

R0713
H4LG

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LOS ANDES
SERVICIO DE NEFROLOGÍA**

**CORRELACIÓN CLÍNICO HISTOPATOLOGICA EN CUATRO PACIENTES
PERTENECIENTES A UN GRUPO FAMILIAR PORTADORES DE
HEMATURIA Y NEUROFIBROMATOSIS.**

www.bdigital.ula.ve

SERBIULA
Tulio Febres Cordero

DONACION

MEDICINA

**AUTOR: Dra. Pilar López Mariño.
TUTOR : Dr. Jorge Alvarado.
ASESORES: Dr. Ernesto Palacios Prü.
Dra. Aminta Villaquiran.
Dr. Luis Manuel Guilarte.**

**TRABAJO PRESENTADO POR LA DRA. PILAR LÓPEZ MARIÑO AL
CONSEJO DE LA FACULTAD DE MEDICINA COMO CREDENCIAL DE
MERITO PARA OPTAR AL TITULO DE ESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA.**

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTO

- Al Dr. Jorge E. Alvarado, profesor de la Unidad de Nefrología del Instituto Autónomo del Hospital Universitario de los Andes (IAHULA), tutor y guía de esta tesis, por ser diligente, paciente, constante, entusiasta.
- A la Dra. Aminta Villaquirán, profesora de la Unidad de Nefrología del IAHULA por su valiosa colaboración y motivación en todo momento.
- Al Dr. Luis Manuel Guilarte, profesor de la Unidad de Nefrología del IAHULA, quien captó el grupo familiar en estudio, siendo el promotor de esta tesis.
- Al Dr. Ernesto Palacio Prú, Director del Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad de Los Andes, y a todo el personal docente, administrativo y de servicio de este Centro por todo el soporte y ayuda recibida.
- A la licenciada Candy de Urbina, quien procesó todas las muestras de laboratorio, realizando una excelente labor.
- A todo el personal médico, de laboratorio (Sra. Sonia Calles) y administrativo (Sra. Coromoto Belandria) de la Unidad de Nefrología del IAHULA por todo el apoyo, entusiasmo y ayuda que le dieron a este proyecto.
- Al personal médico de los servicios de: Oftalmología, Otorrinolaringología, Hematología y Neurología, en especial al Dr. Hilarión Araujo, por toda su colaboración en las exploraciones clínicas y paraclínicas de los pacientes.
- Al grupo familiar en estudio, por su disposición e interés.
- A mi familia por su apoyo incondicional.

RESUMEN

Se presentan los resultados de identificación, exploración clínica y de laboratorio, así como los hallazgos histopatológicos de biopsias renales y de piel, realizadas en cuatro pacientes, pertenecientes al grupo familiar en estudio, tres de la primera generación y uno de la segunda generación en edades comprendidas entre 12 y 41 años, todos portadores de hematuria familiar y neurofibromatosis, esta última presente solo en dos de los pacientes. Todos estos estudios se llevaron a cabo previa autorización escrita de cada uno de los pacientes o de su representante en el caso de tratarse de un menor de edad.

Como antecedente de importancia dos miembros de esta familia pertenecientes a la primera generación, del sexo femenino, fallecieron en insuficiencia renal crónica (IRC), lamentablemente en ninguno de estos dos casos se realizó biopsia renal; los datos clínicos recogidos en las historias revelan la presencia de hematuria microscópica e hipertensión arterial. Ninguno de estos dos casos tuvo la oportunidad de ingresar a un programa de suplencia dialítica.

La exploración física evidenció las lesiones en piel tipo manchas café con leche y neurofibromas en dos de los pacientes. La hipertensión arterial estuvo presente en un solo paciente que para el momento del estudio ya presentaba deterioro de la función renal. Por otra parte fue evidente el retardo del crecimiento en el paciente de 12 años para el cual se plantean estudios ulteriores que no fueron el objetivo de este trabajo.

La pruebas de funcionalismo renal tanto glomerular como tubular fueron normales, con la excepción de un caso que presentó un clearance de creatinina (CCr) menor de 50 ml/min. En el sedimento urinario llamó la atención la presencia de un pH urinario alcalino en todo los pacientes no consiguiéndose explicación alguna para ello. La hematuria microscópica fue persistente en todos los pacientes con un dismorfismo superior al 30% encontrándose varias formas de dismorfismo del glóbulo rojo; también se encontraron ci-

lindros de glóbulos rojos en todos los pacientes. La proteinuria no excedió de 800 mg en 24 h.

Las lesiones histopatológicas observadas en el tejido renal a la microscopía de luz convencional (ML), microscopía de luz de alta resolución (MLAR), inmunofluorescencia (IF) y microscopía electrónica (ME) revelan una alteración predominante de la membrana basal glomerular (MBG), de la membrana basal de la cápsula de Bowman (MBCB) e incluso de la membrana basal tubular (MBT) caracterizada básicamente por engrosamiento y laminación en forma segmentaria así como adelgazamiento en algunas áreas, rasgos estos que nos permiten sugerir que este grupo familiar sea portador de una nefritis hereditaria tipo Alport sin alteraciones extrarenales pero que se acompaña de algunas alteraciones neurológicas típicas de otra enfermedad hereditaria de la cual son portadores solo dos de los pacientes estudiados como es la neurofibromatosis. También se observó hipertrofia e hiperplasia de las células musculares lisas así como pérdida de la íntima en las arteriolas de mediano calibre, similares a las descritas por Habib en 1962 en pacientes portadores de neurofibromatosis. Otro de los hallazgos histopatológicos encontrados fue la ausencia del penacho de algunos glomérulos, para lo cual no tenemos una explicación clara.

La IF reveló fluorescencia positiva a C₃ en algunos vasos intersticiales en solo dos pacientes.

Las lesiones ultraestructurales observadas en las biopsias de piel mostraron que todos los pacientes tienen características sugestivas de neurofibromatosis, aunque solo dos de ellos presentaron manifestaciones clínicas dadas por los neurofibromas y manchas café con leche. Otros hallazgos encontrados en las células basales de la epidermis fueron el engrosamiento y densificación de la cisterna perinuclear y en relación a ésta, organización irregular de la cromatina, así como cuerpos densos de aspecto celular tipo polimorfonucleares o eritroblastos pero sin organelas citoplasmáticas. Información sobre estos hallazgos no pudieron ser encontrados en la literatura revisada.

ÍNDICE

	Página
Introducción.....	1
Material y métodos.....	3
Resultados.....	6
Discusión.....	26
Conclusiones.....	29
Bibliografía.....	30

INTRODUCCIÓN :

Aunque la existencia de enfermedades renales hereditarias fue reconocida desde fines del siglo pasado, no fue sino hasta 1902 que Guthrie⁽¹⁾ realizó la primera descripción de una “hematuria idiopática o congénita, hereditaria y familiar”. En 1915 y 1923, Hurst⁽²⁾ reportó el desarrollo de uremia en miembros de tres generaciones de la familia descrita por Guthrie. En 1927, Alport⁽³⁾ observó que algunos miembros de esa familia presentaban sordera, que los afectados del sexo masculino desarrollaron uremia y que los de sexo femenino sobrevivían hasta la senectud, describiendo el síndrome que actualmente lleva su nombre.

En 1985 Grünfeld⁽⁴⁾ refiere varias formas de presentación clínica de la hematuria familiar: formas progresivas que pueden cursar con sordera (síndrome de Alport) o sin sordera y variantes de estas dos, y formas que no progresan a la insuficiencia renal y que se conoce como “ hematuria benigna familiar ”. En 1989, A. Sesa et al ⁽⁵⁾ describen tres condiciones clínicas diferentes de nefritis hereditaria: **a.-** Hematuria familiar benigna, que no evoluciona a la insuficiencia renal y sin sordera neurosensorial. **b.-** Hematuria hereditaria con progresión a la insuficiencia renal y sin sordera neurosensorial. **c.-** Hematuria hereditaria caracterizada por insuficiencia renal progresiva, con sordera neurosensorial y anomalías oculares (síndrome de Alport).

A la hematuria hereditaria o nefritis hereditaria familiar se le describe como un síndrome nefrítico, casi siempre de carácter evolutivo que se presenta en varios miembros de una familia por generaciones sucesivas. La variada presentación clínica ya antes descrita, en ocasiones dificulta el diagnóstico preciso, pero el uso de la microscopía electrónica en las biopsias renales estimuló el desarrollo de las investigaciones que finalmente condujeron a la identificación de las alteraciones ultraestructurales^(6,7,8), que en conjunto con el empleo de técnicas de bioquímica y de genética molecular^(9,10,11,12) han permitido diferenciar por lo menos tres entidades: síndrome de Alport, enfermedad de membrana basal delgada y hematuria familiar benigna⁽¹³⁾, aunque las dos últimas no aparecen claramente diferenciadas. Tal como lo discutiremos más adelante la especificidad y la indepen-

dencia de estos síndromes no han sido totalmente establecidas pero estas definiciones proveen un marco de referencia.

Por otra parte la incidencia de la hematuria familiar no está bien determinada, en parte porque no se investiga adecuadamente y en parte porque para su diagnóstico preciso se requieren estudios especializados de elevados costos que no están al alcance de todos.

En nuestra región el Dr. Jorge E. Alvarado⁽¹⁴⁾ realizó el primer estudio en tres grupos familiares de las zonas de Barinas, San Cristóbal y El Vigía, encontrando un grupo con síndrome de Alport y los otros dos fueron catalogados como variantes distintas de nefritis hereditaria sin sordera. De allí surge el interés de estudiar grupos familiares portadores de hematuria, mostrando los hallazgos clínicos y paraclínicos más relevantes que incluyen la microscopía electrónica de las biopsias renales. El grupo familiar en estudio portador de hematuria, donde dos de sus miembros del sexo femenino fallecieron IRC se torna doblemente interesante ya que dos de sus integrantes son portadores de neurofibromatosis, asociación esta no reportada en la literatura revisada.

