

1985

EXP. No. 1535/87

REG. No. 077283528

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS



LA IMPORTANCIA DE LA MICROSCOPIA ELECTRONICA EN EL
DIAGNOSTICO DE CARCINOMAS PRIMARIOS Y
METASTASICOS

MARTHA CLEOFAS CASTILLO CORRALES

I N T R O D U C C I O N

El estudio de neoplasias malignas mediante el uso de Microscopía Electrónica ha permitido establecer las bases estructurales a nivel subcelular de la patobiología de las neoplasias.

Según Willis una neoplasia es una masa anormal de tejido el cual se encuentra en exceso y que no se coordina con el resto del tejido normal y persiste aún después de haber cesado el estímulo que lo provocó.

Las neoplasias se clasifican en neoplasias benignas y neoplasias malignas:

Neoplasias benignas:- Son aquellas que se semejan al tejido de donde provienen.

- Son de crecimiento lento.
- Son neoplasias que están encapsuladas.
- No ponen en peligro la vida del sujeto.

Neoplasias malignas:- Semejan al tejido de donde proceden

- Son de crecimiento rápido.
- Ponen en peligro la vida del sujeto por su capacidad de producir "Metástasis" (infiltrar tejidos vecinos).
- Microscópicamente presentan:
 - Pleomorfismo nuclear (diferencia en forma y tamaño de los núcleos celulares).
 - Hiper cromasia (gran afinidad por el colorante básico).
 - Mitosis anormales.

El conocimiento de estructuras subcelulares que caracterizan a diversos tipos de células ha establecido algunos "Marcadores" ultraestructurales que en los casos de células epiteliales normales y neoplásicas corresponden a las estructuras conocidas como: Desmosomas y/o Tonofilamentos

Estas estructuras o marcadores determinan la identificación de células epiteliales específicas que integran poblaciones celulares en los carcinomas.

Los carcinomas son neoplasias malignas constituidos por células epiteliales atípicas o anormales con características estructurales y funcionales semejantes a los tejidos epiteliales que forman membranas de cubierta, revestimiento y glandulares.

Frecuentemente se observan neoplasias malignas cuya estirpe es difícil o imposible de determinar con el uso de técnicas de microscopía de luz convencionales para tumores en general.

La identificación de la estirpe celular tumoral en neoplasias primarias y metastásicas es un problema al que cotidianamente se enfrenta el patólogo. Generalmente las características estructurales y el uso de técnicas especiales de coloración permiten resolver la mayor parte de este tipo de problemas.

Sin embargo un porcentaje menor de ellos no se resuelve mediante las técnicas de microscopía de luz convencional y frecuentemente son causa de retraso en el diagnóstico y por consiguiente en el tratamiento y en ocasiones esta limitación llega a producir equivocaciones que afectan el adecuado manejo y tratamiento de pacientes que presentan este tipo de tumores.

H I P O T E S I S

Si es cierto que los desmosomas y tonofilamentos son estructuras subcelulares que únicamente se observan en células epiteliales de cubierta o revestimiento; entonces - los desmosomas y tonofilamentos estarán presentes en las células neoplásicas que se derivan de epitelios de cubierta o revestimiento que caracterizan a los Carcinomas.

En ésta forma todos los carcinomas primarios y metastásicos se caracterizan ultraestructuralmente por poseer desmosomas y tonofilamentos y éstas estructuras permitirán distinguir los carcinomas primarios y metastásicos de cualquier otro tipo de neoplasia maligna.

O B J E T I V O

El propósito de éste trabajo es reconocer la importancia que tiene la Microscopía electrónica en el diagnóstico de carcinomas primarios y metastásicos en los cuales no es posible establecer el diagnóstico mediante técnicas de microscopía de luz convencional y/o en aquellos casos - en que la respuesta al tratamiento no fué la esperada de acuerdo a criterio clínico.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

La aplicación de la Microscopía electrónica en el diagnóstico diferencial de tumores se inició hace 38 años.

Desde entonces se han venido identificando estructuras subcelulares que se utilizan como "Marcadores de diversos tipos de neoplasias. Estos marcadores ultraestructurales son los Tonofilamentos y Desmosomas que se encuentran presentes en neoplasias malignas y benignas que se derivan de epitelios.

En término generales los carcinomas se caracterizan -- ultraestructuralmente por presentar Tonofilamentos y/o Desmosomas. (26)

Por otro lado la presencia de premelanosomas y melanosomas en una neoplasia indiferenciada establece el diagnóstico de melanoma. El hallazgo de numerosos gránulos de neurosecreción orienta el diagnóstico hacia una neoplasia neuroendócrina.

La Microscopía electrónica es importante porque con ella hacemos la distinción entre mesoteliomas y adenocarcinomas con base fundamentalmente en la presencia de microvellosidades abundantes en la superficie libre de la mayor parte de los mesoteliomas; por otra parte los adenocarcinomas muestran microvellosidades escasas, más gruesas y más cortas.

Entre los marcadores subcelulares están el corpúsculo de Weibel Palade que se encuentran en células endoteliales y los gránulos de Birbeck que permiten identificar a las células de Langerhans. (6)

En 1966 se llevó a cabo en Europa la aplicación de la Microscopía electrónica para servicios de la patología -- abarcando 170 hospitales. (12)

Esto fué por la necesidad de aumentar el estudio Ultraestructural en patología diagnóstica y también para la enseñanza de material patológico.

En 1972, 6000 casos de tumores se estudiaron; y la distribución fue como sigue:

Tumores en tracio gastrointestinal, nódulos linfáticos y sitios no clasificados 50%, Riñón 28%, Hígado 7%, Musculo 6% S.Nervioso 4%, Pulmón 3% y Piel 2%.

