

## **CARACTERIZACIÓN DE LAS ALTERACIONES DE LA CORTEZA CEREBRAL Y SUSTANCIA BLANCA HUMANA PERITUMORAL. ESTUDIO MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.**

G. Arismendi-Morillo\*, O. J. Castejón, A. Castellano, M. Palmar, J. Navarro, J. P. Hernández

Instituto De Investigaciones Biológicas “Dres. Orlando Castejón y Haydee Vilorio De Castejón”, Laboratorio de Microscopía Electrónica. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.

\*Autor de Correspondencia: gjam3000@hotmail.com

### **RESUMEN**

El objetivo de esta investigación es caracterizar la patología celular ultraestructural del tejido cerebral peritumoral humano y establecer un posible vínculo entre los aspectos clínicos con los hallazgos ultraestructurales. Se procesaron 16 biopsias de tejido peritumoral mediante las técnicas convencionales para microscopía electrónica de transmisión. Se revisaron y analizaron los datos clínicos y el seguimiento post-quirúrgico. Los resultados obtenidos presentan las neuronas y sus prolongaciones, la macroglia y sus procesos celulares desarrollaron cambios celulares edematosos e hipóxicos/isquémicos de severidad variable. En la gran mayoría de las muestras el espacio extracelular no evidenció expansión o dilatación. Las dendritas y los axones desarrollaron cambios degenerativos. Se constataron fenómenos de plasticidad y degeneración sináptica. Los astrocitos y sus prolongaciones mostraron escaso glucógeno o su depleción. Los capilares presentaron uniones inter-endoteliales alargadas y curvilíneas sin dilatación del espacio paracelular, la membrana basal exhibió reduplicación y vacuolización focal. Se evidenciaron zonas de necrosis en la sustancia blanca. Las alteraciones ultraestructurales son compatibles con la instauración de una condición hipóxica/isquémica en el tejido cerebral peritumoral en el que predominó el edema cerebral del tipo celular. Estos hallazgos respaldan la hipótesis que indica que el edema cerebral peritumoral es del tipo citotóxico por deterioro de la oxigenación del tejido. Los hallazgos en las neuronas y sus prolongaciones pudiesen considerarse importantes en la generación de las manifestaciones clínicas y las secuelas. Estas alteraciones se vinculan con alteraciones funcionales, cambios degenerativos y con la posible muerte neuronal que finalmente originan secuelas neurológicas.

**Palabras Claves:** Edema Cerebral, Edema Peritumoral, Edema Celular, Tumores Cerebrales, Isquemia Cerebral.

### **CHARACTERIZATION OF THE ALTERATIONS OF BRAIN CORTEX AND WHITE HUMAN PERITUMORAL SUBSTANCE. STUDY BY MEANS OF TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY**

#### **ABSTRACT**

The purpose of this investigation is to describe the ultrastructural cellular pathology of human cerebral peritumoral tissue and establish a possible link with the clinical features. Sixteen biopsies of human cerebral peritumoral tissue were conventionally processed for transmission electron microscopy. Clinical features and post-surgical treatment follow-up were analyzed. The results show in both, neurons and macroglia processes exhibits edematous and hypoxic/ischemic cellular changes of variable severity. Extracellular space dilatation was not observed. Dendrites and axons showed degenerative changes. Synaptic plasticity and synaptic degeneration were characterized. Both, astrocytes and perivascular end-foot showed scarce or absent glycogen granules. Inter-endothelial junctions of capillaries exhibited elongate and curved shapes without expansion of paracellular space. Basal membrane showed reduplication and focal vacuolization. Necrotic zones in the white matter were observed. Ultrastructural pathology is compatible with the instauration of hypoxic/ischemic environment in the peritumoral cerebral tissue, with predominance of cellular edema type. The findings of this study support the hypothesis that peritumoral cerebral edema is of cellular type due to oxygenation decrease in peritumoral tissue. Ultrastructural pathologic alterations of neurons and their processes were possibly responsible for the clinical symptoms and neurological deficit, and were linked with functional alterations, degenerative changes and with possibly neuronal death that finally cause neurological deficit.

**Keywords:** Brain Edema, Peritumoral Edema, Cellular Edema, Brain Tumors, Cerebral Ischemia.

## INTRODUCCIÓN.

Los tumores cerebrales constituyen la tercera causa de muerte en hombres de mediana edad relacionada con el cáncer y la segunda causa más común en niños [1]. La morbilidad neurológica y la muerte de los pacientes están relacionadas con el crecimiento infiltrativo y destructivo de los tumores del sistema nervioso central, así como del edema cerebral asociado con éstos. Recientemente, Hartmann y col., [2] reportaron que en los casos de glioblastoma multiforme, el patrón de la recidiva se correlaciona positivamente con la configuración del edema cerebral vasogénico inicial y que el edema cerebral peritumoral quirúrgico debe considerarse cuando se planifica el tratamiento. Los tumores del sistema nervioso central se asocian en un elevado porcentaje de casos con déficit neurológico o complicaciones, como deterioro cognitivo, alteraciones visuales, pérdida sensorial y motora, disfunción intestinal y vesical, afasia, disartria, ataxia y epilepsia, entre otros [3-5]. El edema peritumoral eventualmente pudiese ocasionar complicaciones fatales como la herniación cerebral y hemorragia del tallo cerebral [6,7], de las cuales se derivan altas tasas de mortalidad. Adicionalmente, múltiples factores relacionados directa o indirectamente con el tumor y el edema tisular asociado, aparecen como los responsables del desarrollo de secuelas neurológicas de diferentes grados de severidad, probablemente producto de la pérdida de las neuronas y del daño de la sustancia blanca, por la influencia que ejercen sobre ellas diferentes factores relacionados con las condiciones metabólicas en el tejido peritumoral [6,8-15].

El edema cerebral es reconocido como una complicación de los tumores cerebrales, que puede acrecentar la severidad de la condición que lo está originando [16]. Klatzo [17] definió el edema cerebral peritumoral como la liberación de agua, proteínas séricas y sustancias vasoactivas hacia el tejido cerebral circundante. Otros autores [18,19] piensan que el edema

peritumoral se debe a la extravasación de líquido plasmático y macromoléculas a través de la barrera hematoencefálica alterada, como consecuencia de la apertura de las uniones interendoteliales, presencia de fenestraciones endoteliales y por el incremento de vesículas pinocíticas en los capilares de algunos tumores [20-23].

Se han realizado estudios que describen algunas alteraciones ultraestructurales de los diferentes tipos celulares que integran el tejido cerebral peritumoral en los casos de neoplasias del sistema nervioso central [22,24,25,28,30,34]. Sin embargo algunos autores [35] consideran que la patología celular de la corteza cerebral humana peritumoral aún está pobremente definida, siendo necesario estudiar las posibles relaciones entre las manifestaciones clínicas y las secuelas con las observaciones submicroscópicas. Estudiar los aspectos patológicos ultraestructurales y los procesos que ocurren en el cerebro durante el desarrollo de una neoplasia intracraneal puede contribuir con el entendimiento de los eventos celulares y moleculares que se desarrollan en el edema cerebral peritumoral y eventualmente pudiese favorecer el desarrollo de nuevas medidas farmacológicas anti-edema con el objeto de prevenir el daño cerebral secundario.

El propósito de este estudio fue describir mediante microscopía electrónica de transmisión los cambios morfológicos ultraestructurales de la corteza cerebral humana y la sustancia blanca en casos de edema cerebral asociado a tumores del sistema nervioso central, así como analizar y correlacionar con algunos factores fisiopatológicos involucrados en la génesis del edema peritumoral con las alteraciones celulares y subcelulares observadas. Finalmente tratar de establecer un posible vínculo entre los aspectos clínicos y los hallazgos patológicos ultraestructurales.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y analítico. Se estudiaron 16 biopsias incluidas en Epón o Araldita correspondientes a los casos de pacientes con diagnóstico de tumor del SNC, del archivo del Laboratorio de Microscopía Electrónica del Instituto de Investigaciones Biológicas “Drs. Orlando Castejón y Haydee Viloria de Castejón”. Las biopsias se realizaron de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Las biopsias de 2-5 milímetros de espesor incluyeron el tejido tumoral, corteza cerebral y/o sustancia blanca adyacente (región focal) y/o distante (región peri-focal) a la lesión neoplásica, las mismas se tomaron durante el acto quirúrgico y se fijaron inmediatamente en el quirófano en solución de glutaraldehído al 4% en buffer fosfato o cacodilato 0,1M, pH 7,4 a 4°C (fijador primario). Después de la fijación inicial, las biopsias se dividieron en fragmentos de aproximadamente 1 milímetro y se observaron bajo un microscopio estereoscópico con el fin de evaluar la calidad de la fijación de la muestra y se colocaron de nuevo en solución fijadora fresca por periodos de entre 2 y 72 horas. La fijación secundaria se realizó con tetróxido de osmio al 1% en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,4 por 1 hora. La tinción negra de las biopsias se observó mediante un microscopio estereoscópico para apreciar la difusión del tetróxido de osmio y la calidad de la fijación secundaria. Consecutivamente, se lavaron con solución de buffer fosfato 0,1 M pH 7,4 por 10 minutos, se deshidrataron con etanol a concentraciones crecientes 50%, 70%, 80%, 90% (por 5 minutos cada una) y 100% (por 15 minutos, tres veces consecutivas), se introdujeron en óxido de propileno por 5 minutos (dos veces). Seguidamente se realizó la infiltración en Araldita 512 o Epón del siguiente modo: se colocaron sucesivamente en solución de óxido de propileno y plástico en relación 1:1 por 1 hora, óxido de propileno y plástico 1:3 por 1 hora y en plástico puro por 24 horas, al término de las cuales, cada muestra fue alojada y

embebida en plástico utilizando cápsulas de propileno que se identificaron de manera específica; finalmente las muestras se introdujeron en una estufa por 72 horas a 60°C para la polimerización del plástico.

