

COMUNICACIONES

"ESTUDIO MICROESPECTROFOTOMETRICO DEL ADN EN CONDROMAS Y CONDROSARCOMAS"

Tumor - Estudio microespectrofotométrico del ADN

DRES. F. SCHAJOWICZ, I. B. GIMÉNEZ, C. J. CONTI
y R. L. CABRINI (*)

INTRODUCCION

Durante la última década, mediante el uso de la microespectrofotometría, se han realizado estudios sistemáticos del ADN (ácido desoxiribonucleico) en núcleos de gran cantidad de procesos patológicos malignos y premalignos.

De acuerdo a los trabajos de Atkin, Sandritter y otros, las variaciones de la distribución del ADN nuclear están en estrecha relación con la atipia celular, que es a su vez considerada como índice de malignidad. De esta forma se podría llegar a una determinación de la malignidad de un proceso analizando cuantitativamente el ADN celular, lo que evitaría errores subjetivos al que podría inducir el simple estudio citomorfológico del proceso. Este tipo de estudios fueron efectuados en varios procesos tumorales malignos, fundamentalmente en tumores del sector ginecológico con resultados halagüeños. (1, 2, 3, 4, 5)

No hemos encontrado en la bibliografía referencias sobre estudios de esta naturaleza en tumores del esqueleto. Las dificultades diagnósticas diferenciales entre tumores benignos y malignos de la serie cartilaginosa nos ha inducido a efectuar la medida histofotométrica del ADN de los núcleos de las células cartilaginosas.

MATERIALES Y METODOS

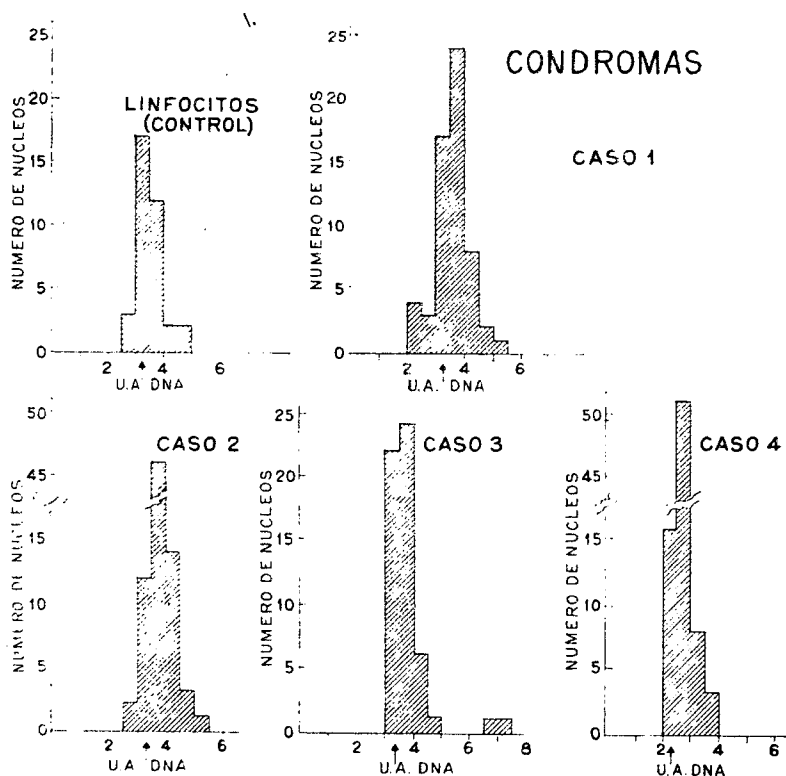
Se estudiaron seis casos de condrosarcomas y cuatro condromas provenientes del Registro Latinoamericano de Patología Ósea dirigido por uno de nosotros (F. S.), cuyos datos se observan en la Tabla I.

(*) Registro Latinoamericano de Patología Ósea, Hospital Italiano y Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica.

Todos los casos fueron fijados en formol y procesados de acuerdo a las técnicas de rutina para la inclusión en parafina, efectuando cortes histológicos que se colorearon con hematoxilina y eosina. Para la demostración del ADN se realizó la reacción de Feulgen en cortes de 20 micrones con una hidrólisis en CLH 5N de 35 minutos. Previamente se efectuó la determinación del tiempo óptimo de hidrólisis en una serie de cortes del mismo material.

