

NOÉ ZAMEL

O Diagnóstico Citológico
do Câncer Gástrico:

EXPERIÊNCIA PESSOAL

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

1958



Bib. Fac. Med. UFRGS

T-1031

O diagnostico citologico do ca

05300771

MED

T

W1149 Z24d 1958

[000313701] Zamel, Noe. O diagnóstico
citológico do câncer gástrico : experiência
pessoal. 1958. 110 p. : il.

BIBLIOTECA DE MEDICINA

UFMG-HCPA

Chamada;

T

Z24d

1958

registro; 391

data; 18.11.92

da Obra;

Ao dedicado mestre,

DR. JOSÉ MARTINS JOB

pelo apoio e estímulo, oferece
êste trabalho, com todo o aprêço,
seu discipulo e amigo,

N. Z.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	7
HISTÓRICO	9
FUNDAMENTOS E DIFICULDADES DA CITOLOGIA GÁSTRICA	
I — Fatores desfavoráveis intrínsecos	20
II — Fatores desfavoráveis extrínsecos	22
III — Fatores favoráveis	24
MÉTODOS DE COLHEITA	
I — Aspiração do líquido gástrico de jejum	26
II — Lavado gástrico	26
III — Inclusão em parafina	27
IV — Balão abrasivo gástrico de Panico, Papanicolaou e Cooper ..	28
V — Balão abrasivo antral de Rubin e col.	30
VI — Escóva gástrica rotatória de Ayre e Oren	30
VII — Escóva abrasiva gástrica de "nylon" de Nieburgs	32
VIII — Instrumento de Henning e Witte	32
IX — Esponja biópsia	33
X — Papaína	34
XI — Quimotripsina	36
PREPARAÇÃO DOS ESFREGAÇOS	38
FIXAÇÃO	38
COLORAÇÃO	
I — Processos de coloração	40
II — Preparação e característicos dos corantes empregados no pro- cesso de Papanicolaou	43
III — Contaminação dos esfregaços durante o processo de coloração	46
CITOLOGIA NORMAL DO ESTÔMAGO	48
CITOLOGIA GÁSTRICA ATÍPICA NÃO MALIGNA	50
CITOLOGIA NAS LESÕES MALIGNAS DO ESTÔMAGO	52
CLASSIFICAÇÃO DOS RESULTADOS	55

EXPERIÊNCIA PESSOAL

MATERIAL E MÉTODOS

I — Casuística	59
II — Métodos de colheita	60
III — Procedimentos nos pacientes com obstrução pilórica	62
IV — Número de esfregaços	62
V — Fixação	62
VI — Coloração	71
VII — Observação microscópica	75

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

I — Grupo normal	75
II — Grupo de lesões gástricas benignas	77
III — Grupo de lesões gástricas malignas	81

MICROFOTOGRAFIAS	93
------------------------	----

CONCLUSÕES	103
------------------	-----

RESUMO	104
--------------	-----

BIBLIOGRAFIA	105
--------------------	-----

INTRODUÇÃO

O câncer gástrico constitui um problema de difícil solução diagnóstica. Deve-se, pois, dedicar todos os esforços no sentido de ampliar o arsenal dos recursos que possibilitem seu reconhecimento. Dentre estes destaca-se a citologia gástrica.

Após o avanço que Papanicolaou imprimiu à citologia geral, sua aplicação no diagnóstico do câncer gástrico vem cada vez mais sendo objeto de exaustivos trabalhos, tentando aperfeiçoar métodos que sejam de fácil execução e alta eficiência.

Entre nós, esse tema vem obtendo um realce cada vez maior. Já em 1956 o Prof. Lopes Pontes apresentava uma Tese ao Concurso de Cátedra de Clínica Médica (Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro), versando sobre o citodiagnóstico do câncer gástrico.

Compreendendo a importância e a atualidade da citologia gástrica, é que nos dispusemos a pesquisar sua aplicabilidade e sua eficiência no diagnóstico do câncer gástrico.

Várias etapas tiveram que ser necessariamente dominadas. Inicialmente aprendemos a colher o material, desenvolvendo todas as técnicas habitualmente descritas. A seguir, nos enfronhamos no problema da fixação e coloração. Não constituiu tarefa fácil obter bons preparados com a técnica de Papanicolaou. Finalmente, o passo mais difícil foi, sem dúvida, o da interpretação citológica.

Esfregaços obtidos diretamente de estômagos normais, estômagos com gastrite, úlceras benignas ou tumores malignos, propiciaram situações especiais para que nos tornássemos bastante familiarizados com os aspectos normais e patológicos da citologia gástrica.

O presente trabalho tem o propósito de expor nossa experiência sobre a possibilidade de reconhecer células malignas em pacientes portadores de blastomas gástricos, pelo exame citológico, e que tal fato pode contribuir para o diagnóstico final.

Aproveitamos a oportunidade para manifestar nosso reconhecimento ao Dr. Nilo Pereira Luz, Prof. Paulo de Q. T. Tibiriçá, Dr. Martin G. Graudenz, Dr. Raul Krebs, Dr. Carlos H. Wallau, Dr. Gorki Mecking de Lima, Dr. Jorge Velho, Dr. Nathan Roitman, Dr. Dakir Duarte, Dr. Sílvio Eiffler e Dr. Leo Weiss, pela valiosa colaboração que nos prestaram neste trabalho.

HISTÓRICO

A primeira referência na literatura médica com respeito ao diagnóstico citológico do câncer gástrico é devida a Rosenbach¹, em 1882. Procurando deliberadamente encontrar células cancerosas no suco gástrico de doentes suspeitos de carcinoma do estômago, teve oportunidade de encontrá-las em três casos.

Jaworski² em 1886, Ewald³ em 1893 e Boas⁴ em 1896, relataram o achado de células cancerosas no suco gástrico recolhido por aspiração e no material proveniente de vômitos espontâneos.

Em 1897, Reineboth⁵ relatou o achado de células malignas em cinco de oito pacientes portadores de carcinoma gástrico que submeteu à lavagem gástrica.

As possibilidades diagnósticas do suco gástrico foram motivo de minuciosa atenção por parte de Schmidt⁶ em 1896, concluindo que o exame citológico em material recolhido do estômago, poderia oferecer excelentes perspectivas para o diagnóstico do câncer gástrico.

Em 1909, Marini⁷ apresentou um estudo de 37 casos de carcinoma gástrico, dos quais 32 foram corretamente diagnosticados pelo exame das células a fresco e sem coloração.

Zemanski⁸, em 1928, usando fixação em formol e inclusão em parafina, a partir do suco gástrico, diagnosticou apenas um dos cinco casos de carcinoma gástrico que estudou.

Loeper e Binet⁹, em 1911, além do interesse da identificação das neoplasias malignas pelo exame do suco gástrico, dedicaram particular atenção às alterações inflamatórias que ocorriam no estômago.

A partir de 1922, esse novo aspecto, o da leucocitose gástrica, passou a apaixonar os estudiosos. Lideraram essas pesquisas Loeper e Marshall^{10, 11, 12} sendo seguidos por Konjetzny¹³ Moutier¹⁴, Westermann¹⁵ e Westphal e Weselman¹⁶, tendo os últimos, em 1939, elaborado técnica de contagem dos elementos figurados e estabelecendo fórmulas citológicas do suco gástrico normal e patológico, fundamentadas nas variações percentuais de leucócitos e células epiteliais.

As preocupações quanto à leucopedese gástrica avançaram até 1947, quando Tomenius¹⁷ apresentou exaustiva monografia sobre a citologia

gástrica quantitativa, na qual salientava a hiperleucocitose na gastrite, es-
tenose pilórica e úlcera duodenal, em contraste com a normalidade obser-
vada na úlcera gástrica.

Em 1942 era ainda empregado o método de Ehrlich pelo qual o
material era examinado a fresco, não corado. Com este método, Frischman
e Gorin¹⁸, em 1942, conseguiram 44,4% de positividade para maligni-
dade em 45 pacientes portadores de carcinoma gástrico.

O advento da coloração de Papanicolaou¹⁹ veio propiciar melhores
condições para a pesquisa de células cancerosas, dando marcado impulso à
citologia do estômago.

Quatro anos após, Papanicolaou²⁰ apresentou seu primeiro trabalho
com referência à citologia gástrica, no qual corava pelo processo de sua
autoria as células do suco gástrico de 9 pacientes, dois dos quais porta-
dores de neoplasia gástrica maligna e que foram corretamente diagnosti-
cados pelo exame citológico.

Seguiram-se inúmeros trabalhos visando melhorar as perspectivas do
diagnóstico citológico do câncer gástrico. O aperfeiçoamento das técnicas
de colheita, desenvolvido nos últimos anos, muito contribuiu para esse
propósito.

Procedemos a uma revisão da literatura médica que nos foi possível
coligir, a respeito da citologia gástrica e comparamos os resultados dos
principais trabalhos que se sucederam à publicação inicial de Papanicolaou.

Apresentamos a seguir uma tabulação dos resultados consignados em
39 publicações, os quais são expressos segundo os índices percentuais dos
exames citológico, radiológico e gastroscópico relacionados aos grupos de
pacientes com lesões malignas e benignas.

AUTORES	MÉTODO	ANO	PAC.	% CITOLÓGICO			% RADIOLÓGICO			% GASTROSCÓPICO			
				POS.	SUSP.	NEG.	POS.	SUSP.	NEG.	Pos.	Susp.	Neg.	Ins.
Papanicolaou ²⁰	Aspiração	1946	M — 2 B — 7	100.0 0	0 0	0 100.0							
Papanicolaou e Cooper ²¹	Aspiração	1947	M — 27 B — 110	37.0 0	25.9 8.2	37.0 91.8							
Graham, Ulfelder e Green Jr. ²²	Aspiração	1948	M — 24 B — 26	62.5 3.8	0 0	37.5 96.2							
Block, Hall, Pollard e Bryant ²³	Aspiração	1948	M — 40 B — 187	53.0 12.0	0 0	47.0 88.0	38.0 16.0	0 0	62.0 84.0				
Ulfelder, Graham e Meigs ²⁴	Lavado	1948	M — 15 B — 33	80.0 3.0	6.6 6.0	13.3 91.0							
Fremont-Smith, Graham e Meigs ²⁵	Aspiração	1948	M — 65 B — 128	53.8 2.2	0 0	46.1 97.7							
Pollard, Bryant, Block e Hall ²⁶	Aspiração	1949	M — 61 B — 217	59.0 15.0	0 0	41.0 85.0	36.0 13.0	0 0	64.0 87.0				
Bryant, Craig e Pollard ²⁷	Aspiração e Lavado	1949	M — 74 B — 305	33.0 6.5	15.8 10.8	51.1 81.9							
Richardson, Queen e Bishop ²⁸	Parafina	1949	M — 27 B — 51	66.7 3.9	0 0	33.3 96.1							
Botsford e Turker ²⁹	Lavado	1950	M — 23 B — 101	74.0 4.0	0 0	26.0 96.0							
Swarts, Ragins, Bernstein e Meyer ³⁰	Lavado	1950	M — 67 B — 99	44.0 10.0	0 0	56.0 90.0							

AUTORES	MÉTODO	ANO	PAC.	% CITOLÓGICO			% RADIOLÓGICO			% GASTROSCÓPICO			
				POS.	SUSP.	NEG.	POS.	SUSP.	NEG.	Pos.	Susp.	Neg.	Ins.
Panico, Papanicolaou e Cooper ³¹	Balão	1950	M — 17 B — 16	82.3 0	11.8 12.5	5.9 87.5							
Seybolt, Papanicolaou e Cooper ³²	Lavado	1951	M — 168 B — 707	32.8 2.5	18.4 10.2	48.8 87.3							
Imbriglia, Stein e Lopusniak ³³	Lavado	1951	M — 23 B — 49	87.0 10.2	0 0	13.0 89.8	87.0 24.5	0 0	13.0 75.5				
Daiber, Etchaverry, Katz e Guzmán ³⁴	Lavado	1951	M — 44 B — 63	30.0 0	4.0 5.0	66.0 95.0	72.0 0	15.0 5.0	13.0 95.0	76.0 0	6.0 5.0	6.0 62.0	12.0 33.0
Daiber, Etchaverry, Katz e Guzmán ³⁴	Balão	1951	M — 18 B — 15	67.0 0	22.0 20.0	11.0 89.0	78.0 0	11.0 7.0	11.0 93.0	64.0 0	18.0 0	9.0 54.5	9.0 45.5
Aijian, Browell ³⁵	Aspiração	1951	M — 15 B — 113	60.0 0	0 0	40.0 100.0							
Wollum, Glasser, Bryant e Pollard ³⁶	Parafina	1952	M — 94 B — 474	26.7 1.2	19.7 7.8	53.5 91.0							
Sicard, Périer, Godet e Besimensky ³⁷	Balão	1952	M — 6 B — 12	66.6 0	16.6 0	16.6 100.0							
Traut, Rosenthal, Harrison, Farber, Grimes ³⁸	Papaína	1952	M — 42 B — 358	75.0 0.8	7.5 0	17.5 99.2							
Traut, Rosenthal, Harrison, Farber, Grimes ³⁸	Lavado	1952	M — 60 B — 540	54.5 0.7	3.6 0	41.9 99.3							
Panico ³⁹	Balão	1952	M — 30 B — 120	93.0 0	0 0	7.0 100.0							

AUTORES	MÉTODOS	ANO	PAC.	% CITOLÓGICO			% RADIOLÓGICO			% GASTROSCÓPICO			
				POS.	SUSP.	NEG.	POS.	SUSP.	NEG.	Pos.	Susp.	Neg.	Ins.
Cooper e Papanicolaou ⁴⁰	Balão	1953	M — 51 B — 187	74.5 0.5	13.7 4.8	11.7 94.7							
Rubin, Massey, Kirsner, Palmer, Stonecypher ⁴¹	Balão e Quimotr.	1953	M — 42 B — 69	83.3 4.3	0 0	16.6 95.7							
Chapman, Klopp, Platt ⁴²	Balão	1953	M — 1 B — 42	0 2.3	0 2.3	100.0 95.4	100.0 0	0 0	0 100.0				
Bastos, Villaça, Teixeira, Faci, e outros ⁴³	Aspiração Lavado Balão	1954	M — 12 B — 54	66.6 0	16.6 0	16.6 100.0							
Lima ⁴⁴	Escôva de Ayre	1954	M — 5 B — 9	100.0 0	0 0	0 100.0	100.0 11.1	0 0	0 88.8				
Willmer, Nieburgs e Fuchs ⁴⁵	Escôva de Ayre	1955	M — 9 B — 45	88.8 8.8	0 0	11.1 91.1							
Rubin, Klayman, Kirsner ⁴⁶	Balão e Quimotr.	1955	M — 6 B — 5	83.3 0	0 0	16.6 100.0	50.0 80.0	0 0	50.0 20.0	25.0 50.0	0 0	75.0 50.0	
Zamcheck, Grable, Jankelson, Small, Longarine ⁴⁷	Lavado Esc. Ayre Balão	1955	M — 8 B — 50	87.5 2.0	0 0	12.5 98.0							
Browne, Mitchell, Welch e Sorrell ⁴⁸	Escôva de Ayre	1955	M — 17 B — 39	23.5 0	35.3 0	41.2 100.0	88.4 28.6	0 0	11.6 71.4	53.1 14.2	35.3 42.9	11.6 42.9	
Klayman, Massey, Pleticka, Galambos, Brandborg, Kirsner e Palmer ⁴⁹	Quimotripsina	1955	M — 75 B — 238	80.0 1.7	0 0.4	20.0 97.9	58.6 7.7	12.0 32.0	29.3 60.2	55.8 4.6	11.6 11.6	16.3 69.8	16.3 14.0

AUTORES	MÉTODO	ANO	PAC.	% CITOLÓGICO			% RADIOLÓGICO			% GASTROSCÓPICO			
				POS.	SUSP.	NEG.	POS.	SUSP.	NEG.	Pos.	Susp.	Neg.	Ins.
Fischman e Terzano ⁵⁰	Balão	1955	M — 18	72.2	5.5	22.2	72.2	5.5	22.2				
			B — 30	3.3	6.6	90.0	0	16.6	83.3				
Ross e Crozier ⁵¹	Escóva de Ayre	1956	M — 52	100.0	0	0							
			B — 53	1.8	0	98.1							
Fischman, Terzano e Rubens ⁵²	Balão	1956	M — 16	75.0	6.2	18.8	81.2	6.3	12.5				
			B — 19	5.3	10.5	84.2	0	10.5	89.5				
Seybolt e Papanicolaou ⁵³	Balão	1957	M — 114	66.6	17.6	15.8	68.5	17.6	13.9				
			B — 421	0.3	5.2	94.5	4.0	8.0	88.0				
Ross, McGrath, Crozier, Rohart e Middleton ⁵⁴	Lavado Esc. Ayre Balão	1958	M — 41	71.0	5.0	24.0	67.5	20.0	12.5				
			B — 151	0.6	0.6	98.7	6.0	18.5	75.5				
Raskin, Kirsner e Palmer ⁵⁵	Lavado	1951 a 56	M — 197	84.8	0	15.2							
			B — 778	1.3	0	98.7							
		1955 a 56	M — 82	95.1	0	4.9							
			B — 306	0.6	0	99.4							
Pontes ⁵⁶	Lavado Esc. Ayre Balão Quimotr.	1958	M — 19	63.2	21.0	15.8	60.4	22.5	12.1	81.4	17.5	1.1	0
			B — 62	0	0	100.0	15.5	28.2	46.9	3.2	6.3	75.0	15.5
San Juan ^{57, 58}	Quimotrip-sina	1958	M — 24	87.5	0	12.5	79.1	0	20.9	76.9	0	23.1	
			B — 58	2.9	0	97.1	32.8	0	67.2	9.5	0	90.5	

PAC. — Número de pacientes; M — Pacientes com lesões malignas; B — Pacientes com lesões benignas; CITOLÓGICO — Resultados dos exames citológicos; RADIOLÓGICO — Resultados dos exames radiológicos; GASTROSCÓPICO — Resultados dos exames gastroscópicos; POS. — Positivo; SUSP. — Suspeito; NEG. — Negativo; INS. — Insatisfatório. Resultados expressos em percentagem.

Apreciação dos resultados

Os resultados dos exames citológicos relatados pelas 39 publicações anteriormente tabuladas, que abrangem o período de 1946 a 1958, fornecem as seguintes médias percentuais (Tabela A):

TABELA A

	N.º	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Pac. c/lesões malignas	1731	63,3 ± 1,16	7,3 ± 0,63	29,4 ± 1,09
Pac. c/lesões benignas	6347	2,6 ± 0,20	3,1 ± 0,22	94,3 ± 0,29

Tendo em vista verificar a evolução do método nos últimos anos, fragmentamos o total daquelas publicações em dois períodos: de 1946 a 1952, com 20 publicações, e de 1953 a 1958, com 19 publicações. Comparamos os resultados como se segue (Tabelas B e C):

TABELA B

Pacientes com lesões gástricas malignas:

	N.º de pacientes	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
1946 — 1952	942	49,4 ± 1,63	8,9 ± 0,93	41,7 ± 1,61
1953 — 1958	789	79,9 ± 1,42	5,4 ± 0,77	14,7 ± 1,27
t*		14,11	2,86	13,24

TABELA C

Pacientes com lesões gástricas benignas:

	N.º de pacientes	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
1946 — 1952	3 731	3,6 ± 0,35	4,3 ± 0,36	92,1 ± 0,44
1953 — 1958	2 616	1,3 ± 0,17	1,4 ± 0,20	97,3 ± 0,26
t*		5,85	7,00	10,11

Comparando-se os últimos cinco anos com o período anterior, verificamos um progresso na eficácia do método. Assim, observamos um aumento do grau de positividade e uma diminuição do grau de negatividade e de suspeita no grupo de pacientes com lesões gástricas malignas, sendo a diferença estatisticamente significativa em tôdas as comparações. No grupo de pacientes com lesões benignas, verificamos um decréscimo dos resultados falsos-positivos e falsos-suspeitos com conseqüente aumento da média de negatividade, havendo também diferença estatisticamente significativa em tôdas as comparações.

Emprego de técnicas de colheita isoladas:

Uma vez certificados da melhor eficiência do exame citológico nos últimos anos, decidimos saber qual dos métodos de colheita tem-se mostrado o mais eficiente e se a combinação dos diferentes processos de colheita no mesmo paciente, aumenta a capacidade diagnóstica do método.

Agrupamos as publicações do 2.º período (1953-1958) de acôrdo com o processo de colheita que foi empregado isoladamente. Seguem-se as médias percentuais encontradas (Tabelas D, E, F e G):

* Nestas tabelas, como nas demais, em que usamos o teste de Student, $t \cong 2,58$ indica que a diferença é estatisticamente significativa para $P = 0,01$.

