



Contribución de la inmunofluorescencia al estudio de las nefropatías glomerulares

Alberto Torras Rabasa

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

CONTRIBUCION DE LA INMUNOFLORESCENCIA AL ESTUDIO
DE LAS NEFROPATIAS GLOMERULARES

por Alberto TORRAS RABASA



UNIVERSIDAD DE BARCELONA

SECRETARIADO DE PUBLICACIONES
INTERCAMBIO CIENTIFICO Y EXTENSION UNIVERSITARIA

Contribución de la Inmunofluorescencia al estudio de las nefropatías glomerulares

Resumen de la Tesis presentada para aspirar al grado de Doctor en Medicina
Alberto Torras Rabasa



(043) 74
TOR

BARCELONA-1976



**UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA**

Tesis doctoral del Dr. D. Alberto Torras Rabasa

Tema:

**CONTRIBUCION DE LA INMUNOFLOURESCENCIA AL ESTUDIO
DE LAS NEFROPATIAS GLOMERULARES**

TRIBUNAL DE TESIS

Presidente: Dr. D. Juan Gibert Queraltó
Catedrático de Patología y Clínica Médicas
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Vocales: Dr. D. Máximo Soriano Jiménez
Catedrático de Patología y Clínica Médicas
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Dr. D. Alfonso Balcells Gorina
Catedrático de Patología General
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Dr. D. Cirilo Rozman Borstnar
Catedrático de Patología y Clínica Médicas
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Dr. D. Manuel Ribas Mundo
Prof. Agregado de Patología y Clínica Médicas (Hematología)
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Director: Dr. D. Máximo Soriano Jiménez
Catedrático de Patología y Clínica Médicas
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

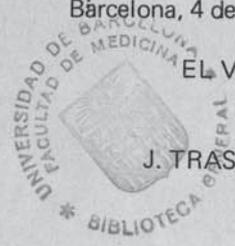
Realizada la presentación y lectura de la Tesis, en fecha 26 de Julio de 1974, obtuvo la calificación de SOBRESALIENTE "cum laude".

(Sello Facultad)

Barcelona, 4 de Noviembre de 1974

EL VICEDECANO,

J. TRASERRA PARAREDA



Contribución de la
Inmunofluorescencia al estudio de las
nefropatías glomerulares

Alberto Torras Rabasa

INTRODUCCION

Durante mucho tiempo se había sospechado la naturaleza inmunológica de los fenómenos patogénicos de la glomerulonefritis humana; aún antes de que la Inmunología tomase cuerpo como una rama amplia e independiente, en la cual sólo los agentes bacterianos eran capaces de influir en los procesos inmunológicos, Bright sugirió que la "inflamación" del riñón en la nefritis era debida a la "acción" morbida que afectaba directamente al órgano, a consecuencia de dicha acción morbida en otra parte del organismo.

Es Schick quien aportó nueva luz al observar que la nefritis asociada a la escarlatina o a la amigdalitis no aparece en el estado agudo de la infección, cuando se espera que el estreptococo o sus productos estén en mayor abundancia, sino tras un período de latencia; sugiere entonces que el lapso de tiempo transcurrido entre la infección sintomática y el inicio de la nefritis podría representar el periodo requerido para el desarrollo de una hipersensibilidad del huesped frente a los organismos todavía existentes. Von Pirquet llama la atención sobre la similitud entre el periodo de latencia en el desarrollo de la nefritis postestreptocócica y el de la enfermedad del suero producida al inyectar suero de caballo, evidencia además el aspecto similar de la glomerulonefritis en ambas situaciones, permitiéndole sostener la hipótesis de que la glomerulonefritis era el resultado de la interacción de los microorganismos con los anticuerpos producidos en el periodo de latencia de la enfermedad. La disminución del complemento sérico apoya todavía más estos supuestos. Finalmente Seegal, Andres, Hsu, y Zabriskie demuestran la presencia de 7S-alfa globulina,

beta-1C y antígeno estreptocócico en los glomérulos de pacientes con glomerulonefritis aguda. Los últimos 50 años de inmunología experimental no han hecho otra cosa que apoyar en todos los aspectos la implicación inmunológica en la glomerulonefritis humana.

Los fenómenos inmunitarios se presentan para el nefrólogo como una ciencia paradójica, pues si bien por un lado van a permitir conocer la etiopatogenia de ciertas nefropatías que faciliten un adecuado abordaje terapéutico, por otro lado impiden un acto terapéutico esencial en nefrología, el trasplante.

