



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Trabajo de fin de grado

CORRELACIÓN CITOLÓGICA E HISTOLÓGICA PARA LA DETECCIÓN DE LESIONES PREMALIGNAS EN EL CÁNCER COLORRECTAL

Grado en Biotecnología

Beatriz Lorenzo López-Cortón

Dirigido por Lluís Pons i Ferré y Rebeca Laza

Tutor: Javier Capilla

Tarragona

Junio de 2019

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de anatomía patológica Eldine Patología, durante los meses de febrero y mayo de 2019 en Tarragona. La recolección de las muestras se llevó a cabo durante el mismo período en la clínica MATT de Tarragona.

Índice

1. Resumen.....	5
2. Introducción.....	7
2.1 cáncer.....	7
2.2 Anatomía e histología colorrectal.....	8
2.3 Cáncer colorrectal.....	10
2.3.1 Historia.....	10
2.3.2 Epidemiología del cáncer.....	11
2.3.3 Factores de riesgo.....	12
2.3.4 Clasificación de los pólipos colorrectales.....	13
2.3.5 Detección.....	19
3. Hipótesis y objetivos.....	21
4. Material y métodos.....	22
4.2 Obtención de muestras.....	22
4.3 Impronta citológica.....	23
4.4 Biopsias.....	23
4.5 Observación al microscopio.....	24
4.6 Patrones de normalidad celular.....	24
4.7 Criterios para la evaluación de las muestras.....	25
4.8 Tratamiento de los resultados.....	26
4.8.1 Evaluación de la sensibilidad y especificidad del método.....	26
4.8.2 Análisis estadístico para la correlación citológica-histológica.....	27
5. Resultados.....	28
5.1 Observación de las muestras.....	28
5.2 Evaluación de la sensibilidad y estabilidad el método.....	30
5.3 Análisis estadístico para la correlación citológica-histológica.....	30

6. Discusión.....	32
7. Conclusión	36
8. Autoevaluación.....	37
9. Bibliografía	38
10. Anexos	40
Agradecimientos.....	45

1. RESUMEN

Introducción: El cáncer colorrectal es el segundo cáncer con más incidencia en todo el mundo, por lo que la detección temprana de lesiones premalignas es de vital importancia para evitar que se desencadene esta patología. En nuestro estudio presentamos la impronta citológica como un método de detección más rápido, sencillo y de bajo coste en comparación con el método tradicional “gold standard” de la biopsia.

Objetivos: Establecer si existe correlación citológica e histológica a la hora de la detección de células displásicas en el cáncer colorrectal. Determinar la sensibilidad y especificidad de la impronta citológica como método de detección en lesiones premalignas que dan lugar al cáncer colorrectal.

Materiales y métodos: 60 muestras de pólipos de colon y recto de 22 pacientes procedentes de colonoscopia. La impronta se realizó mediante una ligera aposición y se rodó la muestra fresca sobre el portaobjetos durante las intervenciones quirúrgicas. Se aplicó la tinción Papanicolau.

Resultados: El grado de displasia que en un principio se evaluó en tres grupos según el análisis histopatológico: ausencia de displasia (0), presencia de displasia de bajo grado (1) y presencia de displasia de alto grado/adenocarcinoma (2). Posteriormente pasó a ser de dos grupos: ausencia/presencia de displasia de bajo grado (0/1) y presencia de alto grado/adenocarcinoma (2). Se obtuvo una correlación citológica-histológica del 77,96%. A través del análisis estadístico, se obtuvo una especificidad del 90,70% y sensibilidad del 80% para la detección de células displásicas con el método de la impronta citológica. Para la detección de una displasia de alto grado/adenocarcinoma se obtuvo una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98,08%.

Conclusiones:

- Se ha establecido una correlación citológica-histológica del 77,96% al haber identificado con las improntas citológicas dos grupos de diagnóstico histopatológico: ausencia de displasia/ presencia de displasia de bajo grado y displasia de alto grado/adenocarcinoma.

- Se ha determinado una sensibilidad del 90,70% y una especificidad del 80% del método con impronta citológica para detectar células displásicas y ha resultado ser muy eficaz para detectar la presencia de displasia de alto grado o adenocarcinoma, con una sensibilidad del 100% y especificidad del 98,08%, teniendo como referencia el análisis histopatológico.

Palabras clave

Cáncer colorrectal | impronta citológica | biopsia | colon | recto | histología | Papanicolau

2. INTRODUCCIÓN

2.1 CÁNCER

El cáncer es el nombre común que reciben una serie de enfermedades relacionadas entre sí, en las que se observa un proceso de división celular descontrolado (Instituto Nacional del Cáncer, 2015). La transformación que lleva a las células normales a malignizarse, consiste en la adquisición progresiva de una serie de mutaciones que le dan una ventaja selectiva frente al resto, y que le permiten el escape de los mecanismos antitumorales existentes (Marincorena & Campbell, 2016). El cáncer está basado en dos procesos sucesivos que sufren las células normales; la proliferación de un grupo de células, denominado neoplasia, y la capacidad invasiva que les permite colonizar y proliferar en otros tejidos u órganos, proceso denominado metástasis.

El balance existente entre la apoptosis y la proliferación celular es uno de los mecanismos principales de regulación para el mantenimiento de la homeostasis del organismo. Si se da la pérdida de este equilibrio, se puede provocar la multiplicación de ciertos grupos celulares de forma descontrolada, dando lugar a la formación de una masa tumoral. Este proceso es conocido como carcinogénesis (SEOM, 2019).

El cáncer es el resultado de una neoplasia maligna. Si bien, un tumor es una acumulación de líquido en un tejido, médicamente se acepta la denominación de tumor a los eventos neoplásicos. Los tumores benignos no poseen malignidad ya que suelen ser de crecimiento lento, tienen escasa capacidad invasora por lo que no dan lugar a metástasis y a menudo pueden ser reabsorbidos (Instituto Nacional del Cáncer, 2015). Sin embargo, los tumores malignos, crecen rápidamente y de manera descontrolada, sobrepasando las diversas formas de muerte celular. Pueden invadir y dañar tejidos u órganos cercanos, además de infiltrarse por la vía vascular o linfática y formar nuevos focos tumorales en otras partes del cuerpo, los denominados tumores metastásicos (Zhenyi, Zuozhang, Yongqing, Yongbin, & Qiang, 2015).

2.2 ANATOMÍA E HISTOLOGÍA COLORRECTAL

El intestino grueso es la última parte del sistema digestivo. Se inicia en la válvula ileocecal y termina en el ano, teniendo una longitud de 1,5 metros. Podemos diferenciar tres partes principales en su primera porción principal: ciego, colon ascendente y colon transversal y tres partes en la porción distal: colon descendente, sigma y finaliza con el recto.

Entre todas las funciones del intestino grueso destacan la recuperación de agua a partir del residuo líquido del intestino delgado y la propulsión de las heces cada vez más sólidas hacia el recto, antes de la defecación. La pared muscular, por consiguiente, es gruesa, capaz de una elevada actividad peristáltica, y está recubierta por una mucosa. El tracto intestinal posee cuatro capas funcionales (Figura 1A), que permanecen relativamente constantes a lo largo de todo el tubo (Weather, Burkitt, & Daniels, 1987):

- La mucosa se divide histológicamente en tres capas: una capa de revestimiento epitelial, una capa de tejido conectivo denominada lámina propia (LP) y una fina capa de musculatura lisa, la *muscularis mucosae* (MM).
- La submucosa (SM) es una capa de tejido conectivo laxo que sostiene la mucosa.
- La muscular propia está formada por músculo liso que se subdivide normalmente en dos tipos histológicos: una capa circular interna (CM) y una capa externa longitudinal (LM). La acción de estas dos capas, que se encuentran colocadas de forma perpendicular, es la base de los movimientos peristálticos. En el colon, esta capa es mucho más gruesa que en el resto del intestino grueso ya que en el colon las heces son grandes y pesadas y se requiere más fuerza para empujarlas.
- La serosa (S) está tapizada por un epitelio plano simple denominado mesotelio.

Las glándulas tubulares simples del intestino grueso se disponen de forma muy apretada (Figura 1 B) lo que aumenta la superficie del área funcional. Recorren desde la superficie luminal hasta la MM y están separadas entre sí por delgados fragmentos de lámina propia. Estas glándulas están formadas por dos tipos de células: las células caliciformes secretoras de moco predominan en la base de las glándulas, con núcleos pequeños y condensados; mientras que la superficie luminal está casi completamente revestida por las células absorbentes que son

cilíndricas, altas y poseen un gran núcleo ovoide localizado (Weather et al., 1987).

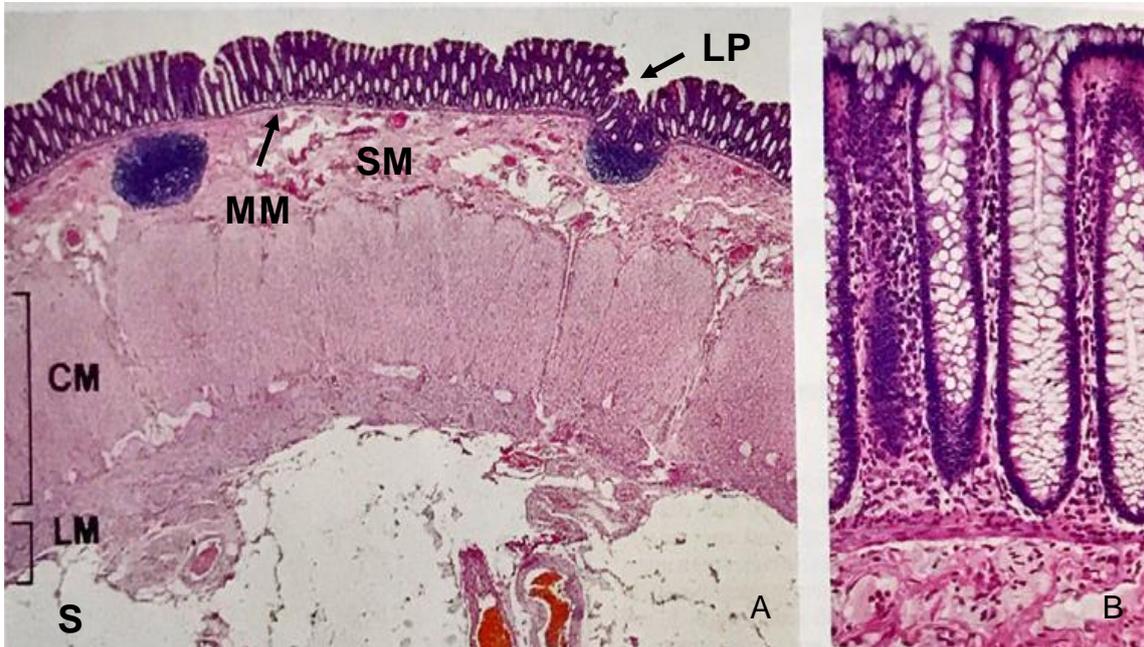


Figura 1. Pared muscular del intestino grueso. (A) Componentes de la pared muscular del intestino grueso 4x. (B) disposición de las glándulas de la pared intestinal 100x (Weather et al., 1987).

