
Análisis y detección de fibras en tejido pulmonar

Analysis and detection of fibres in the pulmonary tissue

J. Hueto¹, E. Almudévar²

RESUMEN

Las técnicas microscópicas para el análisis de fibras en tejido pulmonar y lavado broncoalveolar han aportado información de gran interés para un mejor entendimiento de las enfermedades relacionadas con la inhalación de asbesto. Estas pruebas sirven de ayuda para establecer una estimación individual de la exposición previa al amianto.

Un análisis mineralógico de la concentración de fibras intrapulmonares puede ser necesario en algunas ocasiones especiales, como por ejemplo cuando los datos obtenidos en la historia ocupacional sean poco relevantes o inconclusos.

Por todo ello, este tipo de estudios se utiliza cada vez más en trabajos clínicos y en la resolución de problemas medicolegales, pero la complejidad de alguno de ellos hace conveniente la creación de laboratorios de referencia que permitan la homogeneización metodológica y faciliten la comparación de resultados.

Las enfermedades pleuropulmonares relacionadas con la inhalación al asbesto son consideradas como de tipo profesional y, por tanto, están sujetas a una serie de requisitos legales para su reconocimiento y posible compensación. Una historia de exposición con período de latencia adecuado, junto con un cuadro clínico-radiológico compatible, puede ser suficiente para el diagnóstico pero, en determinadas situaciones, como por ejemplo cuando los datos de exposición no son precisos, el análisis y detección de fibras de asbesto en muestras respiratorias o de tejido pulmonar puede ser aclaratorio.

Palabras clave. Asbesto. Lavado broncoalveolar. Fibras.

ABSTRACT

Microscopic techniques for the analysis of fibres in pulmonary tissue and bronchovesicular washing have provided information of great interest for a better understanding of diseases related to the inhalation of asbestos. These tests serve to help in establishing an individual estimation of previous exposure to asbestos.

A mineralogical analysis of the concentration of intra-pulmonary fibres can be needed on some special occasions, for example when the data obtained from the occupational history are of scarce relevance or inconclusive.

For these reasons, this type of study is increasingly used in clinical work and in resolving medico-legal problems, but the complexity of some of them makes the creation of reference laboratories useful as they make methodological homogenisation possible and facilitate the comparison of results.

Plueropulmonary diseases related to inhaling asbestos are considered to be of occupational type and are therefore subject to a series of legal requisites for their recognition and possible compensation. A history of exposure with a suitable latency period, together with a compatible clinical-radiological picture, can be sufficient for the diagnosis but, in certain situations, such as when the exposure data are not precise, the analysis and detection of asbestos fibres in respiratory samples or from the pulmonary tissue can be clarifying.

Key words. Asbestos. Bronchovesicular wash. Fibres.

An. Sist. Sanit. Navar. 2005; 28 (Supl. 1): 13-19.

-
1. Sección de Neumología. Hospital Virgen del Camino. Pamplona.
 2. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Virgen del Camino. Pamplona.

Correspondencia:
Javier Hueto Pérez de Heredia
Hospital Virgen del Camino
Irunlarrea, 4
31008 Pamplona
e-mail: jhuetope@cfnavarra.es

INTRODUCCIÓN

Siempre que se vaya a estudiar a una persona con antecedentes de exposición al asbesto debe realizarse una cuidadosa historia laboral investigando, entre otros aspectos, el tiempo de exposición y el puesto de trabajo, el tipo de asbesto, y la utilización o no de medidas preventivas. Puede servir de ayuda para ello la aplicación de cuestionarios específicos.

Las fibras de asbesto permanecen en el aire largos períodos de tiempo, lo que favorece el riesgo de inhalación. Su capacidad de penetración en el aparato respiratorio, así como la cantidad de ellas retenidas en el pulmón, está en función del tamaño, cantidad y eliminación posterior de las fibras inhaladas. El sistema de "aclaramiento mucociliar" elimina la mayor parte en un tiempo relativamente rápido que oscila entre varios minutos a unas doce horas; sin embargo, una proporción variable, que depende de la cantidad y tipo de fibras así como de la eficacia de depuración, alcanza el intersticio pulmonar. En general el crisotilo tiene una vida media de meses, mientras que los anfíboles pueden permanecer durante décadas en el pulmón¹³.