TABELA D
Lavado gástrico (2 publicações)

	N.º	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Pac. c/lesões malignas	279	87,8 ± 1,96	0	12,2 ± 1,96
Pac. c/lesões benignas	1 084	1,1 ± 0,10	0	98,9 ± 0,10

TABELA E
Escóvas (4 publicações)

	N.º	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Pac. c/lesões malignas	83	83,2 ± 4,10	7,2 ± 2,85	9,6 ± 3,58
Pac. c/lesões benignas	146	3,4 ± 1,49	0	96,6 ± 1,49

TABELA F
Quimotripsina (2 publicações)

	N.º	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Pac. c/lesões malignas	99	81,8 ± 3,88	0	18,2 ± 3,88
Pac. c/lesões benignas	296	2,0 ± 0,81	0,3 ± 0,31	97,7 ± 0,87

TABELA G
Balões (5 publicações)

	N.º	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Pac. c/lesões malignas	200	69,5 ± 3,25	14,5 ± 2,49	16,0 ± 2,59
Pac. c/lesões benignas	699	0,7 ± 0,32	5,1 ± 0,83	94,2 ± 0,88

A comparação entre os quatro métodos, no que se refere aos resultados positivos, no grupo de pacientes com lesões gástricas malignas, forneceu os seguintes valores de t (Tabela H):

TABELA H

Métodos comparados	t
Lavado e escôva	= 1,01
Lavado e quimotripsina	= 1,38
Lavado e balão	= 4,82
Escôva e quimotripsina	= 0,35
Escôva e balão	= 2,61
Quimotripsina e balão	= 2,43

Não há diferença significativa entre os resultados com o uso isolado do lavado, escôva e quimotripsina. Entretanto, houve diferença estatisticamente significativa com o emprêgo do balão que se mostrou inferior ao lavado e à escôva.

Emprêgo de técnicas de colheita associadas:

Com a finalidade de verificar se a associação de dois ou mais processos foi superior ao uso isolado de um deles, analisamos as publicações do segundo período (1953-1958), em número de seis e treze, respectivamente (Tabelas I e J):

TABELA I

Pacientes com lesões gástricas malignas:

	N. ^o de pacientes	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Processo isolado	661	80,9 ± 1,53	5,3 ± 0,87	13,8 ± 1,34
Processos associados	128	75,0 ± 3,83	6,3 ± 2,15	18,7 ± 3,45
t		1,43	0,43	1,32

TABELA J

Pacientes com lesões gástricas benignas

	N.º de pacientes	Positivo %	Suspeito %	Negativo %
Processo isolado	2 225	1,3 ± 0,24	1,7 ± 0,27	97,0 ± 0,36
Processos associados	391	1,3 ± 0,57	0,3 ± 0,28	98,4 ± 0,63
t		0	3,58	1,91

Não há diferença estatisticamente significativa entre os resultados positivos do grupo de pacientes com lesões gástricas malignas, quer empregando um método de colheita isoladamente, quer empregando diferentes métodos associados.

— Agradecemos ao Dr. Edgar Mário Wagner pela orientação da análise estatística.

FUNDAMENTOS E DIFICULDADES DA CITOLOGIA GÁSTRICA

I — FATORES DESFAVORÁVEIS INTRÍNSECOS.

1 — A digestão.

As células que descamam da parede gástrica, ganhando a luz do estômago, misturam-se com o suco gástrico, sofrendo sua influência. Sob um pH baixo, são submetidas à digestão pelas enzimas proteolíticas. Quando não são digeridas, como nos casos de acloridria, dá-se, depois de algum tempo, a autólise, que culmina com a desintegração completa dessas células. A morfologia assumida pelas células em fase de digestão pode prestar-se a perigosas interpretações.

Nas fases iniciais de nossos estudos, procedemos à digestão experimental de células normais raspadas de estômagos operados, submetendo-as à ação de suco gástrico normal. Verificamos então que as primeiras alterações que ocorriam eram a perda dos limites celulares seguida de vacuolização citoplasmática. A seguir sobrevinha cromatólise, desaparecimento do citoplasma e desintegração progressiva do núcleo. Alterações semelhantes foram observadas, quando submetíamos células do epitélio pavimentoso estratificado da boca e esôfago, ao contato com o mesmo suco. O tempo de aparecimento dessas modificações, no entanto, era maior que com as células colunares do estômago.

Cuidados especiais, portanto, convém serem tomados em relação à digestão celular, diminuindo ao máximo o tempo entre a colheita e a fixação e sabendo reconhecer a morfologia enganadora que as células digeridas assumem.

2 — A necrose.

O carcinoma medular e o sólido, devido à deficiente nutrição, facilmente se ulceram. A necrose que sobrevém nas camadas superficiais dos tumores malignos, impossibilita o reconhecimento dos caracteres de malignidade das células que são colhidas pelo exame citológico. Reflexão idêntica pode ser tomada em relação aos carcinomas muito anaplásticos. A opinião da maioria dos autores é que quanto mais avançada e extensa a lesão maligna, menor será sua probabilidade em ser reconhecida citologicamente ^{22, 30 e 32}.

3 — A barreira de muco.

O muco que reveste interiormente a parede gástrica desempenha um dos mais curiosos mecanismos de autodefesa orgânica. Além de impedir que a própria parede gástrica se exponha à ação de sua secreção, a protege das agressões mecânicas, térmicas ou químicas. Por outro lado, dado seu alto grau de agregação, a viscosidade dificulta o desprendimento das células que esfoliam além de dificultar consideravelmente a confecção dos esfregaços.

Visando contornar essas dificuldades, substâncias mucolíticas têm sido empregadas, fornecendo resultados mais animadores. As experiências iniciais efetuadas com a papaína^{38, 59} exigiam uma técnica de execução muito complexa. Surgiu então a quimotripsina⁴¹ que se mostrou de manipulação muito mais simples. Passou, então, esta última substância a polarizar a atenção dos estudiosos, sendo as referências na literatura, cada vez mais alentadoras^{46, 49, 56, 57, 58}.

4 — Inacessibilidade da lesão.

É óbvio que os tumores submucosos não poderão fornecer células que sejam surpreendidas pelos meios usuais de colheita. Tal se passa com as neoplasias gástricas de crescimento intramural, como os linfomas e sarcomas. Exceto por ocasião de ulceração, não poderão ser diagnosticados citologicamente. Por outro lado, tem constituído ponto pacífico na literatura, o fato de que o carcinoma esquirroso do estômago é o que tem menor probabilidade de ser reconhecido pelo exame citológico, em contraste com o adenocarcinoma³².

A localização da lesão suspeita constitui, também, um problema que deverá ser contornado. Assim, as lesões localizadas no fórnice gástrico serão inacessíveis à escôva, e outros métodos de colheita, por isso, deverão ser preferidos. Fato idêntico ocorre com as lesões de localização antral, pois que, dada a rigidez relativa do instrumento, nem sempre êste será levado à zona visada.

5 — Resíduos alimentares.

Os resíduos alimentares, bem como restos de bário que podem ficar retidos após exame radiológico, constituem sério obstáculo à pesquisa citológica.

Além de dificultar mecânicamente a obtenção de células gástricas, o material amorfo nos esfregaços pode ser de tal monta que cria sérios embaraços ao reconhecimento celular.

Em vista disso, tôdas as precauções deverão ser tomadas no sentido de limpar ao máximo o interior do estômago, antes que a colheita citológica seja praticada, redobrando-se os esforços quando houver reterção gástrica por estenose pilórica. Nestes casos, a lavagem gástrica abundante será feita uma ou mais vêzes, no dia que antecede o exame citológico e deverá ser repetida imediatamente antes da colheita.

6 — Sangramento.

Pelas mesmas razões expostas a respeito dos resíduos alimentares, os sangramentos copiosos contribuem para dificultar a colheita e a interpretação do exame citológico. Também aqui a limpeza prévia do estômago será uma medida vantajosa. Precauções mais rigorosas deverão ser tomadas por ocasião do manuseio do instrumental, para que o processo hemorrágico não venha a se tornar sério.

Cabe realçar que pequenas hemorragias são freqüentemente observadas com o uso da escôva e do balão, mas não representam, na prática, um perigo ponderável. Não conhecemos caso publicado em que êsses procedimentos ocasionassem morte ou cirurgia de urgência.

II — FATÔRES DESFAVORÁVEIS EXTRÍNSECOS.

I — Improriedade da colheita.

A demora no manuseio do material constitui um dos fatôres que contribuem mais marcadamente para o fracasso do método. A influência da digestão já foi assinalada. Queremos ressaltar, ainda, o fato de que a digestão iniciada na cavidade gástrica, continua se processando mesmo após o material já ter ganho o exterior e só cessará por efeito da fixação. Urge pois, perder o mínimo de tempo entre a colheita e a fixação.

Desde que o resíduo gástrico contribui desfavoravelmente para a eficiência do método, um mau esvaziamento ou uma deficiente limpeza do estômago acarretarão resultados imperfeitos.

A contaminação excessiva de saliva condiciona, além da diluição do material, um aumento da quantidade do muco, cujos inconvenientes já foram mencionados e um exagerado número de células do epitélio bucal.

2 — Dessecamento do material.

A permanência das células na lâmina em que sejam fixadas ocasiona distorções celulares que resultarão em difícil interpretação e frequentemente serão confundidas com células patológicas. O material deve ser imergido na solução fixadora tão pronto seja confeccionado o esfregaço.

Fato semelhante ocorre quando o frasco que contém as lâminas e a solução fixadora (álcool-éter), não está devidamente fechado, permitindo que a solução fixadora se evapore.

3 — Reduzido número de lâminas.

Um reduzido número de esfregaços pode dar uma visão muito circunscrita da patologia celular.

Lopes Pontes, em sua Tese⁵⁶, fez um meticoloso estudo a respeito do número satisfatório de lâminas a ser feito para um exame em boas condições. Em seus doentes suspeitos de câncer executou, em média, 27 esfregaços e pareceu-lhe que, pelo menos, 20 lâminas deveriam ser feitas em cada caso, para oferecer suficiente segurança diagnóstica, dado que, mesmo com as mais atentas precauções, de um terço à metade das preparações apresentam-se inadequadas à investigação microscópica.

4 — Observação microscópica apressada.

O citologista que se contenta com a observação de apenas alguns campos do esfregaço, incorrerá fatalmente em resultados falhos.

O diagnóstico citológico do câncer é um processo que requer do técnico, uma paciência e uma dedicação toda especial para que sua eficiência seja elevada ao mais alto nível.

Dado o fato de que as células cancerosas, que habitualmente ocorrem nos esfregaços, são de escasso número, cabe ao citologista percorrer com meticulosidade todos os campos da lâmina. Não só todas as lâminas devem ser vistas, como também todos os campos devem ser exaustivamente inspecionados.

Via de regra o técnico se detém cerca de trinta minutos no exame de cada lâmina. À medida que a experiência aumenta, menor tempo é dispendido. Um mínimo de 10 a 15 minutos sempre é necessário para uma revisão sistemática da lâmina.

A má observação microscópica é um dos fatores que mais contribui para o achado de resultados falsos-negativos.

III — FATORES FAVORÁVEIS.

1 — A esfoliação espontânea.

O estômago em condições normais descama uma quantidade muito pequena de células epiteliais. Tem sido demonstrado que quando um processo maligno se desenvolve em seu epitélio, a esfoliação é consideravelmente aumentada.

Firor e Gey⁶⁰ estudando a transformação maligna de células fibroblásticas de ratos, observaram que um dos característicos de precoce aparecimento era a perda de mútua coesão entre as células. Rubin, Palmer e Kirsner⁶¹ afirmam que essa seria a razão pela qual a esfoliação aumentada é observada em lesões malignas, enquanto que é verificada, em menor grau, no epitélio normal.

Nos carcinomas epidermóides e adenocarcinomas, Coman⁶² constatou também menor capacidade adesiva das células, em confronto com elementos do epitélio humano normal.

Lemon e Byrnes⁶³ responsabilizam ao ritmo acelerado de crescimento blastomatoso, pelo fato de pequenos tumores libertarem elementos epiteliais em abundância desproporcionada ao seu tamanho ou superfície e, quase sempre, em quantidade muito maior que a observada no revestimento mucoso sadio.

Anon⁷⁶ atribui à deficiência em cálcio das células malignas, a capacidade de se separarem, umas das outras, mais rapidamente que as células epiteliais normais.

Graças a esses fatos relatados, repousa na citologia gástrica a grande esperança da solução do problema do diagnóstico precoce do câncer do estômago.

Inúmeras têm sido as referências de diagnóstico precoce do câncer gástrico pelo exame citológico. Papanicolaou e Cooper²¹ reconheceram células malignas em caso de úlcera gástrica no qual o estudo histopatológico revelou um pequeno câncer em um dos quadrantes da úlcera. Caso idêntico foi apresentado por Graham, Ulfelder e Green²², no qual uma restrita área de carcinoma pré-invasor foi reconhecida na periferia de uma úlcera gástrica, diagnosticada como maligna, pelo exame citológico.

Importante publicação foi apresentada por Panico⁶⁶ a respeito dos critérios citológicos do câncer gástrico, onde o autor faz referência a três fases de crescimento do carcinoma gástrico:

1.ª fase — esfoliação aumentada:

"As células de revestimento do interior do estômago, tendo seu poder de multiplicação aumentado, não possuindo espaço suficiente para acomodação, alcançam, por uma via de menor resistência, a luz do estômago e assim esfoliam por toda a superfície da zona de transformação maligna. Essas células imaturas são indiferenciadas e apresentam a maior parte dos critérios de malignidade.

2.ª fase — invasão local:

"Processa-se quando o grau de invasão sobrepõe-se ao de descamação. As células que se infiltram e tomam os tecidos normais, não esfoliando, têm oportunidade de maior maturação.

3.ª fase — crescimento intramural:

"Quando as células chegam às camadas mais profundas, sua proliferação fica dependente dos mecanismos de atividade muscular intramural. Aí a vascularização assume papel muito importante pois é o que vai assegurar a nutrição dessas células. Quando se restringe o fornecimento vascular, surgem crescimentos anaplásticos, ulcerações e as células malignas podem alcançar a luz gástrica através da ulceração."

2 — A esfoliação provocada.

Se a descamação espontânea é capaz de oferecer suficiente quantidade de células, lógico é de pensar que a indução da esfoliação, quer por meios mecânicos, quer por meios químicos, proporcionará um aumento da quantidade celular, contribuindo, desta forma, para a melhor eficiência do método. Por outro lado, a esfoliação provocada pode ser praticada por meio de instrumentos especiais que descreveremos mais adiante, em zonas restritas e antecipadamente selecionadas pelas informações radiológicas ou gastroscópicas.

MÉTODOS DE COLHEITA

I — ASPIRAÇÃO DO LÍQUIDO GÁSTRICO EM JEJUM.

As primeiras tentativas da nova fase da citologia gástrica foram realizadas a partir do suco gástrico aspirado em jejum^{20, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 35.}

Papanicolaou e Cooper²¹ aconselhavam o uso, para esse fim, de sonda de Levin, com a qual se esvaziava o estômago em jejum. Outros autores, como Platt⁶⁷, preferiam usar sondas mais grossas, com um centímetro de lúmen.

Tôda a quantidade do líquido aspirado era centrifugada, por cerca de 20 minutos, como tal, ou adicionada de partes iguais de álcool etílico a 95%²¹. Sem perda de tempo, os esfregaços, em número médio de seis, eram feitos do material sedimentado por centrifugação.

Esse procedimento foi muito empregado até cerca do ano de 1950, quando o lavado gástrico e o advento dos meios de esfoliação provocada começaram a despertar maior atenção da parte dos citologistas.

II — LAVADO GÁSTRICO.

A lavagem do estômago foi e continua sendo o método de eleição do Laboratório do Vincent Memorial Hospital⁶⁸.

Ulfelder, Graham e Meigs²⁴ têm empregado na lavagem gástrica, a sonda de Levin n.º 14, na qual fazem vários orifícios adicionais ao já existente, na extremidade distal da sonda. Com isso advogam conseguir uma lavagem mais eficiente.

Vários líquidos foram empregados na lavagem do estômago, com o fim de testar qual seria capaz de aumentar a quantidade de células esfoliadas.

Com essa finalidade, foram usadas a água, o sôro fisiológico, a solução de bicarbonato a 1,3% e a solução de Ringer³².

Entre as substâncias irritantes, foram experimentadas a solução alcoólica, a suspensão oleosa, bem como a injeção parenteral de histamina²⁴. Hollander, Hess e Sober⁶⁹ estudaram a ação irritante do eugenol a 2%

sobre a esfoliação gástrica e Campbell e Grimm⁷⁰ verificaram semelhante ação empregando a refeição de prova de Ewald e solução alcoólica.

Com exceção da solução de Ringer e do soro fisiológico, nenhuma das demais substâncias é empregada rotineiramente na lavagem do estômago, com o fim de recolher células para o exame.

A técnica do lavado gástrico mais freqüentemente empregada é descrita, no texto de Nieburgs⁷¹, do seguinte modo:

"A sonda de Levin é introduzida pelo nariz de maneira usual até 75 centímetros. O paciente é solicitado a tomar alguns goles de água para facilitar a progressão da sonda. O estômago é então evacuado tanto quanto possível e esse material constitui o primeiro espécime. Depois da introdução de 100 ml de soro fisiológico, o tubo é fechado e o paciente é solicitado a passar por tôdas as posições, quais sejam decúbito lateral direito e esquerdo, decúbito dorsal e ventral, sentar ou andar alguns passos. A solução salina é parcialmente aspirada e reinjetada várias vêzes, enquanto o paciente passa pelos vários decúbitos. Finalmente o estômago é esvaziado. Os líquidos aspirados devem ser imediatamente misturados com partes iguais de álcool etílico a 95%, sendo coletados em tubos gelados que atenuam a digestão. São enviados prontamente ao laboratório onde são centrifugados durante 20 minutos em uma velocidade de 2 000 rotações por minuto. O líquido sobrenadante é desprezado e os esfregaços são preparados, sem perda de tempo, do sedimento, após o que são mergulhados na solução fixadora constituída por partes iguais de álcool etílico a 95% e éter."

Papanicolaou⁷² desaconselha a introdução da sonda pelo nariz, devido a contaminação de células da nasofaringe, cuja caracterização, às vêzes, é difícil. O paciente deve guardar jejum por 8 horas antes da prova.

III — INCLUSÃO EM PARAFINA.

Os histopatologistas, via de regra, estão habituados com o exame de material concentrado em área restrita da lâmina, maneira pela qual se apresentam os cortes histológicos incluídos em parafina.

Um dos obstáculos maiores a que os técnicos treinados em histopatologia se dediquem ao estudo citológico, deve-se ao fato de que os esfregaços se apresentam sob forma diferente que os cortes histológicos. Dado que o material citológico é espalhado sobre toda a lâmina, mais tempo é dispendido não só em percorrer todos os campos da lâmina, como em

se detendo nos grupamentos celulares, em geral dispostos em vários planos e que devem ser examinados com máxima cautela.

Visando contornar essa dificuldade, Richardson, Queen e Bishop²⁸ propuseram que o material citológico existente no líquido de aspiração simples do estômago e o de lavagem, fôsse fixado pelo formol, precipitado pelo ácido pícrico, incluído em parafina e manipulado como material histológico. Wollum, Glasser, Bryant e Pollard³⁶ preferiram, à precipitação pelo ácido pícrico, centrifugar os espécimes e precipitar o muco pelo álcool etílico a 95%, quando aquêlé estivesse presente em grande quantidade.

Usando a inclusão em parafina de material obtido por lavagem do estômago com sôro fisiológico, Richardson⁷³ apresenta excelentes exemplos de fragmentos de tecido de vários casos, sendo possível, por êles, diagnosticar gastrite aguda, gastrite atrófica, ulceração gástrica e carcinoma gástrico. São verdadeiras biópsias e o estudo é denominado, pelo autor, de cito-histológico.

IV — BALÃO ABRASIVO GÁSTRICO DE PANICO, PAPANICOLAOU E COOPER.

O instrumento é assim descrito pelos seus autores³¹:

"Consiste em uma sonda de dupla luz, tipo Miller-Abott n.º 16, com comprimento de 100 centímetros e marcada aos 45, 60 e 75 centímetros. Um dos lumens, chamado aspirador, é conetado proximalmente a uma seringa e distalmente a uma oliva metálica. O outro, denominado agitador, coneta-se de um lado a uma pêra insufladora e de outro a um balão insuflável. Na extremidade distal, do lado do agitador, são feitos orifícios de 3 mm de diâmetro para permitir a passagem de ar. O balão é constituído de um condom aberto em ambas as extremidades, as quais são atadas à sonda, deixando entre elas um espaço de 8 cm. Quando o balão é insuflado, sua capacidade deve ser de 175 centímetros cúbicos e medir 10 centímetros de comprimento por 5 de largura.

À superfície externa do balão adapta-se uma rêde de sêda com cêrca de 250 nós, separados um do outro por cêrca de 3 mm, com pontas de 2 mm de comprimento, e dispostos regularmente.

Procedimento — O preparo do paciente é muito importante. O estômago deve estar limpo e vazio antes da insuflação do balão. Atenção mais rigorosa deve ser dirigida aos estômagos retencionistas. Aconselha-se dieta líquida um dia antes da prova.

Tôdas as dentaduras são removidas e o paciente lava a sua bôca. O balão vazio é molhado em solução Ringer e passado oralmente por meio do auxílio de alguns goles da mesma solução. Pequeno desconforto é experimentado quando o aparelho ganha a faringe posterior. Anestesia local pode ser empregada. Uma vez passada a epiglote, o instrumento avança facilmente ao estômago, à medida que o paciente deglute.

