

**LA PRUEBA DE ADHERENCIA DE LAS CELULAS ROJAS EN
LOS CISTADENOMAS SEROSOS Y
CISTADENOCARCINOMAS SEROSOS**

Alvia Gaskin de Urdaneta*

RESUMEN

Investigamos la diferencia en el contenido de los isoantígenos A, B y H en cistomas benignos y malignos del ovario. El estudio fue realizado en 120 neoplasmas, usando la reacción de adherencia de las células rojas (RCA) descrita por Kovarik, Davidsohn y Stejskal.

Demostramos que los cistomas serosos benignos contienen gran cantidad de los antígenos A, B y H en su epitelio y en sus secreciones. La cantidad de antígeno presente en ellos depende de dos factores: 1) del grado de proliferación celular y 2) la presencia o no de líquido quístico.

Los cistadenocarcinomas serosos pierden su correspondiente antígeno, el cual se encuentra presente en el epitelio germinal normal. Sugerimos que este hallazgo puede ser importante en este tipo de tumores.

INTRODUCCION

Como describimos en un trabajo anterior (6), el epitelio germinal es la única estructura en el ovario normal que, al igual que los vasos san-

* *Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.*

guíneos y algunos restos embrionarios (restos mesonéfricos y *rete ovarii*), contienen los antígenos de los grupos sanguíneos A, B y H. Suponemos que los tumores benignos que se originan del epitelio germinal contienen considerable cantidad del correspondiente grupo sanguíneo, debido a la proliferación celular benigna. Por el contrario, cuando el epitelio germinal se maligniza las células pierden la habilidad de producir o almacenar el antígeno. Davidsohn y col. han demostrado la pérdida de los antígenos específicos de los grupos sanguíneos en las células de ciertos tipos de cáncer (3-5).

El epitelio germinal es un mesotelium peritoneal especializado, del cual se originan un alto porcentaje de las neoplasias ováricas: cistadenomas serosos y cistadenocarcinomas serosos, cistadenomas mucinosos y cistadenocarcinomas mucinosos, tumores endometriales benignos y malignos, tumores mesonefroides, carcinomas indiferenciados y probablemente el tumor de Brenner.

El propósito de esta investigación es el de estudiar la diferencia de contenido de los isoantígenos en los cistomas serosos benignos y malignos, aplicando la prueba de adherencia de las células rojas (RCA) descrita por Kovarik, Davidsohn y Stejskal (6).

MATERIAL Y METODOS

Estudiamos 120 quistes serosos los cuales fueron diagnosticados previamente como siguen: 100 fueron considerados benignos y 20 malignos. Todas las láminas originales de los casos estudiados fueron revisadas e identificadas como cistomas serosos. De 2 a 6 bloques de cada caso fueron seleccionados y de ellos se hicieron cortes seriados.

La clasificación histológica de la neoplasia fue realizada de acuerdo con la Clasificación Internacional de Ginecología (FIGO) (8) para los tumores que se originan del epitelio ovárico (Tabla I).

Todos los tejidos fueron fijados en formalina al 10% y cortados de 3 a 4 micras de espesor. Para la detección de los isoantígenos A y B se usó un "pull" de antisuero A y un "pull" de antisuero B con título de aglutinación de 1:512 (4). Antes de ser usados, los antisueros fueron calentados a 56°C por 30 minutos para destruir la actividad del complemento y prevenir hemólisis de las células rojas indicadoras. Para detectar los antígenos H usamos extractos de *Ulex europeus* con un título de aglutinación 1:64 a 1:128 (8). Las semillas de *Ulex europeus* fueron finamente trituradas con un homogenizador Vortex 45 de Fisher, luego se centrifugó

TABLA I

CLASIFICACION DE LOS TUMORES PRIMARIOS EPITELIALES DEL OVARIO — FIGO —

- 1.— Cistomas serosos.
 - (a) Cistadenomas benignos.
 - (b) Cistadenomas con actividad proliferativa de las células epiteliales y anomalías nucleares, pero sin crecimiento infiltrativo destructivo (baja potencialidad maligna).
 - (c) Cistadenocarcinomas.
 - 2.— Cistomas mucinos.
 - (a) Cistadenomas benignos.
 - (b) Cistadenomas con actividad proliferativa de las células epiteliales y anomalías nucleares, pero sin crecimiento infiltrativo destructivo (baja potencialidad maligna).
 - (c) Cistadenocarcinomas.
 - 3.— Tumores endometriales.
 - (a) Quistes endometriales benignos.
 - (b) Tumores con actividad proliferativa de las células epiteliales y anomalías nucleares, sin crecimiento infiltrativo destructivo (baja potencialidad maligna).
 - (c) Adenocarcinomas.
 - 4.— Tumores mesonéfricos.
 - (a) Quistes benignos.
 - (b) Tumores de baja potencialidad maligna.
 - (c) Adenocarcinomas.
 - 5.— Carcinomas indiferenciados.