El diámetro medio de las fibras encontradas en los alvéolos suele ser de menos de 1µm, pero un número considerable son tan pequeñas que escapan a la resolución del microscopio óptico (MO), siendo sólo visibles mediante microscopía electrónica (ME).

El paso desde la luz del espacio aéreo hasta el intersticio puede tener lugar por el transporte en el interior de los macrófagos, por penetración directa a través del epitelio (ya sea dentro de las células epiteliales o entre ellas) o por la organización de un exudado intraluminal después de lesión epitelial⁴. El mecanismo por el cual las fibras alcanzan la pleura, aunque no se conoce del todo, posiblemente implique el sistema linfático pulmonar a través de los vasos intercostales y diafragmáticos⁵.

CUERPOS FERRUGINOSOS O CUERPOS DE ASBESTO

Los cuerpos ferruginosos (CF) son fibras inorgánicas inhaladas que, tras

depositarse en las vías respiratorias inferiores durante períodos de 4-6 meses, son recubiertas de ferroproteína. Solo una minoría de las fibras inhaladas forman CF ya que éstos se forman únicamente sobre fibras largas mayores de 10µm⁶. El atrapamiento del material extraño por una capa de hierro-glucoпротеínas no es exclusivo del asbesto y se ha podido evidenciar en seres humanos con distintas partículas como talco, mica, carbono, tierra diatomácea, zeolita, carburo de silicio e incluso el mismo hierro⁷. Con excepción de la zeolita, estos cuerpos ferruginosos distintos del asbesto por lo común se pueden distinguir por el aspecto de la fibra, la cual es delgada y translúcida con el asbesto, y negra o coloreada y gruesa con otras partículas. Dado que en más del 95% de los casos el material inorgánico presente en el interior del CF corresponde a una fibra de asbesto, en la práctica clínica los términos CF y cuerpo de asbesto suelen considerarse sinónimos^{7,8}.

La mayoría de los CF miden de 2 a 5 µm de ancho y de 20 a 50 µm de longitud. Su forma es muy variable según la longitud de la fibra, la cantidad y el patrón de depósito del revestimiento de proteínas-hierro, y si el cuerpo está entero o fragmentado. Esto último ocurre a menudo y a veces se forman proyecciones bulbosas en ambos extremos de la fibra, lo que genera un aspecto en "palillo de tambor" (Figs. 1 y 2). La mayoría de los CF son rectos y su centro habitualmente consiste en anfíboles, sobre todo amosita y crocidolita; es probable que la escasez relativa de centros de crisotilo sea el resultado de la tendencia de esta sustancia a disolverse y fragmentarse en formas que son demasiado cortas como para formar cuerpos⁹. Por tanto, la concentración pulmonar de CF se correlaciona con la cantidad de fibras de anfíboles en el pulmón pero no con la cantidad de fibras de crisotilo¹⁰.

En los cortes tisulares, los CF se encuentran por lo común en los macrófagos y pueden estar ubicados en el tejido intersticial o en los espacios aéreos, pero también pueden estar presentes en los ganglios linfáticos hiliares y mediastínicos e, incluso, en órganos viscerales extratorácicos¹¹.



Figura 1. Tinción para grasas (*Lipid Crimson*) en muestra de lavado broncoalveolar. Se aprecia la configuración típica de un cuerpo de asbesto consistente en una estructura alargada con un revestimiento arrosariado de hierro y proteínas que permite identificar en algunos puntos de su interior la fibra de asbesto como una línea clara y delgada.

