

**UNIVERSIDAD DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS DOCTORAL

## **Histoquímica del cervix uterino**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**José López Barea**

Madrid, 2015

TA 1016

R. 52710.

TESIS DOCTORAL

HISTOQUIMICA DEL CERVIX UTERINO

José López Barea.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5315115023

UNIVERSIDAD DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA

25 MAY 1961

ENTRADA N.º 28/315



DEDICATORIA.

Mi vocación por la Obstetricia se inicia en el cuarto curso de la carrera, en que me corresponde como catedrático de la asignatura, el Profesor Bottella Llusí. El, con sus cualidades innegables de maestro, hace que sienta primero curiosidad y después verdadero interés por la materia.

Al año siguiente estudio, también con él, Ginecología, y mi vocación ya esbozada se consolida.

Acabada la Licenciatura, y planteado el problema de completar mi formación obstétrica, recorro para ello al buen maestro que tuve cuando estudiante. Fui acogido con la amabilidad en él característica.

Incorporado a su grupo de Maternidad, asistí a los últimos meses de vida, de la situada en Mesón de Paredes, pero es realmente en el Instituto Provincial de Obstetricia y Ginecología de Madrid, centro que tan atinadamente dirige, donde he hecho mi formación.

Aquí y durante cuatro años, he intentado cultivar en mí, alguna de las cualidades del Profesor Botella, pero fundamentalmente, su asombrosa capacidad de trabajo y su decidida vocación para la investigación, fruto de las cuales ha sido la realización de éste estudio.

El tema del mismo fué iniciativa suya, habiendome sido sugerido en la época en que estaba adscrito a la consulta de Colposcopia, a cargo del Dr. Gonzales Merle, anatomopatólogo del Servicio, muy versado en los problemas de la histoquímica, y al que desde aquí agradezco su incondicional colaboración.

La realización del trabajo, ha requerido solucionar dificultades de in-

dole muy diversa, que sin las ideas directrices del maestro, sin su amabilidad poniendo a mi disposición el caudal de sus conocimientos, y sin su consejo aún en los más pequeños detalles del mismo, yo no hubiese conseguido resolver.

Por todo lo anteriormente expuesto, considero un deber de gratitud, que cumpla sumamente gustoso, el dedicarle la presente Tesis.

INDICE DE MATERIAS

	<u>Pag.</u>
Dedicatoria . . . . .	III
Indice de materias. . . . .	VI

CAPITULO 1º

Introducción y planteamiento del Problema . . . . .	1
I. Generalidades sobre histoquímica . . . . .	2
A. Posibilidades y límites de la histoquímica . . . . .	4
B. Sensibilidad de la reacción . . . . .	7
C. Solubilidad de las sustancias . . . . .	10
II. Morfología del epitelio del cervix . . . . .	12
III. Fisiología del epitelio del cervix uterino . . . . .	13
A. Crecimiento. . . . .	13
B. Maduración . . . . .	14

VII

	<u>Pag.</u>
C. Degeneración . . . . .	16
IV. Fisiología del epitelio del endocervix uterino. . . . .	18
Cambios ciclicos del epitelio endocervical . . . . .	19
A. Ciclo de la secreción cervical . . . . .	19
B. Ciclo de la mucosa endocervical. . . . .	20
V. Seudocerosión, epidermisación y metaplasia. . . . .	24
Ideas clásicas según los trabajos de R. Meyer . . . . .	24
El problema de la metaplasia . . . . .	29
Histoquímica de la metaplasia . . . . .	30
Topografía del epitelio plano y cilindrico del cervix en las distintas edades de la vida de la mujer, según los trabajos de Kauffmann y Ober . . . . .	31
VI. Histoquímica del carcinoma incipiente . . . . .	33

	<u>Pag.</u>
<u>CAPITULO 2º</u>	
Material y métodos . . . . .	47
Clasificación del material estudiado . . . . .	47
Reacción del PAS:	
Técnica . . . . .	48
Mecanismo . . . . .	50
Intensidad de la reacción. . . . .	52
Especificidad de la reacción . . . . .	53
Glucógeno:	
Generalidades . . . . .	57
Fijación . . . . .	58
Estado del glucógeno en la célula. . . . .	60
Localización del glucógeno en la célula. . . . .	61
Valor cuantitativo de los métodos de detección del glucógeno . .	62

	<u>Pag.</u>
Métodos para la determinación del glucógeno . . . . .	63
Métodos de yodo . . . . .	63
Método del carmin amoniacal de Best . . . . .	65
Método de Bauer-Feulgen . . . . .	66
Métodos a la plata . . . . .	67
Método del ácido peryódico de Schiff. . . . .	70
Método del tetraacetato de plomo de Schiff. . . . .	71
Acción de la diastasa . . . . .	71
Otros métodos . . . . .	75
<b>Mucopolisacáridos y mucopretésidos:</b>	
Generalidades . . . . .	76
Mucopolisacáridos ácidos. . . . .	79
Métodos para la determinación de los mucopolisacáridos ácidos .	80
A. Metacromasia . . . . .	80
B. Reacción del PAS y de Bauer. . . . .	81

	<u>Pag.</u>
C. Basofilia . . . . .	82
D. Método y mecanismo del azul alción . . . . .	83
Mucopolisacáridos neutros . . . . .	84
Reacción del azul alción PAS. . . . .	85
Técnica del azul alción PAS . . . . .	86
<b>Acidos nucleicos:</b>	
Generalidades . . . . .	87
Mecanismo de acción de las distintas reacciones empleadas para su detección . . . . .	89
Estado y localización del DNA y RNA en la célula . . . . .	91
Propiedades químicas del DNA y RNA. . . . .	92
Basofilia . . . . .	93
Especificidad de la reacción. . . . .	94
Reacción de Feulgen-Rossenbeck. . . . .	95

	<u>Pag.</u>
Técnica . . . . .	96
Mecanismo . . . . .	97
Especificidad . . . . .	99
Argumentos en favor de la reacción. . . . .	105
Test de Brachett al verde metilo pironina y ribonucleasa. . . . .	107
Mecanismo . . . . .	107
Especificidad . . . . .	108

CAPITULO 3º

Casística:

Epitelio plano normal . . . . .	114
Seudoerosión glandular papilar . . . . .	146
Epidermisación . . . . .	160
Epitelio intranquilo . . . . .	185
Epitelio muy atípico no carcinomatoso . . . . .	213

	<u>Pag.</u>
Carcinoma "in situ" . . . . .	220
Microcarcinoma . . . . .	225
Carcinoma invasivo . . . . .	227

CAPITULO 4º

**Resultados:**

Epitelio plano normal . . . . .	240
Seudoerosión glandular papilar . . . . .	245
Epidermisación . . . . .	247
Epitelio intranquilo . . . . .	250
Epitelio muy atípico no carcinomatoso . . . . .	253
Carcinoma "in situ" . . . . .	255
Microcarcinoma . . . . .	257
Carcinoma invasivo . . . . .	258

CAPITULO 5º

## Comentarios:

Anatomía patológica en Ginecología . . . . .	261
Orígenes de la Histoquímica . . . . .	262
Ideas clásicas de R. Meyer . . . . .	263
Metaplasia indirecta y carcinoma . . . . .	269
Histoquímica en el diagnóstico precoz del cáncer . . . . .	269
Comparación de nuestros resultados con los de otros autores. . .	270
Ácidos nucleicos . . . . .	270
Glucógeno . . . . .	275
Mucopolisacáridos neutros . . . . .	283
Mucopolisacáridos ácidos . . . . .	288
Histoquímica de la membrana basal del carcinoma . . . . .	291

	<u>Pag.</u>
<u>CAPITULO 6º</u>	
Conclusiones . . . . .	295
<u>CAPITULO 7º</u>	
Bibliografía . . . . .	303

---

CAPITULO 1º

**INTRODUCCION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La anatomía patológica con sus métodos clásicos nos permite, hoy día, efectuar una representación utilizada hasta el último detalle, de las estructuras morfológicas. Sin embargo, estos métodos no nos permiten juzgar directamente del estado funcional de un tejido. Lo que observamos son más bien correlaciones morfológicas a las que tratamos de asociar a base observaciones comparativas y una experiencia personal, estados funcionales correspondientes del metabolismo del tejido celular; el tejido y más aun la célula tienen sólo una posibilidad limitada de reaccionar con un cambio de forma a estados funcionales distintos y sus cambios no bastan en modo alguno para caracterizar el número elevado de trastornos funcionales en forma específica.

Si queremos profundizar en la esencia de los trastornos funcionales, hemos de atravesar la barrera de lo morfológico.

La composición química del cervix puede ser un magnífico auxiliar para comprender los procesos metabólicos que intervienen en el crecimiento y madu-

ración del mismo.

Digamos en primer lugar unas palabras sobre las posibilidades y límites de la determinación de las sustancias que componen el cervix, para estudiar después de forma detallada aquellas que nos pueden orientar en el diagnóstico funcional.

#### I.- HISTOQUIMICA.

El análisis bioquímico del cervix nos dá el conocimiento global de las sustancias que lo componen. Sin embargo la histología que conoce la complejidad de las estructuras del cervix no puede conformarse con ésto, desea precisar más. Desea saber no sólo que sustancias existen en el cervix sino donde se encuentran cada una de ellas, así como la constitución exacta de cada estructura distinguible.

Este es el objeto de la histo-química ó imagen química de los tejidos y células como la definió Lisson (11D). Gemori (75) (1952), dice que su misión es la comprobación y localización de sustancias químicas en los tejidos

efectuadas sobre una base citomorfológica.

El campo de la histoquímica reside en los dominios fronterizos de la histología y de la química analítica. Todo problema histoquímico comporta un aspecto morfológico, la localización de la sustancia a estudiar, y un aspecto químico, la determinación de la naturaleza de la sustancia. Ciencia morfológica por un lado y ciencia química por otro, es lógico que sus técnicas propias se inspiren en los métodos de las ciencias en que se apoyan métodos muy diferentes, en su espíritu y en su realización. De hecho los métodos histoquímicos pueden clasificarse en dos grandes grupos: los primeros que derivan de análisis químicos normales, se realizan en órganos ó tejidos aislados; el órgano es fraccionando en sus distintos componentes anatómicos. Se les puede llamar métodos "extra situ" ó métodos extractivos, porque los elementos celulares a estudiar son aislados para el análisis. Esta extracción implica una destrucción de la arquitectura del tejido; el examen microscópico no es aquí aplicable.

Al segundo grupo que utiliza las técnicas histológicas, se le puede

llamar método histoquímico in situ. El análisis se realiza sobre tejidos intactos, completos, en los cuales la estructura y las relaciones morfológicas están conservadas tanto como es posible. La preparación se estudia en un corte histológico normal. La identificación química se efectúa bajo el microscopio.

Los métodos extra-situ tienen la ventaja de conseguir un análisis cualitativo más exacto.

#### A) POSIBILIDADES Y LIMITES DE LA HISTOQUIMICA.

Los métodos in situ al conservar la arquitectura del tejido permiten una localización muy exacta de la sustancia detectable con la sola condición de evitar el desplazamiento artificial de la sustancia en la confección de la preparación. Sus limitaciones derivan de la naturaleza de las técnicas empleadas, ya que se debe conservar inalterada la estructura del tejido, lo que supone una renuncia de casi todas aquellas técnicas químicas que implican una rotura profunda de las moléculas de la sustancia analizada, por lo que casi todas ellas comportan un tratamiento incompatible con el mantenimiento de la

integridad morfológica del tejido. Como además, el instrumento de la investigación es el microscopio, se exige que la propiedad que ha de servir para caracterizar la sustancia, sea una manifestación detectable por el mismo.

Se excluyan así todas las técnicas titrimétricas, gasométricas, conductométricas, por ejemplo, y sólo se pueden turnar en su empleo los métodos que utilizan propiedades fotograficas, tales como el color, la fluorescencia, la emisión de radiaciones, etc. Los más empleados, sin embargo, son las reacciones coloreadas. Adelantemos ya que el ginecólogo falto de formación química utiliza casi exclusivamente los métodos in situ y fundamentalmente como decimos las reacciones coloreadas.

Existen ciertos dominios inaccesibles para el análisis histoquímico. Así no es posible la investigación histoquímica de sustancias existentes al estado de disolución en los medios tisulares cuando ellos no están ligados a un elemento figurado de la célula. Se pueden poner de manifiesto estas sustancias con reactivos apropiados, pero no se puede jamás tener la certeza de la exactitud de la localización de las mismas.

El error es tanto más marcado cuanto mayor sea la difusividad de la sustancia. Este es máximo en las sustancias cristaloides de peso molecular bajo y de alta difusibilidad; entonces el análisis histoquímico sólo podrá ser realizado de forma grosera y aproximada. Este es el caso de los cloruros, sulfatos, fosfatos solubles, la glucosa, la urea. Otras sustancias disueltas de peso molecular más elevado y de difusibilidad más grande podrán ser algunas veces investigadas con aproximación suficiente, así ocurre con las sales de metales pesados, sales de hierro, de plomo, ferrocianuro etc. Cuando las sustancias estén en solución coloidal, su fijación podrá generalmente ser efectuada de manera satisfactoria, siendo este el caso del glucógeno.

Cuando las sustancias aunque solubles están ligadas a un elemento figurado de la célula, ó cuando existe ella misma en forma de elemento figurado, su detección es posible histoquímicamente y su puesta en evidencia depende exclusivamente de la reacción química utilizada.

Con alguna excepción, el verdadero dominio de la histoquímica "in situ" es el estudio de los elementos macromoleculares del tejido. Casi todas las

investigaciones de histoquímica se realizan en cortes histológicos. Los elementos presentes en tales preparaciones están representados en la mayor parte, por el sistema macromolecular del tejido, desembarazado de elementos solubles no macromoleculares. A nuestro juicio este es el principal interés de la histoquímica "in situ". En la mayor parte de los casos, los estudios químicos in vitro ó se realizan sobre elementos no macromoleculares ó bien si se realizan comportan una degradación más ó menos completa de los edificios que forman la trama del tejido.

El método histoquímico ó método sintético está la mayoría de las veces llamado a tener un gran porvenir en el diagnóstico funcional, si bien es cierto que su programa es vasto y sólo una parte ínfima del terreno a descubrir ha sido explorada.

Queda por revisar el problema de la sensibilidad de la reacción, problema de gran importancia.

#### **B) SENSIBILIDAD DE LA REACCION.**

Durante algún tiempo se ha afirmado que detectar una sustancia en un te-

jido es una empresa irrealizable, dadas las cantidades tan pequeñas que de ella contenían las células, Brunswick (22) (1932). Por ello Policard y Leulier (154) (1925), negaron las posibilidades de detectar el fósforo con métodos histoquímicos.

Los autores que se han ocupado de los límites de la histoquímica se basan en cifras de sensibilidad teórica máxima (Erfassungsgrenze, de los autores alemanes), suministradas por la microquímica. Esta manera de proceder es errónea. Las cifras dadas en microquímica son valorables solamente en las condiciones en que ellos trabajan. Cuando la microquímica no había nacido y las reacciones se realizaban con tubos de ensayo, de dimensiones corrientes, la sensibilidad del azul de prusia en la investigación del hierro no era superior a 0,02 miligramos. Con el empleo del microscopio y operando con microgotas de un milímetro cúbico, la microquímica ha llegado a establecer la sensibilidad de esta reacción hasta el límite de 0,002 gammas; el empleo de modalidades técnicas apropiadas ha multiplicado por 10.000 la sensibilidad de la reacción. Pero no es esto todo, las condiciones en que se opera en his

toquímica son tales que la reacción del azul de prusia es aún más sensible que en microquímica.

Los límites de las reacciones histoquímicas, son de valor absoluto, están comprendidas en límites extraordinariamente bajos y no hay motivos para compartir las conclusiones pesimistas de algunos autores.

El problema de las posibilidades de la histoquímica debe ser planteado de forma diferente. Existen reacciones suficientemente sensibles para poder detectar cantidades muy pequeñas de sustancias existentes en las células. Esto es verdad cuando se consideran valores absolutos de estas sustancias. Sin embargo carecemos realmente de datos sobre los límites de la sensibilidad relativa (Empfindlichkeitsgrenze de los autores alemanes). Una cantidad de 2,5 por 10 elevado a menos 7 de hierro se puede detectar histoquímicamente si está concentrado en una granulación de una micra de diámetro. Pero ¿será igualmente detectable si la misma cantidad se encuentra repartida en una formación de 10 micras de diámetro?. Es posible que no. Es necesaria una concentración en hierro de un tanto de gammas por micra cúbica para que aparezca, bajo el

microscopio la reacción. Si este límite no se alcanza, se obtendrá una reacción negativa, no porque no exista sustancia, sino porque no se verá. Será muy deseable y conveniente determinar para las reacciones histoquímicas conocidas éstos límites relativos de sensibilidad; éstas investigaciones son fáciles gracias al desarrollo de los métodos histofotométricos.

#### C) SOLUBILIDAD DE LAS SUSTANCIAS.

Para dejar terminado éste estudio nos queda por examinar en que medida los factores de solubilidad limitan la sensibilidad de las reacciones. Se sabe que en microquímica las reacciones están limitadas por la solubilidad del producto de reacción. Se puede pensar que el mismo fenómeno puede tener lugar en histoquímica y que ciertas reacciones resulten imposibles porque el producto de reacción pueda desaparecer del corte por la solubilización. Teóricamente parece lógico pensar que un corte histológico que encierra unos microgramos de una sustancia soluble, con un simple lavado será suficiente para hacer disminuir notablemente ésta sustancia. Afortunadamente esto no sucede en la histoquímica más que en teoría. En la práctica, los lavados, inclu-

so los prolongados, no disuëlven en los cortes histol6gicos las sustancias de elevada solubilidad. Por ejemplo, el 6cido 6rico, es soluble en 14.000 partes de agua fria, sin embargo, se puede lavar con agua durante un tiempo prolongado, el corte histol6gico que lo contiene sin que 6ste desaparezca del mismo, aunque se haga pasar cantidades muy superiores a las que le seria necesario para disolverle. La solubilidad de las sustancias en histoquímica no es igual que en la química macrosc6pica, y esto hace posible muchas reacciones que te6ricamente no podrian ser aplicadas.

Aunque en realidad la histoquímica es tan antigua como la histología misma, como dice Baker (6) (1943-1945) y Pearse (150) (1953), podemos considerar al autor frances Raspail (161-162-163) (1749-1878) como el primer histoquímico sistemático. El introdujo entre 1826 y 1830, entre otras la reacción del yodo para el almig6n, la reacción xantoproteica para la albumina, el test del furfural para la comprobación de los hidratos de carbono y probablemente tambien la microincineración. Sin embargo, la histoquímica no cobra auge hasta la aparición de la primera edición del libro de Liesson (110) "Histochemie et cyto-

química animales" (1936), que culmina con los libros de Gomori "Microscopic histochemistry" (1952) en Chicago; de Pearse (150) "Histochemistry" (1953) Londres; Glick (73) "Techniques of Histo and Cytochemistry" (1949) Nueva York y la segunda edición del libro de Sisson (111) (1953) Paris.

## II.- Morfología del epitelio del cervix uterino.

En el cervix uterino existen dos tipos de epitelio totalmente distintos. Uno el epitelio de revestimiento del ectocervix, poliestratificado y semejante a la piel y a la vagina, desprovisto de glándulas y sin tendencia a la queratinización. Las células que componen la capa basal se disponen de forma semejante a una empalizada con su eje mayor perpendicular a la membrana basal.

En las capas superficiales las células se disponen de forma que su eje mayor es paralelo a la superficie. Las células de la capa intermedia no tienen orientación definida. El epitelio está limitado del tejido conjuntivo subyacente por una membrana discretamente ondulada y que experimenta cambios cíclicos como luego veremos.

El epitelio que recubre el endocervix está constituido por una sola

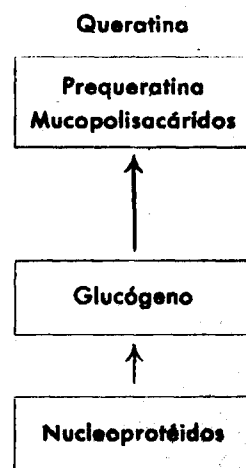
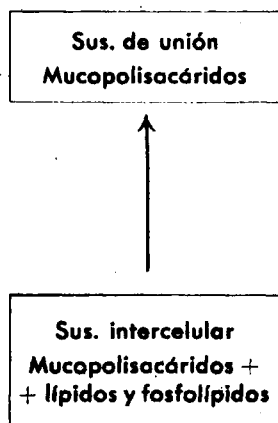
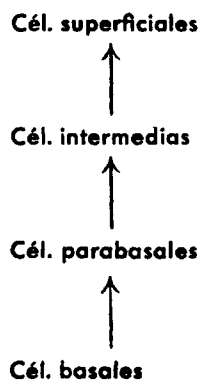
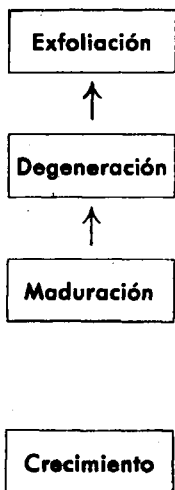
hilera de células cilíndricas altas con núcleos fusiformes ricos en cromatina situados en el polo basal de la célula. El citoplasma es basófilo. Existen glándulas de carácter racinoso productoras de moco.

### III.- Fisiología del epitelio plano poliestratificado del cervix.

Las células que componen el epitelio plano del ectocervix experimentan un proceso biológico que podemos dividir en tres fases: Crecimiento, maduración y degeneración.

#### A) CRECIMIENTO.

El crecimiento celular supone neoformación de sustancias y preponderantemente síntesis de proteínas. Desde las investigaciones efectuadas por Caspersón (33-34) (1947, 1950) y por Brachet (18) (1940) y otros sabemos que la síntesis de proteínas de la célula depende en forma decisiva del contenido en ácido nucleico. En numerosas investigaciones cuantitativas e histoquímicas se ha demostrado que los tejidos así como las células que crecen rápidamente, tienen un elevado contenido en ácido nucleico; el aumento del contenido en



ácido nucleico no es el único rasgo característico de los tejidos que crecen rápidamente, se acompañan a menudo de un ascenso de la actividad de fermentos que a su vez, pueden ser puestos en relación con las alteraciones funcionales que acompañan al crecimiento.

#### B) MADURACION.

Las células del epitelio pavimentoso del ectocervix experimentan un proceso de maduración que se combina con una pérdida simultánea de la capacidad de crecer y dividirse de la célula. Signos bioquímicos del proceso de maduración son la aparición del glucógeno en el citoplasma y la existencia de cornificación, a la que hay que agregar en el sentir de Schffer y de Pasteslt (149) la elaboración de una sustancia intercelular homogénea.

Crecimiento y maduración celular son dos situaciones metabólicas fundamentalmente diferentes que se excluyen entre sí, por eso la histoquímica de las células en crecimiento ha de ser distinta de la histoquímica de las células maduras ó en maduración. Así, las células de la capa basal y parabasal contienen abundantes ácidos nucleicos y son muy basófilas, indicando su capa

oidad de proliferación. En las células de la capa intermedia comienza a depositarse el glucógeno como signo evidente de la iniciación de una función específica y desaparece la basofilia ligada a la potencia proliferativa.

Morfológicamente no disponemos de un criterio exacto y semejante para conocer la maduración celular incipiente.

Estudiando el contenido de las sustancias antes señaladas ( glucógeno, y ácidos nucleicos fundamentalmente) podemos conocer la capacidad proliferativa del epitelio y la tendencia a la maduración de sus células. Se puede así conocer la existencia de perturbaciones en la maduración normal del epitelio pavimentoso, cuando aun faltan alteraciones morfológicas.

Se comprende así el interés que los métodos histoquímicos han de tener para el estudio de las atipias del ectocervix y fundamentalmente para el diagnóstico precoz del carcinoma. Esta posibilidad fué señalada por primera vez por Mc. Manus y Lyman (126) (1949). Posteriormente Lajos y Pali (99-100) (1951-1952) en una serie de trabajos han señalado la importancia de la reacción del PAS en el estudio de las alteraciones epiteliales del cervix. Según

Estos autores se pueden distinguir con ésta reacción el epitelio normal, el anormal y el atípico del carcinoma intraepitelial. Posteriormente se han ocupado del problema una larga serie de investigadores entre ellos Botella y Nogales (17), Runge y Ebner (167), Foraker (61-62), Hopmann (89), Ober y Kauffmann (141) y otros, como Stoll, Ebner y Lindenschmidt (168), Runge, Ebner y Lindenschmidt (183) y Stoll y Ebner (182).

### C) DEGENERACION.

Morfologicamente, las alteraciones degenerativas del epitelio pavimento se coinciden con el comienzo de la cornificación. Según Schiller (171) (19345) la formación de glucógeno y la cornificación son dos procesos orientados en direcciones opuestas, que en su pleno desarrollo se excluyen entre sí. Las investigaciones histoquímicas modernas, han modificado este concepto. Se ha demostrado que a la formación de glucógeno sigue inmediatamente el proceso de la cornificación que, a su vez, debe ser considerado histoquímicamente como periodo precursor de una queratinización normal. Las relaciones que existen entre el contenido en glucógeno del epitelio vaginal y su cornificación no

están aclaradas. La presencia de glucógeno está en relación inversa con la síntesis activa y con el rápido crecimiento de la formación de queratina, por un lado, y con la actividad mitótica, por otro (Montagna Chase y Lobitz (130) (1952). Sin embargo, el glucógeno se encuentra siempre que el proceso de la queratinización es muy lento, ó cuando llega solamente hasta la formación de prequeratina.

Sabemos en la actualidad que en el proceso de la cornificación existe una oxidación de los grupos SH que se transforman en SS, lo que origina una transformación de la cisteína, que como es sabido representa un importante papel en el proceso de crecimiento, en cistina.

En la capa intermedia cuando comienza a depositarse glucógeno en las células epiteliales la sustancia intercelular aparece PAS + resistente a la diastasa; se trataría de un mucopolisacárido. En ésta misma zona en los puentes de unión intercelular se ha demostrado la existencia de gránulos de lípidos y fosfolípidos que desaparecen en el espesor de la capa superficial, con el comienzo de la cornificación, adoptando la sustancia intercelular un carácter

homogeneo.

#### IV.- Fisiología del epitelio del cervix uterino.

Las glándulas endocervicales segregan una mucina que los estudios químicos han demostrado que se trata de mucopolisacáridos. Se tiñe por tanto con la reacción del PAS, es resistente a la digestión con diastasa y tiene carácter metacromático con los colorantes básicos. Esta metacromasia no desaparece por la acción previa de la hialuronidasa; la mucina parece localizarse en todo el citoplasma.

Muy interesantes son los estudios de Wislocki, Bunting y Dempsey (201) (1950) que investigaron histoquímicamente la existencia de polisacáridos en el endocervix utilizando la reacción de Baruer-Faulgen y midieron histofotométricamente la afinidad del núcleo celular, del citoplasma y de la mucina, con el azul de metileno entre un pH de 1-8. En estas condiciones por debajo de un pH 4 los nucleoproteidos quedan sin teñir, mientras que la mucina intracelular se mantiene positiva a un pH de 2 y en ocasiones a pH inferiores.

La reacción presenta su máximo de intensidad en la mucina libre de los

foliculos de Naboth; en cambio está muy disminuida en el endocervix de la mujer menopausica.

El epitelio glandular del endocervix reacciona intensamente a la fosfatasa ácida y alcalina.

#### CAMBIOS CICLICOS DEL EPITELIO ENDOCERVICAL.

La secreción del epitelio endocervical, el moco, presenta una serie de cambios ciclicos, en relación con su cantidad y calidad conocidos desde hace mucho tiempo, pero hasta hace muy poco no se había podido llegar a una demostración histológica concluyente de los cambios que tienen lugar en la mucosa del endocervix.

A) Ciclo de la secreción cervical. El moco cervical es más abundante a medida que avanza el ciclo, alcanzando su máxima intensidad en el momento de la ovulación, según han demostrado entre otros Lamar y cols. Es un hecho comprobado que la secreción cervical aumenta en abundancia hasta el día 14 del ciclo, disminuyendo paulatinamente a continuación. Nos es posible afirmar que no sólo aumenta la cantidad, sino que la fluidez de éste moco se hace ma

yor a medida que el ciclo avanza; una propiedad que marcha paralela a ésta capacidad de fluidificación es la formación de hilos ó filancia del moco y que da lugar a que el moco en el momento de la ovulación pueda llegar a formar hilos de 12 y más cms. de longitud. Campos de Paz y en España Lafuente y Galvez (98) estudiaron la curva de cristalización, propiedad que se debe a las sustancias cristaloides contenidas en el moco, y comprobaron que va haciéndose cada vez mayor a medida que el ciclo avanza alcanzando su máximo en el momento de la ovulación, descendiendo de manera gradual y haciéndose totalmente negativa en la cuarta semana del ciclo. Por su comprobada relación con el determinismo hormonal se estima que puede servir de signo para determinar el momento de la ovulación y la intensidad de la acción estrogénica.

Presentan también oscilaciones cíclicas la presión osmótica, la composición química en cuanto al fosforo lipideo, mucopolisacaridos ácidos, galactosa etc.

B) Ciclo de la mucosa endocervical. Parece razonable admitir que si hay cambios cíclicos en el producto de la secreción, existan también estos mis-

mos cambios en las glándulas. Sin embargo, la demostración del ciclo en las glándulas de la mucosa endocervical, es uno de los problemas más arduos de la histología del aparato genital. En 1936 se pretendió describir un ciclo en la mucosa endocervical y estudios posteriores confirmaron también la existencia de éste ciclo, si bien describiéndolo de una manera francamente diferente. Investigaciones posteriores de Topkin y otros parecen negar la existencia de ésta ciclicidad y por otra parte, el hecho de que los autores que han descrito el fenómeno no esten de acuerdo en la forma en que tiene lugar, nos hace sumamente excepticos en admitir cambios periódicos en las glándulas del cuello uterino. Muy recientemente Nogales y Botella (17) abordaron el problema mediante estudios histoquímicos de las biopsias endocervicales. De ésta manera hemos podido comprobar que a lo largo del ciclo existen cambios muy interesantes en el contenido de mucina de éstas glándulas, tal y como puede demostrarse por el método del mucicarmin de Mayer ó por el procedimiento del ácido peryódico de Schiff. Al final de la menstruación, las glándulas cervicales contienen muy poca mucina y las células de su epitelio son pequeñas con

lo que la altura del mismo es baja. Durante la primera y segunda semanas del ciclo aumenta progresivamente el espesor del epitelio cervical y al mismo tiempo su contenido en mucina, alcanzando su máximo en el momento de la ovulación. En la tercera y cuartas semanas del ciclo, éste almacenamiento de mucina disminuye progresivamente, hasta llegar por completo a desaparecer en vísperas de la menstruación. Si en vez de estudiar la concentración de mucina en las glandulas nos preocupamos de analizar la capacidad de tinción de éstas con el azul de metileno, entonces observamos un hecho interesante y es que en la primera semana del ciclo las glandulas se tiñen intensamente, es decir, son muy basófilas, mientras que aproximándonos a la ovulación su protoplasma y el producto de secreción glandular reduce cada vez más el azul de metileno hasta llegar a transformarlo por completo en leucobase. Un fenómeno semejante ha sido demostrado a lo largo del ciclo en el producto de la secreción, por De la Cruz (43), de tal manera que puede pensarse que ésta progresiva decoloración del azul de metileno en las glandulas endocervicales conforme el ciclo avanza se debe a propiedades del moco segregado que cada vez es más reductor. En la

tercera semana del ciclo estos cambios regresan poco a poco y en la cuarta la capacidad de reducción del azul de metileno ha desaparecido por completo. Por lo tanto, la intensidad con que las glándulas cervicales se tiñen en azul por éste colorante es inversamente proporcional a la intensidad con que se colorean con los reactivos de la mucina. Si estudiamos además de estos métodos la coloración de la fosfatasa alcalina según Gomori (74), observamos que en la primera mitad del ciclo la fosfatasa es al principio muy intensa y va desapareciendo poco a poco de intensidad hasta el momento de la ovulación, para volver de nuevo a ser más intensa en la proximidad de la menstruación siguiente. Por lo tanto podemos decir que a lo largo del ciclo cervical se observan cambios característicos que son paralelos tanto en las propiedades histoquímicas de las glándulas como en el producto de la secreción, alcanzando su máximo en el momento de la ovulación. Estos cambios, consisten en una progresiva repleción de las glándulas cervicales con mucina, una disminución progresiva de la fosfatasa y una capacidad progresiva de reducción del azul de metileno, hasta el momento de la ovulación, regresando después estos cam-

bios hasta la menstruación siguiente. La coloración de la fosfatasa es inversamente proporcional a la del mucicarmin y a su vez el mucicarmin y la metileno reducción son proporcionales.

Existe por lo tanto un ciclo cervical paralelo al ciclo de las demás partes del aparato genital pero que a diferencia del ciclo endometrial, no presenta una fase de proliferación y una de secreción, sino que se caracteriza por una fase de secreción progresiva en la primera mitad del intermenstruo fase de secreción que alcanza su acmé en el momento de la ovulación, para regresar después. Todos estos cambios tienen por finalidad facilitar la fecundación.

#### V.- Seudocerosión, epidermización y metaplasia.

Según los conceptos clásicos el límite entre el epitelio cilíndrico glandular del endocervix y el poliestratificado del ectocervix se haya situado en el orificio cervical externo. Desde los trabajos de R. Mayer (122-123) se admite que toda agresión traumática ó infecciosa del ectocervix puede origi-

ginar un desprendimiento total del epitelio poliestratificado, dando lugar a una erosio vera, es decir, un estado en el que ha desaparecido por completo el epitelio de revestimiento. El estroma, con un infiltrado inflamatorio casi constante aparece en contacto con la superficie. Este estado dura poco tiempo y es rápidamente recubierto por el epitelio endocervical que desborda sus límites habituales, hacia afuera, constituyendo el I estadio de curación de R. Meyer, la pseudoerosión glandular papilar ó ectopía.

Se admiten clásicamente tres formas histológicas de ectopía ó pseudoerosión. Una que podemos llamar congénita y que aparece fisiológicamente en el feto y en la parte alta de la curva de la pubertad. Para comprender su mecanismo de producción es necesario recordar que la mucosa de revestimiento del aparato genital con excepción de la parte inferior de la vagina, procede del epitelio de revestimiento del celoma. Hacia el 3º ó 4º mes se diferencia a lo largo del tubo genital un par de tipos de epitelio: uno cilindrico de una sola hilera y otro escamoso poliestratificado.

El límite entre ambos se halla situado entonces en pleno conducto endo-

cervical. Hacia el 7<sup>o</sup> mes, según R. Meyer (122-123), éste límite se desplaza hacia abajo y queda situado en el orificio cervical externo. En ocasiones sin embargo, traspasa estos límites e invade el ectocervix, originando una ectopía congénita.

Con mayor frecuencia la ectopía se origina con motivo de un parto. Al involucionar la dilatación cervical ocurrida en el parto, máxime si existieron desgarros de cuello, los límites entre los epitelios cilíndrico y plano quedan desplazados hacia afuera, es decir, existe una eversión del conducto cervical. El epitelio cilíndrico endocervical, situado en un medio adverso, es asiento de procesos inflamatorios que producen una gran hipersecreción de moco. El epitelio plano situado en las inmediaciones del cilíndrico es poco resistente a la humedad, se macera y desprende, es reemplazado por el epitelio endocervical.

En la tercera forma etiológica la inflamación es el primun movens. Se produce primeramente la endocervicitis con gran exudación de moco que nada más que por el contacto con el epitelio contacto reiterado, lo macera y des-

truye. Se origina así una erosión en la que el tejido conjuntivo con sus vasos aparece en contacto con la superficie; éste estado dura poco tiempo, horas solamente. Rápidamente el epitelio cilíndrico endocervical con sus formaciones glandulares recubre la erosión. Se constituye así la ectopía ó pseudoerosión ( I estadio de curación de R. Meyer ).

La ectopía ó pseudoerosión no tiene un carácter permanente. Cuando desaparecen las condiciones etiológicas que la motivaron, es decir, al curar la inflamación, el epitelio plano desplazado hace retroceder al cilíndrico hasta el orificio externo y vuelven a reunirse las condiciones iniciales, ó sea, el epitelio ocupa su lugar primitivo. (II estadio de curación de R. Meyer).

Según los conceptos ya clásicos de R. Meyer, admitidos de forma casi universal, el epitelio plano de la periferia de la ectopía envía una serie de prolongaciones en forma de lengüetas que se insinúan entre la membrana basal y el epitelio cilíndrico de superficie, levantándolo y desprendiéndolo. La llegada de dicho epitelio a las desembocaduras glandulares puede dar lugar a las siguientes eventualidades.

Únas veces, las más, el epitelio plano penetra en profundidad siguiendo los huecos glandulares, siempre entre la membrana basal y el epitelio glandular, rellorando la glandula y desprendiendo al epitelio cilindrico que degenera y muere. A veces se observa en el centro de los nuevos epitelios restos de tejido glandular, que toma el color típico de la mucina (mucicarmin, azul alcian etc.). Pueden observarse tambien zonas de epitelio glandular perfectamente conservadas al lado de epitelio plano. Es éste, en el sentir de Limburg (108) un dato de importancia para el diagnostico diferencial de la epidermización y el carcinoma "in situ".

En algunas ocasiones el epitelio plano ó invasor está constituido solamente por una ó dos capas de células basales, produciendo cuadros sospechosos para el observador inexperto.

Otras veces el epitelio escamoso al llegar a la desembocadura de las glandulas no penetra en profundidad, sino que pasa por encima de ellas continuando su crecimiento en superficie. Las glandulas quedan así obstruidas. Su producto de secreción no puede ser expulsado y se originan así los quistes

de retención (Huevos de Naboth).

Estas ideas expuestas no son admitidas por todos los autores, por ejemplo, los que siguen las teorías de Ruge, de que la reparación se realiza por metaplasia, es decir, por transformación del epitelio cilíndrico en escamoso.