La microscopía óptica convencional ha renovado la patología renal permitiendo reconocer y clasificar sobre bases morfológicas, las principales glomerulopatías. Esta vía habría resultado medio ciega en ausencia de otras técnicas. Así, la microscopía electrónica proporciona el medio de analizar con más precisión las lesiones vistas con el microscopio óptico, revela además alteraciones glomerulares indescribibles anteriormente, así como los lazos que pueden unir estas con las precedentes. Si bien en algunos casos el exámen en alta resolución permite identificar la naturaleza de los depósitos gracias a la "periodicidad" característica, como es el caso de la amiloide o de la fibrina, que se tiñen con el ácido ósmico o las sales de plata, por ejemplo. El examen por Inmunofluorescencia llena en parte la laguna dejada por la microscopía electrónica, nos revela los íntimos componentes de un fenómeno inmunológico, nos aumenta la resolución de nuestros microscopios no en unidades ópticas sino en acercamiento patogénico; en resumen, plasma "in vitro" un aspecto de la reacción inmunológica vital que en sus primeros experimentos vislumbró Masugui.

La inmunofluorescencia es un procedimiento utilizado tanto en inmunología como en histología para evidenciar la fijación de anticuerpos sobre el antígeno, del que gracias a la especificidad del anticuerpo se puede determinar su naturaleza y localización, todo ello gracias al marcado previo del anticuerpo con una sustancia fluorescente que no altera su especificidad. La reacción antígeno-anticuerpo es entonces fácilmente visible gracias al microscopio de fluorescencia.

El presente trabajo ha estudiado 100 biopsias renales utilizando la técnica de inmunofluorescencia mediante inmunosueros marcados con fluoresceína anti-C3, anti-IgA, anti-IgG, anti IgM y anti-fibrinógeno; componentes estos que al detectarse implican en principio un mecanismo inmunológico de lesión.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes: En un período comprendido entre 1973 y 1974 se efectuaron 100 biopsias renales en otros tantos pacientes en los que tanto por datos clínicos como

biológicos se sospechaba una nefropatía. El objeto era el de indentificar la naturaleza de dicha nefropatía para así evaluar su severidad, pronóstico, medidas terapéuticas si era posible y determinar su progresión en los casos en que se repetía la biopsia.

Los pacientes pertenecen al Servicio de Nefrología (Clínica Médica B) del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona. Las biopsias se efectuaron quirúrgicamente por lumbotomía y con anestesia general. De cada pieza biópsica se efectuaron sendas partes para el estudio por microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopía electrónica. De este último estudio todavía no podemos ofrecer conclusiones por no haberse incorporado al estudio de rutina de todas las biopsias.

Estudio histológico: Microscopía óptica: Una parte de la pieza biópsica se fijó con Bohen y luego se incluyó en parafina; se efectuaron cortes de 2-3 micras. Estos cortes fueron teñidos rutinariamente con hematoxilina-eosina, ácido peryódico de Schiff (PAS) e impregnación argéntica (metanemina de Masson).

Microscopía de fluorescencia: Otra parte de la pieza biópsica se congeló inmediatamente con nitrógeno líquido a -70° después de incluirla en gelatina tamponada. Se almacenaron a -70° hasta que se cortaron en un criostato "Slee" a -20° con un grosor de 4-6 micras. Los cortes así obtenidos y previo lavado con solución salina tamponada con fosfatos a pH 7,3 se fijaron con acetona a 4° durante 30 segundos. Seguidamente se efectuó la incubación con los antisueros fluorescentes durante 30 minutos a temperatura ambiente húmedo y en cámara oscura. A continuación se lavaron nuevamente con la solución salina tamponada. La lectura se efectuó según los métodos de inmunofluorescencia con un Fotomicroscopio II Zeiss utilizando como filtros excitadores el BG 38 y el Kp 500 y como filtro supresor el de 530 milimicras, con condensador de campo oscuro en doble inmersión y con una fuente de luz proporcionada por una lámpara de vapor de mercurio HB 200 W/h. Se fotografiaron todas las preparaciones con película Ektachrome EHB.

