

ALTERACIONES MORFOLOGICAS E HISTOQUIMICAS DEL RIÑON ISQUEMIADO

Dres. Carlos A. Sáenz, Rórico Ibarra.

La magnitud del daño que sufre el riñón cuando es privado de su circulación es un problema que se plantean a menudo el urólogo y el cirujano vascular.

El primero para realizar intervenciones conservadoras sobre el riñón, sus vasos o la vía excretora (nefrostomías, nefrectomías parciales, plásticas, etc.); el cirujano vascular cuando debe clampearse la aorta por encima del nacimiento de las arterias renales.

Eisendrath y Strauss en 1910 (5) estudiaron las alteraciones histológicas producidas por la isquemia. Donnet y Pruneyre en 1953 (4) se ocuparon de los trastornos funcionales; y en los últimos años como consecuencia de la posibilidad del trasplante renal gran número de autores han reactualizado el tema.

Jones, Politano (7) y Calne (2) aseguran la restitución funcional de riñones isquemiados hasta 60 minutos a la temperatura del cuerpo.

Es lógico que la anoxia renal produzca trastornos hemodinámicos con interferencias en el sistema enzimático, los cuales serían causa de daño celular posterior al restablecimiento del flujo sanguíneo normal; el demostrarlo correlacionándolo con el tiempo de isquemia ha sido el objeto de este trabajo.

Material y Método: Se utilizaron 17 perros distribuidos en dos grupos.

Primer grupo: Bajo anestesia general se realizó nefrectomía en dos perros de 13 y 15 Kgs. de peso corporal. Los órganos se fijaron y se enviaron al laboratorio para estudio del riñón normal.

Segundo grupo: En 15 perros con un peso corporal medio de 15 Kgs. se realizó bajo anestesia general:

- a) laparotomía mediana.
- b) biopsia de ambos riñones.
- c) liberación y denervación de ambos órganos.
- d) clampeo de los vasos del pedículo y del ureter del riñón izquierdo durante períodos de 15, 30, 45 y 60 minutos (en 3, 3, 3, y 6 animales respectivamente).

El órgano permaneció ese tiempo "insitu", a la temperatura del cuerpo. El riñón derecho actuó como control.

e) Cierre de la pared abdominal por planos.

En ese grupo se repitieron las biopsias a cielo abierto a los siete días de la isquemia.

Anestesia: Se utilizó pentobarbital sódico intravenoso en dosis de 32 mgrs. por Kg. de peso corporal.

Alimentación: A todos los animales se les suministró alimento desecado de composición química uniforme y agua.

Estudio histológico e histoquímico: Previa fijación en formol y montaje en parafina se cortó y coloreó con H. E. En algunos preparados se usó el P.A.S.

El material para histoquímica se fijó de inmediato en formol calcio (pH 7. 2-7-4). a 40°C por un corto período (12-15 horas) (8).

De allí pasó a baño de goma arábiga sucrosa fría por tiempo variable hasta 15 días. Se cortó por congelación lenta y se recogió en agua destilada fría.

Para cada enzima en particular se utilizó el método que se detalla a continuación: Fosfata alcalina, método de Gomori, substrato p-glicerofosfato de sodio a 37°C durante 5-8-10 minutos (6).

Fosfatasa ácida, método del metal sal, sustrato γ -B-glicerofosfato de sodio a 37°C durante 25-30-40 minutos.

Adenosine trifosfatasa (ATP) método de Waschtein y Meisel, sustrato adenosintrifosfato a 37°C durante 10, 20 y 40 minutos.

Difosforopiridín nucleotidasa (DPNHC. reductasa) método de NOVIKOFF, sustrato difosforopiridín nucleótico a 37°C durante 10, 15 y 25 minutos.

Esterasas inespecíficas, método del α naftil acetato, sustrato α naftil acetato a temperatura ambiente durante 1, 2 y 3 minutos.

Se investigaron también grasas neutras con el método del aceite rojo O.

RESULTADOS

Histología: Histológicamente, las lesiones fueron muy variadas en intensidad y de distintos sectores del riñón.

1) El compromiso glomerular en general fue leve; sólo hemos podido observar en casos aislados hiper celularidad moderada del ovillejo y adherencias laxas de éste a la capsula de Bowman; ésto lo interpretamos como una glomerulitis reaccional in característica.

