

Estudio comparativo entre las técnicas de homogeneización con ditiotreitól y toma y frotis en fresco, en citologías de expectoración para el diagnóstico de cáncer del pulmón

Myr. M.C. José Arturo García-Plascencia,* Myr. M.C. Alejandro González-Medina,*
Myr. M.C. Edgar Del Angel-Morales,* Cor. M.C. Pedro Rodríguez Jurado,**
Tte. Cor. M.C. Ana Bertha Salazar Soriano,*** Myr. M.C. Manuel Axolohua Sánchez Alonso****

Hospital Central Militar. Escuela Médico Militar. México.

RESUMEN. El cáncer del pulmón es uno de los problemas de salud más importantes a nivel mundial. En Estados Unidos conforma la primera causa de muerte en varones. La situación en nuestro país no es muy diferente. La citología del esputo es la técnica convencional no invasiva más útil para hacer el diagnóstico, pero no es un método muy sensible (se acerca al 50%). Pensamos que un método no invasivo que facilite la detección en etapas más tempranas da mayores posibilidades de tratamiento con mejores resultados. Este estudio se realizó en el Hospital Central Militar y en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias con 23 pacientes mayores de 35 años, de octubre de 1997 a abril de 1998, que presentaban algunos criterios clínicos y radiológicos como tabaquismo, tos, nódulo solitario y derrame pleural. Se obtuvo una muestra de expectoración para frotis, se diluyó en 20 ml de carbowax al 3%, se centrifugó, se obtuvo una muestra y se tiñó. El resto se diluyó en ditiotreitól DTT al 0.2%, etanol al 60% y carbowax al 3%, centrifugando y reposando durante 3 días. Se obtuvo una muestra y se tiñó (método de homogeneización con DTT). Se observaron y compararon ambas muestras. En 15 pacientes se encontró cáncer, de los cuales 6 fueron de tipo bronquial y 9 de tipo parenquimatoso, detectando 5 bronquiales con ambos métodos, por lo que la sensibilidad de ambas técnicas es estadísticamente significativa para detectar cáncer bronquial (83% de los casos), mientras que los métodos descritos no son útiles para diagnosticar el cáncer del pulmón en parénquima.

Palabras clave: neoplasia pulmonar, diagnóstico, estudio comparativo, citología.

SUMMARY. The lung neoplasm is one of the main worldwide health problems. In the United States it is the main cause of death among men. Current figures in our country are not so different. The sputum cytology is the most useful non-invasive conventional technique for diagnosis, but it is not a worth sensitive procedure (about 50%). We think that a non-invasive procedure to facilitate the detection in the earliest stages should address higher possibilities of treatment with better results. This investigation took place in the Military Central Hospital and in the National Institute of Respiratory Diseases with 23 patients older than 35 years from October 1997 to April 1998, who issued clinical and radiological criteria for lung cancer such as smoking, cough, solitary nodule and pleural effusion. A sputum sample was obtained and added to 20 ml of 3% carbowax. Right after it was mixed. A sample was obtained and a stain was made (pick and smear). The remaining was added to 0.2% dithiothreitol (DTT), 60% ethanol, and 3% carbowax, mixed and incubated for 3 days; a sample was obtained and a stain was made (DTT homogenization technique). Both samples were observed and compared. Lung cancer was found in 15 patients, 6 were bronchial type detecting 5 bronchial cases with both techniques, resulting both procedures with statistically significant sensitivity to detect bronchial cancer (83% of the cases), while the described techniques are not useful to make parenchymal lung cancer diagnosis.

Key words: lung neoplasms, diagnosis, comparative study, cytology.

* Originalmente Capitanes Primeros, Pasantes de Medicina. Escuela Médico Militar.

** Jefe del Servicio de Patología. Hospital Central Militar (HCM).

*** Jefe del Servicio de Neumología, HCM.

**** Médico Adjunto del Servicio de Neumología, HCM.

Durante los últimos 50 años han aumentado las muertes por cáncer del pulmón siendo la primera causa de muerte en varones con una incidencia de 170,000 casos nuevos cada año y 149,000 muertes, lo que ocasiona gastos hasta de 9,000 dólares al año por paciente.¹ Menos del 10% de los casos

que tienen carcinoma broncopulmonar viven más de 5 años y el 80% fallecen dentro del primer año después del diagnóstico. Más del 80% de los cánceres del pulmón se relacionan con el hábito de fumar, con una mortalidad de 10 a 15 veces mayor en fumadores que en no fumadores.²

El consumo de cigarrillos causa el 80 a 85% de las muertes por cáncer de laringe o pulmón y predispone al cáncer de la vejiga, del riñón, de páncreas y del cérvix uterino. En los fumadores de pipa y puro el riesgo es el cáncer oral y pulmonar, mientras que el tabaco que no produce humo produce cáncer en lengua y boca. De los productos del tabaco se han aislado varios carcinógenos bien conocidos incluyendo al benzopireno, nitrosaminas y dibenzatracenos. Las condiciones asociadas con la eliminación epitelial bronquial como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la sarcoidosis y la esclerodermia aumentan el riesgo de cáncer del pulmón entre los fumadores y apoyan la teoría del efecto de los carcinógenos del tabaco. El riesgo de sufrir cáncer aumenta a razón del 30% con cada año de exposición. Las evidencias epidemiológicas que implican al tabaco como causa de cáncer laríngeo o pulmonar satisfacen muchos de los criterios de la asociación causal y existe una relación estrecha entre exposición, evolución y dosis respuesta. El cáncer oral causa alrededor del 2% de los fallecimientos y se relaciona con los derivados del tabaco. Además se ha demostrado que hay una relación sinérgica entre el tabaco y el alcohol con el cáncer oral; en un 85% de los cánceres del esófago hay una intensa relación entre dosis y respuesta. Los mecanismos de producción del cáncer por tabaco son poco conocidos, se han descubierto múltiples alteraciones en el cariotipo de las células tumorales y mutaciones genéticas que se piensa son cruciales para el inicio del cáncer como oncogenes dominantes de las familias ras, myc y her2/neu y los genes recesivos supresores de tumores p53 y rbi. Las sustancias del humo inician estos eventos genéticos y promueven el crecimiento tumoral. La búsqueda de los genes que explican la susceptibilidad a los carcinógenos del tabaco se encuentran en un área novedosa de investigación, como las mono-oxigenasas del citocromo p450 cuya actividad activa los carcinógenos ambientales. Esta gran cantidad de nueva información genética proporciona marcadores moleculares de cambios neoplásicos tempranos, que se pueden usar como método de escrutinio en poblaciones susceptibles para aplicar medidas preventivas. La inmunología explica la aparición del cáncer como el de cérvix donde se ha encontrado nicotina en la mucosa cervical. El mejor conocimiento de estos mecanismos así como las diferencias genéticas en las vías metabólicas que activan o detoxifican a los mutágenos y carcinógenos del tabaco ayudará a explicar las diferentes predisposiciones del individuo.^{3,4}