Para seleccionar las zonas apropiadas para el estudio, se realizaron cortes gruesos, de aproximadamente 0,5 a 1 µm, se tiñeron con azul de toluidina y observados en un microscopio óptico Olympus. Los cortes ultrafinos de las áreas elegidas se obtuvieron mediante un ultramicrotomo Sorvall<sup>®</sup> MT 5000, se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se observaron finalmente en un microscopio electrónico JEOL 100 B y Mitsubishi H-7000, utilizándose magnificaciones intermedias entre 3.000 y 70.000 X. Se realizó el registro de micrografías y revelado de placas por técnicas convencionales. Las imágenes se procesaron digitalmente mediante el programa Photoshop 6.0. Los datos clínicos como la edad, género, manifestaciones clínicas, examen físico, estudios complementarios, diagnóstico, región de la toma de muestra, y evolución clínica o seguimiento en los casos que estuvo disponible se registraron y tabularon adecuadamente.

## RESULTADOS

El estudio de los cortes finos de las muestras observadas durante la presente investigación permitió establecer que los componentes celulares y sus prolongaciones, así como los vasos sanguíneos del tejido cerebral peritumoral desarrollaron alteraciones ultraestructurales del tipo cambio celular edematoso u oncosis y cambio celular isquémico. Las muestras se fijaron inmediatamente en la sala quirúrgica con solución de glutaraldehído-buffer para evitar la fijación retardada y los cambios autolíticos, paso fundamental para distinguir cambios artefactuales de los verdaderos cambios patológicos. La severidad de los mismos, aparentemente, se asoció directamente con la gravedad de las manifestaciones clínicas y las secuelas neurológicas desarrolladas por los pacientes. Adicionalmente no se

observó expansión o dilatación del espacio extracelular en la gran mayoría de las secciones de tejido estudiadas. Las manifestaciones clínicas se caracterizaron por presentarse como un síndrome de hipertensión endocraneal asociado a déficits neurológicos de grado variable (Tabla I).

#### *Hallazgos en la Corteza Cerebral.*

##### *Neuronas.*

Se observaron neuronas no piramidales con núcleos de contornos irregulares y nucleoplasma electrón-lucido con abundante eucromatina, habitualmente los poros nucleares estaban preservados y la cisterna peri-nuclear dilatada en grado variable, en algunas neuronas se notó la cisterna perinuclear muy dilatada con preservación de algunos poros nucleares y ruptura focal de la membrana nuclear, el citoplasma generalmente se observó electrón-denso con innumerables ribosomas libres y polirribosomas, el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi exhibieron dilatación variable y de disposición desorganizada, múltiples mitocondrias muy edematosas con matriz mitocondrial electrón-lucida y ruptura o desaparición de las crestas. Se apreciaron múltiples gránulos de lipofuscina. Algunas neuronas exhibieron condensación citoplasmática con presencia de cuerpos densos y vacuolización. (Figs. 1-3).

##### *Dendritas y Espinas Dendríticas.*

Las prolongaciones dendríticas exhibieron múltiples microtúbulos dispuestos desorganizadamente en diferentes orientaciones, en algunos preservaron su estructura intacta y otros se presentaron en apariencia fragmentados, frecuentemente el dendroplasma presentó aspecto granular alternando con zonas electrón-lucidas, así mismo, se evidenciaron cisternas de retículo endoplasmático liso con dilatación vacuolar, mitocondrias con degeneración densa, algunos polirribosomas y formación de grandes vacuolas (Figs. 4 y 5). Las espinas dendríticas mostraron grados variables de edema, el espinoplasma se presentó

usualmente de aspecto electrón-denso y granular, mitocondrias degeneradas, el aparato espinoso mostró dilatación de sus cisternas y cambios degenerativos severos (Figs. 6, 9 y 10).

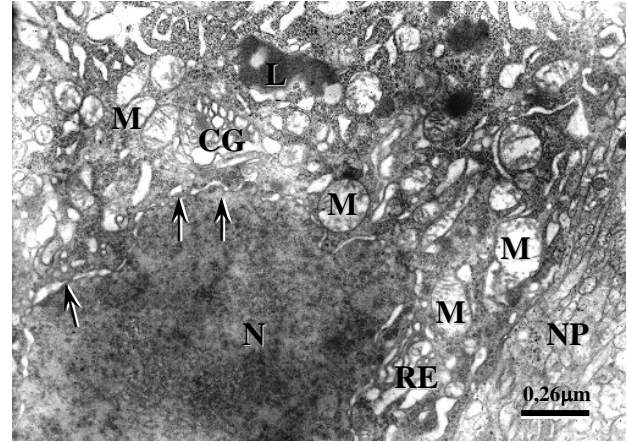


Fig. 1. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que exhibe una neurona no piramidal que presenta núcleo de contornos irregulares (N), poros nucleares preservados (flechas) y cisterna peri-nuclear dilatada en grado variable. El citoplasma se observa electrón-denso con numerosos ribosomas libres y polirribosomas, retículo endoplasmático rugoso (RE) y complejo de Golgi (CG) dilatados y de disposición desorganizada, múltiples mitocondrias muy edematosas (M) con matriz mitocondrial electrón-lucida y ruptura o desaparición de las crestas. Se aprecian varios gránulos de lipofuscina (Lf). A la derecha se observa el neuropilo (NP) edematoso.

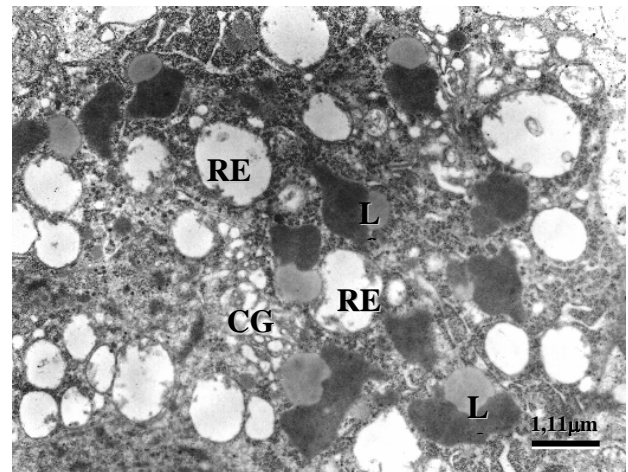


Fig. 2. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que muestra un detalle del citoplasma de una neurona no piramidal en el que destaca la presencia de abundantes gránulos de lipofuscina (Lf), retículo endoplasmático (RE) y complejo de Golgi (CG) dilatados y distorsionados.

Tabla I. Datos Generales, Manifestaciones Clínicas, Diagnóstico Neuropatológico y Seguimiento de los Pacientes Estudiados

Caso No.	Género /Edad	Manifestaciones Clínicas	Diagnóstico Neuropatológico	Seguimiento
1	F / 39 años	Un año de evolución con cefaleas frecuentes asociada con vómitos y mareos, convulsiones tónico-clónicas. Disminución de agudeza visual, diplopía, edema de papila bilateral, parestesias de miembros inferiores.	Meningioma Frontoparietal.	Sin secuelas permanentes.
2	F / 27 años	Un mes de evolución con episodios de cefalea intensa asociada a mareos, episodio convulsivo tónico-clónico. Hiperreflexia osteotendinosa generalizada, disminución de fuerza muscular, edema de papila bilateral, trastornos de la marcha.	Meningioma Frontal.	Secuelas: Epilepsia.
3	M / 76 años	Un mes de evolución con trastornos de la conducta y dificultad para la marcha, un episodio de síncope con relajación de esfínteres.	Glioblastoma Multiforme Frontal	Secuelas: Deterioro cognitivo, vejeza neurogenica.
4	F / 20 años	Episodios de cefalea frontal izquierda de intensidad moderada de dos meses de evolución.	Ependimoma Frontal	Secuelas: Trastornos de conducta.
5	M / 5 años	Un mes de evolución con ataxia, episodios de cefalea asociada con vómitos, edema de papila bilateral.	Ependimoma del IV Ventrículo	Sin secuelas permanentes.
6	F / 67 años	Pérdida súbita de la conciencia.	Meningioma Supraselar.	Información no disponible.
7	F / 45 años	Cinco años de evolución con episodios de cefalea asociada a mareos y vómitos, tinitus y pérdida de agudeza auditiva derecha, nistagmus horiz., hiperreflexia osteotendinosa derecha, edema de papila derecho, marcha lateralizada hacia la derecha, signo de Romberg positivo.	Schwanoma del Acústico.	Secuelas: Parálisis facial, paresia de miembro superior derecho.
8	M / 50 años	Tres meses de evolución con apatía, un episodio de convulsiones tónico-clónicas. Izquierdo.	Astrocitoma Fibrilar Frontal	Secuelas: Deterioro cognitivo, epilepsia.
9	M / 21 años	Episodios de cefalea asociados a vómitos.	Pinealoma del III Ventrículo.	Información no disponible
10	F / 24 años	Catorce meses de evolución con episodios de convulsiones tónico-clónicas generalizadas y complejas, hemiparesia derecha una semana antes de su ingreso. Dismetría, adiadocosinecia, ataxia, hiperreflexia osteotendinosa generalizada.	Meningioma en la Lámina Cuadrigemina.	Sin secuelas permanentes.
11	F / 31 años	Sometida a varias intervenciones quirúrgicas a lo largo de 14 años por diagnóstico de ependimoma anaplásico. Cefalea y vómitos de un mes de evolución, parálisis facial izquierda, hemiparesia derecha.	Ependimoma Anaplásico	Secuelas: Hemiparesia derecha e hiperreflexia osteotendinosa. Muere en estado de coma.
12	M / 8 años	Tres meses antes de su ingreso episodios de cefalea de moderada intensidad y vómitos, pérdida de conocimiento, pupilas midriáticas con poca respuesta a la luz, edema de papila bilateral, hiperreflexia osteotendinosa generalizada, reflejo de Babinski bilateral, estado de coma.	Craneofaringioma	Sin secuelas permanentes.
13	M / 60 años	Episodios de cefalea, edema de papila bilateral, monoparesia de miembro inferior de derecho que progresa en 5 meses a hemiparesia derecha, bradipsiquia, trastornos miccionales.	Meningioma Parietal izquierdo.	Secuelas: Disartria, Hemiparesia espástica, depresión.
14	M / 51 años	Episodios de cefalea de 7 meses de evolución, pérdida de la fuerza muscular del lado derecho, bradipsiquia, trastornos de la conciencia, hiperreflexia osteotendinosa derecha.	Meningioma Parietal izquierdo	Secuelas: Hemiplejia derecha, amaurosis bilateral por atrofia de papila.
15	M / 7 años	Tres meses de evolución con episodios de cefalea de moderada intensidad asociada a vómitos, mareos, náuseas, marcha atáxica, diplopia.	Ependimoma del IV Ventrículo	Secuelas: Parálisis facial central derecha, ptosis palpebral izquierda.
16	F / 5 años	Previamente intervenido quirúrgicamente por presentar tumor cerebral (ependimoma anaplásico), cefalea intensa vómitos, hemiparesia izquierda, parálisis facial central derecha, marcha atáxica.	Ependimoma Anaplásico Parietal derecho	Secuelas: Hemiparesia izquierda.