Tumores que no pueden ser incluidos en ninguno de los grupos 1, 2, 3 ó 4.
-

el homogenizado a 28.700 g por 20 minutos, de donde resulta un sobrenadante espeso y turbio el cual se centrifugó nuevamente a 100.000 g por 2 horas en una ultracentrífuga Beckman L3. El sobrenadante final está listo para ser utilizado en la reacción RCA (9). Las semillas de *Ulex europeus* fueron adquiridas de F.W. Schumaker Co., Sandwich, Massachusetts, U.S.A.

Una suspensión al 1% de células rojas en tris buffer salino con un pH de 7,45 fue usada como células indicadoras de grupo sanguíneo A, B y O. Las células rojas fueron obtenidas del Charles Hymen Blood Center, Mount Sinai Hospital Medical Center, Chicago, U.S.A., donde se usa como anticoagulante el ácido-citrato-dextrosa (ACD).

Después de determinar el grupo sanguíneo al cual pertenecía cada paciente por la técnica de RCA (9), dos láminas consecutivas de cada paciente fueron utilizadas para proseguir el estudio. En una de estas láminas se realizó la prueba RCA y la segunda lámina fue teñida por la técnica hematoxilina y eosina, a objeto de hacer un estudio comparativo inmunohistopatológico en cada caso. Así, el resultado de la prueba de adherencia de los glóbulos rojos en cada área era comparada con la correspondiente en la sección sucesiva teñida con hematoxilina y eosina. Esto se realizó con un equipo de comparación compuesto de dos microscopios Zeiss unidos con un puente de comparación Nikon.

La reacción de RCA es considerada positiva cuando existe el correspondiente isoantígeno en el tejido estudiado, realizándose así una combinación antígeno-anticuerpo; la cual es objetivizada por las células rojas indicadoras que se localizan en el sitio donde la combinación isoantígeno-antisuero se ha realizado. La prueba RCA negativa indica la ausencia de isoantígenos en los tejidos.

Controles de la reacción RCA.— Cada vez que se realizó la reacción se chequeó la aglutinación de la suspensión de células rojas con el antisuero que iba a ser usado en la misma. Esto se hizo mezclando una gota de cada uno en una lámina; si el resultado era positivo se proseguía a realizar la reacción RCA en el tejido. Si el resultado era negativo, las células que fueron usadas para realizar la suspensión eran chequeadas para comprobar que el grupo sanguíneo en el cual estaban incluídas era el correcto.

Otro control usado es que con cada grupo de láminas a estudiar con el RCA se incluía una sección de cuello uterino del mismo grupo sanguíneo (el epitelio de este tejido contiene normalmente gran cantidad de isoantígeno). Esto nos permitía controlar la sensibilidad y especificidad

de la prueba y además, sospechar o detectar errores técnicos. Si el control (cérvix) nos daba una reacción débilmente positiva o negativa, los reactivos eran chequeados incluyendo los antisueros y los eritrocitos indicadores. Si los reactivos estaban en buenas condiciones la reacción RCA se repetía.

Además, cada tejido sometido a la reacción RCA tiene controles que se encuentran incluidos en él; por ejemplo, las células endoteliales de los vasos son siempre positivas (3) en cualquier tejido que se estudien (control positivo), y el tejido conectivo por el contrario, es siempre negativo.

RESULTADOS

En los cistomas serosos benignos, que corresponden al grupo 1a de la clasificación histológica FIGO incluimos: a) los casos en los cuales la cavidad quística se encontraba tapizada por una sola hilera de células cuboidales o cilíndricas bajas (Fig. 1), y los casos con cambios metaplásicos hacia elementos endometrioides o al epitelio de la trompa uterina, manifestados por la presencia de células secretorias típicas y/o células ciliadas dispuestas en una o varias hileras (Fig. 2); b) cistomas serosos tapizados por células cuboidales o cilíndricas bajas, con moderada proliferación celular pero con proyecciones papilares (Fig. 3); c) también incluimos aquellas neoplasias benignas formadas por anchas elevaciones fibromatosas tapizadas por epitelio coelómico (fibroadenoma del ovario) (Fig. 4). En estos quistes benignos la prueba RCA fue positiva en el epitelio y en sus secreciones, cuando éstas estaban presentes. De los 100 casos correspondientes a esta categoría 1a, conseguimos que 52,5% de los cistomas serosos corresponden al grupo sanguíneo O; 25% corresponden al grupo sanguíneo A; 19% al grupo sanguíneo B, y 4% al grupo sanguíneo AB.

Los cistadenocarcinomas serosos que corresponden al grado 1c de la clasificación FIGO, incluyen los carcinomas quísticos y/o sólidos con pronunciada atipia celular y numerosas mitosis. En ciertas áreas las neoplasias se presentan como sólidas masas de células anaplásicas con tendencia, en ocasiones, de presentar estructuras de aspecto glandular. En esta categoría estudiamos 20 casos y en todos ellos el resultado de la prueba RCA fue uniformemente negativo (Figs. 5-6). Sin embargo, en este último grupo nos tropezamos con algunos tumores malignos en los cuales se podía observar, en ciertas áreas, una mezcla de prueba RCA positiva con RCA negativa; nosotros llamamos a esta reacción **más y menos**.

