



# O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL

**Em colaboração com o Serviço de  
Nefrologia**

**Rita Theias Manso**

rita.c.manso@hff.min-saude.pt

**28 de março de 2019**



# Sumário

1. Introdução
2. A microscopia eletrónica (ME) na prática clínica
3. A microscopia eletrónica no SAP HFF
4. A técnica laboratorial
5. Estudo - O impacto da microscopia eletrónica na biópsia renal





# Introdução

- Inventado em 1931 por Ernst Ruska (1906 – 1988), físico alemão; recebeu o Nobel de Física de 1986, por trabalhos fundamentais em ótica eletrónica e pelo projeto do primeiro microscópio eletrónico.





# Introdução

- Causas da redução do uso da ME
  - Novas técnicas – imunohistoquímica, citogenética, biologia molecular
  - Instrumento dispendioso
  - Instrumento complexo, laborioso e com limitações:
    - Amostragem pequena
    - Escassez de características ultraestruturais verdadeiramente específicas
    - Possível erro de interpretação: células tumorais vs células não tumorais vs células reactivas
  - Treino específico



# A ME na prática clínica

- Patologia inflamatória

- renal, neuromuscular, cardíaca, dermatológica, doenças profissionais, doenças hereditárias e metabólicas

- Patologia infecciosa

- Virologia

Curry A, Appleton H, Dowsett

Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present and future.

Micron. 2006; 37(2):91-106. Epub 2005 Nov 2.

Cynthia S. Goldsmith and Sara E. Miller

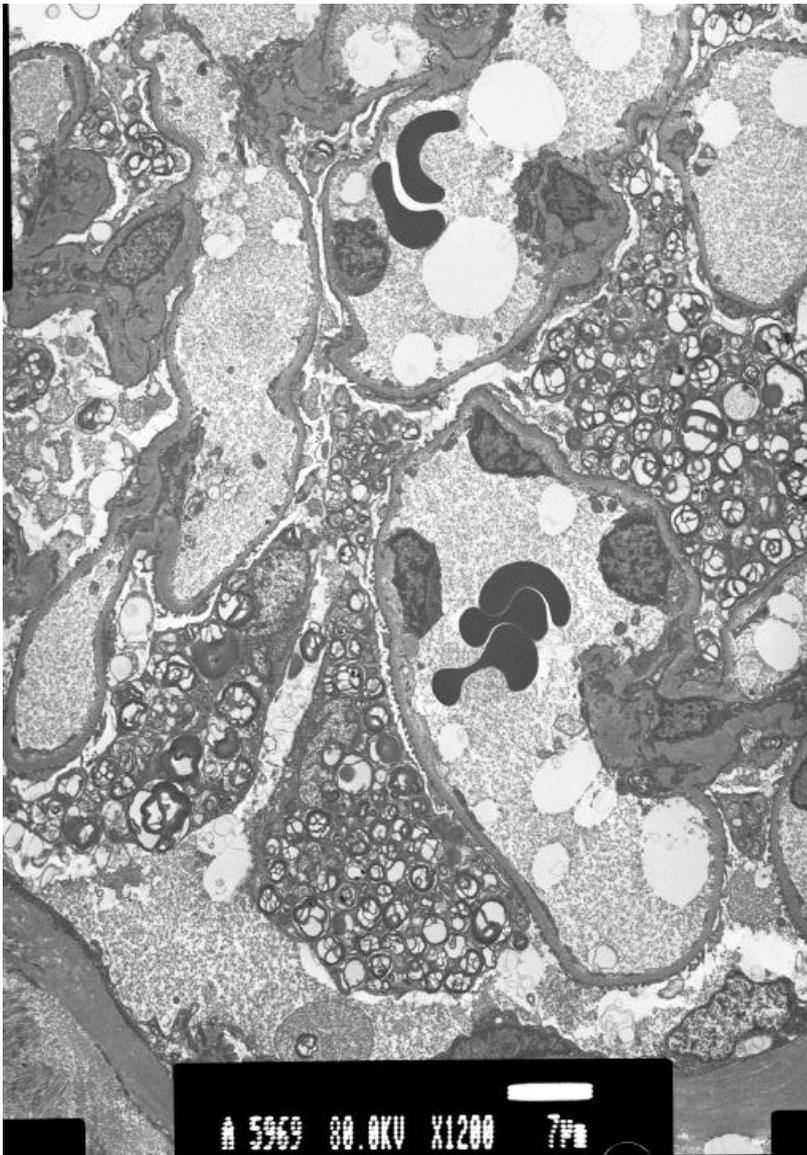
Modern Uses of Electron Microscopy for Detection of Viruses Clin.

Microbiol. Rev. 2009, 22(4):552. DOI:

