

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LA CELULA NEOPLASICA *

ADOLFO MARTÍNEZ-PALOMO †

El análisis ultramicroscópico de los tejidos neoplásicos malignos ha revelado una gran variedad de alteraciones celulares, ninguna de ellas común a todos los tumores estudiados. Sin embargo, las modificaciones más constantes se encuentran localizadas en la superficie de la célula cancerosa. Dichas alteraciones son: 1) aumento en el espesor de la cubierta exterior de mucopolisacáridos; 2) ausencia relativa de uniones intercelulares (desmosomas, uniones comunicantes y uniones herméticas); 3) aumento en la movilidad de receptores membranales de superficie; 4) disminución de microfilamentos submembranales, y 5) aumento de partículas intramembranales. Algunas de las modificaciones señaladas muestran una correlación estrecha con el grado de invasividad de ciertos carcinomas humanos, por lo que potencialmente pueden ser utilizadas para evaluar la evolución de los tumores. Los resultados del empleo de la microscopia electrónica durante los dos últimos decenios sugieren que las modificaciones del genoma de la célula neoplásica, inducidas por agentes físicos, químicos o biológicos, se expresan fundamentalmente por cambios cuantitativos de los componentes de la superficie celular. A su vez, éstos

podrían determinar las alteraciones en las propiedades de superficie características de las células cancerosas.

La aplicación de la microscopia electrónica al estudio de las neoplasias malignas se inició en 1955 con las primeras observaciones realizadas por Bernhard y Oberling¹ en el Instituto del Cáncer en Villejuif, Francia. Las limitaciones metodológicas iniciales que impedían la conservación satisfactoria de los tejidos y la imposibilidad de obtener cortes finos de tejidos fueron pronto solucionadas, y así se inicia una larga serie de estudios sobre la estructura ultramicroscópica de diversas neoplasias humanas y de tumores malignos de aparición espontánea o inducidos experimentalmente en animales.²⁻⁴

La resolución 500 veces superior que ofrece el microscopio electrónico en comparación con el microscopio de luz fue aprovechada desde un principio en el estudio de las neoplasias siguiendo dos objetivos fundamentales. Uno de ellos ha sido la búsqueda de partículas virales en células cancerosas, en un intento por comprobar la etiología viral de algunos tumores. La segunda meta ha sido el estudio de cambios estructurales básicos de la célula cancerosa, que permita, aunado al estudio con otras técnicas de análisis celular, identificar la naturaleza íntima de los cambios celulares que determinan la proliferación ilimitada y la inva-

* Trabajo de ingreso, leído en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, el 13 de octubre de 1976.

† Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

sividad de las células cancerosas. En relación al primer objetivo, la microscopia electrónica ha mostrado claramente que los tumores inducidos en animales por virus de RNA muestran, en general, virus completos en el interior de las células neoplásicas, mientras que las células de tumores producidos por virus de DNA no contienen partículas virales. Esta importante observación implica que la ausencia de partículas virales al microscopio electrónico no descarta la posibilidad de que el tumor haya sido inducido por un virus. Por otro lado, a pesar de muy extensos estudios, no se ha logrado demostrar mediante la microscopia electrónica una asociación persistente entre virus y neoplasias malignas humanas, relación que se encuentra con frecuencia en tumores presentes en animales.⁵

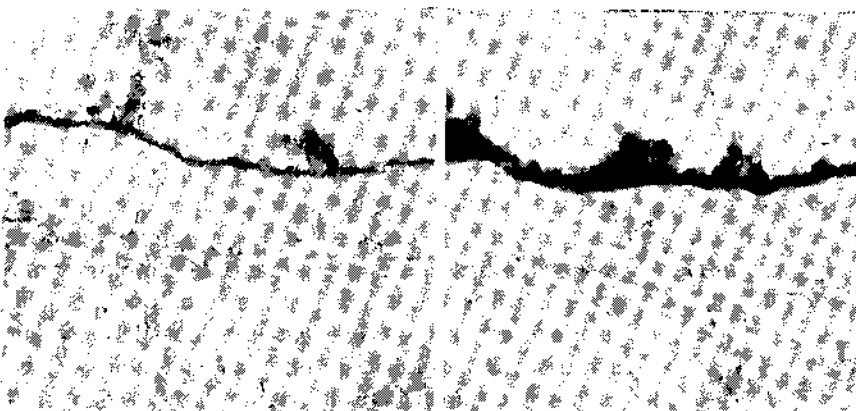
Al cabo de veinte años de intensos estudios ultramicroscópicos aún no se ha encontrado una alteración morfológica característica de las células tumorales. Las modificaciones nucleares y citoplásmicas que reflejan la anaplasia y la rápida proliferación de las células neoplásicas fueron corroboradas por la microscopia electrónica, sin que se lograran demostrar modificaciones persistentes de algún componente intracitoplásmico o nuclear. De hecho, las diferencias entre células normales y células cancerosas son menos aparentes con microscopia electrónica que con microscopia de luz.⁴ Es necesario el empleo de métodos de análisis morfológico cuantitativo, auxiliado por computadoras, para lograr identificar con seguridad diferencias ultraestructurales entre células neoplásicas malignas y las del tejido normal del que proviene el tumor.⁶

Propiedades de superficie anómalas de la célula neoplásica

En los últimos diez años, se han acumulado progresivamente datos que sugieren que los cambios fundamentales responsables de la transformación maligna radican en la superficie celular. Un agente carcinogénico, sea radiación, virus o compuesto químico, podría

modificar el genoma celular a través de una alteración cualitativa del DNA celular, que se expresaría en la producción de una o varias proteínas alteradas. Las modificaciones en las proteínas membranales podrían desencadenar, a su vez, una serie de alteraciones celulares tales como disminución de la adhesividad, división celular persistente, mayor capacidad de captar nutrientes del medio, etc., cambios que son características de la transformación maligna. Así pues, la modificación básica localizada en el núcleo podría expresarse en alteración de la superficie de la célula neoplásica, desencadenando la transformación maligna.^{7, 8}

