

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de**  
**DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**Lesiones renales en *Cebus apella* y *Saimiri boliviensis*. Estudio histológico, histoquímico, inmunohistoquímico y bioquímico.**

**Autor: BORDA Juan Toribio**

**Director: IDIART Julio Roberto**

**Co-director: MACCIO Orlando Angel**

**Lugares de Trabajo:**

**Centro Argentino de Primates CAPRIM / CONICET.**

**Facultad de Ciencias Veterinarias -UNNE-**

**Deutsches Primatenzentrum -DPZ-**

**Miembros del Jurado :**

**PERFUMO Carlos Juan**

**CARFAGNINI Julio César**

**GOMEZ DUNN César**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Mi agradecimiento a todos los que contribuyeron para la realización del presente trabajo, en particular:**

**- Al Profesor Dr. Julio Roberto Idiart, mi reconocimiento por la confianza, incentivo y permanente apoyo durante la realización del Doctorado.**

**- Al Profesor Orlando Angel Macció, por el permanente apoyo y su invaluable colaboración en el desarrollo de este trabajo.**

**- En especial, mi agradecimiento a Francisca Morales, Silvia Pérez Escalá, Vanesa Nunez Vastos, Claudia Diaz Zetterman, Claudia Rodriguez de Oliveira, Exequiel María Patiño, Eduardo Alberto Arzuaga, Ramón Romero y Diego Barrios, por su inestimable ayuda en la realización de este trabajo.**

**- Al Profesor Marcial Sánchez Negrette, por su constante estímulo y colaboración en la realización del Doctorado.**

**- Al Dr. Miguel Angel Petruccelli, por su invaluable colaboración en la realización del estudio ultraestructural.**

**- En especial, mi agradecimiento al Dr. Werner Kaumanns, quien hizo posible mi estadía en el Dutsches Primatenzentrum de la República Federal de Alemania.**

**- Al Profesor Dr. Franz-Josef Kaup y a la Dra. Kerstin Mätz-Rensing, del Departamento de Patología Experimental del Deutsches Primatenzentrum, por la ayuda en la realización e interpretación de las técnicas inmunohistoquímicas.**

**- Al los Dres. Manfred Brack, Carsten Schroeder y a la Sra. Erna Hackenbroich de la División Patología y Servicios Veterinarios del Deutsches Primatenzentrum. por la colaboración en la realización de técnicas especiales y diagnóstico de las lesiones renales.**

**- A la agregada cultural de la Embajada de Alemania Andrea Thurof quien hizo posible mi estadía en el Deutsches Primatenzentrum.**

- Al Profesor Daniel Pochon por la ayuda en los análisis estadísticos.
  
- A los colegas de la cátedra de Patología General y Sistemática de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE, por el constante apoyo en la realización de este trabajo.
  
- A los colegas de las cátedra de Anatomía y Fisiología Patológicas y de Patología General de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, por la amistad brindada durante la realización del Doctorado.
  
- Al personal del Centro Argentino de Primates, por su inestimable ayuda y brindarme la posibilidad de realizar mis trabajo de Tesis Doctoral.
  
- A la Deutscher Akademischer Austauschdienst -DAAD-, por brindarme la posibilidad de realizar trabajos de investigación en la República Federal de Alemania.
  
- A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste, por la ayuda económica para la realización del Doctorado.
  
- A mi esposa Marisa R. Monfardini, por su continuo apoyo e incentivo para la realización del Doctorado.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>Título</b> .....	<b>1</b>
<b>Palabras claves</b> .....	<b>1</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>Title</b> .....	<b>3</b>
<b>Key words</b> .....	<b>3</b>
<b>Summary</b> .....	<b>3</b>
<b>I-Introducción</b> .....	<b>5</b>
<b>1.Objetivos</b> .....	<b>7</b>
<b>II-Revisión bibliográfica</b> .....	<b>8</b>
<b>1. Primates en biomedicina</b> .....	<b>8</b>
<b>2. Reseña histórica de la descripción anatómica renal</b> .....	<b>9</b>
<b>3. Consideraciones clínicas y fisiopatológicas sobre nefropatías en el hombre</b> .....	<b>10</b>
<b>4. Métodos de estudio anatomopatológico</b> .....	<b>11</b>
<b>5. Clasificación de las lesiones renales</b> .....	<b>11</b>
<b>6. Patogenia y componente molecular de las lesiones renales</b> .....	<b>21</b>
<b>7. Lesiones renales en diferentes modelos biológicos y en animales domésticos</b> .....	<b>22</b>
<b>8. Lesiones renales en primates</b> .....	<b>25</b>
<b>III- Materiales y métodos</b> .....	<b>30</b>
<b>1. Animales de laboratorio</b> .....	<b>30</b>
<b>2. Actividades en el grupo I</b> .....	<b>32</b>
<b>3. Técnicas de laboratorio</b> .....	<b>34</b>
<b>4. Obtención y análisis de orina</b> .....	<b>36</b>
<b>5. Análisis estadístico</b> .....	<b>37</b>
<b>6. Biopsia renal</b> .....	<b>37</b>

7. Análisis macroscópico y acondicionamiento de la muestra para el procesamiento histológico.....	39
8. Actividades en el grupo II	39
9. Técnica y procesamiento histológico.....	40
10. Estudio ultraestructural.....	42
11. Metodología empleada para el estudio histopatológico.....	42
12. Documentación fotográfica.....	43
13. Evaluación comparativa de los resultados.....	43
<b>IV- Resultados</b>	<b>44</b>
<i>Cebus apella</i> .....	44
1. Análisis de sangre.....	44
1.1. Análisis bioquímico de sangre.....	44
1.2. Estudios complementarios para la determinación de parásitos hemáticos.....	45
2. Análisis de orina	45
2.1. Análisis bioquímico de orina	45
2.2. Análisis del sedimento urinario.....	46
3. Evaluación de la biopsia renal.....	48
4. Estudio histológico de biopsias y de material de necropsia.....	50
4.1. Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de biopsia.....	50
4.2. Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de necropsia.....	58
4.3. Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material de biopsia.....	66
4.4. Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material de necropsia.....	67
4.5. Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material de biopsia.....	71
4.6. Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material de necropsia.....	72

<b>4.7. Análisis microbiológico en el material de necropsia.....</b>	<b>76</b>
<i>Saimiri boliviensis</i> .....	77
<b>1. Análisis de sangre.....</b>	<b>77</b>
<b>1.1. Análisis bioquímico de sangre</b>	<b>77</b>
<b>1.2. Estudios complementarios para la determinación de parásitos</b>	
<b>hemáticos.....</b>	<b>78</b>
<b>2. Análisis de orina.....</b>	<b>78</b>
<b>2.1. Análisis bioquímico de orina.....</b>	<b>78</b>
<b>2.2. Análisis del sedimento urinario.....</b>	<b>79</b>
<b>3. Evaluación de la biopsia renal.....</b>	<b>80</b>
<b>4. Estudio histológico de biopsias y material de necropsia</b>	<b>80</b>
<b>4.1. Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de</b>	
<b>biopsia</b>	<b>81</b>
<b>4.2. Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de</b>	
<b>necropsia.....</b>	<b>90</b>
<b>4.3. Análisis histológico de la presencia de depósitos de inmunoglo-</b>	
<b>bulinas A, G y M en el material de biopsia y en el material de</b>	
<b>necropsia.....</b>	<b>104</b>
<b>4.4. Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material de</b>	
<b>biopsia</b>	<b>107</b>
<b>4.5. Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material</b>	
<b>de necropsia.....</b>	<b>110</b>
<b>4.6. Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material</b>	
<b>de biopsia.....</b>	<b>113</b>
<b>4.7. Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material</b>	
<b>de necropsia.....</b>	<b>116</b>
<b>4.8. Análisis microbiológico en el material de necropsia.....</b>	<b>122</b>
<b>V- Discusión.....</b>	<b>123</b>
<b>VI- Conclusiones.....</b>	<b>136</b>
<b>VII- Bibliografía.....</b>	<b>138</b>
<b>VIII- Anexos.....</b>	<b>155</b>

## ABREVIATURAS

**b.u.n:** nitrógeno de urea en sangre

**c.h.c.m.:** concentración de hemoglobina corpuscular media

**C1:** componente 1 del complemento

**C2:** componente 2 del complemento

**C3:** componente 3 del complemento

**C4:** componente 4 del complemento

**d. s.:** desvío estándar

**GN:** glomerulonefritis

**ic <95%:** intervalo de confianza -95 %

**ic >95%:** intervalo de confianza +95 %

**Ig A:** inmunoglobulina A

**Ig G:** inmunoglobulina G

**Ig M:** inmunoglobulina M

**relación a/g:** relación albúmina/globulina

## **Lesiones renales en *Cebus apella* y *Saimiri boliviensis*. Estudio histológico, histoquímico, inmunohistoquímico y bioquímico**

### **PALABRAS CLAVES:**

Enfermedad renal, nefritis, glomerulonefritis, *Cebus apella*, *Saimiri boliviensis*, primate.

### **RESUMEN**

Se realizó el análisis bioquímico de sangre y orina y la biopsia renal mediante laparotomía o por el método percutáneo en 15 primates de la especie *Cebus apella* y en 20 de la especie *Saimiri boliviensis*, clínicamente sanos y criados en cautiverio, así como el estudio histológico, histoquímico, inmunohistoquímico y ultraestructural de las biopsias. Se estudiaron, asimismo, riñones obtenidos en las necropsias de 17 *Cebus apella* y 50 *Saimiri boliviensis*, muertos por diversas causas.

Los análisis bioquímicos de sangre y de orina en la especie *Cebus apella* permitieron determinar que los valores normales no se modificaron ante la existencia de lesiones renales leves, moderadas y severas, en tanto que en la especie *Saimiri boliviensis* existió relación entre lesiones renales severas y valores elevados de urea y creatinina séricas. Los métodos de biopsia seleccionados fueron apropiados, debido a que todos los animales se recuperaron sin complicaciones y el material obtenido fue adecuado para el estudio.

La combinación de las técnicas histoquímicas, inmunohistoquímicas y el estudio ultraestructural permitió realizar el diagnóstico de las nefropatías de estos primates. Las mismas incluyeron glomerulonefritis, nefritis intersticiales y lesiones tubulares de diversa severidad. Las alteraciones glomerulares primarias se agruparon en glomerulonefritis mesangioproliferativas, proliferativas y membranosas, esclerosis y hialinosis glomerular. En la mayoría de ellas se pudieron apreciar presentaciones difusas o focales y globales o segmentales. Los depósitos de Ig M tuvieron un patrón de distribución mesangial y se

correspondieron con las lesiones glomerulares caracterizadas por incremento de la matriz mesangial.

Un elevado número de lesiones renales en las dos especies de primates, probablemente fueron consecuencia de procesos infecciosos ascendentes de las vías urinarias y, en menor proporción pudieron obedecer a complejos antígeno-anticuerpo circulantes de diversos orígenes.

Las lesiones renales identificadas en el material de necropsia fueron similares a las observadas en las biopsias, aunque, en general, resultaron más severas.

## **Renal lesions in *Cebus apella* and *Saimiri boliviensis*. Histological, histochemical, immunohistochemical and biochemical study**

### **KEY WORDS:**

Renal disease, glomerulonephritis, nephritis, *Cebus apella*, *Saimiri boliviensis*, primate.

### **SUMMARY:**

Blood and urine analysis and renal biopsies were accomplished in 15 healthy adult primates of the *Cebus apella* species and in 20 of the *Saimiri boliviensis* species bred in captivity. Biopsies were obtained at laparotomy or through the blind percutaneous techniques. Histological, histochemical, immunohistochemical and ultrastructural study of the biopsies were performed. Kidneys obtained from necropsies of 17 *Cebus apella* and 50 *Saimiri boliviensis* dead from diverse causes were also included.

In the *C. apella* species, biochemical blood values and urine analysis results remained within the normal range in spite of the presence of subtle to severe renal lesions. In the *S. boliviensis* species, severe renal lesions resulted in elevated blood urea nitrogen and serum creatinine levels. The biopsy techniques were appropriate as all the animals recovered uneventfully after the procedure and the samples obtained were adequate for the study.

The combination of histochemical, immunohistochemical and ultrastructural study allowed to establish a diagnosis of the nephropathies. Glomerulonephritis, interstitial nephritis and tubular lesions with different severity were identified. The primary glomerular alterations were classified into mesangioproliferative, proliferative, and membranous glomerulonephritis, sclerosis and glomerular hyaline. In most of them focal or diffuse and global or segmental presentations could be appreciated. The deposits of Ig M had a

mesangial distribution pattern and corresponded to the glomerular lesions characterized by an increase in the mesangial matrix.

It is probable that most of the renal lesions recognized in both species were a consequence of ascending infections from the urinary tract and in a smaller proportion were the result of circulating antigen-antibody complexes of various origins.

Renal lesions recognized in necropsy samples were similar to those observed in biopsies, although they were more severe.

## I- INTRODUCCION

El conocimiento de la ocurrencia de las enfermedades renales espontáneas en los primates no humanos juega un rol preponderante para el empleo de estos animales como modelos biológicos de experimentación, debido a que dichas lesiones pueden comprometer el resultado de los estudios llevados a cabo en estas especies. Las lesiones renales son regularmente citadas como comunes en prosimios <sup>(37)</sup>, primates del nuevo mundo <sup>(1,9,21,22,29,31,47,48,52,60,66,81,82,106,114,143,154,162,163,174,184,189,217,218)</sup> y primates del viejo mundo <sup>(5,13,25,26,74,97,106,111,184)</sup>.

Los primates pertenecientes al presente estudio corresponden a la especie *Saimiri boliviensis* y *Cebus apella*.

Las colonias originales de ambas especies fueron importadas en el año 1980 por el Centro Argentino de Primates -CAPRIM/CONICET-. La especie *Saimiri boliviensis* fue ingresada desde Santa Cruz de la Sierra (Bolivia), en tanto que la especie *Cebus apella* fue importada desde la República del Paraguay.

Los animales utilizados en este estudio corresponden a la cuarta generación de las colonias originales <sup>(150,151)</sup>.

Del *Cebus apella* (mono caí, capuchino, tufted capuchin, brown capuchin monkey) existen dos subespecies en la República Argentina: el *Cebus apella vellerosus* en el noreste (Provincia de Misiones) y el *Cebus apella paraguayanus* en el noroeste (Provincias de Jujuy y Salta). En el Paraguay, esta especie abarca la zona oriental, entre los ríos Paraná y Paraguay, estando restringida al brazo norte del Río Pilcomayo. El Río Paraná hace de límite entre las dos subespecies mencionadas <sup>(75,230)</sup>.

La popularidad del *Saimiri boliviensis* (mono ardilla, squirrel monkey) como mascota en los últimos años, ha sido un factor fundamental para su utilización como animal de laboratorio, siendo una de las especies de primates del nuevo mundo más utilizada en investigación biomédica <sup>(43,168)</sup>. El mono ardilla es nativo de América Central y América del Sur (Costa Rica, Panamá, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Venezuela, Guyana y Brasil) <sup>(43,197)</sup>.

Estas especies de primates son utilizadas como modelos experimentales en investigación biomédica para lo cual un buen estado de salud es una condición fundamental <sup>(5)</sup>.

Es importante destacar que los estudios sobre enfermedades renales efectuados en estas especies son incompletos y no se conocen en profundidad muchos aspectos referidos a la etiología, patogenia, sintomatología, características morfológicas y evolución de las mismas. Es necesario evaluar la naturaleza, extensión y grados de lesiones renales espontáneas en las dos especies antes mencionadas.

Por otro lado, es escasa la información existente acerca de la utilidad de las técnicas inmunohistoquímicas en las lesiones renales de estos primates.

La escasez de estudios específicos referentes a la caracterización morfológica de las lesiones renales en biopsias y su correlación clínica en las dos especies fueron motivos válidos para la elección del presente proyecto.

Los resultados obtenidos permitirán aportar conocimientos indispensables para el uso de estos primates como modelos biológicos.

De la revisión y análisis de la bibliografía disponible surgen las siguientes hipótesis:

- 1- En las especies de primates del nuevo mundo *Cebus apella* y *Saimiri boliviensis* las alteraciones morfológicas renales tienen una elevada incidencia.
- 2- No existe correlación entre las lesiones histopatológicas renales y los datos obtenidos en los análisis bioquímicos de sangre y orina.
- 3- El estudio histopatológico mediante biopsias renales es un método válido para evaluar las lesiones renales.
- 4- Existe asociación entre las características morfológicas de las diferentes nefropatías con el tipo y distribución de inmunocomplejos.

## **1- Objetivos**

Los objetivos de este trabajo fueron:

-Caracterizar las alteraciones renales en dos especies de primates del nuevo mundo, *Cebus apella* y *Saimiri boliviensis* en condiciones normales de cautiverio, mediante estudios morfológicos, histoquímicos e inmunohistoquímicos en biopsias y bioquímicos en sangre y orina.

-Estandarizar la técnica de punción biopsia con aguja gruesa (Tru-Cut ®) a través de lumbotomía (laparatomía abdominal).

-Evaluar la relación entre alteraciones renales morfológicas y funcionales en estas especies.

-Evaluar la utilidad de las técnicas inmunohistoquímicas (Complejo Estreptavidina-Biotina ) en las lesiones renales.

-Comparar los resultados obtenidos con los citados por la literatura para las demás especies de primates del nuevo y viejo mundo.

## II- REVISION BIBLIOGRAFICA

### 1- Primates en biomedicina

Los primates no humanos son indispensables en la investigación biomédica moderna, en la elaboración de productos biológicos y en los controles de compuestos para determinar su toxicidad, especialmente en pruebas de productos farmacológicos <sup>(5,40,53,60,131,144,162,163,164,171,184,189,190,217)</sup>. Son especialmente valiosos por su parentesco evolutivo con el hombre, no sólo por su similitud anatómica general y de comportamiento, sino por sus condiciones fisiológicas y bioquímicas análogas a las humanas. Debido a esta estrecha relación, los primates ofrecen una comprensión muy particular de situaciones paralelas al hombre <sup>(67)</sup>. Los primates no humanos han sido no sólo la clave en el desarrollo de la vacuna contra la poliomielitis, sino que también han contribuido a ampliar el conocimiento y la comprensión de otras enfermedades como la malaria, la fiebre amarilla, el sarampión, la tuberculosis, los trastornos mentales y la oncogénesis vírica, entre otras <sup>(68,69,72,73,98)</sup>.

Actualmente se llevan a cabo un gran número de importantes proyectos de investigación biomédica en los laboratorios del mundo. Además, la aplicación de los resultados de las investigaciones depende, en alto grado, de la utilización de primates no humanos. Sin realizar una prueba preliminar en estos animales, los riesgos de la aplicación del conocimiento teórico en los humanos podrían ser demasiado graves <sup>(220)</sup>.

## 2- Reseña histórica de la descripción anatómica renal

El comienzo de las investigaciones en anatomía glomerular se remonta a 1687, cuando Marcello Malpighi presenta la descripción de pequeños ovillos vasculares en la corteza renal, ubicados en la terminación del árbol vascular, infiriendo que se trataba de pequeñas glándulas que producían orina y que convergían en un sistema urinífero <sup>(95)</sup>. En 1787, Schumlansky introduce el término de glomérulo <sup>(186)</sup> y luego establece las relaciones anatómicas de los túbulos que transportan la orina <sup>(95)</sup>.

Bowman, en 1842, redefinió estas observaciones mediante la demostración de la continuidad entre la membrana basal glomerular y la tubular <sup>(24)</sup> y sugirió, además, que cada ovillo glomerular en una fase temprana del desarrollo era una invaginación de la porción terminal de un túbulo. Este concepto fue luego abandonado al comprenderse mejor la embriogénesis del polo vascular y urinario <sup>(122)</sup>. Años más tarde, la cápsula y el espacio que rodea al ovillo glomerular fue llamada de Bowman. La arquitectura glomerular detallada interesó a muchos observadores. Zimmermann, entre los años 1929 y 1933, realizó la descripción de áreas especiales ubicadas en el espacio intercapilar, compuestas por células y fibras, llamándolas mesangio por analogía con el mesenterio <sup>(225)</sup>. Sin embargo, su existencia fue largamente ignorada.

Las células granulares epitelioides en la pared del vaso aferente fue descrita por Ruyter en 1925 <sup>(172)</sup>. Goormaghtigh, en 1932, investigó el grupo de células intercaladas entre los vasos aferentes y eferentes <sup>(79)</sup>. Zimmermann, en 1933, denominó área de Poolkiseen a este grupo de células y aplicó por primera vez la denominación de "mácula densa" <sup>(226)</sup>. Goormaghtigh, en 1940, denominó a toda la región aparato yuxta-glomerular <sup>(80)</sup>

Generalmente, el término glomérulo implica no solo el ovillo glomerular, sino también el espacio y la cápsula de Bowman, inicio del túbulo proximal, arteriolas aferente y eferente y el aparato yuxtaglomerular <sup>(178)</sup>.

### **3- Consideraciones clínicas y fisiopatológicas sobre nefropatías en el hombre**

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad renal varían según el componente renal afectado, el tiempo de desarrollo de la alteración y el mecanismo de la lesión. Sin embargo, las presentaciones clínicas pueden agruparse en 8 síndromes bastante bien definidos <sup>(11,18,35,77,94,108,120,138,161,192,193,198,216)</sup>.

1- Síndrome nefrítico agudo: Se trata de un síndrome glomerular dominado por su presentación aguda con hematuria (la que generalmente es macroscópica), proteinuria ligera a moderada e hipertensión. Se trata de la manifestación clásica de la glomerulonefritis aguda postestreptocócica <sup>(4,76,104,109,129,138,148,167,187,191)</sup>.

2- Síndrome nefrótico: Se caracteriza por una fuerte proteinuria (superior a 3,5 g al día), hipoalbuminemia, edemas intensos, hiperlipidemia y lipiduria <sup>(4,76,121,138,148,177,187,191)</sup>.

3- Hematuria o proteinuria asintomática o una combinación de ambas : Suele ser una manifestación de alteraciones glomerulares sutiles <sup>(4,76,109,138,148,187,191)</sup>. Generalmente existe una relación temporal entre una infección respiratoria o gastrointestinal previa y los episodios de hematuria que son consignados como una característica clínica frecuente <sup>(160,188)</sup>.

4- Insuficiencia renal aguda: Dominada por oliguria o anuria con azotemia de corta duración. Puede ser consecuencia de lesión glomerular (glomerulonefritis con semilunas), lesión intersticial o necrosis tubular aguda <sup>(11,18,35,77,94,108,121,120,138,161,192,198,216)</sup>.

5- Insuficiencia renal crónica: Caracterizada por signos y síntomas prolongados de uremia. Es el resultado final de todas las enfermedades renales crónicas <sup>(11,35,49,58,94,99,101,108,138,161,198)</sup>.

6- Defectos tubulares renales: Con sintomatología variada, pudiendo existir un predominio de poliuria, nicturia y alteraciones electrolíticas. Se deben a enfermedades que lesionan directamente la estructura tubular <sup>(58,138,161)</sup>.

7- Infección de las vías urinarias: Caracterizada por bacteriuria y piuria. Las infecciones pueden ser sintomáticas o asintomáticas y afectar al riñón y/o a la vejiga <sup>(58,138,161)</sup>.

8- Nefrolitiasis: Presencia de cálculos renales, manifestada por cólicos renales, hematuria y formación recidivante de cálculos <sup>(58,138,161)</sup>.

Además de estos síndromes, la obstrucción de las vías urinarias y las neoplasias renales constituyen lesiones anatómicas específicas con manifestaciones a menudo variadas <sup>(58,138,161)</sup>.

#### **4- Métodos de estudio anatomopatológico**

La biopsia renal y el examen del tejido a través de la microscopía óptica, microscopía electrónica y técnicas de inmunofluorescencia e inmunohistoquímica son importantes para determinar y confirmar el tipo de lesión renal. Existen varios métodos para la realización de la biopsia renal: a) técnica percutánea o ciega, b) cirugía laparoscópica (lumbotomía mínima), c) laparatomía abdominal y d) biopsias con guía ultrasonográfica <sup>(2,138,141,216,224)</sup>.

En humanos, frecuentemente la biopsia debe ser tomada durante el curso de un síndrome nefrítico y de forma urgente cuando se trata de una insuficiencia renal rápidamente progresiva. Esto es importante porque permite determinar si el episodio de falla renal aguda se debe a alteraciones glomerulares o a algún otro factor <sup>(51,55,99,118,123,137,138,142,228)</sup>.

La indicación del tratamiento de una enfermedad glomerular debe estar basada en los hallazgos morfológicos del examen a través del microscopio óptico, la inmunofluorescencia y, si fuera posible, el estudio mediante microscopía electrónica <sup>(157)</sup>.

#### **5- Clasificación de las lesiones renales**

##### **5-1. Generalidades:**

Algunos aspectos de las glomerulonefritis fueron descritos por Bright en el año 1827 <sup>(36)</sup>. Muchas fueron las razones de confusión en la clasificación de las enfermedades renales, entre las que se pueden citar la escasez de información sobre la etiología, la patogenia y la falta de adecuadas correlaciones clinicopatológicas y de terminología estandarizada, además de la insuficiencia de datos acerca de la evolución anatómopatológica <sup>(99,228)</sup>.

Con el correr de los años han surgido diferentes clasificaciones con distintos criterios. Algunas se basan en la experiencia clínica y otras en los procesos patológicos de la última etapa. Sólo muy ocasionalmente el clínico y el patólogo trataron de elaborar algún

concepto racional, correlacionando el comportamiento evolutivo y los hallazgos morfológicos <sup>(19,99)</sup>.

La situación ha mejorado de modo considerable gracias al desarrollo de modelos experimentales apropiados, a la introducción de la biopsia renal y a los rápidos progresos de la inmunología <sup>(23,42,71,93,99,123,135,142,192,199,200)</sup>.

La biopsia renal ha hecho posible el estudio de las alteraciones en una fase precóz y el seguimiento de la evolución de la enfermedad. También ha permitido conocer formas de nefritis moderadas no fatales y ha proporcionado material fresco para ser estudiado mediante la inmunofluorescencia y la microscopía electrónica. Las técnicas inmunológicas han brindado información acerca de los diversos mecanismos involucrados, aunque en muchos casos no se llegó a un diagnóstico etiológico y la nomenclatura aún continúa siendo no satisfactoria <sup>(51,99,123,138,142,228)</sup>.

En el hombre, una apropiada caracterización de las enfermedades renales solamente es posible mediante la evaluación y la correlación de los aspectos inmunopatológicos, patomorfológicos y clínicos. A su vez, cada uno de estos aspectos tiene su propia clasificación. La nosología de varios tipos de glomerulonefritis resulta de la constante o variable combinación de los componentes de esos tres aspectos. De esta manera, algunos tipos de glomerulonefritis ya conocidos han sido confirmados y otros definidos nuevamente <sup>(195)</sup>.

La clasificación anatomopatológica de las lesiones renales ha sido llevada a cabo por numerosos investigadores teniendo en cuenta criterios descriptivos <sup>(38,91,92,194,201,219,227,228)</sup>. Tradicionalmente, se han dividido las enfermedades renales según afecten a uno u otro de los cuatros componentes morfológicos fundamentales del riñón: glomérulos, túbulos, intersticio y vasos sanguíneos <sup>(3,11,18,42,49,58,77,99,101,113,120,138,161,170,181,198,199,228)</sup>. No obstante, la interdependencia anatómica de las estructuras renales supone que la lesión de uno de ellos lleva, casi siempre, a la afección secundaria de los demás <sup>(58,99,161)</sup>.

## 5- 2. Glomerulonefritis (GN):

Las lesiones glomerulares pueden ser clasificadas de acuerdo con su distribución en la corteza renal y su extensión en el glomérulo individual. La denominación de

glomerulonefritis difusa se refiere a que la lesión involucra virtualmente a todos los glomérulos y el término focal denota compromiso sólo de algunos glomérulos. La denominación de lesión global implica a todo el glomérulo y el término segmental es cuando se afectan uno o varios segmentos del propio ovillo glomerular <sup>(178)</sup>.

El glomérulo puede reaccionar: con aumento del número de células, con engrosamiento de la membrana basal de la pared capilar y fibrosis como forma de curación por secuela. Las células que pueden aumentar en número son las endoteliales, mesangiales y epiteliales y/o puede existir infiltración leucocitaria. La combinación de estas lesiones elementales proporciona el sustrato histopatológico a distintos tipos de GN tales como : GN exudativa, GN proliferativa, GN mesangioproliferativa, GN esclerosante (focal-segmental o focal-global), GN con cambios mínimos, GN perimembranosa, GN membranosa y GN membranoproliferativa <sup>(3,18,49,58,99,101,137,161,170,178,181,199,228)</sup>.

Si en los distintos tipos de GN se determina el elemento inmunológico relacionado con la lesión glomerular, se habla de GN mediadas inmunológicamente <sup>(18,71,99,137,170,228)</sup>.

Las lesiones con presencia de leucocitos en el glomérulo se denominan GN exudativas y se caracterizan por la acumulación masiva de granulocitos neutrófilos en la luz capilar. El exudado inflamatorio se extiende hacia el mesangio y al espacio subcapsular y desde aquí pasa a la luz tubular. Las células endoteliales y mesangiales permanecen edematizadas pero sin proliferación <sup>(170)</sup>. En estos procesos es difícil demostrar la presencia de fibrina en el espacio de Bowman, aunque puede existir en pequeñas cantidades <sup>(228)</sup>.

Las lesiones con incremento de la celularidad propia del glomérulo es denominada GN proliferativa o GN intra o endocapilar. Se caracteriza por la proliferación de las células endoteliales y mesangiales, provocando disminución y hasta oclusión de la luz capilar <sup>(18,170,228)</sup>. Este proceso puede estar asociado con la presencia de numerosos granulocitos (neutrófilos), y acompañado por aumento del tamaño del ovillo glomerular. En ocasiones, las células epiteliales se presentan edematizadas, con proliferación segmental, lo que determina la formación de semilunas <sup>(18)</sup>.

Mediante estudios realizados con microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopía electrónica se demuestra que la GN mesangioproliferativa es una entidad

caracterizada por el incremento de la celularidad mesangial y moderado incremento de la matriz mesangial <sup>(18,99,137,228)</sup>. En la GN mesangioproliferativa los capilares glomerulares permanecen sin alteración al igual que la circulación sanguínea y la función renal <sup>(170)</sup>. Algunos hallazgos llevan a la conclusión de que la lesión mesangial puede tener diferentes formas y rangos. La misma puede ser clasificada en dos grupos de acuerdo a si está o no involucrado un mecanismo patogénico inmunológico <sup>(137)</sup>.