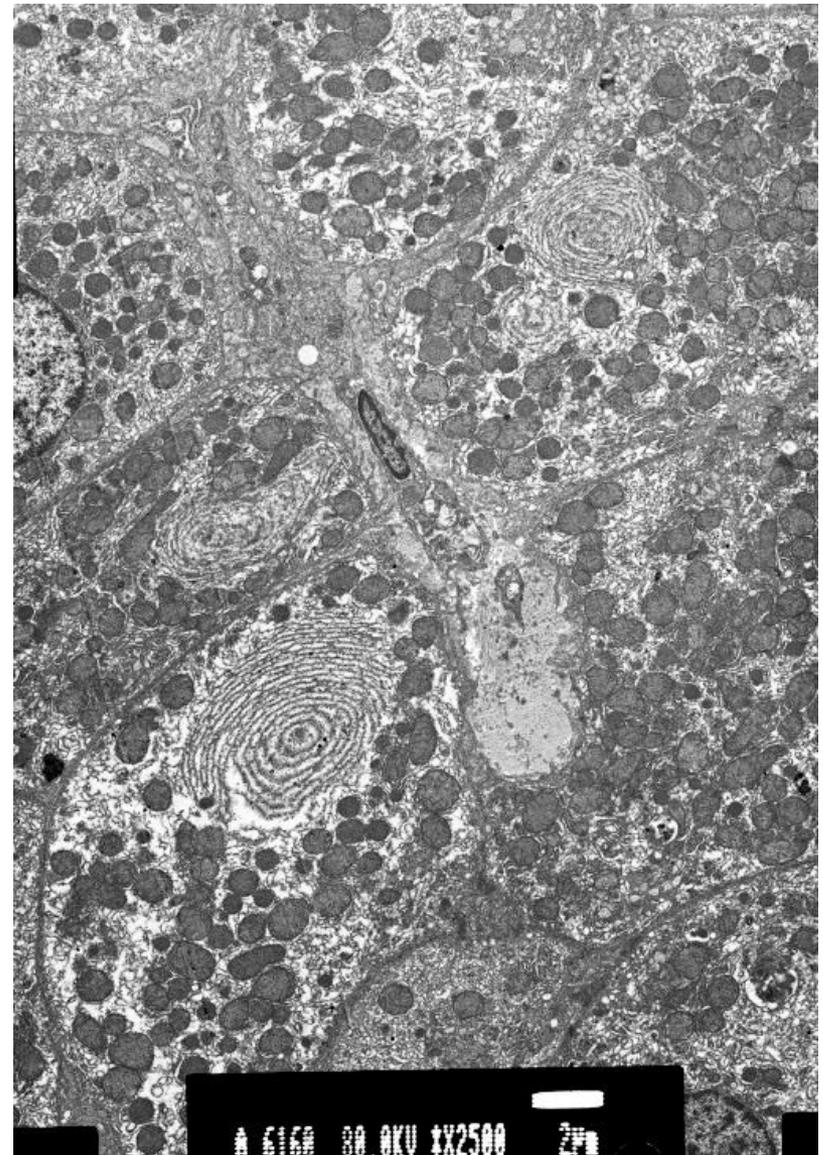
- Patologia tumoral

J. A. King Role of Transmission Electron Microscopy in Cancer

Diagnosis and Research. Microsc Microanal 13(Suppl 2), 2007



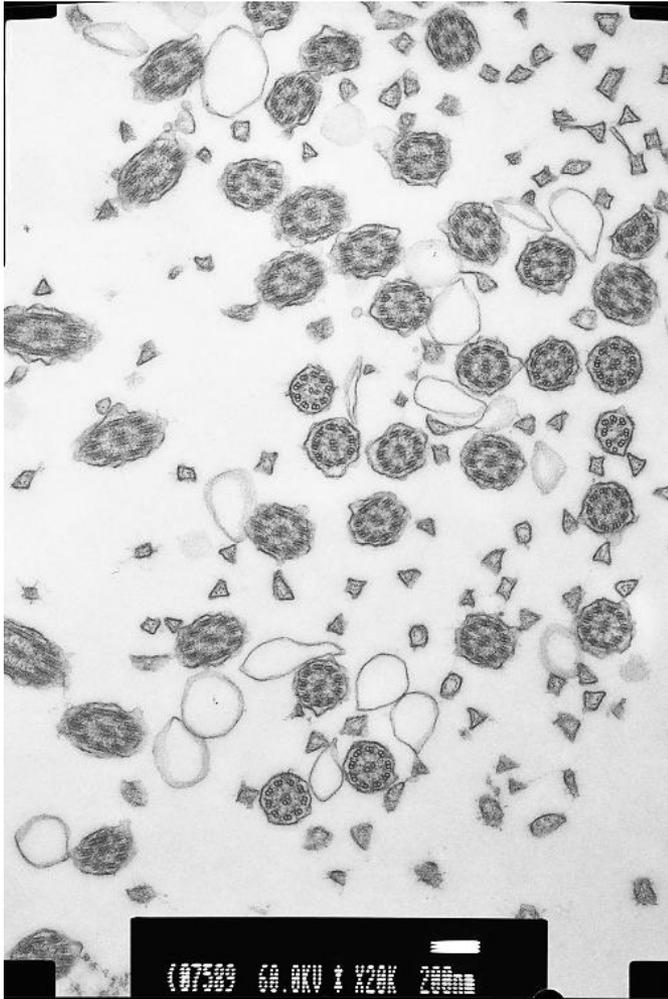
Rim - Doença de Fabry



Fígado - Intolerância à fructose



# A ME na prática clínica



Patologia hereditária- discinésia ciliar



Patologia infecciosa



# A ME na prática clínica

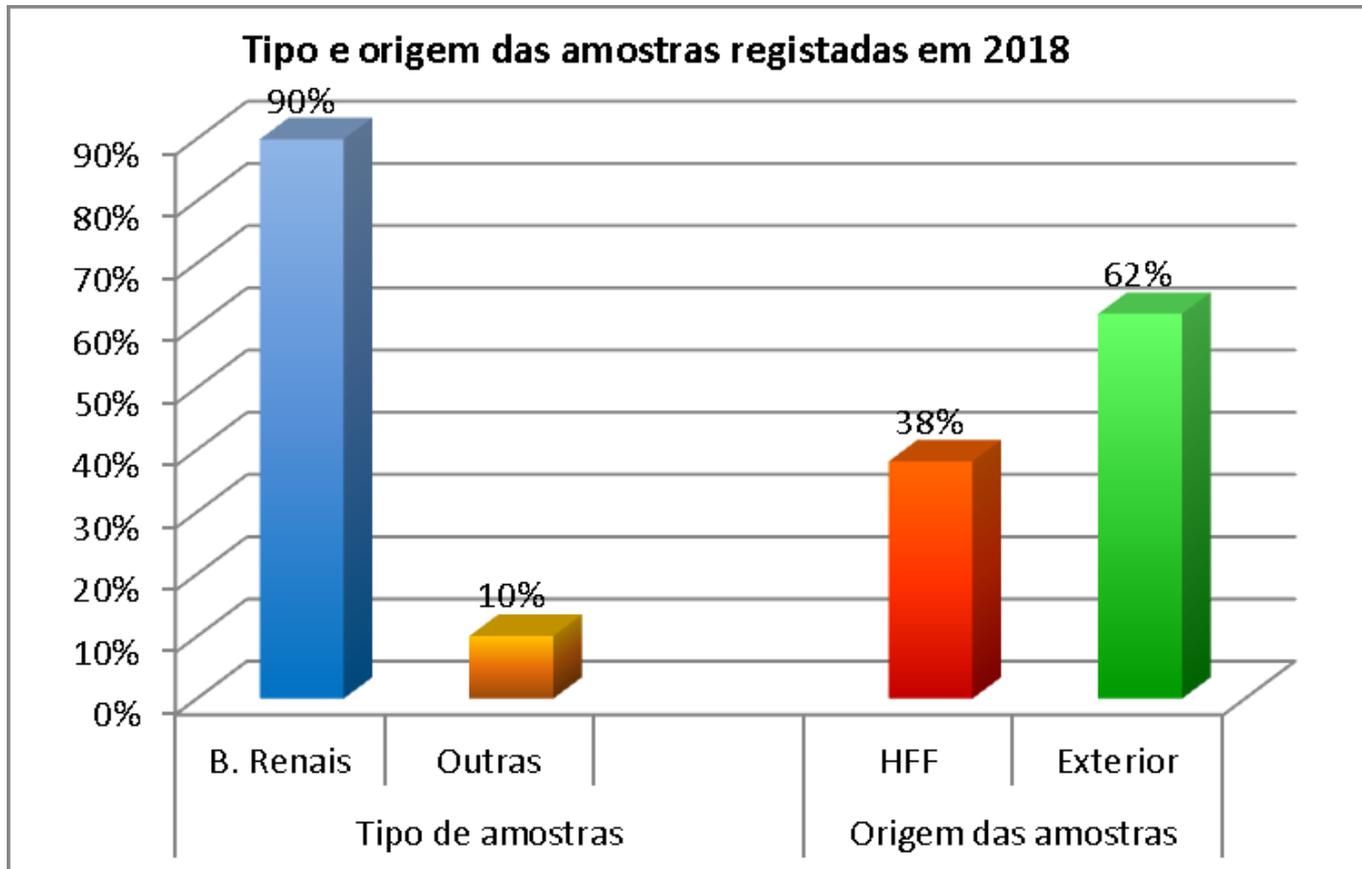


O ME é um instrumento com grande potencial diagnóstico quando se conhecem as suas limitações e é utilizado de forma judiciosa.

Patologia tumoral – Carcinoma de células acinares



# A ME no SAP HFF



Fonte – Relatório de Atividades de Microscopia Eletrónica (Anual 2018)

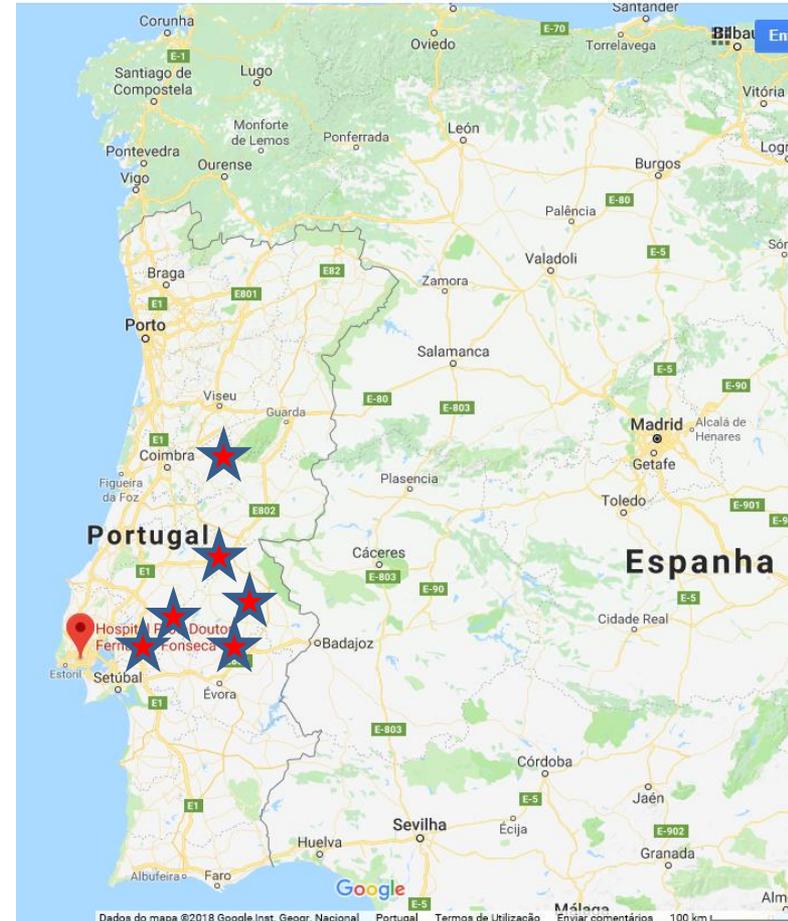


# A ME no SAP HFF

**1% de toda atividade do SAP  
(139/15.520)**

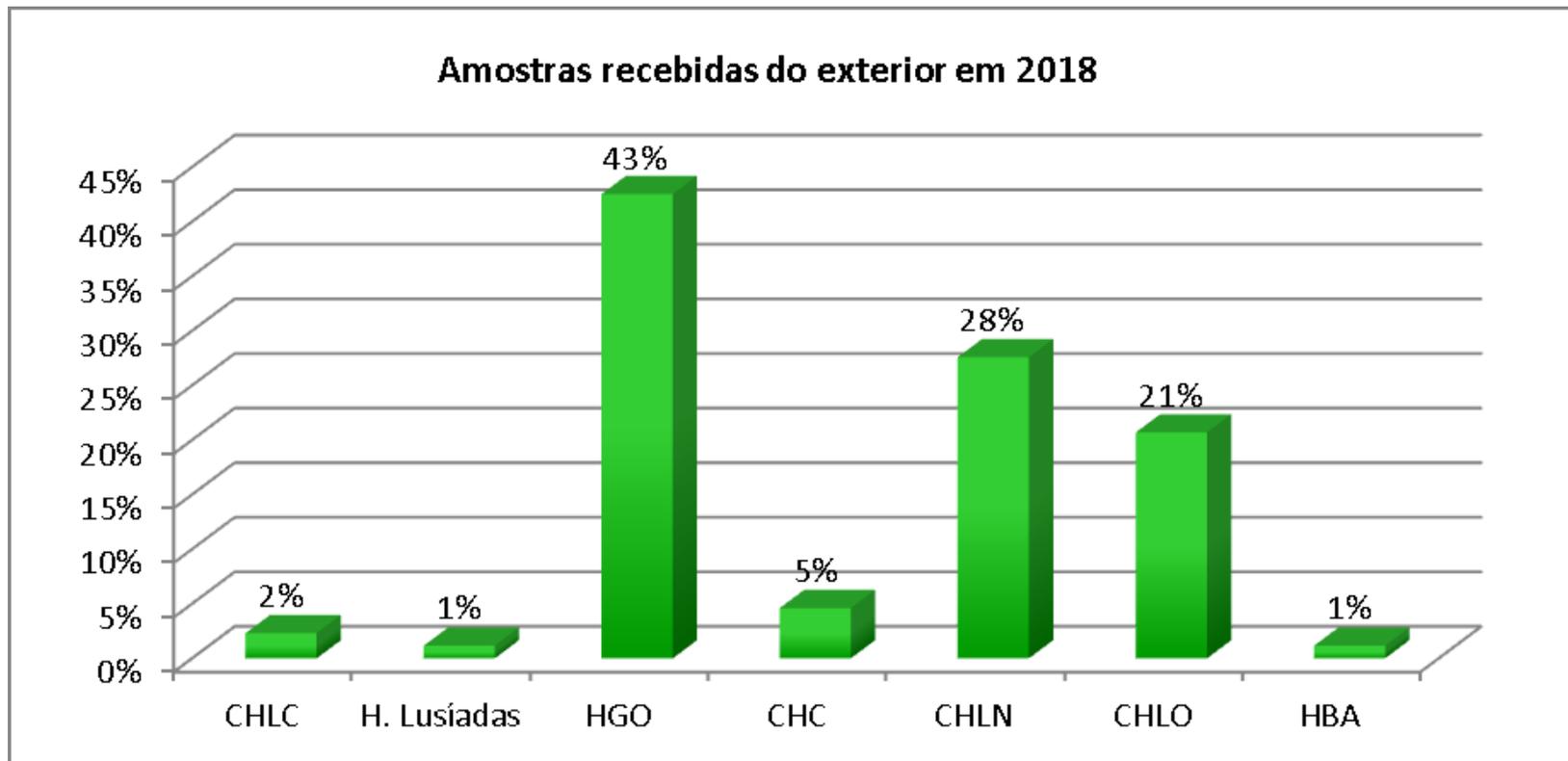
**62% EM de outras instituições**

INSTITUIÇÕES
Centro Hospitalar Coimbra
Centro Hospitalar Lisboa Central
Centro Hospitalar Lisboa Norte
Centro Hospitalar Lisboa Ocidental
Hospital Garcia de Orta
Outros