La clasificación actual de los procesos cancerosos del pulmón y bronquios se ha descrito hasta con 23 tipos de cánceres⁵ pero el 90% tiene estos 4 tipos principales:

a) El carcinoma escamoso (epidermoide). Es el más frecuente (40 a 45%), es de localización central, internamente ligado con el hábito de fumar. Microscópicamente se encuen-

tra queratina, puentes intercelulares, tumores epidermoides poco diferenciados, se origina en bronquios grandes, tiende a extenderse localmente de manera rápida con metástasis tardías, en ocasiones presenta metaplasia escamosa, displasia epitelial y focos de carcinoma *in situ*.⁶

b) Adenocarcinoma (25 a 30%). Habitualmente es de procedencia bronquial o bronquioloalveolar. Es la forma más frecuente de cáncer pulmonar en mujeres que no fuman, es de localización periférica, microscópicamente se nota un tumor glandular, lesiones papilares y masas sólidas con mucina (en un 80%), su crecimiento es lento y frecuentemente se asocia con zonas cicatriciales.⁷

c) Carcinoma de células pequeñas. Tumor sumamente maligno con células pequeñas de escaso citoplasma que pueden parecer linfocitos, son las clásicas células en avena con forma poligonal y fusiforme que crecen como racimos sin glándulas ni escamas. Se cree que su origen es neuroendocrino y se relaciona mucho con el consumo de cigarrillos. Su localización es central o hilar, produce muchas metástasis y prácticamente es incurable y se asocia con frecuencia a la producción de hormonas ectópicas.⁸

d) Carcinoma de células grandes (10%). Neoplasia anaplásica con células poligonales grandes con núcleos vesiculosos, con mucina intracelular y multinucleadas, algunos contienen células claras y otros un aspecto fusiforme.⁸

El cáncer de pulmón se clasifica desde el punto de vista del tratamiento quirúrgico, pronóstico y valoración, pero influyen el tiempo de sobrevida y la localización de la enfermedad (tórax, mediastino, ganglios linfáticos escalenos o cervicales bajos, pleura). La estadificación clínica se observa en el *cuadro 1*.

Para el diagnóstico clínico de la enfermedad es muy útil el antecedente de tabaquismo intenso, especialmente en fumadores de más de 35 años de edad. Los mejores métodos son la radiografía de tórax y la citología de expectoración.¹⁰ Aun cuando actualmente se utilizan métodos de imagen como el TAC¹¹ la endoscopia fluoroscópica (LIFE sus siglas en inglés)¹² y la tomografía por emisión de positrones con Talio 201,¹³ se están usando también marcadores tumorales como el antígeno carcinoembrionario y el antígeno asociado al cáncer gastrointestinal.¹⁴

Pero el diagnóstico definitivo está basado en el estudio histopatológico, obtenido de la biopsia por broncoscopia, procedimiento especialmente útil en lesiones centrales pero malo en lesiones periféricas en donde se recomienda la biopsia por punción transparietal con aguja fina, la biopsia bajo control fluoroscópico,¹⁵ el TAC o la toracocentesis. La evidencia radiológica de una masa pulmonar requiere de una toracotomía para la confirmación histológica.

En los últimos años con el desarrollo de la biología molecular, existen diferentes pruebas pero muy costosas y poco sensibles o específicas y que no mejoran la sobrevida. Otro análisis es el de inmunotinción con anticuerpos monoclonales que demostró correlación entre la tinción positiva y el desarrollo eventual de cáncer, pero se necesita estudiar prospectivamente el método para establecer su valor diagnóstico. Existe otra técnica para la detección examinando el gen

K-ras característico de mutaciones genéticas usado en muestras de expectoración, es una técnica costosa e insegura.¹⁶ Se encuentra en experimentación otra técnica usando expectoración con una sensibilidad del 97%, se trata del sistema PAPNET, sistema computarizado capaz de producir imágenes de células anormales que identifica células precancerosas, requiere equipo muy especializado.¹⁷

La citología de la expectoración es una técnica convencional no invasiva útil para el diagnóstico,¹⁸ pero no es lo suficientemente sensible para el tamizado del cáncer,¹⁹⁻²¹ un índice de falsos negativos hasta de 43%²² pero, su especificidad es muy alta, hasta de 96%.²³ En los años 50 se demostró que podía ser usada para seguir la progresión del epitelio bronquial desde metaplasia, atipia celular, cáncer *in situ* y enfermedad neoplásica invasiva.^{24,25} Posteriormente la habilidad para detectar con esta técnica algunos cánceres en etapas tempranas motivó el estudio de ésta. En la década de los 70 se estudiaron 30,000 hombres mayores de 45 años y se concluyó que la radiografía por sí sola no es suficiente para la detección temprana, con iguales resultados en Alemania, Inglaterra y Checoslovaquia.²⁶