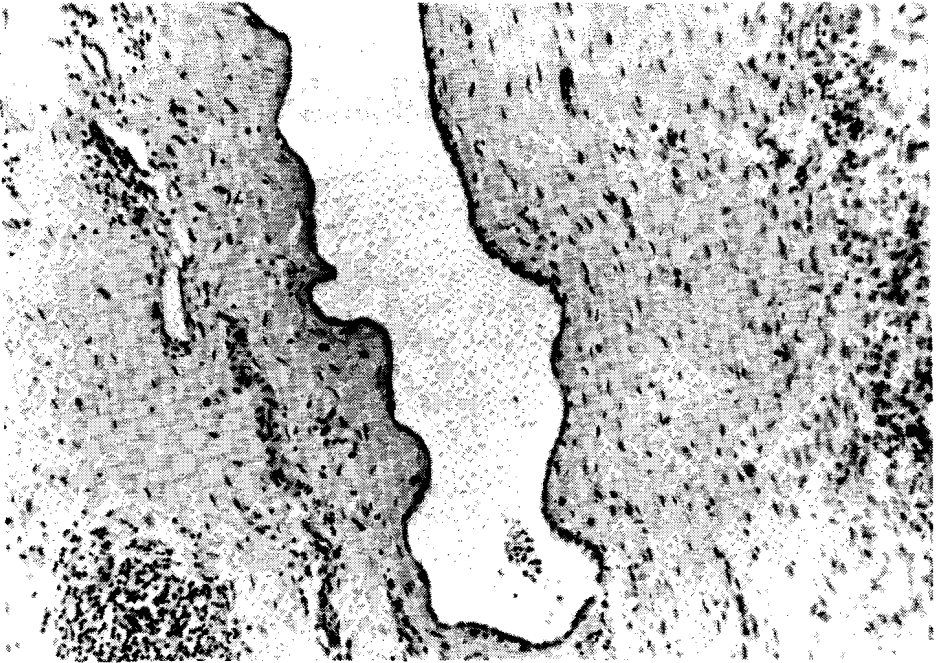


Fig. 1A.— Hematoxilina y eosina. Cistoma seroso tapizado por células mesoteliales bajas. Magnificación: 100 X.

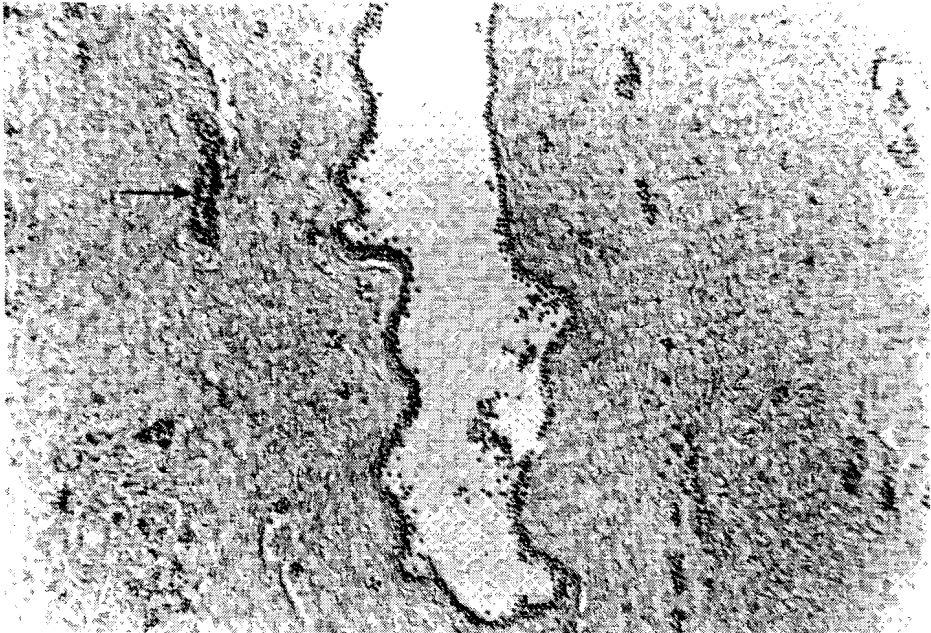


Fig. 1B.— Prueba RCA positiva a lo largo del epitelio quístico. El estroma ovárico da una reacción negativa. El endotelio vascular da una reacción positiva (flecha). Magnificación. 100 X.