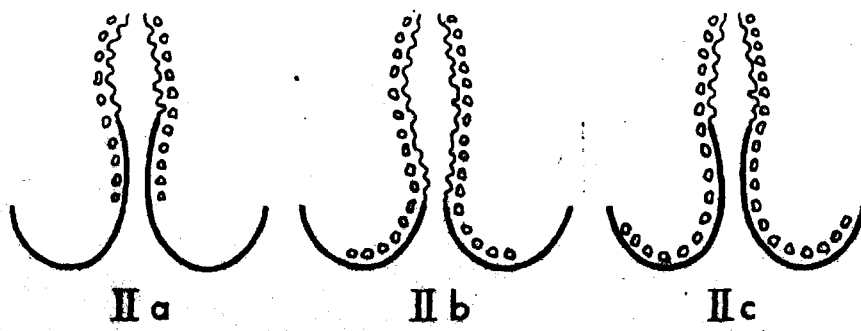
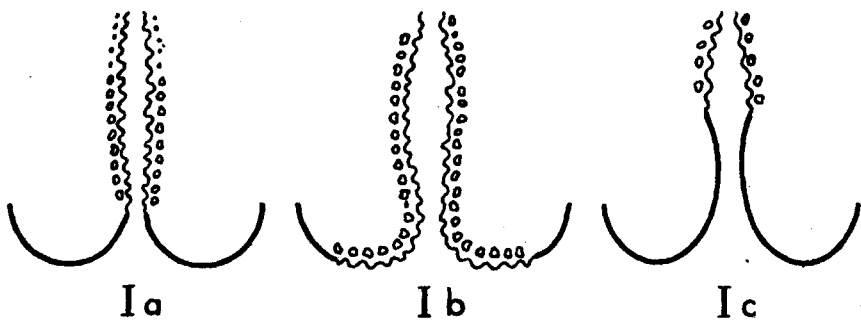
La transformación directa del epitelio glandular adulto en escamoso no es admitida actualmente. Se piensa que esta transformación se realiza a partir de las células de reemplazo que serían células germinativas semejantes a las que primitivamente, en los primeros meses de la vida intrauterina recubren el conducto genital, y dan lugar al epitelio glandular del endocervix, endometrio y endosalping por un lado y por otro al epitelio plano del ectocervix. Estas células con carácter polivalente, existirían debajo del epitelio de revestimiento del conducto cervical y podrían en determinadas circunstancias originar epitelio plano y glandular según las últimas investigaciones.

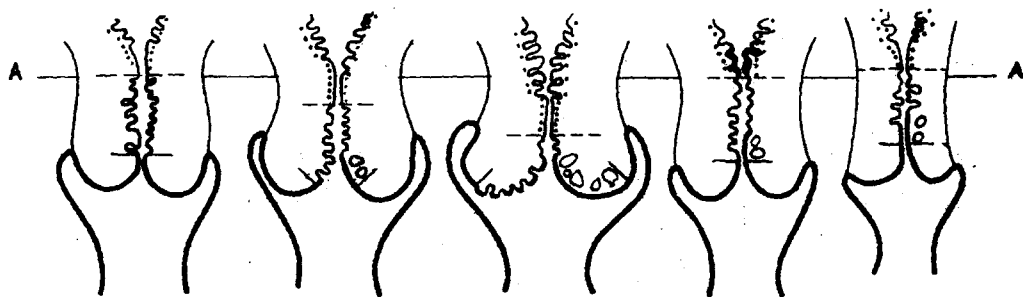
La existencia de metaplasia indirecta está hoy día totalmente demostrada. El problema que se discute, es si es un proceso de excepción ó es el mecanismo normal de curación de una pseudoerosión.

Con frecuencia se observan islotes de tejido escamoso en pleno epitelio glandular sin conexión ninguna con el epitelio plano del ectocervix. Pensar que en éste caso se trata, como afirmó Meyer (122-123), de zonas de epitelio poliestratificado que resistieron los avances del epitelio glandular, es poco convincente.

Este epitelio de regeneración joven sólo contiene glucógeno cuando alcanza un cierto grado de madurez lo que es necesario tener en cuenta para no catalogarlo como epitelio atípico. En los métodos histoquímicos específicos (mucicarmin de Mayer, azul alcian) se destacan en el espesor de los nódulos epiteliales tejido glandular con mucina.

Según los trabajos de Runge, Ebner y Lindenschmidt (168) (1956) y de Botella y Nogales (17), el tejido metaplasico tiene poca tendencia a formar glucógeno y contiene en cambio abundantes mucopolisacaridos ácidos. Este puede ser un caracter distintivo con el epitelio plano que avanza por continuidad. Sin embargo hay que reconocer que el epitelio de regeneración joven, sea cual fuere su origen contiene siempre poco glucógeno.





Este proceso del epitelio plano desplazando al cilíndrico ó II estadio de curación de R. Meyer, no es continuo. Con frecuencia una nueva infección ó la reagudización de la primitiva origina una detención de la epidermización ó reepitelización ó incluso un nuevo avance del epitelio cilíndrico. Este foraje puede prolongarse durante mucho tiempo, años incluso.

Muy interesantes son los trabajos realizados por Kauffmann y Ober (96) en Colonia sobre los cambios morfológicos del epitelio de revestimiento del cervix en relación con la edad de las mujeres. Distinguen estos autores las siguientes posibilidades:

I) El epitelio escamoso puede ser continuación directa de la mucosa cervical (Esq. 2. Ia Ib Ic ). A su vez puede adoptar tres formas:

a) Límite entre el epitelio escamoso y la mucosa cervical situado en el orificio cervical externo. (Esq. 2 Ia).

b) La mucosa cervical se halla situada por fuera del orificio cervical externo. (Esq. 2 Ib.).

c) El límite entre ambos epitelios está situado en el conducto endocer-

vical. (Esq. 2 Io.):

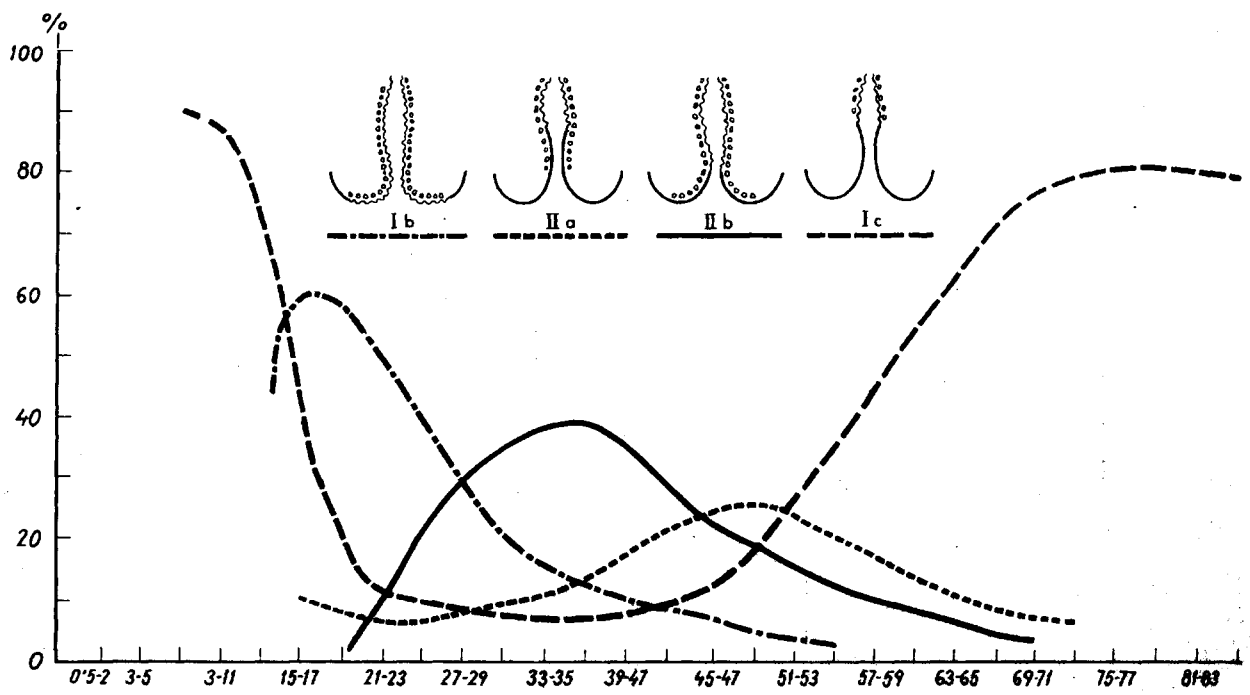
II) El epitelio de revestimiento de la porcio está formado en una zona más ó menos amplia por epitelio escamoso y mucosa cervical (Esq. 2 Iia Iib Iic.). A su vez puede adoptar las siguientes formas:

a) El epitelio pavimentoso penetra en pleno conducto cervical. La mucosa cervical se extiende por debajo de él hasta el orificio cervical externo. (Esq. 2 Iia.).

b) El epitelio escamoso termina en el orificio cervical externo. La mucosa cervical se extiende por debajo de éste epitelio por fuera del orificio cervical (Esq. 2 Iib.).

c) el epitelio escamoso penetra en pleno conducto endocervical y la mucosa cervical se extiende ampliamente por debajo del epitelio escamoso por fuera del orificio externo.

Como se ve en el esquema número 4 la forma Io es frecuente en las niñas descendiendo en frecuencia en la época de la madurez sexual para volver a elevarse de nuevo en la época de la menopausia.



La forma Ib (pseudoerosión ó ectopía) alcanza su máxima frecuencia entre los quince y veinte años para descender luego lentamente en la época de la menopausia.

La forma IIb alcanza su máximo de frecuencia entre los treinta y los treinta y cinco años descendiendo antes y después de ésta edad.

La forma IIa alcanza su máxima frecuencia entre los cuarenta y cinco y los cincuenta años.

Estos autores han demostrado igualmente que la longitud del conducto endocervical es constante. De forma que como se aprecia en el esquema número 6 cuando la mucosa desciende extendiéndose hacia fuera el orificio cervical interno se halla igualmente descendido.

#### VI.- Histoquímica del carcinoma incipiente.

Parece lógico pensar que la histoquímica ha de prestar eficaz ayuda para el diagnóstico precoz del epiteloma del cervix. Mc. Manus y Liman (126)

(1949), estudiaron el valor de la reacción del PAS en el diagnóstico precoz del carcinoma uterino. Lajos y Pali (99-100) (1951-1952), han estudiado la importancia de dicha reacción para el descubrimiento de alteraciones epiteliales de la portio, concluyendo que es posible mediante ésta reacción distinguir el epitelio pavimentoso anormal y atípico del epitelio plano normal y del carcinoma "in situ", afirmando que en el epitelio atípico la reacción del PAS es negativa, lo que es debido no sólo a ausencia de la síntesis de glucógeno sino también a la desaparición progresiva de los hidratos de carbono ligados a proteínas.

Las investigaciones de Meyer (123) (1930), Oki (144) (1927), y Obata (139) (1913), demostraron que el carcinoma de la portio no tiene porque estar siempre exento de glucógeno sino que puede en capas carcinomatosas que están madurando ó ya maduras contenerlo. A pesar de éste hecho, dicho test continúa teniendo validez práctica porque las partes superficiales del carcinoma, captadas fundamentalmente con él y los carcinomas que se encuentran al comienzo del crecimiento invasor presentan generalmente falta de glucógeno. Runge

y Ebner (167) exanimando con la reacción del PAS un número apreciable de carcinomas de epitelio plano de diferente grado de madurez y en los que investigaron la aparición de glucógeno y otros polisacaridos llegaron a las conclusiones siguientes:

Los carcinomas clasificados morfológicamente como no maduros contienen en un 50% de los casos material PAS positivo. En apariencia se trata fundamentalmente de sustancias del tejido conjuntivo descompuestas que adoptan la forma de gránulos de tamaño apreciable extra ó intracelular. El glucógeno en cambio, sólo puede observarse en las células carcinomatosas con metabolismo disminuido, por consiguiente en células que morfológicamente y en sus reacciones histoquímicas presentan los signos de una degeneración incipiente.

Los carcinomas medianamente maduros contienen en un 98% de los casos material PAS positivo. Se presenta éste con una localización y distribución semejante a la del epitelio pavimentoso normal, localizandose intracelularmente, característica del carcinoma de mediano grado de madurez cuyos puentes intercelulares se observan con toda claridad mediante la reacción del azul

de mercuriobromofenol( Ebner (50) 1953b.).

En los carcinomas maduros el glucógeno no puede ser encontrado con la misma regularidad. La sustancia de los globos corneos es generalmente PAS negativa. Solamente en la cornificación periglobular se encuentra una intensa reacción del PAS resistente a la diastasa, parecida a la que se comprueba en la zona superficial del epitelio plano normal. En el carcinoma maduro se pueden encontrar globos corneos con y sin formación de glucógeno. La falta de glucógeno podría ser considerada como un signo de que estos carcinomas presentan una maduración menor y también un crecimiento más rápido que el de los carcinomas en vías de cornificarse. La coloración según Ernst (53) para la comprobación de la queratina blanda es intensamente positiva en los globos corneos.

Botella y Nogales (17) (1956), han estudiado el epitelio atípico y el carcinoma "in situ", con tinciones histoquímicas utilizando la glicerofosfatasa alcalina, el carmín de Best, el mucicarmin de Mayer, el azul de metileno de Wislocki, y el ácido peryódico Schiff de Hotchkiss Mc. Manus y han obtenido los siguientes resultados:

"El epitelio atípico no contiene glucógeno ni desarrolla mucificación superficial. La coloración del PAS es negativa, y hay siempre en estos casos un adecuado contraste entre las zonas normales teñidas y las zonas atípicas que no lo están. Esto se observa tanto en las zonas atípicas superficiales como en las epidermizaciones glandulares más ó menos atípicas.

En el carcinoma "in situ" no han encontrado ni glucógeno ni mucina. La línea de Schiller se destaca claramente como límite entre la zona normal teñida y la zona maligna sin teñir. En el carcinoma invasor han encontrado estos autores con frecuencia material PAS positivo que desaparece por la digestión con la diastasa; se trata pues de carcinomas maduros.

Stoll, Ebner y Lindenschmidt (183) (1945), han estudiado igualmente la histoquímica del carcinoma habiendo encontrado un aumento en el contenido en ácidos nucleicos en las células carcinomatosas situadas en las zonas invasivas, acompañado igualmente de un aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina. En el tejido conjuntivo que limita los cordones epiteliales han demostrado una elevada metaeromasia que según Gersh y Catchpole (70) es un sig

no de despolimerización de la sustancia fundamental.

Hamperl, Kauffmann y Ober (85) han señalado que la velocidad de crecimiento es totalmente distinta para el carcinoma "in situ" y microcarcinoma que para el carcinoma invasivo. Si tenemos en cuenta que la potencia de crecimiento de la célula es una función biológica y que puede estudiarse histológicamente, se comprenderá la importancia de los exámenes histoquímicos para el diagnóstico del cáncer.

Stoll, Ebner y Lindenschmidt (183), afirman que el carcinoma "in situ" tiene en general las mismas propiedades histoquímicas del tejido muy inmaduro a pesar de su lento crecimiento como demuestra la clínica. El carcinoma invasivo por el contrario muestra a pesar de su rápido crecimiento en un número predominante de casos, una maduración más ó menos rudimentaria de sus elementos celulares, apareciendo sustancia PAS positiva y disminuyendo el contenido en ácidos nucleicos de sus células. Estas diferencias histoquímicas señaladas entre el carcinoma "in situ" y el invasivo se pueden observar con toda claridad en aquellos casos en que ambos coexisten.

Los mismos autores antes mencionados han estudiado con la reacción del azul alcian PAS el carcinoma "in situ" y el carcinoma invasivo obteniendo los siguientes resultados:

"El carcinoma "in situ", como está constituido por células inmaduras casi nunca contiene glucógeno. La membrana basal suele ser normal. En algunos casos, en los que existen papilas, aparece la membrana basal teñida de color azul violeta y reacciona de forma fuertemente metacromática con el azul de toluidina. Como han demostrado Gersh, Catchpole y Muto (133) la membrana basal no tiene estructura homogénea, y bajo diversas influencias cambia del estado de gel al de sol. Químicamente se trata de un proceso de polimerización y depolimerización que aumenta con el número de mucopolisacáridos ácidos libres. Si tales procesos deben considerarse como el comienzo de un crecimiento carcinomatoso destructivo, es un problema aún no resuelto. Desde luego tales cambios no tiene lugar en los procesos inflamatorios.

El crecimiento destructivo del carcinoma de la portio se considera hoy como un proceso bioquímico y se piensa que se trata probablemente de fenóme-

nos fermentativos que tiene lugar en el tejido conjuntivo. Según Gersh y Cat chpole (70) se trata de un fermento proteolítico del tipo de la colagenasa. Para Comann (39) se trata de una mucinasa. Burstone (26) demostró una fuerte actividad aminopeptidasa en el frente de invasión.

Con el azul alcian PAS Runge, Ebner y Lindenschmidt (169) han demostrado en el frente de invasión del epiteloma la existencia en mayor ó menor cantidad de un material azul gris homogéneo. Este material es muy abundante en los casos con papilas penetrantes en el tejido conjuntivo y lo es menos en los casos con crecimiento infiltrante difuso. Como éste material, con el azul de toluidina, reacciona con metacromasia se supone que se trata de mucos polisacáridos ácidos. Leneyel, Szemesy y cols. (103) encuentran metacromasia en 11 de 88 casos por ellos estudiados y concluyen que se trata de un ácido hialurónico transportado de la sangre. Hieronimay (87) es de la misma opinión. Como la zona azul grisácea citada con la zona descrita por Burstone (26) como de gran actividad aminopeptidasa una parte al menos de la coloración del azul alcian PAS es debida a productos de escisión de albuminas de bajo peso

molecular. Este material azul gris que aparece alrededor de los cordones carcinomatosos es la expresión de la destrucción del tejido conjuntivo.

Sin embargo úteriormente puede de nuevo reconstruirse el tejido conjuntivo y aparecer en estadios posteriores los nódulos epiteliales rodeados de una membrana basal de color rojo violeta en nada diferenciable de la del epitelio plano normal.

Los estudios histoquímicos de Hopmann (89) realizados en el epitelio escamoso del cervix uterino tanto normal como patológico determinando el contenido en ácidos nucleicos mediante el verde metilo pironina de Pappenheim y la reacción de Feulgen; el contenido en glucógeno mediante la reacción de Best y la del PAS, así como también los grupos sulfírilos (SH), los grupos (SS), la deshidrogenasa, la fosfatasa alcalina y la ácida, la fosfoamidasa, esterasa, y glucuronidasa coinciden con los resultados de los trabajos de Foraker (61-62-63) y los de Gross, Kinsie y Chang (81) reseñados más arriba.

Podemos concluir pues diciendo que las investigaciones histoquímicas tienen interés para el estudio del carácter invasivo del carcinoma.

El criterio fundamental del diagnóstico morfológico del carcinoma, consiste en la comprobación del crecimiento invasivo. Aún no sabemos las alteraciones del metabolismo celular que tiene lugar antes de que la célula carcinomatosa adquiera la capacidad de desarrollar un crecimiento invasor y sobre qué funciones particulares se basa éste proceso de crecimiento. Hemos hablado de los cambios cíclicos que experimenta la membrana basal y hemos citado como Gersh y Catchpole (70) (1949) han explicado éste fenómeno por el hecho de que la membrana basal teniendo un grado de polimerización igual al de la sustancia fundamental vecina, presenta una concentración más elevada de glicoproteidos, ó lo que es más probable, el grado de polimerización de los glicoproteidos condensados en la membrana basal es manifiestamente menor que en la sustancia fundamental. El crecimiento invasor incipiente se hace posible por la despolimerización y con ella la licuación tanto de la membrana basal como de la sustancia fundamental del tejido conjuntivo.

Al lado del crecimiento infiltrante, que para el diagnóstico morfológico del carcinoma es de una importancia tan decisiva, se encuentra como rasgo ca

racterístico funcional de la degeneración maligna, el crecimiento rapidísimo e incontenible. Este se basa sobre alteraciones profundas del metabolismo celular normal que podemos captar con toda una serie de reacciones histoquímicas, sin que por lo de ahora se haya logrado hallar un proceso metabólico que por sí sólo caracterice al crecimiento maligno.

Como ya se ha dicho, la degeneración maligna del epitelio pavimentoso está acompañada de un ascenso significativo del contenido en nucleoproteidos. A base de mediciones microspectrográficas del contenido en ácidos nucleicos de epitelios pavimentosos normales y carcinomatosos de la portio, Mellors, Keane y por último Papanicolaou (120) (1952), describen una multiplicación geométrica del contenido total de la célula carcinomatosa en ácido nucleico frente a la célula normal. Mediante la medición histofotométrica de la intensidad de la reacción de Feulgen, Stowell y Cooper (185) (1945), obtuvieron igualmente el resultado de que el contenido en DNA de la célula carcinomatosa es, por término medio, más elevado que en la célula epitelial hiperplásica y normal.

Según Taymor, Gold, Sturgis, Meigs y Mc. Millan (188) (1952), el metabolismo de DNA- fosforo es, en el carcinoma de la portio, más ó menos el doble que el del epitelio normal. A ésta elevación del contenido en ácido nucleico, comprobable también con métodos cuantitativos, corresponde una aumento general del material basofilo en el citoplasma y núcleo celular de aglomeraciones de células carcinomatosas (Cormil, Stahl (40) 1949). Para el grado de madurez de un carcinoma, sin embargo, la basofilia no es de por sí significativa.

Una basofilia uniformemente intensa en todas las células carcinomatosas la vemos, sólo en el carcinoma intraepitelial. En el carcinoma de crecimiento invasor, el contenido en ácido nucleico puede ser observado en una cantidad parecida sólo en las células situadas periféricamente. En el interior de los cordones de células carcinomatosas, estas, al estar insuficientemente nutridas, son asiento de alteraciones degenerativas que independientemente del grado de madurez se manifiestan por una fuerte disminución de la basofilia del citoplasma.

Caspersson y Santesson (35) (1942), fueron los primeros en señalar es-

tas variaciones en el contenido en ácido nucleico y a base de sus investigaciones espectroscópicas sobre ya rayos ultravioletas, llegaron a la conocida clasificación de las células carcinomatosas en dos tipos: el tipo A proliferante con elevado contenido y el tipo B preneocrótico con escasa cantidad y formas intermedias situadas entre ambos.

A pesar del elevado contenido en ácido nucleico, las células carcinomatosas histoquímicamente no presentan actividad de la fosfatasa alcalina, aunque éste fermento interviene en el metabolismo del ácido nucleico ( Brachet y Jeener (20) 1948 ).

Las investigaciones histoquímicas han demostrado que la elevada actividad fermentativa, comprobable con los métodos cuantitativos, se basa en el contenido en fermento del estroma fuertemente vascularizado y en el de la llamada zona de defensa. En la vecindad de procesos proliferativos benignos no se encuentra una actividad tan elevada de la fosfatasa alcalina del mesenquima. De acuerdo con la hipótesis de Wisloczki y Dempsey (202) (1949), ya mencionada, puede ser sospechada una relación causal entre la actividad

de la fosfatasa alcalina del mesenquima y la elevada actividad glicolítica de las células carcinomatosas. La elevación de la glicolisis anaerobia y sobre todo la aerobia, estando simultaneamente disminuida la respiración, es uno de los rasgos característicos más marcados de la célula carcinomatosa.

El elevado requerimiento de glucógeno conduce a que en la célula carcinomatosa inmadura, no sea por lo tanto comprobable la presencia del glucógeno. De esto no puede decirse que haya que sacar la conclusión de que la célula carcinomatosa haya perdido su capacidad de formar glucógeno. Schiller(171) fundamentó su método ó test de yodo, en el postulado de la ausencia del glucógeno en el carcinoma.

---

CAPITULO 2º

MATERIAL Y METODOS

Hemos hecho un estudio morfológico é histoquímico de 261 casos de cervix uterino. El material procede en su totalidad del Departamento de Diagnóstico Precoz del Cáncer del Instituto Provincial de Obstetricia y Ginecología de Madrid, que dirige el Prof. Botella Llusid. Todas estas enfermas han sido estudiadas en el triple aspecto de colposcopia, citología y anatomía patológica. En nuestro trabajo haremos referencia exclusiva al último apartado. El material ha sido clasificado en los siguientes grupos:

- A) Ectocervix normal..... con 67 casos.
- B) Seudoerosión glandular papilar ..... con 37 casos.
- C) Epidermización ..... con 43 casos.
- D) epitelio intranquilo..... con 52 casos.
- E) Epitelio muy atípico no carcinomatoso ..... con 12 casos.
- F) Carcinoma "in situ" ..... con 11 casos.
- G) Microcarcinoma ..... con 3 casos.
- H) Carcinoma invasivo ..... con 36 casos.

Todo el material ha sido estudiado como ya hemos dicho morfológicamente é histoquímicamente. Hemos investigado el contenido en mucopolisacáridos neutros, mucopolisacáridos ácidos, glucógeno, DNA y RNA.

Para el estudio morfológico, todos los casos se han teñido con la tinción de la hematoxilina-eosina. Todos ellos igualmente han sido coloreados con la reacción del PAS ó con la del azul alcian PAS, y un número elevado con la reacción de Feulgen Rossenbeck y la del verde metilo pironina.

#### REACCION DEL PAS.

Para el estudio de los glucidos hemos utilizado la reacción del PAS y el azul alcian PAS. Entre las diversas variantes de la reacción del PAS hemos usado la siguiente:

- 1º. Fijación en alcohol de 96º e inclusión en parafina de la forma habitual.
- 2º. Los cortes se tratan durante 10 min. por una solución de ácido per-yódico al 0,8%.
- 3º. Lavado cuidadoso en agua destilada.

4º. Reactivo de Schiff durante 10 min.

5º. Lavado durante 2 min. cada vez en tres baños de ácido sulfuroso (que se prepara mezclando 10 c.c. de CLH normal y 10 c.c. de bisulfito de sodio al 10% diluyendo hasta 200 c.c. con agua).

6º. Lavado durante 5 min. en agua corriente.

7º. Coloración de fondo con hematoxilina durante 5 min.

8º. Lavado y montage con balsamo.

El material PAS + aparece coloreado en rojo purpura. Mediante la digestión con la diastasa  $\delta$  con la saliva se pueden diferenciar con éste método los mucopolisacáridos del glucógeno. Hemos procedido del siguiente modo:

1º. Tratar de 15 a 30 min. a temperatura de 37º la preparación con saliva en recipiente cerrado y húmedo para evitar la evaporación.

2º. Lavado en agua.

3º. Deshidratación con alcoholes de título ascendente hasta el alcohol absoluto. De ésta forma se puede diferenciar el glucógeno de los mucopolisacáridos ya que con la digestión persiste sólo estos últimos, mientras que el

glucógeno desaparece.

El empleo del ácido peryódico en la histoquímica de los polisacáridos ha sido introducido por Hotchkiss (90), Mc. Manus (127), Lillie (106), Greco (80) y Marchese (119). El principio de éste método, que se conoce abreviadamente con la denominación de PAS ( Peryódic Acid Schiff ) es el siguiente: Los polisacáridos son oxidados en el medio del ácido peryódico y dan origen a aldehídos. Estos son puestos en evidencia por el reactivo de Schiff.

Mecanismo. El ácido peryódico ( $\text{HIO}_4$ ) es un oxidante que fué empleado por Malaprade (114) (1928-34) para la determinación química de los glicoles ( $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}$ ) y por Micolet y Shinn (1939-41) para los alcoholes amino sustituidos ( $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHNH}_2$ ) tales como los que aparecen en los aminoácidos serina, treonina é hidroxilisina. En histología fué utilizada por primera vez por Mc Manus (127) (1946). Marchese (119) señaló poco tiempo después los puntos de analogía entre ésta reacción y la de Bauer y estableció que no es una reacción específica para los mucinas sino que la dan también otros polisacáridos como el glucógeno, el almidón, la amiloide y la celulosa. Hotchkiss (90)

(1948) publicó un trabajo sobre esta reacción incluyéndola en los métodos histoquímicos. Su mecanismo de reacción es el siguiente: Desde Malaprada se sabe que el ácido peryódico es un oxidante que rompe los enlaces C-C en diversas estructuras en las que están presentes como grupos 1.2 glicol (CHOH-CHOH) convirtiéndose en aldehidos. Esta oxidación se efectúa con gran rapidez a temperatura ordinaria y en medio moderadamente ácido. La propiedad más importante del ácido peryódico, que lo hace muy superior a otros reactivos utilizados en histoquímica para la oxidación de los enlaces C-C ( $KMnO_4$ ,  $H_2CrO_4$ ,  $H_2O_2$ ), es que la oxidación no va más lejos del estado aldehídico como ha demostrado Jackson (91-92-93-), pudiendo por tanto estos localizarse con el reactivo de Schiff. En el siguiente esquema se representa la reacción del ácido peryódico, con el residuo dehidroglucosa de una molécula de polisacárido. El colorante rojo formado por la unión de la leucofuchina con el dialdehído no es como se pensó primitivamente una fuchina reoxidada sino un compuesto nuevo.

La intensidad de la reacción depende de la cuantía de glicol reactivo existente en los tejidos. Según Hotchkiss (90) (1948) reaccionan positivamente todas las sustancias que reúnen las siguientes condiciones: a) contener el grupo 1.2 glicol-CHOH-CHOH- no sustituido ó una estructura equivalente en la que los grupos hidroxilos esten reemplazados por grupos aminos ó alquilaminos ó sean producto de oxidación -CHOH-CO. b) No difundir en el curso de la fijación histológica. c) Dar un producto de oxidación no difusible. d) Estar presente en una concentración suficiente para originar una coloración final apreciable.

Un número elevado de éstas sustancias contienen el grupo 1.2 glicol para el que la reacción es específica y dan por lo tanto un resultado positivo. Pero los compuestos en los que los grupos glicol están sustituidos por un ácido fosfórico y también el de la serina, treonina e hidroxilina cuando están combinadas con cadenas plipeptídicas de proteínas.

Hotchkiss (90) afirmó que las sustancias animales naturales que dan un resultado positivo son monosacáridos, polisacáridos, mucoproteínas, glucopro

teinas, azúcares fosforilados, cerebrosidos y lípidos que contenían inositol. Afirmó igualmente que con el uso de fijadores acuosos ordinarios solo las sustancias de algo peso molecular permanecían en suficiente cantidad en los tejidos para dar un resultado positivo. Dichas sustancias eran polisacáridos, ácido hialurónico, mucoproteínas y mucinas.

En la actualidad las aseveraciones de Hotchkiss (90) han de ser modificadas. Según Pearde (150) en cortes paradinados y utilizando fijadores acuosos reaccionan positivamente cinco grupos de sustancias, que no son visibles en cortes control no expuestos al ácido peryódico.

Los cuatro primeros grupos son carbohidratos. En el quinto se reúnen bajo la denominación de lípidos y fosfolípidos, diversas sustancias que no contienen glúcidos, entre las cuales se engloban las lecitinas y cefalinas.

Verne (193) (1929) estudiando el problema demostró que muchas grasas puras entre ellas la trioleína, la lecitina y la grasa de la mantequilla, darían una reacción típica de aldehídos con el reactivo de Schiff después de oxidación ligera.

## AGRUPACION DE COMPONENTES TISULARES PAS POSITIVOS

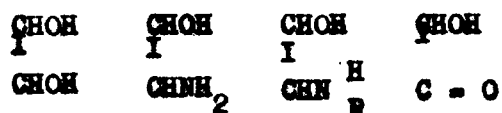
I. Polisacáridos	Los distintos tipos de glucógenos	
II. Mucopolisacáridos	<b>Acidos</b> Acidos condroitinsulfúricos Acido hialurónico Monosulfato de heparina	<b>Neutros</b> Mucopolisacáridos Neutros de mucina gástrica
III. Muco y glucoproteínas	Mucoide de la glándula salival Seromucoide Seroglucoide Mucoide gástrico Gonadotropina coriónica Gonadotrofinas pituitarias (FSH) (LH) TSH pituitaria Sustancia del grupo sanguíneo A	Fracciones de Seroalbú- mina y Seroglobulina
IV. Glucolípidos	<b>Frenosina</b> Cerebrósidos  <b>Cerasina</b> Fosfátidos del inositol	
V. Lípidos y fosfolípidos no saturados	Lecitina (fosfatidilcolina) Cefalina (fosfatidiletanol amina) Fosfatidilserina Esfingomielina	

Las pruebas de producción de aldehidos a partir de lípidos y fosfolípidos, mediante la oxidación con ácido peryódico de cortes tisulares, no pueden considerarse todavía concluyentes, son sin embargo demostrados por Hack (84) que los siguientes lípidos, cerasina, írenosina (cerebrosidos), fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina, acetales e inositol fosfátidos y gangliosidos, reaccionan in vitro con el reactivo de Schiff tras la oxidación con ácido peryódico.

Es necesario un estudio más profundo sobre la reacción del ácido peryódico con otros lípidos diferentes a los glucolípidos. Wolman (1950) ha hecho algunas investigaciones en éste sentido. Estudió el efecto de la oxidación por medio del  $\text{HIO}_4$ ,  $\text{KMnO}_4$  y  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  sobre muestras puras de cerebrosidos y esfingomielina y sobre una mezcla de lecitina y cefalina. El efecto de la oxidación se reveló mediante el tratamiento con el reactivo de Schiff. Wolman (204) concluyó que los lípidos no saturados se teñían mientras que los saturados nó; los esfingolípidos se teñían positivamente contuviesen ó nó una fracción glucídica.

Podemos concluir afirmando que los lípidos tisulares existentes en forma de lípidos libres ó de complejos lipoproteicos, que razonablemente pueden considerarse como carentes de glucolípidos reaccionan positivamente a la reacción del PAS. La dificultad aumenta aún más si tenemos en cuenta que muchos lípidos que se consideraban antes como compuestos definidos son en realidad mezclas.

Así Folch (59) (1942) y Folch y Schneider (60) (1941) han demostrado que la fracción cefalina de los fosfátidos cerebrales es un mezcla de fosfatidilserina, de fosfatidiletanolamina y diversos fosfátidos que contienen inositol. Según los trabajos originales de Malaprade (114) y las investigaciones de Nicolet y Shinn el ácido peryódico reacciona no solo con los grupos 1.2 glicol sino también con los grupos 1 hidroxí 2 amino y 1 hidroxí 2 alquilamino y los grupos α ceto (1 hidrox 2 cetona)



El grupo hidroxiamino existe en los siguientes aminoácidos: Serina, hidroxilina, treonina, ácido oxiglutámico, e hidroxiproteína.

Según estas concepciones era lógico esperar que las proteínas reaccionaran positivamente. Hotchkiss (90) ha obtenido en efecto resultados positivos con proteínas. Sin embargo las reacciones eran débiles con proteínas cristalizadas, tales como la seroalbúmina y la seroglobulina. Según él estas débiles reacciones se deben a la presencia de grupos aminoácidos terminales reaccionales y deben ser poco intensas para ser visibles en la preparación histológica. Estas conclusiones sin embargo no son universalmente admitidas. En efecto la seroalbúmina y la ovoalbúmina, que según Hotchkiss dan reacción débil, son proteínas pobres en hidroxiaminas. Se puede admitir la posibilidad de que las proteínas reaccionen positivamente al PAS. Podemos pues concluir afirmando:

1°. La reacción del PAS la dan la mayoría de los polisacáridos que contienen el grupo 1.2 glicol. Los polisacáridos con el grupo glicol sustituido no reaccionan, tal es el caso del ácido condroitinsulfúrico y de la heparina

trisulfúrica.

2º. La reacción no es específica para los polisacáridos. La dan también los compuestos que contienen los grupos 1 hidroxil 2 amino, 1 hidroxil 2 alquil amino y 1 hidroxil 2 cetona. Entre estas sustancias se incluyen:

a) Ciertas proteínas en las que el elemento activo está representado por los hidroxiaminoácidos.

b) Ciertos derivados de cuerpos grasos ( pigmentos cromolipoides ) que encierran el grupo 1 hidroxil 2 cetónico.

Examinemos de forma sucinta las posibilidades histoquímicas para la detección de ciertos glúcidos de interés biológico. Más concretamente nos referimos al glucógeno y a los mucopolisacáridos ácidos y neutros.

GLUCOGENO. La conservación del glucógeno ha comportado siempre grandes dificultades. En algunos tejidos el glucógeno puede ser demostrado después de la fijación en cualquier líquido. En otros tejidos en cambio ningún fijador es satisfactorio. En la mayoría de los casos el glucógeno difunde al paso del fijador en la pieza y se acumula en la dirección opuesta. El glucógeno

no aparece así con una polaridad en las células que en realidad no tiene. En otras ocasiones aparece glucógeno en el interior de los vasos, lo que representa otro artificio de difusión ya que está totalmente demostrado que el glucógeno no circula en la sangre. El glúcido de que tratamos aparece representado en forma de gránulos de dimensiones irregulares en las células, lo que es sin duda un artificio de difusión, ya que en la mayoría de los casos se encuentra difusamente en ellas.

Se pensaba antes que la fijación ideal del glucógeno la producían aquellos reactivos que le precipitan ó en los que es insoluble. Esta opinión no es del todo exacta. La acetona por ejemplo, en la que el glucógeno es insoluble no lo conserva completamente según los trabajos de Lillie (106). El alcohol tan frecuentemente empleado no conserva totalmente el glucógeno en todos los tejidos. El empleo de reactivos en los que el glucógeno es insoluble no es totalmente indispensable. Los procedimientos de fijación propuestos para la investigación histoquímica del glucógeno son muy numerosos. En las condiciones en que trabajamos es decir, para la inclusión del tejido en parafina

existen tres grupos fundamentales: a) fijadores alcoholicos b) fijadores a base de glucosa c) fijadores a base de ácido picrico.

Entre los fijadores alcoholicos los más utilizados son el alcohol absoluto ó al 90% y el líquido de Carnoy (30) compuesto de alcohol absoluto 60 grs. cloroformo 30 grs. y ácido acético glacial 10 grs.

Los fijadores a base de glucosa utilizan reactivos en los que el glucógeno es insoluble (Neukich (135), Arndt (3), Munzier (132), Romeis (166) y Burggraefe (25)).

Entre los fijadores a base de ácido picrico se han recomendado el líquido de Bouin Allen, el procedimiento de Pasteur y Leonard y el líquido de Gen dre que es una modificación de la mezcla de Bouin.

De todos ellos el más utilizado es el alcohol absoluto ó al 90% que sin embargo no está exento de inconvenientes tales como: el glucógeno aparece conservado solamente en la periferia del bloque; se desplaza en la célula en dirección opuesta a la penetración del fijador y se aglomera en masa en uno de los polos celulares. (Alkoholflucht de los autores alemanes).

Estado del glucógeno en la célula. Erlich (52) (1883) observó que el glucógeno de diversos tejidos se disuelve a velocidades muy diferentes. El del hígado y los leucocitos lo hace rápidamente en agua; el del cartilago mas difícilmente y el del epitelio estratificado es prácticamente insoluble. Este hecho puede explicar las dificultades que existen para fijar histológicamente el glucógeno. Erlich (52), Kuls, Frankel (65), han supuesto que el glucógeno está ligado a una sustancia probablemente una proteína, que llaman "traegersubstanz". El calor, el ácido tricloroacético ó las sales de metales pesados, habitualmente utilizadas en la extracción química del glucógeno, coagulan la proteína y liberan así dicho glúcido, que puede ser entonces disuelto en los líquidos de extracción. Esta opinión ha sido confirmada por Praylecki y Majmin (160), Mystkowski, Stiller y Zysman (134) y Feyel (55).

