

111



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

BIOPSIA Y SU
PROCESAMIENTO
HISTOPATOLOGICO

TESINA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA
PRESENTA
TANIA JACOBO MARTÍNEZ

DIRECTOR: C.D. DANIEL QUEZADA RIVERA
ASESORA: MO. BEATRIZ C. ALDAPE BARRIOS



México D.F.,

2000

VoBo
VoBo

273833



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO



Agradecimientos

A mis padres:

**Luis Manuel Jacobo
Rosa Ma. Martínez**

Gracias a su cariño y apoyo he llegado a realizar una de mis metas, mi carrera profesional. Y espero que siempre sigan a mi lado y contar con su respaldo.

A mis abuelos, tíos, primos y amigos

Por sus palabras de aliento en cada momento difícil de mis estudios

A Germán

Que gracias a su compañía y apoyo supo animar en todo momento a lograr mis metas.

A mis profesores

A mi director de tesina Dr. Daniel Quezada Rivera y asesora Dra. Beatriz Aldape Barrios, mil gracias por sus conocimientos técnicos y su paciencia, ya que sin ello no hubiera sido posible la conclusión de este trabajo.



INDICE

	Pág
Introducción _____	6
Definición _____	7
Indicaciones _____	9
Contraindicaciones _____	10
Tipos _____	12
Biopsia excisional _____	13
Biopsia incisional _____	16
Biopsia por horadación ("Punch") _____	17
Biopsia por aspiración _____	20
Biopsia transoperatoria _____	23
Otros tipos de biopsia _____	25
Precauciones _____	29
Proceso histopatológico _____	32
Tinciones especiales _____	43
Conclusiones _____	48
Glosario _____	49
Bibliografía _____	51



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pág
1	Diagnóstico clínico de granuloma piógeno _____	13
2	Incisión _____	13
3	Marca de la incisión _____	14
4	Lecho quirúrgico _____	14
5	Sutura _____	14
6	Macroscópica _____	14
7	Orientación de la muestra por medio de una sutura _____	15
8	Aspecto clínico de lesión que radiográficamente es radiolúcida _____	22
9	Punción _____	22
10	Lecho quirúrgico _____	22
11	Curetaje _____	22
12	Frotis de la punción _____	22
13	Cepillo _____	26
14	Citología exfoliativa _____	26
15	Biopsia por cepillado _____	26
16	Recepción de la muestra _____	33
17	Descripción macroscópica _____	33
18	Pigmentación de los límites quirúrgicos _____	34
19	Histokinette _____	39
20	Microtomo _____	40
21	Inclusión _____	41
22	Muestra lista para tinción _____	41
23	Tinciones _____	41



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

INTRODUCCIÓN

La responsabilidad del Cirujano Dentista hacia el paciente y hacia la sociedad, es la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades bucales.

Existen casos en los que el diagnóstico temprano constituye la base fundamental para el tratamiento adecuado y oportuno. Algunas lesiones pueden ser diagnosticadas clínicamente (ej. aftas recurrentes, úlceras traumáticas, infección por herpes simple labial, etc.), pero en muchas ocasiones se encuentran lesiones que son detectables pero no diagnosticables después de un minucioso interrogatorio, ni por medio de la inspección ni la exploración, por lo que es necesario la realización de algunos otros métodos auxiliares de diagnóstico, entre ellos la biopsia.

Dicho procedimiento no solamente posee valor clínico para el diagnóstico temprano de neoplasias malignas o lesiones cancerizables, sino también en relación con las metástasis y el pronóstico.

Actualmente en nuestro país se realizan muy pocas biopsias por que no se reconoce la necesidad de enviar las muestras a estudio histopatológico cuando los cirujanos dentistas eliminan una pequeña porción de tejido; y desafortunadamente las que se llevan a cabo son ya para diagnósticos tardíos o en lesiones malignas en estadios avanzados, lo que provoca en la mayoría de los casos se apliquen tratamientos radicales.

La biopsia bucal es un procedimiento muy sencillo que el cirujano dentista deberá tener en cuenta como parte integral de la práctica clínica, pero también deberá conocer a fondo el procedimiento, ya que si éste no lleva a cabo de manera apropiada, dificultará el diagnóstico histopatológico, y como consecuencia el tratamiento.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

DEFINICIÓN

El término "biopsia" deriva del griego bios-vida y de opsis-vista o visión. La palabra fue introducida por Ernest Besnier (1831-1909), dermatólogo francés, para designar el examen de un tejido u órgano, mediante la toma de una muestra del mismo, en vida del sujeto. Pero ya antes, Rodolfo Virchow (1821-1902) había llamado la atención sobre los fundamentos de la biopsia y su valor en el diagnóstico de las neoplasias malignas. *

La biopsia consiste en la obtención de un fragmento de tejido vivo para su estudio tanto macro como microscópico. Es un procedimiento quirúrgico que permite verificar o negar un diagnóstico clínico. Habrá ocasiones en que un diagnóstico definitivo podrá ser hecho sólo con este examen y otras en que, para establecer el diagnóstico final, tendrán que realizarse estudios adicionales. ^{2, 5, 9, 22}

Este procedimiento no sólo sirve para establecer un diagnóstico más exacto, sino también, para conocer la evolución de la enfermedad, el resultado de la terapéutica y fundamentar el pronóstico.

Cuando la biopsia esta indicada, la precisión del diagnóstico, y consecuentemente, el tratamiento apropiado está basado en tres principales factores:

- 1) La habilidad clínica para obtener suficiente tejido representativo
- 2) Fijador adecuado y
- 3) La habilidad del Patólogo bucal para interpretar exactamente las secciones histológicas hechas al espécimen en estudio. *



OBJETIVOS

La biopsia tiene como objetivos principales:

- 1.- Realización de un estudio histopatológico: descripción macro y microscópica.
- 2.- Diagnóstico de lesiones patológicas.³
- 3.- Determinar la presencia o ausencia de organismos infecciosos.
- 4.- Corroborar o rechazar el diagnóstico clínico.
- 5.- Elaboración de un adecuado plan de tratamiento, una vez determinado el origen y naturaleza de la lesión.
- 6.- Establecimiento de un pronóstico más exacto.
- 7.- Excluir la posibilidad de malignidad o confirmar su presencia.
- 8.- Determinar la extensión y límites de una lesión.
- 9.- Verificar la recurrencia o persistencia de neoplasias.²⁵
- 10.- Reconocimiento o exclusión de metástasis tumorales en ganglios linfáticos y otros tejidos.
- 11.- Evaluación de los resultados terapéuticos tanto en las neoplasias malignas como en las benignas.⁶



INDICACIONES

Las indicaciones y contraindicaciones de la biopsia son relativas, ya que dependen de cada caso en particular, pero se pueden considerar como indicaciones y contraindicaciones generales las siguientes:

- 1) Cualquier lesión que no pueda ser diagnosticada clínicamente en forma precisa.
- 2) Lesiones periapicales, incluyendo granulomas y quistes radiculares, ya que son entidades patológicas muy frecuentes en maxilar y mandíbula y en los cuales se tiene que hacer diagnóstico diferencial con otras lesiones benignas o malignas, que radiográficamente pueden tener similitud con estos.³
- 3) Fracaso en la recuperación con terapias conservadoras. Esto se aplica en lesiones que han sido observadas por un periodo de tiempo y que no han respondido al tratamiento local o que no muestran evidencias de cicatrización.
- 4) Presencia de úlceras, aumentos de volumen, cambios de color rojo o blanco y en toda lesión sospechosa que persista por más de 10 días.^{3,4,22}
- 5) Cualquier tejido blando removido por alguna razón.
- 6) Para corroborar el diagnóstico de enfermedades sistémicas como el síndrome de Sjögren, en el que se encuentra infiltrado mononuclear periductal, hiperplasia de las células epiteliales ductales y atrofia acinar, amiloidosis, en la que se encuentran depósitos de sustancia amiloidea en los tejidos, entre otras.¹⁹
- 7) En citología exfoliativa positiva, ya que este método sólo puede interpretar la presencia o ausencia de células malignas, sin determinar el tipo de lesión.
- 8) Cuando la biopsia inicial resulta inapropiada para confirmar el diagnóstico clínico (por una fijación inadecuada o cualquier otra razón), deberá realizarse una segunda biopsia.³