Por su parte Copeland y Mc. Bride (3) estudiaron 60 pacientes con tumor metastásico de sitio primario desconocido, de los que de 42 pacientes sólo en 3 se encontró el sitio primario del tumor antes de la muerte. Así también Holmes y Founts (11) investigaron 686 pacientes con cancer metastásico; con un promedio de edad de 60 años y un 68% del sexo femenino. El 10% de los pacientes vivieron 2 años y el 5% sobrevivieron por 5 años; en los 254 pacientes estudiados por Didelka, et, al. (5); el sitio primario localizado en pulmón en un 40%, seguido por estomago, páncreas riñón, ovario y colon.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

El material utilizado en el presente trabajo fué:

- 1.- *El estudio de 20 casos en la unidad de Patología del - centro Médico de Occidente y en la unidad de Investigaciones del Centro Médico del IMSS.*
De los que se tomaron porciones representativas del especimen quirúrgico; ya que cada uno de los casos presentaban diferente tipo de lesión.
- 2.- *Se utilizó Formaldehído para fijar los tejidos, al igual que:*
- 3.- *Glutaraldehído al 2% en fosfatos.*
- 4.- *Tetraóxido de osmio al 1% para posfijar.*
- 5.- *Alcohol para deshidratar.*
- 6.- *Epoxiresina para incluir las muestras.*
- 7.- *Un Ultramicrotomo Richter con el que se obtuvieron cortes semidelgados o fases.*
- 8.- *Azul de toluidina al 1% para teñir los cortes así como:*
- 9.- *Acetato de uranillo y*
- 10.- *Citrato de plomo.*
- 11.- *Un Microscopio electrónico Zeiss 10 de la Unidad de Patología del Centro Médico de Occidente.*

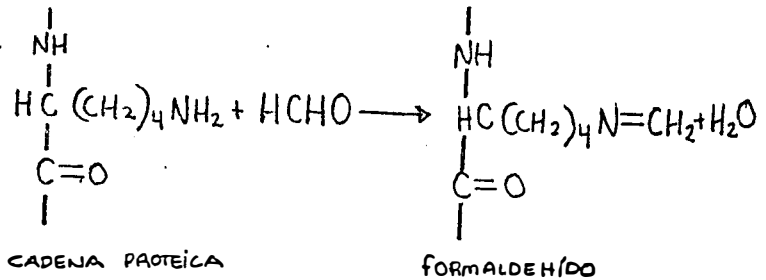
M E T O D O S

El Microscopio electrónico es un valioso instrumento - para el estudio ultraestructural de células y tejidos. La - importancia de la Microscopía electrónica depende primordialmente de los métodos empleados en la preparación de las -- muestras.

La primera etapa en la preparación de cortes de células y tejidos es estabilizar su estructura con el fin de preservarla y de proporcionar consistencia adecuada para el corte.

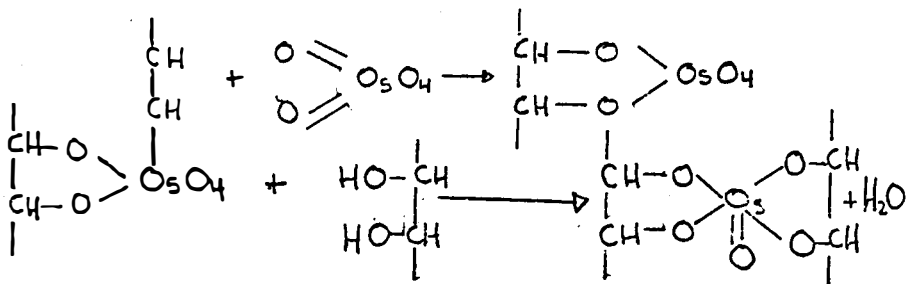
Esto se hace sometiendo a la acción de una sustancia adecuada llamada "fijador": en Microscopía electrónica se utilizan principalmente Tetraóxido de osmio (O_5O_4) y ciertos aldehídos. En términos generales la fijación de una célula o tejido depende de la formación de enlaces químicos o uniones entre algunas de las moléculas que los componen; también se utiliza como fijador el Glutaraldehído. (13)

El tipo de reacción que se sucita puede ilustrarse considerando los aldehídos con los grupos amino (NH_2) que se hallan en las cadenas laterales de las moléculas proteicas:



Al emplearse un dialdehído como fijador (por ejemplo Glutaraldehído $O=CH-CH_2-CH_2-CH_2=O$) puede producirse con -- grupos amino de dos moléculas distintas de manera que el fijador forma puentes entre ellas.

Entre otras propiedades, el Tetraóxido de osmio presenta la de reaccionar con dobles enlaces de lípidos insaturados y con proteínas y encadenar a éstas moléculas con la siguiente ecuación: (20)



Usualmente las muestras no poseen mas de uno o dos mm. de espesor a fin de que el fijador penetre más fácilmente, - la duración de la fijación es de una a dos horas; para luego ser lavado el exceso de reactivo. Como se mencionaba la fijación también se lleva a cabo con Glutaraldehído, el -- cual puede ser empleado en diferentes rangos de concentración de el 1% o sobre el 6% de solución bufferizada; y el bu fer puede ser fosfato o cacodilato (17)

Tras la fijación el material no se halla todavía en - condiciones de ser seccionado pues es demasiado blando, por lo tanto, la siguiente fase es incluirlo en una resina epóxida (EPON 812 Araldite) que proporciona dureza mecánica. Evidentemente este tipo de resina no es miscible en agua - por lo que tras la fijación el tejido debe ser deshidratado en soluciones graduales de Etanol al 70% hasta llegar al - Etanol puro. (9)

El espécimen permanece en la resina caliente hasta que da completamente infiltrado para luego dejarse enfriar.

Se polimeriza utilizando calor en un horno a 60°C para posteriormente seccionarse en un Ultramicrotomo. Estas sec ciones o fases se tiñen para dar mayor contraste y ser ob-- servado al Microscopio electrónico. (22)

PROCESAMIENTO DEL TEJIDO

Se tomaron porciones representativas del espécimen -- quirúrgico previamente fijado en formaldehído fragmentándose en secciones cúbicas de aproximadamente 1mm. e inmediatamente fueron fijadas de 12 a 36 horas en solución amortiguada de glutaraldehído al 2% en fosfatos. El tejido fue post-fijado durante 1 hora en tetraóxido de osmio al 1%, deshi-- dratado en alcoholes e incluidos en epoxi resina (EPON 821) (22) Después de polimerizar la resina en un horno durante - 36 horas, se obtuvieron cortes semidelgados (fases) en un - Ultramicrotomo Richter y se tiñeron con azul de toluidina - al 1%; se examinaron las secciones al microscopio para veri-- ficar que el tumor o tejido representativo estuviera presen-- te, posteriormente el tejido se cortó en secciones de 60 a 90 m μ en un ultramicrotomo y las secciones se tiñeron con - acetato de uranilo y citrato de plomo. Los especímenes se - examinaron en un Microscopio electrónico Zeiss 10 en la Uni-- dad de Patología del Centro Médico de Occidente y otros en - la Unidad de Investigación del Centro Médico del IMSS.