Quando a sonda está a 60 cm da arca dentária, todo o resíduo é aspirado e desprezado. O estômago é lavado com solução Ringer até que o líquido aspirado saia limpo. O balão é então insuflado com 75 a 100 centímetros cúbicos de ar. A posição apropriada do balão é apreciada, tracionando-se suavemente a sonda até que o balão toque na cárdia, o que provoca algumas arcadas de vômito; assim o contrôle fluoroscópico torna-se desnecessário.

O exame fluoroscópico revela que a insuflação moderada distende o estômago vazio, bastante para excitar sua motilidade. Esta peristalse reativa, acrescentada de manipulação suave da sonda, transfere o balão abrasivo da cárdia ao piloro. A êste nível o balão é desinsuflado para que possa penetrar no canal antral. Insuflação lenta faz com que o balão retroceda da região pilórica para o antro, e daí é tracionado até a cárdia. Êste procedimento é repetido cinco ou mais vêzes durante o espaço de tempo de uma hora, de sorte que as malhas da rêde possam entrar em contato com a mucosa gástrica inteira. Sução contínua suave previne acumulação de suco gástrico que interfere com o contato do instrumento. O paciente deve expectorar e salivar à parte. Após essas manobras o balão é desinsuflado e o instrumento retirado.

Qualquer fragmento aderente às malhas da rêde é transferido, por meio de uma pinça, para uma lâmina de vidro e alguns esfregaços são feitos a partir dêsse fragmento, sendo imediatamente mergulhados na solução fixadora (álcool-éter). A seguir, o balão é lavado em solução Ringer, a qual é centrifugada a 1 500 rotações por minuto, por 30 minutos, bem como o líquido de lavagem gástrica é misturado com partes iguais de álcool 95% e submetido à mesma centrifugação. O líquido sobrenadante é desprezado e o sedimento coberto por álcool a 95%, daí sendo feitos os esfregaços, prontamente fixados em álcool-éter. O instrumento deve ser lavado com água e sabão, deixado por 30 minutos em cloridrato de benzalkonium a 1 por 1 000 e depois deixado a secar."

A técnica original, bem como a própria construção do instrumento têm sido modificadas pelos seus autores.

Panico⁷⁴ propôs que a superfície exterior do balão fôsse coberta por 75 a 100 pequenos fragmentos arredondados, de cerca de 3 mm de diâmetro de esponja de "latex", aderidos à superfície do balão por cimento próprio para borracha.

A construção do instrumento foi simplificada por Cooper⁴⁰, que sugeriu o uso de uma rede de largas malhas, como envoltório do balão.

Papanicolaou, em seu Atlas⁷², refere três tipos de preparações a partir do material obtido pela técnica do balão abrasivo gástrico: 1) qualquer fragmento aderente ao balão é esfregado em lâminas que estão previamente cobertas de delgada camada de albumina, sendo em seguida fixadas em álcool-éter. 2) O balão é lavado em 200 ml de solução Ringer misturada com álcool 80% em partes iguais. Cerca de 10 gotas de albumina de Mayer são acrescentadas a esse líquido que sofre então centrifugação a 1500 rotações por minuto, durante 30 minutos. Os esfregaços são preparados do sedimento. 3) As aspirações realizadas durante as manobras com o balão no interior do estômago, são centrifugadas nas mesmas condições já referidas e os esfregaços são feitos do sedimento. Adverte o autor que o espécime mais geralmente usado para propósitos diagnósticos é o lavado do balão.

V — BALÃO ABRASIVO ANTRAL DE RUBIN E COL.

A dificuldade do balão abrasivo gástrico de Panico, Papanicolaou e Cooper em atingir o antro gástrico, sede da grande maioria das lesões malignas, incentivou Rubin e col.⁴¹ a criarem uma modificação no instrumento original, que melhor possibilitaria a esfoliação abrasiva do antro.

Tal modificação consistiu em uma adição, na extremidade distal do balão, de um pêso de mercúrio. Graças à ação da gravidade, não necessitando que se faça a peristalse, o instrumento é dirigido ao antro pilórico, onde, por manobras de insuflação e desinsuflação, procede-se à abrasão da mucosa gástrica dessa região. Além disso, a passagem do instrumento pela faringe e esôfago é grandemente facilitada por esse dispositivo. A manipulação posterior do instrumento e o preparo das lâminas são idênticos aos já descritos a respeito do balão abrasivo gástrico.

VI — ESCÓVA GÁSTRICA ROTATÓRIA DE AYRE E OREN.

Um método de rápida e simples execução foi proposto, em 1953, por Ayre e Oren⁷⁷. O instrumento ideado para tal fim é apresentado do seguinte modo:

"A extremidade distal do instrumento consiste em uma proteção metálica, dentro da qual estão duas escôvas acoladas. Quando postas para fora, as escôvas se separam por meio de uma delgada mola. Quando as escôvas são tracionadas para dentro da proteção, elas se aproximam e o material celular é então, protegido pelo revestimento metálico durante sua retirada. As escôvas estão adaptadas a um cabo de arame em espiral que passa pelo interior de um tubo semiflexível, feito de polietileno.

A extremidade proximal do instrumento consiste em um tubo de aço conetado de um lado ao cabo de arame e de outro a um dispositivo circular que permite a rotação do referido cabo e, por conseguinte, a rotação das escôvas. Ainda por meio desse mecanismo as escôvas poderão ser projetadas para fora de sua proteção, bem como tracionadas para o seu interior. O dispositivo rotatório proximal, sendo ôco, permite que, pelo seu interior seja feita aspiração gástrica, que poderá oferecer material aproveitável para pesquisa de células cancerosas.

Técnica — O único requisito para a introdução do instrumento no estômago é o jejum. A distância aproximada até o piloro é marcada no instrumento, e a extremidade metálica é guiada, através do dedo indicador, pela base da língua, em direção à faringe. Uma vez vencida a faringe, a introdução torna-se fácil, pois dada a sua consistência, o tubo tende a seguir a direção do esôfago e estômago, indo automaticamente ao piloro. O tubo não é regurgitado como acontece freqüentemente com sondas mais flexíveis. Uma vez na região pilórica, as escôvas são a floradas por suave pressão do dispositivo rotatório proximal. Quando as escôvas já se encontram no exterior do revestimento, este é retirado alguns centímetros e movimentos de rotação são aplicados às escôvas, por meio do referido dispositivo rotatório. À medida que a rotação se processa, o instrumento é gradualmente movimentado desde a região pilórica até a cárdia. A este nível, as escôvas são tracionadas para o interior da proteção, antes que o instrumento seja retirado do estômago. Os esfregaços são imediatamente preparados do seguinte modo: As escôvas abertas repousam em uma lâmina, enquanto outra lâmina, pelo seu bordo, aplica uma pressão desde a base da escôva até a sua extremidade. O material assim despreendido é transferido para quatro lâminas, espalhando-se, de maneira apropriada, em cada uma delas. Segue-se fixação imediata em álcool-éter.

Os pêlos das escôvas, sendo feitos de cerdas de porco, dicotomizadas na extremidade distal, permitem que as células e as secreções permaneçam mais firmemente aderidas a si."

Vários autores^{47, 48, 51, 54} têm apresentado trabalhos com referência ao emprêgo da escôva de Ayre e Oren. Seus resultados já foram mencionados.

Freqüentemente os pêlos das escôvas apresentam-se tintos de sangue quando são retirados. Esse fato não costuma causar preocupação séria e observações gastroscópicas repetidas após o uso do instrumento revelaram não serem de monta as alterações provocadas pelo traumatismo do instrumento.^{47, 48.}

No entanto, existem afecções que contra-indicam de maneira formal o uso desse instrumento qual seja a presença de varizes esofágicas, estenose esofágica ou da cárdia, hérnia do hiato esofágico e doença cardíaca muito grave. O teste não deve ser feito na presença de sangramento gástrico copioso.^{51, 77.}

VII — ESCÔVA ABRASIVA GÁSTRICA DE "NYLON" DE NIEBURGS.

Visando um aperfeiçoamento do método anterior, Nieburgs⁷¹ construiu um instrumento cujo funcionamento mecânico é idêntico ao anterior, apenas que as escôvas são constituídas por fios de "nylon" de diversos calibres, dispostos em forma de U, cuja convexidade é exterior. No instrumento de sua criação, Nieburgs suprime a proteção metálica da extremidade distal, fazendo com que as escôvas sejam garantidas pelo próprio tubo de polietileno.

A técnica de execução, as precauções e contra-indicações são as mesmas já descritas em relação ao instrumento de Ayre e Oren.

O mesmo autor da escôva abrasiva gástrica de "nylon"⁷¹ adicionou a esse instrumento um dispositivo que permite obter biopsias gástricas sob contróle fluoroscópico.

Uma modificação dos instrumentos de Ayre-Oren e Nieburgs consiste na adaptação de um fio que permite uma melhor flexão e uma progressão sistemática das escôvas à região pilórica⁸⁷.

VIII — INSTRUMENTO DE HENNING E WITTE ("ZELLTUPFSONDE")

Este método tem sido estudado exclusivamente por seus autores, Henning e Witte⁷⁸. Referem ser menos traumatizante que a escôva e de execução mais rápida que o balão.

"Em princípio consta o instrumento de uma esponja de borracha, adaptada a um cabo de arame que passa pelo interior de um tubo de borracha flexível. Existem duas modificações desse instrumento. O primeiro modelo é uma sonda grossa e mole que contém uma esponja de borracha adaptada na extremidade de um cabo de arame. A extremidade distal do tubo é fechada por uma capa de celofane, ligeiramente amarrada à borracha. Uma vez no interior do estômago, o cabo de arame é impulsionado para fora do revestimento e a esponja rompe a capa do celofane. A esponja, com sua superfície absorvente, pode então ser passada várias vezes sobre a mucosa gástrica a qualquer nível desejado. A calibração da sonda em centímetros permite avaliar a posição do instrumento. A esponja é tracionada para o interior do instrumento antes que este seja removido, evitando-se assim sua contaminação com células de outras áreas. Após a retirada do instrumento, a esponja é lavada com soro fisiológico, o qual é centrifugado. O segundo modelo é uma modificação do instrumento para biópsia gástrica por sucção, no qual a faca de biópsia é substituída por uma esponja de borracha, e a proteção metálica distal por um curto tubo de borracha, para dentro do qual a esponja possa ser tracionada."

IX — ESPONJA BIÓPSIA.

Ideada e fabricada por Gladstone⁷⁹, a esponja biópsia não tem encontrado repercussão na literatura.

Sua fabricação é relativamente fácil, consistindo de 12 a 15 pequenos fragmentos de esponja sintética de celulose, medindo 1 por 0,5 e por 0,5 centímetros. São amarrados, com intervalos de 2,5 centímetros, ao longo de um fio de sêda o qual é firmemente atado em espiral, em volta da parte inicial de uma sonda de Levin, em um percurso de 30 centímetros. As extremidades dos fios são fixadas à sonda através de finos orifícios executados nesta última.

A técnica é de realização rápida. O paciente guarda jejum por cerca de 15 horas antes da prova. O instrumento é imergido em água fria e passado oralmente até o estômago. A introdução de 75 centímetros será suficiente. Uma vez no estômago, o paciente passa por várias posições, de tal modo a permitir que as esponjas entrem em contato com toda a mucosa gástrica, tanto quanto possível. Simultaneamente fazem-se massagens no epigástrio do paciente, com o fim de tornar ainda mais íntimo o contato do instrumento. A seguir, o paciente assume a posição sentada. O

suco gástrico é aspirado por seringa. Retira-se o instrumento e separam-se as esponjas com o fio de sêda, bem como todo material porventura aderente. Todo êsse conjunto assim destacado, é fixado pelo formol a 10%. Deve-se perder o mínimo de tempo possível com essa manobra. Posteriormente à fixação, todo o material, bem como as esponjas serão embebidos em parafina e manipulados como material histológico.

X — PAPAÍNA.

Foi a papaína, a primeira substância mucolítica que teve aceitação como método de diagnóstico em citologia gástrica. Suas propriedades e seu emprêgo foram muito bem desenvolvidos por Rosenthal e Traut^{38, 80}. O último aperfeiçoamento técnico é descrito no Atlas de Papanicolaou⁷², segundo comunicação pessoal dos autores do método.

"Material:

- 1) Solução tampão: é um fosfato isotônico com pH em tórno de 7,3; serve para prevenir a digestão ácida das células libertadas de seu envoltório mucoso e ainda previne a inativação da papaína (em pH de 4,5). Toma-se 750 g de fosfato ácido dissódico e 0,4 mols de ácido clorídrico que são acrescentados em 400 ml de água destilada.
- 2) Papaína em pó (Difco).
- 3) Hidrocloridrato de cisteína.
- 4) Liquidificador.
- 5) Charcol ativado.
- 6) Funil grande.
- 7) Papel de filtro (Whatman n.º 2).
- 8) Sondas gástricas.
- 9) Seringas.
- 10) Culturas de leuconostoc mesenteróides em caldo nutritivo com sucrose, feito com concentração a 10%.
- 11) Centrífuga e acessórios para tubos de grande capacidade (250ml).

Culturas de leuconostoc — Após tentar muitos agentes, a cultura em caldo nutritivo de leuconostoc mesenteróides, um saprófita mucoprodutor, foi tida como ideal para restaurar a adesividade às células de revestimento que perderam sua camada de muco.

Tubos de 10 ml cada, de caldo com sucrose em concentração a 10% são inoculados e o crescimento se processa à temperatura do ambiente. Os tubos podem ser guardados indefinidamente e usados quando neces-

sário. Constatou-se que o material não prejudica a fixação ou coloração e o meio não se cora. Os microrganismos não obscurecem as células.

Solução de papaína — Deve ser preparada fresca ou conservada no refrigerador por 24 a 72 horas. Para conservação mais longa deve ser esterilizada por filtração de Seitz. A solução se decompõe por crescimento bacteriano. O ativador, hidrocloreto de cisteína, não deve ser acrescentado até a ocasião antes do uso.

Três colheradas das de chá do pó de papaína são postas no liquidificador e a solução tampão acrescentada até cobrir as lâminas agitantes. A mistura é agitada por 3 minutos. Várias centenas de mililitros do tampão são adicionadas e a agitação é continuada por mais 2 minutos. Uma colher das de chá de charcol ativado é juntado à mistura e umedecido por agitação intermitente, sendo depois a mistura agitada por 1 minuto e, a seguir, filtrada em papel adequado (Whatman n.º 2). As primeiras gotas contêm charcol e devem ser retornadas ao funil. O filtrado restante deve ser claro, brilhante e de cor âmbar; nenhum sedimento irá finalmente contaminar o sedimento celular e obscurecer ou diluir as células. A solução é então completada para 1 litro para o uso. A cor é de um amarelo pálido, representando aproximadamente 1,5% de papaína, porém variações moderadas na concentração não assumem importância.

Logo antes do uso, 1,5 g de hidrocloreto de cisteína é dissolvido na solução. A solução deve ser amornada antes da instilação.

Técnica:

Depois de ser removido o espécime de jejum, ou depois de completar a análise gástrica de rotina, cerca de um litro da solução de papaína é introduzida no estômago a qual, quantidade, é regulada para produzir uma sensação de distensão sem desconforto. A lise do muco completa-se em 10 minutos, quando então a solução é completamente aspirada. Em raros casos maior parte da solução é perdida pela passagem duodenal. Nestes casos uma nova solução deve ser instilada.

A solução, uma vez retirada do estômago, é colocada nos tubos de centrifugação de 250 ml e então vários mililitros do caldo de *Leuconostoc* são injetados no interior da solução de papaína, a fim de formar uma camada separada. Os tubos são cuidadosamente balanceados para prevenir redemoinho e mistura da camada da solução de muco. São postos na centrífuga e levados rapidamente a 2 000 rotações por minuto. A parada do motor da centrífuga deve ser progressiva.

O líquido sobrenadante é desprezado e os tubos invertidos para drenar por vários minutos. Uma pequena torúndula de algodão é umedecida com o caldo de *Leuconostoc* e o sedimento celular, com o que se confeccionam os esfregaços que são imediatamente fixados em álcool-éter, antes que sequem.

Precauções:

É preferível deixar o paciente, antes da prova, beber água à vontade, a fim de evitar a passagem da solução para o duodeno. Toda água remanescente no estômago, antes da prova, deve ser retirada. Quando há retenção alimentar por obstrução pilórica, o estômago deve ser rigorosamente lavado antes da introdução da solução de papaína. O paciente deve abster-se de engolir saliva e escarro durante a lavagem, de modo a evitar as células dessas secreções.

Os autores da técnica não observaram efeitos nocivos em cerca de 3 000 pacientes, exceto moderada diarréia quando grande parte da solução ficava retida. Não houve sangramento maior que costuma ser esperado na intubação de grande número de pacientes com úlcera gástrica. Não se constatou hemorragia maciça mesmo em pacientes com recentes hemorragias maciças espontâneas."

XI — QUIMOTRIPSINA.

Não há dúvida das vantagens que proporciona o uso de mucolíticos, dissolvendo um dos grandes obstáculos ao êxito da citologia gástrica, a barreira de muco.

O método da papaína, no entanto, é de execução prática muito complexa. O próprio fermento não oferece uma segurança absoluta, dada sua fácil deterioração.

Visando aperfeiçoar uma técnica mucolítica para colheita de células gástricas, que fôsse de manipulação mais simples, Rubin e col.⁴¹ experimentaram a quimotripsina com grande sucesso. Seus resultados foram posteriormente corroborados por outros autores^{46, 49, 56, 57}.

A técnica é descrita como se segue⁴¹:

"A quimotripsina cristalizada (Eli Lilly Co.) é estável quando conservada no refrigerador e a potência da solução fresca é previsível. Acetato tampão a 0,1 molar de pH 5,6 é usado. Aparentemente o grau entre a lise de muco e a celular pode ser controlado em não usando a quimotripsina no seu pH ótimo de 7,5. Quinhentos mililitros do tampão, con-

tendo 7 mg do sal puro de quimotripsina são instilados dentro do estômago vazio. Nos 10 minutos seguintes o paciente fica em posição horizontal, movendo-se em todos os decúbitos para assegurar o inteiro contato da quimotripsina com tôdas as áreas da mucosa gástrica. Tanto líquido quanto possível é aspirado. Depois de centrifugação e decantação, uma gota de sôro sanguíneo é acrescentado ao sedimento para garantir a adesão celular nas lâminas.”

Em recente trabalho, Rubin, Klayman e Kirsner⁴⁶ usaram a alfa-quimotripsina que é fornecida pelo Laboratório Armour em cápsulas de 7 mg (Cytolav). A solução tampão de acetato a 0,1 molar é preparada pela adição de 13,6 g de acetato de sódio a 0,6 ml de ácido acético glacial em 1 litro de água destilada, o que fornece um pH de 5,6.

PREPARAÇÃO DOS ESFREGAÇOS

Da habilidade em preparar os esfregaços vai depender uma boa observação microscópica.

O material a ser utilizado pode ser o sedimento de centrifugação, fragmentos aderentes às malhas da rede do balão, à escôva ou fragmentos flutuantes no líquido de lavagem.

O sedimento pode ser retirado do tubo de centrifugação por meio de uma alça de platina ou uma pequena curêta. Uma vez em cima da lâmina, é espalhado sobre sua superfície, usando-se para esse fim a alça de platina ou o bordo de outra lâmina que desliza sobre a primeira com uma inclinação de 45 graus, tal como nas distensões hematológicas.

Os fragmentos devem ser espalhados sobre a superfície das lâminas por meio de uma delicada pinça, não devendo, no entanto, ser esmagados.

Freqüentemente se constata que o material se desprende da lâmina, quer durante a fixação, quer pelo procedimento da coloração.

Visando atenuar essa ocorrência, é habitualmente usada a Albumina de Mayer. Sua preparação é simples, consistindo em partes iguais de clara de ovo e glicerina. As lâminas são preliminarmente untadas com fina camada de Albumina de Mayer, antes que sobre ela se façam os esfregaços.

O mínimo de tempo deve ser dispendido na confecção dos esfregaços. Os inconvenientes do dessecamento já foram referidos anteriormnte.

FIXAÇÃO

Para a coloração segundo o processo de Papanicolaou, a fixação deve ser feita imergindo as lâminas em uma solução de álcool etílico a 95% e éter, em partes iguais. Frascos com fechamento eficiente evitarão a evaporação da solução fixadora.

Não se dispondo de éter sulfúrico, o álcool etílico a 95% pode ser usado isoladamente. Álcool metílico ou isopropílico, menos desejáveis, podem ser empregados se quimicamente puros⁷².

O tempo de permanência dos esfregaços na solução fixadora é, no mínimo, de 15 minutos. Se necessário, poderão permanecer nessa solução

por longo tempo, embora isso não seja recomendado para fins de uma coloração perfeita⁷².

Nieburgs⁷¹ aconselha, com a finalidade de atenuar o desprendimento celular das lâminas, deixar cair uma gota da solução fixadora sobre o esfregaço, deixando-se, a seguir, secar. As lâminas, ao chegarem ao laboratório, são submetidas a processo de rehidratação.

Quando se pretende incluir o material em parafina, a fixação será em formol a 10%.

A remessa de lâminas já fixadas poderá ser feita a laboratórios distantes, mesmo sem que sejam coradas.

Um processo simples para essa remessa consiste em desidratar os esfregaços logo após a fixação e montar com bálsamo do Canadá. Quando recebidas as lâminas, pelo laboratório, o bálsamo é dissolvido pelo xilol⁷².