Según Wilstatter y Rodewald (200) el glucógeno podría encontrarse en los tejidos en dos estados: a) glucógeno fácilmente soluble en agua ó ácido tricloroacético diluido y b) desmoglucógeno que resiste a la extracción repetida y probablemente se encuentra asociado con una proteína. La significa-

ción fisiológica de estas dos formas de glucógeno es mal conocida. No se sabe prácticamente nada sobre la distribución histológica del glucógeno y del desmoglucógeno; investigaciones en éste sentido serian muy interesantes.

El glucógeno aparece con gran frecuencia localizado en un polo celular en forma de gránulos. Kuls, Afansajew (1), Barfuth (8), Best (15), Fischera (57) y muchos otros han demostrado que ésta localización del polo celular es un artefacto debido a la fijación. Se designa generalmente con el nombre de "alkolflucht", porque se produce regularmente despues de la fijación con alcohol; el glucógeno se acumula en el polo de la célula opuesto al punto de penetración del alcohol.

Aunque algunos autores han negado ésta situación del glucógeno debida a artefacto, despues de los estudios efectuados por los metodos de congelación desecación (Mancini ó) al de congelación disolución (Lisson) que impiden todo desplazamiento del glucógeno, se muestra que se trata de un artefacto de difusión. Podemos concluir diciendo que en aquellos métodos que comportan una fijación en fase líquida, ni el estado en que se encuentra el glucógeno en

la célula (granular ó difuso), ni su repartición intracélular puede ser apreciada correctamente con tales medios.

Los estudios comparativos entre las investigaciones histoquímicas y los dosajes químicos han demostrado que en algunos casos en los que la investigación histoquímica no ha encontrado presencia de glucógeno, el dosaje químico ha revelado cantidades no despreciables del mismo. Sin embargo, en estos casos se había empleado fijador inadecuado. Si se emplea la reacción del PAS y fijadores adecuados las investigaciones histoquímicas son bastante sensibles, ya que el PAS descubre el glucógeno donde otras reacciones no lo pueden detectar.

Un último problema: ¿Permite el estudio histoquímico estimar al menos aproximadamente la cantidad de glucógeno realmente existente en el órgano?

Comparando las preparaciones histológicas con los resultados de dosajes químicos se han sacado conclusiones muy diferentes. Barciller y Gajin (7) estiman que el método histoquímico permite la evaluación correcta de la cantidad de glucógeno; Grafflin, Marble y Smith (79) afirman que permite sólo evaluaciones muy aproximadas; para Eger (5L) no tiene ningún valor cuantitati-

vo. Como Lisson (112) dice, esta discordancia depende sólo de la técnica empleada. Ninguno de los autores arriba citados ha empleado una técnica realmente correcta de investigación de glucógeno. Su procedimiento de fijación era defectuoso. Las investigaciones de Deane, Mesbeth y Hastig (42) son mucho más correctas; elocuentemente habla en su favor el que ellos estiman la cantidad de glucógeno no por inspección visual como los autores anteriores, sino por histofotometría. En estas condiciones encuentran una relación lineal entre dosaje químico de glucógeno y las determinaciones histoquímicas. Podemos concluir diciendo que la determinación cuantitativa del glucógeno por medios histofotométricos es un método digno de atención.

#### MÉTODOS PARA LA DETERMINACION DEL GLUCOGENO.

Métodos de yodo. La tinción del glucógeno con soluciones acuosas de yodo es un método histoquímico antiguo que fué utilizado por primera vez por Claudio Bernard (12) (1877) en sus clásicas investigaciones llevadas a cabo en el hígado. En 1883 Paul Erlich (52) utilizó esta misma reacción para la demostración de glucógeno en los hígados diabéticos. Generalmente se emplea

ban soluciones de yodo en yoduro potásico (Iugol). La reacción del yodo ha sido objeto de numerosas modificaciones de las que sólo citaremos: la de Langhans (101), la de Carlentón (29) (1898), Barfurth (8), Delepine (44), Driessen (48), Lubarsch (113), Best (15), Kankato (95), Eleibtreu, Guizetti, y Pacaud (146). De todos ellos los procedimientos más utilizados son: el de Langhans (101) (1890) modificado por Carlentón (29) (1938), que empleaba la deshidratación de los cortes parafinados en yodo saturado en alcohol absoluto, seguida de aclaramiento en esencia de orégano, xilol y montaje en balsamo.

El método de Gaje (1917) que utilizó la fijación en alcohol acético que contenía yodo. Los cortes parafinados se trataban a continuación con una solución alcohólica de yodo que contenía yoduro potásico sin eliminar la parafina. Después de secados los cortes se desparafinan en xilol y se montan en bálsamo.

El método de Driessens (48) (1905) que fija el material en alcohol y se tiñe con xilol fenólico-yodo, se trata con xilol y se monta en alguna pequeña cantidad de balsamo.

Los métodos de yodo son de técnica sencilla, pero su especificidad no es muy grande, ya que por ejemplo la amiloide da una reacción parecida y ciertos compuestos proteicos reaccionan dando color oscuro con el yodo (reacción yodofila de Romieu). El uso de controles tratados con saliva elimina éste error porque el glucógeno en un tiempo muy corto es hidrolizado por la saliva. La reacción de Claudio Bernard (12) concretamente usando control es de gran especificidad. Sin embargo los métodos modernos, entre ellos el PAS dan reacciones más duraderas.

Método del carmin amoniacal de Best. Propuesto por dicho autor en 1906 no es propiamente en el sentir de Lissou (110) y Pearse (150) un método histoquímico. Sin embargo es de uso corriente entre histoquímicos e histólogos. Según Baker (6) (1945) Eger (1942) el principio activo del colorante carmin natural es el ácido carminico que en el lado alcalino de su punto isoelectrico (4-4,5) está cargado negativamente y se comporta como un colorante ácido. Aunque se sabe que el ácido carminico en la solución de Best se halla en esta forma, la tinción del glucógeno depende de factores físicos y estereoquí-

micos que actualmente se desconocen. Según Lisson no es un proceder específico ya que tiene ciertos elementos protoplasmáticos no glucógenicos. Con la prueba de la saliva su especificidad es mucho mayor.

Método de Bauer-Feulgen. Fue descrito en 1933 por Bauer y empleaba la hidrólisis y oxidación del glucógeno polisacárido con ácido crómico al 4% durante un corto periodo, demostración de los polisacáridos resultantes con la reacción de Schiff. Este método tiene ciertas descritas desventajas que excluyen su uso en trabajos de precisión aunque todavía se emplea en histoquímica moderna (C.M. Bensley (13) (1939), Benting y White (21) (1950). La principal descrita es que tiene ciertos componentes tisulares que no contienen glucógeno como la mucina y el coloide tiroideo. Sobre éste punto han investigado Wallraf y Bechert (196) (1939), Bignardi (16) (1940) y Demsey y Wislocki (46) (1947). Aunque el uso de controles con diastasa puede reducir esta causa de error, es además difícil de apreciar con éste método las pequeñas cantidades de glucógeno. Tíñe también los plasmalógenos. Por todo ello es un proceder poco utilizado en histoquímica.

Métodos a la plata. Diversos métodos todos ellos recientes se han ideado para la demostración del glucógeno por medio de complejas composiciones químicas en cuya formación interviene la plata. Todos emplean hidrólisis ácida y oxidación para revelar los grupos aldehído en la cadena polisacárida antes de su combinación con la plata. La reacción con solcs. de plata amoniacal en particular, se considera como específica de los aldehídos. Los métodos a la plata tienen la ventaja de que el producto final es plata metálica, que al ser negra, es fácilmente visible al microscopio y especialmente fácil de fotografiar. Los métodos hasta ahora desarrollados pueden dividirse en dos clases según siga ó nó al baño de plata la reducción adicional con formalina.

Desligando de entre los del primer grupo los más importantes tenemos en primer término el método descrito por Mitchel y Wislocki (129) (1944). Estos autores utilizaron permanganato potásico ácido como agente oxidante seguido de decoloración en ácido oxálico-nitrato de plata alcohólico antes del tratamiento con el óxido de plata amoniacal y formalina. Un segundo método de este grupo es el descrito por Arzac (4) (1947) quien también utilizó  $\text{KMnO}_4$  se-

guido de carbonato de plata amoniacal y reducción formalínica. Gomori (74) (1946) criticó el método de Mitchell y Wislocki y sus objeciones se aplican también al método de Arsac. Consideró que el método en cuestión no era específico porque no se empleaba el tratamiento previo correcto para la liberación de grupos aldehído, y porque la utilización de la formalina como agente reductor tenía el colágeno y la reticulina al igual que los polisacáridos específicos. Gomori (74) introdujo una técnica diferente empleando hidrólisis y oxidación con ácido crómico en lugar de cualquier otro agente oxidante sin dar razón alguna para elegir dicho ácido como método correcto de liberación de aldehídos. La hidrólisis se seguía de tinción en una solución de un complejo hexamina-nitrato de plata amortiguado a pH alcalino con borato sódico. Mediante este método, que pertenece al segundo grupo de los de la plata para el glucógeno, la mucina se tiñe intensamente.

En estos tres métodos se recomiendan portas protegidos con solución de colodión, porque una película fina de éste material evita la pérdida de glucógeno de los cortes, que tendría lugar de otra manera durante la hidrólisis

y oxidación. Como Lillie y Greco han demostrado en(1947) en el caso de cortes testigo a la diastasa, el colodión debe aplicarse despues y no antes de la incubación con el ensima, porque evita la acción de éste último en grado variable. Arzac y Flores (5) (1949) investigaron los diversos efectos de diferentes reactivos sobre la tinción del glucógeno por los métodos a la plata. Encontraron que el ácido crómico al 10% (20-30 min) era el mejor, exceptuando el ácido peryódico, del que no disponian en aquel tiempo. Lillie (106) (1948) demostró que éste reactivo debería preceder a la tinción con complejos de plata en la demostración del glucógeno. Arzac y Flores (5) tambien estudiaron el efecto de la formalina y el del tipo de solución de plata empleado.

De entre las soluciones, el carbonato de plata amoniacal se encontró que era fácil de preparar, estable y de acción rápida. Con el fin de aumentar la velocidad de reducción de la plata se utilizaron las soluciones a 50°C durante una hora. La hexamina plata de Gomori y un complejo de piperacina-plata tambien fueron ensayados, pero resultaron de acción más lenta que el carbonato de plata amoniacal. La reducción con formalina resultó que aumentaba

el número de sustancias con reacción positiva, independientemente del tipo de hidrólisis y del complejo de plata empleado. La reticulina se teñía invariablemente. Sin embargo, se lograron imágenes más precisas y resultados más rápidos en el caso del glucógeno. Es evidente que la objeción de Gomori (74) (1946) a la reducción con formalina es válida si se considera que las técnicas de plata para glucógeno tienen importancia histoquímica.

Método del ácido peryódico de Schiff. Ya hemos hablado de las ventajas é inconvenientes de éste método, sólo destacaremos aquí algunos puntos que se refieren en particular a su utilización para la detección de glucógeno. Si se comparan cortes testigos tenidos por el método del carmín de Best con otros tratados con PAS la cantidad de glucógeno existente en estos últimos es inferior al de los primeros. Esta diferencia depende de los tipos de glucógeno existentes, de la existencia de la oxidación con ácido peryódico y de la mayor ó menor complejidad y naturaleza del disolvente de éste. Con el fin de preservar el glucógeno de los tejidos Hotchkiss (90) introdujo el uso de soluciones alcohólicas amortiguadas que reducen la pérdida del mismo, en com

paración con la encontrada con soluciones acuosas. Pero los polímeros inferiores del glucógeno no se retienen ni con el empleo de soluciones alcohólicas. Deben utilizarse por lo tanto cortes colodionados si se usa el método del PAS para la demostración del glucógeno y con éste procedimiento y breve oxidación la pérdida de glucógeno es nula. No es aplicable a la técnica de cortes en congelación.

Método del tetraacetato de plomo de Schiff. Este método introducido por Shimizu y Kumamoto (177) (1952) como sustituto de la reacción del PAS, tiene como característica el que la oxidación por el Pb (O-CO-CH) de lugar a más grupos aldehídos que la oxidación con el HIO y las partículas pequeñas de glucógeno se eliminan más lentamente, requiriéndose controles con diastasa.

Acción de la diastasa. La acción de las digestiones con Ptilina (saliva) ó diastasa a temperatura ambiente durante 30 min. ó menos se considera suficiente para eliminar el glucógeno de los cortes parafinados, cualquiera que haya sido el fijador empleado. Se sabe que tanto la formalina como el ácido picrico pueden volver al glucógeno insoluble en agua mediante su unión

con proteínas, pero no hay indicios de que se haya vuelto inaccesible a la acción de la diastasa. El concepto de glucógeno ligado a proteínas, y por tanto menos fácilmente extraíble, condujo a Willstätter y Rohdenwald (200) (1934) a describir un complejo denominado desmoglucógeno. Meyer y Jeanloz (125) (1943) han probado que el glucógeno no está químicamente ligado a la proteína, sino que tras su inclusión mecánica en proteína coagulada, el glucógeno de alto peso molecular no puede extraerse mediante lavado con agua caliente. Esta fracción ligada se considera, por Prins y Jeanloz (159) (1948), equivalente al desmoglucógeno de Willstätter (200).

No hay duda de que el glucógeno presente en cortes fijados de la piel, hígado, músculos y de otros tejidos es siempre totalmente eliminable mediante la saliva ó diastasa. La última es de acción más segura, pero hay pruebas de que ataca a mayor número de sustancias. Actualmente se acepta que el material que queda en los cortes después del uso de diastasa, aunque puede reaccionar, no es glucógeno. Han surgido algunas dificultades sobre la interpretación de la reacción en el caso de leucocitos. La reacción del PAS inten-

samente positiva en el citoplasma de los leucocitos polimorfonucleares humanos y de los megacariocitos se ha aachado por Wislocki ,Rheingold y Dempsey (202) (1949) y por Gibb y Stowell (72) (1949) a la presencia de glucógeno eliminable mediante digestión salivar. Sin embargo, Pearse (1505) ha encontrado que una cantidad considerable de material PAS positivo permanece en los leucocitos polimorfonucleares y megacariocitos humanos, tanto en frotis fijados como en cortes parafinados fijados en formalina tras acción prologada de la saliva ó diastasa; es más, Wislocki (202-203) y sus colaboradores concuerdan en que en los megacariocitos del mono (*Macaca mulatta*) el material PAS positivo no es glucógeno . Estos hallazgos seían debidos a la presencia de otras sustancias hidrocarbonadas distintas del glucógeno; a la presencia de sustancias lipídicas de la clase fosfátidos ó a incompleta eliminación del glucógeno por la presencia de una fracción, diastasa resistente, ligada a proteínas. Por ahora, no existen probablemente pruebas que apoyen el concepto de glucógeno diastasa resistente de forma que la reacción PAS residual en los leucocitos es debida a alguna otra sustancia. Procedemos por tanto bajo la

idea de que el glucógeno fijado es diastasa-líbil y que el material diastasa-resistente no es glucógeno. Esta sustancia es por consiguiente, el único polisacárido natural con que nos encontramos en tejidos animales que resulta distinguible de las sustancias pertenecientes a los otros grupos descritos.

Las recientes concepciones de la estructura química y física del glucógeno han iniciado en la idea de que hay diversos tipos de glucógeno natural con diferentes grados de polimerización y, por tanto, con diferentes solubilidades (Meyer (125) 1943). Este conocimiento ha explicado en parte las dificultades en la fijación histológica de los distintos tipos de glucógeno. Todavía hay cinco métodos básicos en uso para éste fin y todos ellos tienen algún valor. Cualquiera que sea el método empleado para la demostración del glucógeno, hace necesario utilizar siempre cortes testigos. Todos ellos se incuban con saliva (Bauer (9) (1933) y Bensley (13) (1939), ó de preferencia con diastasa de malta (Lillie y Greco (105) (1947) que elimina los glucógenos, y entonces se tratan de la misma forma que los cortes no

incubados. Lillie y Greco (105) aconsejaron el empleo de diastasa de malta al 1% en amortiguadores de fosfato salino a neutralidad, pero éste refinamiento no es necesario, porque la diastasa al 1% en suero fisiológico al 1% ó incluso en agua destilada es suficiente activa para eliminar el glucógeno de los cortes fijados en todos los fijadores ordinarios, en 30 min. y a la temperatura ambiente.

Bunting y White (21) (1950) utilizaron diastasa al 0,2% en fosfato monopotásico M/70 (pH 5) a 37°C durante 2 horas y comprobaron sus cortes testigo a la diastasa con cortes tratados con amortiguador solamente. Tal precaución es innecesaria si se emplea la solución acuosa. Utilizando suero fisiológico al 1%, incluso con la menor incubación, todas las sustancias distintas del glucógeno se eliminarán del corte. Como estas sustancias distintas del glucógeno (RNA por ejemplo) no se tienen que temer por los procedimientos para demostrar el mismo, su presencia no introduce ningún error.

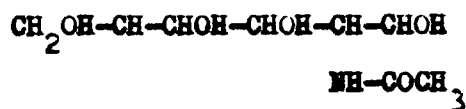
Otros métodos. Citaremos entre ellos el de Vastarini-Cresi (191) con resorcina-fuchina ó con creoso-fuchina, el de Meyer (124) con tanino-hie-

rro, el de Fischer con tanino safranina, el de Lubarsch con violeta de geniana y otros que ya son reacciones poco utilizadas.

Las opiniones sobre cual de los métodos señalados para detectar glucógeno es el más adecuado varían considerablemente. Recientemente Carpentier, Plonsky y Menten (28) (1951) estudiando comparativamente los diversos métodos señalan la dificultad para la localización del glucógeno a cualquiera de ellos. El método superior es sin duda la reacción del PAS, que debe completarse con la diastasa. El método del carmín de Best es un proceder empírico que puede ser útil en algún caso. Los métodos que emplean el yodo son poco utilizables por la dificultad en obtener buenos resultados con material no fijado de forma especial y de lograr montajes permanentes; su único uso real es el material liofilizado. Los métodos de plata, que tienen considerables ventajas para la fotografía no son recomendables para otros usos.

MUCOPOLISACARIDOS Y MUCOPROTEIDOS. Aunque en la actualidad las investigaciones histoquímicas que se han efectuado sobre los mucopolisacáridos

y mucoproteidos son numerosas, existen aún gran cantidad de incognitas sobre el problema. No hay una definición ni una clasificación aceptada de forma universal por los bioquímicos para las sustancias de éste grupo. Aceptaremos la clasificación de Meyer (124) (1945). Sustituiremos el término mucóide por el de mucoproteido. La característica de los grupos formados por los mucopolisacáridos, mucoproteidos y glucoproteidos es la presencia en la molécula de una hexamina generalmente N-acíclica.



Meyer (124) define éstas sustancias de la manera siguiente:

Los mucopolisacáridos son polisacáridos que contienen una hexamina sea libre, sea liberada por hidrólisis.

Los mucoprotidos son sustancias que contienen un mucopolisacárido ligado a un prótido y en los cuales el contenido en hexoamina es superior al 4%.

Los glucoprotidos son proteínas que contienen menos del 4% de hexamina.

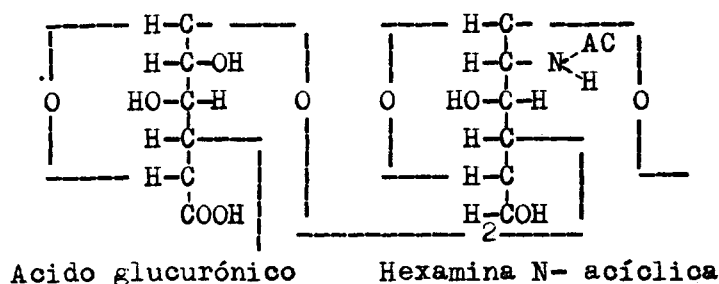
La distinción entre glucoprotido y mucoprotido, que se basa en un contenido de hexamina mayor ó menor del 4% es arbitraria, pero se justifican ciertos caracteres de solubilidad diferentes.

Los mucopolisacáridos se dividen en dos clases según sean neutros ó ácidos. La misma división puede hacerse para los mucoprotidos. Meyer (124) distingue dos tipos de mucopolisacáridos ácidos; simples que sólo contienen hexamina y ácidos urónicos ó hexónicos y los complejos que contienen además grupos sulfúricos ó ácidos fosforicos esterificados en su molecula.

Desde el punto de vista histoquímico es imposible distinguir los mucopolisacáridos de los mucoprotidos, y de los glicoprotidos. En efecto todas las reacciones histoquímicas actuales revelan solamente el residuo hidrocarbonado y no dan ninguna información sobre la cantidad de proteínas en el contenido. Cuando desde ahora en adelante se hable de mucopolisacáridos se refiere no a mucopolisacáridos en el sentido estricto, es decir, a hidratos de carbono ligados a residuos proteicos, sino únicamente al residuo hidrocarbonado independiente de que esté ligado ó nó al residuo proteico.

La distinción hecha por Meyer (124) entre mucopolisacáridos ácidos y neutros es válida en las investigaciones histoquímicas.

Mucopolisacáridos ácidos. Los mucopolisacáridos ácidos definidos como tales desde el punto de vista químico están estrechamente emparentados entre sí. Son todos polímeros altos cuya unidad estructural está formada por la unión glucosídica de una molécula de un ácido hexoamino (generalmente el glucourónico) y una hexamina. El grupo carboxílico del ácido glucourónico está libre; los grupos aminos de la hexamina no están enlazados en el enlace polimérico pero están sustituidos por grupos acetílicos u otros residuos análogos (Stacey (179)). Sin embargo, la posición del enlace glucosídico puede ser diferente de unos compuestos a otros.



Los mucopolisacáridos ácidos de origen animal actualmente conocidos desde el punto de vista químico son (Pirier (152) y Meyer (124):

- a) Mucopolisacáridos ácidos simples: Acido hialurónico.
- b) Sulfomucopolisacáridos: Acido condroitin sulfúrico; heparina.

La detectación histoquímica de los mucopolisacáridos ácidos puede hacerse por:

- A) Metacromasia.
- B) Reacción del PAS y de Bauer.
- C) Basofilia.
- D) Acción de la hialuronidasa.
- E) Tinción del azul alcian.

A) Metacromasia. Es la reacción más específica de los mucopolisacáridos ácidos, ya que es positiva para ellos y negativa para los mucopolisacáridos neutros. Esta propiedad de los mucopolisacáridos ácidos fué descrita por vez primera por Lisson (110) (1935). Se pensó en principio que la metacromasia estaba ligada a un función ester sulfúrica y se demostró igualmente la impor

tancia de la polimerización en el estudio del fenómeno de la metacromasia. Así, se dijo, que era producida por los estersulfúricos de peso molecular elevado (Ahora diríamos polímeros altos). Hoy se sabe que también los polisacáridos ácidos con radical carboxilo (Kank, Bungenderg, de Jong (23), Meyer (125), Manzani Torini (117), son metacromáticos; en resumen, son metacromáticos todos los polisacáridos con función ester sulfúrica ó con función carboxilica totalmente polimerizados (Manozzi Torini (117), Mutsaars, Lisson (110) Wislocki, Bunting y Dempsey (201), Bignardi (16), Ceruti (36), Benazzi y Zanotti (205). Sin embargo, el viraje metacromático es más pronunciado en los polisacáridos con función sulfúrica que en los polisacáridos con función carboxilica. Además, la metacromasia de los polisacáridos con función carboxilica es más sensible a la acción de las sales que la de los polisacáridos con función sulfúrica. Estos hechos podrían aplicarse para diferenciar los tipos de polisacáridos ácidos en las preparaciones histológicas.

B) Reacción del PAS y de Bauer. Hasta hace poco se creía que todos los polisacáridos ácidos daban reacciones positivas con el PAS y con el Bauer.

Las investigaciones de Jorpes (94), Wermel (199), Meyer (125), y Odier (143) han demostrado que el ácido condroitinsulfúrico y la heparina trisulfúrica son PAS y Bauer negativos; en cambio el ácido hialurónico, el mucitinsulfúrico y la heparina monisulfúrica son positivos. La diferencia de composición entre el ácido condroitinsulfúrico y la heparina monosulfúrica, que son ambos monoésteres sulfúricos, se explica por la posición diferente en los enlaces glucosídicos. Estos en el segundo compuesto dejan libre dos grupos OH adyacentes que no reaccionan con el ácido peryódico. En cuanto a la heparina trisulfúrica no puede reaccionar ya que tres de los grupos OH de cuatro están esterificados. Estos hechos que no han preocupado hasta ahora a los químicos son de gran interés.

C) Basofilia. Los polisacáridos ácidos deben a su carga eléctrica negativa una basofilia más ó menos pronunciada. Es bien sabido que el radical estersulfúrico lleva una carga negativa muy grande. Es lógico suponer que los sulfomucopolisacáridos poseen una basofilia marcada, como se demuestra en la práctica. El radical estersulfúrico tiene una carga natural negativa conside

rablemente superior a los del grupo carboxílico (Bank, Bungenberg de Hong (23); se puede así preveer que el punto isoelectrico de los primeros debe estar situado a un pH más bajo que el de los segundos como han visto Dempsey (45), Bunting (21), Singer, Wislocki (201). Los primeros muestran una colorabilidad disminuida considerablemente por encima de un pH 4, los otros muestran una coloración intensa hasta un pH de 2 y aún superior.

D) Método e indicación del mecanismo del azul alcian. La coloración del azul alcian 8GS fué introducida en histoquímica por Steedmann (180) (1950). Este autor utilizando material de procedencia no humana demostró que el colorante poseía grandes ventajas para la tinción de la mucina, por su rapidez y sencillez. Pearse (150) (1953) describió esta tinción como electiva de los mucopolisacáridos ácidos del epitelio y el mesenquima. Mecanismo. El de esta reacción es desconocido, por esto Lisson (111) (1954) niega carácter a este procedimiento como reacción histoquímica. Vialli (1951) encontró una absoluta correspondencia entre la tinción del azul alcian y la coloración con el azul de toluidina, cuya metacromasia es considerada actualmente como

el método más fiel para representar los mucopolisacáridos ácidos. En contraposición a la coloración del azul de toluidina, el azul alcian tendría la ventaja de ser un método más duradero. Este hecho fué confirmado hace poco por Gomori (75) (1954). El hecho de que la coloración del azul alcian haya sido utilizada hasta aquí muy poco se debe según el autor anteriormente citado a los siguientes inconvenientes:

1º. El colorante recomendado por Pearse (150) (1957) en su libro de Histología como solución acuosa al 1% de azul alcian es totalmente ineficaz.

2º. Hasta ahora solamente ha dado resultado satisfactorio como destacan Runge y Ebner (167) el colorante suministrado por la casa Guhr de Londres.

Mucopolisacáridos neutros. La unidad estructural de los mucopolisacáridos y de los mucoprotéidos neutros de origen animal es un disacárido formado de acetilglucosamina y de un azúcar. En la mayor parte de los casos es la galactosa, en otros el azúcar es una melosa. Mientras que los mucopolisacáridos ácidos están generalmente en estado libre, ó ligados con proteínas de

forma bastante lábil, probablemente por enlaces salinos, los mucopolisacáridos neutros se encuentran casi siempre ligados a las proteínas de manera bastante sólida, hasta el punto que se pueden considerar a menudo como formando parte integrante de la molécula. Los conocimientos histoquímicos que tenemos en la actualidad sobre los mucopolisacáridos neutros son mucho más incompletos que los que poseemos sobre los ácidos. No se ha descrito aún de forma sistemática los métodos que puedan identificar y diferenciarlos de otros mucopolisacáridos. Sin embargo se sabe que:

1º. No se tiñen metacromáticamente por el tanino, ni por el azul de toluidina (Lehner).

2º. Son PAS positivos.

3º. No son basófilos.

Reacción del azul alcian PAS. De gran interés es la asociación del PAS con la coloración del azul alcian tal como Runge, Ebner y Lindenschmidt (168) la practican en Heidelberg y J.G.Merlo (49-78<sup>m</sup>) en Madrid. Es como veremos inmediatamente de técnica sencilla y con ella los polisacáridos sin grupo áci-

do se tiñen en color rojo por el PAS (el glucógeno aparece teñido de color rojo purpura y los polisacáridos neutros de color rojo pálido homogéneo) y los mucopolisacáridos ácidos toman el azul del alcian, existiendo aún una serie de estructuras sobre las que luego insistiremos que toman una coloración resultado de la mezcla de ambas. Para la realización de la tinción se procede de la siguiente forma:

1º. Los cortes se tratan con una serie de alcoholes de concentración de creciente.

2º. Introducción durante 10 min. en una solución de azul alcian. Esta solución se prepara de la siguiente forma: Solución acuosa al 1% de azul alcian 8G5, 50 c.c.; Solución acuosa al 1% de ácido acético, 50 c.c. filtrar y añadir 10-20 miligrs. de timol en cristales.

3º. Lavado en agua destilada.

4º. Introducción en una solución acuosa de ácido fosfomolibdico durante 6 min.

5º. Lavado en agua destilada.

6°. Introducción en una solución acuosa al 0,8% de ácido peryódico durante 10 min.

7°. Lavado en agua destilada durante 5 min.

8°. Someter a la acción del reactivo de Schiff durante 15 min.

9°. Introducción en una solución compuesta de metabisulfato de sodio, 0,5 grs; agua destilada, 99 c.c.; se la anadirá despues 1 c.c. de HCL concentrado. Esta solución será renovada tres veces y permaneceran los cortes dos min. en cada una de ellas.

10°. Lavado en agua corriente durante dos a cinco min.

11°. Tratado en una serie de alcoholes de concentración creciente.

12°. Carboxilol.

13°. Xilol.

14°. Montaje en balsamo del Canadá.

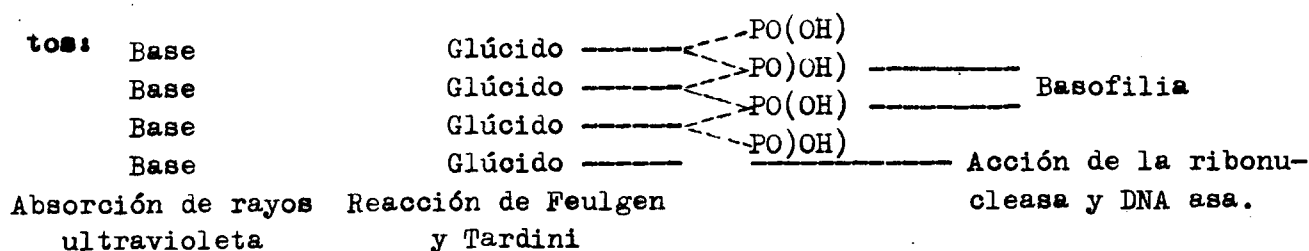
Acidos nucleicos. Para el estudio de los ácidos nucleicos hemos utilizado la reacción de Feulgen Rossenbeck y la del verde metilo pironina y ribonucleasa. En la actualidad se conocen solamente dos posibles tipos de ácidos

nucleicos; uno en el que el hidrato de carbono es una pentosa y otro en el que es una desoxipentosa. Estas dos especies difieren por su estructura física, su composición química y su comportamiento biológico. El ácido nucleico preparado a partir de la levadura (ácido timonucleico) en el que el hidrato de carbono es una ribosa está considerado como tipo del primer género, mientras que el ácido extraído del timo (timonucleico) cuyo hidrato es una desoxirribosa pertenece al segundo tipo. Se ha oído durante mucho tiempo que el ácido timonucleico y el desoxitimonucleico eran los únicos que existían, sin embargo existe en la actualidad una tendencia a considerar la no identidad de los ácidos nucleicos de diversas procedencias. Por esto y sin entrar en discusión utilizaremos en lugar de la denominación aún corriente de ácido timonucleico, la más común de desoxirribonucleico. El término de ácido timonucleico se ha abandonado ya hace mucho tiempo y ha sido sustituido por el de ácido pentosanucleico y ácido ribonucleico. Los términos de ácidos cromonucleicos y plasmonucleico propuestos por Pollistey y Mirsky (156) (1942) no han tenido éxito y han sido abandonados por sus propios autores.

Utilizaremos las abreviaturas clásicas de los países de lengua inglesa de DNA para el ácido desoxirribonucleico y de RNA para el ácido ribonucleico

Para detectar histoquímicamente los ácidos nucleicos se pueden utilizar las reacciones consignadas en el cuadro de la página siguiente.

Estas reacciones no actúan sobre los mismos constituyentes de la molécula nucleica y constituyen por tanto medios de información distintos. El método de Caspersen, basado en la absorción de los rayos ultravioleta, es debido a la presencia de bases púricas y pirimidínicas. La reacción de Feulgen y la de Turchini son debidas a los radicales glúcidos. La acción de las ribonucleasas y la desoxirribonucleoaspolimeraasa recae sobre los enlaces poliméricos existentes en los polinucleótidos. La basofilia, resulta de la carga negativa de los radicales fosfóricos. El esquema siguiente da idea de estos conceptos:



Las reacciones más usadas en ginecología han sido las de Feulgen y Brachett ó test de la ribonucleasa. En los tejidos el DNA aparece siempre ligado a proteínas bajo la forma de macromoléculas muy polimerizadas. Estas macromoléculas se dejan fijar histológicamente sin pérdida de la disolución. No se ha descrito hasta ahora que existia paso del DNA a los líquidos fijadores. Una vez fijada la preparación el ácido desoxirribonucleico resiste mucho a los agentes disolventes. Incluso la acción de los ácidos diluidos calientes como se realiza la reacción de Feulgen (5-10 min.) en HCL normal a 60° no los disuelve (Brachett (19), Overend y Stacey (145)). La acción de las soluciones calientes por encima de 60° provoca despolimerización parcial del ácido desoxirribonucleico; esto puede originar modificaciones en la intensidad de la coloración por el verde metilo (Kurnick (97)), pero no en la absorción de los rayos ultravioleta notandose igual resultado con la reacción de Feulgen y no acompañandose de pérdida de ácido fosfórico (Pollister y Leuchtenberger (157)). El RNA está menos polimerizado que el DNA (Kurnick (97)) y su conservación correcta comporta más dificultad que la del DNA. La mayor parte del áci-

do ribonucleico del tejido se encuentra en las mitocondrias y en los microsomas bajo formas complejas que comprenden proteínas y una fracción importante de fosfolípidos (está fundamentalmente en el citoplasma celular, mientras que el DNA está exclusivamente en el núcleo). Mitocondrias y microsomas reaccionan de manera similar a la acidificación del medio; aumentando la acidez se aglutinan en masa. A partir de un pH 3,5 se desintegran las proteínas y se desnaturalizan, los fosfolípidos se separan y el ácido nucleico se solubiliza (Claude (38)). En consecuencia los fijadores ácidos pueden provocar cambios morfológicos en el ácido ribonucleico y quizá incluso cuando son muy ácidos una pérdida de ácido ribonucleico.

Los líquidos alcohólicos provocan la misma desintegración de los complejos lipidonucleoproteicos y el ácido nucleico precipita bajo la acción del alcohol (Claude (38)). Si no se añade ningún otro fijador al alcohol éste precipitado puede redisolverse fácilmente, porque el alcohol sólo conserva mal los ribonucleicos. La acetona se comporta igual. La presencia en el alcohol de cualquier otro agente fijador mejora considerablemente la conservación de

los ribonucleicos: el alcohol formol, el alcohol formol-acetato, el alcohol sublimado son superiores al alcohol sólo. Puesto que el fijador ejerce una influencia no despreciable sobre la conservación de las ribonucleinas, es necesario emplear el fijador adecuado. Una vez fijado el RNA, es menos resistente que el DNA a los agentes disolventes. El agua caliente a 60° y hasta 37° basta para extraer de ciertos órganos fijados cantidades apreciables de ácido ribonucleico. Las soluciones salinas y las soluciones ácidas pueden igualmente extraer fácilmente el RNA. Los mono y dinucleótidos no polimerizados que no constituyen más que una pequeña fracción de los nucleótidos celulares totales, no son accesibles a la investigación histoquímica. Siendo solubles y difusibles, deben desaparecer del tejido durante las manipulaciones histológicas.

Basofilia. No es desde luego un buen método para determinar el contenido en ácido nucleico de un tejido. Se conocen de antiguo las propiedades basofílicas de los ácidos nucleicos después confirmadas y dependientes de su contenido en ácido fosfórico. Aprovechando esta propiedad se utilizó desde hace

mucho tiempo un colorante básico para determinar el contenido en ácido nucleico. El colorante más utilizado ha sido el verde metilo, que siendo uno de los más antiguos de la histología, tiene una propiedad muy particular y es su electividad por el DNA. Esta propiedad fué observada por primera vez por Carnoy (30) (1879) y desde entonces fué considerado como específico de los ácidos nucleicos (Malfatti (115) (1893), Lilienfeld (107) (1893), Papanheim (147) y Unna (192)).

La especificidad de la coloración del verde metilo para el DNA ha sido comprobada recientemente por Pollister y Leuchtengerger (157) utilizando como fijador el alcohol acético (3:1). Liason (111) afirma que el verde metilo no es específico si se utiliza como fijador alcohol formol (9:1). Se sabe que ese colorante puede teñir el moco (Brachett (19)), la proteína basofila de los espermatozoides del áscaris (Pasteels (149) y Panijel (148)), en fin, el verde metilo puede colorear elementos privados del DNA.

Puede afirmarse que el verde metilo no tiene caracteres de especificidad suficiente para constituir un método histoquímico valorable. Como otros colo-

rantes puede ser selectivo, mediante el empleo de modalidades técnicas apropiadas; pero utilizado en otras condiciones, puede tener formaciones diferentes de las que tiñe habitualmente.

Como resumen podemos decir que el verde metilo y todos los colorantes básicos son utilizables para tñir los ácidos nucleicos. Puede tñir el DNA y el RNA y la coloración puede ser selectiva en manos técnicas competentes. Su comodidad de empleo le hace muy útil en el diagnóstico histológico corriente. Desde el punto de vista histoquímico no sirven porque:

1º. No son específicos.

2º. La intensidad de la coloración no está en relación con la cantidad de ácido nucleico existente sino que depende de condiciones técnicas. Concluyendo, no tiene valor cuantitativo.

Por ésta razón se utiliza para estudiar el contenido en ácidos nucleicos de la célula la reacción de Feulgen-Rossenbeck, que como veremos a continuación es mucho más específica.