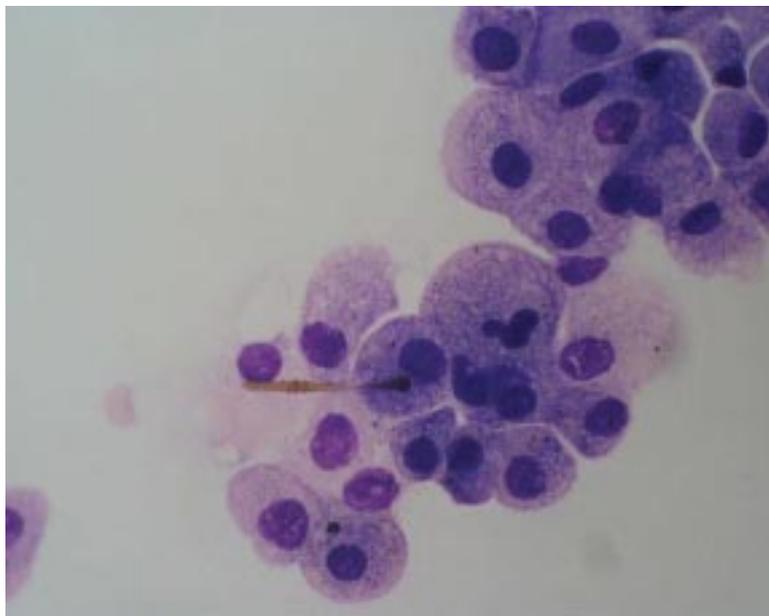


Figura 2. Tinción de Giemsa en muestra de lavado broncoalveolar en la que se aprecia un cuerpo ferruginoso que adopta la forma característica en palillo de tambor.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INTRAPULMONAR DE ASBESTO

Aunque la historia laboral es una herramienta útil para identificar la exposición previa al asbesto¹², el hecho de que este mineral se haya utilizado en casi todos los sectores industriales y en más de 3.000 aplicaciones diferentes hace que, en ocasiones, la recogida de información sea difícil.

Las ventajas e inconvenientes de la MO y ME se resumen en la tabla 1. La MO es un método sencillo pero sólo permite detectar las fibras largas y los CF.

Identificación de cuerpos ferruginosos en tejido pulmonar

El análisis cuantitativo del tejido pulmonar representa el "gold standard" para conocer la concentración de CF en el pulmón, de ahí que sea la técnica recomendable para el estudio de las patologías relacionadas con el asbesto siempre que se disponga de muestras de tejido pulmonar^{3,6}. Para poder realizar el recuento de la concentración de CF en el pulmón se requieren muestras pulmonares de al menos mediano tamaño, por lo que no puede aplicarse sobre biopsias transbronquiales.

Estas muestras de 2-4 cm³ son sometidas a un proceso de secado a 60-70°C durante 24 a 48 horas y después pesadas;

posteriormente se les somete a un proceso de digestión química con hidróxido potásico o hipoclorito sódico al 5% y finalmente centrifugadas y filtradas a través de un filtro de policarbonato^{3,6,13}. Para realizar el recuento de los CF visualizados el material obtenido se examina mediante MO, y el resultado se expresa en número de CF por gramo de tejido pulmonar seco dividiendo el número de CF contados por el peso seco de la muestra. La cuantificación de más de 1.000 CF.g⁻¹ en tejido pulmonar seco se considera indicativa de exposición importante que puede originar enfermedad^{6,14,15}.

Sin embargo, aun en presencia de enfermedad fibrótica con una carga elevada de fibras de asbesto, los CF pueden ser escasos o pueden estar ausentes en los cortes tisulares de algunos pacientes de tal forma que el cociente de las fibras de asbesto no revestidas identificadas mediante MO respecto a las identificadas mediante examen de ME puede variar desde alrededor de 7:1 hasta 5.000:1 según diferentes series⁸.

Identificación de cuerpos ferruginosos en esputo y lavado broncoalveolar

El estudio cualitativo o demostración de CF en las secreciones respiratorias realizado mediante MO tras centrifugación, y expresado como la presencia de CF, forma

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la microscopía óptica frente a la microscopía electrónica como método de identificación de fibras y cuerpos de asbesto en tejido pulmonar y secreciones respiratorias

