

APLICACIÓN DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA EN EL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS RENALES

Julietta Sepúlveda¹ & Carlos Zamorano¹

¹ Licenciado en Tecnología Médica, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

RESUMEN

El estudio de las enfermedades renales por medio de biopsias se remonta desde 1951, y la Microscopía Electrónica (ME) desde sus comienzos ha estado ligada al diagnóstico de estas enfermedades debido al detalle a nivel ultraestructural de la información que entrega de los componentes tisulares. Sin embargo, debido a las limitantes que impone la aplicación de esta técnica es necesario realizar una evaluación sobre cuales son las patologías específicas de las que se obtiene información esencial para su diagnóstico mediante ME. Por esto es necesario tener un conocimiento tanto de los hallazgos encontrados a lo largo de la historia, de la aplicación de este método, como de los procedimientos estándar adecuados para el procesamiento de la muestra a analizar. Es así, que diversos investigadores han analizado la aplicación de esta técnica coincidiendo en general que la ME tiene principalmente un rol de contribución en el diagnóstico de enfermedades, sin embargo, bajo situaciones específicas pasa a jugar un papel fundamental y crítico.

Palabras claves: biopsia renal; riñón nativo; microscopía electrónica; inmunohistoquímica; inmunofluorescencia; glomerulopatías; nefropatías

INTRODUCCIÓN

El estudio del riñón por medio de biopsias renales, se efectuó por primera vez por Iversen P & Brun C en 1951, como un nuevo procedimiento para el estudio de las enfermedades renales, sin embargo, por medio de la utilización de la Microscopía Óptica (MO) no se obtenía la información suficiente, para en algunos casos, poder llegar a un diagnóstico (Iversen P & Brun C, 1951; Furness P & Boyd S, 1996). Por esta razón fue necesaria la introducción de métodos que complementarían este quehacer, y esto se realizó a través de la Microscopía Electrónica (ME) y otras técnicas de diagnóstico.

La integración de esta técnica es de vital importancia porque la ME tiene múltiples aplicaciones en variadas áreas y su conocimiento en profundidad nos entregara las herramientas para obtener una visión mas amplia del diagnóstico de las enfermedades renales, ya que, las patologías de este tejido contienen una ultraestructura muy compleja y con agregaciones a la morfología que solo por medio de este método pueden lograr ser observadas.

La ME ha sido muy importante, ya que, sirve para entender el funcionamiento celular, además de conferir una nueva visión de los componentes en el tejido entregando detalles íntimos ultraestructuralmente, que nunca antes habían sido vistos.

La ME entrega las herramientas para el reconocimiento de variaciones mínimas en el tejido, lo que es un gran aporte para realizar un diagnóstico adecuado junto a la MO e Inmunofluorescencia (IF). Sin embargo, es un hecho que con la introducción de nuevos métodos como, por ejemplo, Inmuhistoquímica (IHQ) e Hibridación *in situ*, el aporte de la Microscopía electrónica ha disminuido, en especial

en el diagnóstico de tumores. No obstante aún es indispensable en el diagnóstico de determinadas enfermedades renales.

Pero ante tantas diferentes situaciones de diagnóstico es necesario analizar cuando se realizara su aplicación, por lo cual surgen preguntas como (Bancroft, 2002):

1. ¿La ME proporciona información complementaria útil en el contexto de una consideración meticulosa para un diagnóstico diferencial?
2. ¿El tiempo y costo que toma llevar a cabo un proceso con Microscopía Electrónica es efectivo en relación a otras técnicas de diagnóstico, tales como tinción por IF y/o MO?
3. ¿Se obtendrán resultados que produzcan una "mejoría" en el diagnóstico y una mejor estrategia de cuidado y tratamiento del paciente?

La ME cobra importancia cuando los resultados obtenidos a través de MO e IF son poco concluyentes, donde la evaluación principalmente de tres tipos de morfologías glomerulares son de vital importancia: ubicación y morfología de los depósitos de complejos inmunes (Fig. 1), cambios morfológicos y numéricos en el componente celular del glomérulo (Fig. 2) y variaciones en el grosor y/o textura de membrana basal glomerular (Fig. 3).

Bajo esta visión se ha investigado en profundidad el valor de la ME para obtener un diagnóstico esencial y diferentes investigadores han encontrado que ha sido sustancial en 11% de los casos según Siegel *et al.* (1973), por otra lado Olsen *et al.* (1983) en el 13% y Muehrcke R *et al.* (1969), encontraron que la ME contribuyó significativamente al diagnóstico sólo en el 6%.

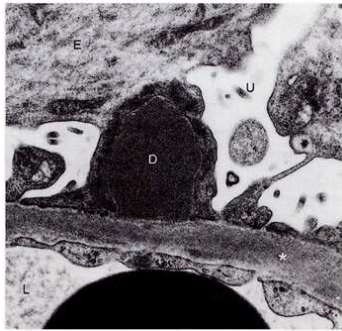


Figura 1. GN post-infecciosa. Depósito subepitelial típico en forma de cúpula (joroba) (D). GBM (*), citoplasma de células epiteliales (E), espacio urinario (U), lumen capilar (L) con una parte de los glóbulos rojos también visibles. Magnificación: x 10.700.

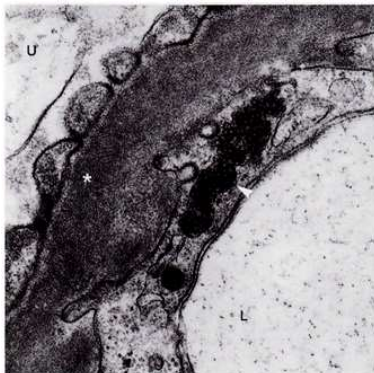


Figura 2. Lupus eritematoso sistémico. Inclusión tubuloreticular (cabeza de flecha) en el citoplasma de las células endoteliales. GBM (*), espacio urinario (U), del lumen capilar (L). Magnificación: x 31.000.