Uma técnica diferente é sugerida por Ayre e Dakin⁸¹. Após a fixação, antes que a lâmina seque, colocam-se algumas gotas de glicerina sobre o esfregaço; a seguir é coberto por uma outra lâmina protetora. Ambas são prêsas por atilhos de borracha e acondicionadas em papel encerado. Quando recebidas pelo laboratório, são colocadas em solução de álcool etílico a 95% e éter, em partes iguais, até que a lâmina protetora se desprenda. As duas lâminas são coradas, porque parte do esfregaço frequentemente passa à lâmina protetora.

COLORAÇÃO

I — PROCESSOS DE COLORAÇÃO.

Referências esparsas ao uso da coloração pela hematoxilina-eosina, pelo método de Shorr e pelo método de Giemsa^{36, 56, 57, 58, 67, 85}, não têm tido repercussão maior na revisão da literatura que procedemos sobre a citologia gástrica.

O método mais habitualmente empregado na coloração das células gástricas é o proposto por Papanicolaou.

As primeiras tentativas para corar os esfregaços gástricos foram feitas com o processo de Papanicolaou para coloração da citologia vaginal^{19, 82}, que consistia no seguinte:

Fixação em álcool-éter

Lavar em álcool a 75%

Lavar em álcool a 50%

Lavar em água destilada

Corar pela Hematoxilina de Harris por 5 a 10 minutos

Lavar em água destilada

Lavar de 3 a 4 vezes em solução de HCl a 0,5%

Lavar abundantemente em água

Deixar 1 minuto em solução fraca de carbonato de lítio (3 gotas de solução aquosa de carbonato de lítio para 100 ml de água)

Lavar abundantemente em água

Lavar em água destilada

Lavar em álcool a 50%

Lavar em álcool a 70%

Lavar em álcool a 80%

Lavar em álcool a 95%

Corar por 1 minuto no OG 6

Lavar 5 a 10 vezes em álcool a 95%

Lavar 5 a 10 vezes em álcool a 95%

Corar no EA 36 ou EA 25 por 2 minutos

Lavar 5 a 10 vezes em álcool a 95%

Lavar 5 a 10 vêzes em álcool a 95%
Lavar 5 a 10 vêzes em álcool a 95%
Lavar em álcool absoluto
Lavar em xilol
Montar.

Em 1954, Papanicolaou⁷² modificou a técnica de coloração para células vaginais, apresentando-a sob a denominação de Procedimento N.º 268:

Fixação em álcool-ter
Lavar em álcool a 80%
Lavar em álcool a 70%
Lavar em álcool a 50%
Lavar em água destilada
Corar pela Hematoxilina de Harris, diluída ao meio em água destilada, por 6 minutos.
Lavar em água destilada
Mergulhar em HCl a 0,25% por 6 vêzes
Lavar em água corrente por 6 minutos
Lavar em água destilada
Lavar em álcool a 50%
Lavar em álcool a 80%
Lavar em álcool a 95%
Corar no OC 6 por 1,5 minutos
Lavar em álcool a 95%
Lavar em álcool a 95%
Corar no EA 36 ou EA 50 por 1,5 minutos
Lavar em álcool a 95%
Lavar em álcool a 95%
Lavar em álcool a 95%
Lavar em álcool absoluto
Lavar em mistura de partes iguais de álcool absoluto e xilol
Lavar em xilol
Montar.

A coloração especial para células gsticas  apresentada por Papanicolaou sob a denominação do "Procedimento N.º 267 modificado para coloração de esfregaos de sedimento gstico e urinário"⁷² e obedece à seguinte técnica:

Fixação em álcool-éter

Lavar em álcool a 80%

Lavar em álcool a 70%

Lavar em álcool a 50%

Lavar em água destilada

Corar pela Hematoxilina de Harris, diluída ao meio em água destilada, por 2 minutos

Lavar em água destilada

Lavar em álcool a 50%

Deixar 1 minuto em solução a 1,5% de NH_4OH em álcool a 70%

Lavar em álcool a 70%

Lavar em álcool a 70%

Lavar em álcool a 80%

Lavar em álcool a 95%

Corar pelo OG 6 por 1,5 minutos

Lavar em álcool a 95%

Lavar em álcool a 95%

Corar pelo EA 65 por 1,5 minutos

Lavar em álcool a 95%

Lavar em álcool a 95%

Lavar em álcool a 95%

Lavar em álcool absoluto

Lavar em mistura de partes iguais de álcool absoluto e xilol

Lavar em xilol

Montar.

Com o fito de atualização máxima a respeito do processo de coloração de Papanicolaou, escrevemos ao Professor George N. Papanicolaou, Universidade de Cornell, pedindo a mais recente técnica de coloração para células gástricas em uso no seu serviço. Sua resposta, datada de 1 de março de 1957, assim se expressava:

"O processo de coloração para esfregaços gástricos e outros, que estamos atualmente usando em nosso laboratório é o seguinte:

Fixação — partes iguais de álcool-éter

Álcool a 80%

Álcool a 70%

Álcool a 50%

Água destilada

Hematoxilina de Harris diluída em partes iguais com água destilada — 2 minutos

Água destilada

Água destilada

Água destilada

Álcool a 50%

Solução de NH_4OH a 1,5% em álcool a 70% — 1 minuto

Álcool a 70%

Álcool a 70%

Álcool a 80%

Álcool a 95%

OG 6 — 1,5 minutos

Álcool a 95%

Álcool a 95%

Álcool a 95%

EA 65 — 1,5 minutos

Álcool a 95%

Álcool a 95%

Álcool a 95%

Álcool absoluto

Álcool absoluto

Álcool absoluto

Álcool absoluto e xilol

Xilol

Xilol

Xilol."

II — PREPARAÇÃO E CARACTERÍSTICOS DOS CORANTES EMPREGADOS NO PROCESSO DE PAPANICOLAOU.

1 — Hematoxilina de Harris.

Nas suas descrições iniciais, Papanicolaou relata^{19, 84}:

"A Hematoxilina de Harris é preparada com hematoxilina doméstica e alúmen de amônio. Para obter resultados mais uniformes, a hematoxilina usada não deve ser desprezada, mas filtrada de tempos em tempos. A perda por evaporação e filtração é gradualmente restituída por adição de corante fresco."

No seu Atlas, Papanicolaou⁷² assim se refere à preparação da Hematoxilina de Harris: "A Hematoxilina de Harris é preparada de fórmula "standard" usando o sulfato de alumínio amoniacal e omitindo o ácido acético glacial. Filtra-se em frascos escuros para depósito. É diluída em partes iguais com água destilada antes do uso. Quando o corante está em uso, deve ser reforçado freqüentemente pela adição de pequenas quantidades da solução fresca, não diluída, com a finalidade de manter resultados uniformes na coloração."

O Laboratório do Vincent Memorial Hospital⁶⁸ descreve a técnica seguinte para a preparação da Hematoxilina de Harris:

"Hematoxilina	1 g
Álcool absoluto	10 ml
Alúmen de amônio ou de potássio	20 g
Água destilada	200 ml
Óxido de mercúrio	0,5 g

"Dissolva a hematoxilina em álcool, o alumínio em água pelo auxílio do calor e misture as duas soluções. Leve a mistura à fervura tão rápido quanto possível e então acrescente o óxido de mercúrio. A solução assume uma cor azul escura. Tão cedo que isso ocorra, remova o recipiente contendo a solução, da chama e a esfrie, mergulhando o recipiente em uma bacia com água fria. Desde que o resfriamento se complete, o corante está pronto para o uso."

Nieburgs⁷¹ se refere de modo diverso ao preparo desse corante:

"Dissolva a hematoxilina em álcool e o sulfato de alumínio amoniacal (nas proporções idênticas às anteriormente citadas) em água e ferva. Quando a solução está emitindo vapor acrescente lentamente a solução de hematoxilina. Leve rapidamente a mistura à fervura e acrescente o óxido de mercúrio. Quando a solução adquire a cor púrpura escura, remova-a do calor e esfrie-a rapidamente."

Como a hematoxilina precipita constantemente, a filtração diária se impõe. Se o corante não é empregado todos os dias, antes de cada coloração far-se-á a filtração⁶⁸.

A hematoxilina não é propriamente um corante. Sua coloração se faz graças à sua transformação em hemateína, por oxidação⁸⁶. Cora por excelência o núcleo das células^{19, 84}. É o único corante básico no processo de Papanicolaou.

2 — OG 6.

É constituído por ^{19, 71, 72, 84}:

Orange G a 0,5% em álcool a 95%	100 ml
Ácido fosfotúngstico	0,015 g

O Orange G é um corante fortemente ácido, um dos mais valiosos corantes citoplasmáticos. Constitui um corante de fundo da hematoxilina ⁸⁰. A adição do ácido fosfotúngstico intensifica a côr amarelada pela acidificação da solução corante ^{83, 84}.

3 — EA 25 ⁸³:

Verde brilhante SF amarelado a 0,5% em solução de álcool a 95%	44 ml
Marrom de Bismarck a 0,5% em solução de álcool a 95%	12 ml
Eosina amarela a 0,5% em solução de álcool a 95% ...	44 ml
Ácido fosfotúngstico	170 mg
Carbonato de lítio, solução saturada aquosa	1 gôta.

4 — EA 36 ⁸³:

Verde brilhante SF amarelado a 0,5% em solução de álcool a 95%	45 ml
Marrom de Bismarck a 0,5% em solução de álcool a 95%	10 ml
Eosina amarela a 0,5% em solução de álcool a 95% ...	45 ml
Ácido fosfotúngstico	200 mg
Carbonato de lítio, solução saturada aquosa	1 gôta.

Segundo Papanicolaou ^{72, 83, 84}, todos êsses corantes devem ser de procedência da National Aniline and Chemical Company, exceto o ácido fosfotúngstico, da Merck.

5 — EA 50 ⁷²:

É preparado da mesma forma que o EA 36 empregando-se os corantes fornecidos pela Ortho Pharmaceutical Corporation, Raritan, N. J.

6 — EA 65 ⁷⁵:

Verde brilhante SF amarelado a 0,05% em solução de álcool a 95%	45 ml
Marrom de Bismarck a 0,5% em solução de álcool a 95%	10 ml

Eosina amarela a 0,5% em solução de álcool a 95% ...	45 ml
Ácido fosfotúngstico	200 mg
Carbonato de lítio, solução saturada aquosa	1 gôta.

O Verde brilhante SF amarelado é um corante citoplasmático que se presta muito à fotografia. Sua única desvantagem é a que enfraquece quando exposto à luz forte ⁸⁶.

O Marrom de Bismarck cora o citoplasma reforçando a coloração dos outros corantes ácidos. Deve-se ter o cuidado de não ferver a solução antes do uso porque o calor altera o corante ⁸⁶.

A eosina amarela, também chamada eosina hidrossolúvel, é um dos corantes citoplasmáticos mais empregados em técnicas de coloração. Tem sido denominada de hidrossolúvel pela sua fácil dissolução em água, porém também é solúvel em álcool ⁸⁶ e como tal é empregada no processo de Papanicolaou.

III — CONTAMINAÇÃO DOS ESFREGAÇOS DURANTE O PROCESSO DE COLORAÇÃO.

Não é por demais raro que um esfregaço negativo seja contaminado por células de um esfregaço positivo, desde que ambos estiverem em contato com as mesmas soluções corantes.

Durante o processo de coloração, pequenos fragmentos do esfregaço podem se desprender da lâmina e constituir o que se denomina de "flutuadores", pois que ficam flutuando nas soluções da bateria.

Deve-se ter, pois, todo o cuidado em evitar que tais desprendimentos ocorram, não só como perigo de contaminação, como também porque isso rarefaz o material a ser examinado.

O reconhecimento da contaminação de esfregaços pelos "flutuadores" é feito pela verificação de sua posição em plano mais alto que o resto do esfregaço, pela coloração diferente do restante e pela presença de um substrato que carregam junto a si, o qual contrasta com o esfregaço portador.

Papanicolaou ⁷² aconselha as seguintes precauções a fim de reduzir a possibilidade de contaminação:

- 1 — Todo o movimento das lâminas dentro e fora das soluções deve ser feito devagar e gentilmente com a menor agitação possível.
- 2 — Tôdas as soluções usadas no processo de coloração devem ser trocadas freqüentemente e os frascos lavados abundantemente.

- 3 — Deve-se evitar o amontoamento de lâminas nos frascos de coloração.
 - 4 — Os corantes devem ser filtrados antes do uso.
 - 5 — Recomendam-se frascos de coloração amplos, que permitam deixar espaço livre entre as lâminas.
 - 6 — Os exudatos, que são os que destacam mais "flutuadores", devem ser corados em frascos separados, cujas soluções são renovadas mais freqüentemente."
-

CITOLOGIA NORMAL DO ESTÔMAGO

O epitélio pavimentoso estratificado que recobre a superfície interna da boca, faringe e esôfago, é substituído, ao nível da cárdia, por um epitélio prismático alto, também chamado epitélio colunar, que daí em diante continua recobrando o restante do trato digestivo.

A mucosa gástrica é constituída por células altas, claras, formando uma só camada, e tendo seus núcleos situados na parte basal. Ao nível das criptas ou fôveas gástricas, essas células cedem lugar às células mucosas do colo, nas quais técnicas apropriadas demonstram múltiplas granulações mucóides citoplasmáticas. Logo abaixo desembocam as glândulas gástricas.

Nas proximidades da região cardíaca encontram-se glândulas mucosecretoras denominadas glândulas cardíacas, as quais muito se assemelham às glândulas esofágicas. Na região fúndica existem glândulas tubulosas, quase retas, designadas de glândulas fúndicas. Essas glândulas estão constituídas de duas espécies de células; as células principais, também chamadas adelomorfas ou zimogênicas, de citoplasma pouco corável e núcleo redondo, situado na metade basal, sendo que os limites centrais dessas células constituem a cavidade glandular; o segundo tipo é representado pelas células bordeantes, também conhecidas como delomorfas, parietais ou oxínticas, são acidófilas, secretoras de ácido clorídrico e em geral não atingem a luz glandular por se interporem, em forma de cunha, entre as células principais. Sua comunicação com o interior da glândula é feita pelo capilar de secreção. No terço distal do estômago localizam-se as glândulas pilóricas, muito semelhantes às cardíacas, mucossecretoras e muito ramificadas⁶⁴.

As células que esfoliam da mucosa gástrica podem se apresentar isoladas ou grupadas.

Quando isoladas e vistas por um de seus lados, as células mostram-se com forma cilíndrica, tendo o núcleo situado na base; quando vistas de cima, o citoplasma parece menos abundante e o núcleo é central.

Os grupamentos variam desde duas ou três células até pequenos fragmentos de mucosa, verdadeiras peças de biopsia. Pode-se então apreciar, dependendo da conservação celular, os limites das células.

Os núcleos apresentam pequena variação na forma e no tamanho. São ovalados, circulares ou triangulares. A cromatina distribui-se uniformemente dentro do núcleo. Sua estrutura é fina e delicada. Uma ou mais pequenas condensações da cromatina são freqüentemente vistas. A membrana nuclear é bem definida e de fina espessura. Quase não se observa superposição nuclear, pois que os núcleos estão separados, uns dos outros, por pequenas áreas de citoplasma ⁶⁸.

O citoplasma é pouco abundante. Sua coloração pode ser acidófila ou basófila. Quando a célula sofre o processo de digestão, o citoplasma perde os seus limites e vai, aos poucos, se reduzindo até desaparecer completamente, deixando o núcleo despido.

Como a maior parte das células gástricas encontradas no líquido de aspiração simples do estômago já perdeu o citoplasma, sua identificação fica, então, enormemente prejudicada. Células do tipo parietal ou zimogênico, das células gástricas, não são observadas normalmente no fluido gástrico. Talvez tais células estejam presentes, porém a identificação se torna problemática pela falta de critérios adequados ⁷².

As degenerações apresentadas pelas células gástricas normais vão desde o desaparecimento dos limites celulares, vacuolização citoplasmática, até o desaparecimento completo do citoplasma, cariólise, picnose ou cariorrexis, culminando com a dissolução total da célula.

Grande parte das células encontradas nos esfregaços gástricos são oriundas do epitélio de revestimento da boca, faringe e esôfago. São células epiteliais semelhantes às encontradas nos esfregaços vaginais. Podem ser identificadas células de tôdas as camadas do epitélio pavimentoso estratificado. As células mais basais têm o núcleo relativamente grande e o citoplasma basófilo, pouco abundante. À medida que se torna mais superficial, o núcleo vai reduzindo de tamanho ao mesmo tempo que o citoplasma aumenta de proporções. Nas camadas mais superficiais o núcleo é picnótico e o citoplasma é amplo e acidófilo.

Catarro do aparelho respiratório pode ser deglutido e então os esfregaços mostrarão células epiteliais ciliadas. Seu reconhecimento, no entanto, nem sempre é fácil e não raro são confundidas com células malignas. Ciliação, quando presente, é um critério que caracteriza tais células.

O duodeno, bem como os ductos pancreático e biliar, podem, ocasionalmente, por refluxo, enviar células ao interior do estômago. Estas têm forma globosa, mas sua identificação nem sempre é fácil.

Os leucócitos polimorfonucleares são encontrados em estômagos normais em número variável, sendo particularmente mais proeminentes nas inflamações. Os linfócitos são mais raramente encontrados que os polimorfonucleares. Muito mais raramente são visualizados monócitos e plasmócitos. Ocasionalmente aparecem eritrócitos em esfregaços normais, sendo de pouca importância e devendo-se, muitas vezes, ao traumatismo da colheita.

Os histiócitos são tão proeminentes constituintes do esfregaço gástrico normal, como o são em esfregaços de outros fluidos. Sua atividade aumenta em processos inflamatórios⁷².

Como sói acontecer em outros órgãos, os histiócitos são os responsáveis pelo grande número de falsas interpretações na citologia gástrica. A identificação dos histiócitos pulmonares não constitui real problema. As inclusões de carbono que aparecem no citoplasma bem caracterizam essas células, que são denominadas de "dust cells". Os outros histiócitos que aparecem nos esfregaços do estômago, via de regra exibem um núcleo finamente granular, excêntricamente situado em um citoplasma espumoso⁶⁸. Em geral o núcleo é reniforme.

Panico⁶⁶ assim descreve os histiócitos encontrados nos esfregaços gástricos: "Histiócitos inativos, ainda que células maiores, assemelham-se aos monócitos. O núcleo contém um nucléolo proeminente e apresenta invaginação unipolar. O histiócito inativo é usualmente encontrado discretamente isolado, fato que ajuda a diferenciar este tipo de célula das células epiteliais da superfície gástrica. Os histiócitos ativos tornam-se mais significantes no esfregaço porque eles aparecem quando uma reação infecciosa, traumática ou tumoral estimula uma resposta fagocitária no estômago. Apresentando uma variedade de formas originais, o histiócito ativo bizarro é difícil de ser diferenciado de células malignas. O histiócito jovem, ativo, mostra um núcleo aumentado e hipercromático. A fagocitose traz distorções morfológicas no núcleo a fim de que o citoplasma possa acomodar as inclusões celulares.

CITOLOGIA GÁSTRICA ATÍPICA NÃO MALIGNA

O fato de que a citologia gástrica possa servir para o diagnóstico de outras afecções gástricas diversas das malignas, é motivo de muita controvérsia, e as bases de tais afirmações merecem mais confirmações experimentais.

Na úlcera gástrica ou duodenal, nenhum tipo citológico individualizado permite um diagnóstico definitivo⁷².

A presença de fibras musculares lisas pode sugerir uma ulceração que tenha atingido a camada muscular. O aumento considerável de elementos inflamatórios leva a pensar em gastrite, mas suspeita de úlcera por isso parece injustificada. Em alguns casos de gastrite hipertrófica crônica, podem ser observadas células de tamanho médio, redondas, frequentemente vacuolizadas, com um núcleo relativamente grande e excêntrico; tais células podem aparecer isoladas ou agrupadas⁷².

Formações papilares podem ser reveladas por grupamentos cuja arquitetura é sugestiva de arranjo papilomatoso ou exibindo formação em paliçada. Os pólipos podem descamar células cujo arranjo lembra o observado nos cortes histológicos. Tais diagnósticos, no entanto, não podem ser assegurados por êsses aspectos⁷².

Alterações das células epiteliais têm sido referidas em pacientes portadores de anemia perniciosa. Graham e Rheault⁸³ constataram aumento de tamanho das células do epitélio escamoso e colunar, encontradas em espécimes gástricos de pacientes com anemia perniciosa antes do tratamento. Essas alterações estavam quase ausentes em pacientes com remissão terapêutica.

Massey e Rubin⁶⁵ estudaram as alterações gástricas sob o ponto de vista citológico, que ocorriam na anemia perniciosa. Concluíram que o tamanho do núcleo das células gástricas que se alteravam por ocasião da anemia perniciosa, era duplo do tamanho dos núcleos de células normais. Os autores descrevem vários tipos das células por êles designadas "P. A. cells" ("Pernicious anemia cells").