Reacción de Feulgen-Rossenbeck. Feulgen (56) a quien se deben importan-

tes estudios sobre la constitución de la nucleína ha descubierto un test específico del ácido desoxirribonucleico. Después de hidrólisis moderada, el DNA, tratado por el reactivo de Schiff origina una materia de color rojo violeta. Esta reacción aplicada al estudio histológico por Feulgen y Rossenbek bajo el nombre de reacción nuclear (1942) ha adquirido inmediatamente gran difusión y se la conoce actualmente con el nombre de reacción de Feulgen. Se ha de tener cuidado para no confundirla con otra propuesta por el mismo autor con el nombre de reacción plasmal. La técnica de la reacción es la siguiente:

1°. Hemos utilizado como fijador el mismo que para la reacción del azul alcian: Solución de formol al 10% en alcohol de 96° titulada a pH 7.

2°. Hidrólisis: Se tratan los cortes desparafinados durante un tiempo que oscila de 5 a 15 min. (según la fijación) por HCL normal (82,5 c.c. de HCL de densidad 1,19 por mil) a temperatura constante de 60°centígrados.

3°. Detener la hidrólisis por lavado brusco en agua destilada.

4°. Tratamiento por el reactivo de Schiff durante 1 hora y 15 min.

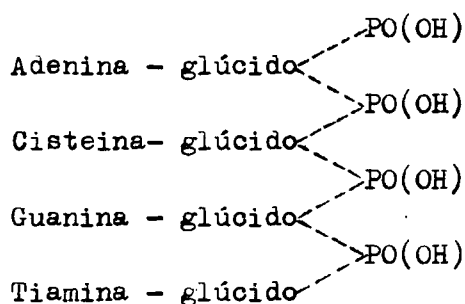
5º. Lavado durante dos min. cada vez en tres banos sulfurosos (de reciente preparación añadiendo a 200 c.c. de agua destilada 10 c.c. de una solución al 10% de bisulfito sódico anhidro y 10 c.c. de HCL normal).

6º. Lavado con agua destilada y montaje como de costumbre.

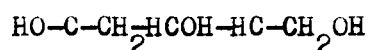
Con ésta reacción se tiñen de forma específica los acúmulos de DNA de color rojo violeta.

El mecanismo de esta reacción es el siguiente: Una hidrólisis ácida moderada separa del DNA las bases púricas guanina y adenina específica y cuantitativamente. El cuerpo que se forma así se ha llamado desde Kossel y Neuman, Steudel y Brigl, ácido tímico. Entre otras reacciones aldehídicas, éste ácido tiñe la fuchina descolorada por el ácido sulfuroso. Según Feulgen (56) (1924) la hidrólisis rompe los enlaces glucosídicos de la purina con el radical glúcido.

El agrupamiento pseudoaldehídico de éste, enmascarado antes se liberaría y daría con el reactivo de Schiff la coloración característica de los aldehídos. El esquema siguiente explica ésta reacción:

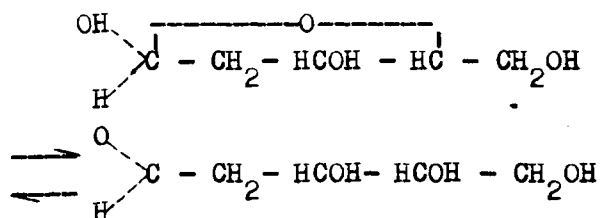


Están subrayadas las purinas que se eliminan del tetranucleótido por la hidrólisis. Levene y sus colaboradores London, Mikeska y Mori (102), han demostrado que el glúcido responsable de la reacción es una desoxipentosa, al estado de desoxirribosa ó timinosa (d-2 desoxirribofuranosa):



Estructuralmente no es un aldenido, su propiedad de reaccionar con el reactivo de Schiff no puede explicarse más que si se admite la existencia de un estado de equilibrio con un tautómero de naturaleza aldehydica.

Este fenómeno se expresa en la siguiente reacción:



Este punto de vista ha sido mantenido recientemente por Overend y Stacey. En el DNA naciente el enlace del glúcido con la base púrica se efectúa con el grupo OH del átomo de carbono 1 (lleva un asterisco en la fórmula precedente) y el glúcido no puede pues tener la forma aldehídica tautómera. Roto el enlace glucosídico el paso a la forma aldehídica es posible. Así se explica el hecho de que los ácidos nucleicos nativos no den la reacción con el reactivo de Schiff, pero que reaccionen después de la hidrólisis, que elimina la purina. Se duda hoy, de que la reacción de Feulgen sea debida al radical glúcido del ácido desoxirribonucleico. Semmens (176) basándose en el hecho de que las bases cíclicas tales como la piridina y la piperidina, cafeína y teobromina, la adenina y la guanina darían una reacción coloreada con el reactivo de Schiff, ha pensado que la reacción de Feulgen sería produ

cida por el constituyente púrico del ácido nucléico más que por el componente hidrocarbonado. Barber y Price han respondido a Semmens que el efecto producido por los cuerpos citados no tiene nada de común con la reacción de Feulgen y es debido al carácter alcalino de las soluciones de estas bases. Se produce por todas las soluciones alcalinas como lo habían demostrado Feulgen y Rossenbek (56), Wieland y Scheuing (198) y Lisson (110).

En estos últimos años el mecanismo de la reacción de Feulgen ha sido investigado de nuevo con objeto de establecer la especificidad. Deriaz, Stacey, Tecce y Wiggins (47) (1946) estudiando la reacción de Dische, han demostrado que la coloración es debida al acoplamiento de la difenilalanina con el ácido  $\alpha$ -hidroxilevurico ( $\text{HOCH}_2 - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{COH}$ ) resultante de la transformación de la desoxirribosa bajo la acción del tratamiento ácido previo. Se ha sugerido que la reacción de Feulgen sería debida no a la desoxirribosa misma, sino al aldehído  $\alpha$ -hidroxilevurico que se produciría después de la hidrólisis ácida que constituye el primer tiempo de la reacción. Si ésta opinión fuera cierta la reacción habría de ser considerada como poco específica, porque el aldehído

do  $\alpha$ -hidroxilevúrico puede resultar de la degradación de un cierto número de azúcares. Las investigaciones más recientes no han confirmado este punto de vista. Overend y Stacey (145) (1949), han demostrado que los 2-desoxi azúcares contienen una proporción de la forma tautómera aldehídica mucho más elevada que los azúcares normales y que las 2-desoxifuranosas contienen una proporción más elevada que las 2-desoxipiranosas. Además los glucósidos de las 2-desoxifuranosas son muy lábiles a soluciones ácidas. Se puede concebir así el mecanismo de la reacción de Feulgen: bajo la influencia del medio ácido, la cadena hidrocabonada unida por enlaces poliméricos se rompe; después sus enlaces glucosídicos con las purinas del grupo 2-desoxifurano se rompen; los radicales 2-desoxirribosa permanecen fuertemente unidos en  $C_3$  y en el  $C_5$  a la cadena fosforada de la macromolécula y no pueden pasar pues a la solución. En fin, siempre bajo la influencia del medio ácido una proporción interesante por su importancia de la forma furanosa del azúcar se transforma en forma aldehídica; esta última reacciona con el reactivo de Schiff para dar, con la eliminación de agua, un compuesto colorado según el esquema de Wielan

y Schuing (198). En definitiva se obtiene una macromolécula coloreada disoluble. En cuanto a la reacción y relacionado con su especificidad hemos de decir: la reacción nuclear está constituida en realidad por dos reacciones, 1º hidrólisis y 2º la reacción del reactivo de Schiff. Estos dos tiempos son absolutamente necesarios. Así para poder decir que la reacción nuclear es positiva es necesario:

1º. Que se obtenga la coloración por el reactivo de Schiff después de hidrólisis ácida.

2º: Que no se obtenga la coloración por el mismo reactivo de una preparación no sometida a la hidrólisis.

Esta condición nos permite afirmar el alto grado de especificidad de la reacción nuclear. En efecto, si bien las sustancias capaces de recolorar en violeta el reactivo de Schiff son bastantes (los aldehidos sólo según la opinión clásica, en realidad como Lison (110) ha demostrado, no sólo los aldehidos sino también ciertas cetonas, compuestos no saturados, aminoácidos, el bromuro libre, sistemas catalíticos oxidantes), no se conoce actualmente en

los seres vivientes ninguna sustancia más que el DNA, que no reacciona en estado nativo sino después de una ligera hidrólisis ácida. Existen en los tejidos sustancias que recoloran la fuchina decolorada por el ácido sulfuroso sea inmediatamente, sea después del tratamiento con cierto reactivo por ejemplo: cuerpos grasos después del tratamiento con solución de sublimado (Feulgen, y Voit-Verne (193); glucógeno después del tratamiento por el ácido crómico (Bauer (9); mucina, mucoides y otros polisacáridos después de la oxidación (Clara (37), Bignardi (16), Marchesse (119), Deane (42) y Dempsey (45-46).

Todas estas reacciones son fundamentalmente diferentes de la reacción nuclear y es un grosero error confundirlas con la misma como hace Glik (73) en su reciente obra.

Entre los ácidos nucleicos sólo los que liberan desoxipentosa por hidrólisis, es decir, el DNA dan la reacción. Los ácidos ribonucleicos que contienen una pentosa inactiva, no reaccionan. Es necesario resaltar que el producto obtenido en la reacción de Feulgen no es la fuchina, que sería formada de nuevo a partir del ácido fuchino-sulfuroso, sino un nuevo cuerpo, cuyo color

es más azulado que la fuchina inicial. Este hecho demostrado por Feulgen y confirmado por los estudios espectrofotométricos de Stowell y Albers (184) es un argumento más en favor de la especificidad de la reacción. Se han hecho algunas objeciones sobre la exactitud de la localización a la reacción de Feulgen. ¿Los aldehídos producidos por la hidrólisis ó la materia colorante producida por la acción del reactivo de Schiff sobre el hidrolizado, no pueden difundir y provocar una tinción secundaria de los elementos vecinos?

Estas objeciones formuladas primero por Von Müllendorff (149'), Feulgen (56) y después por Wermel (199) no son válidas. Se ha visto que ni el producto de la hidrólisis, ni la coloración puede difundir de manera apreciable y que incluso los lavados prolongados no pueden desplazarlos de las estructuras a que están ligados. Además los colorantes producidos por la acción de los aldehídos sobre el reactivo de Schiff se comportan como colorantes básicos banales y dan imágenes distintas a las de la reacción de Feulgen.

Más recientemente Stedman (180) y otros investigadores como Choudhuri (41) y Carr (31) han planteado de nuevo estas objeciones apoyándose en el si

guiente argumento: cuando se hace obrar in vitro el reactivo de Schiff sobre el ácido nucléico puro hidrolizado, se forma una materia colorante completamente soluble en el agua que tinte fuertemente los cromosomas. Por consiguiente deducen de esto los autores citados: los cromosomas dan la reacción nuclear porque están compuestos de un material insoluble que toma el colorante soluble producido en la reacción. La coloración nuclear diferiría de una coloración banal por el hecho de que el colorante se produce en el interior del núcleo en lugar de venir de fuera. La reacción de Feulgen demuestra la presencia de un ácido nucléico en el núcleo, pero no permitirá sacar ninguna conclusión respecto a su localización. En efecto, según estos autores el ácido nucléico se encontraría en el saco nuclear y no en los cromosomas.

Estas concepciones han sido criticadas por Callan y Barber (27), Casper (33), Stowell (185), Brachett (19) y Dobson (49) que han hecho estudios muy convincentes acerca y en favor de la reacción de Feulgen. Citemos algunos argumentos:

A) Cuando se hidroliza en las condiciones requeridas para la reacción

de Feulgen (5 min. en HCL normal a 60°) suspensiones de eritrocitos de pajarro ó núcleos aislados incluso sin fijación previa, no se encuentra vestigio de ácido desoxirribonucleico en el líquido que sobrenada, ya que el DNA no se disuelve durante la hidrólisis preliminar a la acción del reactivo de Schiff (Brachett (19)).

B) La formación de un producto soluble observado por los Stedman a partir del ácido nucleico in vitro debe ser relacionada con la utilización de medios demasiado groseros (ácidos minerales) que provocan una despolimerización acentuada del DNA. En efecto, cuando el ácido timonucleico altamente polimerizado obtenido por una extracción no contiene más que reactivos dulces, se hidroliza en las condiciones de la reacción de Feulgen, la solubilización del ácido tímico no comienza hasta después de la liberación completa de las bases púricas (Thomas (189), es decir, cuando el tiempo de la hidrólisis ha pasado.

Para concluir podemos decir que la reacción de Feulgen, convenientemente conducida debe ser considerada como satisfactoria, tanto desde el punto de

vista de la especificidad química, como de su localización. Las objeciones que se le han hecho son de orden teórico y en la actualidad no se ha podido demostrar con hechos positivos que en algún caso no haya tenido especificidad. Es más la reacción de Feulgen puede servir para determinación cuantitativa del DNA por las técnicas histofotométricas.

La reacción de Feulgen nos puede prestar una gran ayuda al enjuiciar los procesos metabólicos del endometrio. El núcleo es el único que reacciona ya que los protoplasmas aparecen muy desvaídos. Según el grado de proliferación celular aparece más ó menos intensa esta reacción. Es mucho más marcada en la fase de proliferación que en la secretora y aparece particularmente intensa en las hiperplasias y en los adenocarcinomas. Nos puede prestar igualmente gran ayuda en el diagnóstico del ciclo anovulador.

Test de Brachett al verde metilo pironina y ribonucleasa.

El test de Brachett (18-19-20), destinado a la determinación de los ácidos ribonucleicos se basa en los siguientes principios:

Los ácidos ribonucleicos gozan de la propiedad de colorearse por la pi-

ronina cuando las preparaciones son tratadas por una mezcla de metilo pironina segun la técnica de Unna-Papenhein, mientras que los desoxirribonucleicos fijan el verde metilo. Como esta reacción no tiene caracter de especificidad suficiente si las preparaciones de control se tratan con ribonucleasa, que despolimeriza activamente los ribonucleicos y los hace pasar a la solución, la coloración del RNA desaparece.

La afinidad de los ribonucleicos para la pironina bajo la mezcla de Unna ha sido descubierta empíricamente por Brachett (18). La pirinofilia no es sin embargo totalmente específica (Brachett (19) y Taft (187); ciertas formaciones pirinofilicas no encierran el RNA(45) como por ejemplo algunas mucoproteínas.

Este defecto de la especificidad del verde metilo de Brachett se subsana con el empleo de la ribonucleasa. El DNA se tiñe en verde por el metilo, el RNA en rojo. Sin embargo, éste método no es suficientemente específico para detectar el DNA, ya que por ejemplo el verde metilo tiñe también el moco (Brachett (19-20) y otras sustancias. Sobre la falta de especificidad de

ésta reacción para el DNA, informan igualmente Faure (54), Unna (192), Brachett (20) y Pollister y Leuchtenberger (157). Con todo la reacción es específica para el RNA siempre que se lleve a cabo la supresión de la pirinofilia por la ribonucleasa, salvo muy ligeras reservas.

Aunque la no supresión de la pirinofilia por la ribonucleasa es una presunción pero no una prueba absoluta de ausencia de RNA; aunque Pllister y Ris (155) dan valor cuantitativo a ésta reacción mediante medidas histofotométricas, Lisson (110) se muestra esceptico de estos resultados. El mecanismo de la singular propiedad del verde metilo pironina, de distinguir entre los dos tipos de ácidos, no se conoce con exactitud. El parentesco estrecho de estos dos ácidos nucleicos hace bastante extraña a primera vista esta electividad. Brachett (20) afirma que ésta propiedad no está relacionada con la "densidad" de estructura de los elementos coloreados en el sentido de la teoría de Von Möllendorff (194'), sino que ella depende sólo de la diferencia en el punto isoelectrico de los dos tipos de ácido nucleico.

Segun Kurnick (97) la coloración con el verde metilo pironina depende

del estado de polimerización de la sustancia. El mismo ácido después de haber sido despolimerizado por el calor ó la desoxirribonucleasa se tinte por la pironina; el RNA toma la pironina. El DNA existe habitualmente en las células en forma de alto polímero mientras que el RNA existe bajo la forma de macromolécula de polimerización baja; por consiguiente, las distinciones entre ambos en la mezcla coloreada serían debidas a su despolimerización ó polimerización de grado diferente.

Vercauteren (1957) ha demostrado que tratamientos menos drásticos que los utilizados por Kurniek (97) para despolimerizar el DNA producen el mismo efecto. Estos hechos deben relacionarse con anomalías electrométricas señaladas por Gulland y Jordan (82). Revelan roturas en los enlaces muy débiles existentes en la macromolécula del ácido nucleico, probablemente de enlaces hidrógenos entre grupos OH-NH. Los cambios de afinidad para los colorantes se explicarían por un cambio a distancia entre los residuos fosforicos del ácido nucleico después de la rotura de estos enlaces.

La afinidad por el verde metilo disminuiría porque la distancia entre

las dos cargas negativas de los grupos fosforicos no corresponden a las dos cargas del catión verde metilo; para la pironina y el azul de metileno aumentaria porque la proximidad de los grupos fosforicos aumentaria su acidez y disminuiria el efecto de competencia del ión hidrógeno con el catión colorante (con carga única).

Estas investigaciones no resuelven el problema pero son de gran interes. Gerola y Vennini (68-69) (1948-49) haciendo variar la solución colorante en su pH desde valores muy bajos (1,5 a valores elevados 11,5) observan que todos los constituyentes celulares pasan de una afinidad exclusiva para la pironina a una afinidad progresivamente creciente para el verde metilo. Estos cambios de afinidad tienen lugar con los diferentes pH para cada constituyente celular; con pH bajos para los que contienen DNA y con pH elevado para los que contienen RNA.

---

CAPITULO 3º

CASUÍSTICA

Hemos estudiado 261 casos de cervix uterino que se han agrupado de la siguiente manera:

- A) Ectocervix normal..... con 67 casos.
- B) Seudoerosión glandular papilar..... con 37 casos.
- C) Epidermización..... con 43 casos.
- D) Epitelio intranquilo..... con 52 casos.
- E) Epitelio muy atípico no carcinomatoso..... con 12 casos.
- F) Carcinoma "in situ"..... con 11 casos.
- G) Microcarcinoma..... con 3 casos.
- H) Carcinoma invasivo..... con 36 casos.

Para sencillez en la exposición expresamos la intensidad de la Reacción del PAS por medio de cruces: + débilmente positiva; ++ medianamente positiva; +++ fuertemente positiva. Cuando con la digestión con la saliva desaparece el material PAS + decimos que existe glucógeno, que puede ser igualmente: + débilmente positivo; ++ medianamente positivo; +++ fuerte-

mente positivo.

De forma semejante expresamos los resultados obtenidos con el azul alcian PA<sup>5</sup>.

EPITELIO PLANO NORMAL

CASO N° 1. Prep. n° 652.I.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado en todo su espesor aunque discretamente atrófico. Hemorragia limitada en el espesor del epitelio plano.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda delgada continua y de color rojo. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 2. Prep. n°. 672. M.B.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado aunque algo atrófico.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda delgada continua y de color rojo. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 3. Prep. n° 679. F.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++: Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda continua de color rojo y delgada. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 4. Prep, n° 809. C.N.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma, que en algunos puntos envía digitaciones al epitelio plano.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja y estrecha. Estroma con haces teñidos de color rojo y otros de color rosa pálido.

CASO N° 5. Prep. n° 1157. S de las H.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma, que en algu

nos puntos envia digitaciones al epitelio plano.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++ en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja y estrecha. Estroma con haces teñidos de color rojo y otros de color rosa pálido.

CASO N° 6. Prep. n° 1181. H. S. S.

HEMATOXILINA EOSINA. Pequeño pólipo endocervical sin particularidades. Epitelio plano normalmente estructurado.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno+++ Membrana basal banda continua roja y delgada. Estroma con haces de color rojo y otros de color rosa pálido.

CASO N° 7. Prep. n° 1457. A.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy atrófico constituido por capas superficiales faltando totalmente la capa intermedia; no existen atipias.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia desaparecida glucógeno -. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con

haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 8. Prep. n° 1531. B.H. de K.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy atrófico reducido en algunas zonas a tres ó cuatro capas celulares; no tiene atípicas.

REACCIÓN DEL PAS. Capa superficial +. Capas intermedias glucógeno -. Membrana basal banda estrecha roja y continua. Estroma con haces de color rojo y rosa pálidos.

CASO N° 9. Prep. n° 1541. E.S.G.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con gran vascularización del estroma subyacente. En algunos puntos engrosamiento de la pared vascular.

REACCIÓN DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 10. Prep. n° 1542. B.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 11. Prep. n° 1552. C.E.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

REACCION DEL PAS- Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 12. Prep. n° 1610 J.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano discretamente adelgazado con ligera hiperqueratosis.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno + adelgazada. Membrana basal banda estrecha roja y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 13. Prep. n° 1656. C del P del P.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado sin sig-

nos de inflamación.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 14. \*rep. n° 1658, D.G.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano algo atrófico pero normalmente estructurado.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno + casi -. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 15. Prep. n° 1647. S.M.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano engrosado de estructura normal.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno + en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos rosa pálidos.

CASO N° 16. \*rep. n° 1742. En. S.J.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy atrófico reducido en algunos puntos a cuatro ó cinco hileras de células de capa superficial sin atipias. Discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS= Capa superficial ++. Capas intermedias glucógeno -. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 17- Prep. n° 1790. M.L.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 18. Prep. n° 1832. P.G.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

HEUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular, situado en el polo apical

de la célula. Capa basal de color azul verdoso en forma de banda delgada.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe de forma casi exclusiva los núcleos de una delgada banda de células de capa basal, con algunas mitosis. La capa intermedia y superficial se tiñen muy débilmente.

CASO Nº 19. Prep. nº 1845c. F.F.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe de forma exclusiva los núcleos de las células de la capa basal con algunas mitosis.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Capa basal y superficial con abundante material de color rojo. Capa intermedia con escaso material de color rojo. Núcleos de color verde.

CASO Nº 20. Prep. nº 1893. C.N.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal reducida a dos ó tres hileras de color azul verdoso.

CASO Nº 21. Prep. nº 1915.B.B.O.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial discretamente engrosada de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia ligeramente adelgazada glucógeno+. Capa basal aumentada de grosor de color azul verdoso. Estroma con haces suaves fundamentalmente y escasos de color rosa pálido. Abundantes células cebadas.

REACCION DE FEULGEN ROSENBEK. Tiñe los núcleos de las células de la capa basal y en la capa intermedia la reacción es negativa. La capa superficial se tiñe de color rojo homogéneo sin estructura.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONNIA. Capa basal y superficial con abundante material de color rojo. Capa intermedia apenas sin él. Núcleos de color verde.

CASO N° 22. Prep. n° 1994. A.P.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano algo adelgazado pero de estructura normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Capa basal muy engrosada de color azul verdoso.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBRK. Tíñe los nucleos de una delgada capa de células basales. La capa superficial de color rojo homogeneo, es decir tíñe tanto el nucleo como el citoplasma.

CASO N° 23. Prep. N° 2113. M.de la C.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con discreta hiperqueratosis.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial muy engrosada, teñida de color rojo homogeneo + + +. Capa intermedia disminuida de espesor glucógeno +. Capa basal normal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo ho

mogeneo.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe los nucleos de las células de la capa superficial, que se halla engrosada, de color rojo.

CASO N° 24. Prep. n° 2215. E.O.D.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano morfológicamente normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno + † de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules casi exclusivamente. Existen glándulas endocervicales con abundante sustancia azul violeta, situada en los epitelios y en las luces.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tine de rojo los nucleos de las células de la capa basal. La capa superficial está teñida de color rojo homogéneo.

CASO N° 25. Prep. n° 2251. A.M. del K.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano atrofico con intenso infiltrado in

flamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo +. Capa intermedia glucógeno + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color a rojo violeta. Estroma con haces azules casi exclusivamente.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tine ligeramente de rojo los núcleos de las células de la capa basal.

CASO Nº 26. Prep. nº 2261. N.S.C.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano algo atrófico pero de estructura normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo + +. Capa intermedia adelgazada glucógeno +. Capa basal adelgazada de color azul. Estroma con haces azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tine los núcleos de las células de la capa basal en rojo. Las capas superficiales aparecen teñidas de forma homogénea.

CASO N° 27. Prep. n° 2262. L.N.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta hiperqueratosis y gran cantidad de vasos, procedentes del conjuntivo. Gran infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++. Capa basal engrosada en algunos puntos de color azul. Estroma con haces azules fundamentalmente.

CASO N° 28. Prep. n° 2277. S.E.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta hiperqueratosis de las capas superficiales y penetraciones vasculares dentro del epitelio.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++++. Capas basal de grosor normal y de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color azul y rojo en igual proporción.

CASO N° 29. Prep. n° 2292. D.H.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano de estructura normal con discreta

hiperqueratosis y gran cantidad de vasos con papilas que penetran en su espesor.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++. Capa basal de grosor normal y de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules.

CASO Nº 30. Prep. nº 2320. J.L.R.

HEMATOCILINA EOSINA. Epitelio plano algo adelgazado pero normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Capa basal de color azul. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma en el que predominan los haces azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tíñe débilmente los núcleos de las células de la capa basal. La capa superficial está teñida de color rojo homogéneo.

CASO Nº 31. Prep. nº 2466. J.S.D.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis pero de estruc

turano normal.

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de espesor normal glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de espesor normal y de color azul. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules y rojos en igual proporción.

**REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.** Tiñe de forma casi exclusiva la capa superficial con mayor intensidad que normalmente.

**CASO N° 32.** Prep. n° 2497. V.S. de la C.

**HEMATOXILINA EOSINA.** Epitelio plano normal con discreta paraqueratosis

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial engrosada de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++. Capa basal de color azul. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo y azul en igual proporción.

**CASO N° 33.** Prep. n° 2501. M°.I.G.

**HEMATOXILIAN EOSINA.** Epitelio plano muy engrosado con paraqueratosis y gran cantidad de papilas con vasos que penetran en su espesor.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal aumentada de espesor de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta.

CASO NW 34. Prep. nº 2513. M\*.M.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta.

CASO Nº 35. Prep. nº 2658. M.de la H.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con tendencia a la hiperqueratosis.

AZUL ALCIAN PAS. Capas superficiales de color rojo homogéneo ++. Capas intermedias glucógeno ++. Capa basal formada por una ó dos hileras de células. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tíne casi exclusivamente los nucleos de

las células de la capa basal y en la capa superficial tiñe de forma homogénea núcleo y citoplasma.

CASO Nº 36. Prep. nº.2744. J.N.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy adelgazado pero normalmente es estructurado constituido por tres ó cuatro hileras de células; dá la sensación de que las capas superficiales están desprendidas. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capas superficiales no existen. Capas intermedias glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta.

CASO Nº 37. Prep. nº 2823. M.U.del T.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con tendencia a la hiperqueratosis y estructura normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial engrosada de color rojo homogéneo ++ Capa intermedia glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos. En torno a lo

vasos se observan también haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe la capa superficial engrosada muy intensamente. En la capa basal los núcleos están teñidos en rojo.

CASO N° 38. Prep. n° 2827. C.F.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano de estructura normal con hiperqueratosis y gran cantidad de papilas conjuntivas con vasos en el espesor del epitelio llegando casi hasta la superficie. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capas intermedia disminuida de espesor glucógeno +. Capas superficiales aumentadas de espesor, de color rojo homogéneo + +. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO N° 39. Prep. n°. 2999.M°.J.A.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo + +. Capa intermedia glucógeno + + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente la capa superficial y menos los nucleos de las células de la capa basal.

CASO N° 40. Prep. n° 3058.C.delB. del B.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado. Gran neoformación vascular.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucogénea ++ de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe los nucleos de las células de la capa basal de forma discreta.

CASO N° 41. Prep. n° 3156. F.S.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy atrófico constituido casi exclusivamente por unas hileras de células de capa basal. Hay zonas en que el espesor del epitelio es normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo +. Capa intermedia glucógeno + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO N° 42. Prep. n° 3177. A.D.N.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con gran neoformación vascular. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal discretamente aumentada. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe la capa superficial mucho más intensamente que todo lo demás. En la capa basal se tiñen los núcleos.

CASO N° 43. Prep. n° 3229. P.E.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con gran

cantidad de vasos en su espesor. El epitelio en conjunto está adelgazado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo y azul.

CASO N° 44. Prep. n° 3235. F.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con gran cantidad de vasos en su espesor.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO N° 45. Prep. n° 3761. G.R.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano adelgazado a expensas de la capa superficial intermedia pero morfológicamente normal como corresponde a la edad de la paciente. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del

estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia adelgazada glucógeno + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO Nº 46. Prep. nº 3829. C.P.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO Nº 47. Prep. nº 3843. O.M.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta hiperqueratosis. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con pred

minio de los haces rojos.

CASO N° 48. Prep. n° 3939. P.G.E.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta paraqueratosis. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal discretamente engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces azules.

CASO N° 49. Prep. n° 3955. L.S.E.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normal muy adelgazado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno casi negativo muy adelgazada. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO N° 50. Prep. n° 4120. V.A.I.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis y gran cantidad de vasos en el tejido conjuntivo en el que hay intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia adelgazada glucógeno + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

CASO N° 51. Prep. n° 4143. A.S.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma, y gran neoformación vascular.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo +. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso discretamente engrosada. Estroma con haces azules.

CASO N° 52. Prep. n° 4277. B.G.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo + +. Capa intermedia glucógeno + + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules,

CASO N° 53. Prep. n° 4319. P.I.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano adelgazado en algunos puntos pero de estructura normal con gran cantidad de vasos en su espesor. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo + +. Capa intermedia glucógeno + + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

CASO N° 54. Prep. n° 4337b. T.G.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis y ligeramente adelgazado con vasos en su espesor. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo + +. Capa in

termedia ligeramente disminuida glucógeno +. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos

CASO N° 55. Prep. n° 4420. D.J.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta hiperqueratosis pero de estructura normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo + +. Capa intermedia glucógeno + + de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

CASO N° 56. Prep. n° 4428. V.O.O.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano algo adelgazado pero de estructura normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo + +. Capa intermedia adelgazada glucógeno casi negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules y rojos en igual proporción.

CASO N° 57. Prep. n° 4429. T.G.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy adelgazado faltando en algunas zonas. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma  
AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo + +. Capa intermedia glucógeno negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

CASO N° 58. Prep. n° 4469. J.M.M.

HEMATOXILINA EOSINAS Epitelio plano de estructura normal pero con muchos vasos en su espesor, Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo + +. Capa intermedia glucógeno + + de color rojo granular. Capa basal de color verde azulado. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

CASO N° 59. Prep. n° 4535. M°.R.G.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano adelgazado en su totalidad pero con gran hiperqueratosis.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules y rojos en igual proporción.

CASO Nº 60. Prep. nº 4536. E.T. del H.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano adelgazado con gran cantidad de vasos en su espesor pero por lo demás de estructura normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo ++. Capa intermedia glucógeno ++, de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces de color rojo.

CASO Nº 61. Prep. nº 4555. L.Q.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis de las capas

superficiales y en algunos puntos gran cantidad de vasos. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules.

CASO Nº 62. Prep. nº 4564. A.L.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con paraqueratosis y en algunos puntos adelgazado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia adelgazada glucógeno + de color rojo granular. Capa basal de color rojo violeta. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules.

CASO Nº 63. Prep. nº 4654. M. S. T. M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis y gran cantidad

de hemorragias y vasos en el espesor.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules y rojos en igual proporción.

CASO Nº 64. Prep. nº 4657. G.R.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy adelgazado; en algunos puntos perdida del mismo y en otros hiperqueratosis y vasos en el espesor del epitelio. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogneo ++. Capa intermedia glucógeno + algo disminuida de espesor. Capa basal engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 65. Prep. nº 4783. M.S.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano muy adelgazado; en algunos puntos

está muy vascularizado y reducido a dos ó tres capas. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo +. Capa intermedia inexistente. Capa basal adegazada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

CASO N° 66. Prep. n° 4784. L.F.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado con vasos en su espesor. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo ++. Capa intermedia glucógeno ++. de color rojo granular. Capa basal de color verde azulado. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules.

CASO N° 67. Prep. n° 4788. J.L.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo ++. Capa intermedia glucógeno ++ de color rojo granular. Capa basal de color verde

de azulado. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

---

SEUDOEROSION GLANDULAR DE CUELLO

CASO N° 1. Prep. n° 479. A.P.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Material PAS ++ en los epitelios y luces glandulares.

CASO N° 2. Prep. n° 731. A.L.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con gran cantidad de material PAS + sin digerir.

CASO N° 3. Prep. n° 1131. E.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS + en los epitelios glandulares.

CASO N° 4. Prep. n° 1307. S.S.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudocerosión glandular de cuello con intenso componente inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS + en los epitelios glandulares.

CASO N° 5. Prep. n° 1308. C.C.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudocerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS + en los epitelios y en la luz glandular. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 6. Prep. n° 1427. P.D.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudocerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

REACCION DEL PAS. Material PAS + en los epitelios y en las luces gland

dulares.

CASO N° 7. Prep. n° 1447. V.L.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS + no digestible. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 8. Prep. n° 1463. L.D.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS +.

CASO N° 9. Prep. n° 1626. A.B.T.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS +. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 10. Prep. n° 1633. J.R.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Erosión glandular papilar de cuello con discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS + y estroma con haces rojos y o rosa pálidos.

CASO Nº 11. Prep. nº 1651. E.K.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello sin componente inflamatorio.

REACCION DEL PAS. Glandulas con material PAS +. Estroma con haces de color rojo y otros de color rosa pálido.

CASO Nº 12. Prep. nº 1657. F.G.D.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma. Al lado pólipo endocervical muy vascularizado.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS +.

CASO Nº 13. Prep. nº 1673. A.L.I. P.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con inten

so infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS +.

CASO Nº 14. Prep. nº 1703. E.B.J.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Glandulas con abundante material PAS +.

CASO Nº 15. Prep. nº 1927. M.F.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello .

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de material de color azul violeta en los epitelios glandulares. Abundantes células cebadas. Estroma con haces de color azul y algunos rojos,

CASO Nº 16. Prep. nº 1981. F.C.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de material azul violeta. Estroma con haces rojos predominantemente y algunos de color azul.

CASO Nº 17. Prep. nº 2009. D.F.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de material azul violeta.

Estroma con haces rojos predominantemente y algunos de color azul.

CASO N° 18. Prep. n° 2075. G.P.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandular con sustancia azul violeta en los epitelios

Estroma con haces azules y rojos, en igual proporción.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los epitelios glandulares.

CASO N° 19. Prep. n° 2155. J.M.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con discreta infiltración inflamatoria crónica inespecifica del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con sustancia azul violeta en los epitelios y en las luces glandulares. Estroma con predominio de los haces rojos sobre los azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe muy intensamente los núcleos celu

lares de los epitelios glandulares.

CASO N° 20. Prep. n° 2291. F.R.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular papilar de cuello con discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con sustancia azul violeta en los epitelios glandulares. Estroma con gran vascularización y haces de color rojo.

CASO N° 21. Prep. n° 2585. A.M.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con sustancia azul violeta en los epitelios y en las luces glandulares. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 22. Prep. n° 2822. M.G.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta. Estroma con haces azules y rojos. En torno a los vasos haces rojos fundamentalmente.

CASO N° 23. Prep. n° 2939. C.B. de J.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma, y gran vascularización.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material azul violeta. Estroma con haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSENBEK. Tiñe los núcleos celulares de los epitelios glandulares.

CASO N° 24. Prep. n° 2945. E.C.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con abundante material de color azul violeta. Estroma con haces de color azul.

CASO N° 25. Prep. n° 2949. E.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma y gran vascularización.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con mucho material de color azul violeta.  
Estroma con haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tine débilmente los núcleos de las células de los epitelios glandulares y de las células plasmáticas.

CASO Nº 26. Prep. nº 2995. M.G.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con mucho material de color azul violeta.  
Estroma con haces rojos y gran cantidad de vasos con halo rojizo.

CASO Nº 27. Prep. nº 3039. M.S.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar con intensa vascularización.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de material de color azul violeta en los epitelios glandulares. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 28. Prep. nº 3079. C.C.D.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de materia azul violeta, en los epitelios glandulares. Estroma con haces azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSFNBEK. Abundantes células plasmáticas que se tinen intensamente con éste proceder.

CASO N° 29. Prep. n° 3137. M.S.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma, y gran neoformación vascular. En algunas glandulas hay zonas de metaplasia indirecta.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción. En las zonas de metaplasia aparecen alternando zonas de color rojo con otras de azul violeta.

CASO N° 30. Prep. n° 3138. E.S.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta. Estroma

con haces azules y rojos.

CASO N° 31. Prep. n° 3618. I.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Tejido conjuntivo con algunas formaciones glandulares e intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta en los epitelios glandulares.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe los núcleos de las numerosas células plasmáticas que existen.

CASO N° 32. Prep. n° 3662. A.H.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico el estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta. Estroma con haces azules y rojos en igual proporción.

CASO N° 33. Prep. n° 4006. V.S.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular papilar de cuello con so-

nas de metaplasia.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de material de color azul violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. En las zonas metaplasicas los núcleos celulares parecen intensamente teñidos.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. En las glandulas metaplasicas aparecen los núcleos de color verde intenso con abundantes mitosis, y material de color rojo en los citoplasmas.

CASO N° 34. Prep. n° 4210, T.S.G.

HEMATOXILINA EOSIAN. Seudoerosión glandular papilar de cuello.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Los núcleos celulares aparecen intensamente teñidos así como tambien las células plasmáticas.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Abundante material de color rojo en las capas superficiales y basal y núcleos teñidos de color verde.

CASO Nº 35. Prep. nº 4537. R.M.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL DE CIAN PAS. Glandulas con abundante material de color azul violeta. Estroma con haces de color azul y rojo.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Los núcleos celulares del epitelio glandular aparecen intensamente teñidos.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Aparecen en las glandulas endocervicales material rojo en ambos polos celulares. Limitando las glandulas aparece una sustancia en forma de membrana rojiza semejante a la basal y los núcleos intensamente teñidos de color verde. En el infiltrado inflamatorio se tiñen las células plasmáticas con el protoplasma de color rojo y el nucleos de color verde.

CASO Nº 36. Prep. nº 4658. S.M.N.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con gran cantidad de material de color azul violeta.

CASO N° 37. Prep. n° 4850. V.R.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma, y gran neoformación vascular.

AZUL ALCIAN PAS. Glandulas con material de color azul violeta.

