

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE MEDICINA.
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO.
FUNDACION HOSPITAL "NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ".
DEPARTAMENTO DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS OCULARES.
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA OCULAR.

CITOLOGÍA VÍTREA EN ENFERMEDADES
INFLAMATORIAS.

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

CIRUJANO OFTALMÓLOGO

P R E S E N T A:

DR. FRANCISCO SALAS TORRES.

ASESORES: DR. ELLERY MARINO LOPEZ STAR.
DR. FRANCISCO MARTINEZ CASTRO.
DR. LEONARDO VILLALVAZO CORDERO.
DRA. MARIA TERESA VALDEZ GONZÁLEZ.

2006.

MÉXICO, D. F.

ENERO



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.

AGRADECIMIENTOS

A Dios: quien me permite existir y seguir existiendo, por su fortaleza y bendita paciencia.

A mis Padres: por ser el vehículo de mi vida, por su apoyo incondicional y todo el amor que depositaron en mí.

A mis Hermanos: por permitir compartir todos aquellos momentos de alegría y desaliento.

A cada uno de mis compañeros quienes juntos aprendimos a disfrutar el placer y el yugo por la oftalmología.

Al Dr. Ellery López, Dr. Francisco Martínez y al Dr. Leonardo Villalvazo quienes depositaron su confianza en mi esfuerzo.

A ti, quien en los momentos más difíciles de mi vida o cuando más flaqueaba mi bolsillo, estabas ahí... (Pa').

Por todo y a todos.

Gracias!

INDICE.

| | |
|--|----------|
| INTRODUCCIÓN. | 4 - 5. |
| MARCO TEÓRICO. | 6- 11. |
| JUSTIFICACIÓN. | 12. |
| OBJETIVOS. | 13. |
| MATERIAL Y MÉTODO. | 14. |
| RESULTADOS. | 15 – 16. |
| DISCUSIÓN. | 17 – 18. |
| CONCLUSIONES. | 19. |
| ANEXO I | |
| TABLAS | 20. |
| ANEXO II. | |
| GRÁFICO. | 21. |
| ANEXO III. | |
| ILUSTRACIONES (METODOLOGÍA). | 22 – 26. |
| ANEXO IV. | |
| ILUSTRACIONES (HALLAZGOS CITOLÓGICOS). | 27 – 28. |
| BIBLIOGRAFÍA. | 29. |

INTRODUCCIÓN.

Un citopatólogo experimentado probablemente no reciba muchas muestras citológicas oculares, ya que las indicaciones para realizar un estudio citológico ocular son reducidas. La reticencia por parte del oftalmólogo a emplear la citología en la práctica clínica diaria no se debe a una resistencia obstinada sino más bien a cuestiones prácticas.

Sin embargo, existen ciertas situaciones clínicas en las que el examen citológico de los tejidos o de los fluidos oculares es prácticamente insustituible. Antes de profundizar debemos tomar en cuenta la relevancia que la visión tiene para el paciente y la gran cantidad de medios empleados por los oftalmólogos para tratar de conservar incluso cantidades mínimas de visión de los pacientes con enfermedades visuales. De hecho, los oftalmólogos a menudo adaptaran medidas heroicas para conservar vestigios mínimos de función visual y hacer frente al terror que sufren los pacientes ante la ceguera.

Los citólogos pueden ser requeridos para estudiar muestras citológicas vítreas en dos situaciones clínicas: la evaluación del material obtenido durante la cirugía del vítreo (vitrectomía) o la biopsia dirigida del vítreo con fines diagnósticos.

Existen numerosas indicaciones para realizar un vitrectomía. A menudo los oftalmólogos emplean esta técnica como parte del tratamiento quirúrgico de desprendimiento de retina. Otras indicaciones frecuentes consisten en la eliminación de una hemorragia vítrea o de membranas inflamatorias. Para practicar una vitrectomía, el oftalmólogo realiza varias esclerotomías en el ojo, por lo general a través de la pars plana del cuerpo ciliar para introducir los

instrumentos quirúrgicos, con los que se realiza la disección, cánulas para la infusión para líquidos y, en ocasiones fuentes de iluminación. Se pueden acoplar colectores a los tubos de los instrumentos de vitrectomía para recoger muestras del material obtenido durante la misma, pero resulta evidentemente que dicho material se encontrara diluido por el líquido de infusión. Por lo tanto, el procesado de las muestras de una vitrectomía en el laboratorio de citología requiere bloque celulares o procedimientos para concentrar la muestra (centrifugado)(1).

