

LA MICROSCOPIA ELECTRONICA EN EL DIAGNOSTICO DE LOS TUMORES DE LA INFANCIA

INSTITUTO NACIONAL DE ONCOLOGIA Y RADIOBIOLOGIA

Lic. Blanca Tormo*, Dra. Teresita Rodríguez**, Dra. Marta Longchong***, Dr. René Guarnaluce**** y Dr. Alexander G. Perevoshchikov*****

Tormo, B. y otros: *La microscopia electrónica en el diagnóstico de los tumores de la infancia.*

Se estudian en nuestro laboratorio las biopsias de 14 casos de tumores en niños. Se someten éstas a una doble fijación con glutaraldehído y ácido ósmico y se incluyen en araldita. Se observan los cortes ultrafinos después de recibir contraste con acetato de uranilo y citrato de plomo en un microscopio electrónico Hitachi H-300. Se expresa que los resultados obtenidos, al estudiar la ultraestructura de estos tumores, permite confirmar el diagnóstico histológico en algunos casos y llegar a conclusiones diagnósticas en otros, en los que se plantearon varias alternativas sobre la histogénesis del tumor, así como en los que el diagnóstico no fue posible por microscopia de luz. Se concluye que debe difundirse el uso del microscopio electrónico en el campo de la patología tumoral pediátrica en nuestro medio.

INTRODUCCION

En el curso de los últimos 10 años ha venido dándosele cada vez mayor importancia al microscopio electrónico como instrumento auxiliar en el diagnóstico de los tumores.^{1, 2}

Con frecuencia, el patólogo tiene dificultades cuando se trata de clasificar un tumor, lo cual se debe al grado de diferenciación o de anaplasia tumoral, a la forma en que el tumor infiltra los tejidos sanos o a la respuesta hística en las zonas infiltradas. El empleo de diversas coloraciones especiales suele facilitar el diagnóstico, pero puede ocurrir que éstas sean insuficientes para aclarar la histogénesis del tumor, y se imponga entonces un nivel de resolución mayor que permita penetrar en el interior de las células neoplásicas y determinar las características ultraestructurales órgano-específicas que conservan estas células neoplásicas y, por ende, pueden emplearse en el diagnóstico diferencial de los tumores.²

Aunque ciertamente el uso del microscopio electrónico en el diagnóstico diferencial de las neoplasias malignas abre nuevas posibilidades, es necesario tener presente que este método, aparte de sus ventajas, tiene también ciertas limitaciones, y no debe ser aplicado en la gran mayoría de las biopsias que se resuelven por métodos convencionales.¹

* Bióloga. Investigador Auxiliar. Jefe del Laboratorio de Microscopia Electrónica.

** Candidato a Doctor en Ciencias Biológicas. Médico Investigador Auxiliar del Laboratorio de Microscopia Electrónica.

*** Especialista de I Grado en Oncología. Jefe del Servicio de Pediatría.

**** Especialista de I Grado en Anatomía Patológica. Jefe del Departamento de Anatomía Patológica.

***** Candidato a Doctor en Ciencias Médicas. Patólogo del Centro de Investigaciones Oncológicas de la Academia de Ciencias Médicas de la Unión Soviética.

Fue objeto de nuestro trabajo estudiar y describir las características ultraestructurales de aquellos casos de tumores de la infancia que presentaron varias alternativas histológicas de clasificación, así como en los que el diagnóstico no fue posible a través de la microscopia de luz, destacándose la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 14 pacientes con neoplasias malignas o benignas del Servicio de Pediatría de nuestro Instituto en el período comprendido entre 1983 a 1984. En todos los casos, el material fue estudiado por microscopia de luz por el Departamento de Anatomía Patológica de nuestro Centro y por microscopia electrónica en nuestro laboratorio. Para el estudio con el microscopio electrónico se obtuvieron pequeños fragmentos de un milímetro de dimensión mayor, los cuales fueron fijados en glutaraldehído al 3,25% en solución amortiguadora de fosfato pH 7,4, 0,16 M a 4°C durante una hora y posfijados en tetraóxido de osmio al 2% en igual tope durante una hora a 4°C, deshidratados en porcentajes crecientes de etanol y óxido de propileno e incluidos en araldita. Los cortes, después de recibir contraste con acetato de uranilo y citrato de plomo, se observaron en un microscopio electrónico Hitachi H-300.

