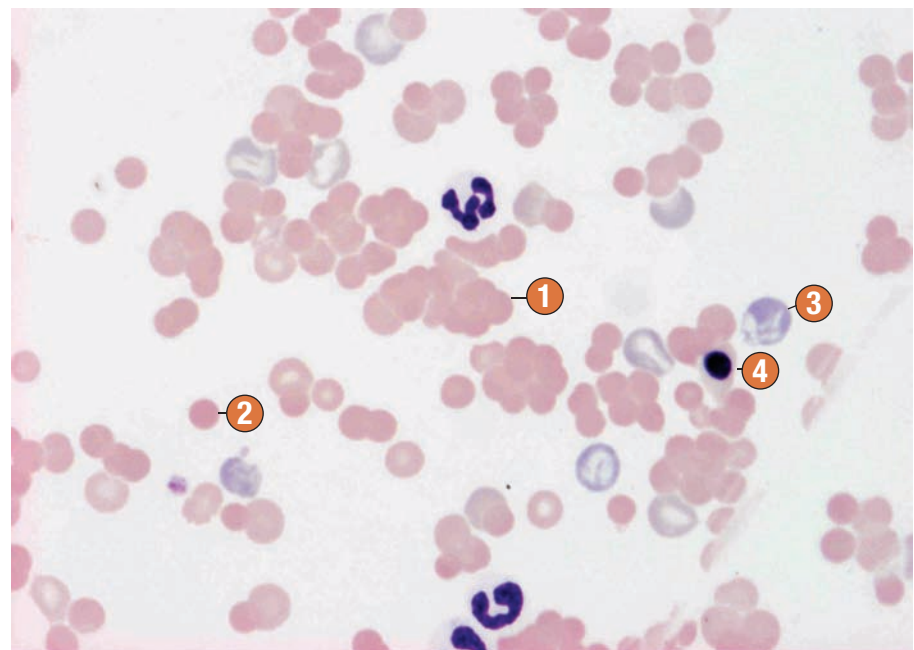


Figura 12. Frotis sanguíneo de perro con anemia hemolítica inmunomediada; se observan abundantes imágenes de aglutinación eritroide **1**, esferocitos **2**, hematíes policromatófilos **3** y un metarrubricito **4**.

Alteraciones en el tamaño del eritrocito

Anisocitosis

Este término indica la presencia de hematíes con diferente tamaño. Tiene un escaso interés clínico si no se indica si es debida a la presencia de hematíes más grandes, más pequeños o a una combinación de ambos junto a hematíes normocíticos.

Macrocitosis

Los eritrocitos macrocíticos son hematíes de mayor tamaño de lo normal para la especie. La causa más frecuente de macrocitosis es la anemia regenerativa debido a la presencia de eritrocitos inmaduros policromatófilos que se corresponden con reticulocitos (fig. 13).

Se pueden observar hematíes macrocíticos y normocrómicos en gatos infectados con FeLV sin anemia y con anemia (fig. 15c), aplasia eritroide (gato), mielodisplasia (perro y gato), leucemia mieloide aguda (gato), estomatocitosis hereditaria (perro) y en la macrocitosis hereditaria del Caniche (fig. 15d).

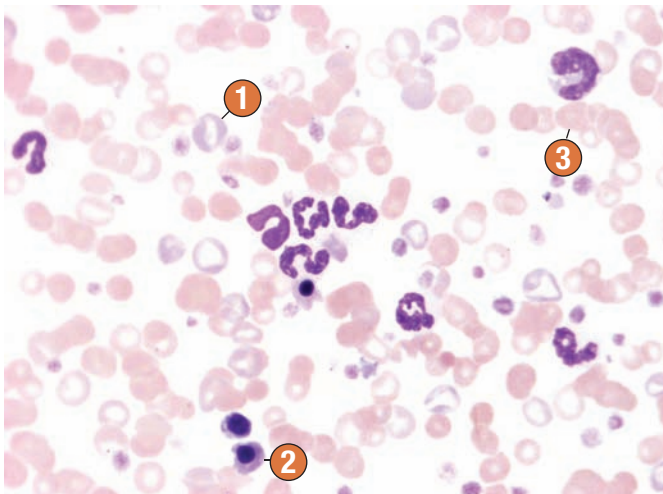


Figura 13. Frotis sanguíneo de perro con anemia hemorrágica regenerativa por coagulación intravascular diseminada; se observa una anisocitosis eritroide, abundantes hematíes policromatófilos **1**, hematíes nucleados **2** y pilas de moneda eritroides **3**.

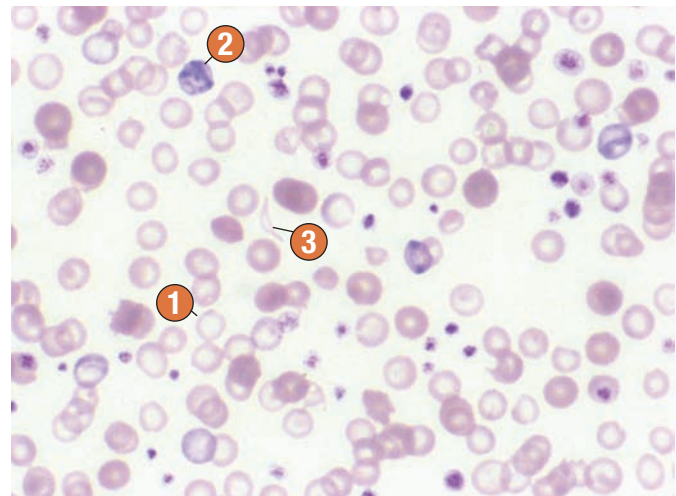


Figura 14. Frotis sanguíneo de perro con anemia ferropénica; se observan abundantes hematíes microcíticos e hipocrómicos **1**, algunos hematíes policromatófilos **2**, abundantes plaquetas y un esquistocito **3**.

Microcitosis

Los eritrocitos microcíticos son hematíes de menor tamaño de lo normal para la especie. La causa más común es la deficiencia de hierro (figs. 15e y 14), frecuente en el perro adulto, pero rara en el gato adulto. En el perro con anemia y microcitosis marcada, generalmente la anemia es por deficiencia de hierro. Asimismo, los hematíes microcíticos aparecen en la mayoría de los perros y en algunos gatos con *shunts* portosistémicos congénitos (fig. 15f) y, de forma fisiológica, en perros de razas asiáticas (Akita, Shiba Inu, Chow Chow, Shar Pei).

Alteraciones en la coloración del eritrocito

Hipocromía

La hipocromía es una disminución en la intensidad de la coloración normal del eritrocito por disminución de su contenido en hemoglobina. Los hematíes hipocrómicos se reconocen fácilmente en el frotis sanguíneo al mostrar una palidez más acentuada y de mayor tamaño, con un anillo estrecho de hemoglobina ligeramente teñida en la periferia (figs. 14 y 15e). Generalmente, los hematíes hipocrómicos son, a su vez, microcíticos. Es necesario diferenciarlos de los torocitos que se consideran artefactos del frotis sanguíneo (fig. 15g).

Los hematíes hipocrómicos son característicos de la anemia ferropénica en el perro, pero pueden no observarse en el frotis sanguíneo del gato con este tipo de anemia. En casos de anemia ferropénica grave, junto a la hipocromía y la microcitosis, es posible detectar la presencia de acantocitos, queratocitos, esquistocitos y trombocitosis con plaquetas de pequeño tamaño (fig. 14).

Policromatofilia

La policromatofilia o policromasia se debe a la presencia de eritrocitos inmaduros con una coloración azul-grisácea (hematíes policromatófilos) (fig. 15h). Estos hematíes son reticulocitos que adquieren esta coloración debido a la presencia de ARN residual. La policromatofilia es menos evidente en algunas tinciones rápidas. Los hematíes policromatófilos son más grandes y más finos que los eritrocitos maduros (fig. 15i), por lo que pueden adquirir la forma de un leptocito (fig. 15j). Además, con frecuencia contienen cuerpos de Howell-Jolly (fig. 15k).

Si bien todos los hematíes policromatófilos son reticulocitos, no todos los reticulocitos presentan esta coloración azul-grisácea en los frotis sanguíneos teñidos con tinciones Romanowsky; únicamente los reticulocitos agregados, que se observan cuando se tiñen con colorantes supravitales (nuevo azul de metileno), contienen suficiente ARN residual para adquirir una coloración azul-grisácea, lo que no sucede en los reticulocitos punteados. Por tanto, existe una correlación directa entre el porcentaje de hematíes policromatófilos y el de reticulocitos agregados. En el perro, los reticulocitos son agregados; en el gato son punteados y agregados (fig. 15l), aunque únicamente los segundos indican una respuesta regenerativa activa de la médula ósea en casos de anemia.

La policromatofilia marcada se observa en las anemias regenerativas a los 2-4 días del inicio de la hemólisis o la hemorragia (fig. 13), ya que la médula ósea requiere este tiempo para aumentar la producción y liberación de reticulocitos.

En la anemia ferropénica del perro se detectan hematíes policromatófilos (1-5% de reticulocitos), ya que se trata de una anemia semirregenerativa (fig. 14).

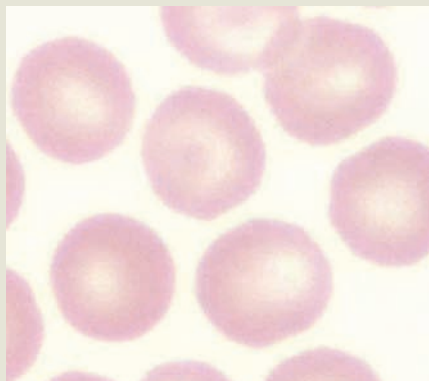


Figura 15a

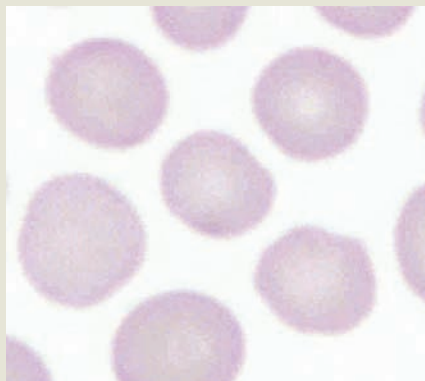


Figura 15b

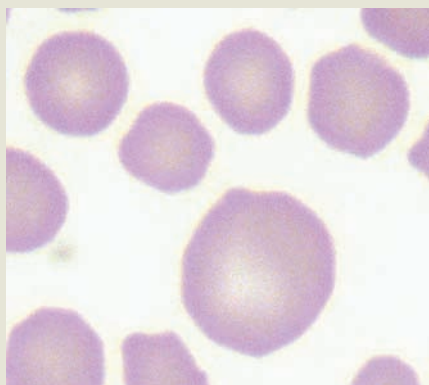


Figura 15c

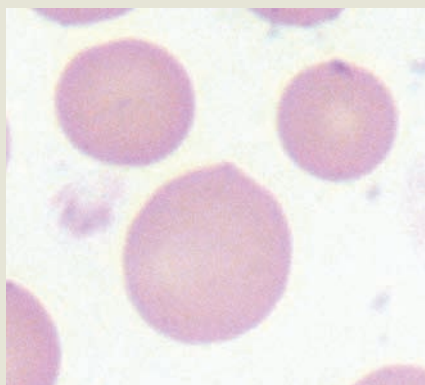


Figura 15d

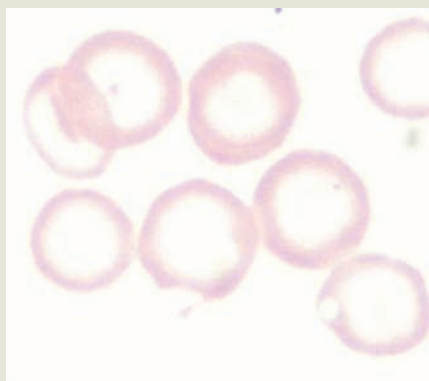


Figura 15e

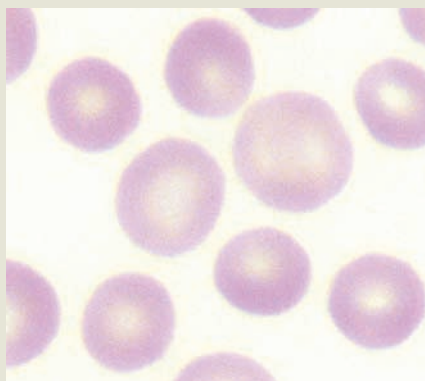


Figura 15f

Alteraciones en el tamaño y la coloración del eritrocito

Figura 15.

- a. Hematíes de perro con una morfología normal.
- b. Hematíes de gato con una morfología normal.
- c. Hematíe macrocítico normocrómico de gato infectado con FeLV.
- d. Hematíe macrocítico normocrómico de Caniche con macrocitosis hereditaria.
- e. Hematíes microcíticos y marcadamente hipocrómicos de perro con anemia por deficiencia de hierro.
- f. Hematíes microcíticos normocrómicos de perro con *shunt* portosistémico congénito.

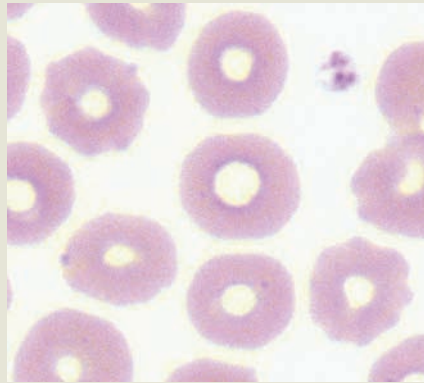


Figura 15g

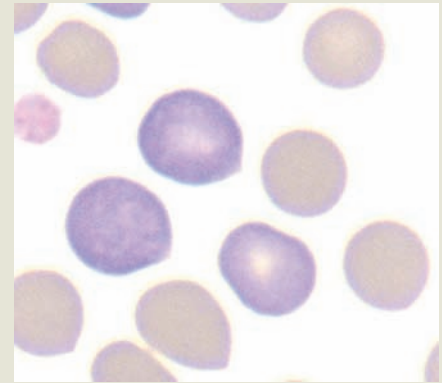


Figura 15h

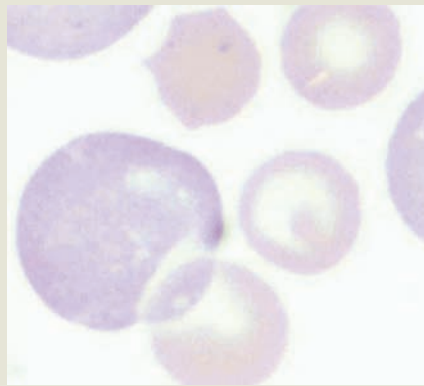


Figura 15i

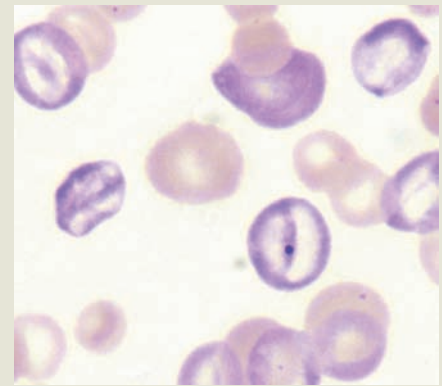


Figura 15j

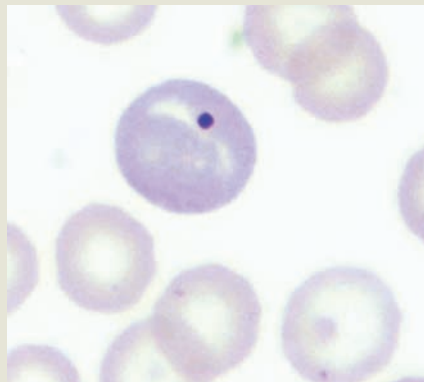


Figura 15k

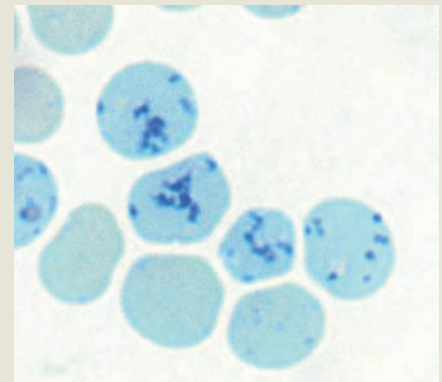


Figura 15l

- g. Torocitos.
- h. Hematíes policromatófilos de gato.
- i. Hematíe policromatófilo de gran tamaño de perro.
- j. Hematíes policromatófilos con forma de leptocito; hematíe plegado sobre sí mismo y hematíe en forma de canasto con un cuerpo de Howell-Jolly.
- k. Hematíe policromatófilo de perro con un cuerpo de Howell-Jolly
- l. Reticulocitos de gato teñidos con nuevo azul de metileno; se observan reticulocitos agregados y punteados.

Alteraciones en la forma del eritrocito

Poiquilocitosis

El término poiquilocitosis indica la presencia de hematíes con una forma anormal (poiquilocitos). Siempre que sea posible, la poiquilocitosis debe identificarse por el tipo de alteración presente en la morfología del eritrocito. Cuando las variaciones en la morfología son tan marcadas y diferentes que no se pueden aplicar términos específicos para describirlas, se emplea el término genérico de poiquilocitosis (fig. 1 6a, ver pág. 338) (p. ej.: gato con enfermedad hepática).

Algunos poiquilocitos tienen un alto valor diagnóstico (p. ej.: esférico), pero la mayoría son inespecíficos. La interpretación de la poiquilocitosis ha de realizarse junto a los restantes hallazgos del frotis sanguíneo.

Equinocito

Un equinocito es un eritrocito con numerosas espículas finas, cortas, puntiagudas (generalmente) o redondeadas (ocasionalmente), iguales entre sí y distribuidas uniformemente en su superficie (figs. 1 6b y 1 6c). Se generan por numerosos mecanismos (p. ej.: deshidratación del hematíe) y se asocian con enfermedades muy diversas (Tabla 2).

La crenación es la formación *in vitro* de equinocitos (hematíes crenados). Constituye un hallazgo frecuente en muestras con exceso de EDTA o conservadas durante largo tiempo (fig. 1). Los hematíes de gato tienen una tendencia mayor a la crenación que los de perro. Los equinocitos y los hematíes crenados son indistinguibles morfológicamente en el frotis sanguíneo; no obstante, los equinocitos aparecen distribuidos al azar en el frotis, mientras que la crenación afecta a todos los hematíes del frotis o de una zona amplia del mismo.

Tabla 2. Tipos de poiquilocitos y enfermedades o situaciones en las que se han descrito en el frotis sanguíneo

Equinocito	Esféricito	Acantocito	Excentrocito
<ul style="list-style-type: none"> ■ Uremia (P,G) ■ Hipofosfatemia (P,G) ■ Postransfusión sangre almacenada (P,G) ■ Glomerulonefritis (P) ■ Anemia por deficiencia de piruvato quinasa (P) ■ Linfoma (P) ■ Hemangiosarcoma (P) ■ Quimioterapia con doxorubicina (P) ■ Veneno de serpientes (P) ■ Artefacto <i>in vitro</i>: crenación (P,G) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Anemia hemolítica inmunomediada (P,G) ■ Anemia por Cuerpos de Heinz (P) ■ Intoxicación por zinc (P) ■ Diabetes mellitus con hipofosfatemia (P,G) ■ Veneno de serpientes (P) ■ CID (P,G) ■ Postransfusión sangre almacenada (P,G) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Enfermedad hepática (P,G) ■ CID (P) ■ Hemangiosarcoma (P) ■ Glomerulonefritis (P) ■ Anemia ferropénica (P) ■ Dieta rica en colesterol (P) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Fármacos (P): Paracetamol, propofol, vitamina K, azatioprina, ciclosporina. ■ Intoxicación antagonistas vitamina K (P) ■ Ingestión de cebolla o ajo (P) ■ Diabetes mellitus cetoacidótica (P) ■ Linfoma y otros tumores (P) ■ Infecciones graves (P)

P: perro; G: gato; CID: coagulación intravascular diseminada

¹ Presentes en el 60-75% de los perros y en el 8% de los gatos con CID.

Acantocito

A diferencia del equinocito, el acantocito es un eritrocito con proyecciones citoplasmáticas menos numerosas (2-10), de diferente longitud y anchura e irregularmente distribuidas en su superficie (fig. 16d). El extremo de la proyección es redondeado, semejante a un dedo. El acantocito se produce cuando la membrana eritrocitaria tiene un exceso de colesterol en relación con el contenido en fosfolípidos. Al igual que los equinocitos, los acantocitos aparecen en enfermedades muy diversas (Tabla 2).

Queratocito

El queratocito es un hematíe con dos proyecciones citoplasmáticas adyacentes semejantes a cuernos (fig. 16e). Se genera a partir de un hematíe con una seudovacuela en la periferia (prequerato-

cito o eritrocito ampolla) (fig. 16f). Su formación obedece a una fragmentación mecánica del hematíe en el torrente vascular. Por tanto, se describen en las mismas enfermedades que producen esquistocitosis (Tabla 2). Un almacenamiento prolongado de la sangre de gato en EDTA puede inducir su formación *in vitro*.

Esquistocito

El esquistocito es un fragmento de hematíe que puede adquirir una amplia variedad de formas (triangular, en casquete, etc.) (fig. 16g). Presenta un tamaño variable, pero menor al del hematíe normal, y unos bordes irregulares con dos o tres proyecciones citoplasmáticas puntiagudas (figs. 16h y 16i). Los esquistocitos se generan por fragmentación mecánica del eritrocito al chocar contra accidentes vasculares (p. ej.: redes de fibrina) o turbulencias del flujo, y cuando el hematíe es más frágil. Por tanto, se describen en las mismas enfermedades que producen

Queratocito/esquistocito	Codocito	Eliptocito	Estomatocito
<ul style="list-style-type: none"> ■ CID (P, G)¹ ■ Hemangiosarcoma (P) ■ Inflamación de órganos muy vascularizados ■ Tumores altamente vascularizados (P) ■ Estenosis valvulares (P) ■ Síndrome de vena cava de la difilariosis (P) ■ Anemia ferropénica (P) ■ Enfermedad hepática (G) ■ Mielofibrosis (P) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Policromatófilo: anemia regenerativa (P) ■ Hipocrómico: Anemia ferropénica (P) Shunts portosistémicos congénitos (P) ■ Normocrómico: Enf. hepatobiliares colestásicas (P) Hipotiroidismo (P) Esplenectomía/hipoesplenismo (P) Shunts portosistémicos congénitos (P) Artefacto <i>in vitro</i> (P) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Mielofibrosis (P) ■ Síndromes mielodisplásicos (P) ■ Glomerulonefritis (P) ■ Eliptocitosis congénita (P) ■ Enfermedad mieloproliferativa (G) ■ Leucemia linfoblástica aguda (G) ■ Quimioterapia con doxorubicina (G) ■ Enfermedad hepática (G) ■ Artefacto <i>in vitro</i> (P, G) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Anemia regenerativa (P) ■ Enfermedad hepática (P) ■ Intoxicación por plomo (P) ■ Estomatocitosis hereditaria (P) ■ Artefacto <i>in vitro</i> (P)

la formación de queratocitos (Tabla 2). Generalmente, ambos coexisten en el frotis sanguíneo. La presencia de esquistocitos es significativa cuando representan más de un 1% de la población eritroide.

Eliptocito

Este eritrocito se caracteriza por tener una forma elíptica u oval (fig. 16j). La eliptocitosis es un hallazgo accidental y secundario a ciertas enfermedades, donde los eliptocitos no representan, habitualmente, más de un 10% de la población eritroide (Tabla 2). En algunos casos, una técnica incorrecta en la realización del frotis y/o un aumento de la viscosidad del plasma pueden contribuir a su formación *in vitro*.

Esferocito

El esferocito es un tipo de poiquilocito con valor diagnóstico. Se caracteriza por tener una forma esférica, en lugar de la forma discoidal normal, por lo que el hematíe aparece más pequeño, más densamente teñido y sin palidez central (fig. 16k). Esta última característica permite su identificación, sin dificultad, en el frotis sanguíneo del perro (fig. 16l). En el frotis del gato es extremadamente difícil reconocerlos, puesto que el eritrocito normal de gato carece de palidez central o es apenas visible. En esta especie, la esferocitosis se identifica por la presencia de hematíes con un diámetro menor, de aspecto homogéneo, más densamente teñidos y con una fragilidad osmótica aumentada. Su reconocimiento debe efectuarse en la zona en monocapa del frotis, ya que los hematíes situados en los bordes y en la cola se aplanan y pierden su palidez central mimetizando a los esferocitos.

La presencia en el frotis sanguíneo de una esferocitosis marcada sugiere fuertemente la existencia de una anemia hemolítica inmunomediada (AHI), que es la causa más frecuente de esferocitosis. En

este tipo de anemia, el esferocito se produce cuando los macrófagos, especialmente los esplénicos y hepáticos, fagocitan los anticuerpos que recubren el hematíe junto a parte de la membrana; como consecuencia, disminuye el área de la superficie del eritrocito, en relación a su volumen, por lo que adquiere una forma esférica. La presencia de aglutinación asociada confirma la existencia de anticuerpos en la membrana eritroide. Por tanto, en un perro con anemia aguda, la observación en el frotis sanguíneo de hematíes policromatófilos junto a aglutinación eritroide y esferocitosis es virtualmente patognomónica de AHI (fig. 12). En muchos casos de AHI en el perro, el frotis no ofrece información acerca de la causa desencadenante; sin embargo, en el gato, la AHI generalmente es secundaria a parasitosis eritrocitarias (p. ej.: *Mycoplasma haemofelis*) detectables en el frotis sanguíneo. Hay que resaltar que los esferocitos no están presentes siempre en la AHI.

La presencia de esferocitos aislados en el frotis sanguíneo no es diagnóstica de AHI, ya que también pueden aparecer en anemias hemolíticas no inmunomediadas en las que el eritrocito sufre un daño tóxico o traumático (Tabla 2). En este último caso, los esferocitos se observan junto a otros poiquilocitos generados por fragmentación del hematíe.

Excentrocito

El excentrocito es un hematíe en el cuál la hemoglobina está desplazada hacia uno de los extremos, de forma que se observa una zona excéntrica pálida o clara, donde apenas hay hemoglobina, en forma de medio círculo, media luna o con forma lineal (fig. 16m).

Los excentrocitos se producen como consecuencia de un daño oxidativo directo de la membrana del eritrocito, por agentes oxidantes exógenos o endógenos (Tabla 2). Estos agentes inducen, también, la formación de cuerpos de Heinz. En el perro, si el daño oxidativo es

grave, aparecen excentrocitos o una combinación de cuerpos de Heinz junto a excentrocitos. Sin embargo, en el gato, el daño oxidativo se traduce, fundamentalmente, en la formación de cuerpos de Heinz.

Leptocito

Este hematíe muestra frecuentemente un aspecto hipocrómico y unas formas muy variadas: plegado sobre sí mismo (fig. 16n), en forma de canasto (knizocito) o de diana (codocito). La capacidad para adoptar estas formas obedece a que el leptocito es un eritrocito más fino de lo normal con un aumento en la relación superficie/volumen, tal y como sucede en los hematíes policromatófilos.

Un tipo especial de leptocito es el **codocito**, o célula en diana. Este hematíe muestra una zona central de hemoglobina condensada rodeada de un anillo pálido, que contiene menos hemoglobina, y un reborde periférico hemoglobinizado (fig. 16o). Sólo se observa realmente en el perro, asociado a diferentes enfermedades (Tabla 2); su presencia en bajo número es un hallazgo normal.

Los codocitos pueden generarse *in vitro* por un aplastamiento excesivo de los eritrocitos en la realización del frotis sanguíneo, un secado lento del mismo o un exceso de anticoagulante en la muestra. En estos casos, aparecen en número elevado en ciertos campos microscópicos, mientras que en otros el número es bajo o están ausentes. Sin embargo, los codocitos formados *in vivo* están dispersos al azar en todo el frotis sanguíneo.

Estomatocito

El estomatocito se define como un hematíe unicóncavo, con una palidez central alargada u oval con aspecto de boca o estoma (fig. 16p).

La presencia ocasional de estomatocitos es un hallazgo no específico de una amplia variedad de procesos (Tabla 2); por el contrario, un número elevado constituye un hallazgo específico de la estomatocitosis hereditaria descrita en ciertas razas caninas. Hay que resaltar que, en la mayoría de los casos, los estomatocitos representan un artefacto de los frotis sanguíneos muy gruesos.

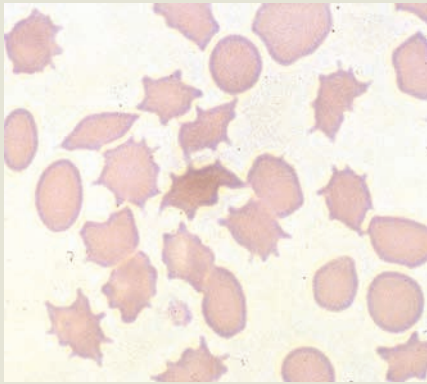


Figura 16a

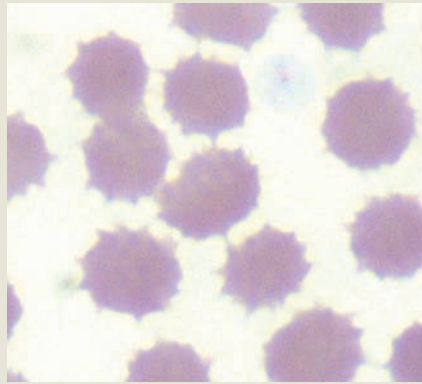


Figura 16b

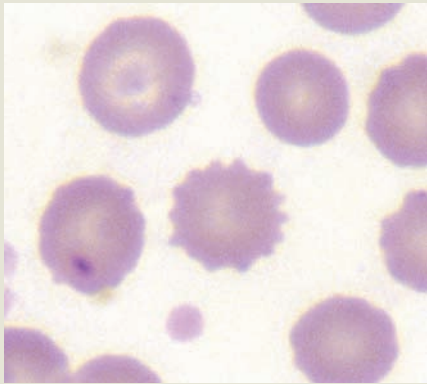


Figura 16c

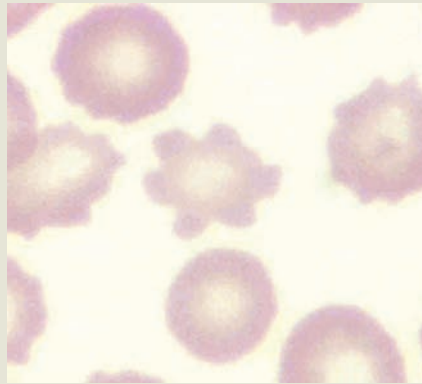


Figura 16d

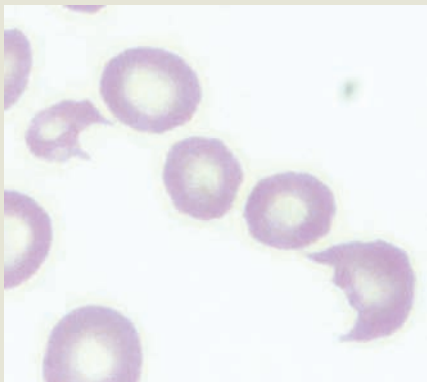


Figura 16e

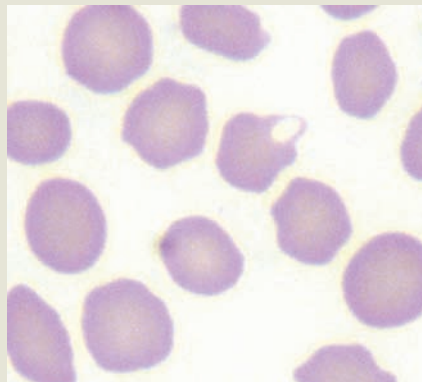


Figura 16f

Alteraciones en la forma del eritrocito

Figura 16.