# A ME no SAP HFF



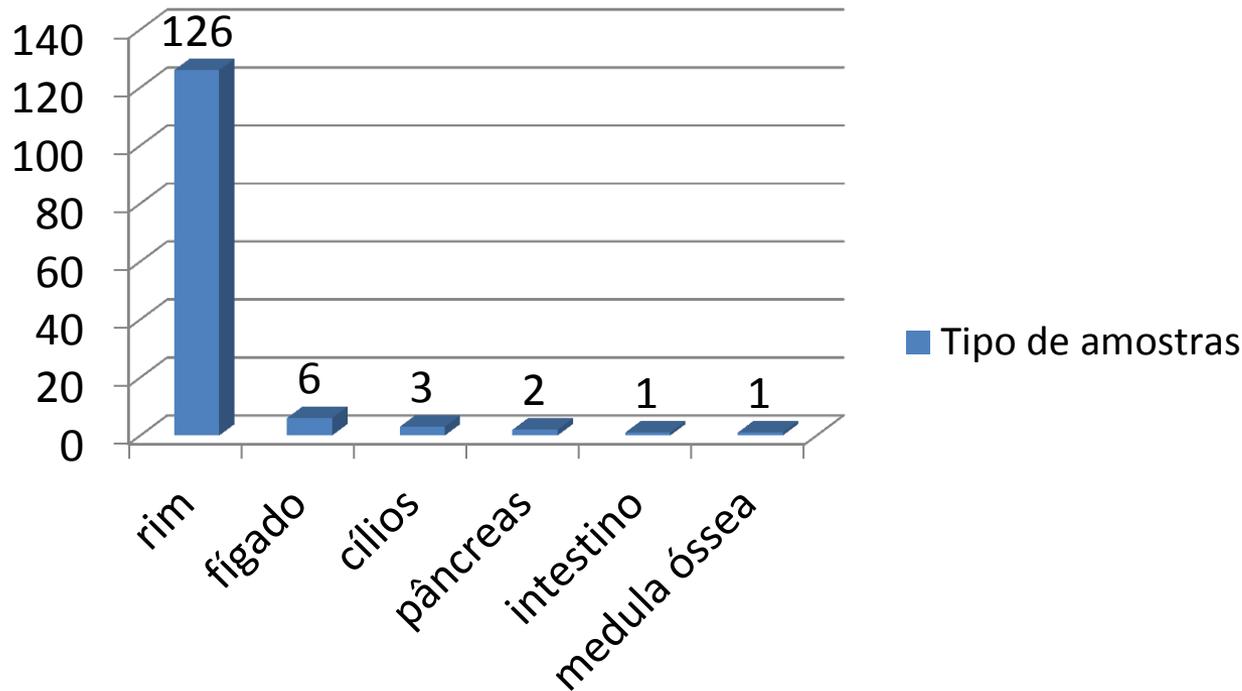
Fonte – Relatório de Atividades de Microscopia Eletrónica (Anual 2018)



# A ME no SAP HFF

**Biópsias renais 90%**  
**Outras 10%**

**Número de biópsias por tipo de amostras em 2018**





# A técnica laboratorial

Serviço de Anatomia Patológica  
**Instruções Envio Produtos Anatomia Patológica**

**Horário Recepção: 8-17h**

**Ausência de algum destes dados pode levar à retenção ou rejeição da(s) amostra(s).**

**Todos os produtos** devem ser acompanhados de uma **requisição** (eletrónica ou papel) Modelo P23 V1/2009; Modelo P22 – V1/2009 ou SO/BP/AP-14-12-2009) que deve conter os seguintes dados:

- **Identificação do doente** (nome e número de processo);
- **Tipo de produto/amostra** (órgão, lateralidade, etc.);
- **Informação clínica relevante** e que **justifique o exame**;
- **Assinatura e número de ordem do médico requisitante**;
- **Data e hora de colheita**;
- **Casos de consulta/revisão** acompanhado de relatório original.

Se **urgente**, é necessário justificação.

**Exame Extemporâneo ou Intra-operatório**

A fresco, com **entrega imediata no SAP** em recipiente estanque  
Solicita-se, sempre que possível **marcação prévia (Ext. 8275/8340/5642)**  
Requisição deve conter **extensão telefónica para transmissão do resultado** e/ou esclarecimento de dúvidas

**Amostras Histológicas**

DI0113 – Instruções envio produtos Anatomia Patológica

Disponível na Pasta partilhada “groups”

-> Gestão documental

-> Serviços clínicos

-> Anatomia Patológica

-> Documentos informativos em vigor (DI0113)



# A técnica laboratorial



## Envio de Amostras para Microscopia Eletrónica

Este documento tem como objetivo descrever os procedimentos relativos ao envio, acondicionamento e transporte de amostras para estudo de Microscopia Eletrónica no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca EPE.

### AMOSTRAS RECEBIDAS:

- Amostra em Sol. Fixadora de Glutaraldeído tamponada preparada no serviço de origem ou previamente requisitada ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca, EPE;
- Bloco de parafina, enviado com a última lâmina cortada e corada (Hematoxilina-Eosina, Histoquímica ou Imunohistoquímica), para seleção de área a estudar;
- Amostra em Formol neutro tamponado;

⚠ Estes dois últimos tipos de amostras implicam a presença de vários artefatos que, consoante a gravidade, podem dificultar ou, nalguns casos, impedir o estudo e diagnóstico ultraestrutural.

### PRESERVAÇÃO / FIXAÇÃO:

- As amostras devem ser colocadas na solução fixadora imediatamente após a colheita;
- O Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca, EPE, disponibiliza aos serviços requerentes, uma solução fixadora de glutaraldeído em tampão cacodilato 0,1 M, sempre que necessário. Esta solução deve ser guardada no frio (5-8 °C) e tem uma validade de 6 meses;

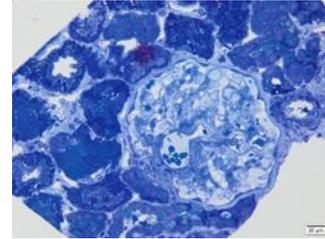


# A técnica laboratorial



**Fixação**

**Processamento e inclusão**



**Cortes semi-finos (1000nm)**



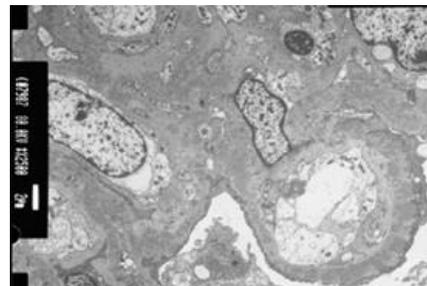
**Contraste**



**Cortes ultra-finos (70nm)**



**Observação**

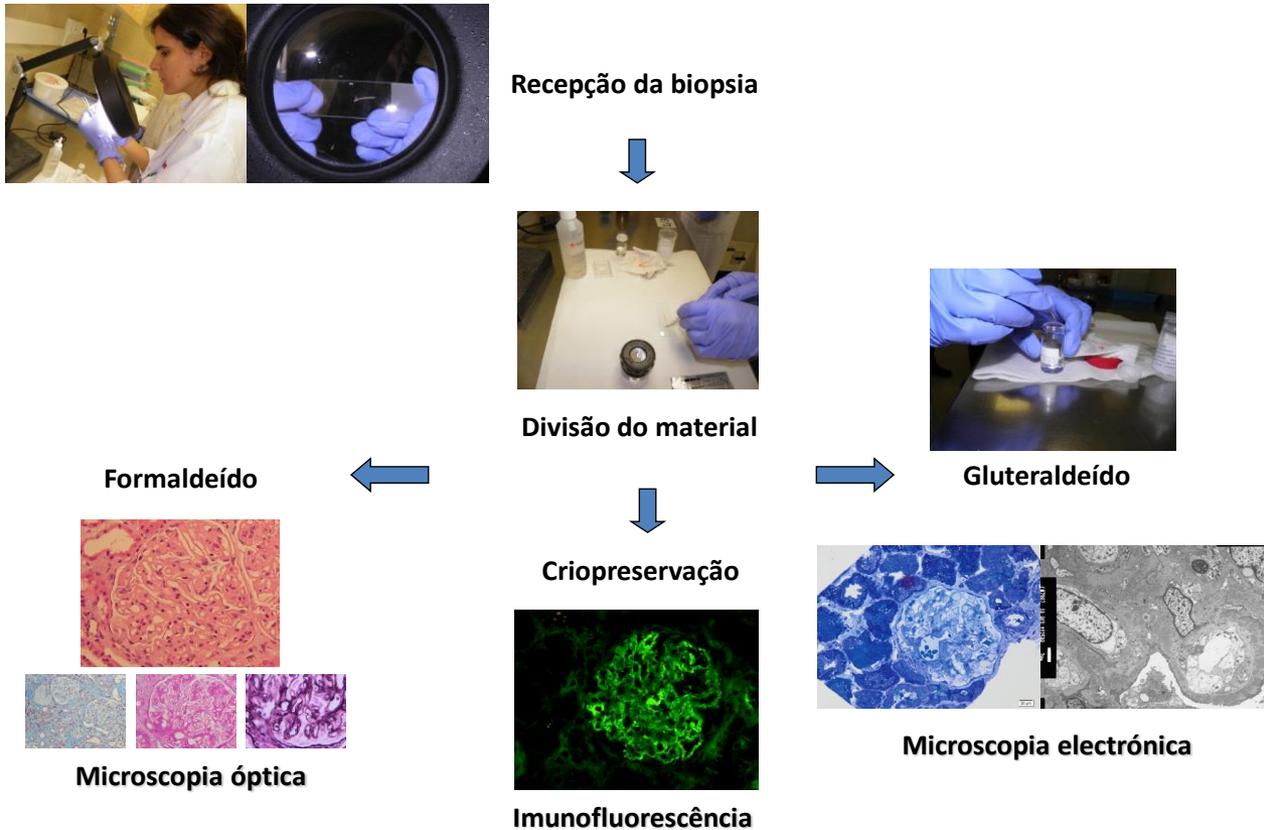


**Fotografia**

**4 a 5 dias para primeiras fotografias**



# A técnica laboratorial





16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

Hospital Prof. Doutor **Fernando Fonseca, EPE**



# O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL

Rita Theias Manso, Samuel Aparício, Patrícia Carrilho, Ana Isabel Silva

16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

## O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL – Objetivo



Avaliar o valor e demonstrar o impacto fundamental da análise ultraestrutural na patologia renal.