O tipo delicado das células da anemia perniciosa ("P. A. Bland Cell Type") apresenta o núcleo contendo pequenos agregados de cromatina em um fundo relativamente vazio; a membrana nuclear mostra dobras em seu contôrnio. O tipo ativo ("P. A. Active Cell Type") tem o núcleo de tamanho aumentado, a membrana nuclear irregular, nucléolo grande, vermelho e refrátil, hipercromatismo, porém não há alteração do índice núcleo-citoplasma. O tipo delgado ("Slender cells") e o tipo "Coblet cells" são reconhecidos como achados freqüentes, mas não específicos. O último tipo, são células mucosas, que têm o núcleo deslocado para a periferia pelo conteúdo em muco do citoplasma, reflete um processo de intestinalização, tão comum nas gastrites atróficas crônicas.

CITOLOGIA NAS LESÕES MALIGNAS DO ESTÔMAGO

Os critérios gerais de malignidade usados no reconhecimento das células cancerosas do estômago não diferem substancialmente dos empregados na identificação citológica de malignidade de outros órgãos.

Entretanto, o tamanho pequeno das células, a pouca frequência de aberrações nucleares, o polimorfismo nem sempre muito evidente, fazem, por exemplo, com que o citologista, treinado em citologia genital, encontre um pouco de dificuldade no reconhecimento das células malignas gástricas.

Citamos, a seguir, o esquema dos critérios gerais de malignidade descritos por Papanicolaou⁷²:

I — Modificações estruturais na célula e seu núcleo.

A — Modificações nucleares:

- 1 — Aumento do tamanho nuclear desproporcionado, alterando apreciavelmente o índice núcleo-citoplasma normal.
- 2 — Aumento do conteúdo de cromatina causando hiper-cromasia.
- 3 — Anormalidades estruturais, tais como padrão cromático aberrante, alongamento, irregularidade na distribuição, profundo denteamento e enrugamento, lobulação, brotamento.
- 4 — Nucléolo aumentado ou aumento de seu número além da variação normal.
- 5 — Multinucleação, quando associada com atipia nuclear.
- 6 — Atividade mitótica com figuras mitóticas anormais.
- 7 — Espessamento acentuado da membrana nuclear.
- 8 — Modificações degenerativas, tais como vacuolização anormal, murchamento, completa resolução do núcleo.

B — Modificações citoplasmáticas:

- 1 — Alterações refletidas na reação de coloração (acidofilias nos tumores broncogênicos ou epidermóides) — pode resultar de queratinização.
- 2 — Inclusões citoplasmáticas tais como grânulos de pigmentos (melanoma).
- 3 — Vacuolização atípica (adenocarcinoma).

C — Modificações da célula como um todo:

- 1 — Aumento das células além de seu tamanho normal.
- 2 — Aberração na forma da célula — alongamento, formas bizarras.
- 3 — Alterações degenerativas ou necróticas (adenocarcinoma uterino) — critério pouco útil.

II — Critérios baseados na interrelação das células (grupamentos).

- 1 — Irregularidade da amostra — perda de uniformidade da orientação das células e de seus núcleos.
- 2 — Anisocariose e anisocitose — um dos mais significantes critérios.
- 3 — Perda dos limites individuais das células dentro dos grupamentos, efeito da desdiferenciação celular.
- 4 — Grupamentos densos e amontoados de células e núcleos.
- 5 — Englobamento de uma célula por outra, dando a impressão de fagocitose.
- 6 — Grupamentos celulares em tipos característicos, por exemplo, em roseta (cistadenoma ovariano).
- 7 — Estratificação pronunciada, principalmente quando associada com outras anormalidades nucleares (próprio do carcinoma cervical).

III — Critérios indiretos:

- 1 — Presença de sangue (coagulado e velho).
- 2 — Excesso de linfócitos (linfadenopatia).
- 3 — Proeminência de histiócitos (adenocarcinoma do endométrio). Às vezes apresentam um alto poder de fagocitação, ativa proliferação, formas gigantes, multinucleadas, com hipercromasia e aumento do tamanho nuclear que os faz confundir com células malignas.
- 4 — Leucócitos polimorfonucleares — sinal de inflamação secundária.

Evidentemente que tais caracteres só em casos excepcionais serão todos encontrados em um mesmo esfregaço.

Em se referindo aos esfregaços gástricos, Papanicolaou⁷² não define caracteres especiais, apenas assinala a hipercromasia e irregularidades do

núcleo como caracteres de importância. Salienta que o caráter mucoso de células sugestivas de adenocarcinoma pode ser evidenciado por colorações próprias para o muco. Acrescenta que às vezes, as células malignas tomam arranjo colunar, e em outras, arranjo papilar. Em certas ocasiões obtêm-se verdadeiros pedaços de tumor. Faz notar que a identificação de células de carcinomas anaplásticos torna-se mais difícil dado o pequeno tamanho de tais células.

O Laboratório do Vincent Memorial Hospital⁶⁸ descreve como caracteres malignos nucleares: hipercromatismo, membrana nuclear espessada, condensação cromatínica periférica, irregularidade do arranjo cromatínico, condensações grossas e grumos espessos de cromatina, deixando espaços vazios dentro do núcleo; variação proeminente no tamanho e menos pronunciada na forma, superposição e amontoamento nuclear, nucléolo aumento de tamanho, formas em degeneração. Quanto ao citoplasmas: bordos citoplasmáticos podem estar presentes, mas em geral mal definidos; são encontradas células diferenciadas como no adenocarcinoma, as quais exibem vacúolos citoplasmáticos; citoplasma mais irregular do que liso, frequentemente vacuolizado, aparecendo como um fundo.

Panico em 1953⁶⁶ fez um meticoloso estudo explorando o campo do reconhecimento individual das células gástricas malignas, ao invés dos grupamentos. Sustenta que o bom êxito do exame citopatológico reside no entendimento dos aspectos citológicos isolados. Assim esquematiza os critérios citológicos do câncer gástrico:

“Critérios nucleares:

- Aumento de tamanho
- Hipercromatismo
- Corpos cromatínicos acessórios
- Contorno irregular
- Condensação cromatínica
- Nucléolos proeminentes
- Binucleação
- Multinucleação
- Formação de células gigantes sinciciais
- Picoteamento
- Desnudamento citoplasmático
- Baloneamento
- Fragmentação

Concentração polar
Projeção
Inclusões vacuolares
Divisão mitótica
Gigantismo.

Critérios citoplasmáticos:

Redução de volume
Pequenas inclusões vacuolares
Grandes inclusões vacuolares
Vacuolização perinuclear
Coalescência dos limites
Pseudo-orangeofilia
Inclusão de células degeneradas
Inclusão de células malignas
Inclusão de leucócitos polimorfonucleares
Inclusão de fragmentos, restos celulares
Inclusão de linfócitos
Aspecto irregular

Critérios segundo os grupamentos celulares:

Arranjo irregular
Anisocitose
Anisocariose
Assimetria
Coloração desigual
Sobreposição
Amentoamento
Pleomorfismo."

CLASSIFICAÇÃO DOS RESULTADOS

Das classificações mais empregadas na citologia do câncer destacam-se a de Papanicolaou e de Ayre. A classificação de Papanicolaou^{21, 72} consiste em cinco grupos:

- Grupo I — Ausência de células atípicas ou anormais
 - Grupo II — Citologia atípica mas não evidente de malignidade
-

Grupo III — Citologia sugestiva, mas não conclusiva, de malignidade

Grupo IV — Citologia fortemente sugestiva de malignidade

Grupo V — Citologia conclusiva de malignidade.

Dada a dificuldade em enquadrar os resultados fornecidos pelo exame dos esfregaços do estômago nesse esquema, o autor da classificação original²¹, modificou-a, adaptando-a à citologia gástrica. Os cinco grupos foram então reduzidos a três, quais sejam:

Negativo — correspondente ao grupo I e II

Suspeito — correspondente ao grupo III

Positivo — correspondente ao grupo IV e V.

EXPERIÊNCIA PESSOAL

MATERIAL E MÉTODOS

I — CASUÍSTICA

Nossa experiência é fruto de 65 exames citológicos do estômago realizados em 48 indivíduos, dos quais 29 do sexo masculino e 19 do sexo feminino. A idade no grupo variou entre 19 e 73 anos.

Nossa casuística foi dividida em três grupos assim distribuídos:

I — Normais	10 casos
II — Lesões gástricas benignas	10 casos
III — Lesões gástricas malignas	28 casos
	<hr/>
Total	48 casos

A especificação dos componentes de cada um desses grupos é feita mais adiante.

No primeiro grupo a comprovação de inexistência de afecção gástrica foi feita em oito casos por meios clínicos e radiológicos, nos outros dois apenas por meios clínicos.

No segundo grupo o diagnóstico de lesão gástrica benigna foi firmado em bases histopatológicas em 4 casos. Os restantes tiveram seus diagnósticos fundamentados em bases clínicas, radiológicas, gastroscópicas e evolução terapêutica.

No terceiro grupo, o diagnóstico de malignidade apoiou-se nos seguintes critérios:

Dados clínicos	10 casos
Laparotomia exploradora	3 casos
Exame histopatológico	15 casos

O exame histopatológico foi realizado por ocasião de gastrectomia em 10 casos, de laparotomia com biópsia em 4 casos e de necrópsia em 1 caso.

II — MÉTODOS DE COLHEITA

Desenvolvemos nos 48 pacientes estudados, 7 técnicas diferentes que esquematizamos a seguir:

Lavado gástrico	17 vêzes
Balão de Panico-Papanicolaou e Cooper ..	5 vêzes
Balão de Rubin e col.	22 vêzes
Escôva de Ayre e Oren	6 vêzes
Escôva de Nieburgs	7 vêzes
Quimotripsina	5 vêzes
Inclusão em parafina	3 vêzes
	<hr/>
	65 vêzes

A — *Líquido gástrico em jejum.*

Nossas primeiras tentativas foram realizadas com o suco gástrico aspirado em jejum. Desde logo abandonamos este processo pela inviabilidade das células assim obtidas, deixando de incluí-lo nas considerações e conclusões deste trabalho.

B — *Lavado gástrico.*

Estando o paciente em jejum por 10 horas, passávamos, após prévia anestesia da garganta com neotutocaína, uma sonda gástrica de 0,5 cm de calibre externo, pela boca. O estômago era inteiramente esvaziado e a seguir eram instilados 100 ml de soro fisiológico, por meio de uma seringa de 50 ml. A introdução do soro era feita de forma violenta, sob forte pressão. A seguir, pedíamos que o paciente executasse várias voltas na mesa de exame, estando deitado; depois o paciente se levantava e andava alguns passos. Fazíamos massagens no epigástrico do paciente e aspirávamos, tornando a reintroduzir o líquido no estômago. Finalmente todo o líquido era aspirado ou drenado diretamente para tubo de centrifugação de 50 ml de capacidade, previamente gelado (cerca de 5°C). Conduzíamos rapidamente os tubos a 2 000 rotações por minuto, na centrífuga. A centrifugação era mantida por 10 minutos, após o que o líquido sobrenadante era desprezado e do sedimento preparados esfregaços, tentando aproveitar toda a quantidade do sedimento oferecida pela centrifugação.

As lâminas eram preliminarmente untadas com a albumina de Mayer. Tentávamos perder o mínimo de tempo possível na preparação dos esfregaços. Imediatamente o material era fixado em álcool-éter.

C — *Balão abrasivo gástrico de Panico-Papanicolaou e Cooper.*

Procedemos à técnica descrita pelos autores do método³¹, já referida anteriormente.

A rede empregada no instrumento por nós fabricado, segundo as instruções dos autores⁷² era de textura mediana.

Em todos os casos, as manobras com o instrumento eram controladas por fluoroscopia.

Os esfregaços eram feitos diretamente de fragmentos aderentes à rede, e do sedimento do líquido de lavagem do instrumento (100 ml de partes iguais de álcool a 80% e solução de Ringer). Todo o material deste modo obtido era espalhado em número variável de lâminas, anteriormente untadas com albumina de Mayer.

D — *Balão abrasivo antral de Rubin e col.*

A técnica empregada obedeceu aos preceitos aconselhados pelos autores do método⁴¹. O instrumento por nós fabricado era feito de sonda de luz única, que se conectava ao balão por meio de vários orifícios. O esvaziamento gástrico e lavagem, quando necessária, eram feitos em tempo anterior por meio de sonda de Faucher.

Contrôle fluoroscópico foi praticado em todos os casos.

Todos os pacientes submetidos aos processos de colheita pelos balões, tinham preliminarmente sua faringe anestesiada por neotutocaína a 2%.

E — *Escôva gástrica rotatória de Ayre e Oren.*

Utilizamos as recomendações de Ayre e Oren⁷⁷ ao empregarmos este processo. Todas as manobras intragástricas com o instrumento foram executadas por trás do écran fluoroscópico.

As escôvas eram espremidas entre duas lâminas e espalhado o material sobre lâminas cobertas pela albumina de Mayer.

F — *Escôva abrasiva gástrica de "nylon" de Nieburgs.*

Foi executada a técnica de modo idêntico à anterior, de acordo com as instruções do autor⁷¹.

G — *Quimotripsina.*

Empregamos em nossos casos o produto fornecido pelo Laboratório Armour (Cytolav)*, apresentado em cápsula de 7 mg. A técnica utilizada seguiu a descrição, anteriormente referida, de Rubin e col.⁴¹.

Ao invés de adicionar uma gota de sôro sanguíneo ao sedimento, preferimos usar a albumina de Mayer, que tem nos dado bons resultados.

H — *Inclusão em parafina.*

Esta técnica foi empregada em três ocasiões. A primeira aproveitou um fragmento de tecido que flutuava no líquido de lavagem gástrica. A segunda e a terceira inclusão foram feitas a partir de fragmentos aderentes às malhas da rede do instrumento de Rubin e col.

III — PROCEDIMENTOS NOS PACIENTES COM OBSTRUÇÃO
PILÓRICA.

Nestes casos recomendávamos dieta líquida por 3 a 5 dias antes da realização da prova. No dia que antecedia a colheita procedíamos à lavagem do estômago uma ou duas vezes, com abundante quantidade de sôro fisiológico. Após a última lavagem, feita no fim da tarde, o paciente permanecia em jejum.

Imediatamente antes de proceder à colheita, nova lavagem era praticada, até que o líquido de lavagem saísse limpo.

IV — NÚMERO DE ESFREGAÇOS.

O total de lâminas do presente trabalho atingiu o número de 600; o número de esfregaços realizados em cada caso oscilou entre 4 e 20.

V — FIXAÇÃO.

Com exceção dos fragmentos incluídos em parafina, que foram fixados em formol a 10%, todos os esfregaços foram fixados em solução de álcool etílico a 95% e éter, em partes iguais. A solução era sempre de preparação recente.

Permaneciam as lâminas na solução fixadora, antes que fôsem coradas, de 30 minutos a 24 horas, aproximadamente.

* Agradecemos ao Prof. J. P. Lopes Pontes pela gentileza em nos ceder a substância.

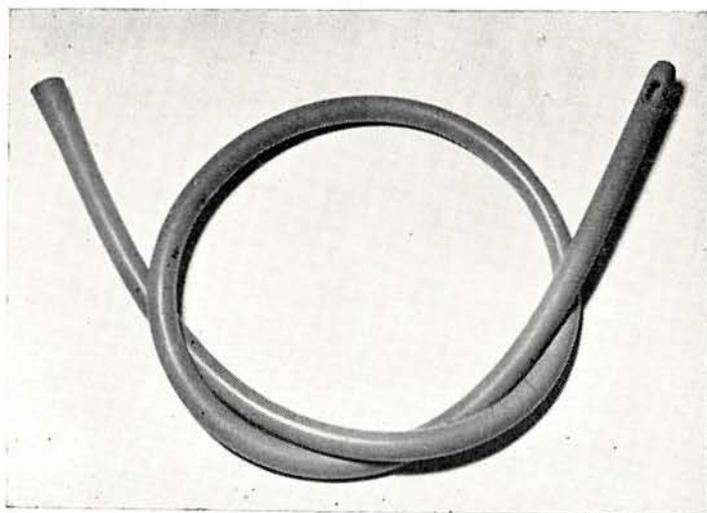


Figura 1 — Sonda para lavagem do estômago.

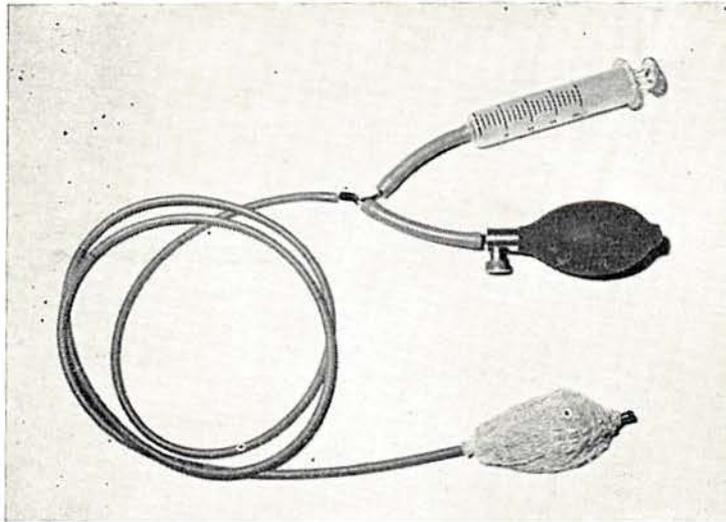


Figura 2 — Balão abrasivo gástrico de Panico, Papanicolaou e Cooper.

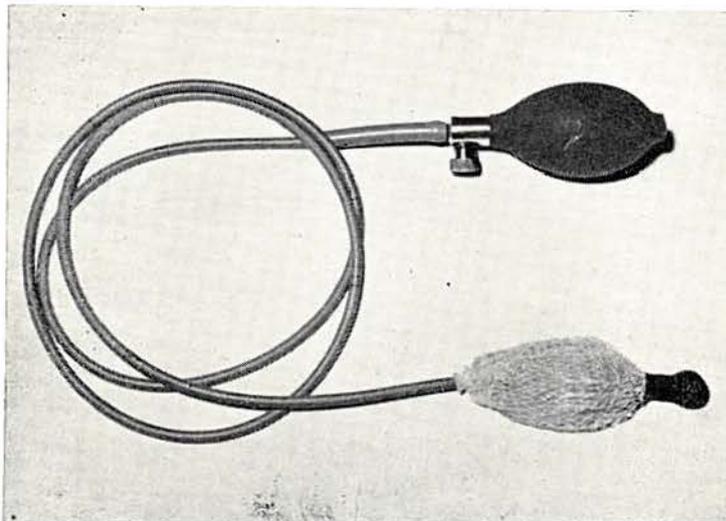


Figura 3 — Balão abrasivo antral de Rubin e col.

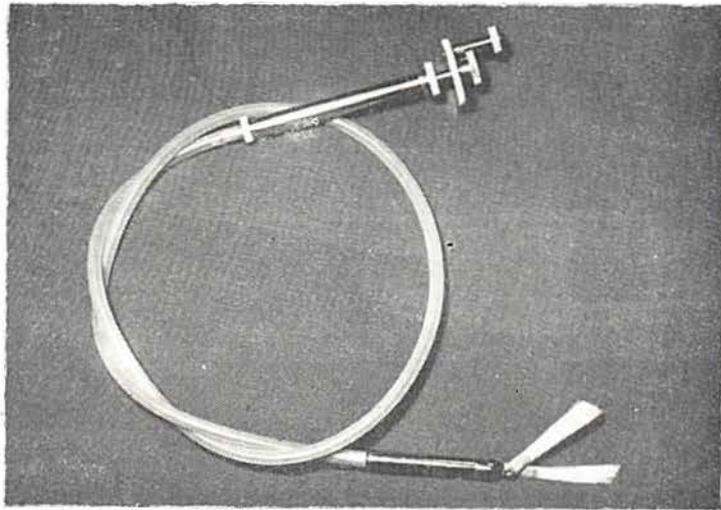


Figura 4 — Escôva gástrica rotatória de Ayre e Oren.

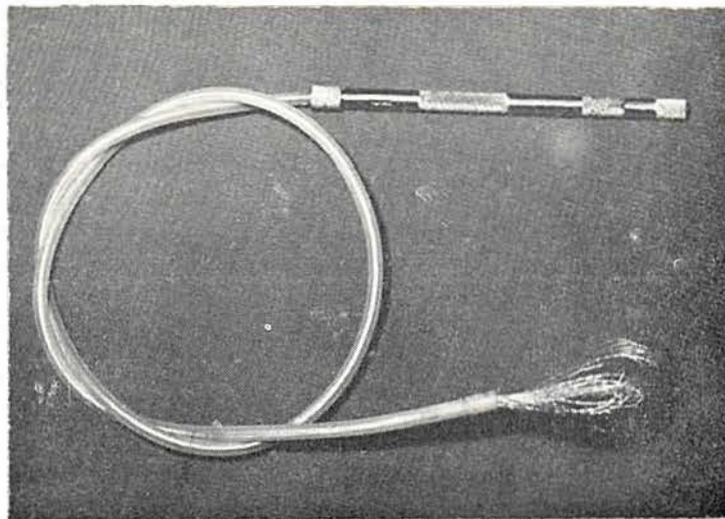


Figura 5 — Escôva abrasiva gástrica de "nylon" de Nieburgs.