Se tomaron fotomicrografías a diversos aumentos; para posteriormente interpretarse los hallazgos.

Como decíamos anteriormente; se estudiaron 20 casos - los cuales presentaban diferente tipo de lesión; como lesiones ulcerativas, nódulos en varias regiones del organismo, y tumoraciones en algún órgano.

Se procedió a su estudio de acuerdo al tipo de lesión; como biopsia incisional, biopsia de ganglio linfático y estudio transoperatorio dependiendo del caso a tratar.

Posteriormente se realizaron los estudios histológicos utilizando la ayuda del Microscopio de luz primero y del Microscopio electrónico después para efectuar los diagnósticos diferenciales con varios tipos de neoplasias.

R E S U L T A D O S

Así se obtuvo que la mayoría de los diagnósticos histológicos con microscopía de luz en ésta población de 20 ca sos fueron:

Carcinoma indiferenciado de células redondas.

Carcinoma pobremente indiferenciado de células re dondas y

Carcinoma indiferenciado para la mayoría de los - casos.

Los diagnósticos histológicos con microscopía electróni- ca fueron:

Carcinoma epidermoide en el que se observó la - presencia de desmosomas y/o tonofilamentos. Este tipo de carcinoma fué el que tuvo mayor incidencia en ésta población. Otro de los diagnósticos fueron:

Adenoma de células basales,

Carcinoma de tipo neuroendócrino,

*Mioepitelioma de paladar y
Melanoma maligno.*

En los cuales se observó la presencia de escasos desmosomas sin tonofilamentos, células redondas con núcleo excéntrico con escasos desmosomas y abundantes tonofilamentos, células con premelanosomas y melanosomas respectivamente.

En los 20 casos estudiados el tipo de neoplasia con mayor incidencia fué diagnosticada como Carcinoma epidermoide.

Como los carcinomas epidermoides de epitelio queratinizado y de las células pluripotenciales en epitelios no escamosos. Se encuentran unidas por desmosomas bien formados que contienen haces de tonofilamentos que se observaron con el Microscopio electrónico y así se logró dar un diagnóstico histológico preciso.

En tres de los casos se observó con la ayuda de la Microscopía electrónica que los desmosomas se tornaban más escasos y pequeños con tonofilamentos más cortos; ésto confirmaba que el carcinoma epidermoide pierde diferenciación.

Mediante el estudio histológico con Microscopía de luz se estableció que cada uno de los casos presentaba neoplasias malignas indiferenciadas de células pequeñas, células redondas y células fusiformes previamente a establecerse un diagnóstico diferencial con sarcomas, carcinoides, melanomas y linfomas dependiendo del caso mediante el estudio con Microscopía electrónica del cual obtuvimos el diagnóstico definitivo.

A continuación se presenta la tabla No.1 y No.2 donde se especifican los resultados obtenidos, así como lo que se obtuvo en los diagnósticos histológicos con el estudio al Microscopio de luz primero y con el Microscopio electrónico finalmente.

TABLA No. 1.- Tabla de casos cuyos datos son representativos.

CASO No.	EDAD	SEXO	TIPO DE LESION	TIPO DE ESTUDIO	DIAGNOSTICO CLINICO
1	34	F	Lesión ulcerativa con bordes irregulares en pierna.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
2	52	M	Lesión exofítica de 4 cm. de diámetro en pilar anterior de faringe.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
3	36	M	Lesión ulcerativa de 4 cm. diámetro en pie izquierdo.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
4	27	M	Lesión nodular del lado derecho del cuello.	Biopsia de ganglio linfático.	Linfoma
5	32	F	Lesión exofítica de cuello uterino.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
6	28	F	Lesión ulcerativa de aprox. 3 cm. de diámetro en paladar blando.	Biopsia incisional	Mioepitelioma.
7	58	M	Lesión ulcerativa de aprox. 2 cm. de diámetro en paladar blando.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
8	38	M	Lesión ulcerativa en tercio superior de esófago.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
9	52	F	Lesión ulcerativa en pierna derecha.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
10	40	F	Lesión ulcerativa en cuello uterino.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.

TABLA No. 1.- CONFIRMACION.- Tabla de casos cuyos datos son representativos.

CASO No.	EDAD	SEXO	TIPO DE LESION	TIPO DE ESTUDIO	DIAGNOSTICO CLINICO
11	35	M	Lesión ulcerativa en borde derecho de la lengua.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
12	48	F	Nódulo en región lateral izquierda del cuello.	Biopsia de ganglio	Linfoma.
13	58	M	Nódulo supraclavicular derecho.	Biopsia de ganglio linfático.	Linfoma.
14	60	M	Lesión ulcerativa de aprox. 2 cm. en dedo grueso del pie izquierdo.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
15	39	M	Lesión exofítica en el surco labial prepucial.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
16	56	M	Nódulo de región supraclavicular derecha.	Biopsia de ganglio linfático supraclavicular.	Linfoma
17	55	F	Pérdida de peso de aprox. 15 Kg. en 6 meses con hepatomegalia.	Transoperatorio. con biopsia de hígado.	Cáncer maligno.
18	48	F	Tumoración en glándula parótida derecha.	Transoperatorio.	Adenoma.

TABLA No. 1.- CONTINUACION.- Tabla de casos cuyos datos son representativos.

CASO No.	EDAD	SEXO	TIPO DE LESION	TIPO DE ESTUDIO	DIAGNOSTICO CLINICO
19	46	F	Lesión ulcerativa en labio mayor derecho de vulva.	Biopsia incisional	Cáncer de piel.
20	37	M.	Nódulo en cara lateral izq. de cuello.	Estudio de ganglio linfático.	Linfoma.

TABLA No. 2 *DIAGNOSTICOS HISTOLOGICOS.*

Obtenidos con el Microscopio de luz y Microscopio Electrónico; comparándose los resultados.