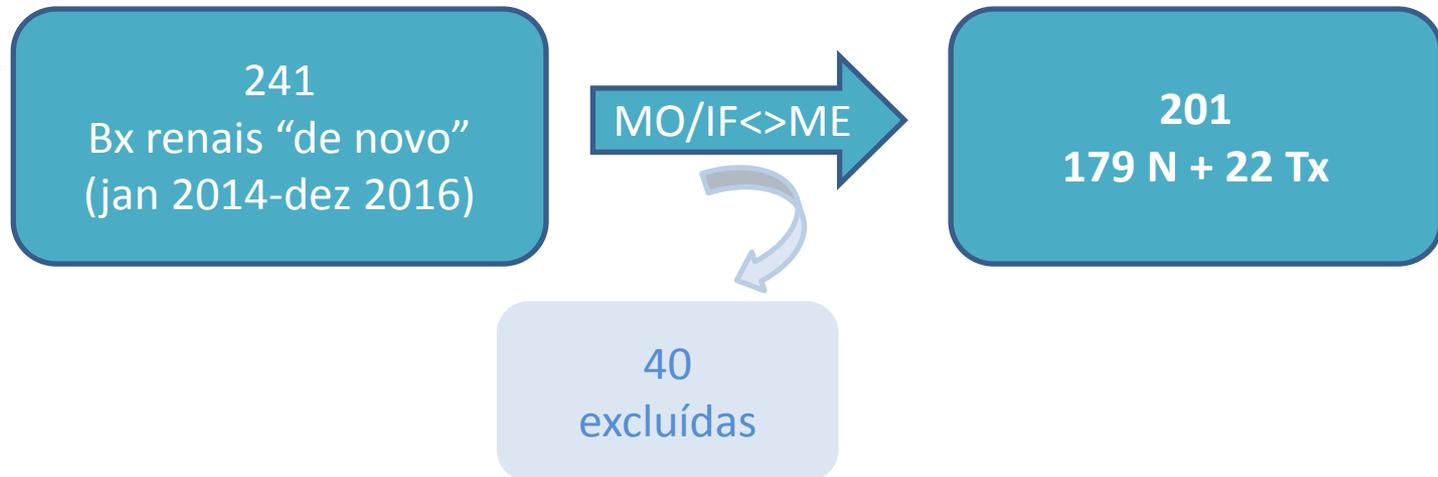


16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLOGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