Reactivos inmunofluorescentes y controles: Los inmunosueros monoespecíficos marcados con fluoresceína nos fueron suministrados por la casa Hyland; utilizamos antisueros antihumanos contra IgG (cadena L y P específica), IgM (cadena mu específica), IgA (cadena específica alfa), fibrinógeno y Complemento C3 (beta-1C—beta-1A). Una vez en solución estos antisueros marcados se guardaron a 4° C siendo su duración de varios meses. Antes de iniciar un nuevo lote efectuamos siempre un control inmunolectroforético para asegurarnos de su especificidad, dicho control es repetido esporádicamente a lo largo del empleo de un lote de antisueros. En otras ocasiones la ausencia de fijación fluorescente en riñones normales nos ha servido de control. Para despistar la autofluorescencia inespecífica, de cada pieza se reservaron varios cortes para ser observados sin la tinción fluorescente.

Terminología Morfológica: La descripción y ubicación de los depósitos fluorescentes fue estandarizado según la siguiente nomenclatura:

Generalizado (G):	En todos los glomérulos de una pieza.
Difuso (D):	Afectando la totalidad de un flóculo glomerular.
Focal (F):	En algunos glomérulos de un corte.
Segmentario (S):	En porciones de un flóculo glomerular.
Mesangial (m):	En el tronco del flóculo glomerular.

Membrana basal (b): Siguiendo las paredes capilares del flóculo.
 Granular (g): Arrosariado, tanto a nódulos finos como a gruesos.
 Linear (l): Siguiendo "continuamente" la pared capilar.

El estudio ANATOMO-PATOLOGICO de las 100 biopsias renales dió los siguientes resultados diagnósticos:

DIAGNOSTICOS ANATOMO-PATOLOGICOS	n.º de biopsias
GLOMERULONEFRITIS AGUDA PROLIFERATIVA	9
GLOMERULONEFRITIS FOCAL	5
GLOMERULONEFRITIS MEMBRANOPROLIFERATIVA	18
GLOMERULONEFRITIS EXTRAMEMBRANOSA	5
NEFROPATIA LUPICA	10
NEFROPATIA DIABETICA	2
AMILOIDOSIS	2
NEFROANGIOESCLEROSIS	18
NEFRITIS TUBULO-INTERSTICIAL AGUDA	1
LESIONES MINIMAS	4
RIÑON NORMAL	4
DIFICIL CLASIFICACION	18
VARIOS: Tubulopatía tóxica	1
N. irradiación	1
Sarcoidosis renal	1
Mieloma	1
TOTAL	100

1018 BE

RESULTADOS

GLOMERULONEFRITIS AGUDA DIFUSA (o Glomerulonefritis transmembranosa)

Las lesiones básicas consisten en una proliferación celular endocapilar y/o epitelial con un grado mayor o menor de exudación, en general hay pocas alteraciones de la membrana basal exceptuando algún "hump" aislado. Dada la "habitual" benignidad y su mayor incidencia infantil solamente nueve pacientes han sido estudiados con esta nefropatía.

En cinco de las nueve biopsias con glomerulonefritis aguda había un franco predominio de la fijación de C3 y de IgG con un claro aspecto granular de carácter difuso y generalizado. No observamos fijación de IgA ni de IgM. Cuatro biopsias fijaron fibrinógeno. En una biopsia la fijación vascular fue el dato más sobresaliente. A veces el flóculo fluorescente era rechazado por la proliferación epitelial no fluorescente. Tres biopsias con escasa fijación de C3 correspondían a lesiones ópticas con abundante proliferación epitelial.

Uno de los pacientes en que la biopsia mostró escasa fijación de inmunosueros y que correspondía a lesiones ópticas con abundante proliferación epitelial fue rebiopsiado a los 18 meses observándose una fijación inmunofluorescente similar a la de la primera biopsia aun cuando las lesiones ópticas no mostraban actividad y correspondían a lesiones residuales.

De los nueve pacientes, cuatro mostraron claros antecedentes de infección de vías respiratorias altas o infección dermatológica; sólo en dos de ellos se demostró una hipocomplementemia. En tres pacientes la edad era superior a los 55 años. Todos los pacientes quedaron con la función renal disminuida.

GLOMERULONEFRITIS PROLIFERATIVA FOCAL (o Glomerulonefritis mesangiopática focal)

Por el microscopio óptico estas lesiones se evidencian con un carácter focal y segmentario. Las lesiones consisten en proliferación celular mesangial y endocapilar, sinequias capsuláres y áreas de fibrosis o necrosis de parte de algún glomérulo. En este apartado no incluimos las glomerulonefritis focales que forman parte de una enfermedad de sistema (p. ej. LED).

