

## Nefropatología (431 - 439)

**431 PAPEL MEDIADOR DE LA ENDOTELINA (ET) -3 EN LA NEFROTOXICIDAD POR CICLOSPORINA (CsA) EN RATAS CON DIETAS DESPROVISTAS DE SODIO.**

D. Aguilar, C. Ramírez-Tortosa, M. Andujar, M.J. García-Chicano, A. Olrío, M.T. Medina-Cano, F. O'Valle, R. García del Moral.

S. de Anatomía Patológica H. Clínico (Granada) y \*General Básico de Baza (Granada)

1.- INTRODUCCIÓN. El papel del sistema de las endotelinas en el control del sodio es controvertido, discutiéndose su acción en modelos animales de nefrotoxicidad crónica por CsA con dietas desprovistas de sodio.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS. Se establecieron tres grupos de ratas Sprague-Dawley (CsA(n=40)=Se le administró la droga 25mg/kg/día disuelta en propileglicol (PLG); PLG(n=20)=Se le inculó el disolvente; SF(n=20)=Sólo se usó suero fisiológico). Cada grupo se subdividió a su vez en dos: dieta normal vs dieta desprovista de sodio. Las sustancias se administraron mediante bomba de infusión osmótica implantada en el lomo del animal. La experiencia duró dos meses. De cada rata se obtuvo un control analítico sanguíneo (suero y plasma) y urinario, practicándose finalmente la autopsia con extracción del riñón para estudio histológico convencional, IHC (expresión glomerular de ET 1 y 3), cuantificación automática de la fibrosis y biología molecular (Northern blot, ARNm de la ET 1 y 3).

3.- RESULTADOS. A nivel analítico se observó una alteración de la función renal dependiente tanto del tipo de tratamiento como de la dieta utilizada (Cr sérica [p<0.05 para tratamiento y dieta, sin interacción de ambas, ANOVA 2]). A nivel morfológico se observó una mayor lesión (atrofia tubular, dilataciones quísticas, vacuolización y fibrosis) estadísticamente significativa en los grupos tratados con CsA y agravada por la no ingesta de sodio. Tanto la expresión glomerular de ET-3, como el ARNm de la misma estaba estadísticamente significativamente incrementado en los grupos tratados [p=0.07 Kruskal-Wallis para el glomérulo y p<0.0001 ANOVA para el RNAm], observándose una interacción entre el tipo de tratamiento y dieta [p=0.0037 ANOVA 2].

4.- CONCLUSIONES. A.- El agravamiento de la función renal es dependiente de la acción nefrotóxica de la CsA y de la no ingesta de sodio de forma independiente. B.- Sin embargo a nivel morfológico, las lesiones están sinérgicamente inducidas por ambos. C.- Es muy posible que el nivel menor comparativo de ET-3 a nivel renal en las ratas con dieta desprovista de sodio sea en parte responsable de la lesión.

**433 ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO PROTECTOR DEL VERAPAMIL VS ISRADIPINE EN LA NEFROTOXICIDAD CRÓNICA POR CICLOSPORINA (CSA) EN RATAS. PAPEL MEDIADOR DE LAS ENDOTELINAS (ET) Y LA ANGIOTENSINA II(AII).**

R. García del Moral, M. García-Chicano, C. Ramírez-Tortosa, M. Andujar, A. Olmo, \*A. Collado, P. Arrebola, M. Aguilar.

S. de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de Granada y \*General Básico de Baza (Granada). Unidad de Cirugía Experimental Lúcio de la Fuente (Granada).

1.- INTRODUCCIÓN. Actualmente se conoce que parte del mecanismo responsable de la nefrotoxicidad por CsA está mediado por el sistema de las endotelinas. Los antagonistas del calcio reversionan en parte las acciones renales de la endotelina en estudios fisiopatológicos experimentales.

2.- OBJETIVOS. Nuestro objetivo fue valorar comparativamente la acción protectora del Verapamil vs Isradipine como antagonistas del calcio en un modelo animal de nefrotoxicidad por CsA, así como estudiar su relación con el sistema de las ET.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS. Se establecieron seis grupos de 10 ratas Sprague-Dawley en cada uno (CsA=Se le administró la droga 25mg/kg/día disuelta en cremophor (CR). CR=Se le inculó el disolvente. ISR=Isradipine a la dosis 5mg/kg/día. VER= 10mg/kg/día. ISR+CsA=Isradipine y CsA a las mismas dosis. VER+CsA= Verapamil y CsA a igual concentración que sus grupos respectivos). Las sustancias se administraron vía subcutánea durante la experiencia un mes. De cada rata se obtuvo suero-plasma y orina para control analítico y realización de RJA de ET, la medida central de la lesión arterial (LA) mediante catulación de carótida y posterior autopsia con extracción del riñón para estudio histológico convencional, IHC (expresión glomerular de ET 1 y 3 y renal de angiotensina II (AII)), cuantificación automática de la fibrosis y biología molecular (Northern blot, ARNm de la ET 1 y 3).

