

# *Análisis de la infiltración intraglomerular de leucocitos y actividad de la lesión glomerular en las glomerulonefritis proliferativas*

**P. Arrizabalaga, A. Darnell, E. Mirapeix, A. Torras y L. Revert**

Servicio de Nefrología, Hospital Clínic. Departamento de Medicina. Universidad de Barcelona.

## RESUMEN

Los linfocitos T y los macrófagos intraglomerulares son detectados en las glomerulonefritis (GN) humanas, pero se desconoce su secuencia de aparición, como está demostrado en modelos experimentales. Hemos identificado la infiltración intraglomerular de células inmunocompetentes con anticuerpos monoclonales (AM) dirigidos contra el antígeno común de los leucocitos (CD45), linfocitos T (CD3), subpoblación colaboradora/inductora (CD4), supresora/citotóxica (CD8) y monocitos-macrófagos (CD 14) mediante avidina-biotina-peroxidasa en 29 GN proliferativas (13 GN endocapilar, 16 GN extracapilar). Hemos analizado la posible relación entre el número total de células+ identificado con cada AM/número total de glomérulos y el índice de actividad definido como: número total de polimorfonucleares intraglomerulares/número total de glomérulos (PMN/g) y como número de glomérulos con proliferación extracapilar celular en más del 50 % del espacio de Bowman/número total de glomérulos (PEC/g). Los linfocitos T fueron más numerosos en las biopsias examinadas durante el primer mes desde el inicio de la clínica renal que en las biopsias más tardías. Los leucocitos, linfocitos T, subpoblaciones T y macrófagos fueron mucho más numerosos en las biopsias con  $\geq 3$  PMN/g (CD4+,  $p < 0,03$ ) o con  $> 0,3$  PEC/g (CD45+,  $p < 0,0003$ ) que en las biopsias con  $< 3$  PMN/g o con  $< 0,3$  PEC/g. Nuestros resultados sugieren la posible relación entre la intensidad de la infiltración intraglomerular de linfocitos T y el carácter reciente de la biopsia renal. La contribución de macrófagos y de linfocitos T y éstos con el fenotipo CD4+ a la hiper celularidad glomerular apoya el papel de la inmunidad celular en las GN proliferativas.

Palabras clave: **Leucocitos intraglomerulares. Glomerulonefritis proliferativas. Inmunidad celular.**

---

Recibido: 30-V-94

En versión definitiva: 28-X-94

Aceptado: 31-X-94

Correspondencia: Dra. D.<sup>a</sup> P. Arrizabalaga

Servicio de Nefrología

Hospital Clínic

Villarroel, 170

08036 Barcelona

## INTRAGLOMERULAR LEUCOCYTES AND GLOMERULAR LESION ACTIVITY IN PROLIFERATIVE GLOMERULONEPHRITIS

### SUMMARY

*T cells and macrophages contribute to glomerular hypercellularity in glomerulonephritis (GN), but their sequential intraglomerular appearance as has been shown in experimental GN, has not been studied. We have identified glomerular immunocompetent cells by avidin-biotin-peroxidase technique using monoclonal antibodies (Mo Abs) for all leucocytes (CD45), all T cells (CD3), helper/inducer T cells (CD4), cytotoxic/suppressor T cells (CD8) and macrophages (CD14) in 29 renal biopsies from patients with proliferative GN (13 with endocapillary GN, 16 with extracapillary GN). The number of positive cells for each Mo Ab was counted in all glomeruli. Their relationship with the total number of intraglomerular polymorphonuclears/total number of glomeruli (PMN/g) index and with the total number of glomeruli with cellular crescents in more than 50 % Bowman's space/total number of glomeruli (Cel.C/g) index, was analyzed. T cells were more numerous in biopsies with endo- ( $n = 11$ ,  $p < 0,05$ ) and extracapillary ( $n = 17$ ) proliferation studied soon after clinical onset than in biopsies studied later. Leucocytes, T cells, T cell subsets, and macrophages were more numerous in biopsies with  $\geq 3$  PMN/g or  $\leq 0.3$  Cel. C/g than in biopsies with  $< 3$  PMN/g or  $< 0.3$  Cel.C/g; the difference was significant for CD4+ T cells ( $p < 0.001$  for  $\geq 3$  PMN/g,  $p < 0.05$  for  $\geq 0.3$  Cel.C/g). This suggests an association between the intensity of glomerular T cell infiltrate and early stage of the disease. The presence of macrophages, T cells and CD4+ T cells in glomeruli with a high glomerular lesion activity index, supports the role of cellular immunity in proliferative GN.*

**Key words:** *Intraglomerular leucocytes. Proliferative glomerulonephritis. Cellular immunity.*

### INTRODUCCION

La denominada inmunidad celular, que comprende las interacciones entre linfocitos T y macrófagos, interviene en la producción de las lesiones glomerulares en las glomerulonefritis (GN) experimentales. Los macrófagos contribuyen a la proteinuria en la GN aguda inducida por complejos inmunes circulantes<sup>1-3</sup> y son responsables de la misma en la fase autóloga de la GN aguda inducida por anticuerpos anti-membrana basal glomerular (MBG)<sup>3,4</sup>. En la GN aguda inducida por inmunocomplejos circulantes<sup>5</sup>, y en la GN aguda inducida por anticuerpos anti-MBG en animales previamente sensibilizados<sup>6</sup>, la infiltración intraglomerular de monocitos-macrófagos es precedida por la infiltración de linfocitos T. La presencia y el número de linfocitos T intraglomerulares se correlacionan con la actividad de una linfoquina capaz de inhibir la migración del macrófago<sup>7,8</sup>, lo que favorece su acúmulo intraglomerular.