CASO No.	CON MICROSCOPIA DE LUZ	CON MICROSCOPIA ELECTRONICA.
1	<i>Neoplasia maligna indiferenciada. Se requiere establecer diagnóstico diferencial entre carcinoma y sarcoma.</i>	<i>Se observaron células con escasos desmosomas y filamentos intermedios (tonofilamentos). - Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.</i>
2	<i>Carcinoma indiferenciado de células pequeñas se requiere establecer diagnóstico con neplasias malignas especialmente linfoma.</i>	<i>Se observaron células con abundantes desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.</i>
3	<i>Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con Melanoma maligno.</i>	<i>Se observaron células con premelanosomas y - melanosomas. Diagnóstico: Melanoma maligno.</i>
4	<i>Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con linfoma.</i>	<i>Se observaron abundantes células con moderada cantidad de desmosomas y tonofilamentos rodeados por linfocitos. Diagnóstico: Carcinoma - epidermoide.</i>
5	<i>Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con carcinoma.</i>	<i>Se observaron células epiteliales con abundantes desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico Carcinoma epidermoide.</i>

TABLA No. 2 CONTINUACION.- DIAGNOSTICOS HISTOLOGICOS.

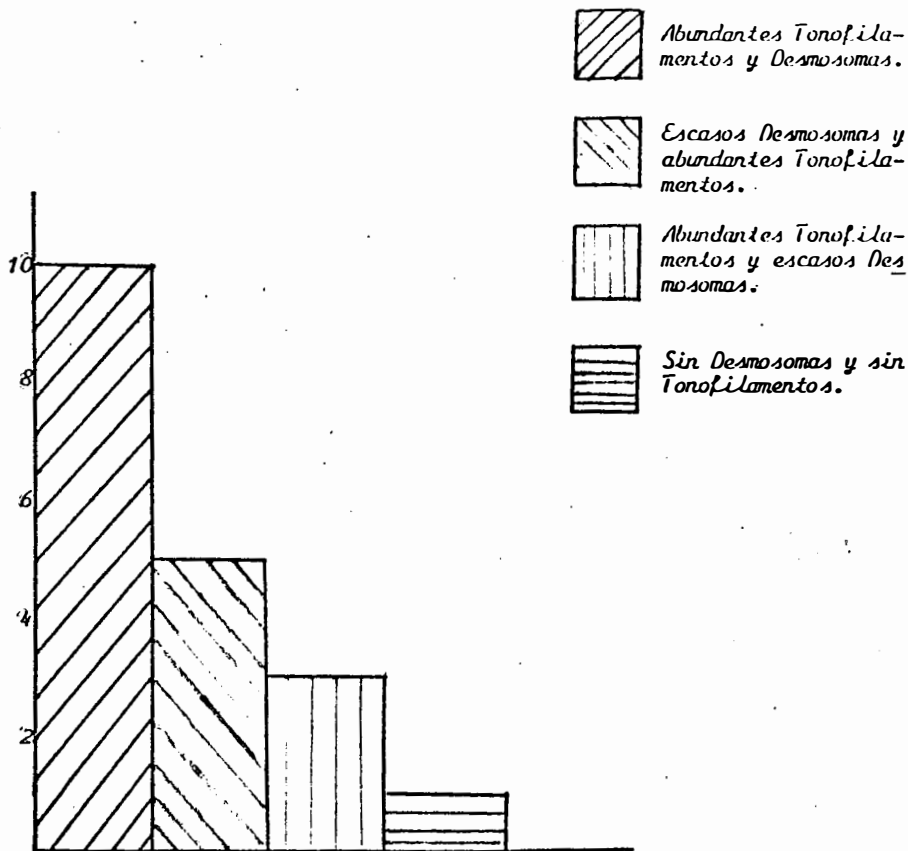
CASO No.	CON MICROSCOPIA DE LUZ	CON MICROSCOPIA ELECTRONICA.
6	Carcinoma indiferenciado de células redondas, se requiere establecer diagnóstico diferencial con neoplasia de células redondas, en especial con plasmacitoma.	Se observaron abundantes células redondas con núcleo excéntrico con escasos desmosomas y abundantes tonofilamentos. Diagnóstico: Mioepitelioma de paladar.
7	Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con melanoma.	Se observaron abundantes células con desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
8	Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico con melanoma.	Se observaron células epiteliales con tonofilamentos y moderada cantidad de desmosomas. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
9	Carcinoma de células fusiformes indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico con sarcoma.	Se observaron abundantes células epiteliales con desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
10	Carcinoma indiferenciado, se requiere establecer diagnóstico diferencial con carcinoide y sarcoma.	Se observaron abundantes células epiteliales con desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
11	Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con carcinoide de glándulas salivales.	Se observaron abundantes células epiteliales con escasa cantidad de desmosomas y abundantes tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.

TABLA No. 2 CONTINUACION.- DIAGNOSTICOS HISTOLOGICOS.







CASO No.	CON MICROSCOPIA DE LUZ	CON MICROSCOPIA ELECTRONICA
12	Carcinoma indiferenciado de células redondas. Se requiere hacer diagnóstico diferencial con sarcoma de células redondas.	Se observaron abundantes células con filamentos intermedios, escasos y sin desmosomas. Diagnóstico: Neoplasia maligna a determinar con inmunohistoquímica.
13	Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con otro tipo de carcinomas en especial para determinar el sitio del primario.	Se observaron abundantes células con grandes gránulos de secreción sin tonofilamentos ni desmosomas. Diagnóstico: Carcinoma de tipo neuroendócrino a determinar con primario probable en pulmón.
14	Carcinoma indiferenciado de células fusiformes. Se requiere revisar diagnóstico con melanoma y sarcoma.	Se observaron abundantes células epiteliales con desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
15	Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado. Se requiere realizar diagnóstico diferencial con melanoma.	Se observaron abundantes células con abundantes desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
16	Carcinoma pobremente diferenciado de células redondas. Se requiere realizar diagnóstico diferencial con neoplasia de células redondas.	Se observaron abundantes células epiteliales con desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.
17	Carcinoma indiferenciado. Se requiere establecer diagnóstico diferencial con melanoma.	Se observaron abundantes células con tonofilamentos y desmosomas. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide metastásico.