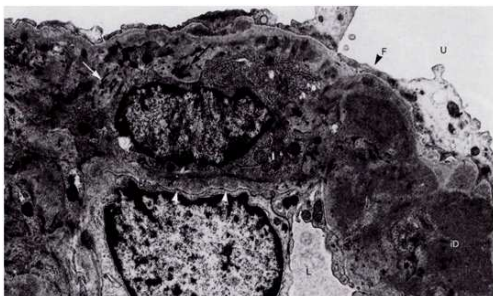


Figura 3. GN Mesangiocapilar tipo I. La pared capilar se encuentra engrosada considerablemente debido a la interposición de células mesangiales y la formación de una nueva membrana basal-como materiales (cabeza de flecha), dando lugar a la aparición de un

doble contorno, como se ha visto por MO. Magnificación: x 9800.

Para realizar esta revisión bibliográfica se han analizado trabajos científicos relacionados con este tema, primero, evaluando el procesamiento de la muestra, luego, comparando los resultados obtenidos por lo investigadores y finalmente identificando patologías en las cuales la ME es esencial.

PROCESAMIENTO DE UNA BIOPSIA RENAL

Con el transcurrir del tiempo se hizo necesario establecer una serie de normas generales para realizar un procesamiento y manipulación óptimos de biopsias renales generando una serie de procedimientos estándar que comprenden desde el comienzo, en el momento que se toma la muestra, hasta el establecimiento del diagnóstico incluyendo los pasos de transporte y división de la biopsia, preservación y conservación del tejido, y finalmente obtención de cortes y tinción de la muestra. La obtención final de la información clínica requerirá una estrecha colaboración tanto del médico del área de Patología Quirúrgica junto con el Patólogo, donde el Tecnólogo Médico cumple un rol de enlace fundamental donde aplica todos sus conocimientos teórico-prácticos en el procesamiento y tratamiento de biopsias y tejidos permitiendo destacar estructuras, mediante la aplicación de diversas técnicas de tinción, esenciales para el posterior diagnóstico realizado por el Patólogo (Nefrólogo). Si se tienen presentes estos puntos, analizan y aplican adecuadamente hay un 40-50% de probabilidad de que los resultados de la biopsia renal tendrán una consecuencia positiva directa para el manejo del paciente (Thut M *et al.*, 2002; Paone D & Meyer L, 1981; Comi

N *et al.*, 2000; Andreucci V *et al.*, 1998.).

MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA

Obtención de la biopsia. Lo apropiado es extraer dos cilindros de 1 cm de largo y 1,2 mm de diámetro para asegurar presencia de un número óptimo de glomérulos (10-15) para poder aplicar un diagnóstico (Amann K & Haas C, 2006). Sin embargo, no se puede utilizar una cantidad muy baja de glomérulos para determinar la gravedad de una lesión glomerular focal (Corwin *et al.*, 1988), ya que, esto podría inducir al error en el diagnóstico y/o excluir ciertas patologías.

Manejo y transporte. Dependiendo de los medios que se dispongan una vez extraída la biopsia puede ser transportada de forma rápida y local donde la biopsia se coloca en solución salina isotónica (ej. NaCl), se divide el cilindro y aplican métodos de congelación (como por ejemplo Criopreservación, Criomicrotomía, etc.) para MO, IHQ, ME o IF (Amann K & Haas C, 2006).

Si el tratamiento requiere un proceso más largo la biopsia se coloca en un fijador químico (de preferencia aldehídicos) y es enviado al centro donde el Tecnólogo Médico de Morfofisiopatología y Citodiagnóstico se encarga de prepararlo para incluirlo en un medio de soporte y posteriormente aplicarle técnicas de tinción de rutina y especiales como ME de Transmisión, o en el caso de ser necesario un estudio retrospectivo a través de ME de Barrido, donde es necesario primero la extracción del medio de inclusión para realizar el estudio (Wing-Ling N *et al.*, 1982).

APLICACIÓN DE TÉCNICAS DIAGNOSTICAS

Una vez que las muestras se encuentran incluidas en parafina se

deben realizar entre 5 a 15 cortes para aplicarles técnicas de tinción. Se pueden realizar tratamientos de IHQ y ME complementarios, para detectar inmunodepósitos, además de las técnicas para MO que se presentan a continuación (McCarthy G & Roberts I, 2002):

- Hematoxilina y eosina (HE)
- Ácido periódico de Schiff (PAS)
- Tinciones para tejido fibroso (Sirius rojo, Trichrom, Ladewig, etc.)
- Tinciones de plata (cambios en GBM)
- Tinción de Von Kossa (calcificaciones)
- Tinción de Rojo Congo (amiloides)

UTILIDAD E INFORMACIÓN GENERADA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Al momento de suponer una patología no es crítica la aplicación de ME para el diagnóstico, sin embargo, durante el transcurso del procedimiento pueden surgir una serie de eventos impredecibles, por lo que, la investigación se puede tornar sugestiva y requerir la aplicación de esta técnica de observación siendo en algunos casos incluso un camino obligatorio para llegar al final de la ruta diagnóstica, creando la necesidad de siempre preservar material para que aún exista la posibilidad de aplicarla.

Sin embargo, para algunas enfermedades renales se requiere ME para realizar un diagnóstico definitivo como sería el caso de la enfermedad de Alport, enfermedad de la membrana basal delgada y nefropatía de cambio mínimo (Amann K & Haas C, 2006). En casos en que se sospeche desde un principio la presencia de alguna de estas patologías será necesario tomar una muestra de biopsia y ser fijada en glutaraldehído para comenzar el procesamiento adecuado para ME. ME permite la evaluación de (Amann K & Haas C, 2006):

- Presencia y grado de proliferación celular.