MARCO TEÓRICO.

CITOLOGÍA VÍTREA.

El estudio de células inflamatorias ó tumorales del gel vítreo obtenido mediante vitrectomía con técnicas citológica ha permitido lograr avances en el conocimiento de la patogénesis de la enfermedad inflamatoria ocular y, por lo tanto, establecer la efectividad de diferentes terapéuticas.

Por otra parte la cirugía de la vitrectomía en las uveítis posibilita el tratamiento de las complicaciones vitreoretinianas secundarias. Así mismo la vitrectomía puede tener un papel sobre el control de la inflamación intraocular en casos de fallo al tratamiento médico.

El vítreo normal es prácticamente acelular, y en las extensiones aparece como un material amorfo que con frecuencia muestra la cristalización en helecho característica de los materiales viscosos. Pueden observarse algunos elementos celulares aislados, probablemente de tipo histiocitario, que podría corresponder a los que en los cortes histológicos aparecen en la periferia del cuerpo vítreo. Aparte de los elementos normales del vítreo, es preciso reconocer otras estructuras que

pueden desprenderse por manipulación inherente a la vitrectomía como las células retinianas gliales, pigmento ó células del cuerpo ciliar.

La presencia de polimorfonucleares indica un proceso inflamatorio agudo. El agente causal en algunas enfermedades infecciosas puede identificarse morfológicamente. En cambio en los procesos inflamatorios crónicos y víricos predominan los linfocitos. En las fases activas de estas enfermedades se observa una población variada, con linfocitos maduros, linfocitos activados y monocitos. Los hongos se pueden observar mediante tinciones especiales como la reacción del ácido periódico de Schiff (PAS). Las inclusiones de citomegalovirus también se puede observar si la celularidad está preservada incluso los quistes de toxoplasma.

Para el diagnóstico de facoanafilaxis es fundamental, aparte de la información clínica, reconocer los fragmentos de cristalino, que se encuentran con material denso, a veces estriado, y con frecuencia parcialmente revestidos por epitelio. Suele haber macrófagos alrededor del material cristaliniario.

Los tumores intraoculares pueden descamar células en el vítreo, siendo más frecuente en los tumores que infiltran de forma difusa como los linfomas primarios oculares. En ocasiones se han descrito en melanomas coroides y metastasis coroides por carcinoma.

TECNICA QUIRÚRGICA DE LA VITRECTOMIA DIAGNÓSTICA.

El gel vítreo a diferencia de otras estructuras intraoculares, es accesible para conseguir una biopsia con una mínima alteración de la función visual y de la integridad ocular. La morbilidad de la vitrectomía diagnóstica es baja, aunque debe de tomarse en cuenta que los pacientes con historia de inflamación intraocular pueden tener condicionantes especiales de riesgo como la presencia de adhesiones vitreo-retinianas o fibrosis de la base del vítreo con el consiguiente riesgo de complicaciones quirúrgicas.

La vitrectomía se puede realizar por una sola vía o utilizando tres vías (fig. 1). Una sola vía se prefiere cuando únicamente se desea tomar biopsia para el diagnóstico, en cambio tres vías nos permite realizar diagnóstico y tratamiento.

PROCESADO DEL ASPIRADO VITREO.

El gel vítreo una vez extraído se debe procesar rápidamente. Existe poca experiencia en el uso de conservadores, pero actualmente, la refrigeración a 4°

centígrados es preferible a cualquier fijador antes del procesamiento de la muestra. De tal forma que obtenido la muestra de vítreo debe ser remitida a los diferentes laboratorios: microbiología, citología e inmunología ya que deben de ser procesadas con rapidez para que el material no sufra degradación biológica.