En las GN humanas, los linfocitos T y los monocitos-macrófagos contribuyen a la hiper celularidad glo-

merular que caracteriza las formas proliferativas<sup>9-12</sup>, pero se desconoce su secuencia de aparición. Este trabajo intenta conocer la posible relación entre la infiltración intraglomerular de linfocitos T y de macrófagos y el carácter reciente o activo de las lesiones glomerulares.

### MATERIAL Y METODOS

#### Pacientes

Se han estudiado 29 biopsias de GN proliferativa seleccionadas por la presencia de cuatro o más glomerulos, la presencia de proliferación endocapilar o/y la presencia de proliferación extracapilar en por lo menos el 20 % de los glomerulos y la disponibilidad de material suficiente para la aplicación de anticuerpos monoclonales (AM). Seis biopsias renales normales, obtenidas con fines diagnósticos, fueron el control tisular. Las biopsias fueron procesadas para microscopia óptica e inmunofluorescencia directa

convencionales. Las características clínicas e histológicas de los pacientes con GN proliferativa endocapilar y con GN proliferativa extracapilar están recogidas en las **tablas I y II**, respectivamente. Ocho pacientes (núms. 1-8) fueron diagnosticados de GN aguda postinfecciosa. Cinco pacientes (núms. 9-13) con una GN proliferativa endocapilar difusa eran portadores de una nefropatía lúpica del tipo IV de la clasificación de la OMS. Cinco pacientes (núms. 14-18) con inmunofluorescencia lineal en los capilares glomerulares y títulos de anticuerpos anti-MBG séricos<sup>13</sup> entre 32 y 60% eran portadores de una GN rápidamente progresiva (RP) de clase I<sup>14</sup>; tres de ellos (núms. 16-18), con hemorragia pulmonar, fueron diagnosticados de síndrome de Goodpasture. Cinco pacientes con inmunofluorescencia granular en los capilares glomerulares presentaban una GNRP de clase II: idiopática en dos casos (núms. 19, 20), junto a púrpura de Schönlein-Henoch en otros dos (núms. 21, 22) y nefropatía por IgA en un caso (núm. 23). Cuatro pacientes sin depósitos inmunes (núms. 24-27) glomerulares eran portadores de una GNRP de clase III, asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilo positivos<sup>15</sup> en un caso (núm. 25). Semilunas epiteliales acompañaban a una GN necrotizante focal en dos pacientes (núms. 28, 29).

### Procedimiento inmunohistoquímico

Las secciones de tejido renal fueron procesadas para AM con la técnica de avidina-biotina-peroxidasa referida previamente<sup>12</sup>. Se utilizaron AM dirigidos contra el antígeno común de los leucocitos (CD45,

200 KD, 72-5-D3)<sup>16</sup>, linfocitos T (CD3, 22 KD, Leu-4) (Becton Dickinson, Mountain View, California, USA), subpoblación colaboradora/inductora (CD4, 55 KD, Leu-3a), subpoblación citotóxica/supresora (CD8, 33 KD, Leu-2a) y monocitos-macrófagos (CD14, 50 KD, Cris-6)<sup>17</sup>. Se utilizaron secciones de amígdala palatina como control positivo y secciones de cada muestra renal procesadas de la forma descrita con ascitis de mieloma NS1 o PBS, pero sin AM, como control negativo. Las secciones se analizaron en un microscopio Leitz a 250 aumentos.

### Evaluación

El carácter reciente o activo de las lesiones proliferativas glomerulares fue evaluado mediante la identificación de polimorfonucleares y de semilunas epiteliales celulares identificadas con técnicas histoquímicas. Los polimorfonucleares (PMN) intraglomerulares (fig. 1a) fueron contados en todos los glomérulos, calculándose el índice: número total de PMN/número total de glomérulos (PMN/g). En las GN proliferativas extracapilares hemos distinguido las semilunas celulares, fibrocelulares y fibrosas, calculándose el índice: número de glomérulos con proliferación celular en más del 50 % del espacio de Bowman/número total de glomérulos (PEC/g). En base a nuestra observación, distinguimos dos grupos de biopsias según un índice  $\geq 23$  PMN/g o un índice  $< 3$  PMN/g y otros dos grupos según un índice  $\geq 0,3$  PEC/g o un índice  $< 0,3$  PEC/g.