ULTRAESTRUCTURA DE LOS TUMORES ESTUDIADOS

Al examinar los tumores con el microscopio electrónico, el núcleo nos proporciona poca información, sin embargo, el citoplasma puede revelarnos las características de la célula que ha proliferado para producir la neoplasia.¹ Basado en esto, se analizaron las características ultraestructurales citoplasmáticas que identifican los tumores estudiados y los diferencian de las demás neoplasias, las cuales se relacionan comparativamente en la tabla y que analizaremos en detalle a continuación.

RABDOMIOSARCOMA

La importancia del rhabdomiosarcoma embrionario y alveolar estriba en que éste constituye el tumor maligno de los tejidos blandos más frecuentes en pacientes menores de 10 años.¹ En niños es frecuente la dificultad en el diagnóstico, dado que pueden no evidenciarse en cortes teñidos con hematoxilina-eosina o hematosilina fosfotúngstica los signos de diferenciación del músculo esquelético.

Más aún, el tipo embrionario puede ser extremadamente difícil de distinguir de otros tumores de células redondas en niños, como el sarcoma de Ewing, el neuroblastoma y el linfoma maligno no hodgkiniano.³

La presencia de estriaciones transversales en las células tumorales hace incuestionable el diagnóstico histológico de rhabdomiosarcoma; sin embargo, es frecuente que éstas no se identifiquen, pero el hallazgo ultraestructural de miofilamentos en distintos grados de organización caracterizan esta afección (figura 1). Asimismo, suele observarse la formación de bandas electrón-densas con aspecto de banda Z y la presencia de numerosos gránulos de glucógeno en el citoplasma de los rhabdomioblastos (figura 2).

Tabla. Características ultraestructurales diferenciales de los tumores de la infancia

Tumor	Glucógeno	Lámina basal	Microfilamentos// microtúbulos	Prolongaciones celulares	Gránulos centro denso	Complejo de unión// desmosomas	RER// Polirribosomas	Golgi mitocondrias
Rabdomiosarcoma	-/+++	-/++	thin-thick +/+++//-	-	-	+/-	-//+/+++	-//+/+++
Neuroblastoma	-/+	-/+	thin -//+/+++	Dendríticas +/+++	+//+++	-//+/++++	+//+/+/+++	+//+/+/+++
Hemangiopericitoma	-/+	-/++	+//+//-	-	-	-//+/-	+//+/+/+++	+//+/+++
Linfoma	-/+	-	-	-	-	-	-//+/++++	-//+/+++
Retinoblastoma	-	-	+//+//-	Única -//+++	-	-	-//+/+++	-//+/+++

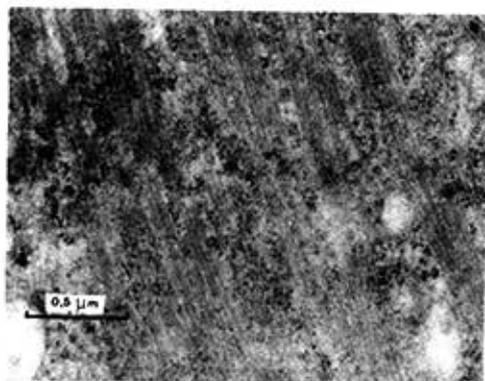


Figura 1. Rabdomyosarcoma embrionario. Presencia de numerosos gránulos de glucógeno entre bandas paralelas de miofilamentos.