Cinco fueron los pacientes que se ajustaron a esta descripción histológica. El estudio por inmunofluorescencia mostró intensa fijación granular de IgA en cuatro de ellos y débil fijación en una; en cantidades notables el fibrinógeno se fijó en cuatro biopsias; la IgG y el C3 se hallaron en cantidades variables en todas las piezas.

Estas fijaciones eran generalizadas y casi siempre difusas en contraste con el carácter focal y segmentario de las lesiones vistas por el microscopio óptico. En dos de las biopsias la fijación era mesangial aunque en todas era más evidente la distribución mesangio-capilar más o menos difusa que la exclusivamente mesangial. A veces habían notables fijaciones segmentarias sobre un fondo difuso.

De los cinco pacientes cuatro tenían antecedentes de manifestaciones cutáneas (una angitis alérgica y tres con púrpura de Schönlein-Henoch), el otro paciente presentó hematurias coincidiendo con un síndrome infeccioso de vías respiratorias altas.

GLOMERULONEFRITIS MEMBRANO-PROLIFERATIVA (o Glomerulonefritis mesangiocapilar)

Entran en esta denominación aquellos cuadros histológicos que muestran una combinación de proliferación de las células mesangiales y engrosamiento del mesangio junto a un engrosamiento irregular de las paredes capilares. De las 18 biopsias renales que se ajustaban a esta descripción cinco presentaban además un aspecto francamente lobular.

La fijación inmunofluorescente es constante aunque de intensidad variable para el C3, le sigue en intensidad la IgG. La IgA, IgM y fibrinógeno se encuentra de una manera inconstante. La distribución ha sido generalizada y difusa y el carácter de los depósitos ha sido siempre granular; en un solo caso se evidenció una discreta fijación lineal interrumpida. La imagen fluorescente era siempre más acentuada en la periferia de los lobulillos, la imagen lobulillar del flóculo era siempre evidente aunque no lo revelase la microscopía óptica. La distribución de los depósitos en el flóculo era siempre parietal y algunas veces se acompañaba de fijación mesangial. Cuando las lesiones son avanzadas es difícil precisar la ubicación de los depósitos ya que estos se presentan como masas irregulares que a veces ocupan gran parte del glomérulo. En un caso catalogado con el microscopio óptico como de lesiones muy incipientes resaltaba la ausencia de C3 frente a una fuerte fijación de IgG y de IgM.

La presentación clínica de estos pacientes correspondía la mayoría de las veces a un síndrome nefrótico más o menos puro acompañado de reducciones variables del filtrado glomerular. El hallazgo a veces era el de una proteinuria aislada y pocas veces una hipertensión aislada. De los dieciocho pacientes tres presentaban hipocomplementemia no habiendo en ellos ninguna diferencia significativa tanto en la cantidad de C3 fijado en el glomérulo como en su evolución clínico-biológica respecto a los pacientes normocomplementémicos.

GLOMERULONEFRITIS EXTRAMEMBRANOSA O MEMBRANOSA (o Glomerulopatía transmembranosa)

Esta nefropatía presenta un cuadro histológico consistente en un engrosamiento difuso de las paredes capilares sin prácticamente proliferación celular. La caracterización histológica la proporciona la impregnación argéntica al evidenciar un ribeteado argirófilo en la vertiente externa de la membrana basal; entre estas proyecciones argirófilas se encontrarían depósitos débilmente eosinófilos y prácticamente indistinguibles del citoplasma de los podocitos. En los casos avanzados las proyecciones argirófilas rodearían completamente a los depósitos produciendo un gran engrosamiento de la pared capilar con desaparición del espiculado argirófilo.

Cinco fueron los pacientes diagnosticados histológicamente con esta nefropatía. En cuatro de ellos fue constante un fino ribeteado intensamente fluorescente de IgG y C3; en ninguno de ellos hubo fijación de IgA, IgM. Sólo uno fijó fibrinógeno. En tres pacientes la distribución fue claramente generalizada, difusa y parietal a gránulos finos, no hubo depósitos mesangiales; estas tres biopsias correspondían a estadios I-II con el microscopio óptico, en uno de ellos fue la típica imagen fluorescente la que hizo reconsiderar más detenidamente la impregnación argéntica hasta localizar las espículas extramembranas con lo que fue preciso cambiar el primer diagnóstico provisional de "ópticamente normal" por el de glomerulonefritis extramembranosa. En el cuarto paciente mientras la fijación de IgG era también generalizada, difusa y granular, la fijación de C3 presentaba un carácter más focal y hasta a veces segmentario en forma de nódulos groseros; por microscopía óptica correspondía a estadios III-IV.