2) A nivel de los túbulos contorneados muchas veces las células se vieron vacuoladas; si bien en oportunidades ello correspondía a sustancia grasa, demostrada específicamente, en otras debieron interpretarse como lesiones del tipo de imbibición acuosa. Lesiones típicas de necrosis tubular difusa no fueron reconocidas, pero se vieron algunos tubos aislados necróticos o necrobióticos rodeados por infiltrados linfoplasmocitarios. Además se visualizaron túbulos dilatados aislados, y en dos de los casos con isquemia prolongada, este estado era generalizado, sobre todo de los colectores; estos tubos dilatados se hallaban taponados de sustancia albuminoidea y ocasionalmente con concreciones cristalinas en sus luces. En dos de los casos observados también se halló un acúmulo de pigmento amarillo-verdoso en las células parietales de túbulos contorneados.

3) El intersticio en pocas ocasiones mostró movilización de tipo inflamatoria aguda, y en un caso, presentó las características de una pielonefritis aguda intensa. Una atención especial mereció el intersticio perivascular.

En 3 de los riñones isquemados, se pudo apreciar verdadera reacción granulomatosa perivascular de tipo linfoplasmocitario; acúmulos pequeños de estos mismos elementos se vieron difusamente en otro de los casos.

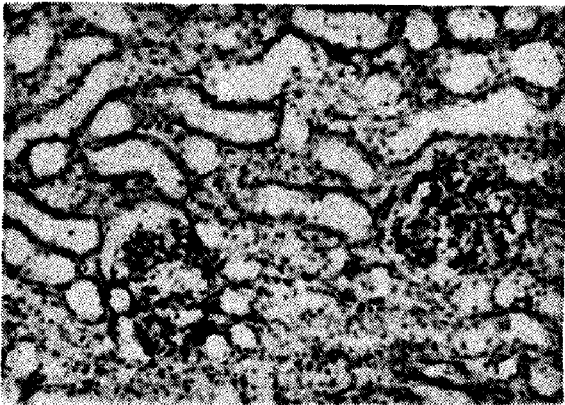


Fig. N° 1: Hiper celularidad y segmentación del ovillejo, pegoteamiento laxo a la cápsula. Isquemia 60 min. H. E. 100 x.

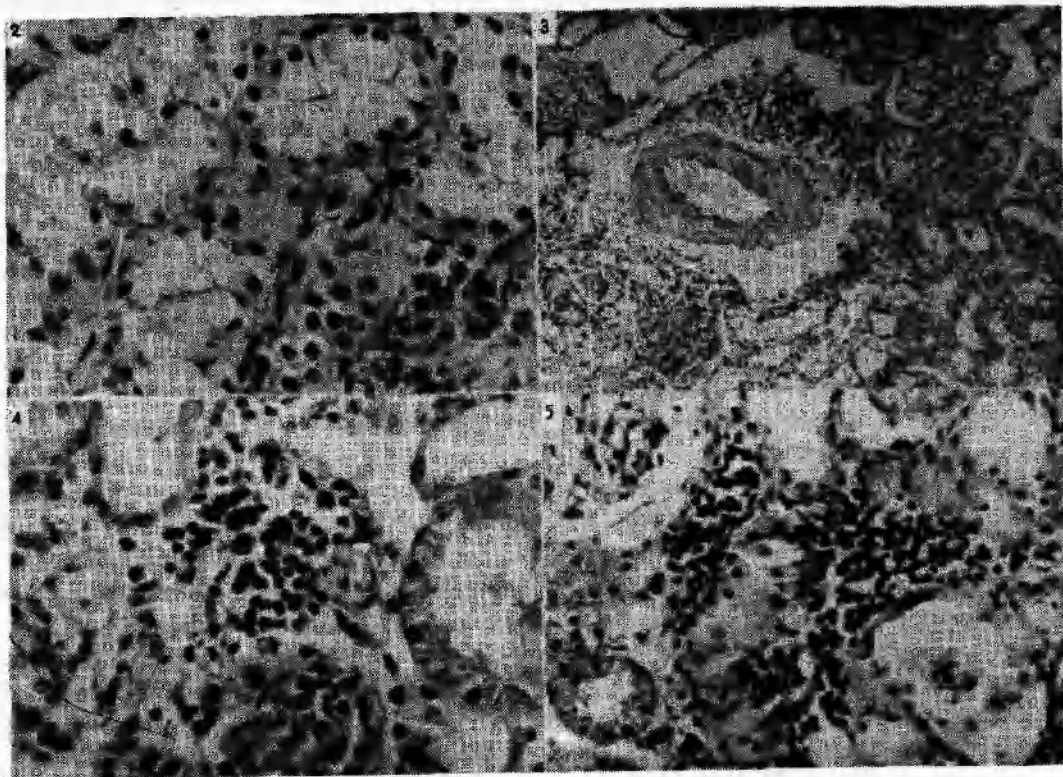


Fig. N° 2: Vacuolización citoplasmática intensa de túbulos renales. Isquemia 15 min. H. E. 400 x.