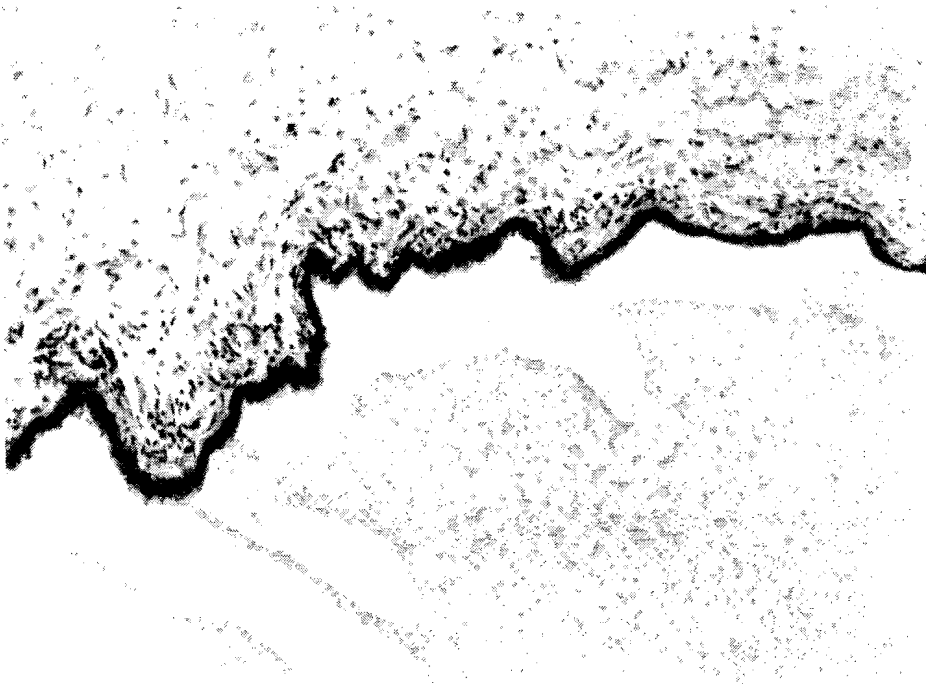


Fig. 2A.— Hematoxilina y eosina. Revestimiento de células ciliadas cilíndricas en un cistadenoma seroso. Nótese la secreción en el interior del quiste. Magnificación: 100 X.

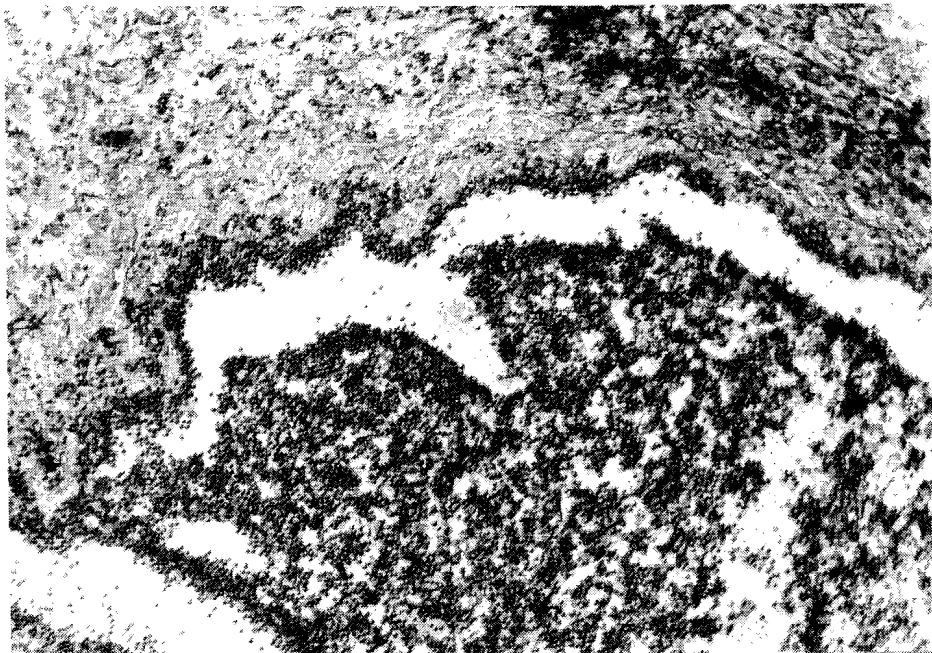


Fig. 2B. Prueba RCA fuertemente positiva a lo largo del epitelio de revestimiento quístico y en su secreción. Magnificación: 100 X.



Fig. 3A.— Hematoxilina y eosina. Cistadenoma papilar seroso. Obsérvese la proliferación uniforme del epitelio. Magnificación: 100 X.



Fig. 3B.— Prueba RCA positiva a lo largo del epitelio papilar benigno. Magnificación: 100 X.



Fig. 4A.— Hematoxilina y eosina. Prolongaciones papilares anchas con proliferación de tejido fibro-conectivo y revestidas de epitelio cilíndrico. Magnificación: 100 X.

