

Original

Ultraestructura del carcinoma bronquioloalveolar de pulmón. Estudio de 17 casos

A. Santos-Briz, M.A. Martínez y M.T. Sotelo

Departamento de Anatomía Patológica, Hospital 12 de Octubre, Madrid.

SUMMARY

Introduction: Bronchioloalveolar carcinoma is divided into three types: mucinous, nonmucinous and mixed. Under electron microscopy it can be seen to consist of mucinous cells, Clara cells, ciliated cells, type II pneumocytes and indeterminate cells of uncertain significance. Material and methods: We compared light microscopic and ultrastructural features of 17 bronchioloalveolar carcinoma. Results: On light microscopy four cases were seen to be mucinous, 11 were nonmucinous and two were mixed. On electron microscopy all four mucinous-cell tumors showed mucinous differentiation and the two mixed-cell tumors revealed a mixture of mucinous and Clara cells (one case with many indeterminate cells and type II pneumocytes), Of the 11 nonmucinous tumors, seven consisted of Clara cells (four cylindrical and three cube-shaped), two consisted of mucinous cells, one showed a mixture of Clara and mucinous cells and one consisted wholly of indeterminate cells and type II pneumocytes. Conclusions: Indeterminate cells are related to type II pneumocytes and have a close similarity to cube-shaped Clara cells. This suggests that some bronchioloalveolar carcinomas may have their origin in these cells. Rev Esp Patol 2001; 34(4): 303-310.

Key words: Bronchioloalveolar carcinoma - Ultrastructure

RESUMEN

Introducción: El carcinoma bronquioloalveolar (CBA) se divide en mucinoso, no mucinoso y mixto. En microscopía electrónica (ME) muestra células mucinosas (CM), de Clara (CC), ciliadas, neumocitos tipo II (FN) y células indeterminadas (CI) de significado incierto. Material y métodos: Comparamos la microscopía óptica con la ultraestructura en 17 casos de CBA. Resultados: Por microscopía óptica, 4 casos eran de tipo mucinoso, 11 no mucinosos y 2 mixtos. Por ME, los 4 casos mucinosos mostraban diferenciación mucinosa y los 2 mixtos una mezcla de CC y CM (uno con abundantes CI y PN), De los 11 casos no mucinosos, 7 mostraban diferenciación hacia CC (4 de tipo cilíndrico y 3 cúbicas), 2 mucinosa, otro mixta y el último exclusivamente CI y FN. Conclusiones: Las CI se encuentran en relación con PN y tienen cierta similitud con las CC cúbicas, lo que sugiere que pudieran ser el origen de algunos CBA. Rev Esp Patol 2001; 34(4): 303-310.

Palabras clave: Carcinoma bronquioloalveolar - Ultraestructura

INTRODUCCIÓN

El patrón de crecimiento bronquioloalveolar es una forma de extensión de neoplasias en el pulmón por vía aerógena que tapiza las paredes bronquiolares y alveolares.

Aunque en el momento de su descripción se suscitó una controversia en tomo al origen de estos tumores (1, 2), pronto se reconoció una forma primaria de tumor con crecimiento bronquioloalveolar que se denominó carcinoma bronquioloalveolar (CBA) y se sugirió que tendría su origen en las células de Clara bronquiolares o en los neumocitos tipo II (3, 4). Los estudios de microscopia electrónica del CBA han mostrado una mezcla de células mucinosas, células de Clara, neumocitos tipo II, células ciliadas y elementos epiteliales sin rasgos específicos (4-11). Sin embargo, aún existe cierta polémica respecto al significado de las células sin rasgos definidos (9) y de los neumocitos tipo II aislados en tumores mayoritariamente constituidos por otros tipos celulares (4). El presente trabajo revisa la diferenciación ultraestructural en 17 casos de carcinoma bronquioloalveolar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han revisado todos los tumores con patrón de crecimiento bronquioloalveolar del archivo de la sección de microscopia electrónica del Hospital 12 de Octubre de Madrid.

Los criterios diagnósticos de carcinoma bronquioloalveolar fueron los siguientes:

- a) Tumoración pulmonar periférica sin evidencia de tumores en otras localizaciones en el momento del diagnóstico.
- b) Proliferación de la neoplasia tapizando las paredes alveolares, sin evidencia de otras formas de crecimiento invasor. Se aceptaron dos casos (casos 2 y 9) en los que existía una mínima afectación pleural porque se trataba de nódulos muy grandes (5 y 6 cm, respectivamente) y porque la afectación pleural sólo mostraba una mínima reacción desmoplásica, mientras que el resto de tumores eran estrictamente bronquioloalveolares.