En estos estudios se observó que no tiene valor predictivo el estudio temprano de poblaciones con riesgo mediante estudio radiológico y citología de expectoración convencional.²⁷ Se ha estado investigando el uso de más técnicas que aumenten la sensibilidad de la citología de expectoración. Las más comunes son el frotis (*pick and smear*) (PS) y el método de Saccomanno (MS). El frotis consiste en obtener una muestra, colocarla en una laminilla y observarla en fresco, pero su desventaja depende de la selección que se realiza para observar la muestra. El MS elimina el error homogeneizando mecánicamente la expectoración y concentrando las células con una mezcla de alcohol etílico al 50% y polietilenglicol al 2% (Carbowax) para su colección, fijación y transportación.²⁸

Algunos investigadores encontraron detalles en contra del método MS pues los componentes celulares se rompen, particularmente los elementos fúngicos y los agregados del cáncer, con lo que se puede equivocar el diagnóstico. También se encontró que en el cáncer epidermoide las células no tienen definición de núcleo y citoplasma y las del adenocarcinoma perdieron detalles de cromatina comparadas con las muestras en fresco.²⁹

Desde hace varias décadas se ha descrito la homogeneización usando medios enzimáticos y químicos con agentes como tripsina, pancreatina y ácido clorhídrico pero sin éxito por lo complicado de la técnica. Posteriormente se describió el uso del ditiotreitól (DTT), un agente mucolítico, que concentra las células de la muestra. Es un método simple y versátil, la preservación celular es excelente hasta por 4 semanas sin daño celular y un costo promedio de veinte centavos de dólar.²⁹

Sin embargo, no existe un método citológico lo suficientemente sensible para el diagnóstico, por lo que se pretende generar una técnica nueva lo suficientemente sensible para hacer el diagnóstico de cáncer pulmonar, dos terceras partes

de estos cánceres no son tratables en el momento del diagnóstico y existe un alto índice de pacientes con sospecha clínica por lo que un método adecuado abatirá costos disminuyendo el uso de técnicas invasivas y el tiempo de hospitalización.

Suponemos que la citología de la expectoración por el método de homogeneización DTT es más sensible que la de frotis para el diagnóstico del cáncer pulmonar.

Material y métodos

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, observacional y descriptivo, en donde se promoverá la implementación de la técnica de homogeneización con DTT en pacientes sanos como método de detección temprana de cáncer pulmonar y demostrar que el método DTT tiene mayor sensibilidad que la técnica en fresco de frotis. Se comprobará la sensibilidad usando como estándar de base el estudio histopatológico para establecerlo como estudio de rutina en el Hospital Central Militar en todo paciente con sospecha clínica de cáncer del pulmón.

En una muestra aleatoria se estudiaron 31 pacientes de uno y otro sexo mayores de 35 años (14 hombres y 17 mujeres) que acudieron a la consulta externa de Neumología de la Unidad de Especialidades Médicas, de octubre de 1997 a abril de 1998 (15 pacientes) y del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de marzo a abril de 1998 (16 pacientes), con los criterios de inclusión que aparecen en el cuadro 1. Se tomaron en cuenta aquellos que presentaran cuando menos uno de los criterios señalados debido a que existen pacientes con cáncer que están asintomáticos.

Los criterios de exclusión fueron para los que presentaron criterios clínicos pero no radiológicos, sólo el antecedente de tabaquismo, antecedente de alguna neoplasia maligna, enfermedades pulmonares crónicas no neoplásicas y aquellos con antecedentes de enfermedades pulmonares ocupacionales (asbestosis, neumoconiosis, enfermedad de los mineros, etc.).

Una vez dentro del estudio, los criterios para la eliminación fueron para los pacientes que durante la investigación abandonaron el estudio, los que se negaron a la realización de alguno de los estudios invasivos para la comprobación histopatológica y los pacientes en quienes las lesiones histopatológicas resulta-

Cuadro 1. Criterios de inclusión.

Criterios clínicos	Criterios radiológicos
⇒Edad > 35 años	⇒Atelectasia
⇒Antecedente de tabaquismo	⇒Edema (condensación pulmonar)
⇒Dolor torácico y/o pleurítico	⇒Nódulo solitario
⇒Disnea (patrón obstructivo o restrictivo)	⇒Ensanchamiento mediastínico
⇒Hemoptisis	⇒Derrame pleural
⇒Sibilancias	⇒Ensanchamiento hilar
⇒Síndrome de emaciación	⇒Cavitación
⇒Tos	⇒Neoplasias apicales

ron metástasis. Eliminamos a 8 pacientes, 2 por abandono del estudio, 4 por negarse a realizar estudios de comprobación y 2 por presentar metástasis, quedando un total de 23 pacientes.

Se les tomó una radiografía anteroposterior del tórax, se le pidió enjuagar su boca varias veces; en un frasco limpio de boca ancha con 20 ml de carbowax al 3% como fijador, debían depositar la expectoración producida después de toser, de preferencia en horario matutino. Se recogió el frasco y se llevó al laboratorio de citología del Hospital Central Militar. Se colocó la muestra en un tubo de ensaye de 10 ml, se centrifugó durante 15 min a 500 g ($g = \text{fuerza centrífuga obtenida}$, $g = 1.118 \times 10^{-5} (r)(N^2)$ donde $r = \text{radio del rotor}$, $N = \text{revoluciones por minuto}$ -1,800 r.p.m) y se desechó el sobrante.

Posteriormente se preparó para el estudio citológico de frotis en fresco tomando una muestra (la más representativa) y, aplicando el material a un portaobjetos en forma uniforme; se colocó alcohol de 96 grados durante 10 a 15 minutos para posteriormente teñirlo con la técnica del Papanicolaou, dejándolo secar durante 24 horas para observarla al microscopio. El material remanente del tubo se prepara con el método de homogeneización con DTT.