La neurofibromatosis se caracteriza por ser uno de los trastornos genéticos del sistema nervioso central más frecuente, descrita por primera vez por von Recklinghausen. Tiene dos formas clínicas características: las manchas hiperpigmentarias (manchas “café con leche”) y los neurofibromas múltiples. Sin embargo, varias alteraciones en otros órganos suelen acompañar a estas manifestaciones cardinales. Las alteraciones renales son poco comunes; se han descrito estenosis de las arterias renales que pueden conducir a hipertensión arterial renovascular, infartos renales e insuficiencia renal aguda⁽¹⁵⁾, también han sido descritos casos de neurofibromatosis de von Recklinghausen asociado a nefropatía membranosa^(16,17). Las lesiones vasculares renales fueron descritas en antiguas observaciones a principios del siglo XX, incluso se describen varios tipos de lesiones⁽¹⁸⁾. Pero la asociación entre neurofibromatosis y nefritis hereditaria no han sido reportadas hasta donde se revisó.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudio el grupo familiar formado por un adolescente masculino y su progenitora, portadores de hematuria y neurofibromatosis, y dos (2) hermanos de ésta con hematuria, en edades comprendidas entre 12 y 41 años, dos del sexo femenino y dos del sexo masculino, procedentes todos de la población de Tovar, Edo. Mérida. Todos los estudios se llevaron a cabo previo consentimiento por escrito de cada uno de los pacientes. El estudio se inicia con la realización de la historia clínica bajo el modelo convencional del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IAHULA).

Posteriormente se practicaron exámenes seriados de orina en número de tres, procesados en el transcurso de las dos horas posterior a la micción, examinándose el sedimento urinario con un objetivo de 40x. Para evaluar la morfología y el porcentaje de dismorfismo de glóbulos rojos se utilizó un microscopio de contraste de fases.

Se realizaron pruebas de función glomerular y tubular determinando en plasma y/o orina niveles de creatinina (Cr), urea (U), calcio (Ca^{++}), fósforo (P), con procedimiento de análisis Ciba Corning, basado en diferentes técnica según el caso. Para la Cr se utilizó el método cuantitativo basado en la técnica de Jaffe tomándose como valores normales en plasma de 0,7–1,5 mg/dl; para la urea se utilizó el método colorimétrico enzimático basado en la técnica de Berthelot tomándose como valores normales de 20–40 mg/dl; el calcio se determinó por el método de creosolftalcina complexona tomándose como valores normales en plasma de 8,2-10,2 mg/dl y calciuria de 24h de 50-250 mg/24h; el fósforo se determinó por método cuantitativo basado en la técnica de Doly y Esingshousen tomándose como valores normales en plasma de 2,7-4,5 mg/dl y de fosfaturia de 0,3-1gr/24h. La determinación de ácido úrico (AcU) en plasma y orina se realizó mediante un método colorimétrico, basado en la reacción enzimática de Trinder, tomándose como valores normales en plasma de 3,0-5,8 mg/dl y en orina de 200-700 mg/24h.

El sodio (Na^+) y potasio (K^+) se determinaron con electrodos de iones selectivos Ciba Corning 314, tomándose como valores normales para en Na^+ : 138-148 mEq/l, K^+ : 3,5-5,3 mEq/l.

Las pruebas inmunológicas realizadas fueron el CH_{50} , C_3 , anticuerpos antinucleares (AAN).

Se realizó ultrasonido renal bilateral con un equipo marca Kontron utilizando transductor sectorial de 3,5 MHz.

Se llevaron a cabo exploraciones oftalmológicas, audiológicas, hematológicas, neurológicas por cada uno de los servicios correspondientes.

Se tomaron biopsias de piel y de riñón, estas últimas por punción percutánea y en uno de los casos en su segundo intento a cielo abierto. Las muestra de piel fueron tomadas de la región posterior de brazo izquierdo en un caso y de la región inguinal derecha en otro, y en aquellos con lesiones tipo manchas café con leche o neurofibromas se tomaron del sitio de la lesión, procesándose las muestras del tejido renal para microscopía de luz convencional, microscopía de luz de alta resolución, inmunofluorescencia y microscopía electrónica. Las muestras de piel solo se procesaron para ME.

El fragmento de riñón para estudio de microscopía de luz convencional se fijó en solución de Dubosq-Brazil (Bouin alcohólico más ácido acético) durante un lapso variable (entre 3 y 8 horas) y luego postfijado en formalina al 15% por 12 horas. De dicho material, previamente incluido en parafina (Paraplast), se obtuvieron secciones delgadas de (2 micras) que fueron rutinariamente coloreadas con hematoxilina y eosina (HE), tricrómico de Gomori o Masson, ácido periódico de Schiff (PAS), cromotropo metenammina de plata.

Para el procesamiento del tejido renal para IF se colocó la muestra en líquido congelante tipo "OCT" (Tissue Tek II). Se obtuvieron secciones sobre láminas porta-objeto las

cuales se fijaron en alcohol o acetona fríos por 5 ó 10 minutos, se lavaron luego con buffer salino y se procedió de inmediato a su incubación en cámara húmeda, por 30 minutos, cubriéndolos con una gota de antisueros mono-especificos fluoresceinados humanos para IgG, IgA, IgM, C₃, C1q.

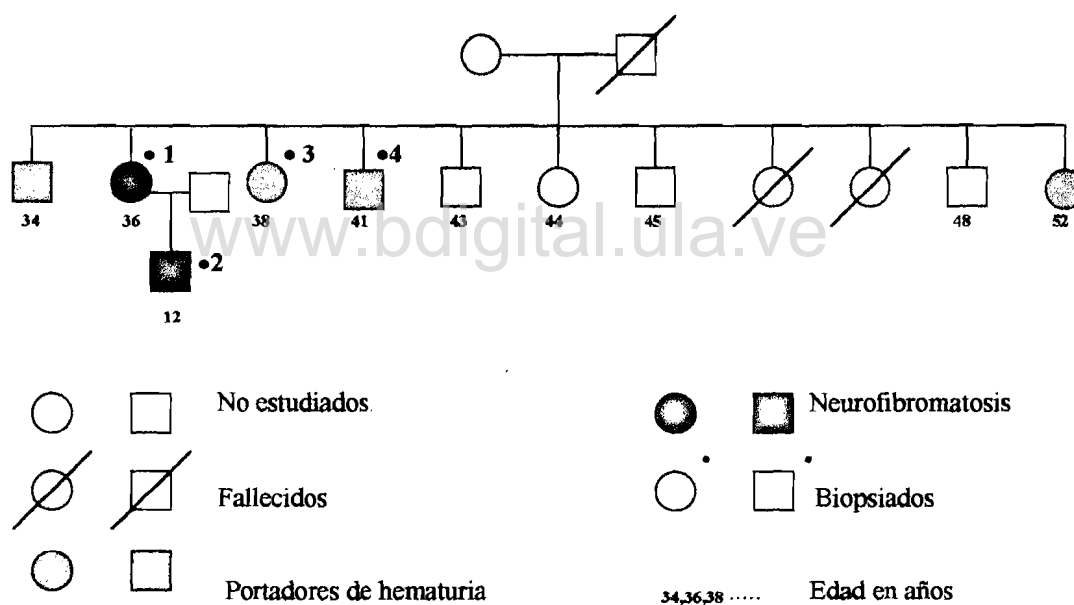
El material obtenido para la MLAR y ME se fijó con una mezcla de glutaraldehído al 3% y formaldehído al 3% en tampón cacodilato 0,1 M, pH 6,7 seguido de una postfijación en una solución de tetra-óxido de osmio al 1% en igual tampón. Después de la deshidratación en alcohol etílico las muestras se incluyeron en Epon 812. Los cortes para MLAR (una micra de espesor) se colorearon con azul de toluidina y para-fenil-endiamina, y para ME (media micra de espesor) con acetato de uranilo y citrato de plomo.

www.bdigital.ula.ve

RESULTADOS:

El grupo familiar estudiado finalmente estuvo constituido por tres hermanos y el hijo de una de estos, en edades comprendidas entre 12 y 41 años, dos del sexo femenino y dos del sexo masculino (**figura 1**).

**Figura 1.- HEMATURIA FAMILIAR Y NEUROFIBROMATOSIS
ARBOL FAMILIAR.**



A la exploración física se encontró lesiones en piel tipo neurofibromas en el paciente 1 y manchas "café con leche" (más de seis) en el paciente 2; en este paciente fue evidente el retardo en el crecimiento para lo cual se planteó la realización de estudios complementarios a posteriori. La hipertensión arterial (HTA) se presentó solo en el paciente 4, que para el momento del estudio presentaba deterioro crónico de la función renal (**tabla 1**).

**TABLA 1: HEMATURIA FAMILIAR Y NEUROFIBROMATOSIS
DATOS CLÍNICOS**

PACIENTE	SEXO	EDAD (años)	PA (mm Hg)	LESIONES EN PIEL
1	F	36	120/80	Manchas “café con leche”
2	M	12	125/80	Neurofibromas Manchas “café con leche”
3	F	38	110/70	NO
4	M	41	160/95	NO

F: Femenino. M: Masculino. PA: Presión Arterial.

www.bdigital.ula.ve

Al examen general de orina (EGO) todos presentaron hematuria microscópica (cuatro o más glóbulos rojos por campo con objetivo de 40x), con un dismorfismo mayor de 30% (30-85%), encontrándose más de dos formas dismórficas por cada muestra; también se observaron cilindros de glóbulos rojos. Todos presentaron proteinuria pero en ninguno de los casos excedió de 1 gr/24 h. Llama la atención que todos los pacientes presentaron orinas con pH alcalino para lo cual no se encontró explicación. (**tabla 2**).

