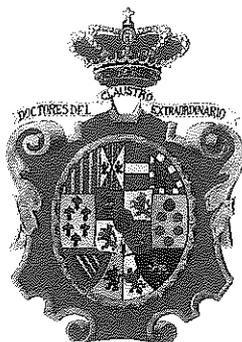


REAL ACADEMIA DE DOCTORES DE ESPAÑA

Discurso pronunciado por el
EXCMO. SR. DR. D. EMILIO ÁLVAREZ FERNÁNDEZ

EN LA TOMA DE POSESIÓN COMO
ACADÉMICO DE NÚMERO
EL DÍA 16 DE MARZO DE 2011

Y CONTESTACIÓN DEL ACADÉMICO
EXCMO. SR. DR. D. ANTONIO BASCONES MARTÍNEZ



MADRID, 2011

Edita
MAC LINE, S.L.

ISBN: 978-84-936943-4-0

Depósito Legal: M-10704-2011

A Loreto

ÍNDICE

Discurso del Excmo. Sr. Dr. D. Emilio Álvarez Fernández	7
Introducción	12
Prehistoria	13
Antiguo Egipto	14
El Mundo Clásico Grecorromano	16
La Europa medieval y el Renacimiento	17
El Barroco, la Ilustración y la medicina contemporánea	17
La medicina moderna	21
La Escuela Histológica Española	22
La microscopia electrónica	24
La histoquímica	30
La inmunohistoquímica	35
El estudio tisular para la determinación de factores pronósticos y predictivos. Su importancia en la elección de dianas terapéuticas y terapias personalizadas	37
Tissue arrays	42
Microarrays	43
Los biobancos	44
La conservación de la imagen y la telepatología	46
La aparición de la regulación	48
Bases de datos universales	50
Resumen final. Situación actual	52
Discurso de contestación del Excmo. Sr. Dr. D. Antonio Bascones Martínez	55

**DISCURSO DEL
EXCELENTISIMO SEÑOR DOCTOR
D. EMILIO ÁLVAREZ FERNÁNDEZ**

**Excelentísimo Señor Presidente de la
Real Academia de Doctores de España,
Excelentísimos Señoras y Señores Académicos,
Señoras y Señores:**

Deben ser mis primeras palabras para expresar mi profunda gratitud y reconocimiento a esta Academia por haberme elegido para entrar a formar parte de la misma ostentando la medalla número 94, honor que excede mis merecimientos.

Una gratitud especial debo a los Doctores Académicos que han presentado mi candidatura. Los Doctores Antonio Bascones Martínez, Amando Garrido Pertierra y Pedro García Barreno. En los tres se pueden reconocer virtudes comunes de las que resaltaría su serena entereza frente a la adversidad y su trabajo por la Academia.

El Doctor Antonio Bascones Martínez, compañero desde la juventud, es un ejemplo, de cómo la dedicación, entusiasmo y perseverancia pueden llevar lejos a una persona en sus objetivos, siempre desinteresados, nobles y orientados a cumplir sus funciones de académico. De ello dan cuenta no solamente su labor de investigación y docencia de España sino la realizada en Hispanoamérica, reconocida con diferentes Doctorados Honoris Causa que le han sido otorgados por Universidades de Perú y Chile. De su sensibilidad dan cuenta sus publicaciones de narrativa y poesía extramédicas. A él debo también agradecer el aceptar pronunciar el discurso de contestación.

Mi reconocimiento al Doctor D. Amando Garrido Pertierra no es fácil de expresar con palabras, ya que su fecunda actividad investigado-

ra y docente desarrollada a lo largo de muchos años, queda superada por sus cualidades humanas muy singularmente por su capacidad de empatía que crea un ambiente de amistad, fraternidad y alegría allá donde se encuentra.

Del Doctor García Barreno poco y tanto puedo decir. Compañeros del Hospital durante toda nuestra vida, he compartido con él horas de gran dificultad, vividas en beneficio de la institución, y he conocido de primera mano sus esfuerzos por desarrollar, potenciar y lo que es más importante mantener, el Departamento de Medicina y Cirugía Experimental y la Investigación en el centro. En la historia que se escriba en los próximos años, se reconocerá sin duda la profunda influencia que ha tenido su actividad en Hospital General Universitario Gregorio Marañón además de en las diferentes Academias y en el Instituto de España.

No sin pudor querría hacer una mínima referencia a mi familia. A mis padres de los que recibí como modelos de conducta la austeridad, el sacrificio y la priorización adecuada de los objetivos en la vida, no orientándolos a la obtención de poder o riqueza. A mi esposa y a mis hijos de los cuales tan sólo querría resaltar dos cualidades entre muchas, la bondad y la integridad.

Reconozco una deuda impagable con mi Maestro el Profesor D. Julio Escalona Zapata, que desgraciadamente no se encuentra ya entre nosotros, uno de los grandes patólogos que crearon la especialidad en España, persona buena, optimista y capaz, sagaz en el diagnóstico, y maestro no solo en la medicina sino también en las actitudes generales en la vida. Asimismo querría recodar al Prof. D. Manuel Pérez Lista primer Jefe del Servicio de Histopatología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, sucesor del Dr. Pío del Río Hortega, patólogo de formación básica profunda, cultivador de la patología necrópsica y maestro de una generación completa de patólogos. No podría terminar esta intervención sin reconocer públicamente mi deuda con el Profesor D. Antonio Llombart Bosch, de quien muchos hemos recibido un ejemplo de nivel académico, capacidad de gestión, sensatez y generosidad. Su actividad ha tenido una repercusión cuya importancia será tanto más valorada cuanto mayor sea la perspectiva que dé el tiempo.

Finalmente quiero mencionar mi reconocimiento a mis compañeros patólogos, técnicos y administrativos del Hospital General Universitario

Gregorio Marañón con quienes he compartido trabajo en ocasiones desde hace más de cuarenta años y dedicar un recuerdo especial al Dr. Eduardo García Poblete.

También es de justicia que las primeras palabras de esta exposición sean dedicadas a la memoria del Prof. D. Carlos Carbonell Antolí que fue elegido Académico Numerario de la Real Academia de Doctores en el año 1966, y ostentó en ella la medalla número 94. D. Carlos Carbonell Antolí nació en Valencia en el año 1916, ciudad en la que cursó sus estudios de Licenciatura en Medicina y en la que se doctoró. Trasladado a Madrid a petición de su maestro el Prof. D. Francisco Martín Lagos, fue Profesor Adjunto de Cirugía en la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Madrid, hasta que obtuvo por oposición la plaza de Catedrático de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia en la que ejerció durante 32 años y de la que fue Decano de 1967 a 1974. El Doctor Carbonell Antolí fué uno de los pioneros de la Cirugía Torácica en España, especialidad que inició en el Hospital Provincial de Valencia y posteriormente en el nuevo Hospital Clínico de la Avenida de Blasco Ibáñez. Debe señalarse su generosidad y perspicacia al considerar que la era de la Cirugía como una única área de conocimiento en la universidad había terminado, y es mérito suyo y del Profesor Francisco Gomar Guarner la subdivisión de la Patología Quirúrgica en dos asignaturas diferentes de forma que se diesen cabida en ellas a las diferentes especialidades quirúrgicas. En el año 1966 ingresó en la Real Academia de Medicina de Valencia y en esta Real Academia de Doctores. Fué Presidente de la Asociación Española de Cirujanos y Miembro de Honor del International College of Surgeons y entre otras múltiples distinciones, le fué otorgado el Premio Virgili de la Sociedad Catalana de Cirugía en 1986, el mismo año de su jubilación. Quizás el mayor reconocimiento que pueda hacerse a D. Carlos Carbonell, es el mérito, compartido con otros miembros del Claustro de la Facultad de Medicina, de comprender que el interés por la modernización de la enseñanza y la practica de la Medicina obligaba a la aparente fragmentación de áreas docentes y de ejercicio profesional tradicionalmente únicas^(1,2).

(1) In Memoriam D. Carlos Carbonell Antolí. Catedrático de Cirugía Carlos Carbonell Canti. Revista Española de Investigaciones Quirúrgicas vol XII, n.º 4 (184-193), 2009.

(2) La Universidad en el desarrollo de la Cirugía torácica española. Francisco Paris, José Luis Bañibrea Cirugía Española, 2005; 78 (5): 293-302.

INTRODUCCIÓN

La tesis que pretendemos defender es la de que los tejidos humanos constituyen un registro de la historia y un punto de lectura de determinados aspectos del futuro de cada ser individual y de la especie. De ésta forma, el estudio de los mismos, permite hacer un recorrido inverso en el tiempo, de forma que a partir de su observación en un momento temporal dado, se pueden recorrer momentos previos y se pueden predecir momentos posteriores. Éste recorrido, los convierte en un punto nuclear para la obtención de conocimiento acerca del ser humano, de su historia y del medio ambiente en el que vive, siendo un recurso accesible, preservable en el tiempo, y cuya información se puede recuperar en diferentes momentos de la historia, lo que mantiene su utilidad a lo largo del tiempo y le confiere un valor que se incrementará, muy verosímilmente, en los tiempos venideros.

Una afirmación tal requiere acotar el terreno en el que se realizará el acopio de datos para su argumentación ya que el estudio de material tisular humano tiene múltiples fronteras que caen bajo la competencia de las diferentes disciplinas representadas en esta Academia y que serían desarrolladas con mayor autoridad y competencia por otros miembros de esta Corporación. Esto quiere decir que a lo largo de nuestra exposición señalaremos líneas fronterizas con otros campos de conocimiento y abandonaremos bifurcaciones en nuestra línea argumental principal. Por poner algunos ejemplos, el estudio de tejidos humanos es competencia, en facetas diferentes, de la paleontología y paleopatología, de la prehistoria, de la genética teórica y de la genética de poblaciones, de las ciencias forenses, del derecho, del arte pictórico, de la escultura, de la criminología, de la fisiología, de la bioquímica, de la ingeniería tisular y por supuesto, y sin pretender agotar la lista, de la anatomía, histología y anatomía patológica, cuya metodología, objetivos e historia serán a los que nos referiremos como espina dorsal de la exposición.

Pero además afecta no sólo a diferentes áreas de conocimiento muy alejadas entre sí en su actuación diaria sino que también necesita de técnicas de estudio muy distintas generadas en territorios muy desemejantes y que se aplican en las situaciones particulares de los campos de conocimiento citados. De la diversidad de técnicas da idea el hecho de que éstas van de la observación a simple vista al empleo de anticuerpos monoclonales.

les o de matrices de ácidos nucleicos. Citemos algunas de ellas: la observación anatómica macroscópica y antropométrica de restos óseos, las técnicas de imagen, desde las más simples como la radiología convencional, a las más complejas, como la tomografía axial computerizada y sus desarrollos, la bioquímica básica, la genómica y la proteómica, y, desde el punto de vista de las aplicaciones más genuinamente características de la histología y de la histopatología convencionales, la microscopía electrónica, la histoquímica y la inmunohistoquímica, así como las técnicas más actuales de estudio molecular de los tejidos. Debe señalarse que las técnicas de modelado artístico con diferentes materiales, la pintura y las técnicas actuales de fotografía digital están también implicadas en la preservación de la imagen macro y microscópica de los tejidos, en ausencia de su propia sustancia, siendo herederas de la tradición museística anatómica tradicional.

Para comprender, valorar y argumentar la situación actual haremos un recorrido histórico sumario en el que analizaremos, en cada período los siguientes puntos: las técnicas de obtención de los tejidos para su estudio, las técnicas aplicadas para su preservación, los objetivos de la preservación y del estudio, las técnicas de recuperación de información posibles en los mismos y por último el rendimiento en información de dichas técnicas y estudios. La extensión de cada uno de estos puntos concretos hace que el tratamiento que se puede dar a los temas sea de carácter introductorio no pudiendo profundizarse en muchos de ellos.

Debe hacerse la salvedad de que la separación por períodos temporales que se utilizará en la exposición es aproximada y que por simplificar la misma se obviarán, en los períodos temporales fronterizos, los solapamientos en cualquiera de los apartados que hemos establecido como puntos de transición arbitrarios. Finalmente se hará una previsión de cuales pueden ser los desarrollos del progreso técnico en el futuro inmediato y a largo plazo.

PREHISTORIA

Probablemente los primeros tejidos humanos que nos pueden proporcionar información no sólo puramente anatómica sino también anatómopatológica, sean los restos óseos, al desaparecer por el proceso de putrefacción o por otros mecanismos, como la acción de animales, las par-

tes blandas somáticas junto con la patología que pudieran albergar, si ésta no ha dejado secuelas en el esqueleto. Esto quiere decir que la paleopatología, utilizando el termino en sentido estricto, como el estudio de los hallazgos patológicos en épocas prehistóricas o históricas antiguas, proporcionó información sobre lesiones traumáticas, enfermedades infecciosas, como la tuberculosis ósea, fistulas dentales y óticas, tumores primitivos o secundarios, impresiones óseas producidas por el latido de aneurismas aórticos o lesiones residuales con signos de reparación como las trepanaciones craneales⁽³⁾. No hay datos que conozcamos de que en esta época se pretendiera ningún tipo de preservación de los tejidos. Sin embargo la evidencia científica en cuanto a las posibilidades de recuperación de información a partir del ADN contenido en estas piezas parece apoyar el hecho de que las actuales tecnologías y los repositorios fósiles son suficientes para comenzar a recoger ya los primeros resultados de los esfuerzos de secuenciación⁽⁴⁾.

ANTIGUO EGIPTO

En el Egipto predinástico, anterior a los 3000-3400 años antes de Cristo, la conservación de los tejidos se produjo simplemente por la desecación inducida por las altas temperaturas. En períodos posteriores, a partir de la Cuarta dinastía y hasta el final de la Era Cristiana, se tiene evidencia de técnicas de momificación eficaces, realizadas con un fin fundamentalmente religioso con el objeto de asegurar la pervivencia del sujeto en la vida de ultratumba. En este contexto el cadáver era eviscerado dejando in situ el corazón y riñones, depositando a partir de la dinastía XXXVI el resto de las vísceras, lavadas en vino de palma e impregnadas en natrón o especias, en los vasos canópicos, bajo la protección de cada uno de los

(3) La enfermedad en la Prehistoria. Introducción a la Paleopatología Campillo D. Salvat, Barcelona 1983.

(4) Analysis of one million base pairs of Nenderthal DNA. Green RE, Krause J, Ptak SE, Briggs AW, Ronan MT, Simons JF, Du L, Egholm M, Rothberg JM, Paunovic, Pääbo S, Nature 2006, 330-336, Noonan JP, Coop G, Kudaravalli S, Smith D, Krause J, Alessi J, Chen F, Platt D, Prichard JK, Rubin EM Sequencing and análisis of Neanderthal genomic DNA, Science 2006, nov 17; 314 (5802): 1113-1118, A Draft Sequence of the Neanderthal Genome. Green RE, Krause J, Briggs AW, Maricic T, Stenzl U, et al Science 7, mayo 2010, vol 328, n.º 5979, 710-722 The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominide from southern Siberia Krause J, Fu Q, Good JM, Viola B, Shunkov MV, Derevianko AP, Pääbo S Nature 464, 895-897, 8 abril 2010.

cuatro hijos de Horus, con una disposición ritual (el hígado en el vaso con cabeza humana con diosa protectora Isis, los pulmones en el vaso con cabeza de mono con diosa protectora Neftis, el estómago en el vaso con cabeza de chacal y con diosa protectora Neith y los intestinos en el vaso con cabeza de halcón con diosa protectora Serqet), permaneciendo en situación anatómica normal el esqueleto y las partes blandas asociadas al mismo. La finalidad pretendida era que el alma del muerto cuando volviera al cuerpo lo pudiera reconocer y dispusiera de todos sus órganos en la otra vida. La «recuperación» de la información, si se puede hablar de tal, se realizaría por tanto en ella ⁽⁵⁾.