Fig. N° 3: Zona medular. Intersticio perivascular con infiltrados linfoplasmocitarios y edema. Vacuolización intensa de los túbulos. Isquemia 15 min. H. E. 100 x.

Fig. N° 4: Foco intersticial de infiltración linfoplasmocitaria. Isquemia 15 min. H. E. 400 x.

Fig. N° 5: Movilización linfoplasmocitaria alrededor de túbulo necrobiótico, cortado tangencialmente. Isquemia 15 min. H. E. 400 x.

Histoquímica: Los resultados pueden sintetizarse de la siguiente manera:

1) Déficit aislado de alguna o varias de las enzimas. En este caso, la explicación del hecho puede relacionarse con el conocimiento de que cada enzima tiene intervención y ubicación especial dentro de las células. La probidad de los métodos utilizados sostienen su significación, pero es probable que represente una alteración momentánea y reversible.

2) Déficit global de las enzimas. En estos casos, la situación es mucho más grave, configurando un riñón en malas condiciones biológicas; este estado por otra parte, coincidió en general con lesiones morfológicas intensas que confirmaron la gravedad del caso. Creemos que en conjunto estas observaciones hacen más inciertas la evolución de las lesiones.

3) Reacciones normales de las enzimas. En este grupo, en los que se hallan comprendidos la mayor parte de los casos con tiempos cortos de isquemia, no hemos podido sorprender déficit enzimático histoquímicamente; ello puede indicar que este nunca ha existido, o que escapa a nuestros métodos por su mínima expresión; también puede significar que son compensados rápidamente.

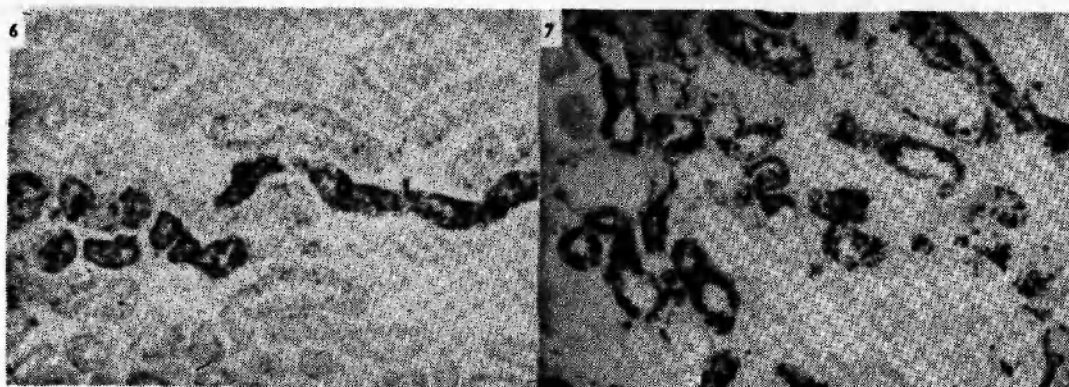


Fig. N° 6: Túbulos proximales conteniendo grasas neutras. Riñón control, normal. Aceite rojo 0.100 x.

Fig. N° 7: Túbulos dilatados con abundante cantidad de grasas neutras. Isquemia 30 min. Aceite rojo 0.100 x.