El recto es la porción terminal, corta y dilatada del intestino grueso cuya principal función es la de almacenar las heces semisólidas antes de la defecación.

La mucosa del recto es similar a la del resto del intestino grueso a excepción de la existencia de una mayor cantidad de células caliciformes. Esto produce un cambio brusco en el límite anorrectal, que pasa a estar formado por un epitelio plano estratificado que se continua por todo el canal anal (Weather et al., 1987). Tanto el colon como el recto son los segmentos pertenecientes al tubo digestivo que con mayor frecuencia se ven afectados por los tumores. Aunque pueden aparecer tumores benignos mesenquimales tales como los lipomas, leiomiomas o angiomas, la mayoría de los tumores benignos son pólipos epiteliales, y de un grupo de ellos, los adenomas, puede derivarse una evolución a cáncer. Los pólipos epiteliales se encuentran del 25 % al 50% en adultos de edad avanzada (Kumar, Abbas, Fausto, & Aster, 2010).

2.3 CÁNCER COLORRECTAL

El cáncer colorrectal (CCR) es el que se origina tanto en el colon como en el recto. Médicamente se agrupan debido a que tienen muchas características comunes. La mayoría de los CCR comienzan con un crecimiento precanceroso que se desencadena en el revestimiento interno del intestino grueso. A este crecimiento se le llama pólipo, y la mayoría de ellos no llegan a convertirse en cáncer (American Cancer Society, 2018). Únicamente aquellos que se desarrollan a partir de glándulas, los llamados adenomas o pólipos adenomatosos, pueden progresar hacia formas cancerosas con capacidad metastásica. Aproximadamente el 95% de estos cánceres colorrectales son adenocarcinomas, que son los que comienzan en las glándulas responsables de la producción del moco (AECC, 2018).

Es CCR es el tercer tumor maligno más frecuentes y la cuarta causa de muerte por cáncer en todo el mundo con una incidencia algo mayor en hombres que en mujeres (Skyrud et al., 2017).

Se produce principalmente en la gente de edad avanzada, siendo el recto el lugar más frecuente de aparición, siguiendo el colon sigmoide, el ciego y la válvula ileocecal, así como los ángulos del colon (Anderson, 1977).

2.3.1 HISTORIA

A lo largo de la historia, la humanidad se ha visto afectada por todo tipo de neoplasias malignas. Aunque, ya en épocas antiguas fueron descritos los tumores de colon, no fue hasta avanzado el siglo XVIII cuando empezó a desarrollarse el tratamiento para la enfermedad, que se basaba principalmente en soluciones quirúrgicas.

Es en el siglo XIX, cuando se producen dos avances importantes en el tratamiento para esta enfermedad neoplásica, y que además implicarían un auge en la cirugía oncológica. En primer lugar, la introducción de la anestesia mediante la aparición del cloroformo, del éter y del óxido nitroso, y en segundo lugar, la instauración de medidas de asepsia en la cirugía. Ambas van a reducir favorablemente los riesgos de infecciones postoperatorias permitiendo realizar cirugías más agresivas.

A principios del siglo XX, los tumores rectales eran extraídos por vía perineal, con unas cifras de mortalidad aceptables, pero con unos índices de recidivas locales que alcanzaban hasta un 90% de los casos. Es en el año 1906 cuando se empezó a recurrir a las vías abdominal y perineal, lo que permitió una disminución significativa de las tasas de recurrencia local.

Durante los últimos cien años, el conocimiento tanto de la fisiopatología como de la historia natural de la enfermedad, va a permitir que la cirugía rectal progresara enormemente. A la vez que se investigaba sobre el origen del cáncer, paralelamente se irían desarrollando y proponiendo nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento. Va a ser David Gregor, quien en el año 1967 elaboraría la prueba de la sangre oculta en heces (Menéndez et al., 2010), prueba de screening no invasiva para detectar posibles pacientes afectados por CCR (Sali, Grazzini, & Mascalchi, 2017). Seguidamente, en el año 1969 William Wolff realizó la primera colonoscopia (Menéndez et al., 2010). Este método de diagnóstico con el paso del tiempo se va a convertir en la prueba de cribado por excelencia sobre todo para la detección temprana de pólipos, evitando así su evolución a cancer colorrectal. Así mismo, permite realizar una biopsia, procedimiento de extracción de una pequeña muestra de tejido o un conjunto de células para su estudio en el laboratorio (Calderon Reza & Bravo Pin, 2018).

2.3.2 EPIDEMIOLOGIA DEL CÁNCER

El CCR es el segundo y tercero más común en hombres y mujeres respectivamente y combinando los dos sexos representa un 9,7% de la incidencia de todos los cánceres. Más de la mitad de los casos ocurren en los países más desarrollados y altamente industrializados. La incidencia del CCR varía geográficamente siendo máxima en Australia, Nueva Zelanda, Europa, América del norte y mínima en África del este y Asia (Kuipers et al., 2016).

Se comprueba entonces que se presenta con mayor frecuencia en poblaciones con niveles de vida elevados. Este factor se confirma, si ponemos de ejemplo a Japón, el cual con el paso de los años ha sufrido un elevado aumento de la incidencia de CCR al ir occidentalizando sus costumbres y sus hábitos alimenticios, relacionados con dietas ricas en proteínas, grasas y bajas en fibras (Azeem et al., 2015).

Se ha estimado que en el año 2019 se den 145600 casos nuevos de incidencia de cáncer de colon a la vez que 51020 muertes por esta causa, siendo así el 50% de personas que mueren con esta enfermedad diagnosticada (American Cancer Society, 2018).

La muerte por cáncer de colon, además de depender geográficamente también varía temporalmente, así desde el 1980 ha disminuido en países de Europa, América del Norte y países de Asia, hecho que podría ser atribuido a la introducción de la colonoscopia como método de detección y tratamiento de lesiones premalignas (Kuipers et al., 2016). Por otro lado, en los países que han pasado por la transición de la industrialización hace relativamente poco tiempo, tales como Japon, Singapur o Europa del Este, la incidencia y la mortalidad ha tendido a aumentar con el paso de los años, llegando en algunos países a duplicar las cifras desde el 1980 (Haggard & Boushey, 2009).

2.3.3 FACTORES DE RIESGO

Se ha estimado que un 50% del riesgo a padecer CCR es debidos a cinco factores relacionados con el estilo de vida: la dieta, fumar, el exceso de peso corporal, la inactividad física y el alcohol (Skyrud et al., 2017) .

Se ha correlacionado la incidencia en los países desarrollados como consecuencia de una falta de fibra en la dieta y un consumo excesivo de carne roja. Un estudio realizado en Asia confirmó que la incidencia del CCR en el continente aumentaba paralelamente a la industrialización y desarrollo de los países que lo formaban, adquiriendo cada vez más las costumbres y dietas occidentales (Azeem et al., 2015).

La vida media en los países de vida alta aumenta con el paso de los años, y sabiendo que este cáncer se desarrolla en personas de edad avanzada, supone un riesgo de padecer esta enfermedad. El carcinoma de intestino grueso tiene la máxima frecuencia en la séptima década de la vida. Menos del 20% de los casos son detectados antes de los 50 años y si lo son, es debido a enfermedades hereditarias (Kumar et al., 2010).

Además del hecho de haber padecido con anterioridad un CCR (American Cancer Society, 2018), hay una serie de enfermedades o condiciones predisponentes que aumentan el riesgo de padecer un CCR:

- Por un lado, las enfermedades intestinales inflamatorias: la colitis ulcerosa, que causa la inflamación de la mucosa del colon y del recto y la enfermedad de Crohn que puede causar la inflamación de cualquier parte del tracto digestivo (Haggar & Boushey, 2009).
- Por otro lado, el factor genético es una causa indudable ya que en muchos casos los factores hereditarios juegan un papel decisivo. Hay síndromes hereditarios bien definidos que se acompañan de una incidencia bastante elevada de cáncer de intestino grueso. Alrededor del 5-10% de las personas que padecen CCR presentan cambios genéticos hereditarios que pueden causar síndromes de cáncer familiar y que pueden llevar a padecer la enfermedad (Kuipers et al., 2016). La poliposis familiar es una enfermedad hereditaria, aunque poco común, que se manifiesta a edades tempranas y da como resultado la formación de múltiples pólipos con la progresión inevitable a adenocarcinoma a una edad aproximada de 50 años. Otra enfermedad bien conocida, con una incidencia mayor que puede afectar a 1:300 de la población y que representa un 5% de los carcinomas colorrectales, es la enfermedad de Lynch. Es debida a una mutación en uno de los genes de reparación de errores genéticos y resulta en un mayor riesgo de padecer este cáncer entre otros (Clark, 2019).
- Estudios recientes han demostrado que la exposición a agentes infecciosos, ya sean bacterias o infecciones virales tales como el virus del papiloma humano (VPH) y el BK virus, pueden contribuir al proceso neoplásico (Jarzyński, Zajac, Żebrowski, Boguszewska, & Polz-dacewicz, 2017). Actualmente, las personas infectadas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), tienen una media de vida más elevada gracias a las terapias antiretrovirales y a su vez, son más propensos a desarrollar un adenocarcinoma de colon (Chapman, Aboulafia, Dezube, & Pantanowitz, 2009) .

2.3.4 CLASIFICACIÓN DE LOS PÓLIPOS COLORRECTALES

Dentro de los CCR, un 95% son adenocarcinomas. Los tumores epiteliales, tanto benignos como malignos, son muy frecuentes y constituyen un problema importante, tanto en términos de tratamiento como de prevención.

Un pólipo de colon puede definirse como una masa que se forma y crece en los tejidos que forman parte de las membranas mucosas de algunas cavidades del cuerpo y se sujeta a ellas por medio de un pedúnculo. Gran variedad de neoplasias, ya sean benignas o malignas, pueden adquirir forma de pólipo (Kumar et al., 2010).