Existen dos formas de obtención del vítreo:

1.- No diluida, la cual se procesa para estudio de cultivo, citopatología, PCR y determinación de anticuerpos local.

2.- Diluida, es útil para técnicas de citología (citología de flujo e inmunohistoquímica) y cultivo.

El tipo de procesamiento de las muestras depende de las características del material. Si por el aspecto macroscópico, el vítreo obtenido es denso, es preferible realizar extensiones directas, ya que la centrifugación es poco útil para concentrar células en líquidos con viscosidad alta y las células quedan atrapadas en fragmentos de vítreo y no sedimentan. Si el gel vítreo es más fluido se pueden practicar técnicas de concentración. Se utilizan los filtros de membrana tipo milipore (0,22 micras) ya que ofrecen mejores resultados que otras técnicas. Sin embargo actualmente se prefiere la citocentrifugación a 700 revoluciones/min durante 5 minutos ya que produce extensiones ricas en células y bien preservadas y con la ventaja que su aplicación es más sencilla.

La muestra diluida debe centrifugarse primero a 4 grados centígrados durante 5 minutos a 3.000 rev/min. Parte del sedimento puede suspenderse y citocentrifugarse, mientras que el resto puede utilizarse para la elaboración de bloques celulares. El bloque celular permite tratar el material como una biopsia, permitiendo identificar mejor los fragmentos de cristalino ó o membranas que se pueden encontrar. La morfología celular está alterada por el procesamiento, en cambio el bloque permite efectuar secciones seriadas para identificar la estirpe de los elementos celulares con distintas técnicas (2).

Las tinciones de rutina para el estudio citológico son el Papanicolaou o Diff-Quick (Romanowski), sobre todo cuando no se dispone de bloque, reservar extensiones para técnicas especiales.

INDICACIONES DE LA VITRECTOMIA DIAGNÓSTICA.

Las principales indicaciones para la vitrectomía diagnóstica incluyen aquellos casos con una presentación atípica, que no responden a una terapia convencional o en aquellos casos que se sospeche de infección o neoplasias.

1.- Enfermedades infecciosas intraoculares:

-Citomegalovirus.

-Herpes simple.

-Herpes zoster

Sobre todo en estos casos virales el PCR ha demostrado gran utilidad para demostrar el DNA de estos agentes virales.

- Candida Albicans.

2.- Neoplasias intraoculares.

- Linfoma primario ocular.

- Linfoma Burkitt.

- Leucemia mieloide crónica.

- Leucemia aguda linfoblástica.

- Melanoma cutáneo con infiltración a vítreo.

3.- Síndrome de enmascarada.

- Cuerpo extraño intraocular.

- Enfermedad de Whipple.

- Amiloidosis.

JUSTIFICACIÓN.

El diagnóstico de la mayoría de las infecciones intraoculares de basa en el aspecto clínico de las lesiones oftalmológicas. No obstante, las formas precoces de la infección o en formas atípicas se requieren pruebas diagnósticas para confirmarlo e iniciar un tratamiento específico. La mayoría de las exploraciones diagnósticas a partir de los fluidos y tejidos intraoculares tiene el inconveniente del poco volumen que puede obtenerse y la necesidad de realizar aislamientos de ciertos microorganismos , fundamentalmente virus, a partir de fragmentos de corio-retina obtenidos por biopsia endocular que tiene un alto porcentaje de complicaciones intra y posquirúrgicas.

OBJETIVOS:

Principal: Protocolizar una técnica para el análisis citológico de muestras vítreas en pacientes con enfermedad inflamatoria.

Secundario: Correlación de los resultados citológicos con la entidad clínica.

MATERIAL Y MÉTODO.