El material para estudio histológico se fijó en formalina y se incluyeron en parafina zonas representativas del tumor, el borde de resección bronquial y la zona de pleura más próxima a la tumoración. Los cortes se tiñe-

ron con hematoxilina y eosina y, cuando se consideró necesario, se realizaron técnicas de PAS.

Para estudio ultraestructural, se tomaron bloques de 1 mm³ de material en fresco, se fijaron inmediatamente en reactivo de Karnovsky y se incluyeron en Epon 12, siguiendo la técnica estándar. Cortes semifinos de 1 µm de espesor se tiñeron con azul de toluidina y se seleccionaron zonas representativas para cortes ultrafinos de 40 a 80 nm, que se contrastaron por el método de Reynolds. Se descartaron aquellos casos en los que los cortes semifinos no mostraron patrón bronquioloalveolar similar a la imagen correspondiente de microscopia óptica.

CRITERIOS ULTRAESTRUCTURALES DE DIFERENCIACIÓN

Los criterios ultraestructurales de diferenciación celular en relación con el CBA fueron los habitualmente admitidos en la literatura (9, 12). Aparte de los signos de diferenciación epitelial (presencia de complejos de unión, desmosomas y membrana basal), se consideraron los siguientes hallazgos como signos de diferenciación específica:

- I. Células de Clara:
 - 1.1. Células cilíndricas.
 - 1.2. Proyecciones bulbosas en la superficie luminal.
 - 1.3. Ausencia de microvellosidades de tipo enteroide.
 - 1.4. Gránulos secretores moderadamente electrodensos, de 500 a 1500 nm de diámetro, con o sin estructura intema.
2. Células mucinosas:
 - 2.1. Forma cilíndrica.
 - 2.2. Microvellosidades de tipo enteroide.
 - 2.3. Gránulos de secreción de tipo mucinoso más que ocasionales.
3. Neumocitos tipo II:
 - 3.1. Forma cilíndrica u ovoide.
 - 3.2. Abundantes cuerpos mielinoideos.

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra un resumen de los datos clínicomorfológicos. Se han estudiado 17 tumores correspondientes a 17 pacientes de edades comprendidas entre los 49 y los 79 años, con una mediana de 66 años. Diez eran varones y siete mujeres. No se detectó preferencia por

Tabla 1. Hallazgos clinicomorfológicos.

N° caso	Edad (años)	Sexo	Localización	N° de nódulos	Diámetro del nódulo mayor	Tipo histológico	Tipo ultraestructural	Afectación pleural
1	67	M	LII	1	3 cm	Mucinoso	Mucinoso	No
2	67	M	LSI	1	5 cm	Mucinoso	Mucinoso	Sí
3	62	H	LII	Múltiples	5 cm	Mucinoso	Mucinoso	No
4	72	M	LII	1+satélites	5 cm	Mucinoso	Mucinoso	No
5	66	H	LSD	1	3 cm	Mixto	Mixto+CI+N2	No
6	65	H	LID	1	4 cm	Mixto	Mixto	No
7	49	H	LID	1	3 cm	No mucinoso	C. de Clara cilíndricas	No
8	76	H	LSD	1	2 cm	No mucinoso	C. de Clara cúbicas	No
9	56	H	LII	1	6 cm	No mucinoso	C. de Clara cilíndricas	Sí
10	50	H	LID	1	3 cm	No mucinoso	C. de Clara cilíndricas	No
11	71	M	LSI	1	2cm	No mucinoso	C. de Clara cúbicas	No
12	54	H	LSI	Difuso	-	No mucinoso	C. de Clara cilíndricas*	No
13	72	H	LID	2	7 cm	No mucinoso	Mucinoso	No
14	59	M	LSD	1	3 cm	No mucinoso	C. de Clara cúbicas	No
15	50	M	LID	1+satélites	3 cm	No mucinoso	Mucinoso	No
16	79	H	LSD	1	3 cm	No mucinoso	Mixto	No
17	70	M	LMD LID	2	7 cm	No mucinoso	CI+N2	No