Método de homogeneización con DTT. La muestra se diluyó en dos volúmenes de DTT al 0.2% en etanol al 60% y carbowax al 3%, se mezcló en un aparato VORTEX mediante agitación por 10 minutos. Luego la muestra se mantuvo en reposo por 24 horas y se volvió a agitar por 10 minutos, repitiendo el proceso por tres días, posteriormente se centrifugó a 500 g por cinco minutos, se tiró el sobrante y se prepararon dos frotis con la tinción de Papanicolaou, si el resultado fue positivo se concluyó que el paciente tiene cáncer pulmonar por la gran especificidad del estudio,^{26,28} si el resultado fue negativo se procedió a la comprobación histológica según el sitio probable de la tumoración.

La comprobación histológica dependía de la localización radiológica del tumor: se realizó una broncoscopia con biopsia en las lesiones centrales y con aguja fina por aspiración bajo control fluoroscópico en las lesiones periféricas y toracocentesis en aquellos tumores abiertos a pleura con citología positiva.

El método estadístico utilizado fue la prueba de independencia de Chi cuadrada aplicada al cuadro de sensibilidad y especificidad del *anexo 2* donde la variable nominal es el resultado del estudio citológico. Cada laminilla fue revisada por dos patólogos del Hospital Central Militar.

Resultados

Se realizó la comparación entre la técnica de homogeneización con ditiotreitol (DTT) y la técnica del frotis en fresco y (PS) en la citología de expectoración en 23 pacientes con sospecha clínica y radiológica para diagnóstico de cáncer del pulmón. Se tomaron principalmente como referencia los resultados del estudio histopatológico, así como los datos clínicos y la radiografía del tórax, resumiéndolos para facilitar su clasificación en dos tipos:

Cuadro 2. Distribución total de pacientes con sospecha clínica y radiológica de cáncer de pulmón.

No.	DTT	PS	E. Histop.	Tipo
1	+	+	Sí	Bronquial
2	—	—	No	—
3	—	—	Sí	Parénquima
4	—	—	Sí	Bronquial
5	—	—	Sí	Parénquima
6	+	+	Sí	Bronquial
7	—	—	No	—
8	—	—	Sí	Parénquima
9	—	—	No	—
10	—	—	Sí	Parénquima
11	—	—	Sí	Parénquima
12	—	—	Sí	Parénquima
13	—	—	No	—
14	—	—	Sí	Parénquima
15	—	—	No	—
16	—	—	No	—
17	+	+	Sí	Bronquial
18	+	+	Sí	Bronquial
19	—	—	No	—
20	+	+	Sí	Bronquial
21	—	—	Sí	Parénquima
22	—	—	Sí	Parénquima
23	—	—	No	—

Total de pacientes: 23

DTT positivos: 5

DTT negativos: 18

Con estudio histopatológico: 15

Sin estudio histopatológico: 8

Lesiones de tipo bronquial: 6

Lesiones de tipo parenquimatoso: 9

PS positivos: 5

PS negativos: 18

Cuadro 3. Resultados de la citología de expectoración con las técnicas ditiotreitol y toma y frotis en relación con el estudio histopatológico.

Técnicas ditiotreitol y toma y frotis	Cáncer bronquial según estudio histopatológico		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	5	0	5
Negativo	1	17	18
Total	6	17	23

Nota: Sensibilidad = 83.33%

Valor predictivo (+) = 100%

Falsos positivos = 0.00%

Especificidad = 100%

Valor predictivo (-) = 94.44%

Falsos negativos = 5.55%

Bronquial; es decir aquellos cánceres en los cuales había sintomatología sugestiva (tos, expectoración, disnea, hemoptisis), datos radiográficos congruentes con lesión bronquial (ensanchamiento mediastínico, atelectasia, ensanchamiento hilar) y estudio histo o citopatológico positivo proveniente de esta región (citología de expectoración, lavado bronquial, cepillado bronquial, broncoscopia con biopsia).

Parénquimatoso; aquellos cánceres en los cuales la sintomatología no existía o no era sugestiva (dolor torácico y/o pleurítico, síndrome de emaciación), datos radiográficos congruentes con lesión periférica (condensación pulmonar, nódulo solitario, derrame pleural, cavitación, neoplasia apical)

Estudio comparativo entre las técnicas de homogeneización con ditiotretitol y toma y frotis en fresco

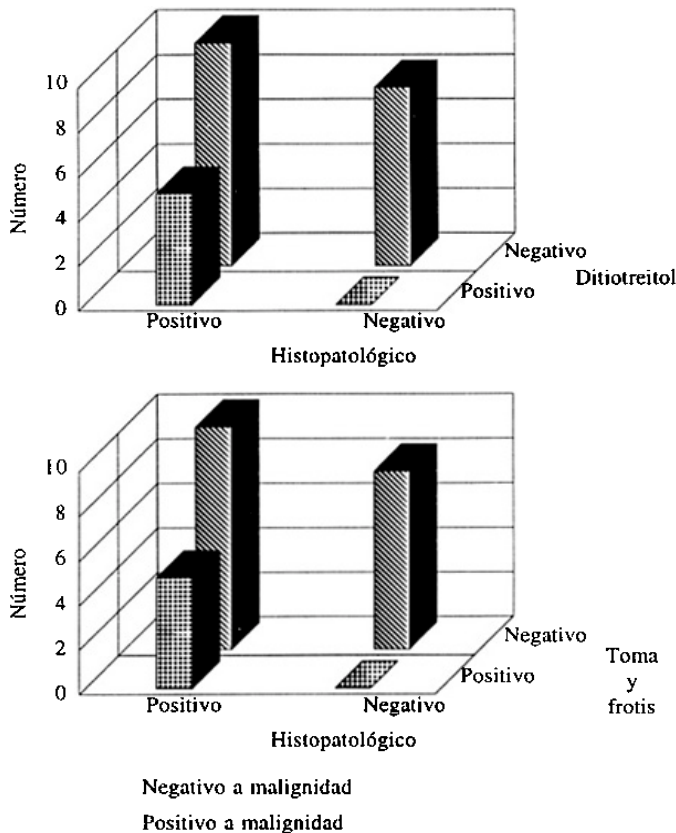


Figura 1. Comparación entre las técnicas ditiotretitol y toma y frotis en relación con el estudio histopatológico para el diagnóstico de cáncer de pulmón.