Estudio prospectivo, descriptivo, transversal y observacional, en los ojos de los pacientes con uveítis posterior del departamento de Enfermedades inflamatorias y Patología de la Fundación Hospital “Nuestra Señora de la Luz” IAP, en el periodo comprendido de marzo del 2005 a septiembre de 2005.

a) Se obtuvo la biopsia vitrea diluida, mediante vitrectomía pars plana tres vías, b) posteriormente una muestra representativa de la misma (5 ml.), se centrifugó a 2700 revoluciones por minuto durante 13 min para obtener el sedimento, c) el cual se extendió en las laminillas mediante técnica de monocapa, d) se fijo mediante una fuente de calor (mechero de alcohol) a una altura de 10cm, e) obteniéndose dos laminillas una de las cuales se tiño con papanicolau, f) otra con técnica de Diff-Quick g) y por último su interpretación por el patólogo de la institución (fig.2 a, b, c, d, f, g y h).

Criterios de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de uveítis posterior de diagnóstico conocido o presuntivo y vitritis grado III o IV que no respondieron a manejo médico.

RESULTADOS:

Se estudiaron 14 muestras vítreas de 14 pacientes que contaban con el diagnóstico de uveítis posterior, el 86 % fueron hombres y el 14 % fueron mujeres. El promedio de edad en este grupo fue de 32.84 años (rango de edad de 6-78 años). Los diagnósticos clínicos con el que se envió la muestra fueron: Pars planitis en 5 casos, toxoplasmosis 2 casos, endoftalmitis probablemente bacteriana en 2 casos, síndrome de Vogt Koyanagi Harada, síndrome fibrinoide, retinitis por probable herpes, síndrome de recuperación inmune, caso inespecífico 1 caso respectivamente (Cuadro 1). La calidad en el procesamiento de la muestra de acuerdo a los criterios citológicos se calificó como mala, regular y buena en base a las características encontradas en el frotis; de acuerdo a esto, el 43 % (n=6) fue mala, 36 % (n=5) regular y 21% (n=3) buena calidad de la muestra (Gráfico 1). Con respecto a los hallazgos citológicos observamos que en 9 casos se encontró detritus celulares que van de una cruz a dos cruces, y que correlacionando con la calidad de la muestra, 6 de los 10 casos presentaban mala calidad de la muestra, un caso con buena calidad, y otro con regular calidad de la muestra y el resto no mostró detritus celulares (Fig.3). De los componentes acelulares estudiados encontramos que en 7 casos el material proteínaceo figuró principalmente y solo en dos casos el material fibrinoide, que uno de ellos correspondía al paciente con síndrome fibrinoide, y un último con características amorfas (Fig.4). Las células inflamatorias estudiadas fueron linfocitos, polimorfonucleares (PMN), macrófagos (MAC), y células plasmáticas. En 7 casos presentaron polimorfonucleares que van de una a tres cruces, 6 casos

presentaron macrófagos, 5 casos células plasmáticas, 4 casos linfocitos (Fig. 5). Otra de las observaciones que se puede mencionar es que 7 casos mostraron eritrocitos y en la mitad de los casos estaban lisados. 6 de los casos mostraron bacterias de dos a tres cruces desde aspecto cocoide, bacilar o mixta. Dos casos, uno de ellos con diagnóstico de toxoplasmosis y otro con retinitis por probable herpes ocular mostraron además esporas de *Candida*. En cuanto a la correlación clínica-citológica observamos que en 10 casos si existió una correlación directa, sin embargo, en un caso que se tenía como diagnóstico clínico de toxoplasmosis ocular citológicamente resulto ser compatible con candidiasis ocular, así mismo ocurrió con el caso que contaba con diagnóstico de retinitis por herpes resulto infección mixta (*Candida* y bacterias), y en un caso con diagnóstico clínico de VKH resulto una muestra no valorable.

DISCUSIÓN.

El principal reto ante la práctica de la citología vitrea reside en la interpretación de la muestra, sino también el entendimiento de las indicaciones precisas para obtenerla y procesarla, así como las implicaciones que en el diagnóstico pueda tener sobre el tratamiento de la afección ocular. A diferencia de otras subespecialidades quirúrgicas el oftalmólogo no suele estar bien entrenado para la obtención y procesamiento de muestras citológicas. Sin embargo, el estudio citológico de los tejidos y líquidos oculares pueden desempeñar un papel significativo en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades oftalmológicas. La utilidad del estudio citológico en oftalmología es directamente al nivel de comunicación entre el patólogo y el cirujano.