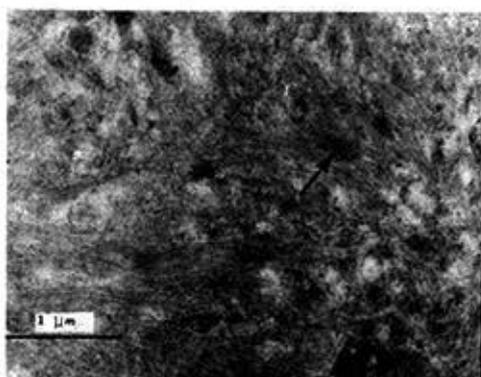


Figura 2. Célula de un rabaomiosarcoma embrionario con numerosos miofilamentos distribuidos al azar, en los que se observan en ocasiones bandas electrodensas (flecha) con aspecto de banda zeta.

NEUROBLASTOMAS

El neuroblastoma es un tumor que afecta principalmente a niños menores de 5 años. Cuando histológicamente no se ven las rosetas clásicas, los neuroblastomas pueden confundirse con linfomas y leucemias en los niños y adolescentes.¹ El hallazgo ultraestructural de prolongaciones celulares dendríticas, con gránulos neurosecretores y microtúbulos o ambos, así como desmosomas entre las células son muy características del neuroblastoma.

Estas características los hacen inconfundibles a nivel ultraestructural, y aunque nuestra experiencia en este sentido es limitada, sugiere que, al igual que en el caso de los rabdomyosarcomas, el estudio con el microscopio electrónico debe hacerse no sólo en los tumores diagnosticados como tales, sino también en los casos donde el diagnóstico histológico de neuroblastoma o rabdomyosarcoma se haya sugerido como una posibilidad, por las implicaciones terapéuticas que tiene.

LINFOMAS NO HODGKINIANOS

Con el microscopio electrónico, el diagnóstico diferencial de los linfomas se establece por la ausencia de las estructuras que caracterizan a las células de las otras neoplasias de células redondas, como los rabiomioblastos, los neuroblastos, las células epiteliales, etcétera.¹

El linfoma linfoblástico o convoluto, el linfoma indiferenciado no Burkitt, el linfoma de Burkitt y el linfoma inmunoblástico, son los linfomas no hodgkinianos más frecuentes en los niños.⁴ El hallazgo ultraestructural de núcleo 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 (figura 3), mientras que para el linfoma de Burkitt, a pesar de que el estudio ultraestructural es importante, éste debe completarse con estudios citoquímicos, de igual modo que en otros linfomas son necesarios los estudios inmunológicos.

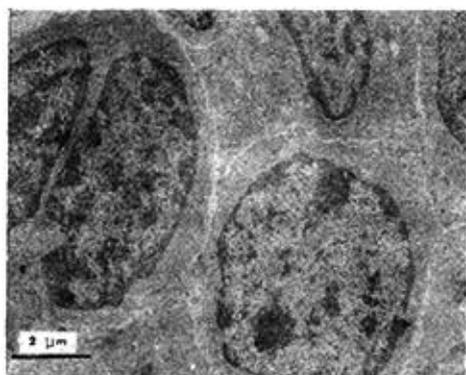


Figura 3. Presencia de células con núcleos de forma variada, redondeados, con hendiduras o irregularidades y citoplasma con abundantes polirribosomas en ausencia de medios de unión intercelular o de filamentos citoplasmáticos, características que hacen el diagnóstico de linfoma indiferenciado.

de Golgi no prominente. Además, pueden observarse filamentos dispersos (figura 4) y vesículas pinocíticas. Separa las células tumorales de las vecinas una membrana basal, y se pueden observar uniones tipo zónula ocludens y desmosomas entre las células (figura 5).