Las células positivas identificadas simultáneamente con cada AM fueron contadas en todos los glómeru-

**Tabla I.** Características clínicas e histológicas de los pacientes con GN proliferativa endocapilar

Paciente <sup>1</sup>	Edad/ Sexo	Intervalo <sup>2</sup>	Creatinina (mg/dl)	Proteinuria (g/d)	Hematuria		Microscopia óptica <sup>3</sup>		Inmunofluorescencia <sup>4</sup>		
					Mac	Mic	Glo	PMN	Ig	Co	F
1	12/V	5	1,2	3,2	+	+	12	18	-	GCM	-
2	56/V	0,75	1,4	11	+	+	10	240	GC†	GCM	-
3	32/V	0,5	2,3	1	+	+	5	130	GC	GC	-
4	10/V	2	0,8	3	+	+	24	18	GC	GC	-
5	62/M	1	1	0,3	-	+	13	19	-	GC	-
6	16/V	0,5	6	3	+	+	8	80	-	GC	-
7	59/V	1	2,5	2	+	+	5	21	-	GCM	-
8	56/V	4	4,5	14	-	+	11	50	GC	GC	+
9	34/M	2	1,2	4	-	+	10	34	M†	GCM	-
10	23/M	36	3	2,4	-	+	5	3	GC	GC	+
11	39/M	2	0,8	5	-	+	5	7	GCM	GCM	+
12	66/M	4	2,1	7	-	+	14	12	GC	GC	+
13	33/M	1	1,2	6	-	+	6	28	GC	GC	-

1. Paciente: 1-8 = GN aguda postinfecciosa; 9-13 = GN lúpica tipo IV.

2. Meses entre el inicio de la clínica renal y la biopsia.

3. Glo = número total de glomérulos; PMN = número total de polimorfonucleares intraglomerulares

4. Depósitos de Ig = inmunoglobulinas; Co = complemento; F = fibrinógeno; † G = granular; C = capilar; M = mesangial.

**Tabla II.** Características clínicas e histológicas de los pacientes con GN proliferativa extracapilar

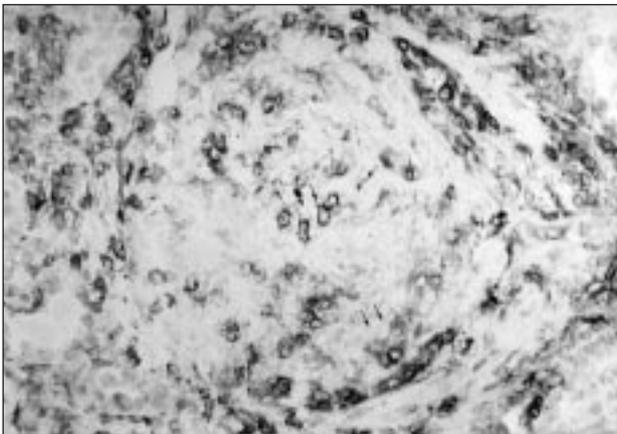
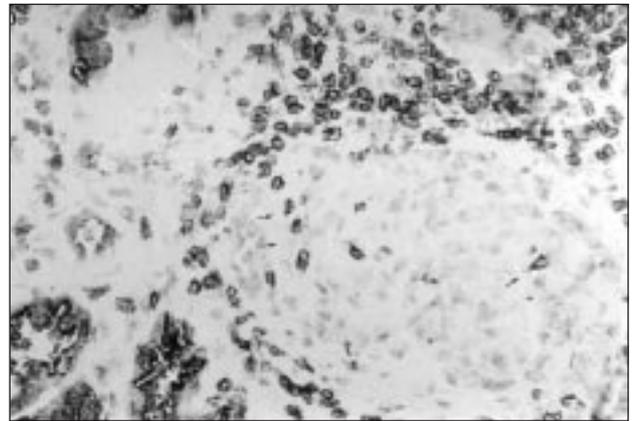
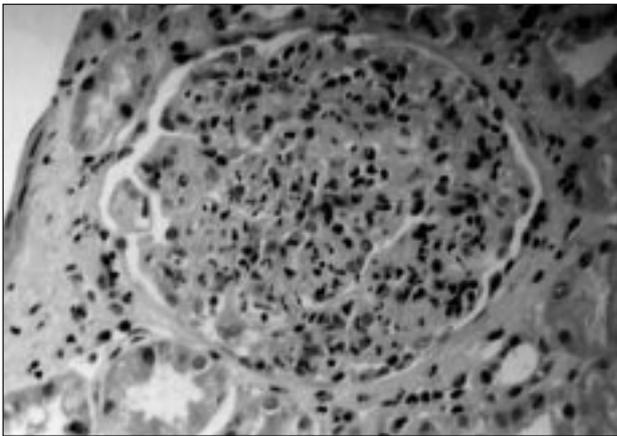
Paciente <sup>1</sup>	Edad/ Sexo	Intervalo <sup>2</sup>	Creatinina (mg/dl)	Proteinuria (g/d)	Hematuria		Microscopia óptica <sup>3</sup>				Inmunofluorescencia <sup>4</sup>		
					Mac	Mic	Glo	PE	PEC	PMN	Ig	Co	F
14	75/M	1	14	1	-	+	7	5	3	78	LC†	LC	+
15	59/M	0,75	17	2	+	+	5	5	4	26	LC	L,C	+
16	20/M	0,5	0,6	1	-	+	4	4	4	1	LC	LC	-
17	23/V	0,75	12	3	+	+	14	14	13	101	LC	LC	+
18	19/M	0,5	10	2	-	+	13	11	11	39	LC	LC	+
19	29/M	3	4,2	4	+	-†	13	7	5	8	GC†	GC	+
20	77/M	2	10	3	+	+	10	5	3	22	GC	GC	-
21	12/V	24	1,3	6,5	+	+	10	8	2	35	GC	GC	+
22	23/V	0,5	1,4	3,4	+	+	8	3	0	10	M†	GC	+
23	40/M	6	8	2	-	+	16	7	3	54	GCM	GC	-
24	74/V	1	10	4	+	+	6	5	0	11	-	-	-
25	69/V	1,5	10	Anuria	-	Anuria	12	6	5	54	-	-	-
26	78/V	1,5	3,9	4	-	+	4	2	0	8	-	-	+
27	66/V	1	9,5	3	+	+	13	7	6	66	-	-	+
28	75/V	1	6,3	0,6	-	+	16	3	1	12	-	-	+
29	30/V	3	7,4	2	-	+	6	1	1	6	-	-	-