El funcionalismo renal estuvo alterado solo en el paciente 4, con niveles de Cr elevados y un CCr menor de 50 ml/min. En el resto de los pacientes las pruebas realizadas para función glomerular y tubular fueron normales, planteándose la realización de estudios mas amplio de la función tubular a posteriori ya que el pH urinario fue persistentemente alcalino en todos los pacientes (**tablas 3 y 4**).

Las pruebas inmunológicas realizadas fueron normales en todos los pacientes como se aprecia en la tabla 5.

**TABLA 2: HEMATURIA FAMILIAR Y NEUROFIBROMATOSIS.
EXAMEN DE ORINA**

Paciente	Densidad	pH	Proteinuria (mg/24 h)	GR. x/c 40x	GB. x/c 40x	Pocitos	Cilindros xc	Bacterias	Dismorfismo (%)	Morfología GR
1	1020	7,0	200	60-70xc	1-0	0	GR: 1	0	65	A - Ac
2	1020	7,1	300	55-60xc	1-2	0	GR:1-2 G: 0-1	0	85	A - Ac M
3	1015	6,8	500	60 - 65xc	0-3	0	GR:0-1 G: 0-1	0	50	A - Ac M -- E
4	1010	6,8	800	13 - 15xc	0-3	0	GR: 1	0	30	A - Ac E

GR: Glóbulos Rojos. x/c 40x: por campo con objetivo de 40x. **GB:** Glóbulos Blancos **G:** Granulosos.

Morfología del GR: A: anulares. Ac: acantocitos. E: espiculados. M: formas mixtas.

**TABLA 3: HEMATURIA FAMILIAR Y NEUROFIBROMATOSIS.
FUNCIONALISMO RENAL**

PACIENTE	Cr. (mg/dl)	UCr. (mg/dl)	CCr. (ml/min)	Urea (mg/dl)
1	0,4	62	120	17
2	0,7	60	107	13
3	0,7	119	94	25
4	2,8	60	40	62

Cr: Creatinina plasmática. **UCr:** Creatinina Urinaria. **CCr:** Clearance de Creatinina.

TABLA 4: HEMATURIA FAMILIAR Y NEUROFIBROMATOSIS.**PRUEBAS TUBULARES**

PA CIENTE	Ca ⁺⁺		P		AcU		Na ⁺ PI mEq/l	K ⁺ PI mEq/l	Ca ⁺⁺ /Cr
	PI	U	PI	U	PI	U			
	mg/dl	mg/24h	mg/dl	mg/24h	mg/dl	mg/24h			
1	9,9	39	3,4	0,19	1,7	258	135	4,1	0,06
2	10,7	32	3,4	0,43	1,9	144	140	3,0	0,05
3	10,2	56	3,5	0,12	2,0	160	143	4,3	0,10
4	10,3	62	3,3	0,45	3,0	162	141	4,5	0,07

PI: Plasma. U: Orina. Ca⁺⁺: Calcio. P: Fósforo. AcU: Acido Urico. Ca⁺⁺/Cr: Relación Calcio Creatinina.

TABLA 5: HEMATURIA FAMILIAR Y NEUROFIBROMATOSIS.**PRUEBAS INMUNOLOGICAS**

PACIENTE	CH ₅₀ (H/ml)	VA (H/ml)	AAN
1	152	33	-
2	172	40	-
3	100	32	-
4	192	50	-

VA: vía alterna . AAN: anticuerpos anti-nucleares.

Al ultrasonido renal el paciente 4 presentó aumento difuso de la ecogenicidad del parenquima renal de ambos riñones y un pequeño quiste de 1 x 1 cms en polo inferior del riñón derecho, siendo éste el mismo paciente con deterioro de la función renal e hipertensión arterial; el paciente 2 presentó discreta dilatación de la pelvis renal izquierda, realizándose posteriormente urografía de eliminación que reveló variedad anatómica de la pelvis renal izquierda (pelvis cuadrada). Cistografía miccional normal.

Los estudios hematológicos, audiológicos y oftalmológicos fueron básicamente normales en todos los pacientes. La valoración neurológica reportó evidencia clínica de enfermedad tipo neurofibromatosis en los pacientes 1 y 2 (madre e hijo).

El estudio histológico del tejido renal a la ML mostró engrosamiento de la membrana basal de la cápsula de Bowman (MBCB) y de la membrana basal glomerular (MBG) en forma segmentaria, así como dobles contornos de la MBG en algunas áreas (**figura 2**).

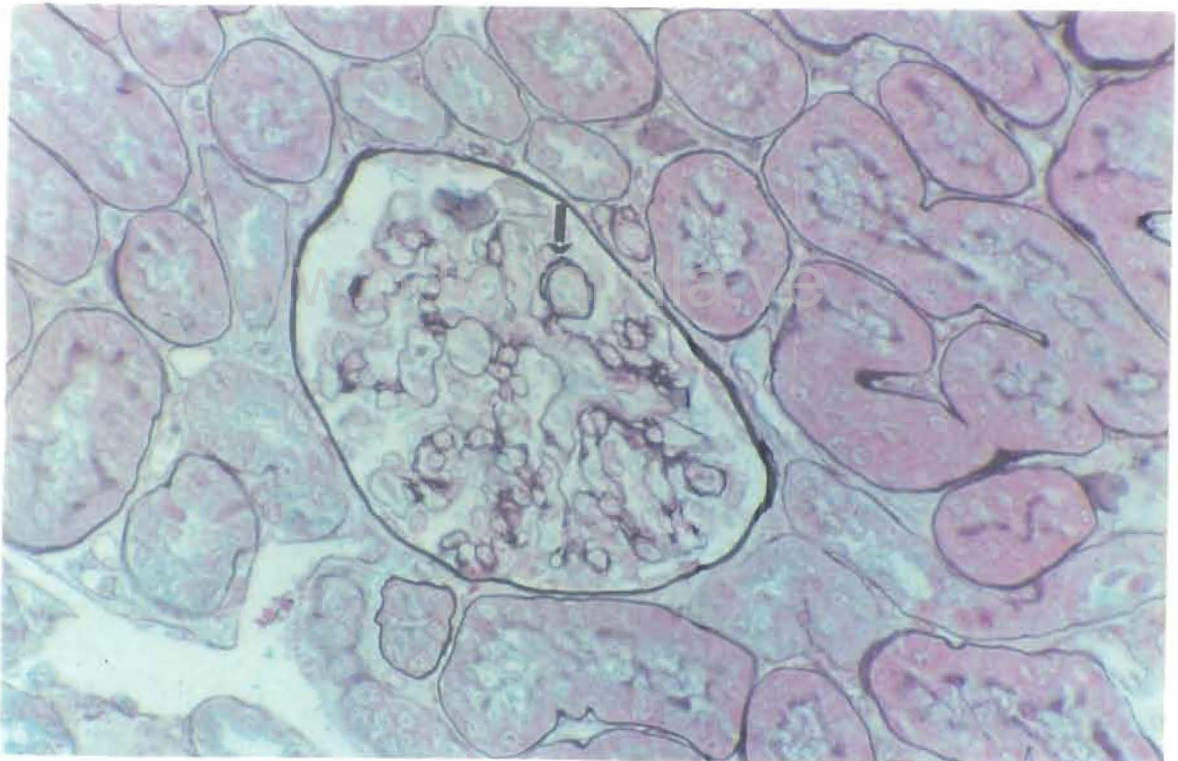


Figura 2: Sección histológica de riñón de un paciente con hematuria familiar y neurofibromatosis en la cual se aprecia un glomérulo con evidente irregularidad de la MB; la flecha indica engrosamiento y duplicación de la misma. Nótese adelgazamiento y engrosamiento de la MBCB. Igual observación puede indicarse a la MB tubular. (Plata contrastada con tricrómico x 700).

A nivel tubular se evidenció la atrofia e hipertrofia de las células tubulares. En el paciente 4, quién se encuentra en IRC (CCr: 40 ml/min) se observó un gran porcentaje de

glomérulos obsoletos, infiltrado túbulo intersticial mononuclear, atrofia e hipertrofia de los túbulos característico de daño parenquimatoso renal avanzado (**figura 3**).