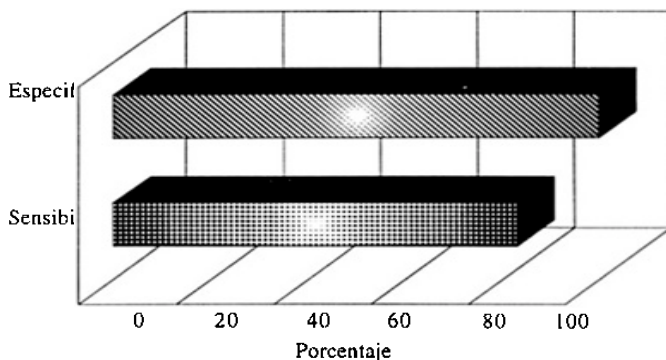


Figura 2. Sensibilidad y especificidad de las técnicas ditiotretitol y toma y frotis con referencia en el estudio histopatológico para el diagnóstico de cáncer bronquial. Fuente: Cuadro 4.

Nota: Los valores de las técnicas ditiotretitol y toma y frotis son semejantes.

y estudio histo o citopatológico positivo obtenido transcutáneamente (biopsia por aspiración con aguja fina con control fluoroscópico, toracocentesis y biopsia a cielo abierto).

Lo anterior es lo que normalmente sucede en la mayoría de los casos, pero puede haber variaciones tanto en los datos clínicos, como en los radiológicos e histológicos, pudiendo haber excepciones a lo descrito anteriormente.

Como se muestra en el cuadro 2 la distribución de los resultados positivos y negativos mediante las técnicas DTT

y frotis en las citologías de expectoración se presentaron de manera semejante en todos los casos (Figura 1).

De los cinco casos detectados como positivos por DTT y PS fueron confirmados por el estudio histopatológico como cáncer bronquial. Asimismo se observó que en los 18 casos que fueron reportados como negativos con DTT y PS, 10 de ellos resultaron positivos mediante el estudio histopatológico, de los cuales uno fue cáncer bronquial y nueve fueron cáncer de parénquima (Cuadro 3).

Como se muestra en el cuadro 2, de los 15 casos confirmados como cáncer, seis de ellos (40%), presentaron un sitio de localización bronquial y los nueve restantes (60%) fueron de localización periférica sin que hubiesen sido detectados por las técnicas DTT NI PS (Figura 3). Es necesario hacer notar que los métodos en estudio (DTT y PS) detectaron el 83% del total de casos confirmados con sitio de localización bronquial, mientras que de los casos confirmados con sitio de localización en parénquima, ninguno apareció como positivo en los métodos de estudio (Cuadro 3).

La sensibilidad del método de homogeneización con DTT y la técnica del frotis no presenta diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$), de hecho, son iguales por lo que se rechaza la hipótesis de estudio y se acepta la hipótesis nula (Cuadros 4 y 5, Figura 2).

Como se muestra en el cuadro 2, y de los 15 casos confirmados como cáncer, 6 de ellos (40%) presentaron un sitio de localización bronquial y los 9 restantes (60%) fueron de localización periférica sin que hubiesen sido detectados por las técnicas DTT y PS (Figura 3). Es necesario hacer notar que los métodos en el estudio (DTT y PS) detectaron el 83%

Cuadro 4. Resultados de la citología de expectoración con la técnica de homogeneización con ditiotretitol, en comparación con el estudio histopatológico.

Ditiotretitol	Estudio histopatológico		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	5	0	5
Negativo	10	8	18
Total	15	8	23

Nota: Sensibilidad = 33.33%

Valor predictivo (+) = 100%

Falsos positivos = 0.00%

Valor predictivo (-) = 44.44%

Falsos negativos = 55.55%

Cuadro 5. Resultados de la citología de expectoración con la técnica en fresco, toma y frotis en relación con el estudio histopatológico.

Técnica en fresco toma y frotis	Estudio histopatológico		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	5	0	5
Negativo	10	8	18
Total	15	8	23

Nota: Sensibilidad = 33.33%

Valor predictivo (+) = 100%

Falsos positivos = 0.00%

Valor predictivo (-) = 44.44%

Falsos negativos = 55.55%

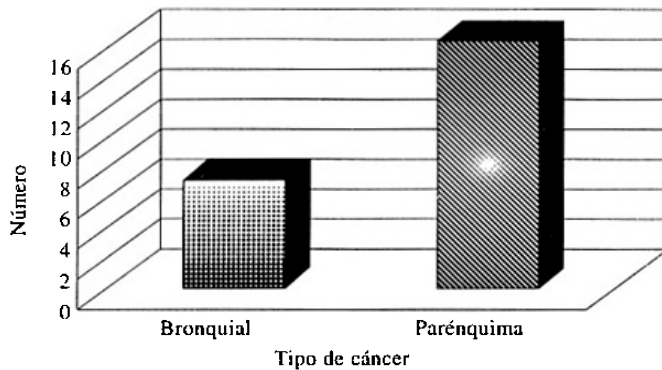


Figura 3. Diagnóstico de cáncer pulmonar confirmado por estudio histopatológico, clasificado según tipo bronquial y de parénquima en pacientes con sospecha clínica y radiológica. Fuente: Cuadro 1.

Cuadro 6. Cuadro de sensibilidad y especificidad.