Por su potencial maligno, se clasifican en pólipos no neoplásicos que constituyen las proliferaciones que son consideradas benignas y controladas, y pólipos neoplásicos o adenomas que a veces pueden llegar a mostrar focos de carcinoma. En general, existe una correlación entre tamaño y tipo y que va a dar lugar también a otra correlación entre tamaño de la lesión y aparición de carcinoma (Calderon Reza & Bravo Pin, 2018).

La falta de diferenciación en los dos tipos celulares especializados es el hecho que separa claramente los pólipos adenomatosos neoplásicos de los pólipos hiperplásicos. Hay acuerdo general en que los pólipos de tipo hiperplásico son lesiones casi siempre benignas, mientras que alrededor del 25%-50% de los adenomas vellosos van a desarrollar un carcinoma (Kumar et al., 2010).

Pólipos neoplásicos o adenomas

Las células de todos estos pólipos muestran diferentes grados de atipia y, dependiendo de esto, presentan una tendencia a sufrir una malignización en forma de adenocarcinoma (Anderson, 1977).

- **Adenoma tubular.** Alrededor del 75% de los pólipos adenomatosos son adenomas tubulares. Aparecen de forma esporádica en la población general con una edad media de sesenta años entre los enfermos.

Las células son altas y están apretadas, existe generalmente hiper cromatismo nuclear marcado e incremento en la relación núcleo-citoplasma. Se suele encontrar cierto grado de displasia y atipia (Figura 2 A). Las células epiteliales superficiales muestran una diferenciación pobre en los dos tipos de células normales, aunque pueden persistir escasas células caliciformes.

Se ha establecido por convenio, que las lesiones tubulares con menos del 20% al 25% de crecimiento veloso se denominan adenomas tubulares. Normalmente, cuando surgen cambios carcinomatosos en un adenoma tubular, se localizan en estos focos vellosos.

- **Adenoma vellosa.** Se trata de un papiloma, pero que a día de hoy se incluye con los adenomas (clasificación según la OMS). Es un típico tumor papilar sésil compuesto de incontables ramificaciones que se proyectan hacia la luz del intestino grueso (Figura 2 B). Forman parte del grupo de adenomas menos frecuentes, pero los más grandes y en consecuencia los más peligrosos. Suelen representar alrededor del 10% al 15% de los pólipos adenomatosos resecados. Las células individuales tienen un gran núcleo hiper cromático y las mitosis pueden ser numerosas. Los adenomas vellosos son lesiones precancerosas. El carcinoma *in situ*, sin invasión de la submucosa del colon se encuentra en alrededor del 10% de los adenomas vellosos y el carcinoma francamente invasivo en otro 25% o 40% adicional. Es por esto que es de vital importancia el diagnóstico precoz y la resección adecuada.
- **Adenoma túbulo-vellosa.** Este adenoma presenta rasgos de los dos adenomas antes descritos, mostrando una mezcla de las características tubulares y vellosas en proporciones variables (Figura 2 C). El componente vellosa representa entre el 20% y el 50%. Debido a la cantidad de elementos vellosos, posee un potencial de malignidad situado a mitad de camino entre los tipos tubulares y vellosos.
En cuanto al aspecto histológico, cubre un amplio espectro de posibilidades que va desde los adenomas tubulares claramente benignos, pasando por diferentes grados de atipia y anaplasia hasta llegar al carcinoma invasivo en las áreas vellosas (Kumar et al., 2010).
- **Adenoma serrado:** Los adenomas serrados no fueron considerados lesiones premalignas hasta las últimas dos décadas, y en la actualidad se sabe que tienen muchas posibilidades de progresar a CCR (Bettington et al., 2013). Estos adenomas representan el 5-10% de todos los pólipos (Kuipers et al., 2016). Las glándulas de los adenomas serrados conservan una arquitectura dentada, las células tienen un amplio citoplasma eosinofílico y los núcleos son normalmente vesiculares y se encuentran situados de manera basal (Figura 2 D). Aunque muchas veces se agrupan con los pólipos hiperplásicos debido a su similitud arquitectónica, las características displásicas son muy parecidas al del resto de adenomas,

y al ser tan propensos a la formación de adenocarcinomas, se las debe considerar lesiones neoplásicas (Bettington et al., 2013).

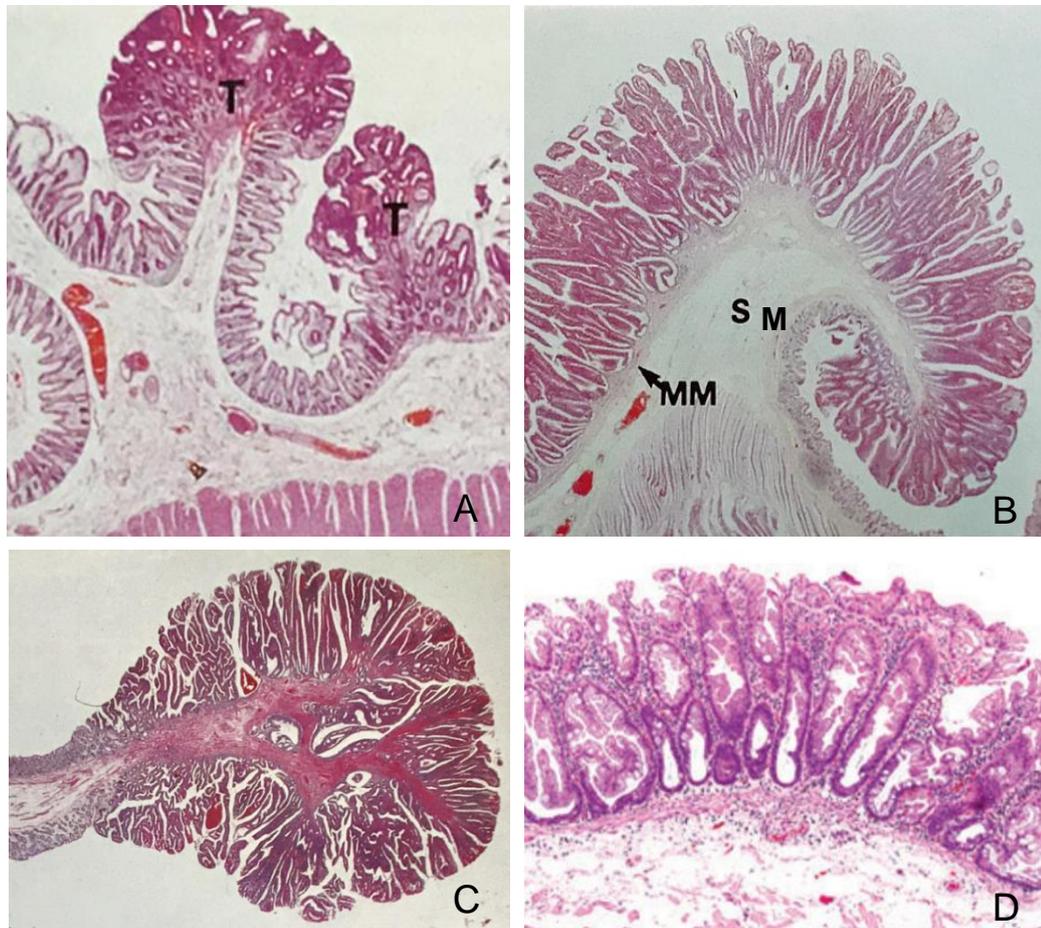


Figura 2. Tipos de adenomas. (A) Dos adenomas tubulares T en un segmento de colon. (B) Adenoma vellososésil típico. La lesión en este caso es totalmente benigna, no mostrando evidencia de la invasión a través de la MM al interior de la SM. (C) Adenoma tubulovellosos; tallo cubierto por mucosa normal de tipo colonico en contraste con el epitelio displásico densamente teñido del adenoma. (D) Adenoma serrado (Wheater, Burkitt, Stevens, & Lowe, 1986).

Todos los tipos de pólipos colónicos o rectales descritos presentan potencial de cambios malignos, siendo más frecuente en el adenoma vellosos que en los otros tipos. La predisposición a experimentar una transformación maligna de tipo carcinomatoso viene reflejada por los diversos grados que presenta de aberración celular su epitelio, incluyendo pleomorfismo, hiper cromatismo nuclear, pérdida de polaridad, apilamiento de las células y aumento de las mitosis (Figura 3). La transformación maligna precoz se manifiesta primero por la

invasión de las células tumorales a través de la MM hacia el interior del estroma de tejido conectivo subyacente.

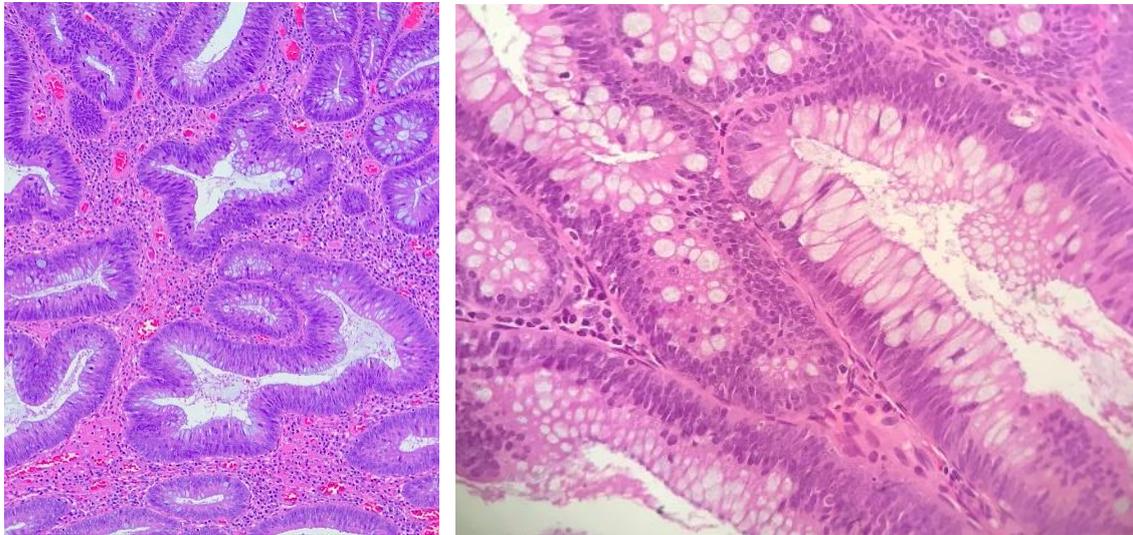


Figura 3. Adenocarcinoma observado a microscopio óptico a 40x y 100x

Cuando un carcinoma se inicia en el seno de un pólipo adenomatoso, aparece una infiltración tanto del pedúnculo como de la base de implantación, de tal manera que el tumor muestra un aspecto similar al de un botón fijado a la pared abdominal; más adelante la porción central se desintegra, dejando una úlcera necrótica con unos bordes elevados que parecen plegados. La base luego queda fija a la capa muscular, la cual es tardíamente alcanzada por la ulceración progresiva. La diseminación a través de los linfáticos de la submucosa y serosa también tiene lugar de tal manera que el tumor rodea de forma gradual la pared intestinal (Anderson, 1977).