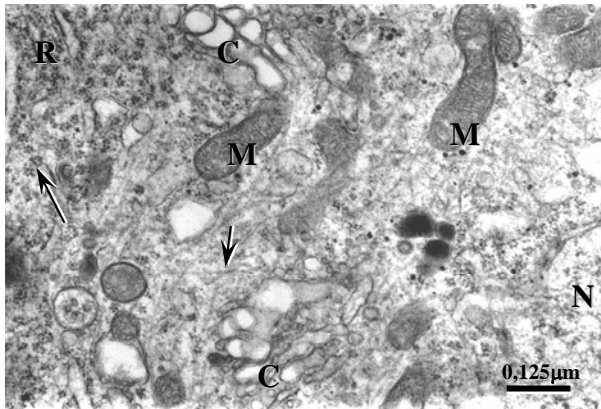


Fig. 3. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que expone un aspecto del soma neuronal con citoplasma electrón-lucido. Se evidencian dos complejos de Golgi (CG) severamente dilatados y de aspecto desorganizado, varias mitocondrias (M) exhiben degeneración densa, cisternas del retículo endoplasmático rugoso (RE) ligeramente dilatadas, abundantes polirribosomas (flecha larga) y múltiples microtúbulos (flechas cortas) dispuestas en diferentes sentidos. N marca el núcleo.

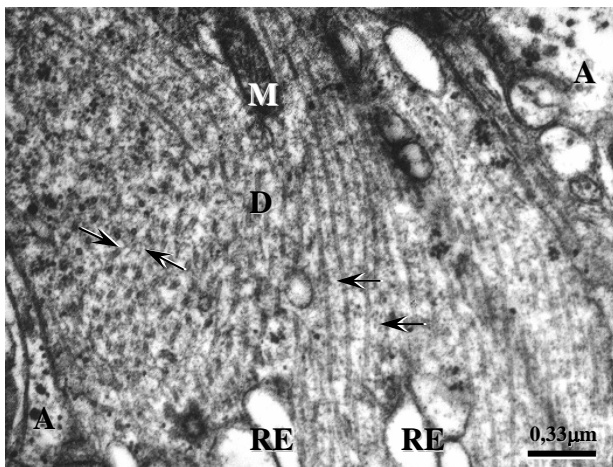


Fig. 4. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que muestra un proceso dendrítico con múltiples microtúbulos dispuestos en varios sentidos (flechas), algunos se observan intactos y otros fragmentados. Se evidencian perfiles de retículo endoplasmático dilatados (asteriscos) y una mitocondria (M) con degeneración densa. En la esquina superior derecha e inferior izquierda se notan procesos astrocitarios con escasos gránulos de glucógeno (A).

*Axones.*

Se observaron múltiples axones mielínicos con dilataciones y constricciones a modo de rosario a lo largo de sus trayectorias, la envoltura mielínica frecuentemente exhibió vacuolización focal y pérdida

de la periodicidad, el axoplasma habitualmente presentó aspecto granular denso con desaparición de los microtúbulos y microfilamentos de tipo actina, en algunos axones mielínicos los microtúbulos exhibieron fragmentación y disposición desordenada de los mismos adicionalmente se evidenció la presencia de vacuolas endocíticas derivadas del axolema. (Figs. 5,7,8).

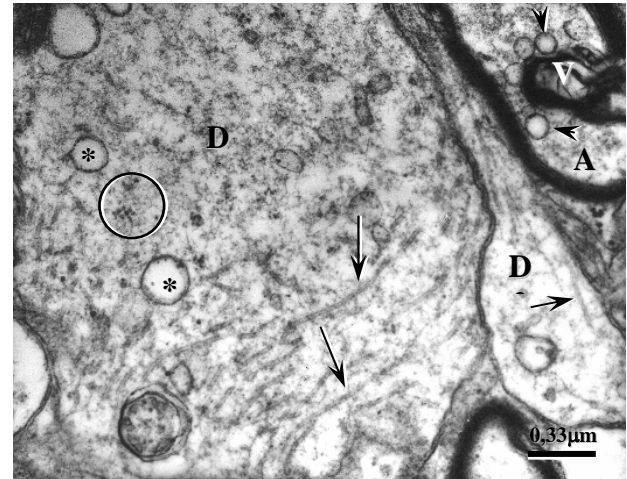


Fig. 5. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que exhibe dos dendritas edematosas (D1, D2). D1 presenta escasos microtubulos en apariencia fragmentados dispuestos longitudinalmente (flechas largas). El dendroplasma presenta aspecto granular alternando con zonas electrón-lucidas, cisternas de retículo endoplasmático liso con dilatación vacuolar (asteriscos) y algunos polirribosomas (círculo); D2 evidencia dendroplasma electrón-lucido con microtúbulos fragmentados (flecha corta) y desintegrados. En la esquina superior derecha se observa un axón mielínico (Ax) con axoplasma granular sin la presencia de filamentos tipo actina ni microtúbulos. Resaltan cinco vesículas endocíticas (puntas de flecha) derivadas del axolema. Nótese la cobertura de mielina vacuolada focalmente (V).

*Sinapsis.*

Se observaron múltiples sinapsis perforadas, con curvaturas sinápticas convexas, tanto asimétricas como simétricas. Generalmente los terminales pre-sinápticos presentaron aspecto edematoso e incontables vesículas sinápticas; así mismo mitocondrias edematosas con ruptura de sus crestas y matriz mitocondrial tanto electrón-lucida como electrón-densa.

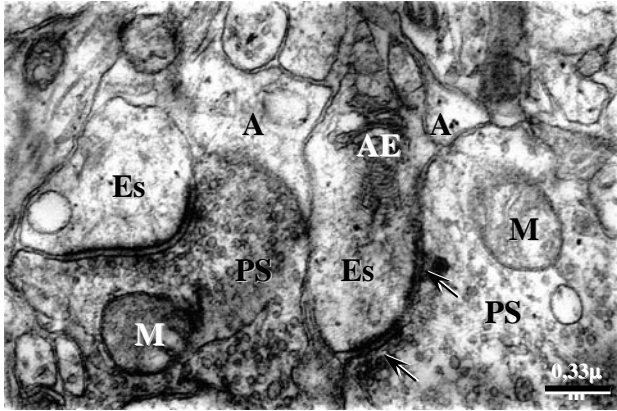


Fig. 6. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral presenta dos complejos sinápticos contiguos, ambos evidencian una curvatura convexa. La del lado derecho es perforada (flechas). Los terminales pre-sinápticos (PS1, PS2) contienen numerosas vesículas sinápticas y una mitocondria (M) con cambios degenerativos. Los post-sinápticos están constituidos por espinas dendríticas (Es1, Es2) de aspecto edematoso. Nótese la degeneración del aparato espinoso (AE) de la Es1. A indica procesos astrocitarios peri-sinápticos con depleción de glucógeno.

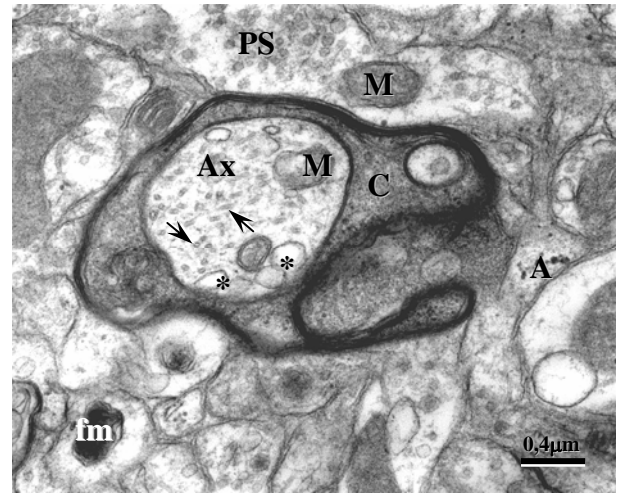


Fig. 8. Micrografía electrónica de la sustancia blanca peritumoral que expone un axón mielinico (Ax) seccionado transversalmente que presenta axoplasma electrón-lucido con microtúbulos (flechas) dispuestos en diferentes sentidos, dos mitocondrias (M) con degeneración densa y varias vesículas endocíticas (asteriscos). Se evidencia el citoplasma oligodendroglial (CO) electrón-denso. Nótese un proceso astrocitario (A) con escasos gránulos de glucógeno, un terminal pre-sináptico (PS) electrón-lucido con una mitocondria degenerada y densa (M), y una figura mielinica (fm) en la región inferior del axón.