H: hombre; M: mujer; LSI: lóbulo superior izquierdo; LII: lóbulo inferior izquierdo; LSD: lóbulo superior derecho; LMD: lóbulo medio derecho; LID: lóbulo inferior derecho; CI: células indeterminadas; N2: neumocitos tipo II. *Las células tenían abundante glucógeno.

ninguna localización específica en el pulmón. En once casos se trataba de un nódulo único, dos casos tenían un nódulo mayor y numerosos nódulos satélites pequeños alrededor. En dos casos se evidenciaron dos nódulos tumorales, en otro caso eran múltiples y en otro más se observó una afectación difusa del lóbulo superior del pulmón izquierdo. El nódulo predominante en cada paciente variaba entre 2 y 7 cm.

Hallazgos histológicos

Cuatro casos fueron clasificados como mucinosos, once se diagnosticaron de no mucinosos y en dos se demostró histológicamente un patrón mixto.

Hallazgos ultraestructurales

Ultraestructuralmente, se detectaron cuatro tipos de células: células mucinosas, células de Clara (con dos varian-

tes cilíndricas altas y cúbicas), neumocitos tipo II y células sin gránulos de secreción que se clasificaron como indeterminadas. Estas eran cúbicas o cilíndricas, sin gránulos diagnósticos y, a veces, tenían proyecciones bulbosas lumenales similares a las de las células de Clara.

Correlación óptica y ultraestructural

Ultraestructuralmente, los cuatro casos con diferenciación mucinosa estaban compuestos casi exclusivamente por células de este tipo (Fig. 1).

Los dos casos de patrón histológico mixto estaban compuestos por células mucinosas y células de Clara, pero en uno de ellos se encontraban áreas de células indeterminadas, alternando con frecuentes neumocitos tipo II, sin que se pudiese descartar que fueran atrapados (Fig. 2).

Los once casos de patrón histológico no mucinoso mostraban un aspecto ultraestructural variable: siete ca-

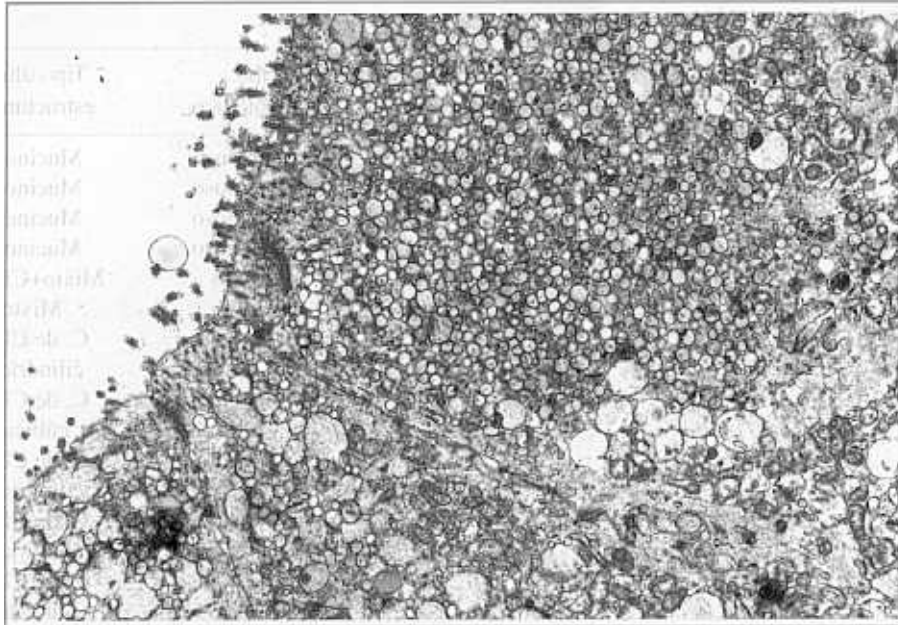


Figura 1. Células mucinosas con abundantes gránulos de secreción y vellosidades enteroides en superficie (ME, $\times 13.500$).

Los casos estaban constituidos casi exclusivamente por células de Clara; en tres casos eran cilíndricas altas (Fig. 3) –en uno de ellos, con grandes lagos glucogénicos (Fig. 4)–, y en cuatro cúbicas, con escasas proyecciones bulbosas de los citoplasmas a la luz y sólo reconocibles por los gránulos característicos con imágenes en huella dactilar (Fig. 5).