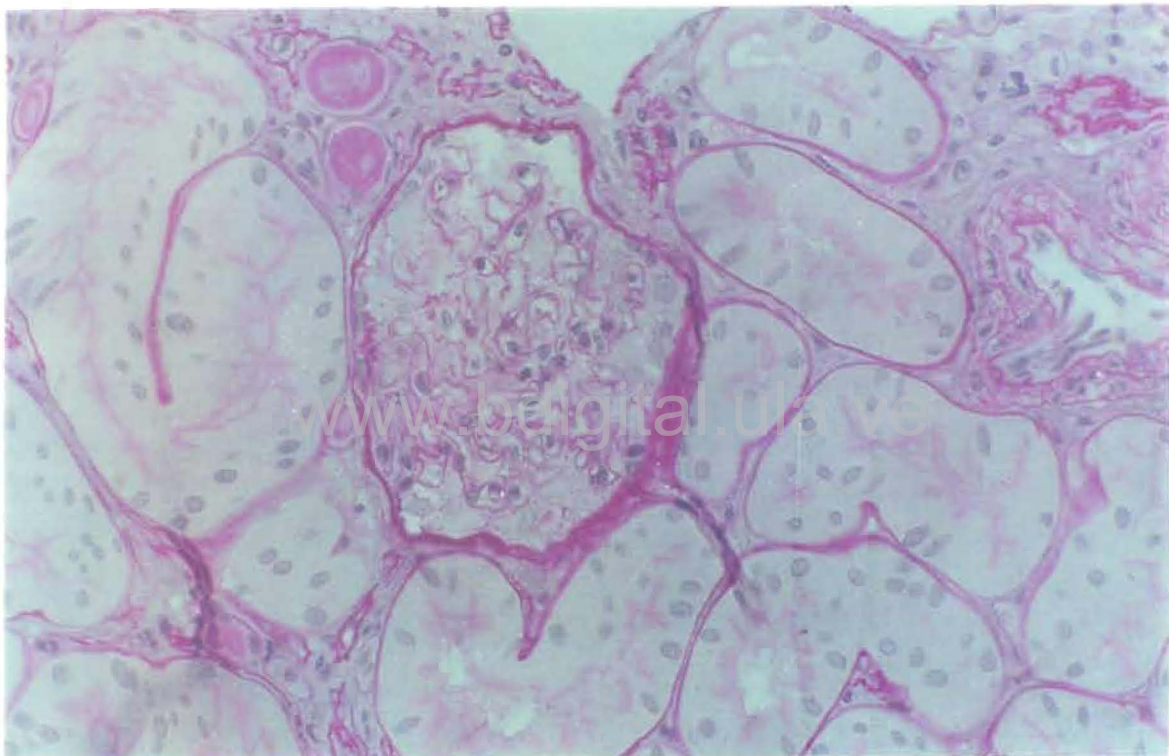


Figura 3: En esta preparación podemos apreciar el proceso de esclerosis de un glomérulo en vías de obsolescencia. Se aprecia también la irregularidad de las membranas basales. (PAS x 700)

En las estructuras vasculares se encontraron lesiones similares a las descritas por Habib en 1962⁽¹⁸⁾ observadas en pacientes portadores de neurofibromatosis. Se resalta sobre todo la hipertrofia e hiperplasia de los elementos miocelulares, así como pérdida de la íntima en arteriolas de mediano calibre (**figuras 4 y 5**).

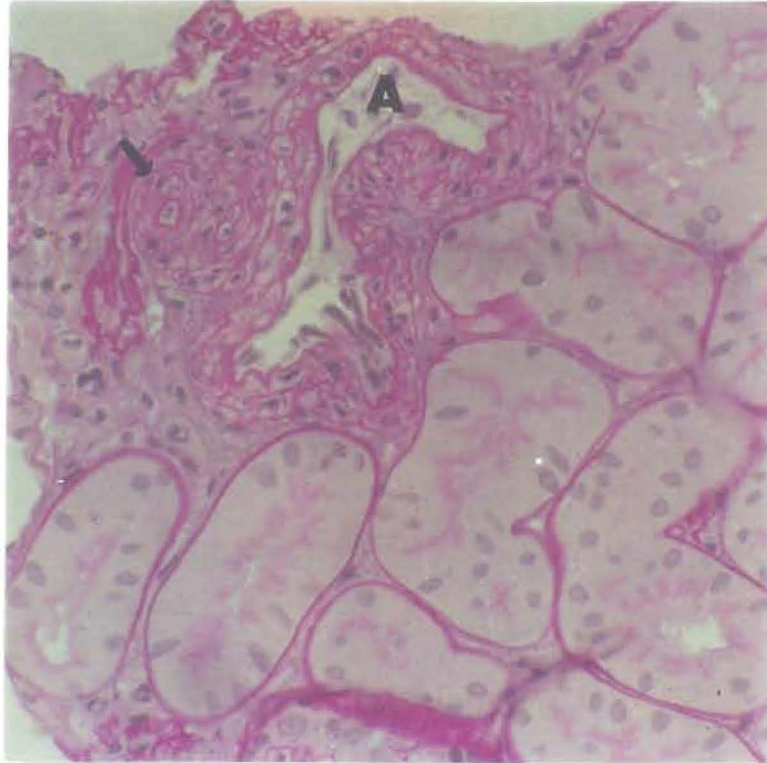


Figura 4: Sección en la cual se aprecian túbulos renales en condiciones aparentemente normales. En la parte superior se ve un elemento vascular, arteriola (A), con irregularidades tales como hiperplasia e hipertrofia del elemento miocelular. La flecha señala un nódulo de células musculares lisas. Se aprecia además la desaparición de la íntima. (PAS x 700).

Los estudios del tejido renal a la IF revelaron fluorescencia positiva para C_3 en la pared de algunos capilares intersticiales, estos hallazgos fueron evidentes solo en los pacientes 1 y 2.

A la MLAR en los glomérulos se observaron capilares distendidos o aneurismáticos, algunos de ellos con glóbulos rojos aglutinados en su interior alternando con capilares normales. Fueron evidentes diversos grados de engrosamiento a nivel de la MBG y de MBCB alternando con segmentos más delgados. Se observaron dos tipos de estructuras cavitarias: unas tapizadas en su interior por células epiteliales parietales sobre una membrana basal (MB) y glóbulos rojos en su interior, por lo que se deduce que corresponden a glomérulos que perdieron su penacho capilar. Otras cavidades estaban tapizadas por células endoteliales hipertrofiadas que parecen corresponder a vénulas dilatadas. A nivel periglomerular se observó proliferación de fibrocitos, fibroblastos e infiltración de algunas cé-

lulas mononucleares. Algunas de las células epiteliales tubulares mostraron discreto grado de densificación citoplasmática y signos de atrofia alternando con células de características normales. (Figura 6).



Figura 5: En esta preparación fotográfica, se ve un elemento arterial distendido o aneurismático en el cual se aprecia una fibromiomatosis importante con abundantes nódulos de fibras musculares lisas (M). Se aprecia además la desaparición de la lámina íntima y la presencia de fibras de colágeno entre los paquetes de células musculares lisas (→). En la parte superior de la fotografía la flecha curva señala un nervio perteneciente a la vasa nervorum de esta arteria. (Metenammina de plata x 700).

Al ME algunos capilares glomerulares se mostraron completamente obliterados por la hipertrofia de sus células endoteliales. También se observó zonas de material amorfo rodeadas por el citoplasma de las células endoteliales probablemente remanente del material plasmático que quedó apresado durante la oclusión de los capilares. En las células epiteliales viscerales se observó la formación de grandes excrecencias del citoplasma llenas de proteínas diferenciadas que al desprenderse caen al espacio urinario y pasan a formar parte de los cilindros. Este fenómeno se conoce como potocitosis (figura 7).

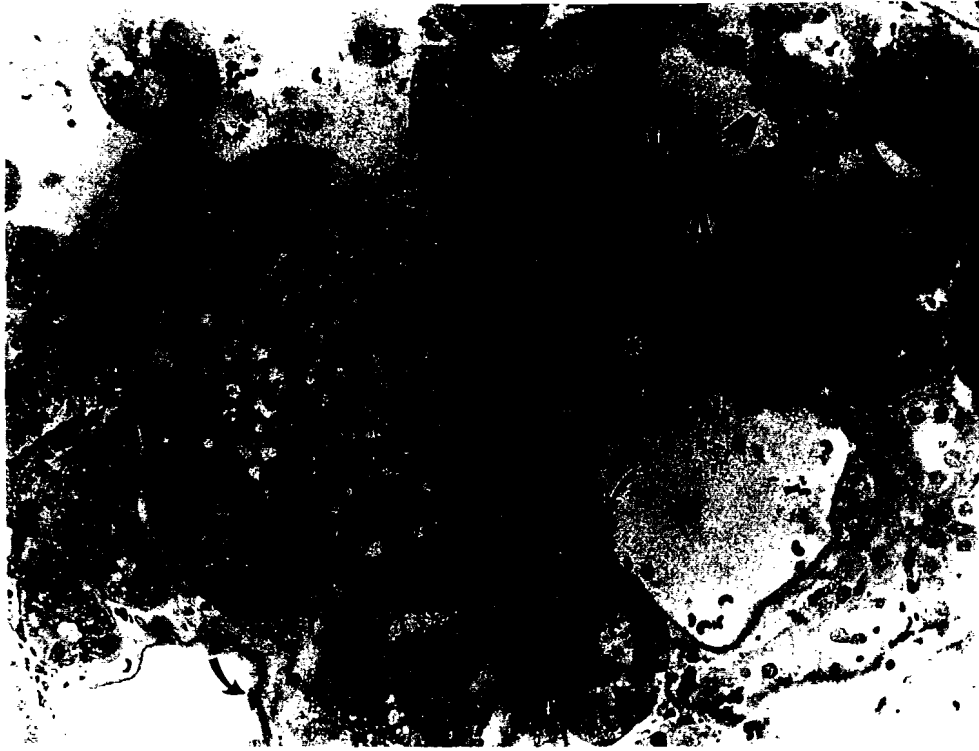


Figura 6: En el centro se aprecia un glomérulo con dilataciones aneurismáticas de los capilares glomerulares, algunos de ellos trombosados (\Rightarrow). A su derecha se observa una estructura cavitaria, con células epiteliales parietales sobre la MB (\Rightarrow) y glóbulos rojos en su interior, que corresponde a glomérulos cuyo penacho desapareció. Cercano al glomérulo una arteriola (A) que muestra signos de erección, explicable por el manguito fibrótico a su alrededor que para ser de pequeño calibre su luz es amplia. Sobre ésta se aprecia otra estructura cavitaria tapizada por células endoteliales planas hipertrofiadas (\blacktriangleright) que corresponde a una vénula dilatada (V). Con un asterisco (*) se señala proliferación de fibrocitos, fibroblastos e infiltración de células mononucleares. Dentro de los círculos se observan algunas células epiteliales tubulares densificadas y atrofiadas. x 176.