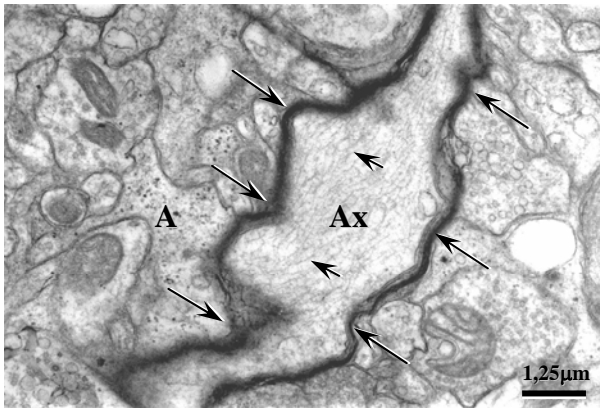


Fig. 7. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que muestra un segmento de un axón mielinico (Ax) que exhibe forma a modo de rosario (flechas largas). Se nota el axoplasma electrón lúcido con ausencia de microtubulos e innumerables filamentos tipo actina hipertrofiados (flechas cortas). Se observa un proceso astrocitario (A) en la vecindad del axón con gránulos de glucógeno.

Contrariamente, se observaron algunos terminales pre-sinápticos muy edematosos con escasas vesículas sinápticas. Algunas sinapsis degeneradas con terminales pre-sinápticos vacíos o con vesículas degeneradas y sus post-sinápticos presentaron ocasionalmente un cuerpo denso consistente con agregación de proteínas derivadas del aparato espinoso. Adicionalmente se evidenció la presencia de sinapsis invaginadas. Las sinapsis se encontraron cubiertas por prolongaciones astrocitarias edematosas con escasos o ausencia de gránulos de glucógeno. En algunas de estas prolongaciones se evidenció la presencia de cuerpos densos residuales. (Figs. 6,9,10).

#### Astroцитos.

Los astroцитos evidenciaron aspecto edematoso. Algunos presentaron abundantes gránulos de glucógeno y otros escasos o ausencia de los mismos, así mismo, perfiles de retículo endoplasmático rugoso dilatados, múltiples

mitocondrias de forma variable con matriz de aspecto granular sin evidencias de crestas mitocondriales y otras muy electrón-densas. Se observó lipofuscina en algunos astrocitos, los núcleos generalmente presentaron abundante eucromatina y nucleoplasma electrón-lucido (Figs. 4,6,7,8,10,12).

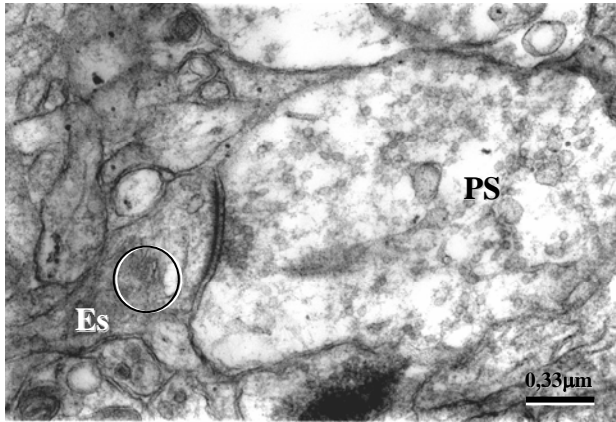


Fig. 9. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que demuestra una sinapsis simétrica con un gran terminal pre-sináptico (PS) electrón-lúcido y con escasas vesículas sinápticas distribuidas irregularmente. La espina dendrítica (Es) se observa electrón-densa y con un aparato espinoso degenerado (círculo).

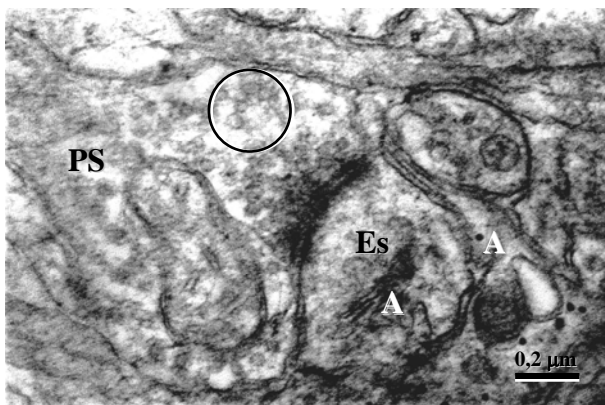


Fig. 10. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que exhibe una sinapsis simétrica con curvatura convexa. El terminal pre-sináptico (PS) se observa edematoso y con abundantes vesículas sinápticas, algunas dispuestas en acumulos (círculo). La espina dendrítica muestra un aparato espinoso (AE) degenerado. A indica un proceso astrocitario peri-sináptico con depleción de glucógeno.

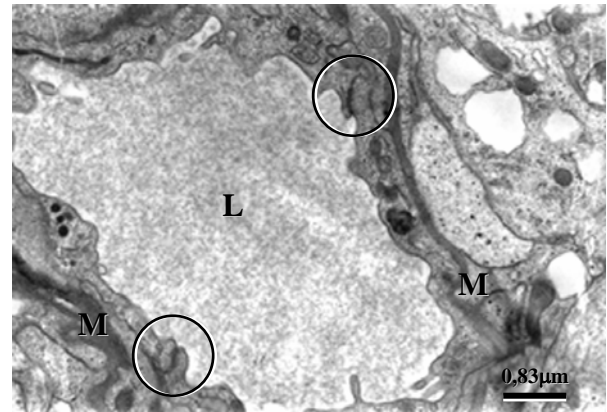


Fig. 11. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral de un capilar que muestra dos uniones inter-endotheliales cortas y rectas (círculos), sin aparente dilatación del espacio paracelular en ambas. La membrana basal (MB) se observa reduplicada. Adviértase la presencia de escasas proyecciones luminales de las células endoteliales y la ausencia de vesículas pinocíticas. L señala el lumen vascular.

*Oligodendrocitos.*

De modo general los oligodendrocitos presentaron ubicación perineuronal, caracterizándose por exhibir edema leve a moderado con presencia de mitocondrias con degeneración densa y polirribosomas dispersos.

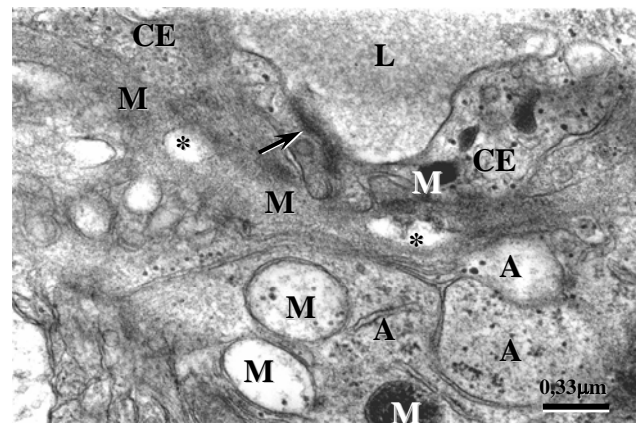


Fig. 12. Micrografía electrónica de sustancia blanca peritumoral que exhibe un detalle de un capilar en el que se observa una unión inter-endothelial corta y rectilínea sin dilatación aparente del espacio paracelular (flecha). La célula endotelial (CE) contiene una mitocondria (M) con degeneración densa. La membrana basal (MB) se observa reduplicada y con vacuolización focales (asteriscos). Se evidencian pies astrocitarios perivasculariales (A) con escasos gránulos de glucógeno y mitocondrias (M) con degeneración clara y densa. L indica el lumen vascular.



*Capilares y Componentes Peri-capilares.*

Los capilares presentaron células endoteliales con citoplasma electrón-lúcido con escasos organelos citoplasmáticos, su superficie luminal mostró escasas proyecciones citoplasmáticas, las uniones inter-endoteliales exhibieron forma alargada y curvilíneas sin aparente dilatación del espacio paracelular. La membrana basal exhibió reduplicación y vacuolización focal. Los pericitos lucieron forma ovalada, sus núcleos escasa heterocromatina y nucleoplasma electrón-lúcido y el citoplasma con escasos organelos. En el espacio perivascular se evidenció la presencia de pies astrocitarios con grados variables de edema y cuantía de gránulos de glucógeno, por otro lado se observó la presencia de células peri-vasculares consistentes con células tipo-microglia, las cuales no mostraron alteraciones (Figs. 12,13).

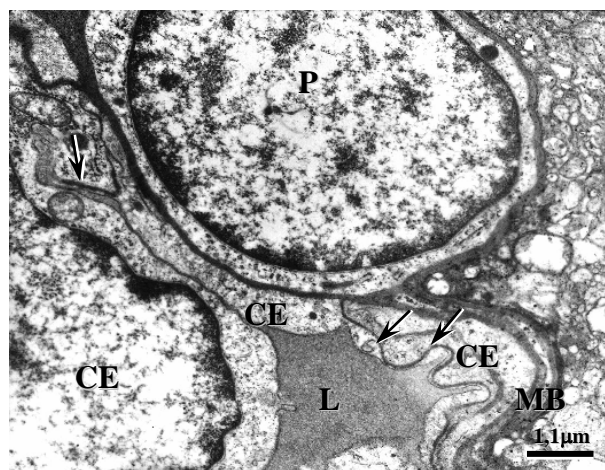


Fig 13. Micrografía electrónica de corteza cerebral peritumoral que muestra un capilar cuya luz (L) se observa reducida. Las células endoteliales (CE) muestran el citoplasma electrón-lúcido con escasos organelos citoplasmáticos. La membrana plasmática de la superficie luminal solo evidencia una pequeña proyección citoplasmática. Se observan dos uniones inter-endoteliales (flechas) alargadas y curvilíneas sin aparente dilatación del espacio paracelular. Un pericito (P) exhibe forma ovalada con escasos organelos.

*Hallazgos en la Sustancia Blanca.**Axones.*

Se evidenciaron cambios similares a los descritos en la corteza cerebral. Adicionalmente, en algunas zonas de tejido necrótico se observaron axones mielínicos severamente degenerados caracterizados por matriz axoplásmica electrón-densa consistente con agregación de proteínas y axoplasma de aspecto vacío en axones fantasmas. La vaina de mielina exhibió grados variables de vacuolización y pérdida de su periodicidad y presencia de algunos ovoides mielínicos. (Fig. 14).