- a. Poiquilocitosis marcada; sangre de gato con lipidosis hepática.
- b. Equinocitos de perro con numerosas espículas puntiagudas.
- c. Equinocito de perro con numerosas espículas redondeadas.
- d. Acanthocito de perro.
- e. Queratocitos de perro.
- f. Prequeratocito o eritrocito ampolla de gato.
- g. Esquistocito de perro con forma triangular.
- h. Esquistocito de perro.
- i. Esquistocito de perro.
- j. Eliptocito de perro.
- k. Esferocitos de perro junto a un hematíe con una morfología normal y un eritrocito policromatófilo.
- l. Esferocitos de perro junto a dos hematíes con una morfología normal.
- m. Excentrocito de perro.
- n. Leptocitos de aspecto hipocrómico: plegado sobre sí mismo y en forma de canasto (knizocito).
- o. Codocitos de perro.
- p. Estomatocitos de perro.

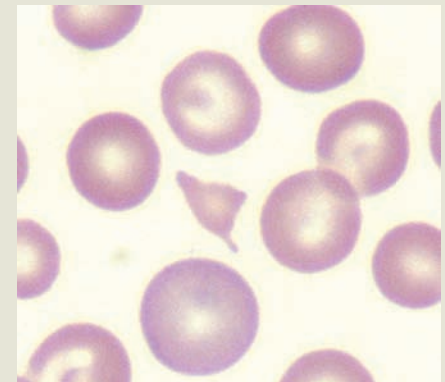


Figura 16g

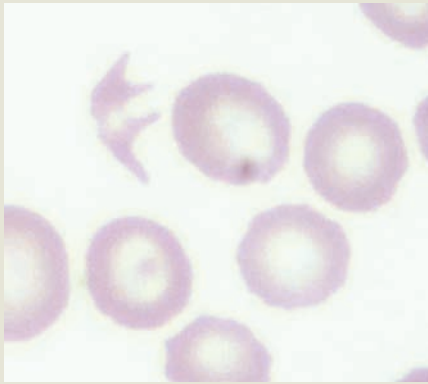


Figura 16h

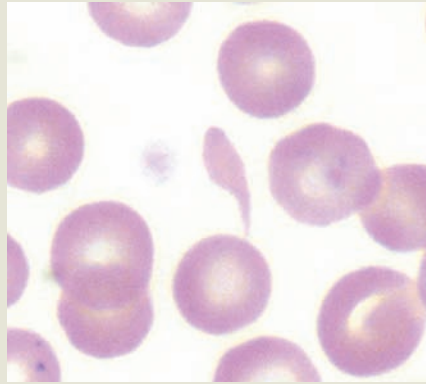


Figura 16i

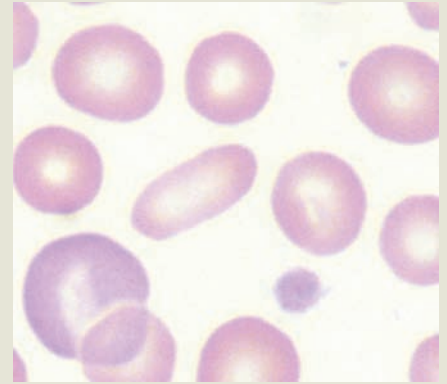


Figura 16j

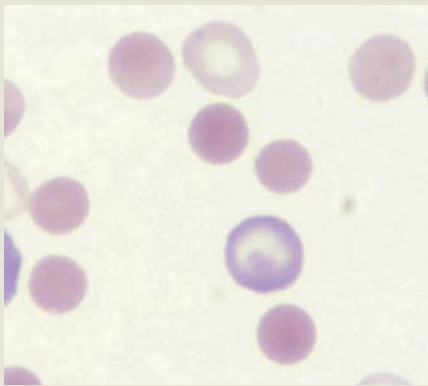


Figura 16k

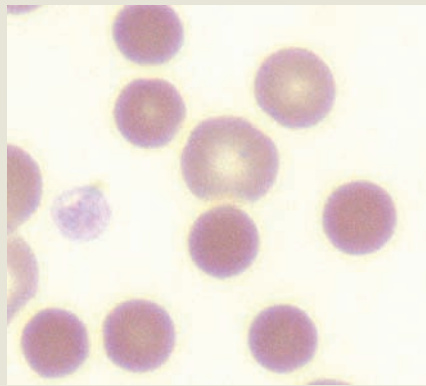


Figura 16l

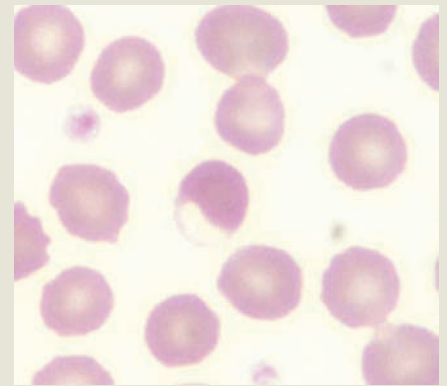


Figura 16m

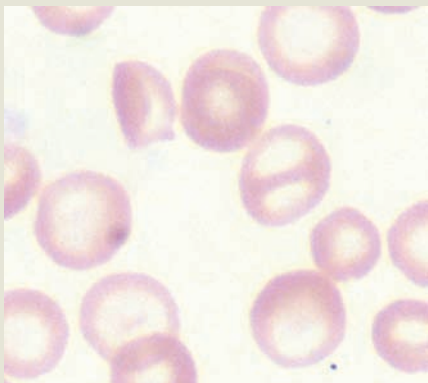


Figura 16n

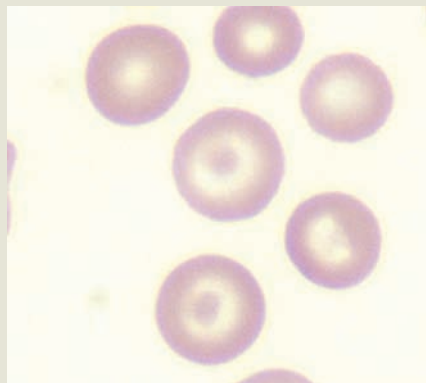


Figura 16o

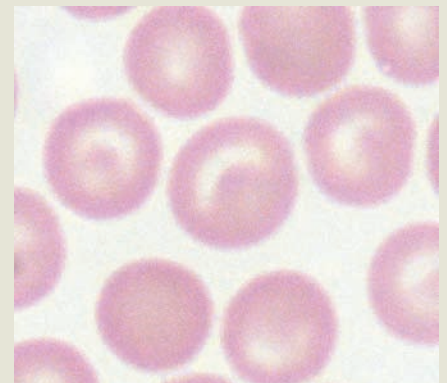


Figura 16p

Inclusiones citoplasmáticas eritrocitarias

Punteado basófilo

Los hematíes con punteado basófilo muestran en su interior pequeños gránulos, en número variable, de color azul oscuro o grisáceo (fig. 18a, ver pág. 346). Su presencia se describe en un número reducido de patologías (Tabla 3). Hay que tener en cuenta que pueden formarse por agregación *in vitro* de restos de ribosomas durante el secado del frotis; en este caso, no hay que confundirlos con precipitados de colorante.

Cuerpos de Howell-Jolly

Esta inclusión citoplasmática esférica, pequeña, muy basófila, generalmente única en el hematíe, es un fragmento de núcleo que no ha sido expulsado del eritrocito cuando éste abandona la médula ósea (fig. 18b). En ocasiones, se tiñe irregularmente ofreciendo una imagen semejante a un anillo (fig. 18c). Los cuerpos de Howell-Jolly aparecen, en número significativo, en la anemia regenerativa y en otras enfermedades (Tabla 3).

Cuerpos de Heinz

Los cuerpos de Heinz son estructuras redondeadas de hemoglobina precipitada, que, al sufrir una oxidación irreversible, se une a la superficie interna de la membrana del hematíe produciendo una protusión redondeada de la misma. En los frotis sanguíneos teñidos con tinciones Romanowsky, los cuerpos de Heinz de gran tamaño aparecen como una "nariz de payaso" en la superficie del eritrocito, (figs. 18d y 18e) con una coloración igual o ligeramente más pálida que el resto del citoplasma o como una pequeña zona redondeada en el citoplasma, menos teñida y excéntrica. Si son pequeños, como los existentes en los hematíes del gato sano, son muy difíciles de observar. Se evidencian más fácilmente cuando se tiñen con colorantes supravitales, como el nuevo azul de metileno, ya que muestran un aspecto de cuerpo redondeado azul claro en la periferia del hematíe (fig. 18f).

En el gato sano pueden aparecer cuerpos de Heinz de pequeño tamaño hasta en un 10% de los eritrocitos, denominados "cuerpos de Heinz endógenos". Este hallazgo obedece a la susceptibilidad de la hemoglobina del gato para sufrir lesión oxidativa y a la ineficacia del

Tabla 3. Inclusiones citoplasmáticas eritrocitarias y enfermedades o situaciones en las que se observan en el frotis sanguíneo

<p>Punteado basófilo</p>	<p>Anemia regenerativa (P,G)¹ Diseritropoyesis (P,G)² Intoxicación por plomo (P,G)²</p>
<p>Cuerpos de Howell-Jolly</p>	<p>Anemia regenerativa (P,G) Esplenectomía (P) Corticoterapia (P) Quimioterapia con vincristina /arabinósido de citosina (P,G) Macrocitosis hereditaria del Caniche (P)</p>
<p>Cuerpos de Heinz</p>	<p>Propilenglicol en el alimento (G) Ingestión cebolla (P, G) Ingestión de ajo (P) Fármacos: Paracetamol (P, G) Benzocaína (P) Azul de metileno (P,G) Vitamina K (P,G) Metionina (G) Fenazopiridina (P, G) Propofol (G)³ Ingestión de compuestos con zinc (P) Ingestión de naftaleno (P) Diabetes mellitus (G) Hipertiroidismo (G) Lipidosis hepática (G) Linfosarcoma (G)</p>

P: perro; G: gato

¹ Frecuente en gato, infrecuente en perro.

² No asociado a policromatofilia significativa.

³ En dosis repetidas.

bazo para eliminar los cuerpos de Heinz. Ambos hechos explican que el daño oxidativo en el eritrocito del gato se traduzca, fundamentalmente, en la formación de abundantes cuerpos de Heinz; por el contrario, en el perro siempre constituyen un hallazgo patológico, aunque son menos frecuentes ante una agresión oxidativa. La presencia de cuerpos de Heinz en el frotis sanguíneo de perro y cuando son numerosos o grandes en el gato sugiere una crisis hemolítica potencial. La formación de cuerpos de Heinz produce o no anemia hemolítica en función de la etiología (Tabla 3).

Inclusiones de moquillo canino

Las inclusiones víricas de moquillo canino, en hematíes y leucocitos, se observan excepcionalmente durante la fase virémica de una infección aguda. Su presencia en las células sanguíneas es transitoria. Estas inclusiones muestran un tamaño variable, generalmente mayor al de los cuerpos de Howell-Jolly, una forma redonda, oval o irregular y una coloración azul-grisácea (fig. 18g) cuando se tiñen con Wright o Giemsa, o rojiza con las tinciones rápidas.

Hematíes nucleados

Los hematíes nucleados que se observan en el frotis son, principalmente, metarrubricitos (figs. 18h, 18i y 18j). En ocasiones, también aparecen rubricitos (fig. 18k). Las células precursoras eritroides muestran la misma morfología en sangre periférica que en la médula ósea.

Es raro observar hematíes nucleados en los frotis sanguíneo del perro y del gato sano excepto en el Schnauzer miniatura y en el Daschund adultos, donde un bajo número es normal, así como en todas las razas de perros durante el primer mes de vida del animal. Una esplenomegalia marcada, asociada a una excitación intensa, puede producir un aumento ligero y transitorio del número de metarrubricitos en sangre, especialmente en el gato.

La eritroblastosis o metarrubricitosis, por lo general, constituye otro hallazgo más de la anemia marcadamente regenerativa; en estas situaciones, los hematíes nucleados se acompañan de una policromatofilia intensa (fig. 13). También, la eritroblastosis aparece junto a anemia no regenerativa y, por tanto, no asociada con policromatofilia significativa, en patologías medulares (estados preleucémicos, leucemias) o por lesión de la propia médula ósea (septicemia/endotoxemia) o de la barrera entre la médula ósea y la sangre (intoxicación por plomo), constituyendo una respuesta hematológica inapropiada (fig. 17). Una eritroblastosis ligera se detecta en ciertas patologías esplénicas, ya que el bazo actúa como un lugar de maduración de los hematíes (Tabla 4).

Parásitos eritrocitarios

El examen de un buen frotis sanguíneo permite revelar la presencia de parásitos eritrocitarios, bien en el interior de los hematíes, bien unidos a su superficie. Actualmente, existen técnicas de biología molecular para su diagnóstico, pero no representan un gran avance frente a la observación microscópica en el frotis sanguíneo. Su identificación requiere un frotis de calidad, realizado justo después de la toma de muestras y sin precipitados de colorante. Las parasitemias en las que se infectan más del 0,1% de los hematíes se consideran detectables en el frotis sanguíneo. Junto a los eritrocitos parasitados se observa una imagen de anemia regenerativa, ya que la mayoría producen una anemia hemolítica, que puede acompañarse de aglutinación y esferocitosis. De forma excepcional, ciertas parasitosis eritrocitarias, como la *Theileria felis*, se asocian a anemia no regenerativa.

Babesia spp.

En nuestro país, la piroplasmosis canina está producida por *Babesia canis canis* y *Theileria annae*; aún existe cierta controversia sobre si *T. annae* es una especie del género *Theileria* o *Babesia*. *B. canis* es

endémica en la zona norte de nuestro país, y, hasta el momento, *T. annae* es endémica en el noroeste. Cuando las babesias se tiñen con tinciones Romanowsky muestran un citoplasma incoloro a azul claro y un núcleo con una coloración rojiza o purpúrea. Los merozoítos intraeritrocitarios de *Babesia canis* tienen un aspecto piriforme, son de gran tamaño ($5 \mu\text{m} \times 2,5\text{-}3 \mu\text{m}$) y aparecen aislados, en parejas o en presentación múltiple (fig. 18l). *Babesia canis* se reconoce sin dificultad en el frotis sanguíneo, aunque los merozoítos se hinchan y se distorsionan si la sangre se almacena un tiempo prolongado antes de realizar el frotis sanguíneo.

Theileria annae es más pequeña ($3\text{-}4 \mu\text{m} \times 1,2\text{-}2 \mu\text{m}$) y, por tanto, más difícil de visualizar. Los merozoítos muestran una forma anular, oval o en coma y, generalmente, son únicos dentro del eritrocito (fig. 18m).

Figura 17. Frotis sanguíneo de gato con anemia grave no regenerativa infectado por FeLV con eritroblastosis marcada no asociada a policromatofilia significativa.

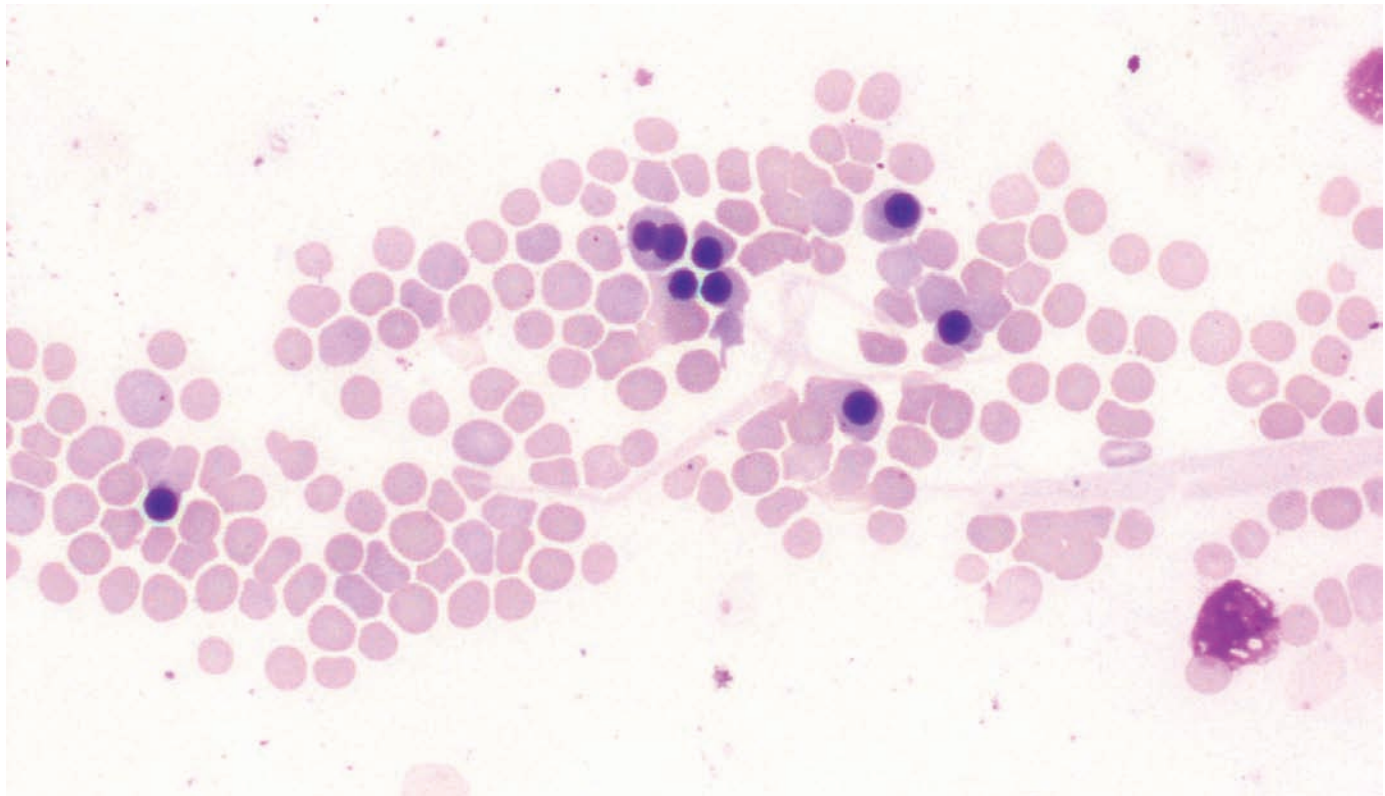


Tabla 4. Causas de eritroblastosis

Eritroblastosis asociada a anemia regenerativa (policromatofilia significativa)	Anemia hemolítica Anemia hemorrágica
Eritroblastosis asociada a anemia no regenerativa (sin policromatofilia significativa)	Síndromes mielodisplásicos ¹ Leucemia mieloide aguda Eritroleucemia Metástasis en médula ósea hematopoyética Hematopoyesis extramedular Hemangiosarcoma ² Septicemia /endotoxemia
Eritroblastosis no asociada a anemia	Esplenectomía Hiperadrenocorticismo Corticoterapia Hematopoyesis extramedular Enfermedades cardiovasculares Macrocitosis hereditaria del Caniche Intoxicación por plomo ³ Hipoxia medular ⁴

¹ Precursores eritroides con alteraciones en la maduración.² Puede asociarse también con anemia regenerativa.³ Eritroblastosis marcada (≥ 15 hematíes nucleados/100 leucocitos) sin anemia o con anemia ligera.⁴ Asociada a anemia cuando la hipoxia es por anemia hiperaguda.

Es más probable detectar los piroplasmas en las formas agudas de la enfermedad que en las formas crónicas subclínicas, así como en los frotis realizados a partir de sangre capilar y de los eritrocitos que se sitúan justo debajo de la costra flogística en un capilar de microhematocrito. Los hematíes parasitados tienen una mayor tendencia a situarse en los bordes y en la cola del frotis.

Mycoplasma haemofelis

Mycoplasma haemofelis (anteriormente denominado *Haemobartonella felis*) es un organismo epicelular que se une a la superficie externa del hematíe. Presenta una forma bacilar, cocoide o en anillo, un tamaño pequeño (0,5 μm de diámetro) y una coloración azul (fig. 18n). Las formas bacilares y en anillo suelen observarse en las zonas más finas del frotis, mientras que las formas cocoides se evidencian en las más gruesas. *M. haemofelis* aparece en la superficie del hematíe aislado o en grupos y formando cadenas en las parasitemias intensas. Es preciso diferenciarlo de los cuerpos de Howell-Jolly, del punteado basófilo y de precipitados de colorante. Para identificar la presencia de *M. haemofelis* se requiere un frotis realizado inmediatamente después de la toma de muestras, ya que *M. Haemofelis* se separa de los hematíes en las muestras mantenidas en EDTA, apareciendo en el fondo de la preparación, por lo que es imposible diferenciarlo de un precipitado de colorante. Los hematíes parasitados se hacen esféricos, y es frecuente la observación de aglutinación eritroide. Debido a la naturaleza cíclica de la parasitemia, su ausencia en frotis sanguíneo no descarta la infección. Con mayor probabilidad se detectan en muestras de sangre obtenidas durante la fase febril.

Theileria felis

Theileria felis (anteriormente denominado *Cytauxzoon felis*) es un parásito de los felinos que produce una enfermedad sistémica aguda de curso fatal. No existen casos publicados de theileriosis en gatos domésticos en nuestro país, pero se ha descrito en el lince ibérico. *T. felis* presenta una forma oval, azulada (1-5 μm de diámetro), con una zona central clara y, a menudo, un cuerpo de cromatina púrpura en uno de los extremos (aspecto de anillo de sello) o en ambos extremos (aspecto de imperdible). El parásito en el frotis sanguíneo sólo se observa en menos de la mitad de los gatos afectados; el número de hematíes parasitados generalmente no supera el 5%.

Artefactos en los hematíes

Con frecuencia, los hematíes muestran artefactos producidos durante la fase de secado, fijación o tinción del frotis sanguíneo, que pueden confundirse con parásitos eritrocitarios o con alteraciones de la morfología del eritrocito (figs. 18o y 18p).

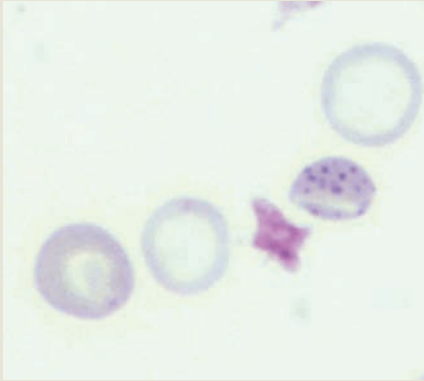


Figura 18a

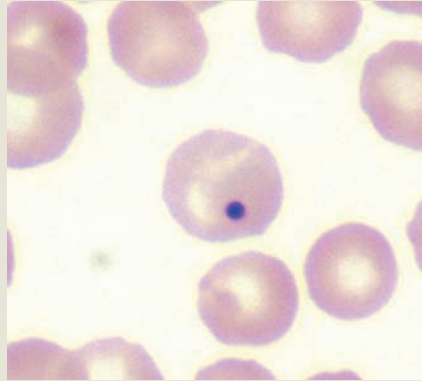


Figura 18b

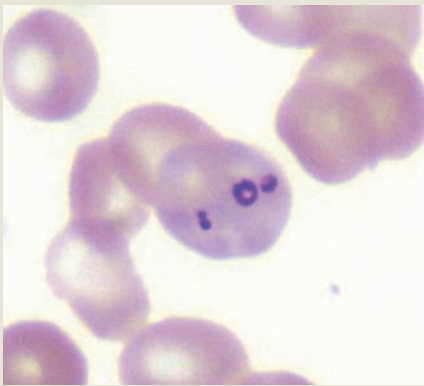


Figura 18c

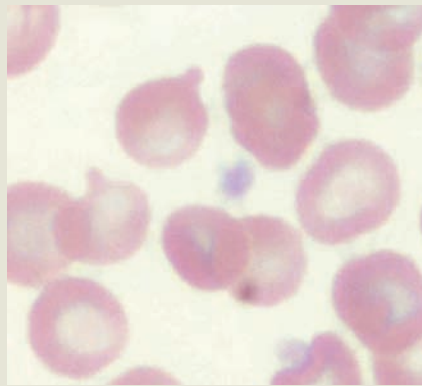


Figura 18d

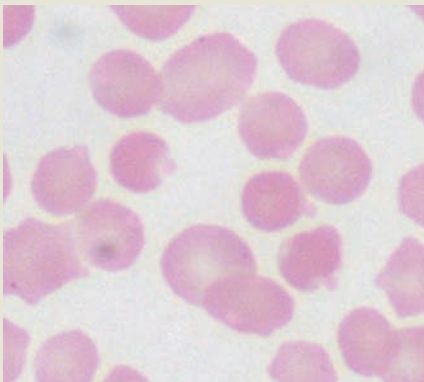


Figura 18e

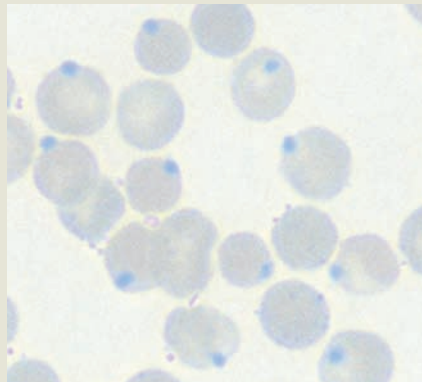


Figura 18f

Inclusiones citoplasmáticas, parásitos y artefactos eritrocitarios. Hematíes nucleados.

Figura 18.

- a. Punteado basófilo en un hematíe policromatófilo de perro plegado sobre sí mismo.
- b. Hematíe normocrómico de perro con un cuerpo de Howell-Jolly.
- c. Hematíe policromatófilo de perro con tres cuerpos de Howell-Jolly, uno de ellos con una imagen en anillo.
- d. Hematíes de perro con cuerpos de Heinz.
- e. Hematíes de gato con cuerpos de Heinz.
- f. Hematíes de gato con cuerpos de Heinz teñidos con nuevo azul de metileno.
- g. Cuerpo de inclusión de moquillo canino en un eritrocito.
- h. Metarrubricito de perro.
- i. Metarrubricito de perro expulsando el núcleo.
- j. Metarrubricito de perro.
- k. Rubricito de perro basófilo.
- l. Hematíe de perro con merozoítos de *Babesia canis*.
- m. Hematíes de perro con *Theileria annae*. (Imagen cedida por cortesía de la Dra. S. Olmeda, Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria de Madrid, UCM).
- n. Hematíes de gato con *Mycoplasma haemofelis*. Se observa claramente las formas en anillo y las formas cocoides en cadena.
- o. Artefactos en los hematíes con aspecto de vacuolas refringentes producidos por un defecto en el secado del frotis antes de la tinción o por el empleo de un fijador hidratado.
- p. Plaqueta superpuesta a un eritrocito.