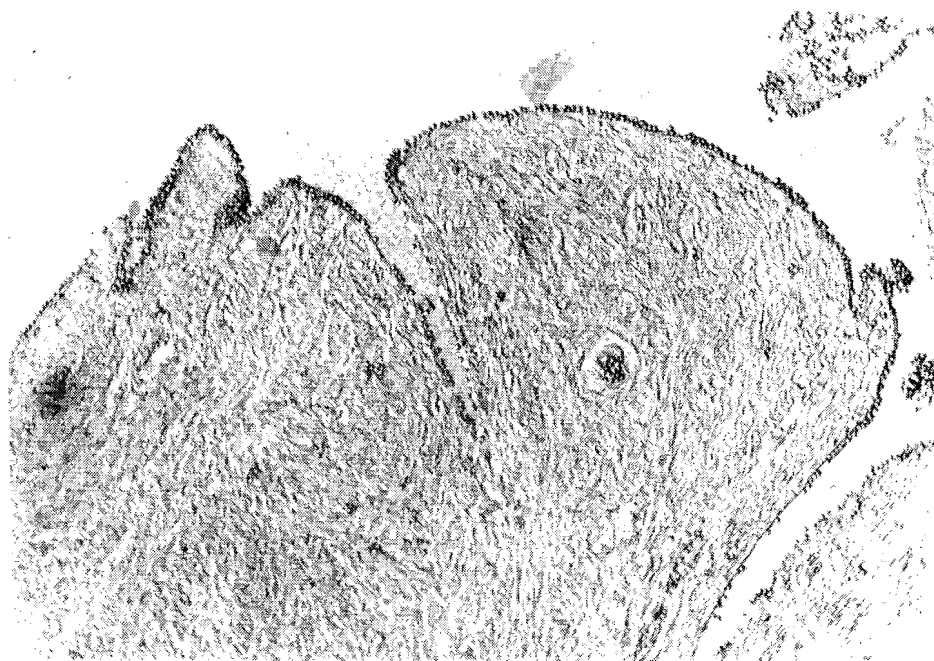


Fig. 4B.— Prueba RCA positiva a lo largo del epitelio de la neoplasia benigna. Magnificación: 100 X.

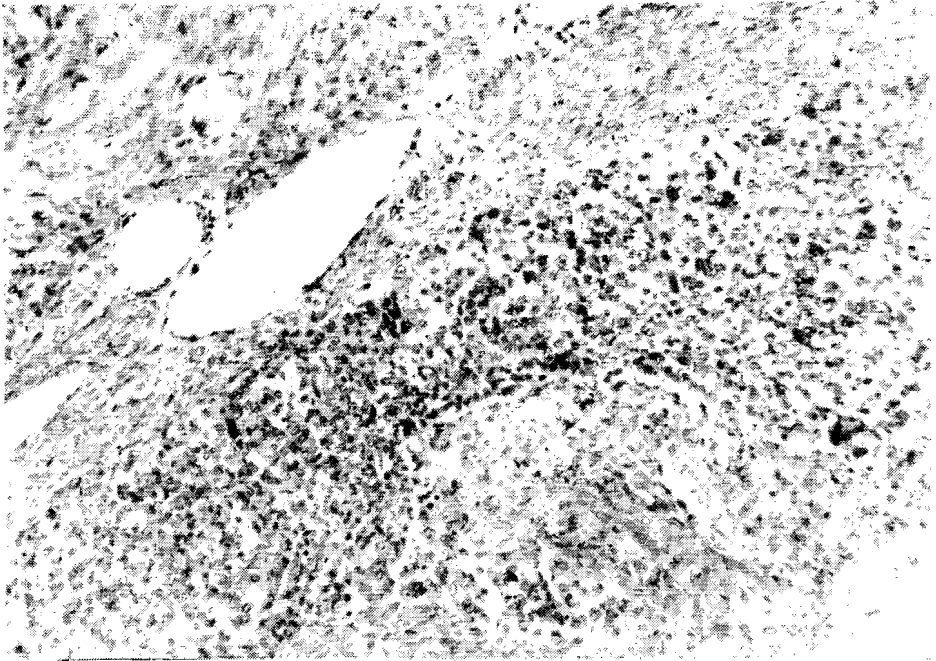


Fig. 5A.— Hematoxilina y eosina. Cordones de células anaplásicas con frecuentes mitosis de un cistadenocarcinoma seroso. Obsérvense vasos sanguíneos dilatados. Magnificación: 100 X.



Fig. 5B.— Prueba RCA uniformemente negativa en las células malignas. La prueba RCA positiva (flecha) en el endotelio vascular. Magnificación: 100X.