Los cambios glomerulares que comprometen a la membrana basal de los capilares glomerulares se denominan GN membranosas. En esta lesión las paredes capilares están difusamente engrosadas. La misma se puede presentar de tres formas: a) cuando existe depósito de material del lado externo de la membrana toma el nombre de epimembranosa, b) si el engrosamiento se debe a depósito de material del lado interno de la membrana toma el nombre de endomembranosa c) cuando existe proliferación de matriz mesangial y la misma se interpone entre la membrana basal y las células endoteliales se denomina proliferación mesangial con interposición <sup>(18,137,170)</sup>. Otros cambios en la membrana basal de los capilares glomerulares pueden ser la duplicación, laminación y ondulación <sup>(228)</sup>. Estos cambios se aprecian con la tinción de PAS y las coloraciones con sales de plata <sup>(18,99,137,170,178,228)</sup>.

En algunos casos, las lesiones de la membrana se deben a la formación de nuevas membranas a partir de las células mesangiales, endoteliales o epiteliales, o por depósito de material fibrinoide del lado externo o interno de la membrana basal <sup>(18,137,170,228)</sup>.

Las causas de las nefropatías membranosas son usualmente desconocidas (GN membranosas idiopáticas). El antígeno es conocido, solamente, en un limitado número de casos, por ejemplo, *Treponema pallidum* en la sífilis generalizada, hepatitis B, lupus eritematoso, sarcoidosis y en una variedad de tumores malignos <sup>(170)</sup>

Los depósitos granulares pueden estar presentes del lado externo de la membrana basal de los capilares glomerulares en la región subepitelial, entre la membrana basal y los procesos podales de los podocitos. Estos depósitos se tiñen debilmente de color pardo luego de las tinciones con sales de plata y contienen inmunoglobulinas y complemento, demostrables mediante inmunofluorescencia e inmunohistoquímica. Dichos depósitos son inmunocomplejos que estimulan a los podocitos a secretar sustancias de constitución

química similar a la membrana basal, las que se depositan en forma granular del lado externo de la misma y, más tarde, se incorporan a la propia membrana basal, la que a menudo aparece duplicada <sup>(18,137,170)</sup>. En estados mas avanzados, la matriz mesangial puede incrementarse y presentar un patrón fibrilar, los capilares disminuyen su luz y finalmente se obliteran, finalizando con la esclerosis y hialinización del glomérulo<sup>(170)</sup>.

La proliferación de las células epiteliales parietales o viscerales del glomérulo se denomina GN extracapilar, en contraposición a la GN endocapilar; esta lesión esta localizada por fuera de la membrana basal. La proliferación epitelial produce las denominadas semilunas, las cuales encierran concéntricamente al ovilleo glomerular. Es segmental cuando la semiluna rodea una parte del ovilleo glomerular y global cuando rodea la totalidad del ovilleo glomerular. En etapas tardías estas formaciones son remplazadas por tejido fibroso <sup>(18,99,161,170,178,228)</sup>.

La fibrosis glomerular se caracteriza porque el número de células está marcadamente reducida y el ovilleo glomerular se torna acelular. Las luces capilares están parcial o totalmente obliteradas. Finalmente, la fibrosis puede estar limitada a grupos de capilares, a lóbulos o al glomérulo en su totalidad (segmental o global) <sup>(18,99,137,170,178,228)</sup>. Aparentemente, la lesión tiene su foco inicial en los glomérulos yuxtamedulares y luego afecta a las estructuras glomerulares corticales; también es frecuente observar adherencias del ovilleo glomerular al epitelio parietal de la cápsula de Bowman <sup>(18)</sup>.

La hialinización segmental o global del ovilleo glomerular tiene causas diferentes, como por ejemplo isquemia, y fenómenos de nefritis intersticiales crónicas y también puede ser el resultado de todos los tipos de lesiones glomerulares citados anteriormente. El curso de la hialinización glomerular es irreversible y se caracteriza porque los capilares glomerulares están colapsados y obliterados, los núcleos de las células epiteliales y mesangiales desaparecen y el glomérulo se torna parcial o totalmente acelular <sup>(18,170,228)</sup>. El hallazgo de hialinización del 70 % u 80 % de los glomérulos en una biopsia de adecuado tamaño significa el estadio final de una enfermedad renal <sup>(170,228)</sup>. En muchos pacientes estas lesiones glomerulares son espontáneas, aparentemente como consecuencia de alteraciones ultraestructurales que ocurren en la etapa neonatal <sup>(137,228)</sup>. Estos glomérulos son encontrados más frecuentemente en el área subcapsular que en la zona yuxtamedular.

La patogenia de esta lesión es oscura, pero algunos autores piensan que es el resultado de una involución fisiológica mientras que otros la atribuyen a la sumatoria de pequeñas injurias que ocurren durante la vida <sup>(99,228)</sup>.

Entre las GN mediadas inmunologicamente, la GN mesangioproliferativa y, de este grupo, la nefritis por inmunoglobulina A (Ig A), es la más común <sup>(14,44,50,56,57,59,109,112,139,155,159,177,183,202,203)</sup>. En numerosas observaciones se observan depósitos de Ig A asociada a Ig G y la fracción C3 del complemento; ésta nefropatía es definida como nefropatía mesangial por Ig A-Ig G <sup>(46,203)</sup>. Varios hallazgos en pacientes con nefritis por Ig A, sugieren que la misma es depositada en el glomérulo en forma polimérica y esto hace que los niveles en circulación estén incrementados <sup>(182)</sup>.

En ocasiones, se asocia a la GN mesangioproliferativa el depósito de Ig M con un patrón de distribución mesangial. El curso de esta lesión es relativamente benigno y presenta una respuesta variable al tratamiento, debiendo considerarse a ésta como una entidad clínica e inmunopatológica distinta <sup>(15,41,54,125)</sup>.

La GN membranoproliferativa también puede ser mediada inmunológicamente, correspondiendo a la más severa de estas enfermedades que, a su vez, puede ser idiopática o secundaria y puede ocurrir en asociación con enfermedades sistémicas <sup>(70)</sup> o en pacientes inmunodeprimidos <sup>(34,117,134,149)</sup>.

### 5- 3. Tubulopatías:

Las alteraciones tubulares se clasifican en: cambios citoplasmáticos del epitelio tubular (degeneración celular), atrofia, hipertrofia, dilatación, necrosis tubular y la presencia de cilindros hialinos en la luz <sup>(18,99,137,178,228)</sup>.

En la degeneración celular las luces tubulares aparecen reducidas de tamaño y las células que conforman el epitelio tubular se muestran tumefactas, muchas de ellas con fenómenos de degeneración hidrópica y otras con marcada acidofilia citoplasmática <sup>(18,137,228)</sup>.

En la atrofia tubular, la altura del epitelio está reducida, los núcleos aparecen más juntos y la luz tubular más amplia. En este estadio puede ser difícil distinguir entre túbulo proximal y distal. Algunos túbulos están atróficos y otros colapsados y permanecen

separados unos de otros por prominente tejido conectivo intersticial, a menudo infiltrado por un pequeño número de células inflamatorias<sup>(137,228)</sup>. La atrofia tubular puede ser focal o difusa, la primera está relacionada a isquemia glomerular y la segunda se observa en estados avanzados de enfermedad renal<sup>(137,178)</sup>. En la estenosis arterial, los túbulos y glomérulos sufren atrofia al mismo tiempo, siendo esta lesión frecuentemente descripta como infarto parcial<sup>(99)</sup>.

En la hipertrofia tubular, las estructuras afectadas son principalmente los túbulos proximales. Se caracteriza por el aumento del diámetro externo de los túbulos, mientras que las células del epitelio permanecen normales. Esta lesión se considera una consecuencia de mecanismos de compensación de nefrones que sobreviven a daños producidos en enfermedades renales crónicas y podría ser considerada una lesión más aparente que real. Cuando muchos nefrones vecinos se encuentran involucrados en este estadio, forman la llamada imagen pseudotiroidea, caracterizada por túbulos dilatados con contenido de material eosinófilo (cilindros hialinos) en su interior. La hipertrofia tubular contrasta marcadamente con las áreas adyacentes de atrofia tubular<sup>(99,137,178,228)</sup>.

En la dilatación tubular, tanto el diámetro tubular externo como el interno están aumentados. Las estructuras afectadas son los túbulos colectores. Los túbulos hipertrofiados también se consideran estructuras dilatadas. Esta lesión generalmente es la consecuencia de fenómenos de retención u obstrucción<sup>(99,137,178,228)</sup>.

La presencia de cilindros hialinos en la luz tubular es el resultado de sustancias con alto contenido proteico, principalmente en los túbulos contorneados proximales<sup>(228)</sup>.

La necrosis tubular es el resultado de varias causas que, de manera general, pueden dividirse en dos grupos principales: 1) Lesión nefrotóxica: son los casos en que existe intoxicación directa de los túbulos, particularmente de los túbulos contorneados proximales, por acción de diversos agentes nocivos, tales como sustancias químicas -tóxicas o microbianas- y 2) Lesión tubulorréxica: son los casos que poseen un vínculo común de un episodio hipotensivo anterior o isquemia renal grave. En ocasiones, suelen observarse figuras mitóticas dando una impresión general de actividad de regeneración<sup>(11,12,18,35,49,58,99,101,113,137,161,170,178,199,228)</sup>.

Otra lesión que se cita con frecuencia es el daño tubular provocado por reflujo de orina que en ocasiones afecta al epitelio tubular proximal y al espacio de Bowman. En estos casos, el espacio capsular presenta un precipitado granular eosinófilo y los túbulos proximales pueden presentar una gran variedad de alteraciones; su aspecto varía en relación con el comienzo de la oliguria y también con la aplicación de sustancias en el tratamiento<sup>(214)</sup>. Entre los hallazgos microscópicos llama la atención que las células que revisten la cápsula de Bowman con frecuencia son excesivamente prominentes y numerosas con el aspecto de las que recubren el túbulo contorneado proximal<sup>(18,99)</sup>.

#### 5- 4. Nefritis y pielonefritis:

Es importante destacar que los túbulos urinarios, junto con el intersticio cortical renal, forman la mayor porción del parénquima renal (aproximadamente el 95%)<sup>(18)</sup>.

En varias formas de nefritis los riñones presentan una reacción celular inflamatoria en los tejidos intersticiales. La misma reacción también ocurre en la pelvis renal<sup>(99,137,178,228)</sup>. Ambas enfermedades (nefritis intersticial y pielonefritis) no sólo presentan cambios inflamatorios del intersticio y de los túbulos, sino que también en los estados avanzados producen lesión glomerular<sup>(110,158,178,228,229)</sup>.

La nefritis intersticial se define como una reacción inflamatoria del tejido intersticial renal que podría ser separada de la pielonefritis por el tipo de compromiso y por la vía de llegada de los agentes<sup>(18)</sup>. La primera presenta una distribución difusa, inicialmente parenquimatosa, que ocasionalmente puede comprometer la pelvis y la vía de llegada es habitualmente hematógena. La pielonefritis se inicia en la pelvis por penetración directa de los agentes por vía ascendente<sup>(39,99,228)</sup>. Como en la nefritis intersticial también son afectados los túbulos, estos desórdenes pueden ser designados como nefritis túbulo intersticial<sup>(18)</sup>. Las células de la inflamación pueden ser encontradas en el tejido intersticial tanto en procesos agudos como crónicos con una distribución focal o difusa. Esta lesión es generalmente bilateral cuando el proceso inflamatorio es de origen bacteriano hematógeno y uni o bilateral en infecciones bacterianas ascendentes con formación de abscesos en la corteza y médula; este proceso es raramente observado en material de biopsia<sup>(228)</sup>. En las nefritis agudas un gran número de leucocitos polimorfonucleares puede estar presente.

Los linfocitos pequeños y las células plasmáticas predominan en los procesos inflamatorios crónicos, generalmente asociados a atrofia del parénquima y fibrosis intersticial <sup>(99,137,145,158,178,228,229)</sup>. El término nefritis intersticial aguda incluye, en muchos casos, una gran cantidad de linfocitos y células plasmáticas, sin polimorfonucleares. Por lo tanto, los términos de aguda y crónica no radican tanto en las características del componente celular como en el curso clínico del ataque. Este es un ejemplo más de cómo se emplea el estado clínico para definir un cuadro histológico <sup>(99,120)</sup>. En la nefritis intersticial crónica existe una destrucción parenquimatosa focal, fibrosis intersticial progresiva rodeada de infiltrado celular y glomérulos parcialmente obliterados en el área afectada. Los hallazgos de los cultivos urinarios son inconstantes <sup>(18)</sup>. La cantidad de fibrosis intersticial es más notoria en la mayoría de las formas crónicas y éste es, en general, el mejor criterio histológico para distinguir entre la etapa aguda y la crónica <sup>(99,137,178)</sup>.

La combinación de inflamación parenquimatosa, calicial y pelviana se conoce como pielonefritis <sup>(99)</sup>.

Generalmente, la pielonefritis es provocada por invasión bacteriana. La misma puede tener origen ascendente (vía urinaria) o descendente (vía hematógena) <sup>(99,176,178,228)</sup>. En humanos juega un rol preponderante el reflujo de orina infectada a partir de los uréteres, la que eventualmente puede ser causa de una reacción inflamatoria debido al efecto irritante <sup>(100)</sup>.

En la pielonefritis aguda un gran número de leucocitos polimorfonucleares puede estar presente. En los procesos inflamatorios crónicos los linfocitos pequeños y las células plasmáticas están usualmente presentes, generalmente asociados a atrofia del parénquima y fibrosis intersticial <sup>(99,137,158,178,228,229)</sup>. Para algunos autores el término de nefritis intersticial aguda es sinónimo de pielonefritis aguda y el término nefritis intersticial crónica es sinónimo de pielonefritis crónica <sup>(18,137)</sup>.

Las nefropatías que tienen como entidad morfológica una nefritis intersticial presentan características macroscópicas y microscópicas bien definidas. Macroscópicamente se aprecia palidez general; la superficie de corte denota palidez de la corteza y columnas de Bellini, en contraste con la zona oscura de las papilas <sup>(229)</sup>.

Por otro lado, puede existir lesión en la pelvis e intersticio renal debido a infección del tracto urinario. Esto es más frecuente en individuos de corta edad y generalmente acompaña hasta la vida adulta. Esta enfermedad esta asociada con bacteriuria y reflujos vésicoureterales <sup>(6,140)</sup>.

#### 5- 5. Histopatología de los vasos renales:

La enfermedad no inflamatoria principalmente de las arteriolas renales, arterias interlobulares y, a veces, del glomérulo con compromiso del intersticio cortical renal, es conocida como nefroesclerosis benigna. En la mayoría de los casos los glomérulos aparecen sin cambios, pero en individuos de edad avanzada puede haber obliteración de los glomérulos ubicados en la capa media y externa de la corteza renal, los que son transformados en una sustancia PAS positiva, libre de núcleos celulares y a veces rodeado por la cápsula de Bowman, transformada en una masa fibrótica <sup>(18,99,170,228)</sup>. Los cambios vasculares más prominentes son la mayor o menor hialinización de la íntima, o la media y la íntima de los vasos aferentes y de los segmentos distales de las arterias interlobulares <sup>(18,58,101,120,137,161,178,192,198,199,200)</sup>. Cuando la nefroesclerosis benigna se acompaña de episodios hipertensivos severos, puede haber incremento de la matriz mesangial en el glomérulo <sup>(18)</sup>.

La nefroesclerosis maligna involucra a las arterias interlobulares, arteriolas aferentes y capilares glomerulares. En la primer etapa de la enfermedad se observan trombos en los capilares glomerulares, particularmente en la región hilar. En etapas más avanzadas, el cambio más prominente asienta en la membrana basal de los capilares glomerulares, la que puede aparecer arrugada o plegada, destacándose la presencia de edema subendotelial. En principio, las lesiones descritas en el glomérulo pueden también ocurrir en todos los vasos renales. El cambio más temprano en las arterias aferentes e interlobulares es el edema de la íntima provocando la estenosis arterial. En etapas avanzadas puede existir necrosis de la íntima, con formación de trombos que ocluyen totalmente la luz de las arterias. Estos trombos pueden ser reabsorbidos en parte y parcialmente remplazados por fibras colágenas, formando cicatrices obstructivas <sup>(12,18,49,58,99,101,113,120,161,137,170,178,192,198,199,200,228)</sup>

## **6- Patogenia y componente molecular de las lesiones renales**

El rol de los eventos inmunológicos en la patogénesis de las GN fue reconocido en la clínica y en experiencias de laboratorio en los primeros años de este siglo <sup>(55,71)</sup>. En las dos primeras décadas, los estudios inmunológicos indicaron que el antígeno nefrotóxico responsable se encontraba localizado en la corteza renal y más tarde se corroboró que el mismo se hallaba específicamente en el glomérulo <sup>(55,99,161)</sup>.

En las décadas siguientes, inmunólogos sobresalientes como Masugi, Smadel y Kay analizaron los aspectos inmunológicos y patológicos de esta enfermedad en modelos biológicos, concluyendo que los cambios morfológicos renales en algunos casos eran similares a las GN en humanos <sup>(12,46,55,99,113,161)</sup>.

De esta manera se evidencia que, en la mayoría de las glomerulopatías, existe un claro mecanismo inmunológico de base. También existen hallazgos que indican que los túbulos renales y el tejido intersticial pueden ser dañados inmunológicamente <sup>(3,11,16,23,35,42,46,49,58,71,77,87,93,94,96,99,101,110,120,135,161,176,181,192,198,199,200,216,228)</sup>.

Se han reconocido dos tipos importantes de enfermedades inducidas inmunológicamente: 1) lesiones por anticuerpos que reaccionan "in situ" en el glomérulo con antígenos glomerulares fijos insolubles y 2) lesiones que resultan principalmente de los complejos antígeno-anticuerpos de diversos orígenes y acumulados en los glomérulos pero formados en la circulación. También desempeñan un rol importante los mecanismos celulares y la activación de la vía alterna del complemento <sup>(3,11,18,35,42,49,58,71,77,93,94,99,101,120,135,161,170,181,192,198,199,228)</sup>.

La forma en que estos inmunocomplejos penetran en la membrana basal glomerular no ha sido satisfactoriamente explicada. Las moléculas cargadas positivamente tienen una marcada afinidad por la carga negativa de la membrana basal glomerular y ésta puede actuar como un blanco para los anticuerpos circulantes. Además, dichas moléculas pueden penetrar en la membrana basal glomerular aún cuando su tamaño excede los 500.000 daltons, mientras que las moléculas aniónicas por encima de 70.000 daltons son efectivamente excluidas <sup>(213)</sup>. Las moléculas de antígenos y anticuerpos pueden penetrar la lámina densa solamente en forma disociada <sup>(212)</sup>.

Se ha trabajado en numerosos modelos animales con la finalidad de explicar la presencia predominantemente glomerular de estos inmunocomplejos. Existen áreas pobremente definidas en ciertos tipos de nefritis como por ejemplo las modificaciones que sufren los depósitos de complejos inmunes <sup>(136)</sup> y las diferentes moléculas de inmunoglobulinas <sup>(7)</sup> o la existencia de sustancias que juegan un rol fundamental en la regulación de la reparación y proliferación celular en las GN rápidamente progresivas <sup>(156,196)</sup>. Toda vez que se ha investigado en modelos experimentales la clase de inmunoglobulinas presente en los complejos intraglomerulares, predomina la inmunoglobulina G o es la única clase existente. Sin embargo, la inmunoglobulina M y la inmunoglobulina A pueden estar presentes en menor proporción <sup>(99)</sup>. En roedores, los complejos inmunocirculantes que contienen inmunoglobulina A pueden ser inducidos por inmunización, por vía enteral o por vía parenteral con antígenos definidos, pudiendo depositarse en el mesangio e iniciar una GN proliferativa similar a la observada en humanos <sup>(46)</sup>.

En humanos, la mayoría de las nefropatías mediadas inmunológicamente se deben a Ig A. Esta inmunoglobulina deriva normalmente del tejido linfoide asociado a los sistemas digestivo y respiratorio y tiene como función principal la de proteger a las mucosas. El incremento puede deberse al resultado de una hiperproducción por parte del sistema inmune responsable, estimulado por continuos cambios antigénicos o por una defectuosa eliminación por el sistema fagocítico mononuclear, o bien a lesiones hepáticas, generando como consecuencia un incremento en la circulación <sup>(42,44)</sup>.

En el hombre y en algunos animales de laboratorio la GN membranoproliferativa se relaciona frecuentemente con la deficiencia hereditaria de los componentes de la vía clásica del complemento C1, C2, C4 y, principalmente, C3 <sup>(17,64,169)</sup>.

## **7- Lesiones renales en diferentes modelos biológicos y en animales domésticos**

Las lesiones glomerulares en ratones son clasificadas en diferentes categorías de acuerdo con el sustrato histopatológico afectado: GN focal, GN difusa, GN proliferativa intra y extra capilar, GN membranoproliferativa y GN membranosa. Todas estas GN están asociadas al incremento de complejos inmunocirculantes <sup>(103,222)</sup>. En ratones, entre las

lesiones de origen desconocido, se cita la presencia de glomérulos hialinizados (glomérulos en desuso), asociados con la atrofia de sus túbulos, fibrosis intersticial e infiltrado linfocítico<sup>(137,147)</sup>. También se citan alteraciones glomerulares ultraestructurales que ocurren en la etapa neonatal y consisten en la pérdida de los procesos podales de las células epiteliales<sup>(147)</sup>.

En ratas, se postuló que las lesiones de los podocitos inducen la producción de una citoquina, que es un factor básico de crecimiento de los fibroblastos y, de esta forma, contribuyen a la glomeruloesclerosis en las nefropatías membranosas<sup>(63)</sup>. En la misma especie, estudios ultraestructurales indican que los depósitos subepiteliales están relacionados a daños de la membrana basal glomerular y vinculados estrechamente con el desarrollo de proteinuria<sup>(105,156)</sup>. Kaysen<sup>(115)</sup> comprobó en esta especie que la infusión de dextrano o albúmina disminuye los niveles de lípidos sugiriendo que la reducida presión coloidosmótica del plasma juega un rol fundamental y es causante de la hiperlipidemia en el síndrome nefrótico. En la misma especie algunos resultados indican que dietas con bajo contenido de proteínas disminuyen la albuminuria<sup>(62)</sup>.

En cobayos, ocurren enfermedades glomerulares que resultan de la producción inusual de colágeno tipo III por parte de las células mesangiales, el que puede ser revelado mediante técnicas inmunohistoquímicas y microscopía electrónica. Las mismas lesiones fueron recientemente descritas en gatos<sup>(146,180)</sup>.

En el perro, a partir de estudios histológicos e inmunohisto lógicos, algunos autores, clasifican a las lesiones glomerulares en ocho tipos diferentes : anormalidades glomerulares menores, esclerosis y hialinosis segmental y focal, GN focal, GN membranosa difusa, GN proliferativa mesangial difusa, GN proliferativa endocapilar difusa, GN esclerosante difusa, y GN no clasificadas<sup>(206,207,211)</sup>.

En numerosas ocasiones, se sugiere que las lesiones glomerulares son el resultado de la localización in situ de complejos inmunes de origen parasitario (por ej : *Dirofilaria immitis*) o de orígenes desconocidos<sup>(83,210)</sup>.

Mediante estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales realizados en las células epiteliales de glomérulos de perro, se demostró que las células epiteliales viscerales de glomérulos normales expresan solamente vimentina y las células epiteliales parietales

citoqueratina. En el mismo estudio, se corroboró que las células epiteliales viscerales de glomérulos alterados expresan, al mismo tiempo, citoqueratina y vimentina. <sup>(204,206,209)</sup>.

Diferentes autores citan frecuentemente las lesiones tubulares provocadas por diferentes medicamentos (antibióticos). También afirman que la severidad de las lesiones tubulares permanece asociada con la concentración de proteína en la dieta <sup>(86)</sup>.

En el perro, el síndrome nefrótico y/o proteinuria masiva es frecuentemente asociado con GN membranoproliferativa, fibrosis glomerular y amiloidosis renal <sup>(121,175,208)</sup>.

Los valores elevados de proteína en orina son el resultado de lesiones glomerulares, mientras que los valores incrementados de creatinina están frecuentemente relacionados con lesiones tubulointersticiales. En general, no hay relación entre los diferentes tipos de nefropatías y la edad del animal <sup>(141)</sup>.

Entre los signos clínicos de falla renal crónica en el perro, citan la ocurrencia de anorexia, letargia, polidipsia y poliuria. Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia no regenerativa, neutropenia, trombocitopenia y azotemia <sup>(205)</sup>.

La biopsia renal en el perro, realizada por diferentes técnicas, es un método efectivo para la evaluación de las enfermedades renales <sup>(224)</sup>. El diagnóstico de los diferentes tipos de nefropatías mediante la realización de una biopsia renal, permite formular un correcto pronóstico e instaurar un adecuado tratamiento <sup>(141)</sup>. Algunos tratamientos, basados en la utilización de inhibidores de la síntesis de tromboxano, arrojaron resultados satisfactorios en el caso de enfermedades glomerulares inducidas experimentalmente <sup>(84,85,132)</sup>.

En estos animales, también se citan afecciones renales no inflamatorias, tales como displasia renal y vasculopatías glomerulares renales y cutáneas idiopáticas de etiologías no determinadas <sup>(102,116,211)</sup>.

En años anteriores, en contraste con el hombre, las GN fueron raramente descritas en las diferentes especies de animales domésticos, mientras que la nefritis intersticial fue frecuentemente diagnosticada <sup>(221)</sup>.

Actualmente, se citan lesiones renales en una amplia variedad de animales incluyendo bovinos, ovinos, equinos, conejos, aves, peces y anfibios, con diversas características y de diferentes etiologías <sup>(61,65,88,173,175)</sup>.

## 8- Lesiones renales en primates

Diversas lesiones renales han sido descritas en primates del viejo mundo <sup>(5,10,13, 25,26,74,97,106,111,184)</sup> y del nuevo mundo <sup>(1,9,21,22,29,31,48,47,52,60,66,81,82,106,114,143,154,163,162,171,174,184,189, 217,218)</sup>, tanto en la vida silvestre como en cautiverio. En una de las especies del viejo mundo, *Macaca mulatta*, se citan cambios glomerulares que van desde lesiones focales menores hasta un severo compromiso de los mismos <sup>(184)</sup>. Se observan glomérulos esclerosados y hialinizados, arteriopatías proliferativas con engrosamiento nodular excéntrico y proliferación celular desordenada, acompañadas por abundante infiltrado celular mononuclear <sup>(184)</sup>. También en *Macaca mulatta* se describen infecciones espontáneas del tracto urinario, causadas por los mismos microorganismos que producen pielonefritis en el hombre o por antígenos bacterianos que persisten en el riñón luego de la eliminación de las bacterias. Se caracterizan histológicamente por un infiltrado intersticial mononuclear en la pelvis y papilas renales que se extiende a la médula y a la corteza con dilatación y cicatrización tubular y leves cambios glomerulares. Esta nefritis intersticial asociada con pielitis y daño tubular fue definida como pielonefritis crónica <sup>(163,164,165,166)</sup>.

En otros monos del viejo mundo de la especie *Macaca nemestrina*, aparentemente normales, se describen GN mesangioproliferativas <sup>(25,74,184)</sup>. Estas se presentan con diferentes grados de alteración; las lesiones son difusas y la severidad de las mismas varían entre diferentes glomérulos y entre distintos sectores. En general, consisten en leve aumento de la matriz mesangial e incremento del número de células mesangiales con engrosamiento de la pared capilar <sup>(25,74)</sup>. En los túbulos, la lesión observada frecuentemente es la nefrosis tubular, caracterizada por pérdida del ribete en cepillo, disminución de la altura del epitelio tubular a un patrón cuboidal y el incremento del diámetro de la luz tubular <sup>(74)</sup>.

En babuinos (*Papio cynocephalus*), también del viejo mundo, se describen: GN mesangioproliferativa, acompañada de severa proteinuria, hipoalbuminemia y edema generalizado, nefritis con presencia de infiltrado intersticial de tipo linforreticular (linfocitos, plasmocitos y granulocitos) en el intersticio cortical predominantemente en la unión corticomedular y pielonefritis septicémica embólica <sup>(26,97)</sup>. En esta especie de primate, también se cita el hallazgo de hialinización ocasional de glomérulos <sup>(26)</sup>.

Dentro de las afecciones renales no inflamatorias, se describe en *Macaca fascicularis* el depósito de material cristalino correspondiente a oxalato de calcio dentro de los túbulos contorneados proximales de la corteza renal <sup>(185)</sup>.

En *Papio cynocephalus* se observan infartos renales como consecuencia de émbolos formados por fibrina, leucocitos y colonias bacterianas <sup>(97)</sup>.

Boyce y colaboradores, en el año 1981 <sup>(25)</sup>, realizan estudios ultraestructurales y de inmunofluorescencia en *Macaca nemestrina*. A partir de dichos estudios sugieren que la patogénesis de la lesión puede deberse a depósitos de complejos inmunes (antígeno-Ig M) en la región mesangial. Mediante estudios de inmunofluorescencia Guiddens y colaboradores, en el año 1981 <sup>(74)</sup>, demuestran depósitos de inmunoglobulinas en el glomérulo, tales como Ig A, Ig G y, particularmente, Ig M.

En el *Papio cynocephalus*, a través de estudios con inmunofluorescencia directa, Heidel y colaboradores, en el año 1981 <sup>(97)</sup>, detectan depósitos granulares de Ig G, Ig M, Ig A y de fracciones C3 y C4 del complemento en los glomérulos.

Bennet y colaboradores, en el año 1982 <sup>(13)</sup>, trabajando con *Macaca fascicularis*, describen un caso de nefroblastoma maligno en un individuo juvenil de 4 meses de edad.

