

ASPECTOS ULTRAESTRUCTURALES DE LA PATOLOGIA TUMORAL

Jorge García Tamayo

*Instituto Anatómo-Patológico. Universidad Central de Venezuela. Apartado 50647.
Caracas. Venezuela*

RESUMEN

Se estudian 316 casos de tumores benignos y malignos al microscopio de luz y electrónico, con el fin de actualizar el conocimiento de los aspectos ultraestructurales de la patología tumoral. Para microscopia de luz los cortes se colorearon con hematoxilina-eosina y dependiendo de cada caso se hicieron coloraciones especiales de tricromico, PAS e impregnación argéntica para reticulina. Ciento tres casos correspondieron a tumores de parte blandas, 53 a tumores de células redondas, 40 a tumores endocrinos y 122 a tumores epiteliales.

Se concluye que la utilización del microscopio electrónico en el diagnóstico de tumores, constituye una ayuda valiosa para responder a muchas interrogantes que se le presentan al patólogo.

INTRODUCCION

La importancia del microscopio electrónico en el diagnóstico de las neoplasias se refleja en la creciente información que sobre este particular

viene apareciendo desde hace años en todas las publicaciones de la especialidad (43, 143, 215, 216, 287, 341, 359).

El concepto de que existen escasos criterios ultraestructurales para identificar las células tumorales, se ha modificado ante la avalancha de información ultraestructural en las más variadas neoplasias.

El patólogo encuentra en el microscopio electrónico un instrumento con mayor poder de resolución que le permite examinar la ultraestructura celular. El patólogo en formación debe aprender a comparar la histología e histoquímica con la ultraestructura; al hacerlo así, comprobará que generalmente sólo se requieren ciertos detalles morfológicos para corroborar o negar un diagnóstico basándose en las características ultraestructurales de las células tumorales. Los conceptos sobre la apariencia de las células neoplásicas observadas con el microscopio electrónico deben estar muy claros para los patólogos.

En nuestro país, el microscopio electrónico es un instrumento que está al alcance de todos, sin embargo, es muy poco utilizado por los patólogos. En casi todas las ciudades importantes de Venezuela hay uno o varios microscopios electrónicos, generalmente subutilizados. Actualmente el material de los casos de tumores que presentan problemas de diagnóstico, teóricamente pueden remitirse a algún centro donde se practique el estudio con el microscopio electrónico y muchas veces se pueden resolver problemas de diagnóstico muy concretos aprovechando el material fijado en formol al 10% y aún cuando esto no es lo ideal, en ocasiones se puede llegar hasta la observación de material incluido en parafina. Esto en la práctica no se produce.

Este trabajo pretende llamar la atención sobre la Patología Ultraestructural de los tumores y señalar la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico. En esta empresa de aplicar el microscopio electrónico al diagnóstico de los tumores, no se persigue satisfacer una inquietud en busca de la verdad, ni se pretende que somos abanderados de una Patología más científica. Es necesario entender la importancia para el pronóstico y muchas veces para la terapéutica, que puede significar, el precisar un diagnóstico en tumores de difícil clasificación. No es lo mismo para un paciente si el patólogo diagnostica un melanoma amelanico, un linfoma, un carcinoma poco diferenciado o un sarcoma. El microscopio electrónico debe ser un arma de uso diario en Patología Quirúrgica. Ciertamente el microscopio electrónico no es una panacea, ni debe ser aplicado en la gran mayoría de las biopsias que se resuelven por métodos convencionales, pero de la popularización de su uso entre nosotros, dependerá el que cada

día aprendamos más sobre las ventajas que nos ofrece. Tal vez el mayor provecho lo obtendremos al examinar retrospectivamente la histología de muchos casos en busca de detalles histológicos que antes no vimos, y aprender a través de la ultraestructura a ver más y mejor el material de las biopsias pensando al hacer microscopía de luz con criterios ultraestructurales, así como estamos comenzando ya a pensar con criterios inmunohistoquímicos cuando nos enfrentamos a algunos tumores.

El objeto de este trabajo es destacar la importancia del microscopio electrónico en el diagnóstico de los tumores de células fusiformes, los de células redondas pequeñas, los de origen endocrino y los epiteliales poco diferenciado, en fin, señalar la utilidad práctica de este instrumento en Patología Quirúrgica.

MATERIAL Y METODOS

Se revisaron aproximadamente 450 casos de tumores benignos o malignos en la Unidad de Microscopía Electrónica - Instituto Anatomopatológico de la Universidad Central de Venezuela en el lapso comprendido entre 1976 y 1981. Se seleccionaron 316 casos. En todos los casos el material fué estudiado con microscopía de luz y electrónica. Para microscopía de luz el tejido fué fijado en formol al 10%, incluido en parafina y teñido con hematoxilina eosina. Dependiendo de las circunstancias de cada caso, se realizaron coloraciones especiales de tricrómico, PAS e impregnación argéntica para reticulina. Para el estudio con microscopía electrónica se obtuvieron pequeños fragmentos de un milímetro de dimensión mayor, los cuales fueron fijados en glutaraldehído al 2% en buffer cacodilato y postfijados en tetraóxido de osmio al 2%, deshidratados en alcoholes y óxido de propileno e incluidos en Epón-Araldita. En algunos casos, el tejido había sido fijado en formol al 10%. En tal circunstancia, el tejido fué lavado en buffer fosfato a pH 7.2, postfijado en tetraóxido de osmio al 2%, deshidratado e incluido en Epón-Araldita. Algunos casos fueron procesados para microscopía electrónica a partir del material de biopsia incluido en parafina, se eliminó la parafina y se procedió en la misma forma señalada anteriormente. En todos los casos, se obtuvieron cortes de una micra de espesor los cuales fueron teñidos con azul de toluidina para su estudio con microscopía de luz. Los bloques seleccionados fueron seccionados en un microtomo equipado con cuchilla de diamante. Los cortes fueron montados en rejillas de cobre y teñidos con acetato de uranilo y citrato de plomo para ser examinados en un microscopio electrónico marca Hitachi (Modelo HS-500).

RESULTADOS

Tumores de partes blandas

1.— Tumores Fusocelulares.

Leiomioma	1
Leiomioma Neuroectodérmico	1
Leiomioblastoma	4
Leiomiosarcoma	11
Rabdomiosarcoma	8
Rabdomioma fetal	1
Fibrosarcoma	7
Liposarcoma	9
Lipoma	1
Lipoblastomatosis Benigna	1
Hibernoma	3
Fibrohistiocitoma Maligno	8
Dermatofibrosarcoma Protuberans	1
Fibromatosis Agresiva	3
Fascitis Nodular	1
Tumor Desmoide	2
Tumor de células Claras de los Tendones	1
Sarcoma Alveolar de partes Blandas	1
Sarcoma Sinovial	5
Total tumores fusocelulares:	69

2.— Tumores Oseos

Osteosarcoma	4
Tumor de Células Gigantes del Hueso	1
Tumor de Ewing	3

3.— Tumores Vasculares

Hemangioma	1
Hemangioendotelioma	1
Hemangioendotelioma Juvenil	1
Hemangioma Histiocitoide	3
Hemangiopericitoma	5
Angiosarcoma	3
Sarcoma de Kaposi	3
Total tumores óseos y vasculares:	25

4.— Melanoma

Melanocitoma	1
--------------	---

**Total tumores de partes Blandas estudiados
con el microscopio electrónico:**

103

Tumores de células redondas

Linfomas No Hodgkin	6
Linfoma Indiferenciado	2
Linfoma Linfoblástico	2
Linfoma Histiocítico	4
Linfoma de Hodgkin	3
Piel en Hodgkin	<u>1</u>
Total linfomas examinados con el microscopio electrónico:	16

Micosis fungoides	4
Plasmocitoma	5
Carcinoma Nasofaríngeo	1
Enfermedad de Rosai y Dorfman	2
Linfadenitis por Toxoplasma	3
Linfadenitis Granulomatosa	1
Linfadenitis Dermatopática	<u>1</u>
Total lesiones tumorales y no tumorales de ganglios linfáticos:	17

Linfáticos

Neuroblastomas y Ganglioneuroma	6
Timomas	8
Tumor de Wilms	<u>6</u>
	20

**Total tumores de células redondas examinadas con el
microscopio electrónico:**

53

Tumores endocrinos

Suprarrenal

Adenoma de Corteza	2
Adenoma Negro	1
Carcinoma	2
Feocromocitoma	<u>8</u>
	13

Tiroides

Carcinoma Papilar	10
Carcinoma Folicular	2
Carcinoma Medular	<u>4</u>
	16

127

Paratiroides	
Adenoma	1
Adenoma con Atipias	1
Carcinoma	2
	<hr/>
	4
Paraganglioma del cuello	2
Paraganglioma Retroperitoneal	1
Carcinoide del Colon	3
Apudoma del estómago	1
	<hr/>
	7
Total tumores endocrinos examinados con el microscopio electrónico:	<u>40</u>
Tumores epiteliales	
1.— Diversos	
Carcinoma Epidermoide	3
Carcinoma Epidermoide de la vesícula biliar	1
Adenoma Pleomórfico de Glándula Salival	1
Adenoma de Parótida	1
Adenocarcinoma de Parótida	1
Tumor Papilar del Páncreas	2
Carcinoma del Páncreas	2
Carcinoma de Células Claras del Riñón	2
	<hr/>
Total tumores epiteliales diversos:	13
2.— Patología ginecológica	
Melanoma de la Vulva	1
Carcinoma Verrugoso de Vulva	1
Papilomatosis de Vulva	12
Papilomatosis de vagina	8
Tumor Mixto Mulleriano	1
Cervicitis y Displasias con y sin Papilomatosis	24
Plasmocitoma del cuello uterino	1
Linfoma del Utero	1
Coriocarcinoma	3
Tumor del Seno Endodérmico	1
Tumores del Ovario	1
Disgerminoma	1
Carcinoma Indiferenciado	1
Carcinoide	2
Leiomiomasarcoma	1

Tumor de la Granulosa	2
Tumor del Seno Endodérmico	1
Total casos ginecológicos:	<u>61</u>
3.— Tumores de la Mama	
Carcinoma Ductal Infiltrante	13
Carcinoma Lobulillar	2
Fibroadenoma	2
Displasia Mamaria	4
Cistosarcoma Phillodes	1
Linfoma Primario	1
Total tumores de la mama:	<u>23</u>
4.— Tumores del Pulmón y Pleura	
Carcinoma Epidermoide	3
Adenocarcinoma	3
Carcinoma Bronquiolo-Alveolar	4
Carcinoma Indiferenciado de Células Grandes	2
Carcinoma indiferenciado de Células Pequeñas	2
Carcinoma de Células Gigantes	1
Carcinoide	3
Leiomiomasarcoma	2
Fibrohistiocitoma Maligno	1
Mesotelioma	4
Total tumores de pulmón y pleura:	<u>25</u>
Total tumores epiteliales examinados con el microscopio electrónico:	<u>122</u>

DISCUSION

Aspectos generales del diagnóstico ultraestructural de los tumores

En el curso de los últimos diez años ha venido dándosele cada vez mayor importancia al microscopio electrónico como instrumento auxiliar en el diagnóstico de los tumores (43, 143, 215, 216).

Las ventajas del poder contar con métodos que acortan el tiempo del procesamiento técnico del material que debe estudiarse con el microscopio electrónico ha contribuido a agilizar el diagnóstico (60, 305).

Frecuentemente, el patólogo tiene dificultades cuando trata de clasificar histogénicamente un tumor; en ocasiones ésto es debido al grado de

diferenciación o de anaplasia tumoral, otras veces, a la forma como el tumor infiltra los tejidos sanos o a la respuesta tisular alrededor del tumor invasivo. El patólogo puede ayudarse con una serie de coloraciones especiales que facilitan el diagnóstico, pero puede ocurrir que éstas sean insuficientes para aclarar la histogénesis del tumor y se impone entonces un nivel de resolución mayor que permita penetrar en el interior de la célula tumoral y observar su estructura fina. El estudio ultraestructural de los tumores es un área de la Patología en expansión y su utilidad en el diagnóstico y en la investigación es invaluable.

Los tumores que se discuten en este trabajo, fueron estudiados con el microscopio electrónico porque se consideró que este instrumento contribuiría al mejor conocimiento de la ultraestructura del tumor, o porque ayudaría a confirmar el diagnóstico histológico o también, porque se plantearon varias alternativas sobre la histogénesis del tumor. Los resultados de estas diversas opciones serán discutidos agrupando los tumores de acuerdo con la morfología de sus células.

Cuando se examinan los tumores con el microscopio electrónico, el núcleo nos proporciona muy poca información, sin embargo, el citoplasma puede revelarnos las características de la célula que ha proliferado para producir la neoplasia. Conviene recordar algunas de las limitaciones del microscopio electrónico antes de iniciar la discusión de este trabajo, ya que podría parecer que el estudio ultraestructural es un método demasiado preciso o certero para ayudar al patólogo. La primera gran dificultad es el tamaño de la muestra. Los cortes se hacen con un ultramicrotomo a pequeños fragmentos de un milímetro por lo que serían necesarios muchos días para poder examinar el área de 1 ó 2 cms x 5 micras que un patólogo mira y diagnostica rápidamente en un microscopio de luz. No existen colores que nos ayuden; con el microscopio electrónico todo está en blanco y negro y esta es una limitación que comparada con la belleza y la variabilidad de los métodos histoquímicos, es importante. Tampoco podemos con el microscopio electrónico tener idea de la organización tisular, vemos solamente células y por eso, el arreglo alveolar, "estoriforme", en cordones, nidos, etc, se pierde a nivel ultraestructural. Esta desventaja es en parte compensada por los llamados "cortes gruesos" o secciones de una micra de espesor previas al examen con el microscopio electrónico. Finalmente, el estudio con el microscopio electrónico consume gran cantidad de tiempo tanto desde el punto de vista técnico como para su estudio ultraestructural, fotografías, examen posterior, etc. Sin exagerar, se calcula que de 15 a 20 horas es el tiempo que se invierte en cada espécimen; esto hace que el número de muestras a examinar tenga que ser limitado.

Uno de los hechos que primero enfrenta quien examina los tumores con el microscopio electrónico es la ausencia de características especiales

a las células malignas. La célula neoplásica ultraestructuralmente es similar a la célula normal y por ello, de la comparación entre sus organelos y sus contactos con otras células y de la relación entre estos hallazgos y la histología, habrá que llegar a conclusiones diagnósticas.