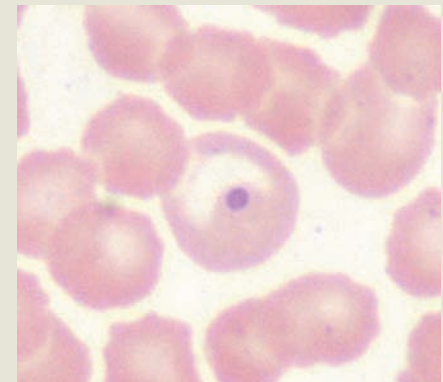


Figura 18g

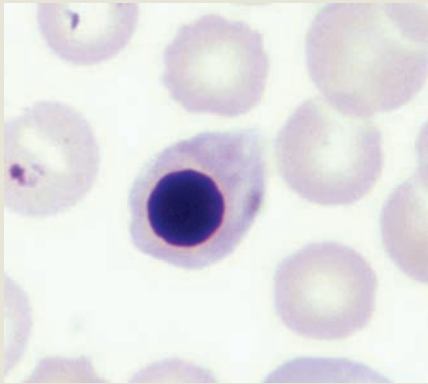


Figura 18h

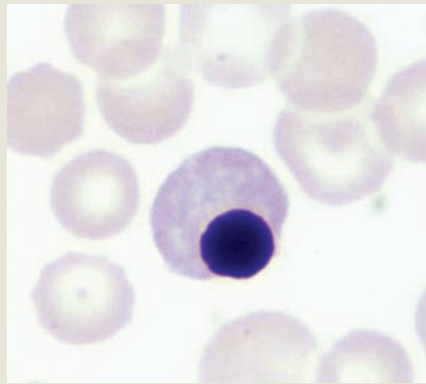


Figura 18i

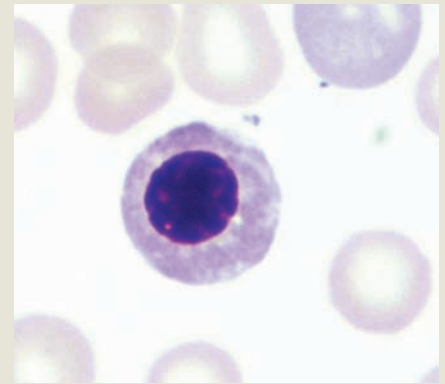


Figura 18j

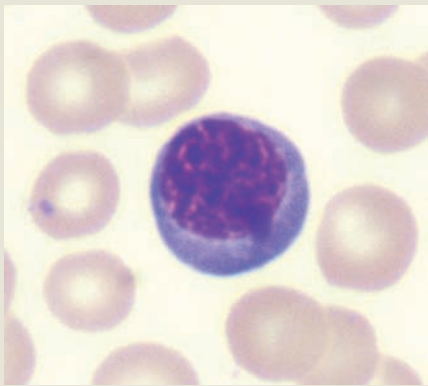


Figura 18k

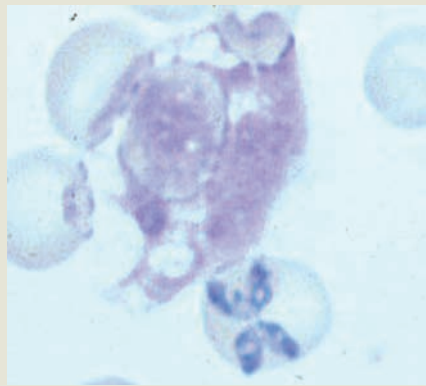


Figura 18l

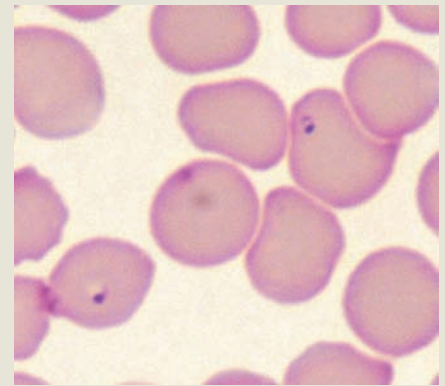


Figura 18m

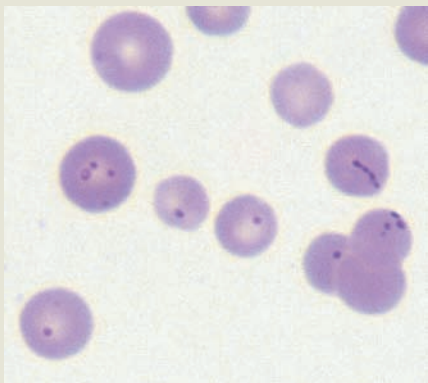


Figura 18n

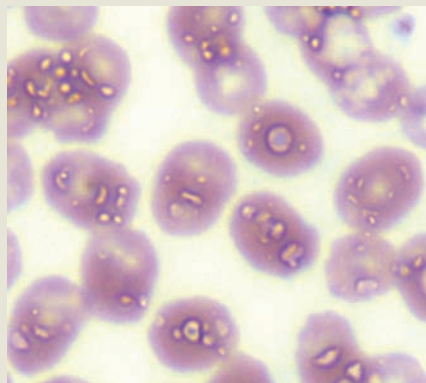


Figura 18o

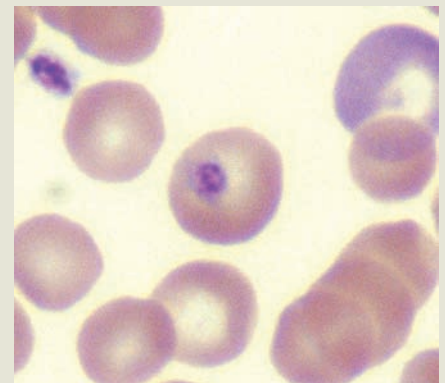


Figura 18p

Leucocitos

Morfología de los leucocitos y características de la población leucocitaria en sangre periférica del perro y del gato sano

Neutrófilo segmentado

El neutrófilo segmentado del perro y del gato tiene una morfología semejante y un tamaño inferior al del eosinófilo y basófilo. El núcleo es alargado, lobulado, con dos a cuatro lobulaciones, que se tiñe de color púrpura oscuro y muestra masas de cromatina condensada separadas por zonas estrechas de cromatina menos condensada. En el 4-11% de los neutrófilos de la hembra, se observa un apéndice nuclear (cromatina de Barr), en forma de palillo de tambor, que representa el remanente inactivado de un cromosoma X (fig. 19a). El citoplasma es incoloro o con una sutil eosinofilia o basofilia, dependiendo del tipo de tinción. Generalmente, los gránulos citoplasmáticos no son visibles con las tinciones Romanowsky.

Neutrófilo en banda

Esta célula presenta una morfología semejante al neutrófilo segmentado, exceptuando que el núcleo tiene una forma de U, S o J, sin lobulaciones, y la cromatina nuclear está menos condensada. El neutrófilo del perro y del gato se clasifica como banda cuando los bordes nucleares son lisos y paralelos entre sí, de manera que la anchura del núcleo es constante (fig. 19b). En el perro este criterio se amplía, clasificándose también como neutrófilo banda aquél que muestra constricciones nucleares que son menores a la mitad de la anchura del resto del núcleo (fig. 19c).

Eosinófilo

Su principal característica morfológica es la presencia de gránulos prominentes rojizos o rojizo-anaranjados. En el perro, son redondos y muy variables en número y tamaño entre distintas células, e, incluso, dentro de una misma célula (fig. 19d). En ocasiones, el eosinófilo de perro contiene uno o dos gránulos de gran tamaño que no hay que confundir con cuerpos de inclusión (fig. 19e). En el galgo o en algunos individuos de otras razas, los eosinófilos pueden degenerarse *in vitro*, de forma que, a menudo, faltan los gránulos y aparecen vacuolas claras en el citoplasma, lo que dificulta su diferenciación de neutrófilos tóxicos vacuolizados (fig. 19f). En el gato, los gránulos son abundantes, pequeños, de igual tamaño y forma bacilar (fig. 19g). Además de los gránulos, el eosinófilo muestra un citoplasma ligeramente basófilo, en ocasiones con algunas vacuolas, un núcleo con dos a tres lobulaciones y una cromatina menos condensada que la del neutrófilo segmentado. En ausencia de eosinofilia, es poco frecuente la observación de eosinófilos banda.

Basófilo

El basófilo del perro y del gato es el granulocito maduro de mayor tamaño. El núcleo es más alargado, tiene menos lobulaciones y se tiñe menos intensamente que el de los restantes tipos de granulocitos. A menudo, se extiende paralelamente a los márgenes de la célula. El citoplasma es azul-grisáceo a púrpura claro y, generalmente, contiene gránulos. En el perro, los gránulos son pequeños, redondos u ovals, escasos, dispersos, de color púrpura a rosa-púrpura (fig. 19h) y, en ocasiones, no se observan de forma evidente (fig. 19i); pueden confundirse con un neutrófilo tóxico o un monocito, aunque la morfología del núcleo y la coloración del citoplasma permiten su diferenciación. Los gránulos del basófilo de gato son redondos u ovals, abundantes

y con una coloración lavanda pálida o gris pálida (fig. 19j). Junto a estos gránulos, en algunos basófilos menos maduros, se observan gránulos más grandes de color púrpura oscuro. Con relativa frecuencia, el núcleo del basófilo de gato contiene seudoestructuras semejantes a vacuolas que son, en realidad, gránulos superpuestos al núcleo.

Linfocito

En el frotis sanguíneo, el linfocito muestra un tamaño variable; el más abundante en el perro y en el gato es el linfocito pequeño, caracterizado por su núcleo excéntrico, redondo, oval o ligeramente hendido, con cromatina densa agregada; su citoplasma es escaso, ligeramente basófilo, y se dispone como un anillo fino que puede no verse en toda su extensión (fig. 19k). Los linfocitos de tamaño medio también se observan en el frotis sanguíneo del perro y del gato sano. Su tamaño es algo mayor, semejante al del neutrófilo; su citoplasma es más abundante y rodea completamente el núcleo que aparece menos intensamente teñido con una cromatina menos densa (fig. 19l). Finalmente, pueden observarse linfocitos granulares, que no tienen significación clínica si su número es reducido; se caracterizan por la presencia de gránulos citoplasmáticos pequeños, rojizos a azurófilos, agrupados en una zona perinuclear (fig. 19m). Estos linfocitos son, generalmente, de tamaño medio y parecen ser linfocitos T cito-tóxicos o células NK (*natural killer*). En el frotis sanguíneo, no todos los linfocitos son redondos. Algunos se distorsionan por las fuerzas mecánicas generadas en la realización del frotis y otros adquieren otras formas al adaptarse a las células circundantes.

Monocito

El monocito del perro y del gato muestra un tamaño mayor que el neutrófilo. Su núcleo tiene formas muy variadas: redondeado,

ameboide, en alas de mariposa, en herradura o en forma de S. La cromatina es reticular o ligeramente condensada. El citoplasma es moderadamente abundante, ligeramente granular; de color gris-azulado. Puede presentar un número variable de vacuolas citoplasmáticas de diferente tamaño y, en ocasiones, se observan gránulos azurófilos muy pequeños dispersos en el citoplasma (figs. 19n y 19o). En el perro, son frecuentes los monocitos con un núcleo en banda (forma en herradura o S) que hay que diferenciarlos de los neutrófilos banda, sobre todo si son tóxicos (fig. 19p). Si existen dudas en la diferenciación, es necesario buscar signos de toxicidad en los neutrófilos maduros: si no existen, la célula con un núcleo en banda y un citoplasma gris-azulado se identifica como monocito. Otros criterios para su diferenciación son que los extremos del núcleo del monocito suelen ser más anchos, y que la cromatina nuclear no muestra el grado de condensación del neutrófilo banda. Los monocitos circulantes pueden transformarse a macrófagos si existe una demanda de fagocitosis en la sangre, como sucede en la AHI.

El neutrófilo segmentado es el leucocito más abundante en sangre periférica del perro y del gato adulto sano, seguido, en proporción descendente, del linfocito, monocito, eosinófilo, neutrófilo banda y basófilo. Los perros recién nacidos muestran un número mayor de neutrófilos banda que el animal adulto y, en ocasiones, se observan metamielocitos sin evidencia de enfermedad; esta ligera desviación a la izquierda desaparece a los 7-10 días de vida. El recuento de linfocitos es significativamente más elevado en los perros y en los gatos que no han alcanzado la madurez. En el gato joven, la excitación en la toma de muestras produce un aumento en el número de linfocitos, que puede superar al de los neutrófilos. En ciertas zonas geográficas, los perros y los gatos pueden mostrar recuentos de eosinófilos más altos debido a alérgenos ambientales.

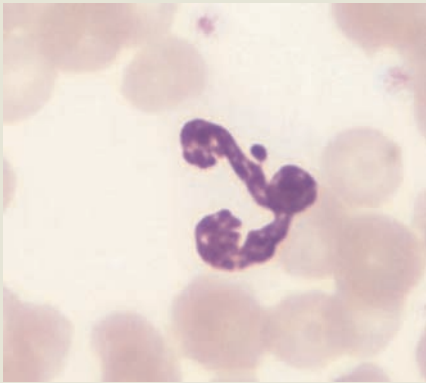


Figura 19a



Figura 19b



Figura 19c

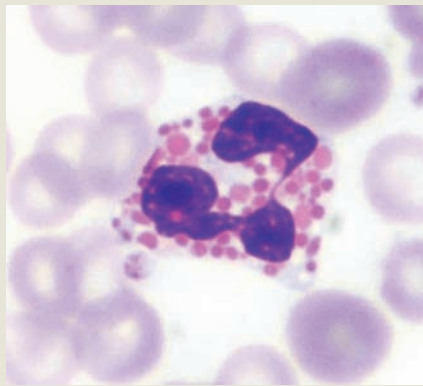


Figura 19d

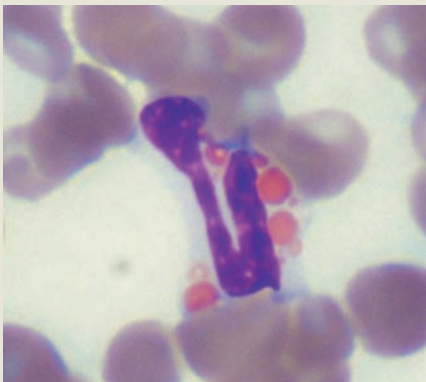


Figura 19e

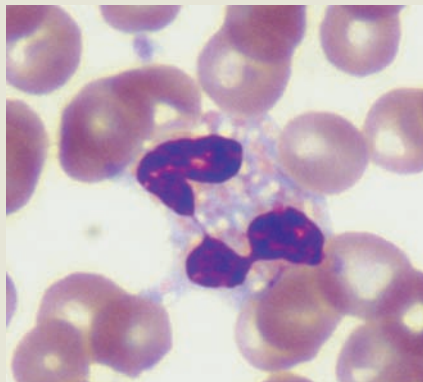


Figura 19f

Morfología normal de los leucocitos de perro y de gato

Figura 19.

- a. Neutrófilo segmentado de perro con cromatina de Barr.
- b. Neutrófilo banda de perro con bordes nucleares lisos y paralelos.
- c. Neutrófilo banda de perro con dos constricciones nucleares menores a la mitad de la anchura del resto del núcleo.
- d. Eosinófilo de perro con gránulos citoplasmáticos abundantes de tamaño variable.
- e. Eosinófilo de perro con gránulos citoplasmáticos escasos de tamaño muy diferente.
- f. Eosinófilo de perro parcialmente degranulado; se observa la presencia de gránulos escasos pequeños y de vacuolas claras en el citoplasma.
- g. Eosinófilo de gato.
- h. Basófilo de perro con gránulos citoplasmáticos evidentes.
- i. Basófilo de perro con gránulos citoplasmáticos sutiles.
- j. Basófilo de gato.
- k. Linfocito pequeño de perro.
- l. Linfocito mediano de gato.
- m. Linfocito granular de perro.
- n. Monocito de perro con núcleo en alas de mariposa y abundantes vacuolas citoplasmáticas.
- o. Monocito de perro con núcleo redondeado.
- p. Monocitos de perro con núcleos en banda.

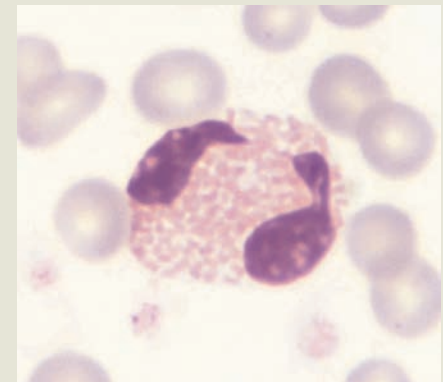


Figura 19g

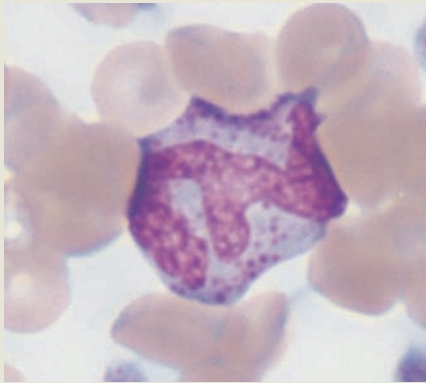


Figura 19h

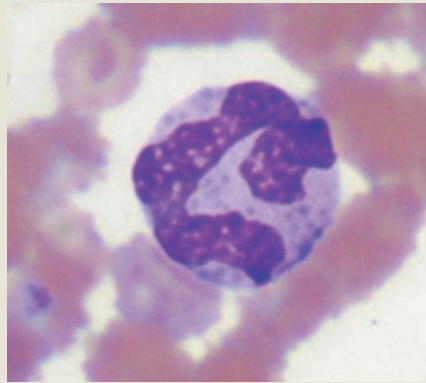


Figura 19i

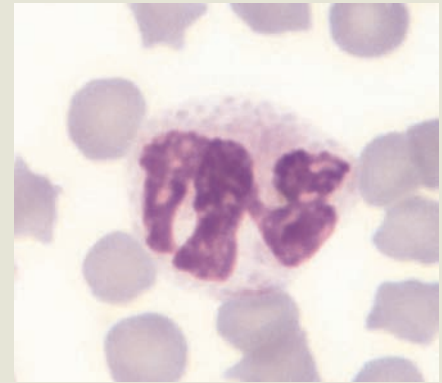


Figura 19j

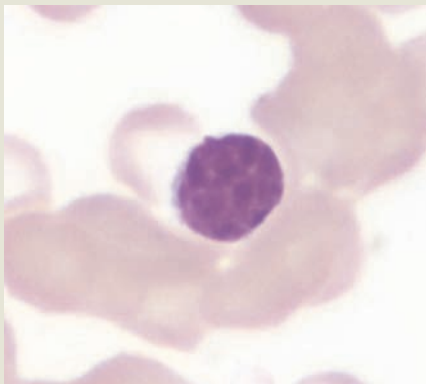


Figura 19k

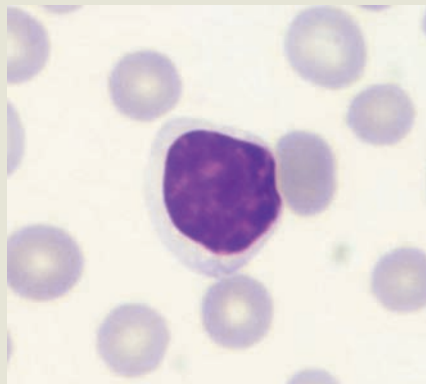


Figura 19l

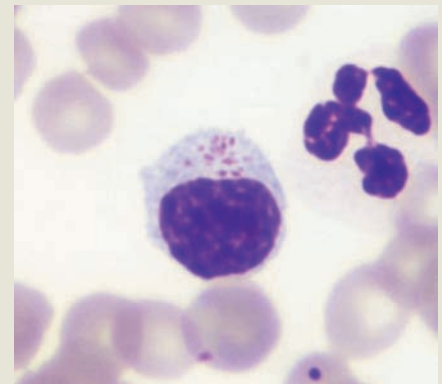


Figura 19m

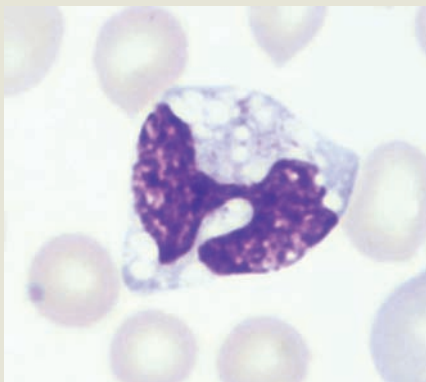


Figura 19n

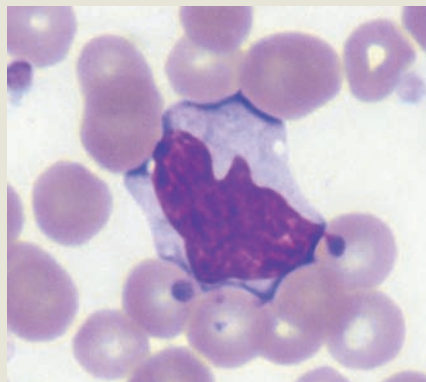


Figura 19o

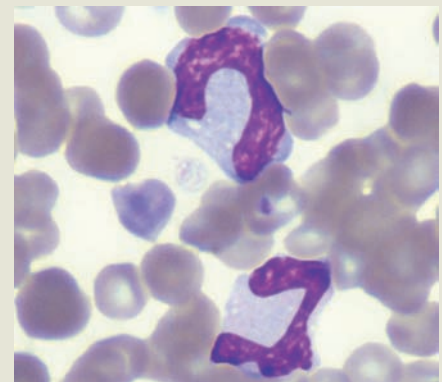


Figura 19p

Alteraciones morfológicas de los leucocitos de interés clínico

Neutrófilos tóxicos

Los cambios tóxicos en los neutrófilos constituyen la alteración morfológica más frecuente de los leucocitos. Aparecen, en perro y gato, tanto en los segmentados como en los banda, e, incluso, en formas más inmaduras (p. ej.: metamielocito). Los neutrófilos tóxicos se identifican en el frotis sanguíneo por presentar:

- **Cuerpos de Döhle:** inclusiones citoplasmáticas, pequeñas, irregulares, azul-grisáceas, formadas por agregados de retículo endoplásmico rugoso (fig. 21a, ver pág. 356); representan el cambio tóxico más leve. Se observan con más frecuencia en el frotis sanguíneo del gato, pero su significación clínica, cuando el número es reducido, es dudosa ya que se describen en algunos gatos sanos o con procesos inflamatorios leves.
- **Basofilia citoplasmática:** el citoplasma adquiere una coloración azul-grisácea pálida homogénea a azul-púrpura parcheada debido a la mayor cantidad de ARN ribosomal (figs. 21b, 21c, 21d y 21e). Es el cambio tóxico que desaparece más tarde en la fase de recuperación de la enfermedad.
- **Vacuolización citoplasmática:** este cambio tóxico aparece frecuentemente junto a basofilia citoplasmática; se caracteriza por la presencia de numerosas vacuolas, escasamente definidas, que conceden al citoplasma un aspecto espumoso (figs. 21c, 21d y 21e). Se observa con frecuencia en las infecciones bacterianas graves.

- **Granulación tóxica:** se manifiesta por la presencia de gránulos múltiples, pequeños, dispersos, de color magenta. Son gránulos primarios del citoplasma del neutrófilo que, en condiciones normales no se visualizan. La granulación tóxica es poco frecuente, tanto en perro como en gato.

- **Neutrófilos gigantes:** pueden alcanzar un tamaño de hasta dos veces el tamaño de un neutrófilo maduro o en banda; mantienen la morfología nuclear normal o, por el contrario, aparece hiposegmentado. En ocasiones, presentan un núcleo en anillo (neutrófilos en "donuts") (fig. 21f). Son más frecuentes en el gato que en el perro. Los neutrófilos gigantes se producen por una disminución en las divisiones mitóticas durante la granulopoyesis o en patologías que cursan con disgranulopoyesis como la leucemia mieloide aguda o los síndromes mielodisplásicos (fig. 21g).

Los cambios tóxicos reflejan una maduración incorrecta del neutrófilo en la médula ósea, como consecuencia del acortamiento en el tiempo de maduración, al estar su producción muy acelerada. Se observan en procesos inflamatorios graves, de cualquier etiología, que estimulen intensamente la producción de neutrófilos. Una causa frecuente de toxicidad grave es la endotoxemia, ya que las toxinas bacterianas inducen los cambios tóxicos más graves; no obstante, ciertos tóxicos no bacterianos (p. ej.: agentes quimioterápicos) pueden ocasionar toxicidad en los neutrófilos. En general, se acompañan de desviación a la izquierda; si dicha desviación es severa y la toxicidad alta, resulta difícil diferenciar los monocitos de los neutrófilos banda y de los metamielocitos tóxicos.

En el examen del frotis sanguíneo, hay que reseñar el grado de toxicidad de los neutrófilos, así como su gravedad (Tabla 5), que es proporcional a la intensidad del proceso inflamatorio y de la endotoxemia.

Tabla 5. Valoración de la toxicidad de los neutrófilos en el frotis sanguíneo

Valoración del grado de toxicidad		Valoración semicuantitativa de gravedad de la toxicidad	
Ligera	% neutrófilos tóxicos <10	Cambio morfológico Cuerpos de Döhle	+1
Moderada	10-30	Ligera basofilia	+1
Marcada	>30	Ligera basofilia con cuerpos de Döhle	+2
		Ligera basofilia con vacuolización ¹	+2
		Intensa basofilia con vacuolización ¹	+3
		Basofilia con granulación tóxica ¹	+3
		Neutrófilos gigantes	+3

¹También pueden contener cuerpos de Döhle.

Desviación a la izquierda

Este término indica un aumento, por encima de los valores de referencia, de los neutrófilos banda, acompañados o no de neutrófilos más inmaduros. Si la desviación a la izquierda es grave, aparecen frecuentemente metamielocitos neutrófilos y, en ocasiones, mielocitos; la presencia de mieloblastos y promielocitos es rara. Estos precursores granulocíticos muestran la misma morfología en la sangre que en la médula ósea.

La causa más frecuente de desviación a la izquierda es un proceso inflamatorio; su magnitud está relacionada con la gravedad de la inflamación. Con frecuencia, la desviación a la izquierda se asocia con cambios tóxicos en los neutrófilos de diferente gravedad, incluyendo la aparición de neutrófilos gigantes (fig. 20).

Una desviación a la izquierda degenerativa describe aquella situación en la que el número de neutrófilos banda (o de formas más inmaduras) excede el número de neutrófilos segmentados, con recuento leucocitario normal o con leucopenia. Este tipo de desviación a la izquierda se produce en enfermedades inflamatorias sistémicas graves o enfermedades infecciosas con septicemia. Una excepción es la fase de recuperación de las enfermedades que cursan con destrucción de las células hematopoyéticas precursoras. Tanto la desviación a la izquierda con neutropenia como la desviación a la izquierda degenerativa se consideran de mal pronóstico.

Una leucocitosis marcada (50.000-100.000 leucocitos/ μ l) con neutrofilia y desviación a la izquierda intensa con presencia de metamielocitos y mielocitos, asociada a un proceso inflamatorio, se denomina reacción leucemioide. Generalmente, en esta situación, la desviación a la izquierda es ordenada, es decir, predominan los neutrófilos segmentados sobre los neutrófilos banda y éstos sobre los metamielocitos, siendo muy bajo el número de mielocitos. Una reacción leucemioide indica la presencia de un proceso inflamatorio grave, y puede resultar difícil de diferenciar de la leucemia mieloide crónica. Este tipo de leucemia cursa con leucocitosis (>50.000 leucocitos/ μ l), con desviación a la izquierda severa, generalmente menos ordenada que en la reacción leucemioide y sin presencia de cambios tóxicos en los neutrófilos.

Neutrófilos hipersegmentados

Son neutrófilos con cinco o más lobulaciones nucleares (fig. 21h). Aparecen cuando aumenta el tiempo de permanencia de los neutrófilos en el torrente sanguíneo. Se describe en hiperadrenocorticismo, corticoterapia, procesos inflamatorios crónicos o en los síndromes mielodisplásicos donde pueden adquirir un gran tamaño (neutrófilos gigantes). Asimismo, constituyen otro hallazgo del frotis sanguíneo del Caniche con macrocitosis hereditaria.

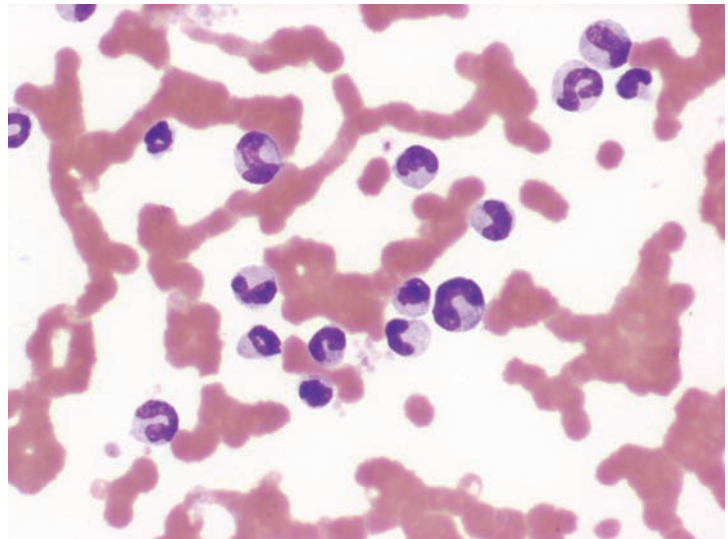


Figura 20. Frotis sanguíneo de perro con una desviación a la izquierda intensa; se observan neutrófilos en banda y metamielocitos tóxicos, así como hematíes dispuestos en pilas de moneda.

Linfocitos reactivos

Los linfocitos reactivos se caracterizan por presentar un tamaño grande, que llega a ser mayor que el del neutrófilo, con citoplasma amplio intensamente basófilo; su núcleo, generalmente hendido, presenta un patrón de cromatina típico del linfocito maduro o una cromatina más inmadura de aspecto punteado (fig. 21i, 21j y 21k). En casos aislados, adquieren una morfología semejante a las células plasmáticas maduras (fig. 21l). De forma ocasional, los linfocitos reactivos aparecen en animales sanos, especialmente cuando son jóvenes, pero su presencia en número abundante sugiere que el animal está sometido a una intensa estimulación antigénica (p. ej.: vacunación o infección).

En el frotis sanguíneo es posible detectar la presencia de **linfoblastos**, que hay que diferenciar de los linfocitos reactivos. Los linfoblastos son más grandes que los linfocitos pequeños. El núcleo habitualmente es redondeado, pero puede aparecer hendido; la cromatina nuclear muestra, por lo general, un patrón granular fino y presentan uno o más nucléolos, aunque, a menudo, son difíciles de evidenciar con las tinciones habituales. El citoplasma es más basófilo que el de la mayoría de los linfocitos sanguíneos no reactivos (fig. 21m). La observación de linfoblastos en el frotis sanguíneo sugiere la existencia de una neoplasia linfoide.

Inclusiones citoplasmáticas de agentes infecciosos

Inclusiones de moquillo canino

Las inclusiones víricas de moquillo canino se detectan sin dificultad en los linfocitos, monocitos y neutrófilos cuando se tiñen con tinciones rápidas; muestran una morfología igual a la descrita en los eritrocitos.

Hepatozoon canis

Los frotis sanguíneos procedentes de perros con sospecha clínica de hepatozoonosis requieren un estudio exhaustivo, pues sólo de forma excepcional la parasitemia supera el 0,1%. Los gamontes son alargados, con forma elipsoidal y aparecen en los monocitos y neutrófilos. Debido a su gran tamaño (11 μm x 4 μm), desplazan el núcleo y distorsionan los bordes del citoplasma (fig. 21n). Conviene realizar los frotis inmediatamente después de la toma de muestras, ya que los parásitos salen de los leucocitos cuando la muestra sufre cambios de temperatura, observándose, entonces, únicamente la cápsula (fig. 21o). Los leucocitos parasitados tienden a situarse en los bordes y en la cola del frotis.

Ehrlichia spp.

Las mórulas de las diferentes especies de *Ehrlichia* presentan una forma redonda a oval y una coloración eosinófila a basófila. Están formadas por una agrupación de organismos cocoidales denominados cuerpos elementales. Las mórulas de *E. canis* se localizan en el citoplasma de los linfocitos y monocitos; se observan excepcionalmente en la fase aguda de la infección.

Bacterias, hongos y protozoos

No es frecuente detectar la presencia de bacterias en el frotis sanguíneo en el curso de la bacteriemia; sólo se puede establecer un diagnóstico definitivo si se observan fagocitadas. Excepcionalmente, los monocitos y los neutrófilos pueden contener amastigotes de *Leishmania infantum* (fig. 21p) o levaduras de *Histoplasma capsulatum*.

