

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

ESTUDIO POR INMUNOFLUORESCENCIA DE 100 BIOPSIAS RENALES

El presente trabajo tiene por objeto presentar los estudios por inmunofluorescencia de 100 biopsias renales. Utilizamos la técnica de inmunofluorescencia mediante inmunosueros marcados con fluoresceína anti-C3, anti-IgA, anti-IgG, anti-IgM y anti-fibrinógeno. En nuestro estudio se observa fijación de inmunosueros en los glomérulos en las glomerulonefritis agudas, focales, membrano-proliferativas, extramembranasas, lobulillares y nefropatía lúpica. No observamos fijación específica de inmunosueros en las nefropatías intersticiales crónicas, túbulo-intersticiales agudas, nefropatía diabética y lesiones mínimas. Observamos fluorescencia vascular en la nefroangioesclerosis y en especial la maligna, en algunas diabetes y amiloidosis, de carácter no específico.

Nuestros resultados coinciden en general con los publicados en la literatura y nos permiten además insistir en ciertos detalles que nos parecen orientadores en el diagnóstico diferencial.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes: En un periodo de tiempo comprendido entre 1972 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 identificar la naturaleza de dicha nefropatía para así evaluar su severidad, pronóstico, medidas terapéuticas si era posible y determinar su progresión en los casos que se repetía la biopsia.

Los pacientes pertenecen al Servicio de Nefrología del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona. Las biopsias se efectuaron quirúrgicamente por lumbotomía y con anestesia general. De cada pieza biopsica se efectuaron sendas partes para el estudio por microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopio electrónico. De este último estudio todavía no podemos ofrecer conclusiones por

no haberse incorporado a la rutina de todas las biopsias.

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

Microscopía de fluorescencia: Otra parte de la pieza biopsica se congeló inmediatamente con nitrógeno líquido a -70° despues de incluirla en una gelatina tamponada. Se almacenaron a -70° hasta que se cortaron en un criostato "Slee" a -20° con un grosor de 4-5 micras. Los cortes así obtenidos se fijaron en acetona a 4° durante 30 segundos y fueron lavados con una solución salina de tampón de fosfatos a pH 7.3. Los antisueros fluorescentes se incubaron durante 30 minutos a la temperatura ambiente lavándose a continuación con la solución salina tamponada. La lectura se efectuó según los métodos de fluorescencia con un Fotomicroscopio II Zeiss utilizando como filtros excitadores el BG 38 y el KP 500, 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 200W/4. Se fotografieron todas las preparaciones.

Terminología Morfológica. La considerable confusión creada por una terminología descriptiva poco estandarizada en cuanto extensión y localización de las lesiones hace que intentemos aplicar a nuestras descripciones la terminología siguiente, según Hyman, :

- (negativa)

TERMINOLOGIADEFINICION

Localización de los depósitos en el glomérulo

Mesangial	En el tronco del flóculo glomerular
Periférico	A lo largo de las paredes capilares del glomerulo.
Capsular	En la capsula de Bowman.

Distribución de una lesión o depósitos en el glomerulo.

Segmentario	En porciones de un floculo glomerular
Difuso	Afectando a la totalidad de un floculo glomerular.
Focal	En algunos glomerulos de un corte
Generalizado	En todos los glomerulos de una pieza.

Morfología de los depósitos en el glomerulo

Granular	Arrosariado o como "chichones" fluorescentes variando de finamente granular a nódulos groseros.
Linear	Fluorescencia delicada y continua a lo largo de la pared capilar.
A fragmentos lineares ..		Ocasionalmente la fluorescencia puede interrumpirse en cortos trechos de segmentos de las paredes capilares.

Cuantificación de la intensidad y /o extensión de la distribución de la inmunofluorescencia.

- (negativa)	Ausencia absoluta de fluorescencia
+	Discreta cantidad, a menudo de amplia distribución y de debil intensidad
+ +	Moderada cantidad de fluorescencia
+ + +	Gran brillantez, máxima intensidad de fluorescencia.

DIAGNÓSTICO 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 se guardaron a 4°C. siendo su duración prácticamente indefinida. Antes de iniciar un nuevo lote efectuamos un control inmunolectroforético para asegurar su especificidad, dicho control es repetido esporádicamente a lo largo del empleo de un lote de antisueros. Ocasionalmente la ausencia de fijación fluorescente en riñones normales nos ha servido de control. Para despistar la autofluorescencia inespecífica de cada pieza se reservaban varios cortes para ser observados sin la tinción fluorescente.

ANÁLISIS
RESULTADOS
El estudio anatómo-patológico de las 100 biopsias renales dió los siguientes resultados diagnósticos:

DIAGNOSTICOS**ANATOMO-PATOLOGICOS**

nº 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 BIOPSIAS RENALES
=====

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 algun "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 caracter difuso y generalizado. No observamos fijación de IgA ni de IgM. Cuatro biopsias fijaron fibrinógeno. En una biopsia la fijación vascular fue el dato mas 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 opticas no mostraban actividad y correpondían a lesiones residuales.

De los nueve pacientes cuatro mostraron claros antecedentes de infección de vias 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.

SIGNOS CONVENCIONALES

D : Difuso S : Segmentario

G : Generalizado F : Focal

g : Granular l : Linear

tl : a trayectos lineares

b : en membrana basal

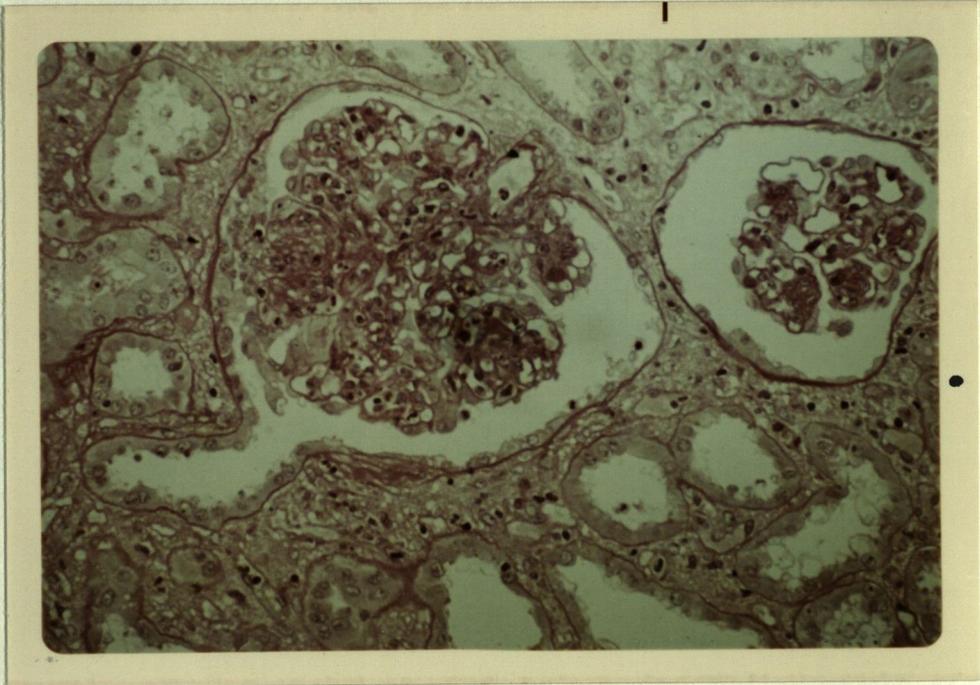
m : en el mesangio

V : vascular

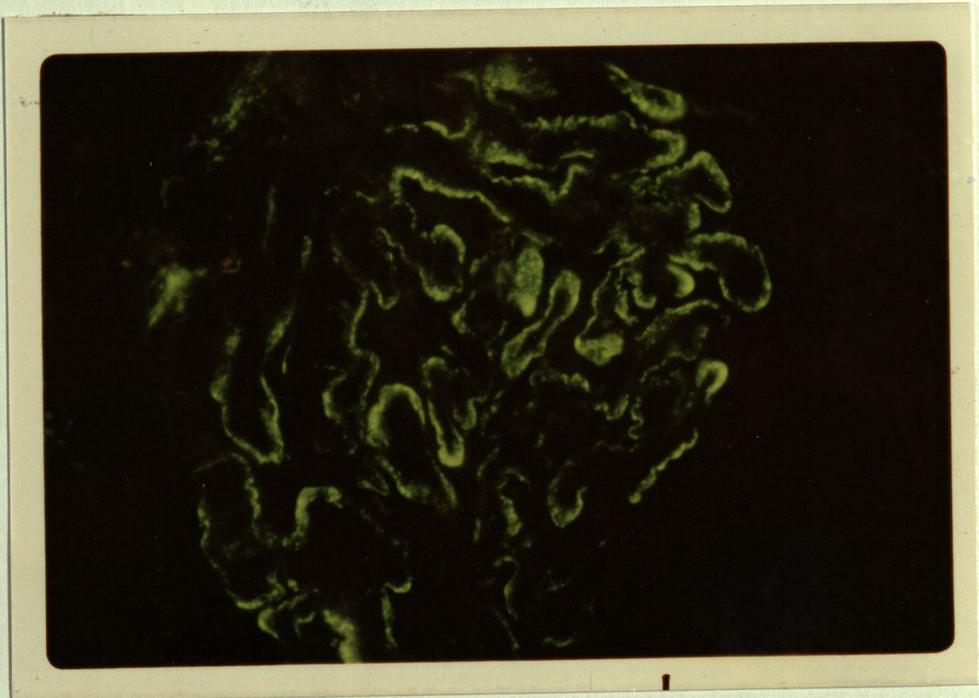
INMUNOFLUOTRECENCIA
GLOMERULONEFRITIS AGUDA

Paciente	Distribución y caracter		C3	IgA	IgG	IgM	F
1	G-D	b(m)-g	+++		++		
6	G-D(F)	b-g	+++		++++		+
32	G-D	b-g	+++		<u>+</u>		<u>+</u>
* 42	F-D	b-g(1)	<u>+</u>	<u>+</u>	+	<u>+</u>	<u>+</u>
* 42 bis	F-S	b-g	+	<u>+</u>	+	<u>+</u>	<u>+</u>
* 49	G-D	b-g(1)	+		+++		++
* 62	G(S)	b-g	+	++	++	<u>+</u>	++
69	G-D	b-g	+++				
* 96	S	b-t1	<u>+</u> (+ +)	<u>+</u> (+ +)	<u>+</u> (+ +)	<u>+</u> (+ +)	(+ +)

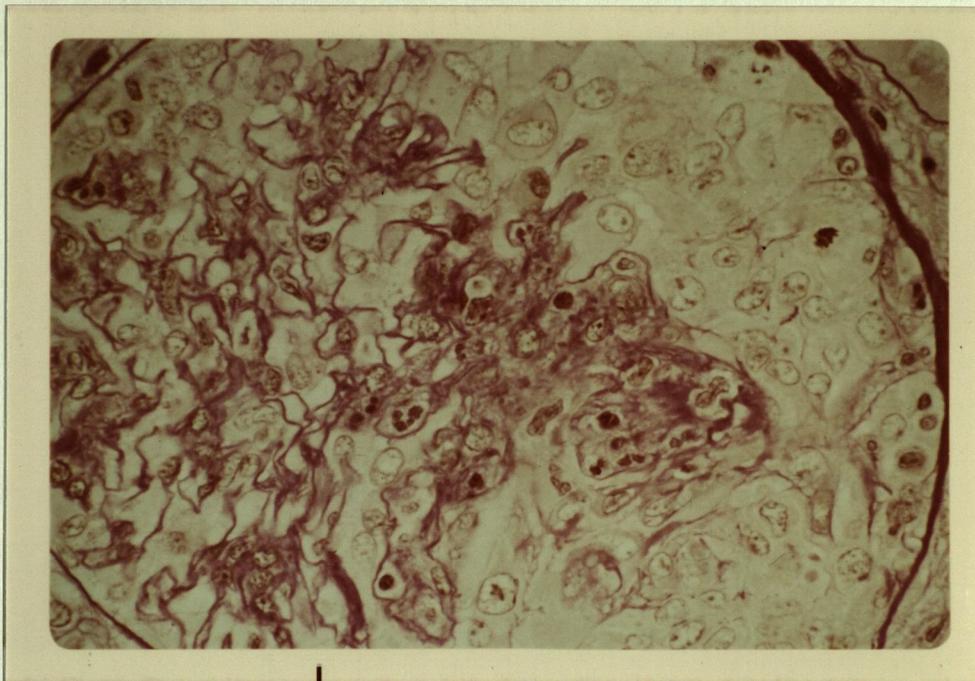
* Con proliferación epitelial importante



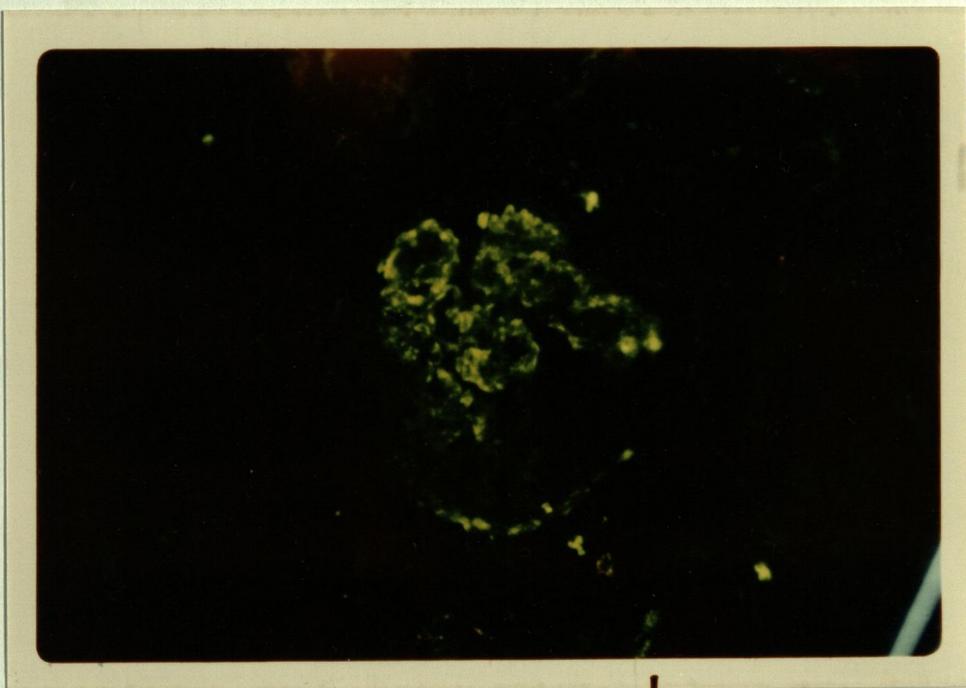
Glomerulonefritis aguda proliferativa endocapilar
con infiltración leucocitaria. (PAS, X150)