*Oligodendrocitos.*

Los oligodendrocitos presentaron cambios edematosos ligeros y en algunas zonas se observó el citoplasma periaxonal electrón-denso.

*Capilares y Componentes Peri-capilares.*

Las alteraciones de los capilares fueron similares a las registradas en la corteza cerebral. De igual forma se identificaron células tipo microglia de localización perivascular, con núcleo ovoide y abundante cromatina periférica no funcional, citoplasma electrón-lúcido con escasos organelos, lisosomas primarios y polirribosomas.

**DISCUSIÓN**

El estudio de los cortes finos de las muestras observadas durante la presente investigación permitió establecer que los cambios ultraestructurales de los componentes celulares del tejido cerebral peritumoral detallados anteriormente se corresponden predominantemente con las alteraciones celulares tanto del tipo edematoso o celular, como del tipo isquémico. Por lo tanto, estos hallazgos submicroscópicos son compatibles con el desarrollo e instauración de una condición de isquemia del tejido cerebral peritumoral. Estos resultados son semejantes a los de Semchenko y col. [36], quienes describieron el predominio de edema celular y marcada redistribución intracelular de agua o fluidos en biopsias de corteza cerebral estudiadas mediante microscopía

electrónica de transmisión de nueve pacientes con tumores cerebrales y diferentes grados de hipertensión endocraneal.

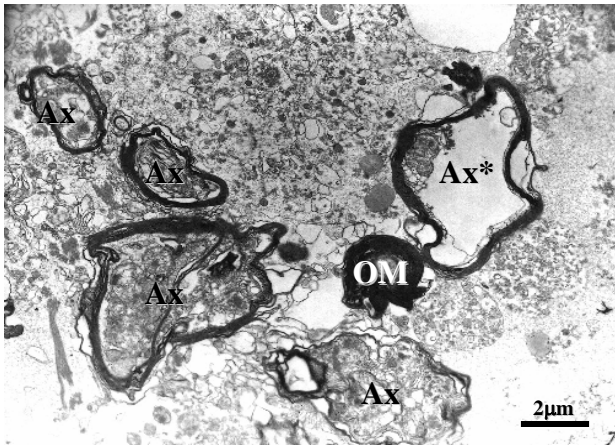


Fig. 14. Micrografía electrónica de sustancia blanca peritumoral que presenta una zona de tejido necrótico con cinco axones mielínicos (Ax) severamente degenerados, caracterizados por matriz axoplásmica electrón-densa consistente con agregación de proteínas. La vaina de mielina exhibe grados variables de vacuolización y pérdida de la periodicidad. Note un axón con axoplasma de aspecto vacío (Ax\*) consistente con un axón fantasma, adicionalmente un ovoide mielínico (OM).

En el caso del edema cerebral peritumoral, se presume que el flujo sanguíneo cerebral regional está disminuido debido al aumento de la presión intersticial; a su vez, el deterioro del flujo sanguíneo puede originar hipoxia local [11,12,27,37-39] y en consecuencia alterar el metabolismo y la homeostasia iónica celular [7]. Al inicio de la década de los '90, Hino y col. [40] determinaron el flujo sanguíneo cerebral regional, la utilización de oxígeno y de glucosa en las áreas peritumorales hipodensas, observadas en tomografía computarizada mediante la utilización de la tomografía de emisión de positrones, y concluyeron que existen dos tipos fisiopatológicos de edema peritumoral, uno relacionado a isquemia primaria causada por la compresión mecánica de la masa tumoral, y otro asociado a una supresión metabólica primaria, principalmente en el metabolismo del oxígeno. Posteriormente, Cruickshank y Ramplin [37]

establecieron que el tejido cerebral peritumoral es marcadamente hipóxico en comparación con el "cerebro normal" y que la extirpación quirúrgica de la neoplasia mejora la oxigenación del tejido peritumoral. Esta condición de reducción de la oxigenación del tejido cerebral de la zona peritumoral fue demostrado recientemente por Pennings y col. [11,12] mediante el monitoreo intraoperatorio de las presiones tisulares de oxígeno y dióxido de carbono. Adicionalmente Behrens y col. [9], mediante el uso de la tomografía computada con realce de xenon, y Uematsu y col. [39], a través de la utilización imágenes de resonancia magnética de perfusión dinámica, determinaron el descenso significativo del flujo cerebral regional en la zona del edema cerebral peritumoral. Desde el punto de vista fisiopatológico, estos fenómenos se explicarían por el aumento de volumen del encéfalo derivado a su vez de la presencia del tumor. De modo invariable, la neoplasia crece y el edema asociado a la misma, así como la presión intracraneal, se acrecientan progresivamente. Finalmente la presión de perfusión cerebral disminuye con la consecuente reducción del aporte de los substratos necesarios para la función cerebral normal [7].

Adicionalmente, en el presente estudio se observaron múltiples mitocondrias edematosas densas y edematosas claras en el soma, dendritas, sinapsis y axones de las neuronas, así como, en el soma y las prolongaciones de las células gliales y en los componentes de los vasos sanguíneos capilares. Previamente, Castejón y Castejón [41] describieron hallazgos similares en la corteza cerebral edematosa asociada con malformaciones congénitas, traumas cerebrales y algunos tumores cerebrales. Las mitocondrias edematosas densas se desarrollan predominantemente en zonas de tejido cerebral expuestas a condiciones de isquemia/reperfusión, mientras que en áreas de isquemia permanente se observan las mitocondrias edematosas claras [42]. En las muestras estudiadas en esta investigación, la presencia de mitocondrias edematosas densas predominó en las

células que exhibieron cambios edematosos. Esta asociación probablemente indica el desarrollo de una lesión celular no muy severa al considerar que este tipo de mitocondrias han sido vinculadas previamente con la preservación de su función [43], mientras que las mitocondrias edematosas claras se relacionan con un estado no funcional [43] y predominaron en las células con cambios isquémicos que sugieren una lesión celular más severa. Adicionalmente, se evidenció la presencia de figuras de mielina y cuerpos densos que están de igual modo asociados con condiciones de hipoxia/isquemia en el parénquima cerebral [38,44,45]. Por lo tanto, estos hallazgos constituirían elementos a considerar en relación a que el tejido cerebral peritumoral presenta condiciones hipóxicas/isquémicas. A diferencia del edema cerebral vasogénico, el edema cerebral citotóxico o celular se caracteriza por la ausencia de dilatación del espacio extracelular y por edema de las células neurogliales [16,17,46,47]. En el presente estudio se precisó en la gran mayoría de las secciones de tejido examinadas, que el compartimiento extracelular no desarrolló expansión o dilatación. Este hallazgo aunado a la presencia de cambios celulares del tipo edematoso e isquémico descritos anteriormente, sugiere que en el tejido cerebral peritumoral se desarrolla predominantemente un edema del tipo citotóxico o celular, por lo tanto, este hecho contribuiría a sustentar la hipótesis de Pennings y col. [11,12] que indica que el edema cerebral peritumoral es del tipo citotóxico por deterioro de la oxigenación del tejido, derivado del incremento de la presión intersticial local. El edema celular, en principio, puede ocurrir sin la ganancia neta de agua por el cerebro, generado por una desviación de solutos y agua desde el espacio extracelular (el cual disminuye) hacia el compartimiento intracelular (el cual se incrementa) [48]. El desarrollo de hipoxia o isquemia peritumoral implica inicialmente varios fenómenos importantes en el metabolismo celular, como lo son la inhibición de la

fosforilación oxidativa con la consecuente disminución de la generación de ATP, alteración funcional de la bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPasa. Finalmente la despolarización de la membrana plasmática y la entrada de sodio y agua al citoplasma celular [16,49].

Como se observa en la Tabla que muestra las manifestaciones clínicas, los hallazgos del examen físico y las secuelas neurológicas desarrolladas y establecidas en el seguimiento post-quirúrgico son similares a las reportadas por otros autores [3-5,50,51]. Algunos investigadores han establecido algún tipo de relación entre la severidad del edema peritumoral en estudios imagenológicos y algunos aspectos clínicos relevantes. Lampl y col. [50] establecieron en pacientes con meningiomas una correlación estadística positiva entre el volumen del edema cerebral y los trastornos psiquiátricos presentados por ellos. Adicionalmente, Lieu y Howng [51] reportaron en pacientes con meningiomas que la severidad del edema peritumoral observado en el momento preoperatorio contribuye significativamente con la aparición de epilepsia pre- y post-quirúrgica. Hammond y col. [52] observaron que el edema peritumoral moderado se asocia con un peor pronóstico en pacientes con glioblastoma multiforme, mientras que Hartmann y col. [2] indican que el patrón de las recidivas de los glioblastomas multiforme se correlaciona positivamente con la configuración del edema cerebral vasogénico inicial.

En este estudio la severidad de las manifestaciones clínicas, los hallazgos del examen físico y las secuelas neurológicas desarrolladas por los pacientes aparentemente se correlacionan con el grado de edema celular observado en las muestras de tejido cerebral peritumoral examinadas. Sin embargo, es necesario realizar un estudio adicional que incluya un número mayor de pacientes, para establecer si existe una relación directa entre ambas variables y finalmente establecer una conclusión más segura en relación con este particular, ya que esta investigación se fundamentó en el estudio

cualitativo y al azar de muestras de tejido cerebral peritumoral de las diversas zonas afectadas, lo que pudiese constituir una limitación para el análisis de estos aspectos. Sin embargo, los hallazgos ultraestructurales observados en el soma neuronal, dendritas, axones y sinapsis de los pacientes de este estudio pudiesen considerarse como relevantes para los efectos de la generación de las manifestaciones clínicas y de las secuelas, ya que existen algunas evidencias de que tales hallazgos se vinculan con alteraciones funcionales, cambios degenerativos y con la muerte neuronal [53-56], que finalmente pueden originar secuelas neurológicas [9].