		Estándar de oro		
Estudio		+	-	
		a	b	a+b
a	+			
valorar	-	c	d	c+d
		a+c	b+d	N

Sensibilidad = $a/a+c$
 Especificidad = $d/b+d$
 Valor predictivo (+) = $a/a+b$
 Valor predictivo (-) = $d/c+d$
 Falsos positivos = $b/a+b$
 Falsos negativos = $c/c+d$

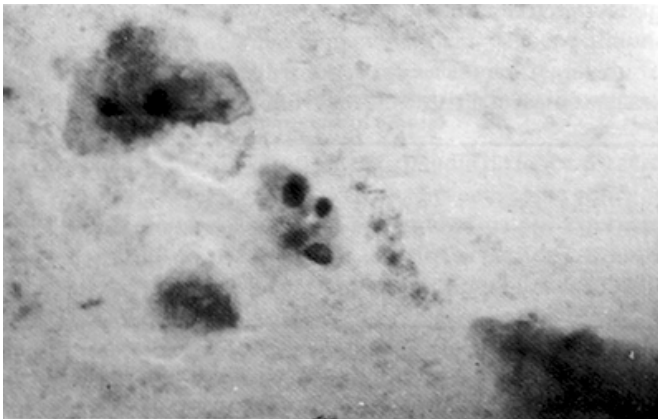


Figura 4. Citología de expectoración, técnica con DTT y tinción de Papanicolaou (40X), donde se muestra epitelio respiratorio con cambios inflamatorios.

del total de casos confirmados con sitio de localización bronquial, mientras que de los casos confirmados con sitio de localización en parénquima, ninguno apareció como positivo en los métodos de estudio (Cuadro 3).

Discusión

Durante los últimos 50 años ha aumentado de manera impresionante la frecuencia de cáncer del pulmón. El principal

problema para poder diagnosticar el cáncer pulmonar es que en las etapas en que éste es curable los pacientes son asintomáticos, de tal suerte que cuando llegan a consulta por presentar síntomas están en una etapa incurable de la enfermedad. En el HCM no existe un método citológico lo suficientemente sensible para el diagnóstico de cáncer pulmonar, además de que en nuestro medio existe un alto índice de pacientes con antecedentes de tabaquismo crónico, por lo que es conveniente el desarrollo de un método diagnóstico adecuado.

Debido a la baja sensibilidad de la técnica del frotis reportada en diversos estudios,^{19,21} el nuestro comparó la sensibilidad del método de homogeneización con DTT contra la técnica del frotis siguiendo el protocolo metodológico descrito por Tang y cols. en 1994, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), siendo los datos encontrados semejantes para ambos estudios (Cuadros 4 y 5).

¿Por qué los resultados fueron semejantes en ambos estudios?, a continuación trataremos de explicarlo: en primer lugar el frotis de cada estudio se obtuvo del mismo paciente y de

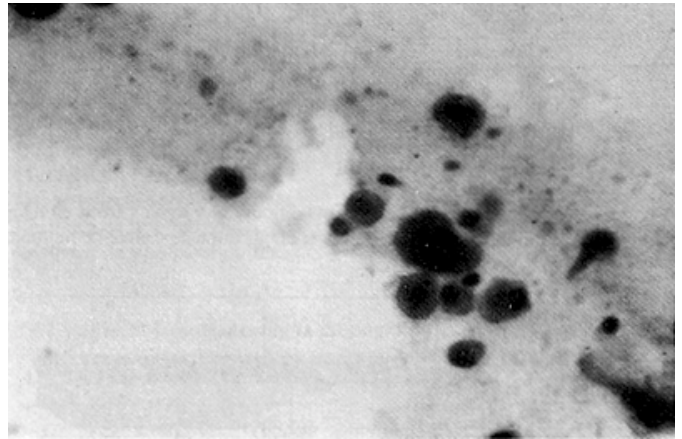


Figura 5. Citología de expectoración, técnica con DTT y tinción de Papanicolaou (40X). Célula metaplásica; aquí cabe destacar el cambio de coloración en el citoplasma.

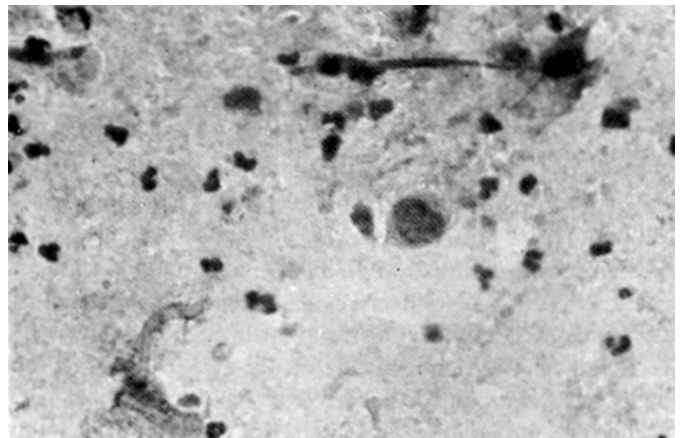


Figura 6. Citología de expectoración, técnica con DTT y tinción de Papanicolaou (40X). Célula neoplásica. Nótese la alteración en la relación núcleo-citoplasma.

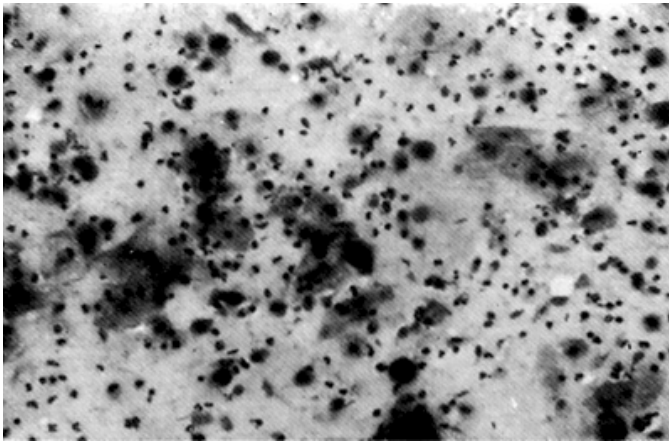


Figura 7. Citología de expectoración, técnica con DTT y tinción de Papanicolaou (10X).