---

EPIDERMIZACION

CASO N° 1. Prep. n° 464. T.T.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudocerosión glandular de cuello con escasa cantidad de epitelio plano normalmente estructurado. En el estroma intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno + + +. Membrana basal banda roja y continua.

CASO N° 2. Prep. n° 537. M°.T.A.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudocerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada. En algunos puntos paraqueratosis. El límite entre el epitelio plano y el conjuntivo aparece ligeramente ondulado. No existen importantes atipias. Discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno

++ , situado en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 3. Prep. n° 604. A.C.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada. Epitelio plano discretamente adelgazado con límite ligeramente ondulado sin atipias, con leucocitos en su espesor. Estroma con intenso infiltrado inflamatorio fundamentalmente células plasmáticas y linfocitos.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++, situado fundamentalmente en el polo basal de la célula. Estroma con haces rojos.

CASO N° 4. Prep. n° 670. S.M.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Paraqueratosis con discretas hiperactividad de la capa basal y papilas penetrando en el tejido conjuntivo que en algunos puntos siguen la topografía glandular. No hay importantes atipias. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial + +. Capa intermedia con glucógeno + +, en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja estrecha y continua.

CASO N° 5. Prep. n° 744. D.M.H.

HEMATOXILINA EOSINA. En algunas zonas el epitelio plano está adelgazado a expensas fundamentalmente de la capa intermedia ya que las superficiales aparecen discretamente engrosadas con paraqueratosis, y la basal es de espesor normal. Existen papilas de tejido conjuntivo que penetran casi hasta la superficie. Estroma con infiltración de células redondas e intensa vascularización. Junto a este puede observarse una extensa epidermisación.

REACCION DEL PAS. Capa superficial + +. Capa intermedia adelgazada con glucógeno casi negativo. Membrana basal banda roja estrecha y continua. En las zonas de epidermisación: Capa superficial + +. Capa intermedia con glucógeno + +. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

**CASO N° 6. Prep. n° 1097. C.S.A.**

**HEMATOXILINA EOSINA.** Seudoerosión glandular de cuello. Escasa cantidad de epitelio plano normalmente estructurado, prosoplasia. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

**REACCION DEL PAS.** Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno +++ Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos. Glandulas abundante material PAS +.

**CASO N° 7. Prep. n° 1107. A.R.A.**

**HEMATOXILINA EOSINA.** Pólipo endocervical con gran cantidad de glandulas endocervicales. Extensa epidermización. El epitelio plano penetra en el espesor del conjuntivo a gran profundidad pero siguiendo la topografía glandular. Hay coexistencia del epitelio plano y del cilindrico. Mucositas atípicas. Gran infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

**REACCION DEL PAS.** Capa superficial +. Capa intermedia con glucógeno +. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Glandulas con abundante material PAS +

CASO Nº 8. Prep. nº 1190. M.A.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano adelgazado en algunos puntos; en otros de espesor normal. Discreta hiperactividad de la capa basal que en algunas zonas presenta pequeñas penetraciones en el conjuntivo y en las glándulas. Se observa una glándula dilatada levemente con su luz casi rellena de epitelio plano coexistente con epitelio cilíndrico; en el corte no se observa continuidad del epitelio plano de esta glándula y el de superficie; podría tratarse de una prosoplasia aunque no puede descartarse la posibilidad de su procedencia por continuidad. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial + + +. Capa intermedia con glucógeno + + +, situado en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo y rosa pálido.

CASO Nº 9. Prep. nº 1253. C.M. M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado. En algunas zonas penetra en las glándulas. Pseudoerosión glandular papilar par

cialmente epidermizada con gran componente inflamatorio del estroma.  
REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos. Glandulas con abundante material PAS + en los epitelios y en las luces

CASO N° 10. Prep. n° 1518. R.M.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma. Al lado existe una franja de epitelio totalmente normal.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. El epitelio de regeneración joven apenas contiene glucógeno.

CASO N° 11. Prep. n° 1520. M.L.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular parcialmente epidermizada con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma. Epitelio plano sin atypias.

REACCION DEL PAS. Capa superficial +. Capa intermedia con glucógeno casi negativo, en el epitelio de regeneración joven. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rosapálidos en gran cantidad. Glandulas con abundantes material PAS + en los epitelios y en las luces.

CASO N° 12. Prep. n° 1625. A.P.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión de cuello parcialmente epidermisada. Epitelio plano muy adelgazado aunque de estructura normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial +. Capa intermedia glucógeno +. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos. Glandulas con abundante material PAS +.

CASO N° 13. Prep. n° 1627. T.G.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermisada con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma. Epitelio plano de regeneración joven en forma de extensa epi-

dermización.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno + Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos. Glandulas con abundante material PAS + en los epitelios glandulares.

CASO Nº 14. Prep. nº 1737. D.P.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada; pequeña cantidad de epitelio plano de regeneración joven. Penetraciones del epitelio plano siguiendo la topografía glandular, coexistiendo en algunos puntos ambos epitelios. No hay atipias importantes. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Membrana basal banda roja estrecha y continua.

CASO Nº 15. Prep. nº 1780. D.P.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada; pequeña cantidad de epitelio de regeneración joven. Intenso

infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno + Membrana basal banda roja estrecha y continua. Glandulas con abundante material PAS + en los epitelios glandulares.

CASO N° 16. Prep. n° 1807. I.F.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular parcialmente epidermizada con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 17. Prep. n° 1823. C.F.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Extensa epidermisación de cuello; el epitelio plano penetra por debajo de las glandulas conservandose el epitelio cilindrico en cada tu totalidad, No hay atipias importantes. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno +

Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 18. Prep. n° 1972. I.f.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Estudio total de la portio. Gran cantidad de glándulas quistificadas en su mayor parte con extensa epidermigación. No hay epitelios típicos.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homoganeo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules. Glándulas con gran cantidad de sustancia de color azul violeta en los epitelios glandulares.

CASO N° 19. Prep. n° 2380. I.G.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular papilar de cuello con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma, parcialmente epidermizada. Se trata indiscutiblemente de una metaplasia indirecta.

AZUL ALCIAN PAS. Aparece el epitelio plano de color todo él azul verde

so y en la periferia de color azul violeta intenso. Estroma con predominio de los haces rojos. Glandulas con gran cantidad de sustancia de color azul violeta.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe debilmente los núcleos de los epitelios glandulares y el núcleo de las células plasmáticas del estroma.

CASO Nº 20. Prep. nº 2496. J.A.S.

HEMATOCILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular papilar de cuello con extensa epidermización. El epitelio plano esta normalmente estructurado. Hay intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucogeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe solo una discreta zona de la capa basal y la capa superficial que presenta tendencia a la hiperqueratosis

CASO Nº 21. Prep. nº 2703. C.S.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Extensa epidermización. El epitelio plano no presenta atipias importantes, existiendo intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capas superficiales de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces rojos y azules. En medio de los nódulos de epitelio plano se observan glándulas endocervicales teñidas de color azul violeta.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe la capa superficial y las células plasmáticas.

CASO Nº 22. Prep. nº 2704. A.G.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado en una extensa zona; al lado existe una pequeña zona recubierta de epitelio cilíndrico parcialmente epidermizado, y al lado otra que corresponde a la erosión verdadera recubierta por una hilera de tejido cilíndrico sin glándulas, debajo del que aparece epitelio plano constituido por tres ó

cuatro hileras de células.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules. En la epidermización se ven nódulos epiteliales en cuyo centro hay glándulas teñidas de color azul violeta.

CASO N° 23. Prep. n° 2743. J.V.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular de cuello con extensa epidermización. Epitelio plano totalmente normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules. Gran cantidad de sustancia azul violeta, en los epitelios glandulares.

CASO N° 24. Prep. n° 2779. M.S.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis de las capas su

perforiales. En su extremo distal aparece una pseudoerosión con escasa tendencia a la reepitelización y con intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con 1 glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules. Glándulas cuyo epitelio cilíndrico es de color azul violeta.

CASO N° 25. Prep. n° 2878. T.R.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular parcialmente epidermizada; El epitelio plano muestra discreta hiperqueratosis, pero por lo demás es normal. Hay un intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces

rojos que predominan sobre los azules. Glandulas con material de color azul violeta.

**CASO N° 26. Prep. n° 2879. C.C.C.**

**HEMATOXILINA EOSINA.** Seudocerosión glandular de cuello casi totalmente epidermizada; el epitelio plano está adelgazado con hiperqueratosis. En algunas zonas hay penetración del epitelio siguiendo la topografía glandular. En el estroma vasos muy dilatados e intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico.

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial engrosada de color rojo homogneo++  
Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno++. Capa basal de color azul violeta. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

**REACCION DE FEULGEN ROSENBERG.** Tíñe con gran claridad una hilera de células basales y de la capa superficial.

**CASO N° 27. Prep. n° 2896. M.R.O.**

**HEMATOXILINA EOSINA.** Seudocerosión glandular de cuello con extensa epi

dermización. No existen importantes atipias.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul violeta. Membrana basal de color rojo azulado. Estroma con haces rojos y azules. Entre los nódulos epiteliales existen glándulas con gran cantidad de masas azul violeta.

CASO Nº 28. Prep. nº 2897. F.P.H.

HEMATOXILINA EOSINA. pseudoerosión glandular de cuello con poca tendencia a la epidermización.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos. Glándulas con abundante material de color rojo violeta.

CASO Nº 29. Prep. nº 3001. M.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. pseudoerosión glandular de cuello con extensa epidermización. El epitelio plano aunque muy adelgazado no presenta atí-

pías. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma y gran neoformación vascular.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno negativo y muy adelgazada. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 30. Prep. nº 3002. D.M.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular de cuello con extensa epidermización, sin atípías importantes.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 31. Prep. nº 3565. B.G.N.

HEMATOXILINA EOSINA. Pseudoerosión glandular de cuello con zonas de metaplasia. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del es

troma.

**AZUL ALCIAN PAS.** En las zonas metaplasicas se observa una zona teñida de color rojo y otra de color azul.

**REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.** Tiñe intensamente las abundantes células plasmáticas.

**CASO N° 32.** Prep. n° 3619. C.V.U.

**HEMATOXILINA EOSIAN.** Seudoerosión glandular con extensa epidermización. El epitelio plano muestra en algunas zonas engrosamiento de la capa basal.

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia casi desaparecida, en algunas zonas glucógeno cadi negativo. Capa basal aumentada de grosor de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces rojos y azules.

**CASO N° 33.** Prep. n° 3708. G.M.R.

**HEMATOXILINA EOSINA.** Hiperqueratosis de la capa superficial y penetraciones del epitelio plano siguiendo la topografía glandular.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

CASO Nº 34. Prep. nº 3760. R.G.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello con extensa epidermización. Tejido de regeneración joven adgazado pero de estructura normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules en igual proporción.

CASO Nº 35. Prep. nº 3882. A.P.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa in

termedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules.

REACCIONDE FEULGEN ROSSENBEK. Se observan los núcleos intensamente teñidos en la capa basal. La capa intermedia se encuentra débilmente teñida y la capa superficial intensamente, de forma homogénea.

CASO Nº 36. Prep. nº 4214. C.V.S.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano muestra penetraciones siguiendo la topografía glandular sin atipias importantes. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Se observan los núcleos intensamente teñidos en la capa basal. La capa superficial está intensamente teñida

de forma homogénea. La capa intermedia se presenta débilmente teñida.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Abundante material de color rojo en el citoplasma celular de las capas basal y superficial, cuya intensidad disminuye en la capa intermedia. Núcleos intensamente teñidos en la capa basal cuya intensidad disminuye hacia las capas superficiales.

CASO N° 37. Prep. n° 4419. C.R.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello con extensa epidermización. El epitelio plano está adelgazado pero es de estructura normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno + disminuida de espesor. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Los núcleos celulares del epitelio glandular aparecen intensamente teñidos.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Las glándulas contienen abundante

material de color rojo en el citoplasma de las células. Gran cantidad de células plasmáticas con protoplasma de color rojo y núcleos de color verde.

CASO N° 38. Prep. n° 4470. M.F.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada, presentando el epitelio plano estructura normal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con gluvogeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Las células plasmáticas del infiltrado inflamatorio se ven muy bien con el protoplasma tenido de color rojo y el núcleo de color verde. Las glándulas contienen abundante material de color rojo en el citoplasma de los epitelios glandulares.

CASO N° 39. Prep. n° 4471. P.G.L.T.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano normalmente estructurado presentan do penetraciones en algunos puntos siguiendo la topografía glandular. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

CASO Nº 40. Prep. nº 4563. R.L.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello con epitelio plano adelgazado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno casi negativo muy adelgazada. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO Nº 41. Prep. nº 4655. J.E.E.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello con pequeña cantidad de epitelio plano adelgazado habiendo en el estroma intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos. Glandulas con abundante material de color azul violeta.

CASO Nº 42. Prep. nº 4743. M.S.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello con epidermización. Epitelio plano sin atipias.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y azules.

CASO Nº 43. Prep. nº 4755. A.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epi

dermizada. Epitelio plano adelgazado.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules.

---

EPITELIO INTRANQUILLO

CASO N° 1. Prep.n° 452. B.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis del epitelio plano con leucocitos, vasos y tejido conjuntivo que penetran en su espesor. En el resto la membrana basal es ligeramente ondulada. Discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda de color rojo estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 2. Prep. n° 489. M.P.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con zonas de hiperqueratosis y discretas atípicas de la capa basal y penetraciones de conjuntivo y vasos en el espesor del epitelio. Hay escasa cantidad de conjuntivo subyacente.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda de color rojo estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 3. Prep. n° 634. G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con paraqueratosis y discreta hiperactividad de la capa basal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma. En algunos puntos penetraciones de conjuntivo y vasos en el espesor del epitelio plano.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++++. Membrana basal banda de color rojo estrecha y continua. Estroma con haces rojos.

CASO N° 4. Prep. n° 635. EnN.G.

HEMATOXILINA EOSINA. El límite entre el epitelio y el conjuntivo es ligeramente ondulado. No hay atipias de importancia. Vacuolas en las células del epitelio. Discreta inflamación crónica del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno

++ , en el polo basal de las células. Membrana basal banda roja estrecha y continua. En el estroma haces de color rojo.

CASO Nº 5. Prep. nº 655. C.B.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Paraqueratosis del epitelio plano; en algunas zonas existe discreta hiperactividad del mismo, limitada a la capa basal. Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma que en algunos puntos presenta penetraciones en el espesor del epitelio.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda de color rojo estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo.

CASO Nº 6. Prep. nº 656. M.L.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis. Papilas anchas de epitelio plano que penetran en el tejido conjuntivo, algunas de ellas siguiendo la topografía glandular. Discretas atípicas. Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial +. Capa intermedia con glucógeno++

Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo. En algunas zonas se observa muy claramente el stratum granuloso.

CASO Nº 7. Prep. nº 671. M.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta paraqueratosis sin atipias importantes. Infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma, con penetraciones de tejido conjuntivo en el espesor del epitelio conteniendo vasos.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos, en el que además se ven células plasmáticas, débilmente positivas, con la reacción del PAS.

CASO Nº 8. Prep. nº 689. C.E.T.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++, situado unas veces en el polo basal y otras en polo apical. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta paraqueratosis, de espesor normal sin atipias. En el espesor del epitelio plano se observan vasos muy dilatados procedentes de penetraciones del conjuntivo que han entrado en él. No hay inflamación. Lesión por tricomonas.

CASO Nº 9. Prep. nº 1096. R.H.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Hay gruesas papilas de epitelio plano penetrando ligeramente en el tejido conjuntivo aunque siempre guardando la continuidad con el mismo. Discreta hiperactividad de la capas basales. No hay atipias importantes. Delgadas digitaciones de tejido conjuntivo que penetran casi hasta la superficie. Intenso infiltrado inflamatorio del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno +, en el polo apical de la célula. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 10. Prep. nº 1304. A.L.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano en algunas zonas normalmente estruc

turado. En otros puntos muestra paraqueratosis e hiperactividad de la basal con discretas atipias. Estroma sin signos inflamatorios.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++, situado en el polo basal de la célula. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con material PAS + en el citoplasma de los fibrocitos.

CASO N° 11. Prep. n° 1426. J. de la V.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis de las capas superficiales con hiperactividad en algunos puntos de la capa basal y sin atipias importantes. En otros puntos el epitelio plano está ligeramente adelgazado pero es practicamente normal. Estroma sin inflamación.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos

CASO N° 12. Prep. n° 1433. V.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano de espesor normal con basal normalmente ondulada y crecimiento en superficie con hiperqueratosis. Infil

trado inflamatorio del estroma. En algunas zonas hay vasos dilatados en las capas superficiales del epitelio.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos

CASO N° 13. Prep. n° 1478. J.F.k.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio de regeneración joven sin atypias importantes, al lado de un epitelio plano discretamente hiperactivo en la capa basal. En algunas zonas del epitelio éste sigue la topografía glandular. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma

REACCION DEL PAS. En el epitelio de regeneración joven no hay glucógeno en el que tiene discreta hiperactividad de la basal: Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos.

CASO N° 14. Prep. n° 1488. G.H.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Pólipo endocervical con extensa epidermización. La capa basal muestra discreta hiperactividad. Ligera paraqueratosis en

algunos puntos.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno +.  
Membrana basal banda roja estrecha y continua. En las glandulas material  
PAS +. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 15. Prep. nº 1527. A.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discretas hiperqueratosis y penetraciones en las glandulas. No hay atipias importantes.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno +++  
Membrana basal banda roja estrecha y continua. Material PAS + en el citoplasma de los fibroцитos.

CASO Nº 16. Prep. nº 1566. A.M.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con hiperqueratosis. Basal hiperactiva. En algunos puntos penetraciones de papilas epiteliales en el espesor del conjuntivo. Discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++.

Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos

CASO N° 17. Prep. n° 1567. D.M.N.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal sin atipias importantes; hay pequeñas penetraciones papilares del epitelio plano en el conjuntivo.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++.

Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos

CASO N° 18. Prep. n° 1590. F.A.B.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano presenta anchas papilas que penetran discretamente en el tejido conjuntivo, con hiperactividad de la capa basal. Hay hiperqueratosis. No hay atipias importantes. En el espesor del epitelio plano se ven hemorragias en algunas zonas.

REACCION DEL PAS. Capa superficial +++ . Capa intermedia glucógeno +.

Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos

CASO N° 19. Prep. n° 1724. G.P.C.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano aparece en algunos puntos con

discretas atípicas. La capa basal se encuentra muy engrosada.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos del citoplasma de los fibrocitos y rosa pálidos de colágena.

CASO N° 20. Prep. n° 1732. I.P.O.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con basal hiperactiva, tendencia a la hiperqueratosis, existencia de algunas penetraciones de papilas en el conjuntivo y no existencia de importantes atípicas.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno +, muy adelgazada. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos.

CASO N° 21. Prep. n° 1791M.M.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal con penetraciones papilares en el conjuntivo e hiperqueratosis. Estroma normal. No hay atípicas importantes.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno nega

tivo. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces de color rojo y rosa pálido.

CASO Nº 22. Prep. nº 1871. I.V.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con papilas conjuntivas que penetra en su espesor llegando casi hasta la superficie acompañadas de vasos.

No hay conjuntivo subyacente.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular con glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso ligeramente engrosada. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 23. Prep. nº 1914. G.F.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal. Zonas de epitelio plano que penetran en los espacios glandulares con diferencias de madurez.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular disminuida de espesor glucógeno +. Ca

pa basal de color azul verdoso engrosada. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces de color rojo alternando con otros de color azul.

CASO N° 24. Prep. n° 2087. I.H.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con discreta hiperactividad de la basal originada por el intenso infiltrado inflamatorio.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno + disminuida de espesor. Capa basal de color azul verdoso, aumentada de espesor. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos en mayoría.

CASO N° 25. Prep. n° 2144. F.C.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la basal; en el espesor del epitelio se encuentran vasos dilatados. Estroma sin inflamación. No hay atipias importantes.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul

verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 26. Prep. n° 2150. M.N. de N.

HEMATOXILINA EOSINA. Papilas anchas que penetran en el conjuntivo. No hay importantes atípicas.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homoganeo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno + + +. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos sobre los azules.

REACCIÓN DE FEULGEN ROSSENBEK. Los núcleos de la capa basal aparecen muy intensamente teñidos. La capa superficial aparece también muy intensamente teñida de forma homogénea.

CASO N° 27. Prep. n° 2214. G.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con prolongaciones en profundidad siguiendo la topografía glandular sin atípicas importantes. Gran neoforación vascular con vasos dilatados. Intenso infiltrado inflamatorio

crónico inespecífico del estroma.

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial de color rojo homogéneo débilmente positiva ó casi negativa. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno +. Capa basal de color azul verdoso, muy engrosada. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces azules. Glándulas con sustancia azul violeta en los epitelios glandulares.

**REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.** Núcleos intensamente teñidos en la capa basal. Capa superficial intensamente teñida de forma homogénea. Los núcleos de la capa intermedia están débilmente teñidos.

**REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA.** Capa basal y superficial con abundante material de color rojo en el citoplasma celular. En la capa intermedia escasa cantidad de material de color rojo. Núcleos teñidos de color verde.

**CASO N° 28.** Prep. n° 2382. M.F.G.

**HEMATOXILINA EOSINA.** El epitelio plano de espesor normal muestra gran cantidad de vasos en su espesor que alcanzan casi hasta la superficie.

En algunas zonas pequeñas penetraciones del epitelio en el conjuntivo. No hay atípias importantes.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia inexistente. Capa basal de color azul veedoso aumentada de espesor. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 29. Prep. nº 2498. T.S.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis de las capas superficiales y en algunos puntos penetraciones papilares en el conjuntivo y en las glándulas. Sin embargo la estructura normal del epitelio está conservada. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo +. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces azules exclusivamente.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBERG. Núcleos intensamente teñidos en la capa basal. Capa superficial intensamente teñida de color rojo homogéneo.

La capa intermedia aparece débilmente teñida.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Capas basal y superficial con abundante material de color rojo en el citoplasma y núcleos de color verde. En la capa intermedia apenas hay material de color rojo.

CASO Nº 30. Prep. nº 2499. C.V.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal con penetraciones de papilas anchas en el estroma conservándose la estructura normal del tejido. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno +. Capa basal aumentada de espesor de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Capa basal con núcleos intensamente teñidos. Capa superficial intensamente teñida de color rojo homogéneo. Capa intermedia más débilmente teñida que las anteriores.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Capa basal y parte de la superficial con abundante material de color rojo en el citoplasma y núcleos de color verde. En la capa intermedia apenas hay material de color rojo.

CASO N° 31. Prep. n° 2546. D.P.O.

HEMATOXILINA EOSINA. Basal hiperactiva en algunos puntos y penetraciones del epitelio en el conjuntivo; Hiperqueratosis en otros puntos.

Discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno negativo. Capa basal aumentada de espesor de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos, y azules en igual proporción.

CASO N° 32. Prep n° 2635. P.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano muestra hiperqueratosis y formaciones papilares con discreta hiperactividad de la basal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo algo aumentada de espesor ++++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno

++ . Capa basal de color azul verdoso algo aumentada de espesor. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces rojos.

CASO N° 33. Prep. n° 2898. L.P.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal; pero solo en algunos puntos, junto a hiperqueratosis de las capas superficiales. Estroma muy vascularizado sin signos inflamatorios.

AZUL ALGIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules, fundamentalmente.

CASO N° 34. Prep. n° 2915. M°.A.G.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal; en el espesor del epitelio plano se observan gran cantidad de vasos dilatados que ocupan todo el contorno de la papila conjuntiva. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules fundamentalmente.

CASO Nº 35. Prep. nº 2936. S.C.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la basal con hiperqueratosis de las capas superficiales. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color azul violeta. Estroma con haces azules.

REACCION DE FEULGEN ROSENBEK. Tiñe la capa superficial de color rojo homogéneo. Los núcleos de la capa basal están débilmente teñidos.

CASO Nº 36. Prep. nº 2948. C.G.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la basal e hiperqueratosis de

las capas superficiales.

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial aumentada de espesor de color rojo homogéneo + + +. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno + +. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos predominantemente.

**CASO N° 37.** Prep. n° 2976. B.G.G.

**HEMATOXILINA EOSINA.** Epitelio plano con hiperqueratosis en toda su extensión. En una pequeña zona presenta papilas que penetran en profundidad en el conjuntivo con gran hiperactividad de la capa basal. En la superficie el epitelio tiene estructura normal.

**AZUL ALCIAN PAS.** Capa superficial de color rojo homogéneo + +. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno + +. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

**REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.** Tíñe los núcleos de las primeras hileras de la capa basal y homogéneamente la capa superficial.

**CASO N° 38.** Prep. n° 2996. D.H.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la basal. Gran cantidad de vasos en la periferia del epitelio; intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO Nº 39. Prep. nº 3103. B.E.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Anchas papilas de epitelio plano penetran en el espesor del conjuntivo. Existe discreta hiperactividad de la capa basal y paraqueratosis; por lo demás el epitelio está normalmente estructurado. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo + + +. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno +, ligeramente disminuida de espesor. Capa basal de color azul verdoso ligeramente aumentada de espesor. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos de forma exclusiva observándose también muchas células plasmáticas.

CASO N° 40. Prep. n° 3668. L.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis. Discreta hiperactividad de la capa basal y gran neoformación vascular, en el estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso, engrosada. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tíñe de forma casi exclusiva la capa superficial engrosada. Los núcleos de la capa basal están débilmente teñidos.

CASO N° 41. Prep. n° 3701. J.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis con papilas que penetran en el conyuntivo. Hiperactividad de la basal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal ligeramente engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con predominio de los haces azules.

CASO N° 42. Prep. n° 3807. I.H.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Gran hiperqueratosis con gran cantidad de vasos en el espesor del epitelio que está normalmente estructurado. Hay penetraciones de dicho epitelio en el conjuntivo.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucogénico ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules fundamentalmente.

CASO N° 43. Prep. n° 3940. M.R.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con penetraciones papilares en el conjuntivo. No hay importantes atipias. Hiperactividad de la capa basal. Estroma normal. Al lado del epitelio plano hay gran cantidad de epitelio cilíndrico de estructura normal.

AZUL ALCIAN PAS. Epitelio plano con glucógeno en las capas intermedias ++. En la superficie del epitelio se observan mucopolisacáridos ácidos con las mismas características tintoriales de la mucina del endocervix.

Parece tratarse de tejido metaplasico.

CASO N° 44. Prep. n° 3942. A.G.L.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano que muestra estructura normal presenta en su interior gran cantidad de hemorragias y vasos. En algunos puntos gran hiperactividad de la basal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo + +. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno + +. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules

CASO N° 45. Prep. n° 4007. J.S.U.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperactividad de la capa basal y gran engrosamiento de la capa superficial. Hiperqueratosis. Metaplasia en varias glándulas; hay intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo + +. Capa intermedia de color rojo casi inexistente el glucógeno es negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Es

troma con haces azules.

CASO N° 46. Prep. n° 4427. M.D.A

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis y penetraciones de papilas del epitelio plano en el conjuntivo. Hiperactividad de la capa basal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++, que está adelgazada en algunos puntos. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

CASO N° 47. Prep. n° 4463. J.C.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis y discreta hiperactividad de la capa basal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo.

CASO N° 48. Prep. n° 4505. P.V.C.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano presenta papilas que penetran en el espesor del conjuntivo con hiperactividad de la capa basal y algunas atipias. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal aumentada de espesor de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules fundamentalmente y algunos rojos.

CASO Nº 49. Prep. nº 5454. J.F.J.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis e hiperactividad de la basal. Penetraciones epiteliales papilares en el conjuntivo. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogeneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal engrosada de color azul verdoso. Estroma con haces azules solamente.

CASO Nº 50. Prep. nº 4629. M.J.D.

HEMATOXILINA EOSINA. Gran cantidad de vasos en el espesor del epitelio. En el estroma intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules

CASO Nº 51. Prep. nº 4639. I.C.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Pólipo endocervical. Gran cantidad de vasos en el epitelio. Penetraciones del epitelio en el conjuntivo. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo +++ . Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta.

CASO Nº 52, Prep. nº 4806. D.F.L.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis e hiperactividad de la capa basal y penetraciones del epitelio en el conjuntivo. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno ++. Capa basal engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces azules y rojos en igual proporción.

---

EPITELIO MUY ATIPICO NO CARCINOMATOSO

CASO N° 1. Prep. n° 777. F.G.J.

HEMATOXILINA EOSINA. Seudoerosión glandular de cuello parcialmente epidermizada. El epitelio plano es muy inmaduro en todo su espesor; en algunas zonas muestra importantes atipias: mitosis en las capas superficiales. En el estroma hay intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálido.

CASO N° 2. Prep. n° 803. J.R.E.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano engrosado con gran cantidad de papilas que penetran en el conjuntivo. Las capas basales muestran abundantes mitosis algunas de ellas atípicas. Las capas intermedias y superfi-

ciales estan normalmente estructuradas con discreta paraqueratosis. Estroma con discreto infiltrado inflamatorio crónico inespecifico.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno +, solo en algunas zonas. Membrana basal banda de color rojo estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálido.

CASO N° 3. Prep. n° 1441. M.A.R.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano aparece engrosado en algunos puntos con paraqueratosis y penetraciones de papilas conjuntivas con vasos que llegan hasta las capas superficiales. Hiperactividad de la basal. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecifico del estroma.

REACCION DEL PAS. Capa superficial engrosada +++ . Capa intermedia glucógeno +, bastante disminuida de espesor. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Estroma con haces rojos y rosa pálidos.

CASO N° 4. Prep. n° 1476. D.V.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Al lado de un epitelio plano con discreta hiperactividad de la membrana basal, existe una zona con grandes atípicas; en

todo el espesor de la citada zona con atípias existen células muy inmaduras. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma localizado casi exclusivamente en la zona de las atípias.

REACCION DEL PAS. Capa superficial ++. Capa intermedia con glucógeno +++, salvo en la zona atípica en donde no existe. Membrana basal banda roja estrecha y continua.

CASO N° 5. Prep. n° 1535. C.E.M.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano aparece en algunas zonas con hiperactividad de la capa basal, con papilas que penetran en profundidad siguiendo la topografía glandular, discreta hiperqueratosis, no hay atípias importantes. Al lado existe un epitelio plano con atípias muy importantes y con diferencias llamativas de madurez en las diversas células. Gran polimorfismo celular y penetraciones en profundidad que siguen la topografía glandular.

REACCION DEL PAS. En todo el epitelio: Capa superficial ++. Capa intermedia glucógeno ++. Membrana basal banda roja estrecha y continua. Es

troma con haces rojos y azules.

CASO N° 6. Prep. n° 1883. R.I.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Existen penetraciones de epitelio plano en el con-  
juntivo con gran hiperactividad de la basal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa in-  
termedia de color rojo granular con glucógeno + + +. Capa basal de co-  
lor azul verdoso engrosada. Membrana basal de color rojo violeta. Estro-  
ma con predominio casi absoluto de los haces de color azul.

CASO N° 7. Prep. n° 2637. M.L.S.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con gran actividad de la basal en  
toda su extensión. En una pequeña zona se observan importantes atipias.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa in-  
termedia glucógeno negativo. Capa basal engrosada de color azul verdoso  
Membrana basal banda de color rojo violeta. Estroma con haces rojos y  
azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Gran engrosamiento de la capa superfici-

al, tenida de color rojo homogéneo. Los núcleos de la capa basal están intensamente tenidos.

CASO Nº 8. Prep. nº 2947. M.T.L.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con penetraciones en el espesor del conjuntivo, con basal hiperactiva y paraqueratosis, Anaplasia celular con importantes atipias. Existe muy pequeña cantidad de epitelio plano para emitir juicio definitivo. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSENBEK. Tiñe casi exclusivamente dos ó tres hileras de núcleos celulares de la capa basal y una delgada y homogénea línea de la capa superficial.

CASO Nº 9. Prep. nº 3742. L.C.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Hiperqueratosis en algunos puntos. Gran hiperactividad de la capa basal con importantes atipias. Estroma normal.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia muy adelgazada en algunas zonas; glucógeno negativo. Capa basal muy engrosada de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta.

CASO Nº 10. prep. nº 3808.C.O.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Gran hiperactividad de la capa basal con penetraciones en el conjuntivo e importantes atipias. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia en las zonas más atípicas glucógeno negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces rojos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tíne de forma casi exclusiva dos ó tres hileras de núcleos celulares de la capa basal y una delgada y homogénea línea de la capa superficial.

CASO Nº 11. Prep. nº 4244. F. de la U.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Penetraciones del epitelio plano siguiendo la topografía glandular con importantes atipias y mitosis. La cantidad de epitelio es escasa para emitir juicio definitivo.

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia glucógeno negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo.

CASO Nº 12. Prep. nº 4492. M.H.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Penetraciones del epitelio plano en el conjuntivo con gran hiperactividad de la basal; grandes atipias (anaplasia).

AZUL ALCIAN PAS. Capa superficial de color rojo homogéneo ++. Capa intermedia de color rojo granular glucógeno débilmente positivo ó casi negativo. Capa basal de color azul verdoso. Membrana basal de color rojo violeta. Estroma con haces de color rojo.

---

CARCINOMA "IN SITU"

CASO N° 1. prep. n° 489. J.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Alteraciones en la diferenciación del epitelio de forma que existen zonas que recuerdan muy de cerca los caracteres de las células basales, es decir, unas muy inmaduras y otras con tendencia incluso a la formación de globos corneos; grandes atipias celulares. Penetración de las papilas epiteliales en el conjuntivo siguiendo la topografía glandular. En algunas zonas se observa la coexistencia del epitelio plano con el cilíndrico. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. En la zona carcinomatosa existe material PAS positivo

CASO N° 2. Prep. n° 1246a. I.E.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Estudio realizado sobre la pieza operatoria. Exactamente en el límite entre el epitelio plano y el cilíndrico existe un

carcinoma en superficie, inmaduro; en profundidad se observa un islote de epitelio plano que parece estar relleno de una glándula ya que en sus inmediaciones se ven glándulas normales. En pleno conducto endocervical se observa una cubierta delgada de células de epitelio plano muy inmaduras con las mismas características del señalado carcinoma "in situ".

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO N° 3. Prep. n° 1306. G.S.M.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio plano ha perdido su estructura normal, presentando importantes atípicas en todo el espesor con mitosis aunque no muy abundantes en las capas superficiales. Existen penetraciones en el espesor del conjuntivo pero siguiendo siempre la topografía glandular. Carcinoma "in situ" inmaduro.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO N° 4. Prep. n° 1321. E.R.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Al lado de un epitelio plano casi normal aunque al

go adelgazado existe un carcinoma intraepitelial. La mayoría de las células son inmaduras, sin embargo aparecen grupos celulares muy diferenciados en algunos puntos. La mayoría de los nódulos carcinomatosos se encuentran situados en íntimo contacto con las glándulas.

REACCION DEL PAS. Abundante material PAS positivo en los nódulos carcinomatosos que se digiere con la diastasa, demostrando que no es glucógeno. Los nódulos carcinomatosos están rodeados de una banda roja semejante a la membrana basal del epitelio plano normal.

CASO N° 5. Prep. n° 1458. M.V.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Al lado de un epitelio plano normalmente estructurado existe una zona que muestra penetraciones en el tejido conjuntivo con importantes atipias. Existe además intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. En el epitelio carcinomatoso no existe material PAS positivo.

CASO N° 6. Prep. n° 1522. M.N.C.

**HEMATOXILINA EOSINA.** Solo se observa epitelio plano sin apenas estroma subyacente. Existen importantes atipias. Hay zonas con células muy inmaduras y al lado otras totalmente maduras.

**REACCION DEL PAS.** En el epitelio carcinomatoso no existe material PAS positivo.

**CASO Nº 7.** Prep. nº 1594. M.V.D.

**HEMATOXILINA EOSINA.** Epitelio plano inmaduro en todo su espesor con mitosis en las capas superficiales, solo en algunos puntos, e importantes atipias.

**REACCION DEL PAS.** En el epitelio carcinomatoso no existe material PAS positivo.

**CASO Nº 8.** Prep. nº 3000. T.A.P.

**HEMATOXILINA EOSINA.** Carcinoma "in situ".

**AZUL ALCIAN PAS.** En el epitelio carcinomatoso no existe glucógeno.

**REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.** Aparecen intensamente teñidos los núcleos de las células de los nódulos carcinomatosos evidenciando su rico con-

tenido en DNA y la existencia de abundantes mitosis.

CASO N° 9. Prep. n° 3703. S.T.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma "in situ".

AZUL ALCIAN PAS. En el epitelio carcinomatoso no existe glucógeno.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Los núcleos de las células carcinomatosas destacan ligeramente sobre el resto y no se aprecian abundantes mitosis.

CASO N° 10. Prep. n° 4504. A.G.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma "in situ".

AZUL ALCIAN PAS. El epitelio carcinomatoso no contiene material PAS positivo.

CASO N° 11. Prep. n° 1133. M.P.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma "in situ".

AZUL ALCIAN PAS. El epitelio carcinomatoso no contiene material PAS positivo.

---

MICROCARCINOMA

CASO N° 1. Prep. n° 1185. P.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelioma de transición. En algunas zonas la basal está rota y existe penetración en el tejido conjuntivo. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma, fundamentalmente células plasmáticas y leucocitos.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso no contiene material PAS positivo.

CASO N° 2. Prep. n° 1508. C.G.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelio plano con pérdida de la estructura normal diferencias de madurez de las células. Penetraciones del epitelio plano siguiendo la topografía glandular, aunque en algunas zonas hay invasión incipiente. Intenso infiltrado inflamatorio crónico inespecífico del estroma.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO N° 3. Prep. n° 1960. A.D.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Microcarcinoma.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

---

CARCINOMA INVASIVO

CASO N° 1. Prep. n° 484. M.A.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano inmaduro e invasivo.

En el estroma abundantes células plasmáticas y leucocitos.

REACCION DEL PAS. Glucógeno negativo.

CASO N° 2. Prep. n° 486. L.G.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, con crecimiento invasivo.

REACCION DEL PAS. Glucógeno + en algunas zonas. Estroma con abundantes células plasmáticas y linfocitos.

CASO N° 3. Prep. n° 669. M.C.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, con crecimiento invasivo. Todo el material está constituido por cordones epiteliales y muy poco estroma.

REACCION DEL PAS. Glucógeno + +.