Figura 7: Parte de un glomérulo en el cual se observa el espacio urinario (EU) con glóbulos rojos (GR), fragmentos de podocitos (PT). También se observan fragmentos de MBG rodeada por podocitos (*). EpP, célula epitelial parietal. x 7000.

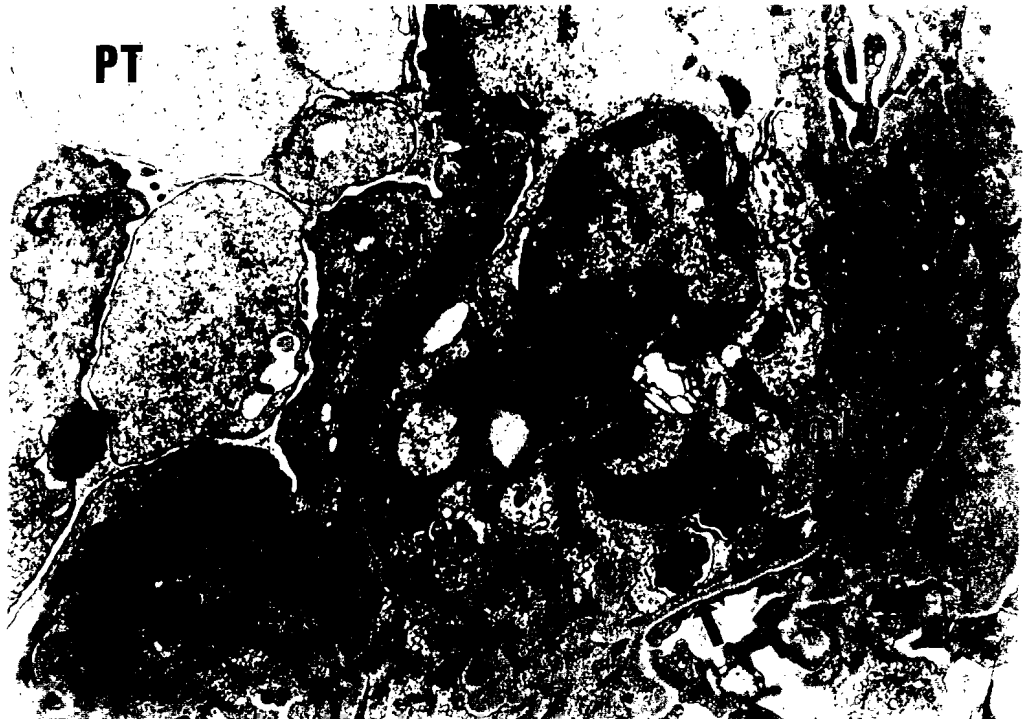


Figura 8: Porción central de un glomérulo con un capilar completamente obliterado por hipertrofia de la célula endotelial (En). Señalado con un asterisco, material amorfo rodeado por el citoplasma de la célula endotelial. En la porción inferior izquierda se aprecia MBG esclerosada (Esc) con un material altamente electrón denso en su interior (↔) que quedó atrapado en el proceso de proliferación y de esclerosis. Señalado con una flecha recta (→) zonas de MBG delgada en continuidad con áreas engrosadas y plegadas (mb) alternos con segmentos de MBG de grosor normal. También se observaron fragmentos de podocitos (PT) de las células epiteliales viscerales, en el espacio urinario. x 8400.

La MBG mostró engrosamiento irregular con plegamientos de la misma que van a constituir futuros bloques de esclerosis glomerular. Dentro de los plegamientos se observó un material altamente electrón denso alternando con zonas de menor densidad como se describe en la mayoría de las afecciones que cursan con esclerosis de la MBG. Además se observó la fusión e hipertrofia de las prolongaciones citoplasmáticas de las células epiteliales viscerales (podocitos). En el interior de estos en algunos segmentos además de la hipertrofia se observó la presencia de filamentos intermedios (Figuras 8,9 y 10).

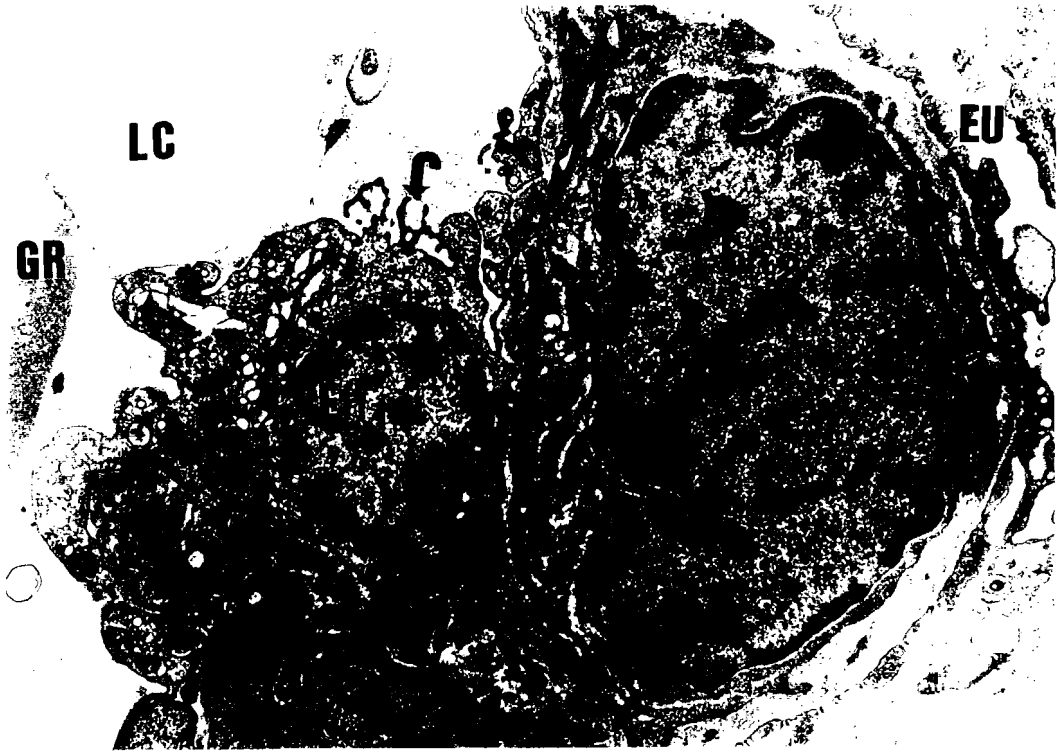


Figura 9: En esta imagen se observa la pared de un capilar aneurismático, con fragmentos de células y de glóbulos rojos (GR) en la luz capilar (LC). EL citoplasma de una célula endotelial (EN₁) muestra microvellosidades irregulares (↔) y fragmentos de membrana basal englobada por el mismo (*). A la derecha se aprecia otra célula endotelial hipertrofica (EN₂); la flecha recta (→) señala la significativa reducción de la luz capilar. EU, espacio urinario. x 9800.



Figura 10: En esta fotografía se aprecia la MBG a mayor aumento en proceso de esclerosis con islotes citoplasmáticos que fueron atrapados en el proceso de hipertrofia de la misma. Dentro de la MBG zonas de mayor densidad (↔). Fusión e hipertrofia de los podocitos (PD). Presencia de filamentos intermedios en el interior de los podocitos hipertrofiados (*). x 21000.

En el citoplasma de las células epiteliales viscerales se observó con frecuencia la presencia de vacuolas y dentro de ellas pequeñas vesículas lipídicas por su electrón transparencia y su homogeneidad (**Figura 11**).



Figura 11: Una célula epitelial visceral hipertrofiada (EpV), observándose en su citoplasma una gran vacuola (V) con pequeñas vesículas lipídicas en su interior. N, núcleo de la célula. AG, aparato de Golgi. x 8400.

Los túbulos renales mostraron varias alteraciones y en diversos grados. Algunos túbulos contorneados proximales (TCP) presentaron microvellosidades completamente indemnes y otros pérdida total de las mismas. La MB tubular se observó engrosada apreciándose laminada en algunas áreas. (**Figuras 12,13 y 14**).