En tanto que el estado de conservación de las vísceras en los vasos canópicos se ha demostrado lo suficientemente pobre como para no permitir estudios útiles de las vísceras, la conservación de las partes blandas y del esqueleto si ha permitido la realización de estudios macroscópicos, radiológicos e histológicos de una serie de enfermedades como la esquistosomiasis. En estos momentos la aplicación de las técnicas modernas de identificación por ADN están aportando nueva información de enorme utilidad para comprender no sólo las relaciones familiares, sino las patologías de diferente tipo de los antiguos egipcios, Un ejemplo es el rendimiento de los estudios genéticos realizados en tejidos momificados para establecer las relaciones familiares faraónicas ⁽⁶⁾.

Debe señalarse que procesos de momificación similares o no a los egipcios permitieron la preservación de momias de las tribus etíopes antiguas, de los antiguos pobladores guanches de las Islas Canarias, desde 900 años antes de Cristo, de los indígenas peruanos desde 1000 años antes de la conquista y de los nativos norteamericanos. Asimismo las peculiaridades del terreno permitieron la conservación de las momias chinas de Urumchi en el desierto salino de Takla Makan, la congelación en el caso de Otzi el hombre del los hielos encontrado en Austria o las momias siberianas y la «doncella siberiana» descubierta en el permafrost de las montañas Altai entre Siberia y la Mongolia Exterior y la de los hombres medievales encontrados en las turberas del Reino Unido y en Dinamarca.

(5) Ancient Egyptian Medicine. Nunn JF, British Museum Press 1996.

(6) Hawass Z. Tut's Family Secrets National Geographic, september 2010; vol 218: 34-59.

En este segundo período nos encontramos pues con abundantes y numerosos depósitos tisulares vinculados a la momificación espontánea o antropogénica, buscada con fines religiosos u obtenida sin premeditación, con conservación de partes óseas, tejidos blandos y en casos fragmentos de vísceras, susceptibles de recuperación y estudio con técnicas actuales, tanto de imagen como histológicas o moleculares.

EL MUNDO CLÁSICO GRECORROMANO

A lo largo de la historia del mundo clásico grecorromano se observa un escaso interés por el estudio y conservación de los tejidos humanos de manera que en los tratados hipocráticos, junto a detenidas descripciones de procesos externos o de los mecanismos del parto no se incluye, sin embargo, ningún estudio de órganos profundos, ni siquiera cadavéricos.

Parece que las primeras disecciones humanas se realizaron, según Celso y quizás incluso utilizando seres vivos, por los miembros de la escuela Alejandrina, Herófilo, Eudemo, Erasítrato y Marino, cuyas obras, perdidas, se conocen por referencias secundarias de Celso, Tertuliano y Galeno. Esta actividad junto con el intento de correlacionar los hallazgos anatómicos con la clínica de los pacientes los convertiría en los precursores del método anatomoclínico que se desarrolló posteriormente (7,8).

No hay evidencia de que se intentara la preservación de tejidos después de su disección, ni de su utilización exacta desde el punto de vista médico, siendo sucedidas sus aportaciones por la obra fundamentalmente anatómica de Galeno (9).

En el mundo romano, dominado por la figura de Cornelio Celso, la disección de cadáveres humanos era ilegal abandonándose el conocimiento previo de los alejandrinos.

(7) van den Tweel JG, Taylor CR. A brief history of Pathology Virchows Arch 2010; 457: 3-1.

(8) Lopez Salva M, Introduccion, a Galeno Procedimientos anatomicos. Libros I-IX, Biblioteca Clasica Gredos Madrid 2002.

(9) Galeno Procedimientos anatómicos. Libros I-IX, Biblioteca Clásica Gredos Madrid 2002.

LA EUROPA MEDIEVAL Y EL RENACIMIENTO

A partir de la baja edad media y, sobre todo del Renacimiento, aparece un interés mayor por los tejidos humanos orientado, en primero lugar, al estudio de los mismos con el fin de determinar su morfología y función. En Bolonia se practicaron disecciones humanas desde el año 1270. En España se cita la primera disección humana en Lérida en 1391 y en Viena en 1404 para la enseñanza de la Anatomía. Antonio Benivieni (1443-1502) realizó autopsias en sus pacientes publicándose los hallazgos después de su muerte en «De Abditis Nonnullis ac Mirandis Morborum et Sanatorium Causis». Vesalio (1514-1564), en su Tratado «De Humani Corporis Fabrica» describió la anatomía normal humana con precisión, orientando la descripción a su morfología, sin analizar las modificaciones patológicas de los órganos, a pesar de que parece ser que existió una publicación perdida sobre hallazgos patológicos, ni mostrar ningún intento de preservación, hasta el punto de que los cadáveres se disecaban en estado fresco por lo que la disección tenía que ser realizada en un período de tiempo corto ya que entraban en putrefacción. Además, estos tejidos, que no se conservaban, se estudiaban únicamente macroscópicamente ya que no se podían estudiar histológicamente al no existir dispositivos microscópicos útiles.

La preservación tisular por tanto se puede decir que no se pretendió, se reducía a la conservación de la imagen obtenida en la disección, mediante dibujo y las posibilidades de recuperación de la información se reducen, como en el periodo anterior, al estudio con técnicas actuales de restos cadavéricos.

EL BARROCO, LA ILUSTRACIÓN Y LA MEDICINA CONTEMPORÁNEA

Ya en época Barroca, se desarrolla el microscopio por van Leuwenhoeck (1632- 1723). Esto permite observar a aumentos muy elevados, sobre todo comparables con la observación a simple vista, diferentes tejidos humanos, especialmente los líquidos, por ejemplo el esperma. El microscopio se sigue desarrollando progresivamente al mismo tiempo que, sin embargo, no se aplica de forma directa al estudio sistemático de los tejidos. Éstos, que todavía no se conservan de forma adecuada, empiezan a ser objeto de estudios anatómicos en los que ya no se registra úni-

camente su estructura normal sino que también se empiezan a recoger y a registrar las desviaciones patológicas que presentan intentándose, por primera vez por Giovanni Batista Morgagni (1662-1771), en «De Sedibus et Causis Morborum per Anatomem Indagatis», la correlación entre la lesión, que había seguido siendo hasta entonces un hallazgo no buscado, según indica Laín Entralgo, y la sintomatología clínica que presentaba el paciente en vida. A partir de éste momento, la lesión o la modificación patológica de los tejidos humanos visibles macroscópicamente, se convierte en objetivo de la indagación anatómica. La desviación de la morfología macroscópica normal de los tejidos, la lesión, se convierte en un objetivo buscado en la práctica de las autopsias, cada vez más numerosas, y es descrita con tan gran precisión que permite proponer posibles diagnósticos histológicos actuales, como suponer que la descripción de una tumoración torácica por Herman Boerhaave (1668-1738) ⁽¹⁰⁾, probablemente correspondiente a un linfoma mediastínico o a un carcinoma microcítico pulmonar.

A partir de este momento la historia de los tejidos va íntimamente vinculada al desarrollo de la Anatomía Patológica como especialidad médica diferenciada. En esta evolución hay que distinguir dos fases, una primera en la que los propios clínicos son los que mediante la práctica quirúrgica o mediante la realización de autopsias investigan las lesiones y una segunda fase en las que, totalmente incorporado el estudio microscópico al macroscópico, aparece la figura del patólogo profesional. Es en esta segunda fase en la que el estudio tisular llega a su mayor desarrollo y se organizan sistemas de conservación de los mismos.

La primera fase se debe en buena medida a la actividad de los clínicos autopsiadores franceses el primero de los cuales es François Marie Bichat, que, en su Tratado de las Membranas, subdivide el cuerpo humano en una serie de componentes, que él llama membranas, tras estudiar la anatomía y la patología macroscópicas obtenidas por la disección de guillotinos y de pacientes fallecidos en el Hôtel Dieu de París. Esta actividad fue la que provocaría su muerte por tuberculosis. Bichat expresa quizá por primera vez de una manera precisa el fundamento del método anatomo-clínico *«¿De que sirve la observación si se ignora el sitio del mal? Podrán hacerse a la cabecera de los enfermos de la mañana a la noche...*

(10) «Atrocis rarissimique historia altera» 1728 cit Lopez Piñero JM. Antología de clásicos médicos pp. 201-205.

observaciones sobre los males del corazón, del pulmón, de las vísceras gástricas, pero ¿que se seguirá de aquí que una confusión en los síntomas...? Por el contrario, abrid algunos cadáveres y se vera inmediatamente desaparecer la oscuridad que nunca hubiera disipado la sola observación»⁽¹¹⁾. Le sigue, dentro de ésta escuela, Jean Marie Laennec, (1781-1826) inventor de la auscultación mediata y prosector, con la descripción de la cirrosis hepática y de la tuberculosis miliar, enfermedad que, por último, le causaría a él la muerte.

Al mismo tiempo que en Francia, en otros territorios, se desarrollan escuelas semejantes entre las cuales hay que destacar en el Reino Unido a John Hunter (1728-1793) y a su sobrino Mathew Baillie autor del primer tratado de anatomía patológica sistemático («The Morbid Anatomy of Some of the Most Important Parts of the Human Body») en donde, entre otras entidades, ilustra perfectamente el enfisema pulmonar.

En todo éste tiempo, la técnica de estudio de los tejidos humanos cadavéricos se reduce a su análisis macroscópico, y ocasionalmente al estudio macro microscópico con lentes de aumento, mientras que su conservación y recuperación no se pretende. La conservación de tejidos se va reducir a las imágenes de los mismos sin intentos de preservación de otra índole, siendo imposible su recuperación.

La investigación macroscópica de los tejidos humanos, ya con estudio microscópico en ciertos casos, y de sus órganos llega a su punto culminante con la Escuela de Viena, iniciada y encarnada en su máxima expresión por Karl von Rokitansky (1804-1878) del cual se dijo que había realizado, personalmente, 30.000 autopsias y en donde el estudio sistemático del cadáver permitió la descripción de importantes entidades como la amiloidosis, así como el comienzo de la conservación de piezas en museos anatómicos. La mejora y abaratamiento del microscopio óptico llevó a la implantación de los estudio cito histológicos sistemáticos que, iniciados ya por Johannes Müller (1801-1858) en Berlín, llegaron a su mayor desarrollo con la figura de Rudolph Virchow (1821-1902) culminando en su clásica publicación «Die Cellular Pathologie» en 1858. En este momento se suceden los avances en instrumentación (microtomos, microscopios),

(11) Foucault M. En El nacimiento de la clínica pp. 208-209. Editorial Siglo XXI Madrid 1977.

en las técnicas de fijación, inclusión y montaje y en las técnicas de tinción, generalizándose el estudio histológico de carácter descriptivo y diagnóstico, se desarrollan las Cátedras e Institutos de Patología y aparece la figura del patólogo profesional.

El microscopio óptico, es probablemente la herramienta de estudio mas relevante del periodo junto con las instrumentaciones auxiliares para la obtención de cortes y tinciones histológicas, como los diferentes tipos de microtomos. Debe en buena medida su desarrollo aplicativo al trabajo de Ernst Abbe, originariamente profesor de física, que en las instalaciones de Zeiss donde pasó de consultor a socio y finalmente a propietario, diseñó la lente apocromática, desarrolló el concepto de apertura numérica e introdujo la observación mediante inmersión en aceite, estableciendo además cuales eran los límites máximos de la resolución del instrumento. Estos avances hicieron posible que unos veinte años después de la publicación de los hallazgos e innovaciones de Abbe se diseñaran y fueran operativos microscopios que alcanzaban el límite de la resolución óptica teórica y que tuvieran una aplicación generalizada para el estudio de los tejidos humanos.

La actividad de estudio descrita comienza ya a quedar recogida en parte en archivos de secciones histológicas montadas y teñidas, con un pequeño volumen de tejidos archivados incluidos en parafina o en celoidina, esta última utilizada en neuropatología, y órganos y piezas de disección de volumen variable conservadas en formaldehído o en soluciones similares en museos anatómicos generalmente situados en Escuelas de Medicina y Hospitales.

Es innecesario señalar que simultáneamente se produjo un «almacenamiento» masivo y no pretendido como objetivo buscado, de tejidos cadavéricos, accesibles al estudio con las técnicas actuales, en todos los cadáveres inhumados en estas épocas.

La información recuperable del material almacenado, era limitada, si bien es en esta época cuando se establecen los fundamentos del archivo y conservación de tejidos, así como el intento de reproducción y conservación de su imagen, como se tratará posteriormente, abriéndose la posibilidad de realizar estudios histológicos nuevos a partir de las piezas anatómicas almacenadas en los museos. Su intencionalidad básica era sin ninguna duda la docente.

LA MEDICINA MODERNA

Estableciendo de forma arbitraria el comienzo de ésta con la aparición de la figura del patólogo profesional y la popularización del concepto de Patología Celular desarrollado por Virchow, en este período, que podríamos admitir comienza en los primeros años del siglo XX, se van a producir dos hechos fundamentales: la aparición en los Estados Unidos de América de potentes dispositivos anatomopatológicos, organizados y dirigidos al principio por cirujanos y por patólogos procedentes de Europa y del Reino Unido, y la generalización de la llamada por los anglosajones «Patología Quirúrgica», entendiéndose por tal el desarrollo de los estudios histopatológicos orientados al diagnóstico. Expresión de esto es la aparición y difusión de la biopsia intraoperatoria, iniciada utilizando el microtomo de congelación por TS Cullen en el John Hopkins Hospital en 1891 y por JC Warren en el Massachusetts General Hospital en 1889. La técnica alcanza durante estos años un desarrollo máximo en centros como la Clínica Mayo en Rochester, validando la opinión previa de Senn, Chairman of Surgery en el Rush Medical College de Chicago, quien afirmó en 1895 que «The freezing microtome... should have a place in the operating room of every hospital». En estos años comienza ya la «conservación estratégica de tejidos» estando disponibles en grandes archivos como los existentes en la citada Clínica Mayo.

Pero es en los años 30 cuando comienza a explotarse científicamente el almacenamiento de los tejidos humanos que formaban parte de los archivos hospitalarios de los grandes centros sobre todo estadounidenses, pero también europeos. En ellos se podían estudiar series muy largas de patologías orgánicas específicas, especialmente neoplásicas, que, agrupadas en estudios estadísticos con correlación anatomoclínica básica permitieron establecer el conocimiento de la historia natural espontánea de muchos procesos patológicos singularmente tumorales. Un ejemplo relevante es el del cáncer de pulmón liderado por Leiv Kreyberg en Noruega. Estos archivos estaban organizados sobre la base de la conservación de preparaciones histológicas con cortes teñidos y montados y ocasionalmente, como ya se ha indicado anteriormente, mediante la preservación de tejido húmedos inmersos en fijador. En estos momentos la utilidad diagnóstica de los tejidos se hace mucho mayor y sin duda constituye su utilización más relevante.

A medio plazo esto a va dar lugar a la aparición de los Registros de Tumores. En ellos lo que se pretende es reunir series lo mas grandes posi-

bles de patologías de diferente tipo que permitieran tras el estudio de seguimiento y epidemiológico de los pacientes identificar nuevas entidades, conocer mejor la biología de cada una de ellas y valorar su pronóstico con el fin de mejorar no sólo el conocimiento teórico sino también facilitar una mejor orientación terapéutica.

LA ESCUELA HISTOLÓGICA ESPAÑOLA

Dentro de las técnicas para la demostración y mejor conocimiento de los tejidos humanos no sería procedente en esta exposición no dedicar una mención especial a la Escuela Histológica Española, dada su especial aportación al conocimiento del tejido nervioso y al desarrollo de técnicas que, suponiendo una nueva forma de manejo de los tejidos, todavía hoy siguen en uso. Una revisión breve pero precisa en sus juicios y con innumerables datos históricos vividos personalmente es la realizada por el Profesor Julio Escalona Zapata, en su publicación del año 2003 ⁽¹²⁾ y una revisión mas amplia se encuentra en la publicación del Prof. R. González Santander ⁽¹³⁾. A ellas podría aportar su experiencia personal y datos relevantes el Académico de esta Corporación Dr. D. Benjamín Fernández.