CONTRAINDICACIONES LOCALES

- 1) Evitar tejido necrótico, ya que histológicamente no es específico y no puede ser diagnosticado.
- 2) Algunas personas opinan que lesiones pigmentadas, particularmente las palatinas o gingivales, que son los sitios más frecuentes para melanoma maligno deben ser biopsiadas, pero es refutado por otros quienes opinan que "nunca deberá incidirse un posible melanoma por el temor de difundir células malignas". Por tal motivo, la biopsia excisional es recomendada antes que la biopsia incisional en una lesión pigmentada, ya que las lesiones, generalmente son pequeñas y de fácil remoción total. ³
- 3) En lesiones vasculares como hemangiomas, ya que debido a su gran vascularización se puede originar una hemorragia intensa al realizar la incisión. Su tratamiento, así como la realización de la biopsia es recomendable realizarlos en un centro hospitalario para una mayor seguridad. ^{3,8}

CONTRAINDICACIONES EN ENFERMEDADES SISTÉMICAS

En el procedimiento de biopsia, existen otras condiciones no favorables para la realización de ésta, que podríamos considerar como limitaciones generales, como estados de compromiso sistémico (diabetes mellitus, SIDA, leucemias, etc.) en los que no se ha establecido un adecuado control médico o bien, es necesario esperar un momento posterior donde la condición sistémica sea más favorable.

Es importante considerar desde un principio las condiciones limitantes en la realización de la biopsia, para poder determinar el riesgo y el beneficio que esta puede causar. Como limitaciones generales se pueden considerar las siguientes:



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

1.- Pacientes con cardiopatías

Las alteraciones cardíacas que se deben considerar para realizar una biopsia en cavidad bucal son: hipertensión arterial, angina de pecho, infarto al miocardio e insuficiencia cardíaca congestiva.

2.- Alteraciones endócrinas

Las alteraciones endócrinas de importancia para el Cirujano Dentista en su práctica clínica son: hipertiroidismo, hipotiroidismo, hiperparatiroidismo, enfermedad de Addison, síndrome de Cushing y diabetes mellitus.

Es importante asegurarse, tanto en el caso de pacientes con cardiopatías como en los pacientes con enfermedades endócrinas, si el paciente está bajo tratamiento médico, y si es así, si se está aplicando adecuadamente sus fármacos. También es importante llevar a cabo una interconsulta con su médico y determinar si el paciente puede o no ser sometido a la toma de biopsia una vez que ha sido controlado su problema sistémico o debe ser canalizado a un centro hospitalario.

3.- Pacientes con desnutrición

Debido a que la desnutrición puede provocar trastornos metabólicos muy severos debe ser adecuadamente valorado el paciente o ser remitido a un centro hospitalario para su manejo.

4.- Pacientes con discrasias sanguíneas

A estos pacientes se les puede realizar la biopsia siempre y cuando se practique en un centro hospitalario, bajo la supervisión del hematólogo.^{3,6}



TIPOS DE BIOPSIA

Todos los procedimientos de biopsia se dividen en dos categorías generales: incisionales y excisionales. Las biopsias excisionales son esencialmente para diagnóstico y tratamiento, debido a que se remueve la lesión completa con un borde periférico de tejido normal. Las biopsias incisionales remueven sólo una porción de la lesión, generalmente con tejido adyacente normal; y son exclusivamente para el diagnóstico, generalmente antes de establecer la terapia definitiva.¹⁵

Existen varios tipos de biopsia, que se clasifican dependiendo de la técnica empleada y del momento en que ésta se realiza.

1.- Por el momento en que se realiza, la biopsia puede ser:

- a) Preoperatoria.- Se realiza previa al tratamiento para poder obtener un diagnóstico definitivo que permita establecer las condiciones que requiere la intervención quirúrgica.
- b) Transoperatoria.- Se lleva a cabo durante la intervención quirúrgica, cuando se requiere rapidez en el diagnóstico para proseguir el tratamiento.
- c) Posoperatoria.- Se realiza posterior al tratamiento y está indicada para establecer si existe persistencia tumoral, de recidiva o de metástasis.

2.- Dependiendo de la técnica empleada para llevar a cabo la biopsia:

- a) Biopsia incisional
- b) Biopsia excisional
- c) Biopsia por punción y aspiración
- d) Biopsia por horadación ("Punch")



BIOPSIA EXCISIONAL

La biopsia excisional consiste en la eliminación completa de la lesión, que comprende márgenes de tejido normal alrededor de todos sus bordes. Esta técnica se realiza en lesiones pequeñas no mayores de 2 cm de diámetro. Permite al patólogo examinar si la lesión ha sido eliminada completamente y además proporciona un tratamiento definitivo.^{1,2,7}

TÉCNICA

- 1) Elección del sitio.
- 2) Se puede efectuar una antisepsia local con una medicación no agresiva.
- 3) Una vez seleccionado el sitio, se procede a anestesiarse local o regionalmente. No se debe infiltrar directamente en la lesión.
- 4) Se realiza una incisión elíptica alrededor de la lesión, con cortes que convergan en forma de "V" hacia el tejido normal subyacente. La incisión debe ser precisa y profunda en un ángulo de 45°, eliminando completamente la base de la lesión. Se debe emplear un bisturí filoso para no desgarrar los tejidos. Se elimina un margen de tejido sano junto con la lesión.^{3,4,7}



Figura 1.- Diagnóstico clínico:

granuloma piógeno*



Figura 2.- incisión*



Figura 3.- Marca de la incisión*



Figura 4.- Lecho quirúrgico*

- 1) Puede utilizarse una sutura o pinzas para tejido con el fin de inmovilizar la lesión que será extirpada. El uso de las pinzas debe ser en un solo punto y con suavidad. La sutura proporciona facilidad para la remoción quirúrgica, evitando la compresión o destrucción de la muestra, y que ésta sea aspirada por el paciente.
- 2) La lesión se disecciona, cortándose la base de la muestra con tijeras curvas o con un bisturí.
- 3) Una vez extirpada la muestra, se seca con gasa la superficie sangrante y se hace presión para provocar hemostasia. En ocasiones se pueden requerir suturas aisladas para cerrar la herida. ^{1,7,22}



Figura 5.- Sutura*

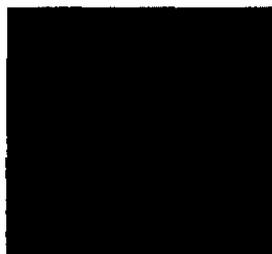


Figura 6.- Macroscópica*



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

- 4) Si el fragmento removido es muy pequeño, puede colocarse sobre un trozo de cartulina blanca para evitar que se encoja y se enrosque. Es importante colocar una sutura para orientar la muestra y permitirle al patólogo un adecuado estudio, de tal forma que si existe duda respecto a la extirpación completa de la lesión con la sutura nos podrá indicar la zona en que se requiere tratamiento adicional.

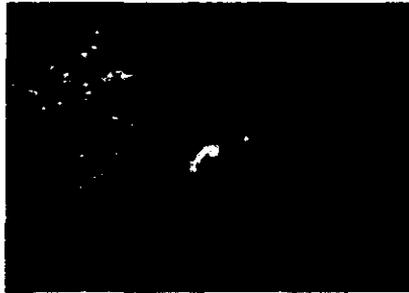


Figura 7.- Orientación de la muestra por medio de una sutura*

- 5) Fijación del tejido. Se coloca la muestra obtenida inmediatamente en la solución fijadora (formol al 10%). El volumen del líquido fijador debe ser de 10 a 20 veces mayor que el tamaño de la muestra.
- 6) Una vez fijada la muestra, el recipiente deberá ser rotulado (no en la tapa) con los datos del paciente: nombre, sexo, edad, tipo de biopsia, localización de la lesión y diagnóstico clínico presuntivo del caso. ^{3, 7, 22}



BIOPSIA INCISIONAL

La biopsia incisional consiste en la remoción de una parte representativa de la lesión que incluye un margen del tejido adyacente normal. Está indicada en lesiones mayores de 2 cm, debido a que el tratamiento definitivo dependerá de que la lesión sea benigna o maligna.

Este tipo de biopsias es el más común y se emplea para tumores de tejidos blandos, músculo, tejido conectivo.