Dos casos mostraban diferenciación mucinosa a nivel ultraestructural, aunque con menos gránulos de secreción y menos microvellosidades enteroides.

El décimo caso presentaba un patrón mixto de células de Clara y mucinosas.

En el último caso se apreciaban exclusivamente células cúbicas irregulares, a veces con proyecciones bulbo-

107

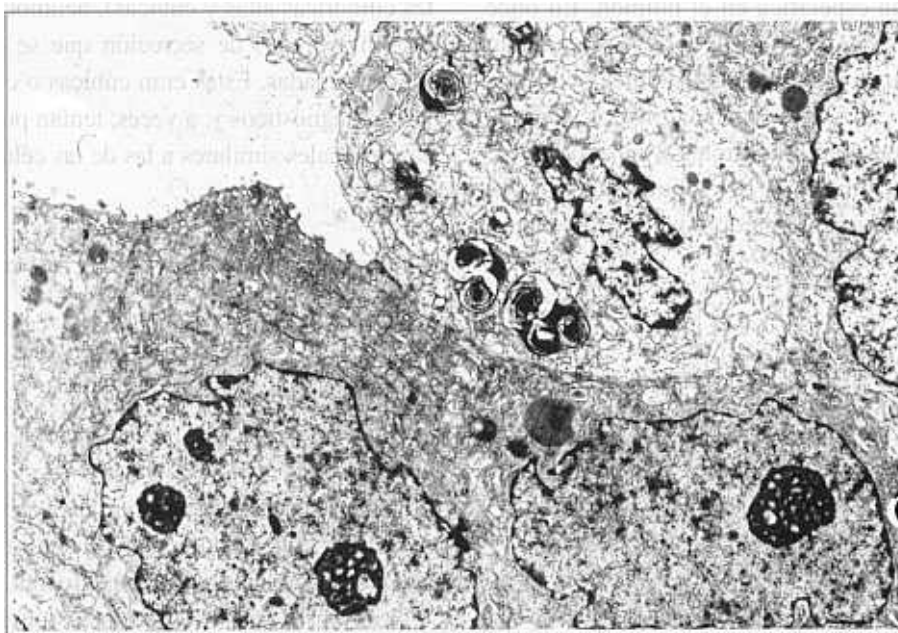


Figura 2. Células cúbicas indeterminadas entre las que aparece un neumocito tipo II (ME, $\times 8500$).

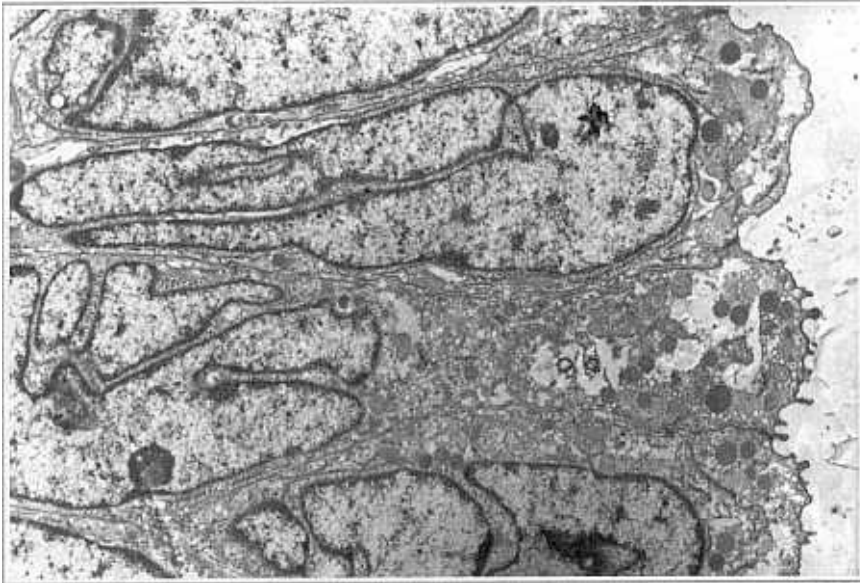


Figura 3. Células de Clara cilíndricas con proyecciones bulbosas en superficie y gránulos apicales (ME, $\times 5500$).

sas, pero sin gránulos secretores suficientemente diagnósticos. En algunas de estas células eran frecuentes las inclusiones tubulares intranucleares (Fig. 6).