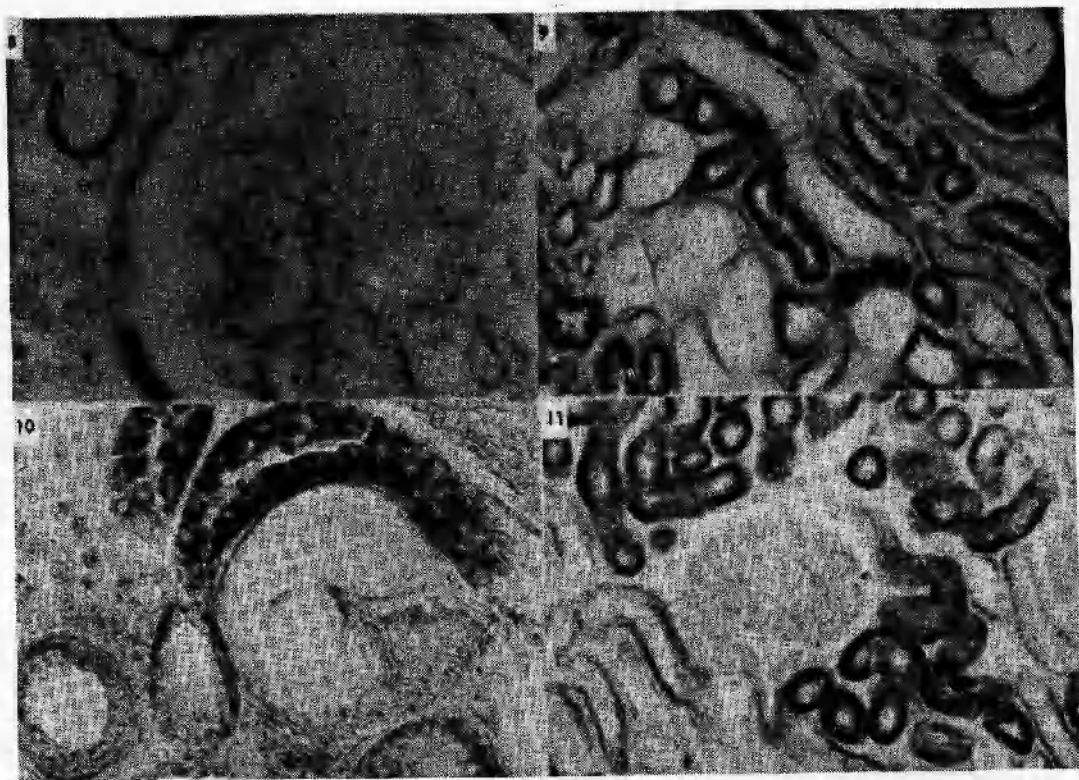


Fig. N° 8: Corresponde a fig. N° 7 a gran aumento. Grasas neutras a nivel de túbulos, parietal de la cápsula de Bowman y capilares glomerulares. Aceite rojo 0.400 x.

Fig. N° 9: DPNH 25 minutos de incubación. Reacción irregular y negativa en sectores. Isquemia 60 min. 100 x.

Fig. N° 10: DPNH 25 minutos de incubación. Detalle de figura anterior, 250 x.

Fig. N° 11: DPNH 25 minutos de incubación. Reacción irregular. Glomérulo con reacción negativa. Isquemia 60 min. 100 x.

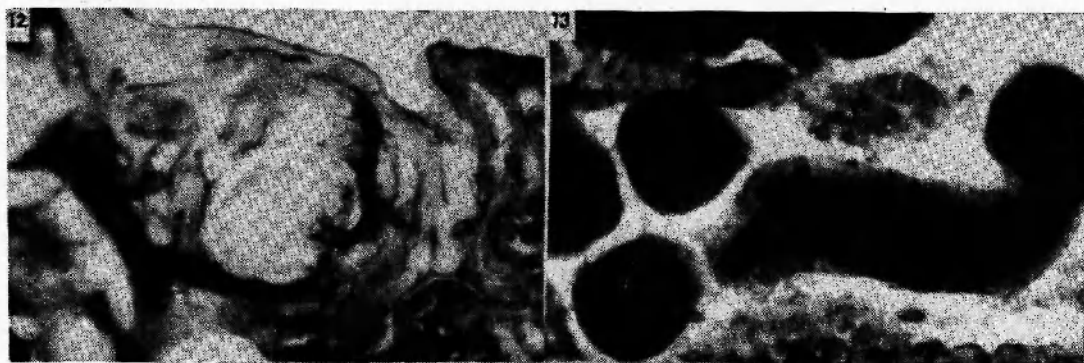


Fig. N° 12: ATP 20 minutos de incubación. Reacción positiva normal en vasos intrarenales, intralobulillares, aferente y eferente del glomérulo y en capilares. Isquemia 30 minutos. 100 x.

Fig. N° 13: Fosfatasa alcalina, 10 minutos de incubación. Reacción positiva normal en ribete en cepillo de túbulo proximal. Riñón normal, biopsia previa a la isquemia. 250 x.

CONSIDERACIONES

El presente trabajo se realizó con ambos riñones "in situ" a la temperatura del cuerpo. La denervación de ambos órganos con iguales maniobras de liberación permiten establecer comparaciones del efecto de la anoxia exclusivamente.