TÉCNICA

La técnica para realizar la biopsia incisional es la misma que se sigue para la biopsia excisional a diferencia de que la incisión quirúrgica en forma elíptica, deberá extenderse desde el centro de la lesión hasta el tejido sano, convergiendo en forma de "V" y con profundidad de 45°, de tal manera que la muestra tomada incluya tejido afectado y tejido sano para comparación.^{3,7}



BIOPSIA POR HORADACIÓN ("PUNCH")

Históricamente, las biopsias de la mucosa bucal se realizaban con un bisturí y la subsiguiente sutura de la herida. Recientemente, el método de **punch** ha ofrecido gran simplificación técnica que proporciona excelente material de diagnóstico.¹⁵

La biopsia de punch se considera una variante de la biopsia por incisión. Consiste en la resección de un fragmento de tejido mediante el empleo de un instrumento especial de forma cilíndrica. Este tipo de biopsia es utilizado típicamente por dermatólogos para muestrear enfermedades inflamatorias de piel o tumores pequeños y su utilidad y técnica en odontología son similares.

Dicha técnica se recomienda para utilizarla en la práctica general como un procedimiento seguro, simple, rápido y de bajo costo para el diagnóstico de lesiones en la mucosa oral.^{1, 2, 5, 15, 21}

INDICACIONES

Es apropiada para el diagnóstico de lesiones epiteliales o mesenquimatosas superficiales, en particular cuando poseen zonas blancas, eritematosas y ulceradas (la biopsia incisional ordinaria es mejor para el piso de la boca, el paladar blando, el proceso vestibular posterior y el aspecto lingual de la zona anterior de la mandíbula). Además, se indica en enfermedades mucocutáneas, incluyendo liquen plano, pénfigo vulgar, pénfigo cicatrizal y eritema multiforme, y para una variedad de condiciones comunes. Esto incluye úlceras persistentes por más de 3 semanas, lesiones pigmentadas que no pueden ser diferenciados clínicamente de melanomas y crecimientos exofíticos y palpables.

En lesiones muy pequeñas de la cavidad bucal, tales como verrugas o máculas melanóticas, el punch actúa como una biopsia excisional, aunque para dichas lesiones es mejor llevar a cabo la técnica excisional. Puede también, utilizarse como una modalidad de biopsia incisional en lesiones extensas.^{3, 15, 18}



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

CONTRAINDICACIONES

La técnica está contraindicada para la eliminación definitiva de lesiones sospechosas malignas. Algunos autores creen que existe el riesgo de propagar células tumorales a lo largo de canales linfáticos y vasculares.¹⁵

VENTAJAS

Es una técnica segura, rápida y fácil de realizar, con una incidencia baja de morbilidad postquirúrgica. Generalmente no requiere sutura, ya que la herida cicatriza rápidamente de segunda intención con una mínima o nula formación de cicatriz y resultados estéticos máximos. La hemorragia quirúrgica es mínima por lo que la presión local con gasa estéril por 5 a 10 minutos es suficiente para inducir hemostasia y en pocos casos, una simple sutura puede ser necesaria para el control de la hemorragia persistente.^{7,15}

DESVENTAJAS

Aunque la técnica está indicada principalmente para lesiones epiteliales o mesenquimatosas superficiales, esto dificulta el uso de la biopsia de punch para obtener adecuadamente tejido representativo profundo de la lámina propia.

Este método se complica en la mucosa movable que no está bien soportada, como el piso de la boca y el paladar blando; y el acceso a la cresta alveolar posterior del maxilar y a la superficie lingual anterior de la mandíbula se hace difícil.¹⁵

TÉCNICA

- 1) Elección del sitio.
- 2) Anestesia local o regional.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

- 3) Una vez que el sitio de la biopsia ha sido seleccionado y anestesiado, el punch se sostiene entre los dedos pulgar e índice, se coloca la hoja sobre el tejido y poco a poco se rota el punch en sentido de las manecillas del reloj, hasta que el bisel externo no es visible. La muestra para biopsia debe incluir tejido normal. ^{1,15}

- 4) Con frecuencia, no se requiere suturar la herida, se puede cohibir la hemorragia solo con ejercer presión en la misma. ¹

- 5) Cuando el espécimen ha sido removido de la boca, debe ser colocado en una pieza de cartulina antes de ser inmerso en el fijador, de esta manera el tejido no se distorsiona, lo que permite al patólogo realizar una apropiada orientación, descripción macroscópica y seccionado del mismo.
Como ya se mencionó anteriormente, es recomendable colocar una sutura para orientar la muestra. ¹⁵

- 6) Se le deben dar instrucciones postoperatorias al paciente, que incluyen una advertencia contra trauma involuntario en el área, buena higiene y enjuagues bucales. En ocasiones se pueden prescribir antiinflamatorios y analgésicos.



BIOPSIA POR ASPIRACIÓN

Es una técnica muy sencilla que se comenzó a utilizar en Suecia hace algunas décadas, pero que se ha desarrollado los últimos diez años en el resto del mundo de manera importante. En 1930 Martin y Ellis describieron la técnica y sus implicaciones; dicha técnica llega a ser popular a principios de los 70's, cuando la tinción de Papanicolaou y el diagnóstico citológico de malignidad puede ser realizado, especialmente en Europa. ^{5,7}

Este método ha sido utilizado ampliamente en el diagnóstico de entidades inflamatorias y neoplásicas en todo el organismo con excelentes resultados.

Puede ser definida como un procedimiento en el que la presión negativa es creada en una jeringa y, como resultado de diferentes presiones, el material es arrastrado dentro de la aguja. ^{3,22}

INDICACIONES

Es un procedimiento con múltiples aplicaciones, su principal indicación es en lesiones que sean visibles o palpables, o identificadas por un estudio de imagenología.

Se usa con frecuencia en lesiones intraóseas, ganglios linfáticos y neoplasias de glándulas salivales. Tumores en estructuras profundas son especialmente buenos candidatos para la biopsia por aspiración con aguja fina. Tales procedimientos son realizados por el radiólogo bajo guía con ultrasonido o tomografía computarizada. ^{3,5,17,23}

VENTAJAS

Este procedimiento tiene varias ventajas, incluyendo facilidad de uso, bajo costo y rápido diagnóstico; además de poder emplear tinciones especiales y reacciones de inmunohistoquímica cuando se requiera.

Rara vez presenta complicaciones y estas consisten en sangrado, hematoma y ocasionalmente implantes de células neoplásicas en el trayecto de la aguja. ^{5,7,23,28}



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

DESVENTAJAS

Su principal desventaja es la de ser un procedimiento ciego. En muchas ocasiones es escaso el material que se obtiene y sólo es líquido o semilíquido.

Este método no posee en sí mismo un alto valor diagnóstico.^{3,23}

TÉCNICA

- 1) El sitio de la punción requiere cuidadosa elección. Es muy importante la fijación manual adecuada del tumor en los casos en que no estén anatómicamente fijos.
- 2) Se coloca anestesia local o regional.
- 3) Una aguja de calibre 22-25 es insertada en una jeringa de 10 cc, conteniendo de 1 a 2 cc de aire.
- 4) La aguja se introduce en la lesión, la presión negativa es aplicada y son realizados varios impactos por medio de la jeringa, cuya punta debe ser muy aguda; estos impactos se realizan sobre varios ángulos de la lesión, de tal forma se obtiene muestra de la mayor área posible.
- 5) Antes de remover la aguja, la presión negativa es liberada para mantener al espécimen en la aguja, cuando esta sea removida de la mucosa.

Hay que señalar que el camino más recto y corto es el ideal, sin embargo, una modificación a la aguja puede ser necesaria para evitar órganos vitales o estructuras óseas que obstaculicen el camino o provoquen la contaminación de espacios estériles. Por lo tanto, en la inserción de la aguja se debe tomar en cuenta la región anatómica.