- Cambios en la estructura celular.
- Necrosis o apoptosis de las células.
- Cambios de membrana basal glomerular.
- Localización de depósitos de Ig.

PRESENTACIÓN DE INFORMACIÓN Y DIAGNÓSTICO

La información otorgada al final es el momento culmine del proceso en donde se analiza minuciosamente para deducir un diagnóstico, pronóstico y posible tratamiento a la patología estudiada. Es por esto, que es necesario la utilización de un lenguaje e información relativamente universal para forjar informes legibles por el equipo médico.

En cuanto a la opinión de Amann K y Haas C (2006) el informe final realizado por el Patólogo, de una biopsia renal, debe incluir información sobre:

- Número de glomérulos y arterias de la muestra.
- Descripción de cambios morfológicos de manera sistemática para cada uno de los compartimentos de interés (glomérulos, túbulos, interstitium, bucles).
- Descripción microscópica de los resultados de MO (toman más tiempo, por lo que, requerirá un informe por separado más adelante).
- Resultados de estudios de IF, IHQ y ME. La información obtenida permite obtener un diagnóstico descriptivo y, finalmente, el diagnóstico final donde se integra la información obtenida por MO, IHQ, IF y ME junto con la información clínica (Amann K & Haas C, 2006).

EL ROL DE LA MICROSCOPIA ELECTRONICA

Diversos investigadores se han dedicado al estudio de biopsias renales con el objetivo de analizar el nivel de aplicación diagnóstica de la Microscopía Electrónica, examinando

tejidos renales, especialmente por medio de estudios retrospectivos, contando en muchos casos con los resultados obtenidos a través de microscopía óptica y técnicas auxiliares como inmunofluorescencia.

Hace aproximadamente 40 años atrás se utilizaba para el diagnóstico de las biopsias renales siendo en más del 85% adecuadas para esta técnica (Tighe J y Jones N, 1970). Esto queda de manifiesto en un informe del Dr. J R Tighe y Dr. N F Jones en 1970 donde de 100 biopsias examinadas por ME diagnosticaron 46 síndrome nefrótico, 14 proteinuria subnefrótica, 33 insuficiencia renal no explicada, 11 'varios' que incluyen 4 casos de lupus eritematoso sistémico (Fig. 4), 2 poliarteritis nodosa, 2 insuficiencia renal con desecho de potasio, 1 riñón único no funcional, 1 hematuria recurrente y 1 pielonefritis crónica.

En los diferentes trabajos relacionados con este tema se puede constatar, que los investigadores categorizan de diferentes maneras las contribuciones de la Microscopía Electrónica. Sin embargo, hay una clasificación que resalta, ya que presenta los datos de forma clara y sencilla y es la utilizada por Pearson J *et al.* (1993), que define a la Microscopía Electrónica como: esencial en los casos en que el diagnóstico no se hubiera alcanzado sin la intervención de esta técnica, que para este caso fue de un 25%, útil cuando los resultados de la ME simplemente acompañan a los obtenidos por MO, que fue en el 50% de las biopsias que estudiaron e inútil en un 25%, cuando los datos entregados por ME no contribuyen a establecer un diagnóstico.

Por otro lado con resultados más actuales, en estudios con similares características se obtuvo que en un 7,5% de los casos, existe discrepancia entre los resultados de IF y ME, en 5,5% la ME confirmó los resultados

obtenidos por MO y microscopía de fluorescencia (contribución de la ME), en 10,0% de los casos, la ME es esencial para el diagnóstico definitivo, sin embargo, en un 77% de los casos se realizó el diagnóstico solo a través de MO y IF (Sementilli A *et al.*, 2004).

La Microscopía Electrónica fue de contribución principalmente en los siguientes casos: glomerulonefritis membranosa (Fig. 5) en los primeros estados con IF negativa, en que la ME revela depósitos subepiteliales electrodensos, los casos de glomerulonefritis proliferativa endocapilar con IF negativa en la que la ME revela electrodensidad subepitelial en tipos de depósitos, los casos de nefropatía por IgA con IF dudosa, en el que la ME reveló depósitos electrodensos paramesangiales (Sementilli A *et al.*, 2004). Por otro lado fue esencial para el diagnóstico, en los casos de nefropatías hereditaria entre los que se encuentran el síndrome de Alport, hematuria benigna recurrente, enfermedad de la membrana basal delgada, y síndrome nefrótico congénito (Sementilli A *et al.*, 2004).

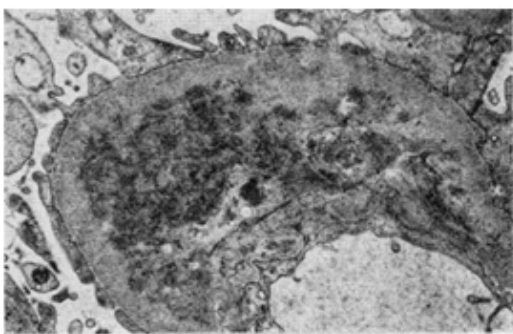


Figura 4. Lupus eritematoso sistémico. Algunos procesos podales del epitelio celular (superior izquierda) se conservan, pero otros son contundentes. Un "borroso" depósito denso separa la membrana basal del revestimiento de células endoteliales del capilar (en la parte inferior derecha). Amplificación: 7900x

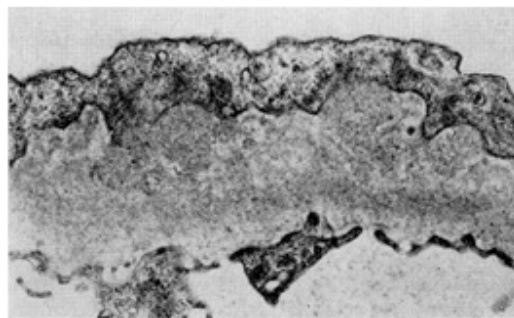


Figura 5. Glomerulonefritis membranosa. La membrana basal glomerular esta engrosada y de textura subepitelial desigual debido a la deposición de material granular. Citoplasma de células epiteliales (arriba) se apoya en la membrana basal, sin procesos podales. Citoplasma de células endoteliales (abajo) es normalmente fenestrado. Amplificación: 13.700x