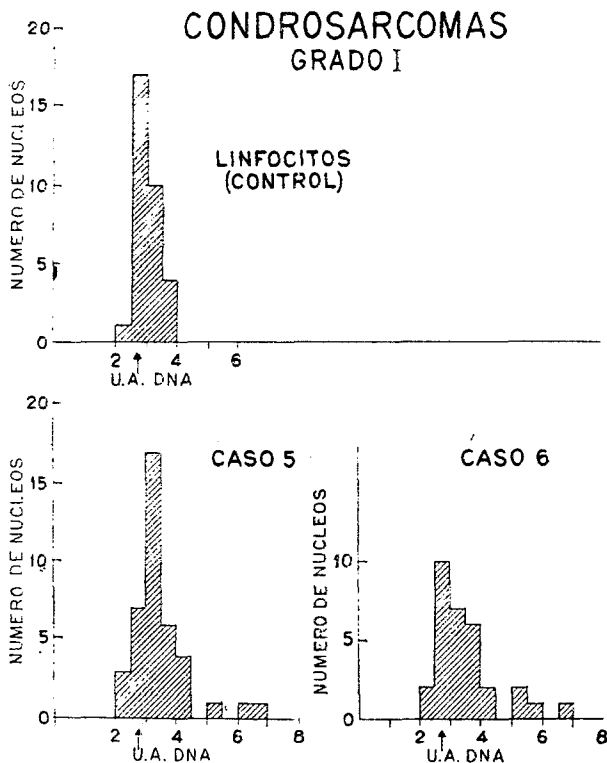
La cuantitación microespectrofotométrica se realizó utilizando el método de Scanning en un microespectrofotómetro Cytoscan Zeiss con platina automática realizando el barrido total de cada núcleo con un número aproximado de 25 a 50 "spot" de 1μ cada uno.

Los resultados, en unidades arbitrarias, fueron graficados en histogramas de frecuencia. Como control del valor diploide, se cuantificó el ADN de linfocitos presentes en los mismos cortes histológicos.



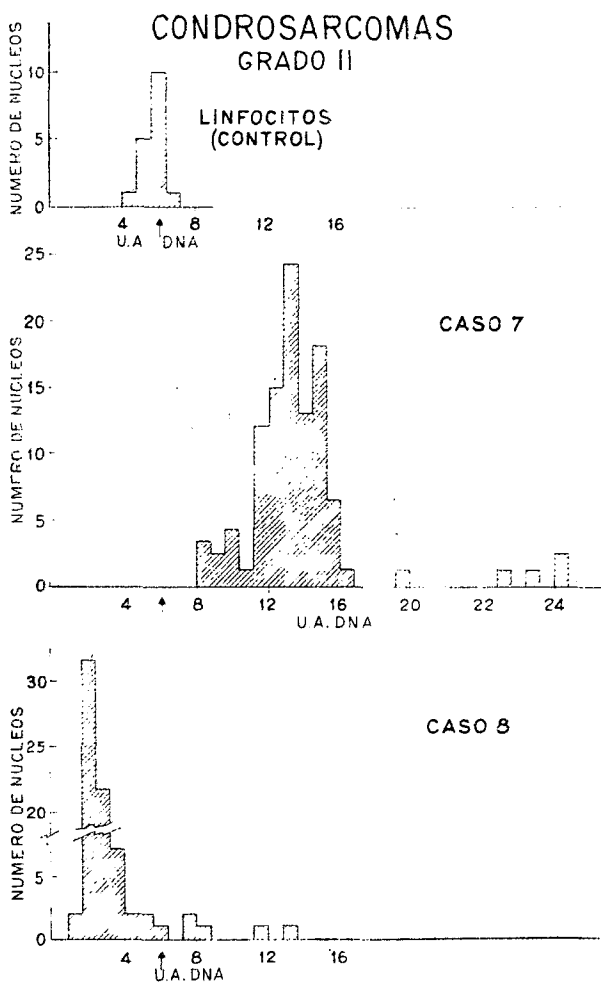
RESULTADOS

En la figura Nº 1 se presentan en forma conjunta los histogramas correspondientes a los casos de condromas. En ellos se observa un solo pico modal con poca dispersión de valores y coincidiendo dicho pico con el determinado por los linfocitos tomados como control diploide.