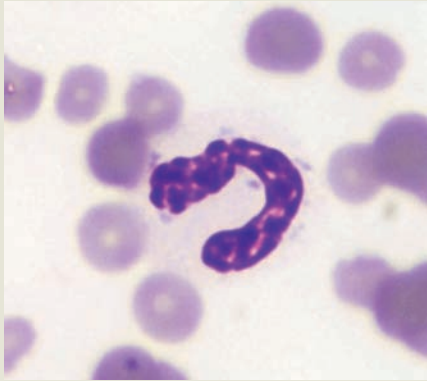


Figura 21a

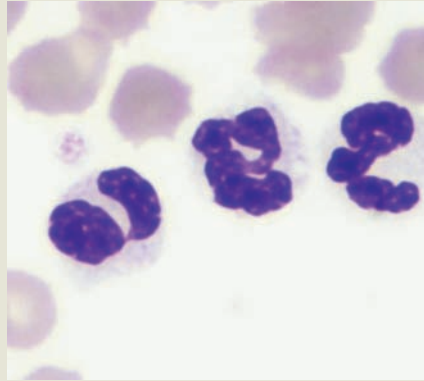


Figura 21b

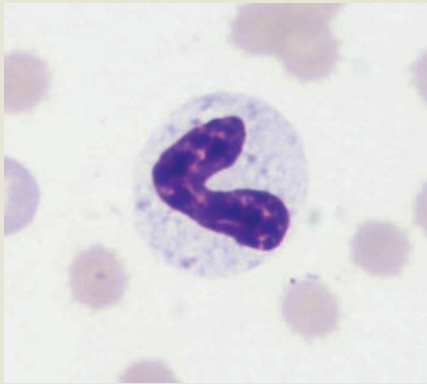


Figura 21c

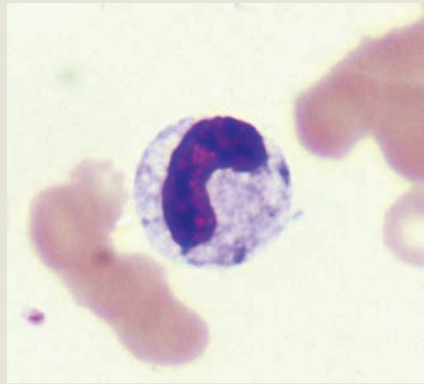


Figura 21d

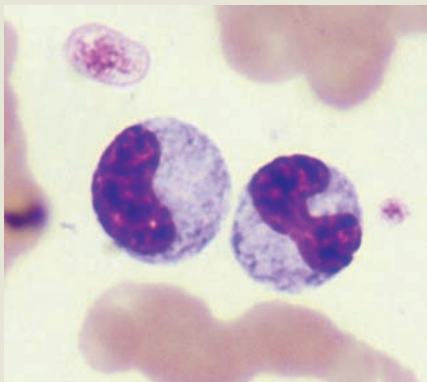


Figura 21e

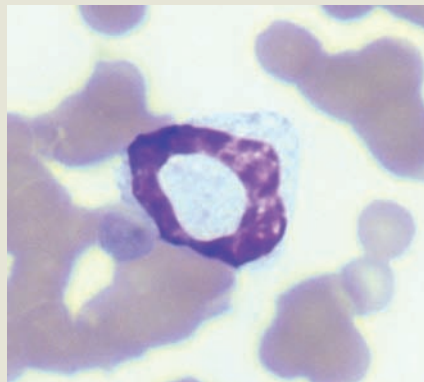


Figura 21f

Alteraciones morfológicas de los leucocitos e inclusiones citoplasmáticas de agentes infecciosos

Figura 21.

- a. Neutrófilo en banda tóxico de gato con cuerpos de Döhle; gravedad de la toxicidad: +1.
- b. Neutrófilos segmentados tóxicos de perro con ligera basofilia citoplasmática; gravedad de la toxicidad: +1.
- c. Neutrófilo en banda tóxico de perro con ligera basofilia citoplasmática, vacuolización que concede al citoplasma un aspecto espumoso y cuerpos de Döhle; gravedad de la toxicidad: +2.
- d. Neutrófilo en banda tóxico de perro con intensa basofilia citoplasmática, vacuolización que concede al citoplasma un aspecto espumoso y cuerpos de Döhle; gravedad de la toxicidad: +3.
- e. Neutrófilo en banda y metamielocito neutrófilo tóxicos de perro con intensa basofilia citoplasmática y discreta vacuolización; gravedad de la toxicidad: +3.
- f. Neutrófilo tóxico gigante de gato con un núcleo en anillo (neutrófilo en "donuts"); gravedad de la toxicidad: +3.
- g. Neutrófilos gigantes de gato con síndrome mielodisplásico por FeLV.
- h. Neutrófilo hipersegmentado de gato.
- i. Linfocito reactivo de perro.
- j. Linfocito reactivo de perro con un tamaño mayor que el del neutrófilo que aparece la imagen.
- k. Linfocito reactivo de perro con núcleo hendido.
- l. Linfocito reactivo de perro con morfología semejante a una célula plasmática madura.
- m. Linfoblasto de perro con linfosarcoma.
- n. Gamonte de *Hepatozoon canis* en un neutrófilo.
- o. Cápsula de un gamonte de *Hepatozoon canis* en un neutrófilo.
- p. Amastigote de *Leishmania infantum* en un neutrófilo de perro en la cola del frotis sanguíneo.

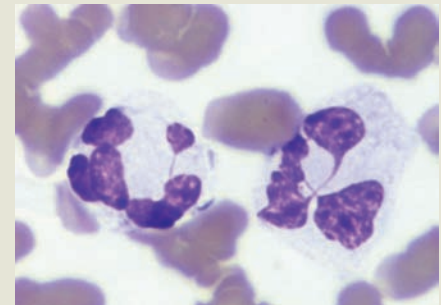


Figura 21g

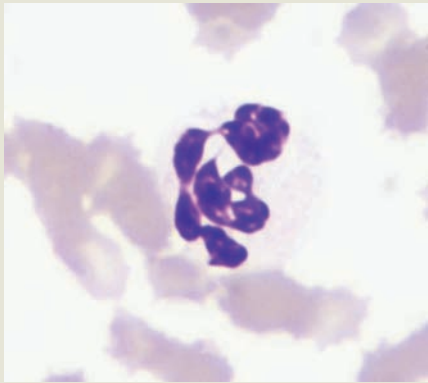


Figura 21h

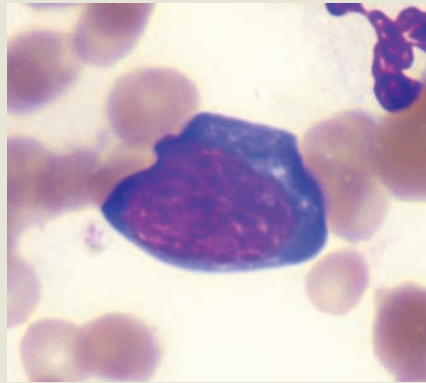


Figura 21i

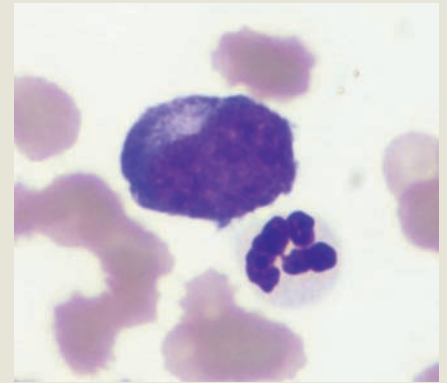


Figura 21j

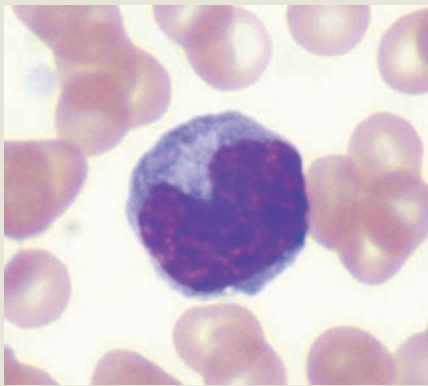


Figura 21k

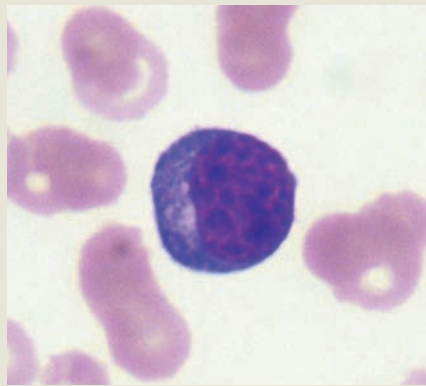


Figura 21l

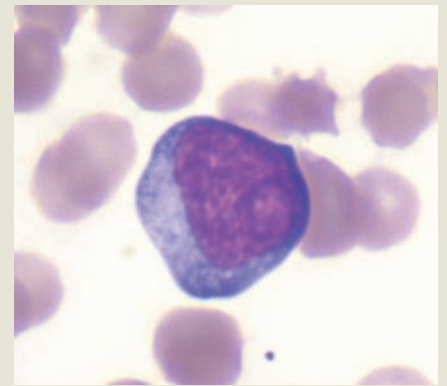


Figura 21m

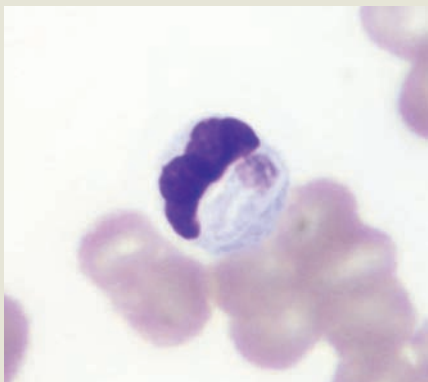


Figura 21n

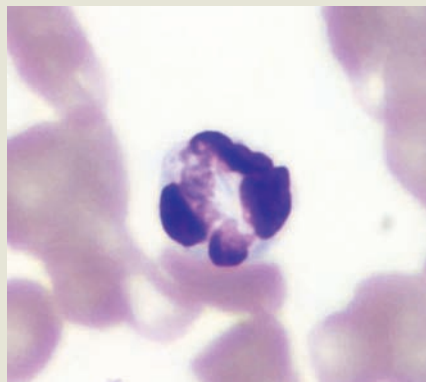


Figura 21o

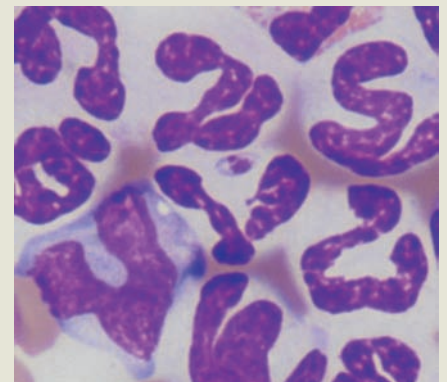


Figura 21p

Plaquetas

Morfología de las plaquetas del perro y del gato sano en sangre periférica

Las plaquetas son células pequeñas, anucleadas, redondas u ovales, que se generan por fragmentación del citoplasma de los megacariocitos. El citoplasma es homogéneo, azul pálido, con numerosos gránulos finos, dispersos o agregados en posición central, de color rosa a púrpura. Las plaquetas del perro sano tienen un tamaño que oscila entre una cuarta parte a un tercio del tamaño del hematíe, aunque un número muy reducido muestran un tamaño igual al del eritrocito (fig. 22a). En el gato sano, el tamaño de las plaquetas es más variable, y algunas poseen un tamaño igual, o ligeramente superior, al del hematíe (fig. 22b). En ocasiones, estas plaquetas grandes presentan una forma alargada. En el frotis sanguíneo, las plaquetas de gato sano muestran signos morfológicos de, al menos, una ligera activación (fig. 22c).

Alteraciones morfológicas de las plaquetas de interés clínico

Plaquetas activadas

Las plaquetas activadas *in vitro* o *in vivo* (p. ej.: CID) presentan pseudópodos citoplasmáticos pequeños si la activación es ligera (figs. 22c, 22h, 22i y 22j), gránulos citoplasmáticos agrupados en posición central (fig. 22g), disminución de la granularidad o gránulos menos teñidos y vacuolas (fig. 22i).

Los agregados de plaquetas en el frotis sanguíneo se forman por activación *in vitro* de las mismas. Son muy frecuentes en los frotis de gato debido a la sensibilidad especial de la plaqueta del gato para activarse durante la obtención y posterior manipulación de la muestra. Los agregados pequeños se localizan en la zona en monocapa (fig. 22d) y en el cuerpo del frotis, mientras que los grandes tienden a situarse en la cola del frotis (figs. 22e y 6). Los agregados formados por plaquetas que han sufrido degranulación durante su activación, aparecen como un material azul pálido que puede confundirse con un artefacto (fig. 22f). Es preciso reseñar la presencia de agregados de plaquetas en el frotis, ya que producen una disminución falsa del recuento de plaquetas.

Macroplaquetas

Las plaquetas que tienen un tamaño igual al eritrocito se denominan plaquetas grandes, macroplaquetas o macrotrombocitos (figs. 22g, 22h y 22i), y aquéllas con un tamaño mayor al del hematíe se denominan plaquetas gigantes, megaplaquetas, megatrombocitos o plaquetas de estrés (fig. 22j).

La presencia de plaquetas gigantes o un aumento en el número de plaquetas grandes en un animal con trombocitopenia indican, por lo general, un aumento de la trombopoyesis, lo que sugiere que la causa de la trombocitopenia es extramedular; no obstante, también se observan en animales trombocitopénicos con mielodisplasia y enfermedades mieloproliferativas. Asimismo, plaquetas de gran tamaño pueden aparecer en animales con anemia regenerativa o leucocitosis, en ausencia de trombocitopenia, probablemente por una estimulación de la hematopoyesis.

Aproximadamente el 50% de los Cavalier King Charles Spaniel presentan una enfermedad hematológica hereditaria benigna, asintomática, caracterizada por la presencia de macroplaquetas junto a trombocitopenia.

Microplaquetas

Las microplaquetas o fragmentos de plaquetas, tienen un tamaño inferior a $1\ \mu\text{m}$ (figs. 22k y 22l). Aparecen en microangiopatías, anemia ferropénica, aplasia medular o en la fase inicial de la trombocitopenia inmunomediada. También, se forman *in vitro* cuando la muestra se conserva más de 24 horas en EDTA.

Parásitos plaquetarios

Anaplasma platys

Anaplasma platys (anteriormente denominado *Ehrlichia platys*) parasita las plaquetas del perro y produce una trombocitopenia cíclica. En el citoplasma de la plaqueta parasitada se observa una mórula basófila compuesta por una agrupación densa de organismos cocoidales, denominados cuerpos elementales. Estas mórulas aparecen en un número muy reducido en el frotis sanguíneo.

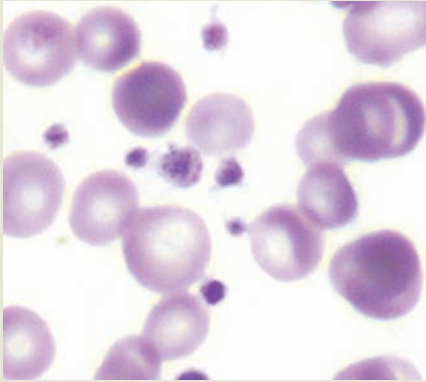


Figura 22a

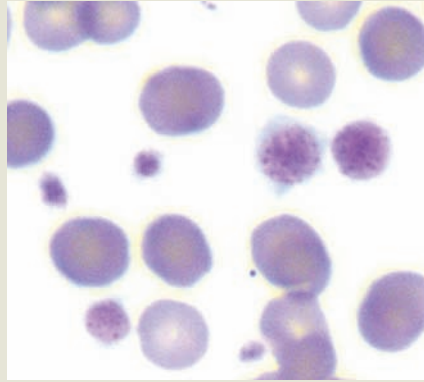


Figura 22b

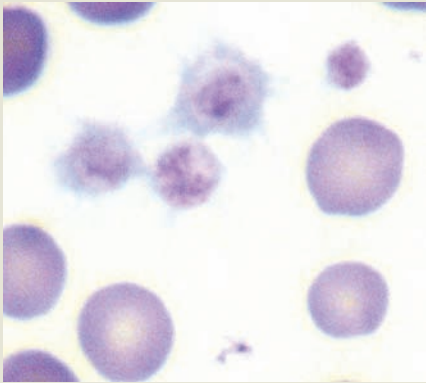


Figura 22c

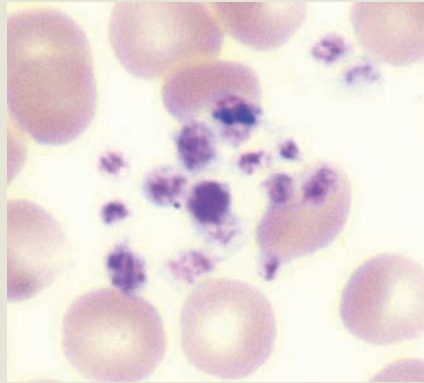


Figura 22d

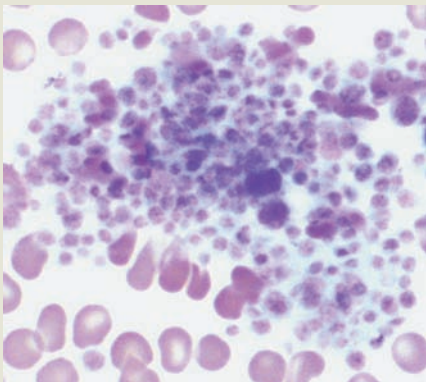


Figura 22e

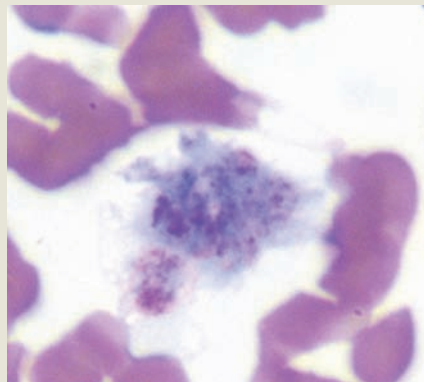


Figura 22f

Morfología normal de las plaquetas y sus alteraciones morfológicas.

- Figura 22.
- Plaquetas normales de perro.
 - Plaquetas normales de gato; a la derecha de la imagen se observa dos plaquetas con un tamaño semejante al del eritrocito.
 - Plaquetas normales de gato ligeramente activadas con seudópodos citoplasmáticos pequeños.
 - Frotis sanguíneo de perro en la zona en monocapa con un agregado plaquetario pequeño.
 - Final de un frotis sanguíneo de perro con un agregado plaquetario grande.
 - Agregado de plaquetas activadas y degranuladas de gato con aspecto de un material azul pálido amorfo.

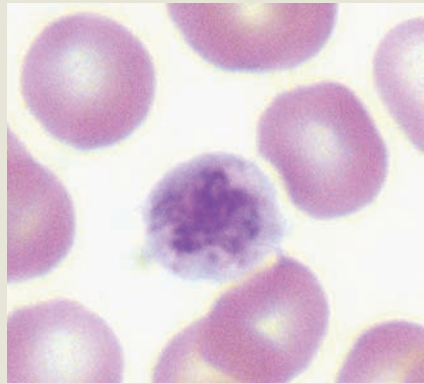


Figura 22g

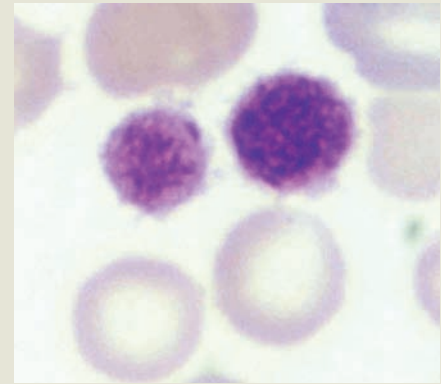


Figura 22h

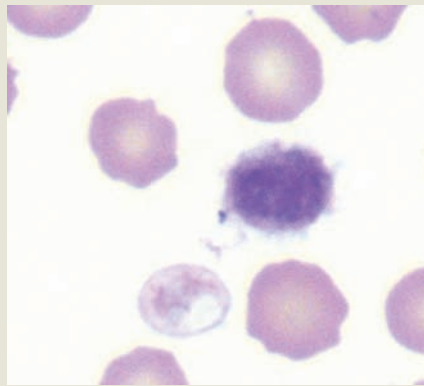


Figura 22i

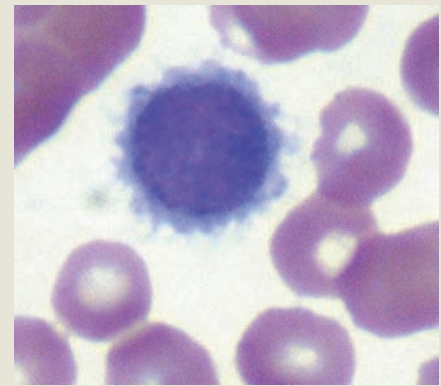


Figura 22j

- g. Macroplaqueta de perro con un tamaño igual al del eritrocito y gránulos citoplasmáticos en posición central.
- h. Plaquetas de perro ligeramente activadas con seudópodos citoplasmáticos pequeños; la plaqueta situada a la derecha de la imagen presenta un tamaño igual al del eritrocito.
- i. Macroplaqueta de perro ligeramente activada con seudópodos citoplasmáticos pequeños; en la parte inferior de la imagen se observa una plaqueta activada hipogranular con una vacuola.
- j. Plaqueta gigante de perro ligeramente activada con seudópodos citoplasmáticos pequeños.
- k. Microplaquetas de perro.
- l. Microplaquetas de gato.

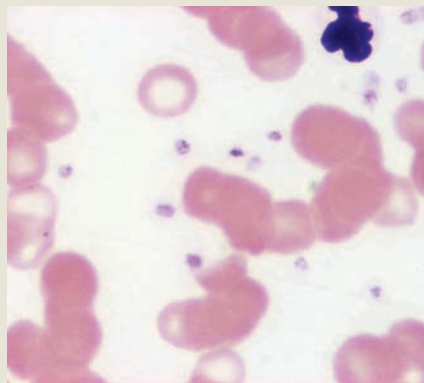


Figura 22k

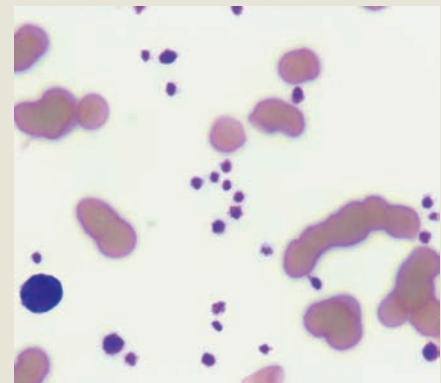


Figura 22l

Bibliografía

- ALLISON, RW. Y MEINKOTH, JH.: Hematology without the numbers: in-clinic blood film evaluation. *The Vet. Clin. North Am. (small animal practice)*, 2007, n° 37, pp. 245-266.
- CHRISTOPHER, MM. Y LEE, SE.: Red cell morphologic alterations in cats with hepatic disease. *Vet. Clin. Pathol.*, 1994, n° 23, pp. 7-12.
- NG, CY. Y MILLS, JN.: Clinical and haematological features of haemangiosarcoma in dogs. *Aust. Vet. J.*, 1985, n° 62, pp. 1-4.
- CALDIN, M., CARLI E., FURLANELLO, T., SOLANO-GALLEGO L., TASCIA S., PATRON C., LUBAS G.: A retrospective study of 60 cases of eccentricity in the dog. *Vet. Clin. Pathol.*, 2005, n° 34, pp. 224-231.
- GARCÍA AT.: Piroplasma infection in dogs in northern Spain. *Vet. Parasitol.*, 2006, n° 138, pp. 97-102.
- HALMAY D., SÓTONYI P., VAJDOVICH P., GAÁL T.: Morphological evaluation of canine platelets on Giemsa and PAS stained blood smears. *Acta Vet. Hung.* 2005, n° 53, pp. 337-350.
- COWAN SM., BARTGES JW., GOMPF RE., HAYES JR., MOYERS TD., SNIDER CC., GERARD DA., GRAFT RM., MUENCHEN RA., CARROLL RC.: Giant platelet disorder in the Cavalier King Charles Spaniel. *Exp. Hematol.* 2004, n° 32, pp. 344-350.
- FELDMAN, BF., ZINKL, JG. Y JAIN, NC.: *Schalm's Veterinary Hematology*, 5ª ed. Philadelphia: Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- GOSSETT KA., CARAKOSTAS MC.: Effect of EDTA on morphology of neutrophils of healthy dogs and dogs with inflammation. *Vet. Clin. Pathol.* 1984, n° 13, pp. 22-25.
- GILARD S., KLEMENT E., AROCH I.: Toxic neutrophils in cats: clinical and clinicopathologic features and disease prevalence and outcome. A retrospective case control study. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, n° 20, pp. 20-31.
- HARVEY, JW.: *Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of domestic animals*, Philadelphia: Ed. Saunders Co, 2001.
- MEYER, DJ. Y MEYER, JW.: *Evaluation of erythrocytic disorders*. En Meyer, DJ, y Meyer, JW. (eds): *Veterinary Laboratory Medicine*. 3ª ed. St. Louis: Ed Saunders Elsevier; 2004. pp. 47-81.
- MEYER, DJ. Y MEYER, JW.: *Evaluation of leukocytic disorders*. En Meyer, DJ, y Meyer, JW. (eds): *Veterinary Laboratory Medicine*. 3ª ed. St. Louis: Ed Saunders Elsevier; 2004. pp. 82-106.
- WALKER, D.: Peripheral blood smears. En: Cowell, RL, Tyler, RD. y Meinkoth, JH. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 254-283.

Cristina Fragío Arnold

citología
de la médula
ósea

El examen citológico de la médula ósea (MO) es una herramienta muy importante en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, pudiendo resultar también muy útil para la evaluación de muchas enfermedades infecciosas y neoplásicas. La obtención de muestras de MO es un procedimiento simple, que puede realizarse en cualquier clínica veterinaria, y su examen e interpretación debe realizarse siempre valorando conjuntamente los hallazgos en sangre periférica y el historial clínico completo.

Indicaciones del estudio citológico

El examen de la MO aporta información sobre la capacidad hematopoyética del animal. Está indicado cuando en sangre periférica aparecen aumentos o descensos persistentes del número de células o bien presencia de células anormales sin una causa aparente. Las principales situaciones en las que está indicado realizar un examen de la MO aparecen en la tabla I. En todos los casos citados en dicha tabla, se puede realizar la evaluación citológica de la MO con muestras obtenidas mediante aspiración. Sin embargo, en otras patologías es necesario recurrir a biopsias medulares para poder emitir un diagnóstico histopatológico completo, como en:

- Lesiones óseas (lesiones osteolíticas, osteoesclerosis).
- Lesiones focales (osteomielitis, granulomas, necrosis, lesiones metastásicas localizadas).
- Evaluación objetiva de la celularidad de la MO (confirmación de diagnóstico de aplasia, hipo-, hiper celularidad, mielofibrosis).

Las biopsias de MO se realizan con ayuda de unas agujas específicas (agujas de Jamshidi), con una técnica muy similar a la que se describe en este capítulo para la aspiración (es muy poco frecuente tener que recurrir a biopsias incisionales).

Tabla I. Indicaciones para realizar un examen citológico de la médula ósea.

	Causas más frecuentes
Citopenias	Anemias no-regenerativas. Trombocitopenias. Leucopenias (neutropenias, linfopenias). Bicitopenias, pancitopenias.
Aumento persistente del número de células en sangre circulante	Eritrocitosis. Leucocitosis. Trombocitosis.
Presencia de células anormales en sangre circulante	Leucemias. Linfosarcomas. Alteraciones morfológicas de las células sanguíneas.
Diagnóstico y/o control de la evolución de neoplasias hematopoyéticas	Leucemias (linfocítica, granulocítica, monocítica).
Evaluación de la afectación de la médula ósea en ciertas neoplasias	Linfoma, mastocitoma.
Diagnóstico y evolución de ciertas enfermedades infecciosas	Leishmaniosis, ehrlichiosis, histoplasmosis, toxoplasmosis.
Control de los depósitos de hierro de la médula ósea	Diagnóstico diferencial de anemias ferropénicas y anemias por enfermedad inflamatoria crónica.
Otras patologías	Hiperproteinemia (especialmente si es monoclonal, sugestiva de mieloma). Fiebre de origen desconocido. Hipercalcemia de origen desconocido.

Recogida y procesado de las muestras

La obtención de muestras citológicas de MO para su evaluación diagnóstica es simple y, por regla general, no entraña riesgos para el paciente.

El material necesario no difiere mucho del utilizado para realizar aspirados de otros tejidos. El único elemento algo más específico son agujas para punción de MO, denominadas agujas de Rosenthal o de Jamshidi/Illinois (estas últimas también pueden ser utilizadas para realizar biopsias). Se trata de agujas de un grosor y firmeza suficientes para poder atravesar la superficie ósea y penetrar en la cavidad medular; y están provistas de un fiador interno que impide su obstrucción por partículas óseas. Se recomienda un calibre de 16 G para perros de tamaño medio/grande y de 18 G para perros pequeños o gatos (fig. 1).

Las muestras deben obtenerse de huesos donde todavía se mantiene la capacidad hematopoyética en el animal adulto; los de más fácil acceso y menor riesgo son:

- Cresta o ala del ileon (figs. 2a y 2b).
- Costilla o esternón.
- Epifisis proximal del fémur (fosa trocantérica) (fig. 2c).
- Epifisis proximal del húmero (fig. 2d).

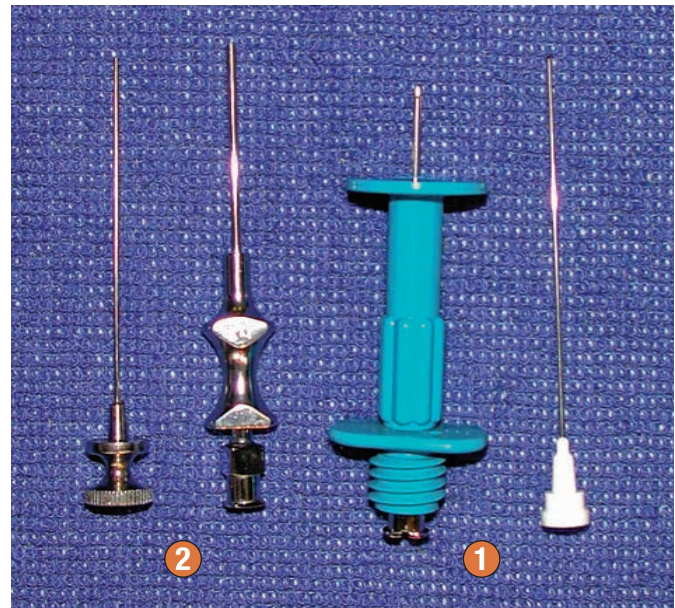


Figura 1. Agujas para aspiración de médula ósea: aguja tipo Jamshidi/Illinois, de un solo uso **1**; aguja tipo Rosenthal, reutilizable **2**.