Entendiendo la pertenencia a dicha Escuela en un sentido amplio deben de ser citadas personas que en parte desarrollaron su actividad profesional y científica en Madrid, como Jefes de Servicio del Hospital General, actualmente Hospital General Universitario Gregorio Marañón, como el Dr. D. Nicolás Achúcarro, Jefe del Servicio de Neuropsiquiatría, descriptor del método de impregnación argéntica que lleva su nombre ⁽¹⁴⁾, el Dr. D. Gonzalo Rodríguez Lafora, que dirigió también el Servicio de Neuropsiquiatría del Hospital, que además de su actividad clínica hizo un aportación neuropatológica importante con la descripción de la epilepsia mioclónica con cuerpos de inclusión que lleva su nombre ⁽¹⁵⁾ y el Dr. D.

(12) Historia de la Anatomía Patológica Madrileña. Edit MacLine Madrid, 2003.

(13) La Escuela Histológica Española I. Comienzo y antecedentes Universidad de Alcalá. Servicio de Publicaciones 1996. La Escuela Histológica Española II Sociedad Española de Histología Universidad de Alcalá Servicio de Publicaciones 1997.

(14) Achúcarro N. Nuevo método para el estudio de la neuroglia y del tejido conjuntivo Bol. Soc. España. Biol. I, 1911, 139-141. Madrid, 1911.

(15) Lafora GR Beitrage zur Histopathologie der myoklonische Epilepsie Z. Ges. Neurol. Psychiatr. 6, 1-15, 1911.

Fernando de Castro quien además de describir la estructura e inervación del glomus carotídeo sugirió su función basándose exclusivamente en la inteligente interpretación de los datos morfológicos⁽¹⁶⁾.

Todos ellos quedan oscurecidos ante la aportación de dos figuras dominantes Santiago Ramón y Cajal y Pío del Río Hortega, este último primer Jefe de Servicio de Histopatología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Ellos desarrollaron técnicas de impregnación argéntica que permitieron demostrar la textura microscópica del sistema nervioso, sabiendo interpretar los hallazgos y sugerir su función, y realizando aportaciones en el campo de la patología de tal relevancia como la teoría neuronal y la clasificación de los tumores cerebrales por citar solamente las más relevantes⁽¹⁷⁾.

Podríamos resumir la situación por tanto durante la década de 1930-1940 de la forma siguiente: los tejidos están almacenados en departamentos de Anatomía Patológica y, en menor medida, en departamentos de anatomía, embriología y médico forenses, así como en museos anatómicos y archivos monográficos como los Registros, situados habitualmente también en Departamentos anatomopatológicos. Estos tejidos se conservan en formol o soluciones similares o incluidos en parafina, siendo recuperables para la práctica de estudios histológicos convencionales, con técnicas de tinción rutinarias o especiales a veces muy sofisticadas como las de impregnación argéntica de la escuela histológica española. Su recuperación, siendo posible, se hace de forma excepcional, generalmente con la intención de completar estudios ópticos previos o con fines docentes como los Seminarios de Casos de la Patología Americana. Su observación se realiza con microscopía óptica exclusivamente.

(16) Sur la structure e l'innervation de la glande intercarotidienne (glomus caroticum) de l'homme et des mammifères, et sur un nouveau système d'innervation autonome du nerf glosopahryngien F. de Castro. Travaux du Laboratoire de Recherches Biologiques. Extrait du fascicule 4^{ème} du tome XXIV. 367-431, Tipografía Artística, Madrid, 1926.

(17) Structure et connexions des neurones. Conference Nobel, tenue á Stockholm le 12 Décembre 1906. Santiago Ramón y Cajal. Archivio di Fisiologia vol V, Fas.I, Nov. 1-25, 1907, P del Río-Hortega Estructura y sistematización de los gliomas y paragliomas, Archivos Españoles de Oncología, tomo II, cuaderno 3.º-4.º, febrero 1932, 411-677.

LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Los trabajos pioneros de Busch ⁽¹⁸⁾ acerca de la capacidad de un solenoide de concentrar un haz electrónico que circule por su centro y de variar el diámetro del haz electrónico cambiando la posición del magneto con relación a la posición de la fuente de electrones y de la pantalla fluorescente, fueron seguidos por los de Ruska, cuya aportación fundamental fue la de hacer pasar el haz electrónico a través de aperturas de metal de diámetros precisos y añadir una segunda espira electromagnética con lo que pudieron obtenerse imágenes cuyas dimensiones se podían calcular de forma precisa. En 1931 Ruska y Knoll construyeron el primer microscopio electrónico cuya patente sin embargo les fué sustraída.

En este momento el estudio tisular recibió una aportación técnica muy significativa, ya que el nuevo microscopio proporcionó un incremento sustancial en la resolución, mejora que se aplicó además, como veremos a continuación, a tejidos mucho mejor preservados, con una estructura cada vez mas próxima a la normalidad y casi libres de artefactos. Puede decirse que con el microscopio electrónico, desde sus formas mas sencillas hasta las variantes de alta resolución, se alcanza la frontera final en la observación de la morfología tisular y celular convencionales y se rompen y superan los límites de la observación microscópica establecidos por Abbe.

La altísima resolución que era capaz de proporcionar la microscopía electrónica para el estudio tisular requería de una mejor preservación de los tejidos. Este hecho obligó a introducir modificaciones en la fijación, inclusión, corte y tinción de los cortes, lo que condujo de una parte a un gran esfuerzo de diseño industrial y de otra al desarrollo de técnicas de procesamiento especiales. Dentro del primer aspecto fueron mejoras sustanciales el desarrollo de los ultramicrotomos, desde el modelo originario de Porter-Blum de manejo manual, hasta los equipos posteriores desarrollados por Reichert, LKB etc. de corte automático. El corte, inicialmente realizado con cuchillas de vidrio confeccionadas manualmente, pasó a ser mecanizado y finalmente reemplazado por las cuchillas de diamante o de rubí introducidas por Humberto Fernández Morán, con más dureza y cali-

(18) Peven DR, Gruhn JD, The Development of Electron Microscopy, Arch Pathol Lab Med 109, 683-691, 1985.

dad de corte y de larga duración. El soporte de los cortes, que evidentemente no podía ser el cristal, se pasó a realizar en rejillas de cobre o de otros metales, cubiertas o no por carbón o por otros soportes y con diferentes diseños de sus perforaciones (en retículo, lineales etc.)⁽¹⁹⁾.

La mejoría instrumental requirió de importantes modificaciones en la obtención, y fijación de los tejidos. Los tejidos se empezaron a recolectar tras un tiempo mínimo de isquemia durante la intervención quirúrgica de manera que se redujera lo más posible el artefacto por anoxia. Las soluciones fijadoras pasaron a estar basadas en glutaraldehído, con postfijación en ácido ósmico, utilizándose bloques de tamaño muy reducido, de alrededor de 1 mm cúbico, dada la escasa penetrabilidad de ambos fijadores. A lo largo del tiempo se desarrollaron fijadores basados en paraformaldehído, útiles para piezas de mayor tamaño, como la solución de Karnofsky o la de Trump, en las que además los tejidos podían mantenerse útiles para estudio ultraestructural durante años, y se diseñaron técnicas de obtención de muestras postmortem como la de Weibel en la cual la solución fijadora teñida con un colorante se inyectaba en el órgano a estudiar inmediatamente después de la muerte, pudiéndose localizar en la autopsia el área teñida, correctamente fijada. La inclusión se pasó a realizar en materiales plásticos tipo metacrilatos o resinas epoxi que proporcionaban junto con un mantenimiento de la buena preservación del tejido una consistencia adecuada para el corte de secciones ultrafinas de un grosor aproximado de 100 nanómetros. Estos requerimientos de preparación no fueron obstáculo para se pudieran procesar y estudiar también muestras de tejido fijadas en formaldehído o extraídas de bloques de parafina si bien la calidad de las mismas era claramente subóptima⁽²⁰⁾.

La época de mayor aportación de conocimiento sobre los tejidos humanos de la microscopía electrónica se extiende desde los primeros años cuarenta hasta finales de los ochenta. A lo largo de la misma se describió muy detalladamente la estructura normal y la organización submicroscópica de los tejidos y de las células normales, así como la estructura

(19) Johannessen JV Edit. *Electron Microscopy in Human Medicine* vol 1-11, McGraw-Hill New York, 1978, Glauert AM Ed. *Practical Methods in Electron Microscopy* North Holland Publishing Co. Amsterdam 1978, Vol 1-7.

(20) *Practical Methods in Electron Microscopy*, Glauert E Edit. Vol 1-7 Elsevier North Holland. Publishing Amsterdam, 1975.

de los órganos intracitoplásmicos y las diferenciaciones y estructuras ligadas a la membrana celular, se realizó la descripción de nuevas entidades o se aclaró la histogénesis de otras consagradas ya por la microscopía óptica, se mejoró la taxonomía tumoral, se obtuvo una precisa correlación en la patología glomerular con los hallazgos de inmunofluorescencia, la microscopía convencional y la clínica, se mejoró el conocimiento de las enfermedades por atesoramiento, así como una pléyade de aportaciones en múltiples campos de la medicina clínica.

Es imposible resumir siquiera las múltiples aportaciones realizadas por la microscopía electrónica en sus diferentes variantes, que incluyen la microscopía de alta resolución, la microscopía electrónica de barrido, la criofractura y sus técnicas asociadas, para la comprensión de la estructura y función celulares. En el campo de la morfología celular normal y de la patología celular ultraestructural deben citarse las exhaustivas recopilaciones de Ghadially ⁽²¹⁾ en años sucesivos, desde 1975 a 1988 y de Johannesen ⁽²²⁾ en las que se describen las alteraciones ultraestructurales de todos y cada uno de los componentes de la célula, desde el núcleo, a los órganos citoplásmicos de la membrana y la matriz extracelular.

En relación con la patología neoplásica es comúnmente atribuida a Rosai y Rodríguez en 1968 la primera aportación en la que se reconoció que el estudio ultraestructural de tejidos neoplásicos humanos podía aportar datos importantes para su diagnóstico ⁽²³⁾. Desde entonces la aportación de la ultraestructura al conocimiento de las neoplasias es de tal volumen que es imposible resumirla en un espacio limitado. Basten algunos ejemplos. Desde su descripción por Averill Liebow el «tumor bronquioloalveolar intravascular pulmonar» se consideró una variante de adenocarcinoma pulmonar de baja agresividad. La demostración por Brian Corrin de cuerpos de Weibel Palade, marcador endotelial sanguíneo específico, en las células neoplásicas mediante microscopía electrónica, permitió reconocer al tumor como un auténtico angiosarcoma de bajo grado y asociarlo a un amplio grupo de tumores de los mismos rasgos biológicos presentes tam-

(21) FN. Ghadially Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix, Butterworths London 1975, 1982, 1988).

(22) Johannesen JV. Electron Microscopy in Human Medicine vol 1-1, MacGraw Hill NewYork, 1981.

(23) Rosai J, Rodríguez HA, Application of electron microscopy to the differential diagnosis of tumors Am J Clin Pathol 1968; 50: 555-562.

bién en otras localizaciones como la hepática, antes de que este hecho se confirmara por inmunohistoquímica ⁽²⁴⁾. La correcta identificación con técnicas de rutina e inmunohistoquímica tiene especial importancia en estos momentos al indicar un tratamiento mediante trasplante orgánico antes de que su extensión lo haga imposible.

El estudio ultraestructural permitió también la diferenciación, hasta entonces muy difícil y a veces imposible, del mesotelioma pleural de otras neoplasias epiteliales con afectación cavitaria predominante como carcinomas pulmonares o digestivos, al demostrar la presencia de múltiples expansiones citoplásmicas microvillositarias de tipo no intestinal y de luces intracitoplásmicas ⁽²⁵⁾.

Nuevamente este hecho adquirió una importancia relevante, hasta ser superado por los estudios inmunohistoquímicos actuales, dada la diferencia de tratamiento y pronóstico entre ambos procesos, la necesidad de un mejor conocimiento de la epidemiología de las neoplasias mesoteliales, así como la necesidad pericial de los patólogos de decidir sobre el acceso a compensaciones económicas en el caso del mesotelioma asociado a exposición industrial de asbesto ⁽²⁶⁾. Debe señalarse que aun hoy en día la utilidad de la ultraestructura se mantiene en casos de muestras de pequeño tamaño o de hallazgos discordantes entre la histoquímica de mucosubstancias y la inmunohistoquímica.

Por último la demostración por Bensch y col ⁽²⁷⁾ de gránulos de neurosecreción en el llamado carcinoma indiferenciado de células en grano de avena o carcinoma microcítico del pulmón, permitió establecer su fenotipo neuroendocrino, lo que por otra parte ya hacía suponer su comportamiento clínico, y conformar una familia especial de tumores pulmonares neuroendocrinos, integrada por las hiperplasias neuroendocrinas idiopáticas

(24) Corrin B, Manners B, Millard M, Weaver L. Histogenesis of the so-called «intra-vascular bronchioloalveolar tumour. J. Pathol 1979 jul: 128; 163-167.

(25) Erlanson Erlandson (Diagnostic Transmission Electron Microscopy of Tumors, RA Erlanson Raven Press New York 1994) p. 536-5389.

(26) Malignant mesothelioma Gary Lee YC, de Klerk H, Henderson DW, Musk WA. P Chapter 22, 359-379 en Occupational Disorders of the Lung Recognition. Management and Prevention Ed. Hendrick DJ, Burge PS, Beckett WS, Churg A WB Saunders Edinburg 2002.

(27) Bensch KG, Corrin B, Pariente R, Spencer Oat-cell carcinoma of the lung. Its origin and relationship to bronchial carcinoid. Cancer 1968 Dec 22(6) 1163-72.

cas o asociadas a enfermedad pulmonar obstructiva crónica, «tumorlets», carcinoides típico y atípico, carcinomas neuroendocrinos de células grandes y carcinomas microcíticos. Este hallazgo se ha manifestado como de singular importancia oncológica clínica no solo a corto plazo sino muy especialmente a largo plazo al discriminar del grupo general de los carcinomas pulmonares un 20% de casos cuya biología es peculiar, y su terapéutica diferente, siendo en principio susceptibles de tratamiento quimio y radioterápico y excepcionalmente resecables quirúrgicamente, hasta el punto de que la dicotomía diagnóstica básica era, hasta muy recientemente, carcinoma microcítico vs. carcinoma no microcítico (28).

Otras aportaciones importantes que merecen citarse, sin intentar siquiera ofrecer una panorámica mínima del tema, son la identificación del sarcoma de células claras como una variante de melanoma de partes blandas al demostrarse ultraestructuralmente melanosomas (29), la mejor comprensión de las diferentes variantes de tumores fusocelulares de partes blandas (30) o la de los tumores de células redondas pequeñas (31).

No menos importante que la aportación de la ultraestructura al estudio de la patología tumoral es su repercusión en mejor conocimiento de otras enfermedades no neoplásicas. Ejemplos son el estudio de la patología glomerular al permitir visualizar las sutiles lesiones no visibles en microscopía óptica de la fusión de pedicelos en la nefrosis lipoide, la interposición mesangial, el mecanismo de «engrosamiento basal» en la glomerulonefritis membranosa y otras, las lesiones de la membrana basal, en el síndrome de Alport, el síndrome las membranas basales finas y otros síndromes hereditarios. El estudio a mayor aumento y resolución permitió visualizar los depósitos proteicos anormales en el glomérulo, y la combinación de estos hallazgos con los propios de la inmunofluorescencia que demostraban su composición, junto con la correlación clínica

(28) Edit Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC Tumors of the Lung Pleura, Thymus and Mediastinum. Pathology and Genetics WHO Organization Classification of Tumours IARC OPress Lyon, 2004.

(29) Clear cell sarcoma with melanin pigment. Bearman RM. Noe J. Kempson RL, Cancer 36977-984. 1975.

(30) Modern Soft Tissue Pathology Miettinen M Ed. Tumors and Non-Neoplastic Conditions Cambridge University Press, Cambridge 2010.

