

ULTRAESTRUCTURA DE LAS NEOPLASIAS CERVICALES INTRAEPITELIALES

Dr. SIXTO S. RECAVARREN (*)

Durante los últimos años, la utilización de nuevos métodos y técnicas morfológicas en el estudio de las neoplasias epiteliales del cuello uterino, ha permitido revelar alteraciones estructurales que aparte de significar cambios hasta ahora poco conocidos, han servido para la mejor comprensión de la conducta biológica de estas neoplasias.

Las alteraciones que el Microscopio Electrónico ha revelado en estos tumores, pueden considerarse en dos grupos: a) en el primero están comprendidos los cambios que conocidos ya por la microscopía óptica, han sido ampliados por la Microscopía Electrónica y recibido alguna interpretación biológica, b) en el segundo grupo están comprendidos los cambios sólo detectables por la Microscopía Electrónica y que a la luz de los avances de la biofísica y bioquímica, han significado un gran paso en la comprensión de los caracteres biológicos más importantes de estas neoplasias como son la indiferenciación celular y la infiltración tisular.

Para la mejor discusión de las ultrafotografías de las neoplasias epiteliales cervicales que luego realizaremos, creo que es conveniente revisar brevemente

la ultraestructura normal del epitelio estratificado del cuello uterino.

El epitelio escamoso estratificado del exocervix puede ser dividido en 3 zonas: la basal, la intermedia y la superficial.

La basal constituida por 2 ó 3 capas celulares, que poseen un solo núcleo oval o elongado con cromatina finamente agrupada. El citoplasma posee ribosomas libres a veces conglomerados y mitocondrias de localización basal nuclear. El citoplasma también posee tonofilamentos dispuestos en su superficie, éstos son importantes componentes de los desmosomas que luego discutiremos. Las células están separadas por un espacio intercelular en el que se proyectan algunas elongaciones finas citoplasmáticas denominadas microvellos.

Las células basales descansan en la membrana basal la que está constituida por la lámina lúcida y la densa ondulante.

b) El estrato superficial del epitelio del exocervix es de poca importancia para los objetivos de nuestra discusión. No lo describiremos.

(*) Dpto. de Patología H. G. B. C. H. - U. P. C. H., Lima-Perú.

c) En la zona intermedia del exocervix los núcleos son más pequeños que los de las células basales. Hay en el citoplasma agregados de glicógeno y las mitocondrias son menos numerosas. Los tonofilamentos son abundantes y se los ve constituidos por tonofibrillas de 100 A° de diámetro cada una. En el espacio intercelular hay proyección de microvellos, los que buscan a similares de células vecinas para adosarse constituyendo los puentes intercelulares de la M. óptica.

Es en estas zonas de adosamiento de los microvellos, en donde se diferencian las estructuras de unión intercelular que tanto interés han cobrado en lo que ha conducta biológica de neoplasia cervical concierne. Un adecuado conocimiento de la estructura y función de los elementos de unión intercelular es necesario, para los objetivos de esta presentación.

Dos son los tipos de unión intercelular existentes a nivel de adosamiento de microvellos. El primero es el Desmosoma o Mácula Adherens, que tiene la forma de un disco de hasta 0.5 micras de diámetro; está constituido por la aposición de las membranas citoplasmáticas de las dos células a unirse. Cada membrana tiene el aspecto trilaminar unitario (Proteína-Lipido-Proteína) y están separadas por un interespacio de 250 a 300 A° en el que existe un sistema de finos filamentos proteicos que conectan las membranas de las 2 células. En el citoplasma del desmosoma se observan a los tonofilamentos converger hacia la membrana, conectarse o unirse a ella por finos filamentos y luego volver a la matriz citoplasmática. En algunas ocasiones estos filamen-

tos son continuos en el citoplasma conectando a varios desmosomas a la vez.