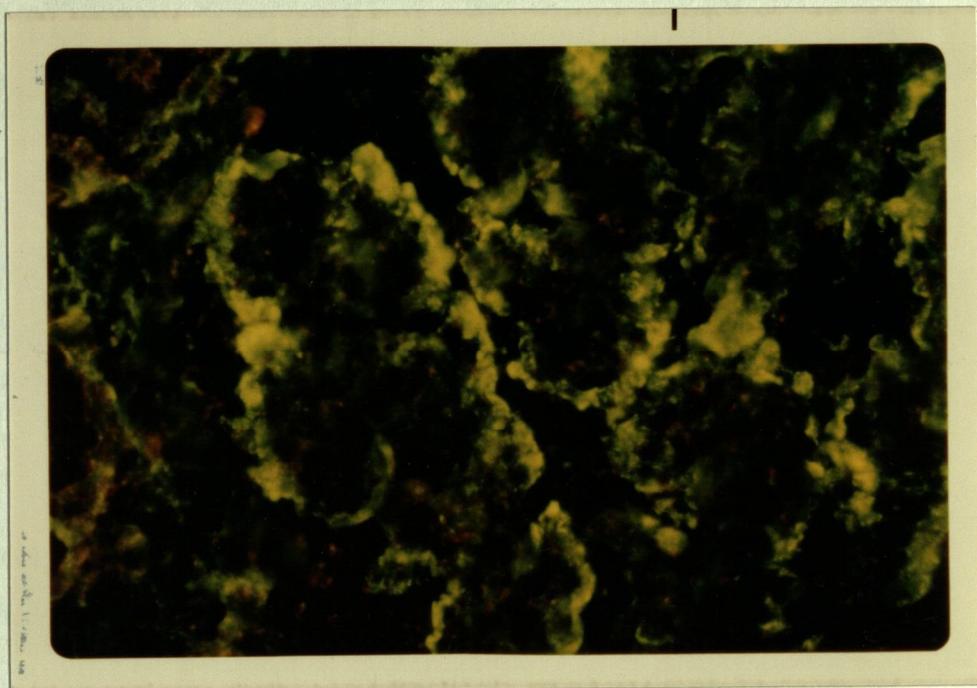
Fijación de C3 en una Glomerulonefritis aguda
(X 200)



Glomerulonefritis aguda con proliferación endo y extracapilar (PAS, X 500)



Flóculo fijando C3 rechazado por la proliferación epitelial. (X 200)



Detalle de la fijación de IgG en una Glomerulonefritis aguda. (X 500)

GLOMERULONEFRITIS PROLIFERATIVA FOCAL (o Glomerulonefritis mesangiopática focal).

Por el microscopio óptico estas lesiones se evidencian con un caracter focal y segmentario. Las lesiones consisten en proliferación celular mesangial y endocapilar, sinequias capsulares y areas 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 caracter 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 mas 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 angeitis alérgica y tres con púrpura de Schönlein-Henoch), el otro paciente presentó hematurias coincidiendo con un síndrome infeccioso de vias respiratorias altas.

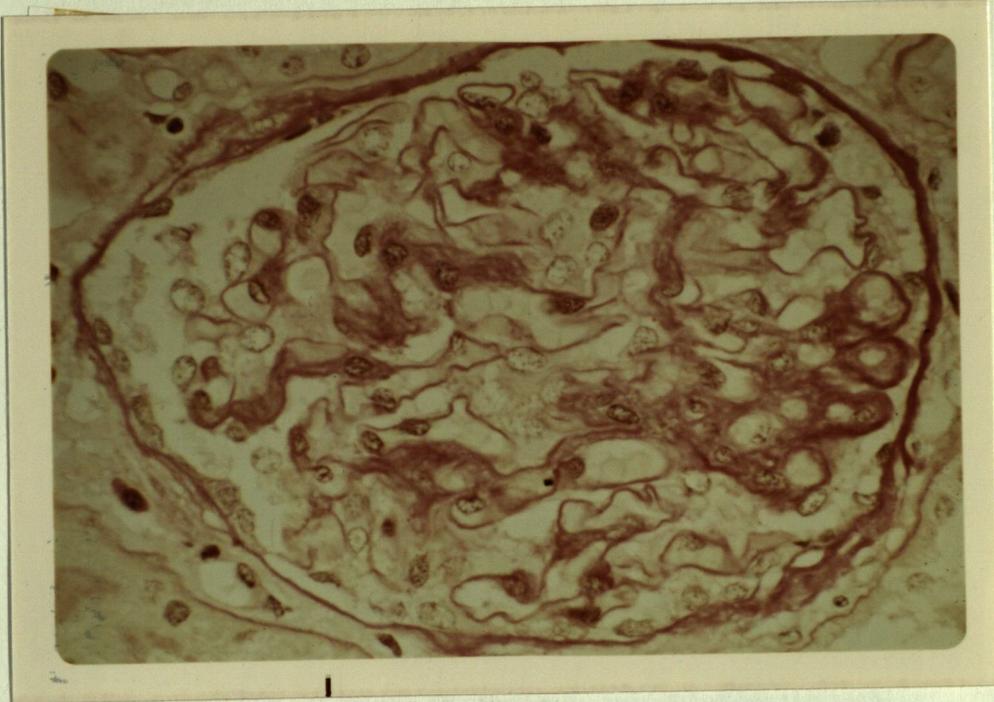
INMUNOFLUORESCENCIA
GLOMERULONEFRITIS FOCAL

Paciente	Distribución y caracter		INMUNOFLUORESCENCIA				
			C3	IgA	IgG	IgM	F
10	G-D	b-g	++ (+)	$\frac{+}{-}$	++ (+ +)	+	+++
22	G-S	b-g	+	+++	++	$\frac{+}{-}$	+++
31	G-S	b-g	+	+++	+		+++
47	G-S	g(1)-m	+++	++	+++	+	$\frac{+}{-}$
98	G-S	g-b(m)	++	+++	++	++	++

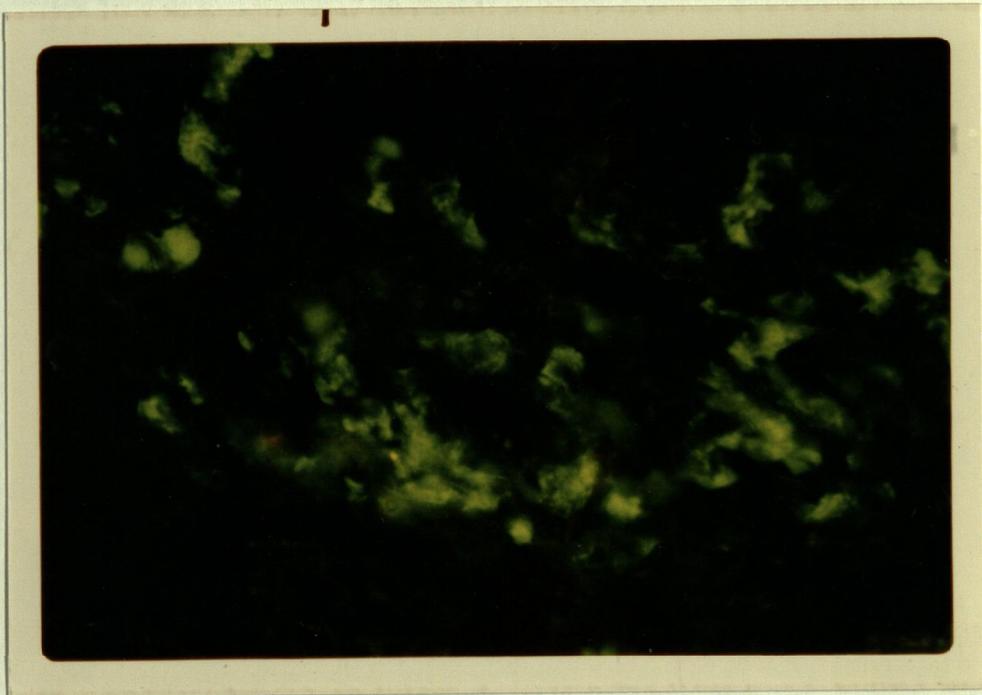
47 Glomerulonefritis focal idiopática

22-31-98 Sínd. de Schönlein-Henoch

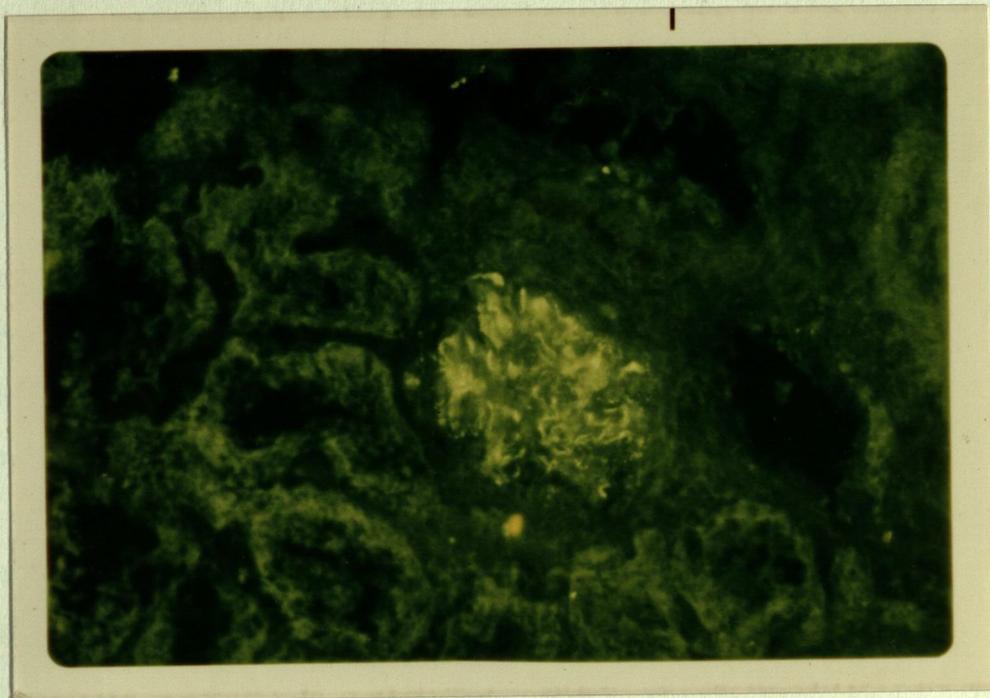
10 Angitis alérgica



Engrosamiento localizado de la membrana basal en una Glomerulonefritis focal. (PAS, X 400)



Fijación capilar de IgA en una Glomerulonefritis focal (X 400)



Fijación difusa de IgA en una Glomerulonefritis focal. (x 200)

GLOMERULONEFRITIS MEMBRANO-PROLIFERATIVA (o Glomerulonefritis mesangiocapilar).

Entran en esta denominación aquellos cuadros histológicos que muestran una combinación de proliferación de las células mesangiales, 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 glomerulo. 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 glomerulo como en su evolución clínico-biológica respecto a los pa-

cientes normocomplementémicos.