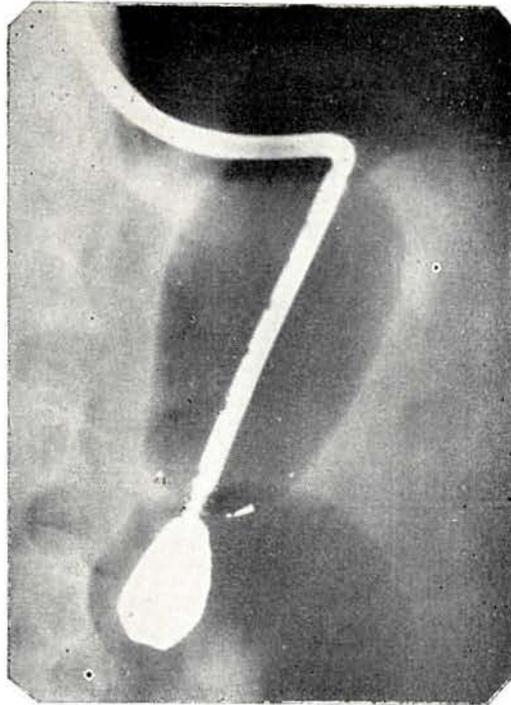


Figura 6 — Balão abrasivo antral de Rubin e col., no interior do estômago (contrôle radiológico).

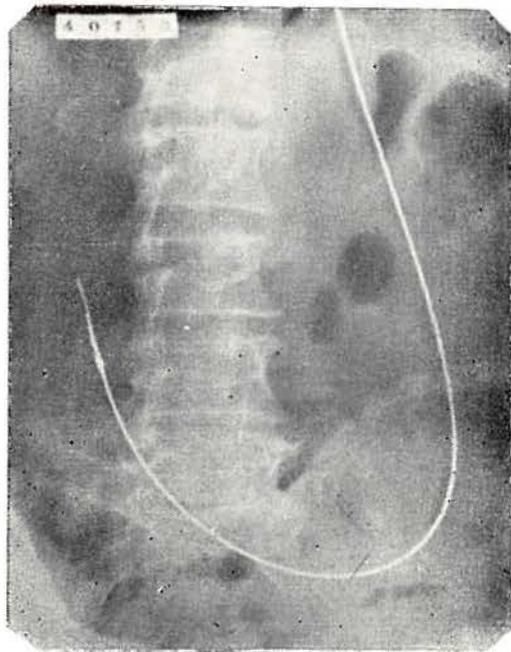


Figura 7 — Escôva de Nieburgs no interior do estômago (contrôle radiológico).

VI — COLORAÇÃO.

O processo de coloração obedeceu fielmente às instruções por nós recebidas diretamente de "The Papanicolaou Research Laboratory" em 1 de março de 1957, conforme se segue:

Álcool a 80%

Álcool a 70%

Álcool a 50%

Água destilada

Hematoxilina de Harris diluída em partes iguais com água destilada

— 2 minutos

Água destilada

Água destilada

Água destilada

Álcool a 50%

Solução de NH_4OH a 1,5% em álcool a 70% — 1 minuto

Álcool a 70%

Álcool a 70%

Álcool a 80%

Álcool a 95%

OG 6 — 1,5 minutos

Álcool a 95%

Álcool a 95%

Álcool a 95%

EA 65 — 1,5 minutos

Álcool a 95%

Álcool a 95%

Álcool a 95%

Álcool absoluto

Álcool absoluto

Álcool absoluto e xilol (partes iguais)

Xilol

Xilol

Xilol

Montagem

A Hematoxilina de Harris foi preparada segundo as recomendações do Laboratório do Vincent Memorial Hospital⁶⁸.

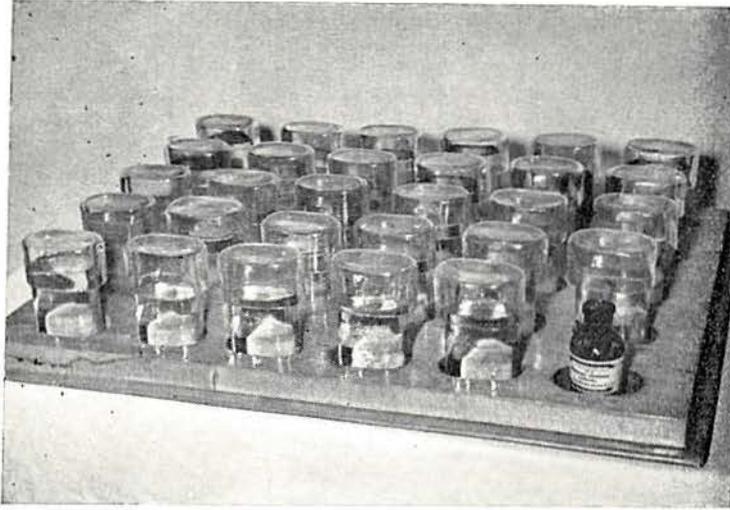


Figura 8 — Bateria usada no processo de coloração de Papanicolaou.

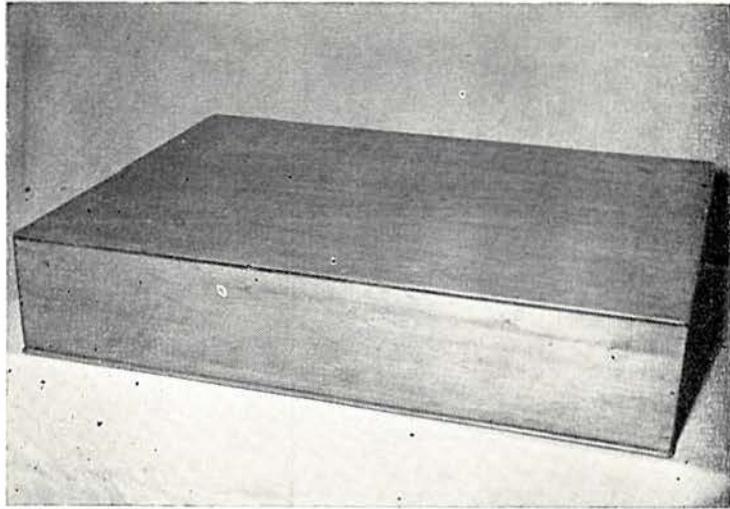


Figura 9 — Tapa de madeira que protege a bateria, quando não está em uso, e diminui a evaporação das soluções.

Tôdas as precauções para evitar a contaminação pelos "flutuadores" foram tomadas.

VII — OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA.

Tôdas as lâminas foram submetidas à demorada e meticulosa investigação microscópica. Todos os campos foram inspecionados de forma sistemática. O tempo gasto em examinar as lâminas inicialmente variava em torno de 30 minutos para cada lâmina.

Com o ganho de maior experiência, êsse tempo foi gradativamente sendo diminuído. Via de regra dispendíamos um mínimo de 15 minutos no exame de cada lâmina.

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

I — GRUPO NORMAL.

Êste grupo estava composto por 10 indivíduos que não apresentavam doença do estômago. Cada indivíduo foi objeto de uma única investigação citológica, empregando-se um único método de colheita.

Os processos empregados foram os seguintes:

Lavado gástrico	3 vezes
Balão de Rubin e col.	5 vezes
Escôva de Ayre e Oren	1 vez
Quimotripsina	1 vez

Os resultados classificaram-se do seguinte modo:

Positivos	0
Suspeitos	0
Negativos	10

Todos os casos forneceram suficiente material para o exame citológico em boas condições. Não foi verificado nenhum caso de falso positivo.

QUADRO 1

N.º	Nome	Radiologia	Método citológico	N.º de lâminas	Resultado
1	M. P.	Normal	Balão de Rubin e col.	4	Negativo
2	D. S.	Normal	Balão de Rubin e col.	5	Negativo
3	A. A.	Normal	Balão de Rubin e col.	4	Negativo
4	J. B.	Normal	Balão de Rubin e col.	10	Negativo
5	O. S.	Normal	Balão de Rubin e col.	10	Negativo
6	J. F.	Normal	Escôva de Ayre e Oren	6	Negativo
7	M. B.	Normal	Quimotripsina	6	Negativo
8	O. L. T.	Normal	Lavado gástrico	6	Negativo
9	O. A. S.	—	Lavado gástrico	6	Negativo
10	E. C.	—	Lavado gástrico	6	Negativo

II — GRUPO DE LESÕES GÁSTRICAS BENIGNAS.

Dez pacientes fazem parte dêste grupo, com a seguinte distribuição

Úlcera péptica	5 pacientes
Gastrite crônica	1 paciente
Fitobezoar e úlcera gástrica benigna ...	1 paciente
Anemia perniciosa	2 pacientes
Acloridria histamino-resistente	1 paciente

Justifica-se a inclusão, neste grupo, dos dois casos de anemia perniciosa e de um caso de acloridria, pois que, embora nenhum dêles apresentasse lesão gástrica evidenciável, são pacientes nos quais a incidência de câncer gástrico costuma ser maior que o habitual, e a vigilância constitui a regra. Por essa razão foram submetidos ao exame citológico, não só visando surpreender um eventual aparecimento de células cancerosas, como também verificar se apareciam células características de anemia perniciosa ou de gastrite atrófica.

Os seguintes métodos de colheita foram empregados neste grupo de pacientes:

Lavado gástrico	3 vêzes
Escôva de Ayre e Oren	1 vez
Escôva de Nieburgs	4 vêzes
Balão de Rubin e col.	8 vêzes
Quimotripsina	2 vêzes
Inclusão em parafina	1 vez

Dos dez pacientes que integravam êste grupo, 7 foram submetidos a uma só técnica de colheita; em dois usaram-se duas técnicas e em um caso, três métodos diferentes foram empregados.

Os resultados, referidos à malignidade, foram relatados da seguinte forma:

Positivos	0
Suspeitos	0
Negativos	10

QUADRO 2

N.º	Nome	Radiologia	Gastroscoopia	Método citológico	N.º de lâminas	Resultado citológico	Resultado histopat.	Observações
1	A. C.	Úlcera péptica gástrica	Úlcera péptica	Lavado gástrico Lavado gástrico	5 6	Negativo Negativo	Úlcera benigna	Gastrectomia
2	G. G.	Normal	—	Balão Rubin e col. Balão Rubin e col. Balão Rubin e col.	5 5 6	Negativo Negativo Negativo	— — —	Anemia perniciososa tratada
3	J. P. S.	Gastrite antral	Gastrite	Balão Rubin e col. Balão Rubin e col. Balão Rubin e col. Inclusão parafina	9 10 9 4	Negativo Negativo Negativo Negativo	—	Evolução clínica favorável
4	C. E. C.	Úlcera péptica gástrica	—	Balão Rubin e col.	10	Negativo	—	Evolução clínica favorável
5	M. M.	Carcinoma gástrico	Carcinoma	Balão Rubin e col. Escóva Nieburgs Quimotripsina	5 7 9	Negativo Negativo Negativo	Firobezoar e úlc. gástr. benigna	Gastrectomia
6	J. R.	Normal	Normal	Escóva de Ayre-Oren	6	Negativo	—	Acloridria
7	O. V.	Úlcera gástrica suspeita	—	Lavado gástrico	4	Negativo	Úlcera benigna	Gastrectomia
8	A. P.	Estenose pilórica benigna	—	Escóva Nieburgs Quimotripsina	10 10	Negativo Negativo	—	Laparotomia aspecto cicatricial
9	A. J.	Úlcera péptica gástrica	—	Escóva Nieburgs	7	Negativo	Úlcera benigna	Gastrectomia
10	A. T.	Normal	—	Escóva Nieburgs	5	Negativo	—	Anemia perniciososa não tratada

Os laudos citológicos concordaram, pois, inteiramente com o diagnóstico final em todo o grupo. Nenhum dos exames foi insatisfatório, nem temos a registrar resultados falso-positivos.

Nos casos de úlcera péptica do estômago, observamos freqüentemente células com forma um pouco atípica, núcleos irregulares e aumentados discretamente de tamanho, com nucléolos proeminentes, conservando, no entanto, o índice núcleo-citoplasma normal. Essas alterações, entretanto, nunca foram suficientemente marcadas, a ponto de despertar a suspeita de malignidade.

O caso de J. P. S. (N.º 3 do quadro 2) foi objeto de três colheitas sucessivas. Em tôdas as ocasiões apresentou atipias nucleares (fig. 14) como nucléolo proeminente, irregularidade na distribuição da cromatina e discreto polimorfismo nuclear. O índice núcleo-citoplasma não estava, contudo, alterado. Um dos fragmentos colhido no último exame foi incluído em parafina e forneceu elementos histopatológicos suficientes para o diagnóstico de gastrite crônica. O paciente foi acompanhado durante vários meses e a evolução clínica mostrou-se favorável.

No caso de G. G. (N.º 2 do quadro 2), portador de anemia perniciosa em fase de remissão terapêutica não foi evidenciada nenhuma alteração nas células do epitélio pavimentoso estratificado da boca, faringe e esôfago, nem nas células epiteliais do estômago. Segundo afirmam Graham e Rheault⁸³, é provável que a medicação específica tenha feito regredir as alterações citológicas, se é que alguma vez estiveram presentes neste caso. Igualmente no caso de acloridria (Paciente J. R., N.º 6 do quadro 2), nenhuma anormalidade celular foi constatada. Procuramos, sem êxito, as células de muco, conhecidas como "goblet cells", que costumam aparecer nestes casos, devido a processo de intestinalização da mucosa gástrica.

No paciente A. T. (N.º 10 do quadro 2), portador de anemia perniciosa não tratada, foi evidenciado aumento nuclear das células do epitélio pavimentoso estratificado da boca, faringe, esôfago, além de muitos grupamentos típicos de células de anemia perniciosa, tipo delicado ("P. A. Bland Cell Type"), descritas por Massey e Rubin⁶⁵, (fig. 15).

Com a finalidade de avaliar as modificações celulares presentes nas lesões gástricas benignas, procedemos raspagem direta transoperatóriamente das lesões, em 8 pacientes que estavam sendo submetidos à gastrectomia. Dêste grupo três haviam sido submetidos a exame citológico antes da cirurgia. Os resultados foram os seguintes:

N.º*	Nome	Exame histopatológico	Raspado da lesão
—	F. P. R.	Úlcera péptica do duodeno	Células gástricas normais (raspadas do estômago).
—	O. L. H.	Gastrite crônica hipertrófica	Células atípicas gástricas.
—	C. T. H.	Úlcera péptica do estômago	Cél. gástricas degeneradas.
—	A. M. L.	Úlcera péptica do estômago	Células gástricas normais.
—	E. I.	Úlcera péptica do estômago	Células gástricas normais.
5	M. M.	Úlcera benigna do estômago	Células gástricas normais.
7	O. V.	Úlcera péptica do estômago	Cél. gástricas degeneradas.
9	A. J.	Úlcera péptica do estômago	Cél. gástricas degeneradas.

Os resultados expressos no esquema acima traduzem o aspecto citológico predominante nos esfregaços. Quando encontrávamos grande número de células gástricas normais, também, em menor proporção, eram vistas células em degeneração. Citólise e cariólise eram os aspectos mais encontrados nas células degeneradas. As células atípicas (fig. 14) observadas no caso de gastrite crônica eram muito semelhantes às mencionadas anteriormente nos casos de raspado direto de lesões gástricas benignas, especialmente se assemelhavam muito às células raspadas diretamente do estômago sede de gastrite crônica hipertrófica. Estas últimas exibiam, na maioria das células, um nucléolo muito proeminente. Nos casos de úlcera, os raspados eram feitos nos bordos, no fundo e nas vizinhanças do nicho.

* N.º correspondente ao quadro 2.

III — GRUPO DE LESÕES GÁSTRICAS MALIGNAS.

Dos 28 pacientes portadores de neoplasia gástrica maligna, três foram excluídos da interpretação final dos resultados, em virtude da insuficiência e impropriedade do material citológico.

Os seguintes processos foram empregados:

Lavado gástrico	11 vêzes
Escôva de Ayre e Oren	4 vêzes
Escôva de Nieburgs	3 vêzes
Balão de Panico, Papanicolaou e Cooper ..	5 vêzes
Balão de Rubin e col.	9 vêzes
Inclusão em parafina	2 vêzes
Quimotripsina	2 vêzes.

Em 21 pacientes realizou-se uma só técnica de colheita, enquanto que em 5 pacientes praticaram-se 2 técnicas diferentes e em 1 paciente 3 métodos de colheita diversos foram efetuados.

A classificação dos resultados com os 25 pacientes selecionados dêste grupo foi a seguinte:

Positivos	10
Suspeitos	6
Negativos	9

O índice geral de positividade foi de 40%, de suspeita 24% e de falsos-negativos 36%. Portanto, em 64% dos casos, o diagnóstico citológico de suspeita ou de afirmação de malignidade foi levantado.

Considerando que a experiência do técnico é um fator fundamental para o bom êxito do método, comparamos os resultados obtidos com os 10 últimos casos e os 18 casos iniciais. Os últimos casos são os mais contemporâneos com nossa melhor experiência.

Verificamos que os primeiros 18 pacientes, excluindo-se os que apresentaram resultados insatisfatórios, exibiam um índice de positividade de apenas 20% e de suspeita 40%. Por outro lado, os últimos 10 pacientes estudados revelaram um sensível aumento da cifra percentual de positividade, qual seja um índice de 70% de resultados positivos.

QUADRO 3

N.º	Nome	Radiologia	Gastroscoopia	Método citológico	N.º de lâminas	Resultado citológico	Resultado histopat.	Observações
1	M. V. L.	Carcinoma do antro	Carcinoma	Lavado gástrico	6	Insatisfatório	—	Inoperável
2	A. B.	Carcinoma do antro	Insatisfatório	Lavado gástrico	10	Suspeito	Carcinoma sólido	Gastrectomia
3	O. S. D.	Úlcera péptica gástrica	Úlcera péptica	Lavado gástrico	4	Negativo	Úlcera cancerizada	Gastrectomia
4	E. V.	Carcinoma do antro	—	Lavado gástrico	8	Positivo	—	Laparotomia. Tumor inextirpável. Faleceu 3 meses após.
5	E. B.	Úlcera suspeita de malignidade	Úlcera benigna	Lavado gástrico Lavado gástrico Inclusão parafina Escóva de Ayre-Oren	5 5 4 8	Suspeito Suspeito Suspeito Negativo	Adenocarcinoma ulceroso	Gastrectomia
6	T. Z. A.	Carcinoma do antro com estenose	—	Lavado gástrico	5	Suspeito	—	Inoperável
7	P. U.	Idem	—	Escóva de Ayre-Oren	5	Insatisfatório	—	Faleceu 10 dias após o exame
8	J. R.	Idem	—	Escóva de Ayre-Oren	5	Positivo	Carcinoma sólido	Necrópsia
9	M. J. M.	Idem	—	Escóva de Ayre-Oren	4	Negativo	Carcinoma esquizirroso	Gastrectomia
10	J. C.	Idem	—	Balão Panico e col.	5	Suspeito	—	Inoperável

QUADRO 3

N.º	Nome	Radiologia	Gastroscoopia	Método citológico	N.º de lâminas	Resultado citológico	Resultado histopat.	Observações
11	M. P. G.	Carcinoma do antro com estenose	—	Balão Panico e col.	6	Suspeito	—	Faleceu 15 dias após o exame
12	F. C.	Idem	—	Balão Panico e col.	6	Negativo	Adenocarcinoma ulcerado	Gastrectomia
13	M. T.	Idem	—	Balão Panico e col.	5	Negativo	—	Laparotomia. Tumor inextirpável
14	A. B.	Idem	—	Balão Panico e col. Lavado gástrico	4 5	Suspeito Negativo	—	Negou-se à cirurgia
15	H. F. S.	Carcinoma do antro	—	Balão Rubin e col.	4	Positivo	Adenocarcinoma ulcerado	Gastrectomia
16	M. O. K.	Estenose orgânica do piloro	—	Lavado gástrico	5	Insatisfatório	Carcinoma sólido	Laparotomia. Tumor inextirpável
17	J. F. D.	Carcinoma do antro com estenose	—	Balão Rubin e col.	4	Negativo	—	Negou-se à cirurgia
18	M. B.	Carcinoma do corpo gástrico	—	Balão Rubin e col.	4	Negativo	Adenocarcinoma ulcerado	Gastrectomia
19	N. K.	Úlcera gástrica péptica	Úlcera péptica	Balão Rubin e col.	5	Positivo	—	Laparotomia. Tumor inextirpável
20	J. P.	Idem	—	Balão Rubin e col.	7	Positivo	Adenocarcinoma ulcerado	Gastrectomia

QUADRO 3

N.º	Nome	Radiologia	Gastroscofia	Método citológico	N.º de lâminas	Resultado citológico	Resultado histopat.	Observações
21	J. C.	Carcinoma do antro	—	Balão Rubin e col.	20	Positivo	Carcinoma indiferenciado	Gastrectomia
22	V. S.	Carcinoma do antro e corpo do estômago	—	Escôva de Nieburgs	7	Negativo	Adenocarcinoma ulcerado	Gastrectomia
23	A. P. S.	Úlcera péptica. Um mês após infiltração suspeita	Carcinoma	Balão Rubin e col. Inclusão parafina	10 4	Positivo Positivo	Adenocarcinoma	Biópsia por laparotomia
24	M. F. O.	Carcinoma do corpo gástrico	—	Escôva de Nieburgs	9	Negativo	—	Negou-se à cirurgia
25	J. C. B.	Idem	—	Lavado gástrico Balão Rubin e col.	4 6	Negativo Negativo	Adenocarcinoma	Laparotomia. Tumor inextirpável. Biópsia epíloon
26	M. J. M.	Idem	Carcinoma	Lavado gástrico Balão Rubin e col.	5 5	Positivo Positivo	Carcinoma indiferenciado	Laparotomia. Tumor inextirpável. Biópsia do tumor
27	A. M.	Carcinoma do antro com estenose	—	Escôva de Nieburgs Quimotripsina	10 10	Positivo Positivo	—	Negou-se à cirurgia
28	A. G.	Carcinoma. Úlcera peq. curvatura	—	Quimotripsina	10	Positivo	—	Negou-se à cirurgia

RESULTADOS INSATISFATÓRIOS

A ocorrência de resultados insatisfatórios em três casos foi devida à considerável presença de sangue em um e resíduo excessivo nos outros dois. Apesar de lavagem gástrica preliminar, feita de forma metódica, não conseguimos obter esfregaços viáveis de interpretação citológica. O material mostrava-se muito escasso e profundamente alterado.