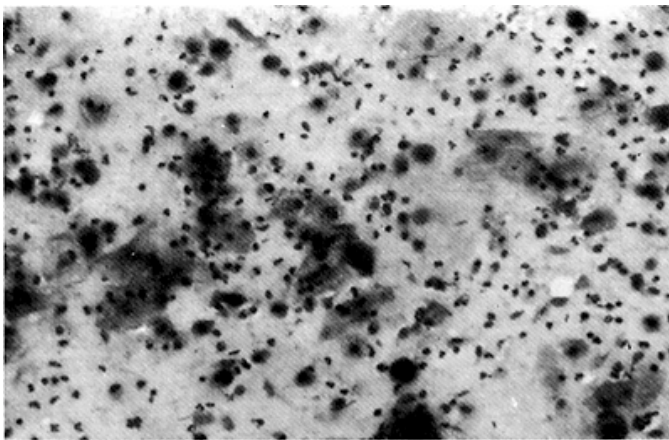
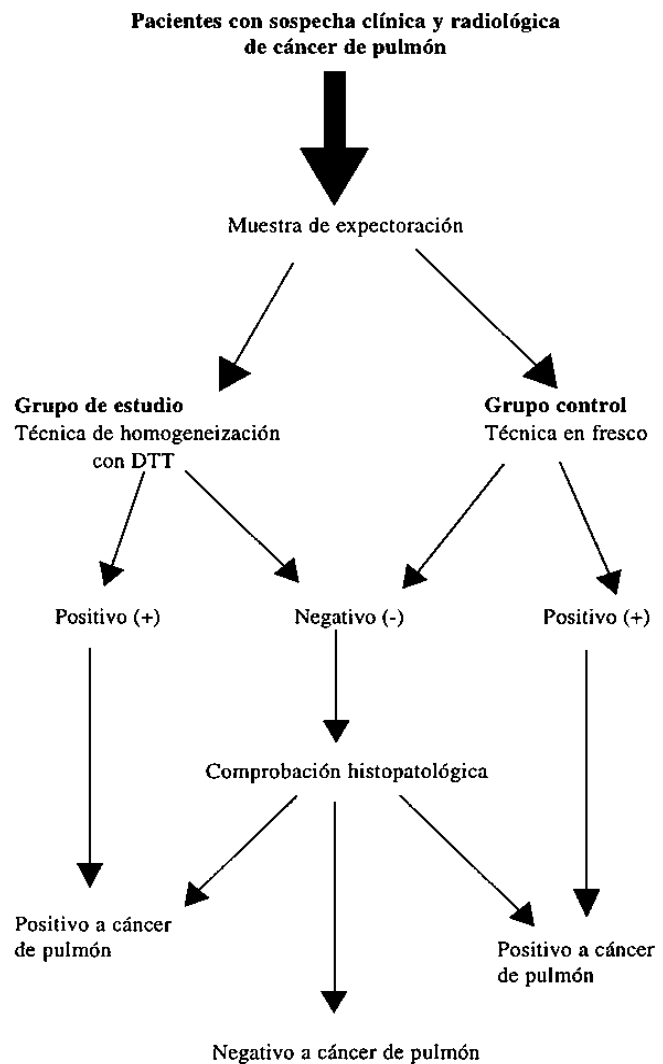


Figura 8. Citología de expectoración, técnica de frotis, tinción de Papanicolaou (10X).

la misma muestra; segundo, son datos cualitativos nominales (positivo o negativo), de tal forma que no podemos dar clasificación a los resultados como 1/2 positivo, o positivo +, ++ ó +++, ya que la sola presencia de una célula neoplásica se cataloga como positivo; tercero, el tamaño de la muestra es pequeño dado el tiempo y el tipo de estudio y tiene que ser un punto a considerar en investigaciones futuras.

¿Por qué el valor predictivo positivo es tan alto? (Cuadros 3 a 5). Hay que recordar que este dato es el resultado de la división del número de casos que tienen prueba positiva y tienen cáncer entre la suma de los casos que tienen prueba positiva y además tienen cáncer más los pacientes que tienen prueba positiva y no tienen cáncer (Cuadro 6). Como el dato anterior es cero, el resultado es del 100%. ¿Por qué no hay pacientes con prueba positiva y sin cáncer? Para contestar esto tenemos que hacer una revisión de los hallazgos más comunes en una citología de expectoración y que pueden confundirnos: 1) cambios inflamatorios (Figura 4). Algunas enfermedades inflamatorias de la mucosa oral se pueden confundir con carcinoma epidermoide, las inflamaciones inespecíficas de la vía aérea pueden producir expectoración de



Fuente: Elaborado por los autores.

Figura 9. Protocolo de estudio para diagnóstico de cáncer pulmonar.

células elongadas no ciliadas con núcleo denso y oscuro que puede simular carcinoma anaplásico.²⁸ 2) Metaplasia (Figura 5). Puede ser resultado de radioterapia reciente, mostrando una marcada eosinofilia del citoplasma, o puede ser realmente una lesión premaligna.³ 3) Neoplasia (Figura 6). Aquí es importante buscar un aumento en el tamaño celular y nuclear con pérdida de la relación núcleo-citoplasma, formación de vacuolas, multinucleación y un nucléolo habitualmente prominente.²⁸ Se puede ver que con un buen entrenamiento es posible distinguir cada uno de los tipos de lesión descritas anteriormente.