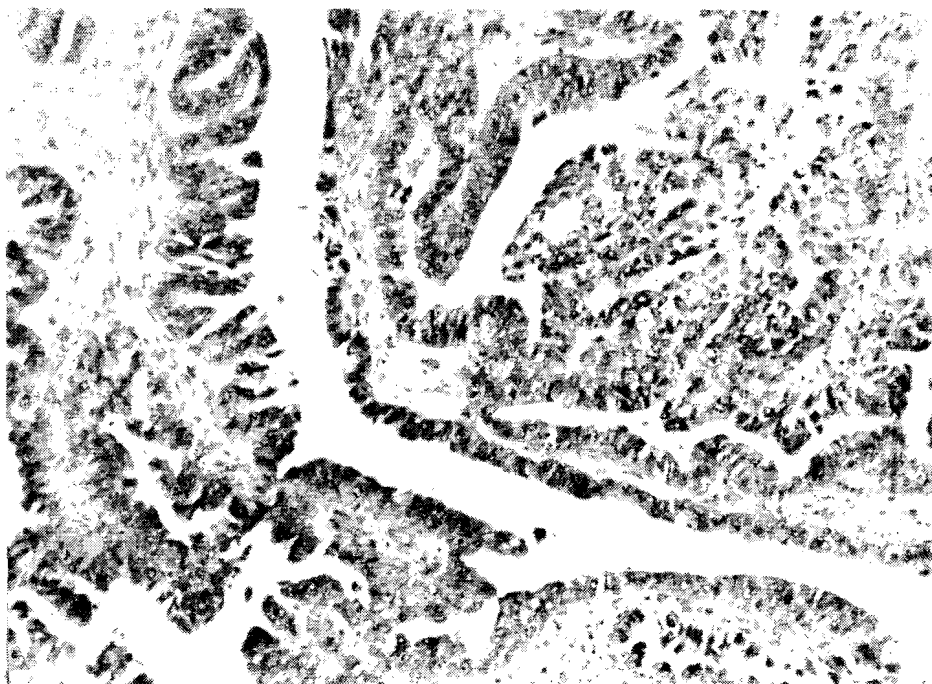


Fig. 6A.— Hematoxilina y eosina. Cistadenocarcinoma papilar seroso con epitelio anaplásico y frecuentes mitosis. Magnificación: 100 X

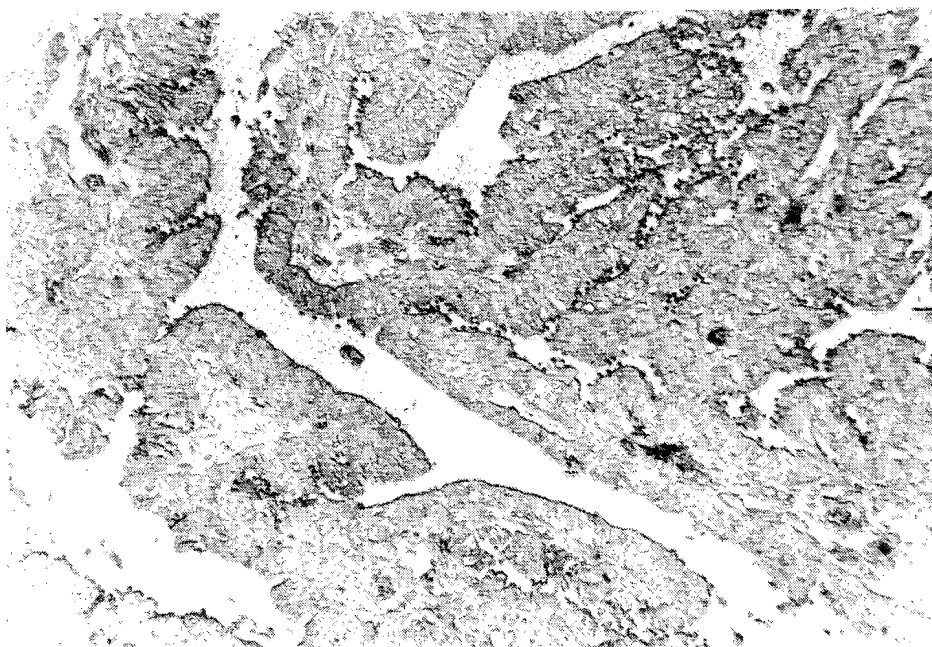


Fig. 6B.— Prueba RCA negativa a lo largo del epitelio neoplásico maligno. Nótense algunos glóbulos rojos indicadores sobre células neoplásicas funcionantes, probablemente benignas. Magnificación. 100 X.