Una de las biopsias no evidenció fijación alguna de inmunosueros y correspondía a un paciente en que la microscopía óptica tampoco revelaba cambios si bien una biopsia efectuada dos años antes mostró claramente una glomerulonefritis extramembranosa (sin control para inmunofluorescencia) que coincidía con un síndrome nefrótico asociado a antígeno Australia positivo. En la actualidad aunque persiste el Ag Au positivo no hay evidencia biológica ni morfológica de nefropatía.

Otra de las biopsias correspondía a un paciente que también era portador de un Ag Au positivo.

En todos los casos el motivo de estudio fue el hallazgo de una proteinuria que en tres casos se acompañaba de síndrome nefrótico florido y en otro de insuficiencia renal (la correspondiente al estadio III-IV).

GLOMERULONEFRITIS ASOCIADA AL LUPUS ERITEMATOSO DISEMINADO

Se efectuó ese diagnóstico cuando la asociación de una nefropatía a datos clínicos (fiebre, poliartalgias, poliserositis, lesiones dérmicas, etc.) y biológicos (células LE positivas, título alto de anticuerpos anti-DNA, etc.) eran lo suficientemente sugestivos. En ocasiones la imagen histológica no era suficiente sin los datos clínicos y biológicos para asegurar el diagnóstico; otras veces la imagen histológica confirmaba el diagnóstico clínico dudoso.

Las lesiones glomerulares eran muy variables y mostraban desde lesiones "mínimas" hasta varios grados de glomerulitis proliferativa, glomerulonefritis segmentaria y focal, difusa y focal, difusa y generalizada, proliferación epitelial, necrosis focal, lesiones membrano-proliferativas y en casos avanzados hialinización glomerular. A veces eran evidentes las alteraciones vasculares en forma de hipertrofia de la muscular, zonas de necrosis, etc.

Diez fueron los pacientes que respondieron a estas premisas; de ellos ocho presentaban fijación de C3 de los cuales seis fijaban simultáneamente IgG, uno de los que no fijó C3 sí evidenció IgG. La IgM faltó en tres de las biopsias, la IgA en cuatro y el fibrinógeno en seis. La ubicación de los depósitos fue en todos los casos parietal y en tres se añadieron depósitos mesangiales, el caracter de los depósitos era siempre granular y ocasionalmente a finos trayectos lineales. La distribución fue generalizada en ocho casos, focal en uno y con reforzamientos en cuatro. En un caso había C3 en la pared vascular.

La biopsia que no mostró fijación alguna de inmunosueros pertenecía a una paciente en fase de remisión que había respondido a la corticoterapia con negativización de las células LE y de la proteinuria y función renal normal. La microscopía óptica mostraba mínimas alteraciones segmentarias y focales.

GLOMERULOPATIA CON CAMBIOS MINIMOS (o Síndrome Nefrótico Ópticamente Normal)

En este grupo los glomérulos vistos por el microscopio óptico son aparentemente normales en cuanto a alteraciones de la membrana basal y a proliferación.

Cuatro fueron las biopsias así clasificadas y en todas ellas no hubo fijación alguna de inmunosueros. Sólo una biopsia mostró una mínima fijación lineal de C3 y de IgG y correspondía a un niño corticorresistente (el único).

La presentación clínica fue la de un síndrome nefrótico puro, tres en sendos niños no mayores de 11 años y uno en una mujer de 55 años.

NEFROANGIOESCLEROSIS

La imagen histológica de la nefroangioesclerosis benigna se determinó por lesiones vasculares consistentes en hipertrofia de la capa muscular de las arteriolas de mediano y pequeño calibre, estrechamiento de la luz capilar y depósitos hialinos subintimales; las alteraciones glomerulares acompañantes eran mínimas en los casos ligeros y de fibrosis isquémica periglomerular e hialinización en los estadios más avanzados. La nefroangioesclerosis maligna mostraba lesiones más severas consistentes en endarteritis proliferativa, arteriolitis necrotizante y glomerulitis segmentaria necrotizante, a veces la obliteración vascular era total.