- 6) El material obtenido se coloca en un portaobjetos, y con un cubreobjetos se extiende la muestra sobre el vidrio, como un frotis de sangre. Una porción se sumerge en etanol al 95% y la otra se deja secar al aire libre. La porción sumergida en etanol se tiñe con la técnica de Papanicolaou y a la otra se le coloca identificador de Wright, para permitir un



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

diagnóstico preliminar. Otras porciones del espécimen son colocadas en formaldehído para su fijación habitual. ^{5, 7, 23, 25}



Figura 8.- Aspecto clínico de lesión que radiográficamente es radiolúcida*



Figura 9.- Punción*



Figura 10.- Lecho quirúrgico*



Figura 11.- Curetaje*



Figura 12.- Frotis de la punción*



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Las siguientes técnicas de biopsia no son de uso frecuente en odontología y generalmente se utilizan en centros hospitalarios.

BIOPSIA TRANSOPERATORIA

Existe una modalidad especial, en la cual el estudio histopatológico se realiza en el curso de una intervención quirúrgica, este tipo de estudio es también conocido como biopsia por congelación, durante el acto quirúrgico, biopsia extemporánea o biopsia rápida.³

Este tipo de biopsia debe su clasificación al tiempo en que se realiza y no a la técnica empleada.

La congelación de los tejidos para endurecerlos y practicar cortes delgados se inició en el siglo XIX; pero fue hasta 1905 cuando Louis B. Wilson, en la Clínica Mayo, popularizó el método de la biopsia transoperatoria por congelación, mediante la tinción con azul de metileno, para proporcionar un diagnóstico rápido durante el acto operatorio. Actualmente en todo hospital moderno es indispensable el empleo de dicha técnica.²⁰

Este procedimiento tiene los siguientes propósitos:

- 1) Conocer la extensión local o distante de una neoplasia y para decidir la intervención quirúrgica. ²⁰
- 2) Determinar si los límites quirúrgicos de la resección de una neoplasia, benigna o maligna, están afectados o libres de células tumorales. ²⁰
- 3) Para precisar si el tejido obtenido es útil para diagnóstico, aunque no se modifique la conducta quirúrgica de inmediato, o si está indicada una muestra adicional. ^{11,20}

Este procedimiento está indicado cuando el diagnóstico microscópico puede modificar el tratamiento, por ejemplo, ampliar la extensión de la resección en el mismo acto quirúrgico. La precisión de los cortes por congelación es del 90-95%. ^{3,7}



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

La biopsia transoperatoria debe ser un método de diagnóstico rápido y exacto, de tal manera que el cirujano tenga confianza completa en el patólogo. Para lograr lo anterior el patólogo debe poseer ciertas cualidades: a) experiencia en patología quirúrgica; b) conocimientos clínicos; c) reconocer las limitaciones del método; d) mantener una actitud conservadora para evitar mutilaciones innecesarias y e) buen juicio. Por su parte el cirujano debe considerar al patólogo como un colega médico, al que tiene la obligación de proporcionarle toda la información clínica del caso, con objeto de integrar un mejor diagnóstico. ¹¹

La duración de la biopsia transoperatoria es importante para no prolongar el tiempo anestésico y quirúrgico. El dispositivo más comúnmente utilizado para congelar los tejidos es el criostato que ahorra tiempo y disminuye los artefactos.

Aunque existe gran variedad de tinciones rápidas para los cortes por congelación, se prefiere hematoxilina-eosina. ¹¹

La biopsia transoperatoria no siempre proporciona un diagnóstico preciso, en ocasiones el patólogo sólo puede diagnosticar si se trata de una lesión benigna o maligna. ²⁰



OTROS TIPOS DE BIOPSIA

- a) Biopsia por trepanación.- Es un método empleado para la obtención de muestras de tejido óseo.³
- b) Biopsia por legrado.- Consiste en la obtención de una muestra considerable de tejido por raspado por medio de cucharillas. Se utiliza generalmente en lesiones óseas.³
- c) Biopsia por electrocauterio.- La utilización de este método para obtener muestras es controversial. Algunos autores creen que esta técnica es aceptable en lesiones sospechosamente malignas y basan esta creencia en que los vasos sanguíneos son coagulados y esto previene o reduce el riesgo de inducir iatrogénicamente metástasis de la neoplasia; mientras otros declaran que la electrocirugía provoca artefactos coagulativos en tejidos de la biopsia, sobre todo en los márgenes del mismo.

Este procedimiento sólo debe emplearse en lesiones no muy pequeñas y donde sea importante la hemostasia.^{3,14}

- d) Biopsia por láser.- Los diferentes tipos de láser son utilizados para la excisión de lesiones de la mucosa bucal, sus principales ventajas son la disminución de la hemorragia transoperatoria, que es atribuida a los efectos coagulativos y la mínima molestia postoperatoria. Pero su uso en la obtención de muestras compromete el diagnóstico, debido a que causa artefactos coagulativos, los cuales se manifiestan simulando atipia celular.

Sin embargo, otros autores refieren que dichos artefactos son causados por el manejo del instrumento (regulación del voltaje) y el tamaño del tejido.^{30,31}

- e) Biopsia por cepillado (Oral CDx) es una nueva opción para la detección del cáncer bucal, que permite el reconocimiento y el tratamiento a tiempo, de muchas lesiones bucales precancerosas o cancerosas. Es una citología exfoliativa diferente.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

El Oral CDx es un procedimiento rápido y asintomático, que identifica lesiones malignas o benignas cuando estas son clínicamente sospechosas. Con este cepillo se obtiene una biopsia bucal completa transepitelial. La biopsia por cepillado captura una muestra de tejido de las tres capas epiteliales: superficial, intermedia y basal.



Figura 13.- Cepillo



Figura 14.-*Citología exfoliativa*
Solo proporciona células de la capa superficial

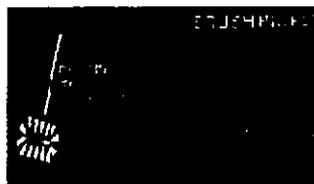


Figura 15.- *Biopsia por cepillado*
La muestra abarca las tres capas: superficial, intermedia y basal.

Todos los resultados "positivos" o "atípicos" deben ser remitidos inmediatamente a un especialista para el tratamiento adecuado.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

COMPLICACIONES

Los siguientes son posibles efectos indeseables de la biopsia, que pueden presentarse casi en cualquier circunstancia y que debemos tener presentes.

HEMORRAGIA

La hemorragia mediata o inmediata puede ser un grave problema después de las siguientes biopsias: a) de tejidos muy vascularizados; b) de una masa tumoral grande y friable; c) en los casos en que puede seccionarse y producirse la retracción de un vaso sanguíneo adyacente de regular tamaño.⁴

El sangrado puede ser controlado por presión o suturas.³

INFECCIÓN

Siempre existe la posibilidad de que las bacterias presentes penetren en las profundidades de la lesión y en el tejido sano adyacente, lo que puede provocar una infección local con necrosis agregada en dicha área, por lo que la asepsia tendrá que ser siempre lo más rigurosa posible.^{3,6}

DEFICIENTE CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA

Esto puede deberse a factores locales: isquemia de la zona, implantación de células neoplásicas, radioterapia previa, etc., y a enfermedades sistémicas no diagnosticadas como diabetes mellitus, hipertensión, etc.⁶

DISEMINACIÓN DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS

Si bien la contaminación local de la herida con células neoplásicas es un hecho frecuente, tomando las debidas precauciones esta complicación se reduce a un mínimo en los casos en que se emplea la biopsia por incisión, y puede ser evitada cuando se hace una biopsia por extirpación amplia.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Siempre existe la posibilidad de propagar células tumorales a lo largo de canales linfáticos y sanguíneos como consecuencia de la biopsia. Por otro lado, la manipulación

tosca de la lesión puede aumentar el número de células dispersas, aunque la mayoría de estas células libres no llegan a dar metástasis a distancia. ^{3,*}

LESIÓN DE ÓRGANOS ADYACENTES

Las lesiones accidentales son raras y pocas veces revisten gravedad, si se emplea una técnica correcta y se toman las debidas precauciones.



PRECAUCIONES

Cuando se realiza una biopsia, se deben tener en cuenta ciertos lineamientos con la finalidad de reducir al mínimo la frecuencia de algunos errores, los cuales pueden influir de manera negativa (ej., produciendo artefactos), tanto en la obtención de la muestra como en su diagnóstico.