Coman⁹ demostró en 1944 que algunas células cancerosas muestran un grado de adhesividad menor al de las células normales. Posteriormente se han descrito otras propiedades de superficie alteradas en las células neoplásicas, tales como la falta de inhibición de motilidad celular por contacto,⁸ la susceptibilidad a aglutinar en presencia de lectinas,^{10, 11} el incremento en el transporte celular de azúcares,¹² la simplificación en los patrones de glucolípidos,¹³ el aumento en ciertas glucoproteínas de membrana¹⁴ y la desaparición de una proteína superficial¹⁵ relacionada con la adhesividad celular,¹⁶ asociada al aumento en actividad proteolítica de superficie.¹⁷ El aumento progresivo en el número de publicaciones relacionadas con el estudio de la superficie de la célula neoplásica, así como la aparición de revisiones y libros recientes sobre este tema,¹⁸⁻²⁵ reflejan claramente que esta área de la investigación biomédica representa una de las que mayor ímpetu han recibido en el presente decenio. La microscopia electrónica, gracias a los avances técnicos logrados en la citoquímica de alta resolución, la inmunocitoquímica y el criograbado, ha contribuido en forma significativa al conocimiento de las modificaciones de la superficie de la célula neoplásica. Algunas de las alteraciones ultramicroscópicas más importantes de la superficie celular neoplásica se detallan a continuación.



1. *Izquierda.* Cubierta de mucopolisacáridos de un fibroblasto normal. 120 000 x. *Derecha.* Cubierta de mucopolisacáridos de un fibroblasto transformado por el virus de polioma. 120 000 x.

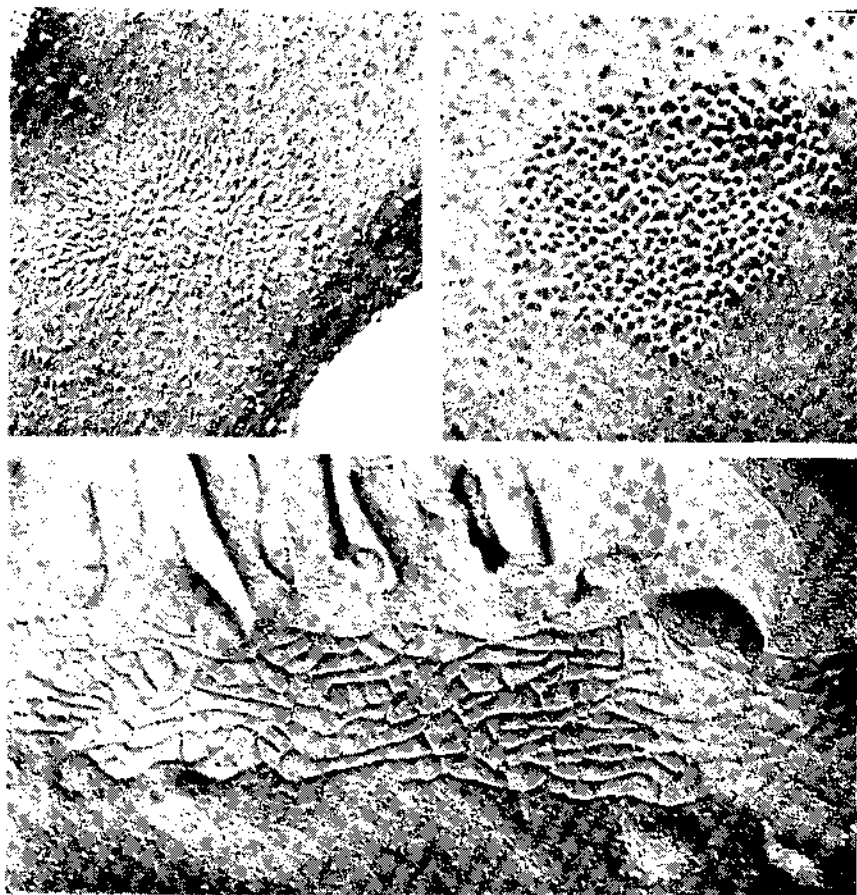
Aumento en mucopolisacáridos de superficie

La primera modificación citoquímica de la superficie de células tumorales fue descrita por Defendi y Gasic en 1964,²⁶ quienes encontraron mediante microscopia de luz, que células de hamster en cultivo transformadas por el virus de poliooma mostraban una gruesa cubierta de mucopolisacáridos ácidos, ausente en las células normales. Esta observación fue comprobada en microscopia electrónica con el empleo de la técnica del rojo de rutenio²⁷⁻²⁹ estudiando células transformadas por los virus SV₁₀ y adenovirus₁₂ (fig. 1). Nuestras observaciones fueron confirmadas en diversas células neoplásicas,³⁰⁻³² mientras en otras, el espesor de la cubierta de mucopolisacáridos no siempre se relaciona con el grado de malignidad de las células.³³⁻³⁵ Mediante el empleo de técnicas físicas³⁶ o electrofisiológicas³⁷ se comprobó claramente el aumento en el espesor de la cubierta celular en diversos tipos de células neoplásicas. Las técnicas mencionadas sugieren que una modificación en la superficie es común a una gran variedad de células neoplásicas, sin indicar específicamente el tipo de componente de superficie implicado. Sin embargo, la abolición de la reacción al rojo de rutenio con la enzima hialuronidasa³⁸ indica

en forma importante que el incremento se debe sobre todo a aumento en mucopolisacáridos no sulfatados del tipo de ácido hialurónico, localizados en la cubierta de la célula neoplásica.

El análisis bioquímico de fracciones de superficie de células normales y transformadas tiende a comprobar la existencia de una modificación en la cubierta de las células neoplásicas. Satoh y col.³⁹ encontraron un aumento considerable en la síntesis de ácido hialurónico en células transformadas por el virus SV₁₀ o por el virus herpes. Cambios similares han sido informados por Makita y Shimoko.⁴⁰ Aun cuando deben realizarse todavía numerosos estudios en los que el aumento en el espesor de la cubierta celular observado al microscopio electrónico coincida con el aumento en la producción de ácido hialurónico en el mismo sistema celular, parece ser que ambas alteraciones están presentes en una gran variedad de células neoplásicas, entre las que se incluyen tumores malignos humanos.⁴¹

El significado de estas modificaciones se desconoce, pero se sabe que variaciones cuantitativas de dichos compuestos pueden modificar las propiedades de adhesividad y de multiplicación celular de cultivos de tejidos.^{42, 43}



2. *Arriba, izquierda.* Desmosoma de célula epitelial. Réplica de criograbado, 120 000 x. *Arriba, derecha.* Unión comunicante (nexus) de células trofoblásticas. Réplica de criograbado, 150 000 x. *Abajo.* Unión hermética de células epiteliales de intestino delgado. Réplica de criograbado, 60 000 x.