EVALUACIÓN DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA EN EL TIEMPO

En cuanto a la aplicación de la ME a finales de los años 70' los informes realizados indican que la efectividad de la ME en el diagnóstico de patologías renales en aquellos tiempos remotos era de gran utilidad en el proceso diagnóstico de patologías renales, por lo que, prácticamente se aplicaba de forma casi obligatoria a cada biopsia renal estudiada. Incluso la ME se utilizaba como diagnóstico diferencial de patologías en donde la MO no detectaba cambios morfológicos, lo que, tenía como consecuencia una falla en la respuesta a terapias aplicadas a pacientes. La aplicación de ME se realizaba siempre que fuera posible. Lo que demuestra la aplicación masiva y recurrente de esta técnica en décadas anteriores, por los sistemas de salud, especialmente en países Europeos como Inglaterra.

El uso de la ME en esa época era tan apropiado y conveniente que permitían establecer una clasificación exacta y certera de enfermedades glomerulares y se pensaba que con el aumento de los conocimientos de su uso

como guía para la terapia su aplicación iría en aumento, a pesar, de los requerimientos técnicos y de maquinaria especializada lo que lo hacían una técnica de alto costo en dinero y consumo de tiempo siendo esto hasta el día de hoy una limitante. (Tighe J & Jones N, 1970). Fue por estas razones que la mayoría de los estudios por ME de los que hoy se tienen registro fueron realizados en esos periodos (60's y 70's) encontrando informes más detallados. Existe además una diferencia entre estos periodos donde en los años 60's se realizó un informe de 179 casos siendo solo el 6% una contribución al diagnóstico por ME, utilizándose la biopsia renal para casos excepcionales para el diagnóstico final concluyendo que su aplicación de rutina es un procedimiento totalmente innecesario siendo un lujo más que una necesidad, reservando la biopsia renal para casos excepcionales (Muehrcke R *et al.*, 1969).

En cambio, en los años 70's se informó que de 100 casos prácticamente en todos se diagnóstico una patología renal y se demostró el gran valor de la ME en el diagnóstico diferencial del 85% de las muestras totales.

Pero el paso de los años, han demostrado que están predicciones eran inciertas, el glorioso porvenir que se dilucidaba para la ME ha sido truncado por muchos hechos a lo largo de la historia diagnóstica de patología renales, como la introducción de la inmunofluorescencia una técnica mas sencilla y fácil de realizar, que en la actualidad se efectúa en muchos laboratorios junto a la observación por MO. Lo que ha producido el cuestionamiento de la utilidad real de la Me en el diagnostico.

Más aún existe una gran presión financiera para reducir los costos productos de las investigaciones científicas y los diagnósticos de rutina, por lo cual la utilización de esta técnica,

se realiza en estrictas selecciones (Sementilli A *et al.*, 2004).

Es así que se ha analizado contantemente el rol de la Microscopía Electrónica para realizar una serie de diagnósticos, donde investigadores han llegado a diferentes conclusiones que se pueden observar en la Tabla 1 (Sementilli A *et al.*, 2004).

El primer registro que se tiene sobre la aplicación de ME a patologías renales fue en los 60's por Muehrcke R *et al.* donde se realizo un informe, después de evaluar 179 casos, donde se encontró que sólo el 6% de los casos la ME contribuyo de manera significativa en comparación con los años 70', donde un estudio realizado por el Dr. Tighe J y Dr. Jones N, un año después, se informaron hallazgos totalmente opuestos en un grupo de investigadores tras realizar un estudio a una serie de 100 casos aplicando ME concluyendo que el diagnóstico de rutina por ME es útil para mas del 85% de las biopsias y de gran valor en el diagnostico diferencial del síndrome nefrótico, destacando además, las principales limitaciones de aplicar la técnica de rutina como lo son el alto costo y consumo de tiempo (Tighe J & Jones N *et al.*, 1970).

Años después se evaluó el uso de rutina de ME en un estudio de 213 muestras de biopsia renal concluyendo que la ME contribuía para el diagnóstico o tratamiento de los pacientes en el 48% de los casos, encontrando que, en aproximadamente 1 de cada 10 casos de biopsia, la ME entrega un diagnóstico considerablemente diferente al sugerido por MO, pero que la ME es útil, en la confirmación definitiva del diagnostico por la MO para un diagnostico preciso y su gestión indicando que la MO por sí sola no puede predecir el diagnóstico de todos los casos, siendo la ME de mayor beneficio reafirmando la convicción de que esta técnica de

observación debería utilizarse de forma rutinaria (Siegel *et al.*, 1973).

Unos cuantos años después evaluó la ME de rutina en el diagnóstico diferencial del síndrome nefrótico en 37 casos y se determinó necesaria la aplicación de esta técnica para un diagnóstico, pronóstico y tratamientos indicados especialmente para patologías renales recurrentes como la enfermedad con cambios mínimos y enfermedad membranosa temprana y el diagnóstico diferencial entre ambas (Ben-Bassat *et al.*, 1974).

Posteriormente el uso práctico de ME se evaluó principalmente en el diagnóstico de enfermedades glomerulares materializando las conclusiones sacadas de estudios anteriores concluyendo que ya no se podía cuestionar su valor práctico si no que debería utilizarse en estudios donde la biopsia renal es de evaluación crítica (Spargo *et al.*, 1975).