Método	Ventajas	Desventajas
Microscopía óptica	Rápido y sencillo Barato Permite detectar concentraciones de 0,1 CF mL ⁻¹ o 30 CF g ⁻¹ en un tiempo razonable	Baja resolución. Sólo puede detectar fibras >0,2 µm. Consecuentemente limitada sólo a la identificación de CF y fibras largas. No permite la identificación del tipo de fibra
Microscopía electrónica	Alta resolución. Puede detectar fibras de 0,01 µm con el MET Permite la identificación del tipo de fibra y la determinación de sus dimensiones	Laborioso y caro El estudio en concentraciones inferiores a 50 fibras.mL ⁻¹ o 50.000 fibras.g ⁻¹ requiere mucho tiempo

CF: Cuerpos ferruginosos; MET: microscopía electrónica de transmisión. Modificado de De Yuyst⁶.

parte de la práctica habitual de todos los laboratorios de citología y en la práctica se considera suficiente para identificar a un paciente expuesto¹⁶. Sin embargo, la sensibilidad del estudio de CF en el esputo o aspirado bronquial es muy baja, siendo sólo positivos aproximadamente el 50% de los casos en los que haya existido una intensa exposición ocupacional o laboral y siempre que presenten concentraciones de asbesto en el parénquima pulmonar capaces de causar enfermedad¹⁷.

Por otro lado, en nuestro país Pifarré y col¹⁶, estudiando mediante el análisis cualitativo de muestras de lavado broncoalveolar (LBA) una serie de 40 pacientes con exposición previa documentada al asbesto, obtuvieron una sensibilidad del 55% y una especificidad del 87%. Esta baja sensibilidad obliga, según estos autores, a la realización en determinados casos de estudios cuantitativos de los CF en LBA para identificar correctamente a los pacientes con concentraciones de asbesto en el parénquima pulmonar potencialmente causantes de enfermedad y, de esa forma, reducir al mínimo el infradiagnóstico.

Diversos estudios han demostrado una buena correlación entre el análisis cuantitativo de los CF en LBA y la cantidad de CF existentes en el tejido pulmonar^{13,16,18,19}. La tabla 2 muestra los resultados de tres de estos estudios poniendo de manifiesto que una concentración >1 CF mL⁻¹ en LBA se asocia con una alta probabilidad de tener más de 1.000 CF g⁻¹ en tejido pulmonar seco; es decir una concentración >1 CF mL⁻¹ en LBA es indicativa de exposición relevante al asbesto.

Identificación de fibras de asbesto en el tejido pulmonar

Únicamente en el 1% de las fibras de amianto depositadas en el parénquima pulmonar se forman CF debido a que, como ya se ha comentado, esto ocurre sobre fibras largas mayores de 10 μ m y el resto de fibras y fragmentos menores no se recubren con facilidad. Este hecho determina que puedan existir marcadas diferencias entre la concentración de CF y la de fibras en el tejido pulmonar^{3,13}; por ello, en determinadas ocasiones puede ser recomendable la cuantificación de fibras de asbesto en el tejido pulmonar, como por ejemplo cuando la determinación de CF en trabajadores expuestos no demuestre concentraciones capaces de causar enfermedad, o en aquellos sujetos expuestos a fibras de crisotilo.

De todas formas, la necesidad de tener que disponer de muestras válidas de tejido pulmonar hace que este tipo de estudio sólo se realice en situaciones excepcionales.

Las técnicas de microanálisis con ME constituyen el método más sensible para conocer la concentración de fibras en el tejido pulmonar; permiten contar e identificar a todas las fibras, pero son complejas y disponibles en muy pocos laboratorios^{6,20}. En más del 90% de ellos se utiliza la microscopía electrónica de transmisión por ser la de mejor resolución (MET).

Para la realización del microanálisis se efectúa previamente el secado y digestión del tejido, siguiendo el mismo procedimiento que el descrito para la medición de CF. El número de fibras se cuenta mediante ME y su concentración se expresa en