A. Tumores de partes blandas

El uso del microscopio electrónico como medio auxiliar de diagnóstico en los tumores mesodérmicos malignos ha sido propuesto desde hace muchos años (292), y aún es un tema de actualidad (185, 341, 359), por lo problemático que puede resultar el diagnóstico de los mismos. Las características histológicas de estos tumores son similares. Las células fusiformes y la tendencia a formar espacios pseudoglandulares o vasculares que producen en ocasiones lo que se ha dado en llamar "patrón alveolar", son los aspectos más resaltantes de este grupo de neoplasias. Los tumores fusocelulares mesenquimáticos constituyen un número importante de los llamados tumores de partes blandas y la evaluación diagnóstica de los mismos debe siempre contemplar el estudio de todos los datos clínico-patológicos de cada caso. La edad, el sexo, raza, localización, tamaño, forma, evolución, adherencia a los tejidos vecinos, infiltración, necrosis, otras manifestaciones clínicas, etc. Todos estos detalles deben tomarse en cuenta al examinar la apariencia histológica de estos tumores. Generalmente los problemas diagnósticos se presentan cuando el patólogo ha examinado los cortes teñidos con hematoxilina eosina y encuentra que las coloraciones especiales (PAS Tricómico, PTAH, reticulina, etc...), no responden sus preguntas sobre el origen primitivo de las células neoplásicas. En la mayor parte de los casos, la disyuntiva se produce con tumores que ofrecen aspecto fusocelular o espacios de apariencia alveolar. Pueden darse mezclas de estas características y esta circunstancia ha llevado a que existan dificultades con el mismo tumor cuando éste presenta áreas alveolares y fusocelulares como ocurre en el rhabdomyosarcoma embrionario y alveolar.

De manera general, podemos considerar como tumores malignos fusocelulares, al fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma de miofibroblastos, rhabdomyosarcoma embrionario, fibrohistiocitoma maligno y sarcoma sinovial. No es este el momento para discutir los criterios de malignidad de estos tumores, pero es necesario recordar la existencia de una serie de tumores fusocelulares benignos, emparentados con los mencionados previamente como son, los fibromas, el dermatofibroma, fibrohistiocitoma, leiomioblastoma, leiomioma bizarro, la fascitis nodular, las fibromatosis agresiva, etc., que deben ser considerados cuando se examina histológicamente un tumor fusocelular de partes blandas.

Fibroblastos y Miofibroblastos: En general puede señalarse al fibroblasto como la célula más característica del tejido conectivo. Su apariencia fusiforme y sus actividades funcionales que van desde la fabricación de colágeno hasta su transformación en histiocito o en miocito hace que deba prestársele una atención especial. La coloración tricrómica de Gomori o de Masson se utiliza para identificar histológicamente el colágeno de color verde o azul; los fibroblastos se tiñen igualmente destacándose únicamente su núcleo fusiforme de extremos agudos. En las lesiones que cursan con proliferación de fibroblastos, la actividad formadora de colágeno es paralela a una mejor visualización de los nucleolos y el citoplasma de estas células se tiñe con un leve color rojo, lo cual puede ser motivo de confusión cuando se trata de determinar la naturaleza fibroblástica o miógena de un tumor basándose en la coloración tricrómica. El fibroblasto posee cisternas de retículo endoplasmático rugoso, algunas veces dilatadas y conteniendo material electrón-denso, su núcleo es oval generalmente con un nucleolo prominente y no muestra membrana basal ni vesículas de pinocitosis. Alrededor de los fibroblastos las fibras colágenas pueden verse en contacto con la membrana plasmática.

Existen muchas lesiones no tumorales, tumorales benignas o malignas, en las cuales los fibroblastos modifican su estructura normal y adquieren características de células miógenas. Estas características de los fibroblastos han conducido a proponer la existencia de una célula con caracteres mixtos, presencia de retículo endoplasmático rugoso, filamentos de actomiosina, lámina basal y vesículas pinocíticas, las cuales caracterizan a los miofibroblastos (74, 357).

Estudios recientes han demostrado que la actina y la miosina se encuentran presentes tanto en los fibroblastos como en las células musculares y en numerosas células no musculares (2), y su función está relacionada con la movilidad del citoplasma celular. Se ha descrito la transformación de fibroblastos en células musculares lisas (117), y fibroblastos con características de miocitos han sido reportados en tumores desde hace ya algunos años (66), la capacidad de los fibroblastos para transformarse en células musculares lisas ha creado toda una problemática que se asocia a la morfología de algunos tumores y lesiones pseudotumorales de partes blandas.

Si queremos enfocar el problema de la histogénesis sobre bases morfológicas, en la mayoría de los tumores de partes blandas nos encontramos con una célula primitiva muy parecida al fibroblasto. El examen de los fibroblastos en cultivo, llevó a Ozello y col (280), a proponer el concepto de "Fibroblasto Facultativo". En esa época no parecía muy definido el multifacético papel que los fibroblastos habían de jugar en el futuro de las lesiones tumorales y no tumorales de partes blandas. Ahora sabemos

que el fibroblasto puede adquirir características de miocito y se denomina miofibroblasto (74, 222). La relación entre células endoteliales, pericitos, miocitos y miofibroblastos ha sido examinada al igual que la existente entre los fibroblastos e histiocitos (357). Un ejemplo de la capacidad del fibroblasto para diferenciarse en histiocitos lo ofrece la célula del estroma endometrial cuyas características morfológicas de fibroblasto y la producción de colágeno durante la fase proliferativa contrastan con su apariencia histiocítica y carácter macrofágico durante la fase menstrual, cuando fagocita y digiere las fibras colágenas que antes produjo (371). Algo similar ocurre con los fibroblastos corneales transformables en macrófagos que fagocitan partículas coloidales (186). El paralelismo entre el fibroblasto y el osteoblasto ha sido señalado recientemente por Kaye (185), indicando que ambas células se transforman en un macrófago, llámese histiocito u osteoclasto. Estas similitudes y pequeñas diferencias entre los fibroblastos y casi todas las células mesenquimáticas indiferenciadas que dan origen a tejidos tan diversos como el adiposo, muscular, óseo o cartilaginoso, ha llevado a señalar la imposibilidad de aplicar criterios ultraestructurales cuando un tumor de partes blandas no está bien diferenciado (185). Esta limitación del microscopio electrónico posiblemente será cubierta en el futuro cercano por otras técnicas como la inmunocitoquímica (240). Mientras esto no ocurra, sólo debemos repetir que el microscopio electrónico no es una panacea, pero que de su uso diario aprenderemos cada vez más sobre la Patología Celular y retrospectivamente examinaremos las biopsias para entender los cambios histológicos que reflejan alteraciones celulares ultraestructurales.

Ya desde 1964 Golberg y Green (128), habían demostrado que los fibroblastos eran capaces de transformarse en células con características de músculo liso, sin embargo, fueron Gabbiani y col. en 1971 y en 1972 (113, 114), quienes con el auxilio del microscopio electrónico describieron el miofibroblasto. Posteriormente, el miofibroblasto ha sido demostrado en el tejido de granulación (307), en la fascitis nodular (268), y en algunos tumores como el fibrosarcoma (66) y fibrohistiocitomas malignos (57, 339), fibromatosis desmoide (335, 367), fibroma nasofaríngeo (341), dermatofibrosarcoma protuberans (13), dermatofibroma (180), fibroma de células gigantes de la mucosa oral (364); también se ha descrito un tumor con características histológicas de fibrosarcoma pero constituido por miofibroblastos, el cual se denominó sarcoma de miofibroblastos (360); sin embargo, no en todos los fibrosarcomas se ven miofibroblastos y esto ha sido señalado a propósito del estudio con el microscopio electrónico de un fibrosarcoma de la órbita (170).

Cuando se ha planteado el problema del origen del miofibroblasto a partir del llamado "Fibroblasto Facultativo" se ha propuesto también

que esta célula se forma por alteración de una célula mesenquimática primitiva que adquiere las características del músculo liso conservando su capacidad para formar colágeno. Estudios más recientes sugieren que el miofibroblasto es la célula que le confiere agresividad a algunos tumores de partes blandas como el fibroma nasofaríngeo (340), las fascitis nodular (268), y las fibromatosis (86, 367). En las fascitis nodular se ven abundantes fibroblastos inmaduros, eritrocitos extravasados y células gigantes multinucleadas acompañando a los miofibroblastos; la tendencia de estas lesiones a invadir los tejidos y a recidivar después de su extirpación es bien conocida (268, 295). No se puede precisar todavía hasta qué punto el miofibroblasto está implicado en la agresividad local o en el pronóstico de estas neoplasias. El escaso número de casos reportados y las dificultades para la evaluación clínico-patológicas de los tumores con miofibroblastos, hacen en la actualidad difícil entender el significado real de estas células en los tumores mesenquimáticos. Pensamos que la técnica de inmunoperoxidasa antiactina o antimiosina pueda darnos una idea real de la presencia de los miofibroblastos en las lesiones tumorales de partes blandas, pero hasta el presente (1982), no se han publicado trabajos sobre esta técnica aplicada a la observación de los miofibroblastos. A pesar de que los conceptos básicos sobre la naturaleza de esta célula datan de más de 50 años, todavía su significado no se conoce con precisión. El microscopio electrónico puede ayudar poco para precisar la benignidad o malignidad de los tumores mesenquimáticos pero es fundamental para determinar cuando adquieren las características miógenas los llamados "Fibroblastos Facultativos". El miofibroblasto se observa también en tumores mesenquimáticos malignos como fibrosarcomas (61, 335) y fibrohistiocitomas malignos (57, 74, 152, 339). Entre los casos examinados en este trabajo, existe una fascitis nodular (ME 248) y varias fibromatosis agresivas en las cuales se observaron las características ultraestructurales descritas por otros autores (268, 335, 367). En nuestros casos, encontramos relativamente pocos miofibroblastos a nivel ultraestructural.

El estudio con el microscopio electrónico de algunos de nuestros casos, ha hecho el diagnóstico de fibrosarcoma modificando el diagnóstico histológico de timoma fusocelular (ME 370) o de Schwannoma vs Leiomioma (ME 439). También el microscopio electrónico ha confirmado el diagnóstico de fibrosarcoma en el caso de un tumor fusocelular muy indiferenciado (ME 955). Se ha propuesto que los miofibroblastos influirían en el pronóstico de los fibrosarcomas de acuerdo con el número de estas células en relación con los fibroblastos tumorales (57, 358). La búsqueda de miofibroblastos en algunos tumores considerados ricos en estas células, ha sido negativa para algunos investigadores (170), y este hecho ha sido señalado por Katempkamp y Stiller (170), refiriéndose al dermatofibrosarcoma protuberans. Sin embargo, el estudio de un tumor

de esta naturaleza en nuestro material (ME 1606) nos mostró un elevado número de miofibroblastos. Finalmente, se han descrito miofibroblastos como respuesta del estroma conjuntivo en crecimiento alrededor de células neoplásicas (318). En nuestro material de tumores, hemos observado frecuentemente este fenómeno. Si examinamos cuidadosamente la ultraestructura de los fibroblastos tumorales, notamos una variedad en cuanto al número y distribución de las organelas celulares que podrían relacionarse con el grado de diferenciación tumoral. Sobre este particular, se ha descrito una disminución del número de cisternas de retículo endoplasmáticos y de organelas a medida que las células se hacen más indiferenciadas (61, 214). Sin embargo, es difícil precisar sobre bases ultraestructurales el pronóstico o el grado de malignidad de un fibrosarcoma. Después del advenimiento del microscopio electrónico el diagnóstico de fibrosarcoma se hace cada vez menos (Hector Battifora: Comunicación Personal, 1981). La histología, agresividad local, infiltración, pleomorfismo y mitosis, siguen siendo los criterios para decidir sobre el grado de malignidad de estos tumores.

Los fibrohistiocitomas: Durante los últimos años se le ha venido confiriendo mayor atención a un grupo de lesiones tumorales de partes blandas cuyo origen parece ser la proliferación de células histiocíticas y de fibroblastos con carácter facultativo, por lo cual se han denominado Fibrohistiocitomas (195, 334, 339). Anteriormente algunos de estos tumores llamados fibroxantomas o xantogranulomas por la apariencia de sus células epitelioides supuestamente de naturaleza histiocítica (165, 188, 271, 276, 296). En la actualidad el concepto de fibrohistiocitoma incluye una serie de entidades descritas en la literatura, reunidas en tres grandes grupos: los histiocitomas, los fibrohistiocitomas benignos y los fibrohistiocitomas pleomórficos (225).

Stout y Lattes (334), propusieron el término de fibrohistiocitomas, benignos para un grupo de tumores antes diagnosticados como fibroxantoma (296), dermatofibroma (148, 180), hemangioma esclerosante (260), fibrosis nodular subepidérmica (35), tumor de células gigantes de los tejidos blandos y de las vainas tendinosas (12, 140, 358), tenosinovitis vellonodular localizada (245), y xantogranuloma (165). Estos tumores y la contrapartida maligna de ellos, han sido reunidos bajo el término genérico de fibrohistiocitomas benignos y malignos (11, 74, 108, 148). En los hemangiomas esclerosantes se han descrito células endoteliales tapizando los vasos y aisladas en el estroma conjuntivo y estas células se han identificado por la presencia de los gránulos de Weibel Palade (50). Este hallazgo no pudo ser confirmado en un trabajo publicado recientemente por Harris (148), pero trae a la consideración, hecho previamente el comentario de que los hemangiomas esclerosantes pueden originarse en una célula indiferenciada que podría ser de naturaleza pericítica (180). En realidad se

considera al hemangioma esclerosante como una variedad de fibrohistiocitoma.

En 1974, Soule y Enriquez (330), denominaron fibrohistiocitomas atípicos a un grupo de lesiones de grado intermedio de malignidad con apariencia histológica bien definida, las cuales mostraban células epitelioides parecidas a histiocitos, ocasionalmente figuras mitóticas, aspecto estoriforme, células gigantes multinucleadas de apariencia benigna y linfocitos (238, 310, 330). El fibrohistiocitoma atípico muestra un comportamiento biológico más agresivo que los fibrohistiocitomas benignos y es una lesión que recurre localmente. La ultraestructura de los fibrohistiocitomas benignos y atípicos está caracterizado por la presencia de fibroblastos, histiocitos y miofibroblastos (310). La importancia de los miofibroblastos en el carácter agresivo de los fibrohistiocitomas atípicos, es comparable a las observaciones hechas previamente sobre estas células en algunos tumores de partes blandas con agresividad local (180, 268, 340, 339). Los fibrohistiocitomas pleomórficos están caracterizados por presentar áreas fusocelulares con arreglo estoriforme, masas de células epitelioides organizadas en placas, células inflamatorias, anaplasia de las células estromales y escasas mitosis atípicas (295, 366). Algunos autores subclasifican estos tumores de acuerdo con el tipo de células predominante, en variante fibrosa (35), de células gigantes (10, 140) inflamatoria (139, 200, 232, 236), y mixoide (202, 365). La variedad histológica no parece tener importancia en el pronóstico a diferencia de la profundidad de las lesiones (365). Los fibrohistiocitomas pleomórficos tienen un comportamiento biológico muy agresivo y aún siendo tumores muy superficiales con o sin recurrencia local, dan metástasis con mayor frecuencia al pulmón, ganglio linfático, hígado, páncreas, cerebro, etc. (187, 295, 330, 339). El fibrohistiocitoma pleomórfico o maligno, es una lesión que ofrece poca dificultad para el diagnóstico histológico de malignidad, sin embargo, cuando estos tumores muestran gran pleomorfismo celular y muchas células gigantes, pueden ser confundidos con rhabdomyosarcoma pleomórficos y liposarcomas pleomórficos (71, 141, 285, 339, 359). La ultraestructura en nuestra experiencia ha demostrado ser de gran ayuda en el estudio de los fibrohistiocitomas pleomórficos, para descartar el diagnóstico de otros tumores malignos indiferenciados. El estudio ultraestructural nos ha demostrado que los fibrohistiocitomas malignos son tumores complejos, en los cuales se ven células con diferentes grados de diferenciación, fibroblastos, miofibroblastos, histiocitos y células mesenquimáticas primitivas. Las similitudes entre las células de los liposarcomas pleomórficos y de los fibrohistiocitomas malignos, han sido destacadas por algunos autores (71, 286, 359). Recientemente, hemos señalado diferencias entre las células de estos dos tumores pleomórficos (datos no publicados), las cuales coinciden con los hallazgos descritos por Reedick y col (286). El estudio de los fibrohistiocitomas ma-

lignos con el microscopio electrónico no ha sido capaz de señalar criterios para determinar la benignidad o malignidad de estos tumores, ni ha podido discernir si el componente de células gigantes es reactivo o si estas células gigantes son en realidad malignas (359).