Como sabemos las muestras vítreas deben ser procesadas de forma inmediata para que estas puedan mantener sus propiedades o bien ser conservadas a 4 grados centígrados antes de ser procesadas. Una de las razones por el que obtuvimos calidad mala o regular de las muestras fue por que 5 de mala calidad no se proceso de forma inmediata, si no hasta 20 minutos mas tarde y el resto probablemente el que las muestras estaban muy diluidas (muestras de 75 mil) que impidieron la concentración adecuada de la muestra a pesar de un buen centrifugado, en cambio las muestras con buena calidad el contenido del material diluido fue de 45 a 50 mil., esto es uno de los aspectos que aunque obvio

debemos tomar en cuenta para la toma de la muestra. La presencia de detritus celulares se presento en mayor frecuencia en casos con pars planitis.

Las características celulares que encontramos en nuestras muestras citológicas compatibles con aquellas que se reportan en la literatura de las diferentes entidades patológicas.

CONCLUSIONES.

Al término de nuestra investigación logramos estandarizar una técnica para el análisis citológico de muestras vítreas en enfermedades inflamatoria. El procesamiento es fácil, accesible, y confiable, sin embargo necesitamos un procedimiento que debemos tomar muy en serio para la fiabilidad de los resultados. El oftalmólogo necesita de la disponibilidad, paciencia, conocimiento del manejo de la toma de biopsia, traslado, mantenimiento, extendido y tinción de la muestra para evitar errores en los resultados.