En este estudio las neuronas exhibieron cambios edematosos e isquémicos entre leves y severos, así como homogenización franca. Previamente, Spacek [55] describió mediante microscopía electrónica de transmisión edema de las neuronas en la corteza cerebral humana peritumoral. Recientemente, Goel y col. [35], en un estudio inmunohistoquímico de la corteza cerebral infiltrada por astrocitomas difusos, reportaron pérdida de neuronas y las neuronas piramidales evidenciaron alteraciones morfológicas del soma y de sus prolongaciones dendríticas y axonales. Varios estudios [14,57] han reportado que las células de glioma humanas liberan activamente concentraciones neurotóxicas de glutamato, el cual es un factor iniciador en el proceso de degeneración y muerte neuronal en la región peritumoral. En los casos de tumores cerebrales la liberación crónica de glutamato pudiese participar en la degeneración neuronal. La neurotoxicidad por glutamato se asocia con un influjo de calcio intracelular a través de los canales de membrana, predominantemente abiertos por los receptores N-metil-D-aspartato. Morfológicamente se caracteriza por edema astrocitario y especialmente de las dendritas [58,59], de tal manera que la entrada de sodio, cloro y agua contribuirían en la fase aguda de la excitotoxicidad sobre las dendritas, y la entrada de

calcio podría inducir los cambios estructurales terminales observados en las dendritas muy lesionadas. En esta investigación se evidenció que las dendritas desarrollaron cambios edematosos con fragmentación y desaparición del citoesqueleto. Spacek [55] observó en la corteza cerebral peritumoral, mediante la microscopía electrónica de transmisión, dendritas edematosas con ocasional desorden de los microtúbulos y microfilamentos. Castejón y Arismendi [44] igualmente encontraron hallazgos similares en casos de edema cerebral asociado a traumas, hidrocefalia y en algunos casos de tumores, mientras que Goel y col. [35], a través de métodos inmunohistoquímicos, describieron en la corteza cerebral humana infiltrada por astrocitomas difusos, procesos dendríticos muy tortuosos, con varicosidades y fragmentación. El edema dendrítico se observa frecuentemente como respuesta a la lesión cerebral o neuronal [60]. La pérdida de la isotonicidad se acompaña de edema de los tallos dendríticos, el cual puede observarse en el neuropilo edematoso [60] y como producto de la excitotoxicidad causada por condiciones anóxicas/isquémicas [61]. Se ha reportado que veinte minutos de hipoxia originan la formación de varicosidades dendríticas edematosas [61]. Este patrón de lesión en las dendritas es bloqueado por antagonistas del glutamato y por el contrario es reproducido por la exposición por cinco minutos a los agonistas del glutamato [61,62]. Estos hechos sugieren que la lesión de las dendritas en condiciones de anoxia/isquemia se debe a excitotoxicidad, la cual es operativa en el tejido edematoso peritumoral.

Las espinas dendríticas mostraron grados variables de edema y formas diversas. El espinoplasma mostró usualmente aspecto electrón-denso y granular, mitocondrias degeneradas. El aparato espinoso mostró dilatación de sus cisternas y cambios degenerativos severos. Estos cambios patológicos en la estructura de las espinas dendríticas han sido descritos anteriormente en el tejido cerebral peritumoral [55,60,63]. La lesión

neuronal origina cambios en la hidratación de las dendritas, lo que impacta notablemente sobre la forma y estructura de las espinas dendríticas [60]. Por la tanto, las alteraciones de las espinas observadas en este estudio se asocian con las lesiones neuronal y dendrítica descrita. En razón de las múltiples funciones de las espinas dendríticas, los cambios patológicos en su estructura pueden tener consecuencias significativas para la función cerebral [60] y en nuestra opinión, alteración de los circuitos neuronales. Por ende, los mismos pudiesen considerarse contributorios para justificar las manifestaciones clínicas, el establecimiento de secuelas y la recuperación parcial o total de los déficit neurológicos desarrollados por los pacientes con tumores cerebrales.

Se observó la presencia de múltiples sinapsis perforadas, con curvas convexas y asimétricas. Generalmente, los terminales pre-sinápticos se presentaron edematosos y con variadas formas, contentivos de incontables vesículas sinápticas. Tales hallazgos son consistentes con un proceso de plasticidad sináptica [49,53]. Por otro lado, se observaron terminales pre-sinápticos muy edematosos y degenerados con escasas vesículas sinápticas. Las sinapsis perforadas han sido correlacionadas con fases de sinaptogénesis rápida en condiciones de sinaptogénesis reactiva del adulto [49], como una posible estructura intermedia de una sinapsis pre-existente que finaliza en una sinapsis dividida, y con el subsiguiente incremento del número de conexiones sinápticas [49,53]. Algunos autores [49] consideran a la sinapsis perforada como un subtipo de conexión sináptica que incrementa la eficacia sináptica en la plasticidad sináptica. La curvatura sináptica se considera un indicador importante de procesos asociados con fenómenos de plasticidad sináptica [49], este tipo de cambios morfológicos se relacionan con potenciales modificaciones en la función de las sinapsis [49]. Las sinapsis asimétricas se consideran excitatorias, mientras que las simétricas se han definido como

inhibitorias [49]. Nuestra observación de un mayor número de sinapsis asimétricas sugiere un desbalance entre los circuitos excitatorios y los inhibitorios, lo cual pudiese explicar algunas manifestaciones clínicas observadas en los pacientes estudiados. Estos cambios plásticos de las sinapsis sugieren la posibilidad de un incremento de los circuitos excitatorios [53], probablemente como un intento de compensar la presencia de sinapsis degeneradas que implican la pérdida de circuitos neuronales.

Los axones mielínicos presentaron forma a modo de rosario a lo largo de sus trayectorias. El axoplasma habitualmente presentó aspecto granular denso con desaparición de los microtúbulos y microfilamentos de tipo actina, matriz axoplásmica electrón-densa presumiblemente debida a agregación de proteínas. En zonas necróticas de la sustancia blanca, se evidenció axoplasma de aspecto vacío consistente con axones fantasmas y la presencia de vacuolas endocíticas derivadas del axolema. Todos estos cambios se caracterizaron como degeneración axonal y pérdida axonal marcada. Spacek [55] reportó también edema de algunos terminales axonales y la presencia de axones mielínicos degenerados. Goel y col. [35] describieron axones tortuosos, con varicosidades y formación de ovoides axonales. La forma, tamaño y alta actividad metabólica hacen a los axones muy vulnerables [54,56]. La degeneración axonal puede iniciarse por diversos factores, entre los cuales se incluyen la hipoxia y la isquemia [54,56]. Los axones mielínicos del sistema nervioso central son críticamente dependientes de un continuo aporte de energía derivada de la fosforilación oxidativa [64], las condiciones de anoxia/isquemia causan una rápida caída de los niveles de ATP, falla de la bomba  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$  y la consecuentemente acumulación de  $\text{Na}^+$  en el axoplasma, este promueve el intercambio de  $\text{Na}^+$  por  $\text{Ca}^{++}$  y así se produce un exceso de  $\text{Ca}^{++}$  axonal, el cual finalmente activa varias enzimas  $\text{Ca}^{++}$ -dependientes como las calpains, fosfolipasas y

proteincinasa C cuya acción resulta en la lesión irreversible de los axones [56,65]. Adicionalmente, Fowler y col. [66] establecieron “in vivo” que el AMPA a través de su receptor induce daño estructural del axón, representado por la baja inmuno-tinción de algunos de los componentes microtubulares y de los microfilamentos. Estos cambios generan la detención del transporte axonal. Finalmente, es importante considerar que la pérdida axonal es una principal causa de síntomas clínicos debido a que los axones del SNC no son capaces de regenerarse [54] y su pérdida genera alteraciones severas en las funciones cerebrales [54,56]. Como se ha mencionado anteriormente, el tejido cerebral peritumoral se considera en estado de isquemia o hipoxia.

Los astrocitos mostraron aspecto edematoso. Algunos presentaron abundantes gránulos de glucógeno y otros, escasos o ausencia de los mismos. Algunos estudios de la corteza cerebral peritumoral se han ocupado de los cambios astrocitarios, así Feigin y Budzilowich [27] estudiaron las alteraciones de la sustancia gris peritumoral y reportaron modificaciones astrocitarias variables, Spacek [55] reportó que los astrocitos y sus prolongaciones exhiben edema focal, Bertossi y col. [24] mostraron que los astrocitos aparecen vacíos y edematosos con escasos gránulos de glucógeno y con citoesqueleto fragmentado. Castejón y col. [67,68] caracterizaron, mediante microscopía electrónica de transmisión, los subtipos de astrocitos de la corteza cerebral humana edematosa asociada con trauma cerebral, malformaciones congénitas y algunos casos de tumores. En estos últimos predominó el edema astrocitario. La respuesta astrocitaria es heterogénea y depende del tipo de lesión, el tiempo de inicio y la proximidad de la lesión [69]. Estos factores pudiesen explicar las diferencias y/o similitudes entre lo observado en este estudio y lo reportado por otros autores. El edema astrocitario *per se* constituye un cambio primario importante, ya que éste incrementa la

liberación de glutamato y aspartato, por lo tanto los astrocitos edematosos pueden constituir una principal causa de daño neuronal [48]. La limitada disponibilidad de oxígeno en el tejido cerebral hipóxico conduce a un estado de catabolismo celular y a la glucólisis anaeróbica, que originan algunos metabolitos como el ácido láctico y ácido araquidónico. Este último pudiese escaparse hacia las regiones perilesionales y contribuir con el edema citotóxico y el daño de las neuronas y la glia [70]. La presencia de astrocitos con escasos o ausencia de gránulos de glucógeno, como se observó en este estudio, es consistente con la movilización de las reservas de glucógeno en regiones anóxicas/isquémicas [67,68].