Actualmente se discute si la naturaleza bifásica del fibrohistiocitoma es producto de una célula mesenquimal primitiva que ha sido estimulada para transformarse en fibroblasto e histiocito maligno, o si ésta es la expresión de dos líneas celulares diferentes (359). También se ha propuesto que el histiocito es la célula primitiva capaz de diferenciarse en células histiocíticas o fibroblásticas (175). Los fibrohistiocitomas han sido exhaustivamente estudiados en los últimos años, tanto desde el punto de vista histológico como ultraestructural, sin embargo, las causas que inducen la proliferación desordenada de fibroblastos e histiocitos, para producir lesiones de apariencia tan variada con un comportamiento biológico que va desde el extremo más benigno hasta los tumores pleomórficos de gran malignidad, son aún desconocidos. En nuestro material, el estudio con el microscopio electrónico de nueve fibrohistiocitomas ha contribuido a corroborar el diagnóstico de fibrohistiocitoma maligno en algunos casos, en los cuales las características de tres tipos celulares: histiocitos, fibroblastos y miofibroblastos, orientaron el diagnóstico hacia fibrohistiocitoma (235). Examinamos un caso con diagnóstico de liposarcoma pleomórfico (ME 894) donde el microscopio electrónico demostró células histiocíticas y fibroblastos; este aspecto bimodal modificó el diagnóstico de un tumor con células muy atípicas que simulaban rabiomioblastos o lipoblastos atípicos similares a los del liposarcoma pleomórfico y se hizo el diagnóstico de fibrohistiocitoma maligno. Hemos examinado la ultraestructura de fibrohistiocitomas malignos con localizaciones poco frecuentes como el hueso (A 85) (235), el pulmón (ME 824) (55, 189, 362), y el retroperitoneo (297). En nuestro laboratorio, recientemente revisamos 86 fibrohistiocitomas examinados entre 1977 y 1980, la ultraestructura de 9 de ellos, demostró las características ya descritas y los resultados de esta investigación serán publicados próximamente.

El miocito: La célula muscular lisa es también fusiforme. Ultraestructuralmente, ella presenta una lámina basal alrededor del sarcolema o membrana plasmática en la cual se ven frecuentemente vesículas de micropinocitosis, su citoplasma tiene filamentos de actina y de miosina dispersos, los cuales se agrupan formando áreas electrón densas denominadas cuerpos densos; el núcleo es irregular y con frecuencia presenta indentaciones producidas por la contractura celular en el momento de la fijación. Estas características se encuentran presentes en las células de los tumores benignos del tejido muscular liso, como son los leiomiomas, los tumores glómicos y los leiomioblastomas. También el microscopio electrónico sirve para identificar estas estructuras en las células de los leiomiomas.

Recientemente se publicó un estudio sobre algunos tumores de músculo liso (116) en el cual destacábamos el hecho de que, de diez neoplasias fusocelulares consideradas como leiomiomas, sólo en 5 casos se confirmó ese diagnóstico con el microscopio electrónico. De los 18 casos diagnosticados como tumores de músculo liso, sólo 12 eran de este origen (116). El estudio de estos tumores y otros 5 leiomiomas que hemos examinado con el microscopio electrónico posteriormente, nos confirma lo propuesto previamente sobre el aporte del microscopio electrónico como auxiliar diagnóstico y sobre la interpretación de la coloración tricrómica de Gomori o de Masson. Señalamos que estas coloraciones en la mayoría de los casos nos permitieron diferenciar entre un leiomioma (104, 183) y otros tumores fusocelulares como fibrosarcomas, Schwannoma o fibrohistiocitoma (116). El estudio retrospectivo de algunas de las coloraciones especiales utilizadas, nos demostró que el diagnóstico erróneo de leiomioma se producía al confundir el rojo de los núcleos, sobre todo en casos muy celulares, con el citoplasma que debe teñirse de rojo en caso de ser tejido muscular. Pueden prestarse a confusión algunos tumores constituidos por fibroblastos inmaduros, en los cuales el citoplasma se tiñe de rosado con la coloración tricrómica; también en los tumores musculares con abundante tejido fibroconectivo, predominará el color verde o azul, con las coloraciones tricrómicas de Gomori o de Masson. Cuando el diagnóstico de tumor de músculo liso es confirmado con el microscopio electrónico se ven las estructuras típicas que caracterizan a las células musculares lisas. Existen diferencias de apreciación entre diversos autores (90, 242, 348), sobre la continuidad de la lámina basal de los leiomiomas, sin embargo, en la mayoría de los leiomiomas examinados por nosotros, la lámina basal ha sido continua. En algunos casos fijados en formol, la lámina basal se puede notar interrumpida. Se ha señalado que la presencia de cilios en la célula muscular del leiomioma celular y del leiomioma uterino las diferencia de las del leiomioma, sin embargo, a diferencia de lo descrito por otros autores (90, 311), en algunas oportunidades hemos encontrado cilios en las células de los leiomiomas.

Ocasionalmente los tumores de músculo liso presentan ciertas peculiaridades que los diferencia de los leiomiomas corrientes y es el caso de los leiomiomas llamados bizarros o de los leiomioblastomas donde la apariencia fusiforme alterna con un aspecto epitelioide y en los cuales el comportamiento puede ser difícil de predecir cuando se acentúa el pleomorfismo, las mitosis y la necrosis (63, 64). El microscopio electrónico ha sido utilizado para caracterizar el leiomioblastoma, tumor observado principalmente en la pared del estómago, pero que también se ha descrito en el útero, retroperitoneo, vagina y pared del intestino (52, 311). Las primeras descripciones histológicas de los leiomioblastomas demostraron características

benignas⁽³³⁴⁾, pero su observación y seguimiento posterior han evidenciado casos en los cuales la actividad mitótica y el tamaño o localización de la lesión están relacionados con su capacidad metastásica⁽¹⁾. En 1962, se propuso el término de leiomioma epitelioido o leiomiosarcoma para este tipo de leiomioblastomas más agresivos⁽²⁰⁾. En algunos de nuestros casos y en cuatro de los ya descritos⁽¹¹⁶⁾, se demostraron las características ultraestructurales de los leiomioblastomas^(63, 64, 119, 146, 182). Uno de estos casos mostró cristales intracitoplasmáticos y similares a los descritos previamente por Cornog en 1974⁽⁶⁴⁾. La densidad del citoplasma celular en los leiomioblastomas, no demostró la distribución de células claras y oscuras previamente descrita⁽⁷⁷⁾; esta variabilidad histológica parece estar relacionada con el método de fijación empleado^(20, 311). Uno de los casos descritos en 1980, correspondió a un leiomioma neuroectodérmico cuyas células mostraron las características ultraestructurales de las células musculares lisas⁽¹¹⁶⁾. Este tipo de tumor ha sido considerado como una neoplasia benigna y poco frecuente, cuyo origen parece ser de la cresta neural⁽¹⁷¹⁾. Algunos tumores diagnosticados histológicamente como leiomiosarcomas, demostraron con el microscopio electrónico una histogénesis no muscular. En algunos tumores fusocelulares con abundantes fibroblastos, el diagnóstico definitivo fué de fibrosarcoma⁽⁶¹⁾. Otros fueron diagnosticados como fibrohistiocitomas malignos^(187, 236, 310). Frecuentemente se planteó ante el microscopio de luz la posibilidad diagnóstica de mesotelioma; ultraestructuralmente las características de los mesoteliomas^(274, 315, 236) han sido observados en algunos de nuestros casos (ME 107, ME 1611). En varios casos estudiados, uno de los cuales fué reportado con otros en 1980⁽¹¹⁶⁾, se vieron células fusiformes de núcleos ovalados, con membrana basal focal, escasas vesículas pinocíticas y ocasionalmente uniones intercelulares rudimentarias; estas células con microtúbulos, filamentos finos y prolongaciones citoplasmáticas tenían cierta similitud con las células de los Schwannomas epitelioides^(16, 322), o con células de estirpe glioperineuromelánica⁽⁷²⁾. Para estos tumores que simulan histológicamente a los leiomiosarcomas, Mackay y Osborne han propuesto el término de neurosarcoma⁽²¹⁴⁾.

El Rbdomioblasto. Las células mesenquimáticas primitivas que van a formar músculo estriado, muestran una morfología ultraestructural relacionada con el grado de diferenciación celular. Esto es de gran importancia en el reconocimiento ultraestructural de los tumores malignos que se originan de estas células. En presencia de un tumor constituido por células fusiformes que se tiñen discretamente de rojo con la coloración tricrómica de Masson o de Gomori, deben diferenciarse las células del tejido muscular liso de otras células neoplásicas como pueden ser las de un timoma fusocelular, un rbdomiosarcoma embrionario o un Schwannoma. El microscopio electrónico juega un papel invaluable en el diagnóstico de

estos casos y nuestra experiencia en este sentido también ha sido muy interesante. Algunos de los tumores examinados con el microscopio electrónico presentaban aspecto alveolar o tenían células pequeñas y redondas, algunas de ellas fusiformes y el diagnóstico de rhabdomyosarcoma (RMS) fué planteado frecuentemente por los patólogos (ME 5546, ME 232, ME 1102, ME 1720, ME 484, A 211, ME 963, A 24). Sin embargo en algunos de estos casos el microscopio electrónico no confirmó el diagnóstico de RMS sino que por el contrario, se modificó este diagnóstico. Ejemplos de esta situación fueron el caso de un melanoma (ME 52), de un adenoma pleomórfico de glándula salival (ME 5446) y de dos linfomas indiferenciados (ME 232 y ME 84). El diagnóstico de rhabdomyosarcoma ha sido confirmado con el microscopio electrónico en otros casos (ME 155, ME 1102, ME 1720, ME 616). También hemos demostrado la presencia de rhabdomioblastos en un tumor de cuello uterino considerado como carcinosarcoma en el cual el microscopio electrónico mostró células de apariencia muy indiferenciadas con evidencias ultraestructurales de ser rhabdomioblastos (ME 668). Igualmente en un tumor del labio en un niño, en el cual inicialmente se pensó en un mucocele y al reintervenirlo se planteó el diagnóstico histológico de Schwannoma (ME 545), el microscopio electrónico demostró que era un rhabdomyosarcoma. Recientemente un linfoma cutáneo de linfocitos T fué también confundido con un RMS. En nuestra experiencia hemos visto que para el patólogo, uno de los problemas más complejos puede ser el diagnóstico del rhabdomyosarcoma, particularmente cuando no se observan con el microscopio de luz las estriaciones transversales características de la fibra muscular estriada. El conocimiento de que los rhabdomioblastos no siempre muestran estriaciones transversales, puede crear confusión cuando se ven células eosinofílicas, algo hinchadas, con núcleo excéntrico y en ocasiones con aspecto de renacuajo. El microscopio electrónico puede dilucidar este tipo de problema, ya que su poder de resolución permite penetrar en el citoplasma celular y calibrar el tipo de filamento o microtúbulo, cisterna o gránulo y sus relaciones con la membrana plasmática o con las células vecinas. El problema del rhabdomyosarcoma no estriba únicamente en las dificultades que existen para identificar con certeza a los rhabdomioblastos (229), sino que en un mismo tumor pueden verse áreas que lo identifiquen como embrionario, alveolar o pleomórfico (79, 158). Por este motivo, el rhabdomyosarcoma alveolar ha sido considerado por algunos como una variante del tipo embrionario (79). El rhabdomyosarcoma embrionario también ha sido considerado como un tumor muy indiferenciado cuando los rhabdomioblastos no llegan a reunir sus miofibrillas en manojos de modo que histológicamente no se ven estriaciones transversales; en estos casos (196, 238, 241) el diagnóstico con el microscopio electrónico se hace difícil (329). En otros rhabdomyosarcomas, ocasionalmente se ve la formación de sarcómeras con presencia de bandas Z y finalmente, el caso de rhabdomioblastos con estriaciones transversales

evidentes (160, 241). Nuestros casos ME 1102, 545 y 616, fueron RMS bien diferenciados. Cuando los rbdomioblastos son muy indiferenciados, disminuyen las posibilidades de observar estriaciones transversales con el microscopio electrónico. Sobre este particular, se ha señalado que en niños, la mayoría de los RMS son embrionarios con escasos signos de diferenciación, lo que dificulta el diagnóstico sobre bases primariamente ultraestructural (238). Nuestra experiencia en este sentido es limitada, pero sugiere que el estudio con el microscopio electrónico debe hacerse no sólo en los tumores diagnosticados, como rbdomiosarcoma, sino en casos donde el diagnóstico de rbdomiosarcoma se haya sugerido como una posibilidad. Como ya hemos comentado, no es infrecuente que un diagnóstico original de rbdomiosarcoma tenga que modificarse después del estudio con el microscopio electrónico.

En lo que respecta al diagnóstico de rbdomiosarcoma pleomórfico, cada vez se hace con menor frecuencia y la razón de ésto se debe a que muchos de los casos diagnosticados como rbdomiosarcoma pleomórficos corresponden a otro tipo de tumores anaplásicos que hoy en día son identificados con mayor precisión (285, 341). En un estudio de 21 casos de rbdomiosarcoma, se describieron 7 casos del tipo pleomórfico y se señaló la inestimable ayuda que presta el microscopio electrónico para hacer el diagnóstico (209). En lo concerniente a la histogénesis de este tumor, se ha comparado la diferenciación de elementos mesenquimáticos en estadio somático y postsomático, con las células del rbdomiosarcoma (73). A pesar de ser un tumor bastante característico, la alta incidencia del mismo particularmente en niños y adultos jóvenes ha llevado a insistir en el papel del microscopio electrónico como instrumento para aclarar el diagnóstico, interpretar la histogénesis o promover una mejor clasificación de estos tumores (7, 131). Recientemente se ha propuesto que el análisis bioquímico de la miosina puede servir para diferenciar un rbdomiosarcoma de un fibrosarcoma, basándose en la estructura de las cadenas livianas de la miosina esquelética en ambas células (154). La localización de mioglobina por el método de inmunoperoxidasa, ha sido descrita recientemente (65, 246), y facilita el diagnóstico de este tumor.