Ausencia relativa de uniones intercelulares

La superficie de las células epiteliales normales presenta en las porciones laterales especializaciones membranales llamadas uniones intercelulares, de las que dependen algunas de las funciones de los epitelios. Se distinguen tres tipos básicos de uniones intercelulares: 1) desmosomas (fig. 2 *arriba, izquierda*) que mantienen la cohesión entre células adyacentes, 2) uniones comunicantes (también llamadas nexos) (fig. 2 *arriba, derecha*), que actúan como puentes de comunicación entre células vecinas, a través de los cuales pueden pasar libremente agua, iones y solutos de peso molecular menor a 1 000 daltones, y 3) uniones herméticas (fig. 2 *abajo*) que al obliterar el espacio intercelular lateral actúan como barreras de permeabilidad transepitelial. La microscopia electrónica, aunada a diversos métodos de fisiología celular, ha permitido caracterizar adecuadamente la función y la morfología de estos componentes membranales.⁴⁴⁻⁴⁶

Varias de las propiedades de superficie de las células cancerosas sugerían la existencia de modificaciones en las uniones intercelulares. Así, la disminución en la adhesividad⁴ de ciertos carcinomas podría explicarse por una deficiencia de desmosomas. Los primeros estudios realizados con la microscopia electrónica sugirieron que varios tipos de carcinomas de mamíferos,⁴⁷ así como el carcinoma del cuello uterino humano,⁴⁸ presentan un número reducido de desmosomas. Posteriormente, han aparecido dos estudios cuantitativos en los que se ha estimado con exactitud el número de desmosomas en tejidos normales y neoplásicos. Wiernik y col.⁶ encontraron que el número de desmosomas presente en células de carcinomas cervicouterinos no difiere significativamente del encontrado en las células del cuello uterino normal; sin embargo, la longitud de los desmosomas es menor en las células cancerosas. Recientemente, Weinstein y col.⁴⁹ han observado una correlación estrecha entre el número de desmosomas y las características de malignidad de carcinomas de la vejiga urinaria en humanos, particularmente con el grado de invasividad de los tumores. Mientras mayor es el grado de invasividad del tumor, menor es el número de desmosomas. De confirmarse estas observaciones, el número de desmosomas en carcinomas de células transicionales de la vejiga podría ser un índice adecuado de la futura evolución del tumor. Este solo ejemplo basta para enfatizar el posible interés diagnóstico de la microscopia electrónica en el estudio de las neoplasias malignas y la necesidad de realizar estudios cuantitativos a gran escala, de los cuales solamente han aparecido dos en la literatura mundial.

La evaluación ultramicroscópica de las modificaciones de las uniones herméticas en carcinomas es más

difícil de realizar que la de los desmosomas, ya que la unión hermética puede aparecer estructuralmente normal en cortes finos o en réplicas de criograbado y, sin embargo, su función como barrera de permeabilidad puede estar considerablemente alterada.⁵⁰ Por ello solamente son válidas observaciones en las que se considera la permeabilidad transepitelial de las uniones herméticas de los tumores. El único estudio en el que se ha cumplido este requisito⁴⁷ ha mostrado claramente la ausencia de barreras transepiteliales en carcinomas de piel, hígado y glándula mamaria. En carcinomas de la vejiga urinaria en humanos, las uniones herméticas pierden su continuidad y los componentes membranales disminuyen en número en las formas invasivas del tumor.⁴⁹ La pérdida de uniones herméticas puede significar, además de una reducción en la adhesividad de las células neoplásicas, una pérdida de las barreras transepiteliales y tal vez facilite la ausencia de polaridad celular.⁴⁹ Además, la ausencia de barreras intercelulares facilita probablemente el paso de nutrientes, hormonas e inclusive de carcinógenos, lo cual estimularía el crecimiento del tumor. Una indicación de la posible validez de esta hipótesis es la demostración experimental de modificaciones en la permeabilidad de las uniones herméticas inducidas por inhalación del humo de cigarrillo⁵¹ o por exposición a carcinógenos químicos.⁵²

El tercer tipo de unión intercelular de las células epiteliales, la unión comunicante, o nexos, ha despertado gran interés, ya que la función de comunicación intercelular o de acoplamiento eléctrico que desempeñan estas uniones se encuentra ausente en diversos tipos de carcinomas humanos.⁵³ Dos estudios realizados independientemente^{47, 48} revelaron que varios carcinomas presentan una notable escasez de uniones comunicantes. Posteriormente, en un estudio cuantitativo, McNutt y col.⁵⁴ demostraron que la ausencia relativa de uniones comunicantes se relaciona con el grado de malignidad del carcinoma cervicouterino humano. Esta observación sugería que la falta de dichas uniones podría ser un factor relacionado con la invasividad; sin embargo, también se encontró disminución acentuada de uniones comunicantes en las formas *in situ* del carcinoma cervical, lo que indica que una deficiencia de uniones no necesariamente implica el desarrollo de la propiedad de invasividad de la célula neoplásica.