(31) Llombart-Bosch A, Peydro-Olaya A. Scanning and electron microscopy of Ewing's sarcoma of bone /typical and atypical variants) Virchows Archiv (A) 1983: 398: 329.

supusieron una transformación completa de la comprensión de este grupo de procesos ⁽³²⁾.

La aplicación del estudio electrónico al tejido miocárdico en biopsias obtenidas de pacientes tratados con antraciclinas fue la metodología que permitió monitorizar, si bien de una forma altamente invasiva, la toxicidad miocárdica de pacientes sometidos a estos tratamientos ⁽³³⁾. También a ella se debe la descripción de variaciones en la morfología ciliar en pacientes con infecciones respiratorias recurrentes asociadas o no al síndrome de Kartagener que comprometen el normal transporte ciliar ⁽³⁴⁾. En patología cutánea deben citarse la distinción que permite hacer la microscopía electrónica entre la forma genética o simple de epidermolisis bullosa y las formas distróficas y del adulto ⁽³⁵⁾. Como era de esperar el mayor aumento y resolución permitió una clara descripción de las bases morfológicas de las enfermedades «lisosómicas» en las cuales por déficit de diferentes enzimas se producen acumulaciones intracelulares de diferente localización y composición bioquímica. Ejemplos son la enfermedad de Pompe o glucogenosis tipo II con depósitos de glicógeno intralisosómicos, la gangliosidosis GM2 infantil o enfermedad de Tay Sachs, la enfermedad de Nieman Pick, la enfermedad de Gaucher, y los diferentes tipos de ceroido lipofuchinosis, mucopolisacaridosis y mucopolipidosis.

Frente a su enorme aportación aparecían como inconvenientes importantes de la microscopía electrónica, limitando su generalización, desde el punto de vista económico, el costo de los equipos y el de su mantenimiento, el consumo de tiempo necesario para realizar el estudio y como limitaciones inherentes al propio método la forzosa limitación del muestreo que en el caso de la patología neoplásica se ve además acentuada por la micro y macroheterogenidad tumoral y por la diferenciación multidireccional en tumores, y el ofrecer por lo menos, hasta el punto de

(32) Heptinstall RH. Pathology of the Kidney 1966,1974 Little, Brown and Co. Boston, Kincaid-Smith P, The Kidney A Clinicopathologic Study Blackweel Sc. Oxford 1975. Oliva H, Barat A, Hernando L, Patología del glómérulo renal, Salvat Barcelona 1975.

(33) Billingham ME, Mason JW, Bristow MR, Daniels JR. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. Cancer Treat Rep 1978; 62: 865-872.

(34) Afzelius BA «Inmotile-cilia» syndrome and ciliary abnormalities induced by infection and injury Am Rev Resp Dis 1981; 124: 107-109.

(35) Eady RAJ, Tidman MJ, Diagnosig epidermolysis bullosa Br J Dermatol 1983; 108: 621-526.

su desarrollo en que apareció la inmunohistoquímica ultraestructural, una imagen tan «estática» como la proporcionada por la microscopia óptica. La combinación de ambas técnicas como se verá a continuación permitió ampliar el campo de aplicación y las aportaciones de la ultraestructura.

LA HISTOQUÍMICA

El desiderátum de la morfología fue, desde los primeros tiempos, la posibilidad de demostrar componentes tisulares y celulares que permitieran comprender el funcionamiento de órganos y tejidos. De hecho en los antiguos libros de técnica histológica es constante la referencia a la «citoquímica». La histoquímica tal y conforme la concebimos actualmente tiene una larga historia que, remontándose al botánico francés Raspail, ha sido ejemplarmente resumida por Pearse, su principal difusor e introductor de facto en la práctica histopatológica⁽³⁶⁾. En su resumen histórico hay citadas dos frases que sintetizan de forma precisa lo anteriormente expresado. La primera de Mann (1902) en su tratado de *Physiological Histology*, en donde afirma, refiriéndose al objetivo de la tinción histológica «*The object of staining is first to determine morphological facts and second to recognize microchemically the existence and distribution of substances which we have been made aware of by macrochemical means... we must endeavour to find staining reactions which will indicate not only the presence of certain elements such as iron or phosphorus, but the presence of organic complexes such as the carbohydrate group, the nucleins, protamines and others*»⁽³⁷⁾. La segunda haciendo referencia a la definición de Gomori (1952) que define la histoquímica como «*a borderline field between histology and analytical chemistry or biochemistry*». La combinación de ambas justifica la definición dada por el propio Pearse para el cual sería definible como «*the identification, localisation and quantification, in cells and tissues and by chemicals or physical tests, of specific substances, reactive groups, and enzyme-catalysed activities*»⁽³⁸⁾.

Habiendo comenzando por tanto el desarrollo de la histoquímica en el siglo XIX, el crecimiento de su cuerpo de conocimiento fué siendo progresi-

(36) Pearse AGE, *Histochemistry Theoretical and Applied* vol 1, p. 1-14 Churchill-Livingstone, Edimburgh 1980.

(37) Mann G, «*Physiological Histology*» London 10902 cit por Pearse loc cit.

(38) Pearse lc. cit. p. 1.

vamente mayor, si bien basándose de una parte en el propio estudio químico convencional de los tejidos, con destrucción de los mismos, y por otra parte en el desarrollo, sistematización, aplicación e interpretación de los mecanismos de actuación de las técnicas histológicas de tinción convencionales y especiales, entonces conocidos de forma muy precaria. En este periodo el interés de los histólogos-histopatólogos residía más en la demostración de estructuras que en la determinación de su composición o de su interpretación funcional. Sin embargo debe señalarse que en, los tratados de técnica histológica de uso entonces cotidiano, como el clásico de Romeis se incluían ya epígrafes específicos sobre «*demostración de las grasas y sustancias semejantes a ellas - que incluyen colessterina y sus combinaciones*», «*demostración del glucógeno*», «*demostración de fermentos*», «*investigación de los pigmentos*» y «*demostración de sustancias inorgánicas que incluyen la demostración del hierro, la demostración del potasio y la demostración de calcio*»⁽³⁹⁾.

Es desde los años cincuenta a mediados setenta cuando se generalizaron los laboratorios o secciones dedicadas la histoquímica en los servicios de Anatomía Patológica, de manera que su existencia junto con la microscopía electrónica se convirtieron en los índices básicos para la evaluación de la calidad del equipamiento de los mismos. En ésta época es cuando se desarrollan las aportaciones mas trascendentes sobre el conocimiento morfológico e histoquímico previos.

Como en el caso de la microscopía electrónica deben distinguirse las innovaciones tecnológicas de las aportaciones aplicativas y de conocimiento teórico derivadas de las mismas. Dentro de las primeras hay que citar la necesidad de utilizar, para muchos estudios pero no para todos, tejido no fijado que mantuviera sus componentes inalterados y por tanto permitiera la demostración de enzimas cuya actividad se perdía por la fijación y evitar también las modificaciones inducidas por la fijación en otros componentes como las proteínas. Esto llevo a desarrollar las técnicas de congelación y a la modificación de los procedimientos de corte. El sistema elegido para la congelación de los tejidos de forma mas general fue la inmersión y conservación subsiguiente en nitrógeno líquido, previo paso o no por isopentano.

En relación con la técnica de corte, siendo los viejos microtomos de congelación demasiado imprecisos en el grosor de las secciones, y siendo

(39) Romeis B. Guía Formulario de Técnica Histológica. Editorial Labor SA. Barcelona 1928 p. 223-284.

necesario el manejo de muestras previamente congeladas a temperaturas inferiores a 20° C, se diseñaron los primeros sistemas de corte de «cuchilla fría» en los cuales la cuchilla se mantenía constantemente fría a una temperatura similar a la pieza a cortar adhiriéndose los cortes sin ningún tipo de sustancia intermedia al porta, siendo posteriormente fijados en la forma que se precisara. Esta situación mejoró por la aparición del criostato, aparato de importancia equivalente en histoquímica al microscopio electrónico en el estudio ultraestructural, instrumento consistente en una cámara a temperatura constante que incluía un microtomo rotativo conteniendo el porta muestras de forma que todo el conjunto, incluida la muestra, se mantenía a una temperatura similar y constante, pudiendo manejarse el equipo de forma externa. Se requirió también como en el caso de la microscopía electrónica la modificación de la recogida de piezas en quirófano, para su inmersión inmediata en nitrógeno líquido, y su almacenamiento permanente en tanques de nitrógeno debidamente identificadas. Este hecho abrió el paso al mantenimiento de bancos de tejidos integrados por material no fijado sino congelado.

Las aportaciones de la histoquímica, obtenidas mediante el estudio de material fresco congelado o fijado en condiciones especiales, en su desarrollo inmediato fueron rápidas y relevantes. Veamos como en el caso de la microscopia electrónica algunos ejemplos que forman parte de la actividad diagnóstica rutinaria.

La preservación de la actividad enzimática en el tejido congelado permitió el estudio de la patología muscular esquelética mediante el estudio de enzimas oxidativas como la demostración de la actividad de la DPNH diaforasa, la succinato deshidrogenasa y el estudio de la ATP-asa miofibrilar. El estudio de la tipificación fibrilar de las fibras de tipo I y II ha permitido mejorar el conocimiento y el diagnóstico tanto de las enfermedades por denervación como la esclerosis lateral amiotrófica, la atrofia espinal o la neuropatía periférica, como de las distrofias musculares tipo Duchenne, o Becker y otras. Esta patología, que recibió también la aportación de la microscopia electrónica, recibió posteriormente un nuevo impulso por la introducción de la inmunohistoquímica.

La aplicación de la histoquímica enzimática se hizo extensiva también a la demostración macroscópica de determinadas patologías como la del infarto de miocardio mediante la técnica de Nacklas y Schintzka que pone de manifiesto las zonas de corazón necrótico no reactivas en contras-

te con las muertas que por la inactivación enzimática no provocan la precipitación de formazán azul ⁽⁴⁰⁾.

El caso de la enfermedad de Hirschprung es otra de las aplicaciones precisas de la histoquímica utilizando material congelado en combinación con secciones convencionales. La demostración de fibras nerviosas gruesas y de estructura irregular en la muscularis mucosae y en la lámina propia, demostrables mediante la tinción para acetil colinesterasa y la ausencia de células ganglionares, permite en una biopsia endoscópica por succión el diagnóstico de la enfermedad ⁽⁴¹⁾.

Por otra parte el estudio histoquímico reglado de tejido fijado rutinariamente aportó ya datos importantes y fiables para el diagnóstico, acerca de la composición de componentes tisulares, como el cobre mediante el método del ácido rubeánico o la desoxirribosa mediante el método de Feulgen, utilizando también en algunos casos la digestión enzimática como verificación. Así ocurrió con la demostración del glucógeno, teñido por el PAS o el Carmín de Best y digerido después con amilasa salivar, la demostración del ácido hialurónico mediante la tinción con Alcian Blue a pH 2.5 y su verificación tras digestión por hialuronidasa, la demostración del ácido siálico y su verificación por la digestión con sialidasa. Este estudio ha proporcionado datos importantes sobre la presencia y la composición de mucosubstancias en el moco tisular y en la sustancia fundamental, que ayudaron a comprender mejor en el tubo digestivo, el mecanismo, la morfología y la significación precarcinogénica de los fenómenos metaplásicos ⁽⁴²⁾.

De la hibridación de ambas innovaciones metodológicas, la microscopía electrónica y la histoquímica nacieron nuevos campos de ampliación del estudio celular y tisular como la histoquímica ultraestructural que comentaremos más adelante. Asimismo la histoquímica permitió la aplicación de métodos de estudio cuantitativos en parte introducidos en el estu-

(40) Nachlas, M. M., and Schnitka, T. K. (1963). Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. *American Journal of Pathology*, 42, 379-405.

(41) Biopsy interpretation of the Gastrointestinal Tract Mucosa. Elisabeth A. Montgomery. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia 2006. pp. 256-258.

(42) Jass J, Filipe MI 1981, The mucin profiles of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia and its variants and gastric carcinoma *Histochem J* 13: 931-939, Filipe MI, Branfoot AC Mucin histochemistry of the colon 1976, *Curr Top Pathol.* 63: 143-178.

dio orgánico por Weibel⁽⁴³⁾ y mediante la aplicación de la informática permitió iniciar los estudios de citometría estática para la cuantificación de ADN en diferentes patologías muy singularmente la tumoral. Otra derivación de la histoquímica con aún mayor componente funcional fue la autorradiografía tanto la utilizada en microscopía óptica como la ultraestructural en la que bien componentes radioactivos exógenos de los tejidos, por ejemplo torio utilizado con fiebres diagnósticos, como estructuras funcionantes del propio tejido o célula son demostrados al evidenciar la incorporación metasótica de componentes radioactivos suministrados con fines experimentales.

Se demuestra así el glucógeno y su ausencia o exceso (glucogenosis), se analizan mediante técnicas muy sofisticadas mucosubstancias determinando sus componentes y el predominio de cada uno de ellos⁽⁴⁴⁾, los ácidos nucleicos mediante las técnicas de naranja de acridina y Feulgen Schiff, determinadas proteínas como las del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B mediante la técnica de la orceína de Shitaka, completando las técnicas clásicas para la demostración de compuestos de hierro (método de Perls) y de depósitos de cobre (ácido rubeánico), ya utilizadas en la tecnología antigua. Todos estos datos van a dar fruto en su aplicación al diagnóstico de procesos como la enfermedad de Wilson o la hemocromatosis.

Podemos sintetizar por tanto el período comprendido entre los primeros años cuarenta y los finales ochenta como un periodo en el cual se hace mucho más común y masiva la conservación de tejido, especialmente en nuestro medio por el desarrollo de la red hospitalaria en los años sesenta y setenta. Estos tejidos son conservados en una porción muy pequeña en soluciones líquidas conservantes, sobre todo en los escasos museos anatómicos existentes, y en su mayor parte, parafinados en los archivos de los Servicios de Anatomía Patológica, junto con bloques incluidos en resinas destinados a estudio ultraestructural. La conservación es buscada e intencionada como un objetivo importante de la actividad médica. La preservación es en su mayor parte muy buena, y excelente desde el punto puramente estructural en los bloques de microscopía electrónica. La recuperación se hace fácil al disponerse de archivos organiza-

(43) Weibel E R (1963) *Morphometry of the Human Lung*. Springer Verlag and Academic Press, Berlin, New York.

(44) Álvarez-Fernández E. *Histochemical classification of pulmonary adnocaarcinoa*. *Histochemuistru* 1992.

dos. La recuperación se realiza fundamentalmente con fines diagnósticos o de estudio de series retrospectivas de determinadas patologías.

En esta época se comienza ya en nuestro medio la instauración de Registros como el Registro de Tumores Cerebrales promovido por la Asociación Española contra el Cáncer y dirigido por el Dr. D. Sixto Obrador Alcalde y el Prof. D. Julio Escalona Zapata.

LA INMUNOHISTOQUÍMICA

La demostración de componentes tisulares mediante técnicas inmunológicas, iniciada en los años 40 por Conn comenzó por la aplicación de anticuerpos marcados con fluoresceína sobre material congelado, bien mediante la técnica directa, en la cual el anticuerpo marcado con fluoresceína se fija al antígeno, bien mediante la técnica indirecta en la que el anticuerpo se fija al antígeno tisular y por otra parte un segundo anticuerpo anti el primero, marcado con fluoresceína hace visible la reacción, pudiendo intensificarse la señal en un segundo paso. Esto permitió la mejora del conocimiento de la patología renal y de la patología cutánea, pudiéndose establecer como ya se indicó antes una correlación con los hallazgos ópticos y ultraestructurales y sobre todo con la clínica.