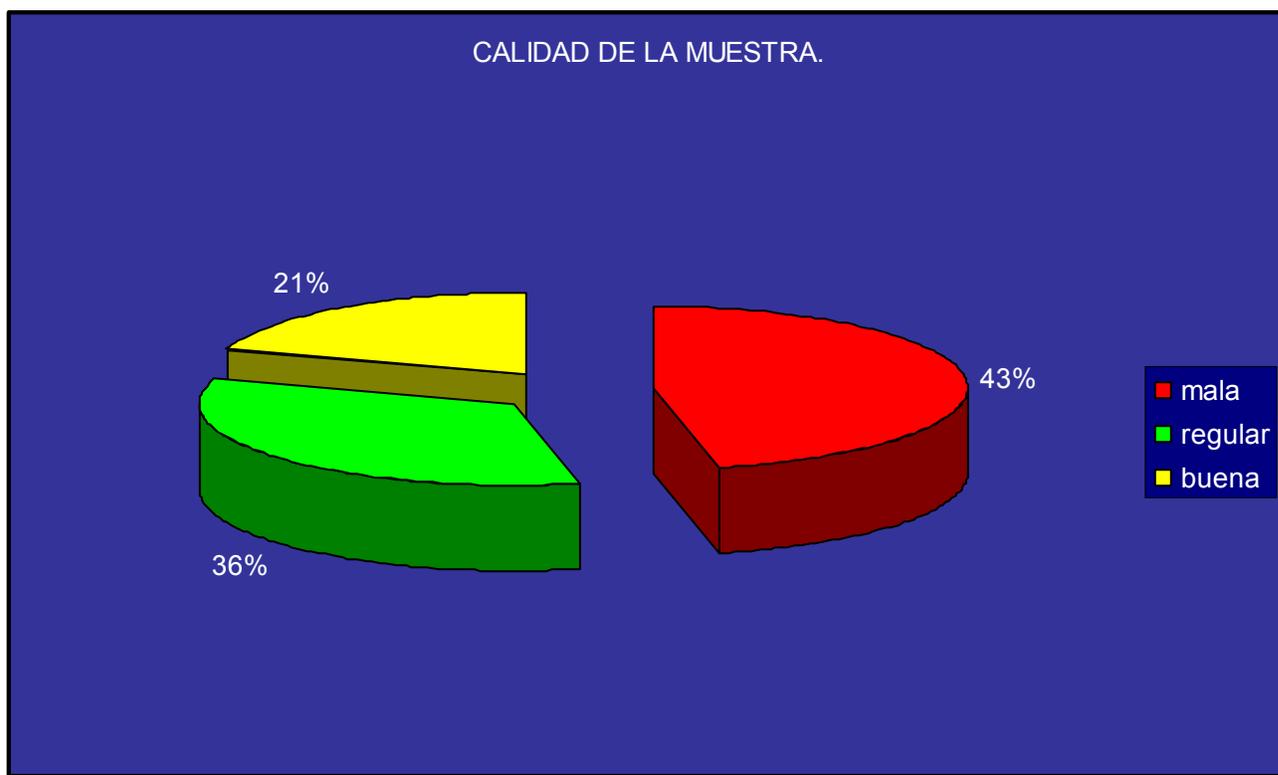
ANEXO I. FRECUENCIA DE CASOS

Cuadro 1. Diagnóstico clínico.

| Diagnóstico clínico | Número de casos |
|--------------------------------|------------------------|
| Pars planitis. | 5 |
| Toxoplasmosis. | 2 |
| Endoftalmitis pb., bacteriana. | 2 |
| Sx. Vogt Koyanagi Harada. | 1 |
| Sx. Fibrinoide. | 1 |
| Retinitis por Pb., Herpes. | 1 |
| Sx. de recuperación inmune. | 1 |
| Uveítis posterior en estudio. | 1 |

ANEXO II. CALIDAD DE LA MUESTRA.

Gráfico 1. Calidad de la Muestra.



ANEXO III. METODOLOGÍA

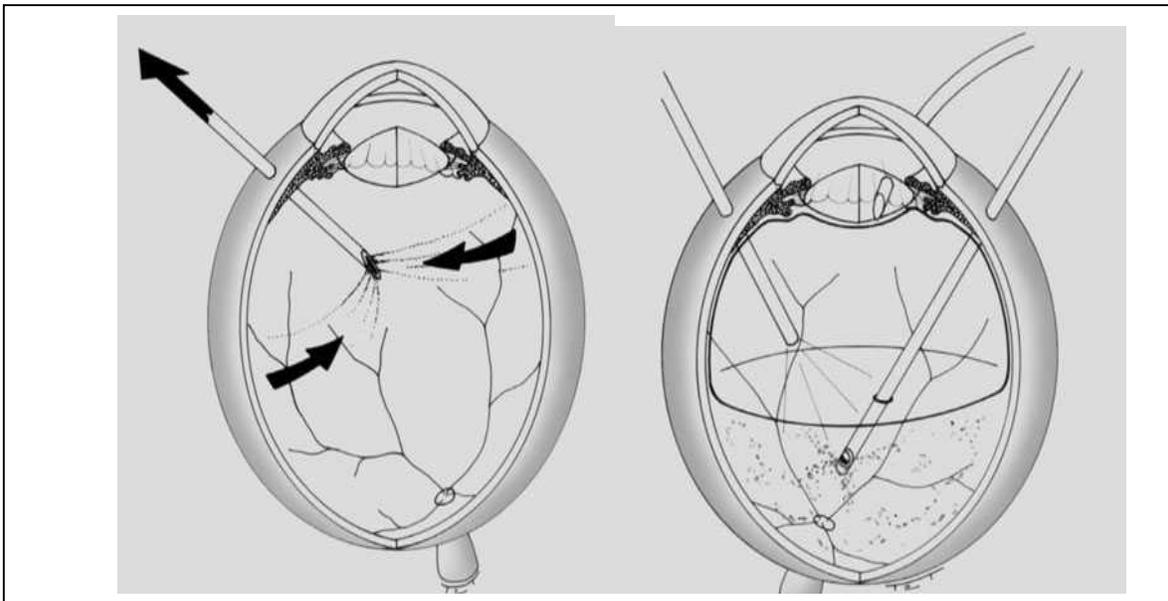


Fig. 1 Vitrectomía pars plana una y tres vías.