Durante varios años se ha especulado sobre la posible función de las uniones comunicantes como vías que permiten la existencia de un fenómeno de comunicación intercelular. El hecho de que varios metabolitos puedan desplazarse libremente de célula a célula a lo largo de un epitelio, sin difundir al espacio extracelular, ha hecho pensar en la posibilidad de que

moléculas hipotéticas que regulen el crecimiento y la diferenciación celular se distribuyan uniformemente en los epitelios normales. La pérdida o deficiencia de esta comunicación intercelular en los carcinomas traería por consecuencia una falla en los mecanismos de regulación que actuarían, como se ha mencionado, mediante el flujo transcelular de metabolitos. Así, las células neoplásicas desprovistas de uniones comunicantes, funcionarían como elementos aislados, independientes de las células vecinas y no sujetas al control regulatorio presente en epitelios normales. Aunque esta hipótesis es atractiva, no siempre los tumores sólidos se asocian con pérdida de la comunicación intercelular y con ausencia de uniones comunicantes.^{55, 56}

Aumento en la movilidad de receptores de lectinas

La susceptibilidad que presentan gran número de células neoplásicas a aglutinar en presencia de lectinas del tipo de concanavalina ha sido objeto de numerosos estudios. No existen diferencias en el número de receptores de superficie de concanavalina.⁵⁷ Sin embargo, el análisis ultramicroscópico de la distribución de dichos receptores mediante técnicas citoquímicas específicas^{58, 59} mostró que en las células neoplásicas los receptores tienen una distribución irregular en forma de pequeños agregados, diferente a la distribución uniforme presente en las células normales (fig. 3). Posteriormente, se comprobó que la distribución irregular de receptores de lectinas en las células neoplásicas se debe a la redistribución activa que sufren los receptores en contacto con las lectinas. De ello se ha inferido que la membrana plasmática de la célula cancerosa presenta mayor movilidad de receptores que las células normales. Esta hipótesis está siendo sometida a comprobación experimental en la actualidad.

Disminución en microfilamentos submembranales

La microscopia electrónica ha mostrado la existencia de abundantes haces de microfilamentos submembranales en células epiteliales, endoteliales y fibroblásticas normales. Dichos microfilamentos se unen específicamente con la meromiosina, por lo que se infiere que están constituidos por la proteína actina, presente en las células musculares. Al comparar la distribución ultraestructural de los haces de microfilamentos en cultivos de células normales y transformadas, se encontró que las células neoplásicas muestran una reducción considerable en el número de microfilamentos⁶⁰⁻⁶² (fig. 4). Los microfilamentos en las células normales son particularmente abundantes en las regiones de contacto intercelular y en las regiones anteriores de la

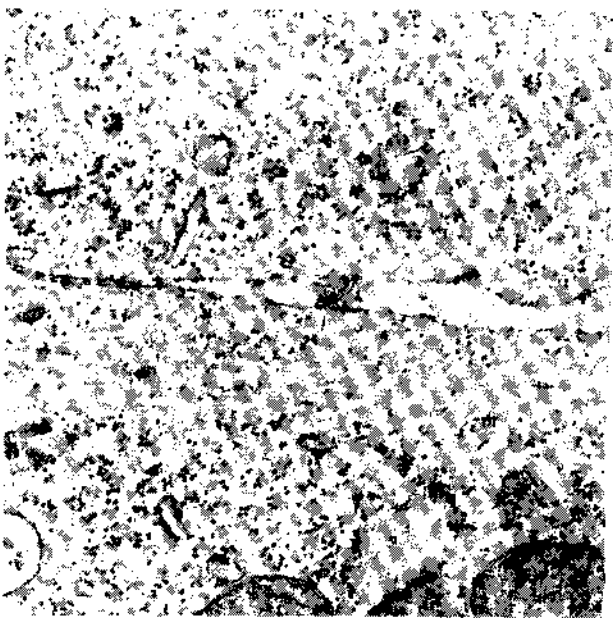
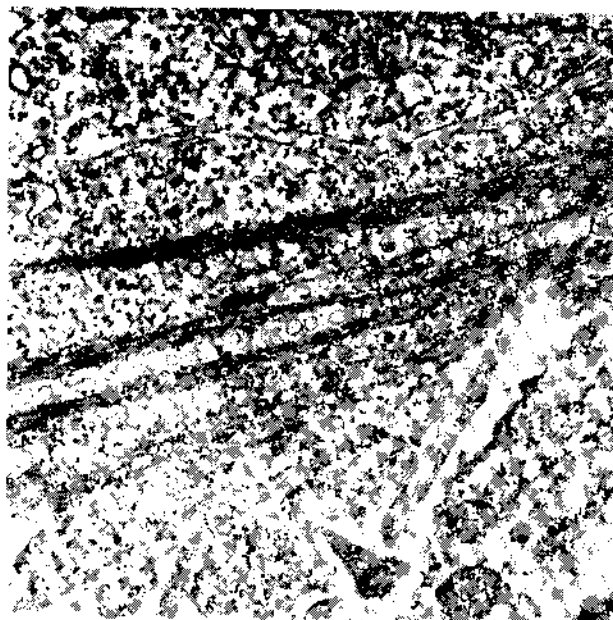


3 Arriba. Distribución uniforme de receptores de concanavalina A en la superficie de un fibroblasto normal. 100 000 x. Abajo. Distribución en agregados de receptores de concanavalina A en la superficie de un fibroblasto transformado por el virus de polio. 100 000 x.

célula en cultivo, de las que depende la motilidad celular. Aun cuando no se ha esclarecido la función de los microfilamentos contráctiles en las células normales, parece ser que están relacionados con la viscosidad del citoplasma y con la reducción de la fluidez de la membrana plasmática, por lo que su ausencia en células transformadas determinaría una mayor movilidad lateral de los componentes de la membrana.

Aumento en el número de partículas intramembranales

La contribución más reciente de la microscopia electrónica al conocimiento de la célula neoplásica ha sido el hallazgo de un aumento en el número de partículas intramembranales revelado con la técnica de criogra-



4 Arriba. Microfilamentos submembranales en un fibroblasto normal. 60 000 x. Abajo. Ausencia de microfilamentos submembranales en el citoplasma de un fibroblasto transformado por el virus de polio. 60 000 x.