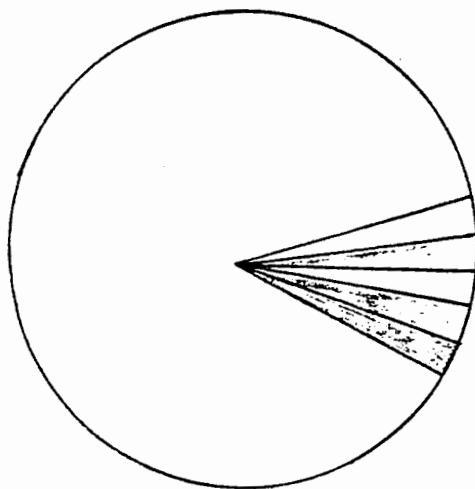
TABLA No. 2 CONTINUACION.- DIAGNOSTICOS HISTOLOGICOS.

CASO No.	CON MICROSCOPIA DE LUZ	CON MICROSCOPIA ELECTRONICA
18	<i>Carcinoma pobremente diferenciado, se requiere realizar diagnóstico diferencial con neoplasias de células redondas.</i>	<i>Se observaron abundantes células redondas con escasos desmosomas y sin tonofilamentos. Diagnóstico: Adenoma de células basales.</i>
19	<i>Carcinoma pobremente diferenciado, se requiere realizar diagnóstico diferencial con sarcoma.</i>	<i>Se observaron abundantes células con desmosomas y tonofilamentos. Diagnóstico: Carcinoma epidermoide.</i>



Gráfica No. 1.- Representación del número de pacientes en los que se observaron mediante el estudio con Microscopía Electrónica; los llamados Marcadores Ultraestructurales: Desmosomas y/o Tonofilamentos.

-  Carcino Epidermoide.
-  Melanoma Maligno.
-  Mioepitelioma de Paladar.
-  Neoplasia Maligna
-  Carcinoma de tipo Neuroendócrino.
-  Adenoma de células basales.



Gráfica No. 2.-El 95% de la Población que comprende éstos 20 casos presenta Carcinoma Epidermoide y sólo el 5% restante presentan las neoplasias arriba anotadas.



Fig. No. 1. -Micrografía electrónica que muestra desmosomas y tonofilamentos que se observaron en todos los casos diagnosticados como Carcinomas epi-dermoides.



Fig. No. 2.- Vista panorámica de queratinocitos observados en un carcinoma epidermoide bien diferenciado.



No. 3.- Micrografía electrónica en la que se aprecian abundantes filamentos intermedios correspondientes a tonofilamentos situados en la región perinuclear.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los carcinomas moderadamente o bien diferenciados excepcionalmente ofrecen problema para su diagnóstico con Microscopía de luz, sin embargo las formas más anaplásicas pueden ser difíciles de identificar aún con el auxilio de tinciones especiales. Un problema muy frecuente al que se enfrentan patólogos y clínicos son los casos de tumores metastásicos con sitio primario desconocido. El microscopista electrónico frecuentemente contribuye a determinar o confirmar que la neoplasia es un carcinoma.

La determinación de la localización primaria de un carcinoma metastásico ofrece más limitaciones aún con la morfología ultraestructural. Cuando las características ultraestructurales ayudan a identificar el tipo de carcinoma e indican el tejido de origen, habitualmente éstas características se encuentran en el citoplasma de las células tumorales y así pueden observarse proyecciones citoplásmicas de las células vecinas unidas por desmosomas o tonofilamentos. (1)

A medida que el carcinoma epidermoide pierde diferenciación los desmosomas se tornan más escasos y pequeños y los tonofilamentos se observan más cortos; tal y como los identificamos en la Fig. No.1 vistos al microscopio electrónico; y en la gráfica No.2 lo que nos permite observar claramente el tipo de tumor de mayor incidencia en nuestra población de los casos estudiados: Carcinoma epidermoide.

Existe considerable superposición en las características morfológicas entre carcinoma de un mismo tipo celular básico que surgen en localizaciones diferentes, y en el caso, de por ejemplo, un adenocarcinoma metastásico productor de mucina que es virtualmente imposible indicar la localización primaria mediante estudios de Microscopía electrónica. Algunos carcinomas poseen características citoplásmicas que son de valor en la determinación del tipo celular y el sitio de origen. Un ejemplo es la acumulación de mitocondrias que se observan en las células del tumor Hurtle de la glándula tiroideas, (16) dichas células son células polarizadas que se

encuentran reposando sobre una membrana basal, la cual muchas veces está llena de contenido coloidal de vesículas apicales, (16). Podemos citar otro ejemplo como lo es: el carcinoma de - pecho que al estudiar sus células con el Microscopio Electrónico mostraron formación de lumen con microscópicos e intermedios filamentos correspondientes a tonofilamentos; las células gigantes mostraron citoplasma conteniendo un gran número de mitocondrias y retículo endoplásmico pobremente desarrollado. (32).

ADENOCARCINOMA METASTÁSICO DE SITIO PRIMARIO DESCONOCIDO

El rápido análisis ultraestructural permite efectuar el diagnóstico del origen de tumores celulares metastásicos.

La identificación de estructuras celulares especializadas que particularmente útil en éste material estuvo la presencia de cuerpos lamelares, típico de carcinomas de células alveolares del pulmón; así como también la presencia de membrana terminal apical, en el diagnóstico de las células epiteliales del intestino.

Dentro de los adenocarcinomas del tracto gastrointestinal los microvellos contienen centros de filamentos, el citoplasma apical se une a las bandas las cuales se insertan en el interior de la membrana celular lateral a la zónula adherente: la presencia de éstos centros de filamentos algunas veces están acompañados por pequeñas vesículas (glucocálix) entre los microvellos, sin embargo, no es una indicación absoluta de que se trata de un adenocarcinoma metastásico del tracto gastrointestinal. (10). Ciertamente el microvello tendrá que ser distinguido de las proyecciones citoplásmicas - irregulares (Filopodios) que llevan las superficies de las células en la mayor parte de los carcinomas escamosos, y pueden ser vistos en sarcomas ocasionales, incluyendo algunos - histiocitomas fibrosos malignos.

Las células mesoteliales son células especializadas de origen mesenquimatoso que revisten cavidades y órganos. Las neoplasias derivadas de éstas células pueden simular carcinomas metastásicos mediante microscopía de luz convencional. Aunque mediante Microscopía electrónica se puede hacer la diferenciación entre un Mesotelioma y un Adenocarcinoma (30). Para esto nos basamos en la presencia de abundantes microvellosidades en el primero y microvellosidades mas cortas y - distribución esparsa en el segundo.

