

129A  
20



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

## EL ESTUDIO CITOLOGICO DE LIQUIDO SINOVIAL EN CABALLOS COMO AUXILIAR EN EL DIAGNOSTICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

EMILIANO IZAGUIRRE SANCHEZ AZCONA

Asesores: M.V.Z. Rafael Colín Flores  
M.V.Z. Nuria de Buen de Argüero

México, D. F.

1991

**FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

### Página

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
RESULTADOS.....	8
FIGURA.....	10
CUADROS.....	11
DISCUSIÓN.....	15
LITERATURA CITADA.....	17

### RESUMEN

IZAGUIRRE SANCHEZ ASCONA, EMILIANO. El estudio citológico de líquido sinovial en caballos como auxiliar en el diagnóstico. (bajo la dirección de: Rafael Colín Flores y Nuria de Buen de Argüero).

Se recolectaron 25 muestras del líquido sinovial de caballos para describir los hallazgos citológicos. Los animales se escogieron al azar, y se les puncionó la articulación tibiotarsal, el líquido se fijaba con un volumen igual de propilenglicol para después teñir el sedimento con la técnica de Papanicolau. Del total de muestras 15 fueron normales (60%), 3 inflamatorias (12%), 3 muestras contaminadas con sangre (12%), y 4 acelulares (16%). Las muestras sin alteración concordaron en cuanto a la escasa celularidad con estudios anteriores, aunque no se encontró la proporción de neutrófilos menor al 10% que mencionan otros autores. La citología es una prueba rápida que con la técnica aquí empleada provee de valiosa información de la respuesta celular en una articulación.

## INTRODUCCION

Los caballos se destinan a varias actividades, entre las que destacan las de tipo deportivo (polo, salto, carreras, charrería, etc.) donde los animales son verdaderos atletas y son sometidos a el maximo de su capacidad física, esto los lleva a tener lesiones frecuentes en el aparato locomotor. En un estudio en Inglaterra se determinó que estas lesiones constituyen el 67.6% de las causas que incapacitan a los caballos de carrera (19). Dentro de las lesiones en el aparato locomotor, la enfermedad articular sigue siendo la causa mas comun de incapacitar al caballo atleta (11). Un problema articular, es una emergencia y se debe tratar de inmediato, esto se logra con un diagnóstico temprano, minimizando asi los efectos irreversibles de las enfermedades articulares degenerativas (20).

Una articulación es la unión entre dos o más huesos, las que se encuentran en los miembros son de tipo diartrodial o articulaciones sinoviales, en las que hay gran capacidad de movimiento (2,9). Además de los huesos, están compuestas por: cartílagos articulares, cápsula articular con una capa externa fibrosa y una interna o mal llamada membrana sinovial ya que carece de membrana basal, y por último los musculos y ligamentos que la rodean y en algunos casos ligamentos intraarticulares (1,2,3,9).

El espacio articular es ocupado por el líquido sinovial que es un dialisado de el plasma que se forma al pasar el plasma primero a través de los poros endoteliales de los capilares y luego por el tejido conectivo y el recubrimiento de proteína y hialuronato (17).

El líquido sinovial es claro, de color amarillo pálido, no coagula ya que carece de fibrinogeno y de otros factores de la

coagulación, aunque puede formar un gel que se deshace al agitarlo suavemente (4,16). Sus dos funciones principales son el lubricar las estructuras articulares y la nutrición del cartílago articular el cual es avascular y en los adultos se nutre exclusivamente de él (2,9,17).

El ácido hialurónico que es secretado por los sinoviocitos es un componente esencial ya que es el lubricante de la membrana sinovial, actúa como barrera entre la vasculatura sinovial y el espacio articular, es el responsable de la viscosidad de el líquido sinovial, y forma parte de la matriz cartilaginosa junto con otros glicosaminoglicanos y proteoglicanos dándole su naturaleza hidrofílica y con esto su elasticidad. Sin embargo, no es el encargado de lubricar a el cartílago, esta función la lleva a cabo una glicoproteína aún no identificada (2,9,17,23).