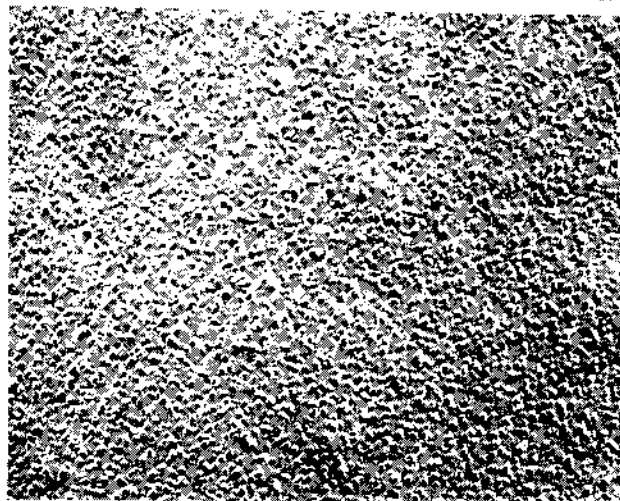
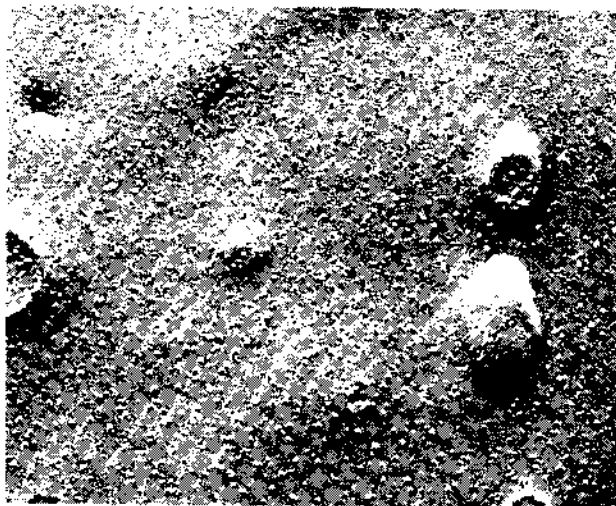
bado⁵⁷⁻⁶⁵ (fig. 5). Las partículas intramembranales representan proteínas globulares de peso molecular elevado que están localizadas en el plano medio, hidrofóbico, de la membrana. El interés del hallazgo de un incremento en partículas intramembranales en células cancerosas deriva de la posibilidad de que dichas partículas representen proteínas involucradas en procesos de transporte membranar, que se encuentran aumentados en la transformación maligna.¹²

En conclusión, la microscopía electrónica no ha revelado alteraciones celulares específicas de la trans-

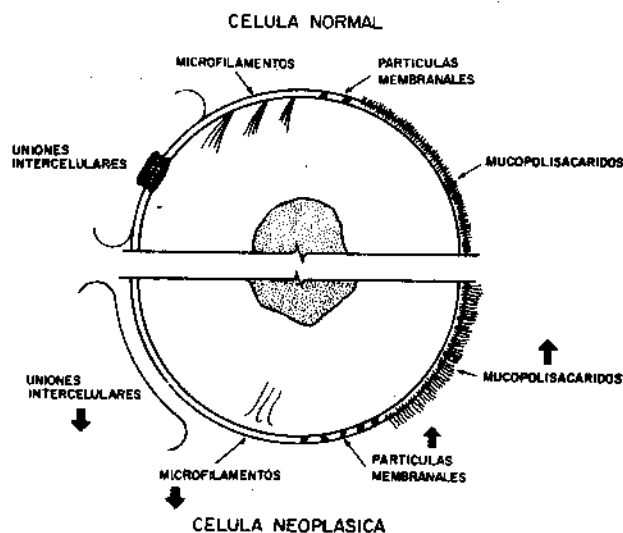
formación maligna. Sin embargo, ha demostrado la existencia de modificaciones ultramicroscópicas de la membrana plasmática, comunes a una gran variedad de tejidos neoplásicos (fig. 6). Es posible que estas observaciones contribuyan al conocimiento de la naturaleza íntima del cambio celular responsable de la transformación neoplásica.

Adolfo Martínez Palomo estudió medicina en la U.N.A.M. y recibió el título de médico cirujano en 1964, al presentar una tesis intitulada "Vascularización de la hipófisis, la suprarrenal y el cuerpo carotideo en el hombre", que mereció mención honorífica. Posteriormente, obtuvo los títulos de maestro en ciencias médicas de la Universidad Queen's, de Canadá, y el de doctor en ciencias médicas en la U.N.A.M. en febrero de 1972, con una tesis sobre las "Modificaciones de la superficie celular en tumores experimentales".

Realizó estudios de postgrado en Canadá durante un año y medio y en Francia en el Institut de Recherches sur le



5 Arriba. Partículas intramembranales en la cara protoplásmica (P) de un linfocito normal. Réplica de criograbado. 80 000 x. Abajo. Densidad elevada de partículas membranales en la cara protoplásmica (P) de una célula leucémica (L5178Y). Réplica de criograbado. 100 000 x.



6 Célula normal y célula neoplásica.

Cancer durante un lapso igual. Al regresar a México se incorporó al Instituto de Investigación y Estudios Avanzados del Politécnico, donde primeramente fue Asesor en Microscopía Electrónica y ahora es Jefe de la Sección de Ultraestructura Celular. Allí mismo ejerce la docencia como profesor titular de Citología y de Estructura y Función Celular en el curso de maestría en ciencias morfológicas.

La lista de sus publicaciones es muy grande, todas de investigación original, 49 artículos y 27 comunicaciones, de las que 63 han aparecido en revistas extranjeras y en 28 de ellas figura como primer autor. En 1973, obtuvo el Premio Hoechst, de la Academia de Medicina y en 1975, el Premio Bayer otorgado por la misma corporación. Antes, en 1967, había obtenido el Premio Internacional para la Investigación Científica, de la Sociedad Heinz-Karger y en 1971 y 1975 el Premio del Fondo para Estimular la Investigación Médico-Farmacológica de México. Ha sido conferencista invitado en varios congresos de patología y otras disciplinas, tanto en México como en Estados Unidos de América, Inglaterra, Italia y Puerto Rico.

El doctor Martínez Palomo ocupa ahora un sitio en la Academia Nacional de Medicina, en el departamento de Biología Médica, área de Histología.