Los primates del nuevo mundo también son susceptibles a diversas afecciones renales <sup>(29,31,48,47,52,81,143,174,184,189)</sup>

En los miembros de la familia *Callithricidae* se describen nefropatías mesangioproliferativas, que se caracterizan morfológicamente por hiperplasia mesangial con aumento de matriz mesangial y fibras reticulares. También se puede observar proliferación de las células mesangiales, asociada con inflamación tubulointersticial predominantemente en la zona cortical, compuesta por células mononucleares principalmente linfocíticas y usualmente acompañada por fibrosis intersticial. La enfermedad permanece silente por largos períodos, aunque es progresiva y se le atribuye hasta un 20 % de las muertes <sup>(29,31)</sup>. En primates de la misma familia, Potkay, en el año 1992, describe esclerosis mesangial, proliferación y fibrosis de la cápsula de Bowman y esclerosis glomerular asociadas a hematuria, proteinuria y cilindros urinarios <sup>(154)</sup>.

En el *Aotus trivirgatus* (owl monkey), la lesión más comúnmente detectada es una GN inmunomediada, asociada con anemia hemolítica. Las lesiones varían entre los

animales, involucrando parte o todo el glomérulo, aunque en algunos casos la mayoría de los glomérulos evidencian algún grado de compromiso. Las lesiones más comunes incluyen la proliferación de células mesangiales, incremento de la matriz mesangial, duplicación de la membrana basal con engrosamiento de la pared del ovillo capilar y esclerosis glomerular <sup>(48,81,184,218)</sup>. Las enfermedades intersticiales caracterizadas por inflamación y fibrosis fueron clasificadas de diferentes maneras, tales como inflamación periglomerular, inflamación focal, inflamación focal y periglomerular, fibrosis focal, fibrosis lineal e inflamación y fibrosis difusa sin inflamación <sup>(48)</sup>.

Del mismo género, el *Aotus vociferans* y el *Aotus nancymae* presentan nefropatías crónicas en, aproximadamente, el 87 % de los animales a los que se les practicó la necropsia en el Centro de Reproducción y Conservación de Primates no-humanos del Proyecto Primatológico Peruano <sup>(81,82)</sup>.

En el mono ardilla *Saimiri boliviensis*, las GN son clasificadas en cuatro tipos: GN esclerosante focal, GN membranoproliferativa, GN membranosa y una combinación de las dos últimas <sup>(168,189)</sup>. En la misma especie, Stills y Bullock, en el año 1981 <sup>(189)</sup>, observan también pielonefritis que según los autores contribuyen a la mortalidad de estos animales.

Se cita a la ectopía renal como una alteración que lleva a una severa GN membranosa con marcada fibrosis en monos ardilla <sup>(47)</sup>.

Dentro de las afecciones renales no inflamatorias en primates del nuevo mundo de la especie *Saguinus labiatus* se cita mineralización multifocal en los riñones, principalmente en los túbulos medulares <sup>(9)</sup>.

En *Saimiri sciureus*, Still y Bullock, en el año 1981 <sup>(189)</sup>, consignan que la litiasis renal en estos monos es una afección frecuente.

En *Saguinus oedipus*, Brack, en el año 1985 <sup>(27)</sup>, describe un adenoma papilar renal de origen tubular, rodeado por focos de nefritis tubulointersticial multifocal.

Mediante estudios de inmunofluorescencia en primates de la familia *Callithrichidae* se demuestra la presencia de acúmulos de inmunoglobulina M entre las células del mesangio y la matriz mesangial <sup>(29,30,31,154)</sup>. Este hallazgo permite sugerir que la lesión es mediada por mecanismos inmunológicos <sup>(29,31,67,143,164)</sup>.

Estudios inmunohistoquímicos para detectar inmunocomplejos en primates de la familia *Callithrichidae*, utilizando técnicas de inmunofluorescencia y peroxidasa antiperoxidasa (PAP) evidencian depósitos de Ig M. Estos estaban presentes en el 100 % de las glomerulopatías evaluadas y distribuidos en sitios diferentes <sup>(29)</sup>

Couser y Stilman, en el año 1975 <sup>(45)</sup>, sostienen que los depósitos de Ig M preceden y probablemente llevan a lesiones glomerulares de tipo esclerosante. Sin embargo, Bolton y col. en el año 1976 <sup>(20)</sup>, indican que los depósitos de Ig. M son independientes y no causales de las esclerosis glomerulares.

Stills y Bullock <sup>(189)</sup> citan entre las posibles etiologías que producen enfermedades renales en *Saimiri sciureus* a las infestaciones parasitarias producidas por protozoarios del género *Plasmodium brasilianum*. Los mismos autores sostienen que existen predisposiciones de carácter genético para el desarrollo de las GN.

En *Callithrix jacchus* se describe que las lesiones glomerulares ocasionadas por la concurrencia de infestaciones experimentales con virus Epstein-Barr y *Plasmodium brasilianum* (muy relacionado al *Plasmodium malariae* que produce el síndrome nefrítico en el hombre) son mas severas que las observadas cuando se inocula solamente el protozoario <sup>(52,215)</sup>.

En la misma especie, Brack y Fooke proponen que los depósitos de Ig M que provocan nefropatías pueden ser de origen medioambiental, dietético o infeccioso <sup>(32)</sup>. También Brack, mediante estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales determina que el mesangio de los callithrichidos exhibe ciertas características que incrementan su actividad como también la protrusión de las células mesangiales hacia la luz capilar <sup>(33)</sup>.

Mediante estudios realizados en biopsias renales de primates de la especie *Aotus* que fueron tratados y no tratados con péptidos sintéticos de *Plasmodium falciparum* se demuestra que esta especie tiene predisposición para desarrollar nefropatías de etiología aún no determinada, siendo difícil diferenciar los cambios producidos por malaria de los ya existentes <sup>(143, 216)</sup>.

En la misma especie, Aikawa destaca que estos primates tienen una alta incidencia de GN (origen idiopático) asociada a la ocurrencia de anemia hemolítica (causada por la deficiencia de vitamina "E" y selenio) <sup>(1)</sup>. De la misma forma, Chalifoux

sostiene que ambas enfermedades tienen elevada incidencia en animales criados en colonias que nunca fueron expuestas a mosquitos o malarías y que las lesiones glomerulares son similares a las observadas en monos con malaria <sup>(48)</sup>.

En *Cebus apella*, Sánchez Negrette describe una glomerulonefritis crónica asociada a microfilariasis <sup>(174)</sup>.

En el Centro Argentino de Primates (CAPRIM) <sup>(22)</sup> ya fueron descritos los hallazgos obtenidos a través del estudio histopatológico de material de necropsia perteneciente a individuos de la especie *Cebus apella*. Las lesiones fueron clasificadas desde el punto de vista microscópico como: a) GN proliferativa difusa aguda; b) GN mesangioproliferativa hiliar; c) GN extracapilar con semilunas; e) Nefritis intersticial crónica con fibrosis y atrofia glomerular; f) Pielonefritis crónica y g) Lesiones mixtas (combinaciones de las anteriores).

La diversidad de las lesiones histológicas descritas por varios investigadores en diferentes especies de primates, en ocasiones asociadas a alteraciones clínicas significativas, hacen presuponer que estos animales de laboratorio también presentan frecuentes afecciones renales que muchas veces pasan desapercibidas y que pueden ser causa de muerte.

### III- MATERIALES Y METODOS

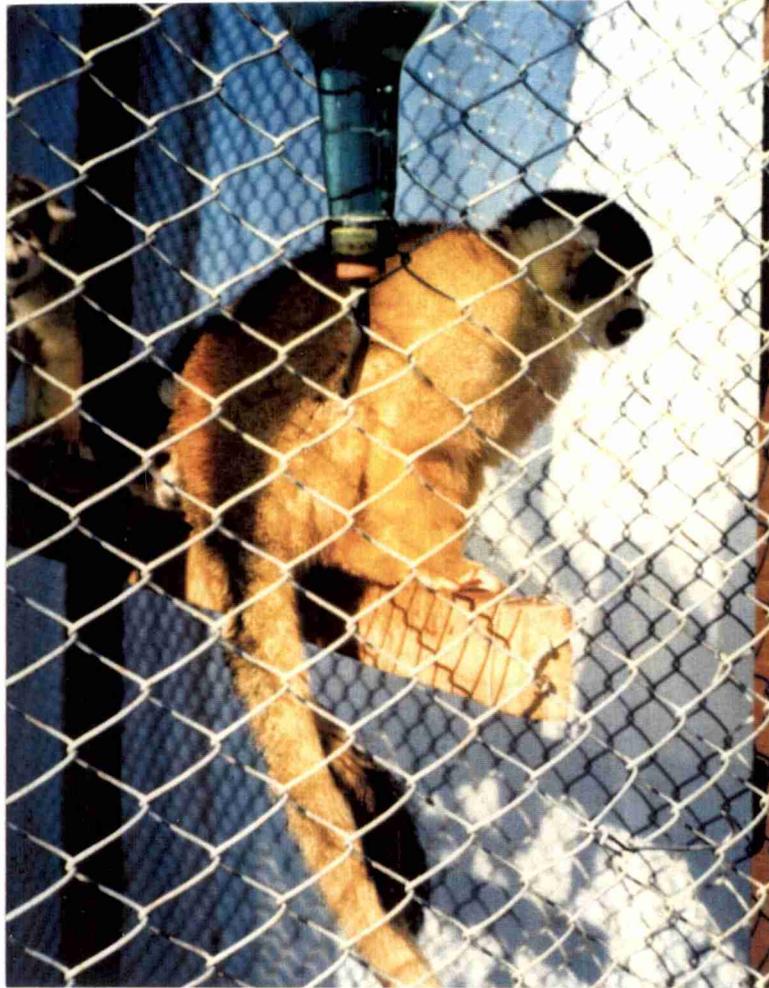
#### 1- Animales de laboratorio:

En el presente trabajo se realizó el análisis bioquímico de sangre y orina y el estudio histológico, histoquímico, inmunohistoquímico y ultraestructural de muestras renales, para el diagnóstico y clasificación de las enfermedades renales.

Para el desarrollo de las actividades se utilizaron primates del nuevo mundo de las especies *Cebus apella* y *Saimiri boliviensis*, pertenecientes al Centro Argentino de Primates -CAPRIM/CONICET-. (Figura 1 y 2).



**Figura 1:** Primate de la especie *Cebus apella*



**Figura 2:** Primate de la especie *Saimiri boliviensis*

#### 1-1 Formación de grupos y diseño:

Se trabajó con dos grupos de animales para cada especie. Grupo I (especímenes a los que se practicó la biopsia) y Grupo II (animales de la colonia que murieron por diferentes causas en el transcurso de la experiencia).

#### **Grupo I**

***Cebus apella*:** Se constituyó con 15 animales de ambos sexos, similar edad, peso y origen. La edad de los animales estuvo comprendida entre 7 y 8 años (categoría adulto joven).

***Saimiri boliviensis*:** Se constituyó con 20 animales de ambos sexos, similar edad, peso y origen. La edad de los animales estuvo comprendida entre 10 y 14 años (adulto joven).

A todos los animales se les realizó el análisis bioquímico de sangre y orina y biopsia renal con el correspondiente estudio histológico, histoquímico e inmunohistoquímico y, en casos seleccionados, ultraestructural.

## **Grupo II**

Comprendió el material de necropsia de todos los animales muertos de las dos especies en el instituto durante el periodo de la experiencia, *Cebus apella* n=17 y *Saimiri boliviensis* n=50, a cuyos riñones se les realizó el estudio histológico, histoquímico e inmunohistoquímico. En este grupo se encuentran animales que murieron por diferentes causas, de diferentes sexo, edad y origen.

### **2- Actividades en el grupo I:**

2-1. Identificación: Los animales de cada especie fueron identificados mediante caravanas y alojados en jaulas colectivas de cuatro animales (tres hembras y un macho).

2-2. Alojamiento: Los animales seleccionados permanecieron en jaulas externas de 15 m<sup>3</sup> enriquecidas con perchas, plataformas y nidos.

2-3. Alimentación: El alimento consistió en un alimento balanceado preparado comercialmente que contiene, al menos, 24 % de proteínas, 3 % de grasa, 5,5 % de fibra, 0,7 % de calcio, 0,6 % de fósforo y que provee 2700 Kcal/kg como energía máxima. El mismo se suministró a razón del 9% del peso corporal por día y por animal, más fruta de estación (especialmente naranjas) y agua *ad libitum*. El alimento fue enriquecido con complejos polivitamínicos y minerales.

2-4. Análisis clínico de sangre y orina: Con el objeto de evaluar parámetros en sangre y en orina que permitieran valorar la función renal, se extrajo a cada animal sangre y orina momentos antes de la obtención de la biopsia renal. Los análisis químicos se realizaron una sola vez y mediante las técnicas que se explican más adelante.

## **2-5. Parámetros hemáticos:**

**2-5.1. Hematócrito, hemoglobina, hemoglobina corpuscular media, recuento de glóbulos rojos y blancos, proteínas totales, albúminas, globulinas, relación albúminas/globulinas, uremia, nitrógeno de urea en sangre (b.u.n.), creatininemia, uricemia, fosfatemia, calcemia, y colesterol total.**

**2-6. Estudios complementarios mediante técnicas hematológicas, para determinar parasitosis hemática (frotis sanguíneos, gota gruesa y estudios serológicos).**

## **2-7. Determinaciones en orina:**

**2-7.1. Análisis semicuantitativo por medio de tiras reactivas con el fin de evaluar parámetros físicos y químicos, color, aspecto, proteínas, glucosa, leucocitos, nitritos, pH, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina y hemoglobina.**

**2-7.2. Análisis químico: Para la determinación de proteinuria mediante la prueba de Heller o del ácido nítrico.**

**2-7.3. Análisis microscópico del sedimento urinario: Cilindroides, hilos mucosos, cilindros hialinos, cilindros hemáticos, cilindros granulosos, glóbulos rojos y blancos, piocitos, células epiteliales, espermatozoides, parásitos, cristales de uratos, ácido úrico, fosfatos amorfos, fosfato de calcio, fosfatos triples y carbonato de calcio.**

**2-8. Biopsia renal mediante métodos directo e indirecto.**

**2-9. Controles clínicos semanales.**

### **3- Técnicas de laboratorio:**

3-1. Extracción de sangre: La sangre se obtuvo de la vena femoral con aguja 1:25 para *Cebus apella* y 0,8:25 para *Saimiri boliviensis*. Los animales permanecieron levemente sedados con clorhidrato de ketamina a razón de 13 mg por kg de peso corporal.

3-2. Obtención de sangre total con anticoagulante (etilen diamino tetraacético EDTA), para realizar las siguientes determinaciones:

3-2.1. Hematócrito (%): microhematócrito, empleándose tubos capilares de 75 mm de longitud, por 1,40 mm de diámetro heparinizados Tegnon ®.

3-2.2. Hemoglobina (g/dl): método colorimétrico (cianuro de hemoglobina), basado en la oxidación de la hemoglobina a hemiglobina por medio del ferricianuro, la que se convierte en cianuro de hemiglobina (HiCN) por reacción con iones de cianuro.

3-2.3. Concentración de hemoglobina corpuscular media (%): valor obtenido por cálculos entre el valor de la hemoglobina X 100 sobre el valor del hematócrito.

3-2.4. Recuento de glóbulos rojos y blancos ( $\text{mm}^3$ ), utilizándose para la misma la cámara de Neubauer (para glóbulos rojos se utilizó el retículo de Thoma).

3-3. Obtención de suero sanguíneo: La sangre total sin anticoagulante fue centrifugada a 3500 r.p.m. (previa formación y desprendimiento del coágulo), para realizar las siguientes determinaciones:

3-3.1. Proteínas totales (g/dl): método basado en la reacción de Biuret, con reactivo EDTA/Cu, produciéndose un complejo color violeta con las proteínas en medio alcalino que es proporcional a su concentración.

**3-3.2. Albúminas (g/dl):** la albúmina reacciona específicamente, sin separación previa con la bromo cresolsulfon ftaleína (BCF) a pH 3,8.

**3-3.3. Globulinas (g/dl):** por cálculos de la diferencia entre proteínas totales y albúminas .

**3-3.4. Relación alb./glob.:** por cálculos de la concentración de albúmina sobre la concentración de globulinas .

**3-3.5. Uremia (g/l):** método enzimático colorimétrico de la ureasa, utilizado para la determinación enzimática de urea en sangre y orina. La urea se descompone por acción de la ureasa y el amoníaco liberado es determinado mediante la reacción del azul de indofenol .

**3-3.6. Nitrógeno de urea en sangre (BUN):** por cálculos a partir de la determinación de urea.

**3-3.7. Creatininemia (mg/l):** por el método colorimétrico de Jaffe, utilizado para la determinación cuantitativa de creatinina en suero y orina. Se basa en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino en medio tamponado, previa desproteinización con ácido pícrico.

**3-3.8. Uricemia (mg/l):** para la determinación cuantitativa de ácido úrico en sangre, método basado en la reducción del reactivo fosfotúngstico en medio alcalino tamponado.

**3-3.9. Fosfatemia (mg/dl):** método directo basado en la reacción del medio ácido con el fósforo inorgánico.

**3-3.10. Calcemia (mg/dl):** micrométodo colorimétrico directo basado en la medida del color producido por la reacción del calcio con la cresolftaleín complexona a pH 11.

3-3.11. Colesterol total (g/l): se empleó el método extractivo colorimétrico basado en la reacción del colesterol con iones férricos en medio acético-sulfúrico.

3-4. Estudios complementarios mediante técnicas hematológicas para determinar parasitosis hemáticas.

3-4.1. Realización de frotis sanguíneos y gota gruesa en sangre total para la observación microscópica de microfilarias, *Trypanosoma cruzi* y *Plasmodium sp.*, coloreados con la tinción de Giemsa (ANEXO N° 1).

3-4.2. Realización de estudios serológicos para la detección de anticuerpos contra antígenos del *Toxoplasma gondii* y del *Trypanosoma cruzi*. Los mismos se llevaron a cabo mediante la técnica Averbach-Yanovsky de hemoaglutinación indirecta (HAI), mediante la utilización del equipo HAI Toxo y HAI Chagas provistos por laboratorios Polychaco S.A.I.C. El fundamento de esta técnica consiste en detectar anticuerpos contra antígenos del *Toxoplasma gondii* y del *Trypanosoma cruzi* en los sueros de animales infectados por estos parásitos. Los sueros se estudiaron a partir de una dilución 1/2.

#### 4- Obtención y análisis de orina:

En machos de la especie *Cebus apella* se realizó el sondaje vesical, para lo cual se utilizó una sonda para alimentación nasogástrica para prematuros calibre 1,4 mm K35 Rivero ®.

En hembras de la especie *Cebus apella* se realizó el sondaje vesical con catéter para gatos de 5 ½ pulgadas y 3,17 mm de diámetro Sovereing ®.

En machos de la especie *Saimiri boliviensis* se realizó el sondaje vesical, para lo cual se utilizó un tubo de polietileno (para canalización venosa y anestesia peridural) tipo PC 40 Laboratorios Barcat.

En hembras de la especie *Saimiri boliviensis* se realizó el sondaje vesical con catéter para gatos de 5 ½ pulgadas y 3,17 mm de diámetro Sovereing ®.

4-1. Análisis semicuantitativo del sobrenadante: a través de tiras reactivas de laboratorios Boehringer Mannheim Argentina S.A. (Comburt 9 Test ®), para la determinación simultánea de los siguientes parámetros: leucocitos, nitritos, pH, proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina y sangre/hemoglobina.

4-2. Prueba de Heller para la determinación de proteinuria : Se utilizó 1 c.c de ácido nítrico en un tubo de ensayo, luego en posición inclinada se dejó escurrir por las paredes del tubo, gota a gota, 1 cc de orina.

4-3. Análisis microscópico del sedimento urinario: Procedimiento: La orina fue centrifugada a 1500 r.p.m., se desechó el sobrenadante, se emulsionó el sedimento y se depositó una gota entre porta y cubreobjetos.

#### **5- Análisis estadístico:**

Evaluación de los diferentes parámetros en sangre y orina:

Los datos paramétricos fueron tabulados en una planilla electrónica para luego ser tratados estadísticamente aplicando solamente estadística descriptiva (media, desvío estándar, intervalo probabilístico o de confianza). A todas las variables se les controló la distribución normal mediante el test de Wilk-Shapiro.

Los gráficos presentados son tridimensionales y en barra utilizando un eje de coordenadas cartesianas, en el eje abscisa se representó la variable y en la ordenada la magnitud de la unidad del dato paramétrico.

#### **6- Biopsia renal:**

Antes de la realización de la biopsia renal, se verificaron las características particulares de cada individuo (edad, sexo, origen, alimentación, sintomatología, terapia

recibida a lo largo de su existencia, aspectos reproductivos, sistemas de cautiverio, si formó parte de algún grupo experimental, etc.).

Las biopsias se obtuvieron mediante laparotomía y, en algunos casos, mediante el método percutáneo. Fueron realizadas con Tru-Cut ® a la totalidad de los animales de ambas especies. Primeramente, los animales fueron anestesiados con Ketamina (13 mg/kg) y Xilazina (6 mg/kg).

6-1. Examen del individuo previo a la biopsia.

6-2. Técnica quirúrgica:

**Laparotomía:**

- 1- El animal permaneció en decúbito lateral derecho.
  - 2- Incisión de piel y tejido celular subcutáneo.
  - 3- Divulsión del oblicuo abdominal externo, divulsión del oblicuo abdominal interno y transverso abdominal.
  - 4- Punción renal : la misma se realizó ingresando por el borde lateral, en dirección cráneo-caudal interesando la corteza y el polo caudal del riñón.
- Se empleó aguja de biopsia ( Tru-Cut ® Baxter Laboratory) de 14 Ga X 14,4 cm (41/2”) y 20 mm de muesca.

**Método percutáneo:**

- 1- El animal permaneció en decúbito lateral derecho.
- 2- Pequeña incisión de piel y tejido celular subcutáneo, en el ángulo costo lumbar.
- 3- Punción renal, la misma se realizó ingresando a la cavidad abdominal en dirección cráneo-caudal, empleándose para la misma, aguja de biopsia (Tru-Cut ® Baxter Laboratory).

**7- Análisis macroscópico y acondicionamiento de la muestra para el procesamiento histológico:** se explicitan en el Item "Técnica y procesamiento histológico"

**8- Actividades en el grupo II:**

Se realizó el análisis macroscópico y la recolección de muestras para el estudio histopatológico. Para la toma de muestras se llevó a cabo la necropsia de los animales, consignando en fichas individuales los datos de cada animal. En las dos especies se procedió de la siguiente forma:

8-1. Evaluación de lesiones externas (hocico, labios, piel, etc.).

8-2. Incisión mento-pubiana y exteriorización ventral de la lengua e istmo de las fauces.

8-3. Extracción en bloque de vísceras torácicas y abdominales, observando con lupa todo tipo de lesión.

8-4. Apertura del cráneo y extracción del cerebro, cerebelo y médula oblonga.

8-5. Toma de muestras para estudios bacteriológicos: Para determinar posibles infecciones bacterianas en los animales que murieron por diversas causas, se tomaron muestras de los órganos torácicos, abdominales y del tracto urogenital, mediante hisopos estériles. Para el aislamiento bacteriológico se utilizó Agar MacConkey. La siembra de placas se realizó por el procedimiento de estría y la incubación fue de 18-24 hs. a 37° C.

8-6. Toma de muestras de rutina para procesamiento histológico. Se extrajeron muestras de los siguientes órganos y tejidos: lengua, tráquea, esófago, pulmones, corazón, hígado, páncreas, bazo, estómago, intestino delgado y grueso, ganglios linfáticos mesentéricos, diafragma, riñones, glándulas adrenales, cerebro, cerebelo y médula oblonga y toda lesión de interés en cualquier órgano o tejido.

## **9- Técnica y procesamiento histológico:**

Para las biopsias renales de los animales pertenecientes al grupo experimental y de los animales de las 2 especies que murieron por diversas causas, se procedió de la siguiente manera:

Las biopsias renales permitieron obtener cilindros de tejido que variaron entre 4 y 18 mm de largo por 1 mm de espesor.

### **9-1. Proceso de fijación, confección, moldeado y cortes histológicos:**

Las muestras para el estudio con microscopio óptico fueron fijadas en solución de Bouin durante 10 hs. (material de biopsia) y formol bufferado por 24 hs. (material de necropsia) en frascos individuales acondicionados para tal fin. Luego fueron deshidratados en series de alcoholes crecientes (70°, 80°, 90° y 100°), aclaradas en xileno e incluidas en parafina. Se cortaron con un espesor de 3-4  $\mu\text{m}$  en micrótomo de deslizamiento Reicher Jung manual y en tipo minot Leica modelo 1516 semiautomático. ANEXO N° 2 y 3.

### **9-2. Técnicas histológicas e histoquímicas:**

Las secciones provenientes de bloques parafinados fueron desparafinadas en xilol, hidratadas en alcoholes decrecientes, coloreadas con hematoxilina y eosina, ácido periódico de Schiff, tricrómica de Mallory, tricrómica de Masson modificada por Goldner, e impregnación argéntica según Jones. Adicionalmente fueron preparadas secciones para la identificación de diversos componentes inmunitarios en el tejido renal Ig A, Ig G e Ig M. El esquema de procesamiento con sus respectivos tiempos y drogas empleadas se detallan en los ANEXOS N° 4, 5, 6, 7 y 8.

### **9-3. Técnicas de inmunohistoquímica:**

Para la identificación de los diversos componentes inmunitarios involucrados en la patogenia de las glomerulopatías fueron utilizados distintos antisueros.

En todos los casos se utilizó un control positivo y un control negativo. Como control positivo siempre se utilizó tonsila humana (Dako ®) y como control negativo secciones de tejido renal al que no se le realizaba la incubación con el anticuerpo primario.

Adicionalmente y como control positivo se utilizaron cortes de tejido renal de primates de la especie *Callithrix* (marmoset) que fueron positivos a Ig A e Ig M en técnicas de inmunofluorescencia.

Como antisuero primario se utilizaron anticuerpos de conejo contra Ig A (Dako ®), Ig M (Sigma ®) e Ig G (Dako®) humana, diluido óptimamente en solución buffer fosfato. La dilución utilizada para la detección de Ig A fue 1 :20, para Ig M 1 :1000 y para Ig G 1 :3000. Como antisuero secundario se utilizó anticuerpo biotinilado y la reacción inmunológica se amplió a través de la utilización del Kit Dako StrepABCComplex/HRP Duet, Mouse/Rabbit de laboratorios Dako ®.

La inmunorreacción fue visualizada a través de la 3,3-diaminobenzidina tetrahidroclorhidrato (Sigma Chemical Company, St. Louis., MO, USA) y peróxido de hidrógeno. Como control positivo se utilizaron secciones de tonsilas de humanos (Dako Corporation, Santa Bárbara, CA). ANEXOS N° 9 y 10.

#### 9-4. Imbibición en plástico:

Luego del estudio histopatológico, los casos con características morfológicas más sobresalientes de las dos especies y de ambos grupos fueron seleccionados y el tejido renal embebido en plástico para la realización de técnicas específicas.

Los bloques parafinados con secciones de tejido renal se colocaron en cubetas plásticas, luego pasaron a una cámara caliente a 60°C de temperatura durante 24 hs (con el fin de eliminar los restos de parafina), alcohol 100 % y continuaron el proceso para la imbibición en plástico (Technovit 7100 ®). ANEXO N° 11.

Las muestras incluidas en plásticos se cortaron a 1 µm de espesor, en micrótomos tipo rotatorio (Leica modelo RM 2065 automático).

Estas secciones fueron coloreadas con azul de toluidina y Movat para cortes semifinos. ANEXOS N° 12 y 13.

**10- Estudio ultraestructural:**

Para microscopía electrónica fueron realizadas biopsias selectivas en algunos de los animales, a los cuales ya se les había realizado una primera biopsia. Los especímenes de 0,5 a 1 mm de diámetro, fueron fijados durante 2 horas a 4°C en solución de glutaraldehído al 3 % en buffer cacodilato 0,1 M y pH 7,4. Se lavaron (tres lavados) en solución de sucrosa al 5 % en buffer cacodilato 0,1 M, se conservaron en la misma solución a 4°C y, posteriormente, se post-fijaron en tetróxido de osmio al 1 %, y se deshidrataron en gradación creciente de acetona. Se incluyeron en Poly/Bed (Polyscience) y luego de la selección por cortes semifinos coloreados con azul de toluidina, se retallaron y cortaron en ultramicrotomo (90 nm ). Posteriormente se electrodensificaron con citrato de sodio y acetato de uranilo y las secciones ultrafinas fueron observadas y fotografiadas en microscopio electrónico JEM 1200 EXII (Jeol LTD). ANEXOS Nº 14, 15, 16 y 17.

**11- Metodología empleada para el estudio histopatológico:**

11-1. Metodología empleada: El estudio histopatológico se inició en la pelvis renal y se continuó en la médula renal, en la que se observaron los vasos sanguíneos, el intersticio y los túbulos. Finalmente se procedió a la observación de la corteza renal, en la que se apreciaron los vasos sanguíneos, el intersticio, los túbulos y los glomérulos.

11-2. Aspecto general: H-E, azul de toluidina.

11-3. Estudio histoquímico: P.A.S, tricrómica de Masson modificada por Goldner o tricrómica de Mallory, Movat.

11-4. Estudio inmunohistoquímico: StrepABCComplex/HRP (para determinación de Ig A, G y M).

11-5. Estudio ultraestructural: Microscopía electrónica.

11-6. Diagnóstico presuntivo.

**11-7. Formulación del diagnóstico.**

**11-8. Repetición de la evaluación.**

**11-9. Diagnóstico definitivo:** Las lesiones se clasificaron según el componente histológico afectado y su distribución en el parénquima renal, teniendo en cuenta un criterio descriptivo. Para determinar la severidad de las lesiones renales se tomó en cuenta una escala de valores subjetiva, graduando a las mismas en: leves (+), moderadas (++) y severas (+++).

**12- Documentación fotográfica:**

Algunos de los especímenes seleccionados y las lesiones más representativas fueron documentadas.

**13- Evaluación comparativa de los resultados:**

Se realizó la evaluación comparativa de los resultados de los análisis clínicos de sangre, de orina y del análisis histopatológico de las muestras de cada uno de los integrantes del grupo 1. Al mismo tiempo, se realizó la evaluación comparativa de los resultados del estudio histopatológico de las muestras de cada uno de los individuos que murieron por diversas causas y la evaluación grupal.