El mayor avance ha venido sin duda de la utilización de anticuerpos mono y policlonales al estudio tisular. Mediante ella se pueden visualizar componentes celulares con una gran especificidad y en cantidades mínimas. El fundamento de la técnica es la unión de un anticuerpo a un antígeno determinado y posteriormente mediante las técnicas de peroxidada antiperoxidasa o de avidina biotina la demostración cromogénica amplificada de la reactividad tisular. Estas técnicas han permitido profundizar en el conocimiento de múltiples estructuras normales y neoplásicas. El ejemplo quizá más elocuente es la profunda modificación del conocimiento y taxonomía de los linfomas y leucemias que, de ser clasificados por métodos puramente morfológicos cito-histológicos ^(45,46), pasaron a

(45) Rappaport H Tumors of the Hematopoietic System Armed Forces Institute of Pathology Washington DC 1966.

(46) Lennert K, Malignant Lymphomas other than Hodgkin Disease Springer Verlag Berlin 1978.

serlo tomando como base no solamente estos datos sino también los inmuno histoquímicas ⁽⁴⁷⁾.

La inmuno histoquímica se ha convertido en un instrumento indispensable en el diagnóstico de los tumores malignos metastásicos procedentes de primarios desconocidos, de los tumores de partes blandas y óseas, de los tumores melanocíticos y las neoplasias que los simulan etc. Es imposible hacer siquiera un sumario de los campos de la patología en los que resulta en estos momentos indispensable, habiendo contribuido a su generalización las técnicas de automatización del proceso.

Estas técnicas son aplicables tanto a material fresco congelado como a material parafinado y permiten ya el estudio de material recuperado de archivos históricos o de tejidos recuperados no fijados.

La inmunohistoquímica ha transformado el diagnóstico «*de algo parecido a un arte a algo mas parecido a una ciencia*» ⁽⁴⁸⁾. Parecería por tanto que se habría llegado al punto final de lo que la morfología óptica combinada con técnicas especiales podría ofrecer al diagnóstico clínico ⁽⁴⁹⁾.

Sin embargo, a pesar de reconocer el avance gigantesco que ha supuesto su introducción en la práctica clínica anatomopatológica, deben señalarse una serie de puntos a tomar en consideración con el fin de asignarle un papel justo y adecuado en la misma. Las técnicas inmunohistoquímicas son procesos complejos que incluyen múltiples pasos en cualquiera de los cuales se pueden introducir variables que afectan al resultado final, lo que alcanza una importancia máxima cuando se aplican a material humano y por tanto pueden variar de manera sustancial el diagnóstico y sus consecuencias para el paciente. La fijación adecuada y uniforme de los tejidos, las condiciones del procesamiento automático o manual, la inclusión en parafina, el corte y la preservación de la reactividad tras la sección son factores que deben de ser sopesados en cada caso individual, siendo del mismo rango de importancia que los derivados del tipo de anticuerpo

(47) WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues Edit. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman International Agency for Research on Cancer WHO Press, Lyon, 2008.

(48) Taylor CR «A exaltation of experts: Concerted efforts in the standardization of immunohistochemistry». Hum Pathol 1994 25.

(49) Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry Churchill Livingstone New York 2002.

utilizado o del sistema de detección, la técnica de recuperación antigénica, el tipo de adhesivo utilizado en los portaobjetos, el conocimiento de reactividades cruzadas y de diferentes tipos de artefacto o el entrenamiento del personal técnico ⁽⁵⁰⁾.

Por tanto desde el punto de vista aplicativo la técnica debe de ser interpretada con un amplio conocimiento de los factores modificativos del resultado final que se han apuntado y sobre todo sobre la base de un conocimiento profundo y de una interpretación adecuada de la histopatología convencional. Se podría parafrasear nuevamente a Taylor aseverando que *«la inmunohistoquímica tras de su desarrollo y aplicación, habiendo sugerido que el diagnóstico se convertía mas en una ciencia que en un arte, ha vuelto a demostrar que se trata de un arte que, si bien utiliza herramientas más sofisticadas, sigue dependiendo de la experiencia y capacidad de análisis individuales en un escenario mas complejo que el previo»*.

Esta escenario se ha visto complicado por la posibilidad de que el estudio inmunohistoquímico permita modificar la terapéutica de un paciente concreto o excluya determinados tratamientos al mismo tiempo que permite evaluar factores de tipo pronóstico.

EL ESTUDIO TISULAR PARA LA DETERMINACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS. SU IMPORTANCIA EN LA ELECCIÓN DE DIANAS TERAPÉUTICAS Y TERAPIAS PERSONALIZADAS

En el momento actual un problema ético, económico y asistencial de enorme entidad en la práctica médica es tratar a cada paciente con aquellos fármacos quimioterápicos o no, que vayan a tener un probable efecto beneficioso en su proceso. Esto quiere decir que no se deberían utilizar drogas cuya toxicidad y/o falta de eficacia no tengan un beneficio demostrable para el paciente, evitando así parte del sufrimiento derivado de la terapia a la persona enferma y los costos, generalmente muy elevados, al sistema sanitario. Es claro además que en estas circunstancias el paciente debe de participar en la toma de la decisión terapéutica al trasmitirle los datos de evidencia científica pertinentes.

(50) Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry Churchill Livingstone New York 2002.

Y es precisamente en este campo de tan enorme relevancia donde el manejo de los tejidos humanos se ha convertido en un factor clave. La realización de determinados ensayos inmunohistoquímicos o moleculares permite utilizar sus resultados como demostradores de factores pronósticos, es decir que predicen la posible supervivencia al tumor, y de factores predictivos, es decir que permiten conocer la posible respuesta a un tratamiento concreto. Esta situación es la que ha dado lugar a propuestas de almacenamiento de la mayor cantidad de tejido posible para su utilización futura («utilización estratégica del tejido»).

Veamos tres ejemplos en los que los hallazgos demostrables en el tejido tienen una significación predictiva, lo que se ha dado en llamar farmacodiagnóstico, en cuanto a la respuesta a tratamientos concretos en tumores malignos: el cáncer de mama, el cáncer de colon y el cáncer de pulmón.

El caso mas conocido es la demostración por inmunohistoquímica de la sobreexpresión de proteína oncogénica del *cerbB2* o la demostración de amplificación del gen correspondiente mediante técnicas de hibridación fluorescente o cromogénica in situ (FISH y CISH), para justificar el empleo terapéutico del antígeno humanizado Transtuzumab en el tratamiento del cáncer de mama. La consecuencia ha sido que en unos pocos años el manejo anatomopatológico del carcinoma mamario ha pasado de limitarse a identificar la presencia del tumor, determinar su subtipo histológico, el grado y la estadificación, a ser obligado el añadir rutinariamente a estos parámetros un perfil inmunohistoquímico que incluye la expresión de receptor de estrógenos, receptor de progesterona y expresión de la proteína del *cerbB2* ya mencionada, lo que permite un tratamiento más específico de la paciente al oncólogo. La correlación anatomoclínica entre los hallazgos inmunohistoquímicos y la evolución y respuesta al tratamiento, ha dado resultados adicionales útiles en clínica al permitir una nueva clasificación del carcinoma mamario en cinco tipos tipo basal, tipo luminal A, luminal B, sobreexpresador de receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) y triple negativo⁽⁵¹⁾. Esta nueva clasificación se ha visto confirmada por las nuevas técnicas de estudio molecular y permitirá nuevos estudios de correlación futuros.

(51) Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications Proc Natl Acad Sci USA, 2001; 98 (19: 10869-10874).

El segundo ejemplo de aplicación rutinaria del estudio histoquímico del tejido es el caso del carcinoma colorectal. En él deben señalarse dos tipos de estudios que requieren tejido para su realización. La determinación de la inestabilidad de microsátélites y la demostración de mutaciones del gen K-RAS. En el primer caso la demostración de proteínas de los genes reparadores de DNA (MMR mismatch repair genes DNA) (MLH1, MSH2, MSH6, PMS) constituye ya un método rutinario para la detección por inmunohistoquímica de los pacientes con alta inestabilidad de microsátélites. Resumiendo al extremo la interpretación de los resultados, se puede decir que su falta de expresión es indicativa, con una alta probabilidad, de que dichos pacientes no padezcan cáncer de colon no polipoide hereditario. La falta de expresión de MSH2 es casi patognomónica de síndrome de Lynch.

En el mismo caso del carcinoma colorectal está admitido actualmente que la determinación de la presencia de mutación del gen K-RAS en los codones 12 ó 13, pone de manifiesto tumores no susceptibles de respuesta a las terapias dirigidas contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (cetuximab, panituximab) ^(52,53). Esta determinación debe de ser realizada, en estos momentos, en todos aquellos pacientes con neoplasias en estadio IV, siendo por tanto comprensible la importancia del archivo del material que debe de ser sujeto de una evaluación previa por el patólogo para seleccionar para estudio aquellas zonas que contengan más un 40% de células neoplásicas.

El tercer ejemplo que merece un comentario especial es el del carcinoma pulmonar, tumor de elevada prevalencia, en crecimiento constante y en el que únicamente los progresos en la cirugía y posteriormente en el tratamiento quimioterápico del carcinoma anaplásico de células pequeñas permitieron, en décadas anteriores, prolongar la vida en un porcentaje de pacientes. Desde entonces a pesar de la mejora que se ha producido en los tratamientos quimioterápicos para el carcinoma no microcítico, la prolongación de la supervivencia ha sido muy escasa, de forma que siguen siendo solamente susceptibles de tratamiento curativo los pacientes cuyos tumores, en el momento del diagnóstico, están en estadios iniciales (I y II y ocasionalmente IIIa), constatándose modestas prolongacio-

(52) Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, et al KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer *Cancer Res.* 2006; 66(8): 3992-3995.

(53) Amado RG, Wolf M, Peres M et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer *J Clin Oncol* 2008; 26(10): 1626-1634.

nes de la vida en pacientes con tumores más avanzados, debido fundamentalmente a la mejoría en los protocolos de quimioterapia. En cualquier caso la supervivencia global a 5 años se mantiene en un 15% y no ha variado sustancialmente en los últimos treinta años. Hasta hace pocos años esta historia natural tan precisa desde el punto de vista terapéutico y pronóstico, hacía que, a pesar de los progresos en la clasificación puramente histológica del carcinoma, las necesidades diagnósticas para el manejo clínico oncológico se redujeran a afirmar la presencia de carcinoma y a determinar, con técnicas de rutina o sencillas técnicas especiales, como las tinciones para moco, si la neoplasia era un carcinoma microcítico o no microcítico.

La situación ha cambiado de forma sustancial en los últimos años. Se han descrito mutaciones activadoras en el dominio kinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico, EGFR. Estas mutaciones se asocian a una sensibilidad incrementada a los tratamientos con inhibidores de la tirosina kinasa con los que se pueden obtener regresiones importantes, que, aunque son seguidas de progresión neoplásica en un periodo de tiempo entre 6 a 12 meses, en algunos pacientes se acompañan de respuestas más prolongadas, incluso superiores a los tres años.

La correlación entre el tipo histológico y la respuesta ha permitido conocer que los pacientes que probablemente responden a la terapia son los portadores de adenocarcinomas periféricos bien o moderadamente diferenciados de morfología bronquioloalveolar no mucosecretora, o, en menor proporción, carcinomas adenoescamosos o formas combinadas adenocarcinoma-microcítico, en tanto que el perfil de los no respondedores corresponde a adenocarcinomas pobremente diferenciados, carcinomas escamosos, y adenocarcinomas de morfología bronquioloalveolar mucosecretores. A pesar de que esta correlación se cumple en líneas generales, la histología convencional no permite predecir de forma segura la situación molecular, y por tanto la posibilidad de respuesta, por lo que en el grupo de carcinomas no microcíticos, muy especialmente cuando el material biopsico es escaso, el test molecular es imprescindible.

Estas circunstancias, además de la evidencia de que los carcinoma escamosos parecen mostrar una respuesta superior y menos toxicidad al tratamiento con cisplatino, han hecho que el esquema técnico rutinario de diagnóstico se modifique de manera que ante tumores que no muestran en el material biopsico maduración escamosa o glandular clara, es imprescin-

dible el estudio inmunohistoquímico para la demostración de marcadores de diferenciación escamosa, como la proteína p63, y de maduración glandular como la expresión de TTF-1.

¿Cual es pues el algoritmo aplicable en estos momentos? Se podría resumir de la forma siguiente. Lo primero la obtención de un diagnóstico histológico lo más preciso posible, en el que se determine si el tumor es un carcinoma microcítico o no microcítico. En este último caso si es un adenocarcinoma, un carcinoma escamoso o alguna de las variantes de ambos. Si el tumor corresponde a alguna de las variantes que se sabe no son respondedoras a la terapia podría no realizarse ningún estudio adicional. Si el tumor corresponde a algunas de las variantes que se conoce pueden tener respuesta al tratamiento o no presenta por inmunohistoquímica una subclasificación precisa se realiza estudio mutacional para el gen K-RAS cuyas mutaciones están presentes en un 20-30% de casos, y son el mejor predictor de resistencia a la terapia con inhibidores de la tirosina kinasa. A él se puede asociar el estudio de BRAF, que muestra mutaciones mutuamente excluyentes de las del KRAS, presentes en un 2-3% de casos. Si es negativo se realiza estudio por FISH o inmunohistoquímica para EML4-ALK. Los genes oncogénicos de fusión EML4-ALK (echinoderm microtubule-associated protein-like 4 y anaplastic lymphoma kinase) se hallan presentes en un 2-7% de carcinomas pulmonares no microcíticos. En ellos se ha demostrado que la inhibición de ALK se traduce en una reducción del volumen tumoral o en enfermedad estable en la mayor parte de los pacientes⁽⁵⁴⁾, habiéndose identificado dos subpoblaciones portadoras de mutaciones secundarias que confieren una acusada resistencia al tratamiento con inhibidores del ALK⁽⁵⁵⁾. Por último la determinación de mutaciones del gen EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) presentes en un 10-15% de casos permite predecir la sensibilidad a la terapéutica con inhibidores de la tirosina kinasa y una mayor supervivencia tras del tratamiento.

Quizá en pocos ejemplos como en el del cáncer de pulmón se pueda evidenciar el rapidísimo cambio en la subdivisión molecular del perfil genético del tejido tumoral y su repercusión en el tratamiento y verificar la trascendencia de los datos que se pueden obtener en pacientes oncológicos.

(54) Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR et al, N Engl J Med 2010; 363: 1693-1703.

(55) Choi YL, Soda M, Yamashita Y, et al. AML4-ALIK Mutations in Lung Cancer That CONFER Resistente to ALK Inhibitors N Engl J Med 2010; 363: 1734-1739.

TISSUE ARRAYS

El problema del elevado costo de la evaluación de anticuerpos en múltiples tejidos así como la necesidad de uniformar el artefacto introducido por la técnica llevo a Héctor Battifora en 1986 al diseño de la llamada «salchicha tisular»⁽⁵⁶⁾ consistente en un cilindro compuesto por muestras en forma de cinta o bastón de 1mm de diámetro de tejidos de diferentes tipos que, agrupadas longitudinalmente, se envolvían en una banda de intestino. Esto permitía que en un único bloque de parafina se pudieran realizar ensayos de tinción inmunohistoquímica con diferentes anticuerpos a un costo bajo (una sección frente a cien). La idea, que la evolución posterior demostró brillante, mostró como limitación principal la de no poder identificar con absoluta seguridad algunas muestras dada la variación en su posición que podía resultar durante el procesamiento de las mismas. La aplicación del mismo principio a la confección manual de la matrices portadoras de muestras múltiples elaboradas manualmente ha mostrado ser igual de útil pero sumamente mas trabajosa⁽⁵⁷⁾.

La modificación básica de la técnica de Battifora vino de la mano de Kononen et al en 1998⁽⁵⁸⁾. La sofisticación del desarrollo de este proceso llevó al diseño de los «tissue arrays» o «matrices tisulares» que por una parte mejoraron la calidad de las muestras finales y por otra parte incrementaron el número de muestras a estudiar. Mediante este método se obtienen cilindros de entre 0,6 y 2 mms de diámetro, de los bloques de parafina del donante, que son incluidos secundariamente en un nuevo boque de parafina formando una matriz de cilindros de entre 3 y 5 mms de altura, alineados perpendicularmente a la superficie del bloque, lo que en la sección se transforma en una matriz de cortes circulares alineados, del diámetro elegido. Cada caso se puede localizar por sus coordenadas en la matriz y la obtención de cortes seriados puede permitir la compara-

(56) Battifora H. The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Lab Invest* 1986; 55: 244-248 Battifora H. Mehta P The checkerboard tissue block. An improved multitissue control block *Lab Invest* 1990; 63: 722-724.