CASO Nº 4. Prep. nº 729. P.E.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano inmaduro con crecimiento invasivo. Conjuntivo muy escaso ya que la mayoría del material está constituido por cordones epiteliales y muy poco estroma.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO Nº 5. Prep. nº 1082. M.M.<sup>m</sup>

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, que en algunos puntos presenta tendencia a la formación de globos corneos.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO Nº 6. Prep. nº 1188. F.M.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, con crecimiento invasivo. Poca cantidad de conjuntivo. Los islotes de epitelio plano aparecen rodeados casi en su totalidad por una membrana roja muy fina.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO Nº 7. Prep. nº 1191. J.B.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano inmaduro con crecimiento invasivo.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO Nº 8. Prep. nº 1454. A.V.P.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano muy inmaduro con crecimiento invasivo.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo. En el estroma gran cantidad células plasmáticas predominando sobre los fibrocitos.

CASO Nº 9. Prep. nº 1502. A.F.Ü.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano inmaduro con crecimiento invasivo. Los nódulos carcinomatosos ocupan casi toda la preparación sin existir apenas estroma.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS negativo.

CASO Nº 10. Prep. nº 1659. R.R.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano con crecimiento invasivo, de mediana grado de madurez.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS<sup>S</sup> negativo.

CASO N° 11. Prep. n° 1702. H.P.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano inmaduro, con crecimiento invasivo.

REACCION DEL PAS. Glucógeno negativo.

CASO N° 12. Prep. n° 1787. A.G.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano con crecimiento invasivo, con anomalías en la diferenciación desde la madurez absoluta incluso con tendencia a la formación de globos corneos hasta la total inmadurez con invasión. Abundancia de fibrocitos.

REACCION DEL PAS. Glucógeno negativo.

CASO N° 13. Prep. n° 1868. R.R.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma basocelular posiblemente metaplasico; hay crecimiento invasivo.

REACCION DEL PAS. Glucógeno negativo. Mucopolisacaridos ácidos abundantes.

CASO Nº 14. Prep. nº 1985. P.G.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez con crecimiento invasivo. Estroma con predominio de células plasmáticas sobre los fibrocitos.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno casi negativo. En torno a los nódulos epiteliales hay grandes masas de color azul. En algunas zonas solamente, los nódulos carcinomatosos aparecen rodeados de una banda roja.

CASO Nº 15. Prep. nº 2008. G.M.R.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, con crecimiento invasivo. Estroma con predominio de fibrocitos sobre células plasmáticas.

AZUL LACIAN PAS. Glucógeno positivo. Rodado a los cordones epiteliales hay bandas de color azul verdoso.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe débilmente los núcleos de los cordo

nes carcinomatosos; se ven abundantes mitosis.

CASO N° 16. Prep. n° 2013. I.C.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, con crecimiento invasivo y con escasa cantidad de estroma.

REACCION DEL PAS. El epitelio carcinomatoso es PAS positivo. Rodeando las masas epiteliales aparecen bandas de color rojo.

CASO N° 17. Prep. n° 2089. P.G.J.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano con crecimiento invasivo, de mediano grado de madurez. Abundantes fibrocitos y células plasmáticas.

AZUL ALCIAN PAS. Escasa cantidad de glucógeno. Rodeando los nódulos epiteliales hay una delgada banda de color rojo violeta.

CASO N° 18. Prep. n° 2133. G.S.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez, con crecimiento invasivo. Estroma con gran cantidad de vasos muy dilatados.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno positivo. Rodeando a los nódulos epiteliales existen haces de color azul verdoso.

CASO N° 19. Prep. n° 2286. G.S.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez y con crecimiento invasivo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno positivo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observan haces azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBK. Tíñe no muy intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos. Se ven abundantes mitosis atípicas.

CASO N° 20. Prep. n° 2479. P.M.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez con crecimiento invasivo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observa una membrana muy fina de color rojo.

CASO N° 21. Prep. n° 2615. A.C.O.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma basocelular con crecimiento invasivo

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observan abundantísimos haces de mucopolisacaridos ácidos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos. Se ven unas siete mitosis por campo.

CASO N° 22. Prep. n°2660. I.C.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma metaplasico espinoelular con crecimiento invasivo en un pólipo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos.

CASO N° 23. Prep. n° 2663. I.P.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma basocelular con crecimiento invasivo h y buena reacción defensiva del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observan haces rojos y azules.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los cor

dones carcinomatosos.

CASO N° 24. Prep. n° 2742. C.S.G.

HEMATOXILIANA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez con crecimiento invasivo. Estroma con linfocitos y células plasmáticas.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observa una banda de color rojo.

CASO N° 25. Prep. n° 2828. C.S.R.

HEMATOXILIANA EOSINA. Epitelioma basocelular con crecimiento invasivo. Predominio casi absoluto de los fibroblastos.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observa una banda rojiza aunque en algunas zonas existen haces azul verdosos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBERG. Tiñe intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos. No hay abundantes atipias ni mitosis.

CASO N° 26. Prep. n° 2913. J.Z.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelioma basocelular con crecimiento invasivo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando a los nódulos epiteliales se observa una banda rojiza.

CASO Nº 27. Prep. nº 2916. C.S.R.

HEMATOXILINA EOSINA. El epitelio de superficie aparece morfológicamente e histoquímicamente normal. En profundidad se aprecian nódulos carcinomatosos de mediano grado de madurez. Carcinoma metaplasico.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo, y grandes masas de mucopolisacáridos ácidos en torno a los nódulos.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos. Se observan mitosis atípicas.

CASO Nº 28. Prep. nº 2982. M.G.B.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelioma basocelular con crecimiento invasivo e intensa vascularización en algunos de cuyos vasos existen células carcinomatosas.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo.

REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA. Se observan los nucleos todos muy intensamente tenidos de color verde junto a escasa cantidad de sustancia de color rojo en el citoplasma celular.

CASO N° 29. Prep. n° 3384. M.I.A.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano invasivo espinocelular.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno + +.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Se observan los núcleos intensamente tenidos de color verde existiendo a la vez gran cantidad de sustancia de color rojo en el citoplasma celular. Hay abundantes mitosis.

CASO N° 30. Prep. n° 3553. G.S.V.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelioma basocelular con crecimiento invasivo.

Células tumorales en los vasos. Hay muchas células plasmáticas.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo. Rodeando los cordones epiteliales hay una membrana de color rojo.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos. Atípicas no muy numerosas.

REACCION DEL VERDE METILO PIRONINA. Los núcleos de las células que forman los nódulos carcinomatosos están intensamente teñidos de color verde. Escasa cantidad de sustancia de color rojo en el citoplasma de las células. Se observan una gran cantidad de mitosis.

CASO N° 31. Prep. n° 3588. D.L.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma basocelular con gran cantidad de mitosis, no se puede especificar si hay ó no invasión por la ausencia ó escasez del estroma.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno +.

REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK. Tiñe muy intensamente los núcleos de los cordones carcinomatosos y se destacan muy bien las abundantes mitosis.

CASO N° 32. Prep. n° 3830. L.M.M.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma basocelular con crecimiento invasivo al lado de epitelio morfológicamente e histoquímicamente normal.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno +.

CASO N° 33. Prep. n° 4076. +.D.C.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano de mediano grado de madurez.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo.

CASO N° 34. Prep. n° 4254. R.R.F.

HEMATOXILINA EOSINA. Carcinoma de epitelio plano con crecimiento invasivo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno negativo.

CASO N° 35. Prep. n° 4358. M.B.S.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelioma de transición con crecimiento invasivo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno +.

CASO N° 36. Prep. n° 4793. C.C.H.

HEMATOXILINA EOSINA. Epitelioma basocelular con crecimiento invasivo.

AZUL ALCIAN PAS. Glucógeno +.

---

CAPITULO 4º

RESULTADOS

EPITELIO PLANO NORMALA) REACCION DEL PAS.

En la capa basal aparecen dos ó tres hileras de células que reaccionan negativamente al proceder del PAS. Al ascender en superficie los citoplasmas celulares se tiñen de color rojo. A gran aumento se observa que dicha zona roja está constituida por un punteado rojo que se sitúa de preferencia en el polo basal de la célula.

Esta disposición sin embargo no es constante, en ocasiones ocupa el polo apical de las células y otras veces se observa en la mitad derecha ó izquierda de las mismas. Cualquiera que sea la disposición que adopte es siempre la misma para todas las células del epitelio. Este hecho parece apoyar la opinión de aquellos autores que defienden que la polaridad del glucógeno señalada es arteificio de fijación. El glucógeno se encontraría en la célula

en forma coloidal y distribuido uniformemente por todo el citoplasma. Los líquidos utilizados para la fijación del tejido se precipitarían en forma de granulos que serían desplazados hacia un polo u otro en el momento de la fijación.

El material PAS positivo contenido en la capa intermedia desaparece con la digestión de la saliva ó con la diastasa de Lillie (106), es decir, se trata de glucógeno.

En la capa superficial la sustancia PAS positiva es resistente a la digestión con la diastasa, se trata pues de un mucopolisacárido. Es la zona que Botella y Negales (17), denominaron zona de mucificación superficial, y que según Runge y Ebner (167) estaría constituida por glucógeno unido a una proteína adquiriendo así resistencia a la digestión. Otros, afirman que la sustancia intercelular a que luego haremos mención impediría la acción de la diastasa.

Entre las capas basales sin teñir y el extremo aparece una línea delgada y muy aparente teñida de rojo. En el extremo se observan con frecuencia

material PAS positivo en forma de haces.

**B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.**

La capa basal aparece teñida de un color azul verdoso. En la zona para basal y más intensamente en la capa intermedia existe glucógeno teñido en forma de granulos de color rojo purpura. La capa superficial aparece teñida de un color rojo intenso sin estructura y resistente a la diastasa.

El epitelio está separado del tejido conjuntivo subyacente por una línea de color rojo violeta, constituida por un mucopolisacarido con cambios cíclicos.

En el estroma se observan haces teñidos de color rosa pálido de colágeno y fibras reticulares de color rojo ó azul según su grado de madurez. La sustancia fundamental aparece teñida de color azul rojo homogéneo.

Los fibrocitos contienen algunas veces granulos rojos y las mastocitos ó células cebadas de Erlich aparecen teñidas de color azul.

En el epitelio atrófico de la menopausia la capa intermedia portadora de glucógeno se halla disminuida ó totalmente desaparecida.

**C) REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.**

Como ya hemos dicho en el capítulo de material y métodos esta reacción tiñe de forma selectiva el DNA localizado en el núcleo. Todo el epitelio aparece débilmente teñido de color rojo pálido. Destacan dos ó tres hileras de la capa basal que aparecen con una tonalidad más roja que el resto del epitelio.

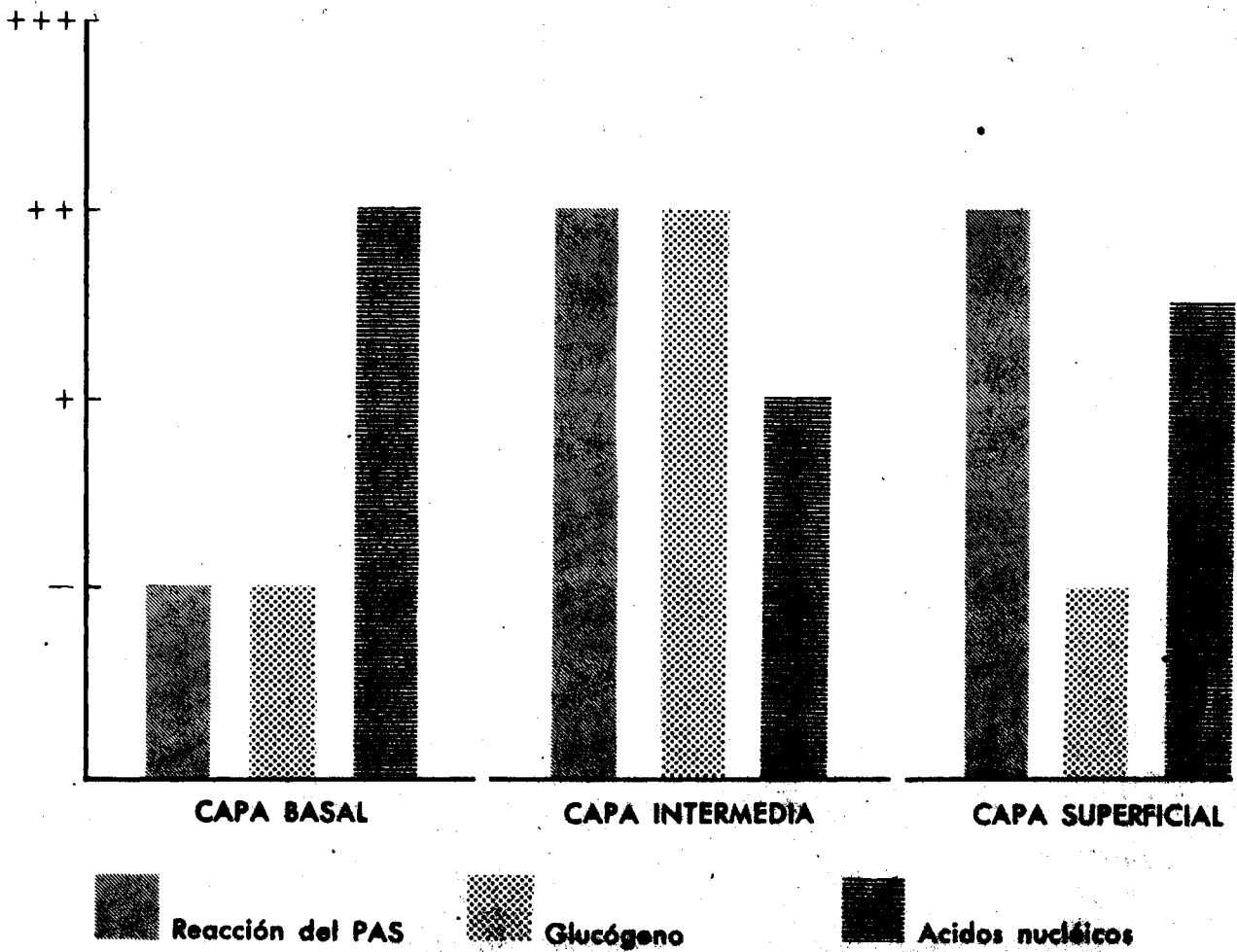
La capa intermedia está siempre teñida muy débilmente. La capa superficial aparece unas veces del mismo aspecto que la intermedia, y otras sin embargo ó aparece como una banda ancha homogénea sin estructura de color rojo vivo. Esta zona suele existir en casos de hiperqueratosis.

En el estroma destacan los núcleos de las células plasmáticas en casos de infiltrado inflamatorio crónico.

**D) REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.**

Los núcleos de todo el espesor del epitelio aparecen teñidos de color verde. La intensidad de la reacción varía en las distintas capas del epitelio. Intensamente positiva en la capa basal; más débil en la capa intermedia.

### EPITELIO PLANO NORMAL



SEUDOEROSION GLANDULAR PAPILAR

A) REACCION DEL PAS.

Existe gran cantidad de material PAS positivo localizado tanto en los epitelios como en las luces de las glandulas. Dicho material es resistente a la digestión con la diastasa; no se trata por tanto de glucógeno.

B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.

Con éste método el epitelio endocervical normal presenta un aspecto característico. En los epitelios glandulares y en las luces de las glandulas aparece abundante material de color azul violeta, que como ya hemos dicho se identifica como mucopolisacáridos ácidos. La coloración que toma el epitelio glandular endocervical con éste método es tan característica que nos presta una ayuda eficaz para diferenciar las formaciones glandulares del cuello, así como tambien para basar el diagnostico de la metaplasia del epitelio plano.

Separando al epitelio cilíndrico del estroma se observa una banda de color rojo violeta que constituye la membrana basal.

En las infiltraciones inflamatorias tan frecuentes en la pseudoerosión, los leucocitos contienen con frecuencia gránulos de color azul violeta.

**C) REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.**

Con ésta reacción se demuestra que los núcleos de los epitelios glandulares, así como también los del epitelio de superficie contienen abundante DNA.

Las células plasmáticas típicas de la inflamación crónica tan frecuente en la pseudoerosión contienen así mismo en un porcentaje absoluto de sus núcleos elevada cantidad de DNA.

**D) REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.**

Los núcleos de los epitelios glandulares aparecen teñidos de color verde, es decir, tienen abundante DNA. Los citoplasmas contienen abundante material de color rojizo identificable con el RNA.

### EPIDERMIZACION

#### A) REACCION DEL PAS.

En la epidermización el contenido en glucógeno del epitelio plane se encuentra en razón directa de su grado de madurez. Cuanto más maduro, más glucógeno contiene. A lo largo de nuestro trabajo hemos repetido ya en varias ocasiones que el PAS tiñe en color rojo el glucógeno, los mucopolisacáridos ácidos y los mucopolisacáridos neutros, no pudiéndose distinguir por tanto con este método estas sustancias, lo que supone una gran ventaja de otros métodos sobre éste en el estudio de la epidermización ó II estadio de curación de Robert Meyer. En este sentido la combinación del azul alcian PAS es muy superior.

#### B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.

Hemos afirmado ya que los mucopolisacáridos ácidos se tiñen de color azul violeta y el glucógeno de color rojo intenso. Podemos así con esta méto

do, diferenciar con bastante seguridad el epitelio plano que procedente de los bordes desplaza al epitelio cilíndrico, de la metaplasia indirecta, de la formación de epitelio plano a expensas de las células de reemplazo.

En el primer caso el epitelio muestra unas hileras celulares próximas a la membrana basal teñidas de color azul verdoso, una zona más ó menos ancha según la edad del epitelio que contiene abundantes granos de color rojo intenso identificables con glucógeno; y otra zona habitualmente delgada teñida de color rojo homogéneo (capa de mucificación superficial de Botella y Nogales (17), ó demoglucógeno de Ebner y Runge (167)); el epitelio metaplasico se observa teñido de color azul violeta claro por su elevado contenido en mucopolisacáridos ácidos.

C) REACCION DE PEULGEN ROSSENBEK.

Los resultados obtenidos en estos casos son semejantes a los del epitelio plano normal. Los núcleos de la capa basal son intensamente positivos; los de la capa intermedia están más débilmente teñidos. La capa superficial aparece teñida de color rojo homogéneo.

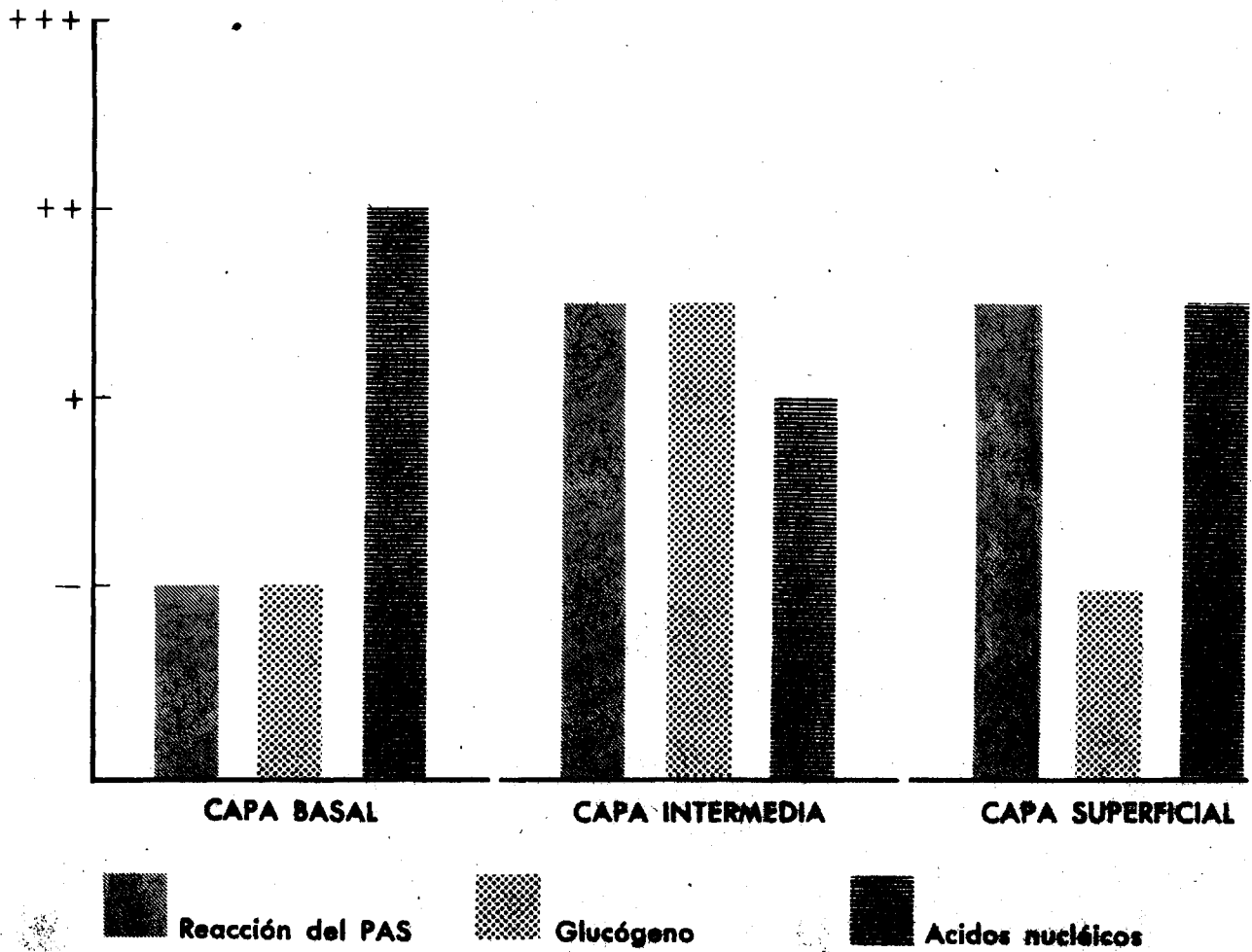
**D) REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.**

Los nucleos aparecen teñidos en verde, con diferente intensidad. Los de la capa basal aparecen más intensamente teñidos que los de la capa intermedia. Los citoplasmas contienen una sustancia de color rojo que es más abundante en la capa basal que en la intermedia.

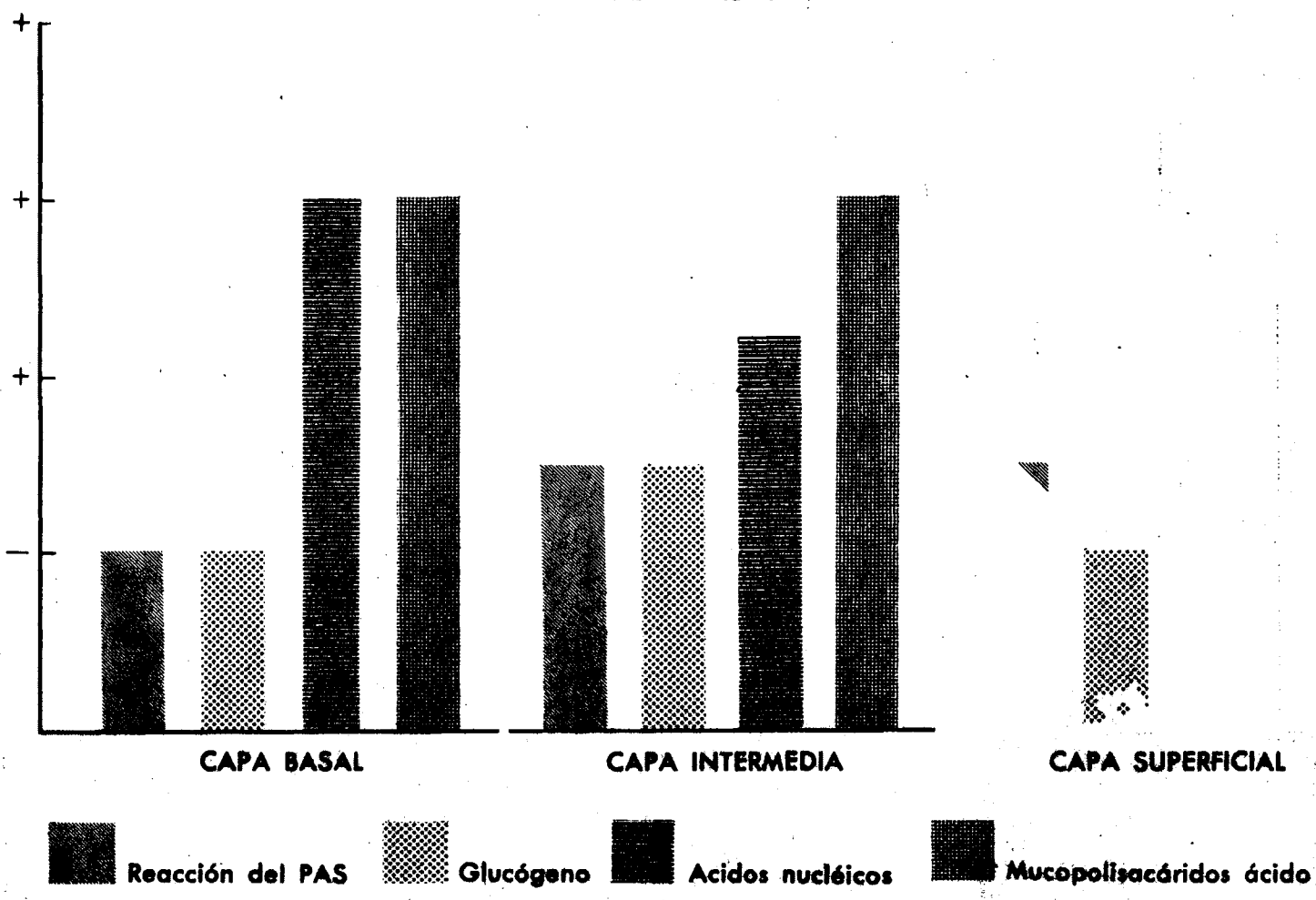
La capa superficial aparece igual que con el proceder de Feulgen, teñida de color rojo homogéneo.

---

### EPIDERMIZACION



# METAPLASIA



EPITELIO INTRANQUILOA) REACCION DEL PAS.

En un porcentaje elevado de casos el epitelio intranquilo reacciona con éste proceder de forma semejante al epitelio normal: la capa basal no contiene material PAS positivo; en la capa parabasal comienza el depósito del mismo que se hace más intenso en la capa intermedia. En éstas zonas aparece en forma de gránulos con una polaridad definida, que la digestión por la diastasa hace desaparecer, por lo que se identifica como glucógeno.

La capa superficial contiene material PAS resistente a la digestión, tratándose pues de mucopolisacáridos en el sentir de la mayoría de los autores, si bien Runge y Ebner (167) afirman que es glucógeno unido a una proteína. Con frecuencia estos epitelios tienen engrosada la zona que normalmente reacciona de forma negativa a la reacción del PAS. La capa superficial casi siempre tiene un grosor normal, aunque en ocasiones se halla engrosada.

El engrosamiento de la capa basal por tanto se hace a expensas de la ca

pa intermedia.

**B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.**

Con éste proceder se observan las mismas características que las señaladas anteriormente para la reacción del PAS. La membrana basal que aparece teñida de color rojo violeta destacándose claramente de las zonas limítrofes ha dejado de ser rectilínea ó ligeramente ondulada. Se aprecian una serie de papilas epiteliales que penetran en el espesor del tejido conjuntivo ó siguiendo las espacios glandulares.

En el espesor del epitelio plano existen igualmente con frecuencia penetraciones de tejido conjuntivo con vasos. En el corte se observa una imagen muy típica: en pleno epitelio escamoso se ven pequeñas zonas redondeadas limitadas por la membrana basal de color rojo violeta que contienen tejido conjuntivo y vasos.

A veces los vasos enormemente dilatados ocupan todo el espesor de la papila conjuntiva. Estas formaciones que en ocasiones pueden alcanzar la capa superficial, son siempre de origen inflamatorio.

**C) REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.**

Con cierta frecuencia se observan con éste proceder una banda roja continua más ó menos ancha que ocupa la zona superficial del epitelio plano.

La capa intermedia aparece muy débilmente teñida. La capa basal a veces engrosada, se tinte más intensamente, lo que significa que su contenido en DNA es superior al de la capa basal ó la intermedia. Como hemos dicho ya al en los métodos, éste test, tiene valor cuantitativo.

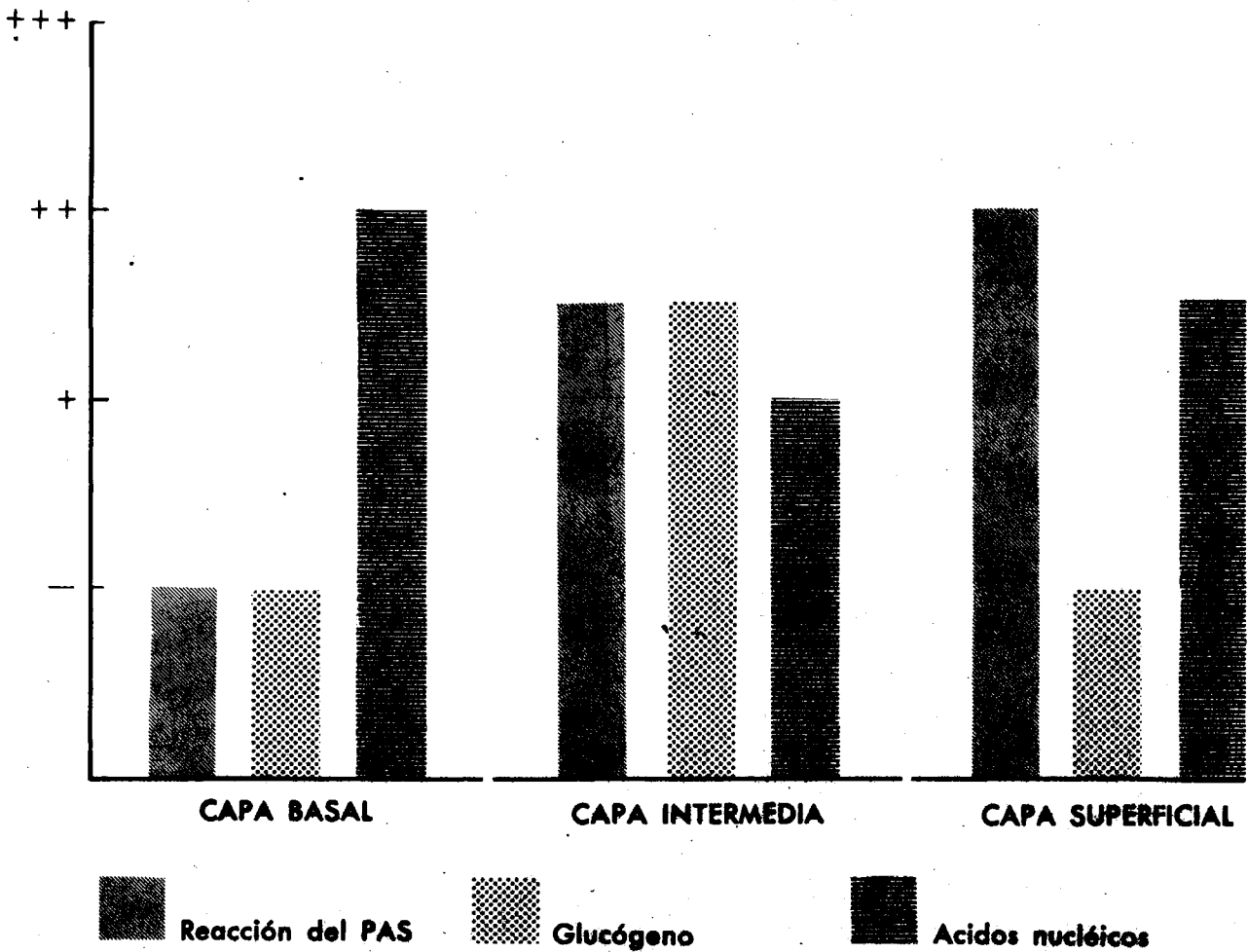
**D) REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.**

Los núcleos de la capa basal están teñidos en verde y de forma más intensa que en la capa intermedia. El citoplasma contiene material de color rojo en mayor cantidad, igualmente en la capa basal que en la intermedia. La capa superficial aparece teñida de color rojo homogéneo.

Las diferencias existentes con el epitelio plano normal son cuestión de grado.

---

### EPITELIO PLANO INTRANQUILO



EPITELIO MUY ATIPICO NO CARCINOMATOSO

Hemos incluido en éste grupo una serie de epitelios con importantes atípicas que sin embargo no pueden ser catalogados como epitelios carcinomatosos. Todas ésta mujeres se encuentran en la actualidad bajo control. Corresponden a las rubricas III y IV a, b, c, de Hiselmann no carcinomatosas, al epitelio sospechoso de Meyer Treite y Limburg.

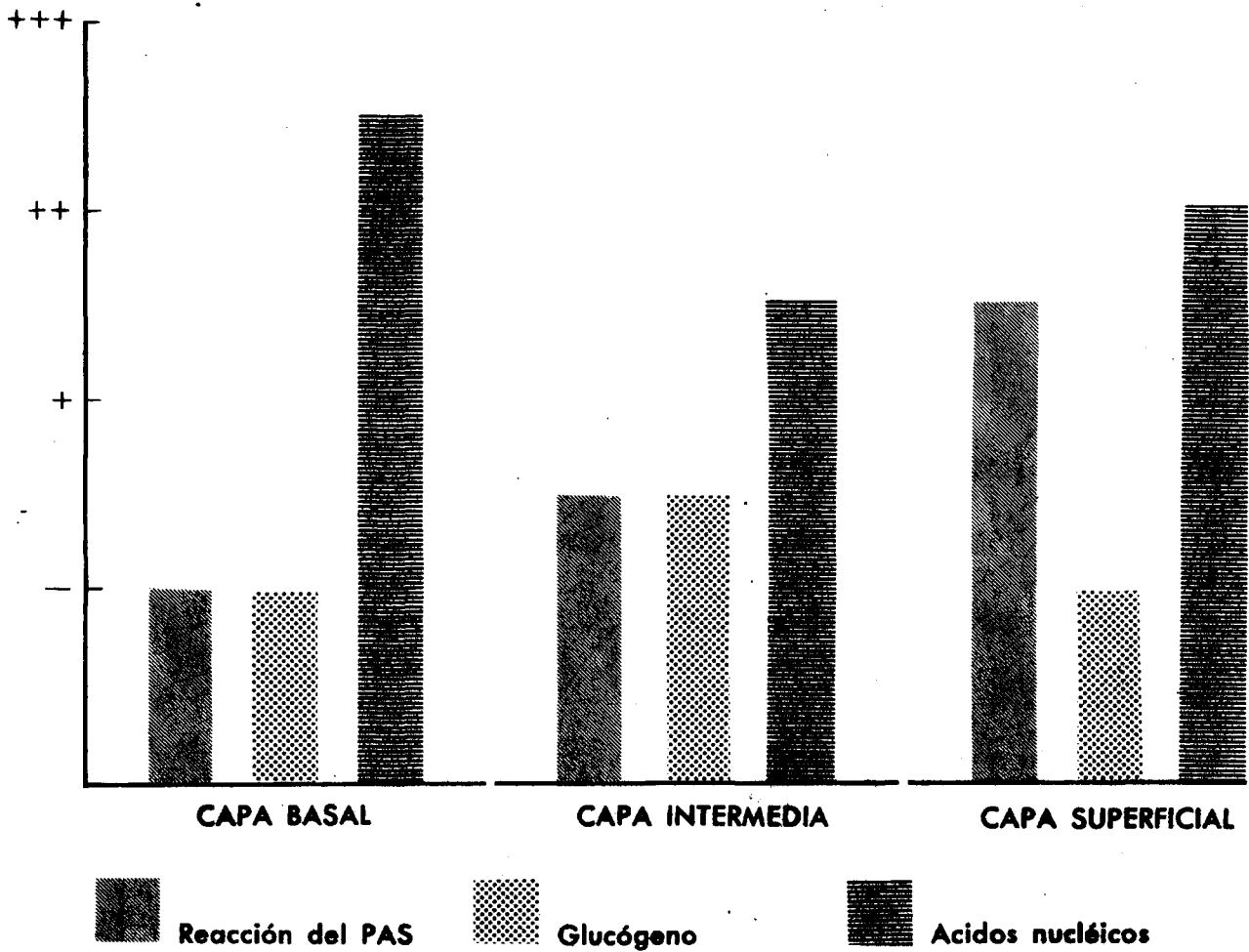
A) REACCION DEL PAS.

Se demuestra que en estos epitelios existen de forma casi constante una disminución a la reacción del PAS. El material pas positivo se halla localizado en la capa superficial de forma constante; por el contrario la capa intermedia se tiñe en general muy débilmente. La digestión con la diastasa demuestra que existe escasa cantidad de glucógeno. La membrana basal se tiñe normalmente se bien muestra casi constantemente un perfil ondulado.

B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.

Como con el proceder del PAS, la capa superficial teñida de color rojo

### EPITELIO MUY ATIPICO NO CARCINOMATOSO



homogeneo, es de espesor normal, siendo por el contrario la cantidad de glucógeno existente en general pequeña.

La capa basal rica en nucleoproteidos y que aparece con éste método de color azul verdoso se encuentra aumentada de espesor.

La membrana basal y el estroma no presentan ninguna particularidad especial.

C) REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.