## I V- RESULTADOS

### *Cebus apella*

#### 1- Análisis de sangre.

##### 1-1 Análisis bioquímico de sangre:

Los valores sanguíneos del grupo experimental en la especie *Cebus apella* estuvieron dentro del rango normal para la especie.

En la tabla 1 están registrados los valores estadísticos de los diferentes parámetros estudiados.

**Tabla 1: Parámetros sanguíneos en la especie *Cebus apella* (n=15).**

Variable	$\bar{x}$	ic <95	ic >95	d. s.
hematócrito %	44,93	43,63	46,23	2,34
hemoglobina g/dl	14,99	14,55	15,43	0,78
c.h.c.m. %	33,33	32,89	33,77	0,79
leucocitos 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	6,17	5,72	6,62	0,81
proteínas totales g/dl	7,60	7,33	7,87	0,48
albúminas g/dl	4,53	4,34	4,71	0,33
globulinas g/dl	3,07	2,81	3,33	0,47
relación a/g	1,50	1,34	1,67	0,29
urea g/l	0,51	0,46	0,57	0,09
b.u.n. g/l	0,23	0,21	0,26	0,04
creatinina mg/l	5,57	4,66	6,47	1,63
acido úrico mg/l	34,87	30,02	39,73	8,77
fósforo mg/l	3,97	3,03	4,91	1,69
calcio mg/l	8,10	7,38	8,83	1,30
colesterol total g/l	1,87	1,59	2,16	0,51

Media ( $\bar{x}$ ), intervalo de confianza inferior a 95 % (ic <95) y superior a 95 % (ic >95), desvío estándar (d. s.), concentración de hemoglobina corpuscular media (c.h.c.m), relación albúminas/globulinas (relación a/b), nitrógeno de urea en sangre (b.u.n).

## **1-2 Estudios complementarios para la determinación de parásitos hemáticos.**

### **Frotis sanguíneos y gota gruesa:**

En la lectura de los frotis sanguíneos de los 15 *Cebus apella* utilizados en la experiencia el 26,6 % fueron positivos a microfilarias, encontrándose 1 a 2 microfilarias por frotis. La lectura por el método de la gota gruesa de los mismos animales mostró la existencia de microfilarias en un 33,3 %, observándose entre 4 a 7 microfilarias por gota.

No se observó la presencia de tripanosomas y plasmodios en la lectura de los frotis sanguíneos y gota gruesa.

### **Estudios serológicos:**

Mediante las técnicas de hemoaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra antígenos del *Toxoplasma gondii*, se obtuvieron resultados positivos en la dilución 1/512 en el suero sanguíneo del 13,3% de los animales. Para la detección de anticuerpos contra antígenos del *Trypanosoma cruzi*, a través de la misma técnica, los resultados fueron positivos en la dilución 1/32 en el 6,6% de los animales.

## **2- Análisis de orina.**

### **2-1 Análisis bioquímico de orina:**

El volumen de orina recolectado por individuo fue, en promedio, 2,85 cm<sup>3</sup>.

Los resultados del análisis de orina tomados mediante tiras reactivas fueron, en promedio, los siguientes : proteínas 1,31 mg/dl, pH 7,20 y eritrocitos 120 u/μl. Las tiras reactivas fueron negativas a leucocitos, nitritos, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno y bilirrubina.

En la tabla 2 están registrados los valores estadísticos de los diferentes parámetros estudiados.

**Tabla 2:** Parámetros del análisis de orina evaluados mediante tiras reactivas.

Variable	n	$\bar{x}$	ic <95	ic >95	d. s.
pH	15	7,20	6,72	7,67	0,86
proteínas mg/dl	14*	140,7	27,38	254,0	169,0
eritrocitos u/ $\mu$ l	13**	139,23	83,57	194,90	92,12

Número de muestras (n), media ( $\bar{x}$ ), intervalo de confianza menor a 95 % (ic <95) y superior a 95 % (ic >95), desvío estándar (d. s.).

\* Los análisis químicos de orina demostraron que once de las muestras presentaron valores normales de proteína y tres de ellos valores por encima de 500 mg/dl. La media de los valores de proteína en orina corresponde a catorce muestras.

La proteinuria de los tres animales que presentaron valores por encima de 500 mg/dl se corroboró mediante la prueba de Heller.

\*\* La media relacionada a la cantidad de eritrocitos en orina corresponde a 13 muestras, debido a que en dos no se determinó su presencia.

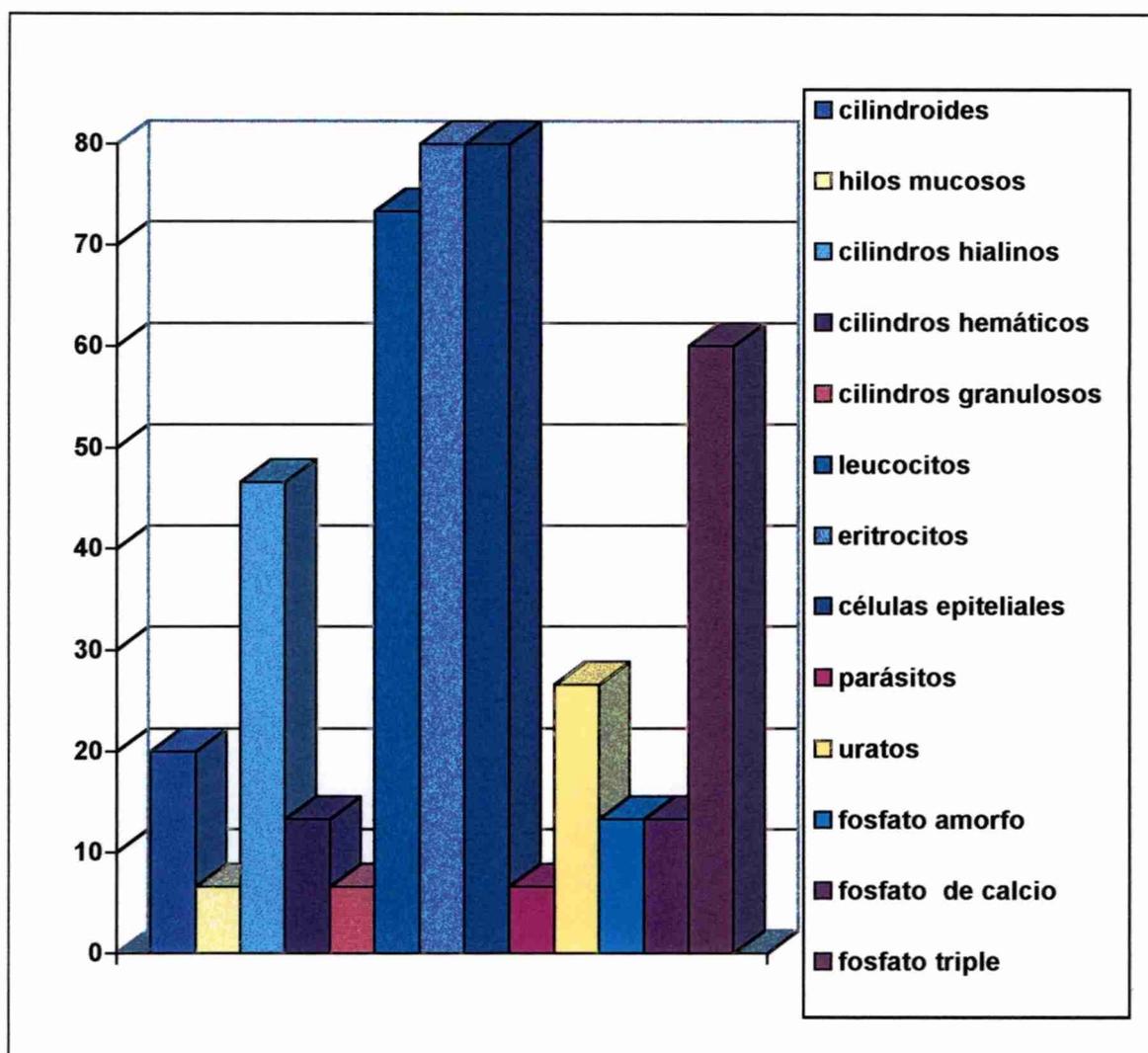
**2-1 Análisis del sedimento urinario:** los elementos del sedimento urinario fueron clasificados de acuerdo con su cantidad por campo de mayor aumento en: negativo (-), escaso (+), regular (++) y abundante (+++).

En la tabla 3 y en la figura 3 están registrados los diferentes tipos de sedimentos observados. No se observó la presencia de piocitos, espermatozoides, cristales de ácido úrico y carbonato de calcio.

**Tabla 3:** Tipo, porcentaje de animales y cantidad de sedimentos urinarios (n=15).

<b>Tipos de sedimento</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Cantidad</b>
<b>cilindroides</b>	<b>20</b>	<b>+</b>
<b>hilos mucosos</b>	<b>6,6</b>	<b>++</b>
<b>cilindros hialinos</b>	<b>46,6</b>	<b>+++</b>
<b>cilindros hemáticos</b>	<b>13,3</b>	<b>++</b>
<b>cilindros granulosos</b>	<b>6,6</b>	<b>+++</b>
<b>leucocitos</b>	<b>73,3</b>	<b>++</b>
<b>eritrocitos</b>	<b>80</b>	<b>+++</b>
<b>células epiteliales</b>	<b>80</b>	<b>+++</b>
<b>parásitos</b>	<b>6,6</b>	<b>+</b>
<b>uratos</b>	<b>26,6</b>	<b>++</b>
<b>fosfato amorfo</b>	<b>13,3</b>	<b>++</b>
<b>fosfato de calcio</b>	<b>13,3</b>	<b>+++</b>
<b>fosfato triple</b>	<b>60</b>	<b>+</b>

Los números identifican los porcentajes de animales que presentaron cada tipo de sedimento. Cantidad : (+) escaso, (++) regular y (+++) abundante.

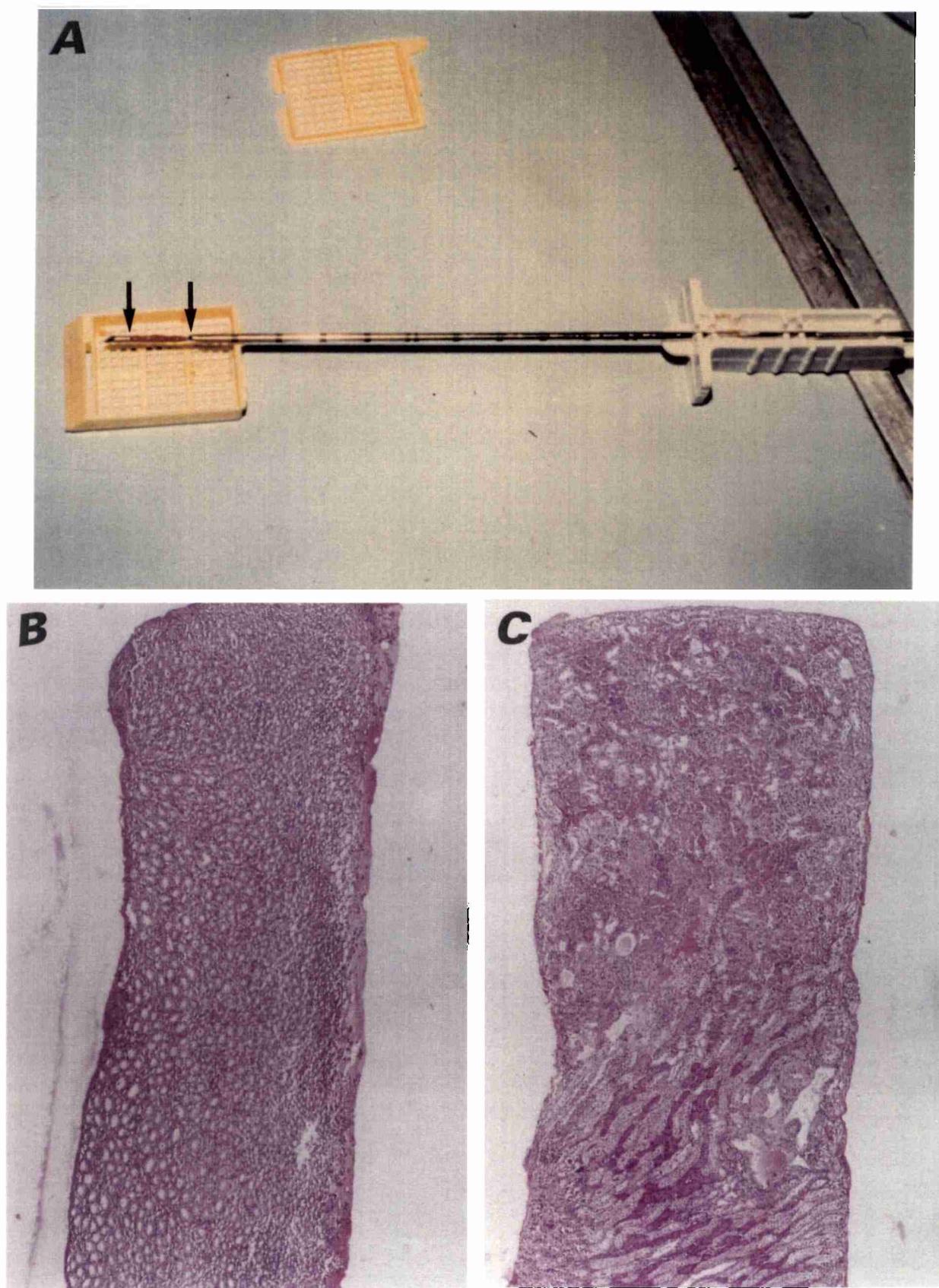


**Figura 3:** Representación gráfica del porcentaje de animales y del tipo de sedimento urinario presente.

### 3- Evaluación de la biopsia renal.

Las biopsias renales permitieron obtener cilindros de tejido que variaron entre 4 y 18 mm de largo x 1 mm de espesor. Cada biopsia en la especie *Cebus apella* permitió obtener, como mínimo, 5 glomérulos y, como máximo, 26 glomérulos, con un promedio de 10,8 glomérulos (Figura 4- A, B y C).

**Figura 4** A- Biopsia renal obtenida con Tru-Cut (→). B- Sección histológica de médula renal y C- de corteza renal de biopsia obtenida con Tru-Cut. (H y E, 40 X).

**Figura 4**

#### **4- Estudio histológico de biopsias y de material de necropsia.**

En el estudio histopatológico, y de acuerdo con el esquema citado en materiales y métodos para ambos grupos, se tuvieron en cuenta las siguientes lesiones : lesiones glomerulares, lesiones tubulares, lesiones intersticiales y lesiones vasculares.

Las alteraciones fueron agrupadas teniendo en cuenta un criterio descriptivo y se clasificaron según el componente histológico predominante.

Para determinar la severidad de las lesiones renales se utilizó una escala de valores de tipo subjetiva, graduando las mismas en: leves (+), moderadas (++) y severas (+++), dependiendo de la severidad del proceso.

##### **4-1 Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de biopsia.**

Las lesiones glomerulares fueron clasificadas, en primer término, de acuerdo con su distribución en la corteza renal y su extensión de la lesión en el glomérulo individual. Recordamos que el término GN difusa se refiere a la lesión que involucra a la gran mayoría de los glomérulos y GN focal a aquella que involucra sólo algunos glomérulos. Lesión global implica el compromiso de todo el glomérulo y lesión segmental el de uno o varios segmentos del ovillo glomerular.

En segundo término, las lesiones glomerulares fueron clasificadas, de acuerdo con los parámetros morfológicos predominantes, en : 1) mesangiales, 2) proliferativas, 3) membranosas 4) fibrosis y 5) hialinosis glomerular. En muchas glomerulopatías estuvo involucrado más de un componente morfológico.

Por último, las lesiones glomerulares fueron clasificadas de acuerdo con la severidad de las lesiones en: leves (+), moderadas (++) y severas (+++). A modo de ejemplo se explican a continuación los parámetros generales utilizados para cada tipo de lesión.

Las lesiones mesangiales variaron desde un leve incremento de las células mesangiales y matriz mesangial (3 a 5 núcleos en el centro de los lóbulos del ovillo glomerular) indicando cambios glomerulares mínimos (severidad +), hasta la proliferación de células mesangiales y matriz mesangial que involucraba a todo el glomérulo, indicando lesión glomerular severa (severidad +++).

Las lesiones proliferativas variaron desde un leve incremento celular endocapilar o intercapilar (severidad +), hasta la acumulación o incremento masivo de células que se diseminaban por el mesangio y espacio de Bowman (severidad +++).

Las lesiones membranosas variaron desde leves engrosamientos difusos y uniformes (severidad +), hasta severos engrosamientos con ondulaciones, duplicaciones y laminaciones (severidad +++).

Las lesiones glomerulares caracterizadas por fibrosis variaron desde la presencia de escasas bandas de colágeno del ovilleo glomerular y cápsula de Bowman (severidad +), hasta severa fibrosis del glomérulo con obliteración de las luces capilares, marcada reducción del número de núcleos celulares o reemplazo total del ovilleo glomerular por tejido conectivo (severidad +++).

Las lesiones caracterizadas por hialinosis glomerular variaron desde focos con asas capilares glomerulares colapsadas y obliteradas con marcadas rugosidades de la membrana basal (severidad +), hasta glomérulos pobremente celulares debido a la desaparición de los núcleos de las células endoteliales, mesangiales y epiteliales finalizando con la fusión de los capilares glomerulares con la cápsula de Bowman y reemplazo del ovilleo glomerular por una masa hialina (severidad +++).

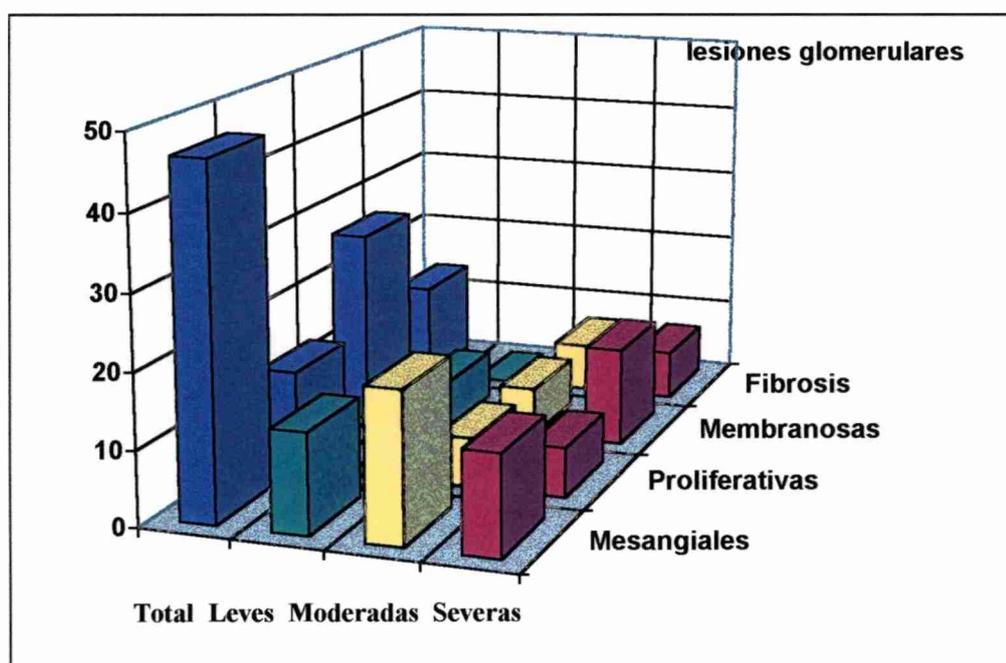
Las alteraciones glomerulares se manifestaron con mayor frecuencia que las lesiones tubulointersticiales.

En la tabla 4 y en la figura 5 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones glomerulares.

**Tabla 4:** Estudio histopatológico de las lesiones glomerulares en el material de biopsia y severidad de las mismas (n=15).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Mesangiales	2	13,3	+
	3	20	++
	2	13,3	+++
Proliferativas	1	6,6	++
	1	6,6	+++
Membranosas	1	6,6	+
	1	6,6	++
	2	13,3	+++
Fibrosis	1	6,6	++
	1	6,6	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 5:** Representación gráfica de las lesiones glomerulares y su severidad en el material de biopsia.

En el material de biopsia las GN caracterizadas por el aumento de células mesangiales y matriz mesangial también exhibieron diferentes grados de severidad. Los cambios glomerulares se presentaron como procesos globales o segmentales. Este tipo de

lesión estuvo asociada, en algunos casos, con fibrosis de la capa parietal de la cápsula de Bowman y con infiltrado intersticial periglomerular (Figura 6, A y B). El incremento de matriz mesangial también fue evidente a través del estudio ultraestructural (Figura 6, C).

En los procesos inflamatorios proliferativos del glomérulo se pudo observar la presencia de edema y proliferación celular, principalmente de las células epiteliales y mesangiales, con disminución de la luz capilar. En algunos casos, la lesión se caracterizó por aumento del ovillo glomerular debido a la presencia de semilunas por estratificación de las células epiteliales que ocupaban un sector o la totalidad del espacio subcapsular con oclusión de la luz capilar y células epiteliales edematizadas.

En las alteraciones membranoproliferativas las paredes de los capilares glomerulares estaban engrosadas, a veces en forma homogénea, con nodulaciones y ondulaciones (Figura 7, A). En otras ocasiones se verificó la presencia de membranas basales dobles. Mediante el estudio ultraestructural se observó la unión de los procesos podales de las células epiteliales, incipiente laminación y engrosamiento de la membrana basal glomerular (Figura 7, B y C).

En la fibrosis glomerular, el número de núcleos estuvo notoriamente reducido, las paredes capilares se mostraron prácticamente obliteradas y el reemplazo del ovillo glomerular por tejido conectivo fue evidente. La fibrosis involucró asas capilares, lóbulos y/o también glomérulos en su totalidad. Fue frecuente el hallazgo de glomérulos con fibrosis de la hoja parietal de la cápsula de Bowman. Esta lesión fue confirmada mediante la tinción tricrómica de Masson modificada por Goldner (Figura 8, A, B, C y Figura 9, A y B).

Entre las lesiones glomerulares del material de biopsia predominaron las lesiones mesangiales, seguidas por las lesiones de la membrana basal de los capilares glomerulares y las lesiones caracterizadas por fenómenos de proliferación celular y fibrosis. No se observó hialinización de glomérulos.

---

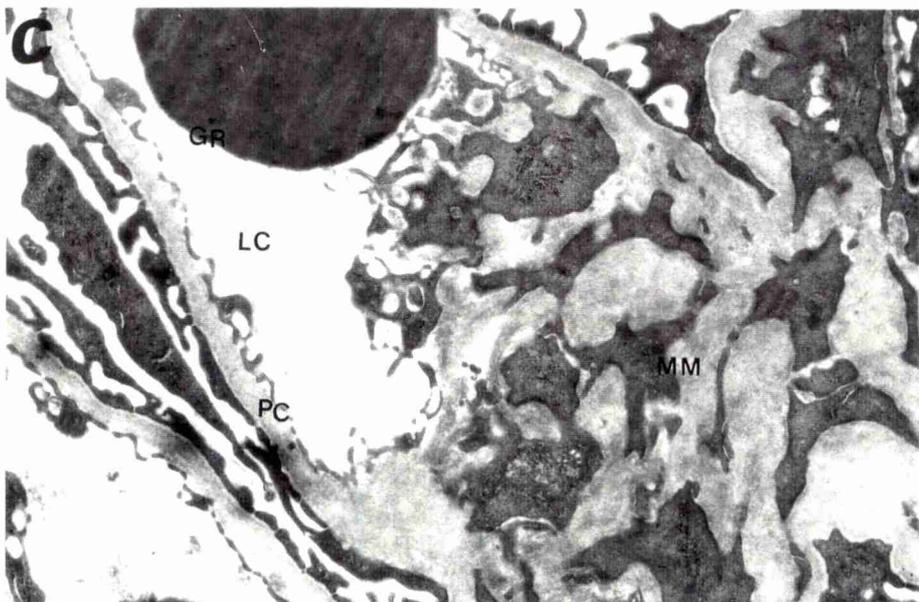
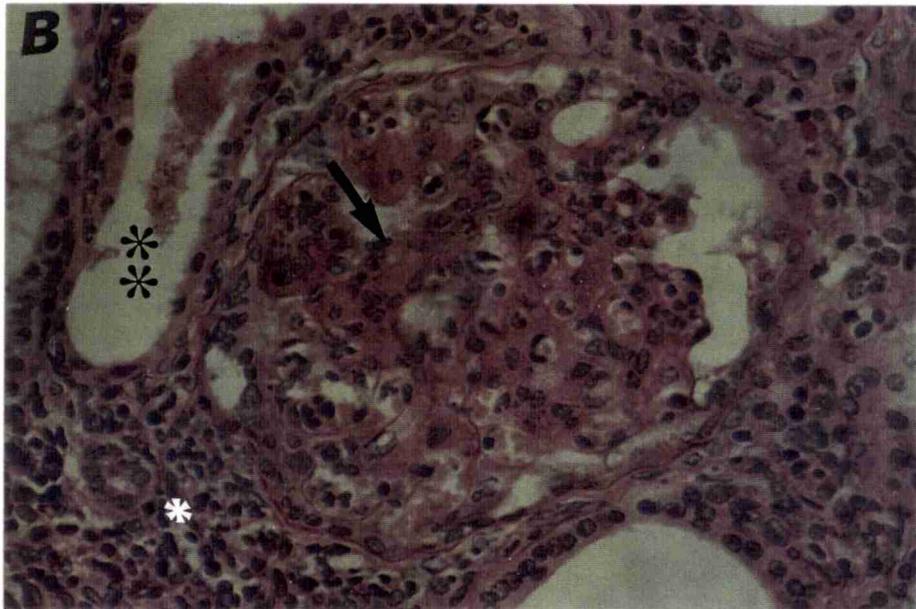
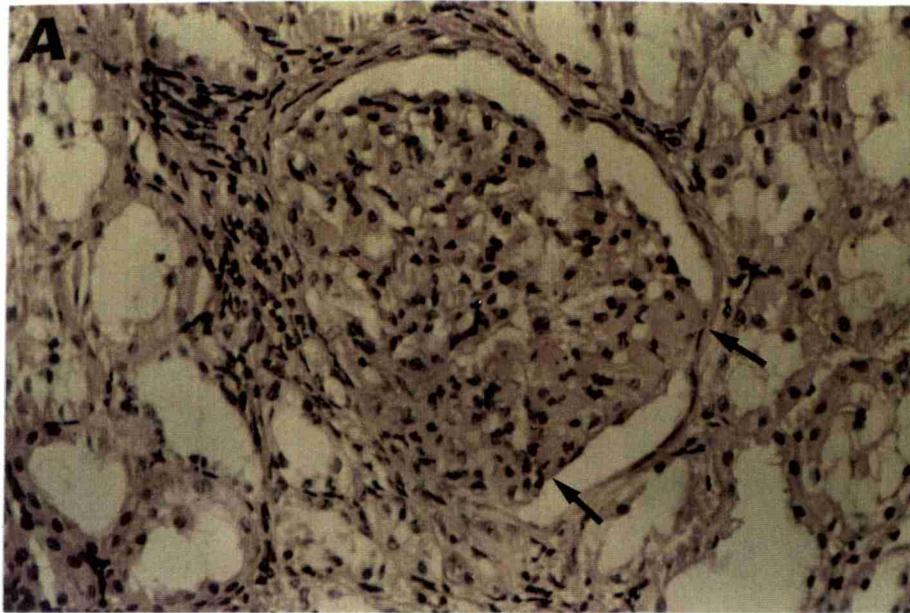
**Figura 6:** A- Glomerulonefritis mesangioproliferativa segmental. Glomérulo rodeado por infiltrado inflamatorio monomorfonuclear. Incremento de la matriz mesangial (→). Los túbulos permanecen normales (P.A.S, 250 X). B- Glomerulonefritis mesangioproliferativa global. Incremento de matriz mesangial (→), infiltrado inflamatorio intersticial mononuclear (\*) y luces tubulares dilatadas (\*\*). (P.A.S, 250 X). C- Glomerulonefritis mesangioproliferativa. Incremento de matriz mesangial (MM) y engrosamiento de la pared capilar (PC). Luz capilar (LC). Glóbulo rojo (GR). (10.000 X).

**Figura 7:** A- Glomerulonefritis membranoproliferativa segmental con engrosamiento de membrana basal (→) e incremento de matriz mesangial. (Imbibición en plástico, Movat 20 X). B- Modificaciones precoces en las glomerulonefritis membranosas. Se observan pies terminales fusionados (↑↑↑↑). En la luz capilar se destaca hernia del citoplasma de una célula endotelial con múltiples vesículas intracitoplasmáticas. (9.300 X). C- Glomerulonefritis Membranosa. Engrosamiento de la membrana basal con incipiente laminación (→). Célula endotelial (CE). Luz capilar (LC). Pies terminales fusionados (↑↑↑↑). (7.700 X).