4.- RESULTADOS. A nivel analítico se observó una alteración de la función renal en el grupo tratado sólo con CsA (Cr 210ul/min/gr, p<0.001, ANOVA 1). La tensión central de las ratas con nefrotoxicidad no sólo no se elevó sino que estaba más baja (p<0.01) en los grupos que recibieron el antagonista y la droga. Una mayor fibrosis se observó estadísticamente significativa en el grupo tratado con CsA (p<0.01). A nivel plasmático y en el grupo CsA se demostró que a menor ET total mayor ET activa. De forma inversa ocurrió con sus respectivos asclaramientos urinarios. En los grupos CsA+ISR y CsA+VER el comportamiento fue el opuesto al de CsA. La expresión del ARNm de la ET-3 fue mayor en el grupo tratado sólo con CsA. Una correlación (p<0.05) se estableció entre la TC y la expresión renal de AII.

5.- CONCLUSIONES. A.- Existe un efecto sinérgico hipotensor entre los antagonistas del calcio y la CsA. B.- Ambos antagonistas de forma similar protegen al riñón de la acción nefrotóxica de la CsA. C.- Este efecto protector puede ser mediado en parte por el sistema de las ET.

**432 PROLIFERACION-APOPTOSIS EN EL RECHAZO CRONICO RENAL. PAPEL DEL MASTOCITO.**

L. Diaz, M. Idoate, F. Vega, MD Lozano, FJ Pardo Mindán

Clinica Universitaria de Navarra Pamplona Navarra

**Introducción:** El rechazo renal crónico (RRC) presenta alteraciones morfológicas a nivel de los tres compartimentos del parénquima renal glomerular (aumento del mesangio y expansión) y duplicación de la membrana basal glomerular), vascular (engrosamiento de la pared con disminución del diámetro de la luz vascular) e intersticial (atrofia y fibrosis). Los mecanismos por los que se producen los cambios vasculares son poco conocidos. Una hipótesis podría ser el desequilibrio entre la proliferación y la apoptosis de las células del músculo liso vascular.

**Material y métodos:** Hemos realizado un estudio retrospectivo de 14 casos de riñones diagnosticados clínicamente de RRC utilizando como controles parénquima renal procedentes de nefrectomías por otras causas. Las alteraciones morfológicas estudiadas están a nivel vascular y perivascular, en vasos de pequeño y mediano calibre, valorando el aumento de fibrosis y el número de mastocitos en la zona de la adventicia de los vasos. Hemos valorado inmunohistoquímicamente el índice de proliferación de las células de músculo liso mediante Ki-67 y c-myc, y la apoptosis de manera indirecta mediante la expresión de Bcl-2 y p53.

**Resultados:** A nivel intersticia-perivascular se observa un aumento de la fibrosis y del número de mastocitos respecto a los riñones control. En lo que se refiere al equilibrio de proliferación-apoptosis se observa un mayor índice de proliferación mediante el aumento de inmunoreactividad nuclear de Ki-67 en las células de músculo liso de la media y en los miofibroblastos de la adventicia así como de inmunoreactividad citoplasmática para c-myc con respecto a los riñones control. A nivel de la intima se aprecia un engrosamiento de ésta con un aumento de la inmunoreactividad para Ki-67 y c-myc en miofibroblastos y células endoteliales. Hemos apreciado inmunoreactividad nuclear para p53 en el músculo liso vascular, miofibroblastos y endotelio en las lesiones del RRC, mientras que en las arterias de los controles está ausente.

**Conclusiones:** El aumento de mastocitos en la zona perivascular en el RRC podría, junto con la reacción inmuneológica mediada por linfocitos, estimular la proliferación celular a nivel de la intima y la media de las arterias renales. El mecanismo por el que se produciría dicho estímulo estaría mediado por la liberación de factores citoplasmáticos de las células oscuras.