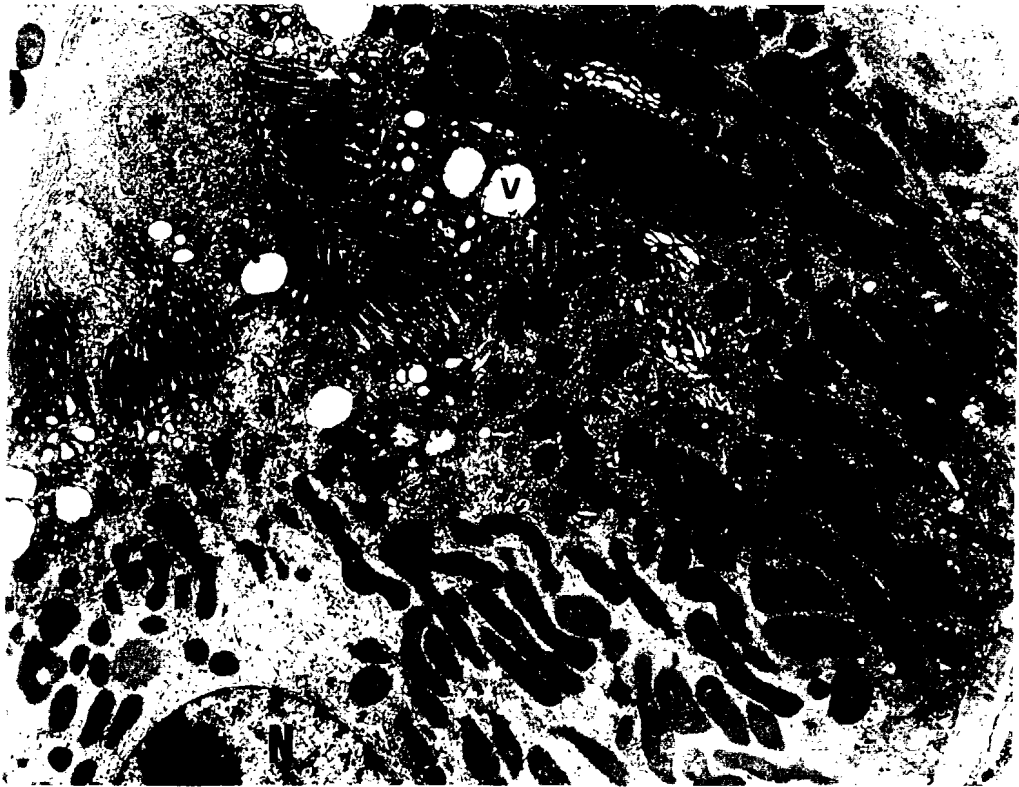


Figura 12: Segmento de TCP en el que se observan microvellosidades (Mv), material proteico en la luz y potocitosis tubular (*). Además en el citoplasma de estas células se observan numerosas vacuolas (V) y cuerpos densos (CD) semejantes a lisosomas activados. El núcleo (N) y el nucléolo, las mitocondrias así como el citosol muestran características normales. x 5600.



Figura 13: Corte longitudinal de un capilar peritubular (C) con glóbulos rojos en su interior (GR). Franco engrosamiento de la MB tubular (mb) y edematización de la porción basal de algunas células tubulares (*) a ambos lados del capilar. Algunas células muestran densificación del citoplasma por atrofia como es señalada con la flecha recta. x 5600.



Figura 14: Segmento de un túbulo en el que se aprecia engrosamiento y laminación de la MB tubular (mb). Atrofia franca de las células epiteliales tubulares. Nótese la densidad del citoplasma similar a la del núcleo (N). Edema lacunar intercelular (*). Las microvellosidades (Mv) aún cuando muestran irregularidades están conservadas. x 4200.

Algunas células tubulares se observaron atróficas mostrando la densidad del citoplasma similar a la del núcleo, con desprendimiento de la MB tubular en estadios más avanzados de atrofia. En el citoplasma de estas células se observó material proteico, numerosas vacuolas, y cuerpos densos que semejan lisosomas activados. Los espacios entre las células epiteliales tubulares se apreciaron edematizados adoptando un aspecto lacunar, dando al espacio extracelular un carácter criboso. También se observó potocitos. (Figuras 12,13,14 y 15)

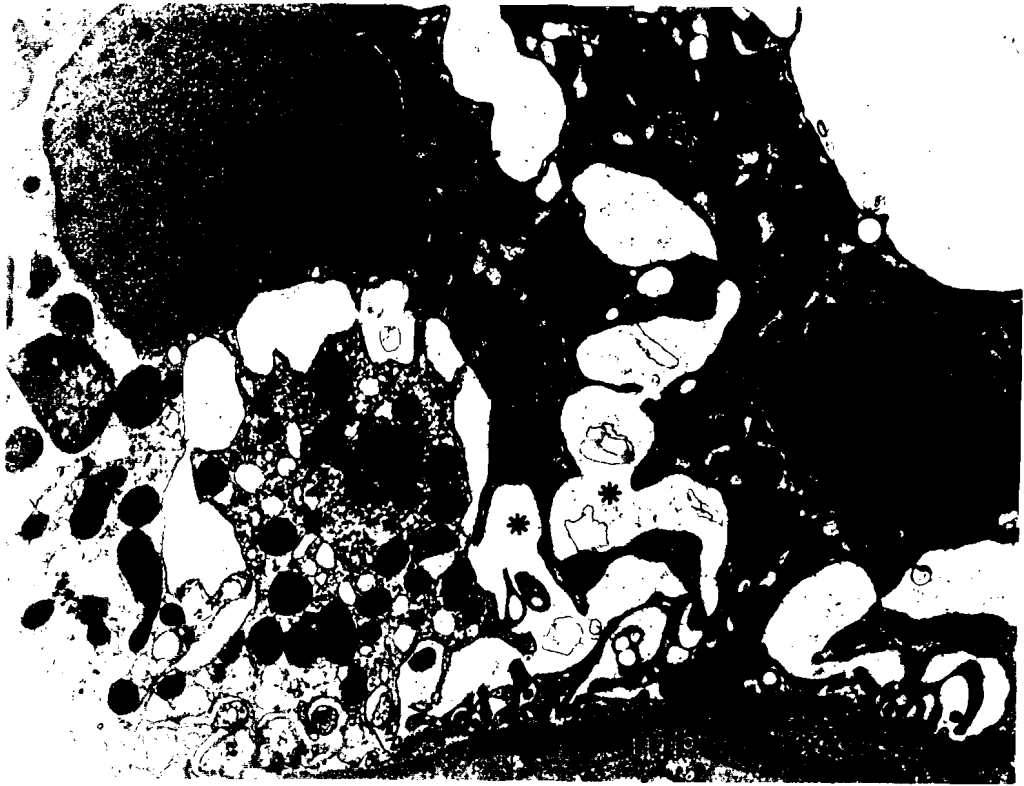


Figura 15: Grado mayor de atrofia de las células epiteliales tubulares y alguna de ellas (1) en franco proceso de desprendimiento de la MB tubular (mb), que luce engrosada. La célula (2) muestra alteraciones tales como edematización y vacuolización citoplasmática. (*) Edema intercelular. x 7000.



Figura 16: Espacio intersticial renal con proliferación de fibrocitos en cuyo citoplasma se observan cuerpos densos (CD) homogéneos que parecen carecer de membrana. FC, Fibras de colágeno. La célula cuyo núcleo se indica con la letra N corresponde a una célula infiltrante tipo mononuclear frecuentemente encontrada en estas zonas de fibrosis. x 9800.

En la mayoría de las biopsias de tejido renal estudiadas se pudo observar en el espacio intersticial proliferación de fibrocitos, fibroblastos e infiltración de células mononucleares. En el interior de algunas de estas células infiltrantes se observó la presencia de cuerpos densos homogéneos, aparentemente sin membrana. En otras zonas se observó focos de fibrosis con presencia de fibras de colágeno (**Figura 16**).

En la piel de estos pacientes a la ME pudo apreciarse una gran diversidad de alteraciones tanto de la epidermis como de la dermis. Entre las alteraciones epidermales superficiales comúnmente encontradas se señala la irregularidad del epitelio. Las células epiteliales basales por lo general se mostraron irregulares con núcleos también muy irregulares en los cuales se pudo apreciar cuerpos cromáticos o fragmentos nucleares atípicos. La MB subepitelial o el córion basal epitelial refleja también la irregularidad del posicionamiento basal de las células, mostrando además engrosamiento y adelgazamiento de manera alterna. Por debajo del epitelio y a todo lo ancho del mismo se apreció zonas de fibrosis con abundantes haces de colágeno. En los núcleos de las células epidérmicas basales se observó con frecuencia engrosamiento y densificación de la cisterna perinuclear que inicialmente se interpretó como seccionamientos tangenciales de estas estructuras; sin embargo ante la frecuente aparición de esta característica, se puso concluir que se trataba de una alteración del núcleo que presentaban en común todos los pacientes estudiados. Además los núcleos de las células epiteliales presentaban profundas invaginaciones lo cual contribuye a crear una gran irregularidad de los mismos. En relación a estas áreas frecuentemente se asociaba organización irregular de la cromatina (**Figura 17**).

Las otras características dignas de destacar son la compresión fibrótica que ejercen las fibras de colágeno sobre los axones, aún cuando algunos de ellos se encuentran dilatados, notándose el sufrimiento axónico por la presencia inusual de lisosomas activados en su interior; estos lisosomas son irregulares y se reconocen ultraestructuralmente por estar formados por zonas densas y zonas de aspecto lipóideo. También se reconocen cuerpos de lipofusina, que es el pigmento de envejecimiento, en este caso una señal de sufrimiento axónico (**Figuras 18 y 19**).

de lipofusina, que es el pigmento de envejecimiento, en este caso una señal de sufrimiento axónico (Figuras 18 y 19).