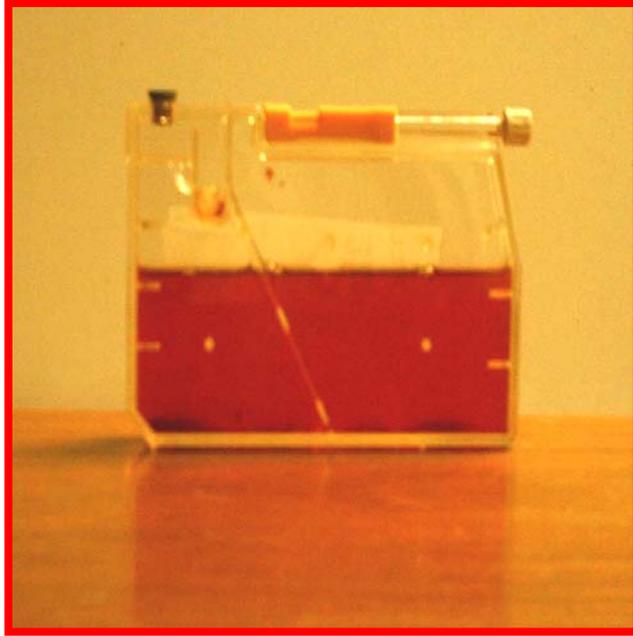


Fig. 2 a muestra vítrea diluida.



Fig. 2b. Muestra diluida representativa (5 ml.).



Fig. 2c. Extendido del centrifugado en laminillas y técnica de monocapa.



Fig.2d. Fijación de la muestra citológica en fuente de calor.



Fig. 2e. Tinción de muestra citológica en técnica de papanicolaou.



Fig.2f. Tinción de la muestra citológica en técnica de Diff-Quick.



Fig.2g. Interpretación por el patólogo.

ANEXO IV. HALLAZGOS CITOLÓGICOS.

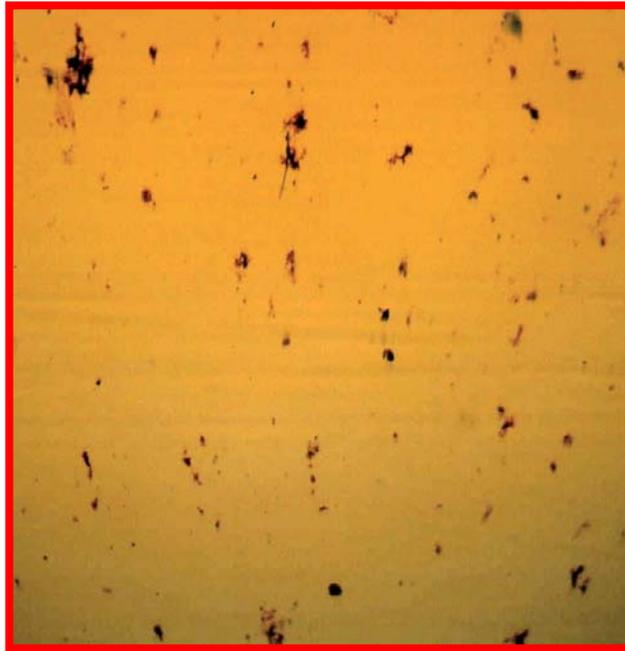


Fig.3. Detritus Celulares.