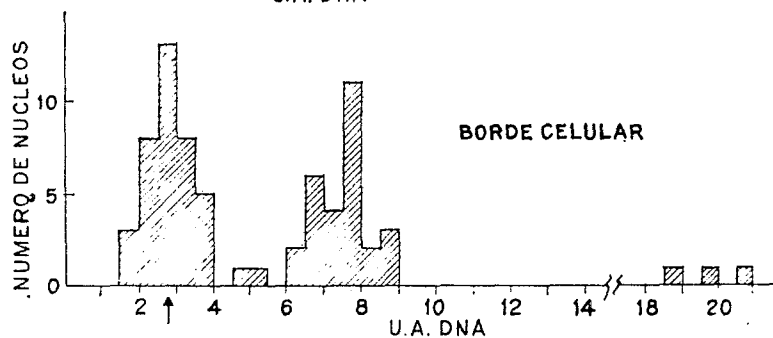
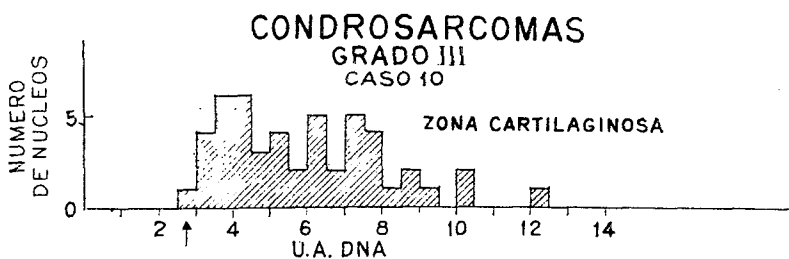
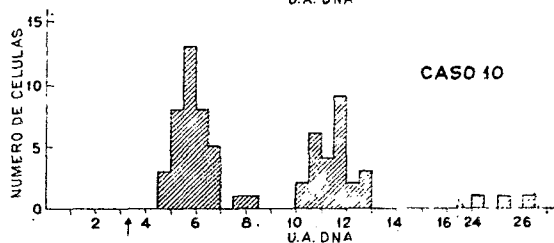
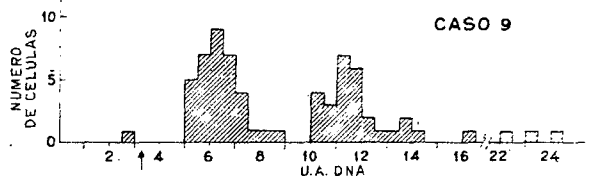
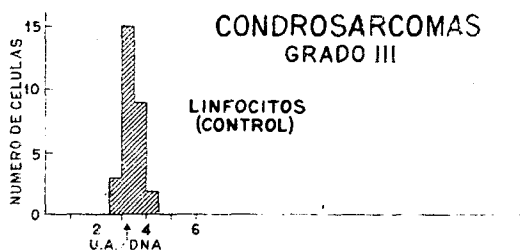


Las figuras Nos. 2, 3 y 4 representan los histogramas de los condrosarcomas agrupados según el grado de malignidad histológica, es decir, bajo grado (grado I), mediano grado (grado II) y alto grado (grado III). Los de bajo grado presentaron un valor modal igual al de los linfocitos controles, pero en estos casos, a diferencia de los condromas, los histogramas presentaron una asimetría de valores hacia la derecha, es decir que en estos tumores existe un porcentaje de células mayor en el rango diploide-tetraploide (células en proliferación).

Los condrosarcomas de mediano grado presentaron un valor modal diferente al de los linfocitos, manteniendo la asimetría a la derecha como en el caso anterior.



Por último, los condrosarcomas de grado III (alto grado) presentaron dos picos modales bien definidos, uno en el rango tetraploide con respecto a los linfocitos (es decir dos veces mayor) y el otro en el valor doble con respecto al primero (cuatro veces mayor que los linfocitos).



En el caso N° 10 fueron graficados separadamente la zona muy celular del borde de los nódulos y la zona cartilaginosa con núcleos necrobióticos y condroplastos grandes. Se observa para el borde celular, histogramas como los ya descriptos para los condrosarcomas de grado III, en cambio los histogramas de la zona cartilaginosa necrobiótica presentaron dispersión de los valores y mal definidos picos modales.

DISCUSION

Son bien sabidas las dificultades de diagnóstico diferencial entre el condroma y el condrosarcoma de bajo grado de malignidad, o sea bien diferenciado, desde el punto de vista clínico; radiológico e histopatológico. Debe recurrirse a un estudio citológico de numerosas zonas para detectar los aspectos histológicos que permitan diferenciar ambos procesos, en especial la presencia de células con núcleos globulosos, hipercromáticos o de células con 2 ó más núcleos, los que son índice de malignidad.

Con el fin de detectar con mayor seguridad el equivalente de esas diferencias morfológicas hemos realizado el estudio de una serie de casos benignos y malignos utilizando la cuantificación microespectrofotométrica del ADN.