El desarrollo de la metodología de anticuerpos marcados con fluoresceína (inmunofluorescencia indirecta) realizado por Coons A, Creech H, Jones N y Berlinier E, en la Universidad de Harvard en 1941 (Taylor C, 2006) permitió junto con la contribución de la ME una descripción detallada para el diagnóstico de la glomerulonefritis en un estudio de 134 casos llegando a la conclusión de que para un diagnóstico exacto es esencial complementar la MO con uno o preferentemente ambos métodos (Dische & Parsons *et al.*, 1977).

Más adelante, se realizó un estudio retrospectivo donde se obtuvieron resultados a partir de muestras obtenidas, durante procesos llevados a cabo durante un periodo de tiempo pasado, re-incluyendo en resina una serie de casos de insuficiencia renal de 1967, momentos en los que solo se contaba con el diagnóstico por MO y se llevaba a cabo ME de forma retroactiva (teniendo certeza en diagnósticos

preexistentes) poniendo de manifiesto que la ME hace una contribución de forma significativa al diagnóstico preciso de la enfermedad glomerular, ya que ha permitido detectar depósitos inmunes (Collan *et al.*, 1978).

Ya en la década de los 80's se realizó un estudio donde se evaluaron el uso de cortes semi-finos y de ME en el diagnóstico de biopsia renal y encontraron que la ME cambiaba el diagnóstico en el 34% de los casos, y entregaba información adicional útil en otro 45% en casos de glomerulonefritis llegando a la conclusión de que la ME debe utilizarse rutinariamente en la sospecha de casos de glomerulonefritis (Skjorten & Halvorsen *et al.*, 1981).

En investigaciones un poco más actualizadas, se estudió el uso rutinario de ME, en conjunto con los descubrimientos en MO e IF, determinando que tienen un papel esencial en el 25% de los casos, un rol de ayuda en el 50% y alrededor del 25% de los casos de carácter no contributivo para realizar el diagnóstico (Pearson J *et al.*, 1994). Se puede observar un resumen de los diferentes estudios realizados y sus autores en la Tabla 1.

Por otro lado en cuanto al papel fundamental de ME en el diagnóstico específicos de enfermedades se puede constatar que sirve para la identificación de nefropatías de lesiones mínimas, en glomerulonefritis proliferativas, como también en la enfermedad membranosa en etapa temprana como se puede observar en la Tabla 2 (Pearson J *et al.*, 1994), y además, en casos de glomerulonefritis mesangiocapilar (Furness P & Boyd S, 1996). Se ha demostrado el papel fundamental de la ME en las nefropatías hereditarias, ya que por medio de IF no se obtienen resultados positivos en tanto que la MO puede aparecer normal, pero en cambio la ME entrega información de alteraciones de la membrana basal, pudiendo reconocer un síndrome de

Tabla N°1. Lista de publicaciones destacando la utilización de la microscopía electrónica para el diagnóstico de glomerulopatías (Sementilli A *et al.*, 2004)

Estudio y fecha	N° casos	Hallazgos/Conclusiones
Muehrcke R <i>et al.</i> 1969	179	6% de los casos, la ME ha contribuido al diagnóstico. Biopsia renal es reservada en casos excepcionales.
Tighe J & Jones N 1970	100	Gran valor de la ME en el diagnóstico diferencial del síndrome nefrótico. Limitación del método debido al alto costo y requiere mucho tiempo.
Siegel N <i>et al.</i> 1973	213	En el 48% de los casos, ME ha contribuido al diagnóstico y conducto. Cada caso de ME difiere al de MO. Cuando MO no permite la predicción de cuándo utilizar ME, el método debe ser utilizado rutinariamente.
Ben-Bassat M <i>et al.</i> 1974	37	Gran utilidad en el síndrome nefrótico para el diagnóstico diferencial de la lesión mínima y principios de glomerulonefritis membranosa.
Spargo V 1975	Review	Usos prácticos de ME para el diagnóstico de enfermedad glomerular. ME se utilizará siempre que una biopsia sea evaluada críticamente.
Dische F & Parsons V 1977	134	Evaluación de la contribución de IF y ME. Para un diagnóstico preciso, es fundamental complementar la MO, preferiblemente con IF y ME.
Collan Y <i>et al.</i>, 1978	28	Estudio retrospectivo de los casos con sospecha clínica y síntomas de la enfermedad glomerular. ME ha contribuido significativamente al diagnóstico de la demostración de depósitos inmunes.
Skjorten F & Halvorsen S 1981	200	ME es útil en el 45% de glomerulonefritis y cambió el diagnóstico en 34%. ME de rutina debe ser utilizado cuando se sospeche la presencia de glomerulonefritis.
Pearson J <i>et al.</i> 1994	88	ME usada en conjunto con MO e IF. ME útil en el 50%, esencial 25% e inútil 25%. Es utilizada principalmente para lesiones mínimas y entidades relacionadas.

Alport o una membrana basal delgada, de acuerdo a sus características.

Además de esto la ME contribuye en alcanzar el diagnóstico de diversas enfermedades como se observa en la Tabla 3 (Sementilli A *et al.*, 2004).

La ME además permite evaluar mediante la observación de la ultraestructura ciertos patrones para realizar un diagnóstico adicional de ciertas patologías renales relacionado a un diagnóstico primario agregando información adicional al diagnóstico final como se observa en la Tabla 4 (Marl H, 1997).

PRINCIPALES PATOLOGÍAS RENALES IDENTIFICABLES CON MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

El síndrome nefrótico es causado por afección glomerular, bien por enfermedad renal (glomerulonefritis primaria) o bien por enfermedades extrarrenales que afectan al riñón (glomerulonefritis secundaria).