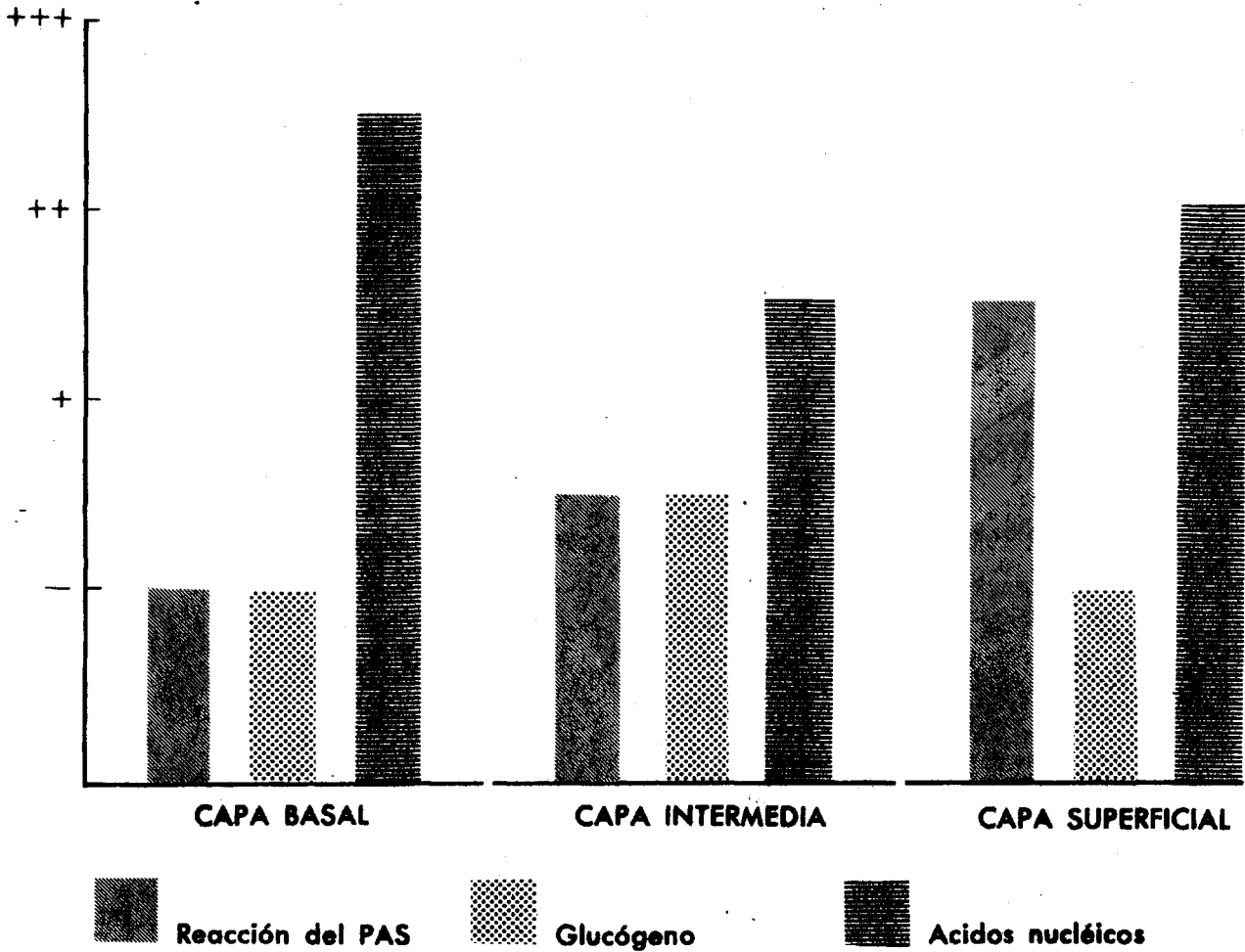
Del mismo modo que en el epitelio plano normal, los núcleos de la capa basal, aparecen más intensamente teñidos que los de la capa intermedia. Con una observación atenta se demuestra que la intensidad de la reacción es ligeramente superior a la del epitelio normal.

La capa superficial aparece igualmente teñida de color rojo homogeneo.

D) REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.

Igual que en la reacción de Feulgen, es en general más intensamente positiva que en el epitelio normal. La capa basal reacciona al igual que el epitelio normal con mayor intensidad.

**EPITELIO MUY ATIPICO NO CARCINOMATOSO**



CARCINOMA "IN SITU"A) REACCION DEL PAS.

Sólo uno de los once casos ha dado reacción del PAS intensamente positiva; en la mayoría no existía material PAS positivo en el epitelio carcinomatoso. En algunos casos existía pequeña cantidad de material PAS positivo resistente a la digestión por la diastasa.

Podemos pues concluir, que exceptuando un caso en el que existían zonas inmaduras al lado de otras muy maduras con glucógeno, en el resto no estaba presente el mencionado glúcido.

B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.

En ninguno de los casos en que se ha realizado éste método hemos encontrado glucógeno en el epitelio carcinomatoso. La membrana basal y el estroma tenían características normales.

C) REACCION DE FEULGEN ROSENBEK.

La intensidad de la reacción es superior a la del epitelio normal. Se

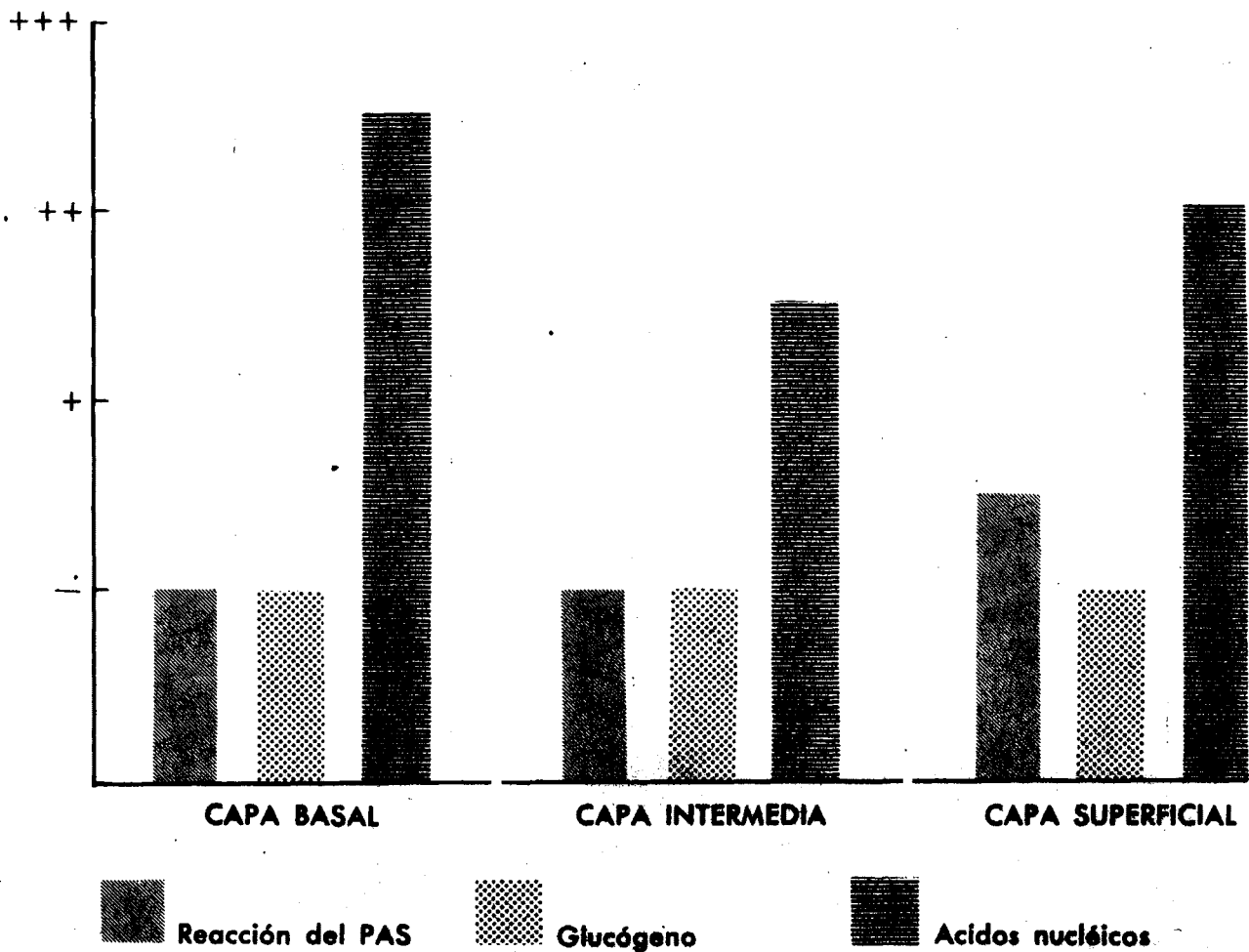
conserva la diferencia de intensidad de reacción en las distintas capas que enumeradas en orden decreciente es como sigue: A) capa basal, B) capa superficial, C) capa intermedia. Las mitosis se observan muy bien con éste método. Es frecuente la observación de mitosis atípicas (mitosis tripolares, emigración anticipada de cromosomas etc..). Hemos observado igualmente con frecuencia la existencia de mitosis en la capa superficial.

D) REACCION DE BRACHET AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.

Hemos obtenido resultados semejantes a los de la reacción de Feulgen, es decir, una mayor intensidad de la reacción con respecto al epitelio normal, conservandose la diferencia de intensidad de la reacción en las distintas capas.

---

### CARCINOMA IN SITU



### MICROCARCINOMA

El número de microcarcinomas que hemos encontrado es como puede apreciarse muy exiguo.

En ninguno de ellos el epitelio carcinomatoso contenía material PAS positivo.

#### C) REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.

La intensidad de la reacción es superior a la del epitelio normal.

Se conserva la diferencia de intensidad de reacción en las distintas capas que enumeradas en orden decreciente es como sigue: A) capa basal, B) capa superficial, C) capa intermedia. Las mitosis se observan muy bien con éste método. Es frecuente ver mitosis atípicas. Hemos observado igualmente con frecuencia mitosis en la capa superficial.

---

### CARCINOMA INVASIVO

#### A) REACCION DEL PAS.

En casi el 50% de los casos hemos observado material PAS positivo en los nódulos carcinomatosos. La digestión con la diastasa ha revelado tratarse de glucógeno.

#### B) REACCION DEL AZUL ALCIAN PAS.

En el 41,6% de los casos hemos observado la existencia de glucógeno en mayor ó menor cantidad en el epitelio carcinomatoso, viendose cierta correlación entre el grado de madurez del tumor y su contenido en dicho glúcido.

Mutaciones en el aspecto de la membrana basal son evidentes y muy interesantes; existen dos formas fundamentales: en una, los cordones carcinomatosos aparecen rodeados de una banda delgada de color rojo violeta de las mismas características de la membrana basal del epitelio plano normal, y que rodea de forma continua los nódulos epiteliales. En la segunda, los nódulos carcinomatosos, se hallan rodeados por una serie de haces de color azul vio-

leta de espesor variable y que se identifican con mucopolisacáridos ácidos, ya veremos despues como el estudio de la membrana basal puede ser de gran utilidad para conocer el grado evolutivo del tumor.

C) REACCION DE FEULGEN ROSSENBEK.

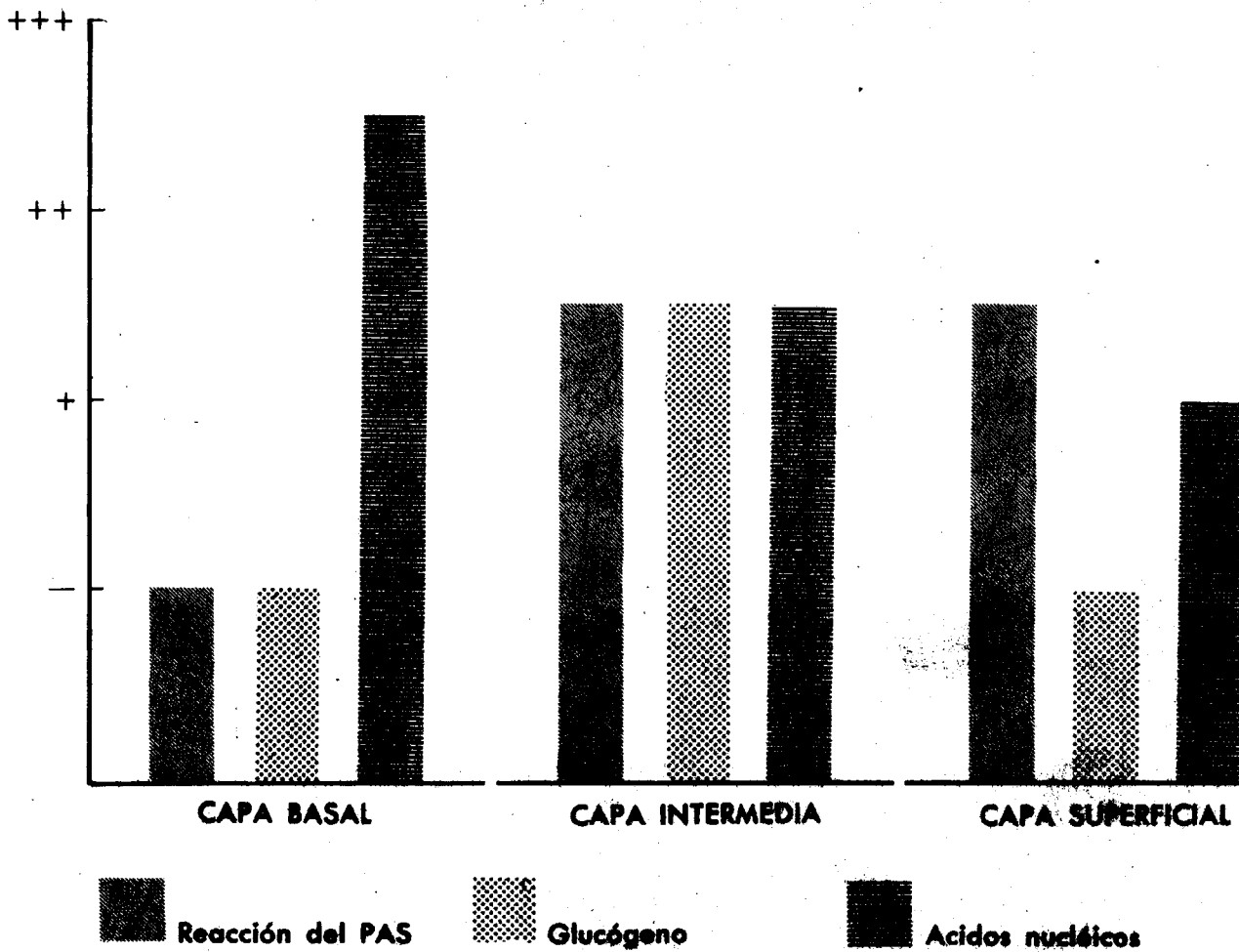
Los núcleos de las células carcinomatosas suelen tenerse más intensamente que los de las células normales por su mayor contenido en DNA. Las mitosis tanto típicas como atípicas se destacan con gran claridad. Con frecuencia hemos observado que los núcleos de los cordones carcinomatosos situados en la periferia reaccionan mucho más intensamente que los situados en el centro, de lo que parece desprenderse que el contenido en DNA es superior en la parte periférica de los nódulos que en la central.

D) REACCION DE BRACHETA AL VERDE METILO PIRONINA Y RIBONUCLEASA.

Hemos obtenido resultados semejantes a los de la reacción de Feulgen-Rossenbek. La intensidad de reacción tanto del núcleo como del citoplasma es en un número elevado de casos superior el epitelio plano normal.

---

### CARCINOMA INVASIVO



CAPITULO 5º

COMENTARIOS

Segun detallamos en los capítulos precedentes hemos hecho un estudio del contenido de la portio en glúcidos y ácidos nucleicos, estudiando particularmente la existencia de mucopolisacaridos neutros, mucopolisacaridos ácidos, glucógeno, RNA y DNA. Para el estudio de los glúcidos hemos utilizado la Reacción del PAS, con digestión con saliva y la Reacción del azul alcian PAS. Para estudiar los ácidos nucleicos se ha empleado la Reacción de Feulgen Rossebek y está tambien realizado con el mismo fin el test de Brachet al verde metilo pironina y ribonucleasa. No vamos a hablar aqui de la especificidad de la reacción para la detectación de las sustancias estudiadas, ya que en el capítulo de Material y Métodos fué suficientemente detallado, solo recordaremos que la especificidad es suficiente y que algunas de las reacciones como por ejemplo la de Feulgen Rossebek tienen valor cuantitativo.

La era anatómica y lesional adquiere gran auge al principio de nuestro siglo.

El criterio morfológico y mecanicista de la enfermedad que iniciara Virchow (194) alcanza al máximo importancia con el auge que a la anatomía patológica imprimen Rokitanski, (165) Pick (151), y Marchand (118). La Anatomía Patológica viene así a ser la principal disciplina dentro de la medicina y no se comprende el estudio de la enfermedad sino apoyándose en ésta rama del saber médico.

La Ginecología no podía sustraerse a ésta tendencia, y vemos como pronto comienza a tomar gran incremento la Anatomía Patológica Ginecológica con los estudios de Meyer (122-123), Schehröder (169), Pick (151), Novak (138) y otros.

Sin embargo la anatomía patológica con sus métodos clásicos, si bien es cierto que nos permite efectuar un estudio detallado de las estructuras morfológicas, no nos puede informar directamente del estado funcional del tejido. Es cierto que existe una correlación entre morfología y función y que conociendo con detalle la morfología podemos a veces conocer la función del tejido; pero no es menos cierto que las células que componen dicho tejido solo

tiene una posibilidad de reaccionar con un cambio de forma a estados funcionales distintos y este cambio no basta en modo alguno para caracterizar el número elevado de estados funcionales que el tejido puede adoptar.

Si queremos conocer a fondo la función tanto normal como patológica de un tejido no podemos conformarnos con un estudio morfológico del mismo. Estos conceptos fueron ya vislumbrados por Raspail (161-162-163) en (1749-1878) autor al que puede considerarse como el primer histoquímico sistemático, que estudió los componentes químicos de ciertos tejidos como medio de conocer su función. Sin embargo estos procedimientos que tratan de detectar la existencia de sustancias químicas en el tejido, es decir, la Histoquímica, no cobra auge hasta la aparición de la primera edición del libro de Lisson (110) titulada "Histochimie et cytochimie animales" (1936). Desde entonces gracias fundamentalmente a los trabajos de Gomori (74-75) de Chicago, Pearse (150) de Londres, Glick (73) de Nueva York y otros, la Histoquímica ha alcanzado gran predicamento.

La literatura aparecida en estos últimos años sobre estudios morfológi-

cos del cervix es muy abundante. A los trabajos iniciales de R. Meyer (122-123) sobre los conceptos de pseudoerosión y epidermización se suman posteriormente una enorme lista de investigadores que estudian la morfología del carcinoma "in situ", ó carcinoma intraepitelial y las atipias epiteliales de cuello no carcinomatosas, lista larga, tanto que ni siquiera pretendemos enumerar los trabajos más importantes en la inteligencia de que dejaríamos algunos en el tintero.

Desde R. Meyer (122-123) se admite que toda agresión traumática ó infecciosa del ectocervix puede originar un desprendimiento total del epitelio poliestratificado, dando lugar a una erosio vera, es decir, un estado en el que ha desaparecido por completo el epitelio de revestimiento. Este estado dura poco tiempo y es rápidamente recubierto por el epitelio endocervical que desborda sus límites habituales hacia fuera, constituyendo el I estadio de curación de R. Meyer, la pseudoerosión glandular papilar ó ectopía.

La ectopía ó pseudoerosión no tiene un caracter permanente. Cuando desaparecen las condiciones etiológicas que la motivaron, es decir, al curar la

inflamación, el epitelio plano desplazado hace retroceder al cilíndrico hasta el orificio externo y vuelve a ocupar su lugar primitivo (II estadio de curación de R. Meyer).

Según los conceptos clásicos de R. Meyer (122-123), admitidos de forma casi universal, el epitelio plano de la periferia de la ectopia envía una serie de prologaciones en forma de lengüetas que se insinúan entre la membrana basal y el epitelio cilíndrico de superficie, levantándolo y desprendiéndolo. Al llegar a las desembocaduras glandulares pueden ocurrir las siguientes eventualidades.

Unas veces, las más, el epitelio plano penetra en profundidad siguiendo los huecos glandulares, siempre entre la membrana basal y el epitelio glandular, rellenando la glándula y desprendiendo el epitelio cilíndrico que degenera y muere. A veces se observa en el centro de los nuevos epitelios retos de tejido glandular, que toma el color típico de la mucina (mucicarmin, azul alcian etc..). Pueden observarse también zonas de epitelio glandular perfectamente conservado al lado de epitelio plano. Es éste en el sentir de Limburg

(108-109), un dato importante para el diagnóstico diferencial de la epidermización y el carcinoma "in situ".

Otras veces el epitelio escamoso al llegar a la desembocadura de las glándulas no penetra en profundidad, sino que pasa por encima de ellas continuando su crecimiento en superficie. Las glándulas quedan así obstruidas. Su producto de secreción no puede ser expulsado y se originan quistes de retención llamados Huevos de Naboth.

Estas ideas no son admitidas por todos los autores, por ejemplo los que siguen las teorías de Runge (167), de que la reparación se realiza por metaplasia es decir, por transformación del epitelio del endocervix ó cilíndrico en epitelio escamoso.

La transformación directa del epitelio glandular adulto en escamoso no se admite actualmente. Se piensa que esta transformación se realiza a partir de las células de reemplazo que serían células germinativas semejantes a las que primitivamente, en los primeros meses de la vida intrauterina, recubren el conducto genital y dan lugar al epitelio glandular del endocervix, endome-

trio y endosalpinx por un lado y por otro al epitelio plano del ectocervix. Estas células con carácter polivalente, existirían debajo del epitelio de revestimiento del conducto cervical y podrían en determinadas circunstancias originar epitelio plano y glandular.

La existencia de metaplasia indirecta está hoy día totalmente demostrada. El problema que se discute es si es un proceso de excepción ó es el mecanismo habitual de curación de una pseudoerosión. Con frecuencia se observan islotes de tejido escamoso en pleno tejidos glandular sin conexión ninguna con el epitelio plano de ectocervix. Pensar que en éste caso se trata, como afirmó Meyer (122-123) , de zonas de epitelio poliestratificado que resistieron los avances del epitelio glandular, es poco convincente.

Muy interesantes son los trabajos realizados por Kauffmann y Ober (96) en Colonia, sobre los cambios morfológicos del epitelio de revestimiento del cervix en relación con la edad de las mujeres. Distinguen estos autores las siguientes posibilidades:

I) El epitelio escamoso puede ser continuación directa de la mucosa cer

vical (ESQ. 2. Ia, Ib, Ic). A su vez puede adoptar tres formas:

a) Límite entre el epitelio escamoso y la mucosa cervical situado en el orificio cervical externo. (ESQ. 2 Ia).

b) La mucosa cervical se halla situada por fuera del orificio cervical externo. (ESQ. 2 Ib).

c) El límite entre ambos epitelios está situado en el conducto endocervical. (ESQ. 2 Ic).

II) El epitelio de revestimiento de la portio está formado en una zona más ó menos amplia por epitelio escamoso y mucosa cervical (ESQ. 2 IIa, IIb, IIc). A su vez puede adoptar las siguientes formas:

a) El epitelio pavimentoso penetra en pleno conducto cervical. La mucosa cervical se extiende por debajo de él hasta el orificio cervical externo. (ESQ. 2 IIa)

b) El epitelio escamoso termina en el orificio cervical externo. La mucosa cervical se extiende por debajo de éste epitelio por fuera del orificio cervical. (ESQ. 2 IIb).

c) El epitelio escamoso penetra en pleno conducto endocervical y la mucosa cervical se extiende ampliamente por debajo del epitelio escamoso por fuera del orificio externo.

Como se ve en el esquema número 4 de la forma Ic es frecuente en las muchachas en la primera infancia es decir en la niñas, desciende en la época de la madurez sexual para volver a elevarse de nuevo en la época de la menopausia.

La forma Ib ( pseudoerosión ó ectopía) alcanza su máxima frecuencia entre los quince y veinte años para descender luego lentamente en la época de la menopausia.

La forma IIb alcanza su máximo de frecuencia entre los treinta y los treinta y cinco años descendiendo la misma antes y después de ésta edad.

La forma IIa alcanza su máxima frecuencia entre los cuarenta y cinco y los cincuenta años.

Estos autores han demostrado igualmente que la longitud del conducto endocervical es constante. De forma que como se aprecia en el esquema número 6

cuando la mucosa desciende extendiéndose hacia fuera el orificio cervical interno se halla igualmente descendido.

Otra cuestión muy debatida es la importancia de la metaplasia indirecta en la génesis del carcinoma, es decir, si el tejido metaplásico es asiento de degeneración carcinomatosa con mayor frecuencia que el epitelio plano no metaplásico y la importancia sobre todo en la génesis del carcinoma "in situ".

En los últimos años para aclarar los problemas que según acabamos de exponer tiene planteados el estudio morfológico de las atipias epiteliales del ectocervix se ha comenzado a estudiar la composición química del epitelio plano, con la esperanza de llegar a un mejor conocimiento del tejido epitelial de revestimiento del cervix tanto normal, como patológico, para ver de sacar conclusiones prácticas en orden al diagnóstico lo más precoz posible del cancer "in situ". Entre los autores que se han ocupado de estos problemas se pueden citar: Mc. Manus y Liman (126), Lajos y Bali (100) (1951-52), Botella y Nogales (17) (1956), Stoll, Ebner y Lindenschmidt (183) (1954), Kauffmann y

Ober (96), Ebner y Runge (167), Hopmann (89), Foraker (61-62-63-64), Gross, Kinsie y Chang (81) etc..

En nuestro trabajo hemos investigado algunos aspectos de la composición química del cervix uterino. Examinemos los resultados obtenidos en comparación con las investigaciones de los distintos autores, existentes al respecto.

#### ACIDOS NUCLEICOS.

Hemos utilizado para el estudio de los ácidos nucleicos la reacción de Feulgen Rossenbek y el test de Brachet.

En el epitelio normal el DNA aparece localizado exclusivamente en el núcleo. Ya expresamos con detalle en el capítulo de Material y Métodos que la reacción de Feulgen tiene valor cuantitativo, por ello hemos podido comprobar que si bien todo el espesor del epitelio contiene en sus núcleos DNA, la cantidad de éste es mucho más abundante en las dos ó tres primeras hileras de células de la capa basal. La capa intermedia es particularmente pobre en DNA. En la capa superficial se observa una zona de espesor variable unas veces en contacto con la periferia y otras en el espesor de la capa superficial

que reacciona positivamente a la reacción de Feulgen, siendo más acusada dicha zona en los casos en que existe hiperqueratosis; esta banda aparece uniformemente teñida, es decir, no reacciona solo el núcleo como sucede en el resto del epitelio, sino todo el complejo celular.

Hemos comprobado igualmente como las dos ó tres primeras hileras de células de la capa basal contienen abundante RNA en forma de gránulos situados en el citoplasma; la cantidad de RNA va disminuyendo según nos aproximamos a la superficie. En la capa intermedia la cantidad de RNA existente es escasa. En la capa superficial encontramos de nuevo una zona que reacciona positivamente al test de Brachet, de forma semejante a como ocurría con la reacción de Feulgen.

Todo crecimiento celular supone neoformación de sustancia y fundamentalmente síntesis de proteínas. Por las investigaciones efectuadas por Caspersson (33-34-35) y por Brachet (18) (1940) y otros sabemos que la síntesis de proteínas de la célula depende en forma decisiva del contenido en ácidos nucleicos. En numerosas investigaciones se ha comprobado que los tejidos que

crecen rápidamente contienen abundante ácido nucléico. No tiene así pues nada de extraño que el contenido en ácidos nucleicos sea máximo en la capa basal del epitelio plano del ectocervix. Iguales resultados han obtenido Hopmann (89), Foraker (61-62-63-64), Gross, Kinzie y Chang (81).

Lo que ya no aparece tan claro es la existencia de ácidos nucleicos en la capa superficial.

En la pseudoerosión glandular los núcleos suelen ser ricos en DNA y el citoplasma contiene con frecuencia abundantes gránulos de RNA. Las células plasmáticas que existen con frecuencia en la pseudoerosión como componente inflamatorio de la misma contienen igualmente abundante RNA en los citoplasmas y DNA en el núcleo.

En la epidermisación joven el contenido en ácidos nucleicos suele ser ligeramente superior al del epitelio normal; con frecuencia la zona de la capa basal rica en ácidos nucleicos aparece ensanchada.

En el epitelio intraquilo ó hiperactivo de Scipiades existe igualmente un engrosamiento discreto de la zona rica en DNA y en RNA. La capa intermedia

es como en el epitelio normal pobre en ácidos nucleicos y en la capa superficial encontramos igualmente una zona de espesor variable que reacciona de forma positiva a la reacción de Feulgen y al test de Brachet.

En el epitelio muy atípico no carcinomatoso el contenido en ácidos nucleicos del núcleo y del citoplasma es superior al del epitelio normal. En la capa superficial se observa igualmente la zona descrita en el epitelio normal que dá reacción positiva con los procedimientos de que tratamos.

En el carcinoma "in situ" se observa un elevado contenido de ácidos nucleicos tanto del DNA como del RNA en todo el espesor del epitelio. Mellors, Keane y Papanicolaou (120) mediante mediciones microespectrográficas comprobaron en 1952 que el contenido en ácidos nucleicos del epitelio carcinomatoso es muy superior al del epitelio normal. Stowell y Cooper (185) mediante estudios histofotométricos demostraron en 1945 que el contenido en DNA de la célula carcinomatosa es superior al de la celular normal. Taymor, Gold, Sturgis, Meigs, y Millan (188) en 1952 demostraron igualmente que el metabolismo DNA-fosforo es en el carcinoma de la portio aprximadamente el doble

que en el epitelio normal. Las mitosis se hacen muy aparentes con estos métodos siendo frecuente la observación de mitosis atípicas (mitosis tripolares emigración anticipada de cromosomas etc.), así como la existencia de mitosis en la capa superficial.

En el carcinoma invasivo los núcleos de las células carcinomatosas contienen habitualmente mayor cantidad de DNA que las células normales. Con frecuencia hemos observado que los núcleos de los cordones carcinomatosos situados en la periferia reaccionan mucho más intensamente que los localizados en el centro, de lo que parece desprenderse que el contenido en DNA es superior en la parte periférica de los nódulos que en la central, hecho observado igualmente por EBner y Runge (167) y que posiblemente pueda interpretarse suponiendo que las células centrales experimentan procesos de maduración, si bien algunos autores suponen que estos se deben al hecho de que al estar insuficientemente nutridas las células del interior de los cordones son asiento de alteraciones degenerativas que independientemente del grado de madurez se manifiestan por una fuerte disminución del contenido en ácidos nucleicos.

Caspersson y Santesson (35) (1942) fueron los primeros en señalar estas variaciones en el contenido en ácidos nucleicos clasificando las células carcinomatosas en dos tipos: Tipo A proligerante con abundante contenido y Tipo B preneocrótico con escasa cantidad y por último las formas intermedias.

#### GLUCOGENO.

Para la detectación del glucógeno hemos utilizado la reacción del PAS y la del azul alcian PAS con digestión con saliva.

En el epitelio normal existen dos ó tres hileras celulares situadas junto a la membrana basal, es decir, formando parte de la capa basal, que no contiene nunca glucógeno. Al ascender en superficie los citoplasmas celulares se cargan de glucógeno.

A gran aumento se comprueba que el glucógeno está constituido por un puntado rojo que se sitúa de preferencia en el polo basal de la célula. Esta disposición no es constante, en ocasiones, ocupa el polo apical del citoplasma y otras veces se sitúa en la mitad derecha ó izquierda de la célula pero cualquiera que sea la disposición que adopte es siempre la misma para todos

las células del epitelio. Este hecho parece apoyar la opinión de aquellos autores que defienden que la polaridad del glucógeno señalada es artificio de fijación, tales como Kuls, Afansjew (1), Barfurth (8), Fischera (57), Best (15), y otros.

El glucógeno se encuentra en la célula en forma coloidal y distribuido uniformemente por todo el protoplasma. Los líquidos utilizados para la fijación del tejido lo precipitan en forma de gránulos que serían desplazados hacia un polo u otro en el momento de la fijación. Estos resultados son concordantes con los de todos los autores que se han ocupado de la distribución del glucógeno en el epitelio normal teniendo que citar entre ellos a Mc. Namus y Linan (125) (1949), Lajos y Pali (100) (1951-52), Botella y Nogales (17) (1956), Stoll, Ebner y Lindenschmidt (183) (1954), Kauffmann y Ober (96), Ebner y Runge (167), Hopmann (89), Foraker (62-63) y Gross, Kinzie y Chang (81).

En la capa superficial hemos comprobado que la desaparición del glucógeno es un hecho cierto.

La aparición del glucógeno es un signo bioquímico de madurez celular. Las células del epitelio pavimentoso normal del ectocervix experimentan un proceso de maduración que se acompaña de una pérdida simultánea de la capacidad de crecer y dividirse. Crecimiento y maduración celular son dos situaciones metabólicas fundamentalmente diferentes que se excluyen entre sí; por ello la composición química de las células en crecimiento es distinta de las células maduras ó en vías de maduración. Las células maduras contienen como hemos visto glucógeno, las células en crecimiento como veremos después son ricas en ácidos nucleicos. La existencia de glucógeno es pues un signo evidente de la iniciación de una función específica.

En la epidermisación el contenido en glucógeno del epitelio plano se halla en razón directa del grado de madurez. Como se trata siempre de tejidos jóvenes dicho contenido no es muy abundante. Al hablar de epidermisación nos referimos al epitelio plano que procede de los bordes de una pseudocerosión va desplazando al epitelio cilíndrico. En el epitelio plano metaplasico no hemos encontrado glucógeno ó solo en casos excepcionales, lo que es un dato

de valor para distinguir el epitelio metaplasico. A las mismas conclusiones han llegado en sus investigaciones Runge, Lindenschmidt (168) y Botella (17)

En los casos clasificados como epitelio intranquilo, terminología introducida por Müller y Dellmann (131), que corresponde con el epitelio hiperactivo de Scipiadès (173), la distribución del glucógeno era en todo semejante al epitelio normal; solamente existía una pequeña discrepancia: un mayor grosor de la zona glucógeno negativa existente en la capa basal.

Dentro de los epitelios que hemos clasificado de muy atípicos y no carcinomatosos que se corresponden con las Rubricas III y IV a.b.c. no carcinomatosas de Hinselmann, y con el epitelio sospechoso de Meyer, Treite y Limburg (121), encontramos que la zona glucógeno negativa se halla muy disminuida, tanto en espesor como en cantidad. Es decir, que la cantidad de glucógeno existente en el espesor del epitelio es muy pequeña ó no existe en absoluto. Cuando hemos observado glucógeno, éste aparece localizado en una delgada banda situada en la capa intermedia.

Hemos hablado de cantidad de glucógeno existente en el epitelio y tene

mos que formularnos en éste momento la siguiente objeción: ¿Permite el estudio histoquímico realizado con los procedimientos usados por nosotros, estimar al menos de una manera aproximada la cantidad de glucógeno realmente existente? Ya hemos hablado de éste asunto en el capítulo de Material y Métodos diganos ahora solamente que las conclusiones obtenidas por los diversos autores no son concordantes.

Comparando las preparaciones histológicas con el resultado de dosajes químicos, Barciller y Cajin (7), estiman que los métodos histoquímicos citados permiten la valoración correcta de la cantidad de l glucógeno existente. Grafflin, Marble, y Schmith (79), afirman que permiten solo evaluaciones muy aproximadas y Eger (51), por el contrario les niega todo valor cuantitativo. Lisson (110) despues de un minucioso estudio concluye que con los métodos citados es posible solamente una evaluación aproximada, mientras que para estudios más exactos es necesario recurrir a la histofotometria. De igual manera opinan Deane, Nesbeth, y Hasting (42).

En los casos estudiados de carcinoma "in situ" solo en una de los once

por nosotros estudiados encontramos glucógeno. Se trataba de un carcinoma intraepitelial en el que existían al lado de zonas totalmente inmaduras otras de gran madurez que contenían glucógeno. Resultados semejantes han obtenido Botella y Nogales (17), Ebner y Runge (167), Stoll, Ebner y Lindenschmidt (183), Kauffmann y Ober (96) y otros. Recientemente Mangano ha encontrado en cambio, en un número elevado de casos de carcinoma "in situ" la presencia de glucógeno.

En el carcinoma invasivo encontramos en un número elevado de casos (50% con la reacción del PAS y 46% con la del azul alcian PAS) glucógeno, habiendo cierta correlación entre el grado de madurez del tumor y su contenido en dicho glúcido. Obata (139) (1913), Oki (144) (1927), y Meyer (125) (1930) demostraron que el carcinoma de la portio puede contener glucógeno en algunos casos.

Runge y Ebner (167), examinando con la reacción del PAS un número apreciable de carcinomas de epitelio plano de diferente grado de madurez y en los que investigaron la presencia de glucógeno y otros polisacáridos llega-

ron a los siguientes resultados:

Los carcinomas clasificados morfológicamente como inmaduros contienen en un 50% de los casos material PAS positivo. En apariencia se trata fundamentalmente de sustancia del tejido conjuntivo descompuesta que adopta la forma de gránulos de tamaño apreciable extra ó intra celular. El glucógeno en cambio solo puede observarse en las células carcinomatosas con metabolismo disminuido, por consiguiente en células que morfológica e histoquímicamente presentan signos de una degeneración incipiente.

Los carcinomas medianamente maduros contiene en un 98% de los casos material PAS positivo. Se presenta con una localización y distribución semejante a la del epitelio pavimentoso normal, localización intracelular característica del carcinoma de mediano grado de madurez cuyos puentes intercelulares se observan con toda claridad mediante la reacción del azul de mercuribromo fenol (Ebner (50) (1953b)).

En los carcinomas maduros el glucógeno no puede ser encontrado con la misma regularidad. La sustancia de los globos corneos es generalmente PAS ne-

gativa. Solamente en la cornificación periglobular se encuentra una intensa reacción del PAS resistente a la diastasa, parecida a la que se comprueba en la zona superficial del epitelio plano normal. En el carcinoma maduro se pueden encontrar globos corneos con y sin formación de glucógeno. La falta de glucógeno podría ser considerada como un signo de que estos carcinomas presentan una maduración menor y también un crecimiento más rápido que el de los carcinomas en vías de cornificarse. La coloración según Ernst (53) para la comprobación de la queratina blanda es intensamente positiva en los globos corneos. A resultados semejantes han llegado en sus trabajos Botella y Negales (17).

Vemos pues que el contenido en glucógeno va disminuyendo al aumentar la atipia celular, ó mejor dicho, la desdiferenciación. Cuando ésta es máxima, es decir, en el carcinoma "in situ" el glucógeno no suele existir. Es necesario hacer aquí una salvedad; de los once casos de carcinoma "in situ" por nosotros estudiados, en uno existía abundante glucógeno, lo que en modo alguno invalida lo que acabamos de decir. Es sabido que el carcinoma "in situ" se

caracteriza por la inmadurez de sus células, sin embargo, aunque raramente puede ser también maduro y en estos casos debe contener glucógeno.

En el caso observado por nosotros existían atipias en la maduración, es decir, zonas inmaduras al lado de otras muy maduras y también casos análogos a éste tiene descritos Limburg (108-109).

La explicación del porqué el carcinoma "in situ" es casi siempre basocelular quizá pueda encontrarse en el hecho de que éste tipo de tumor crece de preferencia en superficie conservándose intacta la basal, mientras que el epitelocelular es más rápidamente invasivo.

#### MUCOPOLISACARIDOS.

Hemos estudiado estas sustancias mediante la reacción del ácido peryódico Schiff de Hotchkiss Mc. Manus y la reacción del azul alcian PAS.