Muchas veces ante un tumor con áreas fusocelulares, se da el caso de que las células fusiformes alternan con células epitelioides y puede plantearse el diagnóstico diferencial entre carcinoma indiferenciado, paraganglioma, rbdomiosarcoma embrionario, leiomioblastoma, sarcoma epitelioides o melanoma. Una solución rápida y precisa la puede ofrecer el microscopio electrónico; la presencia de desmosomas y tonofilamentos señala el carácter epitelial, los gránulos de centro denso ubican las células en el grupo de los tumores neuroendocrinos. En el sarcoma epitelioides y en el carcinoma fusocelular (28, 281), las características ultraestructurales son

básicas para decidir el diagnóstico. Los gránulos de melanina o los preme-lanosomas identifican a las células de los melanomas (168). En nuestro ma-terial hemos examinado 5 melanomas, uno de ellos amelanico metastásico en un ganglio (ME 299), otro en el muslo también con metástasis ganglio-nares en el cual se había planteado el diagnóstico de rhabdomyosarcoma alveolar (ME 62), un caso de melanoma maligno desmoplásico (ME 820), tumor bastante raro considerado como una variante del melanoma maligno fusocelular (62, 356). También es importante señalar que en un caso el diagnóstico histológico de melanoma se modificó al examinar la lesión con el microscopio electrónico correspondiendo a un plasmocitoma (ME 303) y uno de los elementos que confundió el diagnóstico en este caso fueron los nucléolos muy prominentes. También observamos un caso (ME 1252) de una lesión en un ganglio linfático cuyas células con grandes nucléolos sugirieron el diagnóstico de linfoma tipo histiocítico, pero en el cual el microscopio electrónico y retrospectivamente una tinción de Fontana Masson, hicieron el diagnóstico de melanoma.

Otro tumor que puede adoptar una apariencia fusocelular, es el osteo-sarcoma y puede confundirse con un fibrosarcoma o con un rhabdomyo-sarcoma cuando la producción de osteoide no es evidente; en estos casos, el microscopio electrónico revelará los cristales de hidróxiapatita entre las fibras colágenas que rodean la periferia de células ricas en retículo endoplásmico rugoso (121). En este aspecto, nuestra experiencia con tu-mores de hueso es limitada (ME 6, ME 19, ME 132, ME 282). Examinamos un tumor de los huesos propios de la nariz en un niño, el cual había sido diagnosticado como probable rhabdomyosarcoma; ultraestructuralmente correspondió a un tumor de Ewing (ME 963). El estudio de otros casos recibidos, con diagnóstico de tumor de Ewing (ME 1007 y ME 1033), han presentado inconvenientes derivados de la necrosis extensa del material procesado. La evaluación ultraestructural en los casos de tumor de Ewing, sirve para precisar los criterios diagnósticos en este tipo de tumor óseo cuya identificación histológica puede ser difícil (105, 210, 217), y cuya ubicación extraesquelética puede llevar con frecuencia a errores de diag-nóstico generalmente obviados con el estudio ultraestructural (218, 372).

Es necesario discutir algunos aspectos ultraestructurales del diagnós-tico de los tumores de partes blandas que muestran el llamado "Patrón Alveolar". En estos casos, las hendiduras intercelulares y espacios separa-dos por finas bandas de fibras reticulares que contienen nidos de células separadas unas a otras, no sólo las hemos observado en casos de rhabdomyo-sarcoma alveolar (ME 616) o en el sarcoma alveolar de partes blandas (ME 1356), sino que ellas pueden enmascarar un carcinoma poco diferen-ciado (ME 493), un melanoma (ME 62), un paraganglioma (ME 1669), o un hemangiopericitoma (ME 72). Para diferenciar histológicamente un

rabdomiosarcoma alveolar de un sarcoma alveolar de partes blandas, se utiliza la coloración de PAS que identifica cristales metacromáticos en las células del sarcoma alveolar (98). También sus células muestran una arquitectura más organoide que las del rabdomiosarcoma: En ocasiones los cristales pueden ser escasos y el microscopio electrónico facilita su identificación. Las características ultraestructurales de los diversos tipos de rabdomioblastos de acuerdo al grado de diferenciación, ya han sido señaladas previamente en este trabajo; en presencia de células con arreglo alveolar, el microscopio electrónico puede ayudar al diagnóstico de un melanoma amelanico por la visualización de los premelanosomas, que son vesículas ovoides conteniendo una matriz proteica que se dispone con apariencia cristalina o laminada (351). Cuando las células que muestran patrón alveolar son epiteliales y en ausencia de gránulos de melanina, los tonofilamentos y los desmosomas hacen el diagnóstico de carcinoma. La presencia de gránulos con centro denso de 100 a 200 nm de diámetro en células de aspecto epitelioide y con "patrón" histológico alveolar, hacen el diagnóstico ultraestructural de Paraganglioma (137).

La célula de Schwann. Los tumores de los nervios periféricos pueden ser neurofibromas o Schwannomas, los primeros constituidos por una mezcla de fibroblastos y células de Schwann mezclados en un estroma de fibras colágenas (295), los segundos llamados también neurilemomas muestran una apariencia fusocelular cuyo diagnóstico histológico puede ser difícil y están constituidos por células de Schwann (54, 321, 342, 354). Las células cuando son examinadas con el microscopio electrónico muestran una lámina basal muy evidente, largas prolongaciones citoplasmáticas, uniones intercelulares ocasionales y filamentos finos en el citoplasma. Se ha descrito una variedad de Schwannomas con apariencia epitelioide (16, 343), cuyos detalles ultraestructurales pueden servir para diferenciarlos de otros tumores de apariencia epitelioide como pueden ser el sarcoma sinovial o el tumor de células claras de las vainas tendinosas (198, 349).

El Pericito y los Hemangiopericitomas. No puede discutirse la morfología de los tumores fusocelulares mesodérmicos sin incluir los que se originan de células endoteliales o periteliales; el hemangioendotelioma, hemangiopericitoma, el angiosarcoma y el sarcoma de Kaposi. Estos tumores tienden a formar canales vasculares y deben mencionarse por su apariencia pseudoalveolar. Se ha planteado la discusión sobre la naturaleza endotelial, fibroblástica o miógena del pericito, célula fusiforme perivascular a la cual se le han atribuido múltiples potencialidades funcionales y cuyo origen es aún objeto de controversia. Se ha propuesto que las células musculares lisas perivasculares o los fibroblastos de la adventicia, originan esta célula fusiforme de ubicación peritelial. La existencia de los pericitos es conocida desde el siglo pasado cuando Rouget en 1874 (304) los describió por pri-

mera vez. Movat y Fernando (245) en el año 1964, describieron formas de transición entre las células musculares lisas de la pared vascular y los pericitos. Varios años antes Stout y Muray (1942) habían considerado a los pericitos como células musculares lisas modificadas y por ésto, proponían un origen pericítico para el tumor glómico (242, 361). El microscopio electrónico ha confirmado que el tumor glómico está constituido por células musculares lisas, sin embargo, el origen de los pericitos a partir del músculo liso, de fibroblastos o de células endoteliales, todavía se discute. Siguiendo los criterios de Stout, en 1969, Khun y Rosai (197) describieron la estructura fina de un hemangiopericitoma y a pesar de ciertas evidencias sobre la transición de miocitos a pericitos y de los reportes de varios estudios previos sobre la ultraestructura del hemangiopericitoma (251, 284), el origen del pericito no había podido ser aclarado. En 1973, Battifora propuso un origen endotelial para el pericito señalando detalles ultraestructurales sobre los hemangiopericitomas (26). El hemangiopericitoma es un tumor infrecuente, que se puede presentar a cualquier edad, pero su mayor incidencia ocurre entre la primera y quinta década de la vida, más comúnmente se observa en el tronco, las extremidades inferiores y el retroperitoneo (120). Existen varios estudios ultraestructurales sobre los hemangiopericitomas (20, 76, 145, 251, 274, 284, 288, 324). Recientemente en nuestro laboratorio hemos aplicado la inmunohistoquímica al estudio de estos tumores y los resultados de esta investigación sobre la ausencia del Factor VIII y la ultraestructura de 4 hemangiopericitomas (355). Se ha planteado también que el hemangiopericitoma más que un tumor de tipo celular específico corresponde a variantes morfológicas de muchas neoplasias mesenquimáticas con vascularización prominente (99). Igualmente, hemangiopericitomas con áreas sólidas pueden ser confundidos con otras neoplasias mesenquimáticas muy vascularizadas. A pesar de que histológicamente los pericitos carecen de caracteres citológicos definidos, su identificación depende del arreglo estructural que adoptan (45). El aspecto sólido de los hemangiopericitomas está dado por la proliferación de células tumorales con diferenciación pericítica, las cuales comprimen los vasos (99). También hemos podido observar células endoteliales prominentes que obliteran algunos capilares. En algunos casos, la ubicación de las células tumorales por fuera de la membrana basal, se puede poner en evidencia con la coloración de reticulina, la cual permite descartar el diagnóstico de hemangiendotelioma.

Enzinger y Smith (82) hacen énfasis en el diagnóstico diferencial del hemangiopericitoma con el hemangiopericitoma congénito o infantil, el tumor glómico, los fibrohistiocitomas, el sarcoma sinovial y el condrosarcoma mesenquimático. Existen criterios histológicos que permiten predecir el comportamiento biológico de los hemangiopericitomas; un elevado índice mitótico, hiper celularidad y la presencia de necrosis y hemorragia se

consideran signos de malignidad (82). Mac-Master y col (231) evaluaron el potencial maligno de los hemangiopericitomas y su capacidad para dar metástasis hematógenas, dándole mayor énfasis a la anaplasia de las células tumorales y al número ocasional, moderado a alto de mitosis.

El estudio con microscopio electrónico es un método valioso para clarificar el diagnóstico de hemangiopericitoma. En nuestra experiencia, casos de difícil interpretación en la microscopía de luz, en los cuales el diagnóstico de hemangiopericitoma se planteó como una alternativa o donde se emitió otro diagnóstico, fueron definitivamente clasificados por nosotros como hemangiopericitoma en base a los hallazgos ultraestructurales. Al mismo tiempo, el microscopio electrónico permite descartar otros tumores vasculares donde la proliferación neoplásica corresponde a células endoteliales (192, 193, 293, 323).

Una de las características de las células endoteliales es la presencia de vesículas pinocitóticas a lo largo de la membrana plasmática y los gránulos de Weibel-Palade que pueden verse ocasionalmente. Los gránulos de Weibel-Palade no pueden utilizarse como características ultraestructurales de células endoteliales tumorales (193, 323). Se han observado cuerpos parecidos a los gránulos de Weibel-Palade en los pericitos, pero sin el arreglo microtubular interno que caracteriza a estas organelas (192). Existe un marcador inmunológico de células endoteliales (Factor VIII) que ha sido utilizado para determinar la histogénesis endotelial de algunos tumores vasculares como el sarcoma de Kaposi (238, 247, 259). La negatividad observada por nosotros en 4 hemangiopericitomas examinados con el método de inmunoperoxidasa para Factor VIII (355), y las características ultraestructurales de los mismos, nos conducen a pensar que el origen del pericito puede no ser endotelial como ha sido propuesto y recientemente enfatizado por Battifora y Nuñez-Alonso (29). El Factor VIII es una proteína producida por las células endoteliales y los megacariocitos cuya especificidad antigénica le permite utilizarse como marcador para células endoteliales (169). A pesar de que éste parece no estar presente en los pericitos tumorales, es necesario que este método sea popularizado y que se divulguen los hallazgos comparados de ultraestructura e inmunocitoquímica antes de definir nuevos criterios sobre la histogénesis de los pericitos.

El sarcoma de Kaposi. Vale la pena discutir la ultraestructura del sarcoma de Kaposi, ya que hemos examinado tres casos con el microscopio electrónico y por el hecho de que este tumor puede considerarse como una de las lesiones malignas de partes blandas, con células fusiformes y apariencia alveolar. El estudio ultraestructural de estos tumores fué utilizado inicialmente para comprender la relación entre esta lesión y los angiosarcoma en los cuales se describían canales vasculares tapizados por endotelio (293), ausentes en el sarcoma de Kaposi (152).

La controversia sobre el origen de las células del sarcoma de Kaposi está vigente, pues se ha propuesto en base a estudios histoquímicos (75), que la ausencia de actividad de la fosfatasa alcalina iba en contra del origen endotelial de sus células. También se propuso que en el sarcoma de Kaposi la neoformación vascular era de naturaleza linfática o que estaba relacionada con el sistema reticuloendotelial (70, 289). El origen de las células del sarcoma de Kaposi no ha podido ser resuelto por la ultraestructura. Los estudios preliminares con microscopio electrónico sugirieron que las células en el sarcoma de Kaposi provenían de las células de Schwann (282). Ulteriormente, la hipótesis de que el sarcoma de Kaposi se originaba de una célula mesenquimática primitiva capaz de diferenciarse en varios tipos celulares, fué enfatizada a través de estudios con el microscopio electrónico (149). Estudios ultraestructurales previos habían mostrado la presencia de dos tipos celulares en el sarcoma de Kaposi, unas endoteliales y otras fibroblastos con capacidad fagocítica (151). Posteriormente Smith y Wolff (326), propusieron que el sarcoma de Kaposi se originaba de células mesenquimáticas fagocíticas que podían diferenciarse en fibroblastos o células musculares lisas y que además, se observaba un componente endotelial neoplásico. Existen diferencias histológicas entre el sarcoma de Kaposi y los angiosarcomas; la presencia de células fusiformes, abundante hemosiderina, proliferación fibroblástica y una trama reticular, características que se observan en el sarcoma de Kaposi (38, 345), no son tan evidentes en los angiosarcomas (293).

En un estudio con el microscopio electrónico de un angiosarcoma de la mama (323), se señaló la ausencia de gránulos de Weibel-Palade como marcadores específicos de células endoteliales en estos tumores y esto lo hemos comprobado recientemente en el estudio de varios angiosarcomas (resultados no publicados). Sin embargo, el estudio ultraestructural de un caso de sarcoma de Kaposi descrito por Gokel (134) y más recientemente en un caso de sarcoma de Kaposi descrito en el Japón (338), hacen referencia a la presencia de gránulos de Weibel-Palade en las células tumorales, infiriendo su naturaleza endotelial. El estudio ultraestructural de los capilares en nuestros casos de sarcoma de Kaposi, no demostró gránulos de Weibel-Palade, tampoco se observaron en las células fusiformes, estructuras que sugirieran una naturaleza miógena. El examen de nuestro caso de sarcoma de Kaposi primario del estómago con inmunoperoxidasa para Factor VIII, fué positivo (355); este material fué también examinado por los Doctores Azórides Morales y M Nadji del Hospital Jackson Memorial en Miami, EEUU, quienes corroboraron la positividad para el Factor VIII. Estos resultados basados en la utilización del Factor VIII como marcador de la naturaleza endotelial de las células (247), refuerzan la hipótesis del origen endotelial de las células de esta neoplasia. Nuestros hallazgos coinciden con el estudio inmunocitoquímico de 37 casos de sarcoma de Kaposi publi-

cados recientemente por Nadji y col (232) y con la publicación de hallazgos similares descritos por Guarda y col (139).