El pronóstico de los carcinomas de colon y recto depende de la variedad de factores, siendo lo más importante la profundidad de la invasión en la pared intestinal, la presencia de metástasis distante y la evidencia de invasión en el interior de las venas (Figura 4). Para poder confirmar que la escisión de un adenoma colorrectal es completa, se requiere un cuidadoso estudio histológico de los márgenes de la escisión, los cuales deberán incluir mucosa colónica normal adyacente de alrededor de la base del tumor (Wheater et al., 1986).

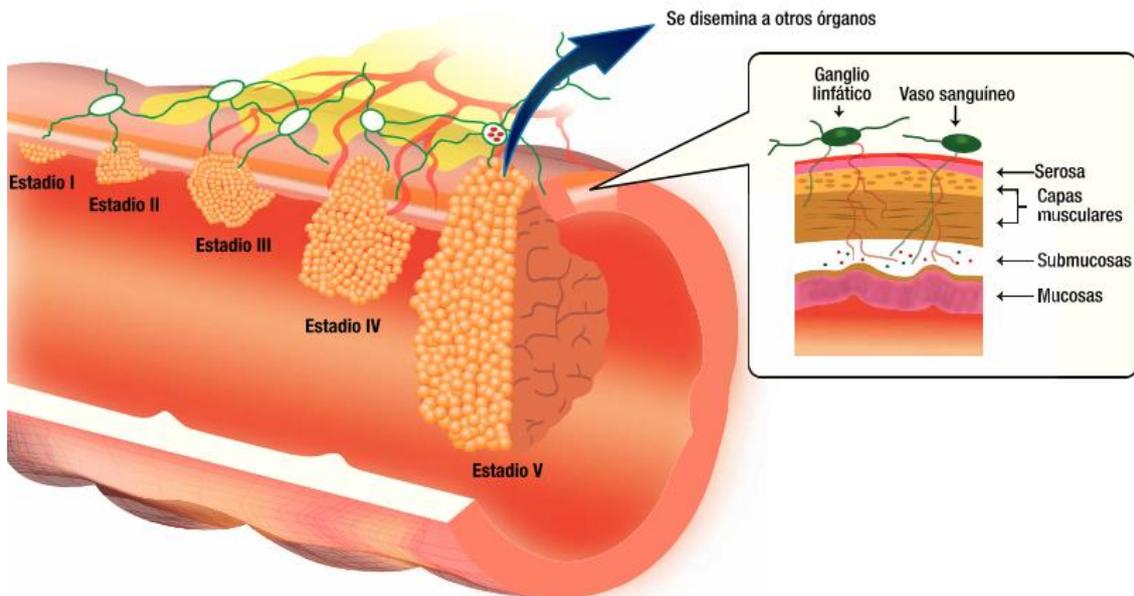


Figura 4. Estadificación de los pólipos adenomatosos (Motta Ramírez, Alonso Blancas, Lozano Dubernard, Urbina de la Vega, & Valenzuela Tamariz, 2011).

Pólipos no neoplásicos

Los pólipos hiperplásicos son al menos diez veces más frecuentes que los adenomas y aunque representan el 90% de todos los pólipos epiteliales, solo constituyen el 15% o 20% de los pólipos resecados quirúrgicamente, puesto que en su mayoría son asintomáticos y solo se operan cuando se descubren casualmente por otro motivo. Se trata típicamente de lesiones lisas, redondeadas o digitiformes, pigmentadas y sésiles situadas en el extremo de un pliegue de la mucosa. Pueden ser simples, aunque los pólipos múltiples son muy frecuentes.

Los pólipos inflamatorios, también conocidos como pseudopólipos inflamatorios, son lesiones elevadas que se forman como consecuencia del proceso regenerativo de un foco inflamatorio, por lo que no son de naturaleza neoplásica. Otra clase es la de los pólipos hamartomatosos, Son consecuencia de la proliferación de células maduras de la mucosa. Se presentan principalmente en el contexto de dos enfermedades clínicas: la poliposis juvenil y el síndrome de Peutz-Jeghers (Kumar et al., 2010).

2.3.5 DETECCIÓN

Sabiendo que el CCR se suele dar alrededor de los 50 años de edad se ha establecido un protocolo en el cual a partir de esta edad, las personas con riesgo promedio, deberían realizarse los estudios de detección (Motta Ramírez et al., 2011).

Hay diversos métodos para la detección de cáncer tanto de colon como de recto, estas incluyen métodos invasivos y no invasivos. Entre los primeros encontramos métodos que consisten en detectar sangre oculta en heces fecales. Este tipo de prueba se hace ya que a menudo los vasos sanguíneos más grandes de los pólipos o cánceres colorrectales son frágiles y pueden lesionarse fácilmente con el paso de las heces. Se ha desarrollado dentro de este contexto la prueba de sangre oculta en heces (SOH), se trata de una tarjeta cubierta por una sustancia vegetal, el guayacol, que cambia de color con la presencia de sangre y la prueba inmunoquímica fecal (PIF) que se usan para encontrar pequeñas cantidades de sangre en heces, lo que en consecuencia sería la posibilidad de tener algún pólipo. Se estima que esta prueba disminuye entre un 15-33% la posibilidad de morir por este cáncer. Estas pruebas son realizadas cada año o dos aproximadamente entre la gente de 50-70 años (Sali et al., 2017).

Los métodos invasivos como la obtención de muestras de tejido (biopsias), implican la sedación y la anestesia del paciente para, a través de una colonoscopia, obtener dichas muestras que permitan estudiar su histología y poder comprobar la presencia de alguna atipia. Se estima que la sensibilidad y especificidad de este procedimiento es de un 95% y 88% respectivamente, aun así, este procedimiento no está exento de riesgos y es de alto coste (Montes de Oca Megías et al., 2013).

Posterior a la colonoscopia, la biopsia obtenida es procesada, fijada y teñida con normalmente con Hematoxilina/Eosina, Papanicolau o Diff-quick. No obstante, la desventaja de este método de detección es el tiempo que se tarda en obtener la preparación ya lista para poder ser observada al microscopio. En un proceso rutinario serían necesarias hasta un total de 24 horas, es decir un día entero para el procesamiento de la muestra, aparte del diagnóstico por parte del patólogo.

En comparación, una impronta citológica es un método de diagnóstico con posible uso intraoperatorio, que consiste en una ligera aposición o raspado del tejido biopsiado contra el portaobjetos. Posteriormente su tinción que, al igual

que las biopsias, puede recurrirse a la tinción de Papanicolaou, Diff-Quick o Hematoxilina/Eosina y ya estaría lista para poder ser diagnosticada por el patólogo. A diferencia de las biopsias, en las citologías lo único que se tiene en cuenta son las células y no la conformación del tejido conjunto. Todo el proceso podría durar menos de 1 hora. Esta técnica es utilizada normalmente para diagnósticos que incluyen desde el cáncer de mama, hasta melanomas y cáncer de cuello uterino. La principal ventaja de este método sería la rapidez y el coste económico principalmente, ya que al ser una técnica con posible uso intraoperatorio, podría dar opción al preparado in situ, y de ser necesario, realizar más biopsias que incluyan más márgenes.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Ante la gran prevalencia del CCR a nivel mundial, se necesitan métodos de diagnóstico simples, eficientes y económicos. Normalmente, se utilizan distintas pruebas, tales como las colonoscopias con biopsia posterior o la prueba de sangre oculta en heces para evaluar su presencia, pero ello implica que se incrementa mucho el coste y el tiempo de ejecución y de diagnóstico.

La impronta citológica, en general, proporciona las herramientas para un diagnóstico más rápido y económico que la biopsia, que conlleva que se la considere una técnica sencilla de aplicar.

Una ligera aposición de la muestra en el portaobjetos o rodándola sobre el mismo sería suficiente para que la muestra se adhiriese al cristal y se pudiesen clasificar los diferentes tipos de pólipos según el grado de displasia mediante la observación con el microscopio óptico.

Nuestra hipótesis es que la impronta citológica de biopsia de pólipos colónicos podría ser un método de diagnóstico útil y factible para la distinción y clasificación de pólipos según el grado de displasia de las células que lo forman.

Por todo lo anterior, el objetivo principal de nuestro estudio es:

- Establecer si existe correlación citológica-histológica de muestras obtenidas en colonoscopia por biopsia.
- Determinar la sensibilidad y especificidad de la impronta citológica como método de diagnóstico para el cáncer colorectal.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MUESTRAS

Se obtuvieron un total de 60 muestras de 22 pacientes, algunos con síntomas de alguna patología colorrectal como pérdida de peso, sangrado de heces, diarrea, etc. y otros como método preventivo, que se sometieron a una endoscopia colorrectal en el área quirúrgica de la clínica MATT de Tarragona. Participaron un total de 10 mujeres y 12 hombres. La recopilación de muestras fue realizada en un periodo de 1 mes, entre abril y mayo de 2019.

A cada muestra obtenida se le realizó la impronta citológica en el mismo momento de la extracción en el área quirúrgica y, para el futuro procesamiento de éstas, se fijaron en formol al 4% recogido en un bote estéril. Se envió todo el material, tanto biopsias como citologías, al laboratorio Eldine Patología para su procesamiento rutinario. Las muestras que se obtuvieron fueron de 46 pólipos colónicos y 24 pólipos de recto. No se aplicó ningún criterio de exclusión de pacientes, a excepción de una muestra pólipo de recto que no pudo ser diagnosticada por el patólogo ya que no había material suficiente para el diagnóstico.