La elección entre estas opciones depende de las preferencias del clínico, aunque también influye el tipo de paciente. La cresta o ala del íleon y las costillas (o esternón) son los puntos más apropiados para realizar punciones de MO en perros de razas medianas-grandes. En perros de razas pequeñas y en gatos, los lugares más asequibles y que entrañan menos riesgo para el paciente son la fosa trocantérica del fémur o la cresta ilíaca (la punción en costilla o esternón debe evitarse por el alto riesgo de introducir la aguja en cavidad torácica). En pacientes muy obesos, el punto más fácilmente palpable y accesible suele ser la epífisis proximal del húmero.

La colocación del paciente y localización del punto de inserción de la aguja se describen en la tabla 2. Independientemente del lugar seleccionado, la técnica para la introducción de la aguja y aspiración es siempre la misma. Es importante mantener la asepsia durante todo el procedimiento, por lo que se rasura la piel (una ventana de unos 7 x 7 cm), se aplica solución antiséptica, y se recomienda el empleo de guantes estériles.

Tabla 2. Posibles localizaciones para realizar aspirados de médula ósea en perros y gatos.

Hueso	Colocación del paciente	Localizar por palpación	Punto de inserción de la aguja
Íleon (cresta)	Decúbito lateral (o esternal)	Cresta ilíaca	Parte dorsal del íleon.
Íleon (ala)	Decúbito lateral	Cresta y ala del íleon	Depresión central del ala del íleon.
Costilla	Decúbito lateral	Unión costocondral (7 ^a , 8 ^a o 9 ^a costilla)	Unión costocondral, avanzar la aguja en dirección ascendente siguiendo eje longitudinal de costilla.
Esternón	Decúbito supino	3 ^a , 4 ^a o 5 ^a esternebra	Línea media de la esternebra.
Fémur	Decúbito lateral	Trocánter mayor del fémur	Fosa trocantérica (cara medial del trocánter mayor), avanzar aguja paralela al eje longitudinal del fémur.
Húmero	Decúbito lateral	Tuberosidad proximal del húmero	Pequeña superficie plana adyacente a tuberosidad proximal, avanzar la aguja paralela al eje longitudinal del húmero.

Puntos anatómicos para aspiración de médula ósea

Para ver más detalles, ver tabla 2.

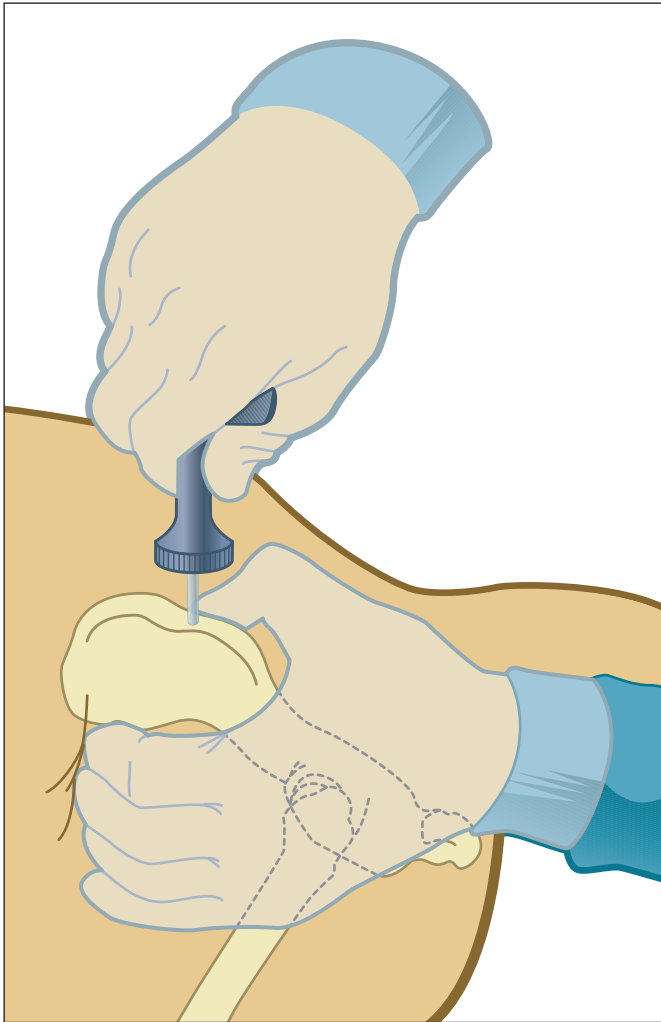


Figura 2a. Punción en zona dorsal del íleon.

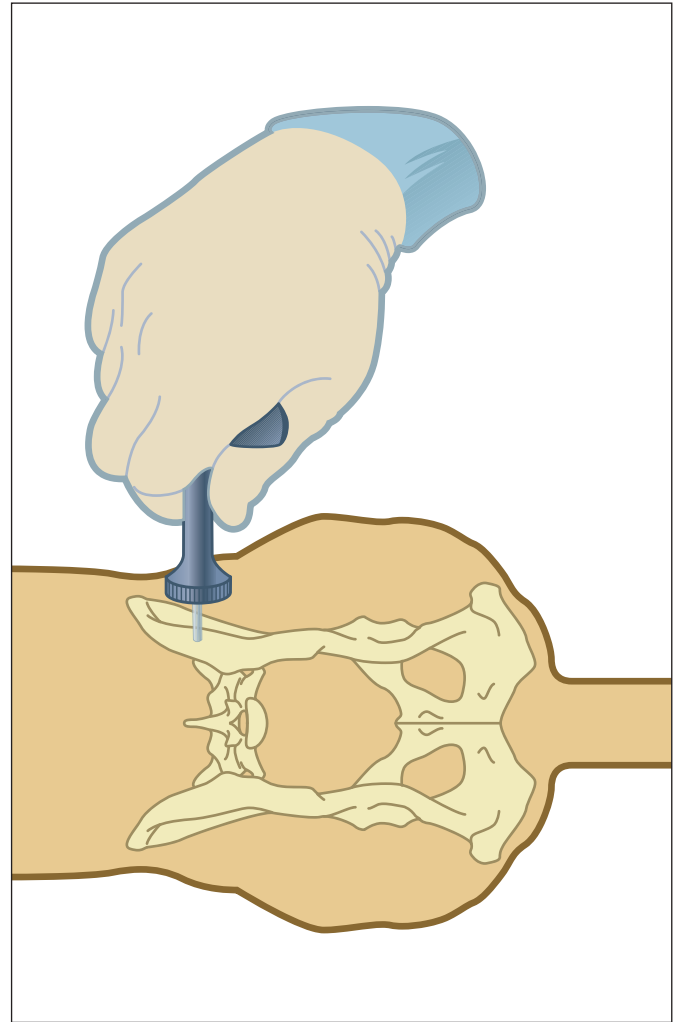


Figura 2b. Punción en cara lateral del ala del íleon.

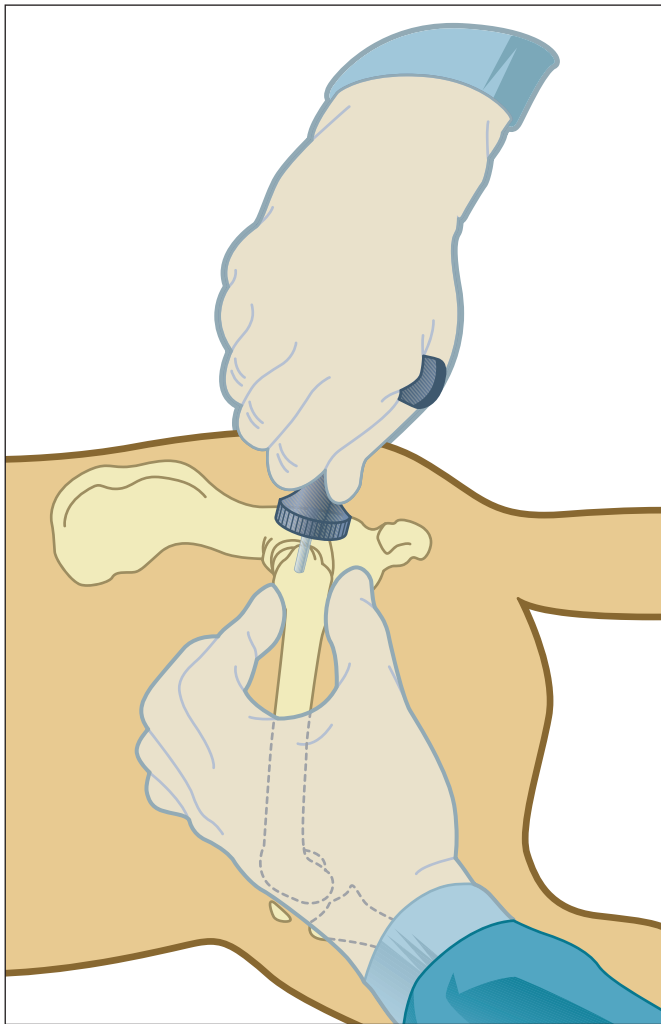


Figura 2c. Punción en fosa trocantérica del fémur.

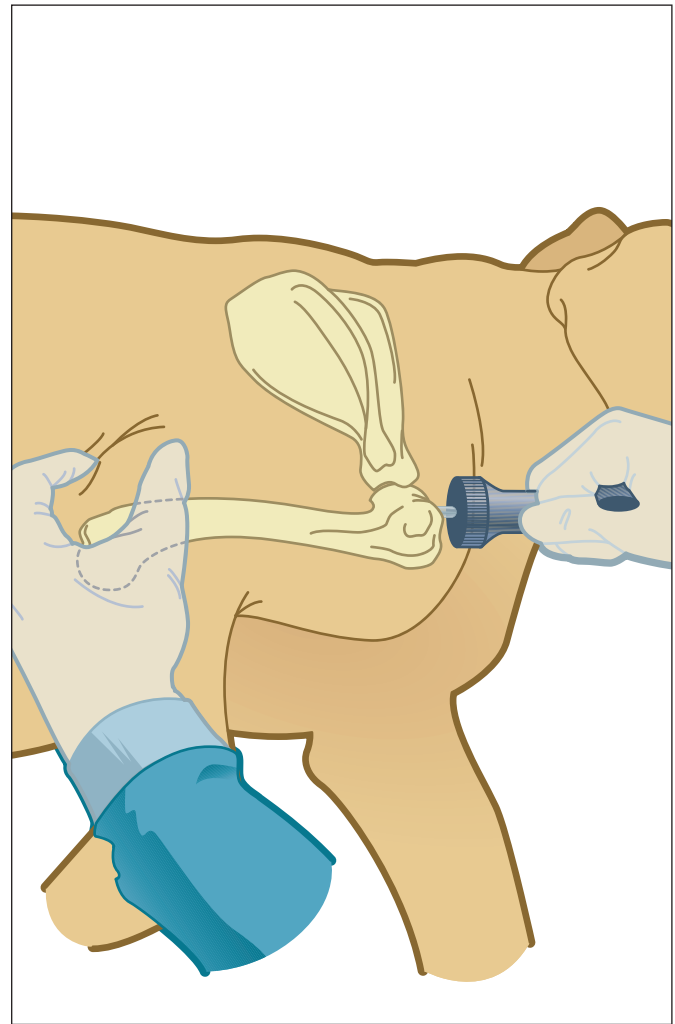


Figura 2d. Punción en epífisis proximal del húmero.

Se trata de un procedimiento algo doloroso para el paciente, por lo que se recomienda infiltrar la piel, el tejido subcutáneo, muscular y el periostio con 1-3 ml de un anestésico local (por ejemplo lidocaína 2%). Dependiendo del tipo de paciente (gatos) y del lugar de la aspiración, puede ser necesario aplicar sedación.

Seguidamente se realiza una pequeña incisión de unos milímetros en piel con una hoja de bisturí (nº 11) para facilitar la penetración de la aguja. Se introduce la aguja (con el fiador interno en posición) a través de la incisión y se hace avanzar a través del tejido subcutáneo y muscular hasta contactar con el hueso. Para penetrar en la cavidad medular, la aguja se empuja con fuerza realizando movimientos giratorios hacia izquierda y derecha alternativamente, hasta haber penetrado unos 3-5 mm en el hueso. No es aconsejable introducir la aguja exactamente perpendicular al hueso, sino haciendo un ligero ángulo para que el bisel de la aguja quede bien insertado en la cavidad medular. Una vez comprobado que la aguja está firmemente clavada en el hueso, se retira el fiador. Seguidamente se acopla una jeringa (normalmente de 10 ml) al cono de la aguja, y se procede a realizar una aspiración fuerte y rápida para generar una buena presión negativa, hasta comprobar la entrada de material medular en la jeringa (tiene aspecto de sangre). El momento de la aspiración es el más doloroso de todo el procedimiento, por lo que el animal puede mostrar dolor y moverse si no está sedado.

En cuanto se observen unas gotas de médula en la jeringa, se debe suspender la aspiración, ya que si se mantiene y se recoge un gran volumen la muestra medular se diluye con sangre, empeorando así la calidad del aspirado.

Una vez finalizada la aspiración, se extraen la aguja y jeringa al mismo tiempo, manteniéndolas acopladas, y se aplica presión con una gasa durante unos minutos para contener la posible hemorragia.

Para evitar posibles complicaciones (infecciones; lesiones de tejidos adyacentes, como músculos o nervios; hemorragias, que son poco frecuentes incluso en animales trombocitopénicos) basta mantener siempre las condiciones básicas de asepsia, seleccionar el lugar correcto en cada animal y realizar una buena compresión tras llevar a cabo la punción.

Una vez obtenida la muestra, las extensiones se deben realizar lo más rápidamente posible ya que el tejido medular coagula muy rápidamente (menos de 30 segundos). A tal fin, es muy importante tener preparado de antemano todo el material. Si esto no fuera posible, o si se quiere remitir un mayor volumen de muestra a un laboratorio para pruebas especiales, hay que mezclar la muestra obtenida con un anticoagulante (EDTA disódico al 4%).

La mejor técnica para realizar las extensiones es el método *squash* o “de aplastamiento”.

Para poder realizar una evaluación citológica de buena calidad, es importante que las muestras contengan “partículas medulares” (o espículas), ya que en ellas están contenidas las células hematopoyéticas. Si la muestra obtenida tiene una cantidad excesiva de sangre, un método simple para separar las partículas medulares consiste en depositar una gota de la muestra en un extremo de un portaobjetos y, seguidamente, elevar ese extremo hasta colocarlo casi en posición vertical, de forma que las partículas quedan adheridas al cristal mientras que la sangre escurre hacia el extremo inferior; entonces, se procede a realizar una extensión tipo *squash* sobre la zona donde han quedado adheridas las partículas.

Las muestras se secan al aire o se fijan adecuadamente si van a transcurrir más de 60 minutos desde su obtención hasta su tinción. Si no se va a realizar la tinción en la propia clínica, se recomienda realizar varias extensiones y teñir, al menos una de ellas, con una tinción

rápida para poder valorar *in situ* si la muestra obtenida es adecuada (comprobar que contiene suficientes células de MO intactas).

Dependiendo del objetivo del examen citológico, se pueden utilizar diferentes tipos de tinciones:

- Tinción para evaluación citológica simple: utilizaremos las técnicas Romanowsky habituales (May-Grünwald, Wright-Giemsa o tinción rápida). Con muestras de MO, el colorante debe actuar durante más tiempo que el habitual utilizado para muestras de sangre periférica (el tiempo adicional dependerá del grosor y la densidad celular de las extensiones pero, por regla general, será aproximadamente un 50% más del tiempo empleado para tinción de muestras de sangre).

El aspecto de una extensión de MO teñida es muy característico; en una muestra de buena calidad se deben apreciar áreas más “densas” teñidas de color azul-púrpura, que se corresponden con las partículas medulares, junto con abundantes zonas “claras” o “vacías” que se corresponden con gotas de grasa (fig. 3).

- Tinción para evaluar los depósitos de hierro (hemosiderina) en el interior de los macrófagos medulares: azul de Prusia (la hemosiderina se tiñe de azul).
- Tinciones citoquímicas especiales: peroxidasa, sudán negro, fosfatasa ácida, esterasas no específicas, cloroacetato-esterasa, PAS. Se recurre a estas tinciones especiales para realizar diagnósticos diferenciales de distintos tipos de leucemias, cuando las células neoplásicas sean muy inmaduras y no se puedan distinguir morfológicamente (tabla 3). La mayoría de estas técnicas de tinción reaccionan con las células de estirpe mieloide, pocas lo hacen con las células linfoides, y ninguna tiñe las células eritroides. Al emplear estas tinciones, son más significativos los resultados positivos que los negativos, ya que una tinción negativa puede ser debida a la escasa diferenciación de la célula, independientemente de su estirpe. En la actualidad, también se utilizan con frecuencia tinciones inmunohistoquímicas para la identificación celular.

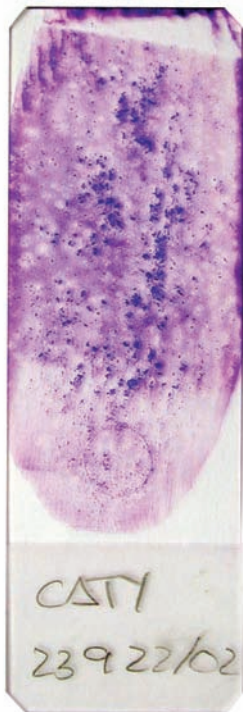


Figura 3. Aspecto de una extensión de médula ósea teñida con May-Grünwald-Giemsa; obsérvense las áreas más densas, correspondientes con partículas medulares.

Tabla 3. Características citoquímicas en leucemias caninas y felinas.

Tinción	Leucemia linfoide	Leucemia mieloide	Leucemia monocítica	Leucemia mielo-monocítica
Peroxidasa	-	+	-	+
Sudán negro	-	+	+	+
Fosfatasa ácida	(-) ¹	+ ²	+ ²	+ ²
Esterasas no específicas	(-)	-	+	+
Cloro-acetato-esterasa	-	+	+	+

(-): positivo débil en algunos casos.

¹: Los linfocitos T muestran tinción focal del citoplasma, mientras que las estirpes celulares no linfoides muestran tinción difusa del citoplasma.

²: Tinción difusa del citoplasma.

Interpretación citológica

Tipos celulares presentes en la MO y morfología

La MO es el órgano donde se lleva a cabo la hematopoyesis en el animal adulto, por lo que se encuentran representadas todas las líneas celulares que encontramos habitualmente en sangre periférica (series eritroide, granulocítica, linfoide, monocítica y plaquetaria).

De todas ellas, las que aparecen en proporciones más altas son la serie eritroide y la granulocítica (denominada serie mieloide), seguidas por la serie megacariocítica.

Serie eritroide

En la MO se observan abundantes células eritroides en distintas fases de maduración.

En general, son células de contorno muy redondeado, y con un citoplasma intensamente basófilo en las fases inmaduras que se va aclarando a medida que avanza la maduración (de basófilo pasa a policromatófilo y, finalmente, a ortocromático o acidófilo a medida que aumenta su cantidad de hemoglobina). Otra característica de maduración es que el tamaño celular va disminuyendo, al igual que la relación núcleo:citoplasma (N:C), mientras que la cromatina nuclear se va haciendo cada vez más densa.

Las distintas fases de maduración que se pueden diferenciar morfológicamente son:

- 1** — **Rubriblasto**
(también llamado proeritroblasto) Es la célula eritroide más inmadura identificable al microscopio óptico, por lo que suele ser la de mayor tamaño de esta serie (14-20 μm). Se caracteriza por tener un núcleo muy grande redondeado, que ocupa una posición central, quedando rodeado por un fino anillo de citoplasma muy basófilo. La cromatina nuclear es bastante laxa, pudiendo distinguirse con frecuencia 1-3 nucléolos de tamaño medio (fig. 4).
- 2** — **Prorubricito**
(también llamado eritroblasto basófilo) Algo más pequeño que el rubriblasto (12-14 μm), presenta también un núcleo grande, redondo y central, pero con la cromatina ya más condensada y ausencia de nucléolos. El citoplasma sigue siendo escaso en relación al núcleo, y muy basófilo (fig. 5).
- 3** — **Rubricito**
(también llamado eritroblasto policromatófilo) El tamaño celular se va reduciendo ligeramente (aprox. 10 μm), pero se mantiene la característica de presentar un núcleo redondo en posición central, con cromatina ya muy condensada. El tamaño nuclear va disminuyendo (reducción de la relación N:C), con un citoplasma más abundante y menos basófilo (va evolucionando de basófilo a policromatófilo) (figs. 6 y 7).
- 4** — **Metarrubricito**
(también llamado eritroblasto ortocromático o acidófilo) De tamaño algo menor al rubricito (8-10 μm , aproximadamente el tamaño de un linfocito maduro). Es la última célula de esta serie que presenta un núcleo bien definido e intacto, aunque ya es muy picnótico (muy denso y teñido muy oscuro), y ya no ocupa una posición tan central como en las fases anteriores. La cantidad relativa de citoplasma aumenta, y su coloración es ortocromática o acidófila (similar a la de un eritrocito maduro), aunque a veces pueden mostrar aún una ligera policromatofilia (figs. 8 y 9). Al final de su maduración, el metarrubricito expulsará su núcleo, momento en el cual se convierte en un reticulocito.
- 5** — **Reticulocito** Su morfología es idéntica a la de los reticulocitos de sangre periférica. Ya no posee núcleo, es algo más grande que un eritrocito maduro (8-10 μm) y su citoplasma es policromatófilo. Los reticulocitos suelen permanecer en la MO 2-3 días antes de penetrar en el torrente circulatorio (fig. 10).
- 6** — **Eritrocito maduro** Al igual que los presentes en sangre periférica, son células anucleadas con citoplasma ortocromático o acidófilo y un tamaño aproximado de 7 μm .

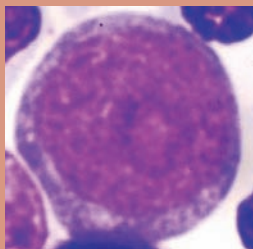


Figura 4

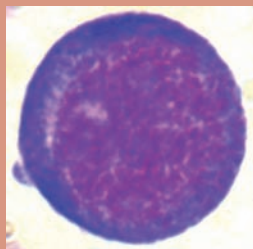


Figura 5

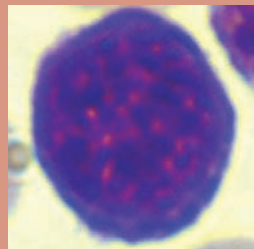


Figura 6



Figura 7

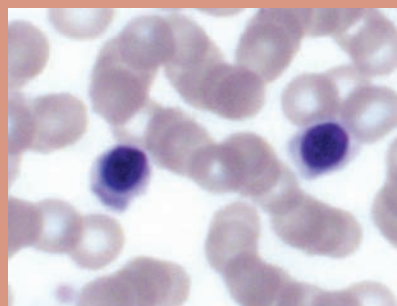


Figura 8

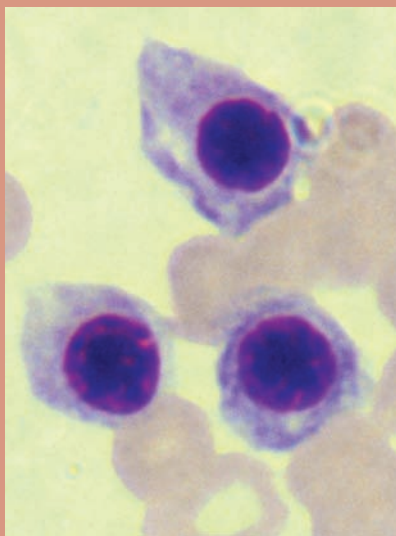


Figura 9

Distintas fases de maduración de la serie eritroide

Figura 4. Rubriblasto, con cromatina laxa y un nucléolo de tamaño medio.

Figura 5. Prorubricito, sin nucléolos visibles.

Figura 6. Rubricito basófilo.

Figura 7. Rubricitos en distinta fase de maduración: rubricito basófilo **1** y otro policromatófilo **2**.

Figura 8. Metarrubricitos acidófilos, núcleo picnótico.

Figura 9. Metarrubricitos policromatófilos.

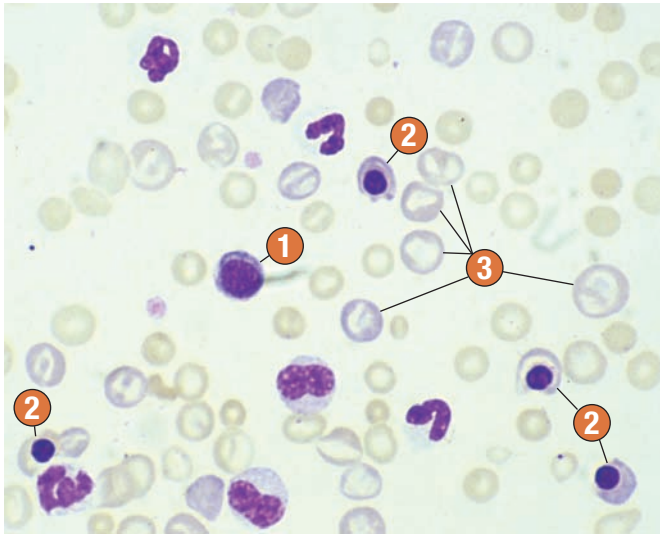
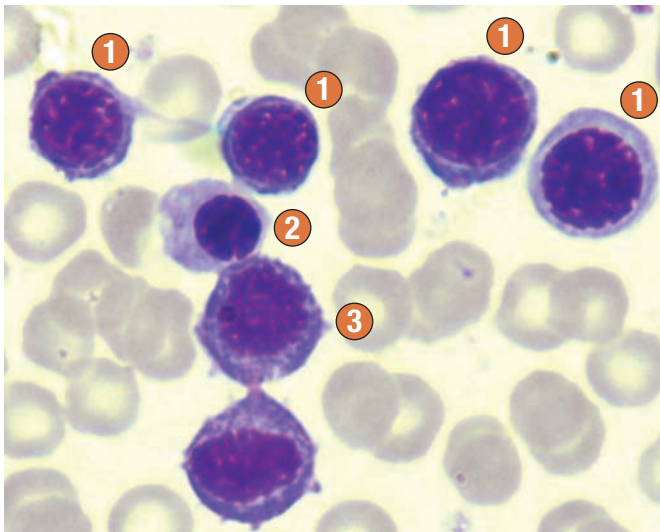


Figura 10. Células eritroides: rubricito policromatófilo 1, metarrubricitos 2 y abundantes reticulocitos 3.

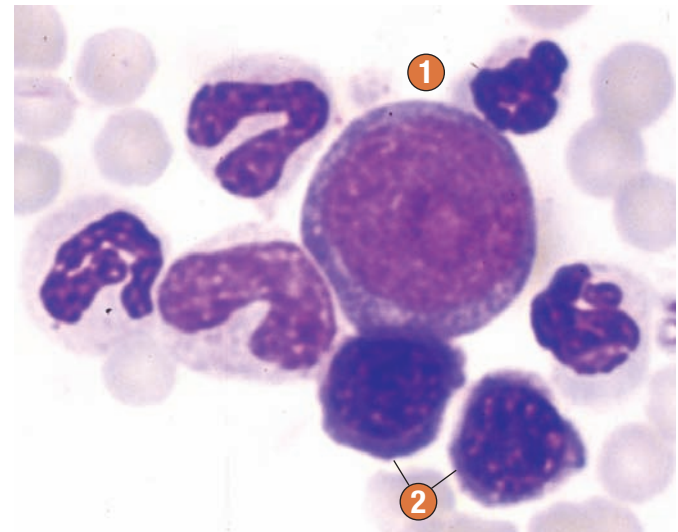
Figura 11. Células eritroides: rubricitos 1, metarrubricito policromatófilo 2 y célula en mitosis 3.



En general, todo el proceso de eritrogénesis hasta llegar al eritrocito maduro dura unos 7-8 días. Cada rubriblasto se divide unas cuatro veces para dar lugar a unos 16 eritrocitos aproximadamente. La fase de proliferación de la serie eritroide (células con capacidad de dividirse) llega hasta el rubricito (inclusive). La siguiente célula, el metarrubricito, tiene ya un núcleo no viable, incapaz de dividirse; a partir de aquí empieza la denominada **fase de maduración**.

A pesar de que, en general, el tamaño celular disminuye conforme avanza la maduración, en ocasiones esto puede no ser así, encontrándose prorrubricitos de un tamaño igual o incluso mayor que los rubriblastos. En consecuencia, para clasificar la fase de maduración celular, es mucho más fiable basarse en las características nucleares y citoplasmáticas (fundamentalmente: grado de basofilia citoplasmática, relación N:C y densidad de la cromatina nuclear) que en el tamaño celular (fig. 11 y 12).

Figura 12. Células eritroides: rubriblasto 1 y dos rubricitos basófilos 2, rodeados de granulocitos neutrófilos.



Serie granulocítica o mieloide

Incluye la producción de granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los criterios generales de maduración consisten en que, a medida que avanza la maduración, el tamaño celular y la relación N:C se van reduciendo, la cromatina nuclear se va condensando y el núcleo pasa de ser redondeado a indentarse y, finalmente, a segmentarse en las células ya maduras. La basofilia del citoplasma también va disminuyendo, haciéndose cada vez más visibles las granulaciones citoplasmáticas características conforme avanza la maduración (eosinofílicas, basofílicas o ausentes, según se trate de granulocitos eosinófilos, basófilos o neutrófilos respectivamente).