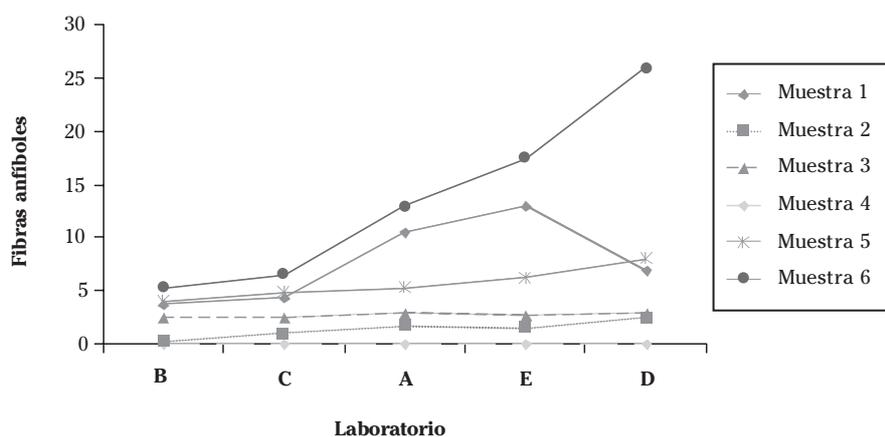
Tabla 2. Correlación entre las concentraciones de CF detectadas en el párenquima pulmonar y en el LBA mediante microscopía óptica en tres estudios internacionales.

Referencia	Nº de casos	CF en tejido seco (CF g ⁻¹) para 1,10 y 100 CF mL ⁻¹ en LBA		
		1 CF mL ⁻¹	10 CF mL ⁻¹	100
19	69	1.800	10.500	62.000
18	100	2.200	10.600	51.000
13	65	2.500	9.500	37.000

CF: Cuerpos ferruginosos; LBA: Lavado broncoalveolar.

fibras por gramo de tejido pulmonar seco. Un recuento mayor de 1.000.000 de fibras de más de una micra de longitud, o de más de 100.000 fibras superiores a cinco micras, por gramo de tejido pulmonar seco se considera como marcador de un depósito pulmonar elevado de asbesto, potencialmente causante de enfermedad pleuropulmonar^{3,6}. El tipo de fibra encontrada puede ser identificada mediante análisis de energía dispersiva de rayos X (EDXA), técnica que requiere de un aparato específico para la preparación y procesamiento de la muestra. La cuantificación de fibras de asbesto con ME, en comparación con los análisis rutinarios de CF por MO, está sujeta a una mayor variabilidad entre laboratorios. En la figura 3 se resume los resultados obtenidos al analizar por cinco grupos de trabajo europeos seis muestras de tejido pulmonar mediante MET siendo evidentes las diferencias²¹. Por ello, se hace necesario que estos estudios se realicen en centros con suficiente experiencia, siendo conveniente la creación de laboratorios de referencia que faciliten la homogeneización metodológica y la comparación de resultados⁶.

En resumen, en pacientes con enfermedades como el mesotelioma, una historia de exposición al asbesto con período de latencia adecuado normalmente suele ser suficiente para el diagnóstico y para adoptar las consideraciones medicolegales que de ello puedan derivarse. En aquellos casos en los que la historia laboral no sea suficientemente precisa, o cuando se trate de enfermedades menos específicas como el cáncer pulmonar, puede ser necesario la realización de otros estudios. De entre ellos, la determinación de fibras de asbesto en tejido pulmonar mediante microscopía electrónica es el que aporta mayor sensibilidad, pero el hecho de que se precisen muestras válidas de parénquima pulmonar hace que se realice en raras ocasiones. Se ha demostrado que la cuantificación de cuerpos asbestósicos en muestras de lavado broncoalveolar, aunque con menor sensibilidad, guarda una buena correlación con el contenido de cuerpos asbestósicos en el tejido pulmonar, constituyendo una técnica útil para identificar a algunos sujetos con concentraciones de fibras en parénquima pulmonar suficientemente elevadas como para causar enfermedad.



Fibras anfíboles (10^6 fibras.g⁻¹ de tejido pulmonar seco); TEM: Microscopio electrónico de transmisión (Modificado de De Yuyst⁶).

