

DIAGNOSTICO DE EFUSIONES MEDIANTE ANALISIS CROMOSOMICO

Dra. Ligia Ocampo. Citogenetista, Solca- Quito
Dr. Luis Martínez. Neumólogo, Solca - Quito
Dr. Romeo Narváez. Ex Jefe Dpto. Citología de Solca- Quito
Dr. Guillermo López. Citopatólogo, Solca- Quito
Dr. César Paz y Miño, Jefe del Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. PUCE
Laboratorio Genética Solca-Quito.

RESUMEN

Se analizaron citogenéticamente y citológicamente 100 efusiones con diferentes patologías en pacientes de Solca, Núcleo de Quito, a partir de 1.985 a 1997, cuya edad fluctúa entre 14 y 90 años, el 80% correspondió a tumores malignos (adenocarcinomas 52, linfomas 10, carcinomas escamosos 7, carcinomas poco diferenciados 4 y sarcomas 4 y; el 20% a procesos inflamatorios y negativos para malignidad, de las cuales 68 son derrames pleurales, 31 líquidos ascíticos y un pericárdico; siendo 71 pacientes del sexo femenino y 29 del masculino; correspondiendo a 19 casos de lesiones de ovario, 19 de pulmón, 16 de estómago, 11 de mama, 10 linfomas, 6 de cérvix, 2 de riñón, 2 de costillas y los 15 casos restantes de boca, esófago, húmero, hígado, fémur, colon, recto, incluyendo 8 casos de origen primario desconocido.

El rango cromosómico fue de 32 a 1000 en las metafases analizadas. Se encontró hiperdiploidías (47-60 cromosomas) en 54% siendo la alteración más frecuente. En el 28(35%) presentaron marcadores y en algunos casos acompañados de pseudodiploidías, doble minutos (dmin) y pulverizaciones (pulv), que confieren mal pronóstico y resistencia a la terapia. El examen citogenético es más sensible que la citología. Se encontró un 99% de diagnósticos correctos con la citogenética, frente a un 95% con la citología.
PALABRAS CLAVES: cytogenetics, anomalías cromosómicas, aneuploidie, doble minutos, regiones homogéneamente teñidas, efusiones.

ABSTRACT

The present work was carried out in Solca, Núcleo de Quito, from 1985 to 1997. It was analyzed 100 samples of effusions from different pathologies. The age of patients were between 14 and 90 years old. The 80 percentage belongs to malignant tumours (adenocarcinomas 52, lymphomas 10, squamous carcinoma 7, undifferent carcinoms 4 and sarcomas 4) and rest 20% to inflammatory proces and negative for belongs malignancy, from this 68 were pleural spills, 31 ascitical fluids and one pericardic. 71 patients were female and 29 male, belonging to 19 cases of ovary wounds, 19 lung, 16 stomach, 11 breast, 10 linfomas, 6 cervix, 2 Kidney, 2 rib and other 15 belong to mouth, esofage, humerus, liver, colon, rectus, including 8 cases of unknown primary origin.

The chromosomal range was from 32 to 1000 in the analyzed metaphases. It was found hyperdiploids (47-60 chromosomes) and 54% and it was the more frequent alteration. The 28(35%) showed marker chromosomes and in some cases pseudodiploidies, double minutes (dmin) and pulverizations (pulv), were present too. This alterations give negative pronostic and resistance to therapy. The cytogenetic is more sensible of cytology. There were 99% of certainty diagnosis with cytogenetic vs. 95% with cytology.
KEY WORDS: Cytogenetics, chromosomal abnormalities, aneuploidy, double minutes, homogeneously staining region, effusions.

INTRODUCCIÓN

Desde que Hansen-Melaner en 1956⁽¹⁾, encuentran por primera vez hiperdiploidías, en células procedentes de un derrame ascítico secundario a un carcinoma metastásico de ovario, se han venido realizando estudios citogenéticos para determinar su posible valor como diagnóstico de malignidad.

Los cromosomas de las neoplasias malignas son distintos a los normales, no solo en cuanto a cantidad sino a constitución. Puede ocurrir aneuploidía por un error en la mitosis y estas células se consideran no viables. La irradiación produce con facilidad anomalías transitorias del cariotipo⁽⁸⁾. El análisis estadístico de aneuploidía y poliploidia corrobora el diagnóstico de neoplasia hasta con una pequeña cantidad de cromosomas si se descubre una aberración cromosómica evidente. También se observan fragmentaciones, translocaciones y endoreduplicaciones.

Para Koller⁽¹⁵⁾, el número diploide normal $2n=46$ se eleva a cifras increíbles (hasta 800 y aún más cromosomas) y presenta irregularidades, alteraciones numéricas, células tetraploides, pentaploides, octaploides, etc.)^(1,7,8,12,15).