## O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL – Material e métodos



16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

## O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL – Material e métodos

201  
179 N + 22 Tx

MO/IF<>ME

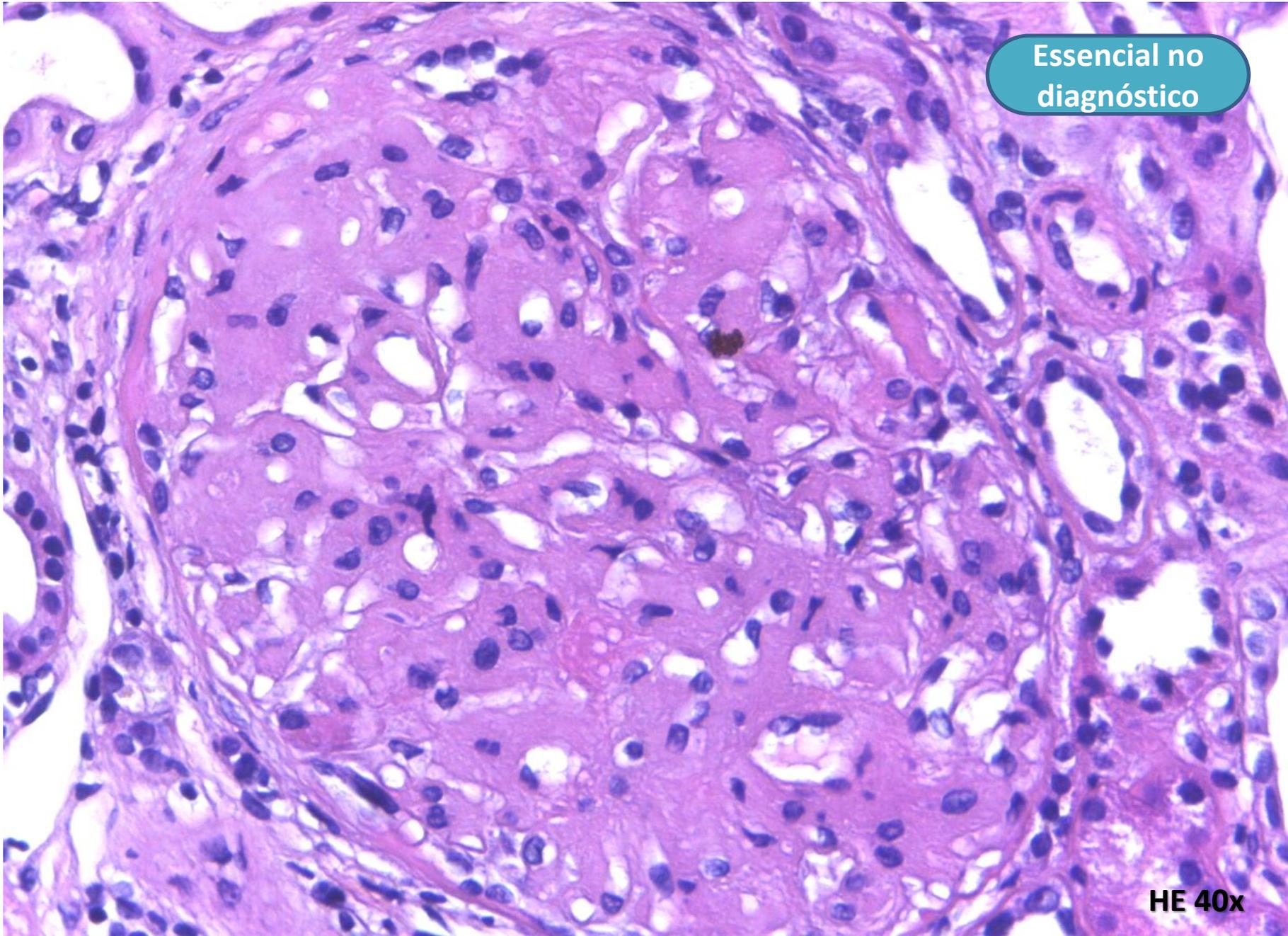
Essencial no  
diagnóstico

Apoio no  