En el presente estudio, los oligodendrocitos se caracterizaron por cambios edematosos leves a moderados y algunos mostraron citoplasma periaxonal electrón-denso. Previamente, Watanabe y col. [34] reportaron numerosas vacuolas citoplasmáticas en la sustancia blanca edematosa adyacente a tumores metastáticos y sugirieron que este hallazgo pudiese implicar disfunción oligodendroglial, la que probablemente se relaciona con la pérdida difusa de la vaina de mielina. De igual modo, Zhang y Olsson [71] expresaron que la lesión de los oligodendrocitos y el edema pueden estar involucrados en la degeneración de la mielina en el tejido peritumoral en casos de metástasis hematógenas. En este estudio se observó vacuolización focal de la vaina de mielina y pérdida de su periodicidad, hallazgos que indican cambios degenerativos de la misma, generados probablemente por las alteraciones de los oligodendrocitos. Spoerri y col. [31] describieron en oligodendrocitos de la corteza cerebral distante a los tumores cerebrales cambios edematosos de los organelos, material electrón-denso y estructuras electrón-densas heterogéneas en el pericarion y en sus prolongaciones. Spacek [55] observó la presencia de algunos cuerpos densos en los oligodendrocitos de la corteza cerebral peritumoral. Recientemente, Tekkok y Goldberg [72] indicaron que en condiciones de hipoxia, la activación

del receptor AMPA/Kainato media la muerte de oligodendrocitos y la lesión axonal en la sustancia blanca cerebral de ratones adultos.

En este estudio, los hallazgos en los capilares y de los componentes perivasculares se caracterizaron por las siguientes alteraciones: las células endoteliales mostraron cambios edematosos leves a moderados, con escasas proyecciones citoplasmáticas lumbinales, las uniones inter-endoteliales presentaron formas alargadas y curvilíneas y estructuralmente cerradas sin evidencias de dilatación del espacio paracelular, mientras que la membrana basal exhibió reduplicación y vacuolización focal. Estos hallazgos pueden considerarse consistentes con la presencia del edema citotóxico en las muestras estudiadas. Varios autores [24,26,29,32,33,46,73-75], han descrito los cambios ultraestructurales de los vasos sanguíneos y de los componentes perivasculares del tejido cerebral peritumoral en varios tipos de tumores. Stewart y col. [76] y Bertosi y col [24] describieron cambios muy similares a los observados en este trabajo. En algunos casos de meningiomas se reportó la presencia de abundantes vesículas pinocíticas en el citoplasma de las células endoteliales [32]. En casos de gliomas se ha descrito adicionalmente grandes vacuolas citoplasmáticas, abundantes proyecciones citoplasmáticas y engrosamiento de la membrana basal [26,29,33]. Probablemente, diferencias en el muestreo de las biopsias, la severidad del edema peritumoral y el tipo de tumor constituyen factores importantes para explicar las diferencias entre las investigaciones de otros autores y las descritas en el presente estudio.

En resumen, los cambios ultraestructurales de los componentes celulares del tejido peritumoral son consistentes con las alteraciones celulares del tipo edematoso y del tipo isquémico, compatibles con la instauración de una condición de isquemia del tejido cerebral peritumoral y respaldan la hipótesis que indica que el edema cerebral peritumoral es del tipo citotóxico o celular por deterioro de la oxigenación del tejido,

derivado del incremento de la presión intersticial local. Finalmente, en el tejido cerebral edematoso peritumoral se encuentran hallazgos que indican degeneración axonal, dendrítica y sináptica, y hallazgos estructurales de plasticidad sináptica, que pueden considerarse como los responsables de las manifestaciones clínicas y de las secuelas, observadas en los pacientes estudiados.

#### **AGRADECIMIENTOS.**

Se agradece la asistencia prestada por la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad Experimental Francisco de Miranda, Coro, estado Falcón-Venezuela. Este estudio fue parcialmente financiado por el Laboratorio Nacional de Microscopía y Microanálisis (Lab. 2001001442). Se agradece la digitalización de las imágenes a Ralph Caspersen y el apoyo secretarial de Laura Villamizar.

#### **BIBLIOGRAFÍA.**

- [1] Giles G.G., Gonzalez M.F. (1995) Epidemiology of brain tumors and factors in prognosis, en: *Brain Tumors*. (eds) Kaye A.H., Laws E.R. New York, Churchill Livingstone., pp: 47-67.
- [2] Hartmann M., Jansen O., Egelhorf T., Forstin M., Albert FK., Sartor K. (1998) Effect of brain edema on the recurrence pattern of malignant gliomas. *Radiologe* 38:948-953.
- [3] Archibald Y.M., Lunn D., Ruttan L.A., MacDonald DR., Del Maestro RF., Barr HWK., Warwick-Pexman JH., Fisher BJ., Gaspar LE., Cairncross JG. (1994) Cognitive functioning in long-term survivors of high-grade glioma. *J Neurosurg* 80:247-253.
- [4]-Mukand J.A., Blackinton D.D., Crincoli M.G., Lee J.J., Santos B.B. (2001) Incidence of neurologic deficits and rehabilitation of patients with brain tumors. *Am J Phys Med Rehabil* 80: 346-350.
- [5]-Telfeian A.E., Phillips M.F., Crino P.B., Judy K.D. (2001) Postoperative epilepsy in patients undergoing

- craniotomy for glioblastoma multiforme. *J Exp Clin Cancer Res* 20:5-10.
- [6]-Kozler P., Pokorny J., Langmeier M., Trojan S. (2002) Pathophysiology and clinical aspects of brain edema. *Cas Lek Cesk* 141:571-574.
- [7]-McComb J.G. (1997). "Cerebrospinal fluid, hydrocephalus, and cerebral edema" en: Davis RL., Robertson DM (Eds.), *Textbook of Neuropathology*. Tercera Edición., William and Wilkins, Baltimore, USA, pp. 225-252.
- [8]-Bakshi A., Nag T.C., Wadhwa S., Mahapatra A.K., Sarkar C. (1998) The expression of nitric oxide synthases in human brain tumour and peritumoral areas. *J Neurol Sci* 155:196-203.
- [9]-Behrens P.F., Ostertag C.B., Warnke P.C. (1998) Regional cerebral blood flow in peritumoral brain edema during dexamethasone treatment: a xenon-enhanced computed tomographic study. *Neurosurgery* 43:235-240.
- [10]-Noble M., Dietrich J. (2002) Intersections between neurobiology and oncology: tumor origin, treatment and repair of treatment-associated damage. *Trends Neurosci* 25:103-107.
- [11]-Pennings FA., Bouma GJ., Kedaria M., Jansen G. (2002) Intraoperative monitoring of brain tissue oxygen and carbon dioxide pressure in peritumoral oedema by stereotatic placement of multiparameter microsensors. *Acta Neurochir* 81(Suppl):323-325.
- [12]-Pennings F.A., Bouma G.J., Kedaria M., Jansen G.F., Bosch D.A. (2003) Intraoperative monitoring of brain tissue oxygen and carbon dioxide pressure reveals low oxygenation in peritumoral brain edema. *J Neurosurg Anesthesiol* 15:1-5.
- [13]-Rothstein J.D., Brem H. (2001) Excitotoxic destruction facilitates brain tumor growth. *Nature Med* 7:994-995.
- [14]-Ye Z.C., Sontheimer H. (1999) Glioma cells release excitotoxic concentrations of glutamate. *Cancer Res* 59:4383-4391.
- [15]-Zhao S., Jiang X., Xue D., Chen D. (1998) Glioma prostaglandin levels correlate with brain edema. *J Tongji Med Univ* 18:115-118.
- [16]-Klatzo I. (1994). Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir* 60:3-6.
- [17]-Klatzo I. (1967). Neuropathological aspects of brain edema. *J Neuropathol Exp Neurol* 26:1-14.
- [18]-Anderson C., Astrump J., Gyldensted C. (1994) Quantitation of peritumoral oedema and the effect of steroids using NMR-relaxation time imaging and blood-brain analysis. *Acta Neurochir* 60 (suppl):413-415.
- [19]-Klatzo I., Chui E., Fujiwara E.K., Spatz M. (1980) Resolution of vasogenic brain edema. *Adv Neurol* 28: 359-373
- [20]-Cox D., Pilkington G., Lantos G. (1976) The fine structure of blood vessels in the ethilnitrosourea-induced tumors in the rat nervous system. With special reference to the breakdown of the blood-brain barrier. *Br J Exp Pathol* 57: 419-430.
- [21]-Goldman C.K., Bharara S., Palmer C.A., Vitek J., Tsai J.C., Weiss H.L., Gillespie G.Y. (1997) Brain edema in meningiomas is associated with increased vascular endothelial growth factor expression. *Neurosurgery* 40:1269-1277.
- [22] Sage M.R., Wilson A.J. (1994) The blood-brain barrier: an important concept in neuroimaging. *A J R* 15:601-622.
- [23] Weggener J., Beggs J. (1976) Vasculature in neural neoplasm. *Adv Neurol* 15:27-49.
- [24]-Bertossi M., Virgintino D., Maiorano E., Occhiogrosso M., Roncali L. (1997) Ultrastructural and morphometric investigation of human brain capillaries intratumoral and peritumoral tissues. *Ultrastruct Pathol* 21:41-49.
- [25]-Davies D.C. (2002) Blood-brain barrier breakdown in septic encephalopathy and brain tumours. *J Anat* 200:639-646.