(57) Sanchez-Mora N, Cebollero-Presmanes M, Monroy V, Herranz-Aladro ML, Alvarez-Fernandez E. Expresión of histoblood antigens in bronchial squamous metaplasia *Eur Respir J*. 2007 Feb; 29 (2): 268-272.

(58) Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund, M Schrami P, Leighton S et al Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens *Nat. Med* 1998; 4: 844-847.

ción en reactividad del mismo campo histológico. El procesamiento simultáneo de las muestras permite obviar los errores debidos a variaciones técnicas en la técnica inmunohistoquímica. Debe señalarse como potencial limitación la micro y macro heterogeneidad existente en neoplasias, muy singularmente en la epiteliales malignas, en las que en un único campo microscópico pueden existir todas las variaciones posibles de reactividad frente a un mismo anticuerpo^(59,60). Aunque la evidencia estadística soporta la validez de los hallazgos, obtenidos mediante el análisis de matrices es probable sin embargo que esta alcance su validez absoluta en tejidos o neoplasias de población muy homogénea, por ejemplo linfomas y leucemias, viéndose limitada a la evidencia derivada de números muy grandes de muestras en matrices de tejidos más heterogéneos.

Un nuevo avance técnico ha venido derivado de la confección de matrices tisulares de material congelado. El formaldehído, fijador utilizado de forma casi universal, actúa provocando uniones cruzadas entre las proteínas y los ácidos nucleicos, añadiendo grupos monometílicos a las bases de RNA y bloqueando o dañando los puntos de ligadura de anticuerpos, lo que puede hacer que el estudio *in situ* de ARN, ADN y proteínas se vea dificultado o sea imposible⁽⁶¹⁾. Mediante esta técnica los cilindros de 3 mms de altura por 0.6 de base se obtienen de material tisular encastrado en OCT⁽⁶²⁾ confeccionándose un bloque similar a los realizados a partir de material parafinado pero encastrado en OCT. El resultado final es una matriz útil para la realización de técnicas de FISH, hibridación no radioactiva de RNA *in situ* e inmunohistoquímica.

MICROARRAYS

El último cambio en el manejo tisular consiste en la introducción de microarrays para estudio de su contenido en ácidos nucleicos. Cada una de las muestras es digerida y sometida a la acción de secuencias de bases com-

(59) Lectin histochemistry of normal bronchopulmonary tissues and common forms of bronchogenic carcinoma Alvarez-Fernandez E, Carretero Albiñana L Arch Pathol Lab Med 1990 May; 114(5): 475-481.

(60) Expresión of blood group antigens by normal bronchopulmonary tissues and common forms of pulmonary carcinomas Arch Pathol Lab Med 1991 Jan; 115(1): 42-49.

(61) Fejzo MS, Slamon DJ Frozen Tumor Tissue Microarray Technology for análisis of Tumor RNA, DNA and Protein Am J Pathol 2001; 169; 5:1645-1650.

(62) Miles Inc, Diagnostics Division Elkhardt IN.

plementarias que permiten mediante su detección, demostrar los genes sobre-expresados que aparecen en rojo y los infraexpresados en verde. El agrupamiento jerárquico mediante técnicas bioinformáticas permite la determinación de grupos de neoplasias identificables mediante su perfil genético.

Las aplicaciones actuales del empleo de microarrays en clínica son ya evidentes. Microarrays comerciales se pueden utilizar en la determinación del punto de origen de neoplasias malignas que debutan como tumores diseminados con primario desconocido⁽⁶³⁾ para el diagnóstico diferencial de tumores de morfología óptica parecida como los llamados tumores de células redondas pequeñas⁽⁶⁴⁾ o para la subclasificación de tumores de la misma morfología como el linfoma B de células grandes⁽⁶⁵⁾ y han dado resultados útiles para determinar la respuesta a la terapia⁽⁶⁶⁾. En estos momentos se han desarrollado también aplicaciones comerciales de este tipo de pruebas como las diseñadas en carcinoma mamario para establecer el riesgo de recurrencia o la indicación de quimioterapia en pacientes con ganglios axilares negativos.

Comienza por tanto una nueva etapa en la cadena que comenzó en los primeros años el siglo XIX en los cuales la morfología microscópica permitió subclasificar enfermedades. Ahora el perfil molecular permite la agrupación según perfiles genómicos perfilándose «clasificaciones moleculares» que en unos casos han confirmado y enriquecido las clasificaciones ópticas e inmunohistoquímicas como en el caso de los carcinomas mamarios o renales, en otros han permitido establecer clasificaciones autónomas.

LOS BIOBANCOS

Los hechos señalados en párrafos anteriores permiten comprender la aparición de una nueva estructura organizativa: el biobanco, cuyo pre-

(63) Tothill RW, Kowalczyk A, Rischin D, et al An expresión-based site of origin diagnostic method designed for clinical application to cancer of unknown origin *Cancer Res* 2005; 65: 4031-4040.

(64) Khan J, Wei JS, Ringnér M, et al Classification and diagnostic prediction of cancers using gene expression profiling and artificial neural networks, *Nat Med* 2001; 7: 673-679.

(65) Davis, RE. Staudt LM. Molecular Diagnosis of lymphoid malignancies by gene expresión profiling *Curr Opin Hematol* 2002; 9: 333-338.

(66) Potti A, Dressman HK, Bild A, et al. Genomic signatures to guide the use of chemotherapeutics *Nat Med*; 2006; 12: 1294-1300.

cedente habría que buscar en los Registros Tisulares y de Tumores previos. El biobanco pretende la conservación de muestras tisulares, preferentemente congeladas pero también parafinadas, de material oncológico y no oncológico, óptimamente con datos clínicos asociados acerca del tratamiento seguido por el paciente donante y sobre su evolución y respuesta al tratamiento si lo hubiere.

El biobanco ha pasado de ser una estructura desarrollada por la iniciativa privada de algunos servicios hospitalarios sobre todo del de Anatomía Patológica o de grupos de especialistas interesados en algún tipo de patología sistémica, como la neuropatología, a ser un componente organizativo que trasciende el ámbito de hospitales y Universidades para invadir campos de la actividad industrial privada y ser considerado en las decisiones políticas de las autoridades gubernativas. Los rasgos genéricos del biobanco han sido claramente sintetizados por Watson⁽⁶⁷⁾. El biobanco debe de incorporar cohortes de pacientes lo más grandes posibles, cuyos tejidos estén bien preservados para estudio y correctamente diagnosticados. La identificación y custodia de las muestras debe ser absolutamente precisa debiendo enfatizarse el valor de las mismas cuando se asocian a su correspondiente follow up clínico así como el control de calidad de los tejidos en el momento de su archivo y en periodos posteriores. De todas las muestras debe de haber un consentimiento informado de acuerdo con la legislación. El repositorio debe cumplir requisitos muy estrictos para su aprobación y funcionamiento⁽⁶⁸⁾.

La necesidad o conveniencia de tejido congelado para los estudios de ADN y ARN así como proteómicos han llevado a variar nuevamente las técnicas de preservación de los tejido congelados, Esta puede hacerse para tejidos no fijados, como ya se ha indicado, en congeladores de baja temperatura (-80°C) . o en nitrógeno líquido, con el debido control de incidencias en la temperatura y evitando la inclusion en OCT («Optimal cutting Temperature Compound») si se pretende hacer estudios de proteómica. Los tejidos fijados deben de conservarse preferentemente en «molecularly friendly fixatives» como se ha indicado anteriormente en los que una

(67) Biospecimen banking 738-748 en «The Washington Manual of Surgical Pathology» Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia 2008 Humphrey PA, Dehner LP, Pfeifer JD.

(68) 2008 Best Practices for Repositories. Collection, Storage, Retrieval and Distribution of Biological Materials for Research, Cell Preservation Technology, vol 6, number 1, 2008 5-58. ISBER International Society for Biological and Environmental Repositories.

buena preservación de la morfología es compatible con la posibilidad de realizar los estudios citados. Una nueva modificación, todavía de uso no generalizado, es la recomendación de guardar los bloques de parafina y los cortes no teñidos sellados al vacío a temperatura de 4° C ⁽⁶⁹⁾.

LA CONSERVACIÓN DE LA IMAGEN Y LA TELEPATOLOGÍA

La conservación de la imagen tisular por métodos distintos al dibujo o al grabado, fué el objeto de algunos de los Museos Anatómicos basados en reproducciones macroscópicas de lesiones y no en la propia conservación del tejido en soluciones fijadoras. Dicha preservación de una parte «virtual» del tejido como es su aspecto visual, ha pasado por etapas diferentes íntimamente vinculadas con la enseñanza de la Medicina. Los primeros Museos Anatómicos, basados en reproducciones que permitían a los estudiantes una observación mas prolongada que las disecciones anatómicas, estaban fundamentados en la reproducción en cera u otros materiales perecederos de piezas de disección y de lesiones externas ⁽⁷⁰⁾. Estas colecciones sufrieron diferentes vicisitudes como la destrucción del museo del Dr. Kahn en Londres por orden judicial bajo la sentencia derivada de la aplicación de la Obscene Publications Act, en 1857 ⁽⁷¹⁾. Entre los Museos vinculados a Escuelas de Medicina deben citarse los del Guy's Hospital en Londres, el Museo Anatómico de Bolonia, y en nuestro medio los Museos de Barcelona y sobre todo el Museo Olavide fundado por el dermatólogo D. José Eugenio de Olavide e inaugurado el año 1882, situado originariamente en el Hospital de San Juan de Dios de Madrid actualmente Hospital General Universitario Gregorio Marañón ⁽⁷²⁾.

(69) Arch Pathol Lab Med 1994 118 298 Florell SR, Coffin CM, Holden JA, Zimmermann JW, Gerwels JW, Bradley KS, Jonez DA, Leachman SA. Preservation of RNA for Functional Genomic Studies: A Multidisciplinary Tumor Bank Protocol Mod Pathol 2001; 14(2): 116-128.

(70) Anatomical Waxwork Modeling: The History of the Bologna Anatomical Museum». Maraldi NM, Mazzotti G, Cocco L, Manzoli F. The Anatomical Record (New Anat) 261- 5-10, 2000.

(71) «Indecent and Demoralising Representation»: Public Anatomy Museums in mid-Victorian England Bates AW Med Hist 2008, january 1 52(1): 1-22.

(72) Museo Olavide. Historia, recuperación, escultores y estado actual Luis Conde-Salazar Gómez, Felipe Heras Mendoza Revista Científica Sociedad Ecuatoriana de Dermatología vol. 4 n.º 2, dc 2007, 1-8.

Posteriormente la aplicación de las técnicas de fotografía química convencionales, especialmente la macro y microfotografía en color supusieron la generalización del mantenimiento y uso de la imagen tisular para investigación y docencia, habiéndose conservado su utilidad durante todo el siglo pasado.

En estos momentos la introducción de la fotografía digital en la microscopía ha variado sustancialmente la posibilidad de conservar imágenes macro y microscópicas al desaparecer las limitaciones económicas y de otro tipo de la fotografía química y poder incrementarse con un costo mínimo el número de imágenes a almacenar. Además la observación microscópica directa de las imágenes al realizarse cada vez más frecuentemente de forma simultánea en el microscopio óptico y en monitores digitales conectados al mismo, aporta como ventaja adicional el permitir apreciar, mediante la manipulación de la imagen, detalles que de otra manera se pueden apreciar con dificultad o no se ven en la observación convencional.

La conservación de la imagen anatómica normal ha llega a su culminación con el proyecto Visible Human Project del National Institute of Health de los Estados Unidos en el que un cadáver completo de mujer y otro de hombre han sido seccionados en secciones de 4 mms ofreciéndose imágenes anatómicas de tomografía axial computerizada y de resonancia magnética con fines de docencia ⁽⁷³⁾.

La telepatología que comenzó mediante el diseño de sistemas dinámicos necesarios en situaciones de aislamiento geográfico en los cuales un operador manejaba a distancia un microscopio robotizado obteniendo una imagen en tiempo real, útil para diagnóstico y que permitía tomar decisiones, fue sucedida por el empleo de sistemas estáticos en los cuales lo que se transmitía era una serie de imágenes fotográficas digitales para evaluación de un segundo observador. En los últimos años se ha perfeccionado de manera sustancial al diseñarse sistemas de barrido microscópico que permiten la obtención de «preparaciones histológicas virtuales» en las cuales la totalidad de la sección es digitalizada y una vez transmitida a distancia o consultada en el servidor de origen puede ser manejada exactamente igual a una preparación convencional ⁽⁷⁴⁾ en tiempo real y de forma fiable permitiendo la discusión de casos

(73) www.nlm.nih.gov/research/visible/getting_data.html.

(74) Virtual Slide Box. www.uscap.org.

concretos y evitando los riesgos de pérdida y las complicaciones derivadas de la normativa legal vigente para la circulación de muestras tisulares. En estos momentos se dispone ya no sólo de colecciones de casos para docencia como la ya citada de la División Canadiense y Norteamericana de la International Academy of Pathology sino de páginas web de referencia de carácter docente, a las cuales recurrir para homogeneizar los diagnósticos, por ejemplo del carcinoma prostático según el sistema de Gleason⁽⁷⁵⁾ o para la preparación de exámenes como los del American Board of Pathology⁽⁷⁶⁾.

Un potencial desarrollo adicional será combinar la digitalización completa de secciones histológicas con la conservación de tejido en forma de matrices tisulares, lo que permitiría una miniaturización de los archivos hospitalarios de Anatomía Patológica.

LA APARICIÓN DE LA REGULACIÓN

La legislación concerniente a los tejidos humanos se limitó durante tiempo a la regulación de la autorización de necropsias, traslados de cadáveres y normativas referentes al manejo forense de cadáveres y tejidos que pudieran constituir evidencias judiciales, así como a la obtención de piezas anatómicas para trasplantes procedentes de cadáveres (Ley de 18 de diciembre de 1950). La aparición como recurso terapéutico de los trasplantes orgánicos y su generalización llevó a partir de los años setenta al desarrollo de una regulación específica sobre la donación, extracción y manejo de órganos que se vio reflejada en la Ley 30/1979 de 27 de octubre sobre Extracción y Transplante de órganos, (Boletín Oficial del Estado 266 6 de noviembre de 1979 26445 pp 25742-25743), complementada por la Ley General de Sanidad 14/1986 de 25 de abril, en la que se encomienda el Estado, sin menoscabo de las competencias de las Comunidades Autónomas, la reglamentación sobre acreditación, homologación autorización y registro de centros o servicios en relación con la extracción y transplante de órganos.

Posteriormente el Real Decreto 411/1996 de 1 de marzo (Boletín Oficial del Estado 72/1996 23 de marzo 11246-11253) reguló las actividades relativas a la utilización clínica de tejidos humanos, definiéndose las actividades a realizar con ellos, las normas de obtención, el concepto de

(75) Hum Pathol 2005; 36: 381.

(76) <http://www.abpath.org/VM.Instr.htm>.

Banco de Tejidos y los criterios mínimos que se requieren para su establecimiento, las normas de acceso a los mismos y las que deben ser observadas en el transporte de las muestras, siendo complementado por el Real Decreto 2070/1999 de 30 de diciembre (Boletín Oficial del Estado número 3, 4 de enero de 2000 pp.179-190) por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos,

Este Real Decreto estuvo vigente hasta la entrada en vigor del Real Decreto 1301/2006 de 10 de noviembre (Boletín Oficial del Estado número 270, 11 de noviembre 2006 39475-39502) por el que se establecieron las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación y la distribución de células y tejidos humanos.