La enfermedad articular es generalmente acompañada de sinovitis, lo que trae alteraciones en el líquido sinovial. La inflamación de la membrana sinovial trae un cambio en la permeabilidad y con ésto, un aumento en el número de leucocitos, entrada de fibrinogeno, aumento en las proteínas las cuales elevan la presión osmótica lo que impide la reabsorción de líquidos, a lo que hay que agregar una mayor producción de líquido sinovial, dando como resultado un derrame (9,21). El ácido hialurónico es a su vez despolimerizado y se altera su relación con otras moléculas por lo que se reduce la viscosidad de el líquido sinovial (2,9,21).

El análisis de líquido sinovial es una prueba diagnóstica que evalúa propiedades físicas y químicas de el líquido como: apariencia (color, opacidad, presencia de material

floculento), gravedad específica, formación de coágulo, contenido de proteína, calidad del precipitado de mucina, actividad enzimática, así como un conteo leucocitario total y diferencial (9,10,16,22). Este análisis ha sido extensamente utilizado y su mayor utilidad consiste en determinar si el líquido es inflamatorio o no, y si es inflamatorio si el proceso es séptico o no (4,15,22). Se recomienda hacerlo en conjunto o para complementar las pruebas diagnósticas de rutina (examen físico, examen radiológico y bloqueo neural) ya que con el análisis por sí solo no se pueden esperar respuestas definitivas al diagnóstico y al tratamiento (10).

La Citología es una prueba diagnóstica muy útil que ha ido ganando importancia en veterinaria, ella nos permite evaluar la población celular de diversos órganos, tejidos, y líquidos (14,22). Esta prueba no ha sido muy utilizada en el diagnóstico de problemas articulares en caballos. Líquidos claros como el sinovial son generalmente bajos en celularidad y tienen que ser concentrados por centrifugación para examinar el sedimento (14,22). Por medio de un estudio citológico podemos estimar en el líquido sinovial: un conteo celular, conteo diferencial, observación de inclusiones, bacterias o células exfoliadas, y evaluación del material proteináceo en el fondo (4). La fijación inmediata de las laminillas en alcohol de 96° y la tinción tricrómica se consideran actualmente como el mejor método disponible en citología (5,6). El estudio citológico es una alternativa al análisis del líquido sinovial que nos da la información esencial siendo más económico, más rápido y con algo de práctica puede ser realizado por el mismo clínico.

Por lo anteriormente expuesto, sería de gran interés estudiar, con más detalle, los problemas articulares de los caballos, por medio del estudio citológico del líquido sinovial para auxiliarnos en el diagnóstico de estos problemas, lo que facilitará el establecer un pronóstico y tratamiento.

**HIPOTESIS.**

Mediante el estudio citológico del líquido sinovial de la articulación del tarso del caballo se pueden determinar el tipo de lesiones que se encuentran con mayor frecuencia en esa articulación.

**OBJETIVO.**

Establecer que el estudio citológico del líquido sinovial permite evaluar la respuesta celular y con esto el grado de sinovitis de una articulación.

#### MATERIAL Y METODOS.

Se colectaron muestras de líquido sinovial de 25 caballos de salto, machos, de 2 a 5 años de edad, mediante punción con aguja delgada (calibre 21) entrando por el saco anteromedial de la articulación tibiotalar (18). El líquido se recolectó en jeringas de 20ml. donde se mezcló con un volumen igual de Carbowax (Propilenglicol). Las muestras se centrifugaron a 1200rpm. durante 5 minutos, posteriormente con el sedimento se hicieron frotis que fueron teñidos con la técnica de Papanicolaou (7). Se describieron los hallazgos citológicos y según el número de células por campo se les asignó un valor:

- \* De 1 a 10 células por campo.
- \*\* De 10 a 30 células por campo.
- \*\*\* Mas de 30 células por campo.