DISCUSIÓN

Probablemente, la primera descripción del carcinoma bronquioloalveolar se deba a Malassez (13). Sin embar-

go, el término carcinoma bronquioloalveolar fue acuñado por Liebow en 1960 (14) para describir un tumor que se extendía por los espacios bronquioloalveolares con poca o ninguna capacidad de infiltración. Los primeros trabajos sobre la ultraestructura se atribuyen a Adamson (15). Posteriormente se han publicado estudios ultraestructurales extensos (4-12, 16, 17), que señalan como origen de estos tumores las células de Clara o los neu-

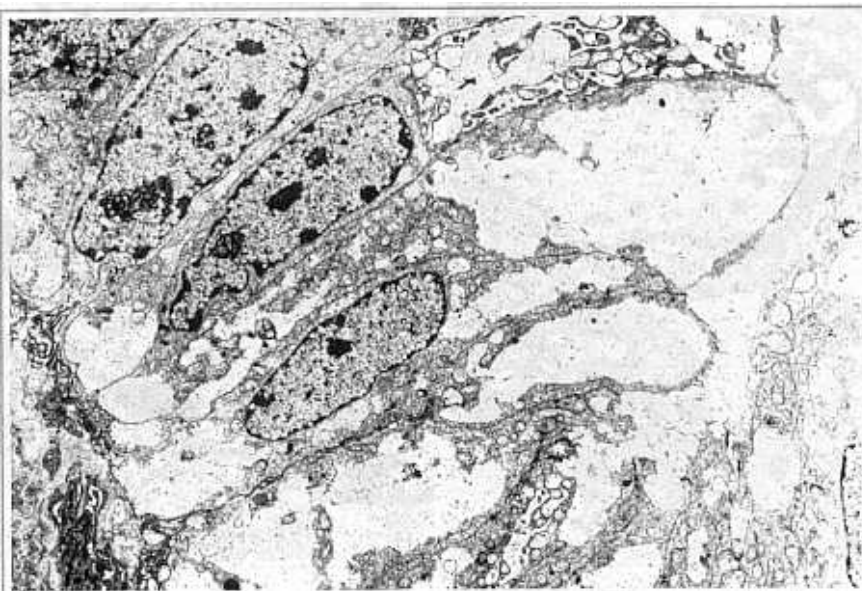


Figura 4. Células de Clara con las organelas citoplásmicas desplazadas por grandes lagos de glucógeno (ME, $\times 5500$).

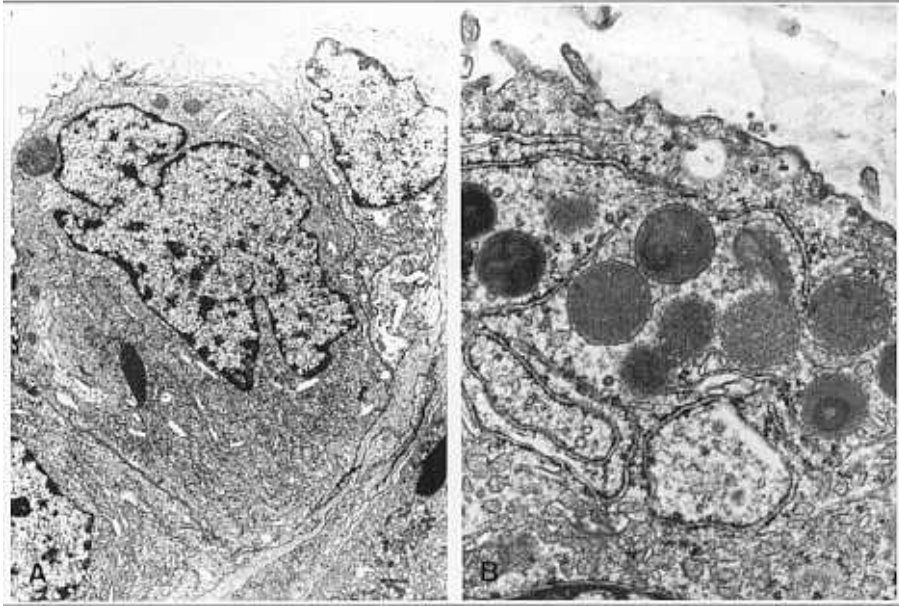


Figura 5. a) Células de Clara cúbicas con ocasionales gránulos de secreción (ME, $\times 8500$). b) Detalle del citoplasma de otra célula de este tipo con gránulos más abundantes con estructuras laminares características (ME, $\times 21.500$).

mocitos tipo II. Otros trabajos se han centrado en detalles específicos como la detección de secreción anfícria (18) o la presencia de células mioepiteliales (19).