Los desmosomas juegan un importante rol en la adhesión intercelular y se dan en gran número en epitelios sometidos a Stress mecánico como es el caso del epitelio del exocervix. Es probable que los tonos filamentos constituyan dentro de la célula un sistema citoesquelético que la proteja contra deformaciones excesivas ejercidas por el stress. El mismo sistema citoesquelético contribuye en la formación de un sistema de cooperación intercelular que permita definir las fuertes propiedades mecánicas del epitelio poliestratificado del exocervix.

La segunda estructura de unión intercelular en el epitelio del cuello se denomina Nexo y ha sido solo en el curso del último año, que sus caracteres estructurales y funcionales han podido definirse. El nexo posee una estructura complicada y han sido necesarias técnicas especiales de coloración, utilización de medios de contraste y grandes magnificaciones para su estudio. Para los efectos de nuestra presentación solo discutiremos los caracteres morfológico-funcionales más generales de esta interesante estructura. El nexo se constituye por aposición o acercamiento máximo de las membranas de 2 células a nivel del microvello y está ubicado cercano al desmosoma. La aposición es tan íntima que en un comienzo se pensó que había fusión de membranas a ese nivel. En realidad las membranas en el nexo sufren modificaciones profundas en la disposición espacial de sus moléculas proteicas y probablemente también de las lipídicas.

Las unidades proteicas se arreglan en subunidades de aspecto hexagonal de tal forma que la aposición con las correspondientes de las membranas opuestas, se hacen encajando estrechamente a la manera de broches. La disposición de las subunidades proteicas determina que estrechos canales de comunicación intercelular queden constituidos. En ultrafotografías a grandes magnificaciones los nexos se observan como ilustra la fotografía a 150,000 aumentos, a manera de una fina red en donde las subunidades proteicas se las identifica por estar totalmente rodeadas de una substancia de contraste. Una representación diagramática, como la de esa fotografía nos ayudará a comprender mejor la configuración del nexos.

Las subunidades hexagonales proteicas se disponen en realidad en 4 capas, encajando unas con otras a manera de múltiples broches. En el esquema no quedan ilustrados los canales de comunicación intercelular pero ellos están ubicados en el centro de cada subunidad proteica.

La función de los nexos está relacionada más que a la adhesión celular, a la comunicación intercelular y probablemente también al crecimiento y diferenciación de las células. Se ha demostrado que a través de los canales de intercomunicación celular ubicados en el nexos, pueden activamente intercambiarse entre las células diversos iones. Por este intercambio iónico se establece el acoplamiento eléctrico existente en el tejido epitelial poliestratificado y en todos los tejidos en los que se han demostrado nexos como el músculo cardiaco, esquelético, liso, etc. Una de las demostraciones más interesantes en fisiología celular es la rela-

cionada a la comprobación del intercambio en moléculas proteicas que realizan las células a través de los canales de intercomunicación de los nexos. Este intercambio es uno de los factores que controlan el crecimiento y diferenciación celular.

Resumiendo, podemos decir, que existen a nivel de los microvellos citoplasmáticos 2 tipos de unión intercelular. Uno el desmosoma constituido por tonofilamentos y filamentos proteicos finos, cuya función es el proporcionar adherencia celular firme. El segundo tipo de unión es el Nexos constituido por diferenciación espacial de las proteínas y lípidos de las membranas y cuya función aparte de la de adhesión leve es la de intercomunicación intercelular para el intercambio iónico y proteico. Revisada la ultraestructura normal del epitelio exocervical, pasemos ahora a discutir los cambios ultraestructurales de las neoplasias intraepiteliales del cuello. Como ya se dijo los cambios detectados por el M. óptico han sido observados también el M.E. y aparte de haber recibido una mejor descripción morfológica y alguna interpretación biológica no han aportado mayores datos para la íntima comprensión de estas lesiones. En cambio los resultados ultraestructurales obtenidos por la utilización de técnicas especiales si han permitido detectar las alteraciones que explican los caracteres biológicos más importantes de estos tumores. Empecemos por tanto revisando rápidamente los cambios de menor significación.