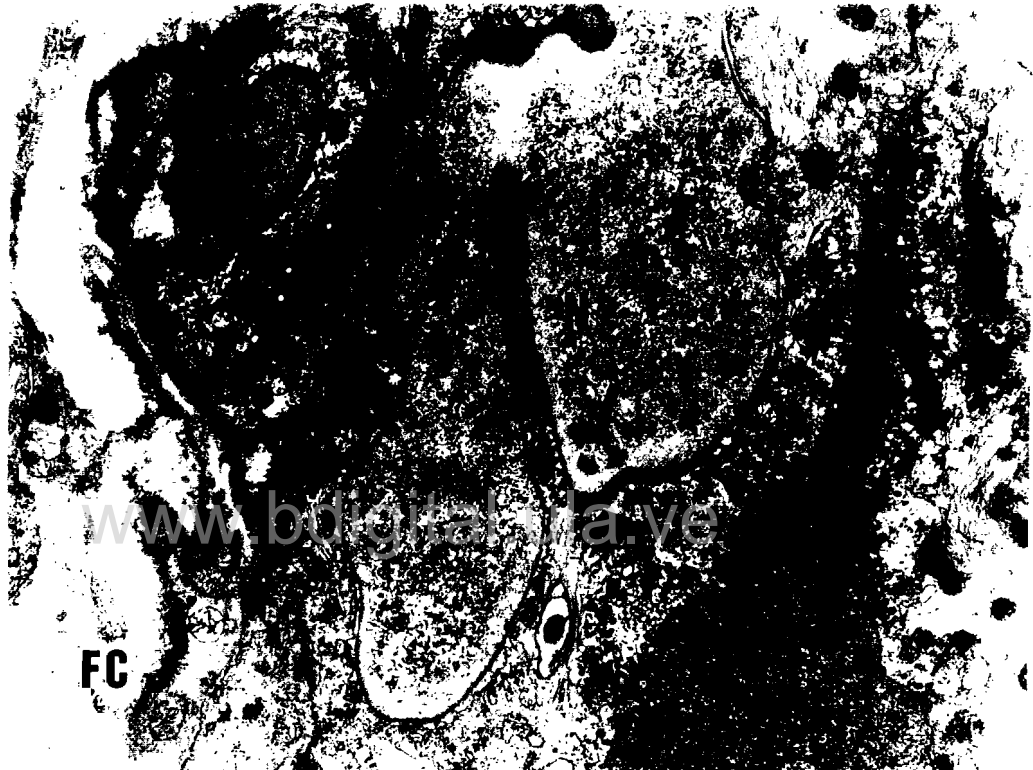


Figura 17: Fotografía de biopsia de piel en la que se aprecia la membrana basal subepitelial irregular con zonas de engrosamiento (→), observándose por debajo del epitelio y a todo lo ancho, zonas de fibrosis con abundantes fibras de colágeno (FC). Engrosamiento y densificación de la cisterna perinuclear (♦) con invaginaciones profundas de la misma, asociada a organización irregular de la cromatina nuclear (↔). N, núcleo. x 9800.

Algunos axones que estaban menos comprimidos por el tejido fibrótico mostraron en su interior abundantes vesículas sinápticas, siendo curioso que estos axones pueden poseer tantas vesículas sinápticas antes de llegar a la terminación axónica (Figura 19).



Figura 18: Axones (Ax) comprimidos por fibras de colágeno (FC); en el interior de estos axones se observan lisosomas (Ly). x 9800.

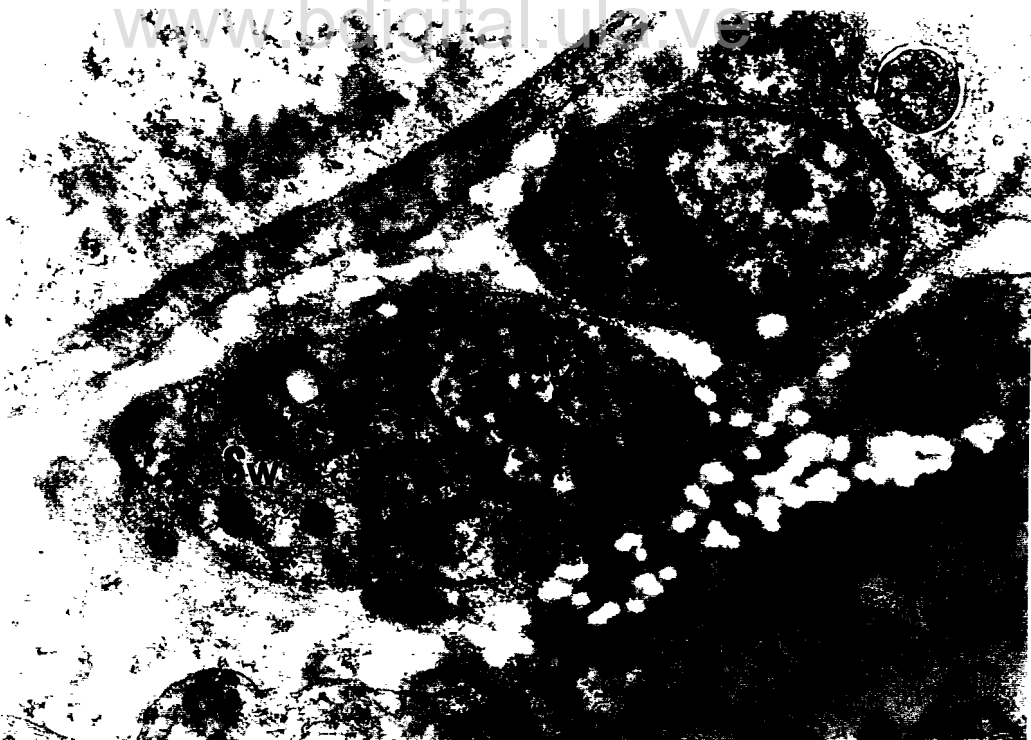


Figura 19: (Ax) Axones aun recubiertos por las células de Schwann (Sw), con menos compresión fibrótica mostrando en su interior abundantes vesículas sinápticas. x 21000.

En la mayoría de las biopsias se mostraron extensas regiones con haces de colágeno muy densos los cuales estaban rodeados de un material amorfo de naturaleza proteica a juzgar por su mediana electrondensidad, en algunas regiones el material homogéneo se hace francamente heterogéneo por la presencia de un depósito electrón denso fino en su interior, esto contribuye a la esclerosis de la piel encontrada en estos pacientes. Los elementos vasculares se observaron también anormalmente rodeados por tejido conjuntivo. (Figura 20).



Figura 20: Abundantes haces de fibras de colágeno (FC), rodeadas por un material amorfo homogéneo (*) de posible naturaleza proteica que en algunas regiones se torna francamente heterogéneo con presencia de depósitos electrondensos finos en su interior (↔). x 4200.

En algunas regiones intersticiales de la dermis se observaron unos cuerpos densos de aspecto pseudocelular por que' semejan células de la sangre como linfocitos, eritroblastos o granulocitos; sin embargo no se evidenció ninguna organela citoplasmática en su interior como para ser consideradas como células; estos cuerpos densos contienen en su interior pseudonúcleos, uno o varios que son estructuras esferoidales de características heterogéneas por presentar zonas densas alternando con zonas de menor densidad. En la mayoría de los casos estos cuerpos densos no pudieron ser comparados con ninguna de las estructuras descritas en la literatura revisada (**Figura 21**).



Figura 21: Cuerpos densos distribuidos en la dermis, con seudo-núcleos en su interior (*). x7500

DISCUSIÓN:

En este trabajo se presentan los resultados de los hallazgos clínicos, paraclínicos e histopatológicos del grupo familiar estudiado, tres de la primera generación y uno de la segunda generación portadores de hematuria familiar y neurofibromatosis, donde dos de sus miembros del sexo femenino de la primera generación fallecieron con IRC y otro del sexo masculino está en IRC.

Tomando en cuenta la evolución clínica de la enfermedad hacia la insuficiencia renal aunado a los hallazgos ultraestructurales de la MBG se puede considerar el descartar la hematuria familiar benigna, tal como fue descrita por Roger et al⁽¹⁹⁾, la cual se caracteriza por hematuria familiar sin deterioro de la función renal y ultraestructuralmente por adelgazamiento uniforme, segmentario o difuso de la lámina densa de la MB de los capilares glomerulares. De tal manera que tendríamos que analizar la posibilidad de algunas de las variantes de nefritis hereditaria progresivas propuestas por Grünfeld⁽⁴⁾.

Las alteraciones ultraestructurales encontradas en las biopsias de riñón de todos los pacientes incluidos en este estudio, donde predominó el engrosamiento y laminación difusa de la MBG alternando con zonas adelgazadas, son similares a las descritas por Berstein en 1987, en un trabajo en el cual recopiló las alteraciones descritas desde 1964 por otros investigadores^(20,21,22), que de acuerdo a Hinglains et al⁽²³⁾ y a otros^(7, 8,24,25) serían específicas del síndrome de Alport y de otras formas de nefritis hereditaria, pero que de acuerdo a Hill et al.,⁽²⁶⁾ pueden presentarse también en casos de glomerulonefritis postestreptocócica, de gloméruloesclerosis focal y segmentaria y de nefropatía por Ig A. Gubler et al.,^(25,27) y Berstein⁽²⁸⁾, sugieren que el adelgazamiento de la MB es más común en niños, lo cual no pudo ser corroborado por Rumpelt⁽⁷⁾, quien reporta estrecha correlación entre la laminación de la MB con la progresión de la enfermedad.

En el Síndrome de Alport los estudios de inmunofluorescencia son generalmente negativos con la excepción de algunos depósitos diseminados de C₃ en los glomérulos o

en sus polos vasculares⁽²⁷⁾; en el presente trabajo se encontraron depósitos de C₃ en los vasos del intersticio solo en dos de los pacientes.

Es de destacar que en la mayoría de los casos estudiados se encontró glomérulos sin su penacho capilar; estos glomérulos pudieron ser reconocidos porque conservaban la cápsula de Bowman. La ausencia del contenido glomerular podría ser explicada de tres maneras diferentes a la luz de estos resultados, a saber: el primer planteamiento es que el contenido fue removido por el arrastre de la cuchilla con la que se realizan los cortes; esto sería posible siempre y cuando las infiltraciones con parafina fuesen defectuosas. Este no es nuestro caso porque la ME usa una resina epoxídica que impide la fragmentación del material. La segunda explicación se relaciona con la agenesia del contenido de algunos glomérulos, y la tercera posible explicación sería la reabsorción o lisis del complejo vascular intraglomerular.