En el momento actual, el CBA se define como un adenocarcinoma con patrón de crecimiento bronquioloalveolar puro, sin evidencia de invasión estromal, vascular o pleural (20); aunque, cuando se encuentra un

componente invasor, se acepta el término de adenocarcinoma mixto, subtipo bronquioloalveolar.

Se aceptan tres subtipos de CBA: no mucinosos, que se suponen compuestos por células de Clara o neumocitos tipo II; mucinosos, formados por células columnares altas con una cantidad variable de mucina citoplásmica, y mixtos, en los que se reconocen ambos tipos celulares.

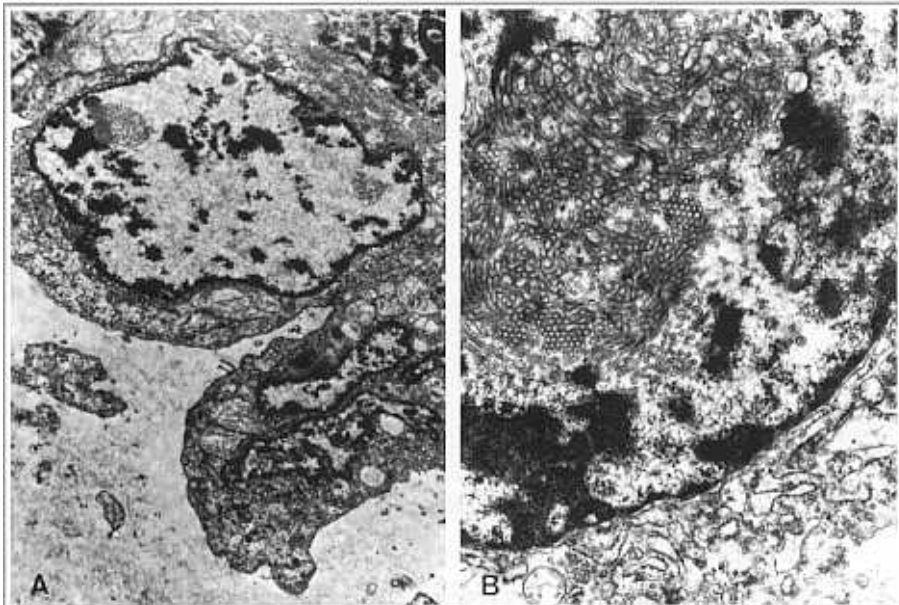


Figura 6. a) Células indeterminadas con protrusión luminal de los citoplasmas pero sin gránulos característicos (ME, $\times 6500$). b) Detalle de otra célula en el mismo caso; inclusiones tubulares intranucleares (ME, $\times 19.000$).

Los estudios ultraestructurales muestran diversidad celular en este tipo de tumores (9). Se encuentran células mucinosas, células de Clara, neumocitos tipo II, células ciliadas y elementos sin rasgos específicos. Siempre debe tenerse en cuenta que parte de las células pueden ser preexistentes, atrapadas, sobre todo en el caso de los neumocitos tipo II y las células ciliadas, por lo que el hallazgo ocasional de células de un determinado tipo en un tumor predominantemente formado por otro tipo celular no debe considerarse significativo.

Por otra parte, los criterios ultraestructurales de identificación de estas células pueden no ser claros y siempre se encuentran elementos discutibles. Nosotros hemos aceptado los generalmente mencionados en la literatura (9, 12). Se admite que células con proyecciones bulbosas sin microvellosidades enteroides y gránulos de 500 a 1500 nm, con moderada densidad electrónica corresponden a células de Clara. Las células mucinosas deben ser cilíndricas altas con abundantes gránulos de tipo mucinoso y son de gran valor en el diagnóstico diferencial las microvellosidades de tipo enteroide con microfilamentos, aunque no aparecen constantemente. Los neumocitos tipo II exigen la presencia de cuerpos mielinoideos. Con estos criterios, los estudios ultraestructurales, en general, confirman la existencia de dos tipos fundamentales de carcinoma bronquioloalveolar (mucinoso y no mucinoso) y una forma mixta.

