

# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA ULTRAESTRUCTURAL

## Introducción

**Josep Lloreta Trull, coordinador del club**

*Correspondencia: [jlloreta@parcdesalutmar.cat](mailto:jlloreta@parcdesalutmar.cat)*

La aplicación de la microscopía electrónica en Anatomía Patológica se ha visto limitada por razones de tipo científico y sobre todo, de tipo económico, estratégico y coyuntural. La información ultraestructural sigue siendo relevante en múltiples situaciones, aun a pesar de que su papel ha disminuido o se ha redefinido con la aparición de nuevos conocimientos sobre las enfermedades y de nuevos métodos y estrategias para su diagnóstico. La mayoría de los servicios de Anatomía Patológica carecen de microscopio electrónico y de personas formadas en este campo. Por consiguiente, se impone la creación de una red de laboratorios de microscopía electrónica que puedan proporcionar el diagnóstico ultraestructural en todos los casos que lo requieran. Por otra parte, se hace necesario revisar y difundir entre todos los patólogos las indicaciones actuales de esta técnica y su impacto clínico. Este capítulo pretende ser un eslabón en la consecución de dichos objetivos. Hasta no hace mucho, no tener microscopía electrónica era un factor negativo. No hay duda de que en la actualidad sigue constituyendo un valor añadido disponer de ella.



# Patología Ultraestructural: estado actual y propuestas de futuro

Josep Lloreta Trull <sup>(1)</sup>, Esther Roselló Sastre <sup>(2)</sup>, Miguel Ángel Martínez González <sup>(3)</sup>, Eduardo Vázquez-Martul <sup>(4)</sup>, María Teresa Tuñón Álvarez <sup>(5)</sup>, Carmen Navarro Fernández-Valbuena <sup>(6)</sup> y los miembros del Club de Patología Ultraestructural

(1) Hospital del Mar, Barcelona

(2) Hospital General Universitario de Castelló

(3) Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid

(4) Hospital Universitario de Coruña

(5) Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona

(6) Complejo Hospitalario Universitario de Vigo

## I. SITUACIÓN ACTUAL Y CONTEXTO HISTÓRICO

La aplicación de la microscopía electrónica (ME) en Anatomía Patológica ha experimentado un notable descenso en las últimas décadas. Ello se ha debido a la aparición de otras técnicas, como la inmunohistoquímica, en apariencia más sencillas y económicas, y sin duda aplicables de manera más generalizada en la mayor parte de laboratorios. En este contexto, se ha tendido a omitir el uso de la ME en situaciones en las que es de gran utilidad e incluso, en ciertos casos, es la principal o la única técnica que permite efectuar un determinado diagnóstico.

Existen todavía bastantes centros dotados de equipos de ME. En el ámbito sanitario, los servicios de Anatomía Patológica con un entorno académico de una cierta envergadura suelen contar con un laboratorio de ME. Suele tratarse de hospitales que disponen de centro de investigación o asociados a instituciones universitarias. En dos encuestas recientes, una de ellas de carácter general y otra centrada en patología renal, se ha identificado que unos 25 servicios de Anatomía Patológica de España tienen disponibilidad de un microscopio electrónico, en ocasiones adscrito a la Universidad correspondiente y casi siempre en buen estado de funcionamiento. No obstante, en las dos últimas décadas, han desaparecido algunos de estos laboratorios. Las causas de ello han sido el envejecimiento y la imposibilidad de reposición del equipo, la falta de recursos económicos para su mantenimiento, la priorización de otras inversiones y la falta de personal técnico o de patólogos jóvenes con formación en este campo. En cambio, las unidades de ME que siguen en activo lo son porque el Servicio de Anatomía Patológica dispone de personal cualificado y entrenado y porque se destinan recursos para su mantenimiento.

Para la óptima rentabilización de un laboratorio de ME, es ideal que se reciban los estudios ultraestructurales de otros hospitales de su entorno, además de implicarse en la docencia y la investigación. En este sentido, una apuesta estratégica que cabe plantearse es la creación de una red de laboratorios de referencia de ME que presten servicio en su entorno y que estén coordinados entre sí.