- 1.- La incisión debe ser precisa y profunda. Se debe utilizar un bisturí filoso para no desgarrar los tejidos.
- 2.- La zona donde será realizada la biopsia no deberá ser pintada con yodo, ni con ningún otro antiséptico de coloración intensa. ^{3,5}
- 3.- La muestra nunca deberá ser tomada de la parte central de la lesión ni de áreas necróticas o erosionadas, ya que dificulta la interpretación histológica. ^{3,15,22}
- 4.- Los láseres y el electrocauterio no deben utilizarse, y si así fuera, se hará con mucho cuidado, ya que con frecuencia distorsionan la estructura celular y tisular, en particular si la muestra es pequeña. Dichos instrumentos causan artefactos coagulativos, particularmente en los márgenes del espécimen. ^{1,3,6,8}
- 5.- La solución anestésica no debe inyectarse directamente en la lesión porque altera la composición bioquímica de la muestra. No se deben utilizar anestésicos tópicos sobre la superficie a estudiar por lo que se empleará la anestesia regional o infiltrativa, en el caso de esta última, rodeando la lesión en toda su periferia. La inserción de la aguja puede producir hemorragia con extravasación y la separación de los haces del tejido conectivo con vacuolización. ^{3,6,9,14}
- 6.- El manejo de la muestra durante el acto quirúrgico, debe ser cuidadoso para evitar la distorsión física del tejido como resultado de la compresión excesiva.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Cuando los fórceps atraumáticos o de adson (con o sin dientes) son utilizados apropiadamente, solo producirán pequeñas distorsiones mecánicas del tejido (como huecos o desgarres). De ser posible, la periferia de la lesión (tejido sano) debe ser utilizada para retraer el tejido, evitando así, un daño en la muestra.

Otra solución a este problema sería la inserción de una sutura directamente en el tejido sano, el cual está incluido en el espécimen de la biopsia. Una tracción suave de éste, permite el manejo adecuado de la muestra. ^{3, 8, 14, 22}

7.- Si se toman múltiples muestras, aún de una misma lesión, deben ser colocadas en diferentes recipientes e indicar la zona de donde fueron tomados para evitar confusiones respecto a su origen. ^{3, 15}

8.- Como ya se mencionó anteriormente, el volumen de fijador debe ser de 10 a 20 veces mayor que el tamaño de la muestra. ^{8, 14}

9.- No se debe agregar solución salina, agua o suero fisiológico en el recipiente del espécimen. ^{3, 8, 14, 22}

10.- El frasco que contenga el fijador deberá ser de boca ancha para no forzar la muestra y distorsionarla. ²²

11.- Una vez fijada la muestra, deberá ser rotulado el recipiente y no la tapa del mismo, con los datos del paciente. ^{3, 8, 14, 22}

12.- La muestra debe ser de tamaño suficiente para que el patólogo trabaje adecuadamente con ella. Biopsias muy pequeñas son difíciles de orientar correctamente y se pierden fácilmente en el manejo. La biopsia debe ser mayor de 2-3 cm en dimensión. ^{8, 14}

13.- Cuando el espécimen ha sido removido, debe ser inmediatamente inmerso en una solución fijadora (generalmente formol al 10% con pH amortiguado), para evitar su deshidratación y autólisis. En caso de una emergencia se puede colocar la muestra en etanol al 70%, ginebra, vodka o ron en una relación 20:1.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

La fijación inapropiada altera la calidad de la tinción, las células aparecen encogidas con la consecuente pérdida del detalle celular.^{8,14,22}

14.- Debe evitarse la congelación del tejido a muy bajas temperaturas, ya que se producen cristales de hielo que causan distorsiones en la arquitectura del tejido (ej., vacuolas intersticiales y dentro del citoplasma).^{8,14}



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

PROCESO HISTOPATOLÓGICO

Cuando se realiza una biopsia, el tejido removido debe ser procesado para su estudio histopatológico. Después de que la muestra es recibida en el laboratorio se determinará el método por medio del cual se realizará dicho procedimiento. Existen dos métodos principales dependiendo de la muestra:

1.- Preparación de frotis.- la muestra obtenida es líquida o hay pequeñas partículas sólidas suspendidas en el líquido. Este material es extendido sobre un portaobjetos y se seca con aire o es fijado por medio de un aerosol o con inmersión en un líquido. Posteriormente se tiñe y es examinado bajo el microscopio.

2.- Cortes histológicos.- incluye la preparación de tinciones y cortes delgados montados en un portaobjetos. Hay dos técnicas principales de preparación de cortes histológicos:

a) Cortes permanentes: esta técnica da una mejor calidad del espécimen para examinación, pero se lleva algo de tiempo.

b) Cortes por congelación: esta técnica permite una examen histológico de la muestra en pocos minutos, pero la calidad de los cortes no es tan buena como en los cortes permanentes.^{3,5}

RECEPCIÓN Y REGISTRO DE LA MUESTRA

1.- Una vez que se recibe la muestra para su estudio histopatológico, ésta debe acompañarse tanto de una solicitud con los datos personales y clínicos del paciente, así como del frasco rotulado.

2.- Asignarle un número de laboratorio que identificará la muestra de cada paciente.²⁹



Figura 16.- Recepción de la muestra ²⁹

ESTUDIO MACROSCÓPICO

El estudio macroscópico tiene como objetivos generales:

- a) Describir exactamente el tipo de material remitido para su estudio, y
- b) Seleccionar detalladamente las áreas sobre las que va a realizarse dicho estudio.

La primera fase del estudio macroscópico es la inspección general del material, con descripción del tipo de pieza, estructuras que la componen, dimensiones, peso, forma y color, así como la identificación de las partes normales y anormales. ¹¹

No debe olvidarse que, en ocasiones, la descripción macroscópica aporta tantos datos como la microscópica o incluso más.



Figura 17.- Descripción macroscópica ²⁹



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

El estudio de los límites de la resección quirúrgica, sobre todo en patología neoplásica, es de vital importancia por su trascendencia pronóstica y terapéutica. Por ello es necesario marcarlos con un colorante (tinta china) que permanezca indeleble tras el procesamiento histológico del tejido y sea fácilmente reconocible por el patólogo en el examen microscópico.



Figura 18.- Pigmentación de los límites quirúrgicos ²³



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

TÉCNICA HISTOPATOLÓGICA

La técnica histopatológica incluye una serie de pasos sucesivos para demostrar los diversos componentes de los tejidos por medio de procedimientos físicos y químicos.

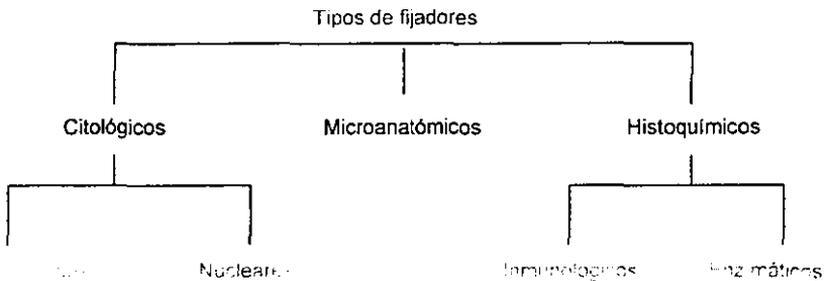
La técnica más utilizada es la de parafina, ya que los cortes obtenidos son nítidos y se observa una morfología celular que permite al patólogo llegar a un diagnóstico definitivo preciso. A continuación se describen los pasos de dicha técnica.³

FIJACIÓN

El propósito de la fijación consiste en la conservación del tejido en condiciones tan naturales como sea posible. La fijación evita los cambios autolíticos o putrefacción de los tejidos, el crecimiento bacteriano y su desecación; coagula el citoplasma y con ello lo hace insoluble, pues endurece el tejido e impide su deformación, de tal manera que puede cortarse con facilidad.