RESULTADOS FALSOS-NEGATIVOS

Tendo em vista verificar a viabilidade das células malignas passíveis de esfoliação, executamos raspagem direta de lesões cancerosas do estômago no decurso de intervenções cirúrgicas em nove casos. Sete dêles haviam sido submetidos anteriormente a exame citológico. Em dois casos o exame citológico antes da intervenção não pôde ser realizado.

Os resultados comparativos entre os achados histopatológicos e citológicos, estes provenientes de material colhido durante a cirurgia, são os seguintes:

N.º*	Nome	Exame histopatológico	Raspado da lesão
2	A. B.	Carcinoma sólido	Células malignas em bom estado de conservação.
3	O. S. D.	Úlcera cancerizada	Células degeneradas irreconhecíveis.
5	E. B.	Adenocarcinoma ulcerado	Células malignas em bom estado de conservação.
9	M. J. M.	Carcinoma esquizoide	Ausência de células malignas.
18	M. B.	Adenocarcinoma ulcerado	Células malignas em bom estado de conservação.
20	J. P.	Adenocarcinoma ulcerado	Células malignas em bom estado de conservação.
22	V. S.	Adenocarcinoma ulcerado	Células degeneradas irreconhecíveis.
—	E. D.	Adenocarcinoma ulcerado	Células malignas em bom estado de conservação acompanhadas de outras com avançada degeneração.
—	M. S. P.	Carcinoma sólido ulcerado	Células malignas um pouco degeneradas.

* N.º correspondente ao quadro 3.

Nos casos falsos-negativos 3, 9 e 22 (quadro 3), mesmo a raspagem da própria lesão foi incapaz de oferecer células malignas passíveis de identificação, menos poder-se-ia esperar pelo simples lavado ou pela abrasão da escôva. O caso falso-negativo 12 (quadro 3) tratava-se de adenocarcinoma extensamente ulcerado. É provável que o processo de necrose impedisse a obtenção de células íntegras, que conservassem os caracteres de malignidade. Não temos, no entanto, explicação para o caso de adenocarcinoma ulcerado n.º 18 (quadro 3) que forneceu resultado falso-negativo e, entretanto, pelo raspado direto da lesão, inúmeras células malignas em bom estado de conservação foram observadas. Os restantes falsos-negativos, n.ºs 13, 17, 24 e 25 (quadro 3), eram tumores em evolução muito avançada, localizados em estômagos com obstrução pilórica, razões prováveis do fracasso do método nesses pacientes.

MÉTODOS DE COLHEITA

Visto que não empregamos sistematicamente, no mesmo paciente, os diferentes processos de obtenção celular, não podemos tirar conclusões definitivas sobre seus valores comparativos.

De um modo geral, observamos que os métodos abrasivos mecânicos eram os que propiciavam os melhores esfregaços. Lâminas mais limpas, maior abundância de células foram fornecidas pelo uso dessas técnicas. A conservação celular nos pareceu também a mais satisfatória.

No caso de A. M. (N.º 27 do quadro 3), tanto os esfregaços preparados pelo processo da quimotripsina como pela escôva de Nieburgs, permitiram um diagnóstico positivo para malignidade. No entanto, cabe assinalar, que as lâminas preparadas a partir da escôva, que graças a manobras adicionais conseguiu, com êxito, ganhar a zona visada, continham uma quantidade de células malignas significativamente maior do que com a quimotripsina⁸⁷.

Os laudos dos exames do grupo maligno foram relacionados com os métodos de colheita empregados e esquematizados da seguinte forma:

	(Número de vêzes)			
	Positivo	Negativo	Suspeito	Insatisf.
Lavado gástrico	2	3	4	2
Escôva de Ayre e Oren	1	2		1
Escôva de Nieburgs	1	2		
Balão de Panico, Papanicolaou e Cooper		2	3	
Balão de Rubin e col.	6	3		
Quimotripsina	2			
Inclusão em parafina	1		1	

DIAGNÓSTICO CLÍNICO INCERTO

Não é raro, na clínica, deparar com situações nas quais a anamnese, os exames físico, radiológico, gastroscópico e do suco gástrico não decidem da natureza benigna ou maligna de uma lesão gástrica. Nestes casos, a demonstração de células malignas pelo exame citológico, desfaz, na quase totalidade das vêzes, a dúvida diagnóstica.

Dois casos de nossa casuística ilustram bem a afirmação que acabamos de fazer. Passaremos a relatá-los.

OBSERVAÇÃO 1 (caso N.º 25 do quadro 3)

J. P., masculino, com 57 anos de idade, branco, casado, comerciante, natural de Santa Maria, R. G. S., residente em Pôrto Alegre.

Consultou pela primeira vez em 20/2/58, queixando-se desde há 3 meses, de náuseas que eram interpretadas pelo paciente como indício de fome, mas que não passavam apesar de se alimentar, tendo, inclusive perdido o apetite. Emagreceu cerca de 10 kg em 2 meses. Astenia pronunciada e dispnéia de esforço. Referia ainda lombalgia e disúria.

O exame físico revelou um homem de 1,70 m de altura pesando 71 kg. Não apresentava nada de significativo ao exame físico dos principais

sistemas. O exame radiológico do coração e dos pulmões foi normal. Instabilidade apofisária entre L3 e L4 foi constatada pelo exame radiológico da coluna lombo-sacra.

Os exames rotineiros laboratoriais de urina e de sangue, inclusive hemograma, proteinograma, lipidograma, provas de floculação do soro e outros, não demonstraram anormalidades. A colecistografia foi inteiramente normal.

O exame radiológico do estômago praticado em 26/2/58, atestou lesão ulcerada da pequena curvatura do estômago, a qual foi considerada pelo radiologista como provável úlcera péptica.

Um tratamento dietético-medicamentoso rigoroso foi instituído e a resposta clínica foi insatisfatória.

Um novo exame radiológico foi executado em 25/3/58, relatando uma regressão das proporções do nicho ulceroso anteriormente descrito, havendo proeminência dos bordos da úlcera, na opinião do radiologista como sendo reação inflamatória. Ante a insistência do médico assistente, frente à ausência de resposta clínica ao teste terapêutico, o radiologista não afastou a possibilidade de tratar-se de um carcinoma ou linfoma.

O exame citológico foi levado a efeito em 31/3/58. Utilizou-se o balão abrasivo antral de Rubin e col. Células típicas de malignidade foram observadas em apreciável quantidade. O citoplasma apresentava formações vacuolares típicas, segundo alguns autores^{68, 72}, de adenocarcinoma.

Em 29/4/58 o paciente submeteu-se a laparotomia. O cirurgião verificou a presença de um tumor polipóide ulcerado, localizado restritamente no corpo do estômago. A gastrectomia subtotal realizou-se em muito boas condições. O laudo do exame histopatológico atestou adenocarcinoma grau I do estômago com áreas de tipo gelatinoso e gastrite crônica.

Enquanto os exames radiológicos rotulavam a lesão como de natureza benigna, o exame citológico atestava sua malignidade. Esse fato encorajou enormemente a indicação cirúrgica, que de outra forma talvez só ficasse decidida quando os aspectos radiológicos evidenciassem já uma lesão consideravelmente maior, em tempo demasiadamente avançado. É bem possível, se não certo de que o exame citológico, se empregado mais precocemente teria encurtado o intervalo entre o reconhecimento da lesão maligna e a cirurgia.

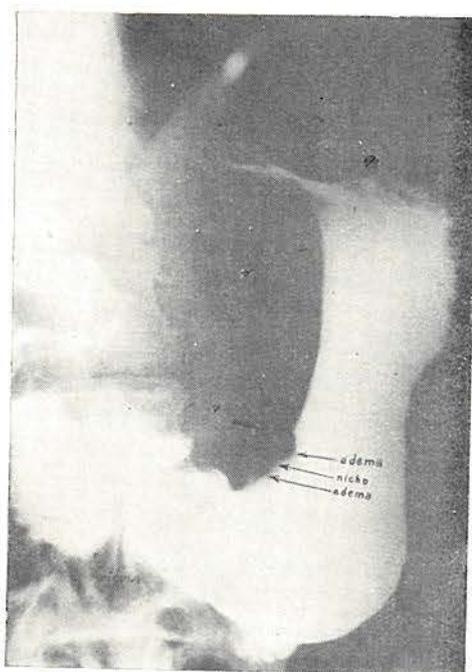


Figura 10 — Aspecto radiológico do paciente J. P. (N.º 20 do quadro 3), interpretado como úlcera péptica benigna, na extremidade distal da porção vertical da pequena curvatura gástrica.

OBSERVAÇÃO 2 (caso N.º 19 do quadro 3)

N. K., masculino, com 57 anos de idade, branco, casado, comerciante, natural da Polônia, residente em Pôrto Alegre.

Consultou pela primeira vez em 18/10/1956 para uma revisão clínica com o fim de submeter-se a uma prostatectomia por adenoma benigno.

Sua queixa principal resumia-se em discreta dor precordial de pouca duração e sem relação com o exercício ou emoções. Dispnéia aos esforços médios.

No seu passado referia hipertensão arterial de 160/130 tendo um ECG normal. Pirose ocasional. Eructações. Aerofagia. Intolerância às gorduras. No verão de 1956 teve uma hematêmese sendo negativa a investigação clínica e radiológica nessa ocasião. Entretanto, a revisão das radiografias, mais tarde, mostrou que já havia sinais incipientes de lesão gástrica, a ser descrita mais adiante.

O exame físico revelou um homem de bom estado geral, pesando 70,7 kg e com 1,66 m de altura. Prótese dentária superior e inferior. Tensão arterial de 150/90. Nos principais sistemas, nada de anormal. O exame radiológico dos pulmões e coração não relatou anormalidade. Apenas discreta neutrocitopenia foi surpreendida pelo hemograma. Os demais exames laboratoriais rotineiros eram normais.

Em abril de 1957 um exame radiológico do esôfago, estômago e duodeno não evidenciou qualquer suspeita de lesão orgânica. O hemograma mostrou uma nítida anemia macrocítica hipocrômica.

O paciente apresentou em julho de 1957, uma hemossedimentação de 26 mm na 1.^a hora. Hanger + + +, Timol turvação 14 Unidades Mac-Clagan, floculação + + +. Retenção da bromo-sulfoftaleína 45 minutos após injeção I.V. de 5 mg/kg de peso — 4,2%. Concentração da protrombina 100%.

O paciente continuou com sintomas dispépticos até que em dezembro de 1957 um novo exame radiológico do esôfago e do estômago foi feito revelando um pequeno divertículo esofágico epibrônquico e um grande nicho ulceroso, sobre a parede posterior do estômago, na porção alta do corpo, imediatamente abaixo do fórnice. A interpretação do radiologista tendia mais para a natureza benigna.

Gastroscoopia foi levada a efeito em janeiro de 1958. Visualizou-se junto à grande curvatura, uma dobra de parede que ocultava a lesão, havendo hemorragia por ocasião da aspiração.

Em 24/1/58 um contrôle radiológico acusou uma redução de proporções do nicho ulceroso.

Outro contrôle radiológico executado 20 dias após, demonstrou ainda mais acentuada redução do nicho ulceroso. Nesta ocasião a pesquisa de sangue oculto nas fezes foi negativa.

O exame citológico foi precedido em 1/3/58. Utilizou-se o balão abrasivo antral de Rubin e col. Como no caso anterior, vários grupos de células com caracteres inequívocos de malignidade foram encontrados.

Logo após, um estudo radiológico do esôfago e estômago foi realizado, evidenciando que o antro cardíaco e o fórnice tinham perdido a flexibilidade. As pregas de mucosa da porção diafragmática do esôfago tinham, no entanto, desenho mucoso normal. Na mesma ocasião a pesquisa de ácido clorídrico livre, pelo teste do Diagnex, resultou negativa.

O paciente viajou para São Paulo poucos dias após ingressando no Hospital de Câncer daquela cidade. O exame radiológico, lá praticado, revelou zonas de defeito de enchimento amputando a grande curvatura da cárdia (CA vegetante e infiltrante da cárdia e grande curvatura).

Seguiu-se uma laparotomia tendo sido constatado um grande tumor invadindo a metade proximal do estômago, formando um bloco com o pâncreas, pequeno epíplon e lobo esquerdo do fígado, deixando a cárdia praticamente livre. Havia ascite com disseminação no peritônio visceral. Não foi possível praticar ressecção.

O paciente faleceu poucos dias após a intervenção.

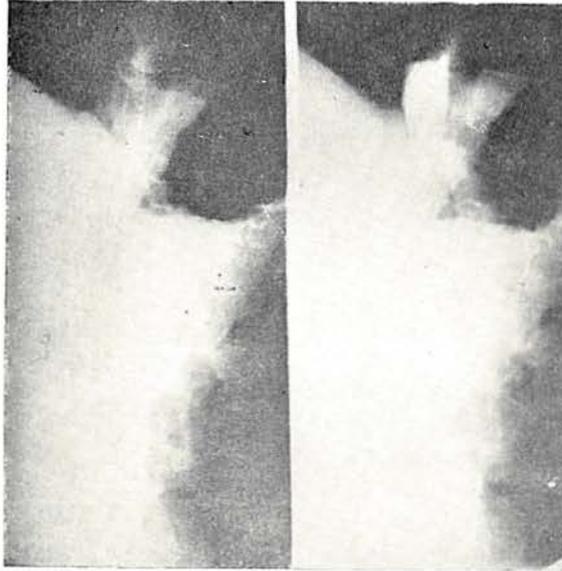


Figura 11 — Aspecto radiológico do paciente N. K. (N.º 19 do quadro 3), interpretado como úlcera benigna.

No presente caso, se o exame citológico tivesse sido realizado por ocasião da primeira manifestação de lesão gástrica, qual seja a hematêmese apresentada pelo paciente dois anos antes, em 1956, quando ainda os exames radiológicos pouco ou nada evidenciavam, é muito provável que demonstrasse a existência de lesão maligna incipiente, ocasião em que uma cirurgia adequada talvez, se não certamente, determinaria resultados muito melhores. É de salientar, ainda, que a radiologia só fez o diagnóstico de malignidade em um estágio em que a lesão já era inoperável.

MICROFOTOGRAFIAS

Obridas com o Microscópio Ortolux
(Ernst Leitz) e o dispositivo modelo
Mykas (Ernst Leitz) adaptado à câmara
Leica.

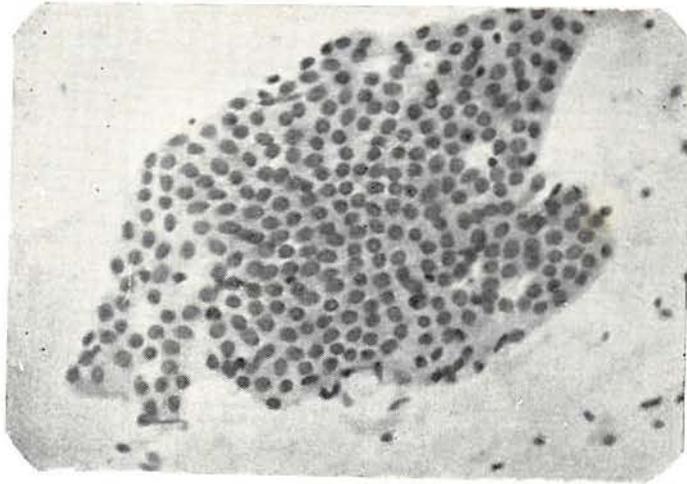


Figura 12 — Células normais da mucosa gástrica
(310 ×).



Figura 13 — Células normais da mucosa gástrica
(500 ×).

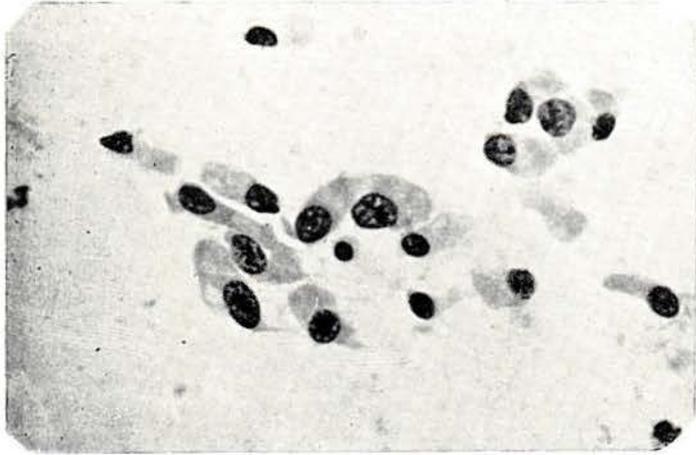


Figura 14 — Células gástricas encontradas em paciente portador de gastrite (500 ×).

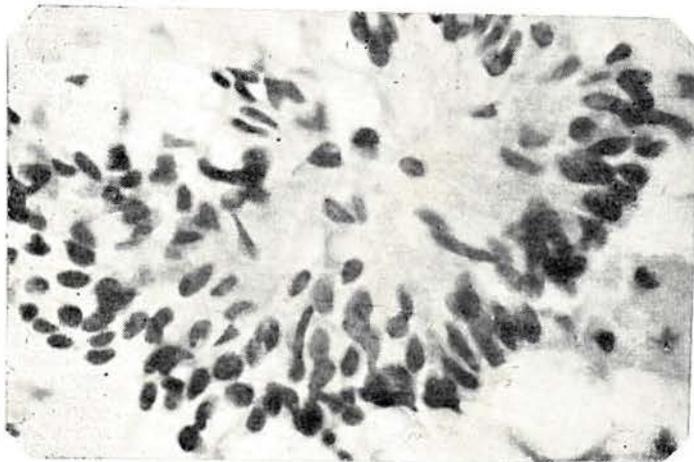


Figura 15 — Células gástricas encontradas em paciente portador de anemia perniciosa não tratada (500 ×).

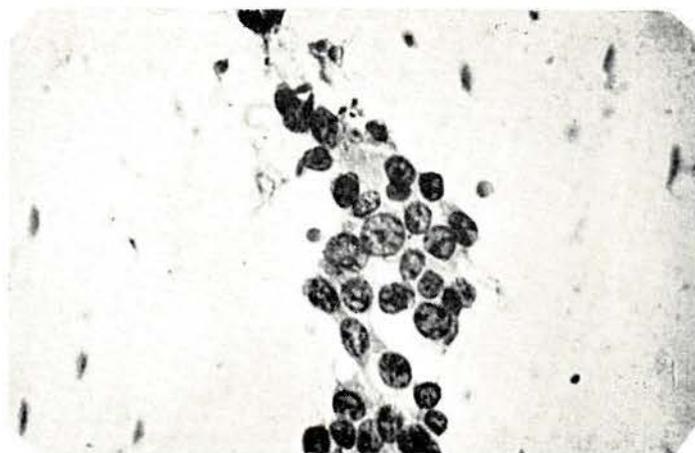


Figura 16 — Células gástricas malignas: Anisonucleose.
Estrutura cromatínica grosseira (500 ×).



Figura 17 — Células gástricas malignas: Anisonucleose.
Binucleação. Nucléolos proeminentes (1000 ×).



Figura 18 — Células gástricas malignas: Aumento de tamanho, polimorfismo e superposição dos núcleos. Acentuado hiperchromatismo (1000 ×).



Figura 19 — Células gástricas malignas: Núcleos aumentados de tamanho, hiperchromáticos, com grandes condensações da cromatina (1000 ×).