4.2 OBTENCIÓN DE MUESTRAS

La obtención de las muestras fue realizada en un área quirúrgica de la clínica MATT en Tarragona. Se le aplicó al paciente por vía intravenosa en el brazo un sedante y un anestésico, el primero para estar más relajado y el segundo para no provocar dolor. Cuando el paciente ya se encontraba sedado y anestesiado, el médico lubricó la zona rectal y procedió a la introducción del endoscopio por el ano, pasando por el recto, por el colon descendente, colon transverso, el colon ascendente, hasta llegar la válvula ileocecal. A medida que el endoscopio avanza se van detectando e identificando las lesiones, en este caso pólipos, pero no es hasta la retirada del endoscopio cuando se procede a la extracción de las mismas. Las muestras fueron retiradas tanto con micropinza como con asa, previamente esterilizadas y precintadas hasta el momento de su uso. Una vez obtenida la muestra, se retiraba el instrumental e inmediatamente se procedía a

realizar la impronta citológica y, posteriormente, la biopsia se introducía en un bote de plástico estéril para facilitar su fijación.

4.3 IMPRONTA CITOLÓGICA

Las improntas citológicas se realizaron con la muestra directamente después de ser obtenida de los pacientes. Los portaobjetos utilizados estaban precintados hasta que llegaron al área quirúrgica y según la casa comercial, los portaobjetos habían sido esterilizados a 90° antes de ser precintados. Durante todo el procedimiento se utilizaron guantes de nitrilo desechables. Con ayuda de unas pinzas o una aguja esterilizada, se recogía la muestra proveniente de la micropinza o del asa, dependiendo del tamaño que tuviera el pólipo y seguidamente se colocaba en el portaobjetos para hacer un frotis. Estas herramientas se cambiaban en cada intervención, para posteriormente volver a ser esterilizadas.

Se realizaron dos tipos de impronta para cada citología para asegurar el desprendimiento de células mucoides. Se rodaron las respectivas caras de la muestra y además se hicieron unas ligeras aposiciones repetidas veces sobre el portaobjetos. Seguidamente, se fijó con spray fijador. Al acabar la recogida de muestras, las improntas citológicas se guardaban en un porta-portaobjetos de plástico precintado y estéril.

Una vez acabado el día, los portaobjetos se llevaban al laboratorio de anatomía patológica, donde las muestras eran sometidas a tinción automatizada de Papanicolau. (Shandon Varistain Gemini) (Anexo 1)

4.4 BIOPSIAS

Las biopsias se enviaron al día siguiente de ser extraídas al laboratorio Eldine Patología para su procesamiento histopatológico rutinario. Después de 24 horas de fijación en formol, se metieron en el procesador para su deshidratación sucesiva (Alcohol, 70%, 96% y 100%; Xileno) y, para finalizar, se impregnaron en parafina a 62°C (Citadel 2000. Thermo Scientific). Se realizó la formación de los bloques de parafina (Thermo Scientific Histostar) y se hicieron las secciones sucesivas a 2.5 micras (Microm HM 355S. Thermo Scientific). Las secciones

recogidas sobre portaobjetos (Baño de parafina JP Selecta) y sometidos a tinción automatizada de hematoxilina/eosina. (Anexo 2)

4.5 OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Para la visualización de las muestras, tanto para citología como para biopsia, se utilizó el microscopio óptico OLYMPUS CX40 y para la obtención de fotografías, la cámara Leica ICC50 W. Las observaciones al microscopio de las improntas citológicas y de cortes histológicos fueron llevadas a cabo al mismo tiempo por el patólogo del laboratorio Eldine Patología y el estudiante en prácticas. La evaluación de la citología y el diagnóstico de la biopsia no fueron compartidos hasta que se hubiesen observado todas las muestras, para que el resultado no influyera en las visualizaciones.

En las citologías, la visualización se realizó a 100 aumentos. Se evaluó como criterios visibles para analizar:

1. La arquitectura celular, si se disponían agrupadas de una forma ordenada típica de la mucosa o desordenadas y sueltas.
2. También se miró el fondo, si había restos proteináceos y/o necróticos o alguna evidencia de inflamación, tal como linfocitos o leucocitos.

Se fue cambiando de objetivo a 200 y 400 aumentos progresivamente para evaluar:

3. La morfología celular a nivel individual; se evaluó la relación núcleo-citoplasma, la dispersión de la cromatina a través de la tinción del ADN y los contornos nucleares. Todas estas características celulares mostrarían si había signos de atipia celular.

En las biopsias, se realizó la misma metodología. Primero se observó a 100 aumentos para ver la arquitectura del tejido y, se fue pasando progresivamente a mayores aumentos para observar la célula a nivel individual.

4.6 PATRONES DE NORMALIDAD CELULAR

Ha sido descrito el patrón celular normal de las células colorrectales en impronta citológica donde se muestra la típica célula de la mucosa colorrectal como una célula columnar alta y bastante grande. Con un núcleo redondo y situado en la zona basal, y que ocupa menos de la mitad del total del citoplasma. Las células secretoras de moco se caracterizan por tener una vacuola que ocupa casi la

totalidad de su citoplasma. Las células normalmente se encuentran colocadas intactas de formas regulares ya sean en forma de colmenas o formando hileras, por lo que tienden a estar agrupadas y de una forma ordenada. (Bibbo & Wilbur, 2014)

4.7 CRITERIOS PARA LA EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS

Con los diagnósticos de las biopsias, se hicieron tres grupos para clasificar el grado de displasia celular:

- Grupo 0: no hay ningún signo de displasia. Grupo al que pertenecen los pseudopólipos, los pólipos hiperplásicos y formaciones polipoides que resultaron en un diagnóstico de lipoma y xantoma.
- Grupo 1: se observa una displasia de bajo grado. Grupo al que pertenecen todos pólipos adenomatosos con displasia de bajo grado.
- Grupo 2: se observa displasia de alto grado o neoplasia. Grupo al que pertenecen todos los pólipos adenomatosos con displasia de alto grado y los adenocarcinomas colorrectales.

Con las improntas citológicas se estudiaron una serie de variables características del tejido improntado y de las células, para poder llevar a cabo una posterior correlación con el diagnóstico de la biopsia.

1. En cuanto a la arquitectura celular se estudió si las células se encontraban agrupadas-ordenadas, agrupadas-desordenadas y/o desagrupadas. Visualizando el total del portaobjetos, si había más de un 70% de predominancia de un tipo arquitectónico, se marcaba solo este como variable. Por otro lado, si encontrábamos entre 60%-40% de dos o de los tres grupos arquitectónicos (agrupadas ordenadas, desordenadas y desagrupadas) se señalaba más de una variable.
2. A nivel celular individual:
 - La relación núcleo-citoplasma, en la que se establecieron valores de $<0,5$, que indicaría que se trata de una célula en principio normal, ya que el núcleo ocupa menos o igual que la mitad del citoplasma, o $0,5-1$, en la que el núcleo ha aumentado de tamaño, llegando en algunos casos a ocupar la totalidad del citoplasma, signo de atipia.

- La dispersión de la cromatina, se evaluó mediante la tinción del DNA y adquirió valores de 0 si se trataba de un núcleo con la cromatina condensada normal, de 1 si la cromatina se encontraba algo más dispersa y 2 si se podía observar la cromatina totalmente dispersa por el núcleo.
 - Los contornos celulares, dándoles valor de 0 si eran normales, es decir, si el núcleo era de forma circular sin irregularidades o, 1 si presentaban formas irregulares o alargadas.
 - La presencia o ausencia de mitosis.
3. El fondo del portaobjetos se evaluó siguiendo dos variables:
- Si contenía restos celulares, tales como células necróticas o restos proteínáceos y se le dio valor de 0 o 1 dependiendo, si el fondo estaba “sucio” o “limpio”.
 - Si contenía restos inflamatorios, tales como linfocitos o leucocitos. Como en el anterior caso se asignaron valores de 0 y 1 para llevar a cabo el posterior análisis estadístico.

Se recogieron todos estos datos en una tabla (Anexo 3) para su posterior análisis estadístico.

4.8 TRATAMIENTO DE LOS RESULTADOS

4.8.1 EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO

Para evaluar la sensibilidad y efectividad de la impronta citológica, se realizó un análisis estadístico de tipo “regresión logística ordinal” (n=59) con un intervalo de confianza del 95%. La tabla que representaba las predicciones del método (Tabla 1), fue la que se utilizó para determinar los verdaderos positivos (VP) y negativos (VN), y los falsos positivos (FP) y negativos (FN). Una vez obtenidos los valores, se procedió al uso de las fórmulas que definen la sensibilidad y la especificidad.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

4.8.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA CORRELACIÓN CITOLÓGICA-HISTOLÓGICA

Para evaluar si existía una correlación entre las biopsias (análisis histológico) y las citologías, se llevó a cabo un análisis estadístico con el modelo descendente de regresión logística ordinal. Este método se basó únicamente en los parámetros que consideró estadísticamente significativos y estableció una correlación. (Anexo 4)

5. RESULTADOS

5.1 OBSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Tomando como referencia los parámetros establecidos de normalidad celular, hemos confirmado la presencia de células displásicas al igual que ocurre en las biopsias (Figura 5 A), con una serie de características a nivel grupal así como unas características morfológicas celulares: los contornos nucleares irregulares, con la medida del núcleo (0,5-1), la cromatina dispersa por el núcleo (Figura 5 B) y la presencia de mitosis, así como un fondo con restos proteináceos o celulares.

Además de poder observar las diferentes variables que muestra una célula displásica individual, se pudo predecir la presencia de neoplasia con el conjunto de todos los parámetros establecidos para este estudio.

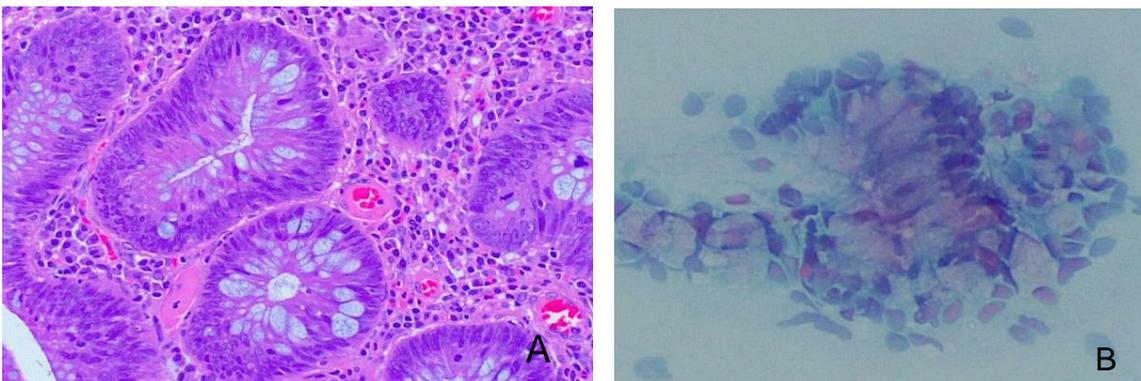


Figura 5. Adenocarcinoma. (A) Biopsia observada a 100x. (B). Citología observada a 100x.