De los 14 pacientes con nefroangioesclerosis benigna cuatro mostraron fijación focal y segmentaria de C3 a grandes nódulos sin relación con la membrana basal y sí

relacionados con los glomérulos más hialinizados; los glomérulos más conservados no evidenciaron fijación alguna. En tres casos hubo mínimos depósitos lineales de IgG y de IgM. Dos casos mostraron fijación vascular de C3. La fijación de fibrinógeno fue detectada en dos pacientes.

De los cuatro casos de nefroangioesclerosis maligna dos biopsias mostraron fijación intensa y focal en la pared de los vasos de mediano calibre con antisuero antifibrinógeno; los nódulos fluorescentes solían situarse en la región subendotelial y a veces abarcaba la totalidad de la circunferencia vascular; a veces el depósito de fibrinógeno ocluía la luz vascular. La fijación de IgG, IgM y más raramente de C3 fue vista ocasionalmente en la pared de los vasos, nunca en la luz vascular. En uno de los pacientes fue posible ver cortos trayectos lineales de IgM y C3 en los bordes de pequeños lobulillos glomerulares. Una segunda biopsia efectuada en un paciente sometido a hemodialisis periódicas no mostró fijación fluorescente vascular mientras en una primera biopsia sí la había mostrado. Tampoco había fijación en la biopsia de una paciente sometida a hemodialisis periódicas por nefroangioesclerosis maligna.

NEFROPATIA DIABETICA

Las alteraciones observadas en los dos pacientes afectos corresponden a la glomeruloesclerosis difusa consistente en un engrosamiento irregular del mesangio y de la pared capilar junto a los cambios vasculares y glomerulares propios de la isquemia e hipertensión. No hubo lesiones nodulares.

En uno de los dos pacientes no hubo fijación de inmunosueros mientras que el otro mostró una fina fijación lineal continua de IgG alrededor de los lobulillos glomerulares. Segmentariamente hubo fijación de fibrinógeno.

AMILOIDOSIS RENAL

Llegamos a este diagnóstico en dos biopsias renales en las que se podían apreciar claramente los depósitos algodonosos típicos de la sustancia amiloide, a veces la estructura glomerular estaba completamente "borrada".

De las dos biopsias uno no mostraba fijación alguna de inmunosueros, mientras que la otra mostró una fijación de IgM y de C3 y en mínima cantidad IgG e IgA siguiendo la distribución de los depósitos nodulares de amiloide.

Si bien clínicamente los dos pacientes eran portadores de un síndrome nefrótico, el paciente que mostró fijación por inmunofluorescencia tenía una amiloidosis secundaria a un lepra lepromatosa; el otro paciente se consideró afecto de una amiloidosis primaria.

NEFROPATIAS DE DIFÍCIL CLASIFICACION HISTOLOGICA

Comprenden este apartado dieciocho biopsias renales que bien por insuficiente número de glomérulos, bien por lesiones histológicas difíciles de caracterizar o en cantidad mínima, fue imposible clasificar en un diagnóstico anatómo-patológico preciso, en todos los pacientes había algún signo de nefropatía.

En seis de las dieciocho biopsias hubo fijación inmunofluorescente evidente; de ellas una correspondía a una Nefritis tubulo-intersticial aguda superpuesta a una posible nefropatía crónica. Las otras cinco biopsias correspondían a pacientes con proteinuria y/o hematuria sin insuficiencia renal y se correspondían con lesiones mínimas glomerulares. Las doce biopsias sin fijación de inmunofluorescente correspondían a otros tantos pacientes con grados diversos de insuficiencia renal; la imagen óptica solía responder a diversos de hialinización y engrosamientos parietales, discretas alteraciones vasculares y/o intersticio alterado. Los cambios proliferativos fueron mínimos en este grupo de biopsias. En uno de los pacientes la inmunofluorescencia negativa apuntó la posibilidad de un síndrome de Alport.

OTRAS NEFROPATIAS

En un caso de NEFRITIS TUBULO-INTERSTICIAL AGUDA no hubo fijación alguna de antisueros.

También resultó negativa la inmunofluorescencia en: una TUBULOPATIA TOXICA, una NEFROPATIA POST-IRRADIACION, una SARCOIDOSIS RENAL y en un RIÑÓN DE MIELOMA.