<sup>1</sup>. Paciente: 14-18 = GN rápidamente progresiva (RP) de clase I; 19-22 = GNRP de clase II; 23-27 = GNRP de clase III; 28-29 = GN necrotizante.

<sup>2</sup>. Meses entre el inicio de la clínica renal y la biopsia.

<sup>3</sup>. Glo = número total de glomerulos; PE = número de glomerulos con proliferación extracapilar; PEC = n° de glomerulos con proliferación extracapilar celular en más del 50 % del espacio de Bowman; PMN = número total de polimorfonucleares intraglomerulares.

<sup>4</sup>. Depósitos de Ig = inmunoglobulinas; Co = complemento; F = fibrinógeno; † L = lineal; G = granular; C = capilar; M = mesangial.



**Fig. 1.-a)** Polimorfonucleares intraglomerulares (flechas). Hematoxilina-eosina (X 250). **b)** Infiltración intraglomerular (flechas) e intersticial de linfocitos T (CD3+). **c)** Infiltración intraglomerular (flechas) de monocitos-macrófagos (CD14+). Avidina-biotina-peroxidasa (X 250).

los, ya se localizasen en el flóculo (figs. 1b, 1c) y/o en la semiluna epitelial (fig. 1c). Las células periglomerulares positivas fueron cuidadosamente excluidas del conteo. Se determinó el número de células positivas por glomerulo.

**Análisis estadístico**

Los resultados expresados como media ± desviación estándar se analizaron con la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney.

## RESULTADOS

### Análisis histológico de la actividad de las lesiones glomerulares

La [tabla III](#) recoge el índice de polimorfonucleares intraglomerulares (PMN/g) y el índice de proliferación epitelial celular en más del 50 % del espacio de Bowman (PEC/g) en cada biopsia. El índice PMN/g fue  $7,05 \pm 7,97$  ( $x \pm DS$ ) en las 15 biopsias examinadas durante el primer mes desde el inicio de la clínica renal, y  $2,15 \pm 1,44$  ( $U = 56,5$ ,  $p < 0,03$ ) en las 14 biopsias examinadas más tarde. Se detectaron PMN en las GN endocapilares ( $6,6 \pm 9$ ,  $n = 12$ ) y en las GN extracapilares ( $3,36 \pm 2,8$ ,  $n = 17$ ). En las GN extracapilares, el índice PEC/g fue  $0,49 \pm 0,4$  en las 9 biopsias examinadas durante el primer mes desde el comienzo de la clínica renal y  $0,24 \pm 0,13$  en las biopsias examinadas más tarde.

### Análisis inmunohistológico de la infiltración intraglomerular de leucocitos

En el tejido renal normal no observamos células positivas intraglomerulares con ningún AM. Los índices de células CD45, CD3, CD4, CD8 y CD14 intraglomerulares en las biopsias de GN están recogidos en la [tabla III](#). El índice intraglomerular de células T (CD3+) y de macrófagos (CD14+) fue  $1,8 \pm 2,5$  ( $n = 14$ ) y  $2,6 \pm 2,4$  ( $n = 15$ ) respectivamente en las biopsias examinadas durante el primer mes; y  $0,8 \pm 1,07$  ( $n = 12$ ) y  $2,9 \pm 3,1$  ( $n = 14$ ), respectivamente, en las biopsias examinadas más tarde.

La celularidad intraglomerular CD45, CD3, CD4 y CD14 positiva no apareció asociada al tipo de proliferación endo- o extracapilar, pero el índice de células citotóxicas/supresoras (CD8+) fue mayor en las GN extracapilares ( $1,23 \pm 2,92$ ,  $n = 13$ ) que en las GN endocapilares ( $0,59 \pm 0,96$ ,  $n = 10$ ).