La secuencia de maduración es la siguiente:

- 1 Mieloblasto** Es una célula grande (12-18 μm), de contorno más o menos redondeado (aunque nunca tan redondo como los blastos eritroides). El núcleo suele estar en posición central, casi siempre redondeado y con un contorno regular (pero nunca es tan redondo como el de los blastos eritroides), con cromatina laxa y finamente punteada, mostrando con frecuencia uno o más nucléolos. La relación N:C es alta (superior a 1,5), el citoplasma es basófilo (aunque nunca tan basófilo como el de los blastos eritroides) y sin granulaciones, si bien en los mieloblastos tardíos pueden empezar a aparecer finas granulaciones de color magenta en número escaso (menos de 15), en cuyo caso se clasifica como mieloblasto tipo II (fig. 13).
- 2 Promielocito (o progranulocito)** Por regla general presenta un tamaño similar al mieloblasto, aunque también puede ser algo mayor (14-24 μm). La relación N:C es ligeramente inferior a la del mieloblasto, el núcleo sigue siendo más o menos redondeado, con cromatina algo más densa y rara vez presenta nucléolos. El citoplasma es ligeramente basófilo (se tiñe de azul claro), con abundantes gránulos de color magenta-púrpura, denominados gránulos primarios. La presencia de estos gránulos primarios en número abundante es la principal diferencia con respecto al mieloblasto, aunque aún no son específicas, es decir, no permiten diferenciar si se trata de un promielocito eosinófilo, basófilo o neutrófilo (fig. 14).

- 3** — **Mielocito**
(neutrófilo, eosinófilo, basófilo)
- De un tamaño algo menor que el promielocito (10-18 μm), con un núcleo ovoide o redondeado, casi siempre excéntrico, con cromatina que empieza a condensarse y sin nucléolos. La relación N:C disminuye; el citoplasma es aún ligeramente basófilo (azul pálido). Se reconocen claramente las granulaciones citoplasmáticas específicas (gránulos secundarios), similares a las que presentan los granulocitos maduros. El mielocito eosinófilo suele tener un tamaño algo más grande que el mielocito neutrófilo y, en la especie felina, sus granulaciones tienen una forma más alargada (como bastoncillos) que en perros (forma redonda). El mielocito basófilo es muy escaso en los aspirados de MO, y en el gato puede presentar granulaciones de dos tipos, que ocupan casi todo el citoplasma: pequeñas, redondas y rosáceas, o bien más grandes y de color púrpura. El mielocito es la última célula de esta serie con capacidad de división, por lo que aquí termina la fase de proliferación (figs. 15a, 15b y 15c).
- 4** — **Metamielocito**
(neutrófilo, eosinófilo, basófilo)
- Su tamaño y relación N:C son menores que en el mielocito. El núcleo, con cromatina más densa y sin nucléolos, ya empieza a indentarse claramente, adoptando una forma arriñonada muy característica (si el núcleo presenta una indentación leve, de menos del 25%, aún se clasifica como mielocito). El citoplasma presenta las granulaciones específicas de los granulocitos maduros (eosinófilos y basófilos), mientras que en el metamielocito neutrófilo el citoplasma continúa siendo ligeramente basófilo y sin granulaciones visibles. Esta célula ya no es capaz de dividirse, iniciándose aquí la denominada **fase de maduración** (figs. 16a, 16b y 16c).
- 5** — **Célula en banda**
(neutrófilo, eosinófilo, basófilo)
- Algo más pequeña que el metamielocito, presenta un núcleo de bordes paralelos (ninguna zona del núcleo tiene un diámetro inferior a 2/3 de cualquier otra zona nuclear), pero se curva para adaptarse al contorno del citoplasma, por lo que son típicas las formas de herradura o de "S". La membrana nuclear es lisa; cuando empieza a presentar irregularidades como inicio de su segmentación, la célula ya debe ser clasificada dentro de la siguiente fase de maduración, como granulocito segmentado. Los gránulos citoplasmáticos específicos permiten identificarla fácilmente como eosinófilo, basófilo o neutrófilo en banda (figs. 17a, 17b y 17c).
- 6** — **Célula segmentada**
(neutrófilo, eosinófilo, basófilo)
- De un tamaño similar o ligeramente menor que la célula en banda, se caracteriza por presentar ya un núcleo segmentado. Cuanto más avanzado esté su estado de maduración, mayor segmentación nuclear (mayor número de lobulaciones); el núcleo de los eosinófilos y basófilos se presenta casi siempre menos segmentado que el de los neutrófilos. Las granulaciones citoplasmáticas los clasifican como eosinófilos, basófilos o neutrófilos maduros como los que aparecen en sangre circulante.

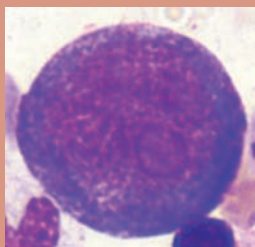


Figura 13

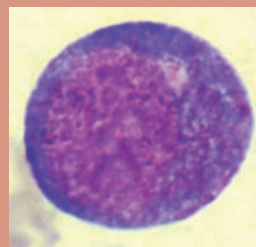


Figura 14

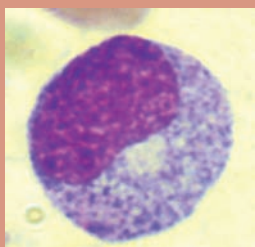


Figura 15a

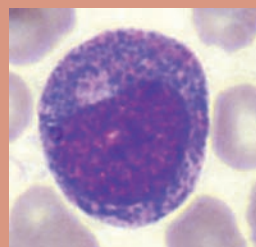


Figura 15b

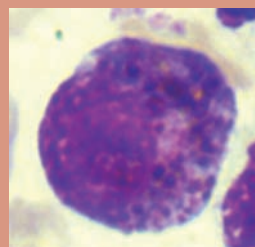


Figura 15c

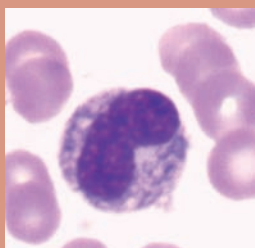


Figura 16a

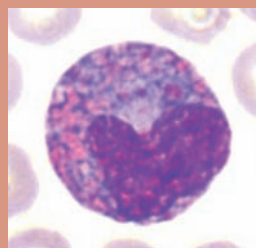


Figura 16b

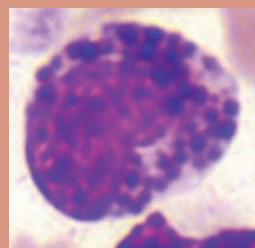


Figura 16c

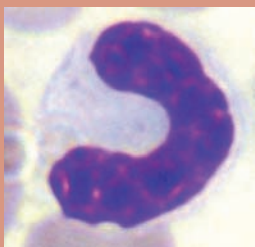


Figura 17a

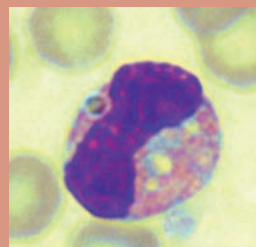


Figura 17b

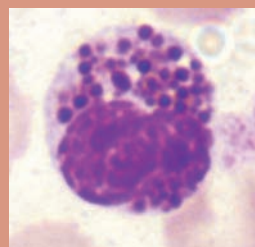


Figura 17c

Secuencia de maduración de la serie mieloide

Figura 13. Mieloblasto, núcleo redondeado con varios nucléolos, citoplasma basófilo y agranular.

Figura 14. Promielocito, con abundantes granulaciones citoplasmáticas magenta-púrpura (gránulos primarios).

Figura 15. Mielocitos, con granulaciones específicas (secundarias): neutrófilo (15a), eosinófilo (15b), basófilo (15c).

Figura 16. Metamielocitos, ya con núcleo indentado: neutrófilo (16a), eosinófilo (16b), basófilo (16c).

Figura 17. Granulocitos banda: neutrófilo (17a), eosinófilo (17b), basófilo (17c).

La fase de proliferación en la serie mieloide alcanza hasta la fase de mielocito (incluido) y su duración es de 48-60 horas. El metamielocito ya no es capaz de dividirse; a partir de aquí ya sólo se produce maduración celular; sin división (duración: 46-70 horas). El neutrófilo ya maduro permanece en un compartimento de almacenaje en la MO durante otros 2-3 días antes de penetrar en sangre circulante (figs. 18, 19, 20 y 21).

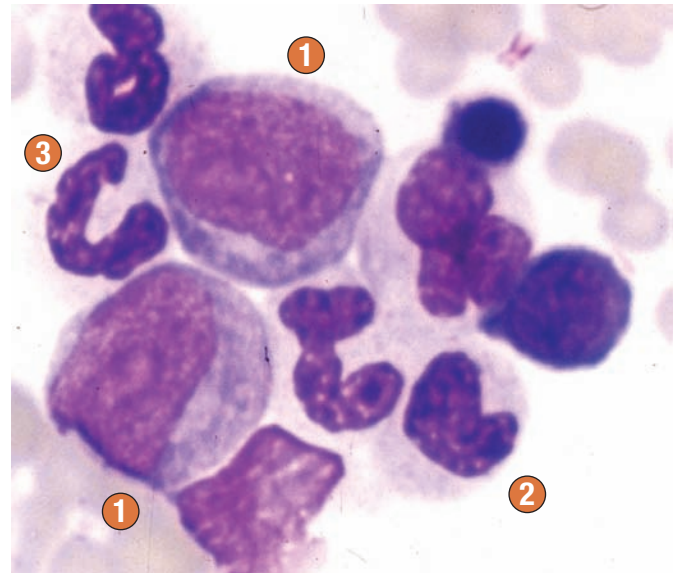


Figura 18. Serie mieloide (granulocítica): mieloblastos **1**, metamielocito neutrófilo **2**, neutrófilos banda **3**.

Figura 19. Serie mieloide (granulocítica): promielocitos **1**, mielocito neutrófilo **2**, metamielocito neutrófilo **3**, neutrófilos banda **4** y segmentado **5**.

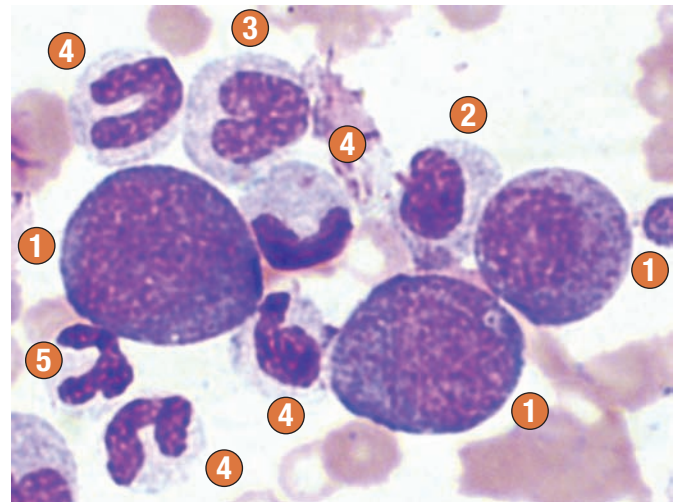




Figura 20. Serie mieloide (granulocítica): mielocito neutrófilo **1** y dos neutrófilos banda **2**.

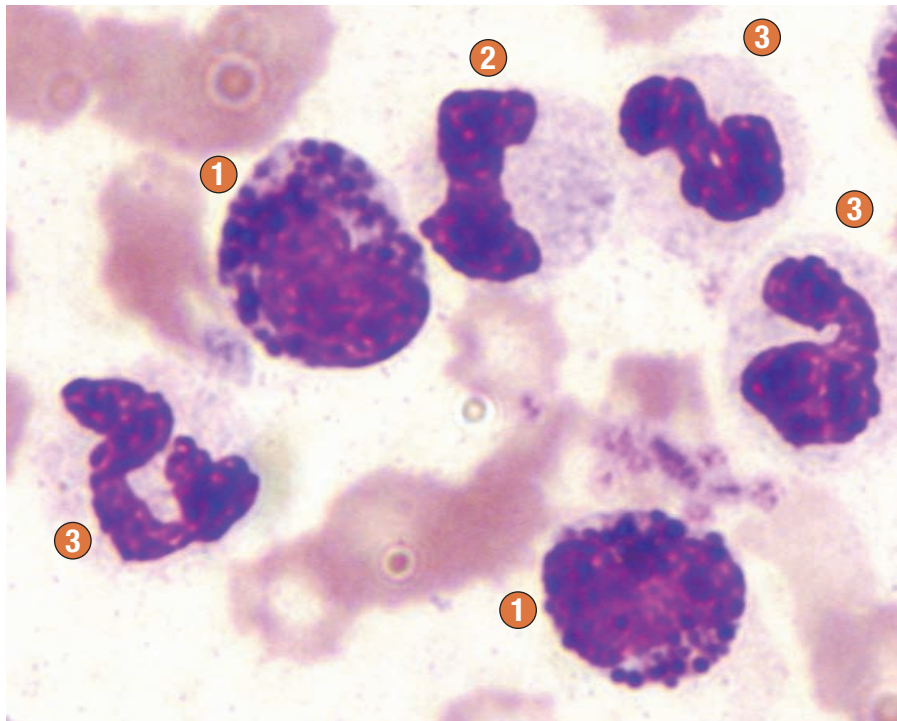


Figura 21. Serie mieloide (granulocítica): dos metamielocitos basófilos **1**, neutrófilo banda **2** y segmentados **3**.

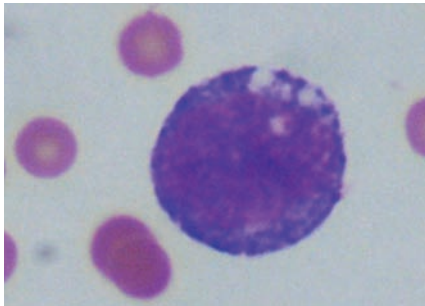


Figura 22. Monoblasto: casi imposible de diferenciar morfológicamente de un mieloblasto (aunque en esta foto podemos observar un citoplasma vacuolizado que no aparece en el mieloblasto).

Serie monocítica

Las células de la serie monocítica no son muy abundantes en MO (menos del 5% del total de células nucleadas). Es prácticamente imposible diferenciar las fases inmaduras morfológicamente de la células mieloides inmaduras; incluso, los promonocitos se asemejan mucho a los mielocitos y metamielocitos (para diferenciarlos de forma definitiva habría que recurrir a tinciones con peroxidasa o sudán negro, que son negativas en los monocitos y positivas en los metamielocitos). Un criterio que puede resultar útil para diferenciarlos es que los monocitos maduros suelen ser de mayor tamaño que los metamielocitos, con un citoplasma más espumoso y, con frecuencia, vacuolizado.

La secuencia de maduración de los monocitos es la siguiente:

- 1** — **Monoblasto** Célula relativamente grande (15-25 μm), con el núcleo de contorno irregular (casi siempre redondeado y algo indentado), con uno o más nucléolos y escaso citoplasma ligeramente basófilo. Su morfología es muy similar al mieloblasto, aunque su núcleo suele tener un contorno algo más irregular (fig. 22).
- 2** — **Promonocito** Casi del mismo tamaño que el anterior o, incluso, ligeramente mayor; con el núcleo indentado y con la cromatina más condensada. El citoplasma es más abundante, menos basófilo (se tiñe de color azul pálido) y, ocasionalmente, presenta vacuolas y/o granulaciones azurófilas.
- 3** — **Monocito** Tiene la misma morfología que los monocitos de sangre periférica.
- 4** — **Macrófago** Es frecuente encontrar algunos macrófagos (<2% del total de células nucleadas), ya que son los encargados de fagocitar los restos de núcleos que expulsan las células eritroides y de almacenar hierro en forma de hemosiderina para que se pueda llevar a cabo la eritropoyesis (aparece teñida de color gris-negro con las tinciones habituales). Su aspecto es idéntico al de los macrófagos tisulares de cualquier otro tejido orgánico. Aunque los precursores eritroides se desarrollan y maduran en grupos alrededor de un macrófago central (llamado célula nodriza), estas isletas hematopoyéticas casi nunca se pueden visualizar en extensiones de MO, ya que son frágiles y se disgregan al preparar la extensión.

Serie megacariocítica

Las plaquetas (o trombocitos) que aparecen en sangre circulante se forman a partir de unas células gigantes multinucleadas existentes en MO, los megacariocitos.

Los megacariocitos son las células de mayor tamaño que encontramos en un aspirado de MO (50-200 μm de diámetro), por lo que se identifican muy fácilmente a pequeños aumentos (10x) (únicamente los osteoclastos pueden llegar a alcanzar, o incluso superar, su tamaño) (fig. 23).

La serie megacariocítica se caracteriza porque las divisiones celulares se producen por endomitosis, es decir, reduplicaciones del núcleo que no se acompañan de divisiones de la célula. Esto implica que la célula más inmadura de esta serie (megacarioblasto) es la de menor tamaño y posee inicialmente un núcleo, mientras que las fases de maduración sucesivas tendrán cada vez un mayor tamaño y un número mayor de núcleos, hasta llegar a la célula madura (megacariocito) que contiene múltiples núcleos y un tamaño mucho más grande que sus progenitores.

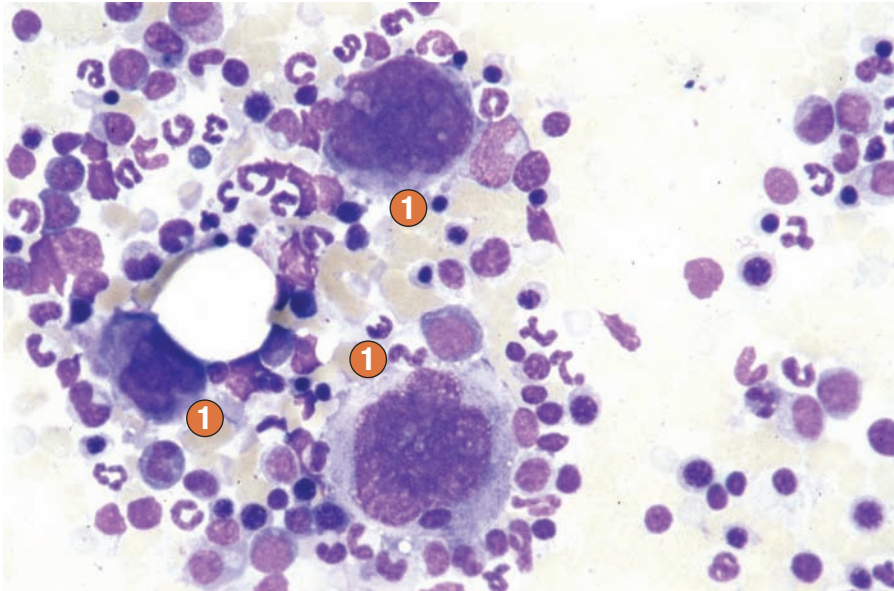


Figura 23. Megacariocitos 1, fácilmente identificables a pequeños aumentos.

Las distintas fases de maduración de esta serie son las siguientes:

- 1 Megacarioblasto** Célula relativamente grande (en torno a 40-50 μm), con un núcleo único, redondeado y muy grande (ocupa casi toda la célula), de cromatina laxa y que con frecuencia presenta nucléolos claramente visibles. El citoplasma es escaso y muy basófilo, agranular; con un número variable de vacuolas. Es una célula muy escasa en un aspirado de médula normal, y muy difícil de diferenciar de otras células blásticas.
- 2 Promegacariocito** De mayor tamaño que el megacarioblasto y que cualquier precursor granulocítico o eritroide (50-100 μm); presenta de 2 a 4 núcleos independientes, con la cromatina ya más densa. El citoplasma es algo más abundante que en la fase anterior; todavía muy basófilo, con vacuolas y contorno irregular (fig. 24).
- 3 Megacariocito basófilo** De mayor tamaño que el promegacariocito, posee ya múltiples núcleos independientes pero que se fusionan y solapan, por lo que su aspecto es de un núcleo gigante multilobulado. El citoplasma es más abundante y algo menos basófilo que en fases anteriores, también con vacuolas y contorno irregular (fig. 25).
- 4 Megacariocito** Ligeramente más grande que la fase anterior (50-200 μm) y con un núcleo de características similares (en realidad son entre 30 y 70 núcleos fusionados), pero con una cantidad de citoplasma significativamente mayor y menos basófilo (puede aparecer teñido de color azul pálido o incluso ligeramente acidófilo) que presenta finas granulaciones que se tiñen de color magenta. Cuanto mayor sea el número de núcleos, mayor será el tamaño celular (fig. 26).
- 5 Trombocito o plaqueta** Son las plaquetas que aparecen habitualmente en sangre periférica. En realidad, son fragmentos del citoplasma de los megacariocitos. Con frecuencia aparecen agregadas, formando grupos.

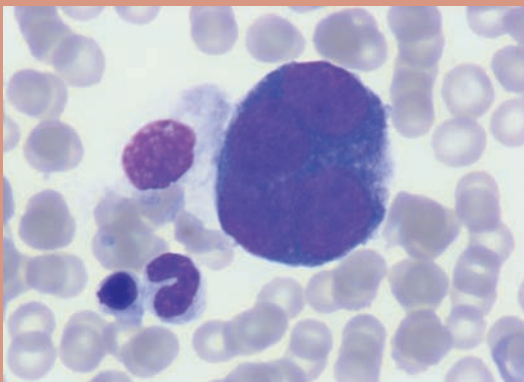


Figura 24

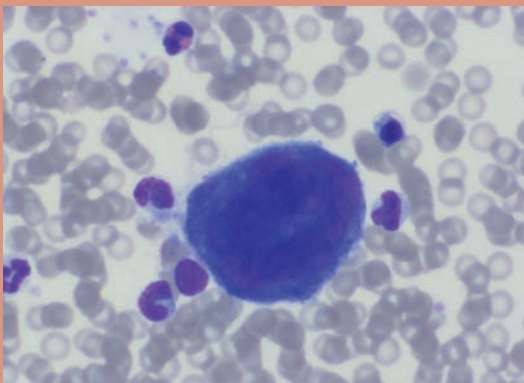


Figura 25

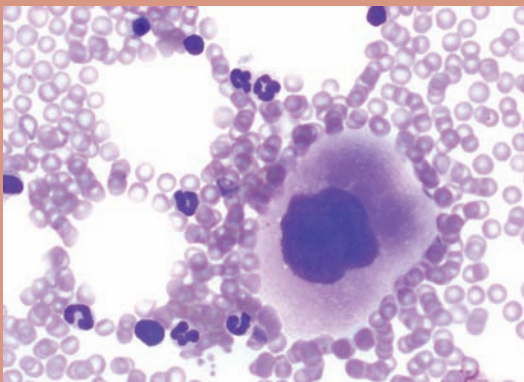


Figura 26

Distintas fases de maduración de la serie megacariocítica

Figura 24. Promegacariocito: citoplasma muy basófilo, y 2-4 núcleos.

Figura 25. Megacariocito basófilo: célula gigante multinucleada, con citoplasma basófilo.

Figura 26. Megacariocito maduro: citoplasma menos basófilo, con finas granulaciones de color magenta.

Serie linfocítica

La linfopoyesis tiene lugar en la MO, aunque también se lleva a cabo en otros órganos linfoides como ganglios linfáticos, bazo y timo. Las fases de maduración de la serie linfocítica presentes en la MO, son las mismas que aparecen en otros órganos linfoides, incluyendo la presencia de células plasmáticas (fig. 27). Con relativa frecuencia, estas últimas pueden presentar cuerpos de Russell. En comparación con las células eritroides y granulocíticas, el número de células linfoides es escaso, siendo la mayoría de ellas linfocitos maduros pequeños idénticos a los presentes en sangre periférica (pueden aparecer algunos linfoblastos y linfocitos de tamaño medio, pero éstos son prácticamente imposibles de diferenciar morfológicamente de los rubriblastos y prorrubricitos). La proporción de células linfoides suele ser superior en gatos que en perros (en perros no suele superar el 2-4%, mientras que en gatos puede llegar al 10-15% del total de células nucleadas).

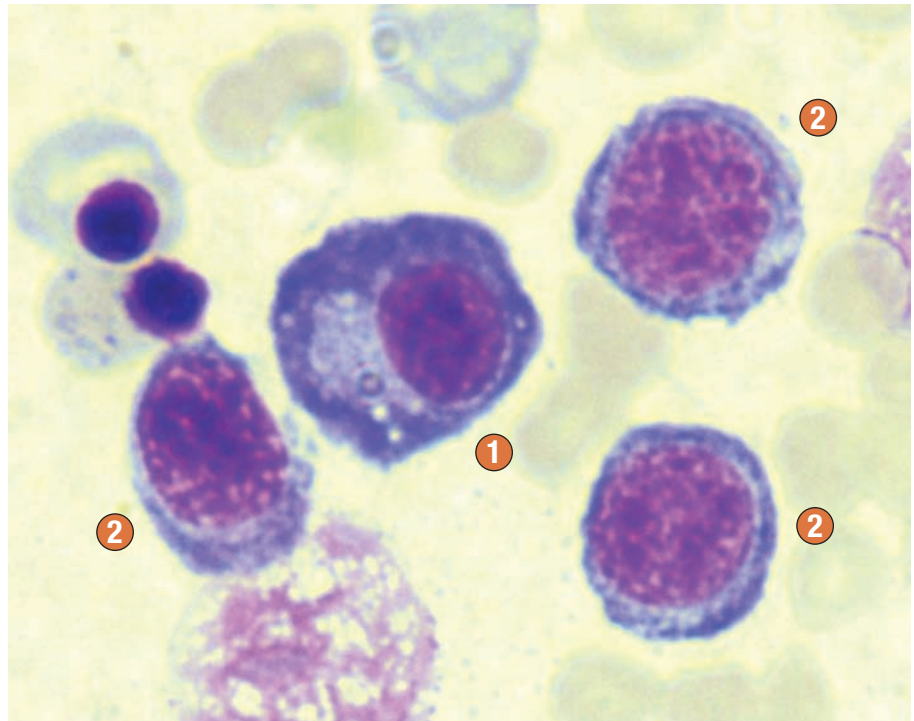


Figura 27. Célula plasmática **1**, con núcleo excéntrico y cromatina muy densa, que la diferencia de las células eritroides (rubricitos, **2**).

Otras células

Aunque en número escaso o de forma ocasional, se pueden observar otros tipos celulares en un aspirado de MO.

Osteoclastos

Son células gigantes multinucleadas capaces de fagocitar tejido óseo. Por su gran tamaño y poseer varios núcleos pueden confundirse con megacariocitos, pero a diferencia de estos últimos, los núcleos de los osteoclastos están claramente separados mientras que en los megacariocitos aparecen fusionados. El citoplasma se tiñe de azul y con frecuencia presenta granulaciones de color rojizo-magenta. Estas células pueden aparecer ocasionalmente en extensiones de MO de animales adultos, mientras que en muestras de animales jóvenes en crecimiento se observan muy frecuentemente. Si aparecen en número elevado en adultos se debe sospechar de patologías que cursen con aumento de la osteolisis, como por ejemplo hipercalcemia asociada a patologías malignas (fig. 28).

Figura 28. Osteoclasto: célula gigante multinucleada, con núcleos separados.

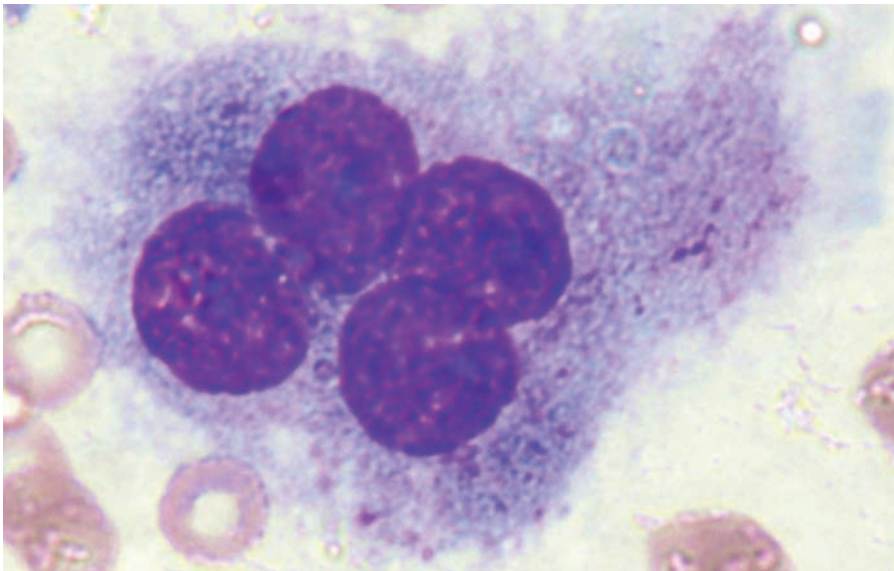


Figura 29. Osteoblasto: presenta cierta semejanza con una célula plasmática, pero su tamaño es mayor y su cromatina menos condensada.



Osteoblastos

Son células bastante grandes, con un único núcleo excéntrico de forma redonda u ovalada, normalmente con algún nucléolo visible. El citoplasma es basófilo y abundante, con aspecto espumoso y a veces puede presentar una zona pálida central (correspondiente al aparato de Golgi). A veces se pueden confundir con células plasmáticas, pero los osteoblastos son de mayor tamaño y con la cromatina nuclear menos condensada. Con frecuencia aparecen varios juntos, formando un grupo. Al igual que los osteoclastos, aparecen con más frecuencia en muestras de animales en crecimiento (fig. 29).

Miscelánea

En ocasiones podemos observar células vasculares (células endoteliales de los capilares medulares), células conjuntivas (células reticulares) y adipocitos. Aunque es muy poco frecuente, algunas veces se pueden observar mastocitos que pueden aparecer en mayor número en algunos procesos inflamatorios, en aplasias medulares o mielofibrosis y en mastocitomas sistémicos.

Células degeneradas y núcleos libres

Es frecuente encontrar núcleos libres de diferentes tipos celulares que se han roto durante la obtención y procesado de la muestra (casi siempre de granulocitos ya que son más frágiles que las células eritroides, o también de las células del estroma medular). También podemos encontrar libres los núcleos redondos y muy picnóticos expulsados por los metarubricitos (algunos autores denominan a estos núcleos "hematogonias").

Figuras mitóticas

Al tratarse de un órgano en el que se producen y desarrollan células continuamente, no es raro observar células en mitosis en una extensión medular. No obstante, la proporción de células en mitosis no debe ser superior al 2%. Su número aumenta discretamente en el curso de hiperplasias eritroides o mieloides, pero si existe un aumento muy marcado se debe sospechar de patologías neoplásicas (fundamentalmente leucemias agudas).

Evaluación clínica de aspirados de medula ósea

Para poder analizar e interpretar de forma correcta una citología de MO, es imprescindible evaluar conjuntamente una muestra de sangre periférica (recuento celular y examen del frotis) obtenida simultáneamente.

La evaluación de un aspirado de MO incluye diversos aspectos, que se deben valorar de forma sistemática, siguiendo este orden:

- 1 Calidad de la muestra.
- 2 Celularidad.
- 3 Número relativo y morfología de los megacariocitos.
- 4 Relación Mieloide: Eritroide (ratio M:E) y recuento diferencial.
- 5 Maduración y morfología de las series eritroide y mieloide.
- 6 Presencia y morfología de otros tipos celulares habituales en MO.
- 7 Presencia de otras células, microorganismos, etc.