REFERENCIAS

- Bernhard, W.; Bauer, A.; Guérin, M. y Oberling, C.: *Etude au microscope électronique de corpuscules d'aspect viral dans des épithéliomas mammaires de la souris*. Bull. Cancer. 42:163, 1955.
- Bernhard, W.: *Ultrastructure of the cancer cell*. En: *Handbook of molecular cytology*. Lima de Faria, A. (Ed.). Amsterdam, North Holland, p. 687, 1969.
- Dalton, A. J. y Felix, M. D.: *The electron microscopy of normal and malignant cells*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 63:1117, 1956.
- Haguenau, F.: *Ultrastructure of the cancer cell*. En: *The biological basis of medicine*. Bittar, E. E. y Bittar, N. (Eds.). Nueva York, Academic Press, Vol. 5, p. 433, 1969.
- Pérez-Tamayo, R.: *La célula neoplásica*. En: *Patología molecular, subcelular y celular*. México, La Prensa Médica Mexicana, p. 555, 1975.
- Wiernick, G.; Bradbury, S.; Plant, M.; Cowdell, R. H. y Williams, E. A.: *A quantitative comparison between normal*
- Warren, L.: *The malignant cell and its membranes*. Am. J. Path. 77:69, 1974.
- Pollack, R. E., y Hough, P. V. C.: *The cell surface and malignant transformation*. Ann. Rev. Med. 25:431, 1974.
- Coman, D. R.: *Decreased mutual adhesiveness, a property of cells from squamous cell carcinomas*. Cancer Res. 4:625, 1944.
- Aub, J. C.; Tieslau, C. y Lankester, A.: *Reactions of normal and tumor cell surfaces to enzymes. I. Wheat-germ lipase and associated mucopolysaccharides*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 50:613, 1963.
- Burger, M. M.: *A difference in the architecture of the surface membrane of normal and virally transformed cells*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 62:994, 1969.
- Hatanaka, M.: *Transport of sugars in tumor cell membranes*. Biochem. Biophys. Acta. 355:77, 1974.
- Hakomori, S.: *Structures and organization of cell surface glycolipids dependency on cell growth and malignant transformation*. Biochem. Biophys. Acta. 417:55, 1975.
- Warren, L.; Zeidman, I. y Buck, C. A.: *The surface glycoproteins of a mouse melanoma growing in culture and as a solid tumor in vivo*. Cancer Res. 35:2186, 1975.
- Roblin, R.; Iih-Nan, Ch. y Black, P. H.: *Proteolytic enzymes, cell surface changes, and viral transformation*. Ad. Cancer Res. 22:203, 1976.
- Yamada, K. M.; Yamada, S. S. y Pastan, I.: *Cell surface protein partially restores morphology, adhesiveness, and contact inhibition of movement to transformed fibroblasts*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 73:1217, 1976.
- Hynes, R. O.: *Role of surface alterations in cell transformation: The importance of proteases and surface proteins*. Cell 1:147, 1974.
- Emmelot, P. y Benedetti, E. L.: *On the possible involvement of the plasma membrane in the carcinogenic process*. En: *Carcinogenesis, a broad critique*. Baltimore, Williams & Wilkins, p. 472, 1967.
- Ambrose, E. J.: *The surface properties of tumour cells*. En: *Biology of cancer*. 2a. ed. Ambrose, E. J. y Roe, F. J. C. (Eds.). Nueva York, Halsted Press, p. 27, 1975.
- Easty, G. C.: *Cell surfaces in neoplasia*. En: *Neoplasia and cell differentiation*. Basilea, Karger, p. 190, 1974.
- Nicolson, G. L.: *Transmembrane control of the receptors on normal and tumour cells. II. Surface changes associated with transformation and malignancy*. Biochem. Biophys. Acta. 458:1, 1976.
- Martínez-Palomo, A.: *Intercellular junctions in normal and in malignant cells*. Pathobiology Annual 1:261, 1971.
- Schultz, J. y Block, R. E.: *Membrane transformations in neoplasia*. Nueva York, Academic Press, p. 297, 1974.
- Tarin, D.: *Tissue interactions in carcinogenesis*. Nueva York, Academic Press, p. 483, 1972.
- Wallach, D. F. H.: *Membrane molecular biology of neoplastic cells*. Amsterdam, Elsevier, p. 525, 1975.
- Defendi, V. y Gasic, G.: *Surface mucopolysaccharides of polyoma transformed cells*. J. Cellular Comp. Physiol. 62:23, 1964.
- Martínez-Palomo, A. y Brailovsky, C.: *Surface layer in tumor cells transformed by adeno-12 and SV40 viruses*. Virology 34:279, 1968.
- Martínez-Palomo, A.; Brailovsky, C. y Bernhard, W.: *Ultrastructural modifications of the cell surface and intercellular contacts in some transformed cell strains*. Cancer Res. 29:925, 1969.
- Martínez-Palomo, A.: *The surface coats of animal cells*. Int. Rev. Cytol. 29:29, 1970.
- Morgan, H. R.: *Ultrastructure of the surfaces of cells infected with avian leukosis-sarcoma viruses*. J. Virol. 2:1133, 1968.
- Shigematsu, T. y Dmochowski, L.: *Studies on the mucopolysaccharide coat of viruses and transformed cells*. Cancer 31:165, 1973.
- Kilarski, W.: *Some ultrastructural features of the cell surface after transformation and somatic hybridization with normal untransformed cells*. Cancer Res. 35:2797, 1975.
- Dermer, G. B.; Lue, J. y Neustein, H. B.: *Comparison of surface material, cytoplasmic filaments, and intercellular junctions from untransformed and two mouse sarcoma virus-transformed cell lines*. Cancer Res. 34:31, 1974.