Es importante señalar que el sarcoma de Kaposi, también se ha relacionado con fenómenos inmunológicos. La asociación de este tumor con trasplante de riñón e inmunosupresión, ha sido descrita previamente y se ha pensado que estos factores dependen de la activación de virus oncógenos latentes (150, 258, 322). Ya hemos señalado que la naturaleza de los componentes celulares en el Sarcoma de Kaposi con el microscopio electrónico (134, 149, 151, 244, 267, 338), ofrecen resultados que con frecuencia se contradicen. Se ha considerado que una deficiencia del sistema inmune puede provocar el desarrollo del sarcoma de Kaposi y se ha planteado que un injerto renal homólogo iniciaría la activación de virus oncógeno latentes en presencia de inmunosupresión (150). Cultivos de células tumorales de sarcoma de Kaposi han demostrado virus del grupo Herpes con antigenicidad para el virus de Epstein Barr (123). Ultraestructuralmente, Giraldo ha demostrado partículas virales de tipo Herpes en cultivos de células de sarcoma de Kaposi (123). La distribución e incidencia del sarcoma de Kaposi en Africa ha sugerido una similitud entre éste y el linfoma de Burkitt (325), en el cual se cree que virus oncógenos de tipo Herpes-Epstein Barr (EB), pueden estar implicados en su etiología (153). Se ha descrito una elevación en el título de EB y Citomegalovirus (CMV) en pacientes transplantados que desarrollaron sarcoma de Kaposi (150). Estudios más recientes de Giraldo y col (125, 126), han demostrado que la asociación antigénica del sarcoma de Kaposi es más directa con el CMV que con el virus EB. Todos estos datos señalan la importancia que tiene la investigación sobre virus oncógenos en tumores y en general, en los sarcomas de partes blandas y apuntan hacia la necesidad de un enfoque multidisciplinario para el estudio de estos problemas.

Tumores Mixoides. Existen una serie de tumores cuyas células producen un exceso de proteoglicanos y cuyos vasos parecen nadar en un lago de ácido hialunórico. ¿Cuál es la célula que produce estos tumores?. Es una pregunta cuya respuesta ha inquietado a los patólogos desde hace muchísimos años.

La Célula Mixoide. Stout (332) en el año 1948 describió un tumor mesenquimático de células muy inmaduras similares a las del tejido conectivo observado en los embriones y decidió llamarlo "mixoma". Desde 1965, Enzinger (80) propuso que las células del mixoma eran fibroblastos con una capacidad desconocida para producir un exceso de mucopolisacáridos y con dificultad para ensamblar colágeno maduro. La importancia de reconocer las células de los mixomas como entidades funcionales y morfológicas específicas, tienen gran valor si se piensa que con frecuencia

se producen cambios mixomatosos en los tumores mesenquimáticos de partes blandas y de hueso. Recientemente se ha examinado la histología y ultraestructura de las células de los mixomas y de los liposarcomas mixoides destacándose las diferencias clínicas y morfológicas de estos tumores⁽⁸⁷⁾. El mixoma intramuscular ha sido considerado como una entidad específica tumoral, la cual apoya la teoría de Enzinger sobre el origen y la función de las células mixoides⁽⁸⁰⁾. Es frecuente observar mixomas en los huesos cráneo-faciales y cuando ésto ocurre, las células de estos tumores parecen tener una mayor agresividad y existe en la masa tumoral una tendencia a recidivar. Este tumor cuando se encuentra en los huesos de la cara se ha denominado mixoma odontogénico pues se cree que se origina de la porción mesodérmica del germen dental⁽³⁷⁰⁾. La histogénesis poco precisa de estos tumores ha sido revisada por Fu y Perzin⁽¹⁰⁹⁾, quienes destacaron la importancia del diagnóstico diferencial. Hodson y Prout⁽¹⁵⁵⁾ habían examinado la histoquímica de los mixomas demostrando el alto contenido en ácido hialurónico y escaso condroitin sulfato.

Cuando se examinan con el microscopio electrónico las células de los mixomas, éstas son similares a los fibroblastos. Sin embargo la presencia de finos filamentos en el citoplasma y otros detalles ya señalados por Feldman⁽⁸⁷⁾, hacen que se pueda diferenciar una célula de mixoma de un fibroblasto. White y col⁽³⁷⁰⁾ demostraron dentro de las cisternas de retículo endoplasmático rugoso de las células de los mixomas, la presencia de un material granular y de fibras colágenas y ésto llevó a proponer que existía una alteración en la secreción de colágeno por estas células. Sin embargo, se sabe que las células segregan abundantes mucopolisacáridos^(243, 368), a pesar de que su actividad enzimática es relativamente baja si se compara con la de otras células de tumores odontogénicos o de fibroblastos⁽²⁴³⁾. Nosotros hemos tenido la oportunidad de examinar con el microscopio electrónico algunos mixomas y de comparar sus células con las áreas de degeneración mixoide en tumores mesenquimáticos.

Condrosarcoma Mixoides y Cordomas. Las diferencias entre liposarcoma mixoide y condrosarcoma mixoide pueden ser destacadas por el microscopio electrónico al señalar la ausencia de diferenciación lipoblástica en el condrosarcoma cuyas células en forma de escalopa, parecen flotar en un halo producido por la laguna de proteoglicanos que rodea las células⁽³⁶⁴⁾. El retículo endoplasmático rugoso de los condrocitos está muy desarrollado y la presencia de cortos filamentos de actina, complementan la ultraestructura de esta célula⁽³⁶⁴⁾. La ultraestructura de las células de los liposarcomas mixoides será discutida al examinar los hallazgos en los lipocitos de diversos tipos de liposarcomas.

Conviene recordar que la degeneración mixoide se puede observar en muchos tumores mesenquimáticos, como puede ser en la variante mixoide del histiocitoma fibroso (202), o en una simple degeneración mixoide en un leiomioma (116). El cordoma es un tumor cuyo origen es epitelial, sus células tienen verdaderos desmosomas y entre ellas se observa una matriz de proteoglicanos que produce la apariencia condroide tan característica de este tumor (254). Estas diferencias lo hacen inconfundible a nivel del microscopio electrónico y es importante esta apariencia peculiar para diferenciarlo del condrosarcoma mixoide (280) cuyas células ya describimos previamente

La Célula Adiposa y los Liposarcomas. Los tumores benignos de partes blandas más frecuentes son los lipomas y la contrapartida maligna de ellos son los liposarcomas (78), los cuales representan el 15% de todos los tumores de partes blandas (317). Existen algunas publicaciones sobre la ultraestructura del tejido adiposo normal (262, 263, 264) y patológico (103, 178, 319), y recientemente se han descrito algunos estudios con el microscopio electrónico de transmisión que aportan nuevos conocimientos sobre la estructura del tejido adiposo neoplásico (29, 135, 140, 285). Sin embargo, todavía se sabe poco sobre la morfología y el funcionamiento del tejido adiposo tumoral. En nuestro laboratorio, se han estudiado las características ultraestructurales de 16 tumores de tejido adiposo, benignos y malignos, en diferentes etapas de diferenciación.

Siempre que se examinó el tejido adiposo tumoral con el microscopio electrónico llama la atención el parecido entre los fibroblastos y los lipoblastos o fibroblastos preadiposos. Esto ha sido señalado por Fu y col (111); sin embargo, no todos los fibroblastos que acumulan lípidos son neoplásicos, de modo que la célula precursora del tejido adiposo no es un simple fibroblasto. Los trabajos de Napolitano han examinado en detalle la ultraestructura de las células adiposas y establecen criterios morfológicos que diferencian al tejido adiposo blanco del tejido adiposo pardo (262, 263). La organización ultraestructural de los lipomas es parecida a la del tejido adiposo blanco (81, 191). En la lipoblastomatosis benigna se han descrito bandas delgadas de tejido fibroso que lobulan de manera completa o incompleta las células neoplásicas (53, 56, 135). Este detalle ayuda a diferenciar histológicamente esta entidad de otros procesos neoplásicos del tejido adiposo. Se han demostrado diversas células en lipoblastomatosis benigna (53, 56, 135), y en un caso de lipoblastomatosis estudiado en nuestro laboratorio (ME 914) se vieron células de apariencia fibroblástica y adipocitos maduros; también observamos capilares con endotelio no fenestrado en los cuales —la lámina basal en ocasiones formaba varias hileras concéntricas rodeadas por células de apariencia pericítica, las cuales a su vez estaban limitadas por una lámina basal. Hallazgos similares han sido descritos

recientemente por Bolen y Thorning (42), en un estudio comparativo entre los liposarcomas mixoides y un caso de lipoblastomatosis benigna. Es importante destacar esta relación entre los vasos sanguíneos y el tejido adiposo en los lóbulos tumorales, ya que los tumores del tejido adiposo se caracterizan por poseer una red vascular muy conspicua, la cual ha sido implicada directamente en los fenómenos de crecimiento y diferenciación tumoral (29, 147). En los hibernomas, también se ha descrito una red vascular muy característica (9), pero a diferencia de lo observado en la lipoblastomatosis, los hibernomas no muestran pleomorfismo celular y los adipocitos tienen el aspecto característico de la grasa parda, con mitocondrias grandes de matriz electrón densa (142, 203, 319).

La presencia de lámina basal en algunas células en un caso de lipoblastomatosis examinado en nuestro laboratorio, contradice los resultados de algunos trabajos recientes sobre la ultraestructura de la lipoblastomatosis (53, 135), pero coincide con lo descrito por Bolen y Thorning (42). Es importante señalar que normalmente la lámina basal se observa en las células adiposas de la grasa blanca (263), pero élla no se ha descrito en las células de algunos tumores que se derivan de este tipo de grasa (103, 178, 314, 369). Sin embargo, la lámina basal se ha demostrado en los liposarcomas bien diferenciados y en algunos liposarcomas mixoides (29, 42, 190, 369) y ésto coincide con lo observado por nosotros en los liposarcomas bien diferenciados y en algunos liposarcomas mixoides en los cuales observamos la presencia de lámina basal. Una de las primeras manifestaciones de diferenciación del tejido adiposo, observada en las células mesenquimáticas de apariencia fibroblástica, es el desarrollo de la lámina basal (42, 263). Esta estructura parece desaparecer a medida que los tumores del tejido adiposo se hacen más indiferenciados.

Las características ultraestructurales de las células en los lipomas de células fusiformes (8, 81, 191), y en los liposarcomas (103, 178, 190) son parecidas a las de los fibroblastos; se ven también adipocitos estrellados o multivacuolados, por lo que el diagnóstico diferencial entre la lipoblastomatosis (56, 135) los lipomas de células fusiformes (146, 314) y los liposarcomas bien diferenciados (42, 84, 190) debe apoyarse fundamentalmente en la morfología a nivel del microscopio de luz. Es también el estudio histológico, el que debe aportar los criterios de benignidad y malignidad en los liposarcomas bien diferenciados (147). Los estudios ultraestructurales de la lipoblastomatosis (53, 56, 135), han servido para enfatizar el hecho de que este tipo de neoplasia se origina del tejido adiposo blanco y no de la grasa parda.

No existen muchas publicaciones que hayan examinado la ultraestructura de los liposarcomas bien diferenciados (133, 190). Nuestros hallazgos

coinciden con los de Kindblom y Save-Soderbergh (190), quienes demuestran en estos tumores la presencia de áreas con características ultraestructurales parecidas a los lipomas en las cuales las células son similares al estado univacuolar del desarrollo normal de las células adiposas (263). Algunas células de los liposarcomas bien diferenciados presentan mitocondrias densas parecidas a las observadas en las células de los hibernomas (142, 203, 319); hallazgos similares se describen en el trabajo de Kindblom y Save-Soderbergh (143). Estas áreas parecidas a hibernomas, no parecen corresponder a tejido adiposo pardo incluido dentro de un liposarcoma, sino que constituyen parte integral de la neoplasia.

Los liposarcomas mixoides están constituidos por células estrelladas y fusiformes con límites citoplasmáticos mal definidos (29, 103, 140), con pequeñas gotas de grasa y ubicadas alrededor de una red de capilares y vasos sanguíneos. Recientemente Battifora y Nuñez-Alonso (29), señalaron que las células de los liposarcomas mixoides se derivan de células perivasculares las cuales con frecuencia tienen características similares a las observadas en los hemangiopericitomas. La importancia de la red vascular en el crecimiento del tejido adiposo normal y neoplásico, es muy evidente y parece ser un indicador del origen de las células en los liposarcomas mixoides (29), de manera similar a la que se produce en el desarrollo del tejido adiposo blanco (147). Sin embargo, Seemayer y col (319) sostienen que los liposarcomas mixoides pueden derivarse del tejido adiposo pardo. Es importante señalar que alrededor de las células de los liposarcomas mixoides, observamos una lámina basal muy evidente, la cual se extendía hacia el espacio extracelular, confundiendo con el material electrón denso de los mucopolisacáridos producidos por estas células. La lámina basal no ha sido descrita en la mayoría de los liposarcomas mixoides (29, 87, 103, 133, 178) o se encuentra reducida a focos de densidad variable adherido a la membrana plasmática produciendo áreas de condensación parecidas a la lámina basal. Los liposarcomas mixoides pueden confundirse con los mixomas intramusculares y la ultraestructura de estos dos tumores ha sido examinada en detalle (87), destacándose la similitud entre las células de los mixomas y los fibroblastos, a diferencia de las células de los liposarcomas mixoides, las cuales contienen gotas lipídicas y no muestran filamentos intracelulares.

Los liposarcomas pleomórficos han sido examinados con el microscopio electrónico en algunas publicaciones (71, 84, 178, 190, 191). Sus células han sido comparadas recientemente con las del fibrohistiocitoma maligno y del rhabdomyosarcoma pleomórfico (285). Las dificultades para diferenciar el liposarcoma pleomórfico del fibrohistiocitoma maligno, han sido previamente señaladas (71, 133, 285, 339). La aplicación del microscopio electrónico al diagnóstico de estos tumores, ha sido descrita en de-

talle por Reddick y col (285) y más recientemente por Van Haelst (359). Vale la pena señalar la presencia de abundante retículo endoplasmático granular y de finos filamentos, así como la ausencia de lámina basal en los liposarcomas pleomórficos, ya que estas características diferencian sus células del rhabdomioma pleomórfico (241, 285). La presencia de uniones intercelulares tipo mácula adherente en los liposarcomas pleomórficos, ha sido discutida recientemente por Gould y col (133), ya que este hallazgo puede ocasionar confusiones en el diagnóstico diferencial.

La importancia del estudio ultraestructural en las neoplasias de origen adiposo, reside en la ayuda que pueda aportar el microscopio electrónico en el diagnóstico de aquellos tumores malignos pleomórficos en los cuales se plantea el diagnóstico de liposarcoma. El estudio con el microscopio electrónico puede tener importancia para el tratamiento quimioterapéutico y determinar el pronóstico del caso, particularmente, si se demuestra que el tumor es un rhabdomioma pleomórfico. La aplicación de nuevas técnicas como la microscopía de barrido (118), la inmunocitoquímica y otras que enfoquen la investigación hacia el estudio de la relación entre las células tumorales, los vasos sanguíneos y la sustancia fundamental del medio extracelular, deben proporcionar en el futuro más conocimientos sobre los fenómenos de diferenciación celular que inducen a las células mesenquimáticas primitivas o a los llamados fibroblastos preadiposos, a transformarse en adipocitos neoplásicos.