Por una parte, los tumores mucinosos y las áreas mucinosas de los tumores mixtos muestran en la microscopia electrónica células con diferenciación mucinosa mas o menos patente. Generalmente, se admite que estos tumores son resultado de la metaplasia mucinosa de células de Clara bronquiolares (21) o células de reserva, ya que en el bronquiolo normal son muy escasas las células caliciformes y no se detecta una cantidad apreciable de mucina (4, 22).

Por otro lado, los CEA no mucinosos y las áreas no mucinosas de los tumores mixtos muestran un aspecto más complejo. Aunque algunos casos corresponden a tumores con diferenciación mucinosa no identificable en la microscopia óptica, el grupo más importante de los CBA to constituyen los tumores de células de Clara (siete de nuestros once casos). Cuatro de nuestros casos estaban constituidos por típicas células de Clara cilíndricas altas con la única peculiaridad, en uno de ellos, de la abundancia de glucógeno. Otros tres casos, sin embargo, correspondían a células cúbicas con poca protrusión

luminal del citoplasma y sólo el hecho de que mostraran típicos gránulos con estructuras laminares permitía su clasificación. Aparte de los gránulos, este tipo de células mostraba semejanza con las células que hemos denominado indeterminadas.

Un apartado minoritario de los CRA no mucinosos lo constituyen los tumores de neumocitos tipo II. Nosotros no hemos visto ningún caso que pueda clasificarse así y, de hecho, constituye una variante rara de CBA que no corresponde a más del 3% de este tipo de tumores (9, 12). En estos casos deben tenerse en cuenta dos hechos: en primer lugar, el hallazgo de neumocitos tipo II en tumores por lo demás constituidos por células con otro tipo de diferenciación puede atribuirse a la presencia de elementos atrapados; por otra parte, una serie de hallazgos permiten sugerir un cierta relación entre neumocitos tipo II y tumores de células de Clara. Se ha señalado como muy característico el hecho de que, en la periferia de los CBA no mucinosos de tipo células de Clara, éstas se hacen mucho más cúbicas y se confunden morfológicamente con los neumocitos tipo II (4). Se admite, además, la existencia de una lesión displásica previa al CRA no mucinoso (20) y se ha sugerido en mucinosos estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales que las lesiones de hiperplasia adenomatosa atípica y el carcinoma bronquioloalveolar precoz son lesiones preferentemente formadas por neumocitos tipo II y que, a medida que el tumor progresa, aumenta la proporción de células de Clara (23). En este sentido, cabe señalar que, aunque no se puede descartar que los neumocitos tipo II de nuestros casos podrían ser atrapados, los hemos encontrado siempre en relación con células indeterminadas que en nuestro caso 17 correspondían a la mayor parte de los elementos tumorales en el material estudiado ultraestructuralmente. Es más, con cierta frecuencia se encontraban células indeterminadas con inclusiones tubulares intranucleares que se aceptan como un dato típico, aunque no patognomónico, de los neumocitos tipo II (12, 24). Cabe por tanto sugerir que algunos CBA proceden de células relativamente indeterminadas que pueden diferenciarse en neumocitos tipo II. Otro hecho a tener en cuenta es el hallazgo de tumores de células de Clara constituidos por células cúbicas, sólo diferenciables de elementos indeterminados por la presencia de gránulos, lo que sugiere que éstos pueden estar en el origen de las células de Clara.

En resumen, nuestro estudio muestra, en el CBA, células *mucinosas* que constituyen la totalidad o áreas considerables de una parte de los tumores y otros tipos celulares en los que parece existir un continuo entre células indeterminadas y células de Clara y, probablemente, también neumocitos tipo II. Estos hallazgos estarían en consonancia con el probable origen común de los neumocitos tipo II y las células de Clara (25).