INMUNOFLUORESCENCIA
GLOMERULONEFRITIS MEMBRANO-PROLIFERATIVA

Paciente	Distribución y caracter		C3	IgA	IgG	IgM	F
3	G	b-g	+	+	++		
5*	G	b-g	++	+	+		+
(9)	G	b(m)-g	+++	++	+	+	++
11	G-D(S)	b(m)-g	+	++	+	+	+
(12)	G-D(S)	b-g	+++	+	++	++	++
13	G-S	b-g	++		+		
19	G-D(S)	b(m)-g	+++		++	+	++
23*	G-D	bm-g(t1)	+	++	++	++	
(25)*	G-D	b-g	++		+	+	+
35	G-D(S)	b-g	+++		+	++	+++
45	G-D	b-g	++		+	+	
(53)	G-D(S)	b-g	++		+		+
(54)	G-D(S)	b-g	++		+		
55	G-D(S)	b-g	+++	+	+++		
60	G-D	b-g	+++	+++	+++	+++	
64	G-D	b-g	+		+++		
70	G-D(S)	b-g			+++	+++	
81	G-D	b(m)-g	++	++	++	+	

() con aspecto lobulillar

* con hipocomplementemia

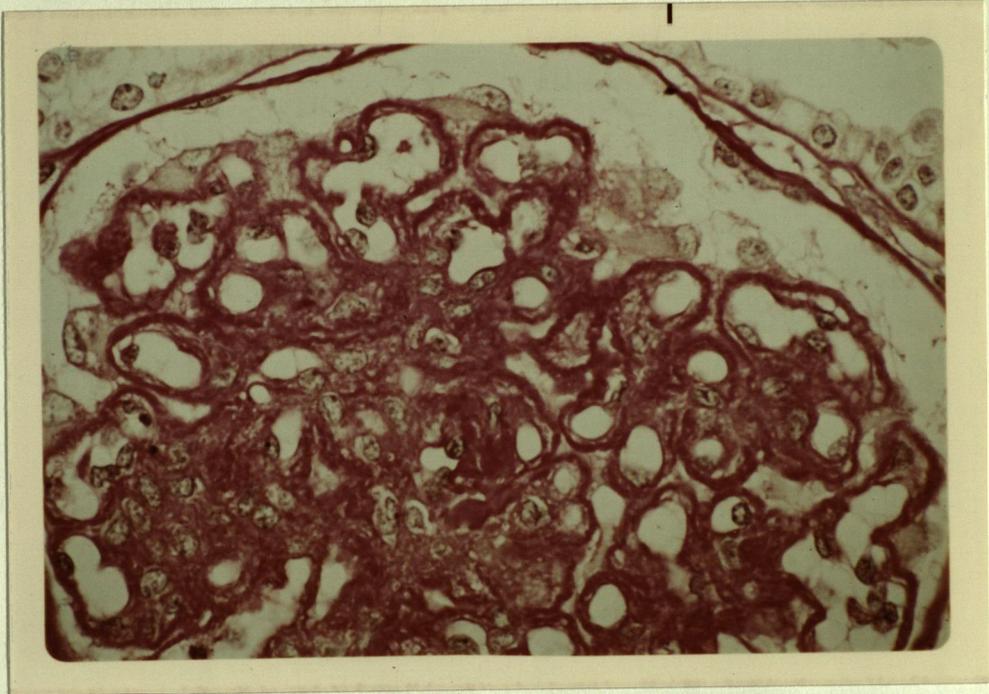
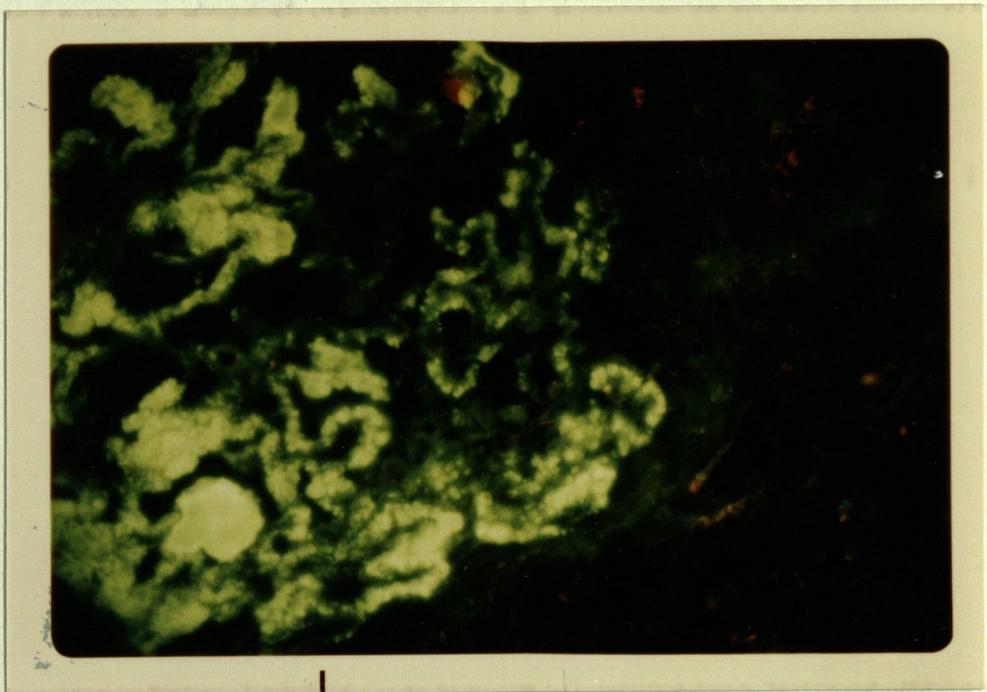


Imagen de la membrana basal en "doble contorno" en una Glomerulonefritis mesangiocapilar. (PAS, x400)



Intensa fijación de depósitos granulares de IgG en la membrana basal engrosada de una Glomerulonefritis mesangiocapilar. (x400)

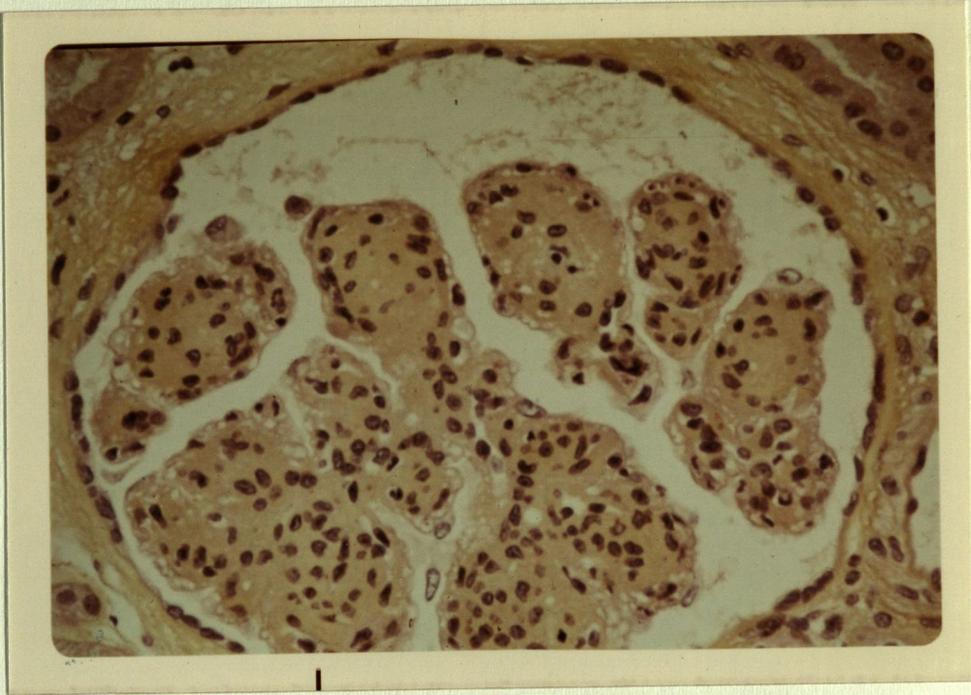
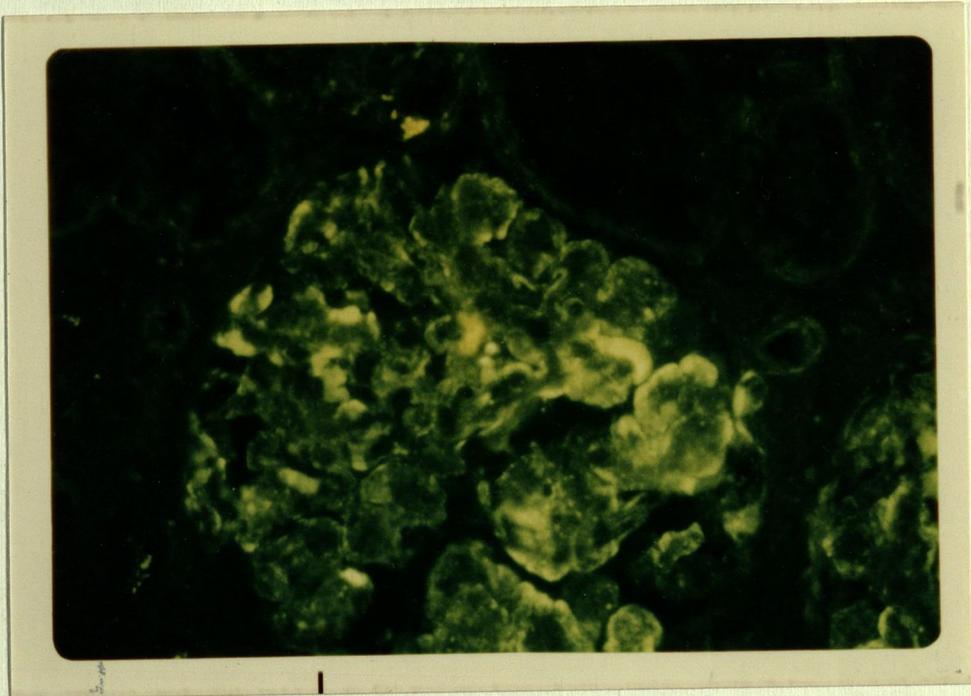
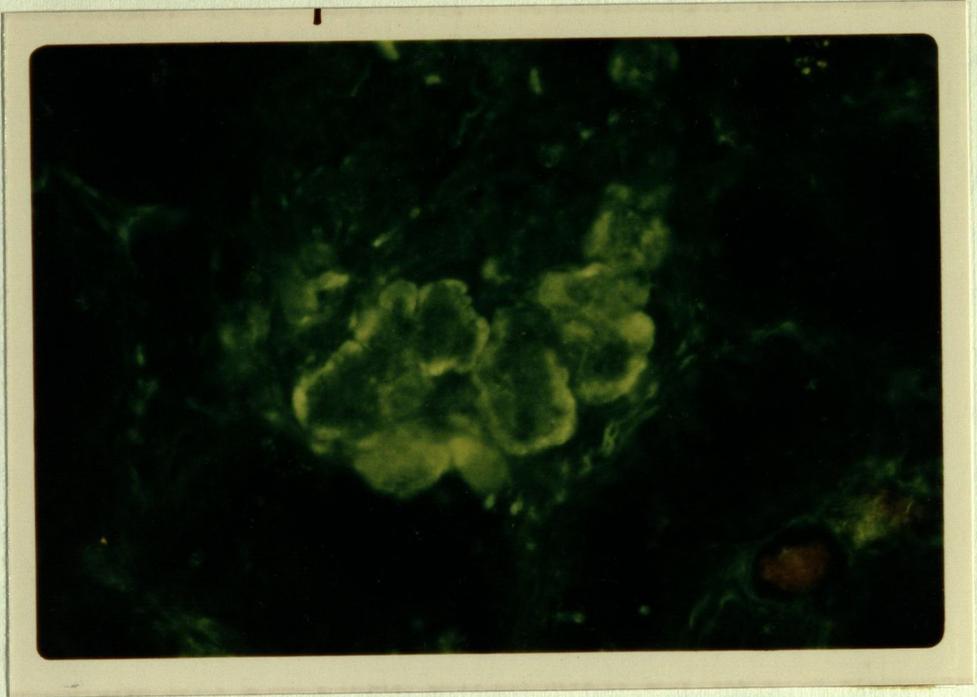


Imagen lobular de una Glomerulonefritis mesangio-
capilar. (H.E. x200)



Fijación de C3 en una Glomerulonefritis mesangioca-
pilar. (x200)



Fijación de fibrinógeno en una Glomerulonefritis
membrano-proliferativa, (x 200).

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 una de ellas fue la típica imagen fluorescente la que hizo reconsiderar mas detenidamente la impregnación argéntica hasta localizar las espículas extramembranasas 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 nodulos gruesos; 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

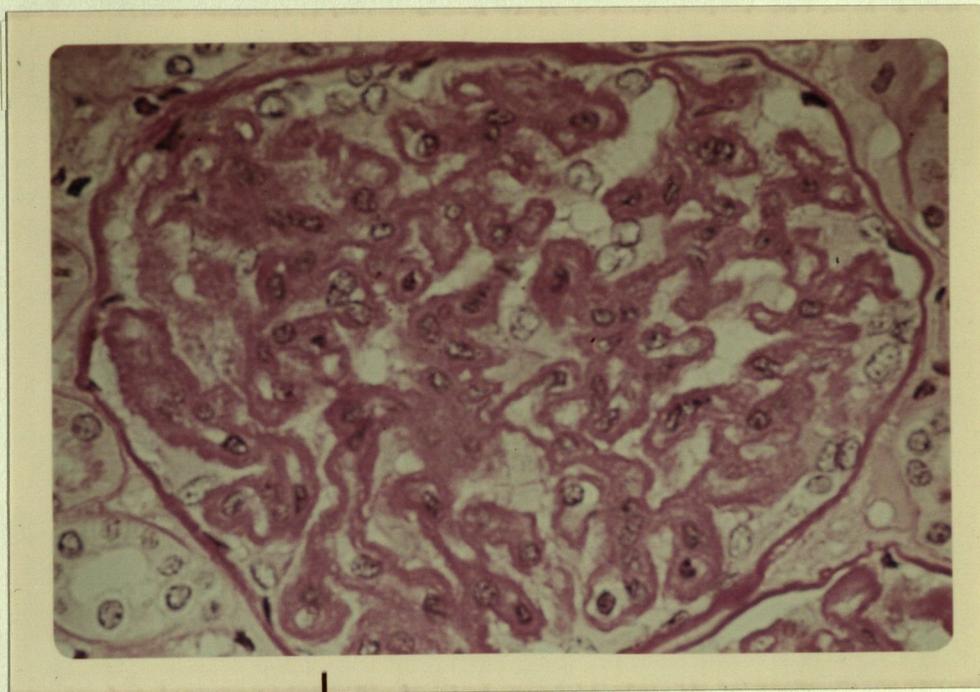
antes mostró claramente una glomerulonefritis extramembranosa (sin control para inmunofluorescencia) que coincidía con un síndrome nefrótico asociado a antígeno Australia positivo. En la actualidad aunque persiste el Ag Au positivo no hay evidencia biológica ni morfológica de nefropatía.