En el epitelio plano normal aparece una zona en forma de banda homogénea que es resistente a la digestión con la diastasa y que por tanto debe ser considerada según los conceptos clásicos como mucopolisacaridos. Es la zona que Botella y Nogales (17) denominaron zona de mucificación superficial.

Según Runge y Ebner (167) estaría constituida por glucógeno unido a una proteína, es decir, desmoglucógeno, por tanto sería resistente a la digestión con la diastasa ó saliva.

Un hecho que nos ha llamado poderosamente la atención es la semejanza de ésta zona descrita con la que aparece algunas veces con la tinción de Feulgen ó la de Brachet. Sin embargo ambas zonas no son totalmente idénticas; ya hemos señalado como con estas dos últimas reacciones en algunas ocasiones la banda queda limitada en el espesor de la capa superficial, no llegando hasta la periferia, es decir, no abarcando todo el espesor de la capa superficial. Si tenemos en cuenta que el RNA contiene un hidrato de carbono que es una pentosa y que el DNA contiene una desoxipentosa, podría admitirse que Ebner y Runge (167) tuvieran razón, al menos en parte, cuando afirman que la capa superficial del epitelio plano contiene desmoglucógeno. Aunque como afirman Bottella y Nogales (17) según los conceptos clásicos, habría de interpretarse la sustancia PAS positiva existente en la capa superficial como un mucopolisacárido.

En la pseudoerosión glandular se observan abundantes mucopolisacaridos localizados tanto en los epitelios de las glandulas como en las luces de las mismas.

En la epidermisación el contenido en mucopolisacaridos de la capa superficial es en general escaso, no tanto en cantidad como en extensión, es decir, la banda que aparece en el epitelio normal está disminuida.

En el epitelio intranquilo el contenido en mucopolisacaridos de la capa superficial es por lo general normal.

En el epitelio muy atípico no carcinomatoso se halla disminuido ó totalmente desaparecido el espesor de la zona superficial que contiene mucopolisacaridos neutros.

En el carcinoma "in situ" el contenido en mucopolisacaridos neutros es muy escaso ó falta totalmente. En algunos casos se observa una delgada banda superficial con abundantes mucopolisacaridos.

En forma esquemática podemos decir que las células que componen el epitelio plano experimentan un proceso biológico que pasa por tres fases:

crecimiento, maduración y degeneración. La fase de crecimiento puede investigarse estudiando el contenido en ácidos nucleicos de las células. La fase de maduración mediante el estudio del contenido en glucógeno y la fase de degeneración mediante la investigación del contenido en mucopolisacáridos.

Crecimiento y maduración celular son dos situaciones metabólicas fundamentalmente diferentes que se excluyen entre sí. El comienzo de la fase de maduración trae consigo la pérdida simultánea de la capacidad de crecer y dividirse de las células. La fase de degeneración coincide con el comienzo de la cornificación. Según Schiller (171) (1934) la formación de glucógeno y la cornificación son dos procesos orientados en direcciones opuestas que en su pleno desarrollo se excluyen. Las investigaciones histoquímicas han modificado estos conceptos. Se ha demostrado que a la formación de glucógeno sigue inmediatamente el proceso de la cornificación, que a su vez, debe ser considerado histológica e histoquímicamente como período precursor de una queratinización normal. Las relaciones que existen entre el contenido en glucógeno del epitelio vaginal y su cornificación no están aclaradas. La presencia de glu-

cógeno está en razón inversa con la síntesis activa y con el rápido progreso de la formación de queratina, por un lado, y con la actividad mitótica por otro, según demostraron Montagna, Chase y Lobitz (1305) (130) (1952). Sin embargo el glucógeno se encuentra seguramente siempre que el proceso de queratinización es muy lento, ó cuando llega solamente a la formación de prequeratina, según las investigaciones de Ebner y Munge (167), no compartidas por todos las de otros autores.

Hamperl, Kauffmann y Ober (85) han señalado que la velocidad de crecimiento es totalmente distinta para el carcinoma "in situ" y microcarcinoma, que para el carcinoma invasivo. Si tenemos en cuenta que la potencia de crecimiento de las células es una función biológica que puede estudiarse histoquímicamente como ya hemos visto se comprenderá la importancia de los exámenes histoquímicos para el diagnóstico del cáncer.

Los resultados obtenidos por nosotros concuerdan exactamente con la opinión sustentada por Stell, Ebner y Lindenschmidt (183) cuando afirman que el carcinoma "in situ" tiene en general las mismas propiedades histoquímicas que

el tejido muy inmaduro a pesar de su lento crecimiento como demuestra la clínica. El carcinoma invasivo por el contrario muestra, a pesar de su rápido crecimiento en un número predominante de casos una maduración más ó menos rudimentaria de sus elementos celulares apareciendo sustancia PAS positiva identificable con glucógeno y disminuyendo el contenido en ácidos nucleicos de sus células. Estas diferencias histoquímicas señaladas entre el carcinoma "in situ" y el invasivo se observan con toda claridad en aquellos casos en que ambos coexisten.

En la actualidad se admite que el proceso de cornificación consiste en una oxidación de los grupos SH que se transforman en SS, lo que origina una conversión de la cisteína, que como es sabido representa un importante papel en el proceso de crecimiento, en cistina.

#### MUCOPOLISACARIDOS ACIDOS.

El estudio del contenido en estas sustancias del epitelio se ha realizado mediante la reacción del azul alcian PAS.

Con ella el epitelio endocervical normal presenta un aspecto caracteris

tico. En los epitelios glandulares y en las luces de las glándulas, aparece abundante material de color azul violeta, identificable como mucopolisacáridos ácidos. La coloración que toma el epitelio glandular endocervical por su aspecto característico nos presta una ayuda eficaz tanto para diferenciar las formaciones glandulares del cuello como para basar el diagnóstico de la metaplasia del epitelio plano.

La reacción del azul alcian PAS de Steedmann según indicamos en el capítulo de Material y métodos puede ser de utilidad para diferenciar el epitelio plano metaplasico del que procede de los bordes de una pseudoerosión va desplazando al epitelio cilíndrico. En éste último caso el epitelio muestra unas hileras celulares próximas a la membrana basal teñidas de azul verdoso, una zona más ó menos ancha, según la edad del epitelio, que contiene abundantes gránulos de color rojo intenso identificables como glucógeno y otra zona habitualmente delgada, teñida de rojo homogéneo que constituye la capa de mucificación superficial de Botella y Nogales (17) que contiene como ya hemos afirmado mucopolisacáridos según la mayoría de los autores, aunque para Ebner(50)

y Runge (167) se trataría de desmoglucógeno.

El epitelio metaplasico se observa en todo su espesor de color azul violeta claro por su elevado contenido en mucopolisacaridos ácidos. Con frecuencia en la zona más superficial se aprecia una delgada capa de color azul violeta mucho más intenso que el anterior, que tiene las mismas características que la mucina del epitelio cilíndrico antes señaladas.

---

Con la reacción del azul alcian PAS en el estroma del cervix normal se observan haces tenidos de color rosa pálido y fibras reticulares de color rojo ó azul según su grado de madurez. La sustancia fundamental aparece teñida de color rojizo homogéneo. Existen en el estroma por tanto mucopolisacaridos neutros y ácidos en proporción variable.

La membrana basal teñida de color rojo violeta está constituida por un mucopolisacarido con cambios cíclicos.

Muy interesante es el aspecto de la membrana basal en el carcinoma invasivo, que puede aparecer de dos formas fundamentales: en una los cordones carcinomatosos aparecen rodeados de una banda delgada de color rojo violeta de las mismas características que la membrana basal del epitelio normal y que rodea de forma continua los nódulos epiteliales. En la segunda forma los nódulos carcinomatosos se hallan rodeados por una serie de haces de color azul violeta de espesor variable que se identifican como mucopolisacaridos ácidos, ya que reaccionan también de forma fuertemente metacromática con el azul de toluidina. En los casos de papilas penetrantes en el tejido conjuntivo se observa en general mayor cantidad de mucopolisacaridos que en los casos de crecimiento difuso. Igualmente han observado Runge y Ebner junto a Lindenschmidt (168). Suponen estos autores que éste material azul grisáceo que aparece alrededor de los cordones carcinomatosos es la expresión de la destrucción del tejido conjuntivo. Posteriormente puede de nuevo reconstruirse el conjuntivo situado en torno a los nódulos carcinomatosos y aparecer estos rodeados de una membrana basal de color rojo violeta en nada diferenciable de la

del epitelio plano normal.

Para comprender estos hechos es muy importante recordar los trabajos de Gershy, Catchpole (70) y Muto (133), que demostraron que la membrana basal no tiene estructura homogénea y bajo diversas influencias cambia del estado de gel al de sol. Químicamente se trata de un proceso de polimerización y despolimerización, que aumenta con el número de mucopolisacáridos ácidos libres. Si tales procesos deben considerarse como el comienzo de un crecimiento invasivo es un problema aun no resuelto. Desde luego tales cambios no tienen lugar en los procesos inflamatorios.

El crecimiento destructivo del carcinoma de la portio se considera hoy como un proceso bioquímico y se piensa que se trata probablemente de fenómenos fermentativos que tienen lugar en el conjuntivo. Para Gersh y Catpole (70) se trata de un fermento proteolítico del tipo de la colagenasa. Según Gomann (39) se trata de una colagenasa. Hurstone demostró un fuerte actividad aminopeptidasa en el frente de invasión.

Leneyel, Szemesy y colab. (103) encontraron metacromasia en once de los

ochenta y ocho casos por ellos estudiados, en torno a los nódulos epiteliales carcinomatosos, identificando las sustancias reaccionante con ácido hialurónico, que transportado de la sangre pasaba a dicha localización. Hieronymy es de la misma opinión.

La zona descrita por Burstone (26) como de gran actividad aminopeptidasa coincide al menos en parte, con la zona azul grisacea que aparece con la reacción del azul alcian PAS en torno a los nódulos epiteliales, por lo cual Runge y Ebner (167) afirman que unaparte al menos de la coloración del azul alcian PAS es debida a productos de escisión de albuminas de bajo peso molecular.

Podemos concluir que las investigaciones histoquímicas tienen interes para el estudio del caracter invasivo del carcinoma. No sabemos aún que alteraciones del metabolismo celular tienen lugar antes de que la célula carcinomatosa adquiera capacidad de desarrollar un crecimiento invasivo y sobre que funciones particulares se basa éste proceso de crecimiento. Hemos hablado ya de los cambios ciclicos que experimentan la membrana basal y hemos citado co-

mo Gersh y Catchpole (70) (1949) han explicado éste fenómeno por el hecho de que la membrana basal teniendo un grado de polimerización igual al de la sustancia fundamental vecina presenta una concentración elevada de glicoproteidos, ó lo que es más probable, el grado de polimerización de los glicoproteidos condensados en la membrana basal es manifiestamente menor que en la sustancia fundamental.

El crecimiento invasor incipiente se hace posible por la despolimerización y con ella la disolución tanto de la membrana basal como de la sustancia fundamental del tejido conjuntivo.

---

CAPITULO 6º

CONCLUSIONES

Hemos estudiado la distribución del glucógeno, mucopolisacáridos neutros y ácidos en 261 casos de cervix uterino. El material se ha clasificado en los siguientes grupos:

Ecocervix normal.....	con 67 casos.
Seudoerosión glandular papilar.....	con 37 casos.
Epidermización.....	con 43 casos.
Epitelio intranquilo.....	con 52 casos.
Epitelio muy atípico no carcinomatoso.....	con 12 casos.
Carcinoma "in situ".....	con 11 casos.
Microcarcinoma .....	con 3 casos.
Carcinoma invasivo.....	con 39 casos.

Para éste estudio hemos utilizado la reacción del PAS simple, completa con la digestión con saliva y el proceder del azul alcian PAS, que combina la tinción del azul alcian 8GS de Steedmann y la del PAS.

Ecocervix normal. En la capa basal aparecen dos ó tres hileras de células que no contienen glucógeno. En la capa parabasal y más intensamente en

la intermedia existe abundante glucógeno. En la capa superficial aparece una sustancia teñida de color rojo homogéneo resistente a la digestión, que debe ser catalogada como un mucopolisacárido neutro.

El epitelio está separado del tejido conjuntivo subyacente por una línea de color rojo violeta, constituida por un mucopolisacárido con cambios cíclicos.

La colágena del estroma contiene abundantes mucopolisacáridos neutros; las fibras reticulares contienen mucopolisacáridos ácidos ó neutros según su grado de madurez. La sustancia fundamental posee ambos tipos de mucopolisacáridos. Las células cebadas tienen abundantes mucopolisacáridos ácidos.

Seudoerosión glandular papilar. El epitelio endocervical normal muestra abundante material de color azul violeta identificable como mucopolisacáridos ácidos. Este material teñido con el PAS simple no puede diferenciarse del glucógeno y de los mucopolisacáridos neutros.

Epidermisación. Con el método del azul alcian PAS se puede distinguir con cierta claridad el epitelio metaplasico del epitelio plano que proceden

te de los bordes pertenece al ectocervix. El epitelio mataplasico contiene abundantes mucopolisacáridos ácidos y escaso ó ningún glucógeno. El epitelio de procedencia ectocervical no contiene mucopolisacáridos ácidos y sí en cambio glucógeno y mucopolisacáridos neutros.

Epitelio intranquilo. La distribución del glucógeno y de los mucopolisacáridos neutros es semejante a la del epitelio normal; en ocasiones, se observa un mayor grosor de la zona glucógeno negativa.

Epitelio muy atípico no carcinomatoso. La cantidad de glucógeno existente es muy pequeña ó falta totalmente. En ocasiones, aunque con menos constancia, no se observan tampoco mucopolisacáridos en la capa superficial; si existen se hallan localizados en una fina banda superficial.

Carcinoma "in situ". Sólo en uno de los once casos estudiados se encontró glucógeno. El contenido en mucopolisacáridos neutros es muy escaso ó falta totalmente. En algunos casos se observa una delgada banda superficial con mucopolisacáridos neutros.

Carcinoma invasivo. En el 41,6% de los casos hemos observado la existen

cia de glucógeno en mayor ó menor cantidad en el epitelio carcinomatoso. Muy interesante es el aspecto de la membrana basal, que puede adoptar dos formas. En una, los cordones carcinomatosos aparecen rodeados de una banda estrecha, delgada de color rojo violeta de las mismas características que la membrana basal del epitelio plano normal y que rodea de forma continua los nódulos epiteliales. En la segunda, los nódulos carcinomatosos se hallan rodeados por una serie de haces de espesor variable y de color azul violeta que se identifican como mucopolisacáridos ácidos. Hemos observado una cierta relación entre la existencia de estas sustancias y la invasividad del tumor.

De lo anteriormente expuesto deducimos las siguientes conclusiones:

1º. El epitelio metaplasico tiene unas características histoquímicas distintas del epitelio plano de regeneración que procede del ectocervix, ya que contiene abundantes mucopolisacáridos ácidos y muy escasa ó nula cantidad de glucógeno, mientras que éste último no contiene mucopolisacáridos ácidos y sí, en cambio, glucógeno y mucopolisacáridos neutros.

2°. En el carcinoma "in situ" no suele existir glucógeno.

3°. En el carcinoma invasivo hemos encontrado glucógeno en el 41,6% de los casos.

4°. La existencia de grandes masas de mucopolisacáridos ácidos en torno a los nódulos epiteliales carcinomatosos puede ser índice de una gran capacidad invasora.

---

En el material reseñado al principio de éste capítulo hemos estudiado también el contenido en ácidos nucleicos mediante la reacción de Feulgen-Rossenbek, que tiñe selectivamente el DNA en color rojo, y el test de Brachett al verde metilo pironina y ribonucleasa, que tiñe el DNA en color azul y el RNA en color rojo.

Ectocervix normal. El epitelio ectocervical normal contiene DNA en todo su espesor. La distribución de ésta sustancia no es sin embargo homogénea. En la capa basal e intermedia, se halla localizado exclusivamente en el nú-

oleo. Las células de la capa basal contienen mayor cantidad que las de la capa intermedia. En la capa superficial hemos observado en algunas ocasiones una zona particularmente rica en ácidos nucleicos, que contiene predominantemente DNA, tanto en el núcleo como en el citoplasma. Esta zona se halla unas veces en contacto con la superficie y otras en el espesor de dicha capa.

El ectocervix normal contiene, igualmente, abundante RNA localizado en el citoplasma y en el nucleolo. La cantidad de esta sustancia es máxima en la capa basal y disminuye según nos aproximamos a la superficie.

En ocasiones, como ya hemos dicho, existe una zona en la capa superficial que contiene gran cantidad de RNA.

Seudoerosión glandular papilar. Los núcleos del epitelio glandular son en general ricos en DNA. Los citoplasmas contienen con frecuencia, abundantes gránulos de RNA. Las células plasmáticas, que existen corrientemente en la seudoerosión como componente inflamatorio de la misma, contienen abundante RNA en los citoplasmas y DNA en el núcleo.

Epidermisación. En el tejido de regeneración joven el contenido en áci-

dos nucleicos suele ser ligeramente superior al del epitelio normal.

Epitelio intranquilo. En él existe un engrosamiento de la capa basal rica en DNA y RNA. La capa intermedia y la superficial tienen las mismas características que el epitelio normal.

Epitelio muy atípico no carcinomatoso. El contenido en ácidos nucleicos del núcleo y del citoplasma es superior al del epitelio ectocervical normal.

Carcinoma "in situ". Hemos comprobado en todo el espesor del epitelio un elevado contenido en ácidos nucleicos, tanto del DNA como del RNA.

Carcinoma invasivo. El contenido en ácidos nucleicos del mismo es muy variable. Generalmente hemos encontrado una mayor cantidad de DNA en la célula carcinomatosa que en la normal, pero éste hecho no es constante.

Existe una cierta relación entre la cantidad de ácido nucleico y la topografía de la célula carcinomatosa; así hemos observado con frecuencia que las células retiradas de la periferia de los nódulos carcinomatosos contienen en general mayor cantidad de ácido nucleico que las situadas en el centro.

**Conclusiones:**

1°. El DNA se halla localizado exclusivamente en el núcleo de las células de la capa basal, parabasal e intermedia. En el citoplasma está localizado el RNA.

2°. En el ectocervix normal existen ácidos nucleicos en todo su espesor siendo la cantidad mayor en la capa basal y en una franja de la capa superficial.

3°. El contenido en ácidos nucleicos aumenta con la atíпия celular, siendo máximo en el carcinoma "in situ".

4°. En el carcinoma invasivo existe en general un aumento de ácidos nucleicos, en relación con el contenido en ellos de la célula normal. Sin embargo, en ocasiones, existen grupos celulares con escaso contenido, lo que posiblemente se halle en relación con la madurez celular, procesos degenerativos de la célula ó ambas cosas a la vez.

5°. Existe una relación inversa entre el contenido en ácidos nucleicos y el de glucógeno del epitelio.

CAPITULO 7º

BIBLIOGRAFIA

1. Afanassjew (M.), Pflüger, 30, (1883): 385.
2. Arnold (E.) Arch. Path. Anat. 193,175,(1908).
3. Arndt. (H.J.) Zbl. Path. 35 (1925): 454.
4. Arsaë. (J.P.) Analecta med. 8, n° 2,9, (1947).
5. Arsaë. (J.P.) y Flores (L.G.) Stain Tech. 24, 25 (1949).
6. Baker (J.R.) Cytological Technique 2ª ed. Methnen, Londres 1945.
7. Bareillier (G.) y Cajin (G.) Ann. Anat. Path. 15, 426 (1938).
8. Barfuth (A.) mikr. Anat. 25, (1885):269.
9. Bever (K.F.) Z. mikr. Anat. Forsch. 33, 143, 1933.
10. Barber (H.N.) y Callan (H.G.) Nat. 153, 109, 1944.
11. Bernadr (Cl.) Lecons de physiologie experimentale appliquee a la  
Medecine (Baillere, Paris, (1845).
12. Bernadr (Cl.) Lecons sur les phenomenes de la vie, Baillera, Paris  
(1878).
13. Bensley (C.M.) Stain Tech. 14, 47, (1939).

14. Bensley (C.M.) Z. Anat. rec. 60, 93, (1934).
15. Best. (A.) mirk. Anat. 23, (1906):319.
16. Bignardi (G.) Boll. Soc. Ital. Sper. 15, 593, (1940).
17. Botella (J. ) y Nogales(F.) Histoquímica de las atipias epiteliales del cuello uterino. Acta Ginecológica VII, 12, 555/60 (1956).
18. Brachett (J.) C.r. Soc. Biol. (1940).
19. Brachett (J.) Biochim. Biophys. (1948).
20. Brachett (J.) y Jeener (R.) T. Tech. Biophys. acta 2, (1948):423.
21. Bunting (H.) y White (R.F.) Arch. Path. 49, 590, (1950).
22. Brunswik (M.) Naturwiss 11, 881, (1923).
23. Bungenberg de Jong (J.G.) y Bank (O.) Prot. 32, 492, (1939).
24. Burghardt (E.) y Bajardi (F.) Arch. GynEk. 187, 621, (1956).
25. Burghgraeve (P.) Bull. Hist. 10, (1933): 73.
26. Burstone (M.S.) Nat. Cancer Inst. 16, (1956) S 1149.
27. Callan (H.G.) Nat. 152, 503, (1943).

28. Carpentier (H.H.) Polonsky (B.) y Menten (M.L.) Arch. Path. 51, 480, (1951).
29. Carleton (H.M.) Histological Technique 171, (1938).
30. Carney (J.B.) Manuel de microscopie Louvain (1879).
31. Carr (S.G.) Nat. 156, 143, (1945).
32. Campos da Paz (A.) Fertil & Steril 4, 137, (1953).
33. Caspersson (T.) Eymp. Soc. Experim. Biol. 1, (1947).
34. Caspersson (T.) Cell. Growth and cell function. M. New York. (1950).
35. Caspersson (T.) y Santensson (L.) Acta radiol. Stockh. Suppl. 46, (1942).
36. Ceruti (A.) A. Bot. 14, 37, (1940).
37. Clara (M.) Z. mikr. Anat. Forsch. 47, (1940).
38. Clauden (A.) Cold. Spring. Harb. 9, 263, (1941).
39. Coman (R.D.) Cancer Res. 13, (1953) S. 379.
40. Cormil (L.) y Stahl (A.) Press. Méd. 849, (1949).
41. Choudhuri (H.) Nat. 152, 475, (1943).

42. Deane (H.W.), Nesbitt (F.B.) y Hasting (A.B.) *Proc. S. exp. B.* 63, 401, (1946).
43. De la Cruz (J.) y Puras (A.) *Actas Soc. Esp. Est.* 3, 70, (1955).
44. Delepine (J.) *Physiol.* (1891).
45. Dempsey (E.W.) y Wislocki (G.B.) *Stain Tech.* 25, 73, (1950).
46. Dempsey (E.W.) y Wislocki (G.B.) *Anat. Rec.* 98, 417, (1947).
47. Derias (R.E.), Tacey (M.), Teece (E.G.) y Wiggins (L.F.) *Nat.* 157, 740, (1946).
48. Driessens (F.) *Zbl. Path.* 16, 129, (1905).
49. Dobson (E.O.) *Stain Techn.* 21, 103, (1946).
50. Ehner (H.) *Vortrag auf. d.* 114. (1953b).
51. Eger (W.) *Wireh.* 309, 607, (1942).
52. Ehrlich (P.) *Z. klin. M.* 6, 35, (1883).
53. Ernst (P.) *Arch. mikrosk. Anat.* 669, (1896).
54. Faure-Fremiet (E.) *Arch. Anat. mikrosk.* 15, 453, (1913).
55. Foyel (Th.) *Biol.* 128, 575, (1938).

56. Feulgen (R.) y Viot (K.) Pflüg. Arch. Ges. Physiol. 206, 389, (1924).
57. Fischera (G.) Ziegler. 36, 273, (1904).
58. Folch (J.) J. Biol. Chem. 146, 35, (1942).
59. Folch (J.) H, y Schneider (H.A.) Ibid 137, 51, (1941).
60. Folch (J.) y Schneider (H.A.) Ibid 140, 62, (1945).
61. Foraker (A.G.) Arch. Pathol. 53, 250, (1952).
62. Foraker (A.G.) y Denham (S.W.) Surg. etc. 96, 259, (1953).
63. Foraker (A.G.) Cell. PA. y Denham (S.W.) Cancer 7, 100, (1954).
64. Foraker (A.G.) Rev. Frans. Gynec. 54/6, 421, 426, (1959).
65. Frankel (S.) Pflüger. 52, 125, (1892).
66. Friedell (G.H.), Hetig (A.T.) y Younge (P.A.) A.M.A. Broch Patch  
66, 449, (1958).
67. Gendre (H.) Bull. Hist. 14, 262, (1937).
68. Gerola (F.M.) y Vannini (E.) Lineei 8, 5, (1948).
69. Gerola (F.M.) y Vannini (E.) Boll. Soc. Ital. Sper. 25, 644, (1949).
70. Gersh (J.) Anat. Rec. 100, 664, (1948).

71. Gersh (J.) y Catchpole (H.R.) *Amer. J. Anat.* 85, 457, (1949).
72. Gibb (R.P.) y Steowell (R.E.) *Blood* 4, 569, (1949).
73. Glick (H.G.) *Techniques of. Histo. And. cytochemistry* N.York (1949)
74. Gomori (G.) *Amer. J. Clin. Path.* 16, 347, (1946).
75. Gomori (G.) *Microscopic Histochemistry* Chicago (1952).
76. Gomori (G.) *Proc. Soc. exper. Biol. a. méd.* 69, 407, (1948).
77. Gomori (G.) *Cancer Res.* 9, 609, (1949).
78. Gomori (G.) *I. nat. Cancer Inst.* 10, 558, (1949).
- 78<sup>a</sup>. Gonzalez Merlo (J.) *Acta Gin.* 11, 1, (1960).
79. Grafflin (A.L.), Marble (A.) y Smith (R.M.) *Anat. Rec.* 81, 495, (1941)
80. Greeo (J.) *Ibid* 22, 67, (1947).
81. Gross (S.J.), Kinsie (G.) y Chang (H.) *Obstet, and, Gynec.*  
14/1, 43-53, (1959).
82. Gulland (J.M.) y Jordan (J.) *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1, 56, (1947).
83. Gusberg (S.B.) y Moore (D.B.) *Obstet, and. Gynec.* 2, 11, (1953).
84. Haek (M.H.) *cit. Gersh.* 1949.

85. Hamperl (H.), Kauffmann (C.) y Ober (K.G.) Arch. Gynäk. 1945.
86. Held.(E.) Schweiz. med. Wschr. 89,69,(1959).
87. Hieronimy (G.) Frankf. Zschr. Path. 65/ (1954) S 409.
88. Hinselmann (G.) y Schmitt (A.) Die Kolposkopie miteinem Bütrg. Über die Kolposkopie Über Kolposkphotografie (1954).
89. Hopmann (B.C.) Am. Your. of. Obst. and Gyn. 28, 2, 346-369 (1960).
90. Hotchkiss (R.D.A.) Biochem. 16, 131, (1948).
91. Jackson (E.N.), Hudson (G.S.) I. Am. Chem. Soc. 59, 994-2.449 (1937)
92. Jackson (E.L.), Hudson (G.S.) I. Am. Chem. Soc. 60, 989, (1938).
93. Jackson (E.L.) Organic. Reac. 2, 341, (1944).
94. Jorpes (J.E.) Heparin in the treatement of trombosis (London and New York.)
95. Kankato (H.) Pflüger, 127, 125, (1909).
96. Kauffmann (C.) y Ober (K.G.) Cancer of teh Cervix Diagnosis of Ear ly Forms 61, (1959).
97. Kurnik (N.B.) Cold. Spring.Harb. 12, 141, (1947).

98. Lafuente de la (F.) y Galbez (J.) Acta Gin. 5, 149, 352, (1954).
99. Lajos (L.) y Pali (K.) J. Obstet. Gynec. Brit. Emp. 58, 780, (1951).
100. Lajos (L.) y Pali (K.) Acta Morph. (Budp.) 2, 231, (1952).
101. Langhans (G.) Virch. 120, 28, (1890).
102. Levene (P.A.), Mikeska (L.A.) y Mori (T.) J1. Biol. Chem. 85, 785,  
(1930).
103. Leneyel (R.D.J.), Szemey (J.) Gynaecologia 140, 116, (1955).
104. Lillie (R.D.) J. lab. a. Clin. med. 32, 910, (1947).
105. Lillie (R.D.) y Greco (J.) Ibid. 22, 67, (1947).
106. Lillie (R.D.) Histopathological Technic. Filadelfia (1948).
107. Lilienfeld (L.) Du Bois Reynolds. Arch. (1893).
108. Limburg (H.) Die Frühdiagnose des Uteruscarcinoms G. Thieme (1952).
109. Limburg (H.) Die Frühdiagnose des Uteruscarcinoms. Stuttgart. (1956)
110. Lissou (N.) Histochemie et cytochimie animales Paris (1936).
111. Lissou (N.) t Histochemie te cytochimie animales Paris (1953).
112. Lissou (N.) y Mutsaers (W) Quarterly J1. Micros. Sc. 91, 309, (1950)

113. Lubarsch (E.) *Enz. mikr. Techn. Ile. Anfl.* 552. *Virch.* 135, 149, 183, 188, (1906).
114. Malaprade (L.) *Bull. Soc. Chim. France. 1<sup>a</sup> serie* 5, 833, (1934).
115. Malfatti (U.) *Hoppe-S.* 16, (1893).
116. Mancini (R.E.) *Rev. Soc. Argentina Biol.* 22, 335, 4, (1946).
117. Manozzi-Torini (M.) *A. Ital. med. sper.* 10, 25, (1942).
118. Marchend (C.R.) *Am. J. Obst. & Gyn.* 46, 333, 4, (1934).
119. Marchese (S.) *Atti. Soc. Lombarda di Sc. Médico Biol.* 2, 1, (1947).
120. Mellors (R.C.), Keane (J.F.) y Papanicolaou (G.N.) *Science* 116, 265, (1952).
121. Meyer(R.), Treite(J.) y Limburg (H.) *Z.Geburtsh.* 126, (1958).
122. Meyer (R.) *Arch. f. Gynäk* 91, 579, (1910).
123. Meyer (R.) *Arch. f. Gynäk* 91, 658, (1910).
124. Meyer (K.) *Advanc. Prot. Chem.* (1945).
125. Meyer (K.) y Jeanlos (R.W.) *Helv. Chim. Acta* 26, 1784, (1943).
126. Mc. Manus (J.F.A.) y Lumann (M.C.) *Surg etc...* 89, 616, (1949).

127. Mc. Manus (J.F.A.) *Nature* 158, 202, (1946).
128. Mc. Manus (J.F.A.) y Casor (J.E.) *Exper. Med.* 91, 651, (1950).
129. Mitchell (A.J.) y Wislocki (G.B.) *Anat. Rec.* 90, 261, (1944).
130. Montagna (W.), Chase (H.B.) y Lobitz (W.G.) *Anat. Rec.* 114, 231 (1952)
131. Müller y Dellmann *Virch.* 168, 131, (1930).
132. Munzen (J.) *Ztsch. f. d. Ges Neurol.* 112, 288, (1928).
133. Muto (K.) *Virchows Arch. path. Anat.* 300, (1937) S.652.
134. Mystkoswki (A.M.), Stiller (A.) y Zysmen (A.) *Bio. z.* 281, (1935).
135. Neurkirch *Virch.* 200, (1910) 73.
136. Nicolet (B.H.) y Shinn (L.A.) *J. Amer. chem. Soc.* 61, 1615, (1939).
137. Nicolet (B.H.) y Shinn (L.A.) *J. Biol. Chem.* 139, 687, (1941).
138. Novak (A.) *Ginecologia y Obstetricia* 310, (1954).
139. Obata (J.) *Arch. Gynäk* 99, 474, (1913).
140. Ober (K.G.) *Dtsch. med. Wochr.* 83, 1661, (1958).
141. Ober (K.G.), Schneppenhein (P.) Hamperl (H.) y Kauffmann (C.)  
*Arch. Gynäk.* 190, 346, (1958).

142. Ober (K.G.) y Bontke (E.) *Arch. Gynäk* in press. (1959).
143. Odier (M.) *Wx. Experientia* 2, 311, (1946).
144. Oki (H.) *Jap. Med. World.* 7, (1927) 108.
145. Overend (W.G.) y Stacey (M.) *Nat.* 163, 538, (1949).
146. Pacaud (A.) *Bull. Hist.* 27, (1949) 153.
147. Pappenheim (A.) *Grundriss der Farbuhenie zum Gebrauch bei mikrisk. Arbeiten.* (Berlin 1910).
148. Panijel (J.) *Bull. Soc. Chim. Biol.* 30, 116, (1948).
149. Pasteels (J.) y Leonard (G.) *Bull. Hist.* 8, (1935) 293.
150. Pearse *Histochemistry* Londres (1953).
151. Pirie (A.) *Bio. J.* 24, (1944).
152. Pirie (A.) *bio. J.* 40, (1946).
153. Pirie (A.) *Proc. Bioch. Soc.* 11, (1946).
154. Policard (A.) y Leulier (A.) *Bull. Hist.* 2, 22, (1925).
155. Pollister (A.W.) y Ris (H.) *Gold. Spring. Harb.* 12, 158, (1947),
156. Pollister (A.W.) y Mirsky (A.E.) *Nat.* 152, 699, (1942).

157. Pollister (A.W.) y Leuchtenberger (L.) *Pro. Nat. Acad. Sc. U.S.A.*  
35, 111, (1949).
158. Price (J.R.) y Barber (H.N.) *Nat.* 146, 335, / (1940).
159. Prins (P.A.) y Jeanlos (R.V.) *Ann. Rev. Biochem.* 17, 67, (1948).
160. Przylecki (S.S.) y Masmin (R.) *Bio. Z.* 271, 168, (1934).
161. Raspail (F.V.) *Ann. Sci. nat.* 6, 244, (1825a).
162. Raspail (V.F.) *Ibid.* 6, 384, (1825b).
163. Raspail (F.V.) *Nouveau Systeme de Chimie Organique Paris* (1833).
164. Ritter (B.A.) y Olesson J.J. *Am. J. Path.* 26, 639, (1950).
165. Robindon (M.H.) *Am. J. Obs. & Gyn.* 32, 84, (1936).
166. Komeis (B.) *Z. Mikr. Anat. Forsch.* 55, 165, (1950).
167. Runge (H.) y Ebner (H.) *Significado de la Histoquímica en ginecología* (1956).
168. Runge (H.), Ebner (H.) y Lindenschmidt (U.) *Deutsch. Medis. Wochensh.* 18, 38, 1525-1529-1543 (1956).
169. Schröder (R.) *Arch. f. Gynäk* 104, 27, (1915).

170. Schiller (B.V.) Arch. Gynäk. 155, 415, (1934).
171. Schiller (V.B.) Surg. Gyn. et. Obsrt. 56, 210, (1933).
172. Schneppenhein (P.), Hamperl (H.) y Kauffmann (V.) Ober (K.G.)  
Arch. Gynäk. 190, 303, (1958).
173. Soepiades (E.J.) y Stevenson (K.S.) Arch. Gynäk. 167, 416, (1938).
174. Scoot (R.B.) y Reagan (J.W.) J. Amer. med. Ass. 160, 343, (1956).
175. Seibert (F.B.), Seibert (M.V.) Atno (A.I.), Campbel(H.B.) J. Clin-  
Invest. 26, 90, (1947).
176. Semmens (C.S.), Bartes (H.W.) y Price (J.) Nat. 146, 808, (1940).
177. Shimizu (N.) y Kumamoto (T.) Stain Tech. 27, 97, (1952).
178. Simpson (W.L.) An. New. H. York. acad. Sci 52, 1125, (1950).
179. Stacey (M.) Bioch. J. Soc. 9, (1940).
180. Steedeman (H.F.) Quart. J. Micr, Sci 91, 477, (1950)-
181. Stoll (P.), Ebner (H.) y Strecker (H.J.) Arch. Gynak. 180, 76, (1951)
182. Stoll (P.) y Enber (H.) Tendances actuelles en gynecologie et Obs-  
tetricque Geneve. 1955.

183. Stoll (P.), Ebner (H.) y Lindenschmidt (V.) Geburt. u. Frauenh.  
14, 12, (1954).
184. Stowell (R.E.) y Albers (V.M.) Stain. Technol. 18, 57, (1943).
185. Stowell (R.E.) y Cooper (K.Z.) Cancer Res. 5, 295, (1945).
186. Taira (K.I.) Acta méd. Biol. (Nagata) 6/4, 317-331, (1959).
187. Taft (B.B.) Exp. Cell. Res. 2, 312, (1951).
188. Taymor (M.L.), Gold (N.), Sturgis (S.H.) Meigs (J.V.) y Mc. Millan  
(J.) Cancer 5, 496, (1952).
189. Thomas (R.) Bull. Soc. Chim. Biol. 32, 469, (1950).
190. Topkins (P.) Amer. J. Obst. & Gyn. 48, 654, (1949).
191. Vastarini-Cresi (A.) Atti. R. Acad. méd. chirurg. di Napoli (1909).
192. Unna (P.G.) Abderh. Hdb. V. 2, 1921.
193. Verne (J.) Ann. Physiol. Paris 5, 245, (1929).
194. Wilson (L.) Am. J. Obst. & Gyn. 43, 955, (1942).
- 194'. Von Möllendorff (W.M.) Erg. An. 25, 1, (1924).
195. B. Voss (H.) Verh. Anat. Gesell 34, (1925).

195. Vercauteren (K.) *Enzymol.* 14, 134, (1950).
196. Wallraf (J.) y Beeheret (H.) *Z.mikro-anat. Forsch.* 45, 510 (1939).
197. Weissbrodd (F.G.) *J.Labor. a. clin. Med.* 35, 408, (1950).
198. Wisland (H.) y Scheuing (C.) *Ber. d. Chem. Ges.* 54, 2527, (1920).
199. Wernel (E.) *Z. Zellf.* 5, 400, (1927).
200. Wislittatter (K.), Rohdewald (M.) *Hoppe. S.* 225, 103, (1934).
201. Wislocki (G.B.), Bunting (H.) y Dempsey (E.N.) *Menstruacion and its discorders.* (1950).
202. Wislocki (G.B.), Rheingold (J.H.) y Dempsey (E.N.) *Blood.* 4, (1949)
203. Wislocki (G.B.) *Anat. Rec.* 90, 261, (1944).
204. Wolman (M.) *Proc. Soc. exp. Biol. N.Y.* 75, 583, (1950).
205. Zanotti (B.) *Z. Anat.* 111, 930, (1941).
206. Zeiger (K.) *Z. Aw. Zellf.* 10, 481, (1950).
-

Alfonso de la Cruz