Para material proteináceo: \* escaso; \*\* regular; \*\*\* abundante.

Con estos valores junto con otras características citológicas fueron clasificadas en normales, inflamatorias (específicas o inespecíficas) y degenerativas. A las muestras clasificadas como normales se les estimó la proporción de células encontradas y se obtuvo el intervalo de confianza para cada proporción mediante la siguiente fórmula (13):

IC=[P-1.960 S(P);P+1.960 S(P)].

Donde:  $S(P) = \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}$  al 95% de confianza.

Además se estimó el tamaño de muestra (n) que se requeriría para obtener un estándar de una muestra normal a partir de las proporciones obtenidas aquí; para las proporciones bajas

(menores al 30%) se utilizó la siguiente ecuación (13):

$$n = \frac{(1-P)}{(PV)}$$

Donde: P es una proporción menor al 30%.

V es un coeficiente de variación fijo, que en este caso fue de 20%.

En el caso de las proporciones medias (de el 30% al 70%) se utilizó la siguiente ecuación (13):

$$n = KP(1-P)/e^2$$

Donde: e = la precisión de estimador 0.1.

K = 3.8416 para 95%.

En el caso en que la proporción fué alta (mayor al 70%) se aplicó la siguiente ecuación (13):

$$n = P/\{(1-P)V\}$$

Donde V = 0.2

## RESULTADOS

De los 25 casos analizados, 15 fueron normales (60%), 3 inflamatorios (12%) y 7 inadecuados, 3 de estos por contaminación con sangre (12%) y 4 por acelulares (16%) (Figura 1).

Las citologías del líquido sinovial normal tienen muy poca celularidad la cual está constituida por sinoviocitos o células de revestimiento, neutrófilos, macrófagos, monocitos, y linfocitos, no hay eritrocitos. En ningún caso hubo 30 ó más células por campo de algún grupo celular, y sólo en 3 casos se presentaron valores de 10 a 30 células por campo (\*\*): en el caso 7 los linfocitos y neutrófilos, y en los casos 12 y 13 los neutrófilos (Cuadro 1). En cuanto al material proteináceo sólo hubo un caso con abundante material, 4 con regular, 9 con escaso material y 1 sin material proteináceo (Cuadro 1).

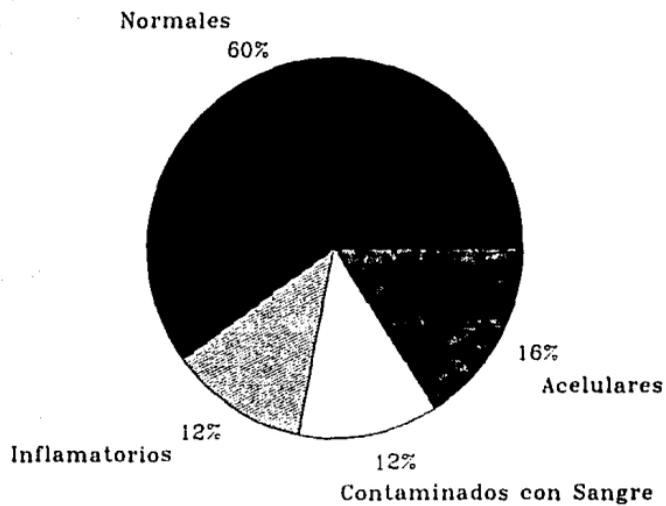
En los 3 casos inflamatorios el hallazgo citológico sobresaliente, fué en primer término el aumento considerable de neutrófilos (30 ó más células por campo) así como de linfocitos en un caso y de macrófagos y/o monocitos en los otros dos casos (Cuadro 2).

Los otros 7 casos fueron inadecuados ya sea por contaminación con sangre al obtener la muestra o porque no fué posible observar células (Cuadro 2).