- [26]-Dinda A.K., Sarkar C., Roy S., Kharbanda K., Mathur M., Khosta A.K., Banerji AK. (1993) A transmission and scanning electron-microscopic study of tumoral and peritumoral microblood vessels in human gliomas. *J Neurooncol* 16:149-158.
- [27]-Feigin I., Budzilovich G.N. (1976) Edema of the cortical gray matter of the human cerebrum. *J Neuropathol Exp Neurol* 35:53-62.
- [28]-Jinnouchi T., Shibata S., Fukushima M., Mori K. (1988) Ultrastructure of capillary permeability in human brain tumor – Part 6: Metastatic brain tumor with brain edema. *No Shinkei Geka* 16(Suppl 5):563-568.
- [29]-Roy S., Sarkar C. (1989) Ultrastructural study of micro-blood vessels in human brain tumors and peritumoral tissue. *J Neurooncol* 7:383-292.
- [30]-Shibata S., Fukushima M., Inoue M., Tsutsumi K., Mori K. (1985) Ultrastructure of capillary permeability in human brain tumors. Part 1: Gliomas associated with cerebral edema (low density area). *No Shinkei Geka* 13:275-281.
- [31]-Spoerri P.E., Spoerri O., Glees P. (1979) Reacting ultrastructure of human oligodendrocyte (a study of cerebral cortex distant to brain tumours). *Acta Neurochir* (Wien). 46:45-52.
- [32]-Vaz R., Borges N., Cruz C., Azevedo I. (1998) Cerebral edema associated with meningiomas: the role of peritumoral brain tissue. *J Neurooncol* 36:285-291.
- [33]-Vaz R., Borges N., Sarmiento A., Azevedo I. (1996) Reversion of phenotype of endothelial cells in brain tissue around glioblastomas. *J Neurooncol* 27:127-132.
- [34] Watanabe I., Tomita T., Rengachary S. (1976) Vacuolation of oligodendroglia in neoplastic perifocal edema. *Acta Neuropathol (Berl)*. 35:1-12.
- [35]-Goel S., Wharton S.B., Brett L.P., Whittle IR. (2003) Morphological changes and stress response in neuron in cerebral cortex infiltrated by diffuse astrocytoma. *Neuropathology* 23: 262-270
- [36]-Semchenko V.V., Stepanov S.S., Savchenko AIu. (1984) Ultrastructural manifestations of brain edema-swelling in neurooncologic patients. *Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko* Jan-Feb (1):16-20.
- [37] Cruickshank GS., Ramplin R. (1994) Peritumoral hypoxia in human brain: preoperative measurement of the tissue oxygen tension around malignant brain tumours. *Acta Neurochir Suppl* (Wien). 60: 375-377.
- [38]-Hu B.R., Martone M.E., Jones Y.Z., Liu C.L. (2000) Protein aggregation alter transient cerebral ischemia. *J Neurosci* 20: 3191-3199.
- [39]-Uematsu H., Maeda M., Itoh H. (2003) Peritumoral brain edema in intracranial meningiomas evaluated by dynamic perfusion-weighted MR imaging: a preliminary study. *Eur Radiol* 13:758-762.
- [40]-Hino A., Imahori Y., Tenjin H., Mizukawa N., Ueda S., Hirakawa K., Nakahashi H. (1990) Metabolic and hemodynamic aspects of peritumoral low-density areas in human brain tumor. *Neurosurgery* 26:615-621.
- [41]-Castejón OJ., Castejón HV. (2004) Structural patterns of injured mitochondria in human oedematous cerebral cortex. *Brain Injury* 18: 997-1016.
- [42] Solensky J.J., di Pierro C.G., Trimmer P.a., Kwan A.L., Helms GA. (2002) Ultrastructural changes of neuronal mitochondria alter transient and permanent cerebral ischemia. *Stroke* 33:816-824.
- [43]-Ikrenyi K., Dora E., Hajos F., Kovach A.G. (1976) Metabolic and electron microscopic studies post-mortem in brain mitochondria. *Adv Exp Med Biol* 75: 159-164.
- [44]-Castejón OJ., Arismendi G. (2003) Morphological changes of dendrites in the oedematous human cerebral cortex. A transmission electron microscopy study. *J Submicrosc Cytol Pathol* 35: 395-413.

- [45]-Hu B.R., Javelidze S., Ginsberg M.D., Busto R., Pérez-Pinzón M., Sick T.J., Siesjo B.K., Liu C.L. (2001) Protein aggregation after focal brain ischemia and reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 21: 865-875.
- [46]-Castejón O.J. (1980) Electron microscopic study of capillary wall in human cerebral edema. *J Neuropathol Exp Neurol* 39:296-326.
- [47]-Kuroiwa T., Ueki M., Chen Q., Suemasu H., Taniguchi I., Okeda R. (1994) Biomechanical characteristics of brain edema: the difference between vasogenic-type and cytotoxic-type edema. *Acta Neurochir* 60:158-161.
- [48]-Kimelberg H.K. (1995) Current concept of brain edema. Review of laboratory investigations. *J Neurosurg.* 83: 1051-1059.
- [49]-Marrone D.F., Petit T.L. (2002) The role of synaptic morphology in neural plasticity: structural interactions underlying synaptic power. *Brain Res Rev* 38: 291-308.
- [50]-Lampl Y., Barak Y., Achiron A., Sarova-Pinchas I. (1995) Intracranial meningiomas: correlation of peritumoral edema and psychiatric disturbances. *Psychiatry Res* 58: 177-180.
- [51]-Lieu A.S., Howng S.L. (2000) Intracranial meningiomas and epilepsy: incidence, prognosis and influencing factors. *Epilepsy Res* 38:45-52.
- [52]-Hammoud M.A., Sawaya R., Shi W., Thall PF., Leeds NE. (1996) Prognostic significance of preoperative MRI scans in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 27:65-73.
- [53]-Castejón OJ. (2003) Synaptic plasticity in the oedematous human cerebral cortex. *J Submicrosc Cytol Pathol* 35:177-197.
- [54]-Coleman MP., Perry VH. (2002) Axon pathology in neurological disease: a neglected therapeutic target. *Trends Neurosci* 25: 532-537.
- [55]-Spacek J. (1987) Ultrastructural pathology of dendritic spines in epitemorous human cerebral cortex. *Acta Neuropathol* (Berl). 73: 77-85.
- [56]-Stys P.K. (2004) White matter injury mechanisms. *Curr Mol Med* 4: 113-130.
- [57]-Takairo T., Lin J.H.C., Arcuino G., Gao Q., Yang J., Nedergaard M. (2001) Glutamate release promotes growth of malignant gliomas. *Nature Med* 7:1010-1015.
- [58]-Hasbani MJ., Hyne KL., Faddis BT., Romano C., Goldberg MP. (1998) Distint roles for sodium, chloride, and calcium in excitotoxic dendritic injury and recovery. *Exp Neurol* 154: 241-258.
- [59]-Sloviter R.S., Dempster D.W. (1985) “Epileptic” brain damage is replicated qualitatively in the rat hippocampus by central injection of glutamate or aspartate but not GABA or acethylcholine. *Brain Res Bull* 15: 39-60.
- [60]-Fiala J.C., Spacek J., Harris K.M. (2002) Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res Rev* 39: 29-54.
- [61]-Park J.S., Bateman M.C., Goldberg M.P. (1996) Rapid alterations in dendrite morphology during sublethal hypoxia or glutamate receptor activation. *Neurobiol Dis* 3: 215-227.
- [62]-Hasbani MJ., Schlieff ML., Fisher DA., Goldberg MP. (2001) Dendritic spines lost during glutamate receptor activation reemerge at original sites of synaptic contact. *J Neurosci* 21: 2393-2403.
- [63]-Castejón OJ., Castellano A., Arismendi G. (2004) Transmission electron microscopy of cortical dendritic spines in the human oedematous cerebral cortex. *J Submicrosc Cytol Pathol* 36: 181-191.
- [64]-Stys P.K. (1998) Anoxic and ischemic injury of myelinated axons in CNS white matter: from mechanistic concepts to therapeutics. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 2-25.

- [65]-Waxmann S.G., Ritchie J.M. (1993) Molecular dissection of myelinated axon. *Ann Neurol* 33: 121-136.
- [66]-Fowler J.H., McCracken E., Dewar D., McCulloch J. (2003) Intracerebral injection of AMPA causes axonal damage in vivo. *Brain Res* 991: 104-112.
- [67]-Castejón OJ. (1999) Astrocyte subtypes in the gray matter of injured human cerebral cortex: a transmission electron microscope study. *Brain Injury* 13:291-304.
- [68]-Castejón OJ., Diaz M., Castejón HV., Castellano A. (2002) Glycogen-rich and glycogen-depleted astrocytes in the oedematous human cerebral cortex associated with brain trauma., tumours and congenital malformations: an electron microscopy study. *Brain Injury* 16:109-132.
- [69]-David S., Ness R. (1993) Heterogeneity of reactive astrocytes. En: Fedoroff S. y Doucette R. (eds). *Biology and Pathology of Astrocytes-Neuron interactions*. Plenum Press, New York., pp. 203-312.
- [70]-Staub F., Winkler A., Haberstock J., Plesnila N., Peters J., Chang RC., Kempinski O., Baethmann A. (1996) Swelling., intracellular acidosis., and damage of glial cells. *Acta Neurochir Suppl* (Wien). 66: 56-62.
- [71]-Zhang M., Olsson Y. (1997) Hematogenous metastases of human brain – characteristic of peritumoral brain changes: a review. *J Neurooncol* 35:81-89.
- [72]-Tekkok S.B., Goldberg M.P. (2001) AMPA/Kainate receptor activation mediates hypoxic oligodendrocyte death and axonal injury in cerebral white matter. *J Neurosci* 21: 4237-4248.
- [73]-Castejón OJ. (1984) Submicroscopic changes of cortical capillary pericytes in human perifocal brain edema. *J Submicrosc Cytol* 16:601-618.
- [74]-Castejón O.J. (1985) Electron microscopic observations of endothelial junctions in perifocal human brain edema. An interpretative study. *J Submicrosc Cytol* 17:105-114.
- [75]-Castejón OJ. (1988) Ultrastructural alterations of human cortical capillary basement membrane in perifocal brain edema. *J Submicrosc Cytol Pathol* 20:519-536.
- [76]-Stewart P.A., Hayakawa K., Farrell C.L., Del Maestro R.F. (1987) Quantitative study of microvessel ultrastructure in human peritumoral brain tissue. Evidence for a blood-brain barrier defect, *J Neurosurg* 67: 697-705.