Otra alteración descubierta son los doble minutos (dmin) y las regiones homogéneamente teñidas (hsr) que son representantes de un mismo hecho: la amplificación génica. Los cambios citogenéticos tanto numéricos (aneuploidías) como estructurales incluyendo cromosomas marcadores, doble minutos (dmin), regiones homogéneamente teñidas (hsr) y pulverizaciones son indicativos claros de la presencia de células malignas (características típicas de los procesos neoplásicos).^(2,5,6,17)

La posible relación entre citogenética y evolución de la enfermedad fue puesta de manifiesto hace años por Sukurai⁽¹⁶⁾. Este autor, encontró que aquellos casos que presentaban alteraciones en fase diagnóstico tenían una menor supervivencia que el grupo con cariotipo normal.

El propósito de la presente investigación fue: Contribuir al diagnóstico y pronóstico de malignidad de efusiones, mediante estudios citogenéticos; identificar marcadores de malignidad en las células de las efusiones; comparar los resultados citogenéticos con los resultados citológicos.

SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CANCER
SOLCA • ECUADOR
(NÚCLEO DE QUITO)

AV. DE LOS SHYRIS 3307 Y TOMAS DE BERLANGA
CASILLA 17-1-4965 C.C.I.
TELF.S.: 435 390 • 442 121 • 442 123

La aplicación del estudio de la citogenética en combinación con la citología^(9,11,12,13) proporcionan un instrumento de gran utilidad en el diagnóstico de exudados tumorales, y por lo tanto su aplicación práctica en Oncología es de imprescindible valor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 100 efusiones, 68 obtenidas de derrames pleurales, 31 peritoneales y un pericárdico, de los 100 casos correspondieron a tumores malignos y 20 a procesos inflamatorios y negativos para malignidad; correspondiendo a 71 pacientes del sexo femenino y 29 del masculino. Las efusiones fueron extraídas por punción transabdominal o torácica. Para la toma de las muestras de efusiones pleurales, previamente se realizaron evaluaciones clínicas-radiológicas de tórax para determinar el sitio de punción; se utilizó hidrocortina al 2% con epinefrina previa asepsia y antisepsia, generalmente entre el 5to y 7mo espacio intercostal posterior del lado afecto. Para el análisis citogenético se extrajeron entre 5 y 20 cc en un tubo de ensayo estéril con heparina lcc/1000UI (0.25 cc por cada 5 cc de líquido), las muestras fueron enviadas inmediatamente al Laboratorio de Genética para su procesamiento; además, en la mayoría de casos también se recolectaron muestras para citotómica, citología, bacteriología y bloque celular.

El estudio citogenético se realizó con la técnica convencional^(3,12), la efusión se centrifugó a 2000 r.p.m. durante 5 minutos, luego se añadió colchicina (0.25 ug/ml) y se incubó a 37°C por 90 minutos, en algunos casos se realizó técnica de 24 horas de cultivo, utilizando medio RPMI más nutrientes sin estimulación. Para la cosecha celular se sometieron a las célula a un choque hipotónico con cloruro de potasio (ClK 0.075N) durante 19 minutos a 37°C, la fijación se realizó con fijador Carnoy (metanol/ácido acético proporción 3:1). Las preparaciones cromosómicas fueron teñidas con Giemsa al 5% por 5 minutos, en algunos casos fue posible realizar bandeado G (Tripsina-Giemsa) para observar alteraciones estructurales como también los cromosomas marcadores involucrados en cada caso. Las preparaciones fueron estudiadas bajo el microscopio óptico (1000X), se realizaron en el 50% de los casos microfotografías para obtener el cariotipo y documentar el caso; se utilizó película ImageLink HQ de alta resolución y se empleó filtro verde para lograr un mejor contraste de los cromosomas, las ampliaciones se realizaron en papel plastificado brillante, BN 2.

- Los criterios de malignidad que permitió diferenciar las muestras de origen tumoral de las clínicamente benignas estuvo basado en:
- Presencia de 10% o más de células alteradas, esto es hipodiploides, presencia de marcadores cromosómicos.
- Presencia de un mismo marcador cromosómico en 3 metafases diferentes.
- Variaciones cromosómicas y alteraciones estructurales.^(12,13,14)
- **Parámetros analizados**
- Sexo
- Edad en el momento del estudio