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

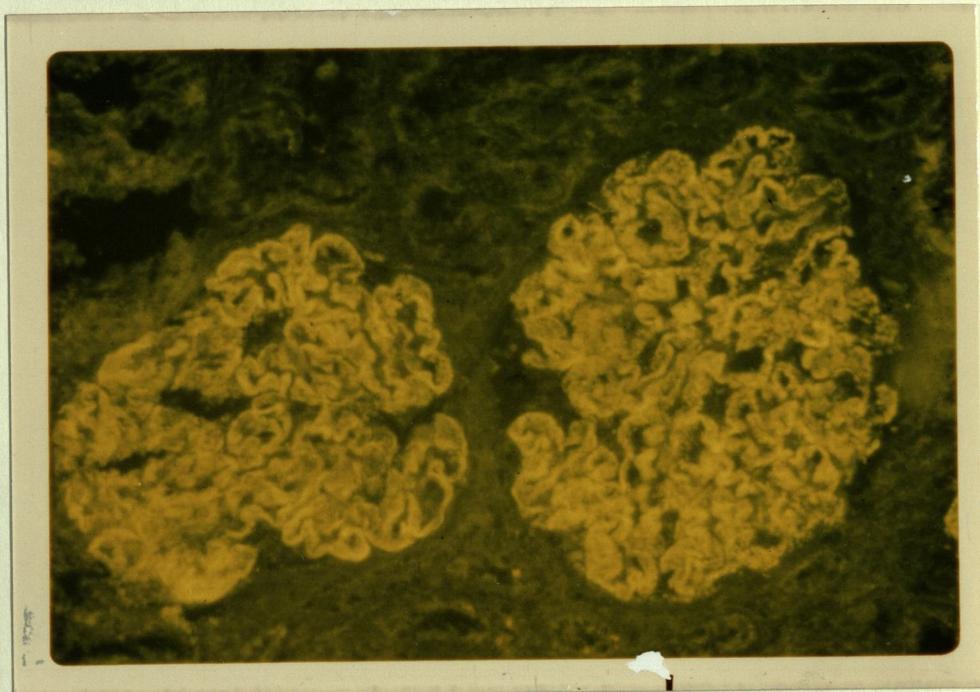
En todos los casos el motivo de estudio fue el hallazgo de una proteinuria que en tres casos se acompañaba de síndrome nefrótico florido y en otro de insuficiencia renal (la correspondiente al estadio III-IV).

INMUNOFLORESCENCIA
GLOMERULONEFRITIS EXTRAMEMBRANOSA

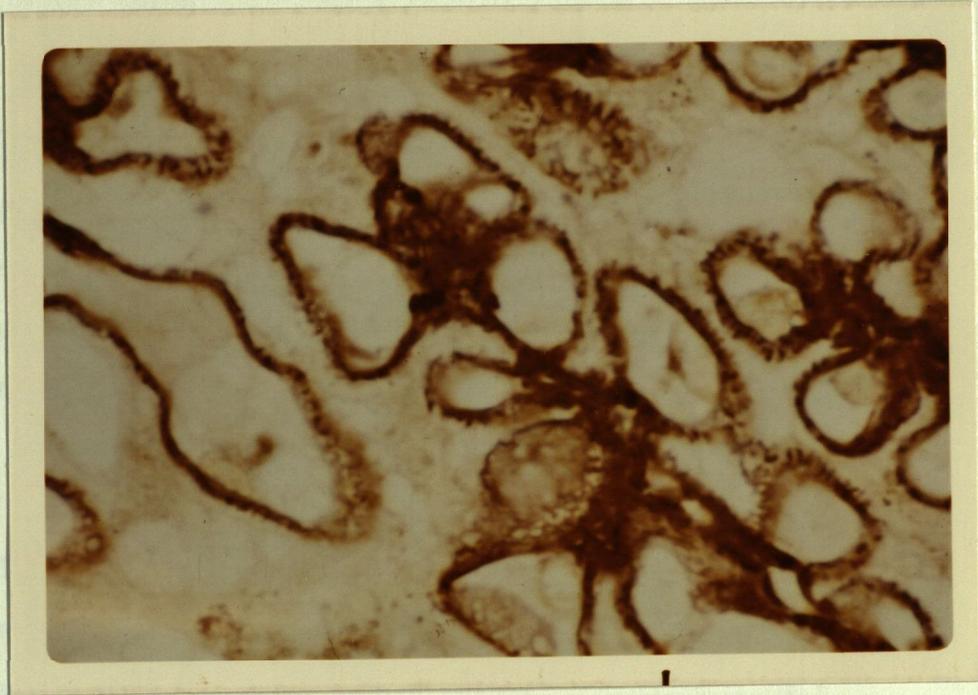
Paciente	Distribución y caracter		C3	IgA	IgG	IgM	F
2							
21	G-D	b-g(1)	+++		+++	•	++
58	G-D(S)	b-g	+++		+++	±	
77	F-D	b-g(1)	++		+++	±	±
97	G-D	b-g	+++		+++		



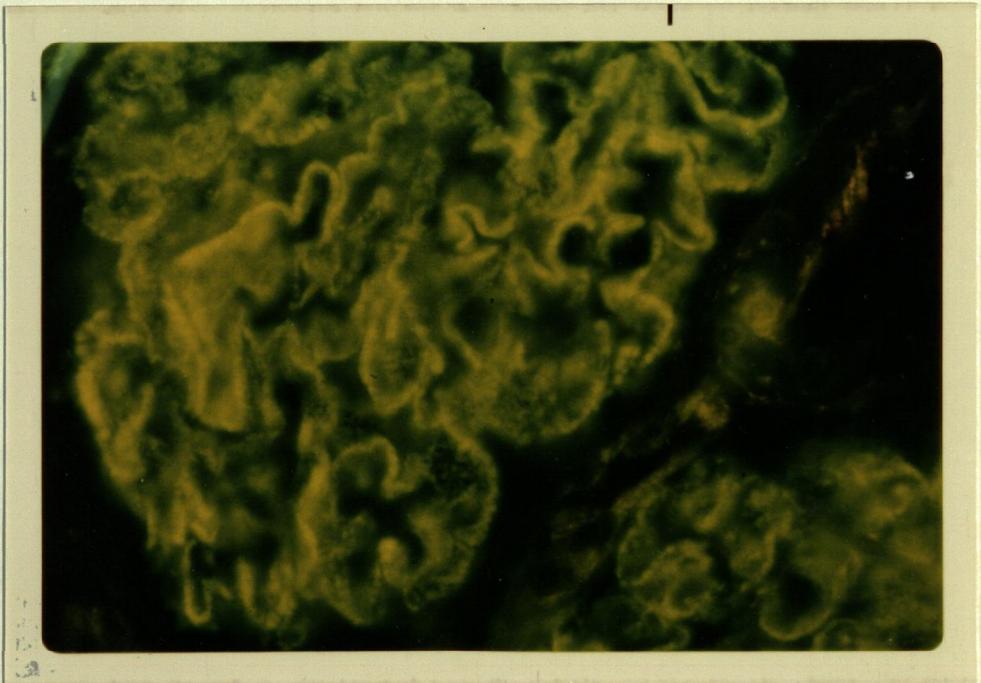
Engrosamiento homogéneo y difuso de la membrana basal con escasos cambios proliferativos en una Glomerulonefritis extramembranosa con tinción de PAS. (x 400)



Aspecto de la intensa fijación de C3 granular en el mismo caso (x 200)



Ribeteado argirófilo de una glomerulonefritis extramembranosa con tinción argéntica. (x 1000)



Claros depósitos granulares de IgG en la vertiente extramembranosa y ubicados entre las espículas argirófilas de la imagen anterior. (X 500)

GLOMERULONEFRITIS ASOCIADA AL LUPUS ERITEMATOSO DISEMINADO

Se efectuó este diagnóstico cuando la asociación de una nefropatía a datos clínicos (fiebre, poliartralgias, 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.

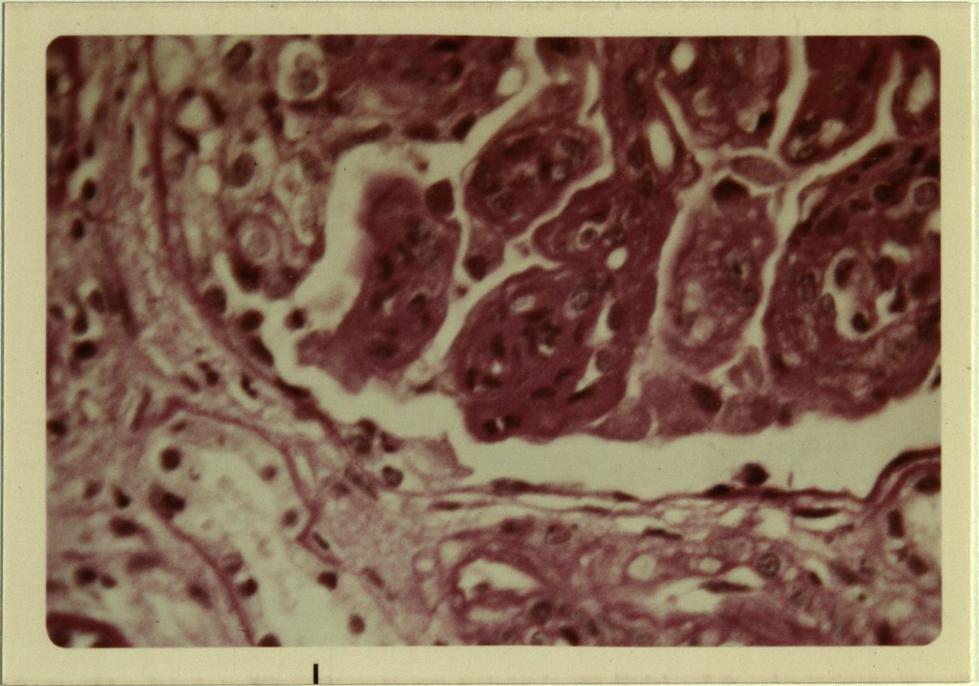
Las lesiones glomerulares eran muy variables y mostraban desde lesiones "mínimas" hasta varios grados de glomerulitis proliferativa, glomerulonefritis segmentaria y focal, difusa y focal, difusa y generalizada, proliferación epitelial, necrosis focal, lesiones membrano proliferativas y en casos avanzados 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 carácter de los depósitos era siempre granular y ocasionalmente a fino 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.

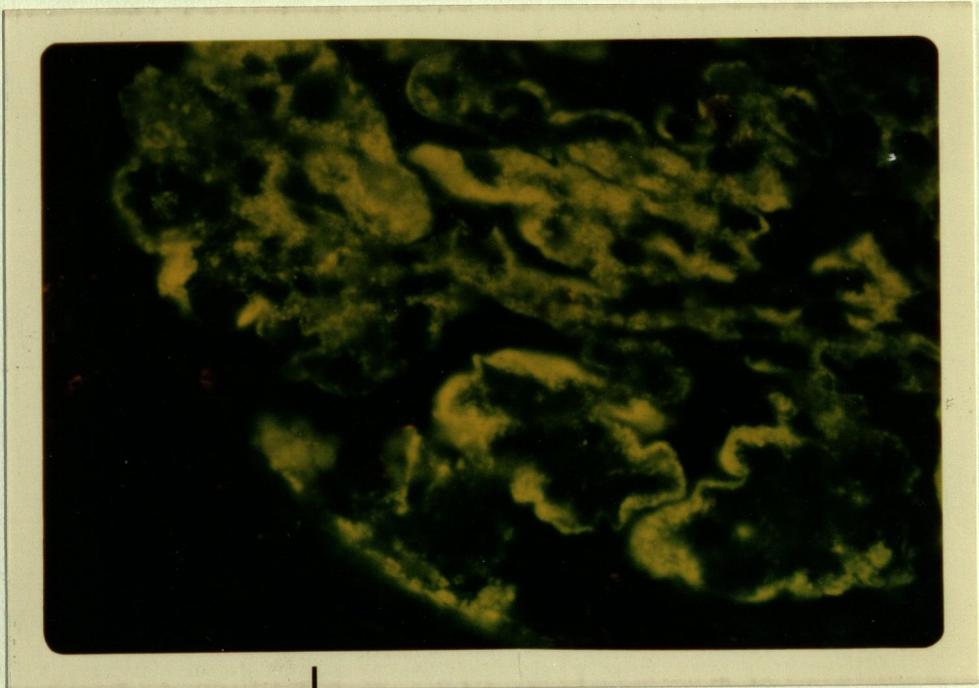
La biopsia que no mostró fijación alguna de inmunosueros pertenecía a una paciente en fase de remisión que había respondido a la corticoterapia con negativización de las células LE y de la proteinuria y función renal normal. La microscopía óptica mostraba mínimas alteraciones segmentarias y focales.

INMUNOFLOURESCENCIA
GLOMERULONEFRITIS DEL L.E.D.