Tumores Epitelioides. Existen algunos tumores con células que se disponen en nidos. Alvéolos, cordones, cestas, difusamente infiltrando los tejidos pero los cuales se caracterizan por la apariencia poligonal u ovoide de sus células. Una de estas neoplasias es el melanoma, considerado como el gran simulador por la variedad de aspectos morfológicos que puede presentar a nivel del microscopio de luz. Ya se han comentado brevemente algunas de sus características al discutir el llamado "patrón alveolar". Uno de estos tumores epitelioides de difícil diagnóstico, es el sarcoma sinovial, el cual revisaremos brevemente a nivel ultraestructural.

La Célula del Sarcoma Sinovial. Estas células parecidas a los fibroblastos, se organizan histológicamente con un arreglo bifásico en el cual el componente fusocelular se encuentra separado por cordones de células cilíndricas de apariencia epitelial (302). Cuando el sarcoma sinovial presenta una organización monofásica, habitualmente se producen dificultades diagnósticas por la similitud del arreglo fusocelular con lo observado en otros tumores mesenquimáticos (85, 112). Todavía no se ha podido precisar cuál es la verdadera histogénesis de estas células fusiformes. La ultraestructura del sarcoma sinovial demuestra células con desmosomas que unen las células y limitan hendiduras o espacios revestidos por vellosidades

y que muestran una lámina basal en su unión con el tejido conjuntivo subyacente (112, 341). Si se considera al sarcoma sinovial monofásico como una entidad verdadera (85, 234, 295), la histogénesis debería clarificarse en base a las observaciones ultraestructurales, sin embargo, el microscopio electrónico no siempre logra dilucidar esta situación (359). Las áreas fusocelulares en los tumores monofásicos, son similares a las áreas de células fusiformes de los sarcomas sinoviales bifásico. La ultraestructura de estas células es similar y comparable con los hallazgos ultraestructurales descritos en la sinovia humana (25). La presencia de estos tumores en los tejidos blandos cercanos a las articulaciones, tendones y bolsas sinoviales es un hecho; no obstante, no es una contradicción si el diagnóstico de sarcoma sinovial se hace en tumores bifásicos o monofásicos en localizaciones alejadas de las superficies sinoviales como es el cuello, la espalda, la pared abdominal, la región maxilofacial, etc. (85, 156, 270), Mackenzie (216), ha discutido el diagnóstico de sarcoma sinovial monofásico y señala que se requiere histológicamente la presencia de los dos componentes, aunque sea en un grado mínimo para poder hacer este diagnóstico. Utilizando estos criterios señalados por Cadman y col (48) en 1965 y posteriormente por Mackenzie (216), se ha propuesto la denominación de "Sarcoma de partes blandas de histogénesis indeterminada" para ciertos tumores con una apariencia similar al sarcoma sinovial monofásico, pero en los cuales el microscopio electrónico no puede demostrar los criterios morfológicos necesarios para hacer el diagnóstico (67, 130). Se han descrito las características ultraestructurales del sarcoma sinovial poco diferenciado (96, 275) las cuales coinciden con varios casos examinados en este trabajo (ME 667, ME 1579, ME 1649), y con lo descrito por Taxy y Battifora en 1980 (341), cuando destacan el hecho de que, a pesar de las escasas evidencias ultraestructurales que pueden darse por lo poco diferenciado del tumor, el sarcoma sinovial monofásico es una entidad real y el microscopio electrónico puede ayudar al diagnóstico en un gran número de casos. Los detalles sobre la ultraestructura se pueden examinar en el trabajo reciente de Krall y col (194), quienes estudiaron 26 casos con el microscopio electrónico.

B. Tumores malignos de células redondas

La importancia del estudio con el microscopio electrónico de transmisión en el diagnóstico diferencial de los tumores malignos de células redondas, ha sido señalada reiteradamente (43, 214, 287, 292). La necesidad de precisar el diagnóstico en estas neoplasias es de gran trascendencia para el pronóstico y tratamiento de los pacientes, permitiendo al clínico aplicar el tratamiento adecuado en cada caso (30, 224, 237, 299, 359). Los tumores malignos de células redondas se ven frecuentemente en niños y con frecuencia el patólogo se ve obligado a hacer el diagnóstico de "Tumor ma-

ligno de células redondas" o "Tumor maligno indiferenciado". Hemos tenido la oportunidad de examinar varios tumores de la orofaringe en niños (ME 283 y ME 429), en los cuales el diagnóstico de carcinoma nasofaríngeo se hizo en una ocasión gracias al estudio ultraestructural de unos pequeños fragmentos diagnosticados histológicamente como "Tumor maligno indiferenciado", en otros casos, cuando se cuestionaba un tumor linfoepitelial, el microscopio electrónico demostró que la lesión correspondía a un linfoma indiferenciado. En el diagnóstico diferencial de estas lesiones, el esterioneuroblastoma se puede identificar gracias a sus procesos celulares y a los gránulos de neurosecreción (273); en estos casos, estructuras como neurofilamentos, gránulos de neurosecreción y medios de unión rudimentarios, sinapsis, así como prolongaciones axónicas, identifican las células de los neuroblastomas (213) y las diferencia de los linfomas, del tumor de Ewing, de los rdbomiosarcomas, etc.

Dentro de los tumores malignos de la infancia, se pueden incluir entre las neoplasias de células redondas a los linfomas no-Hodgkin, las leucemias agudas, el neuroblastoma, el rdbomiosarcoma, el sarcoma de Ewing, el tumor de Wilms y el sarcoma osteogénico (105, 157, 183, 241). En el adulto, hay que considerar además de los linfomas no-Hodgkin y las leucemias, los carcinomas indiferenciados, algunas neoplasias endocrinas, el plasmocitoma y el mieloma múltiple (22, 32, 44, 97, 207, 220, 287, 272). Resultados del estudio de algunos tumores malignos de células redondas, han sido recientemente publicados (14).

Linfomas No-Hodgkin. Los linfomas No-Hodgkin, principalmente los extraganglionares de células pequeñas, pueden presentar dificultades para el diagnóstico diferencial con otras neoplasias de células redondas; igualmente los carcinomas indiferenciados metastásicos en ganglios linfáticos, pueden confundirse con los linfomas denominados "Histiocíticos" (43, 214, 292). Con el microscopio electrónico, el diagnóstico diferencial de los linfomas no-Hodgkin se establece por la ausencia de las estructuras que caracterizan a las células de otras neoplasias de células redondas como son los rdbomioblastos, los neuroblastos, las células epiteliales, etc. El hallazgo ultraestructural de núcleos de forma variada con hendiduras, redondeadas o irregulares y citoplasma con abundantes polirribosomas en ausencia de medios de unión intercelular o de filamentos citoplasmáticos, conducen a corroborar el diagnóstico de linfoma indiferenciado (152, 306).

Los linfomas llamados "histiocíticos" se caracterizan por poseer células grandes con núcleos vesiculosos hendidos y no hendidos, con nucléolos prominentes (221). Las características ultraestructurales han sido descritas previamente (157, 219). Sin embargo, el empleo de técnicas inmu-

nológicas ha demostrado que este tipo de linfoma es funcionalmente heterogéneo y que la mayoría de ellos corresponden a linfocitos B transformados o a células sin características inmunológicas definidas (152, 221, 298, 309). El linfoma linfoblástico es considerado en la actualidad una entidad clínico-patológica definida, con localización predominante mediastínica (266). A pesar de que el estudio ultraestructural de los linfomas es importante, sobre todo para confirmar o excluir su diagnóstico, en la actualidad éste debe complementarse con otras técnicas como son estudios citoquímicos e inmunológicos, tanto en suspensiones celulares como en cortes por congelación (inmunofluorescencia), o en tejido fijado en formol o en Zenker (inmunoperoxidasa) (221, 313). El microscopio electrónico puede ayudar a diferenciar entre linfoma, infiltración leucémica mieloide y un cloroma, o puede facilitar la identificación de las células peludas en la tricoleucemia (179), o la corroboración del núcleo cerebriforme en el infiltrado mononuclear de una Micosis Fungoides o en el Síndrome de Sezary (212, 297). Finalmente, la observación de los gránulos de Langhershans en las células de la Histiocitosis X son detalles solamente evidenciables con el microscopio electrónico (163). Estas estructuras han sido halladas siempre por el grupo de investigadores del Hospital MD Anderson (214) en casos de Histiocitosis X. Se ha demostrado la presencia de histiocitos conteniendo gránulos de Langerhans en otras neoplasias por el contrario, en la histiocitosis maligna no se observan los gránulos de Langerhans (214). Esta observación en la histiocitosis maligna ha sido confirmada por otros investigadores (162).

Plasmocitomas. Los tumores de células plasmáticas poco diferenciados, en su forma sistémica (mieloma múltiple) o localizada (plasmocitoma), también deben incluirse en el diagnóstico diferencial de los tumores de células redondas. No parecen existir diferencias morfológicas, histológicamente ni ultraestructurales, entre los mielomas secretores de inmunoglobulinas y los "no secretores" (22). La ultraestructura de la célula del mieloma múltiple ha sido examinada en detalle y se han clasificado las distintas configuraciones del retículo endoplásmico que presentan estas células en seis variedades (220). En algunos de los plasmocitomas examinados en nuestro laboratorio, las células se organizaban con una imagen histológica característica de las neoplasias de células plasmáticas, pero otros casos, fueron histológicamente confundidos con otros tumores. En un caso se hizo el diagnóstico de linfoma vs leiomiomasarcoma vs melanoma (ME 92) y probablemente el diagnóstico de leiomiomasarcoma se debió a la infiltración de la capa muscular del intestino por células tumorales, lo que producía una imagen de células fusiformes alternando con células redondas. Otro caso fué considerado como un melanoma metastásico, posiblemente por los nucléolos prominentes que presentaban las células

(ME 303). La ultraestructura estableció el diagnóstico definitivo en todos los casos de plasmocitomas que hemos estudiado.

Neuroblastoma. El neuroblastoma⁽¹³⁸⁾ es un tumor maligno que afecta principalmente a infantes y cuya localización más frecuente es la médula adrenal, el retroperitoneo y ocasionalmente el mediastino posterior. También se han descrito casos en adultos y en localizaciones periféricas, como son, cabeza, cuello y extremidades inferiores⁽²¹³⁾. Cuando histológicamente no se ven las rosetas clásicas, los neuroblastomas pueden confundirse con los carcinomas indiferenciados y los linfomas en los adultos, y con linfomas y leucemias en los niños y adolescentes⁽²⁷³⁾. El hallazgo ultraestructural de prolongaciones celulares dendríticas con gránulos neurosecretorios y/o microtúbulos, así como desmosomas entre las células, son muy características del neuroblastoma^(213, 239, 261).

Rabdomiosarcoma. Ya discutimos inicialmente algunos aspectos morfológicos sobre el rabdomioblasto. La importancia del rabdomiosarcoma embrionario y alveolar estriba en que éste constituye el tumor de tejidos blandos más frecuente en pacientes menores de 10 años^(79, 224). Ambas variedades pueden tener áreas sólidas de células redondas y en estos casos, el diagnóstico diferencial con otras neoplasias de células redondas puede ser difícil^(131, 329). La presencia de estriaciones transversales en las células tumorales hace incuestionable el diagnóstico histológico de rabdomiosarcoma; sin embargo, frecuentemente éstas no se identifican. El hallazgo ultraestructural de miofilamentos en distintos grados de organización, es característico de los rabdomiosarcomas^(58, 160, 241). De acuerdo con Morales y colaboradores⁽²⁴¹⁾, los filamentos citoplasmáticos de los rabdomioblastos deben estar formados por dos poblaciones definidas de miofilamentos, gruesos y delgados, organizados en forma alternante. Ya comentamos como la miosina de los rabdomioblastos ha sido utilizada para caracterizar bioquímicamente a los rabdomiosarcomas indiferenciados⁽¹⁵⁴⁾ y como recientemente esto se ha logrado también utilizando la inmunocitoquímica^(246, 248).

Tumor de Wilms. El tumor de Wilms tiene una imagen histológica bastante característica⁽³²⁾, sin embargo, las estructuras tubulares y glomerulares primitivas pueden no ser evidentes en los cortes histológicos o puede ser que el tumor provenga de una metástasis en la cual estas estructuras no estén presentes. Las características ultraestructurales del tumor de Wilms, con abundantes células primitivas con uniones tipo "zonula-adherens", y desmosomas que permiten identificar sus células como elementos epiteliales, han sido previamente descritas^(24, 167, 199, 353).

Sarcoma de Ewing. El sarcoma de Ewing es una neoplasia de células redondas en la mayoría de los casos primaria del hueso, y la cual afecta

principalmente a niños y adultos jóvenes (164, 300). No se sabe cual es la célula que da origen a este tumor, pero se cree que probablemente este es un tumor mesenquimático muy indiferenciado (177, 217). Una de las características histológicas del tumor de Ewing es la presencia de glucógeno intracelular, sin embargo, éste se ha descrito en rhabdiosarcomas (241) y recientemente también en los neuroblastomas (194, 355). Por otra parte, se han identificado sarcomas de Ewing extraesqueléticos, los cuales pueden confundirse con otros sarcomas de células redondas (106, 122, 219, 331, 372). En el tumor de Ewing óseo, además de la variedad típica, se ha descrito una forma atípica (200, 264), en la cual las células son mayores, más pleomórficas y con nucléolos más evidentes; estos casos pueden ser confundidos con linfomas de células grandes o con osteosarcomas de células pequeñas (163, 373) y menos frecuentemente, con carcinomas metastásicos (327). Ultraestructuralmente, el sarcoma de Ewing muestra dos tipos de células: células "primarias" de apariencia clara y "secundarias" más electrodensas, así como formas "intermedias" (105, 161, 177, 217, 283, 290). Se ha sugerido que las células "secundarias" probablemente representan cambios regresivos de las células "primarias" (217). El examen con el microscopio electrónico ha sido definitivo para hacer el diagnóstico de estos tumores.

Condrosarcoma Mesenquimático. Este es un tumor óseo que cada vez se diagnostica más en los tejidos blandos. Sus células son pequeñas, redondeadas, anaplásicas, hipercromáticas y entre ellas se ven islas de cartilago; pero histológicamente se pueden ver áreas de células redondas y si no se observan las islas cartilaginosas, el diagnóstico diferencial es difícil. La ultraestructura ayuda al diagnóstico indicando la naturaleza cartilaginosa de las células, con abundante retículo rugoso, glicógeno y un halo de proteoglicanos que rodea la membrana celular con aspecto de escalopa (280). El parecido de estas células indiferenciadas y las del sarcoma de Ewing, es muy notorio lo cual ha sugerido un origen común para ambos tumores (110).

Tumor Carcinoide. Se puede utilizar el microscopio electrónico para diferenciar un carcinoma indiferenciado de un carcinoide. El hallazgo ultraestructural de gránulos electrodensos que miden entre 250 y 330 nm, con un halo electrón lúcido, es importante para hacer el diagnóstico de tumor carcinoide. Esta es una neoplasia originada en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal, productora de 5 hidroxitriptamina (5HT) y a veces de otras sustancias (histamina, bradikina etc.). Sus células poseen gránulos endosecretorios y el tumor puede asociarse al síndrome carcinoide generalmente cuando hay metástasis hepáticas (37, 328). Los gránulos de los carcinoides pueden tener diferentes formas y tamaños, según se localicen en órganos derivados del intestino anterior, medio o

posterior (36). Los tumores carcinoides originados en órganos provenientes del intestino anterior o posterior, tienen gránulos redondeados y los originados del intestino medio, gránulos pleomórficos (36, 37). Debe reservarse el término de tumor carcinóide para aquellos tumores productores de 5HT o su precursor 5-hidroxitriptofano (5HTP) (37). A pesar de que la microscopía electrónica es útil para la investigación de la forma y el tamaño de los gránulos endosecretores, son necesarios estudios clínicos, bioquímicos e inmunocitoquímicos para la identificación precisa del tumor carcinóide. Otros aspectos del tumor carcinóide serán examinados al describir los tumores de naturaleza endocrina.