Por otra parte el hecho que uno de los pacientes tenga retardo del crecimiento, aunado al pH urinario alcalino presente en todos los pacientes sin otra manifestación aparente en las pruebas tubulares realizadas, nos plantea la necesidad de estudios ulteriores para tratar de determinar la naturaleza de las alteraciones funcionales que puedan estar asociadas.

El pequeño quiste observado en el ecosonograma renal del paciente que se encuentra en insuficiencia renal se puede plantear como hallazgo casual de un quiste único o como la aparición de quistes como los que suelen verse en presencia de un daño parenquimatoso renal avanzado.

Entre las alteraciones extra renales que se describen en el síndrome de Alport están la sordera neurosensorial así como las alteraciones oftalmológicas específicamente el lenticono anterior bilateral⁽²⁹⁾ y la presencia de lesiones perimaculares puntiformes, blancuzcas y brillantes^(6,27,30) no detectadas en estos pacientes, al igual que no se encontraron alteraciones hematológicas específicamente la trombocitopenia y las macroplaquetas.^(6,31,32)

Aunque todas estas manifestaciones extrarenales no están presentes en la mayoría de los pacientes portadores de Alport son consideradas un parámetro importante para el diagnóstico de este síndrome.

Por otra parte lo que torna interesante el presente estudio fue el hallazgo que en este grupo familiar portador de hematuria con progresión a la insuficiencia renal en algunos casos, y con pocas manifestaciones extrarenales, se acompaña de una alteración neurológica tipo neurofibromatosis que se manifiesta al examen físico por neurofibromas y las manchas café con leche solo en dos pacientes, con hallazgos ultraestructurales en las biopsias de piel que mostraron que todos los pacientes tenían alteraciones de neurofibromatosis en base a la experiencia acumulada en el Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad de Los Andes. Esta asociación no fue encontrada en la literatura revisada. De acuerdo a lo expuesto podemos señalar que los casos estudiados constituyen una entidad nosológica no homologable a ninguna otra previamente descrita.

Lo que si ha sido ya ampliamente descrito por Habib en 1962⁽¹⁸⁾ son las alteraciones de la vasculatura renal en pacientes portadores de neurofibromatosis; en nuestros pacientes se evidenciaron hallazgos similares a los ya descritos.

Cabe destacar el hallazgo en biopsias de piel al ME de engrosamiento y densificación de la cisterna perinuclear en células basales de la epidermis, y en relación a ésta, organización irregular de la cromatina, así como también cuerpos densos con aspecto de polimorfonucleares o eritroblastos pero sin organelas citoplasmáticas, alteraciones estas que no pudieron ser encontradas en la literatura revisada.

CONCLUSIONES:

Teniendo en cuenta todas las consideraciones anteriores podemos plantear la posibilidad de encontrarnos ante una entidad clínica caracterizada por una hematuria familiar que progresa a la insuficiencia renal con alteraciones ultraestructurales similares a las descritas en la nefritis hereditaria que progresa a la insuficiencia renal tipo Alport, que no se acompaña de alteraciones extrarenales características en la gran mayoría de los pacientes portadores de este síndrome y que en este caso se asocia a una alteración neurológica como lo es la neurofibromatosis.

La asociación en estos casos de una nefritis hereditaria que progresa a la insuficiencia renal con neurofibromatosis, ratifica el punto de vista de algunos investigadores⁽³³⁾ de que bajo la denominación de **nefritis hereditaria** " se incluye un grupo heterogéneo de entidades clínicas para cuya individualización se requieren estudios ulteriores.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOGRAFIA

- 1.- **Guthrie L. G:** "Idiopathic or congenital hereditary and familial hematuria". *Lancet* 1:1246, 1902.
- 2.- **Hurst AF:** Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis occurring in sixteen individuals in three generations. *Guy's Hosp Rec* 3: 368-370, 1923.
- 3.- **Alport AC:** Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis. *Br Med J* 1:504-506, 1927.
- 4.- **Grünfeld Jean-Pierre:** The clinical spectrum of hereditary nephritis. *Kidney Int.* 27:83-92, 1985.
- 5.- **Sessa A, Meroni M, Ratiinis G:** Hereditary nephritis. Editorial Karger. Suiza. Introductory Remarks pag 1, 1990.
- 6.- **Habib R, Gubler MCI, Hinglais N et al:** Alport's syndrome: Experience at Necker Hospital. *Kidney Int.* 21: S-20-S-28, 1982.
- 7.- **Rumpelt HJ:** Hereditary nephropathy (Alport' Syndrome): correlation of clinical data with glomerular basament membrane alterations. *Clin Nephrol* 13: 203-207, 1980.
- 8.- **Yoshikawa N, Cameron AH, White RHR:** The glomerular basal lamina in hereditary nephritis. *J Pathol* 235: 199-209, 1981.
- 9.- **Feingold J. Bois E. Chompret A. et al:** Genetic heterogeneity of Alport's syndrome. *Kidney Int* 27: 672-7, 1985.
- 10.- **Brunner HL:** X- linked Alport's syndrome: Localization of the gene in three families. *Kidney Int* 31: 1044, 1987.
- 11.- **Reeders, ST:** Molecular genetic of hereditary nephritis. *Kidney Int* 42: 783 – 792, 1992.
- 12.- **Beathard GA, Gronholm N:** Development of the characteristic ultrasctural lesion of hereditary nephritis during the course of the disease. *Am J Med* 62:751-756, 1977.
- 13.- **Gordillo-Paniagua G:** Nefritis Hereditaria Familiar en Gordillo Paniagua G. *Nefrología Pediátrica.* Cap. 6 . Mosby/Doyma. México. 1995.
- 14.- **Alvarado JE:** Trabajo de ascenso: Correlación clínico-patológica en veintitrés pacientes de tres familias con hematuria. ULA, 1995.

- 15.- Diprete A., Abuelo JG:** Acute renal insufficiency due to renal infarctions in a patient with neurofibromatosis. *Am J Kidney Dis.* 15:357-360, 1990.
- 16.- Kokoko T:** Recklinghausen's neurofibromatosis associated with membranous nephropathy. *Nephron.* 65: 486, 1993.
- 17.- Shibata T, Kudoh K, Ishii T, et al:** Case of membranous nephropathy associated with von Recklinghausen's disease. *Kidney Dial.* 29:145-148, 1990.
- 18.- Habib R, Habib EC, :** Les lésions vasculaires de la neurofibromatosis de von Recklinghausen. *4 ech. 3 nat. Path.* 10:47, 1962.
- 19.- Roger PW, Kurtzman NA, Bunn SM, et al :** Familial benign essential hematuria. *Archs Intern. Med.* 131,257, 1973
- 20.- Jay Bernstein:** The Glomerular Basement Membrane Abnormality In Alport's Syndrome. *Am J Kidney Dis.* 3:222-229, 1987.
- 21.- Bohrer N, Churg J, Gribetz D:** Glomerulonephritis in two sets of identical twins. Electron microscopic studies of renal biopsy specimens. *Am J Med* 36: 787-794, 1964.
- 22.- Antonovych TT, Deasy PF, Tina LU., et al.** Hereditary nephritis: Early clinical, functional and morphological studies. *Pediatr Res* 3:545-556, 1967.
- 23.- Hilgais N, Grunfeld J-P, Bois LE:** Characteristic ultrastructural lesion of the glomerular basement membrane in progressive hereditary nephritis (Alport's syndrome). *Lab Invest* 27:473-487, 1972.
- 24.- Spear GS:** Alport's syndrome: A consideration of pathogenesis. *Clin Nephrol* 1:336-337, 1973.
- 25.- Gubler MC, Gonzalez-Burchard G, Monnier C, et al:** Alport's syndrome: Natural history and ultrastructural lesion of glomerular and tubular basement membranes. *Contrib Nephrol* 2:163-169, 1976.
- 26.- Gary S. Hill, Edwin H. Jenis, and Samuel Goodloe Jr:** The Nonspecificity of the Ultrastructural Alterations in Hereditary Nephritis with additional observations in benign familial hematuria. *Lab Invest* 31:516-532, 1974.
- 27.- Gubler M, M. Levy, Broyer, et al:** Alport's Syndrome. A Report of 58 cases and a review of the literature. *Am J Med* 70: 493-505, 1981.

- 28.- Bernstein J:** Hereditary renal disease, in Churg J, Spargo BH, Mostofi FK, et al: *Kidney Diseases: Present Status*, TAP Monograph 20. Baltimore, Williams & Wilkins, 295-326, 1979.
- 29.- Arnott EJ, Crawford D'A, Toghil PJ:** Anterior lenticonus and Alport's syndrome. *Br J Ophthalmol* 50:390-403, 1966.
- 30.- Perri D, Jungers P, Grünfel et al:** Perimacular changes in Alport's syndrome. *Clin Nephrol* 13:163-167, 1980.
- 31.- Epstein CJ, Sahud MA, Piel CJ., et al:** Hereditary macrothrombocytopeny, nephritis and deafness. *Am J Med* 52:299-310, 1972.
- 32.- Brivet F, Girot R, Barbanel C., et al:** Hereditary nephritis associated with May- Hegglin anomaly. *Nephron* 29:59-62, 1981.
- 33.- G. S. Spear:** Hereditary nephritis (Alport's syndrome) 1983. *Clinical Nephrology*, 21:3-6, 1984.

www.bdigital.ula.ve