TABLA 2. Origen primario de la lesión

Órgano de origen	Sexo	Tipo de efusión	No Casos
	M F	A P O	
Pulmón	6 13	19	19
Ovario	10 6	11 8	19
Estómago	11 11	10 6	16
Mama	3 7	3 7	11
Linfomas	1 1	10 1	11
Cervix	6 6	3 3	10
Riñón	1 1	2 2	6
Costillas	1 1	2 2	2
Labio	1 1	1 1	2
Esófago	1 1	1 1	1
Húmero	1 1	1 1	1
Hígado	1 1	1 1	1
Fémur	1 1	1 1	1
Colon	1 1	1 1	1
Recto	1 1	1 1	1
No determinada	2 6	1 7	8
Total:	29 71	31 68	100

• M=masculino F=femenino A=ascítico P=pleural O=pericárdico

TIPO HISTOLÓGICO DE CÁNCER

TIPOS	N	Total
efusiones malignas	52	80
Adenocarcinoma	10	4
Linfoma	7	7
Carcinoma poco diferenciado	7	7
Carcinoma escamoso	14	6
Procesos inflamatorios	6	14
efusiones benignas	20	20
Negativos	14	14
Total	20	20

TABLA 1.

Distribución de los 100 casos de efusiones.

RESULTADOS

De 100 efusiones analizadas citogenéticamente, 80 casos fueron positivos para malignidad y 20 fueron negativos; correspondiendo histológicamente a 52 adenocarcinomas, 10 linfomas, 7 carcinomas escamosos, 7 carcinomas poco diferenciados y 4 sarcomas. De acuerdo al origen primario de la lesión correspondieron a 19 casos pulmón, 19 de ovario, 16 de estómago, 11 de mama, 10 linfomas, 6 de cervix, 2 de riñón, 2 de costillas y los 15 casos restantes de labio, esófago, húmero, hígado, fémur, colon incluyendo 8 casos de origen primario desconocido; de las muestras analizadas, 68 correspondieron a derrames pleurales, 31 ascíticos y un pericárdico, siendo 71 pacientes del sexo femenino y 29 del masculino cuya edad fluctúa entre 40 y 90 años. (Tablas 1 y 2).

Resultado citológico y si hubiere histopatológico (bloque celular).

- Tipo de efusión
- Características del líquido
- Número de metafases analizadas
- Número de células con hipodiploidías e hiperdiploidías inespecíficas.
- Alteraciones estructurales
- Presencia de cromosomas marcadores, doble minutos, pulverizaciones, etc.
- Porcentaje de los clones patológico y normal para valorar pronóstico.

El amplio rango cromosómico de 44 a 1000 cromosomas es una de las características más sobresalientes de este estudio; siendo el rango hiperdiploide más frecuente de 47-60 cromosomas, con una extremada diversidad de cuadros (cariotipos complejos), no existiendo dos efusiones idénticas con cariotipos similares; en 28(35%) casos se reportó marcadores de malignidad y en sendos casos pseudodiploidía, dmin, mar y pulv., que confieren como en tumores sólidos mal pronóstico y resistencia a la terapia.

CÁNCER DE PULMÓN

19 casos(19%) presentaron derrames de origen pulmonar de los cuales 15 casos fueron positivos para malignidad (79%) y 4 negativos para malignidad(21%), correspondiendo a 13 pacientes del sexo femenino y 6 del masculino, con una edad comprendida entre 45 y 90 años(Tabla 3).

TABLA 3

RESULTADOS CITOGENETICOS DE PACIENTES CON PATOLOGÍA DE PULMÓN (19 casos)

Caso No	Edad	Sexo	Rango	Marcador	T. Metafases	P	C	G
5	71	M	46-48	+	48	+	NS	+
8	45	F	46		18	-	+	-
18	59	M	30-100	+	33	+	+	+
19	74	M	32-47		52	+	-	-
26	70	F	32-49		18	+	+	+
33	63	F	46		10	+	-	-
34	51	F	46-60		30	+	+	+
37	67	F	45-58		60	+	+	+
39	62	F	46-71		32	+	+	+
41	53	F	46		18	-	-	-
42	54	F	42-75		30	NE	+	+
45	52	F	44-50		100	+	+	+
47	53	F	46		20	-	-	-
49	51	F	46-52		50	+	+	+
51	90	F	46-51		25	NE	+	+
54	67	M	40-78	+	80	NE	+	+
59	67	M	46		20	-	NS	-
83	73	F	56-85	+	40	+	+	+
87	69	M	46		30	+	-	-
Total: 714								

M= masculino F=Femenino
NE= No existe NM= No metafases NS= No significativo
+=Positivo para malignidad -= Negativo para malignidad
P=Patología C= Citología G=Genética

Se estudió citogenéticamente en este grupo un total de 714 metafases; la variación en el número de cromosomas fue amplia con un rango de 30 a 100 cromosomas [hiperdiploidía(2n+) hasta la hipertetraploidía(4n+)]; de los cuales 15 fueron reportados positivos para malignidad y 4 negativos; la presencia de cromosomas marcadores, dmin estuvo presente en 4 casos(26%).