Algunos ejemplos de neoplasias derivadas de células mesoteliales son: Mesoteliomas epiteliales de la pleura, tumores adenomatóides del tracto genital, y neoplasias ováricas que surgen del mesotelio superficial celómico (sistadenocarcinoma serosos y mucinosos, cistadenomas y tumores de Brenner en cuanto a su componente epitelial). (28)

Los timomas se identifican como tumores mediastinos que se derivan de células epiteliales líticas neoplásicas que se encuentran frecuentemente entremezcladas con un número variable de linfocitos no neoplásicos. (27)

Los procesos celulares alargados contienen haces de filamentos de citoqueratina y se encuentran unidos por numerosos desmosomas. Como se mencionaba en el mediastino anterior, se pueden encontrar seminomas que muestran uniones intercelulares ocasionales y nucleolo prominente. Los tumores estromales de cordones sexuales derivados de células estromales ováricas especializadas frecuentemente contienen células unidas por uniones celulares primitivas. Los ejemplos incluyen tumores de células granulosa-tecales, tumores de células Sertoli-Leydig; Se encuentran uniones intercelulares también en tumores de células germinales ováricas y testiculares (Seminoma, Disgerminoma y Gonadoblastoma).

Donde la Microscopía electrónica igualmente adquiere importancia es en el grupo de tumores de Linfomas y Leucemias; ya que permite el reconocimiento de organelos como los granulocitos de la Leucemia que no se sospechan, envolviendo tejidos blandos, y la identificación de células de monocitos o de leucemias de células velludas con la presencia de complejos citoplásmicos de retículo endoplásmico y ribosomas. (25)

Por otra parte muchas neoplasias que surgen en el sistema nervioso central están compuestas de células unidas por uniones primitivas u ocasionalmente por uniones intercelulares bien formadas.

El diagnóstico diferencial de tumores del sistema nervioso central frecuentemente establece un reto al microscopista electrónico. Ejemplo de algunos de éstos tumores histológicamente complejos son los siguientes:

Meningioma meningotelial, Ependimoma, Meduloblastoma cerebral, Meduloepiteliomas, Retinoblastomas y Cordoma.

Aunque las uniones intercelulares de varios tipos son - frecuentes en un número de neoplasias; especialmente las de tipo primitivo se han reportado en tejidos conectivos fetales, en miofibroblastos normales y neoplásicas y en células musculares lisas, por lo regular no se observan en neoplasias derivadas de células mesenquimatosas. (14)

Las uniones celulares se observan generalmente en neoplasias que surgen de una gran variedad de células mesenquimatosas especializadas por ejemplo: Células endoteliales y en tumores de histogénesis incierta y tradicionalmente clasificados como "Sarcomas" (ejemplo.- Sarcoma sinovial o sarcoma epitelioide). Formalmente atribuido a tendones o aponeurosis, que es reorganizado a ser un tumor de melanocitos; ésto fué revisado para darle el nombre de Melanoma maligno de tejidos lisos (4)

Los carcinomas epidermoides surgen de queratinocitos - como se puede observar en la Fig. No.2 de Células progenitoras pluripotenciales en epitelios no escamosos por ejemplo; el carcinoma epidermoide del pulmón y áreas de metaplasia es camosa en neoplasias.

Los queratinocitos neoplásicos o células epiteliales es camosas se encuentran unidos característicamente por Desmosomas bien formados y usualmente contienen haces prominentes - de tonofilamentos y muestran uniones celulares primitivas es casas. (28)

Los filamentos de citoqueratina se identifican fácilmente debido a que se encuentran característicamente en haces - curvilíneos cortos electrodensos constituidos por filamentos de 10nm. estrechamente unidos. (7)

CONTENIDO DE CITOQUERATINAS EN CARCINOMAS

Los tumores malignos mas comunes son los Carcinomas. Los resultados por los que se llegó a ésta conclusión es que los Carcinomas identificados usando anticuerpos específicos de citoqueratina; de acuerdo a ello las células tumorales resultan positivas en citoqueratina y negativas en vimentina. (24,31)

Resúmen de los tipos de filamentos intermedios:

TUMORES DIVEROS	CITOQUERATINA	VIMENTINA	DESMINA
Carcinoma	+	-	-
Sarcomas no musculares	-	+	-
Sarcomas musculares	-	+ ó -	+
Gliomas	-	-	-

Los rasgos ultraestructurales de células neoplásicas no pueden proporcionar guías para obtener un correcto diagnóstico cuando la microscopía de luz no es suficiente para llegar al diagnóstico certero; ésto se pudo comprobar en los casos No. 2, 3, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 14, 16 y 17 de la tabla No. 2, ya que los resultados del estudio al microscopio de luz fué carcinoma indiferenciado, con necesidad de realizar su diagnóstico diferencial que con el microscopio electrónico se llegó a la conclusión de que se tratába de Carcinoma Epidermoide, y que en el caso particular del No. 17 se diagnosticó como carcinoma epidermoide metastásico.

Así mismo el caso No. 3 de dicha tabla se llegó a dar el diagnóstico definitivo y certero de: Melanoma maligno; ya que con el Microscopio electrónico pudimos observar la presencia de Premelanosomas y Melanosomas característicos de este tipo de tumores.

Cabe mencionar que en el citoplasma de los melanocitos la melanina es depositada sobre una proteína dentro de los organelos específicos; han sido definidas 4 etapas ultraestructuralmente en la formación de melanosomas; La primera etapa es solamente una cavidad de membrana-unida ó vesícula, pero en la segunda y tercera etapa de los melanosomas existe una proteína (premembrana) (21). En la cuarta etapa de los melanosomas la disposición de la melanina oscurece totalmente el cuerpo enlazado, y la distinción de un lisosoma es difícil o imposible; también la identificación de la segunda y tercera etapa de los melanosomas puede servir para establecer que un tumor está produciendo melanina. (16)

Es bien conocido que un melanoma cutáneo maligno con sitio primario, puede sufrir regresión espontánea, y la ausencia del sitio primario demostrable no excluye la posibilidad de que se trata de un tumor metastásico de melanoma, raramente un melanoma aparece de una superficie mucosa (2,29) ó se desarrolla dentro de tejidos blandos.

Ocasionalmente los melanosomas son encontrados en células de carcinomas escamosos ó en el tumor de las células de Schwann.