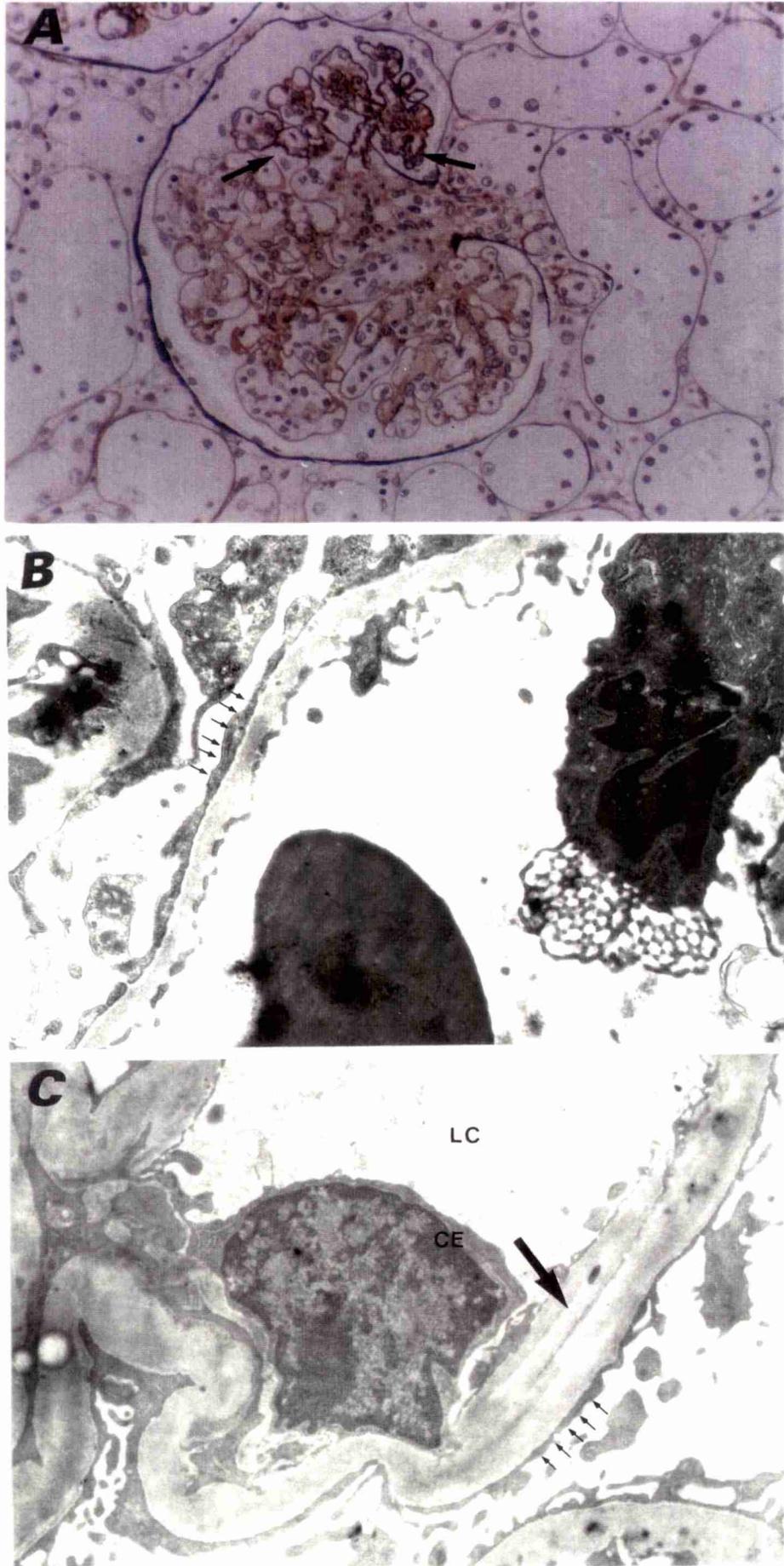
**Figura 8:** A- Glomérulo con leve incremento global de matriz mesangial y fibrosis de la cápsula de Bowman e infiltrado monomorfonuclear periglomerular focal. (H y E, 400 X). B- Leve fibrosis de la cápsula de Bowman rodeada por infiltrado monomorfonuclear periglomerular. (H y E, 250 X). C- Glomérulo con leve fibrosis de la cápsula de Bowman. (Tricrómica de Masson modificada por Goldner, 250 X).

**Figura 9:** A- Glomérulo con leve fibrosis de la cápsula de Bowman y amplio espacio de Bowman. Los lóbulos están pobremente delineados. Infiltrado intersticial monomorfonuclear. (H y E, 100 X). B- Glomérulo con leve formación de semilunas (→). Abundante infiltrado intersticial monomorfonuclear. (H y E, 100 X).

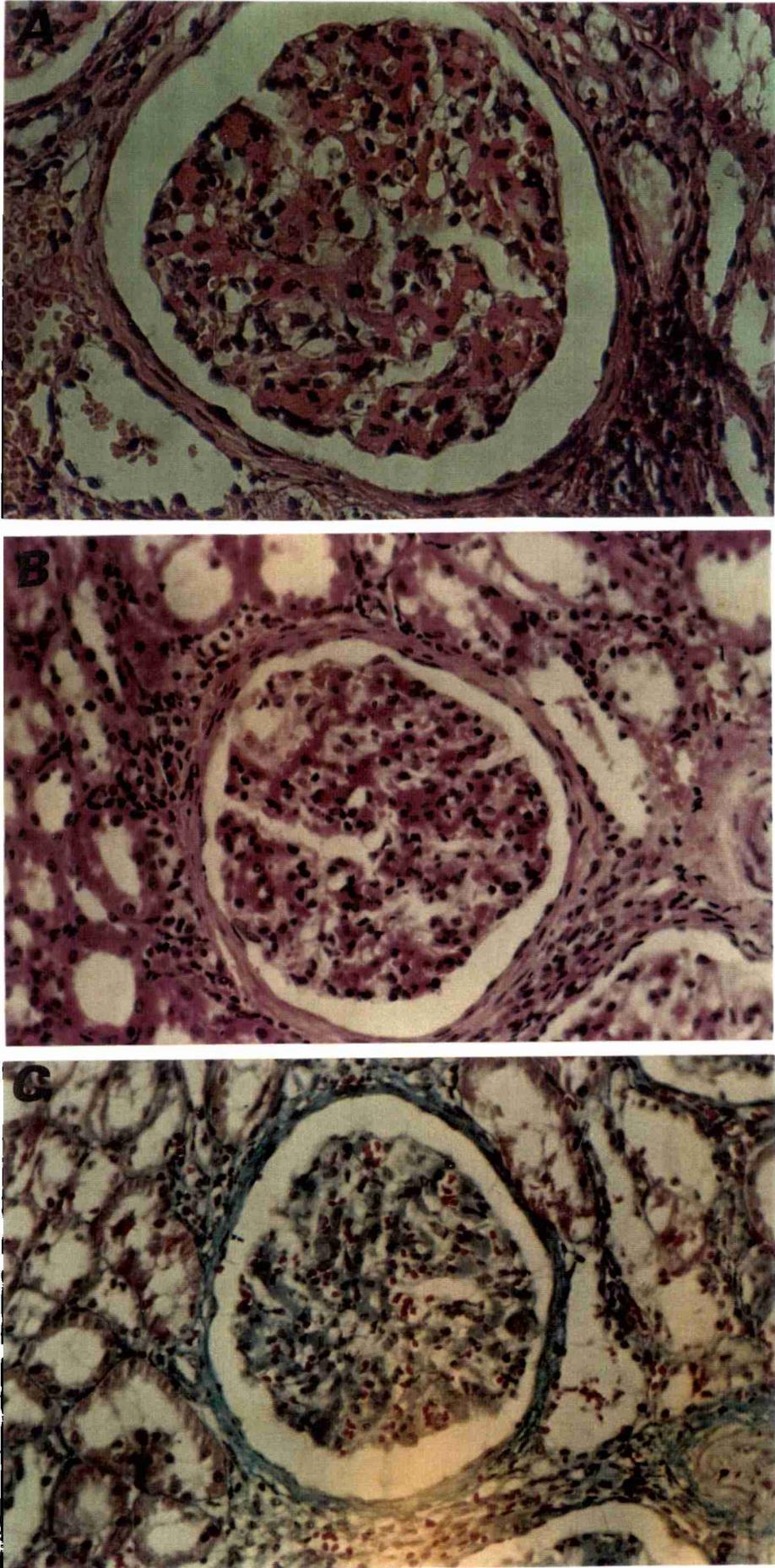
**Figura 6**

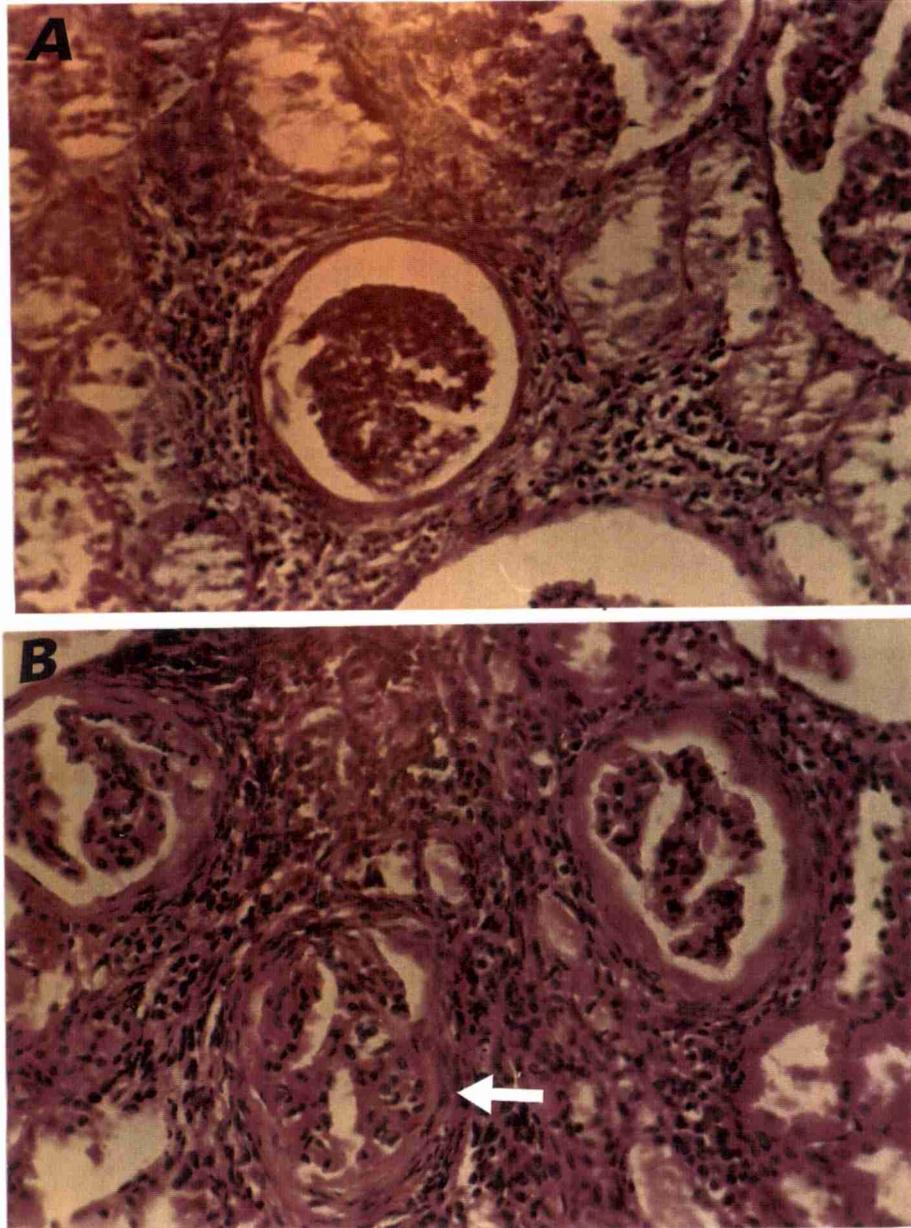


**Figura 7**



**Figura 8**



**Figura 9****4-2 Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de necropsia.**

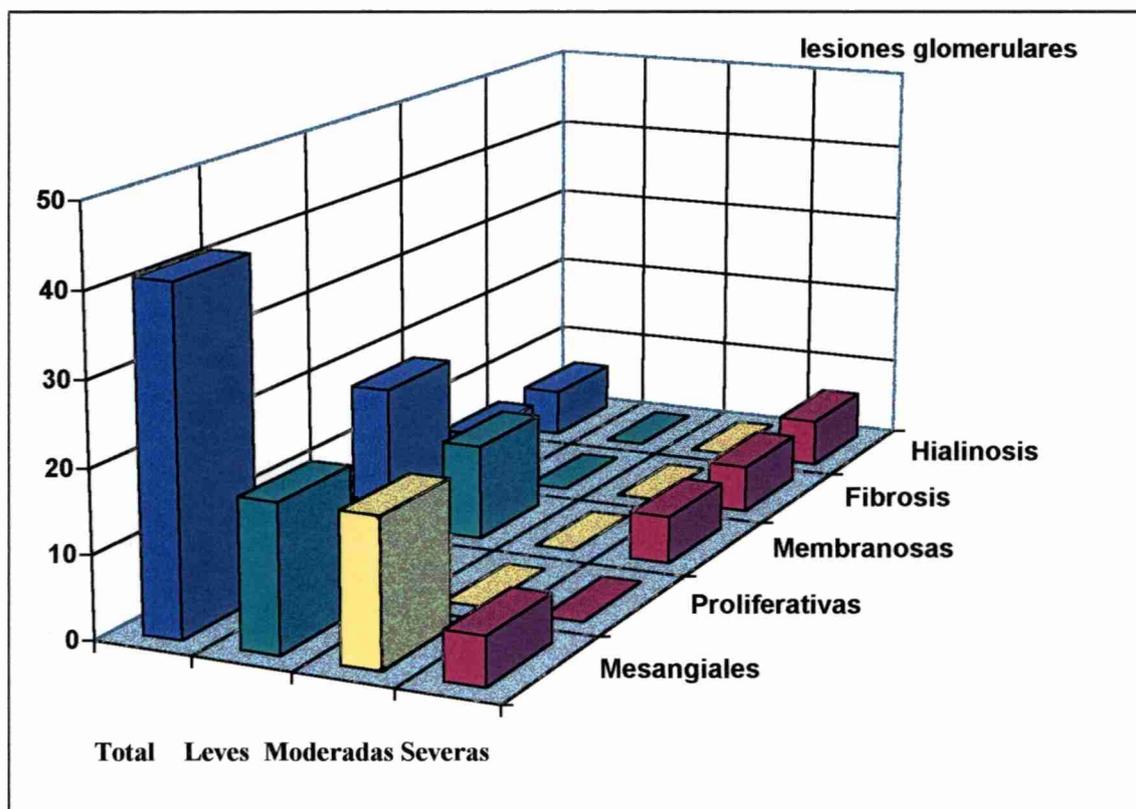
En el material de necropsia las lesiones glomerulares fueron, en su mayoría, difusas y globales, a pesar de que en algunos casos la afección tomó una distribución focal y segmental. En general, se clasificaron, al igual que en las biopsias, en lesiones mesangiales, proliferativas, membranosas y fibróticas, agregándose las lesiones caracterizadas por hialinosis glomerular.

En la tabla 5 y en la figura 10 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones glomerulares.

**Tabla 5:** Estudio histopatológico de las lesiones glomerulares en el material de necropsia y severidad de las mismas (n=17).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Mesangiales	3	17,6	+
	3	17,6	++
	1	5,8	+++
Proliferativas	1	5,8	+
Membranosas	2	11,7	+
	1	5,8	+++
Fibrosis	1	5,8	+++
Hialinosis	1	5,8	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 10:** Representación gráfica de las lesiones glomerulares y su severidad en el material de necropsia.

Entre las lesiones glomerulares tuvieron mayor incidencia las lesiones caracterizadas por incremento de la matriz mesangial. Además, se observaron frecuentemente edema y disminución de las luces capilares con una distribución difusa y

global. En algunos especímenes se destacó la proliferación celular asociada con el aumento de matriz mesangial de la zona hiliar del glomérulo, determinando una distribución segmental (Figura 11, A). Estas lesiones se hacen más evidentes mediante la tinción del P.A.S y el azul de toluidina.

Las lesiones proliferativas estuvieron presentes en menor porcentaje. En algunos casos, las lesiones se caracterizaron por la presencia de numerosos granulocitos, particularmente neutrófilos, edema y proliferación de las células mesangiales, con disminución de la luz capilar. En otros especímenes pudieron observarse oclusión de la luz y trombosis capilar. A veces las células epiteliales también se mostraron edematizadas con proliferación segmental en forma estratificada formando semilunas, que abarcaban un sector de la cápsula y el espacio subcapsular de Bowman. Por otro lado, frecuentemente se notó la desaparición de las lobulaciones del ovilleo glomerular. Por lo general, estas lesiones estuvieron asociadas a procesos inflamatorios del intersticio (Figura 11, B y C, y Figura 12, A y B).

Las lesiones que se caracterizaron por alteración de membrana tuvieron una distribución global-segmental. Las mismas presentaron engrosamiento difuso de membrana, duplicación y frecuentes ondulaciones. Estas lesiones fueron constatadas con las técnicas de impregnación con sales de plata para cortes semifinos de tejidos embebidos en plástico (MOVAT). No se observó interposición de matriz mesangial entre membrana basal y células endoteliales (Figura 12, C).

La fibrosis y hialinización de los glomérulos estuvieron presentes en menor proporción. En la fibrosis del ovilleo glomerular, éste se presentó notablemente hipocelular. La fibrosis periglomerular que incluía la capa parietal de la cápsula de Bowman se relacionó con fibrosis intersticial, infiltrado intersticial crónico y atrofia y dilatación tubular. Las lesiones se corroboraron con la coloración tricrómica de Masson modificada por Goldner, P.A.S y las técnicas de impregnación con sales de plata (Figura 13, A, B y C).

La hialinización glomerular se evidenció con mayor frecuencia en los glomérulos yuxtamedulares; no obstante otros glomérulos presentaron lesiones semejantes en diferentes sectores de la corteza. Esta lesión se caracterizó porque los capilares glomerulares se encontraron colapsados y la membrana basal arrugada, acompañada por engrosamiento y/o

duplicación. Los núcleos de las células endoteliales y del mesangio desaparecieron y el glomérulo se tornó acelular. Las membranas basales permanecieron reconocibles y bien marcadas con las tinciones tricrómica de Masson modificada por Goldner, P.A.S y MOVAT y el espacio de Bowman estuvo obliterado parcial o totalmente (Figura 13, C y Figura 14, A).

En esta especie no fue posible demostrar la presencia de Ig A, Ig G e Ig M mediante la utilización de anticuerpos de conejo anti-humanos.

---

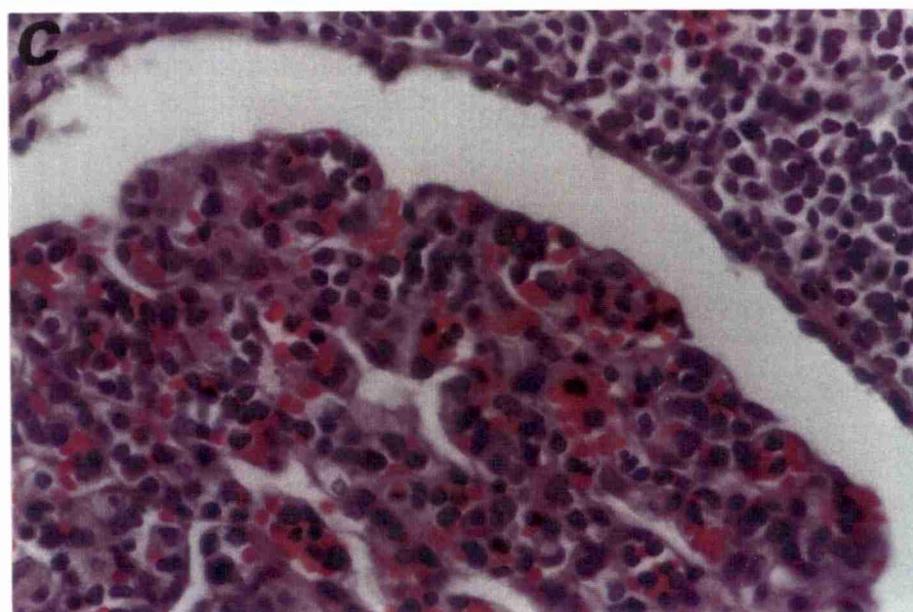
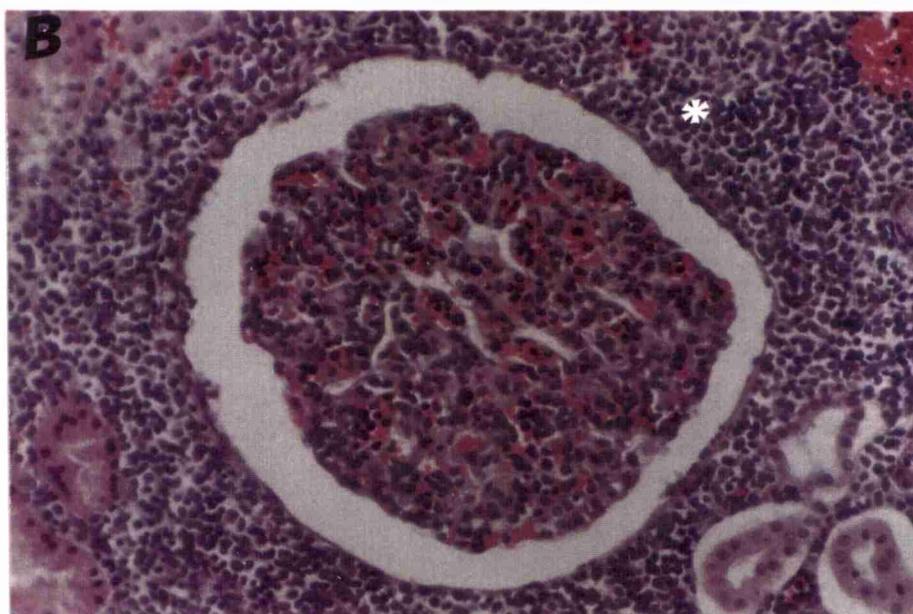
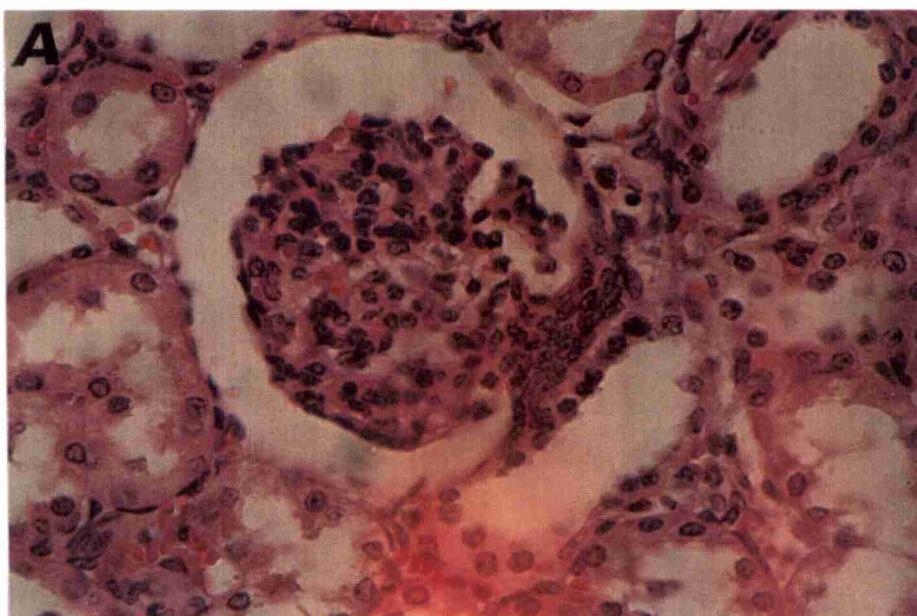
Figura 11: A- Glomerulonefritis mesangioproliferativa hiliar. (H y E, 250 X). B- Glomerulonefritis proliferativa difusa-global. Glomérulo con incremento celular global, lóbulos y luces capilares pobremente delineados y amplio espacio de Bowman. Abundante infiltrado intersticial (\*). (P.A.S, 250 X). C- Mayor detalle de A. (P.A.S, 1000 X).

Figura 12: A- Glomerulonefritis proliferativa. La mayoría de las luces capilares se encuentran ocupadas por leucocitos monomorfonucleares. (Sección semifina, azul de toluidina, 400 X). B- Glomerulonefritis proliferativa. Obliteración de la luces capilares debido a la presencia de leucocitos monomorfonucleares y proliferación de las células endoteliales. (Sección semifina, Movat, 400 X). C- Glomerulonefritis membranoproliferativa segmental con duplicación y engrosamiento de las membranas basales glomerulares (→). (Sección semifina, Movat, 20 X).

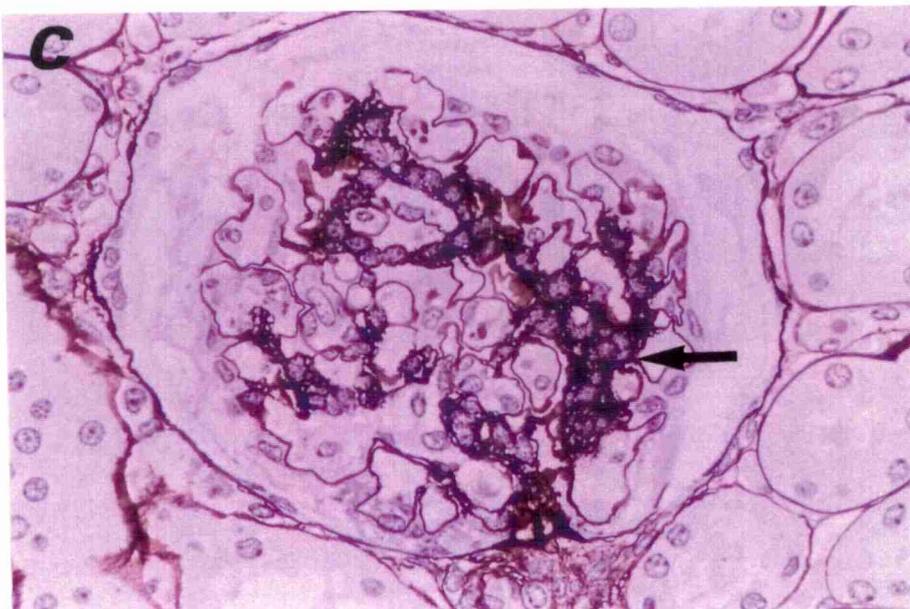
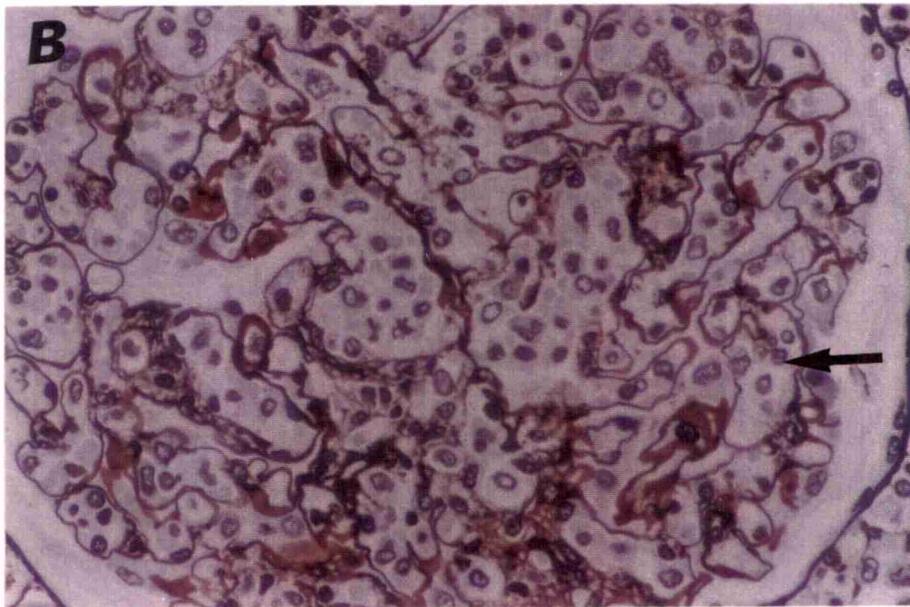
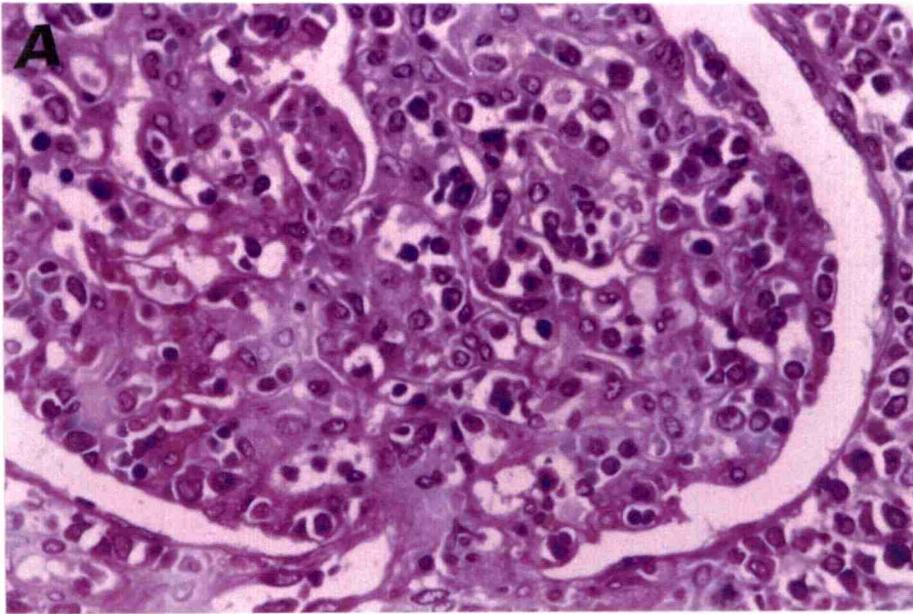
Figura 13: A- Fibrosis glomerular intra y extracapilar global. Ovillo glomerular totalmente fibrótico y acelular con capilares obliterados, adherido a la cápsula de Bowman. Semiluna fibrosa y espacio de Bowman focalmente preservado. (Tricrómica de Masson modificada por Goldner, 200 X). B- Hialinosis glomerular. Ovillo glomerular P.A.S positivo, colapsado y acelular con espacio de Bowman ocupado por material hialino. (P.A.S, 200 X). C- Hialinización glomerular focal. Glomérulos totalmente hialinizados (→) asociados a fibrosis del intersticio y dilatación tubular. (Tricrómica de Masson modificada por Goldner, 100X).

Figura 14 A- Hialinización global progresiva de glomérulos con luces capilares y espacio de Bowman obliterado (→). (Tricrómica de Masson modificada por Goldner, 100 X).