Se encontró una extensa gama de hiperdiploidías inespecíficas y cromosomas marcadamente aberrantes(Fig.1)

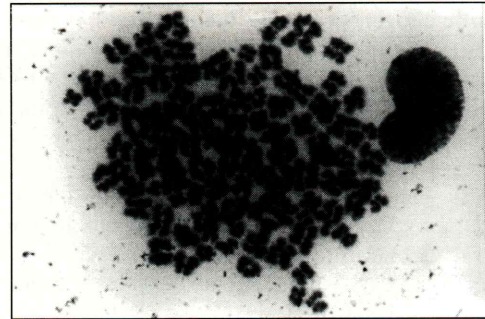


Fig.1. Metafase de un exudado mostrando células aberrantes (cromátidas separadas) con dotación hiperdiploide.

Los grupos más afectados fueron el C,D y G con trisomías inespecíficas; y los grupos A,B,D y F con monosomías, siendo los cromosomas 3,6,14,7,17 y 18 más involucrados.

Los grupos más frecuentemente involucrados en pérdidas cromosómicas fueron el B,D y E y en ganancias el A, C y G.

En esta serie se encontró un falso positivo al diagnóstico citológico; histológicamente fue un Tuberculoma (Tuberculosis pulmonar secundaria en período fibrocalcificante).

CÁNCER DE OVARIO.

De las 100 efusiones examinadas, 19 presentaron cáncer de ovario de los cuales 18 (95%) fueron positivos para malignidad,reportándose la presencia de marcadores, dicéntricos y doble minutos en un 56%(10casos);con una edad comprendida entre los 19 y 79 años(Tabla4).

TABLA 4

RESULTADOS CITOGENETICOS DE PACIENTES CON PATOLOGÍA DE OVARIO (19 casos)

Caso No	Edad	TEfusión	Rango	Marcador	T. Metafases	P	C	G
1	55	A	32- 80	+	48	+	+	+
2	51	P	46- 80	+	30	+	+	+
9	65	A	30-184	+	131	+	+	+
13	74	A	32- 75		26	+	+	+
14	53	P	NM		0	+	+	NM
23	49	P	34-123	+	42	+	+	+
27	43	A	35- 98	+	56	+	+	+
36	52	P	45- 58	+	30	+	+	+
40	67	A	46		30	+	+	+
44	42	P	NM		0	+	-	NM
52	49	A	42- 75	+	30	+	NE	+
55	79	P	44- 79	+	50	+	+	+
65	28	A	NM		0	+	-	NM
66	50	P	70-1000	+	60	+	+	+
67	38	A	46-51		30	+	+	+
68	26	A	46		25	-	-	-
69	48	A	54-170	+	70	+	+	+
75	62	P	38-53		30	NE	+	+
77	19	A	46		20	-	-	-
Total:						708		

M= masculino F=femenino A=ascítico P=pleural
NE= No existe NM= No metafases NS= No significativo
+=Positivo para malignidad -= Negativo para malignidad
P=Patología C= Citología G=Genética

Se estudiaron citogenéticamente 708 metafases, la variación en el número de cromosomas fue la más amplia de este estudio, con un rango de 32 a 1000 cromosomas; en 3 casos (16%) no se encontró células en división, debido posiblemente a que las pacientes se encontraban recibiendo quimioterapia.

Se encontró una extensa gama de ploidías inespecíficas: triploidías, tetraploidías, pentaploidías, octoploidías, etc, a menudo se encontraron cromosomas difusos, borrosos, de difícil identificación; eventualmente se vieron cromosomas dicéntricos y anillos.

Los grupos más afectados fueron el A, C, D y F con presencia de cromosomas supernumerarios y, los grupos E, F y G con monosomías inespecíficas; los cromosomas frecuentemente involucrados con trisomías y tetrasomías fueron los grupos A, B y C; los cromosomas frecuentemente involucrados fueron el 1, 3, 6, 7, 11, 12 y 19.

La mayoría de efusiones estudiadas fueron pacientes con cáncer de ovario avanzado, con metástasis diseminadas especialmente a peritoneo y epíplon; por lo que en esta serie se encontraron una extensa gama de ploidías inespecíficas, acompañadas de cromosomas marcadores, dicéntricos doble minutos como el caso de una paciente con Ca de ovario. (Figs. 2 y 3).