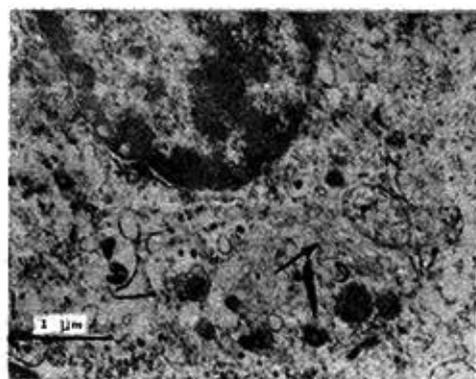


Figura 4. Hemangiopericitoma: célula con filamentos finos (flecha) próximos al núcleo ovalado además de mitocondrias, vesículas y cuerpos densos dispersos en el citoplasma.

HEMANGIOPERICITOMA MALIGNO

El diagnóstico específico del hemangiopericitoma maligno es importante, puesto que es un tumor localmente agresivo e infiltrante,⁵ aunque en niños suele tener una evolución más benigna.⁶

El estudio con el microscopio electrónico es un método muy valioso para clasificar el diagnóstico de hemangiopericitoma, pues permite descartar otros tumores vasculares, donde la proliferación neoplásica corresponde a células endoteliales.

Se caracteriza este tumor por células de núcleo ovalado, generalmente de bordes lisos, citoplasma con numerosas mitocondrias, ribosomas libres y retículo endoplasmático rugoso, así como aparato

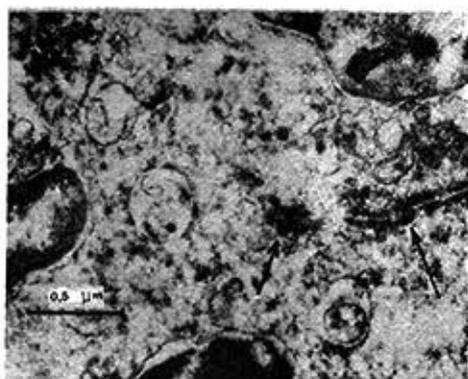


Figura 5. Microfotografía de un hemangiopericitoma, donde se ilustra la presencia de desmosomas (flecha) entre las células tumorales.

RETINOBLASTOMA

Es el tumor más frecuente del ojo en niños menores de 5 años de edad. Sus células presentan forma de bulbo en un extremo y se prolongan hacia el otro a semejanza de los fotorreceptores de la retina.² En los tumores diferenciados, el núcleo es de bordes lisos y está rodeado de escaso citoplasma (figura 6). En la prolongación citoplasmática de la célula se observan fibrillas, vacuolas, algunos cuerpos densos y mitocondrias. Las células se disponen formando rosetas.

En los tumores indiferenciados, el núcleo que ocupa la mayor parte de las células es claro, de bordes irregulares, y puede observarse la presencia de bolsas nucleares y nucleolos pequeños. El citoplasma presenta numerosas mitocondrias, escasos cuerpos densos, vacuolas y, a veces, fibrillas (figura 7). Caracterizan el tumor indiferenciado la formación deseudorrosetas (figura 8).

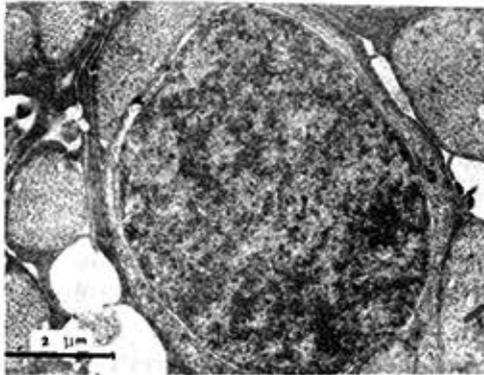


Figura 6. Retinoblastoma diferenciado: presencia de núcleo de bordes lisos rodeado de escaso citoplasma y prolongaciones citoplasmáticas en las que se observan fibrillas, vacuolas y escasas mitocondrias.