En la Displasia, las células poseen núcleos marcadamente incrementados en tamaño, multilobulados y con la membrana nuclear con numerosas invagina-

ciones, la cromatina posee un patrón granular grueso en relación a lo normal; los nucleolos son prominentes y múltiples. Las alteraciones citoplasmáticas son más pronunciadas en las células más superficiales en donde hay marcada depleción del glicógeno, otro cambio remarcable es el del aumento de ribosomas libres o conglomerados.

Los cambios en el CA, *in situ* revelan núcleos menos grandes que los displásicos y cromatina de granulación irregular, nucleolos múltiples y mitosis más frecuentes que en la Displasia. En el citoplasma el cambio más prominente es la presencia de tonofibrillas anómalas las que aparecen condensadas perinuclearmente.

La M. Basal en la Displasia pierde levemente su ondulación y puede aparecer multifibrilar. En el CA. *In situ* las dos alteraciones referidas se observan y también en áreas de desintegración de ella. Lo descrito, revela la poca significación de estas alteraciones sub-celulares. Es necesario referir en este momento que con el M. E. no es posible realizar la gradación en lesiones mínimas, moderadas y severas realizables con el M. óptico por ser la evaluación a nivel celular.

Los cambios ultraestructurales más importantes son los revelados en la superficie de las células tumorales. Empecemos con los cambios más elementales.

Es fácilmente demostrable que las lesiones moderadas o severas así como el CA. *In situ* y el CA. Infiltrante muestran un gran incremento de las microvellosidades citoplasmáticas. A pesar de la abundancia de microvellosidades la formación de desmosomas está marca-

damente disminuída en estas células tumorales. El grado de disminución en desmosomas es proporcional al grado de indiferenciación de la neoplasia. Este cambio determina una pérdida de la adhesividad intercelular y se ha sugerido que él facilitaría el crecimiento infiltrativo en estas neoplasias.

Los estudios ultraestructurales de las zonas de unión denominadas nexos en las lesiones malignas no invasivas y en las invasivas del cuello uterino han aportado los más interesantes resultados para el conocimiento biológico de estas neoplasias. Empecemos por decir que ha logrado ya establecerse el número de nexos normal por célula en la capa basal y en la intermedia. Para las células basales el número de nexos es de 10 por célula y para las intermedias de 200 por célula.

Se ha demostrado que el número de nexos en esas lesiones está disminuído y el grado de decrecimiento correlaciona con la severidad de la lesión morfológica.

En la Displasia Severa y en el CA. *In situ* la depleción de nexos es marcada, pero en el CA. infiltrante en donde el número de nexos alcanza su máxima disminución llegando a 4 nexos por célula, siendo lo normal 200 nexos por célula. Aunque es difícil atribuir el carácter invasivo de la neoplasia a un solo factor, se ha sugerido que la depleción de nexos es uno bastante importante. En efecto, en las áreas de crecimiento activo e infiltrativo del tumor, el número de nexos se reduce a — de 1 por célula o ellos desaparecen totalmente. Se piensa que una deficiencia tumor es invasivo, es decir donde la focal severa de nexos ocurre donde el

células están en crecimiento e invadiendo estructuras vecinas.

Se ha sugerido que la disminución o ausencia de nexos en las células neoplásicas determina que el normal intercambio de moléculas proteicas entre las células contiguas se anule. Esto determina que los importantes factores citoplasmáticos que normalmente regulan el crecimiento y la diferenciación celular, no puedan actuar al quedar las células aisladas.

El comando del crecimiento y diferenciación celular quedaría entonces restringido a cada elemento celular, lo que daría como resultado el crecimiento anárquico y el diferente grado de

diferenciación celular que son características de los tumores malignos.

Ultrafotografías de CA. de cervix obtenidas con el Microscopio Scanning, se obtienen imágenes en tercera dimensión.

Los finos dobleces observados en la superficie celular del epitelio estratificado del cuello no existen en el Carcinoma. Las células malignas además pierden su configuración poliédrica y se vuelven redondeadas. Estos 2 factores, la ausencia de los finos dobleces que no son sino microvellos celulares y su forma redondeada, determinan que la adhesividad se pierda.