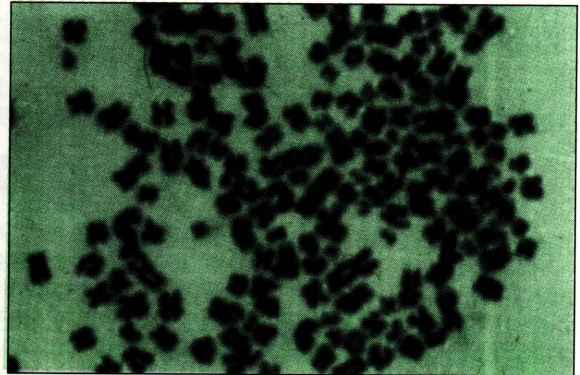


Fig. 2. Metafase hipertíploide (3n+) con técnica de bandas G de un líquido pleural de un cáncer de ovario, con múltiples alteraciones estructurales (cromosomas dicéntricos, doble minutos y numerosos cromosomas marcadores)

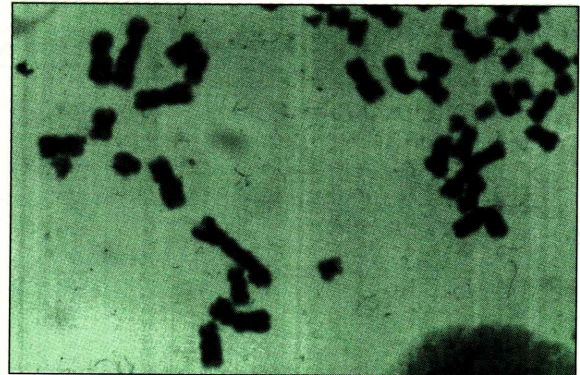


Fig. 3. Numerosos cromosomas marcadores con técnica de bandas G en una efusión en fase terminal.

CÁNCER DE ESTÓMAGO

Este grupo consta de 16 (16%) pacientes, de los cuales 14 (88%) fueron positivos para malignidad y 2 (12%) negativos, correspondiendo a 6 pacientes del sexo femenino y 10 del sexo masculino. (Tabla 5 y Fig 4).

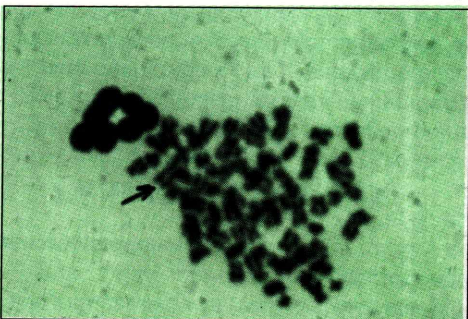


Fig. 4. Metafase hipertíploide (3n+) en un líquido ascítico de un paciente con adenocarcinoma indiferenciado de estómago. Se observan cromosomas dicéntricos y figuras cromosómicas.

TABLA 5

RESULTADOS CITOGENÉTICOS DE PACIENTES CON PATOLOGÍA DE ESTÓMAGO (16 casos)

Caso No	Edad	Sexo	T.Efusión	Rango	Marcador	T. Metafases	P	C	G
17	42	M	A	46		12	-	NE	-
46	39	M	P	44-51	+	92	+	+	+
48	42	F	A	30-79	+	40	+	+	+
60	28	F	P	47-60		30	+	+	+
62	54	F	P	93-100	+	100	+	+	+
63	17	M	P	47-57		50	+	+	+
72	74	M	P	46		10	+	-	-
73	40	F	A	80-140	+	40	+	+	+
74	67	M	A	46		20	-	+	-
78	44	M	A	46-51		20	+	+	+
84	65	M	A	42-54		30	+	+	+
85	35	F	A	47-75	+	46	+	+	+
88	31	F	A	47-51		24	+	+	+
91	63	M	A	46		10	-	-	-
94	78	M	A	46-51		20	+	+	+
96	66	M	P	47-50		40	+	+	+

M=masculino F=femenino A=ascítico P=pleural
NE=No existe NMF=No metafases NS=No significativo
+=Positivo para malignidad -=Negativo para malignidad
P=Patología C=Citología G=Genética

Se estudió citogenéticamente 584 metafases; la variación en el número de cromosomas fue amplia de 30 a 100 cromosomas, con un rango de 46-51 cromosomas (2n+), con una extensa gama de hipertiploidías inespecíficas. Se encontraron cromosomas marcadores y doble minutos en 5 (36%) casos de los 14 reportados como positivos; estas ampliificaciones génicas acompañadas de hsr (regiones homogéneamente teñidas), según Mittleman (6,10) se encuentran frecuentemente en carcinomas gástricos avanzados. Los grupos cromosómicos involucrados fueron el C, F y G en ganancia y en pérdidas el B y E, los cromosomas más involucrados fueron el 5, 7, 8, 9 y 17.

CÁNCER DE MAMA

De las 100 efusiones examinadas 11 pacientes presentaron cáncer de mama, de los cuales 9(82%) fueron positivos y 2(18%) negativos para malignidad, con una edad comprendida entre 30 y 71 años; se encontraron cariotipos complejos incluyendo cromosomas marcadores en 3(33%) de los 9 casos reportados como positivos.