diagnóstico

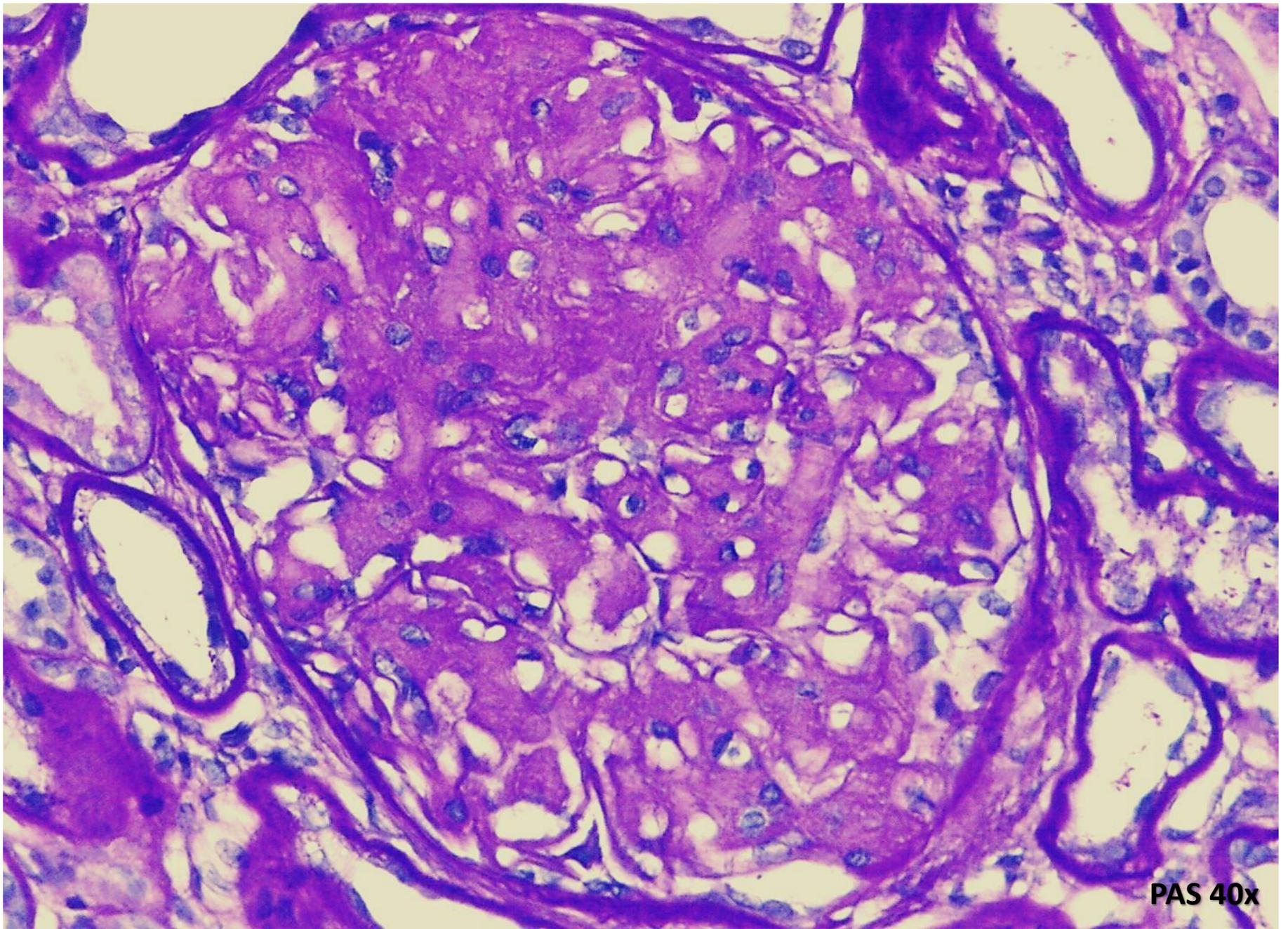
Sem influência  
no diagnóstico



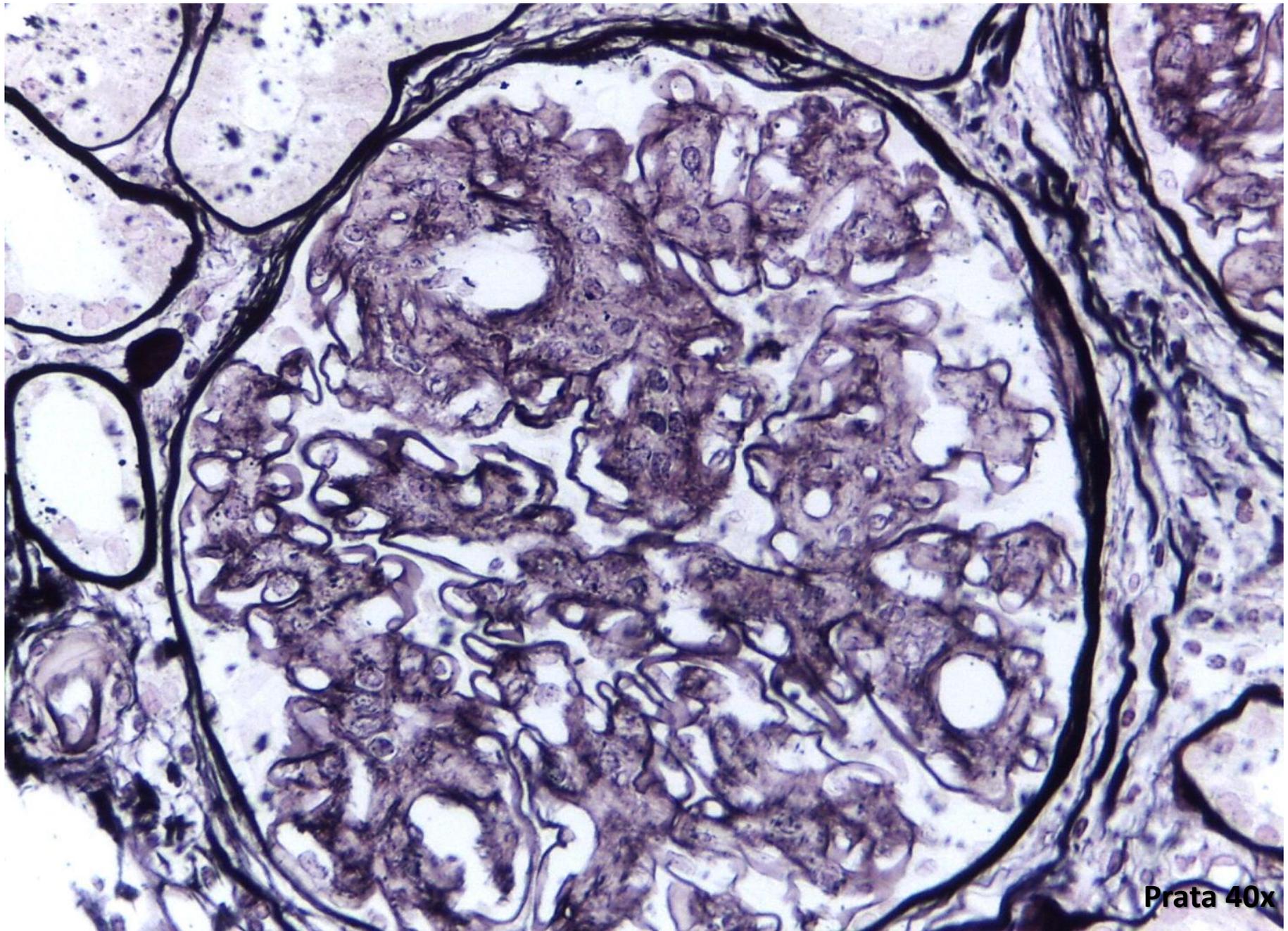
Essencial no diagnóstico



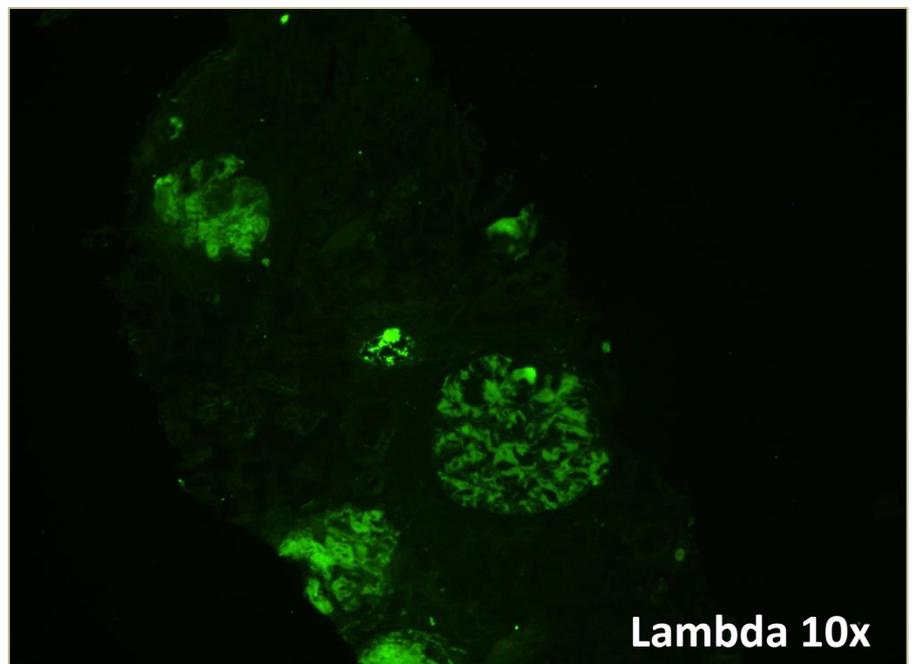
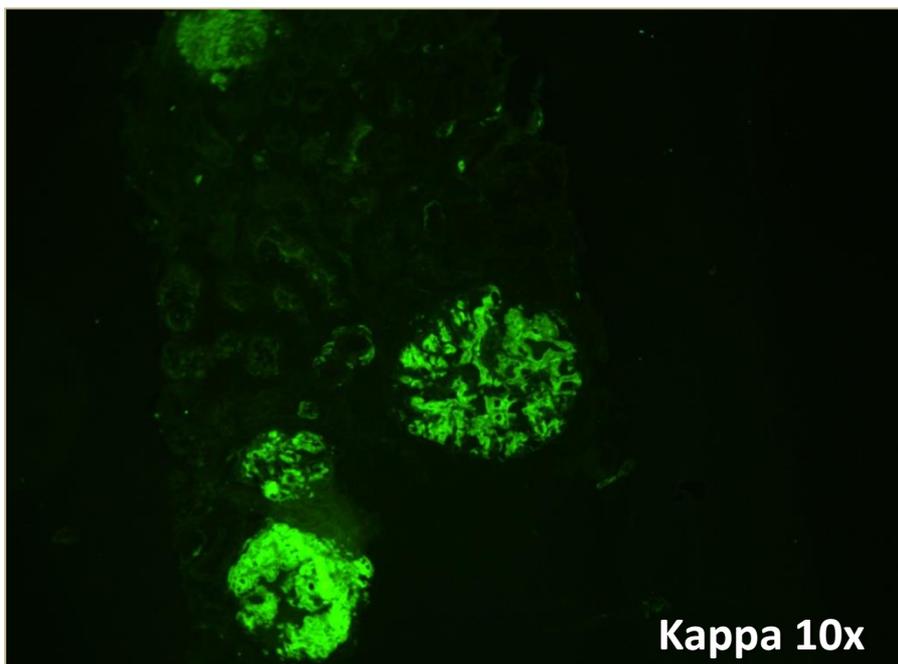
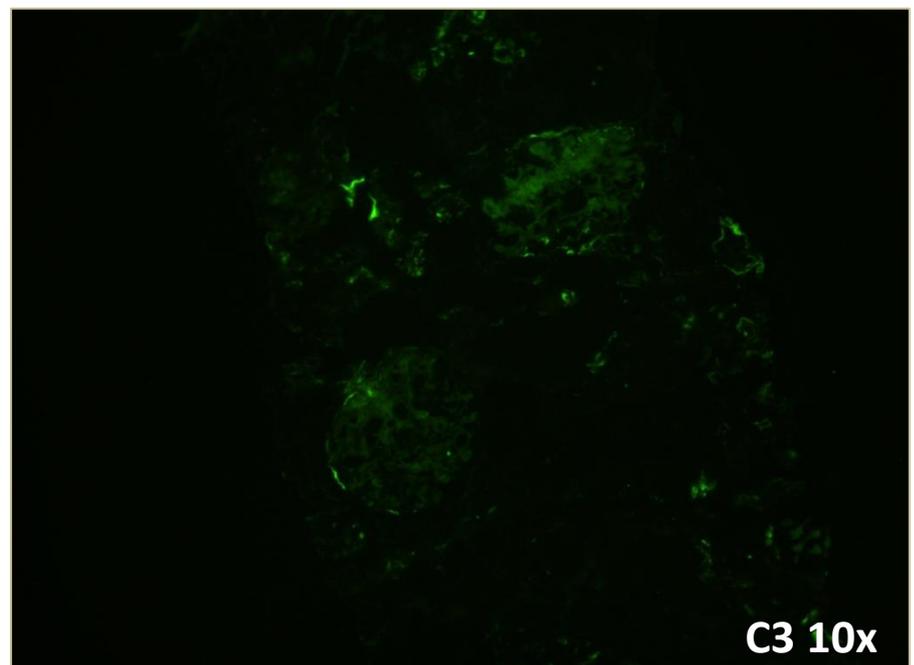
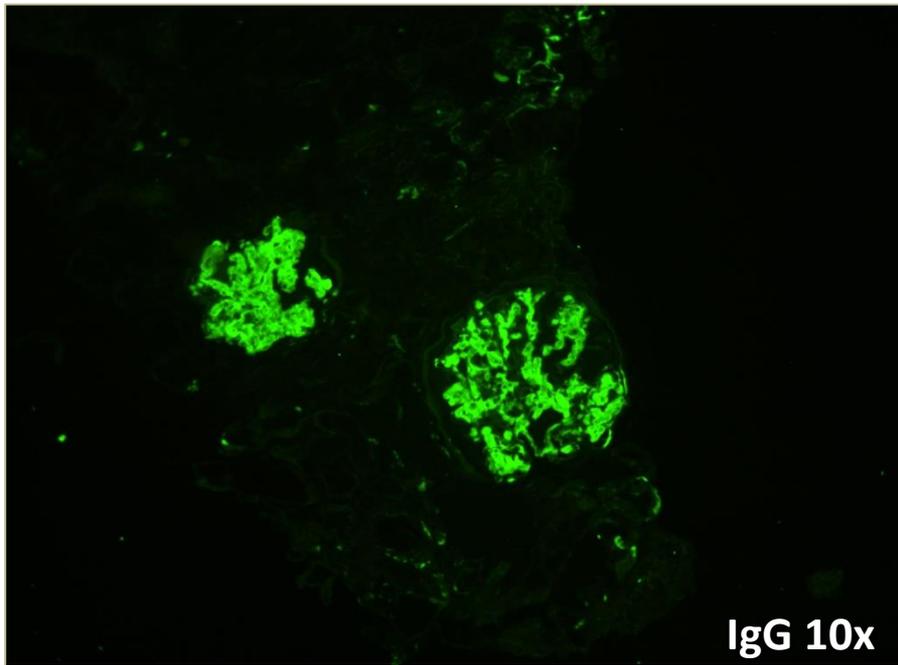
HE 40x