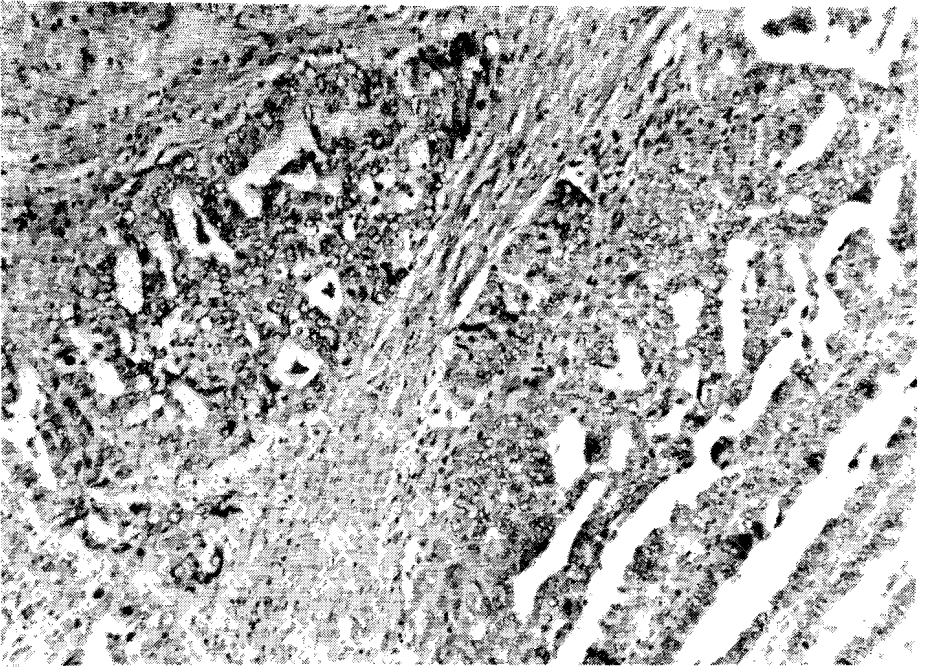


Fig. 7A.— Hematoxilina y eosina. Cistadenocarcinoma con marcada proliferación anaplásica, con frecuentes mitosis. Magnificación: 100 X.

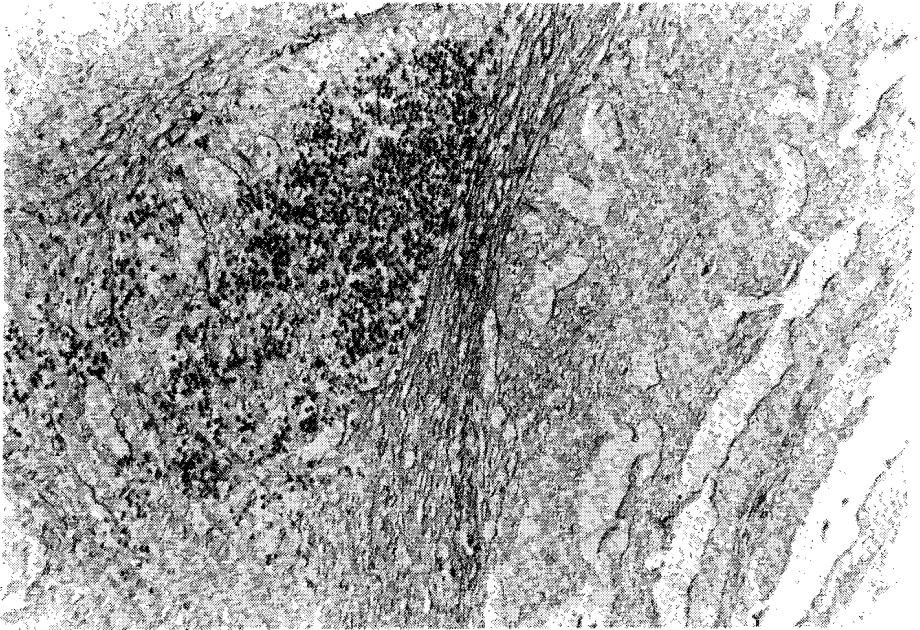


Fig. 7B.— Prueba RCA negativa, porción derecha de la foto. En la porción izquierda el RCA da una reacción mas y menos, demostrando que en esa masa neoplásica existen células funcionantes, probablemente benignas. Magnificación: 100 X.

Las áreas negativas que son las que corresponderían a las menos y que son las que en general predominan en la lesión, corresponden a células con transformación francamente maligna en las cuales se basa el diagnóstico carcinoma con la prueba RCA, y las células con reacción positiva corresponderían a células neoplásicas funcionales probablemente benignas (Fig. 7). Esta combinación de reacción fue vista circunscrita a una sola área o repartida de manera difusa en el tumor, y representaban una pequeña proporción en la lesión tumoral en relación a las extensas áreas negativas. De los 20 casos con el diagnóstico de cistadenocarcinomas serosos estudiados, 55% de ellos correspondió al grupo A, 25% al grupo sanguíneo O, y el 20% al grupo sanguíneo B.

DISCUSION

Con este estudio se ha demostrado que los cistadenocarcinomas serosos contienen en su epitelio y en sus secreciones grandes cantidades de los isoantígenos A, B y H. Los quistes serosos se originan a partir del epitelio germinal el cual normalmente contiene los isoantígenos (6).

La cantidad de antígeno presente en esta neoplasia benigna depende de dos factores: del grado de la proliferación celular benigna y de la presencia o ausencia del contenido líquido del quiste, el cual con frecuencia se pierde durante el proceso del tejido. En este fluido pudimos constatar gran cantidad del correspondiente antígeno (Fig. 2).