Al igual que en las biopsias, se observó en las improntas que, las células mostraban su orden característico en la mayoría de los casos, a excepción de las muestras correspondientes a displasias de alto grado. En las biopsias, las células mantenían un orden, pudiéndose apreciar la forma de las glándulas y las células con núcleos excéntricos basales y casi la totalidad del citoplasma formada por una vacuola secretora de moco (Figura 6 A). Se ha observado en las improntas que en algunos casos la estructura de las células era muy semejante a la de las biopsias; con núcleos basales y pudiéndose apreciar la vacuola en el interior del citoplasma (Figura 6 B).

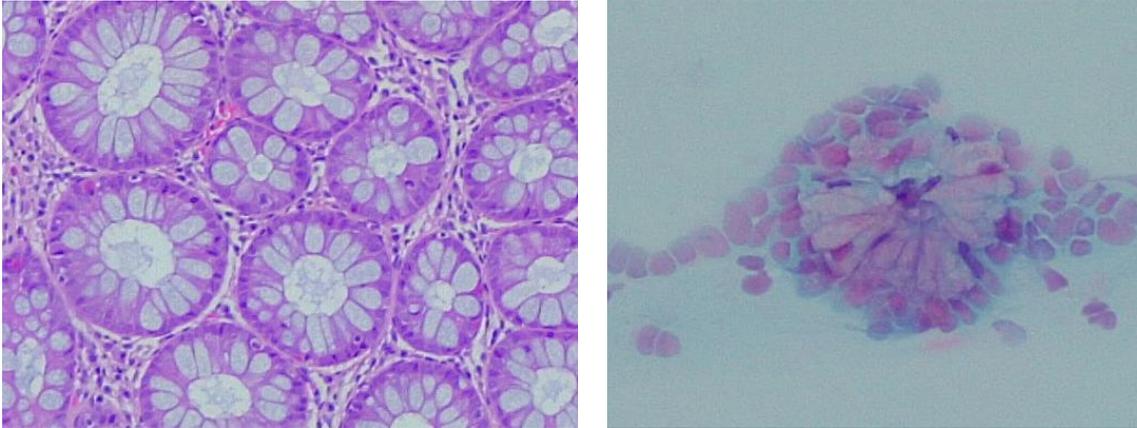


Figura 6. Estructura de las células colorrectales (A) Biopsia de adenoma tubular observado a 100x. (B) Citología observada a 100x.

El desorden a nivel grupal y las células desagrupadas no resultaron ser un parámetro estadísticamente significativo ya que la mayoría de las placas contenían ambos grupos (Figura 7 A). Por otro lado, en cuanto al fondo inflamatorio (Figura 7 B), se pudo observar en una cantidad considerable de muestras que englobaban a los 5 pseudopólipos inflamatorios diagnosticados, lo que nos permitió establecer esta variable como significativa de este tipo de pólipo.

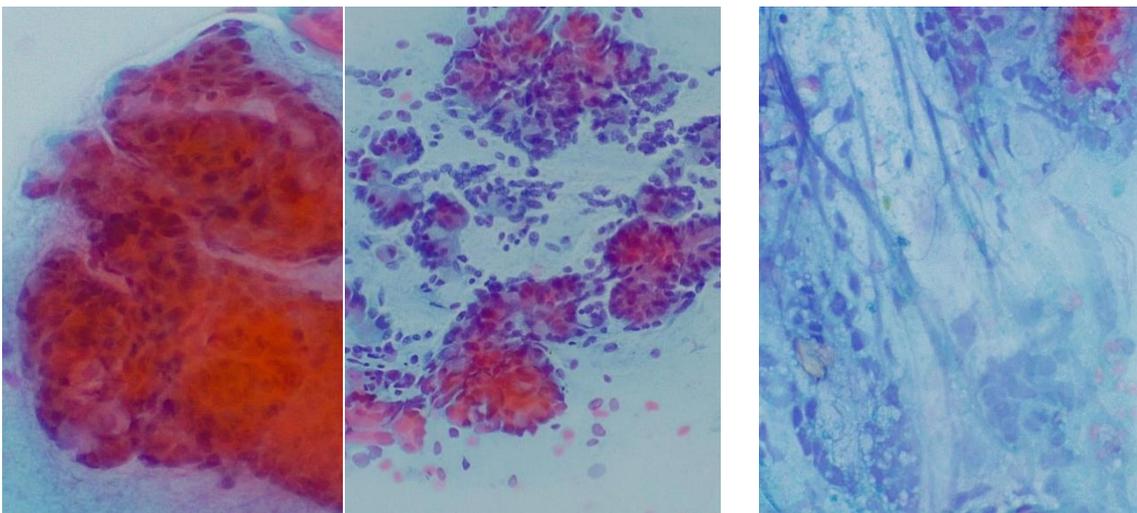


Figura 8. Citología observada a 100x

5.2 EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESTABILIDAD EL MÉTODO

A través del análisis estadístico, con todas las variables establecidas, se detectó la presencia de displasia (grupos 1 y 2 frente al grupo 0) en 40 muestras en comparación con las 39 que se detectaron en biopsias. El modelo estadístico mostró que se habían detectado 4 falsos negativos y 5 falsos positivos en el diagnóstico con las citologías. (Tabla 1). Usando las fórmulas que definen la estabilidad y la sensibilidad de un método diagnóstico, se estableció que la sensibilidad de la impronta citológica a la hora de detectar signos de displasia, resultó ser del 90,70% teniendo una especificidad del 80%.

Se evaluó también, la capacidad de la impronta citológica en el momento de detectar una displasia de alto grado o adenocarcinoma (grupo 2 frente a los grupos 0 y 1). El análisis mostró 0 falsos negativos y 1 falso positivo, lo que supuso una especificidad del 98,08% y una sensibilidad del 100%, a la hora de detectar una displasia de alto grado o adenocarcinoma. Todo este análisis fue llevado a cabo tomando la biopsia como tradicional “gold standard” del diagnóstico.

Tabla 1. Predicción del análisis estadístico usando los resultados de los 10 parámetros establecidos para el diagnóstico de la citología en relación con las biopsias.

Citología/Biopsia	0	1	2	Total	% correcto
0	15	5	0	20	75,00%
1	4	26	1	31	83,87%
2	0	0	8	8	100,00%
Total	19	31	9	59	86,29%

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA CORRELACIÓN CITOLÓGICA-HISTOLÓGICA

De los 10 parámetros establecidos, 3 resultaron ser estadísticamente significativos: núcleo con cromatina dispersa, contornos nucleares irregulares y la relación núcleo-citoplasma de 0,5-1. Estas variables corresponden a la presencia de displasia de alto grado o adenocarcinoma. Por lo tanto, el modelo

estadístico, centrándose únicamente en estos 3 parámetros, predijo que siempre que se tratara de una displasia de alto grado/adenocarcinoma, el resultado de estos parámetros sería positivo (1), mientras que cuando no hubiera displasia, estos valores serían negativos (0). Esto fue debido al alto nivel de sensibilidad del modelo estadístico elegido, ya que en el momento en el que un parámetro no correlacionaba con el diagnóstico de la biopsia, el modelo fallaba (Anexo 5). Se estableció con este modelo, una correlación entre el diagnóstico de las biopsias y las variables significativas de las citologías de un 77,96% (Tabla 2).

Tabla 2. Correlación establecida por el modelo estadístico usando los resultados de los 3 parámetros que detectó como significativos.

Citología/Biopsia	0	1	2	Total	% correcto
0	15	5	0	20	75,00%
1	4	26	1	31	83,87%
2	0	2	6	8	75,00%
Total	19	33	7	59	77,96%

6. DISCUSIÓN

El estudio, mediante la biopsia colorrectal para el diagnóstico de lesiones premalignas de adenocarcinomas está muy extendido en la práctica médica y, el estudio del tejido biopsiado por colonoscopia representa el diagnóstico “gold standard” en este campo, ya que permite observar directamente las lesiones del tejido (Kuipers et al., 2016).

En el presente estudio, la impronta citológica ha resultado ser efectiva como método de diagnóstico si reducimos el número de grupos formados (0,1 y 2) a dos únicamente; ausencia de displasia o displasia de bajo grado (grupo 0 y 1) y, displasia de alto grado/neoplasia (grupo 2).

De los 10 parámetros que se establecieron para estudiar en la impronta se observó que a nivel celular, la dispersión de la cromatina y los núcleos grandes e irregulares, la presencia de mitosis y el fondo con restos proteináceos o celulares, resultaron ser significativos ya que solamente aparecía cuando se trataba de una displasia más severa.

Sin embargo, el análisis estadístico solo detectó como variables significativas los contornos irregulares de los núcleos, la relación núcleo-citoplasma (0,5-1) y la dispersión de la cromatina. Se pudo establecer entonces, una correlación del 77,96% a nivel estadístico teniendo en cuenta estas tres variables como significativas. Estas variables describen las características de las células con displasias más severas (Bibbo & Wilbur, 2014), por lo que esta correlación ha resultado ser eficaz sobre todo para la detección de displasias de alto grado/adenocarcinomas. Además el análisis estadístico de las 12 predicciones erróneas que hizo, tan solo 2 fueron la de bajar el grado de displasia del grupo 2 al grupo 1 (Anexo 5), lo que supondría seguir detectando displasia a diferencia de cuando predijo la ausencia de displasia (0) en vez de una displasia de bajo grado (1) y viceversa.

Esto se comprueba por otra parte con el análisis de sensibilidad y especificidad del método. Se obtuvo una sensibilidad del 90,70% y especificidad del 80% a la hora de detectar células displásicas. Pero por otro lado, se obtuvo un 100% de sensibilidad y un 98,08% de especificidad en el momento de detectar una displasia de alto grado o adenocarcinoma.