CONCLUSÕES

- 1 — Um progresso dos resultados do exame citológico do estômago, relatados pelos autores nos últimos cinco anos, em comparação com os anteriores, foi constatado pela revisão de 39 trabalhos publicados nos doze últimos anos.
 - 2 — A experiência nos ensinou, confirmando o ressaltado por outros autores, que o preparo prévio do paciente, a técnica de colheita, a fixação, a coloração e a investigação microscópica devem revestir-se das mais meticulosas precauções para que o método do diagnóstico citológico do câncer gástrico alcance os melhores resultados.
 - 3 — Nenhum acidente foi verificado nos 65 exames que praticamos em 48 pacientes. Todos suportaram razoavelmente bem a prova.
 - 4 — O método se nos revelou totalmente eficiente no grupo normal e com lesões gástricas benignas. Nenhum resultado falso-positivo foi encontrado.
 - 5 — As alterações citológicas decorrentes de processos inflamatórios e ulcerosos do estômago não parecem levar a falsas interpretações de malignidade.
 - 6 — A experiência pessoal é fator que influi decisivamente na eficácia do método. O índice de 20% de positividade e de 40% de suspeita, nas fases iniciais, foram levadas a um índice de positividade de 70% quando a experiência pessoal era maior.
 - 7 — Os pacientes com lesões infiltrativas extensas, obstrução pilórica ou ulcerações consideráveis, são os mais dificilmente diagnosticados citologicamente.
 - 8 — Em três casos falsos-negativos a raspagem direta da lesão mostrou-se incapaz de fornecer células com caracteres de malignidade. Só o exame histológico reconheceu a natureza das lesões. A ulceração, bem como o tipo de neoplasia (esquiroso em um dos casos) são fatores que influíram para a negatividade do exame citológico.
-

- 9 — A colheita do material para exame citológico pode ser feita de diversas maneiras. Julgamos que os processos abrasivos mecânicos e mucolíticos propiciam resultados mais satisfatórios.
- 10 — O exame citológico do estômago, aliado aos outros recursos diagnósticos, pode ser de grande valor no esclarecimento do diagnóstico final do câncer gástrico.

RESUMO

Uma revisão da literatura médica sobre a citologia gástrica, focalizando os principais aspectos concernentes ao assunto foi apresentada.

Um grupo de 48 indivíduos, composto por 28 pacientes com câncer gástrico, 10 com lesões gástricas benignas e 10 normais, foi objeto de estudo citológico gástrico, empregando-se vários métodos para colher o material.

Nenhum resultado falso-positivo foi encontrado. Nos casos com lesões malignas, índices iniciais de 20% de positividade e 40% de suspeita, foram aumentados, nas fases finais, para 70% de positividade. A aquisição de maior experiência foi considerada como principal responsável por esse aumento.

Interrelações entre os exames citológicos executados pelas técnicas habituais e raspados transoperatórios de lesões gástricas malignas foram relatadas.

Apresentam-se, também, os sumários de duas observações clínicas, nas quais o exame citológico desempenhou importante papel no esclarecimento do diagnóstico.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ROSENBACH, O. — Ueber die Anwesenheit von Gercchwulstpartikein in dem durch die Magenpumpe entleerten Nageninhalte bei Carcinoma ventriculi — Deutsch. Med. Wochschr., 33: 452, 1882.
- 2 — JAWORSKI — Zentralblatt f. klin. Med. n.º 49, 1886. (In Schmidt A.: Ueber die Schleimabsonderung im Magen, Deutsch. Arch. f. klin. Med., 57: 65, 1896) — Apud Pontes, J. P. Lopes: Diagnóstico da úlcera gástrica — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 3 — EWALD — (In Reineboth: Die Diagnose des Magencarcinoms aus Spüelwasser u. Erbrochen — Deutsch. f. klin. Med., 58: 62, 1897) — Apud Pontes, J. P. Lopes: Diagnóstico da úlcera gástrica. L. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 4 — BOAS, I. — (In Reineboth: Die Diagnose des Magencarcinoms aus Spüelwasser u. Erbrochen — Deutsch. f. klin. Med., 58: 62, 1897) — Apud Pontes, J. P. Lopes: Diagnóstico da úlcera gástrica — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 5 — REINEBOTH — Die Diagnose des Magencarcinoms aus Spüelwasser u. Erbrochen — Deutsch. f. klin. Med., 58: 62, 1897 — Apud Pontes, J. P. Lopes: Diagnóstico da úlcera gástrica — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 6 — SCHMIDT, A. — Ueber die Schleimabsonderung im Magen — Deutsch. Arch. f. kl. Med., 57: 65, 1896 — Apud Pontes, J. P. Lopes: Diagnóstico da úlcera gástrica — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 7 — MARINI, G. — Ueber die Diagnose des Magenkarzinoms aufgrund der cytologischen Untersuchungen des Spuelwassers — Arch. f. Verdauungskrankheiten, 15: 25, 1909 — Apud Rubin e col. Gastroenterology, 25: 119, 1953.
- 8 — ZEMANSKY, A. P. J. — The examination of fluids for tumor cells — Am. J. Med. Sc., 175: 489-504, 1928.
- 9 — LOEPER, M. e BINET, M. E. — Cytodiagnostic des affections de l'estomac — Bull. et Mém. des Hop. Paris, 31: 563, 1911.
- 10 — LOEPER, M. e MARCHAL, G. — La rôle de la leucogenese intragastrique dans la digestion des albumines — Comptes Rend. Soc. Biol., 87: 1083, 1922.
- 11 — LOEPER, M. e MARCHAL, G. — La constance de la leucogenese intragastrique après ingestion de bouillon — Comptes Rend. Soc. Biol., 87: 1081, 1922.
- 12 — LOEPER, M. e MARCHAL, G. — L'épreuve de la leucopédèse gastrique dans les intoxications alimentaires d'origine protéique — Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hop. Paris, 47: 1219, 1923.

- 13 — KONJETZNY, G. E. — Die Deckepithelveraenderungen der Magenschleimhaut bei akuter gastritis — *Virchows Arch. f. path. Anatomie u. Physiol.*, 275: 816, 1929 — Apud Pontes, J. P. Lopes: *Diagnóstico da úlcera gástrica* Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 14 — MOUTIER, F. — Cytodiagnostic du suc gastrique et gastroscopie — *Arch. des mal. de l'app. digestif et de la nutrition*, 23: 1099, 1934.
- 15 — WESTERMANN, H. H. — Der Zellen — u. Leucocytengehalt des Mageninhaltes bei chirurgischen Magenerkrankungen — *Deutsch. Med. Wochschr.*, 64: 3, 1938. Apud Pontes, J. P. Lopes: *Diagnóstico da úlcera gástrica* — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 16 — WESTPHAL, K. e WESELMANN, H. — Ueber Nikotinschaedigungen des Magens — *Deutsch. Med. Wochschr.*, 65: 1189, 1939 — Apud Pontes, J. P. Lopes: *Diagnóstico da úlcera gástrica* — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 17 — TOMENIUS, J. — A study on the gastric sediment. *Acta Med. Scand. Supp.*, 189, 1947 — Apud Pontes, J. P. Lopes: *Diagnóstico da úlcera gástrica* — Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
- 18 — FRISHMAN, R. I. e GORIN, M. G. — Diagnostic significance of the examination of gastric washings in patients suspected of cancer of stomach — *Klin Med.* 20: 59-67, 1942 — Apud Seybolt, J. F., Papanicolaou, G. N. e Cooper, W. A.: *Cytology in the diagnosis of gastric cancer.* *Cancer*, 4: 286-295, 1951.
- 19 — PAPANICOLAOU, G. N. — A new procedute for staining vaginal smears — *Science*, 95: 438-439, April 1942.
- 20 — PAPANICOLAOU, G. N. — Diagnostic value of exfoliated cells from cancerous tissue — *J. A. M. A.* 131: 372-378, 1946.
- 21 — PAPANICOLAOU, G. N. e COOPER, W. A. — The cytology of the gastric fluid in the diagnosis of carcinoma and of the stomach — *J. Nat. Cancer Inst.*, 7: 357-360, 1947.
- 22 — GRAHAM, R. M., ULFELDER, H. e GREEN Jr., T. H. — The cytologic method as an aid in the diagnosis of gastric carcinoma — *Surg. Gynec. & Obst.*, 86: 257-259, March 1948.
- 23 — BLOCK, M., HALL, W. C., POLLARD, H. M. e BRYANT, H. — The cytology of gastric juice in the diagnosis of gastric carcinoma — *Univ. Hosp. Bull., Ann Arbor* 14: 37-39, May 1948.
- 24 — ULFELDER, H., GRAHAM, R. M. e MEIGS, J. V. — Further studies on the cytologic method in the problem of gastric cancer — *Ann. Surg.*, 128: 422-425, 1948.
- 25 — FREMONT-SMITH, M., GRAHAM, R. M. e MEIGS, J. V. Early diagnosis of cancer by the study of exfoliated cells — *J. A. M. A.*, 138: 469-474, 1948.
- 26 — POLLARD, H. M., BRYANT, H. C., BLOCK, M. e HALL, W. C. — Diagnosis of gastric neoplasms by cytologic examination of gastric secretion — *J. A. M. A.*, 139: 71-74, 1949.

- 27 — BRYANT, H. C., CRAIG, W. R. e POLLARD, H. M. — Cytologic study of gastric aspirate for carcinoma cells — *J. Nat. Cancer Inst.*, 10: 459-466, Oct. 1949.
- 28 — RICHARDSON, H. L., QUEEN, F. B. e BISHOP, F. H. — The cytohistologic diagnosis of material aspirated from the stomach — *Amer J. Clin. Path.*, 19: 328-340, 1949.
- 29 — BOTSFORD, T. e TUCKER, M. R. — Application of cytologic smear methods to cancer diagnosis in a general Hospital — *J. A. M. A.*, 142: 975-979, 1950.
- 30 — SWARTS, J. M., RAGINS, A. B., BERNSTEIN, A. e MEYER, J. — Diagnosis of gastric cancer by cytologic examination of gastric washings — *Gastroenterology*, 14: 265-274, 1950.
- 31 — PANICO, F. G., PAPANICOLAOU, G. N. e COOPER, W. A. — Abrasive balloon for exfoliation of gastric cells — *J. A. M. A.*, 143: 1308-1311, 1950.
- 32 — SEYFOLT, J. F., PAPANICOLAOU, G. N. e COOPER, W. A. — Cytology in the diagnosis of gastric cancer — *Cancer*, 4: 286-295, 1951.
- 33 — IMBRIGLIA, J. E., STEIN, G. N. e LOPUSNIAK, M. S. — Cytological study of the upper gastrointestinal sediment — *J. A. M. A.*, 147: 120-122, 1951.
- 34 — DAIBER, A., ETCHEVERRY, R., KATZ, R. e GUZMÁN, C. — Investigación de células neoplásicas en el contenido gástrico y material obtenido con balón insuflable de Panico-Papanicolaou — *Rev. Méd. Chile*, 79: 766-768, 1951.
- 35 — AIJIAN, H., BROWELL, B. — Effectiveness of smear technique in detection of pulmonary and gastric cancer — *California Med.* 75: 416-420, Dec. 1951.
- 36 — WOLLUM, A., GLASSER, D. F., BRYANT, H. C. e POLLARD, H. M. — Cytologic study of gastric aspirate for carcinoma cells paraffinblock technic — *J. Nat. Cancer Inst.*, 12: 715-721, Feb. 1952.
- 37 — SICARD, A. PÉRIER, E., GODET, R. e BESIMESNSKY, V. — Le cyto-diagnostic du cancer de l'estomac — *Presse méd.* 60: 720-722, May 1952.
- 38 — TRAUT, H. F., ROSENTHAL, M., HARRISON, J. T., FARBER, S. M. e GRIMES, O. F. — Evaluation of cytologic diagnosis of gastric cancer — *Surg. Gynec. & Obst.*, 95: 709-716, 1952.
- 39 — About balloons, cells and diagnosis — *Cancer Bull. Texas*, 4: 128, 1952 (Nov.-Dec.).
- 40 — COOPER, W. A., PAPANICOLAOU, G. N. — Balloon technique in the cytological diagnosis of gastric cancer — *J. A. M. A.*, 151: 10-14, 1953.
- 41 — RUBIN, C. E., MASSEY, B. W., KIRSNER, J. B. PALMER, W. L. e STONECYPHER, D. D. — The clinical value of gastrointestinal cytologic diagnosis — *Gastroenterology*, 25: 119-138, 1953.
- 42 — CHAPMAN, D. L. S., KLOPP, C. T. e PLATT, L. I. — Application of balloon technique in the detection of cancer — *Cancer*, 6: 1174-1176, 1953.

- 43 — BASTOS, W., VILLACA, J., TEIXEIRA, C., FACI, A., LACERDA, L. DE, MURILLO NETO, J., COELHO, F., VILLAÇA, L., CAMPOS, W., SALOMÃO, G., LIMA, C., VILLELA, C. e TÖRRES, P. — Diagnóstico citológico do câncer — *Rev. bras. de cirur.*, 28: 363-382, 1954.
- 44 — LIMA, L. DA C. — O diagnóstico do câncer gástrico pela citologia — *Rev. bras. de cirur.*, 28: 383-395, 1954.
- 45 — WILLMER, V., NIEBURGS, H. E. e FUCHS, B. — A new cytological study as an aid in the diagnosis of gastric malignancy. *Am. J. of Gastroenterology*, 23: 228-234, 1955.
- 46 — RUBIN, C. E., KLAYMAN, M. I., e KIRSNER, J. B. — Exfoliative cytology, a valuable method for diagnosing gastrointestinal cancer — *Med. Clin. North America*, 39: 261-280, 1955.
- 47 — ZAMCHECK, N., GRABLE, E., JANKELSON, O. M., SMALL, M. LONGARINI, A. — The cytologic method in the diagnosis and investigation of gastric lesions — *Gastroenterology*, 29: 588-595, 1955.
- 48 — BROWNE, D. C., MITCHELL, R., WELCH, G. e SORRELL, W. — Evaluation of gastric exfoliative cytology — *Gastroenterology*, 28: 964-968, 1955.
- 49 — KLAYMAN, M. I., MASSEY, B. W., PLETIKA, S., GALAMBOS, J. T., BRANDBOURG, L., KIRSNER, J. B. e PALMER, W. L. — The cytologic diagnosis of gastric cancer by chymotrypsin lavage — *Gastroenterology*, 29: 849-853, 1955.
- 50 — FISCHMAN, M. e TERZANO, G. — Gastric cytology by the abrasive balloon method — *Gastroenterology*, 29: 1046-1054, 1955.
- 51 — ROSS, J. R. e CROZIER, R. E. — Technique of brush test for gastric cytology — *Surg. Clin. of North America*, 36: 649-652, 1956.
- 52 — FISCHMAN, M., TERZANO, G. RUBENS, J. — Citologia gástrica, método del balon abrasivo de Panico-Papanicolaou e Cooper — *Rev. bras. de gastroenterologia*, 8: 201-216, 1956.
- 53 — SEYBOLT, J. F. e PAPANICOLAOU, G. N. — The value of cytology in the diagnosis of gastric cancer — *Gastroenterology*, 33: 369-377, 1957.
- 54 — ROSS, J. R., Mc GRATH, J. M., CROZIER, R. E., ROHART, R. R. e MIDDLETON, M. — Exfoliative cytology: its practical application in the diagnosis of gastric neoplasms — *Gastroenterology*, 34: 24-33, 1958.
- 55 — RASKIN, H. F., KIRSNER, J. B. e PALMER, W. L. — Exfoliative cytology of the gastrointestinal tract — *Modern Trends in Gastroenterology* (2nd series), pag. 76-91, Butterworth Co. London, 1958.
- 56 — PONTES, J. P. LOPES — Diagnóstico da úlcera gástrica, contribuição endoscópica e citológica — *Livr. Luso-Esp. e Bras.*, Rio de Janeiro, 1958.
- 57 — SAN JUAN, F. — Câncer do estômago, citologia gástrica com quimotripsina — *Boletim do Centro de Estudos do Hosp. dos Servidores do Estado*, vol. 9, n.º 12, pag. 317-330, Dez. 1957, Rio de Janeiro.
- 58 — SAN JUAN, F. — Citologia esfoliativa com quimotripsina nos estômagos normais e patológicos — *"O Hospital"*, 53: 513-544, Abril 1958.

- 59 — GRIMES, O. F., TRAUT, H. F., WOOD, D. A. e FARBER, S. M. — A clinical report on the cytologic diagnostic of gastric cancer — *Surg. Gynec. & Obst.* 98: 347-352, 1954.
 - 60 — FIROR, W. M. e GEY, G. O. — Observations on the conversion of normal into malignant cells — *Ann. Surg.* 121: 700, 1945 — Apud Rubin, C. E., Palmer, W. L. e Kirsner, J. B.: *Gastroenterology*, 21: 1-11, 1952.
 - 61 — RUBIN, C. E., PALMER, W. L. e KIRSNER, J. B. — The present status of exfoliative cytology in the diagnosis of gastrointestinal malignancy — *Gastroenterology*, 21: 1-11, 1952.
 - 62 — COMAN, D. R. — Decreased mutual adhesiveness, a property of cells from squamous cell carcinoma — *Cancer Res.* 4: 625, 1944 — Apud Pontes, J. P. Lopes: *Diagnóstico da úlcera gástrica*. Livr. Luso-Esp. e Bras., Rio de Janeiro, 1958.
 - 63 — LEMON, H. M. e BIRNES, W. W. — Neoplastic cells in upper gastrointestinal secretion: identification and value in diagnosis — *Gastroenterology*, 22: 214, 1952.
 - 64 — SCHUMACHER, S. — *Compêndio de Histologia humana* — Editorial Labor S. A., Barcelona, Madrid, 1948.
 - 65 — MASSEY, B. W. e RUBIN, C. E. — The stomach in pernicious anemia: a cytologic study — *Amer. J. Med. Sc.* 227: 481-492, 1954.
 - 66 — PANICO, F. G. — The cytologic criteria of gastric cancer — *Surg. Gynec. & Obst.*, 97: 233-243, 1953.
 - 67 — PLATT, L. I. — Cytodiagnosis in carcinoma — *Postgrad. Med.*, 7: 26-32, Jan. 1950.
 - 68 — STAFF OF THE VINCENT MEMORIAL HOSPITAL — The cytologic diagnosis of cancer — W. B. Saunders Co. 1950.
 - 69 — HOLLANDER, F., HESS, M. e SOBER, H. A. — New technique for studying the cytology of gastric aspirates in man — *J. Nat. Cancer Inst.*, 7: 365-366, April 1947.
 - 70 — CAMPBELL, J. P. e GRIMM, H. A. — Experience with Papanicolaou stain in the study of gastric contents — *Rev. of Gastroenterology*, 15: 21-32, 1948.
 - 71 — NIEBURGS, H. E. — *Cytologic technics for office and clinic* — Grune & Stratton. New York, 1956.
 - 72 — PAPANICOLAOU, G. N. — *Atlas of exfoliative cytology* — The Commonwealth Fund by Harvard Univ. Press. — Cambridge, Mass. 1954.
 - 73 — RICHARDSON, H. L. — The cytohistological study of gastric washings — *J. Nat. Cancer Inst.*, 10: 467-475, 1949.
 - 74 — PANICO, F. G. — Improved abrasive balloon for diagnosis of gastric cancer — *J. A. M. A.*, 194: 1447-1449, 1952.
 - 75 — PAPANICOLAOU, G. N. — Diagnosis of pregnancy by cytologic criteria in catheterized urine — *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 67: 247, 1948 — Apud Panico, F. G., Papanicolaou, G. N. e Cooper, W. A.: *J. A. M. A.*, 143: 1308, 1950.
-

- 76 — ANON — Report of activities during 1940. Philadelphia — The International Cancer Research Found. 1940 — Apud Ayre, J. E. e Oren, B. G.: A new method for stomach cancer diagnosis: the gastric brush — *Cancer*, 6: 1177-1181, 1953.
- 77 — AYRE, J. B. e OREN, B. G. — A new rapid method for stomach cancer diagnosis: the gastric brush — *Cancer*, 6: 1177-1181, 1953.
- 78 — HENNING, N. e WITTE, S. — Atlas der Gastroenterologischen Cytodiagnostik — Pag. 36-37, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1957.
- 79 — GLADSTONE, S. A. — Use of sponge in obtaining tissue from stomach for biopsy. *Amer. J. Clin. Path.*, 79: 891, 1949 — Apud Nieburgs, H. E.: Cytologic technic for office and clinic. Grune & Stratton, 1956.
- 80 — ROSENTHAL, M. e TRAUT, H. F. — The mucolytic action of papain for cell concentration in the diagnosis of gastric cancer — *Cancer*, 4: 147-149, 1951 — Apud Papanicolaou, G. N. — Atlas of exfoliative cytology. The Commonwealth Fund by Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. 1954.
- 81 — AYRE, J. E. e DEKIN, E. — Cervical cytology tests in cancer diagnosis: glycerine technique for mailing. *Canad. M. A. J.*, 54: 489-591, 1946 — Apud Papanicolaou, G. N.: Atlas of exfoliative cytology. The Commonwealth Fund by Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. 1954.
- 82 — PAPANICOLAOU, G. N. — Some improved method for staining vaginal smears — *J. Lab. & Clin. Med.*, 26: 1200-1205, 1941.
- 83 — GRAHAM, R. M. e RHEAULT, M. H. — Characteristic cellular changes in epithelial cells in pernicious anemia — *J. Lab. & Clin. Med.*, 43: 235-245, 1954.
- 84 — PAPANICOLAOU, G. N. e TRAUT, H. F. — Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear — The Commonwealth Fund. New York, 1943.
- 85 — CARDOZO, P. LOPES — Clinical cytology using the May-Grunwald-Giemsa staining smear — L. Staflen Leyden, Netherlands, 1954.
- 86 — CONN, H. J. — Biological stains. Biological Stain Commission — Biotech. Publ. New York, 1953.
- 87 — JOB, J. M. e ZAMEL, N. — Aperfeiçoamento da técnica de abrasão do antro gástrico. (Nota prévia) — *Boletim do Serv. de Câncer da Santa Casa de Misericórdia de Pôrto Alegre*, 3: 1-4, Set. 1958.