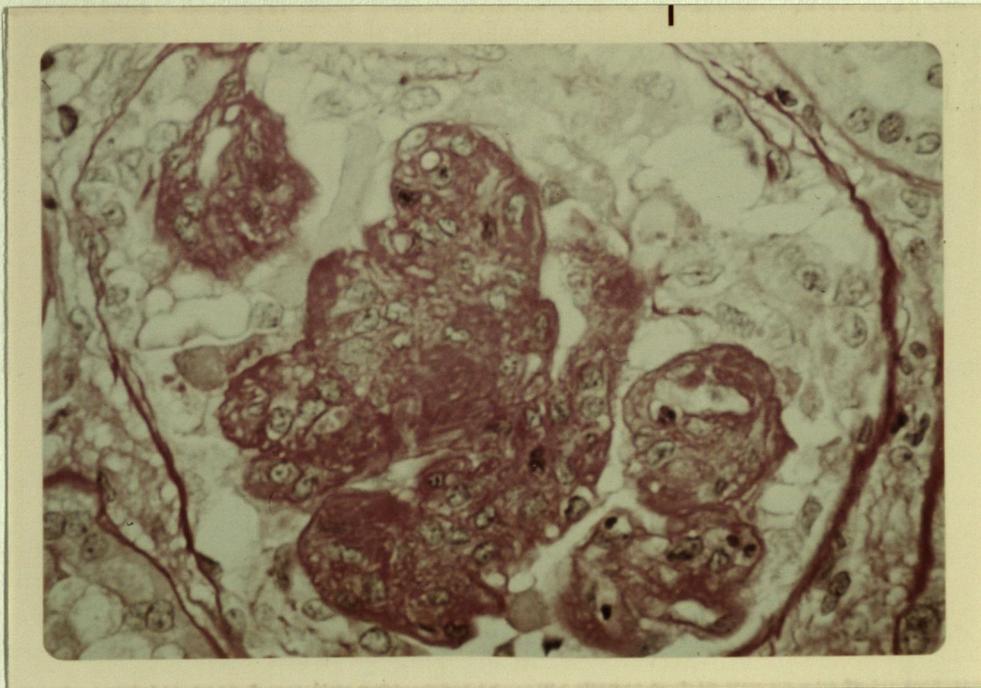
Paciente	Distribución y caracter		C3	IgA	IgG	IgM	F
7	D	b-g	<u>+</u> (+ +)	++	+++		
8	G-D	b-g		++	+	+++	
17							
26	G-D(S)	b-g	+	+	++	+	+
36	G-D	b-g	+			++	
40	GF-D(S)	b-g(1)	++		++	++	<u>+</u>
52	G-D(S)	b(m)-g	<u>+</u>	+++	++		+
57	G-D(S)	b-g	+++	<u>+</u>	+++	++	+
61	G-D(S)	bm-g(1)	+++	+	+++	<u>+</u>	
89	G-D(S)	b-g	+++	-	+++	+	++



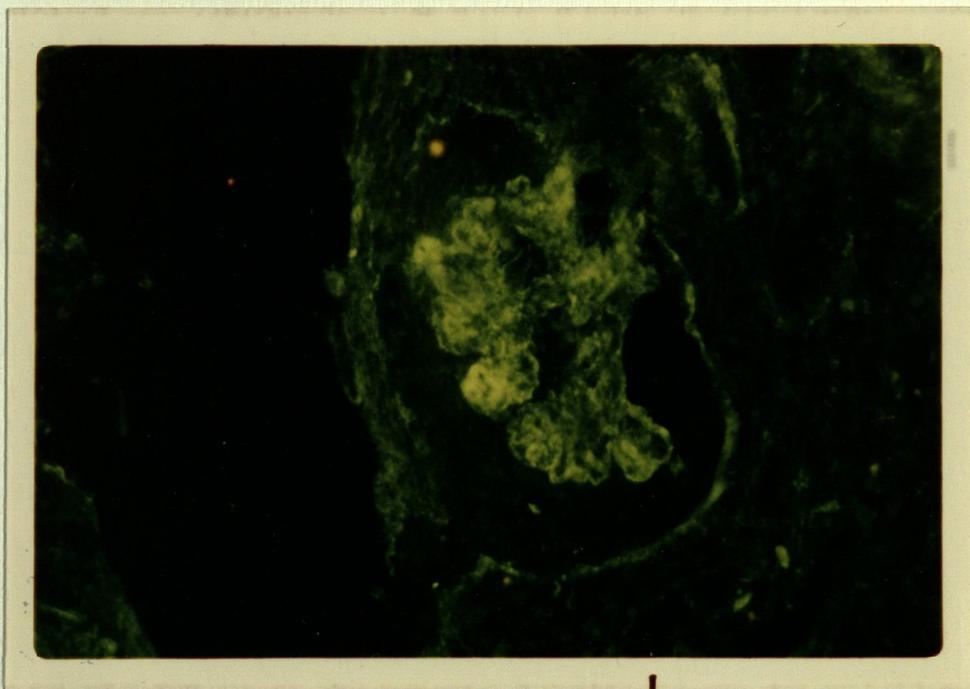
Glomerulonefritis lúpica con notables engrosamientos de la membrana basal y proliferación celular. (PAS, 400)



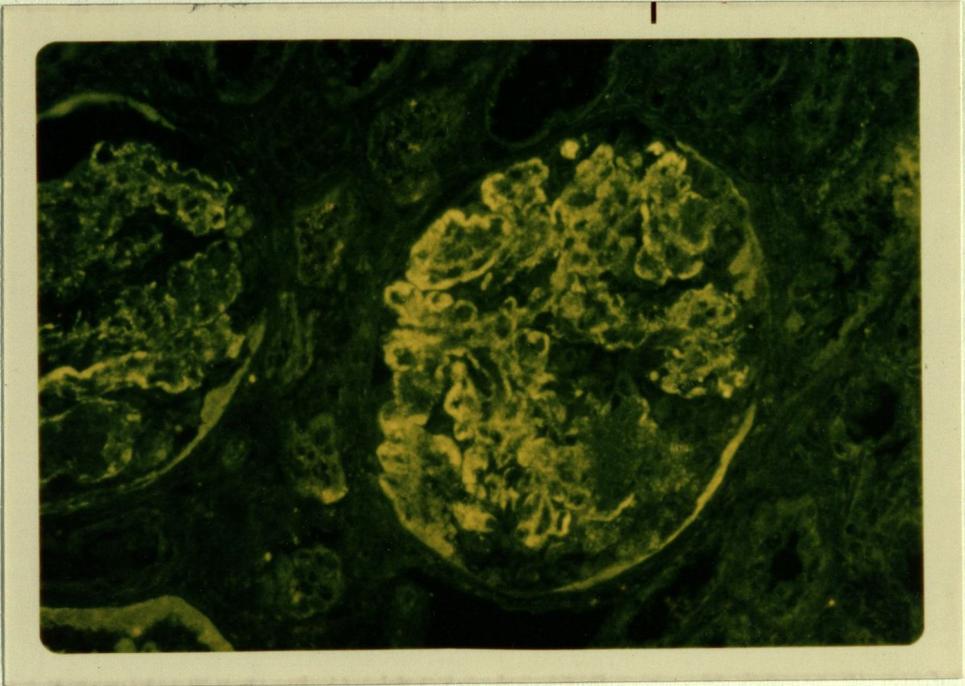
Fijación de IgG evidenciando los "wire loops" en una Glomerulonefritis lúpica). (x 400)



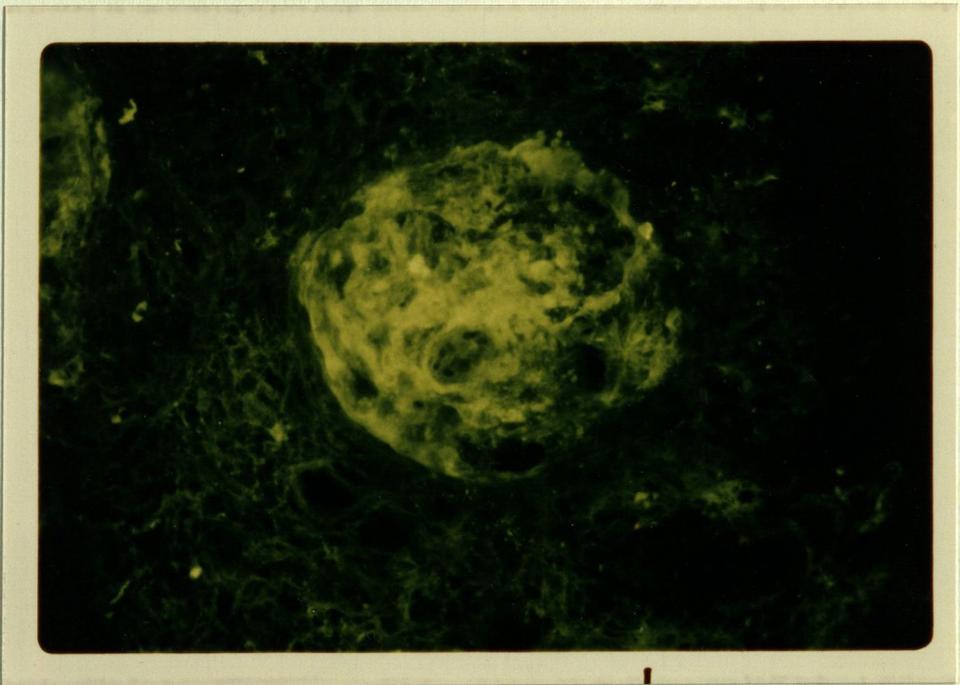
Glomerulonefritis lúpica con zonas de necrosis y proliferación epitelial. (PAS, x 400)



Flóculo con fijación de IgG rechazado por la proliferación epitelial en una Glomerulonefritis lúpica. (x 200)



Fijación de C3 en una Glomerulonefritis lúpica membranosa. (x 200)



Fijación de fibrinogeno en una Glomerulitis lúpica, (x 200).

**GLOMERULOPATIA CON CAMBIOS MINIMOS (o Síndrome Nefrótico
Opticamente Normal)**

En este grupo los glomerulos 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 linear 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 y 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 si relacionados con los glomerulos más hialinizados; los glomerulos 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.

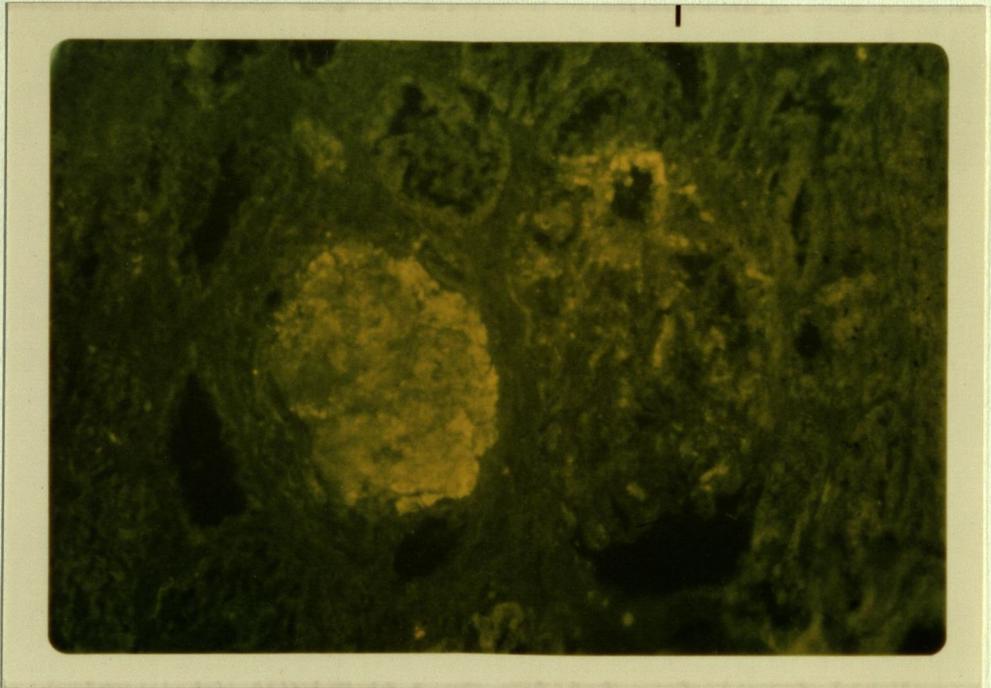
De los cuatro casos de nefroangioesclerosis maligna dos biopsias mostraron fijación intensa y focal en la pared de los vasos de mediano calibre con antisuero antifibrinógeno; los nódulos fluorescentes solían situarse en la región subendotelial y a veces abarcaba la totalidad de la circunferencia vascular;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

sia de una paciente sometida a hemodialisis periodicas por nefro-
angioesclerosis maligna.

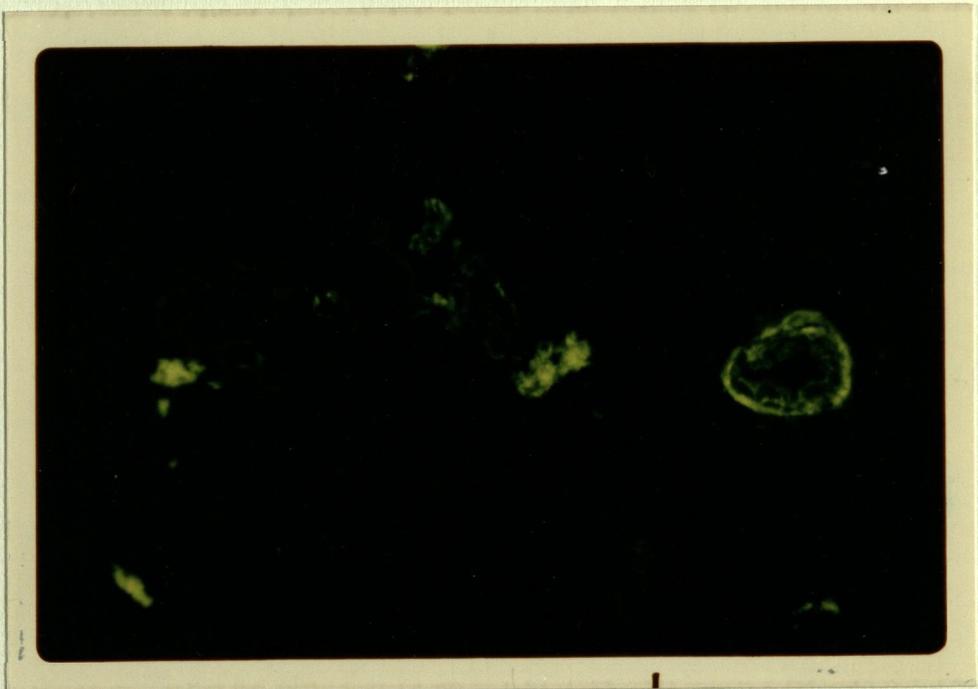
INMUNOFLUORESCENCIANEFROANGIOESCLEROSIS

Pacientes	Distribución y caracter		C3	IgA	IgG	IgM	F
4							
14	S		+				+
15							
24	F		+++				
27	Vascular		++				+
28		t1			++	++	
29							
33							
44	F-S	b-g	++			+	
56	Vascular G-S	b(m)	+++ ++	+++	+++		
65	Vascular		++		+		
71*	Vascular		+		++	++	+++
71* bis							
75*	Vascular F-S	g(t1)	+ +		+ ++	++ ++	+++
82	Vascular S		+ +			+	
83							
86		1			+		++
99*		t1			+		