BIBLIOGRAFÍA

1. Ashley DJB. *Evans's histological appearance of tumours*. 3ª ed. Churchill Livingstone, Edinburgh 1978; 637.
2. Carter D, Eggleston JC. *Tumors of lower respiratory tract. Atlas of tumor pathology Second series (Fascicle 17)*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC 1980; 127-146.
3. Moran CA, Suster S. *Tumors of lung/pleura*. En: Fletcher, C.D.M. (Ed.). *Diagnostic and histopathology of tumors*. 2ª ed. Churchill Livingstone, London 2000; 171-208.
4. Colby TV, Koss MN, Travis WD. *Tumors of lower respiratory tract. Atlas of tumor pathology Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC 1995; Third series (Fascicle 13): 203-234.*
5. Greenberg SD, Smith MN, Spjut HJ. *Bronchiol-alveolar carcinoma-cell origin*. *Am J Clin Pathol* 1975; 63: 153-167.
6. Espinoza CG, Balis JU, Saba SR, Paciga JE, Shelley SA. *Ultrastructural and immunohistochemical studies of bronchiolo-alveolar carcinoma*. *Cancer* 1984; 54: 2182-2189.
7. Delag J, Molina C, Petit M, Kantelip B. *Apport de l'ultrastructure au diagnostic des cancers bronchiolo-alveolaires*. *Rev Mal Respi* 1984; 1: 221-225.
8. Eimoto T, Teshima K, Shirakusa T, Kikuchi M. *Ultrastructure of well-differentiated adenocarcinomas of the lung with special reference to bronchioloalveolar carcinoma*. *Ultrastruct Pathol* 1985; 8: 177-190.
9. Erlandson RA. *Diagnostic transmission electron microscopy of tumors*. Raven Press, New York 1994; 304-307.
10. Dickersin GD. *Diagnostic electron microscopy* 2ª ed, Springer Verlag, New York 1999; 51-53.
11. Okubo K, Mark EJ, Flieder D y cols. *Bronchioloalveolar carcinoma, clinical, radiologic and pathologic factors and survival*. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 118: 702-709.
12. Albertine KH, Steiner RM, Radack DM y cols. *Analysis of cell type and radiographic presentation as predictors of the clinical course of patients with bronchioloalveolar cell carcinoma*. *Chest* 1998; 113: 997-1006.
13. Malassez U. *Examen histologique d'un cas de cancer encephaloide du poumon (epithelioma)*. *Arch Phys Norm Pathol* 1876; 3: 353-372.
14. Liehow AA. *Bronchiolo-alveolar carcinoma*. *Adv Intern Med* 1960; 10: 329-358.
15. Adamson JS, Senior RM, Merrill T. *Alveolar cell carcinoma. An electron microscopic study*. *Am J Respir Dis* 1969; 100: 550-557.
16. Herrera GA, Alexander CE, De Moraes HP. *Ultrastructural subtypes of pulmonary adenocarcinomas: a correlation with patient survival*. *Chest* 1983; 84: S81-S86.
17. Clayton E. *Bronchioloalveolar carcinomas: Cell types, patterns of growth, and prognostic correlates*. *Cancer* 1986; 57: 1553-1564.
18. Sheppard MN, Thurlow NP, Dewar A. *Amphicrine differentiation in bronchiolar cell carcinoma*. *Ultrastruct Pathol* 1994; 18: 437-441.
19. Dekrnczian R, Ordóñez NG, Mackay B. *Bronchiolar adenocarcinoma with myoepithelial cells*. *Cancer* 1991; 67: 2356-2360.
20. Travis WD, Colby TV, Corrin E, Shimosato Y, Brambilla E. *Histological typing of lung and pleural tumours*. 3ª ed. Springer-Verlag, Berlin 1999; 36-38.
21. Gail DB, Lenfant CJM. *Cells of the lung: Biology and clinical implications*. *Am J Respir Dis* 1983; 127: 366-387.
22. Colby TV, Yuusern SA. *Lung*. En: Sernbreg 55 (Ed.). *Histology for pathologist*. Raven Press, New York 1992; 479-480.
23. Kitamura M, Kameda Y, Ita T y cols. *Cytodifferentiation of atypical adenomatous hyperplasia and bronchiolar lung adenocarcinoma: Immunohistochemical and ultrastructural studies*. *Virchows Arch* 1997; 431: 415-424.
24. Ghadially FN. *Bronchiolo-alveolar carcinoma and its subtypes*. En: *Diagnostic electron microscopy of tumours*. 2ª ed. Eutterworths, London 1985; 407-422.
25. Mizutani Y, Nakajima T, Morinaga S y cols. *Immunohistochemical localization of pulmonary surfactant apoproteins in various lung tumors. Special reference to non producing lung adenocarcinomas*. *Cancer* 1988; 61: 532-537.