**434 AMILOIDOSIS VISCERAL TIPO  $\beta$ -2-MICROGLOBULINA ASOCIADA A DIALISIS IMITANDO ARTERITIS DE CELULAS GIGANTES**

I. García, A. Jiménez, A. Ayala, B. Weigl, S. Casquero.

C. H. Carlos Haya, Málaga.

Recientemente ha sido descrito un nuevo tipo de amiloidosis en los pacientes con insuficiencia renal crónica en hemodialisis (HD), siendo identificada la  $\beta$ -2-microglobulina ( $\beta$ 2M) como el principal componente proteico. Esta variedad de amiloidosis tiene especial predilección por depositarse en el sistema osteoarticular y se manifiesta en forma de síndrome del túnel carpiano y/o artropatía amiloidea. Puede afectar a otros órganos aunque con baja incidencia y tardíamente según las escasas publicaciones recogidas. Este estudio tiene como objetivo investigar los aspectos morfológicos de la amiloidosis visceral asociada a HD y su correlación clínica.

**PACIENTES Y METODO.** Se seleccionaron 27 autopsias realizadas entre 1985 y 1996 de pacientes que habían recibido HD durante más de 5 años y en ninguno de ellos la amiloidosis fue la causa de su nefropatía, ni presentaron enfermedades amiloidogénicas. El grupo estudiado consistió en 7 mujeres y 22 hombres de entre 34 y 70 años. Se estudiaron: corazón, pulmón, hígado, bazo, tiroides, páncreas, riñón, y tubo digestivo; fueron teñidos con rojo congo y examinados bajo luz polarizada. Las muestras positivas fueron pretratadas con permanganato potásico y también con métodos de inmunoperoxidasa con antisueros  $\beta$ 2M, AA y cadenas ligeras  $\kappa$  y  $\lambda$ .

**RESULTADOS.** Amiloide fue encontrado únicamente en dos pacientes a nivel de tubo digestivo, pulmón y corazón. El material amiloide era permanganato sensible y se teñía positivamente con el suero  $\beta$ 2M. Los depósitos se encontraron en las paredes de los vasos, preferentemente en forma nodular-subendotelial a veces ocluyendo las luces y provocando isquemia de la mucosa intestinal. Con frecuencia a nivel de pulmón y del tubo digestivo los depósitos vasculares estaban rodeados por células gigantes multinucleadas que contenían, en su citoplasma, material congófilo inmuno reactivo para  $\beta$ 2M. Acúmulos de amiloide también fueron hallados en la muscular intestinal. El tiempo de permanencia en HD había sido 9 y 7 años y habían presentado entre otras complicaciones: síndrome del túnel carpiano y manifestaciones gastrointestinales.

**435** EXPRESIÓN DE ENDOTELINA (ET) EN UNA SERIE DE 44 CARCINOMAS RENALES.

F. Nogales, M.T. Medina-Cano, C. Ramirez-Tortosa, E. Vergara, J.F. Domínguez, M.G. Ryala, R. García del Moral. Servicios de Anatomía Patológica, de Urología y de Radiodiagnóstico del Hospital Clínico de Granada. Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Básico de Baza (Granada).

1.- INTRODUCCIÓN. Recientemente se ha descrito la expresión de ET en diferentes tipos de tumores incluyendo los de origen renal aunque no se conoce cual puede ser su papel tanto en la diferenciación como en su pronóstico.  
 2.- OBJETIVOS. Determinar el grado de expresión de ET en una serie de carcinomas renales, así como su posible utilidad como marcador de diferenciación o pronóstico.  
 3.- MATERIAL Y MÉTODOS. Se estudian 44 carcinomas renales procedentes del Hospital Clínico de Granada entre los años 1981-1996, sobre los cuales se tiene un completo seguimiento clínico. Se realiza IHQ para ET mediante la técnica de Avidina-Biotina-Fosfatasa alcalina valorándose de forma semicuantitativa en 4 grados (1=Expresión nula; 2=Escasa; 3=Moderada; 4=Intensa) tanto la expresión en células tumorales como en el espacio intersticial intra/peritumoral.  
 4.- RESULTADOS. La ET se expresó de forma escasa en las células tumorales y moderada en el intersticio destacando de forma significativa un mayor expresión en las formas tubulares de adenocarcinoma (p<0.05, Kruskal-Wallis) que en las sólidas. Aunque no alcanzó significación estadística, la ET mostró una menor expresión a medida que aumentó el grado de atipicidad nuclear de Fuhrman. No se observaron diferencias entre la expresión ET y la supervivencia.  
 5.- CONCLUSIÓN. Aunque la ET no se establece como un claro marcador pronóstico, sin embargo sí parece tener una implicación como factor de diferenciación.