**Tabla III.** Índices de polimorfonucleares, proliferación extracapilar celular y leucocitos intraglomerulares identificados con anticuerpos monoclonales

Paciente	Microscopía óptica <sup>1</sup>		Inmunohistoquímica <sup>2</sup>				
	PMN/g	PEC/g	CD45+/g	CD3+/g	CD4+/g	CD8+/g	CD14+/g
1	1,5	0	4,2	3,75	0	0,6	3
2	24	0	27,75	0,5	1	1	4
3	26	0	6	7,33	NC†	3	4,33
4	0,75	0	1	0,6	0	0	2,87
5	1,46	0	6,42	0,57	0	0	0,62
6	10	0	4,2	nc	NC†	NC†	2,37
7	4	0	3,4	0,7	NC†	NC†	0,8
8	4,5	0,27	0,2	0	0	0	2,8
9	3,4	0	5,5	0	NC†	0	0 33
10	0,6	0	1,8	0,33	3,66	0	2
11	1,4	0	5	1	2	0,45	3,92
12	0,85	0	4,4	0	0,25	0,33	3,2
13	4,7	0	1	0	NC†	NC†	1,16
14	11,1	0,42	19,25	4,4	14	11	6,5
15	5,3	0,8	8,5	3,5	6	2,5	6,5
16	0,25	1	NC	0,3	0,1	0,1	1,5
17	7,2	0,86	17	0,46	NC†	NC†	
18	3	0,84	9	6,3	4,3	0,2	7
19	0,6	0,38	18	0,35	0,5	0	12,2
20	2,2	0,3	8,11	1,85	0,5	2	1,55
21	3,5	0,2	1,2	0,3	NC†	NC†	0,14
22	1,2	0	3	0,62	1,16	0,26	2,3
23	3,4	0,18	3,3	1	3,2	1	3,6
24	1,7	0	1	0	0	0	0
25	4,5	0,42	7,5	1	2,2	0	5,6
26	2	0	1	NC	NC†	0	0
27	5,1	0,46	NC	0,3	0,1	0	0,04
28	0,75	0,06	4,66	0,57	0	0,2	1,6
29	0,9	0,16	1	NC	NC†	NC†	0,06

<sup>1</sup> PMN/g = número total de polimorfonucleares intraglomerulares/número total de glomérulos; PEC/g = número de glomérulos con proliferación extracapilar celular en más del 50 % del espacio de Bowman/número total de glomérulos.

<sup>2</sup> Número total de células CD45+, CD3+, CD4+, CD8+ y CD14+ intraglomerulares/número total de glomérulos. NC = no conocido.

**Relación entre la actividad de la lesión glomerular y la infiltración intraglomerular de leucocitos**

El índice de leucocitos (CD45+) intraglomerulares fue  $8,13 \pm 7,95$  en las biopsias con  $\geq 3$  PMN/g y  $4,6 \pm 4,63$  en las biopsias con  $<3$  PMN/g (fig. 2). La celularidad CD45+ fue  $12,5 \pm 5,3$  y  $1,92 \pm 1,53$  ( $n = 15$ ,  $U = 0$ ,  $p < 0,0003$ ) en las biopsias con  $\geq 0,3$  PEC/g y en las biopsias con  $< 0,3$  PEC/g (fig. 3), respectivamente.

Los linfocitos T (CD3+) intraglomerulares fueron más numerosos en las biopsias con índices de PMN/g y de PEC/g más altos, siendo la celularidad CD4+ mayor en las biopsias con  $\geq 3$  PMN/g que en las biopsias con  $< 3$  PMN/g ( $3,85 \pm 4,6$  vs.  $0,68 \pm 1,12$ ,  $n = 20$ ,  $U = 21$ ,  $p < 0,03$ ); así como en las biopsias con  $\geq 0,3$  PEC/g que en las biopsias con  $< 0,3$  PEC/g ( $3,46 \pm 4,7$  vs.  $0,87 \pm 1,3$ ,  $n = 13$ ).

La macrófagos (CD14+) intraglomerulares fueron más numerosos en las biopsias con  $\geq 3$  PMN/g que en las biopsias con  $< 3$  PMN/g, y mucho más numerosos en las biopsias con  $\geq 0,3$  PEC/g que en las biopsias con  $< 0,3$  PEC/g ( $4,65 \pm 3,94$  vs.  $1,31 \pm 1,45$ ,  $n = 17$ ).

**DISCUSION**

A efectos de estudiar la contribución secuencial de linfocitos T y de macrófagos a la hiper celularidad glomerular en las GN proliferativas, hemos analizado la posible relación entre el carácter reciente o activo de la lesión glomerular, reflejado por la presencia de polimorfonucleares (PMN) intraglomerulares y por la presencia de proliferación extracapilar celular en más del 50 % del espacio de Bowman (PEC) y la composición de la infiltración intraglomerular de leucocitos. En las biopsias examinadas durante el primer mes desde el inicio de la clínica renal, el índice PMN/g fue significativamente mayor a 3<sup>18</sup> y el índice PEC/g fue mayor a 0,3, lo que justificaría la utilidad de ambos valores como hallazgos histológicos tempranos o activos en las GN proliferativas.