Los pasos 1 al 3 se realizan a pocos aumentos (10x o 20x), mientras que los restantes se realizan ya a mayores aumentos (40x–100x).

Evaluación de la calidad del muestra

Una muestra de buena calidad debe presentar poca contaminación con sangre periférica; debe contener áreas más densas (de gran riqueza celular) y otras áreas más finas (en las que aparecen las células más separadas). Las zonas densas se corresponden con las partículas medulares y son las adecuadas para valorar la celularidad de la muestra; en estas zonas aparecen grandes cúmulos de células con aspecto muy basófilo, junto con numerosos espacios claros libres de células correspondientes a tejido adiposo. En las zonas de la preparación más finas aparecen las células de forma independiente por haberse disgregado de las partículas medulares; son las áreas más adecuadas para evaluar la morfología celular.

Evaluación de la celularidad

Para evaluar la celularidad se estima, a pocos aumentos (20x-40x), la proporción relativa de células hematopoyéticas nucleadas en comparación con la cantidad de tejido adiposo en las partículas medulares (es necesario observar varias partículas medulares ya que la celularidad puede ser variable entre ellas). La proporción normal varía en función de la edad del paciente: en animales jóvenes, el tejido hematopoyético debe constituir el 75% y el tejido adiposo el 25%. En animales adultos, esta proporción se invierte (fig. 30).

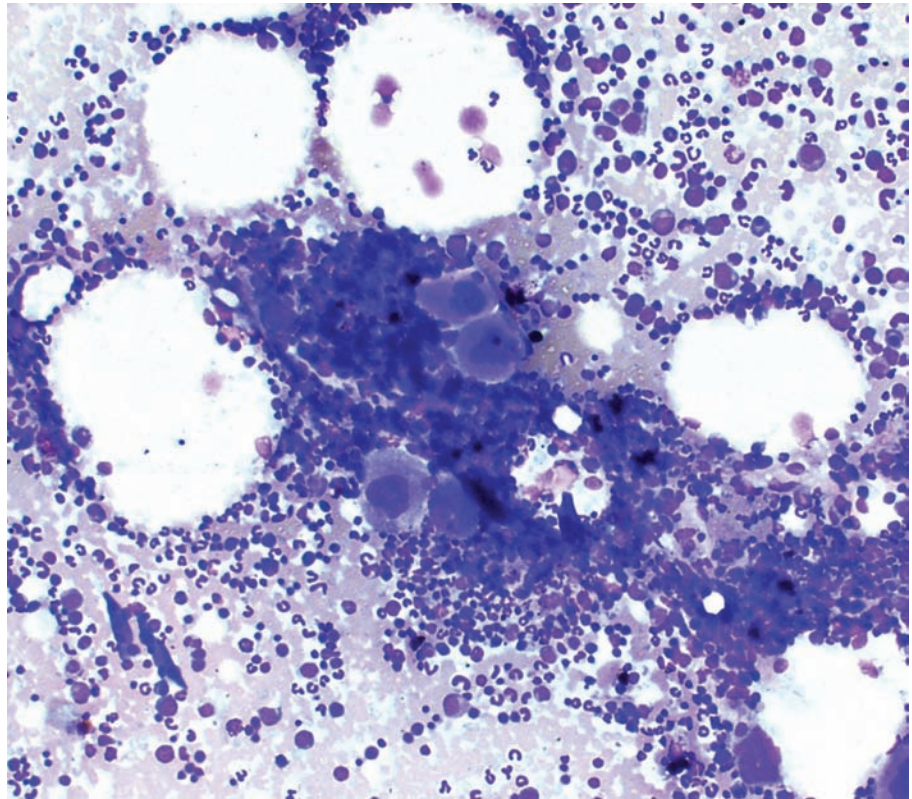


Figura 30. Celularidad normal en una partícula medular de un animal adulto: el tejido hematopoyético es superior al 25%, y el número de megacariocitos también es normal (se observan cuatro en esta partícula medular).

Si el tejido hematopoyético es inferior al porcentaje normal, se diagnostica una muestra hipocelular. La hipocelularidad puede tener varias causas: una técnica de aspirado incorrecta, contaminación excesiva con sangre periférica, o verdaderas patologías medulares. Si se observa hipocelularidad en un aspirado con ausencia de partículas medulares, la muestra no es adecuada para realizar un diagnóstico fiable, por lo que se recomienda repetir la extracción. Si esta escasa celularidad se mantiene en varios aspirados obtenidos de forma independiente, aumenta la sospecha de una hipocelularidad real debida a patologías medulares (la forma más objetiva de diagnosticar una hipocelularidad medular es mediante una biopsia) (fig. 31).

Cuando la proporción de tejido hematopoyético excede el 75%, se considera una médula hiper celular; hallazgo casi siempre asociado a un aumento de la actividad hematopoyética (benigna o neoplásica) o a metástasis de neoplasias extramedulares (fig. 32).

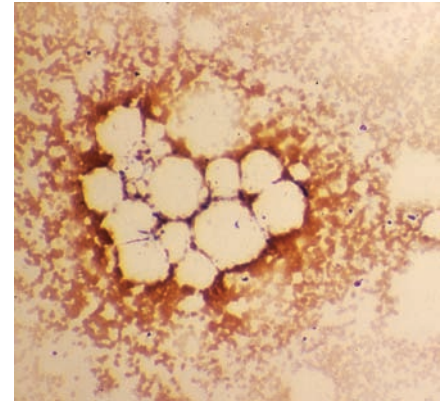


Figura 31. Hipocelularidad, en un perro con hipoplasia medular por estrógenos.

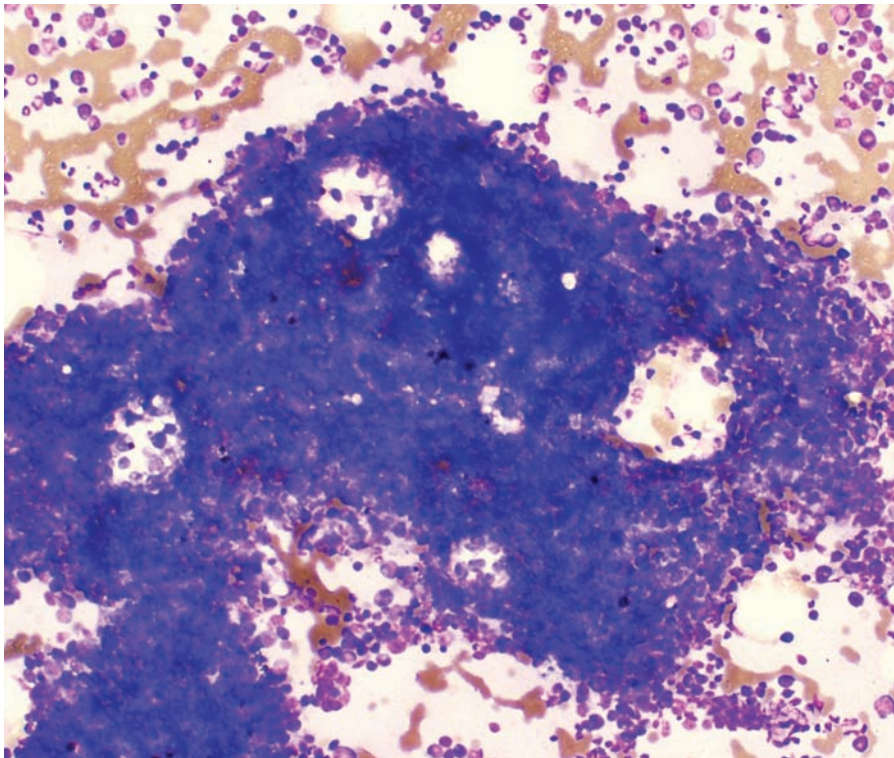


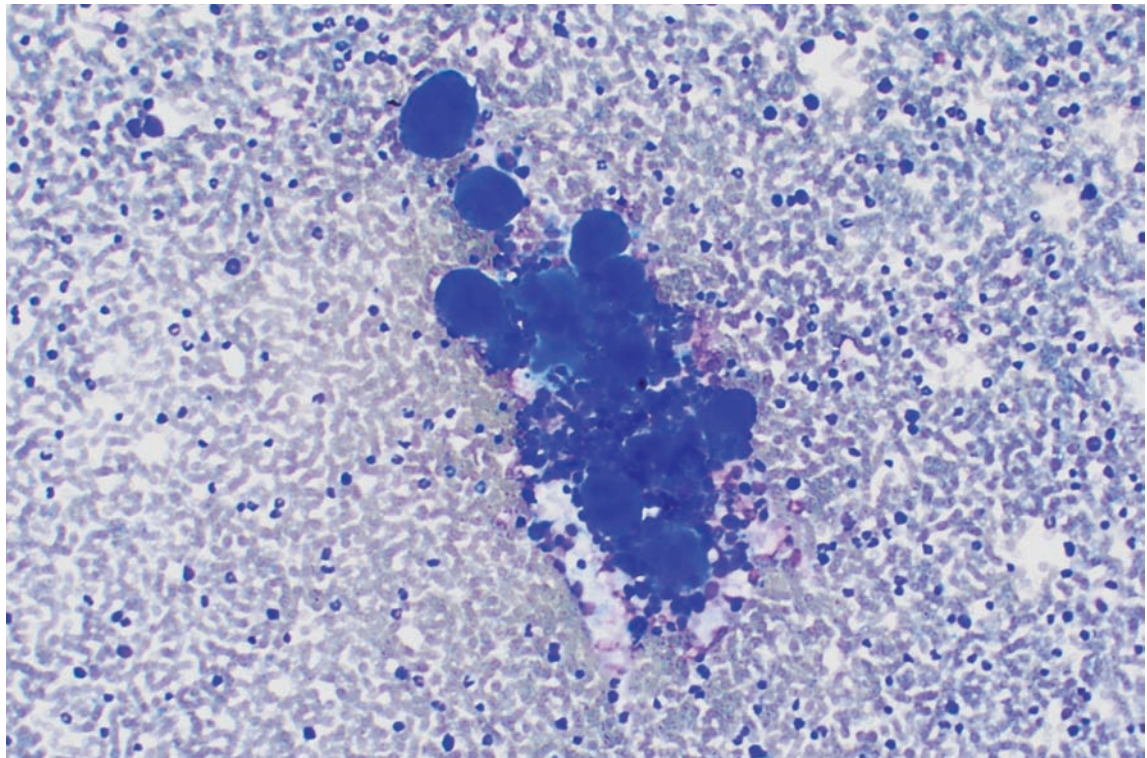
Figura 32. Hiper celularidad, en un paciente con leucemia linfoide.

Evaluación del número relativo y morfología de los megacariocitos

Por su gran tamaño, se identifican con el objetivo de 10x. Su número puede ser muy variable en un aspirado de MO, incluso en extensiones realizadas a partir de la misma muestra; por ello, antes de concluir que su número está disminuido, se recomienda examinar, al menos, tres extensiones diferentes. Se localizan mayoritariamente en los bordes de la extensión, o bien adyacentes a las partículas medulares. Por regla general se considera normal encontrar de 50 a 100 en una extensión medular (o 2-7 por cada partícula medular), siendo más del 50% megacariocitos maduros (fig. 30). La mayoría de las veces, el

incremento de su número se produce como respuesta compensatoria frente a trombocitopenias por causas extramedulares (hiperplasia megacariocítica, con aumento proporcional de todas las fases de maduración); en raras ocasiones la causa es una leucemia megacariocítica (aumento desproporcionado de las fases inmaduras) (fig. 33). No es infrecuente encontrar neutrófilos dentro del citoplasma de algún megacariocito: este fenómeno se denomina emperipolesis y no tiene significación patológica (aunque a veces se ha asociado con enfermedades inflamatorias o neoplásicas).

Figura 33. Hiperplasia megacariocítica, en paciente con trombocitopenia inmunomediada.



Evaluación de la relación mieloide: eritroide (ratio M:E) y recuento diferencial

La población celular de la MO es muy heterogénea ya que existen numerosos tipos celulares y en múltiples fases de maduración. El porcentaje de cada tipo celular considerado normal para la especie canina y felina, aparece en la tabla 4 (aunque estos porcentajes pueden sufrir variaciones individuales importantes). Dada la diversidad de tipos celulares, es poco frecuente diferenciar y cuantificar cada uno de ellos, ya que esto conlleva un tiempo considerable. En su lugar, casi siempre se realiza un cálculo de las proporciones relativas de las series más abundantes en MO (relación o ratio mieloide:eritroide, M:E), junto con una estimación de sus fases de maduración.

La ratio M:E se calcula contando 500 células nucleadas a grandes aumentos (100x), y dividiendo el número de granulocitos (incluyendo granulocitos maduros) entre el número de células eritroides. Las células eritroides no nucleadas y el resto de células (no eritroides y no mieloides) quedan excluidas del recuento. No es necesario diferenciar fases de maduración ni si se trata de granulocitos eosinófilos, neutrófilos o basófilos; el objetivo es establecer la proporción global entre serie granulocítica y serie eritroide. Los valores de referencia para la ratio M:E son algo variables según los diferentes autores, pero se pueden considerar valores normales en perros 0,75–2,53 (media 1,25), y en gatos 1,21–2,16 (media 1,63).

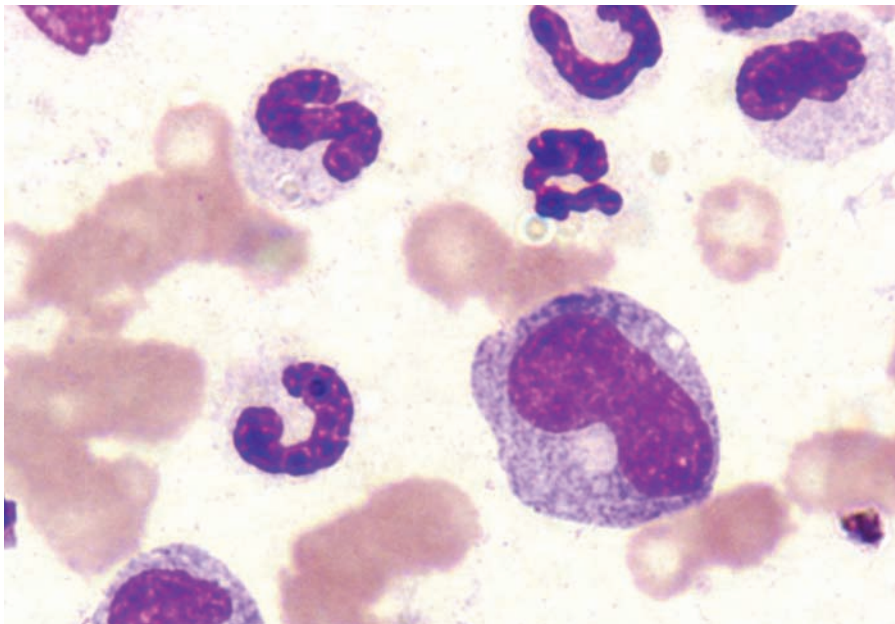
Si la muestra medular se ha contaminado/diluido con mucha sangre, la relación M:E está falsamente elevada por la presencia de abundantes neutrófilos sanguíneos, especialmente si el paciente presenta neutrofilia significativa.

Dada la variabilidad de este índice, es muy importante interpretar la ratio M:E en conjunto con los hallazgos de sangre periférica. Por ejemplo, una disminución de la ratio M:E puede interpretarse como una hiperplasia eritroide o una hipoplasia mieloide: si el paciente presenta un descenso del hematocrito y un recuento normal de granulocitos en su analítica sanguínea, su respuesta medular se interpreta como una hiperplasia eritroide como reacción frente a una anemia. Por el contrario, si el paciente presenta leucopenia periférica y un hematocrito normal, el diagnóstico se corresponde con una hipoplasia granulocítica.

Evaluación de la maduración y morfología de las series eritroide y mieloide

Para poder identificar y evaluar la morfología celular, es necesario seleccionar áreas de la extensión en monocapa (generalmente localizadas adyacentes o entre partículas medulares). Es necesario examinar al menos tres extensiones distintas de la misma muestra, y múltiples campos a grandes aumentos en cada una de ellas.

En cuanto a la evaluación de la morfología, prestaremos atención a posibles cambios citoplásmicos y nucleares. La mayoría de las alteraciones morfológicas reflejan alteraciones en la maduración celular (displasia). Las displasias medulares más frecuentes son las que afectan a la serie mieloide, y pueden estar causadas por un aumento marcado en la proliferación celular (ya sea de origen benigno o neoplásico), causas congénitas o nutricionales, tóxicos, fármacos y otras posibles causas de lesiones medulares (fig. 34).



En relación con la maduración, en una MO normal predominan las fases de maduración sobre las fases de proliferación. En general, la maduración se clasifica como normal y ordenada (proporciones normales de todas las fases de maduración), desordenada (casi siempre consistente en un aumento de las fases más inmaduras o cambios displásicos), detenida (la maduración se detiene en una determinada fase) o neoplásica (severo aumento de la población de blastos).

Figura 34. Displasia granulocítica en un paciente con hiperplasia granulocítica: asincronía en la maduración de núcleo y citoplasma de un neutrófilo (citoplasma muy basófilo, típico de fases más inmaduras y núcleo ya claramente indentado, fases más maduras).

Morfología y maduración de serie eritroide

Se debe examinar detenidamente la extensión para comprobar si están presentes todas las fases de maduración eritroide y en las proporciones adecuadas, anotando, asimismo, si la morfología celular es normal o no (presencia de células megaloblásticas, abundancia de células eritroides binucleadas, núcleos pleomórficos). No es necesario realizar un recuento diferencial detallado de cada fase de maduración; es suficiente valorar de forma global si la proporción de células en fase proliferativa (rubriblasto hasta rubricito inclusive) es normal o no (tabla 4). En general, se aprecia un aumento progresivo del número en cada fase de maduración, partiendo de un número escaso de rubriblastos (generalmente menos del 1% del total de

células nucleadas), hasta alcanzar proporciones elevadas de rubricitos policromatófilos (que pueden llegar al 25% del total de células nucleadas). Los metarrubricitos también son abundantes, pero casi siempre menos numerosos que los rubricitos policromatófilos.

Si las fases inmaduras y maduras eritroides aumentan de manera proporcional, se interpreta como respuesta adecuada a una anemia por causas periféricas (anemia regenerativa) (fig. 35).

Si están aumentadas las fases más inmaduras pero no las más maduras, sugiere una alteración en la proliferación de esta serie.

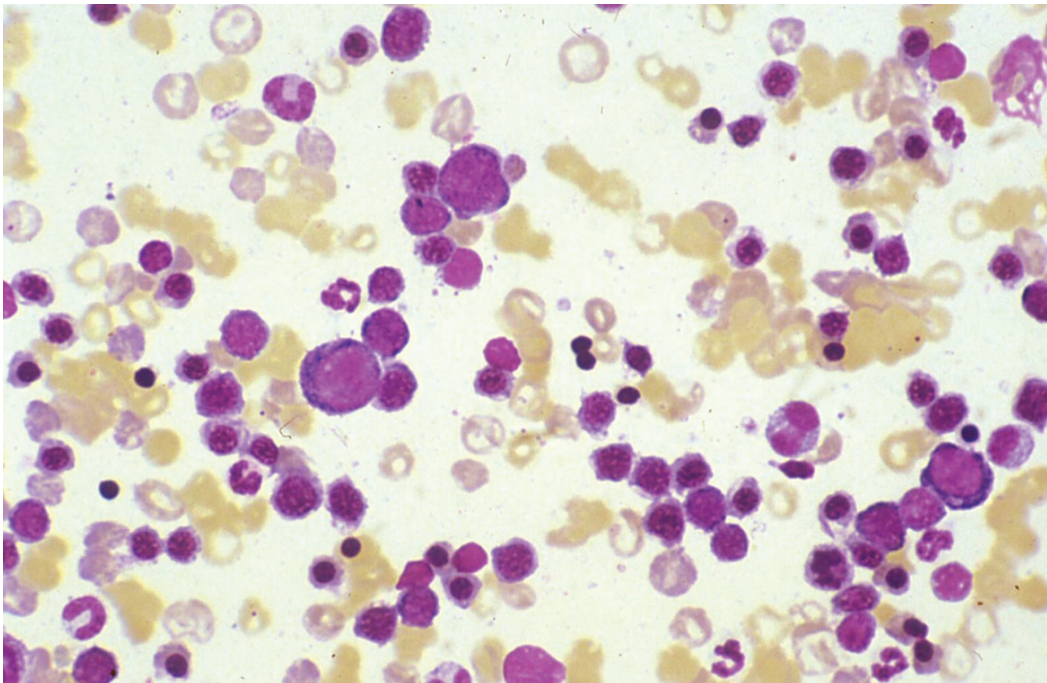


Figura 35. Hiperplasia eritroide, en paciente con anemia inmunitaria.

Morfología y maduración de la serie granulocítica

Se valora si la maduración es completa (si existe una proporción normal de granulocitos maduros) y ordenada (estimando si es normal la proporción de las células en fase proliferativa). En condiciones normales, se observa un incremento progresivo del número con cada fase de maduración (los mieloblastos no superan el 1%, mientras que los granulocitos maduros ascienden a más del 20% del total de células nucleadas) (tabla 4). También se evalúa la presencia de posibles alteraciones morfológicas (vacuolas citoplasmáticas, aumento anormal del tamaño celular, asincronía en la maduración de núcleo y citoplasma, granulaciones tóxicas en granulocitos maduros), y posibles incrementos patológicos del porcentaje de eosinófilos o basófilos que se suelen asociar a patologías inflamatorias o alérgicas (el porcentaje total de eosinófilos y sus precursores no debe exceder el 6%, y el de basófilos el 1% del total de células nucleadas).

Para establecer de forma más objetiva si existen asincronías en la maduración celular, se pueden calcular índices de maduración eritroide (IME) y mieloides (IMM):

- El índice IME es la suma de células eritroides nucleadas en fase de maduración (metarrubricitos), dividido por la suma de células eritroides en fase de proliferación (rubriblastos+promrubricitos+rubricitos).

Valores normales de IME = $5,2 \pm 1,7$

- El IMM es la suma de las células mieloides en fase de maduración (metamielocitos+células en banda+células segmentadas), dividida por la suma de las células mieloides en fase proliferativa (mieloblastos+promielocitos+mielocitos).

Valores normales de IMM = $4,4 \pm 1,4$

Los valores normales de IMM e IME reflejan la predominancia de fases de maduración sobre las fases de proliferación en una MO normal.

Tabla 4. Recuento celular diferencial en médula ósea (en %).

Tipo celular	Perro	Gato
Mieloblasto	0,4-1,1	0-0,5
Promielocito	1,1-2,3	0-3
Mielocito neutrófilo	3,1-6,1	0,6-8
Metamielocito neutrófilo	5,3-8,8	4,4-13,2
Neutrófilo banda	12,7-17,2	12,8-16,6
Neutrófilo segmentado	13,8-24,2	6,8-22
Mielocito eosinófilo	0-4,2	0,3-5,7
Metamielocito eosinófilo	0,4-3,7	0,2-4
Eosinófilo banda	0,9-2,4	0-2,8
Eosinófilo segmentado	0-6,8	0-2,8
Basófilos totales	0-1,3	0-0,4
Rubriblasto	0,2-1,1	0-0,8
Prorrubricito	0,9-2,2	0-1,6
Rubricito basófilo	3,7-10	1,6-6,2
Rubricito policromatófilo	15,5-25,1	8,6-23,2
Metarrubricito	9,2-16,4	1-10,4
Ratio M:E	0,75-2,53	1,21-2,16
Linfocitos	1,7-4,9	11,6-21,6
Células plasmáticas	0,6-2,4	0,2-1,8
Monocitos	0,4-2,0	0,2-1,6
Macrófagos	0-0,4	0-0,2
Megacariocitos	0-1,4	

Valores tomados de:
 1. "Atlas zur hämatologie von hund und katze"; Keller, P. y Freudiger, P.U. Ed. Paul Parey (Alemania), 1983.
 2. "Atlas of veterinary hematology"; Harvey, J.W. Ed. W.B. Saunders Company (Pennsylvania, EEUU), 2001.

Cuando se observa un aumento significativo de las fases blásticas, se sospecha de algún síndrome mielodisplásico (cuando el 5-30% de todas las células nucleadas sean blastos) o bien de enfermedades mieloproliferativas agudas (cuando los blastos superen el 30% del total de células nucleadas) (figs. 36, 37, 38a y 38b). Por el contrario, en las leucemias crónicas se observa un aumento marcado de las fases maduras de la serie afectada, asociado a un incremento significativo del número de células maduras en sangre periférica, pero manteniéndose una secuencia de maduración medular ordenada (figs. 39 y 40), por lo que muchas veces resulta muy difícil diferenciar una leucemia crónica de una hiperplasia a partir de una citología simple (figs. 41 y 42). Las neoplasias hematopoyéticas se dividen de forma general en mieloproliferativas y linfoproliferativas; su diferenciación y clasificación detallada es compleja ya que casi siempre requiere técnicas especiales de tinción, biopsias e incluso inmunofenotipado.

Figura 36. Leucemia linfóide aguda: predominio casi absoluto de linfoblastos, con ausencia de precursores de otras series hematopoyéticas

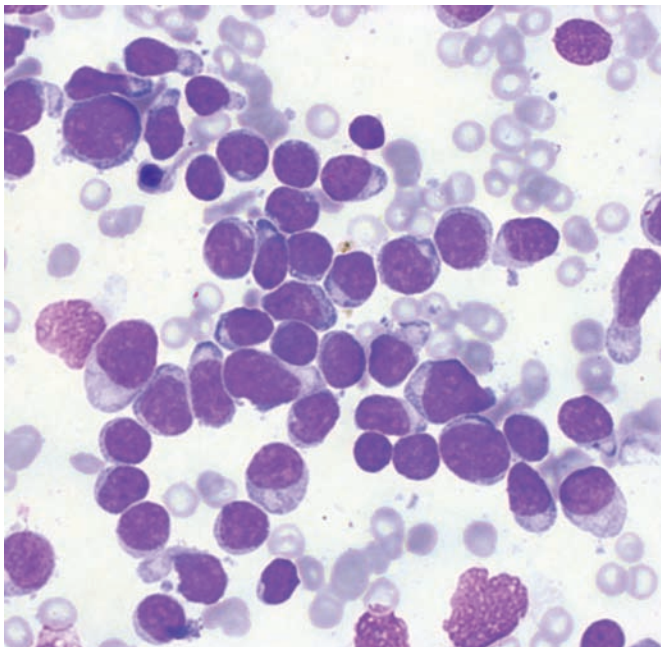
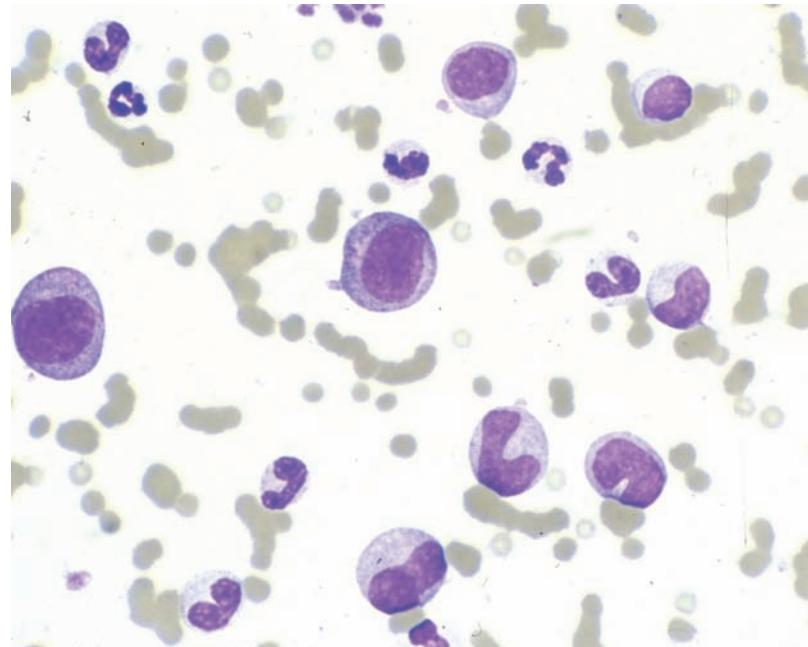


Figura 37. Leucemia mieloide aguda: predominio de precursores mieloides inmaduros (mieloblastos, promielocitos).



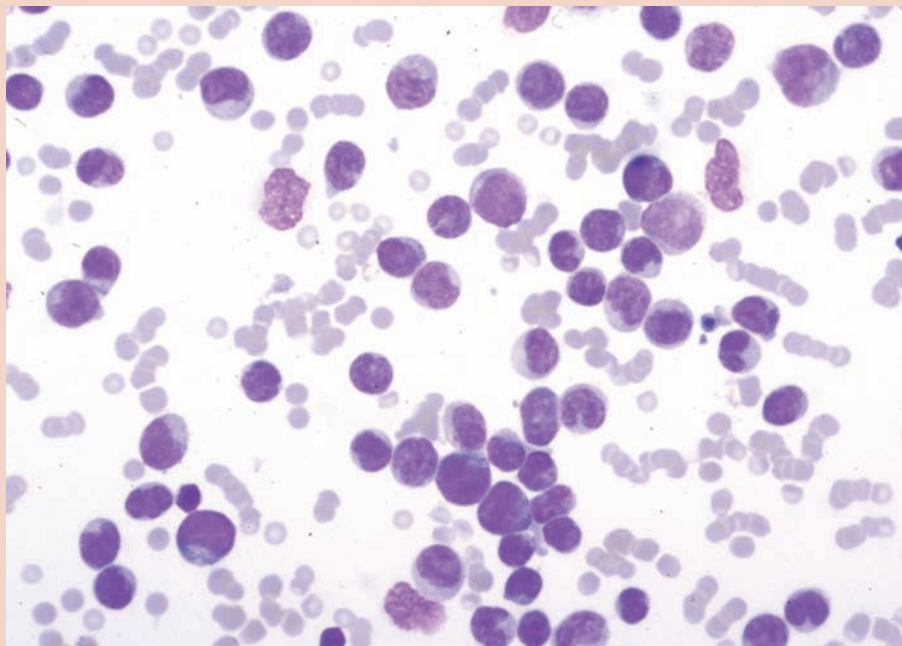


Figura 38 (a y b). Leucemia mielomonocítica: presencia casi exclusiva de blastos. Sólo por su morfología no se puede diferenciar su estirpe, pero la diferenciación es más clara en la sangre periférica de este mismo paciente donde se reconocen mejor las células de estirpe monocítica (b).