**436** GLOMERULOPATIA FIBRILAR NO AMILOIDOTICA

M.R. Ortiz, G. Garijo, F. Pérez, M. Lobet, L. Bernadó Hospital Dr. Josep Trueta. Girona

Se presentan dos pacientes afectos de glomerulopatía por depósitos de proteínas fibrilares similares a las de la amiloidosis, pero que carecen de la afinidad tintorial para el Rojo-Congo característica del amiloide.

Clinicamente los dos pacientes presentaron un síndrome nefrótico, HTA y microhematuria, sin afectación de la función renal. El estudio de M.O. mostró un patrón de glomerulonefritis membranoproliferativa (GMP) en uno de los casos, y de glomerulosclerosis nodular en el otro paciente. En ambos casos la tinción de Rojo-Congo fue negativa, sin apreciarse birefringencia con el examen de luz polarizada. En el caso con patrón de GMP se objetivaron, mediante estudio por inmunofluorescencia, depósitos granulares de cadenas pesadas, C3 y cadenas ligeras a nivel del mesangio y pared de capilares glomerulares.

El estudio ultraestructural de ambas biopsias demostró la presencia de numerosas estructuras filamentosas, no ramificadas, con un diámetro promedio aproximado de 21nm, a nivel de la pared de los capilares glomerulares y mesangio (el diámetro de los fibrillas de amiloide es de unos 9.5 nm)

**437**

**GLOMERULOPATIAS PRIMITIVAS: FRECUENCIA Y VIDA MEDIA RENAL.**

J. Pérez-Requena, M. Caballero, A. Arribas, F. García, M. J. Sierra, A. García, F. Alonso. Servicio de Anatomía Patológica, Sección de Nefrología, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz.

Las glomerulonefritis primitivas son enfermedades poco frecuentes que requieren para establecer la frecuencia de los diferentes tipos, su evolución estudios multicéntricos, con los inconvenientes que sería presentar de falta de uniformidad en los criterios histopatológicos e indicaciones de biopsia. Los estudios de un solo centro necesitan mucho tiempo de evolución para reunir un número suficiente de casos.

Revisamos todos los casos de glomerulonefritis diagnosticados por biopsia en nuestro hospital en un periodo de 17 años (entre 1973 y 1990). De un total de 444 biopsias relacionadas con insuficiencia renal, 276 correspondieron a glomerulonefritis primitivas con los siguientes diagnósticos: Cambios mínimos 20, Endocapilar 20, IgA 27, GMP 27, Membranosa 20, GMP H. S.L. Mesangial Ig M 18, inclasificables 11.

Las glomerulonefritis Ig A y membranosa son las dos prevalentes ambas tienen una evolución que prolonga, con una vida media renal de aproximadamente 20 años. La GMP tiene también una evolución bastante prolongada, mientras que el pronóstico es malo en la nefropatía segmentaria focal y muy pobre en la GN endocapilar.

**438** PAPEL DE LAS ENDOTELINAS (ET) EN LA FIBROSIS RENAL DE LA NEFROTOXICIDAD CRÓNICA POR CICLOSPORINA (CsA). MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS.

C. Ramirez-Tortosa, M. Andujar, M.J. Garcia-Chucano, M.T. Medina, D. Aleman, M. Massera, M. Guillen, R. Garcia del Moral

S de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de Granada y Hospital General de Baza (Granada).

1.- INTRODUCCIÓN. Muchos de los mecanismos de lesión inducidos a nivel renal por la CsA son reproducidos al administrar ET-1 bien a nivel sistémico o renal. A nivel sanguíneo y urinario se han comprobado incrementos de los niveles de ET en situaciones de tratamiento con dicha droga inmunosupresora tanto a nivel humano como en modelos animales. Uno de los problemas más importantes en la nefrototoxicidad por CsA es el desarrollo de una fibrosis progresiva que deteriora de manera irreversible la función renal.

2.- OBJETIVOS. Demostrar un incremento en la expresión renal de ET y su papel en los mecanismos de lesión (fibrosis) inducidos por CsA en un modelo experimental de ratas.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS. Se establecieron tres grupos de ratas Sprague-Dawley (CsA (n=25)=Se le administró la droga 25mg/kg/día disuelta en cremophor (CR), CR (n=25)=Se le inyectó el disolvente, SF (n=10)=Se le usó suero fisiológico). Las sustancias se administraron vía subcutánea cada 48 horas. La experimentación duró 55 días (autopsia cada 28 días). De cada rata se obtuvo un control analítico sanguíneo (suero y plasma) y urinario, practicándose finalmente la autopsia con extracción del riñón para estudio histológico convencional, IHQ expresión glomerular y tubular de ET 1 y 3, cuantificación automática de la fibrosis y biología molecular (N. biot. ARNm de la ET 1 y 3).