En los casos sin alteración, los sinoviocitos se presentaron en un 86% de los casos, siempre con el mismo valor de 1 a 10 células por campo (Cuadro 3). Los neutrófilos se presentaron en el 80% de los casos, en un 60% en escaso número (1 a 10 células por campo) y en un 20% en regular número (10 a 30 células por campo). Los macrófagos se presentaron en menor grado en el 40% de los casos, y los linfocitos en un 12% (6%

en escaso numero y 6% en regular numero) (Cuadro 3).

El Cuadro 4 nos indica el tamaño de muestra estimado para cada elemento que sería necesario para obtener un estandard de una citología sin alteración, a partir de los valores obtenidos aquí, que van desde 14.23 hasta una n de 92.



**Figura 1: Distribución de los hallazgos de líquido sinovial en caballos**

CUADRO 1

Hallazgos Citológicos de Líquido Sinovial en Caballos.

Casos sin Alteración

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Material Proteinaceo	*	*	*	*	*		**	**	**	***	*	**	*	*	*
Sinoviocitos	*		*	*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*
Macrófagos y/o Monocitos		*				*		*	*			*	*		
Linfocitos							**						*		
Neutrófilos	*	*		*	*	*	**			*	*	**	**	*	*
Eritrocitos															

VALORES

\* = De 1 a 10 células por campo.

\*\* = De 10 a 30 células por campo.

\*\*\* = Más de 30 células por campo.

Para Proteína: Escasa, Regular, Abundante.

CUADRO 2

Hallazgos Citológicos de Líquido Sinovial en Caballos.  
Casos Inflamatorios, Contaminados con Sangre y Acelulares.

	Inflamatorias	Contaminados con Sangre	Acelulares
Material Proteinaceo	* * *	**	
Sinoviocitos	* * *	*	
Macrófagos y/o Monocitos	** **	** *	
Linfocitos	** * *	**	
Neutrófilos	*** *** **	** ** *	
Eritrocitos	* *	** * *	

VALORES

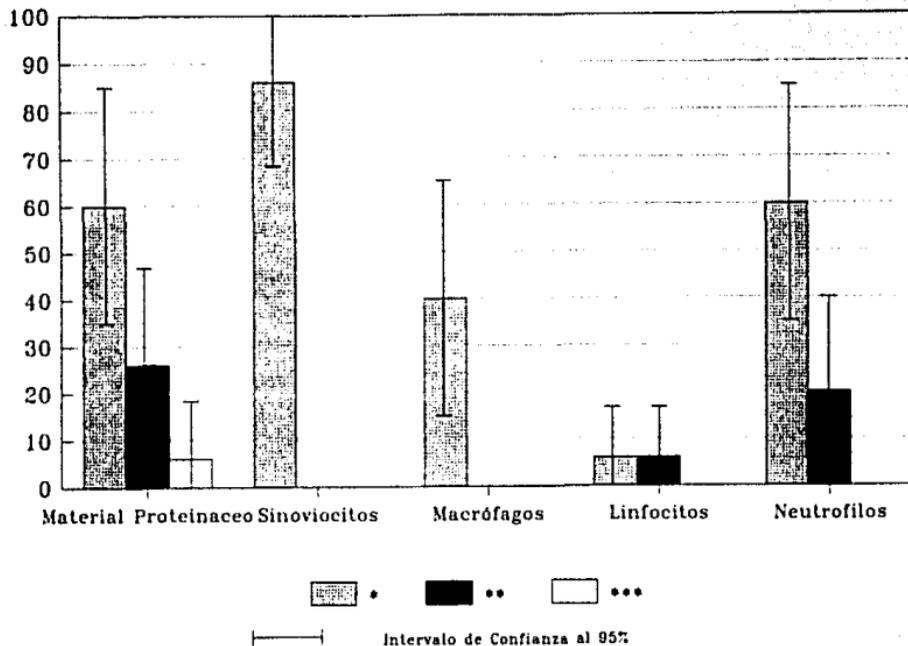
\* = De 1 a 10 células por campo.