34. Temmink, J. H. M. y Spiele, H.: *Ruthenium red staining of normal and transformed murine fibroblasts in vitro*. J. Cell Biol. 61:548, 1974.
35. Sanford, K. K.; Hall, W. T.; Hobbs, B. A. y Hursey, M. L.: *Ruthenium-red staining of paired neoplastic and nonneoplastic mouse cell lines in cultures*. J. Nat. Cancer Inst. 56: 1031, 1976.
36. Hause, L. L.; Pattillo, R. A.; Sances, A. y Mattingly, R. F.: *Cell surface coatings and membrane potentials of malignant and nonmalignant cells*. Science 169:601, 1970.
37. Malluci, L.; Poste, G. H. y Wells, V.: *Synthesis of cell coat in normal and transformed cells*. Nature N.B. 235:222, 1972.
38. Huet, C. y Herzberg, M.: *Effects of enzymes and EDTA on ruthenium red and concanavalin A labeling of the cell surface*. J. Ultrastruct. Res. 42:186, 1973.
39. Satoh, C.; Duff, R.; Rapp, F. y Davidson, E. A.: *Production of mucopolysaccharides by normal and transformed cells*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 70:454, 1973.
40. Makita, A. y Shimoko, H.: *Polysaccharides of SV40-transformed green monkey kidney cells*. Biochem. Biophys. Acta. 304:571, 1973.
41. Kojima, J.; Nakamura, N.; Kanatani, M. y Ohmori, K.: *The glycosaminoglycans in human hepatic cancer*. Cancer Res. 35:542, 1975.
42. Ohnishi, T.; Ohshima, E. y Ohtsuka, M.: *Effect of liver cell coat acid mucopolysaccharide on the appearance of density dependent inhibition in hepatoma cell growth*. Exp. Cell Res. 93:136, 1975.
43. Black, P. H.; Chou, I. N. y Roblin, R.: *Differences in surface membrane components between normal, viral-transformed and revertant cells*. Proc. XI Internat. Cancer Congress. Florencia, Excerpta Medica, p. 119, 1975.
44. Farquhar, M. G. y Palade, G. E.: *Cell junctions in amphibian skin*. J. Cell Biol. 26:263, 1965.
45. McNutt, N. S. y Weinstein, R. S.: *The ultrastructure of the nexus. A correlated thin-section and freeze-cleave study*. J. Cell Biol. 47:666, 1970.
46. Staehelin, L. A.: *Structure and function of intercellular junctions*. Int. Rev. Cytol. 39:191, 1974.
47. Martínez-Palomo, A.: *Ultrastructural modifications of intercellular junctions in some epithelial tumors*. Lab. Invest. 22:605, 1970.
48. McNutt, N. S. y Weinstein, R. S.: *Carcinoma of the cervix. Deficiency of nexus intercellular junctions*. Science 165:597, 1969.
49. Weinstein, R. S.; Merk, F. B. y Alroy, J.: *The structure and function of intercellular junctions in cancer*. Adv. Cancer Res. 23:23, 1976.
50. Martínez-Palomo, A. y Erlij, D.: *Structure of tight junctions in epithelia with different permeability*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72:4487, 1975.
51. Simani, A. S.; Inoue, S. y Hogg, J. C.: *Penetration of the respiratory epithelium of guinea pigs following exposure to cigarette smoke*. Lab. Invest. 31:75, 1974.
52. Hicks, R. M.; Ketterer, B. y Warren, R. C.: *The ultrastructure and chemistry of the luminal plasma membrane of the mammalian urinary bladder; a structure with low permeability to water and ions*. Phil. Trans. R. Soc. Londres. B. 268: 23, 1974.
53. Loewenstein, W. R.: *Cellular communication through membrane junctions*. Arch. Intern. Med. 129:299, 1972.
54. McNutt, N. S.; Herschberg, R. A. y Weinstein, R. S.: *Further observations on the occurrence of nexuses in benign and malignant human cervical epithelium*. J. Cell Biol. 31:805, 1971.
55. Sheridan, J. D. y Johnson, R. G.: *Cell junctions and neoplasia*. En: Molecular pathology. Good, R. A.; Day, S. B. y Yunis, J. J. (Eds.). Springfield, Charles C Thomas, p. 354, 1975.
56. Pinto da Silva, P. y Martínez-Palomo, A.: *Distribution of membrane particles and gap junctions in normal and transformed 3T3 cells studies in situ, in suspension, and treated with concanavalin*. A. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72:572, 1975.
57. Cline, M. J. y Livingstone, D. C.: *Binding of ³H-concanavalin A by normal and transformed cells*. Nature N.B. 232: 155, 1971.
58. Nicolson, G. L.: *Difference in topology of normal and tumour cell membranes shown by different surface distribution of ferritin-conjugated concanavalin A*. Nature N.B. 233:244, 1971.
59. Martínez-Palomo, A.; Wicker, R. y Bernhard, W.: *Ultrastructural detection of concanavalin A surface receptors in normal and in polyoma transformed cells*. Int. J. Cancer. 9: 676, 1972.
60. McNutt, N. S.; Culp, L. A. y Black, P. H.: *Contact-inhibited revertant cell lines isolated from SV40-transformed cells. II. Ultrastructural study*. J. Cell Biol. 50:691, 1971.
61. McNutt, N. S.; Culp, L. A. y Black, P. H.: *Contact-inhibited revertant cell lines isolated from SV40-transformed cells. IV. Microfilament distribution and cell shape in untransformed, transformed, and revertant Balb/c 3T3 cells*. J. Cell Biol. 56:412, 1973.
62. Altenburg, B. C.; Somers, K. y Steiner, S.: *Altered microfilament structure in cells transformed with a temperature sensitive transformation mutant of murine sarcoma virus*. Cancer Res. 36:251, 1976.
63. Torpier, G.; Montagnier, L.; Biquard, J. M. y Vigier, Ph.: *A structural change of the plasma membrane induced by oncogenic viruses: quantitative studies with the freeze-fracture technique*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72:1695, 1975.
64. Montagnier, L. y Torpier, G.: *Membrane changes in virus transformed cells*. Bull. Cancer. 63:123, 1976.
65. González-Robles, A.; Martínez-Palomo, A.; Villa-Treviño, S. y Segura, M.: *Increased density of intramembraneous particles in plasma membranes of murine leukemic cells*. J. Cell Biol. 70:416a, 1976.