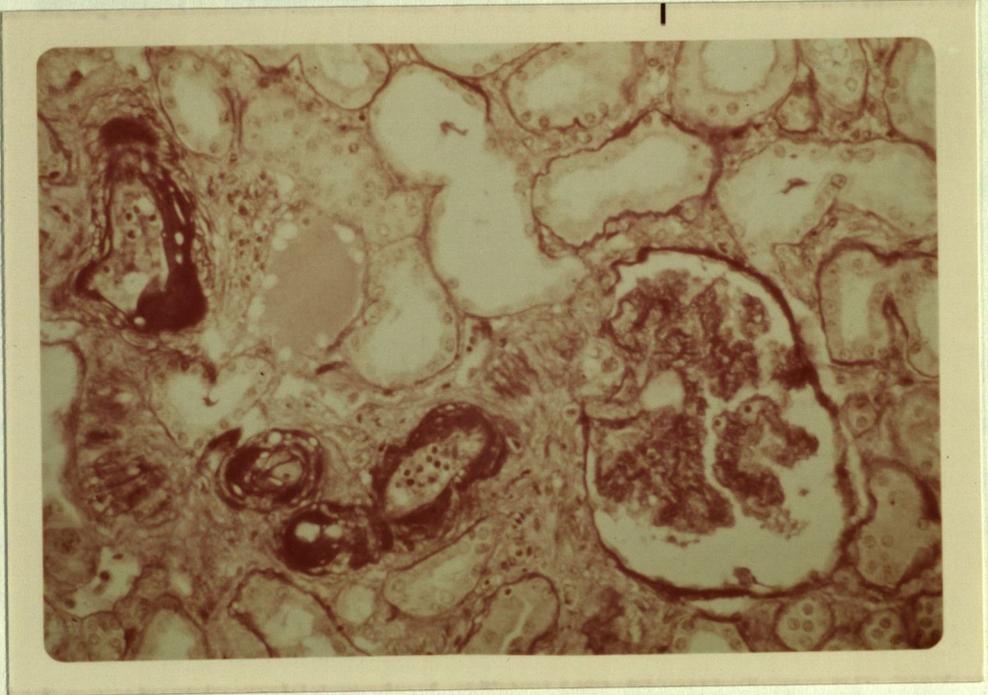
* Nefroangioesclerosis maligna



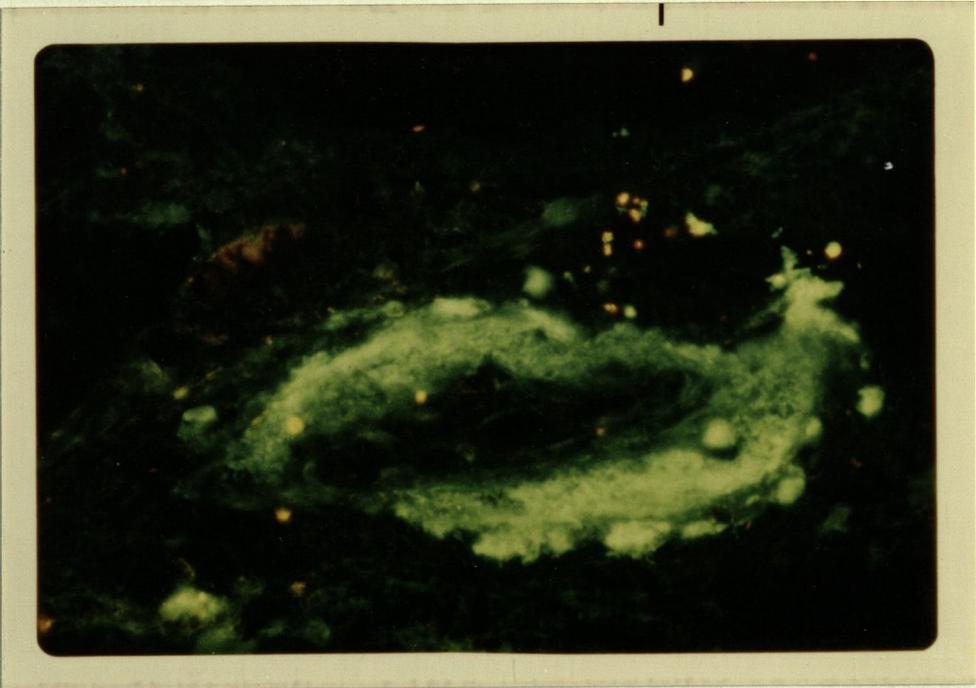
Nefroangioesclerosis. Fijación de C3 en un glomerulo esclerosado frente a la ausencia de fijación en un glomerulo conservado. (x 200)



Fijación de IgG vascular en la nefroangioesclerosis. (x 200)



Microangiopatía trombótica. (x 200)

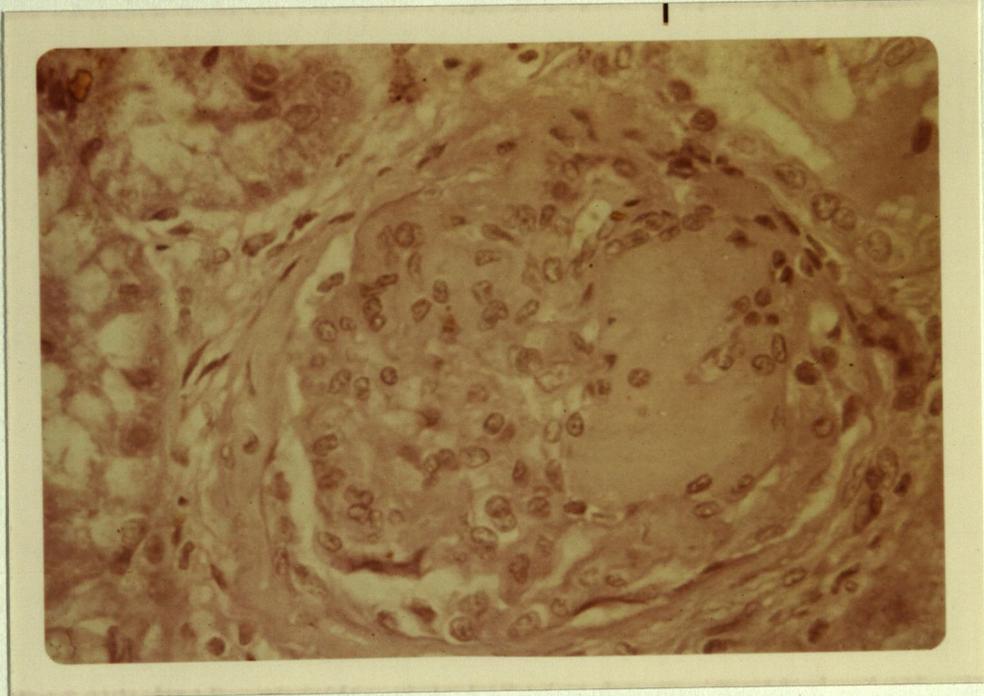


Fijación de IgG y Fibrinógeno en la misma enfermedad. (x 400)

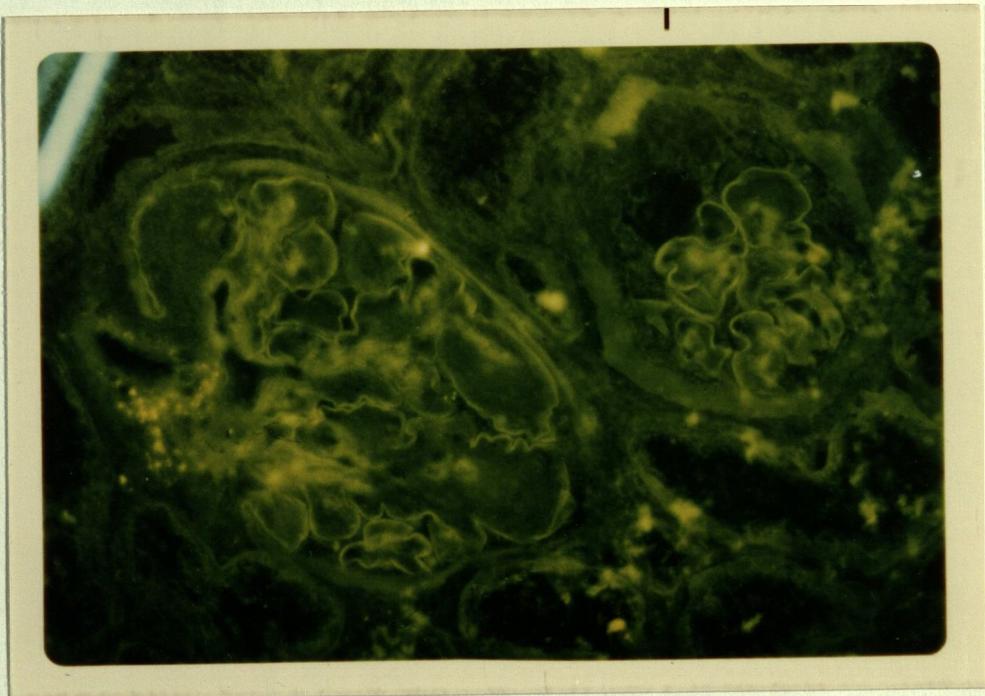
NEFROPATIA DIABETICA

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

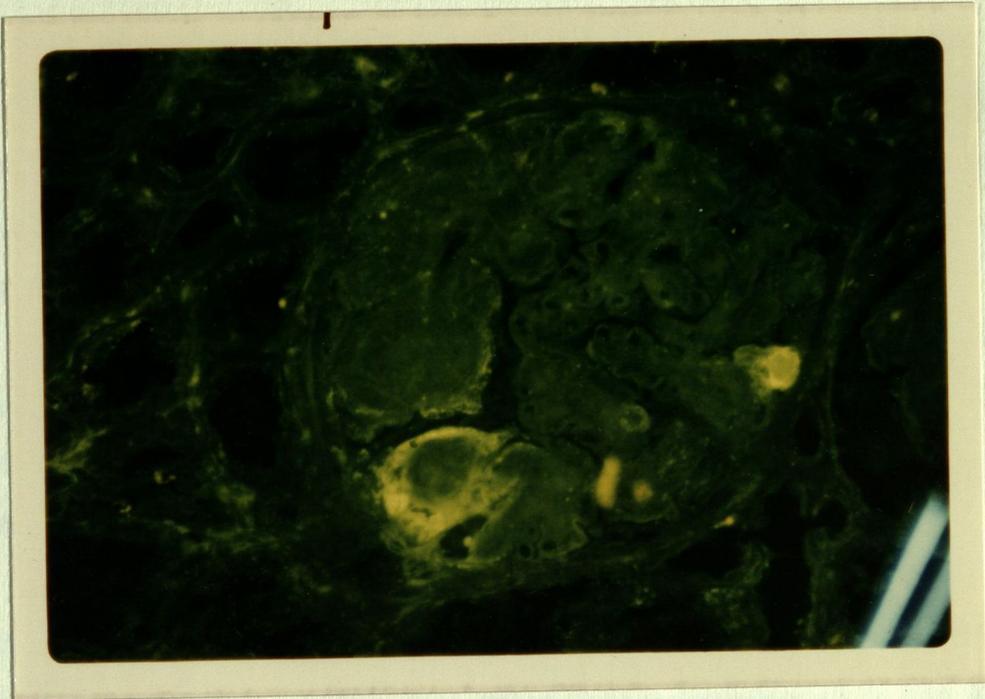
En uno de los dos pacientes no hubo fijación de inmunosueros mientras que el otro mostró una fina fijación lineal continua de IgG alrededor de los lobulillos glomerulares. Segmentariamente hubo fijación de fibrinógeno.



Glomeruloesclerosis nodular diabética. (x 200)



Fijación lineal de IgG en disposición perinodular de la biopsia anterior. (x 200)



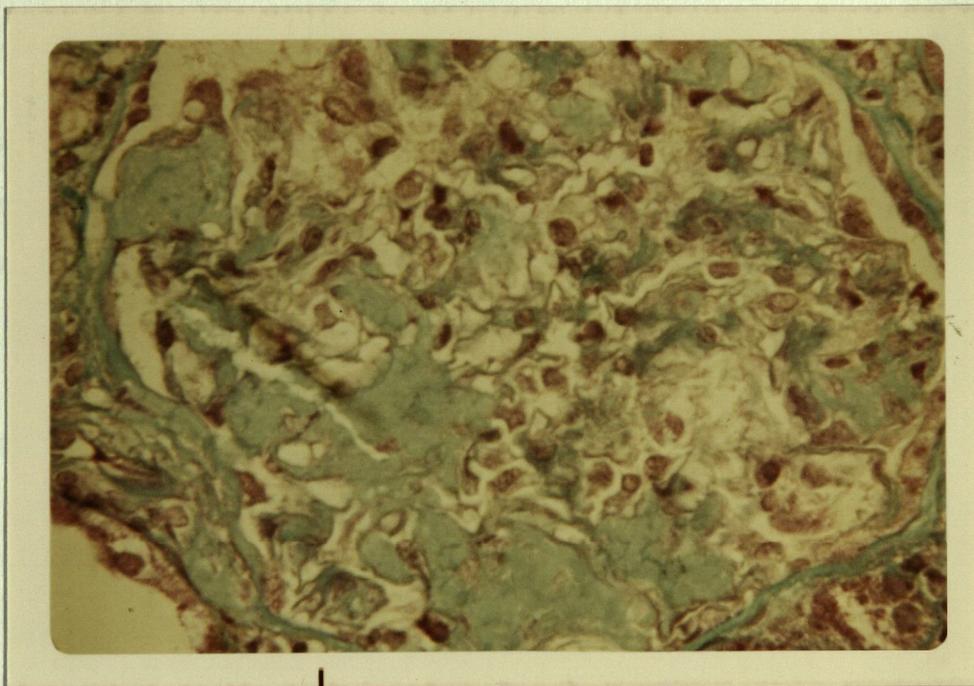
Fijación segmentaria de fibrinógeno en una Glomeruloesclerosis diabética, (x 200)