Al mismo tiempo el riñón no isquemiado, testigo, colabora en la depuración del medio interno. Esto último tiene gran valor ya que anula un factor de error como sería la sobrecarga de elementos osmóticamente activos y aún tóxicos que actuarían sobre el parénquima dañado.

El efectuar los exámenes previamente posibilita también el cotejo con los resultados posteriores.

Las lesiones histológicas observadas confirman investigaciones anteriores (1-3-5-7) en cuanto a la lesión predominante del túbulo proximal y a la presencia de células linfoplasmocitarias en el intersticio (5).

De las reacciones de histoquímica es interesante hacer notar que en nuestras observaciones el sistema vascular renal no manifestó nunca ópticamente alteraciones enzimáticas; en efecto, a la integridad histológica, debe agregarse el hecho de que la reacción para ATPasa, de específica localización en las paredes arteriales y capilares, permaneció sin modificaciones, aún en los casos con lesiones más severas en las otras estructuras; igual observación puede hacerse del DPNH, de rica aparición en las capas musculares de arterias.

La presencia de grasas neutras, fue un hallazgo frecuente tanto en los casos isquemiados como en los controles, lo que confirma el hecho conocido de la fisiología del riñón del perro. La sustancia grasa que rellena la pared de grupos de túbulo, también se sorprende muchas veces circulando o en las luces tubulares. En uno de los casos isquemiados se visualizó un objetivo aumento de la sustancia grasa, apareciendo además en buena cantidad en glomérulos, en cápsulas de Bowman y alrededor de los vasos arteriales del polo vascular glomerular.

CONCLUSIONES

- 1) En el riñón isquemiado de perro hay evidentes lesiones histológicas y de déficit enzimático, histoquímicamente, aunque de variada intensidad.
- 2) Si bien estas lesiones guardan en general relación con el tiempo de isquemia, pueden verse aisladas y con intensidad moderada en casos con tiempos cortos de isquemia.
- 3) Las alteraciones que obedecen a la isquemia misma, pero probablemente también al terreno y a los métodos operatorios utilizados, son más intensas en las isquemias prolongadas.
- 4) El sistema vascular no participa del daño enunciado.

RESUMEN

Se realizó isquemia renal durante 15, 30, 45 y 60 minutos en 15 perros. Se isquemió el riñón izquierdo, actuando el derecho como control. Se hicieron estudios histológicos e histoquímicos de ambos riñones antes de la prueba y a la semana. Las alteraciones predominantes fueron tubulares.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Calne R. Y. Renal Transplantation. E. Arnold, London 1963.
- 2) Calne R. Y., Pegg D. E., Pryse-Davis J., Brown F. L. Renal preservation by ice cooling. Brit. Med. J. 2:651'63.
- 3) Dempster W. J., Kounts S. L., Javanovic M. Simple kidney-storage technique. Brit. Med. J. 1:407'64.
- 4) Donnet V., Pruneyre A. Rétablissement des fonctions du rein soumis a une anémie expérimentale prolongée. Comp. rend. Soc. Biol. 147: 442'53.
- 5) Aisendrath D. N., Strauss D. C. The effect on the kidney of temporary compression of its vessels. J.A.M.A. 55: 2286'10.
- 6) Gomori G. Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 42: 23'39.
- 7) Jones W. R., Politano V. A. Effects of renal artery occlusion on function under normothermia and regional hypothermia. J. Urol. 89:535'53.
- 8) Pearse A. G. E. Histochemistry. Little, Brown and Co. Boston 1961.

* Trabajo preliminar realizado en el Laboratorio de Patología y Cirugía Experimental y en la 2a. Cátedra de Anatomía Patológica, de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires.

DISCUSION

DR. TRABUCCO.- Pido la palabra.

Quería preguntar, a título informativo si la isquemia que se ha hecho en el riñón fue por ligadura total de pedículo o por ligadura de la arteria solamente, porque podrían dar como resultado lesiones de distinto tipo. No he oído o se me ha escapado si la ligadura fue parcial o total.

DR. SAENZ.- Sí, lo dijimos. Se hizo el clampeo de la arteria, de la vena y del uréter.

DR. TRABUCCO.- Sería interesante repetir el experimento haciendo la ligadura exclusiva de la arteria para comparar entonces las lesiones que puede haber. Que se permita la descarga al riñón, a ver si las lesiones que han expuesto ustedes, son exclusivamente debidas a la isquemia.

DR. SAENZ.- Agradezco la sugerencia del doctor Trabucco. El trabajo se hizo en realidad, como parte de uno más completo para aislamiento total del riñón. Ahora lo que se propone, es muy interesante y también podría hacerse.