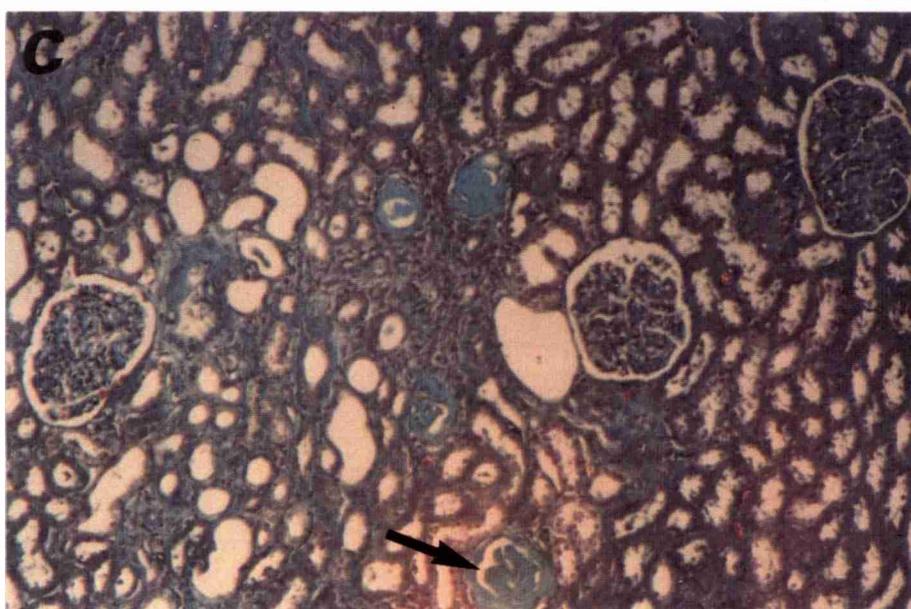
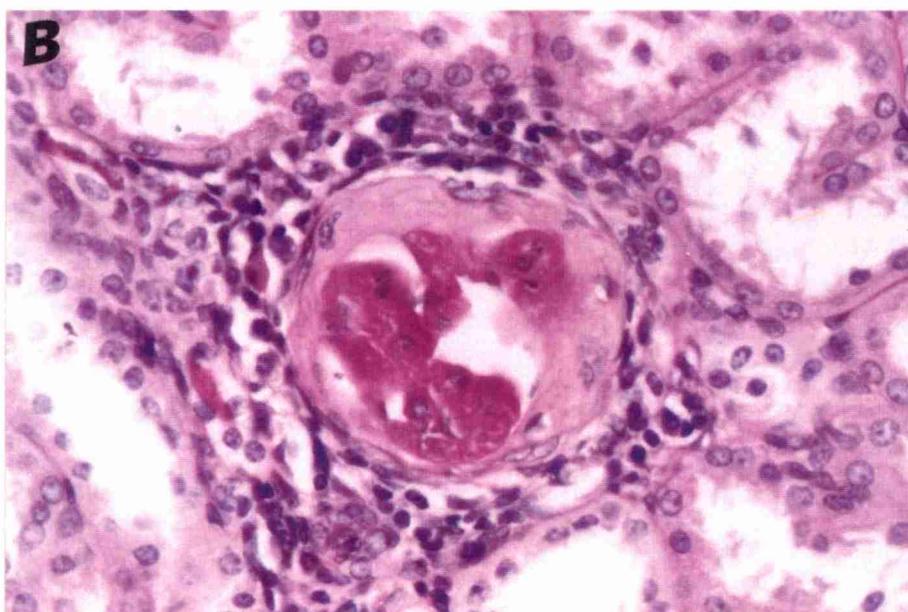
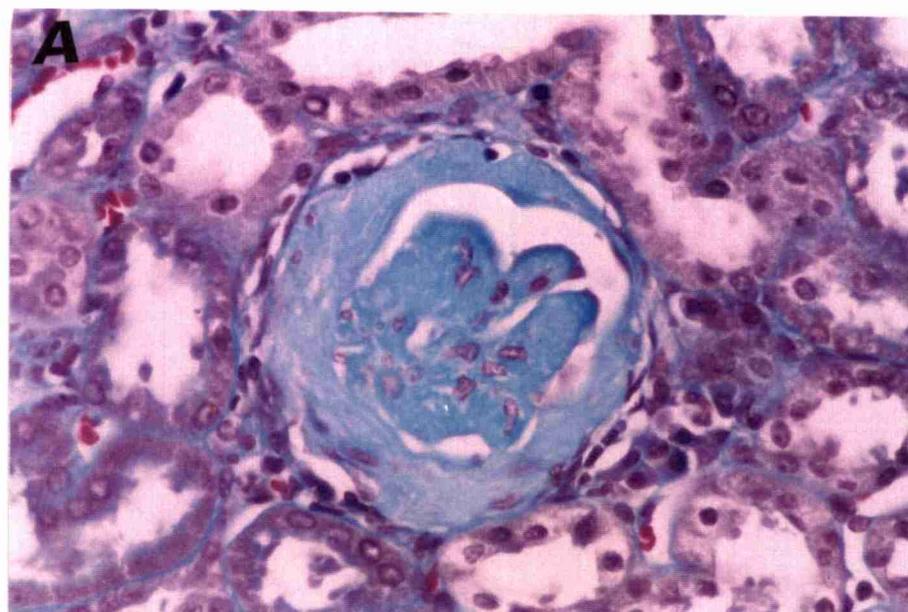
**Figura 11**



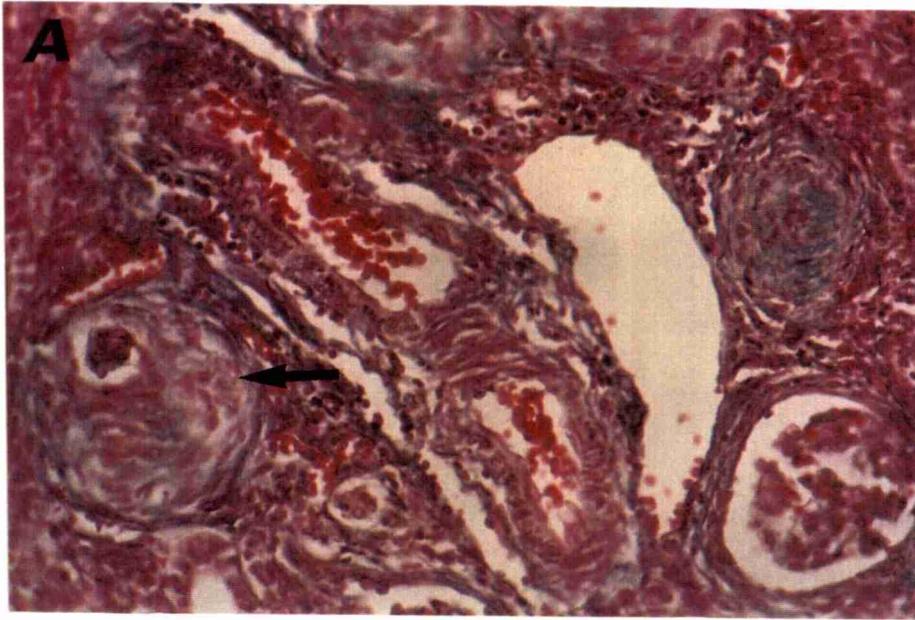
**Figura 12**



**Figura 13**



**Figura 14**



### 4-3 Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material de biopsia.

Tanto en biopsias como en material de necropsia, las alteraciones tubulares se clasificaron en degeneración celular del epitelio tubular, atrofia, necrosis, dilatación tubular y presencia de cilindros hialinos en la luz.

Para determinar la severidad de las lesiones tubulares se tuvo en cuenta, principalmente, la extensión de las mismas, considerándose a las presentaciones focales como lesiones leves (+) y a las presentaciones difusas o que abarcaban amplios sectores de la biopsias como lesiones severas (+++).

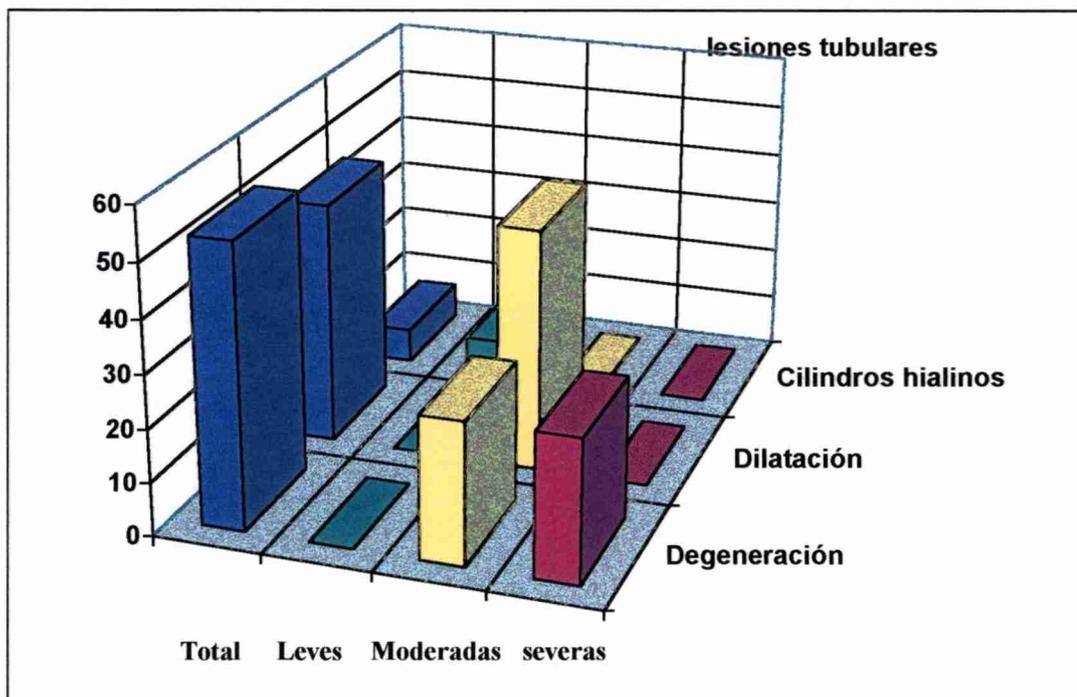
En el material de biopsia las alteraciones tubulares más sobresalientes fueron la degeneración del epitelio tubular, la dilatación tubular y la presencia de cilindros hialinos.

En la tabla 6 y en la figura 15 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones tubulares, el número de animales afectados en los que se encontró cada lesión y la severidad de las mismas.

**Tabla 6:** Estudio histopatológico de las lesiones tubulares en el material de biopsia y severidad de las mismas (n=15).

Tipos de lesiones	Animales c/ lesiones	Porcentaje	Severidad
Degeneración	4	26,6	++
	4	26,6	+++
Dilatación	7	46	++
Cilindros hialinos	1	6,6	+

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 15:** Representación gráfica de las lesiones tubulares y su severidad en el material de biopsia.

En la degeneración celular las luces tubulares aparecieron reducidas en tamaño y las células que conformaban el epitelio tubular se mostraron tumefactas, muchas de ellas con fenómenos de degeneración hidrópica y otras con incremento de la acidofilia citoplasmática.

La dilatación de los túbulos fue caracterizada por el aumento del diámetro externo de los túbulos con células epiteliales normales; otras veces las células epiteliales mostraron disminución de su altura y fue común la presencia de cilindros hialinos en su luz.

En general, las lesiones tubulares en biopsias fueron consideradas en el rango de moderadas.

#### **4-4 Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material de necropsia.**

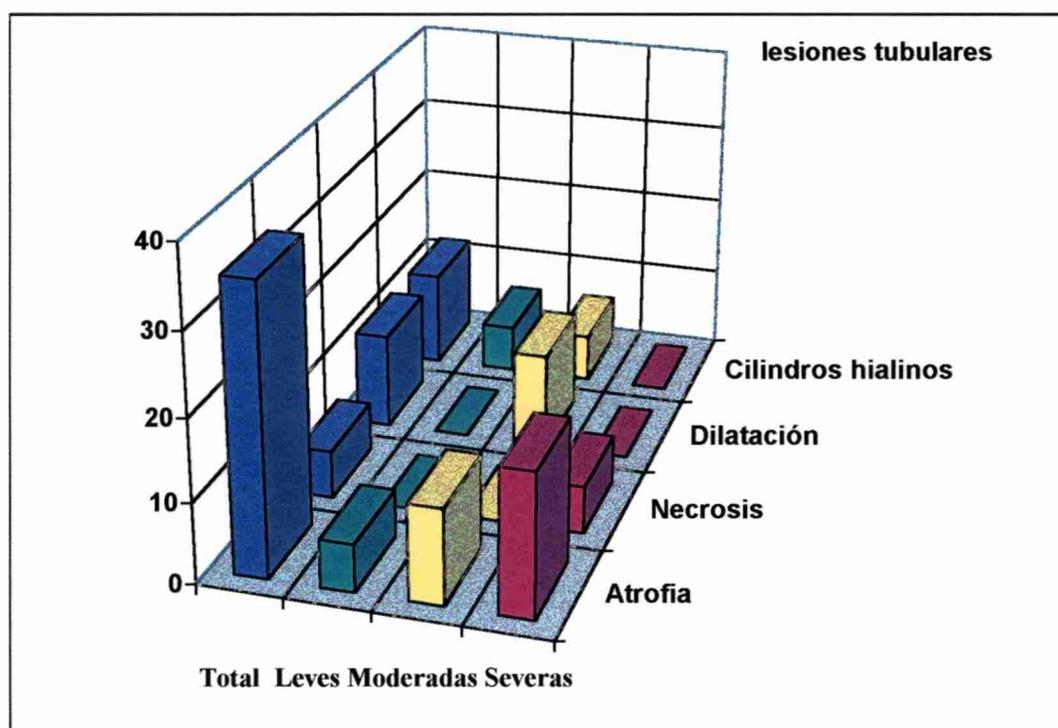
Las lesiones tubulares encontradas en el material de necropsia fueron atrofia, necrosis, dilatación y la presencia de moldes hialinos. La lesión predominante fue la atrofia.

En la tabla 7 y en la figura 16 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones tubulares.

**Tabla 7:** Estudio histopatológico de las lesiones tubulares en el material de necropsia y severidad de las mismas (n=17).

Tipos de lesiones	Animales c/ lesiones	Porcentaje	Severidad
Atrofia	1	5,8	+
	2	11,7	++
	3	17,6	+++
Necrosis	1	5,8	+++
Dilatación	2	11,7	++
Cilindros hialinos	1	5,8	+
	1	5,8	++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 16:** Representación gráfica de las lesiones tubulares y su severidad en el material de necropsia.

En la atrofia tubular, la altura del epitelio estaba reducida, los núcleos aparecieron más cercanos y la luz tubular más amplia debido a la disminución de la altura de las células del epitelio tubular. Dichos túbulos estaban separados unos de otros por tejido conectivo intersticial.

En la degeneración celular las luces tubulares aparecieron reducidas en tamaño y las células constituyentes del epitelio tubular se mostraron tumefactas.

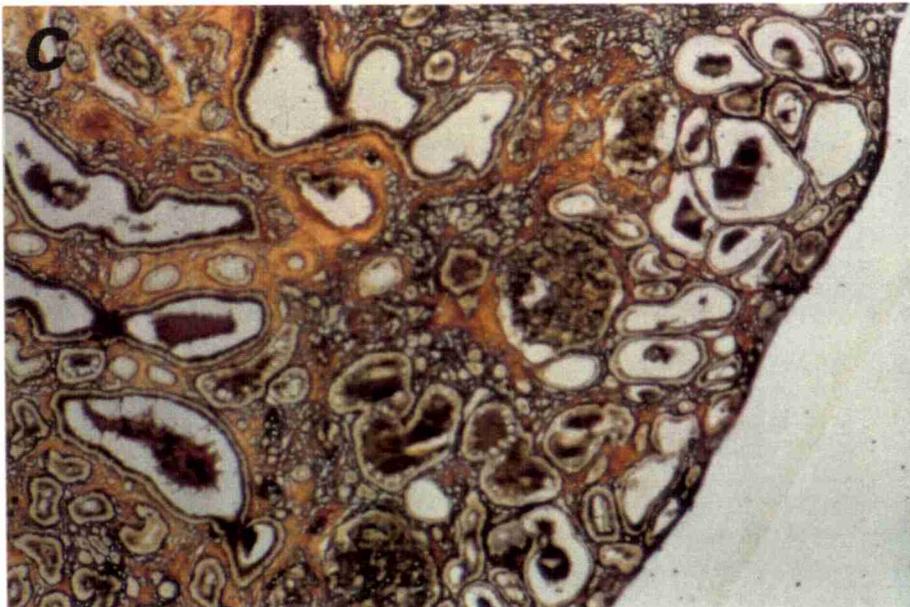
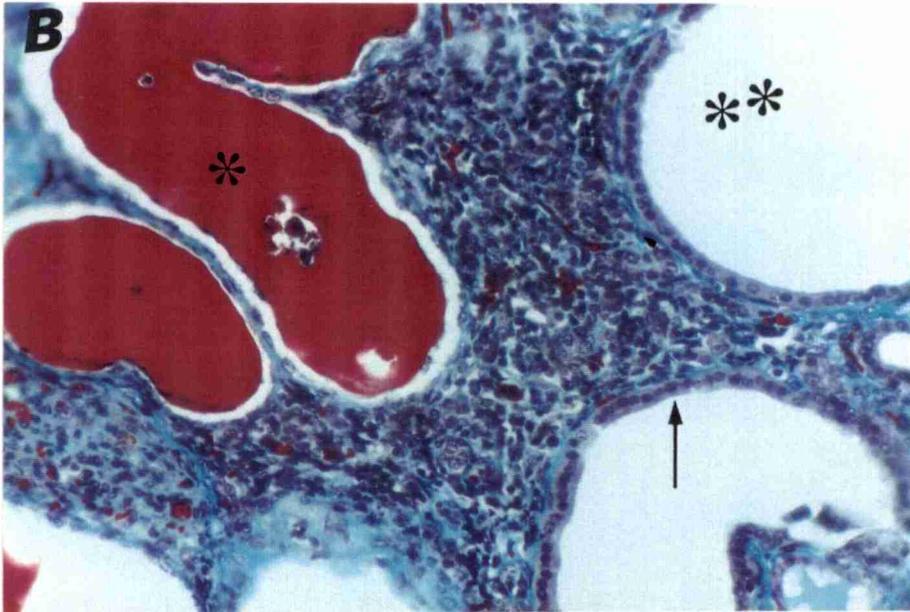
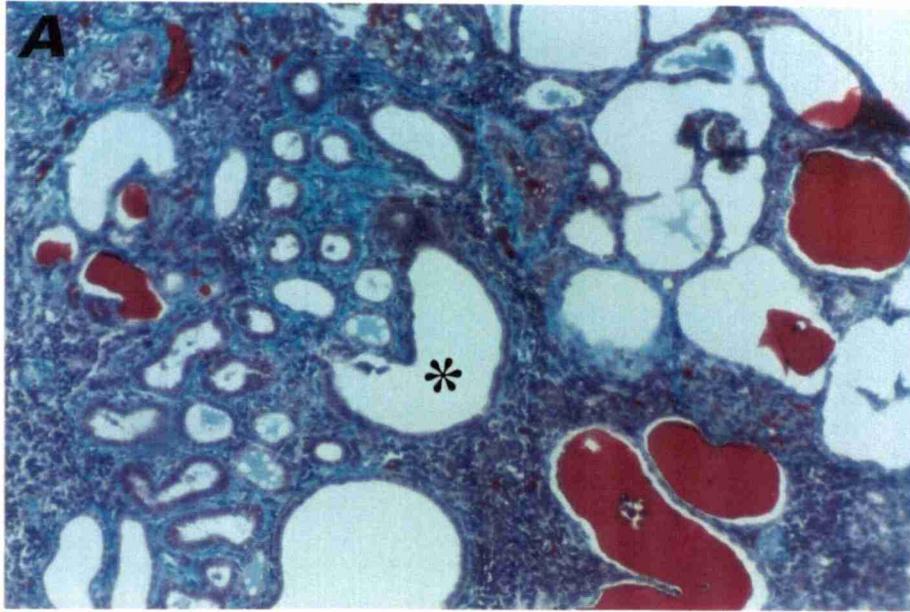
La necrosis tubular se caracterizó por una marcada acidofilia citoplasmática y núcleos con diferentes grados de alteración, tales como picnosis, cariorrhexis y cariolisis. A veces se observó el desprendimiento del epitelio necrótico aunque la membrana basal permaneció intacta.

En la dilatación tubular las estructuras afectadas fueron, principalmente, los túbulos proximales y colectores. Se caracterizó por el aumento del diámetro externo de los túbulos con células del epitelio normal. Cuando muchos nefrones vecinos se encontraron involucrados en este estadio, formaron la llamada imagen pseudotiroidea, caracterizada por túbulos dilatados con contenido de material eosinófilo (cilindros hialinos) en su interior. En algunos especímenes se observó la presencia de sales de calcio en la luz de los túbulos colectores (Figura 17, A, B y C).

---

Figura 17: A- Nefritis intersticial crónica con infiltrado intersticial monomorfonuclear, fibrosis intersticial y dilatación tubular (\*). (Tricrómica de Masson modificada por Goldner, 100 X). B- Nefritis intersticial crónica con infiltrado celular monomorfonuclear, cilindros hialinos (\*) y dilatación tubular (\*\*). Epitelio tubular normal (→). (Tricrómica de Masson modificada por Goldner 200 X). C- Imagen pseudotiroidea caracterizada por dilatación tubular y cilindros intratubulares. (Impregnación argéntica según Jones, 100 X).

**Figura 17**



#### 4-5 Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material de biopsia.

Las lesiones intersticiales observadas fueron fibrosis e infiltrado celular inflamatorio.

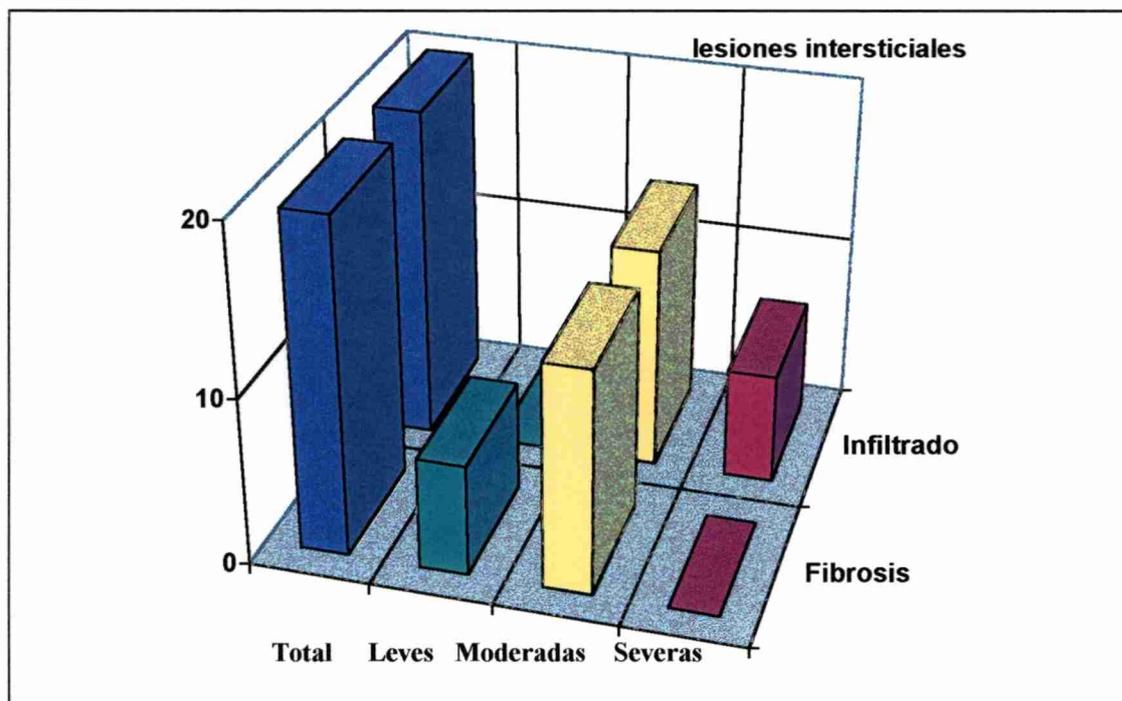
Para determinar la severidad de las lesiones intersticiales se consideraron, principalmente, la distribución y la extensión de las lesiones. Las presentaciones focales (lesiones intersticiales focales o periglomerulares) fueron consideradas lesiones leves (+), un mayor número de lesiones focales o lesiones focales mas amplias fueron consideradas moderadas (++) y las lesiones que tenían una distribución difusa o que abarcaban amplios sectores fueron consideradas severas (+++).

En la tabla 8 y en la figura 18 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones intersticiales.

**Tabla 8:** Estudio histopatológico de las lesiones intersticiales en el material de biopsia y severidad de las mismas (n=15).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Fibrosis	1	6,6	+
	2	13,3	++
Infiltrado	2	13,3	++
	1	6,6	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 18:** Representación gráfica de las lesiones intersticiales y su severidad en el material de biopsia.

En las biopsias, ambas lesiones estuvieron presentes en un 20% de los individuos. El proceso inflamatorio crónico se caracterizó, principalmente, por la presencia de linfocitos y plasmocitos, asociado, en la mayoría de los casos, a fibrosis del intersticio. Este proceso inflamatorio tuvo una distribución focal y periglomerular. La fibrosis intersticial fue de distribución focal, asociada a infiltrado inflamatorio; en muy pocos casos se observó fibrosis sin inflamación. Los procesos inflamatorios crónicos estuvieron asociados a daños tubulares y glomerulares.

#### **4-6 Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material de necropsia.**

Durante el examen macroscópico de los riñones se determinó la presencia de quistes corticales de diferentes tamaños en 2 especímenes. Los mismos presentaron contenido acuoso.

En el análisis microscópico de este material se evidenció que estos quistes estaban rodeados por un proceso inflamatorio crónico, caracterizado por la presencia de linfocitos y plasmocitos asociados a procesos de atrofia tubular.

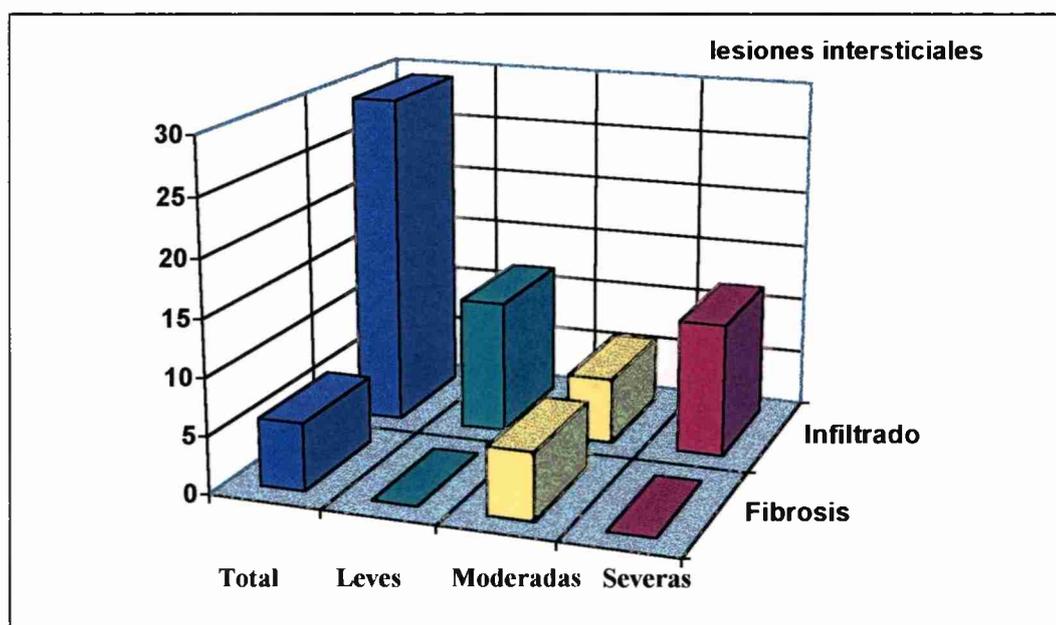
La fibrosis intersticial se presentó en menor proporción que el infiltrado intersticial. Esta lesión estuvo asociada con atrofia y dilatación tubular y con la presencia de cilindros hialinos. Su distribución fue principalmente focal y tuvo características moderadas en el 100% de los casos.

En la tabla 9 y en la figura 19 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones intersticiales.

**Tabla 9:** Estudio histopatológico de las lesiones intersticiales en el material de necropsia y severidad de las mismas (n=17).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Fibrosis	1	5,8	++
Infiltrado	2	11,7	+
	1	5,8	++
	2	11,7	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 19:** Representación gráfica de las lesiones intersticiales y su severidad en el material de necropsia.