Carcinomas Indiferenciados. Los carcinomas indiferenciados pueden plantear problemas diagnósticos con otros tumores de células redondas; el estudio con el microscopio electrónico identifica a los carcinomas por la presencia de desmosomas y abundantes tonofilamentos (43, 207, 292). La presencia de abundantes linfocitos y la apariencia anfófila de algunas células, puede sugerir un carcinoma nasofaríngeo (207).

Meduloblastoma. Cuando se examinan los tumores del SNC y en particular los tumores de la fosa posterior, se puede plantear el diagnóstico diferencial entre meduloblastoma y linfoma. En estos casos, una impronta del tumor puede ayudar a hacer el diagnóstico; si se estudia el caso con el microscopio electrónico en los meduloblastomas, se pueden ver uniones intercelulares tipo "zonula adherens" y prolongaciones citoplasmáticas, algunas con microtúbulos (176, 306, 350), lo que ayuda a diferenciar sus células de la de un linfoma primario del sistema nervioso (298).

Timomas. Frecuentemente se encuentran tumores de células redondas en el mediastino y el diagnóstico diferencial de estas neoplasias debe hacerse entre los timomas, linfomas, tumor carcinóide del timo y germinomas. En los timomas el microscopio electrónico revelará la presencia de tonofilamentos y de desmosomas (204). En ocasiones un timoma fusocelular puede confundirse con un leiomioma o con un carcinóide y este diagnóstico se aclara fácilmente con el microscopio electrónico (205). Sobre este particular, hemos revisado en nuestro material numerosos tumores epiteliales y varios timomas y de la experiencia con estos casos podemos comentar sobre el valor del microscopio electrónico para el diagnóstico en este tipo de neoplasia. Algunos de estos casos han sido estudiados por la Dra. Edy Marcano y enviados recientemente a publicación. En algunos casos en los cuales se plantó el diagnóstico de timoma, el estudio ultraestructural demostró tumores de otras histogénesis como fibrosarcoma (ME 370), linfoma histiocítico poco diferenciado (ME 96) y hemangiopericitoma (ME 649). Estos ejemplos y otros de nuestros casos proporcionan una idea de la utilidad que el estudio con el microscopio electrónico puede tener en el caso de tumores del mediastino.

C. Tumores Endocrinos

El uso del microscopio electrónico en el diagnóstico de tumores de naturaleza endocrina, permite detectar ciertas características ultraestructurales como organelos o gránulos que revelan el origen endocrino de las células tumorales. Un ejemplo de esta situación lo constituyen los tumores de los islotes pancreáticos, los cuales se detectan muchas veces a través de sus metastásis y en los cuales el microscopio electrónico puede señalar el tipo celular por las características de sus gránulos (136). Los gránulos de las células "A" muestran una densidad electrónica central o excéntrica separada por un halo claro a diferencia de las células "B" que muestran gránulos densos, angulares, con cristales centrales y con una amplia separación de la membrana que los rodea y las células "C" presentan gránulos muy variables en tamaño y en densidad con el centro electrón denso adosado a la membrana limitante. Las dificultades que se presentan para la identificación histoquímica de las células en el material de tumores procesados rutinariamente, se pueden obviar con el uso del microscopio electrónico. La identificación de gránulos densos de 100 a 200 nm de diámetro, generalmente rodeados por un halo claro en células de apariencia epitelial, les da un carácter muy típico que puede ayudar a identificar un tumor de células aviculares del pulmón, un carcinoide, un paraganglioma o un carcinoma medular del tiroides y puede ayudar a identificar el tumor y a no confundirlo con otro tumor indiferenciado de células poligonales o de células pequeñas. Estos detalles sobre las diferencias ultraestructurales del carcinoma de células aviculares pequeñas y el carcinoide pulmonar, ya han sido descritos (21, 34). En nuestro material hemos examinado varios carcinoides bronquiales y tumores de células aviculares del pulmón, constatando las diferencias señaladas. También examinamos un carcinoide del cólon diagnosticado como probable linfoma (ME 412). El microscopio electrónico puede servir para caracterizar la naturaleza endocrina de las metastásis de un carcinoide de intestino o un tumor fusocelular del ovario que parezca histológicamente un tumor de células de la granulosa, como sucedió en dos de nuestros casos (ME 2 y ME 1919), en los cuales el diagnóstico de carcinoma indiferenciado del ovario se modificó por el de tumor carcinoide, después del estudio con el microscopio electrónico. Este tipo de hallazgo ha sido señalado previamente (291). Por el contrario, en el caso ME 873, el microscopio electrónico confirmó el diagnóstico de tumor de células de la granulosa, y se descartó con el estudio ultraestructural la posibilidad diagnóstica planteada de tumor carcinoide del ovario; las hendiduras nucleares y otras características epiteliales del tumor de células de las granulosas, han sido revisadas exhaustivamente por Ferenzy (93).

Las características de las mitocondrias de la corteza suprarrenal con sus crestas tubulares, identifican a las células especialmente de la zona

fasciculata, sobre todo, si se complementa este hallazgo con un retículo endoplasmático liso abundante y gotas lipídicas^(37, 337). Debe tenerse en cuenta la ayuda del microscopio electrónico en estos casos, sobre todo en las metástasis o cuando se piensa en un hipernefroma⁽³²⁾, o en un tumor de la médula suprarrenal, fácilmente diferenciable por sus características ultraestructurales⁽³⁷⁵⁾. En nuestro material tenemos 5 casos de feocromocitoma procesados (ME 262, ME 258, ME 653, ME 998 y ME 1200), los cuales están siendo preparados para una próxima publicación (D. Mota y J. García-Tamayo: resultados no publicados). Es posible identificar también el tipo de células de la corteza suprarrenal, glomerulosa, fasciculada o reticularis con el microscopio electrónico, señalándose una correlación entre la producción de esteroides o mineral cortioides y la ultraestructura tumoral⁽³⁸⁷⁾. La ultraestructura del llamado adenoma negro de la suprarrenal, también ha sido descrita⁽²³⁾ y en nuestro material hemos examinado con el microscopio electrónico dos adenomas de corteza suprarrenal (ME 846 y ME 1686) y un adenoma negro (ME 395). Hemos comparado la ultraestructura de un carcinoma de suprarrenal diagnosticado antes del examen con el microscopio electrónico como paraganglioma (ME 23) con un caso diagnosticado histológicamente como carcinoma de suprarrenal (ME 48) y el cual al ser estudiado con el microscopio electrónico demostró ser un tumor de células claras con las características descritas en los hipernefomas^(32, 33). Un año después de la biopsia, la paciente presentó varias metástasis óseas y el estudio con el microscopio electrónico apoyó el diagnóstico de carcinoma de células claras de riñón. Hemos examinado varios casos de carcinoma medular del tiroides (ME 1407, ME 258, ME 246 y ME 526), y de carcinoma folicular (ME 185). En la actualidad, el estudio comparativo entre la histopatología, ultraestructura e inmunohistoquímica para tiroglobulina, calcitonina y antígeno carcino-embriónico están siendo realizado en nuestro laboratorio (A. Avila Mayor, B. Rodríguez y J. García Tamaño: resultados no publicados). También hemos examinado casos de adenomas de paratiroides (ME 178 y ME 483) y de carcinomas de paratiroides (ME 443). En un caso con diagnóstico de quemodectoma del cuello, el microscopio electrónico reveló muchas mitocondrias en células con aspecto oncocítico; la mayoría de las células mostraban la apariencia denominada "water clear", por lo que pensamos que este tumor (ME 112) proviene de la paratiroides por la ausencia de los gránulos endosecretorios que identifican las células del quemodectoma. También observamos un caso más reciente en el cual el microscopio electrónico hizo el diagnóstico de paraganglioma retroperitoneal en un joven con un tumor recidivante que había sido diagnosticado como adenoma de la corteza suprarrenal. Recientemente se han revisado los paragangliomas retroperitoneales, entidad ésta que debe tenerse en cuenta y en cuyo diagnóstico el microscopio electrónico puede ayudar⁽²⁰¹⁾.

La ultraestructura de los tumores de la pituitaria también ha sido exhaustivamente estudiada. El microscopio electrónico puede ser de gran utilidad sobre todo, en neoplasias que penetran en el infundíbulo, como puede ser un adenoma hipofisario con aspecto histológico de túbulos que hagan pensar en un ependimoma, o infiltrando el esfenoides o la rinofaringe, con dificultades para diferenciar las células de un plasmocitoma; en ambos casos, el estudio ultraestructural rápidamente aclara estas dudas (43). El valor de la inmunocitoquímica y la comparación de sus hallazgos con el estudio ultraestructural y las determinaciones hormonales obtenidas por radioinmunoensayo, han abierto un nuevo campo para el estudio morfológico de la función hipofisaria (223), el cual permite una correlación bioquímica y clínica más precisa. Este tipo de trabajo ha sido publicado recientemente por González y colaboradores, con el material procesado en nuestro laboratorio y ellos han señalado las ventajas de la aplicación de estos métodos inmunoquímicos al estudio de los adenomas de la hipófisis (129).

D. Tumores Epiteliales

En el estudio de los tumores epiteliales las dificultades diagnósticas que se presentan con el microscopio de luz, casi siempre pueden resolverse con el microscopio electrónico. En los tumores de naturaleza epitelial, la gran ventaja del microscopio electrónico reside en que puede ofrecer cierta información sobre los medios de unión, filamentos y lámina basal en las células, no para establecer criterios de malignidad, pero sí para poder decir que el tumor posee características de células epiteliales. Es posible diferenciar un melanoma o un timoma o un carcinoma, de un linfoma histiocítico o de un sarcoma con apariencia epitelioide. Recientemente hemos comenzado a utilizar antikeratina con inmunoperoxidasa, la cual puede también ayudar a resolver problemas diagnósticos.

Debido al gran número de tumores epiteliales estudiados de diversa procedencia, tal vez pudiéramos decir que el valor del microscopio electrónico en el caso de tumores indiferenciados es el de proporcionar criterios diagnósticos por exclusión.

Es interesante comentar sobre la presencia de partículas con aspecto de nucleocápsidos compatibles con virus del grupo Herpes encontrados por nosotros en un coriocarcinoma a nivel del núcleo de las células trofoblásticas (ME 128). Este ha sido un hallazgo incidental que plantea el investigar con el microscopio electrónico la presencia de este tipo de estructuras virales en algunos tumores.

Desde hace algunas décadas se han hecho intentos para identificar partículas virales en los tumores de la mama y en la secreción láctea en

humanos (6, 100, 316). Un grupo de investigadores encontraron partículas del tipo "B" y "C" en la secreción láctea de pacientes con cáncer, pero también se observaron en la mama normal (317), en carcinomas y fibroadenomas mamarios y en ganglios linfáticos con metástasis de carcinoma de mama. Se ha propuesto que las partículas virales quizás estén relacionadas con una infección viral latente, pero no se ha podido establecer una correlación entre la presencia de partículas virales y el tipo histológico del tumor. Hemos observado partículas parecidas a virus en las luces intracitoplasmáticas de dos casos de carcinoma ductal de la mama examinados con el microscopio electrónico.

La infección de las células epiteliales del cuello uterino, vagina y vulva por virus del grupo Papova, ha sido descrita por nosotros desde el año 1973 y resultados de estos trabajos publicados en 1978 (115), coinciden con numerosas evidencias de que este virus puede estar involucrado en la génesis del carcinoma del cuello uterino (69). El papel de los virus oncógenos latentes en la aparición del sarcoma de Kaposi, ya ha sido señalado previamente (124, 125, 126).

Patología ultraestructural en ginecología

Los tumores del aparato genital femenino pueden clasificarse con ayuda del microscopio electrónico en carcinomas o sarcomas (93, 94, 95). Los carcinomas epidermoides se caracterizan por la presencia de tonofilamentos y desmosomas (93). Algunos estudios con el microscopio electrónico de barrido han señalado las características de las células exocervicales y las de la zona de transformación (91). Nosotros hemos examinado con el microscopio electrónico de barrido muestras de exocervix, vulva y vagina en casos de microcondilomatosis y comparado estos hallazgos con la ultraestructura demostrada por el microscopio electrónico de transmisión y la histología (107, 115). Los resultados de este estudio serán enviados a publicación próximamente (J. García Tamayo y F. Rincón Morales). Los adenocarcinomas del endocervix y del endometrio muestran microvellosidades, luces intracitoplasmáticas y gránulos de mucina en el citoplasma; la desorganización de los organelos, los filamentos perinucleares y el núcleo pleomórfico de las células del carcinoma endometrial, han sido descritas por Ferenczy (95) y comparadas con la apariencia de la superficie ciliada del endometrio normal o neoplásico, cuando se examina con el microscopio electrónico de barrido (92). Los cilios en el carcinoma del endometrio disminuyen en número cuando se comparan con los de la hiperplasia del endometrio. Por otra parte, la ultraestructura de los sarcomas endometriales (39) y en particular de los tumores mixtos Mullerianos del útero, ha sido exhaustivamente estudiada desde hace varios años (40). Los leiomiomas del útero (41, 90), son similares a los descritos al hablar del miocito.

El estudio con el microscopio electrónico de los tumores del ovario ha servido para detectar la presencia de gránulos densos en el citoplasma de las células del carcinoma seroso poco diferenciado, cuyas células muestran una apariencia similar a las de las células descritas en las trompas de Falopio normales y neoplásicas (94, 95). La similitud entre las células de los cistadenomas serosos y el epitelio del intestino fué descrita por Fenoglio y colaboradores en 1975 y 1976 (88, 89) y coincide con lo observado en algunos de nuestros casos examinados con el microscopio electrónico. Los tumores de células de la granulosa con sus características lobulaciones nucleares y la presencia de los cuerpos de Call-Exner, nos han permitido con el microscopio electrónico diferenciar este tumor de carcinomas indiferenciados o de carcinoides (95, 208). La presencia de gránulos con material electrón denso y la ausencia de indentaciones nucleares hacen el diagnóstico de tumor carcinoide (37). La ultraestructura de los gonadoblastomas y disgerminomas, ha sido descrita por Jensen y Kempson (164) y puede compararse con la publicación reciente de nuestros resultados sobre la ultraestructura de las disgerminomas cerebrales. Los cristales de Reinke en el tumor de células hiliares (233), o en los tumores de Sertoli Leyding (303), son estructuras citoplasmáticas que identifican las células de los tumores del ovario cuando éstas muestran una apariencia epitelioide (312). El estudio con el microscopio electrónico de los tumores del aparato genital femenino constituye un área de la Patología Ginecológica muy interesante y con frecuencia proporciona hallazgos de valor diagnóstico o de interés para comprender la actividad funcional de algunas neoplasias (92, 93, 94, 95).