Nos hemos basado en la experiencia obtenida con esta metodología en otros tipos de tumores en los cuales ha sido estudiado previamente con resultados alentadores aunque no todavía definitivos, especialmente en tumores del aparato genital femenino. (6, 7, 8)

Los resultados obtenidos en nuestro estudio a pesar de estar basado en un número limitado de casos, han sido de interés para diferenciar los procesos malignos y benignos y lo que es más importante entre benignos y de bajo grado de malignidad. Esto podría constituir un avance importante en el diagnóstico de estos procesos.

Como dato de interés práctico, ha sido interesante el comportamiento del ADN en relación a la localización dentro de los nódulos de crecimiento tumoral. En efecto, la distribución típica se encontró solo en las zonas corticales que representan áreas en crecimiento y con buen aporte nutritivo; las zonas centrales mostraron una dispersión de posible causa necrobiótica que oscurece el verdadero comportamiento celular.

Nos proponemos continuar este tipo de investigación en un número mayor de casos de tumores cartilaginosos y en otros procesos tumorales del esqueleto y partes blandas donde se

TABLA 1

Caso No	Sexo	Edad	Localización	Diagnóstico
1	M	4	Mano. 5º dedo. 1ª falange	Condroma
2	F	33	Mano. Dedo índice. 1ª falange	Condroma
3	F	25	Mano. Dedo índice. 2ª falange	Condroma
4	F	12	Mano. 1ª falange	Condroma múltiple
5	F	37	Pubis	Condrosarcoma Grado I
6	M	41	Región escapular	Condrosarcoma Grado I
7	M	18	Fémur, tercio superior	Condrosarcoma Grado II
8	F	38	Esternón	Condrosarcoma Grado II
9	F	31	Cabeza de húmero. Escápula	Condrosarcoma Grado III
10	M	15	Fémur, tercio superior	Condrosarcoma Grado III

presentan similares dificultades diagnósticas, con el objeto de obtener valores que tengan en el futuro un valor estadístico significativo.

RESUMEN

Con el fin de evaluar la posibilidad de establecer el grado de malignidad de tumores de la serie cartilaginosa por medio de la histofotometría del ADN hemos efectuado el estudio de una serie de 4 condromas y 6 condrosarcomas de diferente grado de malignidad, comparando los resultados con el análisis histopatológico.

Hemos podido demostrar que existe una evidente correlación entre los resultados del estudio histofotométrico y el grado de malignidad de los procesos analizados.

SUMMARY

In order to establish the grade of malignancy of cartilage tumors, DNA histophotometric study of series of 4 chondromas

and 6 chondrosarcomas of different grade of malignancy has been performed, comparing the results obtained with the histopathological features. An evident correlation of both methods has been demonstrated.

BIBLIOGRAFIA

1. *Atkin, N. B. and B. M. Richards*: Deoxyribonucleic acid in human tumors as measured by microspectrophotometry of Feulgen Stain. A comparison of tumors at different sites. *Brit. J. Cancer*, 10: 769-786, 1956. — 2. *Atkin, N. B.; B. M. Richards and A. J. Ross*: The deoxyribonucleic acid content of carcinoma of the uterus: an assessment of its possible significance in relation to histopathology and clinical course, based on data from 165 cases. *Brit. J. Cancer*, 13: 773-787, 1959. — 3. *Sandritter, W.; M. Carl and N. Ritter*: Cytophotometric measurements of the DNA content of human malignant tumors by means of the Feulgen reaction. *Acta Cytol.*, 10: 26-30, 1966. — 4. *Inui, N.*: DNA content of human tumor cell nucleus: a study of fibroadenoma and carcinoma of the breast. *Gann.*, 58: 297-304, 1967. — 5. *Atkin, N. B. and M. C. Baker*: Possible differences between the karyotypes of preinvasive lesions and malignant tumors. *Brit. J. Cancer*, 23: 329-336, 1969. — 6. *Thiery, M.*: Deoxyribonucleic acid content of the nuclei in cervicovaginal epithelium. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 84: 1809-1815, 1962. — 7. *Sandritter, W., B. L. Lobel and B. Kieffer*: Photometric cytodiagnosis of vaginal smears. *J. Nat. Cancer Inst.*, 32: 1221-1229, 1964. — 8. *Hrushovetz, S. B.*: Two wavelength Feulgen cytophotometry of cells exfoliated from the uterine cervix. *Acta Cytol.*, 13: 583-594, 1969.