Dentro de las Glomerulonefritis primarias encontramos dentro la clasifican según su criterio histológico: Enfermedad de cambios mínimos, glomerulonefritis membranosa, glomerulonefritis mesangiocapilar, glomerulonefritis rápidamente

Tabla N°2. Contribución de Microscopía Electrónica y utilidad en el diagnóstico
(Pearson J *et al.*, 1994)

Categorías / Diagnóstico / Diagnóstico final	Categoría de valor para la Microscopía Electrónica			
	ESCENCIAL	ÚTIL	INÚTIL	N° TOTAL CASOS
Lesión Mínima	6			6
GN Membranosa	1	4		5
GN Mesangial proliferativa IgA		9		9
GN Mesangial proliferativa IgM	1	4		5
GN Mesangiocapilar		2		2
GNRP	1	8	1	10
GN proliferativa (LES)	2	1		3
FGSG		4		4
Nefropatía diabética	3	4		7
Hipertensión benigna/isquémica	1	3	6	10
Hipertensión maligna			1	1
Enfermedad en etapa terminal			5	5
Amiloidosis	1	2		3
NTA			1	1
Nefritis tubulointersticial			1	1
Biopsia de transplante	2	5	2	9
Trombosis de vasos largos			1	1
Normal	4	1	1	6
Total	22	47	19	88

progresiva y glomeruloesclerosis focal y segmentaria, y también glomerulonefritis secundarias que mantienen el mismo patrón histológico que las causas primarias pero tienen características que las diferencian donde encontramos: Nefropatía diabética, lupus eritematoso sistémico, sarcoidosis, sífilis, hepatitis B, síndrome de Sjögren, VIH, amiloidosis, mieloma múltiple, vasculitis, cáncer, trastornos genéticos y drogas.

LESIÓN DE CAMBIO MÍNIMO (ENFERMEDAD DE PROCESOS PODOALES)

Debe su nombre a que las nefronas parecen normales vistas a MO

y sólo con ME se aprecia la. No hay ninguna anormalidad, pero la membrana basal del epitelio que cubre la pérdida de las células muestran procesos podales (Fig. 6). Ellos no muestran invaginaciones citoplasmáticas de la membrana basal y la proliferación de microvellosidades en el espacio urinario es menos notable que en glomerulonefritis membranosa. Depósitos en el interior o en la membrana no son evidentes (Tighe J & Jones N, 1970).

LOMERULONEFRITIS PROLIFERATIVA

Hay proliferación de células endoteliales con estrechamiento de la luz capilar. La proliferación de células

Tabla N°3. Contribución de diferentes métodos de diagnósticos en 200 casos de glomerulopatías (Sementilli A *et al.*, 2004)

PATOLOGIA	MO y IF	Discrepancia con IF	ME útil	ME esencia I	Total
I.- Glomerulopatías Primarias					
Lesiones mínimas	29	2	1	-	32
Glomeruloesclerosis focal y segmentaria	12	-	1	-	13
Glomerulonefritis membranosa	9	3	2	-	14
Glomerulonefritis proliferativa mesangial	15	1	1	-	17
Glomerulonefritis proliferativa endocapilar	13	3	2	1	19
Glomerulonefritis mesangiocapilar tipo I y III	16	2	-	3	21
Glomerulonefritis Crescéntica (extra-capilar)	1	-	1	-	2
Glomerulonefritis sin clasificación	1	-	-	-	1
II.- Glomerulopatías Secundarias					
Enfermedades sistémicas					
Nefritis por lupus	33	2	-	-	35
Enfermedad de Berger	8	2	3	-	13
Enfermedades vasculares					
Poliarteritis nodosa	1	-	-	-	1
Síndrome urémico hemolítico	2	-	-	-	2
Nefroesclerosis benigna	11	-	-	-	11
Enfermedades metabólicas					
Glomeruloesclerosis diabética	1	-	-	-	1
Amiloidosis	1	-	-	-	1
III.- Nefropatías Hereditarias					
Síndrome de Alport	-	-	-	1	1
Membrana basal glomerular normal con hematuria recurrente	-	-	-	11	11
Enfermedad de la membrana basal delgada	-	-	-	2	2
Síndrome nefrótico congénito	-	-	-	1	1
IV.- Glomerulopatías, misceláneas					
Nefropatía eclampsia	1	-	-	-	1
Nefritis intersticial aguda	-	-	-	1	1
TOTAL	154	15	11	20	200
%	77,0%	7,5%	5,5%	10,0%	100%

epiteliales en los glomérulos es más variable. La membrana basal glomerular es engrosada con frecuencia y muestra depósitos densos, más comúnmente se produce una protrusión o "joroba" (Kimmelstiel *et al.*, 1962) en el lado epitelial de la membrana (Fig. 7).

NEFROPATÍA O SÍNDROME DE ALPORT

Las nefropatías hereditarias son un grupo heterogéneo de afecciones renales de la infancia, unas con un amplio espectro que engloba al síndrome de Alport (Alport A, 1927; Perkot G *et al.*, 1951) con alteraciones estructurales de la membrana basal. La nefropatía de Alport es una nefropatía de carácter hereditario que se caracteriza por una anomalía del colágeno tipo IV de la membrana basal. En la forma clásica es una nefropatía evolutiva con insuficiencia renal progresiva que termina en fracaso renal, asociada a sordera neurosensorial y alteraciones oculares, fundamentalmente del cristalino.