Figura 38a.

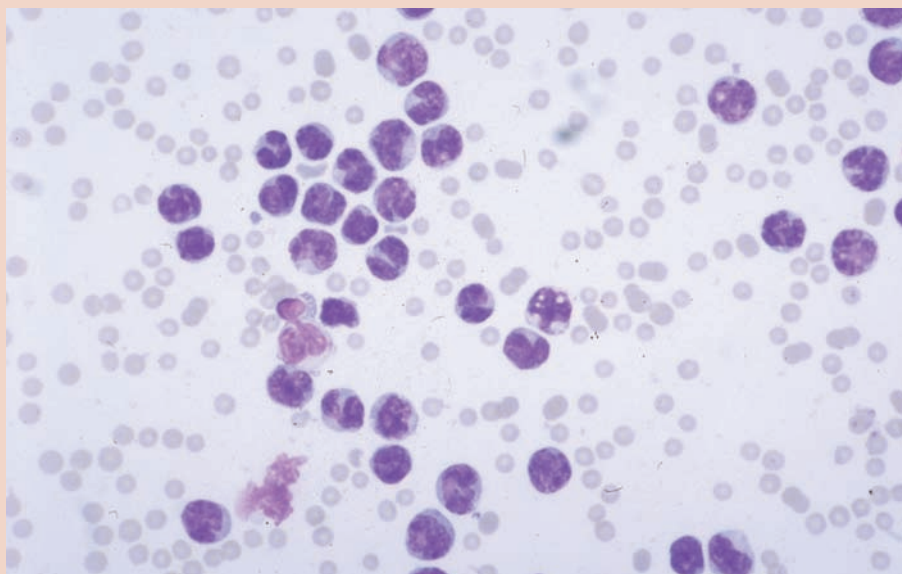


Figura 38b.

Figura 39. Leucemia linfóide crónica: predominio de linfocitos maduros, pequeños, muy similares a los habituales en sangre circulante. Aunque en proporciones reducidas, hay presencia de precursores de otras series hematopoyéticas (se reconocen tres precursores mieloides en el centro).

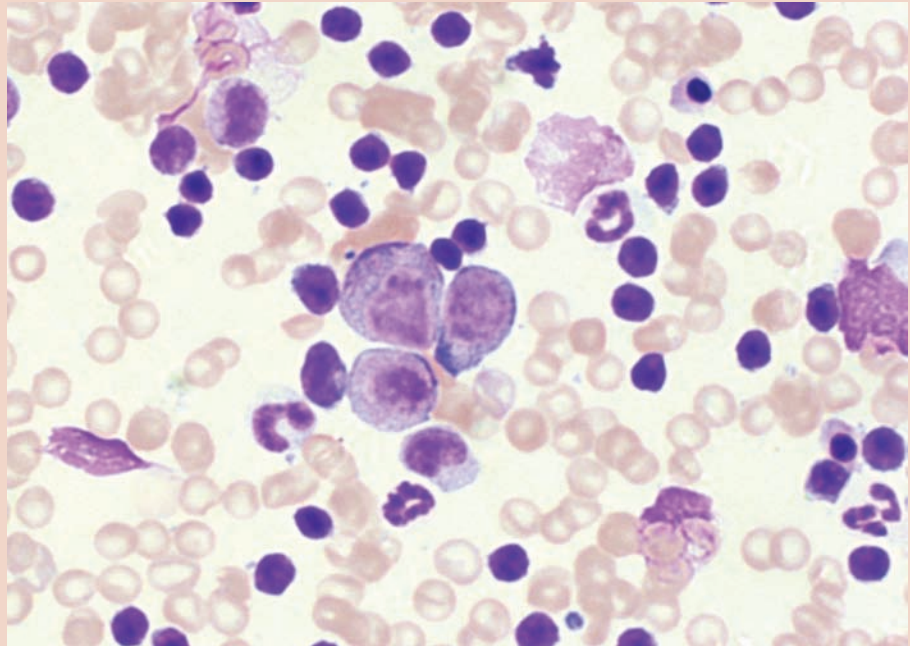
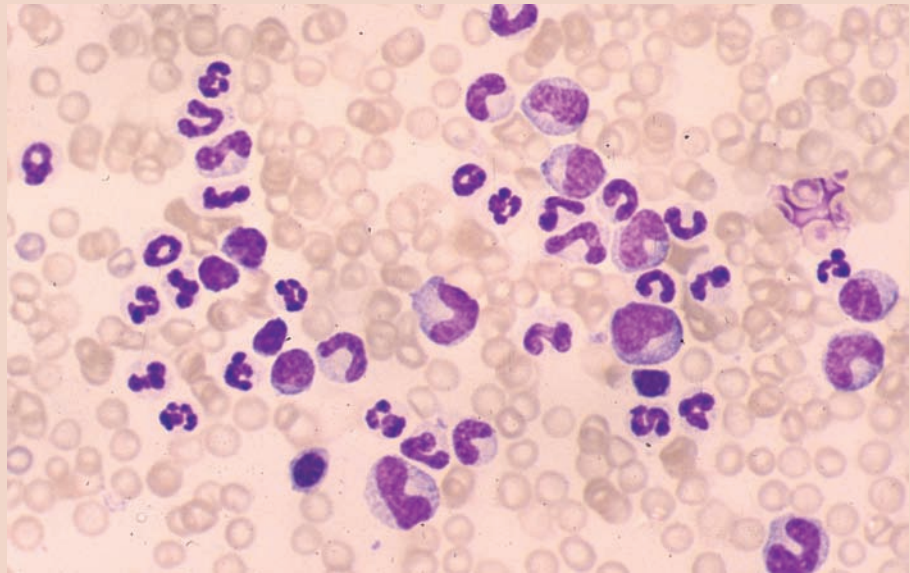


Figura 40. Leucemia mieloide crónica: predominio claro de precursores mieloides neutrófilos pero en su mayoría fases más maduras (de mielocitos hasta células segmentadas). Esta imagen es muy difícil de diferenciar de una hiperplasia, el diagnóstico se efectúa en función del historial y de la evolución clínica.



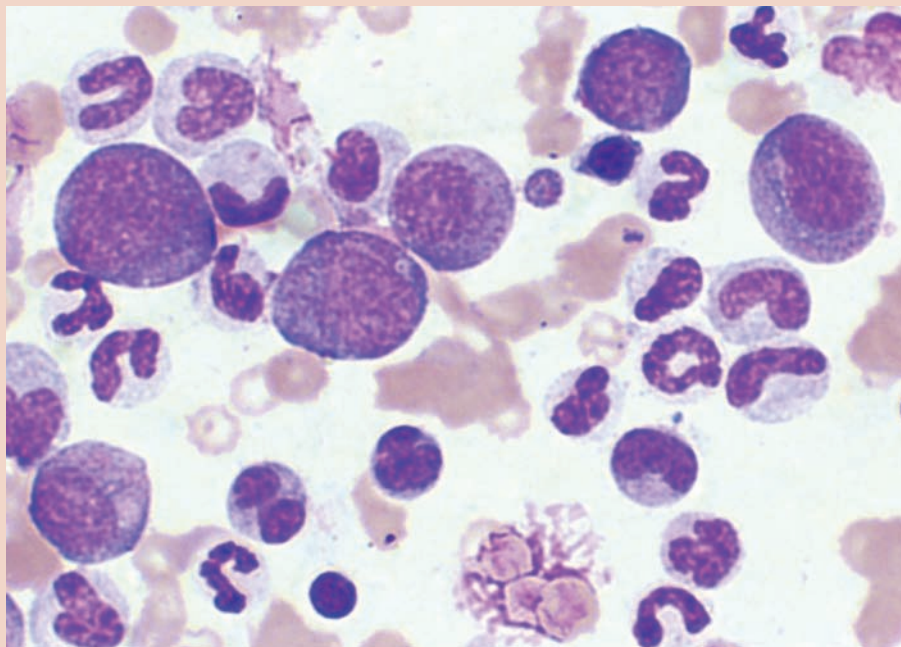


Figura 41. Hiperplasia granulocítica (neutrófilos), en perra con piometra.

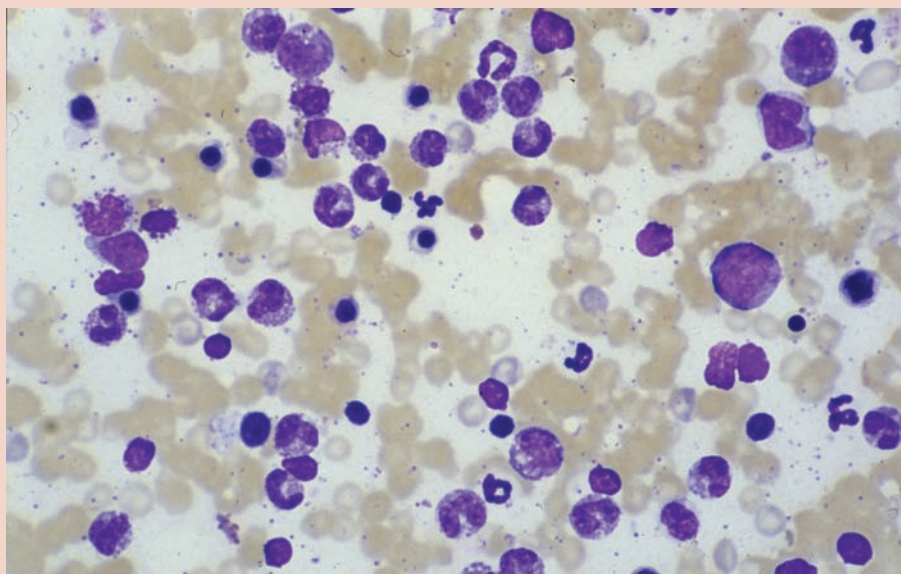


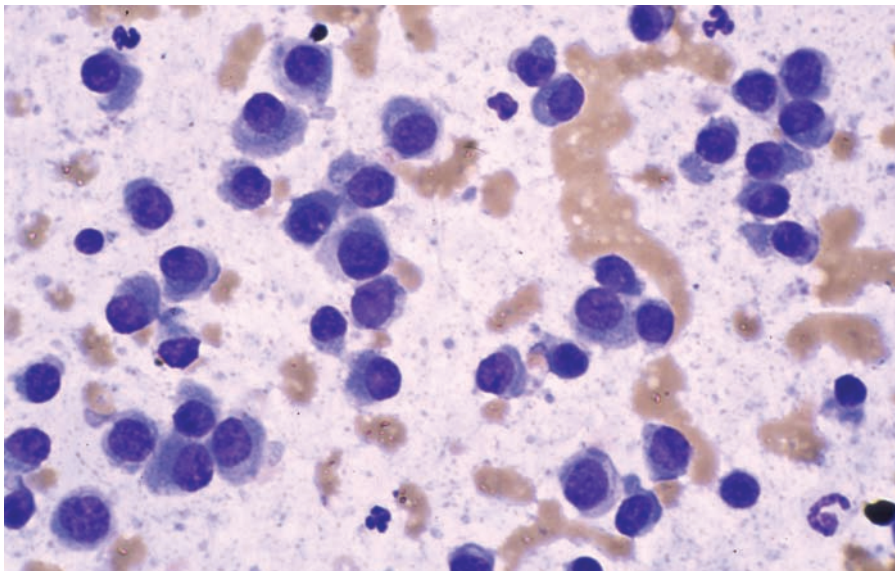
Figura 42. Hiperplasia granulocítica (eosinófilos), en perra con linfoma mediastínico.

Evaluación de la presencia y morfología de otros tipos celulares habituales en MO

Al examinar las extensiones medulares para evaluar la maduración y morfología de las series eritroide y mieloide, también debe valorarse la proporción relativa de otras células habituales en MO, como células linfoides (diferenciando linfocitos maduros y células plasmáticas) y monocitos/macrófagos.

Células linfoides

El porcentaje de células linfoides no debe superar el 10% del total de células nucleadas (en su mayoría linfocitos maduros pequeños); sin embargo, se han descrito porcentajes de hasta un 14% y 20% en perros y gatos sanos, respectivamente. Un aumento significativo de linfocitos maduros se puede asociar a leucemias linfoides crónicas y también a algunas enfermedades inmunomediadas (en ocasiones se puede observar un aumento de linfocitos maduros si la aspiración se realiza casualmente en un folículo linfoide, que pueden aparecer en la MO en condiciones fisiológicas). Un incremento del número de linfoblastos y/o linfocitos de tamaño medio sugiere la presencia de una leucemia linfóide aguda o una infiltración secundaria por un linfosarcoma.



En condiciones normales, se observa un número escaso de células plasmáticas (menos del 2% del total de células nucleadas), que se suelen localizar dentro o alrededor de las partículas medulares. Si su porcentaje supera el 3-4%, es necesario sospechar de procesos que estimulen la formación de anticuerpos (por ejemplo leishmaniosis, ehrlichiosis) o bien de un mieloma múltiple (para confirmarlo deben existir múltiples focos sistémicos) (fig. 43).

Figura 43. Mieloma múltiple: muestra de médula ósea con predominio de células plasmáticas, algo atípicas, no bien diferenciadas.

Monocitos y macrófagos

Un aumento de los monocitos se suele asociar a procesos inflamatorios, mientras que un aumento significativo de monoblastos se relaciona con enfermedad mieloproliferativa.

En condiciones normales los macrófagos no superan el 1% del total de células nucleadas. Un aumento de su número suele ir asociado a patologías inflamatorias o neoplásicas. Es posible visualizar en su citoplasma microorganismos o eritrocitos fagocitados (si es una imagen frecuente se asocia, fundamentalmente, a anemias inmunomediadas o a eritrocitosis inefectiva). También puede ser importante evaluar los depósitos de hemosiderina en el citoplasma de los macrófagos: en un paciente con anemia, un incremento significativo de la hemosiderina almacenada, asociado a una disminución de los niveles séricos de hierro y ferritina, es indicativo de una anemia por enfermedad inflamatoria crónica; por el contrario, si la disminución de hierro y ferritina séricos se asocia a una reducción o ausencia de los depósitos de hierro de los macrófagos medulares, el diagnóstico más probable es anemia por deficiencia de hierro.

Evaluación de la presencia de otras células o microorganismos

Es importante evaluar la posible presencia de células extrañas o poco habituales en la MO, que podría indicar metástasis de neoplasias extramedulares. Para diagnosticar metástasis medular, es necesario observar la presencia de una población celular ajena a la MO, que presente características de malignidad (son muy poco frecuentes en veterinaria).

En casos de mielofibrosis, se observan abundantes fibroblastos y depósitos de colágeno junto con una hipoplasia de células hematopoyéticas. Esta patología casi siempre es secundaria a neoplasias, procesos inflamatorios severos (mielitis) o cualquier patología que lesione el tejido medular; y requiere confirmación diagnóstica mediante biopsia (fig. 44).

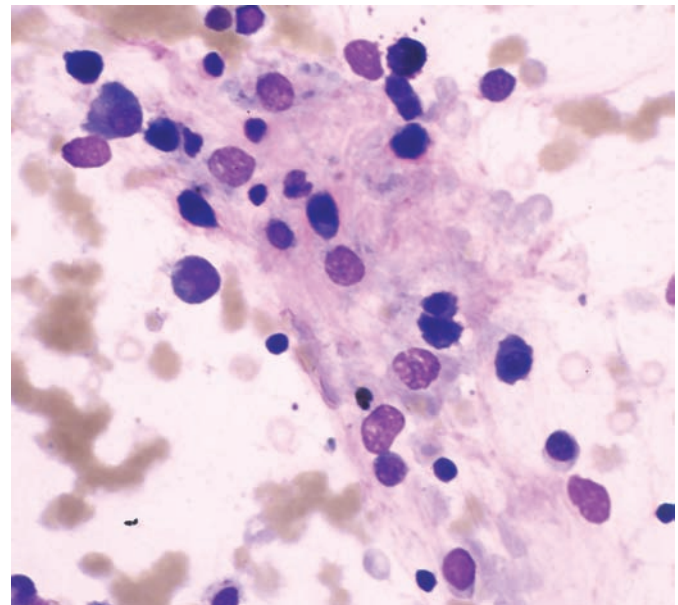


Figura 44. Mielofibrosis: sustitución del tejido hematopoyético por fibroblastos y colágeno. Paciente con aplasia medular por moquillo.

Si se observa la presencia de histiocitos en número significativo, es necesario establecer un diagnóstico diferencial entre patologías benignas y proliferaciones malignas (histiocitomas, histiocitosis maligna).

Los agentes infecciosos o parasitarios que se pueden observar ocasionalmente en extensiones medulares aparecen en la tabla 5 (en nuestra área geográfica los más frecuentes son las leishmanias) (fig. 45).

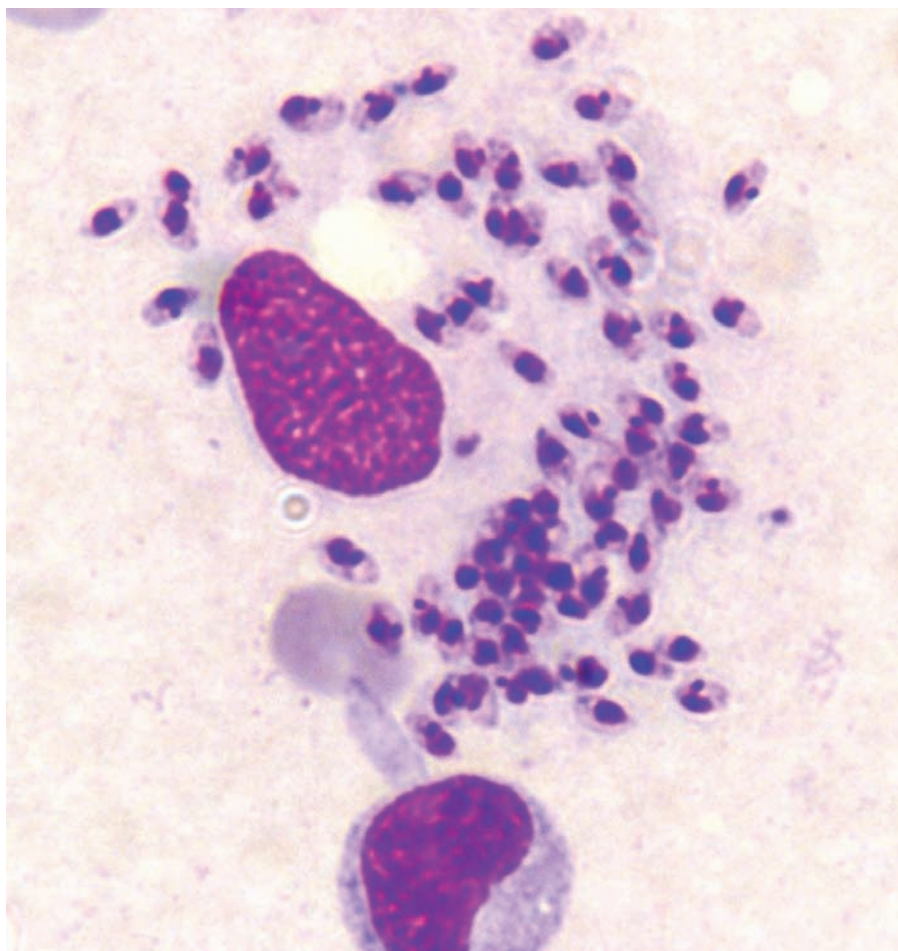


Figura 45. Presencia de abundantes amastigotes de *Leishmania* en un macrófago medular.

Tabla 5. Alteraciones medulares más frecuentes.

Hiperplasias	
Hiperplasia eritroide	Como respuesta a anemias de origen extramedular (anemias hemolíticas, hemorrágicas).
Hiperplasia granulocítica	Procesos inflamatorios y/o infecciosos (hiperplasia neutrófilos): piometra, peritonitis, quemaduras, etc.
	Procesos alérgicos y parasitosis (hiperplasia eosinófilos).
Hiperplasia megacariocítica	Trombocitopenias por causas extramedulares: trombocitopenia inmunomediada, pérdida o consumo excesivos (CID, hemorragias, hiperesplenismo).
	Deficiencia de hierro.
	Trombocitosis.
Hiperplasia monocítica	Procesos inflamatorios y/o infecciosos crónicos (enfermedades víricas, fúngicas).

Hipoplasias (aplasias)

Hipoplasias que pueden afectar indistintamente a todas las series celulares de la médula ósea, de forma individual o combinada (bi- o pancitopenias)

Congénitas (muy raras).

Mieloptosis (sustitución del tejido hematopoyético normal por otros tejidos -neoplásico-):

- Enfermedades linfoproliferativas.
- Enfermedades mieloproliferativas.
- Metástasis de carcinomas (melanomas).
- Mastocitoma sistémico.
- Histiocitosis maligna.
- Mielofibrosis.

Enfermedades infecciosas:

- Enfermedades víricas (leucemia felina, inmunodeficiencia felina, parvovirus, moquillo).
- Histoplasmosis.
- Toxoplasmosis.
- Ehrlichiosis.
- Leishmaniosis.

Fármacos y sustancias tóxicas:

- Agentes quimioterápicos (ciclofosfamida, etc.).
- Estrógenos, dietilbestrol (perros).
- Cloranfenicol (gatos).
- Griseofulvina (gatos).
- Antiinflamatorios no esteroideos (fenilbutazona) (perros).
- Fenobarbital (perros).
- Asociación trimetoprim-sulfadiazina.
- Solventes inorgánicos (benceno).
- Micotoxinas.

Radiaciones ionizantes.

Enfermedades autoinmunes.

**Hipoplasias específicas
(afectan solamente a una serie celular)**

Serie eritroide	<ul style="list-style-type: none"> ■ Enfermedades renales crónicas (por disminución de la síntesis de eritropoyetina). ■ Enfermedades endocrinas (hipotiroidismo) (por disminución de la síntesis de eritropoyetina). ■ Hipoplasia/aplasia roja pura (posible patogenia inmune).
Serie granulocítica	<ul style="list-style-type: none"> ■ Neutropenia cíclica del Gray Collie.
Serie megacariocítica	<ul style="list-style-type: none"> ■ Destrucción inmunomediada de megacariocitos. ■ Tóxicos. ■ Anemia aplásica.

Neoplasias hematopoyéticas

Leucemia linfoide
Leucemia granulocítica (mieloide)
Leucemia monocítica
Leucemia mielomonocítica
Leucemia megacariocítica
Mieloma
Policitemia rubra vera

Alteraciones de la maduración celular

Aumentos en la tasa de producción/proliferación celular (hiperplasias, neoplasias)

Deficiencia de hierro

Deficiencia de vitamina B₁₂, ácido fólico

Presencia de microorganismos

Leishmaniosis

Ehrlichiosis

Histoplasmosis

Toxoplasmosis

Cytauxzoonosis

Babesiosis

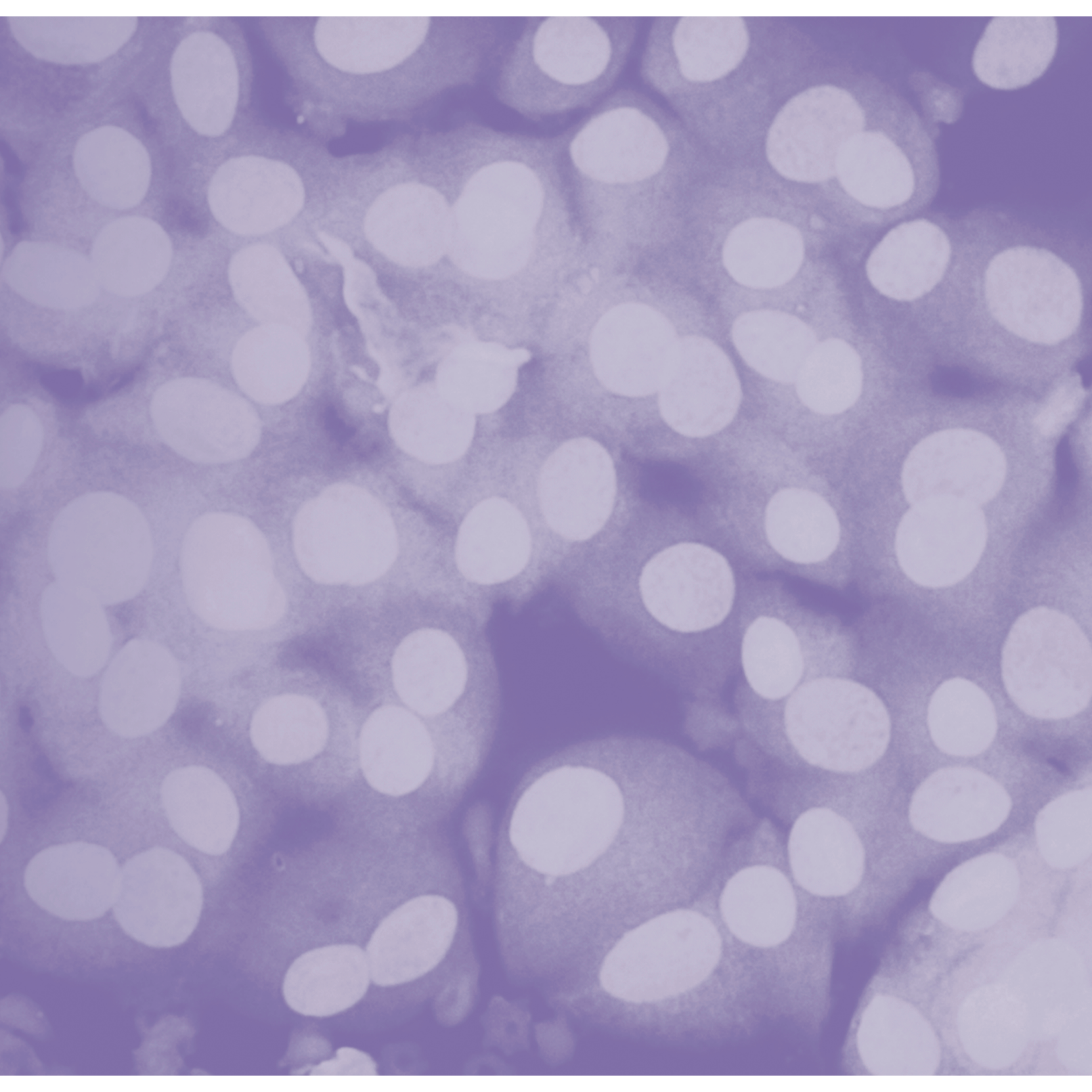
Mycobacterium

Mycoplasma haemofelis

Bibliografía

- DUNN, J. Bone marrow aspiration and biopsy in dogs and cats. *In Practice*. 1990, vol. 12, pp. 200-206.
- COWELL, R.L., TYLER, R.D. Y MEINKOTH, J.H. Bone Marrow. En: Cowell, R.L., Tyler, R.D. y Meinkoth, J.H. (ed). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 2ª ed. St. Louis: Ed. Mosby, 1999. pp. 284-304.
- GRINDEM, C.B., NEEL, J.A. Y JUOPPERI, T.A. Cytology of bone marrow. *The Vet. Clin. North Am (small animal practice)*. 2003, vol. 32, pp. 1313-1374.
- GUELF, J.F., TRUMEL, C. Bone marrow maturation indexes: a retrospective study in 256 dogs and 61 cats. *Vet Clin Pathol*. 1999, vol. 28, pp. 59-63.
- HARVEY, J.W. *Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of domestic animals*, Philadelphia: Ed. Saunders Co, 2001.
- HISASUE, M., OKAYAMA, H., OKAYAMA, T. et al. Hematologic abnormalities and outcome of 16 cats with myelodysplastic syndromes. *J. Vet Intern. Med.* 2001, vol. 15, pp. 471-477.
- NIEMEYER, G.P., HUDSON, J., BRIDGMAN, R. et al. Isolation and characterization of canine hematopoietic progenitor cells. *Exp. Hematol.* 2001, vol. 29, pp. 686-693.
- SHIMODA, T., SHIRANAGA, N., MASHITA, T. Y HASEGAWA, A. A hematological study on thirteen cats with myelodysplastic syndrome. *J. Vet. Med. Sci.* 2000, vol. 62, pp. 59-64.
- VILLIERS, E.J., DUNN, J.K. Clinicopathological features of seven cases of canine myelofibrosis and the possible relationship between the histological findings and prognosis. *Vet. Rec.* 1999, vol. 145, pp. 222-228.
- WEISS, D.J., SMITH, S.A. Collection and assessment of canine bone marrow. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 2002, vol. 24, pp. 670-679.
- WELLMAN, M.L. Y RADIN M.J. Cytologic and histologic evaluation of the bone marrow. En: *Bone marrow evaluation in dogs and cats*. Wilmington (DE): The Gloyd Group. 1999, pp. 17-25.
- WELLMAN, M.L. Y RADIN M.J. Hematopoietic neoplasia. En: *Bone marrow evaluation in dogs and cats*. Wilmington (DE): The Gloyd Group. 1999, pp. 43-60.





¿Cuántos pacientes acuden a las consultas veterinarias con “bultos”? ¿Cómo diagnosticarlos correctamente? Sin duda, en este ámbito la citología se revela como una técnica de gran interés. Interés que se extiende y abarca un amplio abanico de posibilidades: hígado, bazo, aparato reproductor, nariz, lavados traqueales, superficie ocular, líquidos orgánicos...

Extraer la mayor cantidad posible de información de una muestra citológica redundará positivamente en el manejo del paciente.

Por ello no es extraño que el interés de los clínicos de pequeños animales por esta técnica diagnóstica se haya generalizado y obras como este Atlas de Citología se hagan imprescindibles para la consulta diaria, para la búsqueda de una imagen semejante a la que tenemos en el ocular de nuestro microscopio.

El Atlas consta de un primer capítulo en el que se abordan los conceptos generales para iniciarse en la interpretación citológica: obtención de muestras, preparación de las extensiones, tinción, protocolo de interpretación... En el resto de capítulos se incluyen las masas cutáneas y subcutáneas, los ganglios linfáticos, el tracto digestivo, el bazo, el aparato reproductor, el aparato respiratorio, el tracto urinario, la superficie ocular, el conducto auditivo, los líquidos orgánicos, las células sanguíneas y la médula ósea.

Elena M. Martínez es Profesora Titular del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM y realiza su actividad clínica en el Hospital de dicha universidad. Ha dedicado su carrera profesional y mucho de su tiempo personal a la aplicación del diagnóstico citológico a la clínica veterinaria. Para esta obra ha colaborado con expertos profesores y clínicos.