COMENTARIO OFICIAL

AMADOR GONZÁLEZ-ÁNGULO *

Me es particularmente grato hacer el comentario al trabajo de ingreso del doctor Adolfo Martínez Palomo. En primer lugar, porque se trata de un tema de amplio interés y de una gran importancia cuando se toma en cuenta el esfuerzo, tiempo y recursos económicos que se han destinado a la investigación de este tipo de problemas, y en segundo lugar, porque el trabajo del doctor Martínez Palomo constituye un ejemplo en donde el esfuerzo y la perseverancia en una disciplina que en nuestro medio es relativamente nueva ha podido ya traducirse en resultados y reconocimiento mundiales. Ello lo atestiguan 18 de sus publicaciones exclusivamente sobre investigación de la morfología ultramicroscópica de las neoplasias que han aparecido en revistas de difusión internacional y que por una de ellas se le haya otorgado el Premio Internacional de Investigación de la Sociedad Karger en el año de 1967.

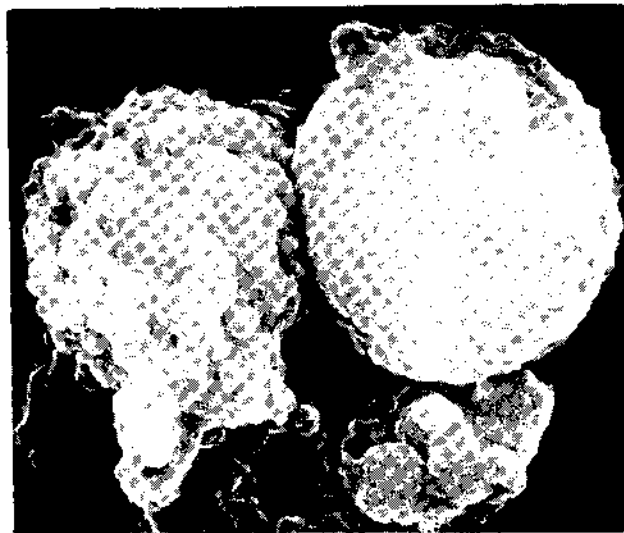
Martínez Palomo hace un análisis de las características ultramicroscópicas de tejidos neoplásicos malignos observados con el rojo de rutenio para señalar el aumento de mucopolisacáridos de superficie, que fundamentalmente son no sulfatados del tipo de ácido hialurónico. Este planteamiento constituye la parte medular de su trabajo, ya que las variaciones cuantitativas de estos compuestos pueden modificar la adhesividad y multiplicación celular de cultivos de tejidos. Destaca el concepto de que las alteraciones principales se encuentran en la membrana celular; esto implica también la presencia de proteasas con actividad similar a la tripsina, como lo ha señalado Gómez Estrada al producir lisis de gelatina alrededor de células aisladas de leucemia granulocítica aguda humana. Estas mismas células muestran una capa muy gruesa y densa al rayo de electrones cuando

* Académico numerario. Departamento de Investigación en Medicina Experimental. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

se marca con peroxidasa de raíz fuerte acoplada al inhibidor del frijol soya. Tales modificaciones de la cubierta celular podrían conferir a estas células propiedades de invasividad, a lo que contribuyen la disminución en el número de desmosomas, la pérdida de continuidad de las uniones herméticas, la reducción en el número de las uniones comunicantes o *nexus* y la pérdida de microfilamentos submembranales señaladas por Martínez Palomo. Con el empleo de las técnicas de criofractura y criograbado se muestra que existe un aumento de partículas probablemente correspondientes a proteínas globulares de alto peso molecular, que han sido incorporadas a la membrana plasmática y pueden representar un aumento en la actividad de transporte transmembranal, modalidad seguramente característica de la célula neoplásica.

Estos datos, apenas comunicados en el I Congreso Internacional de Biología Celular en septiembre de 1976, ponen de manifiesto la inquietud y espíritu inquisitivo del nuevo académico en los problemas básicos de la investigación de la célula neoplásica. Cabe señalar aquí que gracias al establecimiento de líneas celulares aisladas de tejidos neoplásicos humanos y de líneas celulares malignas inducidas por agentes químicos y virales en el animal experimental, se han iniciado ya estudios con microscopio electrónico de barrido con el fin de conocer las características topográficas de las células malignas. Tales estudios, realizados en carcinomas epidermoides, carcinoma del pulmón, melanoma maligno, rhabdomyosarcoma y glioblastomas, indican que existe un grado muy variable de actividad en la superficie celular manifestada por aumento en el número de microvellosidades y rugosidades, así como de vesículas en la superficie externa de estas neoplasias; dichas características han sido interpretadas como una manera mediante la cual la célula aumenta la incorporación de metabolitos. La figura 1 muestra dos células blásticas de un caso de leucemia granulocítica crónica, que fueron tratadas para microscopia electrónica de barrido, en donde se observan microvellosidades y rugosidades que no aparecen en el material testigo.

De gran importancia es el aspecto práctico que puede derivarse de la caracterización a nivel ultramicroscópico de la célula tumoral. Aun cuando las diferencias entre células normales y células neoplásicas son menos aparentes con microscopia electrónica que con microscopia de luz, sí existen datos útiles en la identificación de algunos tumores de difícil diagnóstico con microscopia óptica convencional. La persistencia o la síntesis de orgánulos citoplásmicos en ciertas células neoplásicas, que no son visibles con microscopio de



1 Células blásticas.

luz, permite identificar la naturaleza del tumor. La presencia de melanosomas, por ejemplo, en un tumor maligno muy anaplásico establece el diagnóstico de melanoma; el hallazgo de cuerpos raquetoides en células neoplásicas señala que el tumor es de origen histiocitario; la observación de gránulos de secreción con características especiales solamente vistas con el microscopio electrónico puede inclinar el diagnóstico hacia un tumor carcinoide o un tumor de islotes pancreáticos, o bien tumores derivados de órganos quimiorreceptores o de neoplasias productoras de catecolaminas. La presencia de un retículo endoplásmico rugoso muy desarrollado desenmascara a una célula plasmática de un mieloma múltiple. Los tonofilamentos y desmosomas en un tumor muy anaplásico apuntan hacia un carcinoma y no hacia un sarcoma.

Destacado investigador en nuestro país y autor de numerosos trabajos científicos de una gran calidad, ingresa a la Academia Nacional de Medicina Adolfo Martínez Palomo. A nombre de esta Academia tengo el honor de darle la más cordial bienvenida, haciendo votos porque su fructífera labor continúe en igual forma en el seno de nuestra corporación.