Cabe destacar, que aunque el análisis estadístico resultara como significativo únicamente con la presencia de núcleos grandes, irregulares y con cromatina dispersa, es sabido que la presencia de mitosis en células de este tipo, no debería ser normal, ya que representa una proliferación atípica. Así mismo, la presencia de mitosis se da en las bases de los pólipos, ya que su crecimiento es vertical, por lo que en las biopsias sería normal encontrar células mitóticas en cualquier tipo de pólipo, en mayor o en menor cantidad. En contraste, en las improntas citológicas, al rodar la muestra sobre el portaobjetos no debería aparecer ninguna célula en división, a excepción de si se trata de una neoplasia, que la mitosis se daría en cualquier parte de la muestra. Las mitosis encontradas fueron en un total de 2 muestras de adenocarcinoma con respecto a las 59 totales (3,38%). Lo mismo sucedió con la variable de restos proteináceos/celulares en el fondo del portaobjetos, que se presentó únicamente en unas 5 muestras del total (8,47%).

Por otra parte, a pesar de que la arquitectura celular tampoco resultó ser significativa en el análisis estadístico, se observó que en las muestras pertenecientes a las displasias de alto grado y el adenocarcinoma infiltrante, en su mayoría no contenían células ordenadas, y en uno de los casos en el que predominaron ambos grupos de células ordenadas y desordenadas su diagnóstico fue de fragmento de adenoma vellosos con focos de displasia de alto grado (D.severa) sobre displasia de bajo grado (D.moderada), lo que explica la aparición de ambos grupos. En el caso del fondo inflamatorio, resultó ser una variable significativa para la detección de pseudopólipos inflamatorios (100%).

Hace años que, ya algunos estudios mostraban que gracias a la impronta intraoperatoria, se podía citológicamente llegar a reconocer y orientar un diagnóstico, lo que conlleva a adoptar un comportamiento quirúrgico adecuado (Martínez, Usoz, Villegas, & Pérez, 2003). Cada vez son más casos en los que se estudia el uso de la impronta citológica como método diagnóstico rápido y eficaz en complementación con el estudio histológico, ya que hay que ser consciente de las variables clínicas e histopatológicas que influyen en la sensibilidad del método con impronta (Siemann Santos Pereira, Loureiro Werneck, de Castro Rodrigues, Pereira Correia, Ana Helena; Clímaco, & Oliveira Coelho de, 2018).

Sabiendo que la sensibilidad del método puede variar considerablemente de un estudio a otro, se podrían establecer dos aspectos fundamentales para la obtención de resultados esperados. El primero es la experiencia del observador para el diagnóstico clínico (Abad, Nardelli, Matthews, & Cabalier, 2003). En nuestro estudio, las biopsias fueron diagnosticadas por el patólogo de Eldine, mientras que las citologías fueron observadas en su totalidad por el estudiante en prácticas y por el patólogo. Además, una vez obtenidos todos los resultados y diagnósticos, se decidió hacer una reevaluación para afinar las variables citológicas. El segundo es la correcta obtención de las muestras, ya que la mayoría de los falsos negativos citológicos se dan por la incorrecta recolección de estas. Con respecto a este aspecto, pudo haberse dado el caso en el que a la hora de realizar la impronta no haya habido raspado suficiente y se trate de material insuficiente para diagnóstico. Otra posibilidad podría haber sido por la desecación o haber sumergido la muestra accidentalmente en otro líquido fijador (Abad et al., 2003).

En la actualidad, a nivel hospitalario, cada vez se recurre más a este método sobre todo cuando se trata de una intraoperatoria, debido a que se puede dar un diagnóstico inmediato. Esta práctica está muy extendida en el estudio de los ganglios centinela, para saber si el resto están afectados (Duarte, Feo, & Gallardo, 2017; Monjarrez Mojica, 2017).

La evaluación con impronta citológica pudo predecir si nos encontrábamos ante una neoplasia, pero la principal limitación de este método ha resultado ser que la agresividad del tumor, su expansión e infiltración quedaría reservado para el estudio histopatológico (Martínez et al., 2003). Una vez más se confirma que, la impronta citológica es útil por su rapidez de procesado, pero se trata de un método complementario que no excluye al estudio histopatológico.

La biopsia, al contrario que la impronta citológica, requiere de técnicos especializados para realizar el procesado de la muestra. Este personal especializado, los técnicos de laboratorio deben saber realizar cada paso que este procesamiento de la muestra conlleva: hacer la descripción macroscópica de la biopsia, el procesado e inclusión en parafina, la buena utilización del micrótopo y saber aplicar la tinción si no es de manera automatizada. La impronta citológica sólo requeriría la aplicación del protocolo de tinción necesario, en nuestro caso Papanicolau.

De esta manera, la impronta citológica tiene la principal ventaja de evitar todo el procesamiento que la biopsia requeriría, que suele ser de unas 24 horas aproximadamente hasta que se obtiene el diagnóstico final por parte del patólogo. La impronta citológica requiere tan solo un par de segundos para rodar o exfoliar la muestra por el portaobjetos, unos 30 minutos en realizarse la tinción automatizada de Papanicolau y otros 10-15 minutos en su observación al microscopio óptico para determinar un diagnóstico.

En cuanto a los datos epidemiológicos, debido a que en nuestro estudio teníamos diversas muestras de un mismo paciente y estas muestras tenían un diagnóstico diferente, no se pudo llevar a cabo una estadística que mostrara dependencia o independencia del sexo a la hora de presentar lesiones premalignas. Además, las 59 muestras de nuestro estudio no son significativas si las comparamos con otros estudios realizados, en los que resultó en una incidencia algo mayor en hombres que en mujeres (Hagggar & Boushey, 2009; Kuipers et al., 2016).

Así mismo, se sabe que el CCR se presenta principalmente a partir de la quinta década de vida y a partir de ahí aumenta considerablemente el riesgo con el paso de los años. El 90% de los cánceres colorrectales diagnosticados son a partir de los 50 años (Hagggar & Boushey, 2009). De los 22 pacientes, 17 de ellos eran mayores de 55 años y el 82,35% presentaron alguna clase de adenomas. Los 5 restantes, de entre 30 y 44 fueron un 60% los que presentaron algún tipo de adenoma. Cabe decir que, de los tres casos de displasia de alto grado: un adenoma tubular con displasia de alto grado, un adenoma vellosos con focos de displasia de alto grado y un adenoma infiltrante, se dieron en pacientes de 60 a 78 años de edad. Aunque el número de pacientes fue un dato poco significativo a la hora de realizar una estadística, y teniendo en cuenta que una colonoscopia se hace normalmente a partir de los 50 años si no hay signos de lesiones, se pudo comprobar como las lesiones premalignas o directamente neoplasias se dan en edades avanzadas.

7. CONCLUSIÓN

La impronta citológica es un método que al igual que muchos otros, nació con la necesidad de diagnóstico clínico alternativo más rápido y eficiente. Radica en que es una prueba eficaz, por su rapidez a la hora de evaluar la muestra, el bajo coste y la posible conservación de la muestra para estudios posteriores.

Con nuestro estudio, podemos concluir la validez de este método, con una correlación del 77,96%, si tenemos en cuenta únicamente dos grupos: ausencia de displasia y displasia de bajo grado (grupo 0 y 1) y, por otro lado, la presencia de displasia de alto grado y adenocarcinoma (grupo 2).

Con una sensibilidad del 90,70% y una especificidad del 80% que se ha obtenido para el método de la impronta citológica en el momento de detectar signos de displasia, y con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98,08% para detectar neoplasia y siempre teniendo como referencia el estudio histológico, podría considerarse clínicamente que son unos resultados seguros y confiables a la hora de detectar o descartar un posible adenocarcinoma, debido a que un resultado negativo puede afirmar con bastante certeza que no se trata de una displasia de alto grado o carcinoma que llevaría a medidas quirúrgicas más agresivas.

8. AUTOEVALUACIÓN

Mi estancia en el laboratorio de Eldine Patología ha resultado ser muy satisfactoria. He adquirido conocimientos en anatomía e histología, así como de una cantidad considerable de patologías, gracias al uso de muestras de pacientes reales y de diferentes órganos. Cabe resaltar el tejido del intestino grueso debido al estudio desarrollado para el trabajo presente. Recopilar la información y bibliografía necesaria para realizar este estudio, me ha permitido darme cuenta de la importancia de la detección de lesiones premalignas en estadios tempranos del desarrollo de una posible neoplasia.

He tenido la oportunidad de presenciar la intervención diagnóstica tanto de la colonoscopia como de la gastroscopia debido a mi estancia en la clínica MATT de Tarragona y, he aprendido cómo saber dónde nos encontramos a nivel anatómico en cada momento en el interior de la luz del intestino grueso, por lo que considero que mi conocimiento adquirido en estos meses en anatomía ha sido más que satisfactoria.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abad, G. L., Nardelli, A. V., Matthews, S. P., & Cabalier, M. E. D. De. (2003). *Nuestra experiencia en el uso de la citología exfoliativa para el diagnóstico del cáncer cutáneo no melanoma*. 1-6.
- Anderson, J. R. (1977). *Muir's Patología*.
- Azeem, S., Gillani, S. W., Siddiqui, A., Jandrajupalli, S. B., Poh, V., Azhar, S., & Sulaiman, S. (2015). *Diet and Colorectal Cancer Risk in Asia - a Systematic Review*. 16, 5389-5396.
- Bettington, M., Walker, N., Clouston, A., Brown, I., Leggett, B., & Whitehall, V. (2013). *The serrated pathway to colorectal carcinoma : current concepts and challenges*. 367-386. <https://doi.org/10.1111/his.12055>
- Bibbo, M., & Wilbur, D. (2014). *Comprehensive Cytopathology* (4º).
- Calderon Reza, J. C., & Bravo Pin, J. W. (2018). *COLON CANCER, ADENOMA CARCINOMA SEQUENCE AND SERRATED POLYP*.
- Chapman, C., Aboulaflia, D. M., Dezube, B. J., & Pantanowitz, L. (2009). Human Immunodeficiency Virus – Associated Adenocarcinoma of the Colon : Clinicopathologic Findings and Outcome. *Clinical Colorectal Cancer*, 8(4), 215-219. <https://doi.org/10.3816/CCC.2009.n.036>
- Clark, S. K. (2019). Management of genetically determined colorectal cancer. *The Surgeon*, (xxxx), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.surge.2019.03.003>
- Duarte, I., Feo, M., & Gallardo, F. (2017). *UTILIDAD DE LA CITOLOGÍA DE IMPRONTA INTRAOPERATORIA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL DIAGNÓSTICO DE METÁSTASIS EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA*.
- Haggar, F. A., & Boushey, R. P. (2009). *Colorectal Cancer Epidemiology : Incidence , Mortality , Survival , and Risk Factors*. 6(212), 191-197. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1242458>.
- Jarzyński, A., Zając, P., Żebrowski, R., Boguszczyńska, A., & Polz-dacewicz, M. (2017). *Occurrence of BK Virus and Human Papilloma Virus in colorectal cancer*. 24(3), 440-445. <https://doi.org/10.26444/aaem/74648>
- Kuipers, E. J., Grady, W. M., Lieberman, D., Seufferlein, T., Sung, J. J., Boelens, P. G., ... Watanabe, T. (2016). *COLORECTAL CANCER*. 1-51. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65.COLORECTAL>
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2010). *Robbins y Cotran: Patología estructural y funcional*.
- Marincorena, I., & Campbell, P. J. (2016). *Somatic mutation in cancer and normal cells*. 349(6255), 961-968.
- Martínez, M. S., Usó, A. B., Villegas, I. A., & Pérez, R. B. (2003). *Citología intraoperatoria de tumores del estroma gastrointestinal*. 36, 71-78.