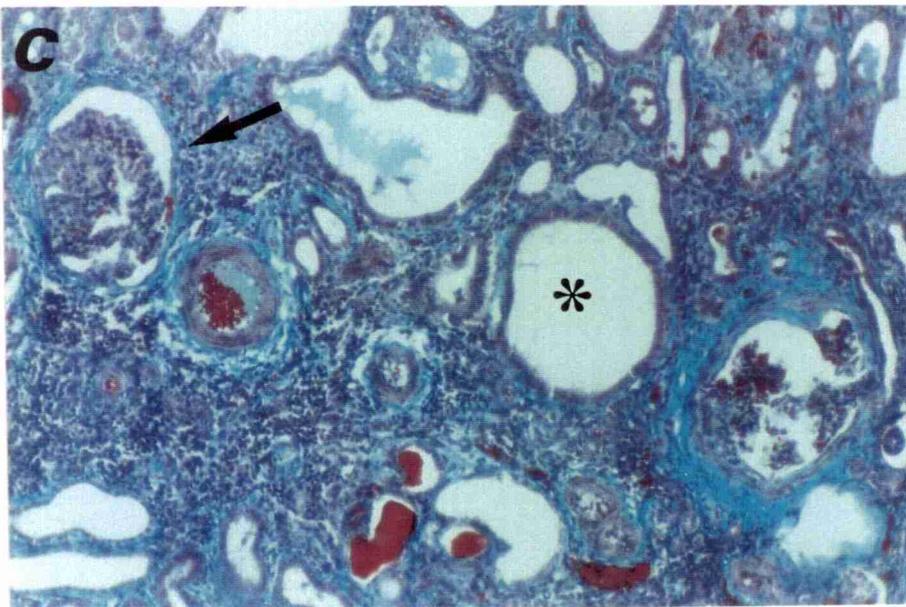
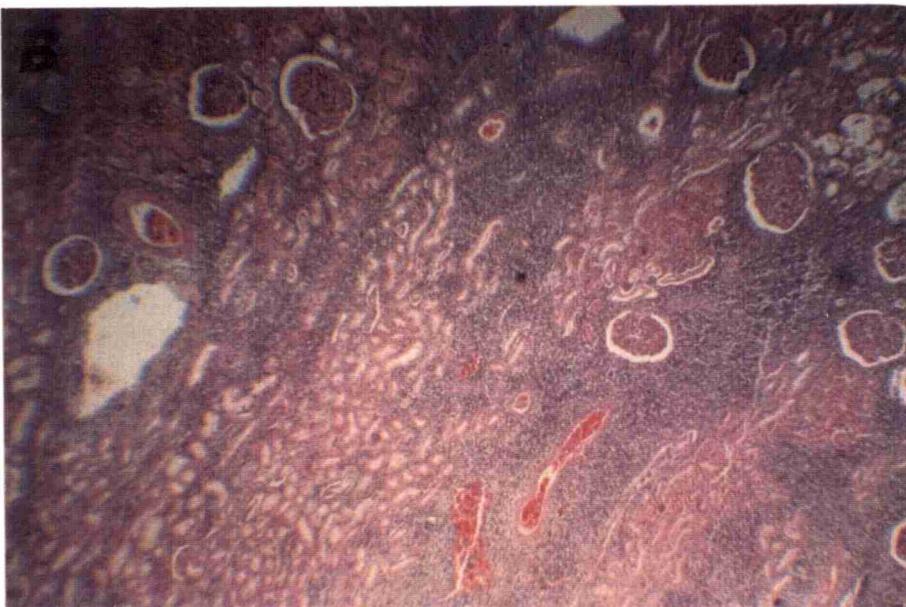
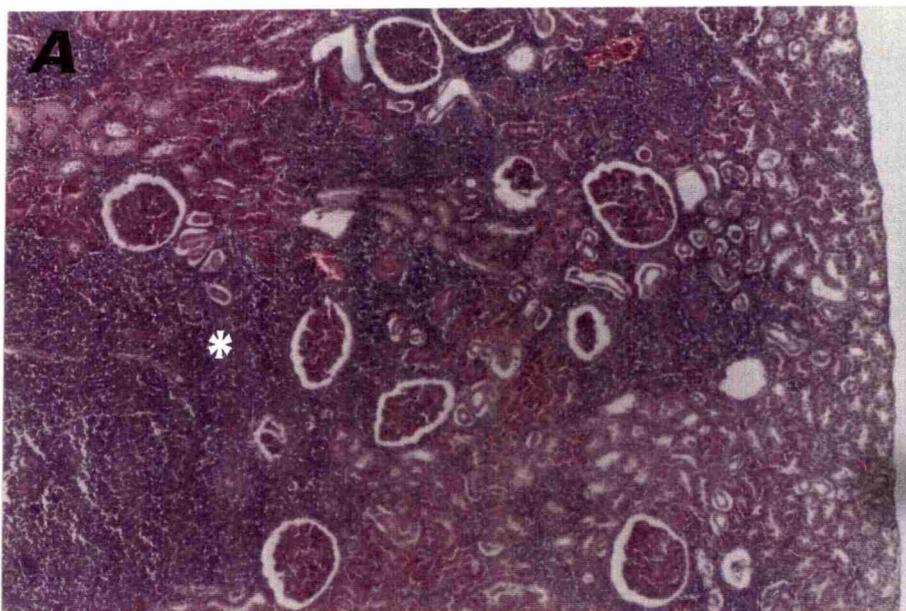
En las secciones de tejido renal que presentaron nefritis y pielonefritis, el exudado inflamatorio comprometió, principalmente, el intersticio y la pelvis renal, extendiéndose también a túbulo y glomérulos (Figura 20, A, B y C).

La diferencia entre el infiltrado inflamatorio agudo y el crónico estuvo basada en el componente celular predominante. En las nefritis y pielonefritis agudas se observó un predominio de leucocitos polimorfonucleares, en tanto que en las nefritis y pielonefritis crónicas el infiltrado estuvo compuesto por linfocitos y plasmocitos. En ambas, la distribución fue predominantemente focal y en pocas ocasiones se evidenció distribución difusa. Este infiltrado estuvo asociado a lesiones tubulares como necrosis y dilatación tubular y a lesiones glomerulares y tuvo características leves en el 40 %, moderadas en el 20 % y severas en el 40 % de los cinco casos estudiados.

---

Figura 20: A- Nefritis intersticial crónica difusa. Infiltrado intersticial monomorfonuclear (\*). (P.A.S, 100 X). B- Nefritis intersticial crónica, caracterizada por infiltrado linfoplasmocitario que invade la corteza renal a partir de la pelvis renal. (H y E, 50 X). C- Nefritis intersticial crónica con infiltrado celular mononuclear, fibrosis intersticial y periglomerular (→) y dilatación tubular (\*). (Tricrómica de Masson modificada por Goldner, 100 X).

**Figura 20**



#### 4-7 Análisis microbiológico en el material de necropsia.

Con la finalidad de evaluar la presencia de agentes infecciosos en las vías urinarias, en el momento de realizar la necropsia se realizó la toma de muestras mediante hisopos estériles de pelvis renal y vejiga urinaria. En la tabla 10 se consignan los resultados del estudio bacteriológico.

**Tabla 10:** Resultados del estudio bacteriológico en órganos que conforman el aparato urinario en el material de necropsia (n=17).

Tipo de bacterias	Cantidad de animales	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	3	17,6
<i>Proteus sp.</i>	2	11,7
<i>Streptococcus sp.</i>	1	5,8

El análisis microbiológico demostró que el 35,1 % del total de los animales en que se realizó la necropsia, arrojó resultados positivos a distintos tipos de microorganismos.

***Saimiri boliviensis*****1- Análisis de sangre.****1-1 Análisis bioquímico de sangre:**

Los resultados de los análisis de sangre y orina en *Saimiri boliviensis* fueron evaluados de la misma forma que en la especie *Cebus apella*.

En la tabla 11 están registrados los valores estadísticos de los diferentes parámetros estudiados. Los mismos fueron evaluados en la totalidad de los animales pertenecientes al grupo 1.

**Tabla 11: Parámetros sanguíneos en la especie *Saimiri boliviensis* (n=20).**

Variable	$\bar{x}$	ic <95	ic >95	d. e.
hematócrito %	44,05	42,47	45,63	3,38
hemoglobina g/dl	14,32	13,62	15,01	1,49
c.h.c.m. %	32,65	31,76	33,54	1,89
leucocitos 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	8,815	6,977	10,653	3,927
proteínas totales g/dl	6,69	6,37	7,02	0,68
albúminas g/dl	4,45	4,18	4,71	0,56
globulinas g/dl	2,25	1,93	2,57	0,69
relación a/g	2,18	1,81	2,55	0,79
urea g/l *	0,92	0,76	1,07	0,32
b.u.n. g/l *	0,43	0,37	0,51	0,15
creatinina mg/l *	8,08	7,00	9,15	2,30
ácido úrico mg/l	9,77	7,77	11,76	4,25
fósforo mg/dl	3,60	2,83	4,37	1,64
colesterol total g/l	2,33	2,09	2,57	0,51
calcio mg/l	3,59	3,35	3,83	0,51

Media ( $\bar{x}$ ), intervalo de confianza menor a 95 % (ic <95) y superior a 95 % (ic >95), desvío estándar (d. e.), concentración de hemoglobina corpuscular media (c.h.c.m.), relación albúminas/globulinas (relación a/g), nitrógeno de urea en sangre (b.u.n.).

\*La media de los valores de urea, b.u.n. y creatinina se presentó elevada debido a que, en la población total, se incluyeron los datos pertenecientes a tres animales con valores extremos.

Los valores sanguíneos en la especie *Saimiri boliviensis* permanecieron dentro del rango normal para la especie, con excepción de tres animales pertenecientes al grupo experimental, a los que se les detectaron valores elevados de urea y creatinina sérica. La concentración de estos elementos estuvo por encima de 1,80 g/l y 15 mg/l respectivamente.

## **1-2 Estudios complementarios para la determinación de parásitos hemáticos.**

**Frotis sanguíneos y gota gruesa:**

En la lectura de los frotis sanguíneos de los 20 *Saimiri boliviensis* utilizados en la experiencia, el 25 % de los casos fueron positivos a plasmodios y negativos para microfilarias y tripanosomas. La lectura de gota gruesa de los mismos animales arrojó resultados negativos en el 100 % de los casos para la determinación de microfilarias, tripanosomas y plasmodios.

**Estudios serológicos:**

La lectura de la técnica de hemoaglutinación indirecta (HAI) realizada con el suero sanguíneo de los 20 animales para la detección de anticuerpos contra antígenos del *Toxoplasma gondii* y del *Tripanosoma cruzi*, mostró resultados negativos en el 100% de los sueros sanguíneos pertenecientes a estos animales.

## **2- Análisis de orina.**

### **2-1 Análisis bioquímico de orina:**

El volumen de orina recolectado por individuo fue, en promedio, 2,5 cm<sup>3</sup>.

Los resultados del análisis de orina tomados mediante tiras reactivas fueron, en promedio, los siguientes : proteínas 35,00 mg/dl, pH 6,02, y eritrocitos 126,36 u/μl. Las tiras reactivas mostraron resultados negativos a leucocitos, nitritos, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno y bilirrubina.

En la tabla 12 están registrados los valores estadísticos de los diferentes parámetros estudiados.

**Tabla 12:** Parámetros del análisis de orina evaluados mediante tiras reactivas en *Saimiri boliviensis* (n=20).

Variable	n	$\bar{x}$	ic <95	ic >95	d. e.
pH	20	6,02	5,56	6,48	0,99
proteínas mg/dl	14*	35,00	24,19	45,80	18,70
eritrocitos u/ $\mu$ l	11**	126,36	46,23	206,49	119,27

Número de muestras (n), media ( $\bar{x}$ ), intervalo de confianza inferior a 95 % (ic <95) y superior a 95 % (ic >95), desvío estándar (d. e.).

\* Las muestras de orina de seis animales mostraron resultados negativos para la determinación de proteína en orina. La media de los valores de proteína corresponde a catorce muestras.

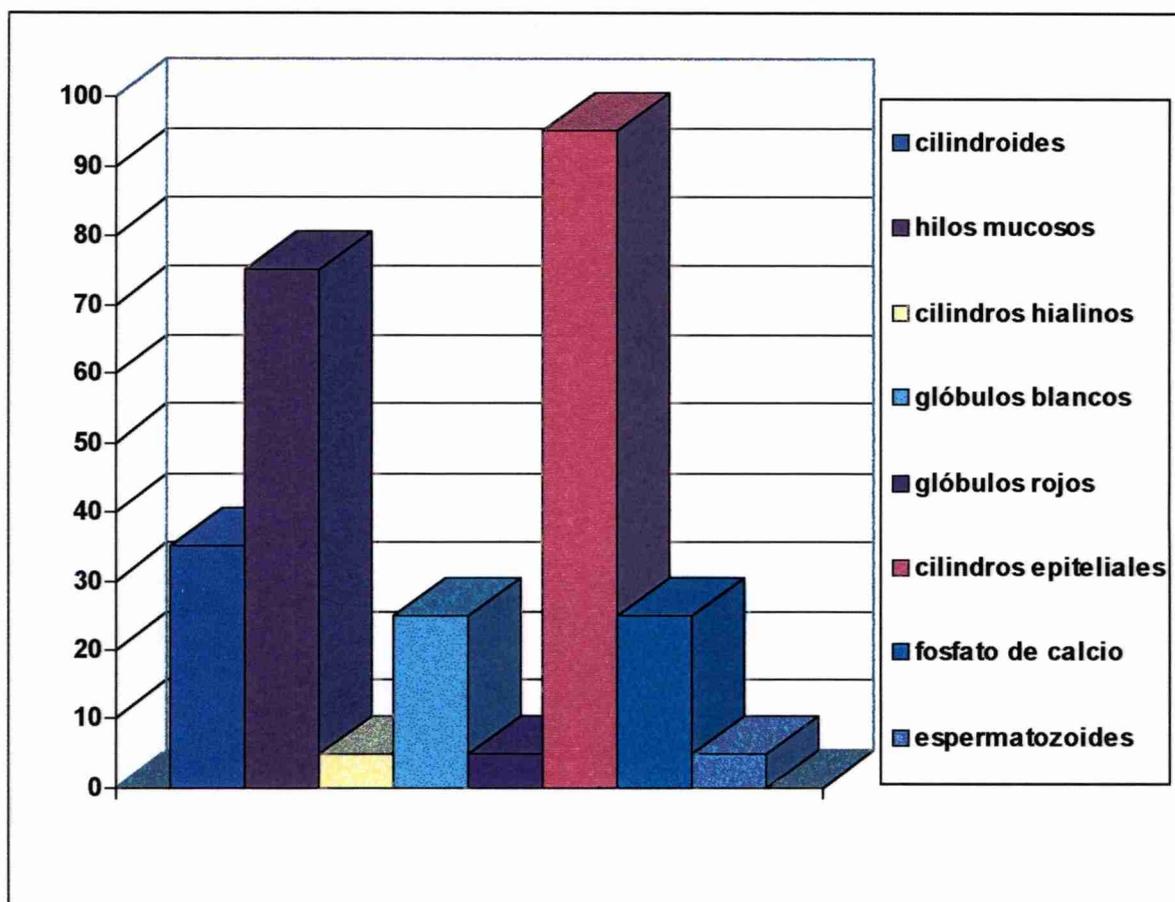
\*\* La media relacionada con la cantidad de eritrocitos en orina se obtuvo sobre un total de 11 muestras; en las nueve restantes no se determinó su presencia.

**2-1 Análisis del sedimento urinario:** los elementos del sedimento urinario fueron clasificados de acuerdo con su presencia por campo de mayor aumento en : negativo (-), escaso (+), regular (++) y abundante (+++).

En la tabla 13 y en la figura 24 están registrados los diferentes tipos de sedimentos observados. No se determinó la presencia de cilindros hemáticos, cilindros granulados, piocitos, parásitos, uratos, ácido úrico, fosfatos amorfos y carbonato de calcio.

**Tabla 13:** Tipo, porcentaje de animales y presencia de los siguientes sedimentos urinarios.

Sedimento	Porcentaje	Presencia
cilindroides	35	++
hilos mucosos	75	++
cilindros hialinos	5	+
glóbulos blancos	25	++
glóbulos rojos	5	+
cilindros epiteliales	95	+++
fosfato de calcio	25	++
espermatozoides	5	+++



**Figura 24:** Representación gráfica del porcentaje de animales y del tipo de sedimento urinario.

### 3- Evaluación de la biopsia renal:

Las biopsias renales permitieron obtener cilindros de tejido que variaron entre 4 y 12 mm de largo x 1 mm de espesor. Cada biopsia en la especie *Saimiri boliviensis* permitió obtener, como mínimo, 6 glomérulos y, como máximo 19, con un promedio de 10 glomérulos.

### 4- Estudio histológico de biopsias y de material de necropsia.

En el estudio histopatológico, de acuerdo con el esquema citado en materiales y métodos para ambos grupos, se tuvieron en cuenta las siguientes lesiones: lesiones glomerulares, lesiones tubulares, lesiones intersticiales y lesiones vasculares.

Las alteraciones fueron agrupadas teniendo en cuenta un criterio descriptivo y se clasificaron según el componente histológico predominante.

Para determinar la severidad de las lesiones renales se tomó en cuenta una escala de valores de tipo subjetiva, graduando las mismas en : leves (+), moderadas (++) y severas (+++).

#### 4-1 Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de biopsia

Las lesiones glomerulares fueron agrupadas según el componente histológico involucrado y de acuerdo con la distribución de los glomérulos afectados en la corteza renal y su extensión en el glomérulo individual.

En el material de biopsia las lesiones se clasificaron en a) mesangiales, b) proliferativas, d) membranosas, e) fibrosis y f) hialinosis glomerular.

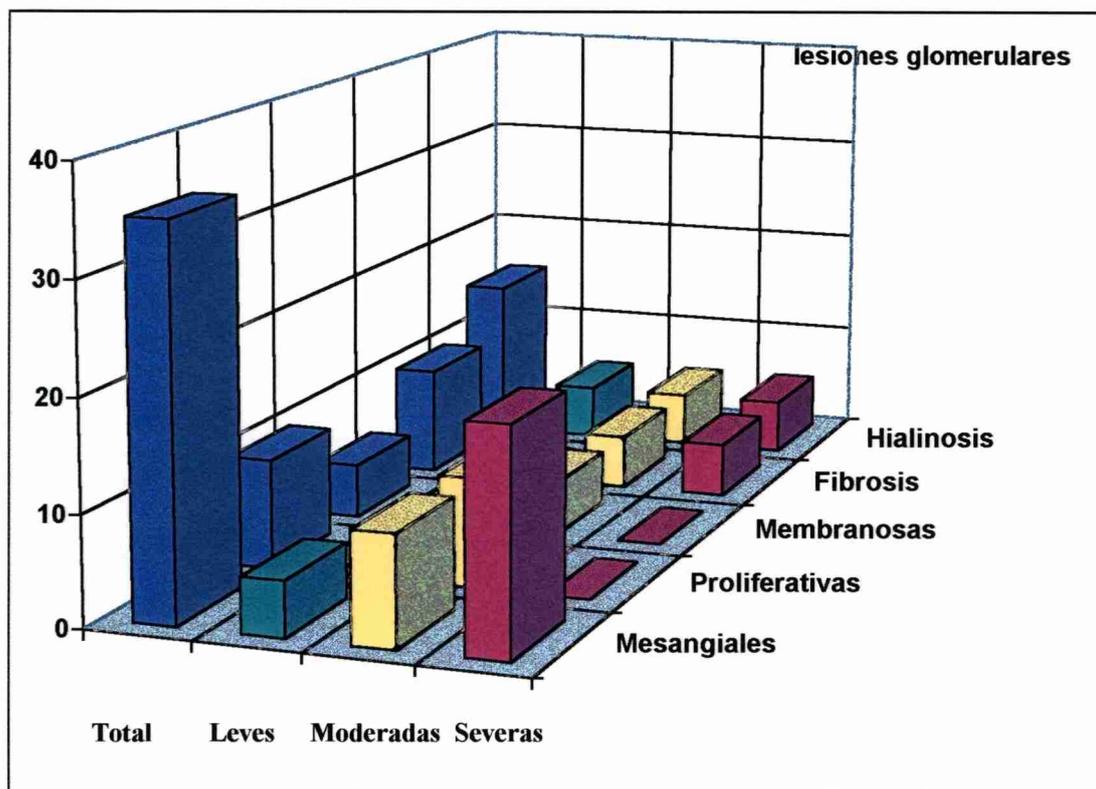
Para clasificar a las lesiones glomerulares en: leves (+), moderadas (++) y severas (+++), se tomaron en cuenta los criterios anteriormente descritos en la especie *Cebus apella*.

En la tabla 14 y en la figura 21 se consignan los resultados del estudio histopatológico de las lesiones glomerulares.

**Tabla 14:** Estudio histopatológico de las lesiones glomerulares en el material de biopsia y severidad de las mismas (n=20).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Mesangiales	1	5	+
	2	10	++
	4	20	+++
Proliferativas	2	10	++
Membranosas	1	5	++
Fibróticas	1	5	++
	1	5	+++
Hialinosis	1	5	+
	1	5	++
	1	5	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 21:** Representación gráfica de las lesiones glomerulares y su severidad en el material de biopsia.

En las biopsias la lesión glomerular predominante fue el aumento de la matriz mesangial. La misma afectó a los glomérulos en forma global o segmental y, en algunos casos, se manifestó en correspondencia con la presencia del depósito granular de inmunoglobulina M en la región mesangial, como se consigna más adelante (Figura 22, A, B y C). En muy pocos casos se observaron lesiones glomerulares caracterizadas por el aumento de células y matriz mesangial en la zona hiliar del glomérulo (Figura 23, A). Mediante el estudio ultraestructural se constató el incremento de células mesangiales y de matriz mesangial (Figura 23, B).

En las alteraciones con proliferación celular del glomérulo se pudo apreciar proliferación de las células endoteliales con disminución de la luz capilar y proliferación de células epiteliales con formación de semilunas, ocupando un sector o la totalidad del espacio subcapsular e involucrando al epitelio parietal de la cápsula de Bowman (Figura 23 C y D).

Las lesiones de la membrana basal glomerular estuvieron presentes en menor proporción que las lesiones caracterizadas por proliferación, esclerosis y hialinosis. La alteración de la membrana se caracterizó por el engrosamiento difuso de las paredes capilares y generalmente estuvo asociada a otros tipos de lesiones glomerulares y procesos inflamatorios crónicos del intersticio renal (Figura 24, A y B).

La fibrosis se caracterizó por proliferación laminar externa e interna de la cápsula de Bowman ocupando el espacio subcapsular y atrofia con fibrosis del ovilleo glomerular. La fibrosis glomerular tuvo distribución focal y global o segmental y, en algunos casos, se pudo apreciar la incipiente formación de semilunas (Figura 24,C y 25, A, B, C). La presencia de fibras colágenas y de material granular en el mesangio se evidenció a través del estudio ultraestructural (Figura 26, A).

La hialinosis glomerular fue poco frecuente y se caracterizó por la presencia de ovillos glomerulares colapsados, isquémicos y marcadamente acelulares. Esta lesión siempre se presentó asociada a fibrosis glomerular y a lesiones intersticiales crónicas con fibrosis e infiltrado linfoplasmocitario. Estos procesos se evidenciaron con la coloración de hematoxilina y eosina y se verificaron nítidamente con la tinción del P.A.S, azul de toluidina y técnicas de impregnación con sales de plata ( MOVAT) (Figura 26, B).

Los distintos tipos de lesiones glomerulares en las biopsias se caracterizaron por encontrarse en diferentes estadios y asociados a tubulopatías e intersticiopatías.

---

**Figura 22:** A- Glomérulo con matriz mesangial aumentada y leve incremento de la celularidad mesangial (→). (H y E, 250 X). B- Glomerulonefritis mesangioproliferativa, incremento de matriz mesangial (→). (P.A.S, 250 X). C- Glomerulonefritis mesangioproliferativa segmental. Incremento de matriz mesangial (→). (H y E, 400 X).

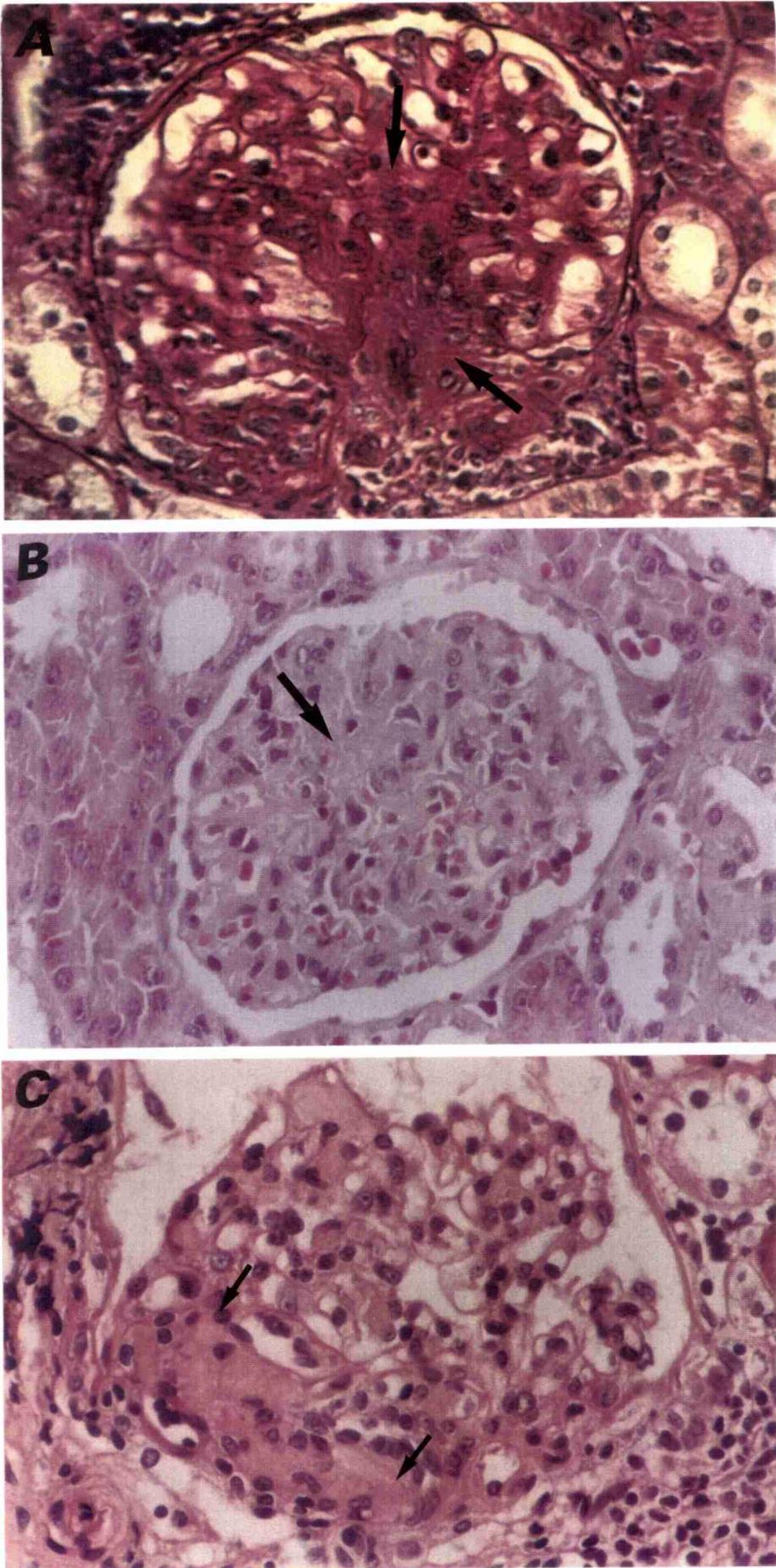
**Figura 23:** A- Leve incremento global de matriz mesangial con obliteración parcial de las luces capilares (→). Hiperplasia mesangial hiliar (↑↑). (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 400 X). B- Glomerulonefritis mesangioproliferativa. En el centro se observan dos células mesangiales (\*). Incremento de matriz mesangial (MM). Podocito con sus características prolongaciones citoplasmáticas (→). (1.800 X). C- Glomerulonefritis proliferativa con disminución de las luces capilares y amplio espacio de Bowman. (H y E, 200 X). D- Epitelio parietal de la cápsula de Bowman con incipiente proliferación. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 400 X).

**Figura 24:** A- Glomerulonefritis membranoproliferativa con engrosamiento de la membrana basal de los capilares glomerulares (→). Formación de semiluna fibrosa asociada a la adherencia del ovillo glomerular a la cápsula de Bowman. Incremento de matriz mesangial con obliteración de las luces capilares. (Imbibición en plástico, Movat, 200 X). B- Mayor detalle de A. (Imbibición en plástico, Movat, 1000 X). B- Engrosamiento fibroso de la cápsula de Bowman con dilatación del espacio capsular (→). (H y E, 100 X).

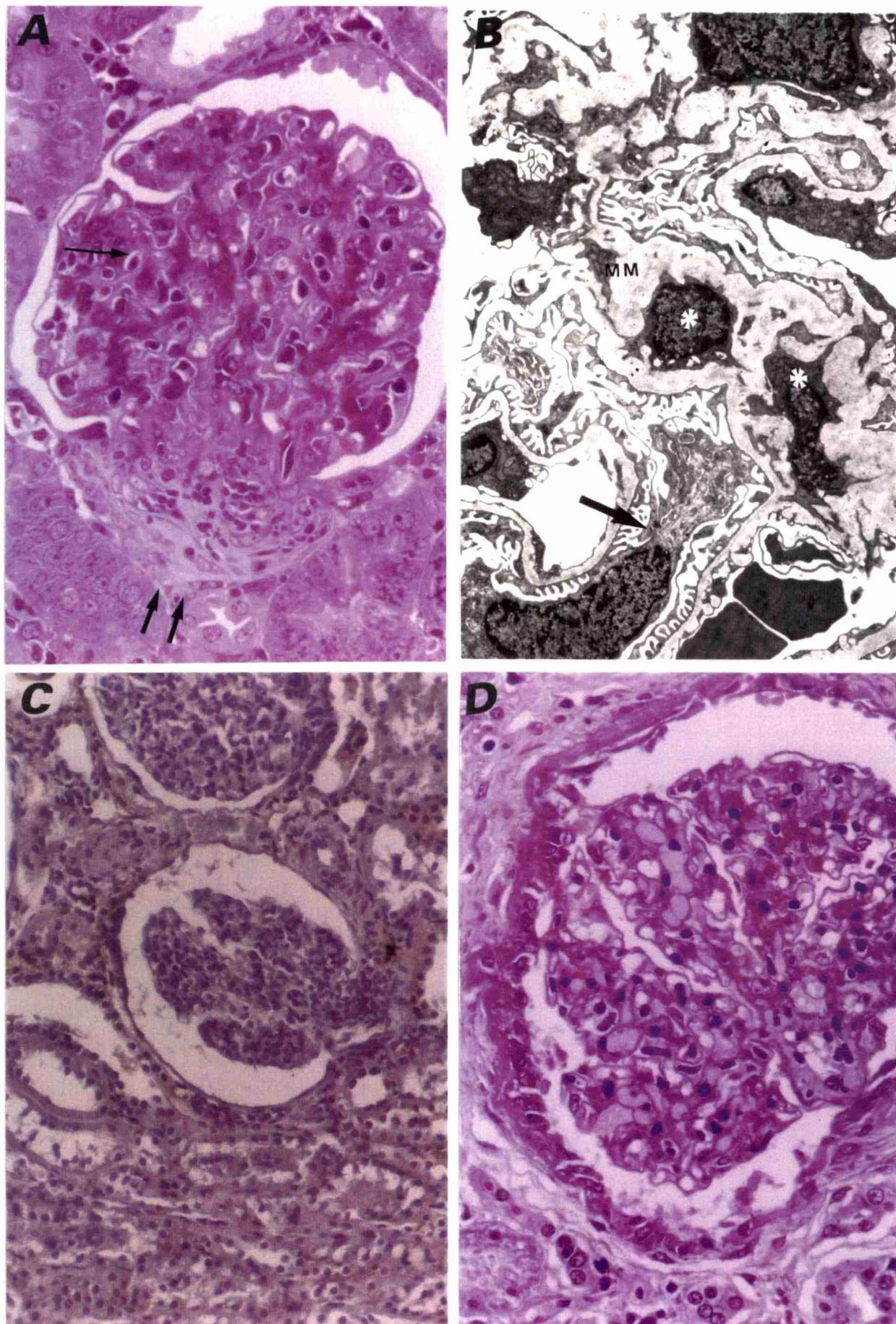
**Figura 25:** A- Fibrosis glomerular, ovillo glomerular pobremente celular y fibrilar y semiluna fibrosa concéntrica fuertemente adherida al ovillo glomerular. (Imbibición en plástico, Movat, 200 X). C- Incremento de matriz mesangial con obliteración de las luces capilares, formación de semiluna fibrosa e infiltrado celular intersticial periglomerular. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 200 X). C- Fibrosis de la cápsula parietal de Bowman con incipiente formación de semiluna y adherencia del ovillo glomerular a la cápsula. (H y E, 200 X).