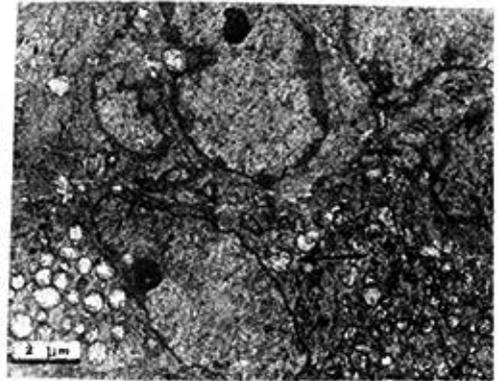


Figura 7. Retinoblastoma indiferenciado: se observan células de núcleo grande, claro, de bordes irregulares y nucleolo pequeño. Se destacan en el citoplasma la presencia de numerosas mitocondrias (flecha).

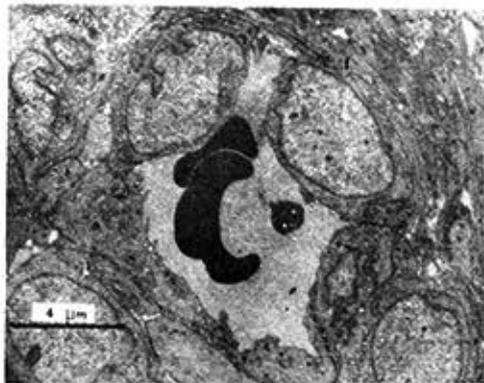


Figura 8. La microfotografía muestra la presencia de células tumorales dispuestas alrededor de un capilar en correspondencia con la imagen deseudorroseta de la microscopia de luz, que caracteriza al retinoblastoma indiferenciado.

DISCUSION

En este trabajo hemos pretendido actualizar el conocimiento sobre algunos aspectos ultraestructurales de la patología tumoral, especialmente en tumores malignos de la infancia.

Los resultados obtenidos en nuestro laboratorio nos permitieron confirmar el diagnóstico histológico en algunos casos y llegar a conclusiones diagnósticas en otros, en los que se plantearon varias alternativas sobre la histogénesis del tumor.

En el diagnóstico diferencial de los tumores desempeñan una función primordial las características ultraestructurales citoplasmáticas, así, la presencia en el citoplasma de miofilamentos en distintos

grados de organización, máxime estriaciones transversales en las células tumorales, hace incuestionable el diagnóstico histológico de rhabdomyosarcoma, lo cual es avalado por los resultados de García Tamayo,¹ Khan y colaboradores⁵ y Mierau y Favara.⁷ Las prolongaciones celulares y dendríticas con gránulos neurosecretorios de centro denso son muy características de neuroblastoma, lo que coincide con lo informado por Taxy,⁸

Romansky y colaboradores⁹ y García Tamayo;¹ mientras que una forma de reconocer los linfomas no hodgkinianos es por la ausencia de las estructuras que son propias de otras neoplasias de células redondas, según también refiere García Tamayo.¹

Ha de tenerse en cuenta que el diagnóstico por microscopía electrónica debe conjugar con los resultados obtenidos por la microscopía de luz, ya que 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. Esto, según Raikhlin y colaboradores² limitan el uso de este método en el diagnóstico primario de las neoplasias y de acuerdo con el criterio de García Tamayo¹ obliga a la necesidad de llegar a conclusiones diagnósticas mediante la comparación entre los organelos de las células tumorales y sus contactos con otras células y de la relación entre estos hallazgos y la histología.

Entre las limitaciones del microscopio electrónico se encuentran el pequeño tamaño de las muestras; la imposibilidad de utilizar coloraciones; la falta de idea de la organización histórica; solamente observamos células, y por lo tanto, el arreglo alveolar, en cordones, nidos, etcétera, se pierde a nivel ultraestructural. Finalmente, el estudio con el microscopio electrónico consume gran cantidad de tiempo, es un método costoso y requiere una preparación especial del investigador. Por todo lo anterior, no debe ser aplicado en la mayoría de las biopsias que se resuelven por métodos convencionales.

A pesar de las limitaciones del método la microscopía electrónica, resulta útil en el diagnóstico de un número considerable de tumores, criterio éste compartido por Rosai y Rodríguez¹⁰ entre otros múltiples autores.