Así como algunos tumores producen melanina otros por su parte tienen gránulos secretores como es el caso de los tumores subsiguientes: Los gránulos de mucina en adenocarcinomas diferenciados, los gránulos lisosomales en carcinomas prostáticos, las células tumorales de los islotes, los depósitos de glucógeno que distinguen al sarcoma de Ewings de neoplasias linforeticulares.

Se ha observado que cuando las neoplasias están conectadas sus células por desmosomas puede ocurrir que los desmosomas intracitoplasmáticos se fusionan para producir células gigantes multinucleadas ó plieques sincitiales. Como es el caso de las llamadas células gigantes osteoclasticas presentes en tumores de pecho; éstos han sido divididos en 3 categorías:

- a) Aquellos que incluyen carcinoma mamario con metaplasia en cartilago y hueso.
- b) Osteoclastoma extraesqueletal, (conocido también como tumor de células gigantes en tejidos blandos).
- c) La 3a. categoría incluye casos de infiltración mamaria de carcinoma Ductal, carcinoma lobular y carcinoma mucoso que presenta células gigantes osteoclasticas en íntima asociación a las áreas carcinomáticas (32).

Reportes previos han atribuido el origen de éstas células a la fusión de histiocitos (32).

Después de la fusión, la intervención de las membranas celulares sufren fragmentación y disolución.

La relación intercelular y la especialización de membrana son factores importantes en los diferentes diagnósticos de varios tumores indiferenciados. (8)

Mediante éstos dos factores logramos clasificar varios tipos de tumores. Ya que se llegó a éstos gracias al estudio ultraestructural de los mismos por medio del Microscopio electrónico.

De ahí la importancia que tienen el Microscopio electrónico al hacer posible la distinción entre carcinomas primarios y metastásicos de cualquier otro tipo de neoplasia maligna.

CONCLUSIONES

- 1.- *El incremento en el poder de resolución del Microscopio electrónico permite el reconocimiento de organelos que hace posible la identificación de la célula de origen, ó mejor aún, la vía de diferenciación no discernible - por microscopía de luz convencional.*
- 2.- *El descubrimiento de organelos específicos como son: desmosomas y bandas de tonofilamentos mediante el Microscopio electrónico, permiten discernir la diferenciación epitelial de un linfoma ó sarcoma de células redondas.*
- 3.- *Mas contribuciones de la Microscopía electrónica abarcando el grupo de tumores de linfomas y leucemias, es la confirmación del diagnóstico de histiocitos, y la identificación de un tumor mediastino como lo es un Timoma.*
- 4.- *El Microscopio electrónico tiene también la importancia de distinguir un Mesotelioma de un Adenocarcinoma; ésto se basa principalmente en la presencia de abundantes microvellosidades sobre la superficie de la mayoría de Mesoteliomas y microvellosidades más cortas y esparcidamente distribuidas en los Adenocarcinomas.*
- 5.- *El tratamiento adecuado para neoplasias depende del diagnóstico histológico preciso que se obtiene con el estudio al Microscopio electrónico del tejido dañado; en el que se observan los desmosomas y/o. tonofilamentos que indican el diagnóstico definitivo.*

- 6.- Se comprobó con la ayuda del Microscopio electrónico que el carcinoma epidermoide pierde diferenciación - cuando los desmosomas se tornan mas escasos y pequeños con tonofilamentos más cortos.
- 7.- Un diagnóstico diferencial en neoplasias malignas in diferenciadas de células pequeñas, células redondas y células fusiformes con sarcomas, carcinoides, melanomas y linfomas solo es posible con su estudio al - Microscopio electrónico.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Battifora H: *Intracytoplasmic lumina in breast carcinoma*. Arch Pathol 99: 614-617, 1975.
- 2.- Carle G, Alastain M: *Malignant melanoma in the gallbladder, A case report*. Cancer 48: 2318-2322, 1981.
- 3.- Copeland EM, Mc. Bride CM: *Axillary metastases from unknown primary sites*. Ann Surg 178: 25-27, 1973.
- 4.- Chung EB, Enzinger FM: *Clear cell sarcoma of tendons and aponeurosis: Further observations*. Lab Invest. 38:8, 1978
- 5.- Didekhar S, Fanous N, Elias EG, et al: *Metastatic carcinomas of occult primary tumors. A study of 254 cases* Ann Surg 186: 625-630, 1977
- 6.- Dvorak AM, Monahan RA: *Metastatic adenocarcinomas of unknown primary site. Diagnostic electron microscopy to determine the site of tumors origin*. Arch Pathol - Lab Med 106: 21, 24, 1982.
- 7.- Erlandson RA: *Diagnostic Transmission electron microscopy of human tumors*. Masson. N.Y. 323-327, 1981.
- 8.- Gyonkey F, Min, K-N, Kirsko J, Gyonkey P: *The usefulness of electron microscopy in the diagnosis of human tumors*. Hum Pathol 6: 421, 1975.
- 9.- Grimstone AV: *El Microscopio electrónico en Biología* Ed. Omega, segunda edición, 39, 1981.
- 10.- Hickey WF, Seiler MW: *Ultrastructural markers of colonic adenocarcinoma*. Cancer 47: 140-145, 1981.

- 11.- Holmes FF, Fouts TJ: Metastatic cancer of unknown primary site. *Cancer* 46: 816-830, 1970.
- 12.- Human Pathology: Electron microscopy in the veterans - administration for service Pathology: Some administrative aspects of the program. 399-400, 422,440, Vol. 6 No. 4 Julio 1975.
- 13.- Karnovsky MJ: A formaldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol* 27: 137A, 1965.
- 14.- Kuzela DC, True LD, Eiseman B: The role of electron An *Surg* 11, 1978.
- 15.- Loewy A, Siekevitz P: *Estructura y función celular.* Cia Ed. Continental Mex. pp. 60, 1980.
- 16.- Mackay B, Osborne DM: The contribution of electron microscopy to the diagnosis of tumors. *Pathobiol. Ann Sur.* 195: 1-11, 1980.
- 17.- Mackay and Ordonez: Poorly differentiates neoplasms - and tumors of unknown origin. Edited by clinical oncology monographs. Inc. stratton, USA. 38-73, 1986.
- 18.- Mc. Dowell EM, Trump BF: Histologic fixatives suitable for diagnosis light and electron microscopy. *Arch Pathol. Lab Med* 100: 405-412, 1976.
- 19.- Mennemeyer RP, Hammar SP, Tytus JS, et al: Melanotic Schwannoma. Clinical and ultrastructural studies of -- three cases with evidence of intracellular melanin synthesis. *Am J Surg Pathol* 3:3-10, 1979.
- 20.- Mercer EH, Bierbeck MSC: *Manual de Microscopía electrónica para Biólogos.* H. Blume ediciones, Eosario, Madrid 18-20, 192-103, 1979.