Los criterios básicos que regulan el espíritu de estas leyes son la preservación del anonimato y de la confidencialidad de los datos del receptor y del donante y sus familias, y el carácter altruista que se atribuye a dichas donaciones, algo ya contemplado en las normativas que regulan la donación de sangre. Fruto de estos intentos fue la Directiva 2004/23/CE del Parlamento y Consejo Europeos referente al establecimiento de normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejido humanos. (Diario Oficial de la Unión Europea 7.4.2004 pp L 102/4858).

Estas regulaciones se han visto posteriormente complementadas por las específicamente orientadas a regular la investigación con células troncales humanas obtenidas de preembriones sobrantes (Real Decreto 2132/2004 de 29 de octubre del 2004) (Boletín Oficial del Estado n.º 262 Sábado 30 de octubre 2004 pp 35905-35907) las que regulan las técnicas de Reproducción Asistida (Ley 45/2003 de 21 de noviembre del 2003 y Ley 14/2006 del 27 de mayo del 2006 (Boletín Oficial del Estado n.º 280 Sábado 22 de noviembre 2003 pp 41458-41463) Boletín Oficial del Estado 126/2006) del 27 de mayo pp 19947-19956) y las contenidas en el Real Decreto 176/2004 del 30 de enero del 2004 por el que se crea el Estatuto del Centro Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa (Boletín Oficial del Estado n.º 27 Sábado 31 de enero del 2004 pp 4165-4171) así como el Convenio del Consejo de Europa para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano respecto de las aplicaciones de la biología y de la medicina suscrito en Oviedo el día 4 de abril de 2007 y que entro en vigor en España el 1 de enero del 2000.

Su culminación ha sido hasta el momento la Ley 14/2007 del 3 de julio de Investigación Biomédica. (Boletín Oficial del Estado numero 159, 4 de junio 2007, 28826-28848) En el preámbulo de la misma la Ley se establece que ésta «fija normas en ámbitos no regulados hasta fecha o que lo han sido de forma fragmentaria o ajena a los cambios producidos en los últimos años, tales como los análisis genéticos, la investigación con muestras biológicas humanas, en particular las de naturaleza embrionaria o los biobancos». En el Capítulo III que incluye los artículos 58, 59 y 60 de la Ley se establecen con toda claridad y minucioso rigor los criterios y procedimientos para la utilización de tejidos en la investigación biomédica, deduciéndose de ellos tres criterios básicos: la confidencialidad y anonimización de los datos, el altruismo de la conservación y utilización y los derechos de los pacientes donantes a lo largo de todo el proceso y mantenido a lo largo del tiempo sobre sus propios tejidos. El Capítulo IV artículos 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 y 71 establece también con toda claridad la estructura funciones y responsabilidad los Biobancos.

Todo esta marco normativo, complejo y prolijo sitúa el archivo de tejidos, su conservación y su disposición con fines de investigación en una primera línea de los intereses de los Hospitales donde evidentemente se realiza la mayor parte de la obtención de muestras y muy especialmente de los Servicios de Anatomía Patológica, que estando además sometidos a otras legislaciones adicionales, deben de recibir todo el apoyo que les es necesario para el cumplimiento de la Ley tanto en su normativa como en sus fines. Este hecho esta por llegar.

BASES DE DATOS UNIVERSALES

Desde la finalización del proyecto Genoma, se han desarrollado múltiples proyectos de establecimiento de bases de datos de material genético con fines de investigación, forenses etc. Son ejemplos el Universal Protein Resource que recoge de forma centralizada secuencias proteicas con su correspondiente correlación funcional ⁽⁷⁷⁾, los estudios «Genome-wide»

(77) The Universal Protein Resource (UniProt) Bairoch A Apweiler R, Wu CH, Barker WC, Boeckmann B, Ferro S, Gasteiger E, Huang H, López R, Magrane M, Martin MJ, Natale DA, O'Domovan C, Redaschi, Yeh LLSL Nucleic Acid Research 2005, Data base Issue vol 33 FALTAN PAGINAS.

para establecer el riesgo de enfermedad ⁽⁷⁸⁾ o la Gen Bank Overview desarrollada por el National Institute of Health y el National Center for Biology Information norteamericanos como parte de la International Nucleotide Sequence Database Collaboration que incluye además las bases de datos japonesa (DDBJ) y la del Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL) en las que se reúnen y ponen a disposición de la comunidad científica bases de datos conteniendo secuencias de ADN y ARN, actualizadas diariamente: Estas bases de datos pretenden incluir cientos o millones de muestras y en principio no se orientan al estudio de enfermedades concretas o proyectos a corto plazo, antes bien pretenden proporcionar al cabo de décadas datos útiles para el manejo de los investigadores ⁽⁷⁹⁾. Debe señalarse que la pretensión de estos proyectos no parece incluir la elaboración de un archivo de muestras tisulares. Otro ejemplo es el protocolo del proyecto epidemiológico prospectivo a gran escala del UK Biobank que incluye la conservación de muestras biológicas (sangre, orina, heces, pelo, saliva y uñas) de 500.000 personas de edades comprendidas entre los 40 y los 69 años en el que se pretende determinar los factores de riesgo para un amplio rango de enfermedades que incluyen cáncer, con variantes tan relevantes como el carcinoma de mama, el carcinoma colorectal, el pulmonar y el carcinoma de vejiga, enfermedad cardiovascular, diabetes y demencia).

La preocupación por el establecimiento de estas bases de datos se pudo de manifiesto en el año 2005 por el establecimiento en el National Cancer Institute de la Office of Biorepositories and Biospecimen Research ⁽⁸⁰⁾.

De todo lo anteriormente expuesto cabe afirmar que la conservación de cantidades masivas de casos de patologías definidas o de tejidos normales con posibilidad de recuperación la información genómica y proteómica incluida en ellos mediante tissue arrays hace posible el desarrollo de archivos tisulares masivos, con muestras de procedencia diversa en cuanto a origen étnico, procedencia geográfica y temporal, que permitan comparación y estudios de diferente tipo en futuro. Estas Bases de Datos Universales se correlacionarían con las Bases de datos actuales y obligarían a una ampliación de la regulación de la obtención, conservación y explotación de la información contenida en ellas.

(78) Genomic Medicine Ferero WG, Guttmacher AE *New England J Med* 1010; 363: 166-76.

(79) Gibbons SMC, Kaye J. *Governing Genetic Databases: Collection, Storage and Use Kings Law J*, 2007: 18(2), 1-6.

(80) <http://biospecimens.cancer.gov>.

RESUMEN FINAL. SITUACIÓN ACTUAL

Los tejidos humanos pasaron de ser de hallazgos ocasionales sin intento de preservación ni utilidad buscada, a ser conservados por una fundamentación religiosa. Pasada la fase en que su estudio sirvió para esclarecer la estructura y función normal del cuerpo humano, y aquella otra en que en ellos se describieron las bases morfológicas de la enfermedad, su almacenamiento progresivo llevó a aportar nuevo conocimiento sobre entidades nosológicas diversas y sobre su historia natural, utilidad que se vió potenciada por la aplicación de tecnologías cada vez mas complejas y precisas. Pero es en los últimos años en los que las técnicas de obtención, conservación, recuperación y de estudio de los tejidos humanos han presentado modificaciones imposibles de ser imaginadas en los tiempos precedentes. Esas variaciones son de diferente índole y trascendencia y, en muchos casos, fronterizas con multitud de campos del conocimiento, de la actividad científica, intelectual, social y económica y se pueden resumir en los siguientes puntos:

Las técnicas de obtención de tejidos en personas vivas han variado de forma sustancial debido a la posibilidad de conseguir muestras de tejidos profundos en cantidades muy pequeñas, pero suficientes para el diagnóstico y para la realización de estudios inmunohistoquímicos y moleculares. Ejemplo de ello es el enorme desarrollo de las técnicas de biopsia de tejidos por endoscopia, tanto digestiva como respiratoria o genital, y las punciones con aguja de órganos profundos, como la próstata, el pulmón o el mediastino, que abren la posibilidad de estudios mucho más minuciosos y complejos en mayor número de pacientes y el almacenamiento del material excedente durante años para estudios posteriores.

Las técnicas de preservación, tanto las que utilizan métodos convencionales, como puede ser la congelación a baja temperatura, la fijación en formaldehído y sus derivados o la fijación en sustancias que manteniendo la estructura no incluyen el formaldehído entre sus componentes, permiten una preservación excelente y, por tanto, la posibilidad de recuperación de la información contenida en dichas muestras, especialmente la información genómica y proteómica.

La regulación legal referente a la obtención, preservación, donación y utilización, con fines terapéuticos, docentes o de investigación, de muestras tisulares se ha hecho progresivamente más compleja y detallada. De ella, han derivado regulaciones específicas referentes a los donantes de transplantes de órganos, al bancale de tejidos, donación de órganos y uti-

lización de los mismos, o de fragmentos de los mismos, con fines de investigación y docencia. El desarrollo del conocimiento y de las aplicaciones de dichos repositorios hará que el desarrollo normativo prosiga y llegue mayores niveles de complejidad.

Las técnicas de estudio han tenido una auténtica revolución en los últimos años. Dentro de ellas, cabe señalar la microscopía electrónica de barrido y de transmisión, la microscopía electrónica de alta resolución, las técnicas de histoquímica enzimática, las técnicas de inmunohistoquímica y las técnicas de elaboración de matrices de DNA y de RNA, así como la construcción de matrices tisulares que permiten el estudio de cantidades masivas de tejidos normales o tumorales con un coste económico muy reducido.

Todo ello ha dado lugar también, a múltiples actividades económicas, como la de la criofijación completa de cadáveres, las determinaciones parentales no vinculadas a procesos judiciales, la determinación de pedigrees, etc.

De todo ello se puede hacer una cierta previsión de lo que en un futuro, ya presente, podemos esperar del manejo y conservación de los tejidos humanos:

La posibilidad de miniaturización de los archivos de los departamentos de Anatomía Patológica humana y veterinaria, entre otros, al poder combinarse el archivo de la imagen digital de altísima resolución tanto macroscópica como sobre todo histológica, con la producción de matrices tisulares en las que pequeñas cantidades de tejido son conservadas en bloques de parafina o cortes histológicos.

El diseño y desarrollo industrial progresivo de sistemas mecanizados o robotizados de almacenamiento y de búsqueda de material archivado.

La elaboración de bases de datos que, a partir de los datos tisulares y de su correlación clínica, ofrezcan información de cohortes numéricamente importantes de pacientes portadores de enfermedades raras (enfermedades neurodegenerativas, algunas enfermedades neoplásicas, algunas enfermedades de base genética) o de alta prevalencia (tumores comunes, tejidos normales).

La elaboración de bancos tisulares personales y familiares que incluyan tejidos y eventualmente otros materiales biológicos del propio individuo y de su familia, posibilidad ya iniciada con la preservación de células del cordón umbilical, en los que se mantengan tejidos tanto normales como tumorales de individuos concretos y sus familiares, ante la posi-

bilidad, necesidad o conveniencia de realizar nuevos estudios en años sucesivos de su vida, o en sus descendientes.

La elaboración de bases de datos, internacionales, con los objetivos señalados anteriormente. En ellas se puede establecer una doble orientación: bases de datos de tipo forense, en donde lo que se pretende es la identificación de personas o de subfamilias; o de tipo epidemiológico clínico poniendo a disposición de la comunidad científica bases de datos masivas de centenares de miles de individuos, en donde se contengan datos procedentes de personas de diferente procedencia social, económica, geográfica o étnica.

En ellas se podrían realizar estudios de prevalencia, de susceptibilidad, de predicción y de pronóstico al tratamiento en diferentes grupos humanos y de patologías, que puedan correlacionar con los bancos genómicos o de otros tipos más específicos ya señalados.

La posibilidad de modificación de estructuras jurídico-administrativas para la identificación como podrían ser los Registros Civiles.

Un apunte final. Todo lo anteriormente expuesto hace referencia en buena medida a los componentes del cuerpo humano en la enfermedad o tras de la muerte desde el punto de vista de la ciencia positiva. Pero como médico querría dejar el humilde testimonio público y recordarme a mi mismo, como ser humano sometido también al envejecimiento y la enfermedad y abocado a la muerte, que esta dimensión no es la única... y que rastreando lo percibido por la intuición poética, podemos encontrar preguntas como la enunciada por Federico García Lorca «y si la muerte es la muerte, ¿qué será de los poetas, y de las cosas perdidas que ya nadie las recuerda?»⁽⁸¹⁾, que puede considerarse contestada por Quevedo afirmando «serán ceniza pero tendrán sentido»⁽⁸²⁾ y de una manera definitiva en la Escritura «y la Gloria del Señor será revelada y toda la carne la podrá ver»⁽⁸³⁾.

Ya termino, y quiero, hacerlo reiterando mi agradecimiento a esta Corporación y a todos los que hicieron que mi ilusión tomara carta de naturaleza con la realidad de mi ingreso. Quiero manifestar en este acto tan significativo, mi disposición a colaborar en todas las labores que se me soliciten y que todos los miembros de esta docta Institución me tienen a su completa disposición. Mi esfuerzo y trabajo no tendrá límites en esta tarea.

(81) Federico García Lorca: «Canción otoñal».

(82) Francisco de Quevedo: «Cerrar podrá mis ojos la postrera».

(83) Isaías, Libro de la Consolación de Israel, 40,5.

**DISCURSO DE CONTESTACIÓN
DEL EXCELENTÍSIMO SEÑOR DOCTOR
DON ANTONIO BASCONES MARTÍNEZ**

**Excmo. Sr. Presidente
de la Real Academia de Doctores de España,
Excmos. Señoras y Señores Académicos,
Señoras y Señores:**

Es un honor para mí participar en este acto académico y acoger en nombre de nuestra Corporación, a quién agradezco sinceramente, al Dr. Emilio Álvarez Fernández, en el acto solemne de recepción como Académico Numerario con la medalla número 94 de la Sección de Medicina.

Honrado y orgulloso me encuentro en esta noble y prestigiosa Academia y como decían los versos del ilustre Francisco de Quevedo.

Entre nobles no me encojo
qué, según dice la ley,
sí es de buena sangre el rey
es de tan buena su piojo.

La Junta de Gobierno me ha confiado esta grata tarea, una satisfacción personal que llevo a cabo con todo orgullo, no sólo por el extraordinario currículum del recipiendario, sino también por su gran valía humana y moral, virtudes que le acrecientan día a día ante sus compañeros y los que hoy le conocéis por primera vez, pronto os daréis cuenta de lo que afirmo y digo. Esta bienvenida tiene como objetivo, no sólo glosar la figura del que accede a ocupar un sillón en nuestra Academia, sino también presentarle ante nuestra comunidad, que todos le conozcáis y sepáis quién a partir de ahora será vuestro compañero de sillón.

Quiero hacer mía la frase de Paul Coelho de que *cuando todos los días resultan iguales es porque el hombre ha dejado de percibir las cosas buenas que surgen en su vida cada vez que el sol cruza el cielo*. Hoy para nosotros es un día especial, pues algo diferente ocurre, la entrada en nuestra Corporación de un hombre culto, inteligente y bueno, arquetipo de lo que debe ser un Académico. La Academia se enriquece y nosotros lo hacemos al mismo tiempo con ella.

La sabiduría consiste en saber cuál es el siguiente paso; la virtud, en llevarlo a cabo, decía David Starr Jordan. Nuestro hombre cumple las dos máximas y nosotros por ellos nos honramos plenamente.

Trayectoria Científica

El nuevo Académico nace en Madrid y realiza su educación en el Colegio de los Escolapios.

Cursa la carrera de Medicina en la Universidad Complutense, dónde tuve el honor de compartir clases, disecciones de Anatomía, prácticas ante el enfermo y multitud de experiencias y circunstancias personales que me han servido para aumentar mi patrimonio cultural, humano y moral. Espero que a esta Academia le suceda algo parecido según transcurra el tiempo.