Una adecuada fijación, es probablemente el aspecto técnico más importante del procesamiento de la biopsia.^{4, 5, 28, 29}

TIPOS DE FIJADORES





BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Los tipos de fijadores se pueden clasificar de varias maneras. La que se describe a continuación es una clasificación basada en dos condiciones: si preservan estructuras tisulares o componentes celulares individuales.

a) Histológicos o citológicos.- pretenden conservar la arquitectura y estructura de los tejidos y células, sin considerar los cambios moleculares inducidos sobre sus componentes bioquímicos. Dentro de este grupo, están los que tienen la estructura nuclear como blanco y son llamados nucleares, y los que preservan componentes citoplásmicos, llamados como su nombre lo indica, citoplásmicos.

b) Histoquímicos.- son aquellos que conservan la composición molecular y bioquímica de los tejidos (incluyendo enzimas y antígenos), más que los detalles morfológicos.²⁸

Otra clasificación de los fijadores es de acuerdo a su mecanismo de acción. Existen 5 grupos principales:

- Aldehídos
- Mercuriales
- Alcoholes
- Agentes oxidantes
- Picricos

Los aldehídos incluyen el formaldehído (formalina) y glutaraldehído. Los tejidos son fijados por eslabones formados en las proteínas, particularmente entre residuos de lisina. Estos no dañan la estructura de las proteínas, así que la antigenicidad no se pierde; por lo tanto, el formaldehído es bueno para la técnica de inmunoperoxidasa.

La formalina penetra bien el tejido pero es relativamente lenta. La solución clásica es 10% de formol con pH amortiguado. El amortiguador evita la acidez, la cual puede promover autólisis y causar precipitación del pigmento heme-formol en los tejidos.

El glutaraldehído causa deformación de la estructura de las proteínas por lo que no es bueno para la técnica de inmunoperoxidasa. Sin embargo, fija muy rápido, por lo que se recomienda para microscopio electrónico. El estándar de la solución es de un 2% de glutaraldehído amortiguado.²⁹



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Los mercuriales fijan por un mecanismo desconocido, incluyen fijadores tales como la solución B5 y la de Zenker. Estos fijadores no penetran muy bien, pero son rápidos y tienen excelentes detalles nucleares. Su mayor aplicación es para la fijación de tejidos hematopoyéticos y reticuloendoteliales. Como contienen mercurio deben ser utilizados cuidadosamente. ²⁹

Los alcoholes, incluyendo el alcohol metílico (metanol) y el alcohol etílico (etanol) son desnaturizantes de proteínas por lo que no son utilizados rutinariamente para los tejidos, aunque son muy buenos para frotis citológicos porque actúan rápidamente y proporcionan buen detalle nuclear.

Los agentes oxidantes incluyen fijadores de permanganato (permanganato de potasio), bicromatos (bicromato de potasio) y tetróxido de osmio. Algunos de ellos tienen aplicaciones especiales, pero son usados muy rara vez.

Los pícricos incluyen fijadores como el ácido pícrico, entre ellos está la solución de Bouin. Esta actúa por un mecanismo desconocido. El ácido pícrico en la forma seca es un agente explosivo y como solución, todo lo que toca lo tinte de amarillo, incluyendo la piel. ²⁹

FACTORES QUE AFECTAN LA FIJACIÓN

Amortiguador.- La hipoxia de los tejidos reduce el pH del fijador, por lo que éste debe ser neutralizado para evitar la acidez excesiva, ya que esta favorece la formación del pigmento heme-formalina, que aparece como depósitos negros en el tejido. Los amortiguadores más comunes incluyen fosfato y bicarbonato, entre otros. La formalina comercial está neutralizada con fosfato a un pH 7.

Penetración.- La penetración de los tejidos depende de la difusibilidad de cada fijador. El formol y el alcohol son los que mejor penetran de todos los fijadores.

Volumen.- El volumen de fijador es muy importante. Debe ser en una relación de 10:1 como mínimo.

Temperatura.- El aumento de la temperatura aumentará la velocidad de fijación.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Concentración.- La concentración del fijador debe ser ajustada al nivel más bajo posible, se recomienda formol al 10%. Una concentración alta de fijador puede producir artefactos en el tejido. ²⁹

Intervalo de tiempo.- El tiempo que transcurre entre la remoción del tejido y la fijación es muy importante. Entre más rápido se pueda fijar el tejido es mejor, porque entre más tiempo pase, más organelos celulares se perderán.

USO GENERAL DE LOS FIJADORES

La selección del fijador está basada en la naturaleza de éste, tipo de tejido y los detalles histológicos que serán demostrados.

El formol es utilizado para todas las rutinas de patología quirúrgica cuando va a realizarse la tinción con hematoxilina-eosina.

El fijador de Zenker es recomendado para tejidos reticuloendoteliales, incluyendo ganglios linfáticos, bazo, timo y médula ósea. Esta fija los núcleos muy bien y proporciona buenos detalles, sin embargo, los depósitos de mercurio deben ser removidos (dezenkenizados) antes de la tinción.

La solución de Bouin es recomendada para testículos, tracto gastrointestinal y tejido endócrino.

El glutaraldehído se utiliza para la fijación de los tejidos que van a observarse bajo microscopio electrónico. Este debe estar frío y neutralizado y no tener más de tres meses de antigüedad. El tejido debe estar lo más fresco posible.

Los alcoholes, específicamente el etanol, es utilizado principalmente para frotis citológicos.

LAVADO

El lavado se realiza con agua corriente. Tiene por objeto la eliminación del fijador para que no se precipite y produzca manchas en la preparación. ²⁹



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

DESCALCIFICACIÓN

Consiste en la eliminación del calcio de las muestras óseas o dentales. Existen diferentes métodos para lograr esta, la más empleada es la llamada solución ácida diluida.

DESHIDRATACIÓN

Los tejidos fijados húmedos, no pueden ser directamente inmersos en la parafina. Primero, el agua de los tejidos debe ser eliminada y esto se lleva a cabo mediante la deshidratación. Esta consiste en pasar el tejido por alcoholes de concentración ascendente, empezando por el 30% hasta el 100%, en un aparato denominado *histokinette*, el cual está constituido por un carrusel que gira a intervalos predeterminados mediante un reloj. ²⁹

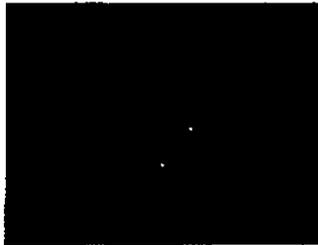


Figura 19.- Histokinette ²⁹

INCLUSIÓN

Consiste en colocar el tejido en un recipiente con parafina líquida con un punto de fusión de 56 a 58°C dentro de una estufa de temperatura fija. Posteriormente se procede a la elaboración de bloques, colocando los tejidos en un molde especial de acero inoxidable con parafina donde se orienta adecuadamente y se coloca sobre ésta una cámara de plástico anotando en ella el número correspondiente, se vierte más parafina y se lleva a la plancha refrigerante. Cuando el bloque de parafina está totalmente frío es sólido y se desprende fácilmente de la cámara de plástico.



CORTE

Consiste en obtener cortes de 5 a 8 micrómetros de espesor, mediante un aparato denominado **mocrotómo**. Posteriormente los cortes se colocan en el baño de flotación con agua caliente de 48 a 50°C, lo cual extiende los cortes y disuelve la parafina. Después son colocados en el portaobjetos y se acomodan en una canastilla de metal, la cual se deja 15 minutos dentro de la estufa para que el tejido se adhiera al portaobjetos. ^{4,29}



Figura 20.- Microtomo ²⁹



Figura 21.- Inclusión ²⁹

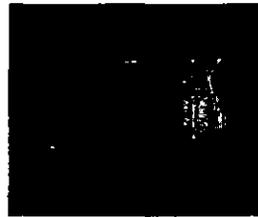


Figura 22.- Muestra lista para la tinción ²⁹



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

TINCIÓN

Resulta necesario dar a los componentes tisulares características cromáticas que permitan distinguir sus elementos. A este paso se le denomina tinción y se basa en la afinidad química que tienen determinados elementos celulares por los colorantes. La tinción más ampliamente usada es la hematoxilina-eosina, sin embargo, en ocasiones se requiere utilizar tinciones especiales para afirmar o descartar diferentes tipos de lesiones y obtener así un diagnóstico preciso.³

En este paso, los portaobjetos se pasan por diferentes cajas que contienen las soluciones para llevar a cabo la tinción.