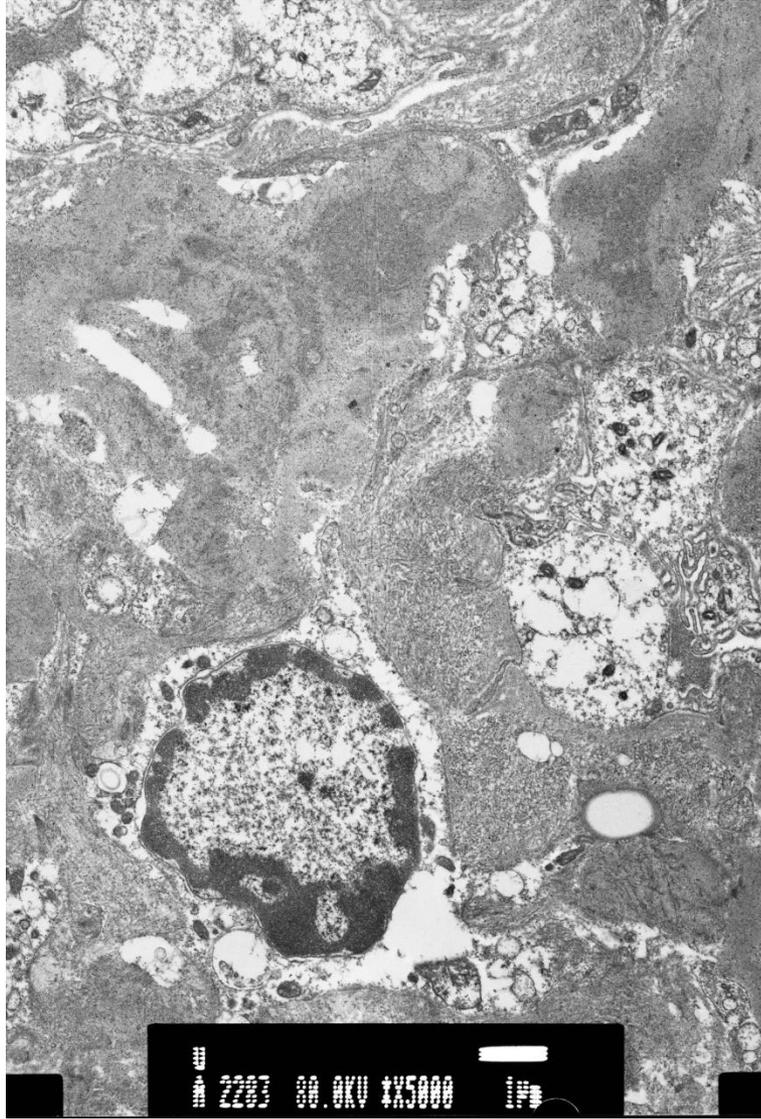


PAS 40x



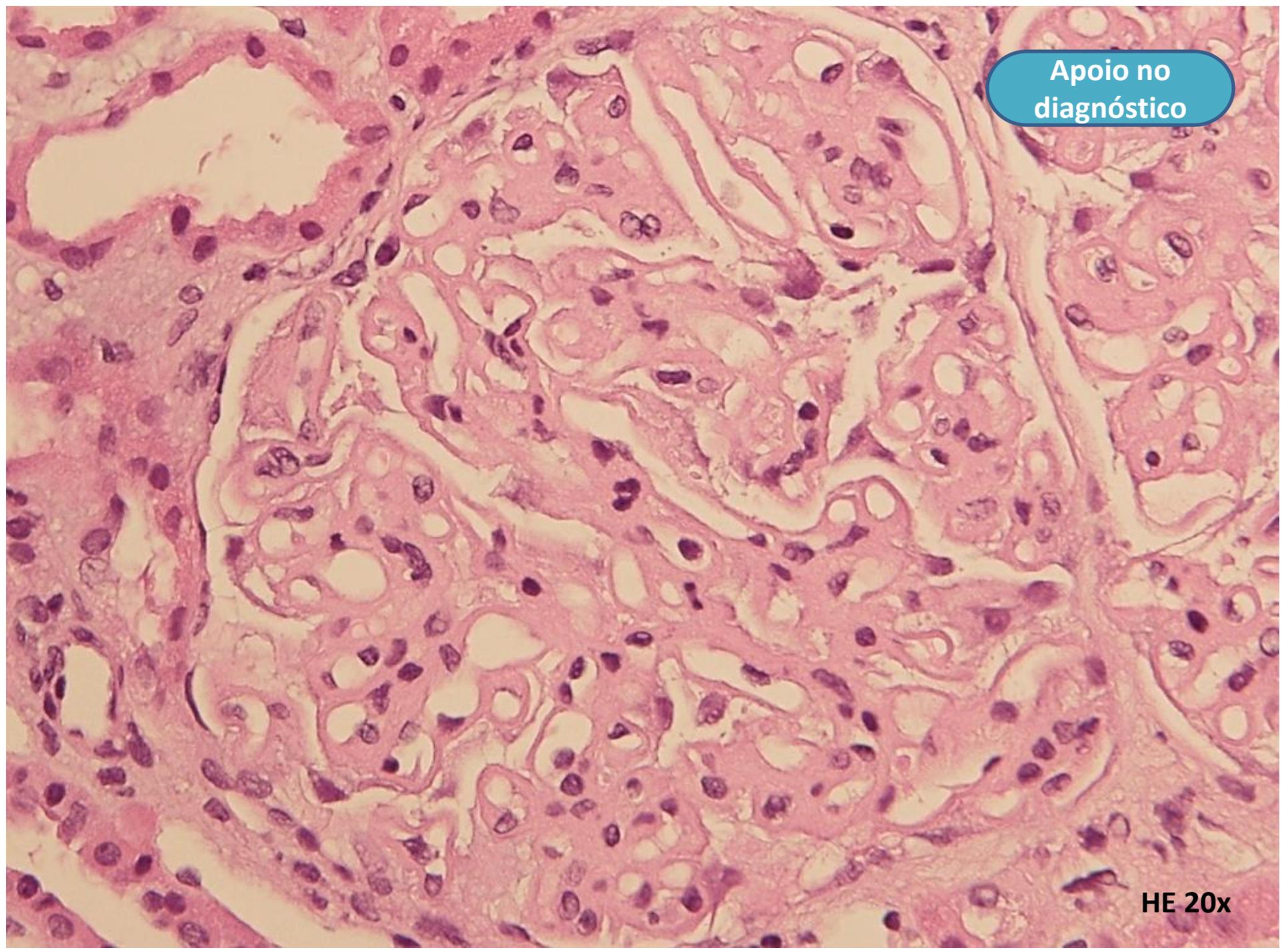
Prata 40x



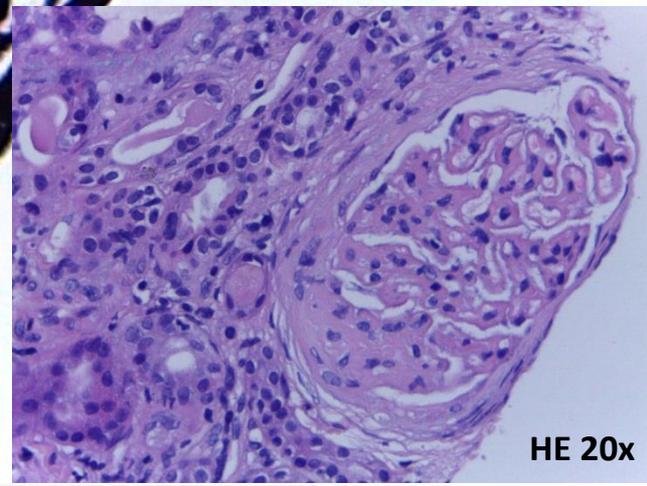
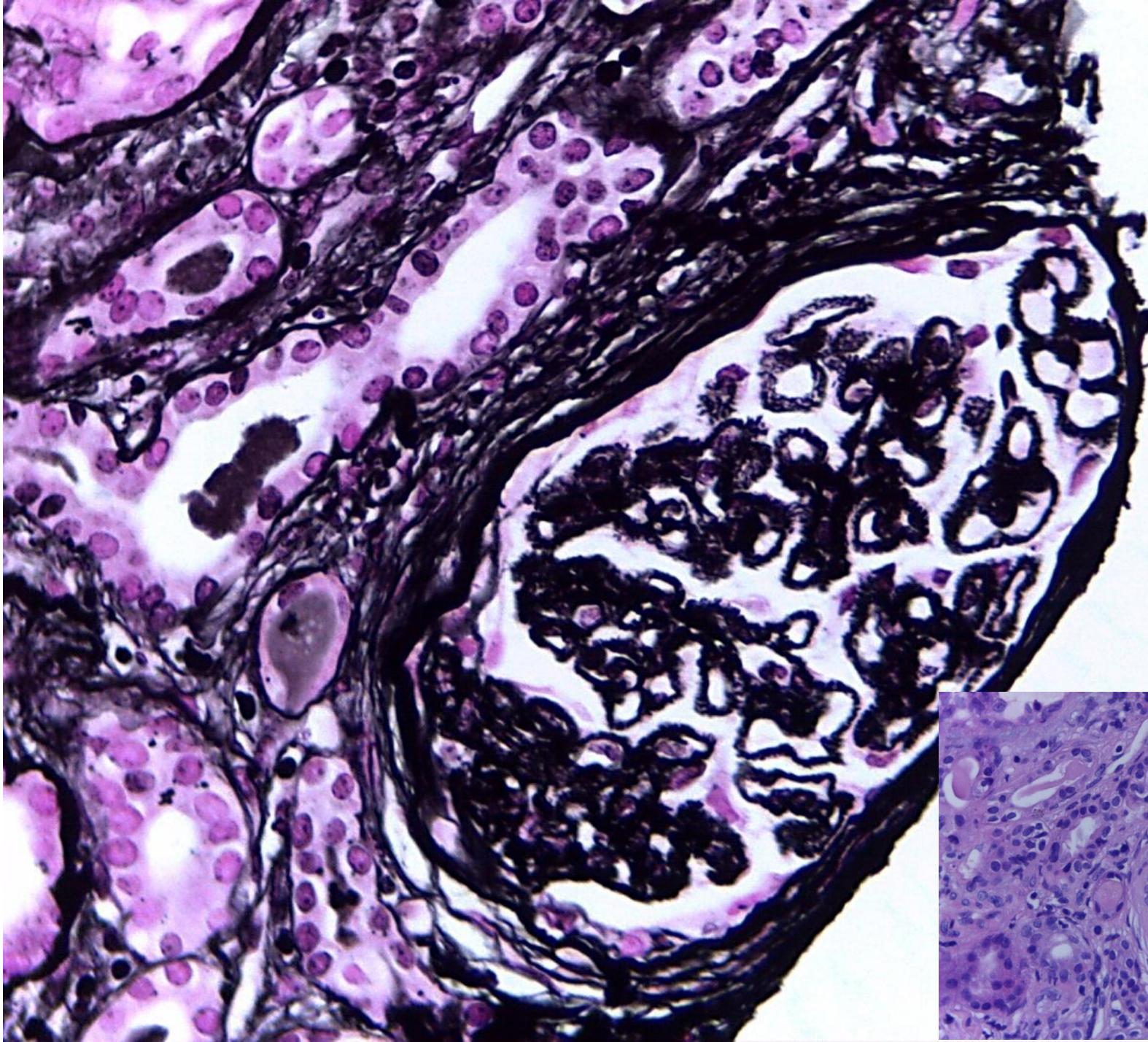