## II. TIPOS DE MUESTRA

Los resultados de mejor calidad en M.E. se obtienen en muestras fijadas en glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodilato o en solución de Karnovsky. Las muestras deben obtenerse en el menor plazo de tiempo posible desde la extracción del tejido, minimizando la compresión y evitando la desecación. Hoy en día, es frecuente que la necesidad de efectuar un estudio ultraestructural de un caso se detecte cuando ya la muestra está fijada en formol o incluida en parafina. Este hecho no impide llevar a cabo el estudio y, aunque con menor calidad de imagen y con una variable pérdida de información, puede obtenerse datos de gran valor diagnóstico incluso en este tipo de muestras. En esta situación, los mejores resultados dependen también de la inmediatez de la fijación previa en formol, de la calidad del fijador, del tiempo de fijación, de la temperatura de la parafina y del tiempo de permanencia en la misma.

La mayor parte de muestras son fragmentos sólidos pero pueden procesarse también sangre y otros líquidos, como el ascítico o el pleural, muestras de citología por aspiración con aguja fina, muestras de cepillado bronquial o nasal, etc.

## III. TIEMPOS DE RESPUESTA

El hecho de que el proceso técnico y el examen al microscopio electrónico sigan un curso distinto que el resto de muestras, unido al hecho de que en general se concentra la inclusión entre uno y dos días a la semana y cada quince días, hacen que a menudo los resultados de la ME se demoren más allá de lo deseable. Aun así, los resultados pueden ser de gran trascendencia para el diagnóstico y el tratamiento. No obstante, debe tenderse a mejorar los tiempos de respuesta. Es relativamente sencillo, sin grandes ajustes técnicos, disponer de resultados en el plazo de una semana. Por otro lado, en función de la urgencia y las necesidades, es posible tener las muestras preparadas para estudio en una semana y, si es muy necesario, en 24-36 horas. De hecho, existen métodos de procesado rápido que permiten obtener cortes a las 4-6 horas de la llegada del tejido al laboratorio. Un importante factor limitante es la disponibilidad de tiempo por parte del patólogo.

La centralización de los laboratorios de ME permitiría destinar un patólogo al diagnóstico ultraestructural. También podría mejorar la dinámica el incorporar a los técnicos a la observación de casos al ME y la obtención de series de imágenes representativas para ser valoradas posteriormente por el patólogo responsable.

## IV. COSTOS

El costo de un estudio de ME varía en función del número de casos a estudiar por año. En un cálculo que incluye procesar 500 biopsias, cortarlas, mirarlas e informarlas, además de la amortización del microscopio electrónico y de sus contratos de mantenimiento por espacio de 20 años, es de unos 150-180 €.

## V. INDICACIONES

Existen muchas situaciones en las que puede aplicarse la ME para mejorar la precisión de un diagnóstico. A continuación, se resumen algunas de las más importantes.

- *Enfermedades renales:*

- Nefropatía de cambios mínimos y otras podocitopatías.
- Enfermedades de la membrana basal (membrana basal fina, enfermedad de Alport).
- Glomerulonefritis en fases iniciales (mesangial, membranosa, membranoproliferativa, en especial por depósitos densos, Goodpasture, enfermedad de las cadenas ligeras, MAT, etc).
- Glomerulopatías con depósitos estructurados, en especial, en fases iniciales (amiloidosis, fibrilar, inmunotactoide, etc).
- Clasificación precisa de la afección glomerular en el lupus eritematoso.
- Patología glomerular del trasplante y multilaminación de membranas basales de los capilares peritubulares.