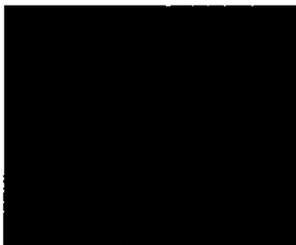


Figura 23.- Tinciones²⁸

MONTAJE

Después de la tinción se elimina el exceso de colorantes. Para que la preparación sea permanente, es necesario colocar una gota del medio de montajes (ej., bálsamo de Canadá), se tapa con un cubreobjetos y se deja secar. Después de esto las laminillas están listas para observarse al microscopio.^{3,28}

EXAMEN MICROSCÓPICO

El examen microscópico tiene como finalidad la descripción narrativa de las características encontradas en la muestra al observarla al microscopio. Con esto, el patólogo podrá dar un diagnóstico definitivo.⁵



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

INFORME DEL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Posterior a la descripción macroscópica, procesamiento del tejido y a la examinación microscópica, el patólogo remite un informe escrito del resultado final de la biopsia estudiada, es decir, su diagnóstico histopatológico. El informe consiste esencialmente en:

- 1.- Identificación de la muestra.- nombre del paciente, edad, sexo, procedencia, fecha de recibido.
- 2.- Reporte macroscópico.- explicación macroscópica del material recibido.
- 3.- Reporte microscópico.- explicación microscópica de la muestra en forma breve y clara.
- 4.- Diagnóstico.- el diagnóstico final de la evaluación histopatológica de la muestra, que debe ser por lo general corto y concreto, para orientar al clínico en su conducta terapéutica. ³
- 5.- Observaciones.- si se utilizaron tinciones especiales, o alguna recomendación o comentario hacia el clínico que el patólogo crea necesario.



TINCIONES ESPECIALES

Existe una gran variedad de técnicas de tinción. La mayoría de los laboratorios utilizan hematoxilina y eosina como técnica básica, realizando otras tinciones adicionales con reactivos especiales cuando el caso lo requiere.

TINCIONES PARA MUCINA

.- Pueden encontrarse Existen muchas tinciones para mucina, que intentan demostrar uno o más tipos de mucopolisacáridos en los tejidos. Los tipos de mucopolisacáridos son los siguientes:

Neutros encontrarse en glándulas del tracto gastrointestinal y en próstata. Se pueden teñir con PAS pero no con azul alciano, hierro coloidal, mucicarmina o tintes metacromáticos.

Ácido (simple o no sulfatado).- Son las típicas mucinas de las células epiteliales que contienen ácido siálico. Se tiñen con PAS, azul alciano con pH de 2.5, con hierro coloidal, y pigmentos metacromáticos. Resisten la digestión de la hialuronidasa.

Ácido (simple, mesenquimal).- Estos contienen ácido hialurónico y se encuentran en el estroma del tejido. No se tiñen con PAS, pero sí con azul alciano con un pH de 2.5, hierro coloidal y varios metacromáticos. Se digieren con el ácido hialurónico. Pueden encontrarse en los sarcomas.

Ácido (complejo, sulfatado o epitelial).- Se encuentran en adenocarcinomas. Usualmente con PAS son positivos. También el azul alciano es positivo con un pH 1, hierro coloidal, mucicarmina y a las tinciones metacromáticas. Resisten la digestión con hialuronidasa.

Ácido (complejos, tejido conjuntivo).- Se encuentran en estroma, cartílago, hueso e incluyen sustancias como condroitín sulfato o el queratán sulfato. Con PAS son negativos, pero se tiñen selectivamente con azul alciano con un pH de 0.5. ^{11,19}



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Las tinciones para mucina son las siguientes:

Hierro coloidal ("AMP"). Las partículas de hierro se estabilizan en amonía y glicerina y son atraídas por los mucopolisacáridos ácidos. Requiere fijación con formalina. Los fosfolípidos y los ácidos nucleicos libres también pueden tefirse. El color azul proviene de una reacción con azul de Prusia. El tejido puede digerirse con hialuronidasa para ofrecer mas especificidad.

Ázul alciano. El pH de esta tinción puede ajustarse para dar más especificidad.

PAS (ácido peryódico de Schiff). Tiñe al glucógeno como a las mucinas, pero el tejido puede digerirse con diastasa para remover el glucógeno.

Mucicarmina. Muy específicas para las mucinas epiteliales.

La tinción con más especificidad es la mucicarmina, pero es muy insensible, por lo que no es realmente muy utilizada. La tinción más sensible es el PAS, pero debe aprenderse a interpretar para obtener especificidad. Las tinciones con hierrocoloidal son impredecibles. Las tinciones con azul alciano son simples pero les falta tinción de fondo (para mayor contraste).^{11, 19}

TINCIONES PARA AMINAS BIOGENÉTICAS

Las células que producen hormonas polipeptídicas, aminas vasoactivas o precursores de aminas (epinefrina, norepinefrina) pueden encontrarse individualmente (célula de Kulchitsky del tracto gastrointestinal) o en grupos (médula adrenal). La siguiente es la clasificación clásica de los patrones de tinción que se basa en la habilidad de las células para reducir nitrato de plata amoniacal o plata metálica (depósitos negros en los cortes de tejido):

- Cromafines
- Argentafines
- Argirófilos (se requiere un paso de preinducción)¹⁹



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

La diferencia entre cromafines y argentafines es artificial, puesto que depende del fijador empleado. Las células "Cromafines" tienen gránulos citoplásmicos que aparecen cafés cuando se fijan con una solución de dicromato. Las células "argentafines" reducen una solución de plata a plata metálica después de fijarlas en formalina. 19

Cada reacción se producirá dependiendo del fijador empleado. Tradicionalmente, la reacción cromafin se asocia con los tejidos de médula adrenal o con los tejidos paraganglionares extraadrenales (feocromocitomas), y la reacción argentafin se asocia con los tumores carcinoides de la gota. Empleando un paso de preinducción pueden tefirse más células, pero entonces se llamarán "argirófilas".

Los tipos de tinción cromafines incluyen:

- Giemsa modificada
- Tinción de Schmorl
- Tinción de Wiesel

Los tipos de tinción argentafines incluyen:

- Diazo (sales de diazonio)
- Fontana-Masson
- Tinción de Schmorl
- Autofluorescencia

Los tipos de tinción argirófilas incluyen:

- Tinción de Grimelius (se prefiere el fijador de Bouin)
- Tinción de Pascual 19



TINCIONES PARA MELANINA

La melanina se encuentra normalmente en la piel, los ojos y en la sustancia nigra. También puede encontrarse en los melanomas. Las tinciones para melaninas más utilizadas son Fontana-Masson y la de Schmorl. El método más específico es el DOPA-oxidasa. ¹⁸

TINCIONES PARA TEJIDO CONJUNTIVO

La tinción tricrómica de Masson resalta el tejido conjuntivo de un color azul o verde. La de reticulina muestra la arquitectura del parénquima glandular. La tinción de Van Gieson para fibras elásticas es útil en el estudio de los vasos sanguíneos; con ésta, el tejido elástico se tiñe de negro, el colágeno de rojo y el músculo liso de amarillo. ^{11, 19}

TINCIONES PARA MICROORGANISMOS

Estas incluyen técnicas para bacterias grampositivas, gramnegativas, alcohol resistentes, hongos y parásitos. La tinción de Gram destaca bien las bacterias grampositivas, pero no las gramnegativas porque la pared lipídica se pierde durante el procesamiento.

Para bacilos alcohol resistentes como el *M. Tuberculosis* puede utilizarse el método de Ziehl-Neelsen o el de Kinyoun. La más sensible es la tinción con auramina y observados con microscopio de fluorescencia. ^{11, 19}

PAS (ÁCIDO PERYÓDICO DE SCHIFF)

Esta tinción contiene grupos glicol o sus derivados amino o alquilamino, los cuales son oxidados por el ácido peryódico para formar dialdehídos, los cuales se combinan con el reactivo de Schiff y forman un compuesto magenta insoluble. Esta tinción demuestra glucógeno, mucina, reticulina, membrana basal, amiloide, depósitos hialino de la arterioesclerosis y muchos tipos de hongos y parásitos. ^{11, 19, 24}



TINCIÓN PARA SUSTANCIA AMILOIDE

En ocasiones se efectúan biopsias de lengua con el fin de confirmar o excluir el diagnóstico de amiloidosis. En las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, la sustancia amiloide presenta un aspecto cristalino homogéneo de color rosa claro. Si se sospecha la presencia de dicha sustancia, deberán teñirse otros cortes con violeta de metilo o cristal violeta, reactivos con los que dicha sustancia se tiñen metacromáticamente y aparece una coloración rosada que contrasta con el violeta de los demás tejidos.