Apoio no diagnóstico

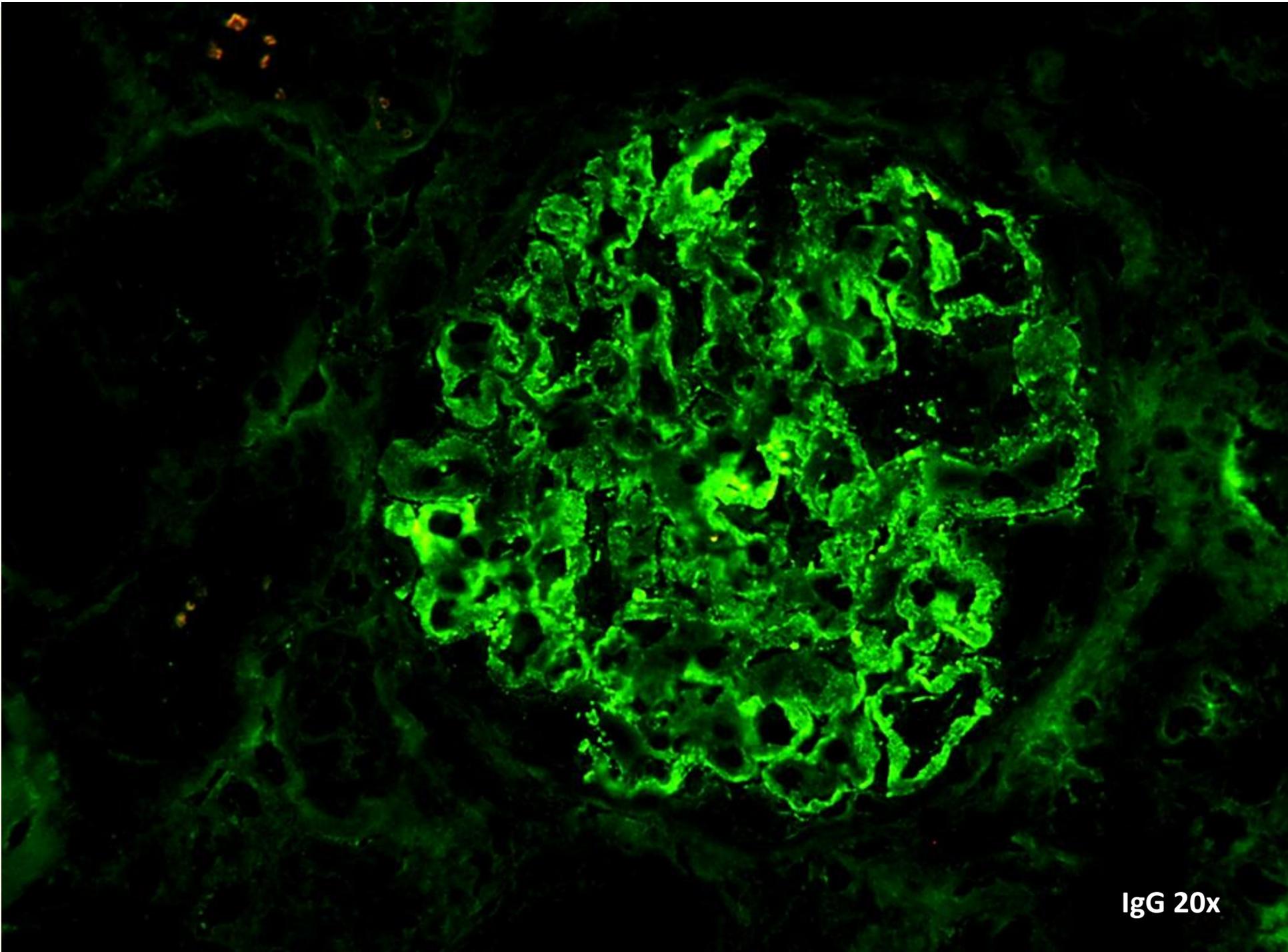
HE 20x



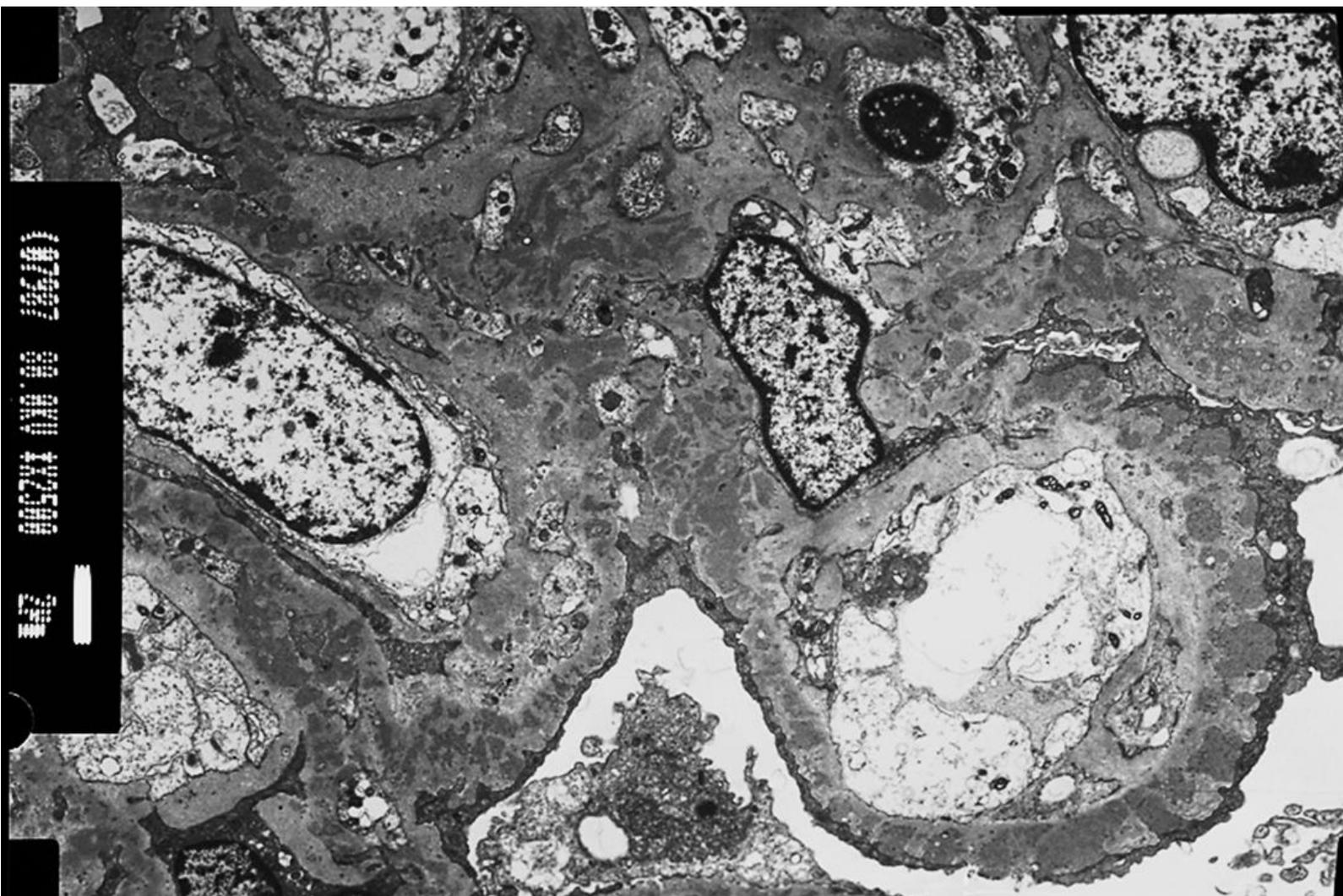
Prata 40x

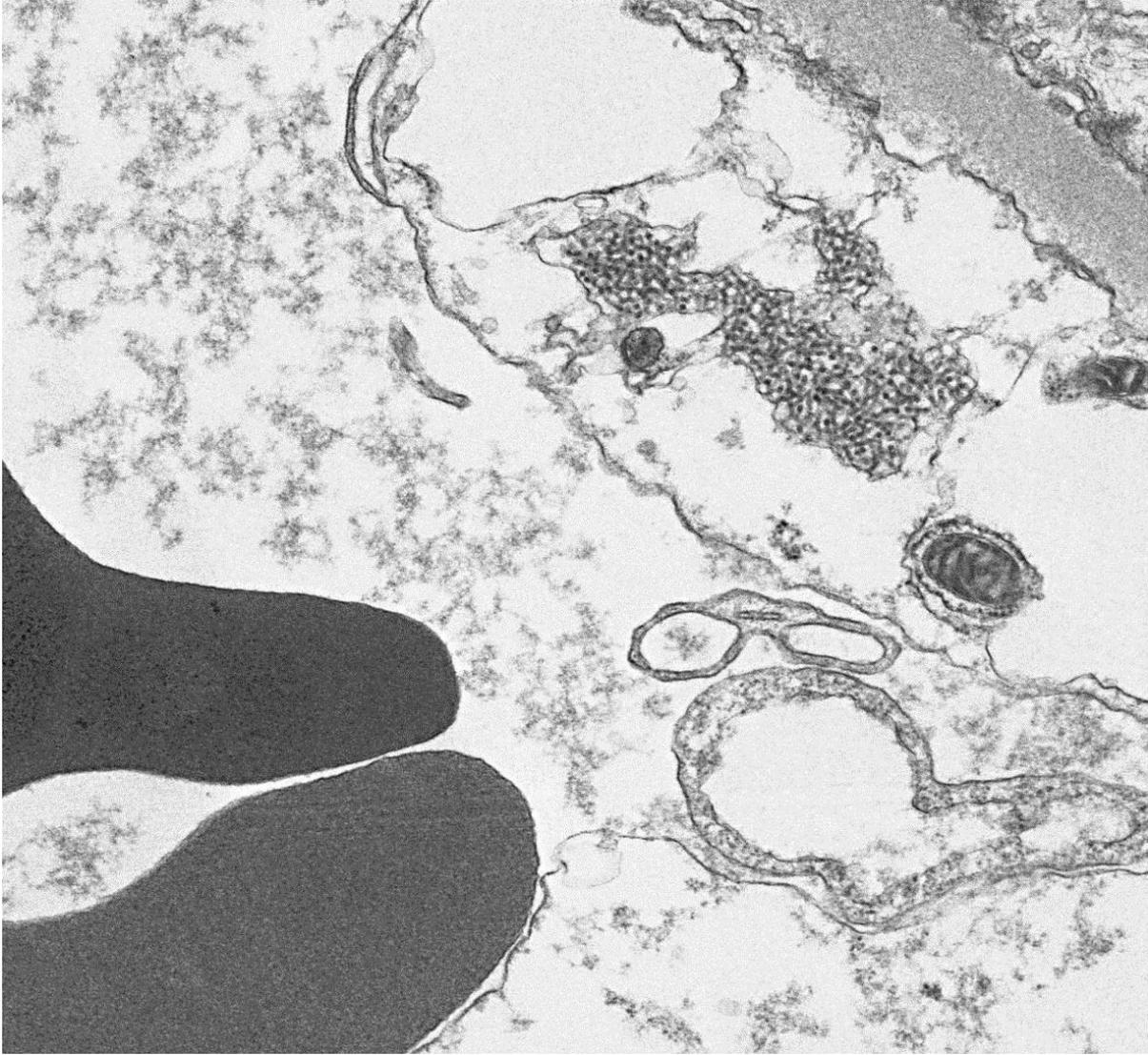


HE 20x



IgG 20x





16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

# O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL - Resultados

Diagnóstico (nº total de casos)	Essencial	Apoio	S/ influência
Bx Nativo (179)	37	79	63
Doença Lesões Mínimas (12)	12		
GSFS (56)	4	35	17
Doença Membrana fina (2)	2		
GN Membranosa (11)	6	5	
GN mesangioproliferativa (2)			2
GN pós-infecciosa (2)	2		
Nefropatia IgA (22)	3	2	17
Nefrite Lúpica (14)	1	13	
GNMP (8)		6	2
GNC3 (6)		6	
GNC4 (1)		1	
GN crescêntica (6)			6
Microangiopatia trombótica (7)		1	6
Amiloidose renal (6)		6	
GN crioglobulinas (3)	3		
GN fibrilhar (4)	4		
GN a depósitos de cadeias (1)		1	
Tubulopatia proximal mediada por cadeias leves (3)		1	2
Nefropatia de cilindros (4)			4
Nefrite tubulo-intersticial (6)		2	4
Necrose tubular aguda (3)			3
Bx Transplante (22)	3	10	9
<b>TOTAL (201)</b>	<b>40</b>	<b>89</b>	<b>72</b>

16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLOGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

## O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL - Resultados

	Rim nativo	Rim Tx	Rim nativo + Tx
Essencial	37 (20,7%)	3 (13,6%)	40 (19,9%)
Apoio	79 (44,1%)	10 (45,5%)	89 (44,3%)
Sem influência	63 (35,2%)	9 (40,9%)	72 (35,8%)
Essencial +Apoio	116 (64,8%)	13 (59,1%)	129 (64,2%)
<b>Total</b>	<b>179</b>	<b>22</b>	<b>201</b>



16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

# O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL - Discussão

## Valor da ME no diagnóstico da biópsia renal

Essencial	Apoio	S/ influência	Referências bibliográficas
<b>21%</b> (233 RN)	<b>21%</b>	<b>58%</b>	HAAS et al. A Reevaluation of Routine Electron Microscopy in the Examination of Native Renal Biopsies. Journal of the American Society of Nephrology 8: 70-76, 1997.
<b>18,3%</b> (71 RN)	<b>53,5%</b>	<b>28,2%</b>	Collan et al. Value of electron microscopy in kidney biopsy diagnosis. Ultrastruct Pathol. 2005;29:461-8
15,3% (14 RTx)	58,8%	25,9%	
<b>17%</b> (273 RN)	<b>61%</b>	<b>22%</b>	Ghadeer A Mokhtar et al. Role of Electron Microscopy in Evaluation of Native Kidney Biopsy A Retrospective Study of 273 Cases IJKD 2011;5:314-9
<b>20,7%</b> (179 RN)	<b>44,1%</b>	<b>35,2%</b>	Presente estudo
13,6% (22 RTx)	45,5%	40,9%	

Hospital Prof. Doutor **Fernando Fonseca, EPE**



16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

# O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL - Discussão

## Limitações do estudo

- Ausência de informação clínica
- Um único observador
- Número baixo de biópsias renais de transplante

De Kort H, Willicombe M et al. **Peritubular Capillary Basement Membrane Multilayering in Renal Allograft Biopsies of Patients With De Novo Donor-Specific Antibodies.** Transplantation. 2016 Apr;100(4):889-97

Ivanyi et al. **The value of electron microscopy in the diagnosis of chronic renal allograft rejection.** Mod Pathol. 2001 Dec;14(12):1200-8.

Hospital Prof. Doutor **Fernando Fonseca, EPE**





16º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA ANATOMIA PATOLÓGICA

19º CONGRESSO  
SOCIEDADE PORTUGUESA DE CITOLOGIA

25 - 27 maio 2017  
HOTEL AQUALUZ TROIA

## O IMPACTO DA MICROSCOPIA ELETRÓNICA NA BIÓPSIA RENAL - Conclusão

**A ME é essencial ou oferece um contributo importante em 64,2% dos casos. À semelhança de outros estudos, este trabalho demonstra e reforça a importância da realização de microscopia eletrónica em todas as biópsias renais de rim nativo (de novo) e de transplante.**

“In addition, sufficient tissue is needed to perform not only an examination by light microscopy, but also immunohistochemical staining to detect immune reactants (including immunoglobulins and complement components), and electron microscopy to define precisely the location, extent and, potentially, the specific characteristics of the immune deposits. **We recognize that electron microscopy is not routinely available in many parts of the world, but the additional information defined by this technique may modify and even change the histologic diagnosis, and may influence therapeutic decisions; hence, it is recommended whenever possible.**”

(Chapter 2: General principles in the management of glomerular disease. Kidney International Supplements (2012) 2, 156–162; <http://kdigo.org>)

Hospital Prof. Doutor **Fernando Fonseca, EPE**





# OBRIGADA!



**Dr. António Alves**

Patologia inflamatória  
do rim

**Dr. José Palla Garcia**

Patologia metabólica/  
hereditária