El tejido renal normal no ha mostrado células positivas intraglomerulares con ningún AM, mientras que sí han sido identificadas en las GN. El mayor número de leucocitos intraglomerulares detectado con AM en las biopsias con 3 o más PMN/g y en las biopsias con 0,3 o más PEC/g frente al detectado en las biopsias con índices inferiores confirma la contribución de linfocitos T y de macrófagos a la hiper celularidad glomerular en las GN proliferativas. El papel de los PMN, linfocitos T y macrófagos es bien conocido en las GN experimentales. Los PMN afluyen al glomérulo en respuesta a la liberación temprana de péptidos

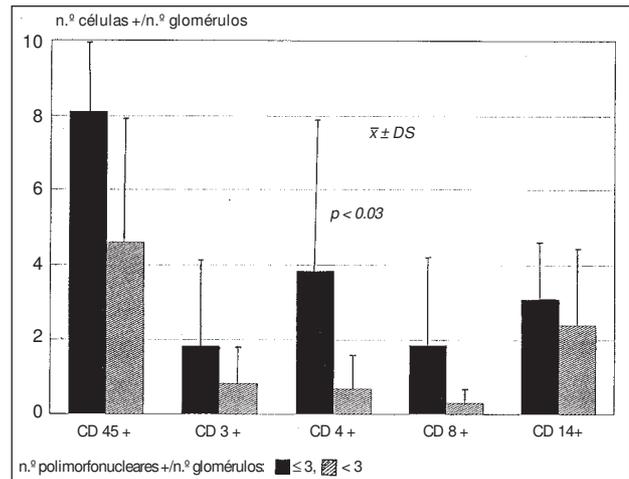


Fig. 2.—Media y desviación estándar de la infiltración intraglomerular de leucocitos (CD45+), linfocitos T (CD3+), subpoblaciones T (CD4+, CD8+) y macrófagos (CD14+) según el índice de polimorfonucleares intraglomerulares.

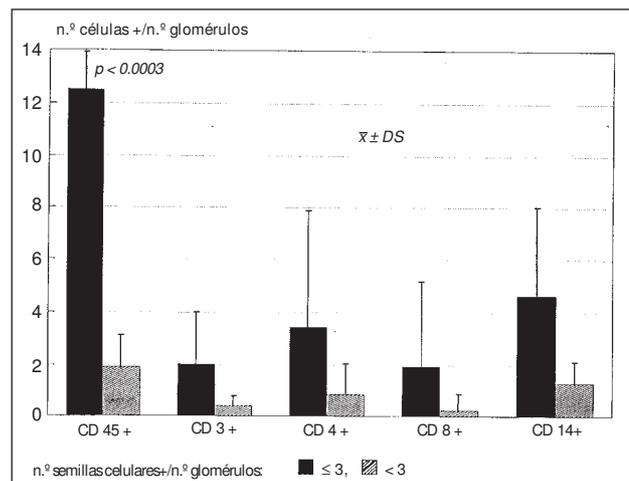


Fig. 3.—Media y desviación estándar de la infiltración intraglomerular de leucocitos (CD45+), linfocitos T (CD3+), subpoblaciones T (CD4+, CD8+) y macrófagos (CD14+) según el índice de proliferación extracapilar celular.

quimiotácticos durante la activación del complemento y de la coagulación desencadenada por la reacción local antígeno-anticuerpo. Los PMN favorecen la proteinuria en la GN aguda inducida por inmunocomplejos circulantes<sup>4, 19</sup> y provocan aquélla en la fase heteróloga de la GN aguda inducida por anticuerpos anti-MBG, cuando la hiper celularidad glomerular está limitada al flóculo glomerular<sup>20</sup>. La afluencia al glomérulo de los linfocitos T es posterior<sup>5, 6</sup> y alcanza su máxima intensidad a las 24 horas de su detección inicial<sup>7</sup>. La desaparición progresiva

de los linfocitos T es seguida por la infiltración intraglomerular de monocitos-macrófagos en respuesta a linfoquinas segregadas *in situ* con actividad inhibitoria de la migración del macrófago<sup>7,8</sup>. Los macrófagos favorecen la proteinuria en la GN aguda inducida por inmunocomplejos<sup>1-3</sup> y son los responsables de la misma en la fase autóloga de la GN aguda por anticuerpos anti-MBG<sup>3,4</sup>.

En nuestra serie de GN, los PMN intraglomerulares fueron más numerosos en las GN proliferativas endocapilares que en las GN proliferativas extracapilares, lo que confirma la contribución de los PMN a la hiper celularidad endocapilar<sup>14,21</sup> y su escasa participación en la hiper celularidad extracapilar<sup>22</sup>.

Los linfocitos T intraglomerulares fueron más numerosos en las biopsias más recientes desde el inicio de la clínica renal que en las biopsias más tardías, aunque sin diferencias significativas, probablemente por el tamaño de la muestra y la dispersión de los datos. El único caso sometido a dos exámenes histológicos (núms. 2 y 8) presentó linfocitos T intraglomerulares sólo en el primer examen. Las observaciones apuntan hacia el carácter temprano y transitorio de la infiltración intraglomerular de linfocitos T en las GN humanas, como ha sido demostrado en los modelos experimentales<sup>6,7</sup>. Los linfocitos T colaboradores/inductores (CD4+) fueron significativamente más numerosos en las biopsias con índices mayores de actividad que en las biopsias con índices menores, siendo su detección significativa en las biopsias con 3 o más PMN/g. *In vitro*, el fenotipo colaborador/inductor (CD4+)<sup>23</sup> es el más implicado en la secreción de linfoquinas. Así, la presencia simultánea de células intraglomerulares CD4+ e hiper celularidad glomerular reciente o activa podría reflejar la contribución de las células T a la producción local de linfoquinas, como ha sido mostrado en GN experimentales<sup>7,8</sup>. Por otro lado, los linfocitos T citotóxicos supresores (CD8+) fueron más numerosos en las GN proliferativas extracapilares que en las GN proliferativas endocapilares, lo que sugeriría el papel de las células citotóxicas/supresoras en el desarrollo de las semilunas epiteliales y de la proteinuria, como han indicado recientes experimentos de depleción de células CD8+<sup>24,25</sup> en la GN aguda inducida por anticuerpos anti-MBG.