Para la microcopia de fluorescencia, el método más sensible que se emplea para esta sustancia, es la Tioflavina T.^{11,24}



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

CONCLUSIONES

La biopsia es un método de diagnóstico que consiste en la obtención de un fragmento de tejido vivo, tanto para su estudio macro como microscópico. Es un procedimiento rápido, fácil de realizar y que no pone en riesgo la vida del paciente, sino al contrario, en muchas ocasiones al realizar una biopsia en neoplasias malignas, benignas y/o lesiones cancerizables en estadios tempranos, puede llegar a salvar la vida del paciente, proporcionándole un mejor tratamiento y evitando cirugías radicales.

El objetivo principal para la realización de una biopsia es establecer un diagnóstico definitivo de una lesión con diagnóstico clínico presuntivo. Es un procedimiento útil que debería usarse de rutina en el consultorio dental.

Existen diferentes tipos de biopsia que se clasifican dependiendo de la técnica empleada y del momento en que ésta se lleva a cabo. Las más comunes en odontología son: la biopsia incisional, biopsia excisional, por aspiración y la técnica de punch. De cada una de ellas se deberán tener en cuenta las indicaciones y contraindicaciones para disminuir el riesgo de alguna complicación.

Al realizar la biopsia, es importante el manejo cuidadoso de la muestra para evitar la presencia de artefactos que pueden hacer difícil o hasta imposible el diagnóstico.

El Cirujano Dentista debe tener presente la importancia que la biopsia representa en la práctica diaria y tener conciencia para realizar, no muchas biopsias, sino las necesarias en beneficio de la salud de los pacientes.



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

GLOSARIO

Amiloidosis. Trastorno caracterizado por la acumulación de sustancia amiloide en los tejidos del hígado, bazo, riñones, corazón o lengua. La sustancia amiloide dificulta la función normal del órgano en el que se acumula.

Amortiguador. Compuesto químico que hace que se mantenga constante, dentro de ciertos límites, el pH de una solución, aunque se añadan ácidos o alcalinos a la misma.

Antígeno. Sustancia que cuando se introduce en el organismo estimula la producción de entidades específicas (anticuerpos) que reaccionan o se unen con la sustancia introducida (antígeno).

Atipia. Desviación del estado normal o típico.

Autólisis. Desintegración de las células por la acción de sus propias enzimas.

Desecación. Eliminación del agua.

Enzima. Catalizador orgánico producido en el interior de un organismo. Sustancia capaz de acelerar o provocar ciertos procesos químicos.

Hematopoyético. Perteneciente o relativo a la formación de células sanguíneas. Agente que promueve la formación de células sanguíneas.

Hiperplasia. Formación de tejido patológico a expensas de tejido sano.

Hipoxia. Estado en que hay una falta o contenido bajo de oxígeno en los tejidos del cuerpo, debido generalmente a la reducción en la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre.

Metástasis. Transferencia de una neoplasia maligna de un órgano a otro, no directamente relacionado con ella. Son implantes tumorales separados del tumor primario.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

Necrosis. Muerte de una zona limitada de tejido dentro de un órgano.

Neoplasia. Cualquier crecimiento nuevo y anormal, en especial aquel cuya multiplicación celular es incontrolable y progresiva.

Putrefacción. Descomposición de las proteínas por microorganismos, con desprendimiento de olores desagradables.

pH. Símbolo para indicar el grado de acidez o de alcalinidad real de una solución.

Resección. Extirpación de una parte o todo un órgano o estructura.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Kahn M.A. *Cuando obtener biopsias de la mucosa bucal en el consultorio de estomatología general*. Dental Abstracts en Español. 1998. Vol 6. p. 174.
- 2.- Vargas O.F. *The therm biopsy*. Gaceta Médica Mexicana. 1995 (131) 5-6. p. 628.
- 3.- Peña T.L. *Importancia de la biopsia en la práctica odontológica*. Práctica odontológica. 1985 (10) 7. p 21-30.
- 4.- Peña T.L. *Importancia de la biopsia en la práctica odontológica*. Segunda parte. Práctica Odontológica. 1985 (10) 8. p. 35-40.
- 5.- <http://www.neosoft.com/~uthman/biopsy.html>. *The biopsy report: A patient's guide*.
- 6.- Hardy. J.D. *Manual para biopsias*. Edit. Ediciones Bernades. 1961. p. 1-65.
- 7.- Ashok R.S. *Biopsy technique in head and neck*. Surg. Oncology Clinics of North America. 1995.(4) 1. p. 15-29.
- 8.- Daley T.D. et al. *Oral Biopsy technique. The Pathologist's perspective*. J. Canad Dent Assn. 1986. No. 7. p. 591-595.
- 9.- *Biopsy: who, when, where*. Texas Dent. Journal. 1988. Vol 7. p. 6-9.
- 10.- Ladrón de Guevara C.R. *La biopsia de glándulas salivales menores*. Rev. Dent. Chile. 1990 (82) 2. p. 105-107.
- 11.- Rosai J. *Ackerman's Surgical pathology*. 1996. Vol 1. 8ª edic. Edit. Mosby. p. 7-31.
- 12.- Zegarrelli D.J. *Commun problems in biopsy procedure*. J. Oral Surgery. 1978. Vol 36. August. p. 644-647.
- 13.- Weir. J.C. A. *Fixation artifact simulating acantholytic disease*. Oral Surgery. 1976 (41) 1. January. p. 105-108.
- 14.- Margarone J. E. *Artifacts in oral Biopsy Specimens*. J. Oral maxillofac. Surg. 1985. p 163-172.
- 15.- Lynch D.P. *The oral mucosal punch biopsy: indications and technique*. J. Am. Dent. Assoc. 1990. Vol. 121. Julio.
- 16.- Eisen D. *The oral Mucosal punch biopsy*. Arch. Dermatol. 1992. Vol. 128. June. p. 815-817.
- 17.- Barbosa Q. O. y cols. *Utilidad de la biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) en el diagnóstico preoperatorio de tumores óseos*. Patología. 1998 (36) 1. p. 53-59.



BIOPSIA Y SU PROCESAMIENTO HISTOPATOLÓGICO

- 18.- Moule. I. *Avoiding artefacts in oral biopsies: the punch biopsy versus the incisional biopsy*. Br. J. of Oral and Maxillofac. Surg. 1995. Vol. 33. p. 244-247.
- 19.- www.Special Stain.html. *Special Stains in Histology*. 1999
- 20.- Ramos M.E. et al. *Biopsia transoperatoria con congelación. Análisis de 506 casos*. Patología. 1988 (26) 3:113-118.
- 21.- Buley. I.D. *Fine needle aspiration of lymph nodes*. J. Clin Pathol. 1998 (51). July. p 815-885.
- 22.- Ochoa C.F. *Neoplasias Orales*. UNAM. México 1995. p. 153-159.
- 23.- Cramer H. et al. *Intraoral and transoral fine needle aspiration*. Acta Cytol. 1995 (39) 4. p. 683-688.
- 24.- Read. A.E. *La biopsia en medicina clínica*. 1969. p. 14-21.
- 25.- Platt J.C. *Fine-needle aspiration biopsy in oral and maxillofacial Surgery*. Oral Med Oral Pathol. 1993 (75) 2. p. 152-155.
- 26.- Romero G.M. *Biopsia por aspiración en lesiones de glándulas salivales mayores*. Patología. 1998 (36) 1. p. 33-36.
- 27.- Carson J.H. *Unsatisfactory aspirates from fine-needle aspiration biopsies: A review*. Diag Cytol. 1995 (21) 3. p. 280-283.
- 28.- <http://members.pgonline.com/bryand/preserve/fixeff.htm>. *The preservation characteristics of fixatives*. 1999.
- 29.- www-medlib.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/HISTOTCH/HISTOTCH.html#11. *Histotechnology*. 1999.
- 30.- Eversole R.L. *Laser artifacts and diagnostic biopsy*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997 (83) 6. p. 639-640.
- 31.- Convissar A.R. *Laser biopsy artefact*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997 (84) 5. p. 458.
- 32.- *Oral CDx*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1999.