Se estudiaron 222 metafases con un amplio rango de 54 a 74 cromosomas, que van desde la hiperdiploidía(2n+) hasta la hipetriploidía(3n+).

Un falso positivo citológicamente fue reportado en esta serie y en 2 efusiones no se encontró metafases; corroborándose este diagnóstico con el citológico, que fue reportado como muestra no significativa para estudio.

Los grupos A,C,E fueron frecuentemente involucrados, los cromosomas que con mayor frecuencia estuvieron presentes son: 1,2,3,8,11,16,17 y 18.

LINFOMAS

10 casos de linfomas fueron reportados en este estudio, de los cuales 9(90%) fueron positivos y 1(10%) negativos para malignidad; correspondiendo a 7 pacientes del sexo femenino y 3 del masculino, con una edad comprendida entre 14 y 67 años; en 3(33%) casos se reportaron marcadores de malignidad.

Se estudió citogenéticamente en este grupo un total de 309 metafases; la variación en el número de cromosomas fue de 30 a 51 cromosomas, cerca de la hiperdiploidía(2n+). Los grupos más frecuentemente fueron A,C,D y los cromosomas 1,2,3,5,8,9,12,14,18 y 22.

CÁNCER DE CÉRVIX

Se reportaron 6 casos de cáncer de cérvix, cuya edad fluctúa entre 31 y 71 años. Se analizaron citogenéticamente 92 metafases con un rango hipetriploide(3n+) entre 50 y 70 cromosomas. No se reportaron marcadores de malignidad.

Los cromosomas frecuentemente involucrados fueron el 1,7,10,12 y 14.

OTROS TIPOS DE PATOLOGÍAS

Este grupo consta de 19 pacientes con diferentes tipos de patologías de diferente origen: riñón, costillas, labio, esófago, hígado, fémur, colon, recto y de etiología no determinada (Tabla 2).

Diez pacientes corresponden al sexo masculino y 9 al femenino, cuya edad fluctúa entre los 28 y 74 años de edad, en 13 casos se reportó como positivos para malignidad, encontrándose en un solo caso marcadores de malignidad y numerosos anillos con un rango hipetriploide(3n+) de 62 a 160 cromosomas en un paciente con Sarcoma de húmero [Fig.5 y Fig.6 (citología)].

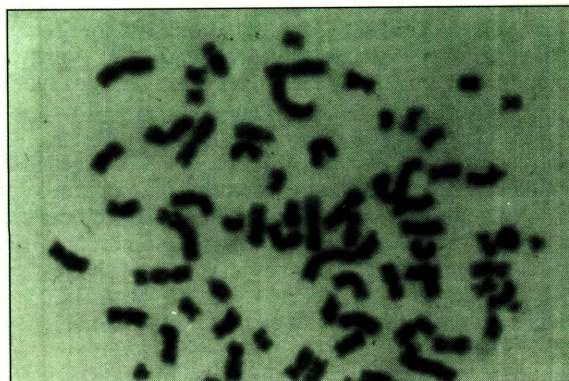


Fig.5. Metafase hipetriploide(3n+) en un líquido pleural de un paciente con Sarcoma de húmero; donde se observa numerosos cromosomas marcadores y un anillo.

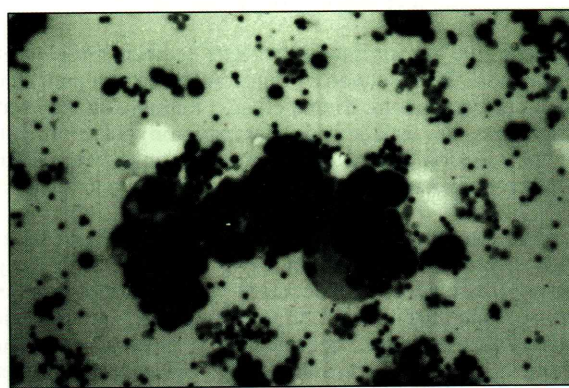


Fig.6. Metafase hipetriploide(3n+) en un líquido pleural de un paciente con

Se estudiaron citogenéticamente 487 metafases, con un rango de 32 a 59 cromosomas(hipotriploidía 3n-).

La diversidad de cariotipos encontrada y el extraordinario reordenamiento de los mismos fue muy compleja; lo que impidió encontrar marcadores tumorales específicos en cada tipo de cáncer.

DISCUSIÓN

Los cariotipos de los 100 casos presentados fueron caracterizados por una considerable variación celular de efusión a efusión y de cáncer a cáncer y por una considerable distribución de los cromosomas.