Por todo lo antes señalado, concluimos que la utilización del microscopio electrónico, como instrumento auxiliar en el diagnóstico de los tumores, es de una valiosa ayuda, y por ende, debe difundirse su uso en el campo de la patología tumoral pediátrica en nuestro medio.

SUMMARY

Tormo, B. et al.: *Electron microscopy in the diagnosis of tumors in childhood.*

Biopsies of 14 cases of tumors in children are studied in our laboratory. The biopsies are submitted to double fixation with glutaraldehyde and osmic acid and are included into araldite. After contrast with uranyl acetate and lead citrate, ultrathin sections are observed in a Hitachi-300 electron microscope. Results from ultrastructural study of these tumors allows to verify, in some cases, histologic diagnosis and, in other cases, to get to diagnostic conclusions, where several alternatives on histogenesis of the tumor were stated, as well as in those in which diagnosis by light microscopy was not possible. It is concluded that the use of electron microscope in the field of pediatric tumoral pathology must be spread out.

RÉSUMÉ

Tormo, B. et al.: *La microscopie électronique dans le diagnostic des tumeurs chez l'enfant.*

Les biopsies de 14 cas de tumeurs chez des enfants sont étudiées dans notre laboratoire, où elles sont soumises à une double fixation par glutaraldéhyde et acide osmique, avec inclusion en araldite. Après avoir reçu le contraste (acétate d'uranyle et citrate de plomb), les coupes ultrafines sont observées à l'aide d'un microscope électronique Hitachi H-300. Les résultats obtenus lors d'étudier l'ultrastructure de ces tumeurs, permettent de confirmer le diagnostic histologique dans certains cas, et d'arriver à des conclusions diagnostiques dans d'autres cas pour lesquels il y avait diverses alternatives sur l'histogénèse de la tumeur, ainsi que dans des cas où le diagnostic n'a pas été possible en microscopie de lumière. Les auteurs concluent qu'il faut diffuser l'emploi de la microscopie électronique dans le domaine de la pathologie tumorale pédiatrique dans notre milieu.

BIBLIOGRAFIA

1. *García Tamayo, J.*: Aspectos Ultraestructurales de la Patología Tumoral. Invest Clin 23 (3): 123-215, 1982.
2. *Raiklin, N. T.; H. David; K. Lapish*: Ultrastructure of Tumours in Man. (Guidebook on Diagnosis). Moskba "Meditsina", 1981. Pp. 1-549.
3. *Kahn, H. J. et al.*: Immunohistochemical and electron microscopic assessment of childhood rhabdomyosarcoma. Cancer 51 (10): 1897-1903, 1983.
4. *Butler, J. J.*: Non-Hodgkin's Lymphomas in Children. In: Status of the Curability in Childhood Cancers. Raven Press, New York, 1980. Pp. 189-211.
5. *Hahn Michael, et al.*: Hemangiopericytoma: an ultrastructural study. Cancer 31 (1): 255-261. 1973.
6. *Eimoto, T.*: Ultrastructure of an infantile hemangiopericytoma. Cancer 40 (5): 2161-2170, 1977.
7. *Mierau, G.; B. E. Favara*: Rhabdomyosarcoma in children. Ultrastructural study of 31 cases. Cancer 46 (9): 2035-2040, 1980.
8. *Taxy, J. B.*: Electron microscopy in the diagnosis of neuroblastoma. Arch Pathol Lab Med 104 (7): 355-360, 1980.
9. *Romansky, S. G. et al.*: Ultrastructural studies on neuroblastoma. Cancer 42 (5): 2392-2398, 1978.
10. *Rosai, J.; H. A. Rodríguez*: Application of electron microscopy the differential diagnosis of tumors. Am J Clin Pathol 50 (5): 555-562, 1968.

Recibido: 14 de enero de 1985. Aprobado: 22 de marzo de 1985.

Lic. *Blanca Tormo*. Instituto de Oncología y Radiobiología. Calle 29 y E, Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.