- Menéndez, P., Padilla, D., Villarejo, P. ., Menéndez, J. ., Rodríguez, J. A., & Martín, J. (2010). *Aspectos históricos de las enfermedades neoplásicas: El cáncer colorrectal*. 33(7), 541-546.
<https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2010.04.006>
- Monjarrez Mojica, D. M. S. (2017). *Evaluación intraoperatoria del ganglio centinela en pacientes con carcinoma infiltrante de mama*.
- Montes de Oca Megías, E., Noa Pedroso, G., García Jordá, E., Seijas Cabrera, O., Pérez Triana, F., & Bizuela Quintanilla, R. (2013). *La colonoscopia como prueba de oro para la pesquisa del cáncer colorrectal Colonoscopy like gold standard test for colorectal cancer screening*. 52(1), 60-71.
- Motta Ramírez, G. A., Alonso Blancas, E., Lozano Dubernard, G., Urbina de la Vega, J. F., & Valenzuela Tamariz, J. (2011). *La evaluación del cáncer colorrectal por tomografía computarizada multidetector Evaluation of Colorectal Cancer by Multidetector Computed Tomography*. 10, 252-264.
- Sali, L., Grazzini, G., & Mascalchi, M. (2017). CT colonography: role in FOBT-based screening programs for colorectal cancer. *Clinical Journal of Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1007/s12328-017-0744-1>
- Siemann Santos Pereira, T., Loureiro Werneck, G., de Castro Rodrigues, H., Pereira Correia, Ana Helena; Clímaco, F., & Oliveira Coelho de, A. (2018). *Value of the intraoperative cytology examination of sentinel lymph node in breast cancer*. 28(4). <https://doi.org/10.29289/2594539420180000387>
- Skyrud, K. D., Myklebust, T. Å., Bray, F., Eriksen, M. T., Lange, T. De, & Larsen, I. K. (2017). *How Many Deaths from Colorectal Cancer Can Be Prevented by 2030 ? A Scenario-Based Quantification of Risk Factor Modification , Screening , and Treatment in Norway*. 26(September), 1420-1427. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-0265>
- Weather, P. R., Burkitt, H. G., & Daniels, V. G. (1987). *Histologia funcional*.
- Wheater, P. R., Burkitt, H. G., Stevens, A., & Lowe, J. S. (1986). *Histopatología básica*.
- Zhenyi, S., Zuozhang, Y., Yongqing, X., Yongbin, C., & Qiang, Y. (2015). *Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis*. 1-14.
<https://doi.org/10.1186/s12943-015-0321-5>

10. ANEXOS

ANEXO 1: Protocolo tinción teñidora con Papanicolau

Técnica Papanicolau

1. Preparar los extendidos de la forma habitual
2. limpiar con agua corriente (5 minutos)
3. Alcohol 50° (2 minutos)
4. Limpiar con agua corriente (57 segundos)
5. Hematoxilina (57 segundos)
6. Limpiar con agua corriente (57 segundos)
7. Agua acidificada (27 segundos)
8. Limpiar con agua (177 segundos)
9. Alcohol 96° (57 segundos)
10. OG-6 (177 segundos)
11. Alcohol 96° (57 segundos)
12. Alcohol 96° (57 segundos)
13. EA-50 (177 segundos)
14. Alcohol 96° (57 segundos)
15. Alcohol 96° (57 segundos)
16. Alcohol 100° (57 segundos)
17. Alcohol 100° (57 segundos)
18. Xilol (57 segundos)
19. Xilol (87 segundos)
20. Xilol (87 segundos)
21. Montar con D.P.X

ANEXO 2: Protocolo tinción teñidora con Hematoxilina-Eosina

1. Desparafinar (20 minutos estufa)
2. Xileno (5 minutos)
3. Xileno (5 minutos)
4. Xileno (5 minutos)
5. Alcohol 96° (57 segundos)
6. Alcohol 50° (57 segundos)
7. Limpiar con agua corriente (5 minutos)
8. Hematoxilina (5 minutos)
9. Limpiar con agua corriente (5 minutos)
10. Agua acidificada (12 segundos)
11. Limpiar con agua (3 minutos)
12. Alcohol 96° (57 segundos)
13. Eosina- Floxina (3 minutos)
14. Alcohol 96° (57 segundos)
15. Alcohol 96° (57 segundos)
16. Alcohol 100° (57 segundos)
17. Alcohol 100° (57 segundos)
18. Xileno (57 segundos)
19. Xileno (87 segundos)
20. Xileno (87 segundos)
21. Montar D.P.X.

ANEXO 3: Tabla con los resultados de la observación al microscopio óptico

Sexo	Edad	Resultado biopsia	Ordenadas	Desordenadas	Sueltas	<0,5	0,5-1	Contornos nucleares	Cromatina dispersa (tinción DNA)	Mitosis	Proteináceo/necrótico	Inflamatorio	
M	71	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	
		1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	
		1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1
		1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
		1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1
H	65	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	
		1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
H	63	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	
		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H	70	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	
		1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
H	55	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	
H		1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
M	60	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	
		2	0	1	1	0	1	1	2	0	0	0	0
M	79	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	
		0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1
H	44	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	
M	79	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	
M	70	2	0	1	1	1	1	1	2	0	0	0	
		2	1	1	1	0	1	1	2	0	0	1	
H	78	2	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	
		2	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	
		2	0	1	1	0	1	0	0	2	0	1	0
		2	1	1	1	0	1	1	1	2	1	1	1
		2	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0
M	73	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	
		0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1
		0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1
		0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
M	58	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	
		0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	
		1	0	1	0	1	1	0	0	2	0	0	0
H	37	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	
M	76	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	
M	30	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	
M	42	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
H	41	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
H	72	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	
		0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
		0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1
H	56	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	
		1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
		1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
		1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
		1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
H	58	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	
		1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
H	64	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
		1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	
		1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
		1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
H	55	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
H		0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	

ANEXO 4: Parámetros con significación estadística para el modelo descendente de la regresión logística ordinal

Fuente	GL	Chi-cuadrado (Wald)	Pr > Wald
Desordenadas	1	3,851	0,050
<0,5	1	1,661	0,197
0,5-1	1	6,240	0,012
Contornos nucleares	1	7,707	0,006
Cromatina dispersa (tinción DNA)	1	5,040	0,025

ANEXO 5: Tabla con las predicciones del modelo descendente de la regresión logística utilizando los 3 parámetros que detectó como significativos

Observación	Peso	Resultado biopsia	Pred(Resultado biopsia)	Pr(0)	Pr(1)	Pr(2)
Obs1	1	1	1	0,335	0,657	0,008
Obs2	1	1	1	0,237	0,750	0,013
Obs3	1	1	1	0,307	0,684	0,009
Obs4	1	1	0	0,740	0,259	0,001
Obs5	1	1	1	0,335	0,657	0,008
Obs6	1	1	1	0,013	0,747	0,240
Obs7	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs8	1	1	1	0,335	0,657	0,008
Obs9	1	0	0	0,803	0,196	0,001
Obs10	1	1	1	0,335	0,657	0,008
Obs11	1	1	1	0,405	0,589	0,006
Obs12	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs13	1	1	0	0,740	0,259	0,001
Obs14	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs15	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs16	1	0	1	0,335	0,657	0,008
Obs17	1	2	2	0,000	0,070	0,930
Obs18	1	0	1	0,013	0,747	0,240
Obs19	1	0	0	0,715	0,284	0,002
Obs20	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs21	1	1	0	0,740	0,259	0,001
Obs22	1	2	2	0,001	0,238	0,761
Obs23	1	2	2	0,000	0,070	0,930
Obs24	1	2	2	0,001	0,238	0,761
Obs25	1	2	1	0,052	0,878	0,070
Obs26	1	2	1	0,013	0,747	0,240
Obs27	1	2	2	0,000	0,070	0,930
Obs28	1	2	2	0,000	0,070	0,930
Obs29	1	0	1	0,335	0,657	0,008
Obs30	1	0	1	0,237	0,750	0,013
Obs31	1	0	0	0,958	0,041	0,000
Obs32	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs33	1	0	0	0,958	0,041	0,000
Obs34	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs35	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs36	1	0	1	0,335	0,657	0,008
Obs37	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs38	1	0	0	0,958	0,041	0,000

Obs39	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs40	1	1	1	0,013	0,747	0,240
Obs41	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs42	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs43	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs44	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs45	1	0	0	0,715	0,284	0,002
Obs46	1	1	0	0,740	0,259	0,001
Obs47	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs48	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs49	1	1	1	0,307	0,684	0,009
Obs50	1	1	1	0,307	0,684	0,009
Obs51	1	1	1	0,237	0,750	0,013
Obs52	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs53	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs54	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs55	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs56	1	1	2	0,001	0,238	0,761
Obs57	1	1	1	0,052	0,878	0,070
Obs58	1	0	0	0,740	0,259	0,001
Obs59	1	0	0	0,740	0,259	0,001

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a Lluís Pons i Ferré y a Rebeca Laza por su apoyo y dedicación a lo largo de este estudio, por enseñarme y aconsejarme en todo momento. A la Dra. Àngels Fortuño Mar por darme la oportunidad de realizar las prácticas curriculares en la empresa Eldine Patología y a todo el equipo del laboratorio por su ayuda prestada. Al Dr. Josep María Pérez Portela por permitirme obtener las muestras en su clínica y a todo el personal. A Josep María Mateo Sanz por ayudarme con el análisis estadístico y su interpretación. Al Dr. Javier Capilla Luque por aconsejarme en la redacción de este trabajo y por cada una de sus correcciones. Por último, a todos mis amigos y familiares de los que he recibido un apoyo constante.

Muchísimas gracias