El amplio rango cromosómico de las células es una de las características más sobresalientes en estas efusiones, que van desde la hipodiploidía hasta la alta poliploidía.

En vista de que los cinco grupos más sobresalientes del presente estudio consisten en cáncer de pulmón(19 casos), cáncer de ovario(19 casos),cáncer de mama(11 casos), linfomas (10 casos) y cáncer de cérvix (6 casos), hemos puesto interés en estudiar los grupos y cromosomas más frecuentemente involucrados,cuyos resultados están muy detallados en los resultados.

Así, las células de las efusiones de pacientes con cáncer de pulmón (Tabla 3, Fig. 1), que tiene un rango 30 a 100 cromosomas siendo frecuente la aparición de cromosomas hipodiploides en un 46.7%, los grupos más afectados fueron el C,D y G, involucrando los cromosomas 3,6,7,17 y 18.

Las células de las efusiones de pacientes con cáncer de ovario (Tabla 4, Fig. 2 y 3) fueron acompañadas por cromosomas rangos extremadamente alto de 32 a 1000 cromosomas, siendo frecuente la aparición de cromosomas hiperdiploides en un 54.8%, los grupos más afectados fueron el A,B,C,D y F, involucrando esencialmente a los cromosomas 1,3,6,7,11,12 y 19.

El estudio de los cariotipos se realizó en la mayoría de los casos sin bandeamiento cromosómico, por lo que no fue posible en algunos casos identificar con precisión los cromosomas; además la diversidad de cariotipos complejos encontrados y el extraordinario reordenamiento de los mismos, impidió encontrar marcadores tumorales específicos en cada tipo de cáncer.

Se conoce que en los individuos que reciben radioterapia y quimioterapia, los resultados cromosómicos sirven para evaluar el éxito del tratamiento. Si una efusión maligna ha sido tratada exitosamente, se esperaría la desaparición del clon celular patológico. Podría ocurrir que la persistencia del clon alterado este relacionada a un insuficiente tratamiento o una recidiva⁽¹⁷⁾.

Los cromosomas marcadores estuvieron presentes en casi todos los casos; en las efusiones en cuyas células existió un gran número de marcadores, se encontró variada morfología de los mismos, encontrándose subtelocéntricos, acrocéntricos, metacéntricos grandes, dicéntricos y anillos; en algunas ocasiones hubo la presencia de microcromosomas y pulverizaciones, siendo esto habitual en efusiones malignas. Un hallazgo muy común en las efusiones tumorales son los cromosomas doble minute; estos han sido descritos en gran variedad de tumores experimentales y tumores humanos y se cree que están estrechamente relacionados con propiedades especiales de las células malignas.^(5,6,10)

Un fluido fue considerado positivo para malignidad, principalmente se hubo un 10% de metafases hiperdiploides o presencia de cromosomas marcadores.

Son diversos los estudios realizados, comparando los resultados obtenidos por la citología y citogenética en el estudio de exudados^(1,9,11,12,13,14,18), pero existe una tendencia similar con los resultados de la presente serie.

En el presente estudio hemos encontrado una sensibilidad de la citogenética del 94%; sin considerar las muestras no significativas y aquellas que no tuvieron metafases, se encontró un 99% de diagnósticos correctos con la citogenética, frente a un 95% con la citología. (Tabla 6)

TABLA 6 Comparación de la efectividad diagnóstica citogenética-citología

DIAGNOSTICOS	CITOLOGIA	CITOGENETICA
Correctos	No % 92 92	No % 94 94
Erróneos	5 5	1 1
Correc+Erróneos	97 95	95 99

CONCLUSIONES

1. El análisis citogenético de las 100 muestras de derrames ascíticos y pleurales ha permitido observar que en este tipo de exudados existe principal es 2n(44-57 cromosomas), estando habitualmente, los valores modales principales incluidos entre los 45-55 cromosomas. La extremada diversidad de cuadros en los cariotipos celulares de las efusiones hace que no exista 2 efusiones idénticas con cariotipos similares.
2. Las hiperdiploidías y cromosomas marcadores son más frecuentes en cáncer de ovario que en los otros tipos de cáncer estudiados.
3. Los grupos más frecuentemente involucrados en el presente estudio fueron A, C y E, con pérdidas cromosómicas el B,D y F y en ganancias el A, C y G.
4. No fue posible encontrar marcadores numéricos específicos de malignidad en tumores malignos, por la diversidad de cuadros cariotípicos complejos.
5. En pacientes con cáncer avanzado se encontró, mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas, especialmente marcadores tumorales y doble minute; lo que está en relación al pronóstico del paciente efusión, con relación a las células normales.
6. Se llegó a encontrar una mayor efectividad diagnóstica con la técnica citogenética en un 99%, frente a un 95% con la citología
7. El análisis cromosómico en las células de los exudados es un importante instrumento que debe ser aplicado clínicamente para el diagnóstico y pronóstico de malignidad.