De su paso por las aulas de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense (en aquellos años Universidad Central) quiero destacar que ambos fuimos alumnos de los prestigiosos profesores Fernando de Castro y Antonio Gallego, ambos becarios en Estados Unidos, Instituto Rockefeller. El Prof. De Castro, alumno directo de Cajal, tuvo que influir de una manera clara en nuestro nuevo Académico, lo que le llevó por el camino de la Anatomía Patológica, cuya base estructural es la Histología, asignatura cuya enseñanza la recibió directamente de la escuela de Cajal, por lo que no sólo los conceptos histológicos sino también las cualidades Cajalianas le marcaron en sus primeros años. El tesón, la responsabilidad, la voluntad, expuestos en sus obras *Reglas y Consejos sobre la investigación científica*, *Los tónicos de la voluntad*, *Recuerdos de mi vida* y *El mundo visto a los ochenta años*, con toda seguridad le influyeron de la misma manera que a mí, aunque a él le sirvió para seguir otro camino. Sin embargo, ambos pudimos acrisolar un hondo espíritu de trabajo, que años después nos hizo encontrarnos en esta Ilustre Corporación.

Años después nuestra diferente formación profesional nos llevó por derroteros distintos y nuestro nuevo Académico recabó en el hoy llamado Hos-

pital Gregorio Marañón donde realizó toda su formación científica desde alumno interno, médico adjunto, jefe Clínico, Subdirector de Docencia y Director Médico durante cuatro años. En la actualidad es Jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital y Profesor Titular de la Universidad Complutense. Su inquietud científica y académica, acrisolada en el tiempo, le ha llevado también a ocupar cargos en diferentes Sociedades como Presidente de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y de la Spanish Branch de la Sociedad Internacional. Las ideas no duran mucho. Hay que hacer algo con ellas, decía Cajal, y el Dr. Emilio Álvarez sí que supo hacer con ellas.

Pero su labor profesional no sólo se confina al aspecto asistencial que de manera plena realiza a diario, sino también a otros aspectos como ser Consultor Senior de la Comunidad de Madrid, Jefe de estudios de Postgrado del Hospital General Universitario Gregorio Marañón o Director de muchas tesis doctorales, que han visto la luz en múltiples trabajos de impacto internacional en las mejores revistas de su especialidad cuya reseña en este momento no tendría lugar y haría excesivamente tedioso su pormenorización. Valga, sin embargo, decir que estas revistas están catalogadas en los mejores puestos del Journal Citation Report, lo que da una idea de su preocupación por exponer ante la comunidad científica internacional sus trabajos y resultados.

Es de destacar, por otro lado, su formación de postgrado, que no se circunscribe solo a España, sino que ha realizado estancias en St. Thomas's Hospital Medical School, Westminster Hospital y el Institute of Urology de Londres, St. Mary's Hospital and Medical School de la Universidad de Manchester, Mayo Clinic de Rochester y Massachusetts General Hospital de Boston. Por lo tanto, su formación no sólo es holística sino también amplia y de visión internacional.

En el campo asistencial su labor es destacada y destacable, pues ha ocupado todos los puestos hospitalarios como Médico Adjunto, Jefe Clínico, Jefe de Servicio y de Departamento. Es de reseñar también su docencia en el primer ciclo de la licenciatura así como en el segundo y tercero. Por lo tanto su dedicación, no sólo se realiza en el pregrado sino también en el postgrado y Doctorado con temas sobre Patología pulmonar, hepática, urológica, neuromuscular etc.

En el campo no universitario destaca su labor colaborando con diferentes aspectos del Ministerio de Sanidad, de la Comunidad Autónoma o del Comité de Docencia del Hospital y miembro del Panel de expertos de la Organización Mundial de la Salud.

Consideraciones humanas

No quiero alargar este apartado para no caer en el tópico reiterativo de sus méritos que por otro lado le han hecho ya acreedor de estar ante nosotros leyendo su discurso de investidura. Con su presencia, conocimientos y valores, nos enriqueceremos todos viniendo a ocupar un sillón de la sección que era fundamental, pues la base histopatológica de las enfermedades explica muchos aspectos que han sido desconocidos hasta ahora.

Su trabajo siempre se centra en empezar por la base, asegurando que las cosas fundamentales se hagan bien desde el principio, de manera que al sentar los basamentos del buen hacer de los principios y valores, hoy día tan denostados, todo el resto se desarrolle correctamente. Desde la prudencia, la honestidad y el esfuerzo diario, huyendo de todo lo mediático a lo que tantos y tantos están dedicados, ha conseguido grandes logros en la organización de Congresos, de la sociedad y de muchas actividades que han sido su dedicación y entrega.

Pero al lado de un gran hombre no sé si hay una gran mujer o una mujer asombrada o ambas cosas a la vez, que es muchas veces lo que sucede, pero en este caso Loreto le acompaña perennemente en su trabajo y, con renunciaciones y sacrificios, ha sido uno de los pilares fundamentales en su vida. No en vano es Doctora en Química, las diazepinas fueron su tema, y dejó todo para acompañar a su familia y apoyarla. Alguien debería ocuparse de los problemas del día a día. Sin su ayuda, la labor del nuevo Académico estaría mermada y no gozaría de la excelencia en su trabajo. Le acompaña su madre de 92 años y su hija Loreto, especialista de geriatría que trabaja en el Hospital Gregorio Marañón. Completa su familia su hijo que aún estudia la carrera de Medicina, tercer curso, no habiendo desarrollado aún una idea clara de cuál será su dedicación. Algo habrá tenido que ver el ejemplo del padre y los sabios consejos de la madre. No nace nada bueno si no hay buena simiente y buen abono. Hace grande la máxima de que no juzgues tu día por cuanta cosecha lograste recoger; sino por cuanta semilla lograste sembrar. Nuestro nuevo Académico ha sembrado allá donde estuvo y allí donde trabajó.

Consideraciones históricas

Fue el alemán Rudolf Virchow (1821-1902) quien con su teoría celular explicaba los efectos de las enfermedades en órganos y tejidos, enfatizando que aquellas surgen no en estos, sino de manera primaria en células individuales. Son clásicas sus aportaciones a los mecanismos de la

inflamación, los tumores y numerosas patologías que describió merced a la implantación de la autopsia. Debemos aclarar que el término Anatomía Patológica proviene de las palabras Anatomos (disecar), Pathos (enfermedad) y Logos (tratado). Por lo tanto esta ciencia es la que estudia los cambios morfológicos de las enfermedades en relación con su clínica. Pero no creamos que esta Ciencia es de los últimos años, sino que su conocimiento se remonta a la época griega, con Hipócrates a la cabeza en el siglo V a.de C al cual se le considera como el padre de la Medicina, ya que tuvo el valor y por qué no decirlo la visión de separar esta, de la mitología y de la religión, no habiendo causas naturales que las explicaran, sino que la enfermedad y la salud eran consecuencia del deseo de los dioses.

El cadáver y las disecciones ampliaron el conocimiento de las causas de las enfermedades teniendo su máximo apogeo en el Renacimiento con Vesalio (1514-1564) en la ciudad de Padua, el cual basándose en los trabajos anteriores de Galeno, escribió su gran obra *»de humanis corpora fabrica«* a mediados del siglo XVI. Su obra fue considerada herética para su tiempo ya que se apartaba de las escuelas preponderantes en ese momento como eran las de Galeno e Hipócrates. Años más tarde, sus trabajos fueron aplaudidos en el saber científico por otros médicos como Falopio, Eustaquio etc.

Posteriormente Morgagni (1682-1771) funda la Anatomía orgánica describiendo en sus escritos cantidad de informes anatomopatológicos postmortem junto con la historia clínica.

Más tarde Bichat (1771-1802) describe los tejidos siendo el padre de la Anatomía tisular, demostrando que los órganos están formados por tejidos y que por tanto las lesiones de aquellos se deben a alteraciones de estos.

Años después Virchow (1821-1905) desarrolla el microscopio óptico y deja firmemente establecido que «Omnis célula ex célula», es decir toda célula proviene de otra célula. Este fue el principio de la Patología celular.

Nuestro Santiago Ramón y Cajal, y digo nuestro porque nuestro es y así lo sentimos, describe su teoría neuronal por la cual defiende que en el sistema nervioso las neuronas están contiguas pero no son continuas.

En el año 1932 los hermanos Ruska inventaron el Microscopio Electrónico. Con este descubrimiento se pudo entrar en la célula, en el estudio de las organelas de las células, primer paso para explicar muchas enfermedades. Continuaron los trabajos de la patología molecular con Pauling en 1949. A partir de entonces se aplicaron las técnicas molecula-

res al diagnóstico anatomopatológico. El banco de tumores, la genómica, proteómica, y la citometría fueron consecuencia de estos estudios y hoy día de utilización diaria en un buen Servicio de Patología.

Hemos llegado en estos años al estudio y comprensión de las lesiones de los tejidos y su comportamiento como algo dinámico, donde la biología, el estudio de los inmunomarcadores, de los genes de proliferación celular y la aplicación de la biología molecular a la Medicina son pasos de gigante en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades. Todo esto nos está llevando por la senda de realizar los tratamientos del cáncer bajos este prisma y hay tumores que en los próximos años serán tratados con anticuerpos monoclonales específicos para tal tipo de tumor, por lo que la terapéutica se convertirá en tratamiento de diseño. Cada paciente y cada tumor tendrán un enfoque diferente. Será una Medicina no prêt à porter, listo para llevar, sino de boutique. Como un gourmet, persona de gusto delicado y exquisito paladar, los diagnósticos y los tratamientos serán de una alta sofisticación y que llegaran, afortunadamente, a conseguir grandes cotas de éxito.

Comentarios a su discurso

Las consideraciones históricas me han servido para enmarcar el discurso de nuestro Académico que defiende una tesis que no por antigua deja de ser novedosa, ya que el estudio de los tejidos lleva al conocimiento de la esencia de la vida. Desde la paleopatología, la genética teórica y de poblaciones, la fisiología, la bioquímica y todas las ciencias hasta llegar a la criminología, hemos podido comprobar que los tejidos encierran secretos que nos dan respuestas a múltiples preguntas. Ya hemos encontrado en la prehistoria mucha información sobre lesiones traumáticas, tumorales o infecciosas como la tuberculosis ósea. En el Antiguo Egipto los cadáveres eran eviscerados, depositándose el hígado, los pulmones, los intestinos y el estómago en sendos vasos canópicos con diferentes formas como la diosa Neith, la protectora Nefthi o la diosa Serqet. Todo ello permitió que la momificación llegara a la preservación de las momias varios miles de años antes de Cristo, incluso los antiguos pobladores guanches de las islas canarias presentan muestras de esta momificación novecientos años antes de Cristo. El mundo grecorromano trajo un menor interés por el estudio y la conservación de los tejidos humanos ya que en los tratados hipocráticos junto con extensas aportaciones de diferentes patologías no se señala ningún estudio de órganos profundos. La Europa medieval y el renacimiento trajeron un desarrollo grande por los tejidos humanos en la línea de la determinación de la morfología y la función. Las autopsias fueron material de estudio que llevó a Vesalio a su Tratado de

Humanis Corporis Fabrica con dibujos anatómicos que revolucionaron el conocimiento. Nuestro Académico, en su discurso, insiste en la importancia del descubrimiento del microscopio por van Leeuwenhoek que llevaron a Morgagni a la correlación entre la lesión y la sintomatología, es decir entre la clínica y la patología llevada a su punto más íntimo como es la lesión. Es en la ilustración cuando la historia de los tejidos está más íntimamente relacionada con la Anatomía Patológica. Empieza, pues, a diferenciarse esta importante rama de la Medicina. Nacen ya los patólogos profesionales que desarrollan este campo como aportación al diagnóstico clínico y a la Cirugía. Aquí está como representante más específico Bichat con su *Tratado de las Membranas* ¿De qué sirve la observación si se ignora el sitio del mal? La escuela inglesa con John Hunter, la de Viena con Rokitansky y la berlinesa con Virchow dan los últimos y definitivos golpes de gracia a esta Ciencia que apenas estaba naciendo. Para ello el microscopio óptico es la herramienta más utilizada en estas labores. Aquí como señala nuestro académico, la Física vino a ayudar a la construcción cada vez más sofisticada de microscopios hasta llegar al electrónico que mejoró la resolución tisular llevando el estudio hasta las mínimas consecuencias de estudio como es la célula, la membrana citoplasmática o el núcleo. La construcción de los ultramicrotomos ayudó en esta fase. Habíamos llegado a la organización submicroscópica de los tejidos y de las células llegando a un diagnóstico impensable unos años antes. Con ello la patología tumoral adquirió una importancia relevante ya que se pudieron hacer diagnósticos muy finos y detallados. La misma patología glomerular al encontrar engrosamientos basales definió la glomerulonefritis membranosa. Sería pormenorizado este aspecto y nos llevaría mucho espacio describir las aportaciones obtenidas por la microscopía electrónica de la patología miocárdica, epidermólisis bullosa, enfermedades lisosómicas etc. Hace hincapié, el Dr. Álvarez, en un aspecto, a mi modo de ver fundamental, como es la biopsia intraoperatoria, con la cual definimos el alcance de la lesión y si el cirujano debe proceder a una cirugía amplia o no. Ha sido este escalón diagnóstico el que aporta una gran ayuda a la cirugía ya que un buen cirujano descansa en el Patólogo para proceder con su técnica quirúrgica.

Señala con buen criterio la importancia que ha significado la histoquímica en el conocimiento de los tejidos y de las enzimas y que más tarde dio lugar a la Inmunohistoquímica donde se trabajaba con anticuerpos marcados con fluoresceína y que ha llevado a la utilización de los anticuerpos monoclonales y policlonales. Todo ello, señala con buen enfoque, ha servido para llegar a un punto memorable. El estudio tisular para la determinación de factores pronósticos y predictivos que nos sirven para la elec-

ción de dianas terapéuticas personalizadas. Vamos a llegar y estamos a las puertas, de utilizar tratamientos específicos para diferentes tumores y así en el de mama, hemos pasado de identificar al tumor a etiquetarlo y determinar el subtipo histológico y su perfil inmunohistoquímico por la expresión de receptores de estrógenos, progesterona o la proteína *cerbB2* que nos dirigirá a un tratamiento personalizado. Lo mismo ocurre en el cáncer colorectal con la mutación del gen *K-RAS* y los genes reparadores de DNA. Igual línea de investigación se sigue en el carcinoma pulmonar.

En resumen el estudio tisular ha significado el paso del conocimiento del tejido de una manera estática a una forma dinámica, en el que las células y los tejidos adyacentes nos hablan con un lenguaje biológico que nosotros debemos descifrar para dar el tratamiento específico que el paciente requiere. En esa lectura es donde está el éxito del tratamiento.

El Prof. Emilio Alvarez Fernández ha seguido una línea desde los antiguos pobladores hasta el momento actual, utilizando el devenir como aportación a la Ciencia que hoy nos trae a esta Academia.

Excmos. señoras y señores Académicos:

Termino ya, no sin antes agradecer a la Real Academia de Doctores de España y a su Junta Directiva el marco que nos rodea.

Decía Martín Luther King que nuestra vida empieza a acabarse el día que guardamos silencio sobre las cosas que realmente importan y eso es lo que no quiero yo en esta ocasión: guardar silencio. Por ello, debo pregonar a los cuatro vientos la alegría de todos nosotros por la llegada de aire fresco, nuevo, estimulante. Estoy seguro que el nuevo Académico con sus sensatos juicios y su buen hacer, contribuirá a engrandecer nuestra labor. Parafraseando a Antonio Machado, os puedo decir que la boca que oyes no es boca porque la oigáis. Es boca porque te habla. Yo he hablado pues lo dicho no debía callarlo y el nuevo Académico nos hablará en nuestras sesiones de trabajo, de honradez, de responsabilidad y de tesón, virtudes acrisoladas en su honda y sólida formación y que hoy son escasas en nuestra sociedad. Se incorpora a nuestra Academia un científico, hombre bueno y cabal que con sus aportaciones hará que la Corporación desarrolle más intensamente su labor.

En nombre de la Institución, que me hizo el encargo de presentarle, quiero darle un abrazo de bienvenida y desearle años fructíferos de estancia en la misma. Sé bienvenido amigo Emilio.