\*\* = De 10 a 30 células por campo.

\*\*\* = Más de 30 células por campo.

Para Proteínas: Escasa, Regular, Abundante.

Cuadro 3  
 Porcentajes en que se presentaron los diferentes valores  
 de cada elemento, e intervalos de confianza para cada uno.  
 Casos sin alteración



**Cuadro 4**  
**Tamaño de Muestra Estimado Necesario Para Obtener**  
**un Estandar de Muestras sin Alteración.**

**\* Para porcentajes menores al 30%**

Elementos		n
Material Proteinaceo	**	14.23
Material Proteinaceo	***	78.33
Linfocitos	*	78.33
Linfocitos	**	78.33
Neutrofilos	**	20

**\* Para porcentajes medios (30% a 70%)**

Elementos		n
Material Proteinaceo	*	92
Macrófagos y/o Monocitos	*	92
Neutrófilos	*	92

**\* Para porcentajes altos (mayor al 70%)**

Elementos		n
Sinoviocitos	*	30.71

#### DISCUSION.

Los hallazgos citológicos obtenidos en el presente trabajo indican que el líquido sinovial normal tiene muy poca celularidad, este dato concuerda con estudios realizados anteriormente (4,5,6,8,9,12,16), y es tan evidente que hace muy fácil su diferenciación de un líquido inflamatorio donde es muy aparente el cambio de celularidad observándose conteos mayores a 100,000 células/mm<sup>3</sup> en artritis séptica, donde los neutrófilos llegan a formar más del 90% del total de células (9). La proteína también tiende a aumentar en estados inflamatorios donde cambia la permeabilidad (4,5,6,8,11,12). Estos datos no pudieron analizarse en este estudio debido al escaso número de casos inflamatorios.

La presencia de sinoviocitos, como era de esperarse, fue un hecho constante en la mayoría de los casos (6,8,12), cabe mencionar que aunque su número no aumenta notablemente en estados inflamatorios, sí evidencian un citoplasma más granular, núcleo de cara abierta y con nucleolos prominentes, lo que nos puede orientar a diagnosticar un proceso inflamatorio temprano de la articulación (12).

Los porcentajes en que se presentaron los grupos celulares (Cuadro 3) no concuerdan con otros estudios (4,5,9,16) donde se reporta que los neutrófilos forman menos del 10% del total de células del líquido sinovial normal, predominando los mononucleares, aunque estos datos no pudieron ser corroborados en el presente trabajo ya que no fue la finalidad de este estudio el conteo celular. En cambio se pone más énfasis en la observación de las características citológicas tales como: morfología, relación núcleo-citoplasma, observación de nucleolos, entre otros, que son parámetros que pueden indicar que hay una sinovitis (8,12). En algunos casos el porcentaje

tan alto de neutrófilos pudo estar alterado por leves contaminaciones con sangre, dato que puede ser detectado por el clínico al momento de tomar la muestra, al diferenciar una muestra sanguinolenta por daño articular de una por efecto de la punción (4,16).

En el análisis estadístico se observa que el número de muestras normales fue escaso por lo que los intervalos de confianza son muy amplios (Cuadro 3), por lo que se estimó el tamaño de la muestra (n) para cada elemento que sería requerido para obtener un estandar de una citología normal a partir de las proporciones obtenidas aquí (Cuadro 4), que como se aprecia sólo fue adecuado en este caso para material proteináceo con un valor de \*escaso con una n de 14.23 .

Es interesante estudiar la respuesta celular y el contenido de proteína en articulaciones para entender los cambios de permeabilidad en alteraciones inflamatorias.

La técnica de fijación inmediata de las laminillas en Propilenglicol (Carbowax) y la tinción tricrómica de Papanicolau proveen de un gran detalle celular por lo que se obtiene valiosa información.