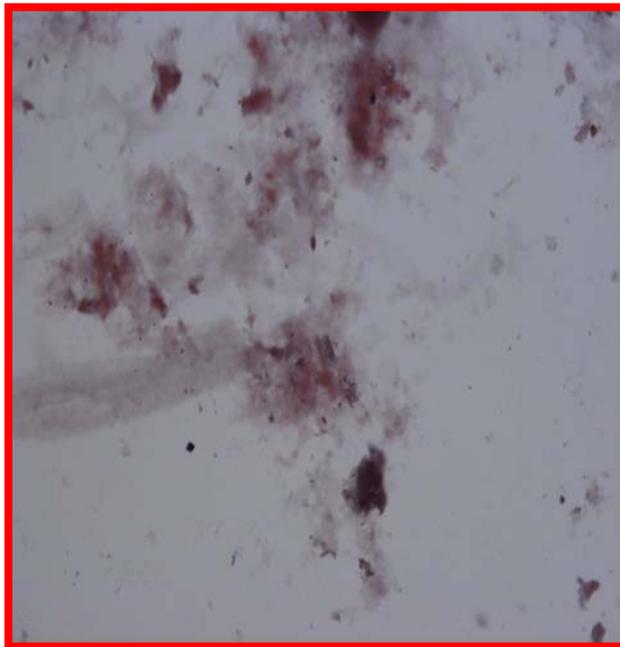


Fig. 4 Material proteínaceo.

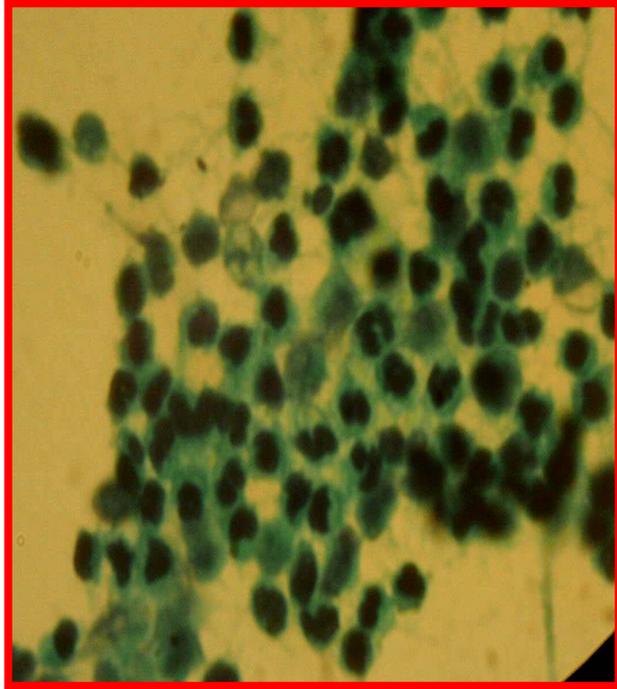


Fig.5. Polimorfonucleares.

BIBLIOGRAFIA:

1. Adan, Corscotequi B: Tratamiento quirúrgico de las Uveítis. Ed. Sociedad Española de Oftalmología 1:2, 1995.
2. F. Atkinson, Barbara, MD, Atlas de Diagnóstico histopatológico, 2 ed, Elsevier, España, 2004.
3. Huang JS, Russack V: Evaluation of cytologic specimens obtained experimental vitreous biopsy. Invest. Ophthalmology Vis. Sci 33 (suppl): 1309, 1992.
4. Saornil MA, Piñon R, Hernández C, Goldaracena B. Nuestra experiencia en las técnicas de citología del vítreo. St ophthal. 1990; 9: 31-34.
5. Engel H, de la Cruz ZC, Jiménez-Abalahim LD, Green WR, Mitchels RG, Cytopreparatory techniques for eye fluid specimens obtained by vitrectomy. Acta. Cytol. 1982: 26: 551-560.
6. Algvere P, Alanko H, Saari KM: pars plana vitrectomy in the management of intraocular inflammation. Acta Ophthalmology 59: 727, 1981.
7. Coco RM, Martínez J, Overal Y, Saornil MA Pastor JC. Estudio citológico del vítreo en las vitrectomía. Arch Soc. Esp. Oftalmología 1996; 197-204.
8. Chess J, Sebag J, Tolentino FI, Schenpens CI, Calderone JP, Coughlin E et al. Pathologic processing of vitrectomy specimens. A comparison of pathologic findings with celloiding bag and cytocentrifugation preparation of 102 vitrectomy specimens. Ophthalmology 1983; 90: 1560-1564.
9. Barrie T: The place of elective vitrectomy in the magementet of patient with candida endoftalmitis. Graefes. Arch Clin. Exp. Ophthalmology 225: 107:1987.
10. Brod RD, Flynn HW: Endogenous Candida Endoftalmitis. Ophthalmology 97: 666: 1990.