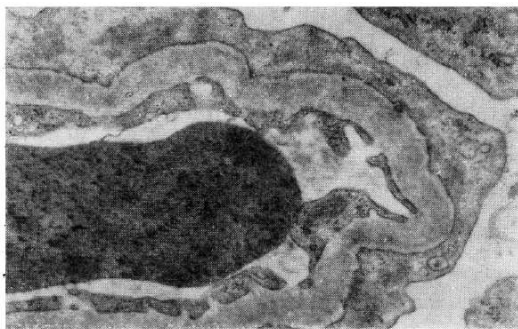


Figura 6. Proceso de la enfermedad podal. Tres capas de la membrana (lámina rara interna, lámina densa y lámina rara externa) pueden ser identificadas y no hay depósitos. Citoplasma de células epiteliales marcadas en la membrana basal y procesos podales se han perdido. Amplificación: 13.700x

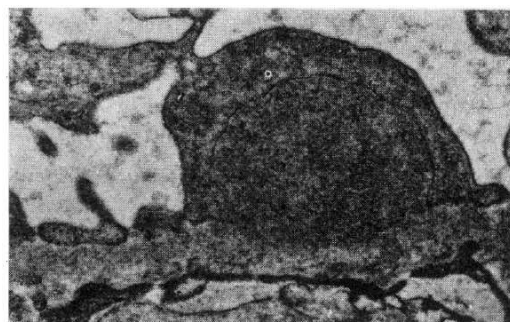


Figura 7. Glomerulonefritis proliferativa. Densos depósitos en el lado del epitelio glomerular de la base. Cubre el depósito, el citoplasma de células epiteliales está marcado. En otros lugares, se conservan los procesos podales. Amplificación: 15.500x

Se observan una serie de alteraciones, que aunque características del síndrome de Alport, no deben ser consideradas aisladamente como específicas: 1) Hendiduras de la membrana basal (lámina densa) con aspecto laminado reticulado que encierra áreas electrón lúcidas, 2) Variación del espesor de la membrana basal con zonas de adelgazamiento, 3) Expansión lúcida de la lámina rara interna. Estas alteraciones estructurales también pueden verse en la membrana basal de la cápsula de Bowman y membrana basal tubular (Barat A *et al.*, 2002).

CONCLUSIONES

La práctica de la patología renal y medicina en general a sufrido una serie de cambios proporcionando un impulso para realizar una evaluación cada cierto tiempo del uso de ME de rutina en biopsias de tejido renal nativo. El clima económico que se ha generado en los últimos tiempos ha inducido la necesidad de que la práctica médica cambie dramáticamente incluso produciendo un incremento de la presión por reducir el número de métodos, análisis y técnicas de observación de alto costo diagnóstico.

Tabla N°4. Casos en que los hallazgos de Microscopía Electrónica fueron un apoyo en el diagnóstico adicional (Marl H, 1997)

Diagnóstico Primario	Diagnóstico Adicional	Hallazgos ultraestructurales que apoyan un diagnóstico adicional
Glomeruloesclerosis focal segmental	Nefropatía de Membrana basal Adelgazada	Membrana basal glomerular difusamente fina con una atenuada pero intacta lamina densa
	Nefropatía diabética temprana	Membrana basal glomerular engrosada sin depósitos
Nefropatía Diabética	Nefropatía membranosa	Depósitos electrón denso subepitelial
Nefritis lupurosa, WHO V	Nefropatía de Membrana basal Adelgazada	Membrana basal glomerular difusamente fina con una atenuada pero intacta lamina densa con depósitos subepiteliales escasamente distribuidos dentro de la membrana basal glomerular
Nefropatía de lesiones mínimas	Nefropatía de Membrana basal Adelgazada	Membrana basal glomerular difusamente fina con una atenuada pero intacta lamina densa
Nefritis aguda intersticial	Nefropatía diabética temprana	Membrana basal glomerular engrosada sin depósitos

WHO: World Health Organization = OMS: Organización Mundial de la Salud.

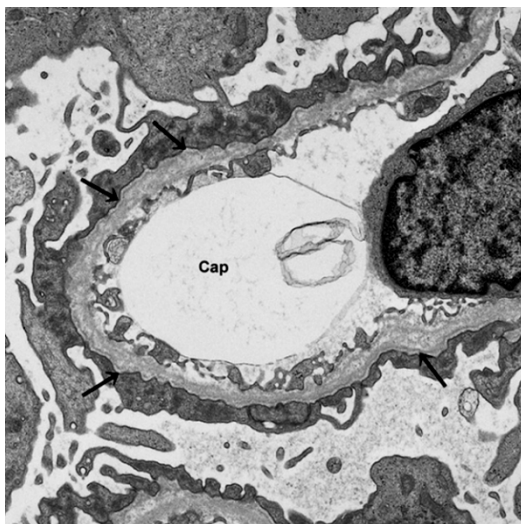


Figura 8. Síndrome de Alport. La membrana basal glomerular tiene un engrosamiento y adelgazamiento variable, con una lamina densa laminada y lúcida (flechas). Cap: capilar.

El diagnóstico de una enfermedad, lleva consigo en muchos casos el peso de la responsabilidad de la vida misma de un paciente, por lo que variantes como el tiempo juegan un rol fundamental en este procedimiento, en los que la ME se encuentra en desventaja ya que es un procedimiento muy largo y laborioso. Por otro lado existe la necesidad constante de manejar eficientemente los recursos que se disponen en cada laboratorio, siendo de vital importancia respaldar las decisiones de la aplicación o no de una técnica diagnóstica, por lo cual es necesario tener primero una visión general de la enfermedad a través de la MO, pero conociendo sus limitaciones diagnosticas, para poder efectuar otros métodos como la ME, pero su rol en este proceso a variado con el paso del

tiempo ya que factores como el costo, tiempo y la aparición de otras técnicas, ha llevado a la selección minuciosa de casos específicos para su diagnóstico con ME, en el que la MO y técnicas como IF no logran entregar resultados positivos, convirtiéndose esencial en este proceso, además diversos estudios han demostrado que la ME también es una herramienta de contribución para el diagnóstico de enfermedades renales, ya que entrega información ultraestructural importante de la morfología renal, y apoya los resultados obtenidos por MO e IF. De esta forma es necesario considerar siempre la ejecución de técnicas de ME posteriormente, conservando idealmente muestras para su tratamiento en caso de ser necesario.

Por lo que, finalmente se decide aplicar ME como un diagnóstico diferencial de lesiones de cambio mínimo y síndrome nefrótico como también en la aplicación de detección de nefropatías hereditarias en donde es fundamental su aplicación.