Ultraestructura de algunas lesiones malignas y benignas de la mama

Cuando se quiere examinar la ultraestructura en las lesiones tumorales de la mama, es necesario procesar un gran número de muestras, ya que aún en un mismo espécimen de biopsia se pueden ver aspectos muy variados (19, 278). Por otra parte, la mama puede presentar histológicamente cambios displásicos aunque parezca macroscópicamente libre de enfermedad. Posiblemente esta es la razón por la cual antes de los trabajos de Ozello (278), existían pocos estudios ultraestructurales sobre lesiones tumorales de la mama (51, 127, 250, 253). Trabajos posteriores han agregado nuevos detalles sobre el conocimiento ultraestructural de estas lesiones y han complementado las observaciones histológicas ayudando a la diferenciación de lesiones benignas y malignas (6, 83, 100, 132, 172, 255, 256, 257).

Es un hecho conocido que el pronóstico y la frecuencia de metástasis en el carcinoma ductal infiltrante varía de acuerdo al tipo histológico (144, 257, 294). El carcinoma ductal infiltrante tipo escirro tiene peor pronóstico y presenta un mayor índice de metástasis (249), sin embargo en nuestro

material solo hemos observado un caso de esta variedad, siendo más frecuente el carcinoma ductal infiltrante tipo común (NOS) (100). El estudio ultraestructural en nuestros casos de carcinoma ductal infiltrante tipo adenoideo quístico y tipo sólido, mostraron hallazgos similares a los encontrados en el tipo común. La variabilidad en el número y tamaño de las organelas citoplasmáticas en las células tumorales (5, 19, 102, 278), puede deberse a cambios de actividad metabólica del epitelio ductal. La presencia de luces intracitoplasmáticas en los casos de carcinoma mamario es un hecho conocido desde hace muchos años (27, 51); se han descrito ocasionalmente en el epitelio ductal hiperplásico y parecen ser más frecuentes en el cáncer invasivo de la mama (19, 100). La demostración de estas estructuras por microscopía de luz en secciones finas de 3 a 4 micras, puede ser de ayuda diagnóstica en algunos casos de carcinoma metastásico de mama (27). La membrana basal de los ductos y lóbulos del carcinoma ductal infiltrante visualizada por coloraciones de hierro coloidal y PAS y no se ha observado en los carcinomas francamente infiltrantes (279). La relación entre las extensiones citoplasmáticas de las células tumorales y la presencia o ausencia de lámina basal no está clara (278). Estudios iniciales con el microscopio electrónico señalaron que la lámina basal estaba intacta en los carcinomas intraductales y ausente en los carcinomas ductales infiltrantes (51, 127). También se ha descrito material similar a la lámina basal, rodeando las células del carcinoma ductal infiltrante (249) y se infiere que cuando el carcinoma ductal se hace infiltrante, las células neoplásicas rompen la lámina basal (278). La ausencia de los medios de unión intercelular en los carcinomas mamarios, parece evidenciar la carencia de cohesividad en las células tumorales (5, 19, 100, 278), de manera que la pérdida de la inhibición del contacto en las células malignas, podría facilitar el proceso infiltrativo. La mayoría de las células tumorales de los carcinomas ductales muestran filamentos citoplasmáticos (5, 100), algunos de ellos comparables con los de las células epiteliales no neoplásicas, otros más gruesos como los descritos en la variedad tipo comedocarcinoma son similares a los de las células queratinizadas y han sido considerados como representantes de metaplasia escamosa (6). La presencia de filamentos paranucleares en el carcinoma ductal, originalmente sugirió que este tumor se originaba de las células mioepiteliales (5). Estas células habrán sido consideradas histológicamente como características de lesiones benignas de la mama (5, 100) y su hallazgo ocasional también se describe en lesiones malignas (3, 100, 253). Se ha señalado que el carcinoma escirroso está formado exclusivamente por células mioepiteliales (249). Sin embargo, también se ha considerado a las células mioepiteliales como elementos persistentes más que neoplásicos (4). En el material examinado por nosotros con el microscopio electrónico, encontramos un solo caso de carcinoma ductal infiltrante tipo escirroso y nos llamó la atención el hecho de que la incidencia de este tumor en otras series es mucho mayor (294, 301). Coin-

cidimos con la impresión de Fisher (100), quien señala que la denominación de carcinoma escirroso es un término antiguo que incluye muchos carcinomas del tipo común (N.O.S.). Los carcinomas de la mama contienen en ocasiones en las áreas periductales un material hialino homogéneo y eosinófilo considerado como elastosis (18, 211) y observado histológica y ultraestructuralmente en nuestros casos de carcinoma ductal infiltrante.

El carcinoma lobulillar de la mama, puede presentar dificultades diagnósticas (265, 346). La bilateralidad y el carácter infiltrativo de carcinoma lobulillar ha sido señalado (102) y se ha sugerido una conducta terapéutica más agresiva (294, 301, 346). El estudio ultraestructural corroboró el diagnóstico histológico en nuestros casos de carcinoma lobulillar infiltrante, con células de "fila india" infiltrando el estroma. Ultraestructuralmente, las células del carcinoma lobulillar infiltrante carecen de membrana basal (51, 346) y frecuentemente tienen un citoplasma pálido. En el carcinoma lobulillar in situ e infiltrante se han descrito filamentos citoplasmáticos similares a los de las células mioepiteliales (100), lo cual hizo que originalmente se pensara que este tumor se originaba de estas células (51). Admed (6) señaló que la asociación de los filamentos con desmosomas indicaba que ellos eran tonofilamentos y descartó la posibilidad de la naturaleza mioepitelial de estas células. Por otra parte, la abundancia de estos filamentos puede ser utilizada para diferenciar los carcinomas lobulillares de los carcinomas ductales.

El origen de las grandes células intraepidérmicas de citoplasma claro, características de la enfermedad de Paget, también es controversial (17, 100, 278, 308). No se ha podido establecer si ellas representan extensiones de los elementos neoplásicos de ductos subyacentes, o metástasis de carcinomas vecinos. La ultraestructura de las células de Paget y las células del carcinoma subyacente es similar. Ozello (278) encontró similitudes entre las células de Paget y las células de los ductos neoplásicos e hiperplásicos, pero también describió la presencia de melanosomas ocasionales, lo cual sugiere un origen intraepidérmico. El hallazgo de melanina en las células de Paget, no es específico, por que la melanina también se puede ver en células de la epidermis y en macrófagos dérmicos. Fisher (100) sugirió que las células de Paget representan extensiones neoplásicas de carcinomas mamarios subyacentes. Utilizando técnicas de inmunofluorescencia e inmunocitoquímicas, Bussolati y col (46, 47), demostraron la presencia de proteínas de la leche en las células epidérmicas del pezón en casos de enfermedad de Paget. No obstante, la ultraestructura de estas células no revela características que ayuden a resolver la controversia sobre su origen. Recientemente se ha señalado que el antígeno carcinoembrionario identificado por inmunoperoxidasa puede servir para identificar las células de Paget.

El Cistosarcoma Phillodes es una neoplasia poco común, la cual usualmente se origina de novo, pero puede observarse en un fibroadenoma y está constituida por un estroma muy celular y ductos tapizados por un epitelio normal (101, 184, 294). Las células estromales no están rodeadas por lámina basal, ni tienen micofilamentos. Aún cuando clásicamente no se han descrito uniones intercelulares en las células del Cistosarcoma Phillodes (6), nosotros observamos uniones tipo "macula adherens" entre sus células, similares a las que han sido descritas en células mesenquimáticas indiferenciadas (341, 359). Una de las lesiones más frecuentes de la mama en pacientes jóvenes es el fibroadenoma (173, 294, 301). Hay pocas publicaciones sobre la ultraestructura de los fibroadenomas (6, 15, 49, 250, 278). Murad y colaboradores (250), sugirieron que los fibroadenomas se originaban de los pericitos, pero otros investigadores han considerado que estas neoplasias se producen por un aumento de fibroblastos y de fibras colágenas (15, 49). Los elementos epiteliales son similares a los de la mama normal (100) y como en las displasias (173), en los fibroadenomas se pueden encontrar múltiples capas de lámina basal (49). La enfermedad fibroquística de la mama, es una lesión benigna que se caracteriza por varios estadios patológicos, se ve en la etapa reproductiva de la mujer y en su desarrollo se han incriminado las hormonas ováricas como un importante factor (252, 301). La enfermedad fibroquística se ha asociado con cáncer de la mama, particularmente en las formas hiperplásicas o proliferativas (100). Existen pocos estudios ultraestructurales de esta enfermedad (36, 100, 277). Hemos examinado tres casos con el microscopio electrónico. Ultraestructuralmente las células en la adenosis esclerosante y en la adenosis de los ductos terminales, son similares a las de los ductos normales. Estas características y el engrosamiento frecuente de la lámina basal, coinciden con observaciones previas (102, 173). En la adenosis esclerosante y en otras lesiones displásicas, se han observado defectos en la lámina basal, los cuales se han considerado importantes en el carácter premaligno de las lesiones; estos defectos no deben ser confundidos con los cortos segmentos de la lámina basal que ocasionalmente presentan las células de los carcinomas tubulares, tumor con el cual la adenosis esclerosante puede confundirse histológicamente (133, 172, 347). También se ha enfatizado el hecho de que en la adenosis esclerosante existen un gran número de células mioepiteliales (173). La implementación de nuevos métodos como la inmunohistoquímica utilizando marcadores anti-actina para identificar las células mioepiteliales, será un arma importante en el futuro inmediato, para el diagnóstico diferencial de las displasias mamarias con otros tumores (240).

Aspectos ultraestructurales de algunos tumores pulmonares

El diagnóstico de los tumores epiteliales del pulmón puede parecer sencillo si consideramos que se limita a separar las neoplasias en tres gran-

des grupos: carcinoma epidermoide, adenocarcinoma y carcinoma indiferenciado. Pero ha sido precisamente el estudio ultraestructural de estos tumores el que ha conducido al convencimiento de que la histogénesis de los tumores pulmonares parece tener un origen común y que con frecuencia se observan combinaciones de tipos y subtipos de tumores. Para entender la histogénesis de los tumores pulmonares, la Dra. Mc Dowell y su grupo, han estudiado la ultraestructura del epitelio respiratorio en humanos y animales (31, 226). La presencia de áreas glandulares en carcinomas epidermoides está corroborada por la ultraestructura y la histoquímica (229), igualmente se describen células con características histológicas y ultraestructurales de células basales en carcinomas epidermoides y grados variables de diferenciación con áreas de carcinoma epidermoide y de adenocarcinoma. También se ha demostrado que un alto porcentaje de los carcinomas de células pequeñas del pulmón muestran acinos pequeños con uniones estrechas y microvellosidades con una apariencia ultraestructural de células epiteliales glandulares poco diferenciadas (215, 225). Los estudios de Elizabeth Mc Dowell (226), también han señalado como la hiperplasia de células mucosas es una reacción temprana contra los agentes irritantes y como se produce la metaplasia escamosa (228). Estos cambios conducen a la transformación neoplásica del epitelio respiratorio (227).

El estudio de la clasificación de los tumores del pulmón de la Organización Mundial de la Salud (WHO), ha conducido a la Dra. Mc Dowell a una clasificación histogenética sobre bases histoquímicas y ultraestructurales (229, 230). Según estos estudios, la mayoría de los cánceres pulmonares se derivan de células mucosas, células basales, células endocrinas o de células de Clara. Los conceptos de carcinoma anaplásico de células pequeñas y de carcinoma de células grandes (WHO), han sido también aclarados y el carácter pluropotencial de las células neoplásicas parece dado por la variedad de fenotipos celulares que integran este tumor. Trabajos recientes de Churg y col (59) y de Leong y Canny (206), han demostrado con el microscopio electrónico que las células del carcinoma anaplásico de células pequeñas pueden mostrar gránulos de centro denso pero también diferenciación escamosa o glandular, corroborando lo demostrado y recientemente enfatizado por la Dra. Mc Dowell (230). En una revisión reciente de 620 carcinomas de células pequeñas del pulmón, se demostró que los tumores del tipo células de avena con aspecto de linfocitos, tienen mejor pronóstico que los de células poligonales con núcleo más grande; los fusiformes se consideraron como un grado histológico intermedio (68). Estos resultados son de interés porque relacionan el tipo histológico y grado de diferenciación con el pronóstico del tumor. Otro aspecto no comentado es la aplicación de la inmunocitoquímica al estudio de una variedad de proteínas producidas por los tumores pulmonares y la correlación de estos estudios con la ultraestructura. Cada vez es mayor el número de estos mar-

cadres utilizados para controlar la recurrencia y respuesta terapéutica en las neoplasias. Se sabe que los niveles de ACTH, calcitonina y el antígeno carcinoembriogénico, están elevados en la sangre de pacientes con carcinoma broncogénico (195). Se ha descrito también un cáncer pulmonar productor de alfafetoproteína (374). Recientemente hemos examinado la ultraestructura e inmunohistoquímica de más de 25 tumores pulmonares (resultados no publicados), y es importante señalar la incidencia de los antígenos oncofetales (carcinoembrionario y gonadotropina coriónica) en los adenocarcinomas y carcinomas anaplásicos del pulmón.

En el futuro la ultraestructura (159) hará paralelamente a este tipo de estudios que detectará hormonas, proteínas o enzimas en los tumores y estos datos se relacionarán con la presencia de estas sustancias en el suelo de los pacientes. Estamos enfrentados a una morfología subcelular cada vez más funcional y el conocimiento de ella nos proveerá las armas para poder en el futuro cercano entender la Patología Tumoral y abrir nuevos caminos hacia la terapéutica de los tumores.

CONCLUSIONES

En este trabajo he pretendido actualizar el conocimiento sobre algunos aspectos ultraestructurales de la Patología Tumoral. Este esfuerzo suma la experiencia de 6 años (1976-1982) trabajando al frente de la Sección de Microscopía Electrónica del Instituto Anatomopatológico en la Facultad de Medicina de nuestra Universidad Central de Venezuela y en esta labor las personas que han colaborado han sido numerosas; algunos de ellos aparecen citados en el texto a través de las publicaciones o de los trabajos que aún realizamos. La ultraestructura de los tumores es un área de la Patología que presenta un desarrollo vertiginoso. Por este motivo, solamente se han enfocado algunos aspectos de la Patología Tumoral en las cuales el microscopio electrónico nos proporcionó ayuda en el diagnóstico o contribuyó a responder algunos de los muchos interrogantes que como Patólogo, uno está obligado a responder cuando examina los tumores con el microscopio de luz.

Sólo a través del interés que muestren nuestros Patólogos, lograremos progresar en el campo de la Patología Ultraestructural de los Tumores, bien sea utilizando el microscopio electrónico para aclarar el diagnóstico o para hacer investigación, nos toca a los Patólogos venezolanos escribir nuestras propias experiencias para dejar huellas sobre lo que es nuestra Patología.

Si este trabajo estimula el desarrollo de la Patología Ultraestructural, sobre todo entre las nuevas generaciones de Patólogos, creo que este esfuerzo ha valido la pena.