Figura 3. Variabilidad obtenida en cinco laboratorios europeos al analizar el contenido de fibras de anfíboles en tejido pulmonar mediante TEM en seis muestras diferentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. CHURG A. Deposition and clearance of chrysotile asbestos. *Ann Occup Hyg* 1994; 38: 625-633, 424-425.
2. CHURG A. Analysis of lung asbestos content. *Br J Ind Med* 1991; 48: 649-652.
3. MARTÍNEZ C, MONSO E, QUERO A. Enfermedades pleuropulmonares asociadas con la inhalación de asbestos. Una patología emergente. *Arch Bronconeumol* 2004; 40: 166-177.
4. ADAMSON IYR, BOWDEN DH. Crocidolite-induced pulmonary fibrosis in mice: Cytokinetic and biochemical studies. *Am J Pathol* 1986; 122: 261-267.
5. SUZUKI Y, KOHYAMA N. Translocation of inhaled asbestos fibers from the lung to others tissues. *Am J Ind Med* 1991; 19: 701-704.
6. DE VUYST P, KARJALAINEN A, DUMORTIER P, PAIRON JC, MONSO E, BROCHARD P et al. Guidelines for mineral fibre analyses in biological samples: report of the ERS Working Group. *Eur Respir J* 1988; 11: 1416-1426.
7. CHURG A, WARNOCK ML. Analysis of the cores of ferruginous asbestos bodies from the general population. *Lab Invest* 1979; 40: 31-38.
8. CHURG A. Fiber counting and analysis of the diagnosis of asbestos related disease. *Hum Pathol* 1982; 14: 381-392.
9. WARNOCK ML, CHURG AM. Asbestos bodies. *Chest* 1980; 77: 129-130.
10. ALBIN M, JOHANSSON L, POOLEY FD, JAKOBSSON K, ATTEWELL R, MITHA R. Mineral fibres, fibrosis, and asbestos bodies in lung tissue from deceased asbestos cement workers. *Br J Ind Med* 1990; 47: 767-774.
11. AUERBACH O, CONSTON AS, GARFINKEL L, PARKS VR, KASTOW HD, HAMMOND EC. Presence of asbestos bodies in organs other than the lung. *Chest* 1980; 77: 133-137.
12. BEGIN R, CHRISTMAN JW. Detailed occupational history: the cornerstone in the diagnosis of asbestos-related lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 705-710.
13. KARJALAINEN A, PIIPARI R, MÄNTYLÄ T, MÖNKKÖNEN M, NURMINEN M, TUKIAINEN P et al. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage in relation to asbestos bodies and asbestos fibres in lung parenchyma. *Eur Respir J* 1996; 9: 1000-1005.
14. ROGGLI VL, PRATT PC, BRODY AR. Asbestos content in lung tissue in asbestos associated disease: a study of 110 cases. *Br J Ind Med* 1986; 43: 18-29.
15. MONSÓ E, TEXIDÓ A, LÓPEZ D, AGUILAR X, FIZ J, RUIZ J et al. Asbestos bodies in normal lung in Western Mediterranean populations with no occupational exposure to inorganic dust. *Archiv Environ Health* 1995; 50: 544-596.
16. PIFARRÉ R, MONSÓ E, ROSELL A, LLATJOS M, BADORREY I, MORERA J. Identificación de cuerpos de asbesto en el lavado broncoalveolar. *Arch Bronconeumol* 1999; 35: 113-116.
17. ROGGLI VL, GREENBERG SD, McLARTY JW, HURST GA, HIEGER LR, FARLEY ML et al. Comparison of sputum and lung asbestos body counts in former asbestos workers. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122: 941-945.
18. DE VUYST P, DUMORTIER P, MOULIN E, YOURASSOWSKY N, ROOMANS P, DE FRANCOUEN P. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage reflect lung asbestos body concentration. *Eur Respir J* 1988; 1: 362-367.
19. SEBASTIEN P, ARMSTRONG B, MONCHAUNG G, BIGNON J. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid in lung parenchyma. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 75-78.
20. MOULIN E, YOURASSOWSKY N, DUMORTIER P, DE VUYST P, YERNAULT JC. Electron microscopic analysis of asbestos body cores from the Belgian urban population. *Eur Respir J* 1988; 1: 818-822.
21. TOSSAVAINEN A. Ed. Final Report. Measurement and testing programme projet MAT1-CT94-0072 - reference materials for the analysis of asbestos fibres in lung tissue. Finnish Institute of Occupational Health 1996.