La infiltración intraglomerular de macrófagos fue predominante sobre la infiltración intraglomerular de linfocitos T, como en otros trabajos<sup>26-30</sup>, incluso en las biopsias más recientes, que mostraron mayor celularidad T. La presencia de macrófagos fue independiente del tipo de proliferación endo o extracapilar. Sin embargo, su detección, mucho más numerosa en las biopsias con 0,3 o más PEC/g que en las biopsias con índice PEC/g menor, apoyaría la contribución

del macrófago a las semilunas celulares en las GN proliferativas extracapilares<sup>31-34</sup>.

Los monocitos-macrófagos poseen receptores de membrana para los péptidos quimiotácticos C3a y C5a y para la fracción Fc del anticuerpo<sup>35</sup>. Así, la detección más numerosa de macrófagos en nuestra biopsia con mayor número de PMN intraglomerulares, las asociaciones entre macrófagos intraglomerulares e hipocomplementemia<sup>36</sup>, depósitos glomerulares de complemento<sup>11</sup> y de fibrinógeno-fibrina<sup>11,37</sup> apoyarían que la infiltración intraglomerular de macrófagos en las GN reflejase la respuesta a la liberación de sustancias quimiotácticas durante la inflamación local mediada por la inmunidad humoral.

No obstante, la detección simultánea de macrófagos y de linfocitos T, que muestran significativamente el fenotipo colaborador/inductor (CD4+) como aparece en la reacción de hipersensibilidad tardía<sup>38,39</sup>, más frecuente en las biopsias con lesiones glomerulares más activas o recientes, apoya la contribución de la inmunidad celular a la infiltración intraglomerular de macrófagos en las GN proliferativas. El papel de la inmunidad celular en las GN humanas sugiere, en un futuro no muy lejano, posibles estrategias terapéuticas<sup>40</sup> dirigidas contra las interacciones mediadas por las células T.

## Agradecimientos

Este trabajo forma parte del Proyecto 90/0304 del Fondo de Investigación de la Seguridad Social. Agradecemos los anticuerpos monoclonales CD45 y CD14 al Dr. R. Vilella, del Servicio de Inmunología del Hospital Clínico, y a Dolores González la asistencia técnica.

## Bibliografía

1. Hunsicker LG, Shearer TP, Plattner SB y Weisenburger D: The role of monocytes in serum sickness nephritis. *J Exp Med* 150:413-425, 1979.
2. Holdsworth SR, Neale TJ y Wilson CB: The participation of macrophages and monocytes in experimental immune complex glomerulonephritis. *Clin Immunol Immunopathol* 15:510-524, 1980.
3. Holdsworth SR, Neale TJ y Wilson CB: Abrogation of macrophage-dependent injury in experimental glomerulonephritis in the rabbit. *J Clin Invest* 68:686-698, 1981.
4. Schreiner CF, Cotran RS y Unanue ER: Macrophages and cellular immunity in experimental glomerulonephritis. *Springer Semin Immunopathol* 5:251-267, 1982.
5. Foster SJ, Breije TE y Hunsicker LG: T-lymphocytes in rabbit serum sickness nephritis. *Kidney Int* 33:384 (abstract), 1988.
6. Tipping PG, Neale TJ y Holdsworth SR: T lymphocyte in antibody-induced experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 27:530-537, 1985.