Los cistadenocarcinomas serosos pierden el correspondiente antígeno el cual estaba presente en el epitelio germinal del cual él se originó. La pérdida del antígeno era prácticamente absoluta en los carcinomas serosos más altamente anaplásicos. En otros carcinomas serosos se constató la reacción más y menos, lo cual indica que los cambios malignos no son un fenómeno estacionario si no que es un proceso progresivo. El estudio histológico de este último grupo, donde se consiguió la reacción mas y menos, corresponde sin lugar a dudas a una lesión maligna, pero con la hematoxilina y eosina se hace imposible diferenciar estas dos variedades de proliferación celular. Es decir, que al lado de células anaplásicas malignas que no contienen o producen los isoantígenos conseguimos células proliferantes funcionalmente capaces de secretar el antígeno. Esto lo podemos apreciar con la prueba RCA pero no con la técnica de tinción de hematoxilina y eosina.

Las células que sufren transformaciones maligna presentan cambios morfológicos y funcionales (10). Pero no sabemos si son paralelos o cuáles son primero. Este estudio parece indicar que los cambios funcio-

nales al menos son mas aparentes. El RCA es una prueba inmunológica realizada a nivel celular. En las neoplasias del tejido ovárico, un diagnóstico a nivel celular es muy importante y creemos que la técnica RCA puede ayudar a alcanzar ese objetivo.

Un grupo muy especial dentro de los cistomas serosos, de acuerdo con la clasificación FIGO, lo constituye el 1b: los cistadenocarcinomas papilares serosos de bajo grado de malignidad o potencialmente malignos (Tabla I). Ellos constituyen neoplasias con epitelio uniformemente proliferativo con la formación de verdaderas papilomatosis y anomalías nucleares, algunas mitosis, y con numerosos cuerpos de psamoma.

Esta variedad de tumor es considerado histológicamente benigno, pero clínicamente maligno (2, 7), pues tiende a implantarse y crecer progresivamente en la cavidad peritoneal, trayendo como consecuencia ascitis y obstrucción intestinal, pero muy raramente producen metástasis a distancia.

Estos cistomas serosos potencialmente malignos están siendo objeto, actualmente, de un estudio especial por parte de nosotros con la reacción RCA, la cual suponemos nos permitirá en el futuro valorar la neoplasia estudiada tomando en cuenta la extensión o porcentaje del tumor que funcionalmente ha perdido la capacidad de producir los isoantígenos.

Estas neoplasias potencialmente malignas también son observadas en los cistomas mucinosos (7). Según algunos autores son más comunes entre estos últimos que dentro de los cistomas serosos (7).

ABSTRACT

The red cell adherence (RCA) test in serous cystadenomas and serous cystadenocarcinomas. *Gaskin de Urdaneta, A. (Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela).* *Invest Clín.* 18(1): 33-47, 1977.— The difference in the contents of the blood group substances A, B and H in the benign and malignant serous cystomas was investigated. The study was done on 120 neoplasmas using the Red Cell Adherence (RCA) test described by Davidsohn. We demonstrated that the benign serous cystoma contain large quantities of the A, B and H antigen in the epithelium and their secretions. The amount of antigen present depend on two factors: 1) the density of the benign cellular proliferation and 2) the presence or absence of the cystic fluid. The serous cystadenocarcinoma loses the corresponding antigen that was present in normal germinal epithelium. We suggest that this finding could be important in the diagnosis of this type of tumors.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AURE JESUS CHR, HOEG KARI, KOLSIAD P: Clinical and histologic study of ovarian carcinoma. Low term follow-up of 990 cases. *J Obst Gynecol* 137: 1-9, 1971.
 - 2- CONRAD J, WOODRUFF JD: The biologic behaviour of low grade papillary serous carcinoma of the ovary. *J Obst Gynecol* 40: 860-867, 1972.
 - 3- DAVIDSOHN I, KOVARIK S, LEE CL: A, B and O substances in gastrointestinal carcinoma. *Arch Pathol* 81: 381-390, 1966.
 - 4- DAVIDSOHN I: Early immunologic diagnosis and prognosis of carcinoma. Philip Levine Award Address. *Amer J Clin Pathol* 57: 715-730, 1972.
 - 5- ENGLAND M, DAVIDSOHN I: Isoantigens A, B and H in carcinoma of the Fallopian tube. *Arch Path* 96: 330-354, 1973.
 - 6- GASKIN DE URDANETA A, DAVIDSOHN I: Distribution of the A, B and H blood group antigens in normal ovarian. *Invest Clin*. 18(1): 12-32, 1977.
 - 7- HART WR, NORRIS J: Bordeline and malignant mucinous tumors of the ovary. *Cancer* 31: 1031-1045, 1973.
 - 8- INTERNATIONAL FEDERATION OF GYNECOLOGY AND OBSTETRICS: Classification and staging of malignant tumors in the female pelvis. *J Int Fed Gynec* 3: 204, 1965.
 - 9- KOVARIK S, DAVIDSOHN I, STEJSKAL R: A, B, O antigens in cancer. Detection with the mixed cell agglutination reaction. *Arch Path* 86: 12-21, 1968.
 - 10- TAYLOR H.C: Studies in the clinical and biological evaluation of adenocarcinoma of the ovary. *J Obst Gynecol of the British Empire*. 66: 827-842, 1959.
-