- 21.- Mazur MT, Katzenstein A-LA: *Metastatic melanoma: The spectrum of ultrastructural morphology. Ultrastructural Pathol 1: 337-356, 1980.*
- 22.- Nunn RE, *Microscopía electrónica: Guías de laboratorio. Preparación de muestras biológicas. Ed. Manual moderno, 18-47, 1981.*
- 23.- Newlan JR, Mackay B, Hill CS, et al: *Anaplastic thyroid carcinoma: An ultrastructural study of 10 cases Ultrastructural Pathol 2: 121-129, 1981.*
- 24.- Osborn M, Weber K: *Biology od disease. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical Pathology Lab Invest. 48:372-394, 474-476, 1983.*
- 25.- Osborn BM: *Hematologic disorders, in Mackay B. (ed): Introduction to diagnostic electron microscopy. New York Appleton-Century-Crofts, 171-196, 1981.*
- 26.- Rosai J, Rodriguez HH: *Application of electron microscopy to the differential diagnosis of tumors. Am.J Clin Pathol, 50: 555-562, 1968.*
- 27.- Rosai J, Levine GD: *Tumors of the thymus, Atlas of tumor Pathology, Washington, Armed Forces Inst. of Pathology. Fasc. 13, 1976.*
- 28.- Robbins CK: *Pathologic basis of disease, W.B. Saunders company, Third Ed. 214-221, 1984.*
- 29.- Robertson AJ: *Primary melanocarcinoma of the lower respiratory tract. Thorax 35: 158-159, 1980*
- 30.- Susuky Y, Chung J, Kannerstein M: *Ultrastructure of human malignant diffuse mesothelioma. Am J.Pathol - 85: 241-252, 1976.*

31.- Lazarides E. Granger Bl.

Gard DL, O'Connor, Cm.

Breckler J. Price M. Danto St:

Desmin and Vimentin containing filaments and their role in the assembly of the Z disc in muscle cells cold - - spring Harbor Symp Quant Biol 46: 341. 1982.

32.- Domagala W, et al. Neuroendocrine (merkel-cell) Carcinoma of the skin cytology, intermediate filament typing - and ultrastructure of tumor cells in fine needle aspirates. May-Jun; 31 (3): 267-75 Acta Cytol (Baltimore) 1987.

A G R A D E C I M I E N T O S .

A mis papas:

Porque con su gran ayuda y ejemplo de seguir siempre adelante y cerca de Dios; me impulsaron a llegar al escalón en el que hoy estoy.

A mis hermanos:

Quienes respetaron diariamente mis ideas motivándome a alcanzar mis metas propuestas, compartiéndome con ellos éxitos y fracasos.

A mi esposo, mis hijos Alejandra y J. Antonio:

Quienes son una razón más de mi vida y un apoyo firme para realizarme también en mi profesión.

A mis compañeros:

Sin excepción de alguno, por compartir momentos irrepetibles y nuestra trayectoria como estudiantes desde el inicio hasta el final.

A mis maestros:

En especial al Dr. Carlos Astengo y al Dr. Carlos Lamas por su valiosa disponibilidad, colaboración y revisión, porque sus comentarios y consejos fueron una fuente continua de aliento.

A la Universidad:

*Por sus clases impartidas y su accesibilidad a
a todos nosotros.*

*A la Unidad de Investigaciones Biomédicas del Centro Médico
de Occidente:*

*Por permitin realizar investigaciones necesarias para
el conterido de ésta, así como al personal del Depto.
de Patología por su ayuda incondicional.*

I N D I C E

INTRODUCCION.....	Págs. 1 y 2
HIPOTESIS.....	" 3
OBJETIVO.....	" 3
ANTECEDENTES CIENTIFICOS.....	" 4 y 5
MATERIA Y METODOS.....	" 6,7,8 y 9
RESULTADOS.....	" 9,10,11,12 13,14,15,16 17,18,19,20 21 y 22
TABLA No. 1.....	" 11,12 y 13
TABLA No. 2 DIAGNOSTICOS HISTOLOGICOS.....	" 14,15,16, y 17
GRAFICA No. 1.....	" 18
GRAFICA No. 2.....	" 19
FIGURA No. 1.....	" 20
FIGURA No. 2.....	" 21
FIGURA No. 3.....	" 22
ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	" 23,24,25 y 26.
CONTENIDO DE CITOQUERATINAS.....	" 27,28 y 29
CONCLUSIONES.....	" 30 y 31
BIBLIOGRAFIA.....	" 32,33,24 y 35.
AGRADECIMIENTOS.....	" 36 y 37

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente, se hace constar que la Tesis cuyo título es "LA IMPORTANCIA QUE TIENE EL MICROSCOPIO ELECTRONICO EN EL DIAGNOSTICO DE CARCINOMAS PRIMARIOS Y METASTASICOS", presentado por la pasante de Lic. en Biología, Martha C. Castillo Connales, estuvo debidamente asesorada y aceptado por el Sr. Dr. Carlos Lamas, quien fué director de la misma.

Agradeciendo de antemano la atención a la presente.


~~SR. DR. CARLOS LAMAS R.~~



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente.....
Número 1535/87

SRITA. MARTHA CLEOFAS CASTILLO CORRALES
P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "LA IMPORTANCIA DE LA MICROSCOPIA ELECTRONICA EN EL DIAGNOSTICO DE CARCINOMAS PRIMARIOS Y METASTASICOS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como Director de dicha tesis el Dr. Carlos Lamas Robles.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., Diciembre 14 de 1987

El Director

Dr. Carlos Astengo Osuna



FACULTAD DE CIENCIAS

El Secretario

Dr. José Manuel Copeland Gurdíel.

c.c.p. El Dr. Carlos Lamas Robles, Director de Tesis.-Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.