7. Boyce N, Tipping PG y Holdsworth SR: Lymphokine production by glomerular T- lymphocytes in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 30:673-677, 1986.
8. Parra G, Mosquera Jy Rodríguez-Ilturbe B: Migration inhibition factor in acute serum sickness nephritis. *Kidney Int* 38: 1118-1124, 1990.
9. Hancock WW y Atkins RC: Cellular composition in human rapidly progressive glomerulonephritis identified using monoclonal antibodies. *Am JNephrol* 4:177-181, 1984.
10. Hooke DH, Gee DC y Atkins RC: Leucocyte analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis. *Kidney Int* 31:964-972, 1987.
11. Arrizabalaga P, Mirapeix E, Darnell A, Torras A y Revert L: Cellular immunity analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis. *Nephron* 53:41-49, 1989.
12. Arrizabalaga P, Torras A, Mirapeix E, Darnell A y Revert L: Análisis de la infiltración intraglomerular de leucocitos en las glomerulonefritis rápidamente progresivas. *Nefrología* 12:244-250, 1992.
13. Mirapeix E y Revert L: Functional identity between renal and pulmonary Goodpasture's antigen. *Kidney Int* 30:126 (abstract), 1986.
14. Glasscock RS, Adler SG, Ward HS y Cohen AH: Primary glomerular diseases. En: Brenner BM, Rector FC. *The Kidney*. Saunder Co. Philadelphia, 1194-1200, 1991.
15. Bosch X, Mirapeix E, Font J, Borrellas X, Rodríguez R, López-Soto A, Ingelmo M y Revert L: Pronostic implication of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with myeloperoxidase specificity in anti-glomerular basement membrane disease. *Clin Nephrol* 36:107-113, 1991.
16. Cobbold S, Hale G y Waldmann H: Non-lineaje, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. En: Michael AJ (eds). *Leucocyte Typing III*. Butler and Tanner Ltd. Oxford, pp. 788-803, 1987.
17. Bernstein ID y Self S: Joint report of the myeloid section of the second international workshop on human leucocyte differentiation antigens. En: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID (eds). *Leucocyte Typing II*. Springer-Verlag. New York, pp. 1-25, 1986.
18. Takeda S, Kida H, Yokoyama H, Tomosugi N y Kobayashi K: Two distinct types of crescentic glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 37:285-293, 1992.
19. Couser WG: Mechanisms of glomerular injury in immune-complex disease. *Kidney Int* 28:569-583, 1985.
20. Cocrane CG, Unanue ER y Dixon FJ: A role of polymorphonuclear leucocytes and complement in nephrotoxic nephritis. *JExp Med* 122:99-119, 1965.
21. Magil AB: Monocytes and glomerulonephritis associated with remote visceral infection. *Clin Nephrol* 22:169-175, 1984.
22. Hooke DH, Hancock WW, Gee DC, Kraft N y Atkins C: Monoclonal antibody analysis of glomerular hypercellularity in human glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 22:163-168, 1984.
23. Reinherz EL, Acuto O, Fabbi N, Bensussan A, Milanese C, Royer HD, Mener SC y Schlossman SF: Clonotypic surface structure on human T lymphocytes: functional and biochemical analysis of the antigen receptor complex. *Immunol Rev* 81:95-129, 1984.
24. Granados R, Mendick DL y Renke HG: Antibody-induced crescent formation in WKY rats: Potential role of antibody-dependent cell cytotoxicity *in vivo*. *Kidney Int* 37:414 (abstract), 1990.
25. Kawasaki K, Yaoita E, Tamamoto T y Kihara I: Depletion of CD8 cells in nephrotoxic serum nephritis of WKY rats. *Kidney Int* 41:1517-1526, 1992.
26. Stachura I, Si L, Madan E y Whiteside T: Mononuclear cell subsets in human renal disease. Enumeration in tissue section with monoclonal antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 30:362-373, 1984.
27. Nolasco F, Cameron JS, Hartley B, Coelho GH y Reuben R: Intraglomerular T cells and monocytes in nephritis: study with monoclonal antibodies. *Kidney Int* 31:1160-1166, 1987.
28. Bolton WK, Innes DJ, Sturgill BC y Kaiser DL: T-cells and macrophages in rapidly progressive glomerulonephritis: clinicopathologic correlations. *Kidney Int* 32:869-876, 1987.
29. Müller GA, Müller CA, Markovic-Lipkouski J, Kilper RB y Risler T: Renal, major histocompatibility complex antigens and cellular components in rapidly progressive glomerulonephritis identified by monoclonal antibodies. *Nephron* 49:132-139, 1989.
30. Markovic-Lipkouski J, Müller CA, Risler T, Bohle A y Müller GA: Association of glomerular and interstitial mononuclear leukocytes with different forms of glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 5:10-17, 1990.
31. Magil AB y Wadsworth LD: Monocytes involvement in glomerular crescents. A histochemical and ultrastructural study. *Lab Invest* 47:160-166, 1982.
32. Boucher A, Droz D, Adafer A y Noel LH: Relationship between the integrity of Bowman's capsule and the composition of cellular crescents in human crescentic glomerulonephritis. *Lab Invest* 56:526-533, 1987.
33. Li HL, Hancock WW, Hooke DH, Dowling JP y Atkins RC: Mononuclear cell activation and decreased renal function in IgA nephropathy with crescents. *Kidney Int* 37:1552-1556, 1990.
34. Li HL, Hancock WW, Dowling JP y Atkins RC: Activated intraglomerular mononuclear cells in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 39:793-798, 1991.
35. Newman SL, Musson RA y Hensen PM: Development of functional complement receptors during *in vitro* maturation of human monocytes into macrophages. *JImmunol* 125:22-36, 1980.
36. Monga C, Mazzucco G, Barbiano G y Busnach G: Monocyte infiltration and glomerular hypercellularity in human acute and persistent glomerulonephritis. *Lab Invest* 44:381-387, 1981.
37. Ferrario F, Castiglione A, Colosanti G, Belgioso GB, Bertoli Sy D'Amico G: The detection of monocytes in human glomerulonephritis. *Kidney Int* 28:415-519, 1985.
38. Platt JL, Grant BW, Eddy AA y Michael AP: Immune cell populations in cutaneous delayed-type hypersensitivity. *JExp Med* 158:1227-1242, 1983.
39. Arrizabalaga P, Mirapeix E, Darnell A, Andreu J, Oppenheimer F, Gallart T, Torras A y Revert L: Cellular infiltrate in renal graft rejection: T-lymphocyte subsets detected by monoclonal antibodies. *Nephron* 44:1117, 1986.
40. Cameron JS: The future of nephrology with special regard to advances in treatment. *Kidney Int* 42-S:203-214, 1992.