Para poder llegar al diagnóstico de una lesión por medio de una citología, hace falta mencionar algo importante: la calidad de la muestra. En este estudio se observó una diferencia notable entre los frotis de ambas técnicas en cuanto a la calidad y cantidad de material (Figuras 7 y 8), esto se debe a que, como se mencionó anteriormente, el DTT lisa el moco, de tal forma que al centrifugar la muestra se concentran las células y

al hacer el frotis el patólogo tiene una mejor visión de los detalles celulares; en la técnica PS hay muy pocas células epiteliales bronquiales en cada frotis, de modo que si en todo un frotis se ven dos células epiteliales, sólo se tienen dos parámetros de comparación, en cambio con la técnica con DTT en el frotis se observa un mayor número de células epiteliales.²⁹

La figura 9 muestra el protocolo de estudio, propuesto para el diagnóstico del cáncer pulmonar.

Referencias

1. Szabo E, Birrier JM, Mulshine LJ. Early detection of lung cancer. *Seminars in Oncology* 1993; 20(4): 374-382.
2. Virgo SK, Naunheim SK, McKirgan WL. Cost of patient follow-up after potentially curative lung cancer treatment. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1996; 112(2): 356-363.
3. DeVita TV Jr, Hellman S, Rosenberg AS. *Cancer: Principles & practice of oncology*. Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Co, 1993: 170-177.
4. Flehinger JB, Kimmel M, Polyak T. Screening for lung cancer. *Cancer* 1993; 72(5): 1573-1580.
5. Mulshine LJ, Scott F. Molecular markers in early cancer detection. *Chest* 1995; 107(6): 2805-2865.
6. Fushimi H, Kikui M, Morino H. Detection of large cell component in small cell lung carcinoma by combined cytologic and histologic examinations and its clinical implication. *Cancer* 1992; 70(3): 599-605.
7. Hidaka N, Nagao K. Bronchioalveolar carcinoma accompanied by severe bronchorrhea. *Chest* 1996; 110(1): 281-282.
8. Robbins S, Cotran R. *Pathologic basis of disease*, Fifth Edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1995: 1180-1185.
9. Lange P, Nyboe J, Appleyard M, Jensen G, Schnohr P. Ventilatory function and chronic mucus hypersecretion, as predictors of death from lung cancer. *Am Rev Resp Dis* 1990; 141(3): 613-617.
10. Miura H, Konaka C, Kawvate N, Tsushida T, Kato H. Sputum cytology-positive, bronchoscopically negative adenocarcinoma of the lung. *Chest* 1992; 102(5): 1328-1332.
11. Kaneko M, Eguchi K, Ohmatsu H. Peripheral Lung Cancer: screening and detection with low-dose spiral ct versus radiography. *Radiology* 1996; 201(3): 798-802.
12. Palcic B, Lam S, Hung J. Detection and localization of early lung cancer by imaging technics. *Chest* 1991; 99(3): 742-743.
13. Tonami N, Yokoyama K, Taki J. Thallium-201 SPECT despiets radiologically occult lung cancer. *J Nucl Med* 1991; 32(12): 2284-2285.
14. Grigioni WF, Biagini G, Garbiza S. Immunohistochemical study of basement membrane antigens in bronchioalveolar carcinoma. *Am J Pathology* 1997; 128(2): 217-224.
15. Mang ST, McGinnis C, Liebow C. Fluorescence detection of tumors. *Cancer* 1993; 71(1): 269-276.
16. Shiono S, Omoe K, Endo A. K-ras gene mutation in sputum samples containing atypical cells and adenocarcinoma cells in the lung. *Carcinogenesis* 1996; 17(8): 1683-1686.
17. Hoda SR, Saccomanno G, Schreiber K. Automated sputum screening with PAPNET system. *Human Pathology* 1996; 27(7): 656-659.
18. Khajothia RR, Mohn A, Pokieser L, Schalleschak J, Vetter N. Induced sputum and cytological diagnosis of lung cancer. *Lancet* 1991; 338(8773): 976-977.
19. Christopherson MW, Wortham L, Award J. Cytologic detection and diagnosis of cancer. Its contributions and limitations. *Cancer* 1983; 51(7): 1201-1208.
20. Melamed RM, Flehinger JB, Zaman BM, Heelan TR, Perchick AW, Martini N. Screening for early lung cancer: Results of the Memorial Sloan-Kettering Study in New York. *Chest* 1984; 86(1): 44-53.
21. Muhm RJ, Miller WE, Fontana SR, Sanderson RD, Uhlenhopp MA. Lung cancer detected during a screening program using four-month chest radiographs. *Radiology* 1983; 148(3): 609-615.
22. Fontana SR, Sanderson RD, Woolner BL. Screening for lung cancer. A critique of the Mayo Lung Project. *Cancer* 1991; 67(4): 1155-1164.
23. Raymond LP. Esophageal cancer mimicking squamous cell carcinoma of the lung: Presentation with positive sputum cytology. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(3): 325.
24. Cortese AD. The prognostic value of sputum cytology. *Chest* 1992; 102(5): 1315-1316.
25. Perlman JE, Erozan SY, Howdon A. The role of the Saccomanno technique in sputum cytopathologic diagnosis of lung cancer. *Am J Clin Pathology* 1989; 91(1): 57-60.
26. Eddy MD. Screening for lung cancer. *Ann Intern Med* 1989; 111(3): 232-237.
27. Raab S, Hornberger J, Raffin T. The importance of sputum cytology in the diagnosis of lung cancer: A cost-effectiveness analysis. *Chest* 1997; 112(4): 937-945.
28. Mehta CA, Marty JJ, Lee YW. Sputum cytology. *Clinics in chest medicine* 1993; 14(1): 69-85.
29. Tang Cs, Tang C, Kung IT. Dithiothreitol homogenization of prefixed sputum for lung cancer detection. *Diagnostic Cytopathology* 1994; 10(1): 76-81.