Cuatro biopsias renales que correspondieron a sendos RIÑONES NORMALES no fijaron inmunosueros, sirviendo ello de control para la veracidad de la técnica.

DISCUSION

La mayoría de las biopsias se efectuaron en pacientes en los que por una u otra razón se sospechaba una nefropatía, por consiguiente el objeto de dicho examen fue el de identificar la naturaleza de la enfermedad glomerular para evaluar así la severidad y pronóstico de la misma. Si se consigue examinar una buena pieza biopsica, normalmente es posible establecer la participación inmunológica de la lesión glomerular y hasta presumir la enfermedad fundamental de la que es tributa-

ria; sin embargo en muchas ocasiones es preciso conjuntar a esta visión los datos clínicos y de laboratorio para establecer el diagnóstico concreto.

Si bien una biopsia renal puede ser examinada independientemente con el microscopio óptico, inmunofluorescencia y microscopio electrónico, cada una de las técnicas aporta un aspecto característico del diagnóstico anatómo-patológico. La microscopía óptica aporta la visión fundamental imprescindible en la que se sustentan además las conclusiones de las otras técnicas. El microscopio electrónico es imprescindible para el diagnóstico diferencial que requiere la exacta localización de los depósitos; sin embargo debido quizás al mayor grosor de los cortes que se examinan con la técnica por inmunofluorescencia es mucho más sensible para detectar los inmunocomplejos que el microscopio electrónico, la relativa sencillez de su técnica hace que la aventaje como estudio de rutina. El uso de reactivos fluorescentes específicos permite determinar el tipo de inmunoglobulina presente en los depósitos así como el C3, siendo este último el que más corrobora el carácter inmunológico de la lesión; la detección de fibrina amplía nuevos horizontes patogénicos.

Las preparaciones vistas por inmunofluorescencia son útiles para el diagnóstico de las enfermedades glomerulares en las cuales los glomérulos aparecen "casi normales" por microscopía óptica, aporta un dato a la vez tan elemental como fundamental como es el de la existencia o no de nefropatía; ayuda al diagnóstico diferencial entre la fase temprana de la glomerulonefritis extramembranosa y el síndrome nefrótico ópticamente normal. Su aportación es decisiva en las glomerulopatías en que la patología mesangial es el único protagonista, definiendo con claridad los conceptos de focal o difuso, mesangial o mesangiocapilar. Todos estos datos son imprescindibles para formarse una idea del grado de afectación, progresividad y en definitiva del pronóstico evolutivo.

Por último la inmunofluorescencia confirma el origen inmunológico del disturbio renal al revelar hechos en el hombre que son superponibles a los encontrados en los animales de experimentación.

RESUMEN DE LAS CONCLUSIONES

- A) Ausencia de IgA y de IgM en las glomerulonefritis agudas.
- B) Las biopsias con abundante proliferación epitelial fijan poco C3.
- C) Fijación a menudo difusa de IgA y de IgG en nefropatías que por microscopía óptica se calificaron de focales y segmentarias.
- D) La mayor fijación de fibrinógeno corresponde a las glomerulonefritis focales.
- E) No hay correlación alguna entre el nivel de complemento sérico y la intensidad de su fijación en el glomérulo.
- F) Una intensa fluorescencia ha sido el único hallazgo que ha movido a estudiar

una biopsia calificada como normal con el microscopio óptico y que con mayor detenimiento pudo evidenciar su caracter extramembranoso.

- G)** Clara diferenciación entre el síndrome nefrótico ópticamente normal y la glomerulonefritis extramembranosa en su fase inicial.
- H)** La rara fijación linear en el glomérulo ha sido más evidente en nefropatías vasculares (nefroangioesclerosis) predominando la IgG y luego la IgM. Ocasionalmente el fibrinógeno se ha encontrado en fijación linear, e IgG y fibrinógeno en un caso de nefropatía diabética y de LED.
- I)** En el capítulo de las nefropatías de difícil clasificación la presencia de inmunofluorescencia ha sido asociada a pacientes con normofunción renal cuya presentación era la de una proteinuria y/o hematurias aisladas. La ausencia de inmunofluorescencia se correspondía con lesiones más avanzadas aunque inespecíficas que implicaban insuficiencia renal.
- J)** En un caso de notables alteraciones glomerulares e inmunofluorescencia negativa nos ha servido para confirmar el diagnóstico de síndrome de Alport.