4.- RESULTADOS. Claramente las ratas tratadas presentaron una alteración de la función renal puesta en evidencia desde el primer mes (Cr, p<0.05 ANOVA; Urea sérica, p<0.001, Kruskal-Wallis (KW)). De la misma forma los parámetros morfológicos de lesión renal (atrofia tubular, vascularización, dilatación quística y fibrosis) pasaron de manifiesto, de forma significativa, la acción tóxica de la droga inmunosupresora desde el primer mes. Una mayor expresión IHQ de ET-1 tubular y glomerular se observó al segundo mes (p<0.05, Newman-Keuls (NK)) en el grupo CsA paralelo al incremento de su ARNm (p<0.01 [NK]). Sin embargo el ARNm de la ET-3 presentó un efecto opuesto con una mayor expresión en el grupo control que CsA al primer mes (p<0.05 [NK]). La fibrosis renal se correlacionó de forma significativa con los niveles de ARNm de los dos ET (ET-1, r=0.49 al segundo mes; ET-3, r=0.60 al primero).

5.- CONCLUSIONES. A.- Este modelo reproduce la nefropatía túbulointersticial con fibrosis progresiva lesiona por la CsA. B.- Existe un incremento renal de ambas endotelinas en este modelo, tanto por IHQ como por biología molecular. C.- Este incremento que es más intenso al primer mes para la ET-3 luego disminuye al segundo mes. D.- Es muy posible que la fibrosis inducida este mediada por el sistema de las endotelinas mediante una acción paracrina sobre el riñón y el vaso.

**439** GLOMERULONEFRITIS FIBRILARES. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS. PRESENTACIÓN DE OCHO CASOS.

C. Ruiz de Valbuena, C. Álvarez, F. Campo, C. Prada, J.L. Rey y E.V. Martul. HOSPITAL JUAN CANALEJO. LA CORUÑA.

Las glomerulonefritis fibrilares son un grupo de enfermedades glomerulares definidas por la presencia de depósitos fibrilares en el estudio ultraestructural. Se dividen en "amiloidas" (Rojo Congo +) y "no amiloidas" (Rojo Congo -), comprendiendo estas últimas a aquellas con depósitos de inmunoglobulinas y sin depósitos de inmunoglobulinas. La forma de presentación clínica más usual es como proteinuria con sde nefrótico, con una evolución hacia la insuficiencia renal crónica en un 50% de los casos. Tras la primera descripción de Rosenmann y Eliakin en 1977 de las glomerulonefritis fibrilares rojo congo negativas, las diferentes aportaciones confirman distintos patrones histopatológicos e inmunológicos. Ha habido siempre una confusión terminológica, que actualmente persiste, con el término de glomerulonefritis inmunoactoides.

MATERIAL Y MÉTODOS: presentamos 8 casos 6 estudios de biopsia y 2 de autopsia. Todo el material fue procesado para estudio histopatológico, ultraestructural y de inmunofluorescencia, con diferentes antisueros antiglobulinas, complemento y cadenas ligeras. También se realizó estudio histopatológico de médula ósea.

RESULTADOS: De los ocho casos siete eran varones y uno mujer, la media de edad eran 60.3 años, con un rango que oscilaba entre 26 y 83 años. La presentación clínica más usual fue como proteinuria y como insuficiencia renal. En todos los casos se confirmó la afectación glomerular en las tinciones de rutina, con engrosamiento mesangial por depósito de un material R.C.(-) y PAS(+). El estudio de inmunofluorescencia demostró depósitos en cuatro de los casos, monoclonales (Kappa y Lambda respectivamente) en dos y policlonales (Ig G, C 3, Ig M, K y L) en los otros dos. Por otro lado este estudio fue negativo para los otros cuatro casos. El estudio ultraestructural confirmó la presencia de depósitos fibrilares extracelulares en matriz mesangial.

CONCLUSIONES: La glomerulonefritis fibrilar ocupa el segundo lugar de enfermedades glomerulares menos frecuentes tras la revisión de nuestra casuística (1000 biopsias).

Es importante, junto con el estudio ultraestructural, el examen de médula ósea, y la identificación del tipo de depósito, realizar un correcto estudio clínico y serológico para poder establecer una correcta clasificación, pues el pronóstico, tratamiento y evolución varía cuantiosamente.