AMILOIDOSIS RENAL

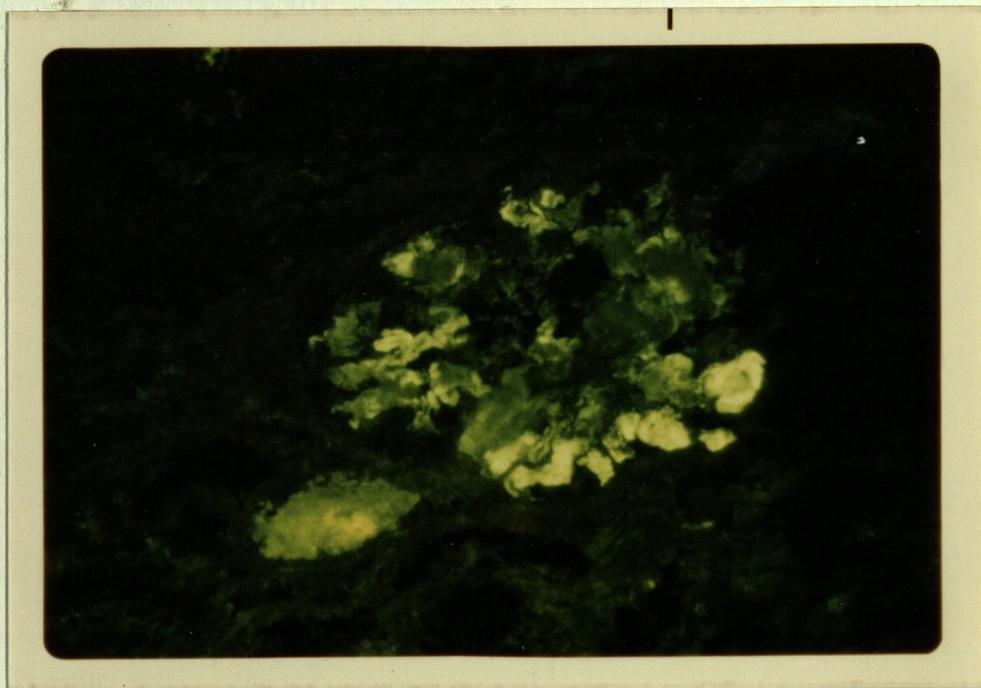
Llegamos a este diagnostico en dos biopsias renales en las que se podian apreciar claramente los depositos algodonosos típicos de la sustancia amiloide, a veces la estructura glomerular estaba completamente "borrada".

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

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



Amyloidosis renal. (PAS, x 400)



Fijación fluorescente de IgM de la sustancia amiloide. (x 200)

NEFROPATIAS DE DIFÍCIL CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA

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

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

80								
84	Vascular	b-g	++	(+)	±	+	(±)	±
85	Vascular	F-g		(+)	+	+		
88	Vascular	a-(n)	±	(+)	++	+		
90	F	b(n)			+	++	+++	
91								
94	G-S	b-g	+		+++	++	±	+

() Vascular



NEFROPATIAS DE DIFÍCIL CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA

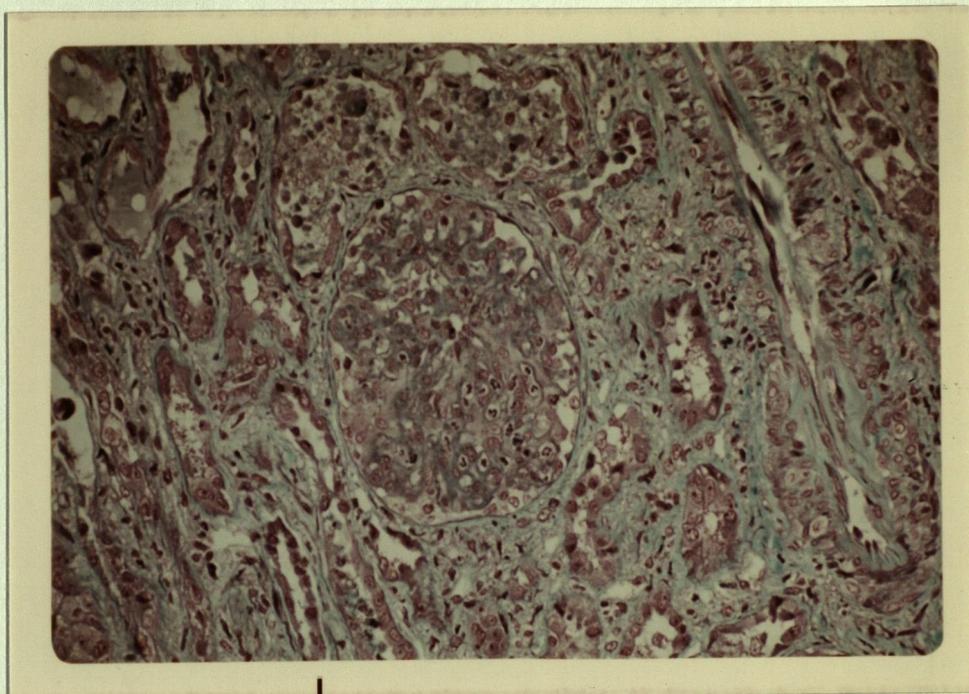
Comprenden este apartado dieciocho biopsias renales que bien por insuficiente número de glomerulos, bien por lesiones histológicas difíciles de caracterizar o en cantidad mínima, fué imposible clasificar en un diagnóstico anatómo-patológico preciso, en todos los pacientes había algún signo de nefropatía.

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, 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.

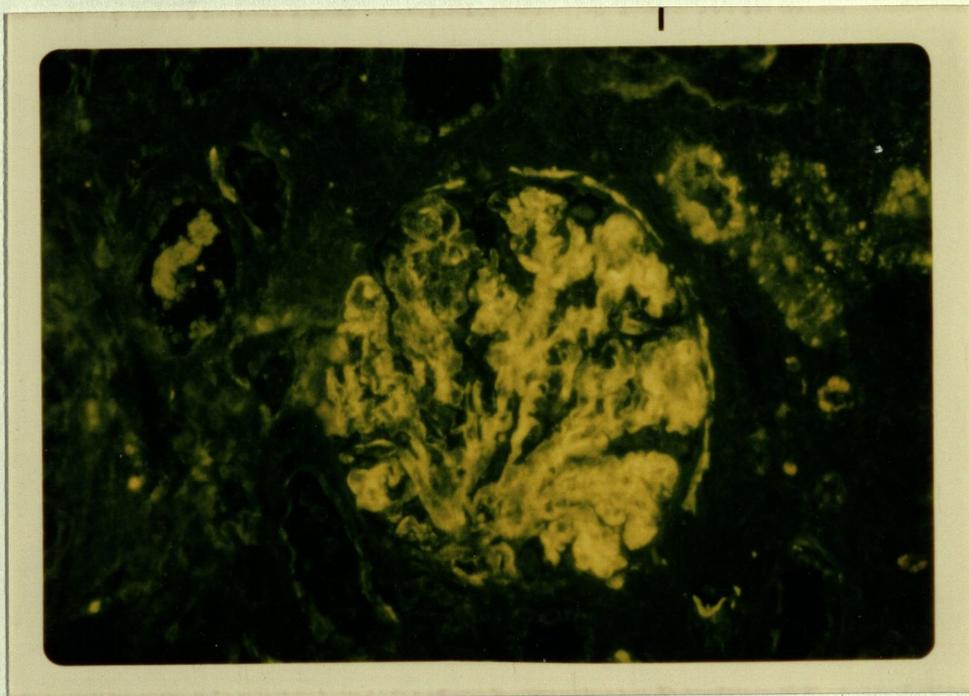
INMUNOFLUORESCENCIANEFROPATIAS DE DIFICIL CLASIFICACION

Paciente	Distribución y caracter		C3	IgA	IgG	IgM	F
18							
34							
41							
46	G-D	b-g	+++				
50							
67	G-D	b-g	+	++	+++		
72	Vascular						(+ +)
73							
74							
78	Vascular	1	(±)		(±)		
79							
80		1				±	
84	Vascular G-S	b-g	++ (+)		±	+ (±)	±
85	Vascular F-S	1	(±)		+	+	
88	Vascular F	b-(m)	± (+)		++	+	
90	F	b(m)		+		++	+++
91							
94	G-S	b-g	+	+++	++	±	+

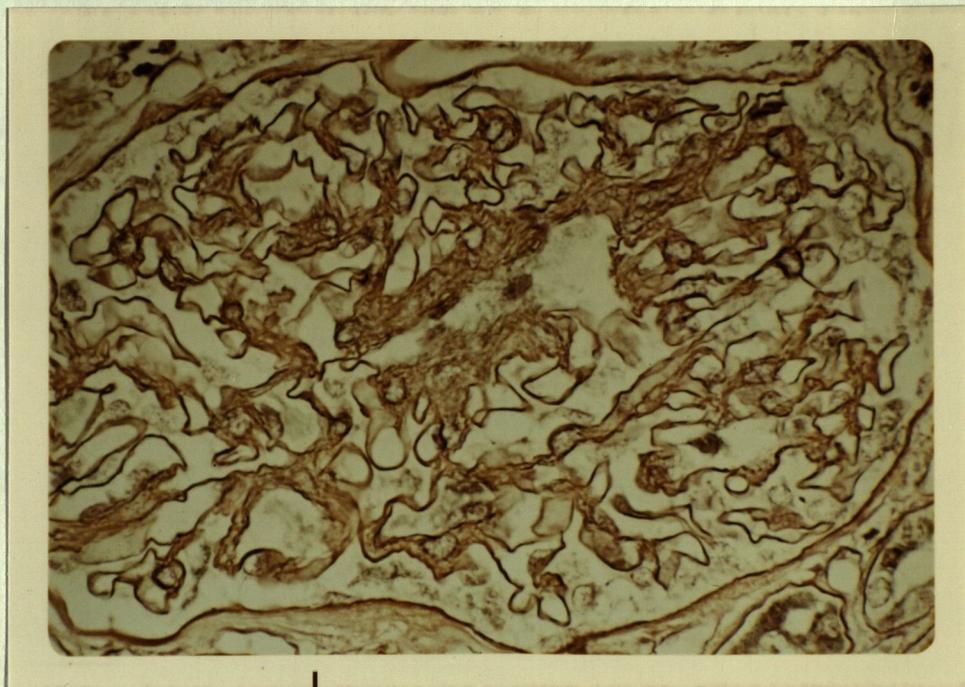
() Vascular



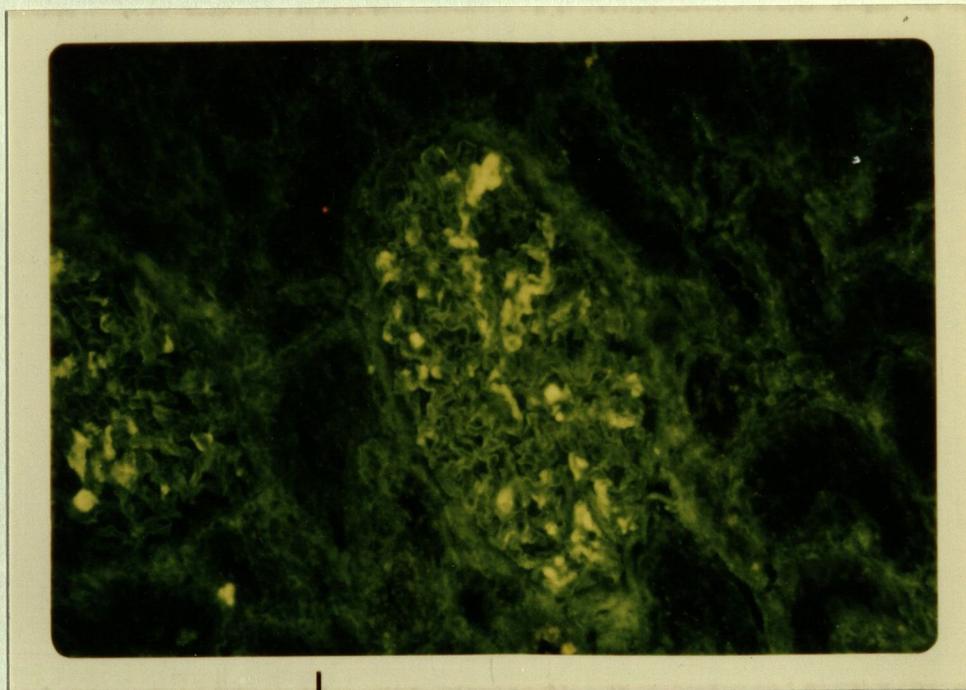
Biopsia de difícil clasificación con infiltración leucocitaria, discreta proliferación endotelial y engrosamientos irregulares de la membrana basal. (x 200)



Importante fijación de C3 de la biopsia anterior. (x 200)



Cambios mínimos en forma de dudosos engrosamientos mesangiales y alguna membrana basal "irregular". (x 400)



Fijación de IgG en el mesangio y algunas asas capilares que dan valor a las alteraciones "mínimas" de la microscopía óptica. (x 200)

OTRAS NEFROPATIAS

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

Tambien resultó negativa la inmunofluorescencia en: una TUBULOPATIA TOXICA, una NEFROPATIA POST-IRRADIACION, una SARCOIDOSIS RENAL y en un RIÑON DEL MIELOMA.

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

En una biopsia la presencia de IgM y de C3 en distribución segmentaria y focal confirmó el diagnóstico de HIALINOSIS SEGMENTARIA Y FOCAL.