Muchas de las enfermedades glomerulares y sus variantes han sido descritas en los últimos 25 años donde la ME ha sido necesaria, o por lo menos útil, permitiendo la identificación apropiada de muchas de ellas. Además, se ha podido hacer una gran cantidad de nuevas correlaciones ultraestructurales de enfermedades glomerulares reconocidas ayudando a su diagnóstico en biopsias renales.

REFERENCIAS

- ALPORT A. Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis. *Br Med J* 1927; 1: 504.
- AMANN K y HAAS C. What you should know about the work-up of a renal biopsy. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1157–1161.
- ANDREUCCI V, FUIANO G, STANZIALE P, ANDREUCCI M. Role of renal biopsy in the diagnosis and prognosis of acute renal failure. *Kidney Int Suppl* 1998; 66: 91–95.
- BARAT A, MOLINA M, MANZARBEITIA F. Sinopsis de patología ultraestructural del glomérulo renal. *Rev esp patol* 2002; 35(2): 151-166.
- BEN-BASSAT M, STARK H, ROBSON M, ROSENFELD J. Value of routine electron microscopy in the differential diagnosis of the nephrotic syndrome. *Pathol Microbiol* 1974;41(1):26-40.
- CAMERON J. Indications for renal biopsy, history of the procedure, and relationship of the findings to further investigation and treatment. In: Solez K, Racusen L, Olsen S, eds. *Diagnostic Renal Pathology*. Transpath Inc. Disponible en: <http://www.transpath.com/m-media/DRP.htm>
- COLLAN Y, KLOCKARS M, HEINO M. Revision of light microscopic kidney biopsy diagnosis in glomerular disease. *Nephron*. 1978; 20(1):24-31.
- CORWIN H, SCHWARTZ M, LEWIS E. The importance of sample size in the interpretation of the renal biopsy. *Am J Nephrol* 1988; 8: 85–89.
- DISCHE F, PARSONS V. Experience in the diagnosis of glomerulonephritis using combined light microscopic, ultrastructural and immunofluorescence techniques: an analysis of 134 cases. *Histopathology* 1977; 1(5):331.
- FUIANO G, MAZZA G, COMI N *et al*. Current indications for renal biopsy: a questionnaire-based survey. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 448–457.
- FURNESS P, BOYD S. Electron microscopy and immunocytochemistry in the assessment of renal biopsy specimens: actual and optimal

- practice. *J Clin Pathol* 1996; 49:233.
- IVERSEN P, BRUN C. Aspiration biopsy of the kidney. *Am J Med* 1951; 11(3):324-30.
 - KIMMELSTIEL, KIM J & BERES J. *Amer J clin Path* 1962; 38: 280.
 - MARL H. A Reevaluation of Routine Electron Microscopy in the Examination of Native Renal Biopsies. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 70-76.
 - McCARTHY G, ROBERTS I. Diagnosis of acute renal allograft rejection: evaluation of the Banff 97 Guidelines for Slide Preparation. *Transplantation* 2002; 73: 1518–1521.
 - MUEHRCKE R, MANDAL A, GOTOFF S, ISSACS E, VOLINI F. The clinical value of electron microscopy in renal disease. *Arch Intern Med* 124: 170-176.
 - OLSEN S, BOHMAN S, HESTBECH J, GUNDERSEN H, PETERSEN V *et al.* Ultrastructural lesions in light-microscopically defined types of glomerulonephritis. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect A* 1983; 91: 53-63.
 - OSTERBY R. Lessons from kidney biopsies. *Diabetes Metab Rew* 1996; 12(3):151-74.
 - PAONE D, MEYER L. The effect of biopsy on therapy in renal disease. *Arch Intern Med* 1981; 141: 1039-1041
 - PEARSON J, McWILLIAM L, COYNE J, CURRY A. Value of electron microscopy in diagnosis of renal disease. *J Clin Pathol* 1994; 47: 126-128.
 - PERKOT G, STEPHENS F, DOLOWITZ D, TYLER F. A clinical study of hereditary interstitial pyelonephritis. *Arch Intem Med* 1951;88:191.
 - SEMENTILLI A, MOURA L, FRANCO M. The role of electron microscopy for the diagnosis of glomerulopathies. *Sao Paulo Med J* 2004; 122(3):104-109.
 - SIEGEL N, SPARGO B, KASHGARIAN M, HAYSLETT J. An evaluation of routine electron microscopy in the examination of renal biopsies. *Nephron* 1973; 10: 209-215.
 - SKJORTEN F, HALVORSEN S. A study of the value of resin-embedded semi-thin sections and electron microscopy in the diagnosis of renal biopsies. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1981;89(4):257-262.
 - SPARGO B. Practical use of electron microscopy for the diagnosis of glomerular disease. *Hum Pathol* 1975;6(4):405-420.
 - TAYLOR C. Principles of immunomicroscopy. In: *Immunomicroscopy. A diagnostic Tool for surgical pathologists. Mayor problems in Pathology.* 3rd ed. New York: Saunders, 2006:1-46.
 - Theory and practice of histological techniques /edited by John D. Bancroft, Marilyn Gamble, London: Churchill Livingstone, 2002. Capítulo 32, pp 701-706.
 - THUT M, UEHLINGER D, STEIGER J, MIHATSCH M. Renal biopsy: standard procedure of modern nephrology. *Ther Umsch* 2002; 59: 110–116
 - TIGHE J, JONES N. The diagnostic value of routine electron microscopy of renal biopsies. *Proc R Soc Med* 1970; 63: 475-477.
 - WING-LING N, L MA, KF SO. Preparation of Epon-embedded renal tissue for scanning electron microscopy. *J Clin Pathol* 1982; 35: 1384-1387.

Ambos autores aportaron por igual al contenido de esta revisión bibliográfica. Para más información sobre el tema contactar a los autores Julieta Sepúlveda & Carlos Zamorano a sus respectivos correos ubicados al pie de página.