Según Carlevaro y Korsgaard⁽¹¹⁾ la falta de mitosis o de desviaciones cromosómicas visibles en las células de las efusiones puede contribuir a la exclusión de malignidad; esta teoría puede confirmarse nuestros hallazgos en 5(5%) casos de los 100, en que no se encontró metafases en las efusiones; lo que se corroboró con el examen citológico reportados como negativos para malignidad.

Una explicación de los falsos positivos puede ser la presencia de factores que influyen en la estimación citogenética, como son regresiones espontáneas del tumor, en las que, probablemente estén envueltos mecanismos de defensa inmunológica. El conocimiento de estos mecanismos en efusiones humanas está relativamente limitado y no se puede excluir la posibilidad de acción inmunológica que elimine un número pequeño de células tumorales.

El valor pronóstico se reportó en todos los casos de efusiones malignas en base al porcentaje de células alteradas, predominando el clon patológico al normal en un 62%; ya que el examen citogenético sirve valorar diagnóstico de malignidad y pronóstico de acuerdo al grado de ploidía y marcadores cromosómicos encontrados.

En conjunto el uso combinado de la citología y citogenética aumenta la exactitud y eficacia del diagnóstico. Miles y Wolinska⁽⁹⁾, encuentran un aumento de diagnósticos correctos usando las dos técnicas conjuntas en pacientes sometidos a quimioterapia y radioterapia.

Esperamos que estudios de grupos más grandes de pacientes con efusiones den más luz para el diagnóstico oportuno y precoz de malignidad en efusiones, que repercutirá directamente en el mejor manejo clínico y evolutivo de los pacientes.

BIBLIOGRAFIA

1. Bello.M.J.,Rey,J.A.,Ramos,C.,Santillan,S.,Ibañez,A. La Citogenética en el diagnóstico de malignidad de efusiones.Rev.Clin.Esp.169:229-232.1983.
2. Bousfiel LR,Greenberg ML, Pacey F: Cytogenetic diagnosis of cancer from body fluids.Acta Cytol 1985;29:768-774.
3. Cerba. Técnicas citogenéticas. 1994. Barcelona-España
4. Falor,W,Ward,P, et al.: Diagnosis of pleural effusions by chromosome analysis. Chest, 81:2,February,1982.
5. Gebhart,E. Incidence of double minutes, cytogenetic equivalents of gene amplificación, in human carcinoma cells.Int.J.Cáncer:34,369 Fed.Rep.of Germany.1984
6. Heim,S Mitelman,F. Cancer Cytogenetics. Second Edition. Lund.September 1995.
7. ISCN 1991: Guidelines for Cancer Cytogenetics. Supplement to An International System for Human Cytogenetic Nomenclature VI+54pp.,1991.
8. Masayoshi,T. Citología del Cáncer. Segunda Edición.Bogotá.1981.
9. Miles,P,Wolinska,W.A. A comparative analysis of chromosomes and diagnostic cytology in effusions from 58 cancer patients. Cancer:1458-1469,1973.
10. Mitelman F: Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer. 5th Ed.New York: Wiley Liss. 1994.
11. Muzaffer Metintas, et al.:Chromosome Analysis in Pleural Effusions.-Efficiency of this method in the differential diagnosis of pleural effusions. Respiration 1994;61:330-335.
12. Ocampo,L. La citogenética en el diagnóstico de efusiones malignas humanas. Tesis doctoral en Biología U.C. Quito, julio de 1989.
13. Paz y Miño,C,Ocampo,L.: Aberraciones cromosómicas en efusiones malignas. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas. Vol.15(1-2).1990.Quito-Ecuador.
14. Paz y Miño,C.,Ocampo,L.:Análisis de los Grupos Cromosómicos Marcadores Tumores en Efusiones Malignas. In:Libro de Resúmenes del IX Congreso Latinoamericano de Genética.Lima,1989,p,83.
15. Sandberg,A. The chromosomes in Human Cancer and Leukemia. Second Edition. New York. 1990.
16. Sukurai M. Chromosome studies in hematological disorders.III Chromosome finding in preleukemia and related diseases. Acta Hematol.Jap.33,127,1970.
17. Takaaki y Col. Chromosome constitution of diploid and pseudodiploid cells in effusions of cancer patients. Cancer 16.885-895.Washington.1983.
18. Watts KC.,Boyo-Ekwueme H.: Chromosome studies on cells cultured from serous effusions: use in routine cytologic practice. Acta Cytol (Baltimore);27(1):38-44.1983.