INMUNOFLORESCENCIA RENALLESIONES MINIMAS

Paciente	características	C3	IgA	IgG	IgM	F
20						
38						
39						
87	1(t1)	+		+	+	

Nefropatia diabética

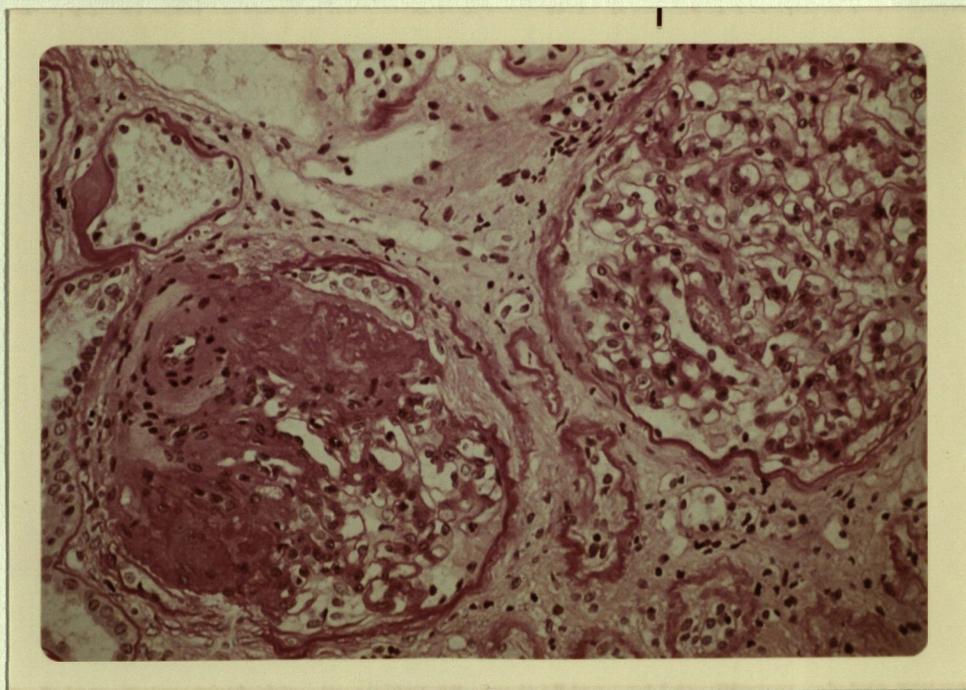
16						
48	1-b			+		+

Amiloidosis

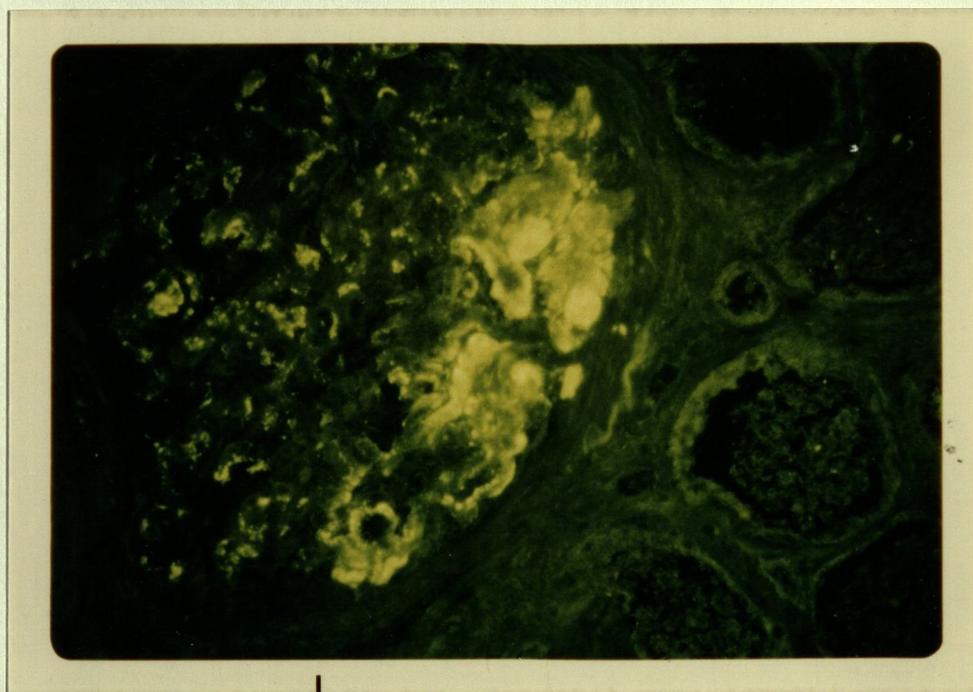
37	nodular	++	+	+	+++	
43						

Otras

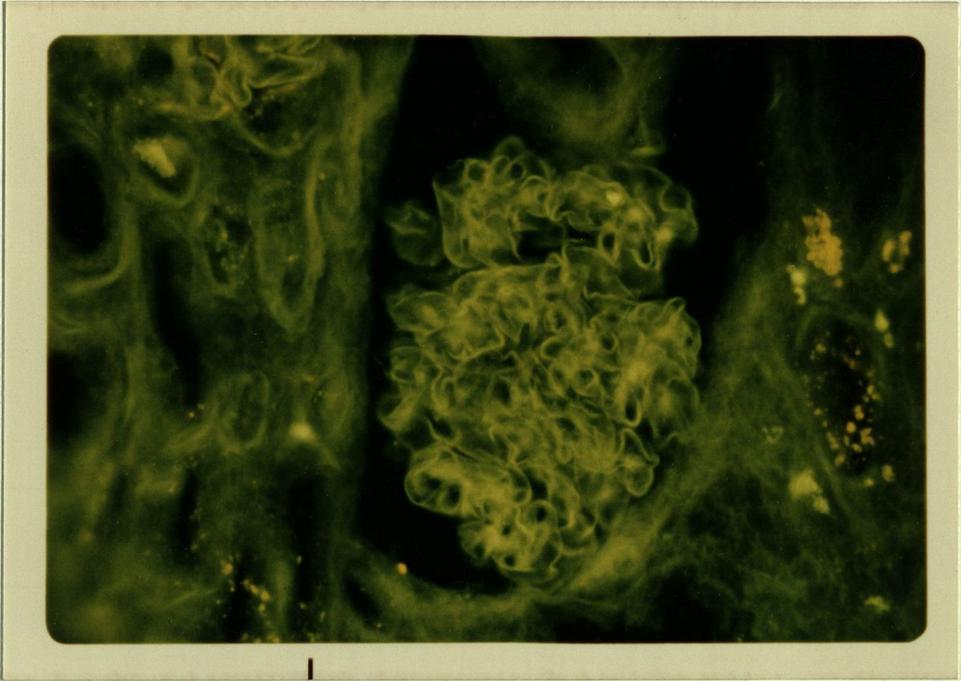
30	N. Tubul. Int. Aguda	NO FLUORESCENCIA				
63	Mieloma	"				
92	Tóxico tubular	"				
93	Sarcoidosis	"				
95	N. Irradiación	"				
59	Riñón normal	"				
66	Riñón normal	"				
68	Riñón normal (x 400)	"				
76	Riñón normal	"				
101	Hialinosis segmentaria y focal	IgM y C3				(SyF)



Hialinización segmentaria y focal. (PAS, x 200)



Semejante fijación de C3 e IgM confirma el diagnóstico anterior. (x 400)



Fijación claramente lineal de IgG en una nefropatía tubular tóxico medicamentosa (difícil interpretación). (x 400)

DISCUSION

(El objeto de la discusión del presente trabajo se halla recogido en la parte teórica de este estudio).

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 fué 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 tributaria; sin embargo en muchas ocasiones es preciso conjuntar a esta misión los datos clínicos y de laboratorio para establecer el diagnóstico completo.

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 anatomo-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, 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 glomerulos aparecen "casi normales" por microscopia optica, aporta un dato a la vez tan elemental como fundamental como es el de la existencia o no de nefropátia; 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.

CONCLUSIONES

I) GLOMERULONEFRITIS AGUDA DIFUSA

- 1) De las nueve biopsias renales estudiadas con Glomerulonefritis aguda difusa en 5 hay un franco predominio de fijación de C3 e IgG.
- 2) El aspecto de los depósitos es siempre granular, difuso y generalizado siguiendo la membrana basal glomerular.
- 3) Cuando hay proliferación epitelial, ésta no fija fluorescencia y rechaza al flóculo fluorescente.
- 4) Las biopsias con abundante proliferación epitelial fijan poco C3.
- 5) La fijación de fibrinógeno no guarda relación con la severidad morfológica de las lesiones.
- 6) Ausencia de IgA e IgM en las Glomerulonefritis agudas difusas.

II) GLOMERULONEFRITIS FOCAL

1) De cinco biopsias calificadas con el microscopio óptico de Glomerulonefritis Focal, tres pertenecían al Síndrome de Schönlein-Henoch y en estas había una fijación de IgA y Fibrinógeno en cantidades superiores a las de otras nefropatías.

2) La fijación de C3 en los tres casos de Sínd. de Schönlein-Henoch fue poco intensa.

3) En la Glomerulonefritis focal idiopática la fijación de C3 fue intensa, la de IgA moderada y la de fibrinógeno escasa.

4) En un caso coincidente con una angitis alérgica la fijación de IgA fue escasa y la de C3 y Fibrinógeno notable.

5) Frente al carácter focal de las lesiones vistas por el microscopio óptico la inmunofluorescencia muestra fijaciones generalizadas y difusas con refuerzos segmentarios. Siempre de carácter granular en la membrana basal y ocasionalmente en el mesangio.

III) GLOMERULONEFRITIS MEMBRANO-PROLIFERATIVAS

- 1) Las 18 biopsias calificadas de Glomerulonefritis membrano-proliferativas dan patrones de fijación predominante de C3 e IgG.
- 2) En menor e inconstante cantidad fijan IgA, IgM y Fibrinógeno.
- 3) La fijación es generalizada, granular gruesa y mas acentuada en la periferia de los lobulillos.
- 4) No hay correlación alguna entre el nivel de complemento sérico y la intensidad de su fijación en el glomérulo.

IV) GLOMERULONEFRITIS EXTRAMEMBRANOSA

1) La inmunofluorescencia de las cuatro biopsias con glomerulonefritis extramembranosa aporta los "datos decisivos y casi exclusivos" para su diagnóstico, al evidenciar:

2) Característicos y finos depósitos granulares distribuidos homogéneamente a lo largo de "toda" la membrana basal glomerular.

3) Fijación de C3 e IgG por orden de intensidad.

V) GLOMERULONEFRITIS ASOCIADA AL L.E.D.

- 1) De 10 biopsias estudiadas y sugestivas de L.E.D., 9 fijaron inmunosueros y de ellas 6 fijaban simultáneamente C3 e IgG.
- 2) Una biopsia mostró fijación de IgG en ausencia de C3.
- 3) La IgM estuvo ausente en 3 biopsias, la IgA en 4 y el Fibrinógeno en 6.
- 4) En todos los casos los depósitos fueron generalizados y parietales y en tres había además depósitos mesangiales.
- 5) El caracter de los depósitos fue siempre granular y ocasionalmente a trayectos lineales.
- 6) Sólo un caso mostró fijación vascular de C3.
- 7) Durante la fase de remisión (un caso) no hubo fijación de inmunosueros.

VI) GLOMERULOPATÍA CON LESIONES MINIMAS

- 1) Ausencia total de fijación de antisueros fluorescentes.**
- 2) Dato diferencial contundente que lo diferencia de la Glomerulonefritis extramembranosa en su fase inicial.**

VII) NEFROANGIOESCLEROSIS

- 1) De 18 biopsias con Nefroangioesclerosis 4 mostraban fijación focal y segmentaria de C3 a grandes nodulos sin relación con la membrana basal.
- 2) Los glomerulos más conservados no fijan inmunosueros.
- 3) En 4 casos hubo mínima fijación de IgM e IgG de tipo lineal en la membrana basal.
- 4) Dos casos fijaron Fibrinógeno en el flóculo glomerular.
- 5) De tres pacientes con Nefroangioesclerosis Maligna todos mostraron intensa fijación de Fibrinógeno en la luz y paredes vasculares e IgG en la pared vascular.

VIII) NEFROPATÍA DIABÉTICA

1) En el caso de clara Glomeruloesclerosis difusa no hubo fijación de inmunosueros.

2) En el otro caso hubo una característica e inconfundible fijación lineal de IgG alrededor de nodulillos; este último dato hizo suponer una glomeruloesclerosis nodular en fase inicial aún cuando por el microscopio óptico no se apreció tal morfología.

IX) AMILOIDOSIS

- 1) De dos biopsias una no mostró fijación alguna.
- 2) La otra biopsia fijó nodulos de C3 e IgM siguiendo la distribución de la sustancia amiloide.

X) NEFROPATIAS DE DIFÍCIL CLASIFICACION

Comprenden este grupo 20 biopsias renales:

- 1) De ellas sólo 7 mostraban fijación inmunofluorescente.
- 2) De estas 7, seis sin un patrón característico correspondían a pacientes con proteinuria y/o hematuria sin insuficiencia renal.
- 3) Una de las 7 biopsias evidenció el caracter segmentario y focal de la fijación de IgM y C3 confirmando el diagnóstico de Hialinosis segmentaria y focal.
- 4) Las nefropatías sin fijación fluorescente correspondían o bien a pacientes con datos equívocos de nefropatía sin insuficiencia renal o a pacientes con insuficiencia renal y lesiones de nefropatía crónica sin cambios proliferativos.

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 a 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 glomerulo ha sido más evidente en nefropatías vasculares (nefroangioesclerosis) predominando la IgG y luego la IgM. Ocasionalmente el fibrinógeno se ha encontrado en fijación linear interrumpida en varias nefropatías. Tambien se ha encontrado fijación linear de IgG y de 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 ido asociada a pacientes con normofunción renal cuya presentación era la de una proteinuria y/o hematurias aisladas. La ausencia de inmunofluorescencia se correspondia con lesiones más avanzadas aunque inespecíficas que implicaban insuficiencia renal.
- J) En un caso de notables alteraciones glomerulares e inmu-

nofluorescencia negativa nos ha servido para confirmar el diagnóstico de síndrome de Alport.