- Casos sin glomérulos disponibles en el material para inmunofluorescencia directa.
- Tubulopatías hereditarias mitocondriales.
- *Enfermedades del cilio y del flagelo*
  - Se prefiere, para las primeras, una muestra obtenida de mucosa nasal con un cepillo de cepillado bronquial. La muestra debe ser profunda y debe evitarse obtenerla si el paciente presenta síntomas o signos de infección. Los flagelos de los espermatozoides pueden investigarse de modo similar en estudios de esterilidad.
  - Se ha descrito ya una serie de alteraciones moleculares asociadas con pérdida de alguna de las estructuras del citoesqueleto ciliar, en particular la pérdida de uno o los dos brazos de dineína. Si bien existen pruebas funcionales como el NO o el examen de movilidad ciliar en fresco (in vivo/ ex vivo), el diagnóstico de discinesia ciliar primaria sigue siendo ultraestructural y puede corroborarse por estudios moleculares.
- *Enfermedades neuromusculares*
  - Miopatía mitocondrial.
  - Miopatías congénitas (nemalínica, enf. de cores centrales, miopatía miotubular).
  - Miositis con cuerpos de inclusión.
  - Miopatías miofibrilares (desminopatías, miotilinoopatías, asociadas a ZASP, etc).
  - Distrofia muscular oculofaríngea.
  - Miopatías metabólicas (glucogenosis y por acúmulo de lípidos: Fabry, Danon, etc).
  - Neuropatías axonales, desmielinizantes y mixtas.
  - Neuropatía tomacular.
- *Biopsias cerebrales*
  - Enfermedad de Whipple.
  - Ceroidlipofuscinosi.
- *Biopsias de miocardio*
  - Miocardiopatías hipertróficas.
  - Tóxicas (Cloroquina, etc.)
- *Patología hepática:*
  - Enfermedades por depósito: Enfermedad de Lafora, glucogenosis.
  - Inducidas por fármacos, cianamida, antabús.
- *Patología cutánea*
  - Epidermolisis ampollosas congénitas.
  - Epidermolisis ampollosa adquirida.
  - Alteraciones de fibras colágenas y elásticas (cutis laxa, Ehlers-Danlos, etc).
  - Ictiosis.
  - CADASIL.
  - Enfermedades de depósito. Además de la piel, se estudian en ocasiones otros tipos de muestras (músculo, nervio).
- *Patología infecciosa*
  - Distinción entre artefactos y microorganismos (p.e. en núcleos claros esmerilados).
  - Identificación y clasificación taxonómica de virus en pequeñas cantidades.
  - Identificación de protozoos: Microsporidio, Criptosporidio, Isospora, Toxoplasma, Leishmania, etc, en especial cuando son escasos o pueden simular cuerpos apoptóticos.
  - Identificación de bacterias en situaciones especiales como la espiroquetosis intestinal, la enfermedad de Whipple o la angiomatosis bacilar.
  - Control de la respuesta al tratamiento de estas infecciones.
  - Estudio inicial de orientación diagnóstica para indicar técnicas moleculares o inmunohistoquímicas específicas.
- *Patología tumoral*
  - *Situaciones generales:*
    - Casos con resultados contradictorios en la inmunohistoquímica.

- Casos con inmunohistoquímica pobre (p.e. sólo vimentina) o con marcadores diagnósticos muy escasos no detectables por inmunohistoquímica (melanosomas, gránulos neuroendocrinos, sarcómeras, desmosomas, etc).
- Casos de fenotipo incierto o indiferenciados en el estudio con el microscopio óptico.
- Como control de calidad en casos ya diagnosticados.
- *Diagnósticos diferenciales con criterios ultraestructurales útiles:*
  - Mesotelioma-adenocarcinoma.
  - Tumores de células acinares (páncreas, glándula salival).
  - Tumores de células pequeñas: rhabdomyosarcoma, carcinoma de células pequeñas, tumor de Ewing, PNET, tumor desmoplásico de células redondas.
  - Carcinoma de células "no pequeñas" de pulmón: identificación de diferenciación glandular.
  - Tumores con diferenciación mioepitelial y miofibroblástica.
  - Tumores neuroendocrinos, neuroectodérmicos o neuroblásticos.
  - Tumores de células secretoras de esteroides.
  - Tumores eosinofílicos renales: oncocitoma vs. carcinoma cromóforo, carcinoma de células claras o carcinoma cromofílico papilar.
  - Tumores epitelioides de tejidos blandos: sarcoma sinovial, sarcoma epiteliode, sarcoma alveolar de partes blandas, tumores vasculares epitelioides.
  - Cordomas y condrosarcomas.
  - Tumores con diferenciación melanocítica: melanoma, angiomiolipoma epiteliode, tumores pigmentados de tejidos blandos y de sistema nervioso central.
  - Tumores endodermiales, meníngeos y neuronales del sistema nervioso.

## VI. PERSPECTIVAS DE FUTURO

Desde el Club de Patología Ultraestructural, se formulan dos directrices para el futuro:

1. Fomentar el entrenamiento de nuevas generaciones de técnicos y patólogos en ME.
2. Crear redes estructuradas de hospitales dotados de microscopio electrónico, que sirvan de referencia a los hospitales que no dispongan de esta infraestructura, agrupados por proximidad geográfica o por necesidades temáticas específicas (por ejemplo, biopsia renal o muscular).

De esta manera se optimizarían los recursos humanos e instrumentales dedicados al diagnóstico ultraestructural y se generarían recursos económicos para el mantenimiento de las instalaciones y equipos. Lo que es más importante, se conseguiría mejorar la precisión diagnóstica en muchos casos que, en la actualidad, por falta de disponibilidad de esta herramienta, quedan incompletos o no se clasifican de la manera más correcta posible. En última instancia, todo ello redundaría en una mejora de la calidad asistencial y, como consecuencia, en un beneficio para los pacientes.