Debido a que en este estudio sólo se pudieron obtener 25 muestras, es necesario realizar otros estudios de citologías de líquido sinovial en caballos que permitieran establecer patrones presentes en alteraciones articulares que serán de gran ayuda diagnóstica en conjunto con el análisis de líquido sinovial, el examen físico, radiológico y el bloqueo neural.

Es necesario correlacionar la información de todas estas pruebas ya que con la citología por sí sola no se pueden esperar respuestas definitivas al diagnóstico y al tratamiento.

**LITERATURA CITADA.**

1. Adams, O.R.: Lameness in horses. 3a edición. Lea & Febiger Philadelphia, 1974.
2. Banks, W.J.: Histología Veterinaria Aplicada. El Manual Moderno Mexico, D.f. 1986.
3. Dyson, S.J.: Synovial fluid and equine joint disease. Equine Vet. J. 16: 79-80 (1984).
4. Fernández, F.R., Grindem, C.B., Lipowitz, A.J., and Perman, V.: Synovial fluid analysis: preparation of smears for cytologic examination of canine synovial fluid. J.Am.Anim.Hosp. Assoc. 19: 727-734 (1983).
5. Freeman, K.P., and Carroll, B.S.: Wet-Fixed; trichrome-stained cytology specimens in private equine practice. Compen. Contin. Educ. Prac.Vet., 11: 485-494 (1989).
6. Freeman, K.P., and todhunter, R., Lust, G., et al: Correlation of polychrome equine synovial fluid cytology with other methods of joint evaluation. Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine. 1990.
7. Gridley, M.F.: Manual of Histologic and special Staining Technics. Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C., 1957.
8. Koss, L.G.: Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases. 3a edición. J.B.Lippincott Company Philadelphia, 1979.
9. McIlwraith, C.W.: Synovial Fluid Analysis. In: Equine Medicine and Surgery. Edited by: Mansmann, R.A., McAllister, E.S., vol.2 965-973, 3rd ed. American Veterinary Publications, Santa Barbara, California, 1982.
10. McIlwraith, C.W.: Comprehensive synovial fluid analysis discussion. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners convention. 1982, 137-141 (1983).

11. Moyer, W.: Clinical use of synovial fluid analysis. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Convention. 1982. 129-135 (1983).
12. Naib, Z.M.: Cytology of synovial fluids. Acta Cytol. 17: 299-309 (1973).
13. Navarro, R.: Introducción a la Bioestadística. Análisis de Variables Binarias. McGraw Hill, Mexico D.F., 1988.
14. O'Rourke, L.G.: Cytologic technics: sampling, slide, preparation, staining. Mod.Vet.Pract., 64: 185-189. (1983).
15. Pedersen, N.C.: Synovial fluid collection and analysis. Vet.Clin.Nor.Am., 8: 495-499 (1978).
16. Pelt van, R.W.: Interpretation of synovial fluid findings in the horse. J.Am.Vet.Med.Assoc., 165: 91-95 (1974).
17. Richardson, D.W.: Function and pathology of synovial fluid. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Convention. 1982. 117-120 (1983).
18. Rose, R.J., and Frauenfelder, H.C.: Arthrocentesis in the horse. Equine Vet.J., 14: 173-177 (1982).
19. Rosedale, P., Hopes, R., Wingfield, D., et al.: Epidemiological study of wastage among racehorses 1982-1983. Vet.Rec., 116: 66-69 (1985).
20. Tew, W.P.: Synovial fluid particle analysis in equine joint disease. Modern Vet.Prac., Dec.: 993-997 (198).
21. Tew, W.P.: Synovial fluid analysis. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Convention. 1982. 121-127 (1983).
22. West, J.E.: Diagnostic cytology in the equine species: overview, effusions (peritoneal, pleural, and synovial joint) and transtracheal wash. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Convention 1984. 169-201 (1985).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

-19-

23. White, G.W.: Is oral supplementation of PSGAG a viable method of therapy for equine joint diseases. J. Eq. Vet. Sci., 9: 232-233 (1989).