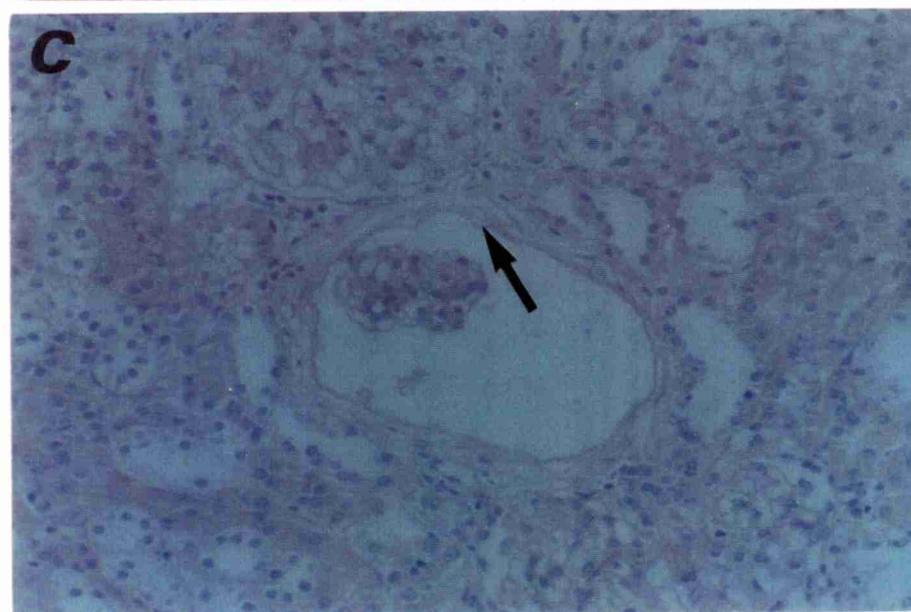
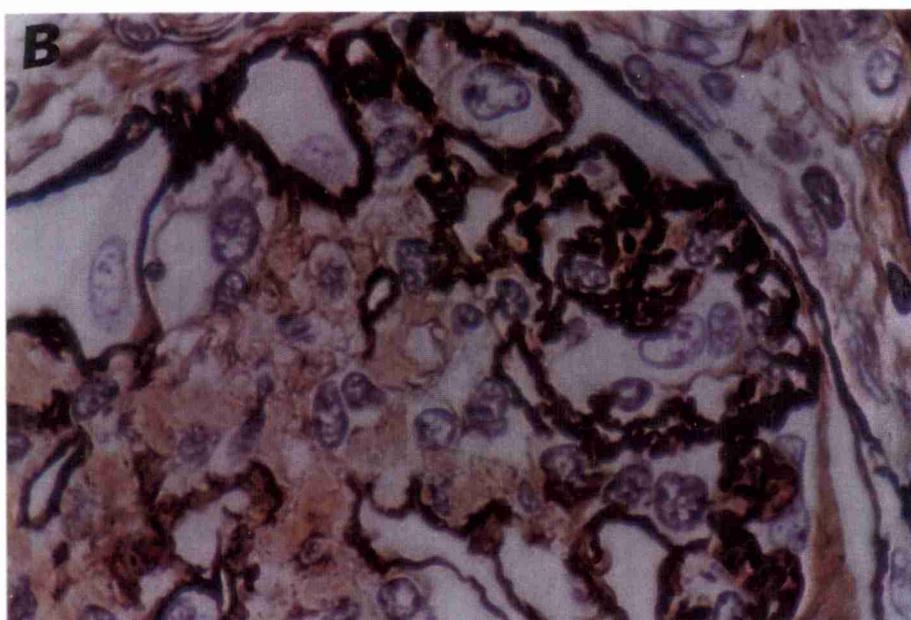
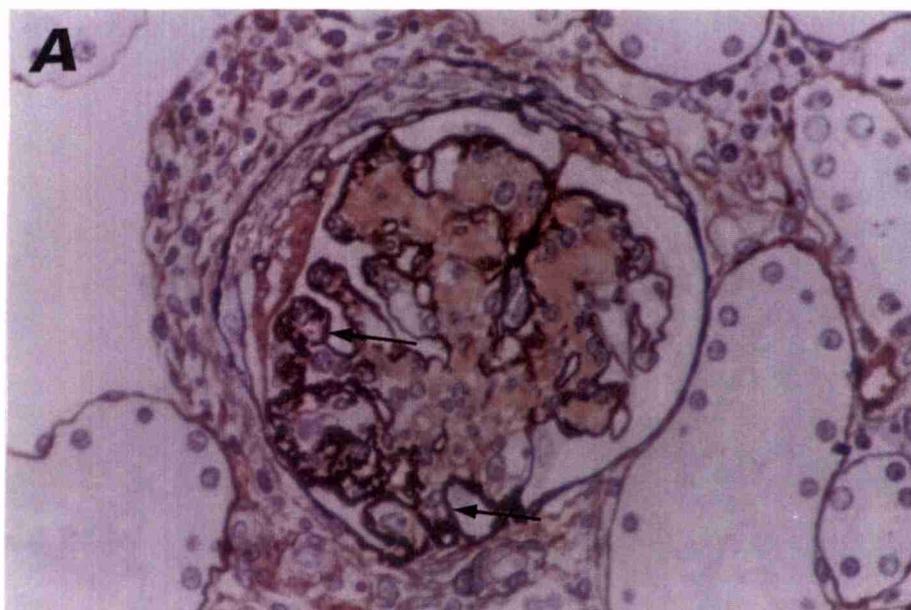
**Figura 26:** A- Fibrosis glomerular. Probable fibroblasto. Fibras de colágeno en la matriz mesangial. (17.600 X). B- Corteza renal. Hialinosis glomerular (→) y atrofia del ovillo glomerular (↑↑). (P.A.S, 100 X).

**Figura 22**

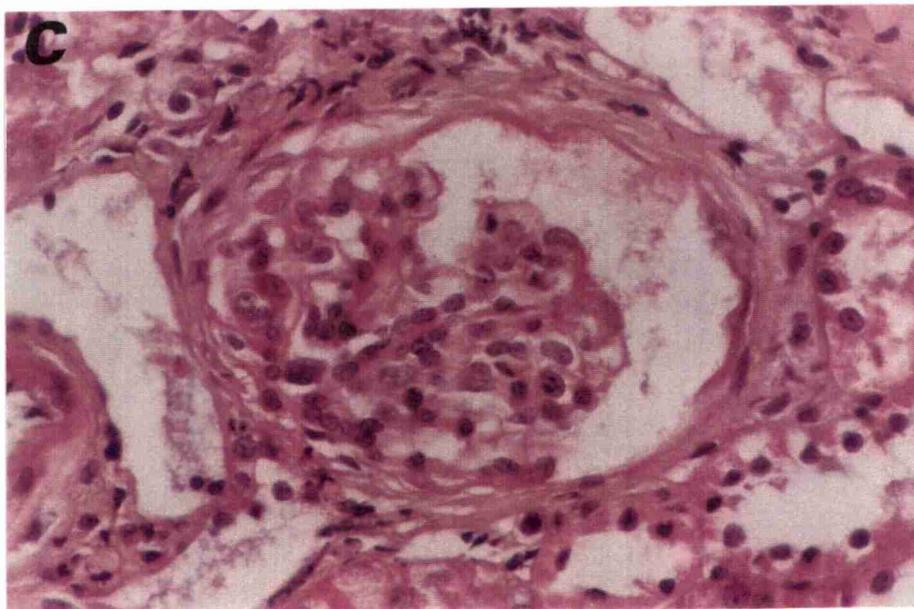
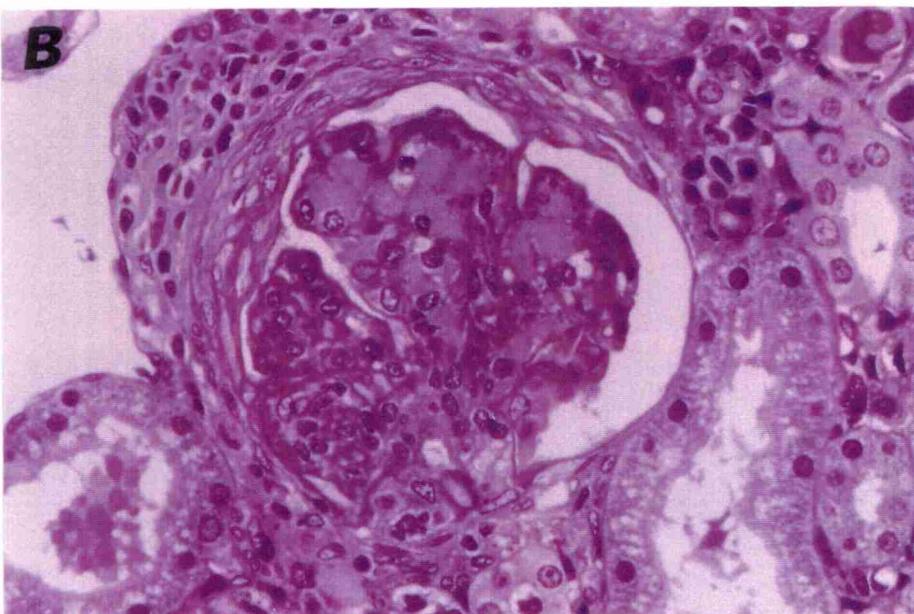
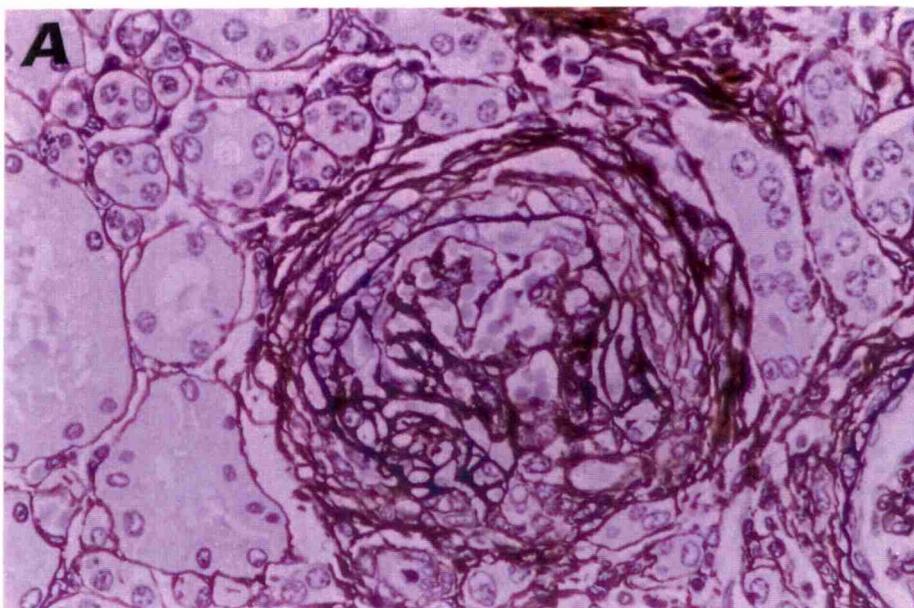


**Figura 23**

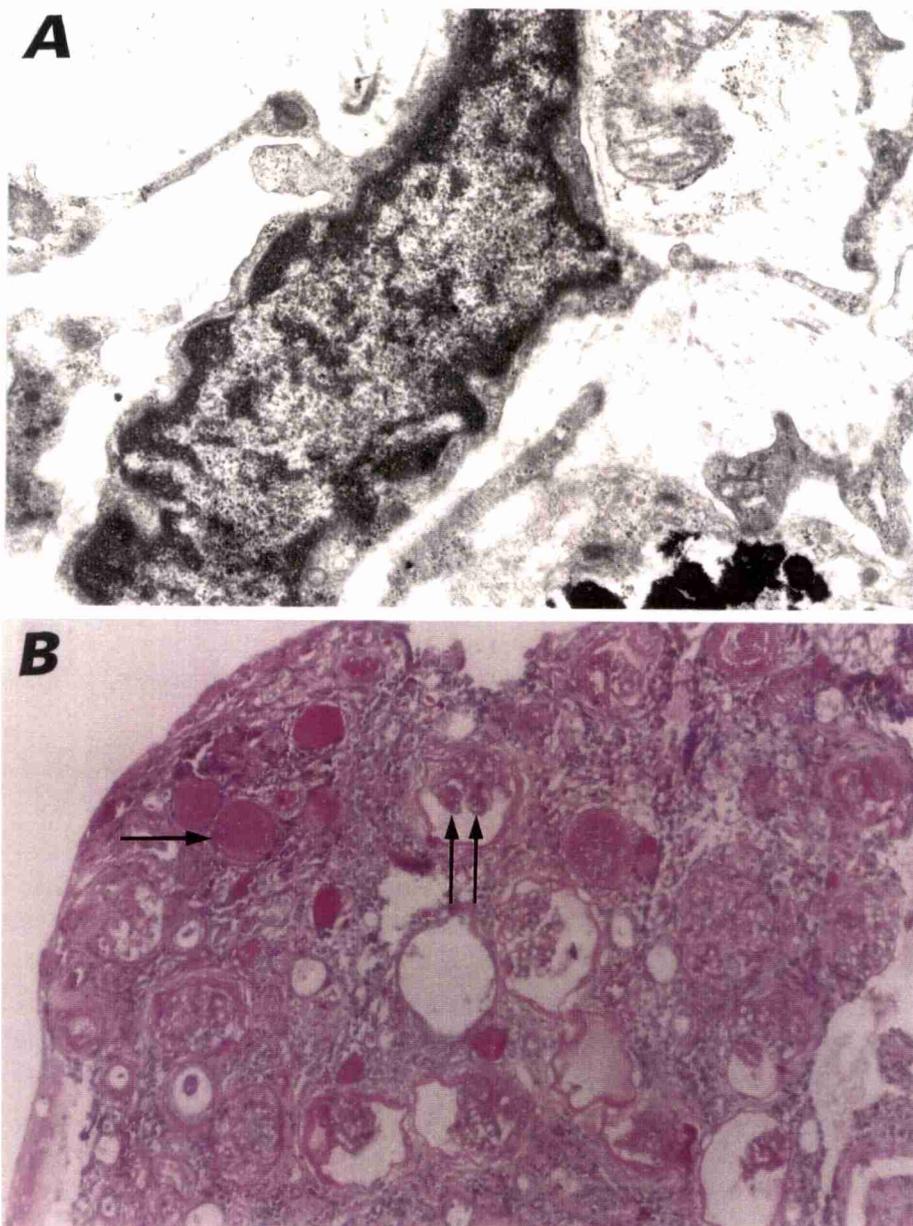


**Figura 24**

**Figura 25**



**Figura 26**



#### 4-2 Análisis histológico de las lesiones glomerulares en el material de necropsia.

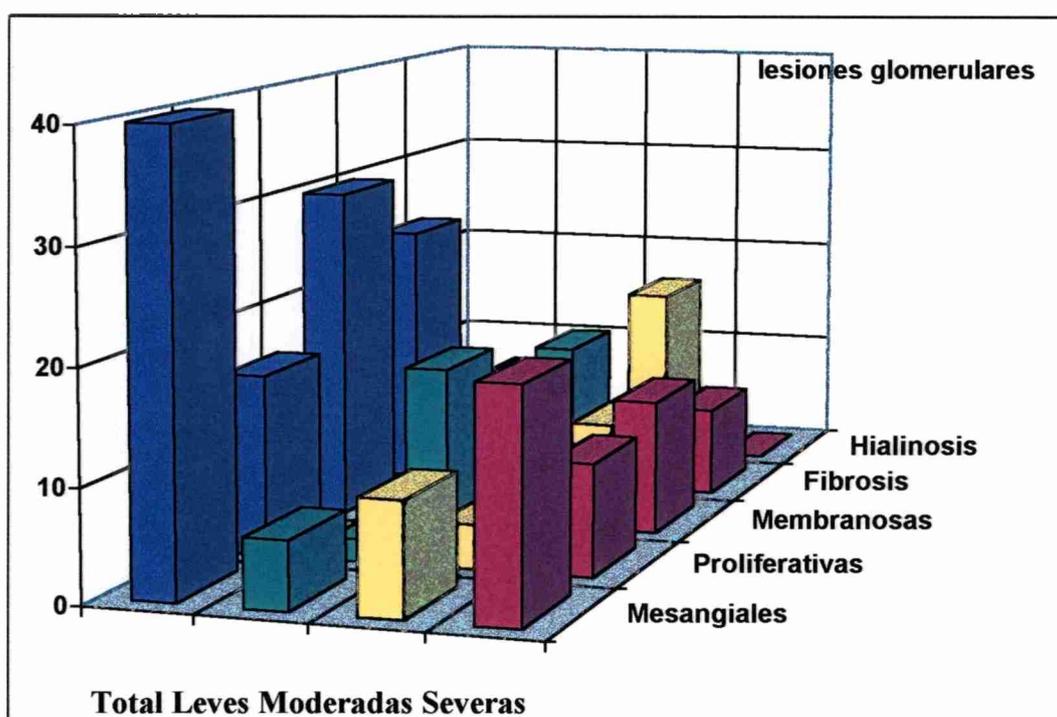
En el material de necropsia las lesiones glomerulares también se caracterizaron por incremento del mesangio y de las células mesangiales, proliferación celular, alteraciones de membrana, fibrosis y hialinosis glomerular.

En la tabla 15 y en la figura 27 se consignan los resultados del estudio histopatológico de las lesiones glomerulares.

**Tabla 15:** Estudio histopatológico de las lesiones glomerulares en el material de necropsia y severidad de las mismas (n=50).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Mesangiales	3	6	+
	5	10	++
	12	24	+++
Proliferativas	1	2	+
	2	4	++
	5	10	+++
Membranosas	7	14	+
	2	4	++
	6	12	+++
Fibróticas	5	10	+
	3	6	++
	4	8	+++
Hialinosis	5	10	+
	8	16	++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 27:** Representación gráfica de las lesiones glomerulares y su severidad en el material de necropsia.

Las lesiones glomerulares más llamativas en el material de necropsia fueron proliferación de células mesangiales, aumento de matriz mesangial con disminución de las luces capilares y expansión del ovillo glomerular ocupando el espacio subcapsular. Por lo general, estas lesiones tuvieron una distribución difusa-global o focal-segmental, a veces asociadas a las adherencias del ovillo glomerular con el epitelio parietal de la cápsula de Bowman (Figura 28, A, B, C, Figura 29, A, B, C y Figura 30, A, B, y C).

La proliferación celular se caracterizó por aumento del número de las células mesangiales, endoteliales, epiteliales y, en ocasiones, la presencia de neutrófilos. En algunas oportunidades se pudo apreciar proliferación con estratificación de las células epiteliales formando semilunas que ocupaban un sector o la totalidad del espacio de Bowman con adherencia a la misma cápsula (Figura 30, D). En pocos casos se observaron lesiones glomerulares proliferativas asociadas a la presencia de trombos hialinos en las luces capilares, o bien, a la presencia de colonias bacterianas de gérmenes cocoides en el espacio de Bowman (Figura 31, A y B). Este tipo de lesión se evidenció con las técnicas de coloración de rutina hematoxilina y eosina, azul de toluidina, P.A.S y tricrómica de Mallory.

Macroscópicamente, los riñones presentaron superficie irregular, de color blanquecino (Figura 31, C).

Las lesiones de membrana se caracterizaron por engrosamiento difuso, duplicación y presencia de numerosas ondulaciones en las paredes de los capilares glomerulares (Figura 32, A, B, C y Figura 33, A y B). La observación más frecuente fue la duplicación de la membrana basal, a menudo con dos o más capas paralelas conectadas por trabéculas transversales. Otras veces se presentó vacuolada y, al mismo tiempo, duplicada. En algunos especímenes estas lesiones se presentaron asociadas al incremento de matriz mesangial con aspecto fibrilar, disminución u obliteración de la luz capilar y necrosis de la pared capilar. Estas lesiones se apreciaron mediante la tinción con impregnación con sales de plata según Jones para secciones de tejidos renales incluidos en parafina y se corroboraron en cortes semifinos de tejidos embebidos en plástico, coloreados con azul de toluidina (Figura 33, C y Figura 34, A y B).

La fibrosis y la hialinosis estuvieron asociadas a procesos inflamatorios crónicos, tales como fibrosis intersticial, infiltrado linfoplasmocitario y alteraciones tubulares.

La fibrosis glomerular en el material de necropsia presentó dos características morfológicas: a) fibrosis periglomerular y b) fibrosis intraglomerular. La fibrosis periglomerular se caracterizó por proliferación fibroblástica externa a partir de la cápsula parietal de Bowman, envolviendo a todo el glomérulo (Figura 34, C).

En la fibrosis intraglomerular se evidenció la proliferación fibrosa a partir del epitelio parietal de la cápsula de Bowman ocupando el espacio subcapsular y, en algunos casos, incluyendo la totalidad del ovillo glomerular, con disminución o desaparición de las luces capilares (Figura 35, A, B y C). Este tipo de lesión tuvo una distribución difusa global o focal segmental. Los procesos caracterizados por proliferación y reemplazo fibroso del ovillo glomerular se evidenciaron a través de la tinción tricrómica de Mallory.

La hialinosis glomerular se caracterizó por la presencia de capilares colapsados y de ovillos glomerulares transformados parcial o totalmente en una masa de material hialino, con presencia escasa o nula de núcleos celulares y desaparición total de las luces capilares. La distribución de esta lesión fue principalmente focal y segmental. Los glomérulos afectados se encontraron rodeados por infiltrado monomorfonuclear formado por linfocitos

y plasmocitos. Estas lesiones se pusieron en evidencia mediante las coloraciones de Hematoxilina y Eosina y P.A.S (Figura 35, B y Figura 36, A y B).

---

Figura 28: A- Incremento difuso-global de matriz mesangial con depósitos de color marrón claro no argentafines. (Imbibición en plástico, Movat, 100 X). B- Mayor detalle de A. Depósitos en la matriz mesangial y en la membrana basal de los capilares glomerulares (→). Luces capilares amplias (LC). (1000 X). C- Leve incremento de la matriz mesangial. El mesangio se observa de color azul. (Tricrómica de Mallory, 200 X).

Figura 29: A- Mayor detalle de 28-C. (1000 X). B- Glomerulonefritis mesangioproliferativa segmental con leve incremento de las células mesangiales (→). (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 250 X). C- Proliferación mesangial segmental intercapilar mínima (→). (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 250 X).

Figura 30: A- Proliferación mesangial global intercapilar mínima con incremento de matriz mesangial (→) y material proteináceo en el espacio de Bowman. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 250 X). B- Proliferación mesangial global intercapilar mínima con incremento de matriz mesangial y adherencia del ovillo glomerular a la cápsula de Bowman (→). (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 250 X). C- Glomerulonefritis mesangioproliferativa segmental con marcada lobulación. Material hialino en la luz tubular (→). (P.A.S, 400 X). D- Glomerulonefritis extracapilar con semiluna (rapidamente progresiva). Ovillo glomerular parcialmente colapsado con espacio de Bowman ocupado por la proliferación de células epiteliales. En el intersticio se observan infiltrado inflamatorio crónico y atrofia tubular. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 100 X).

Figura 31: A- Glomerulonefritis proliferativa caracterizada por la presencia de trombos hialinos en las luces capilares (→). (P.A.S, 400 X). B- Glomerulonefritis exudativa, colonias bacterianas con gérmenes cocoides en el espacio de Bowman. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 400 X). C- Aspecto macroscópico de los riñones con glomerulonefritis exudativa.

Figura 32: A- Glomerulonefritis membranoproliferativa caracterizada por engrosamiento global de la membrana basal de los capilares glomerulares. (Imbibición en plástico, Movat, 400 X). B- Glomerulonefritis membranoproliferativa con engrosamiento y duplicación segmental de la membrana basal de los capilares glomerulares. (Imbibición en plástico, Movat, 200 X). C- Glomerulonefritis membranoproliferativa global con duplicación, laminación y engrosamiento de las membranas basales de los capilares glomerulares. (Imbibición en plástico, Movat, 400 X).

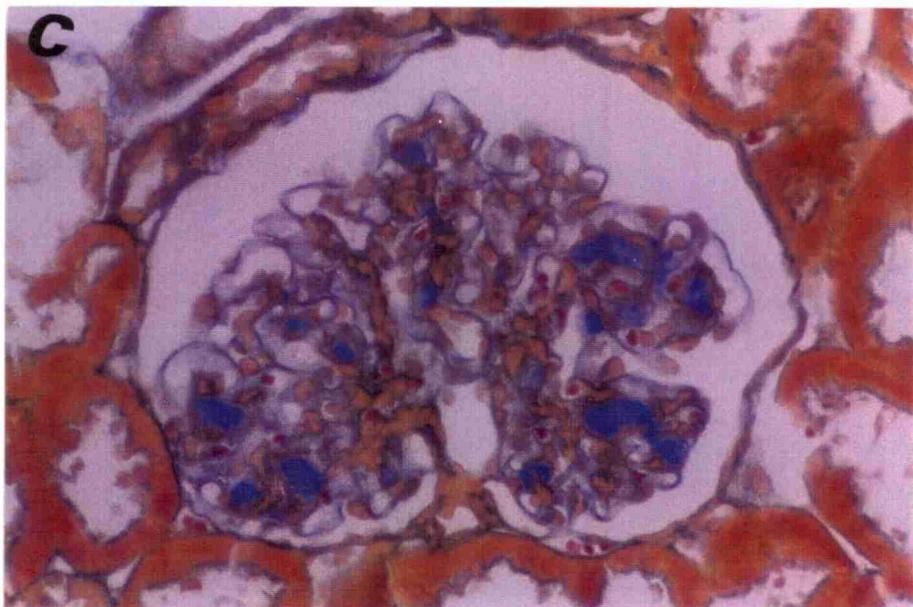
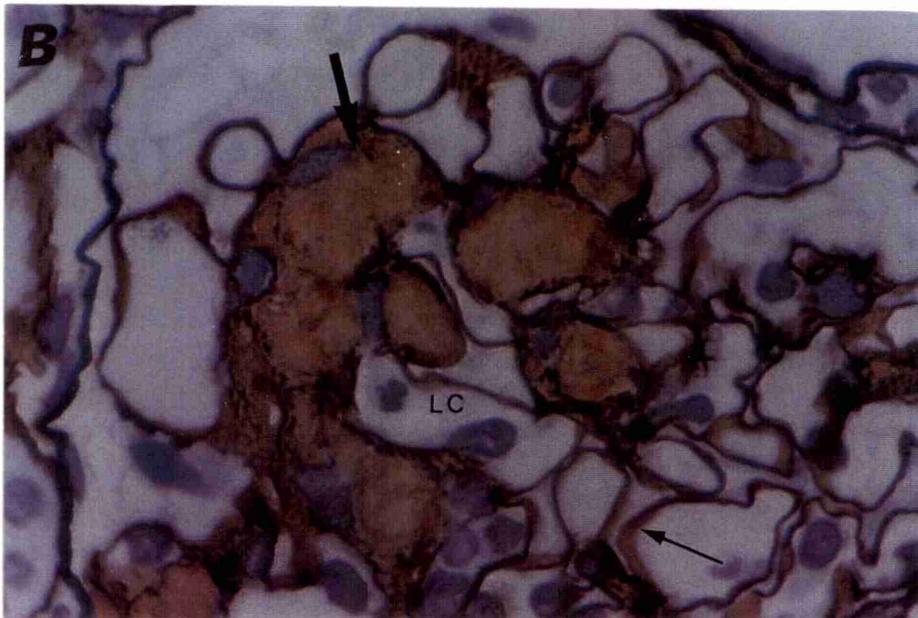
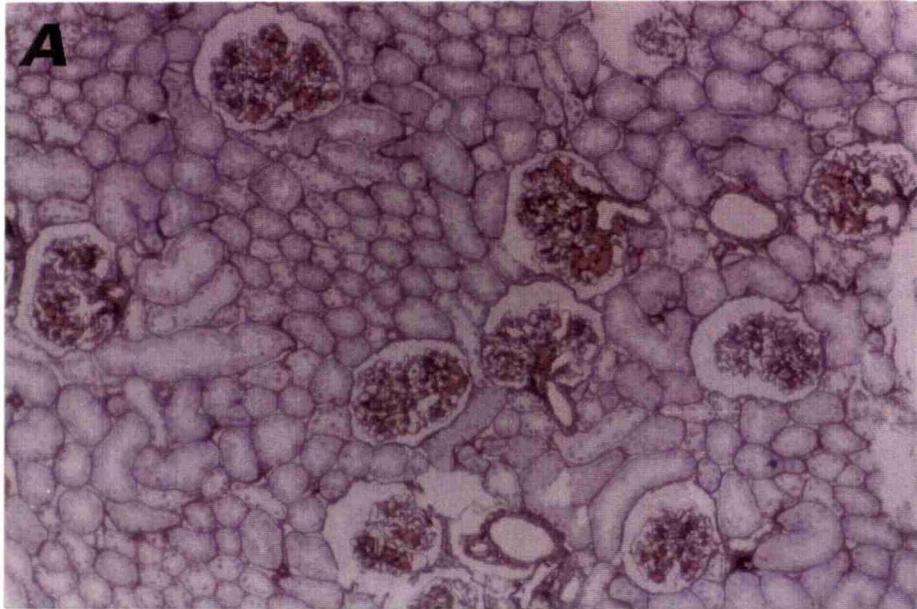
Figura 33: A- Glomerulonefritis membranoproliferativa con engrosamiento de la membrana basal de los capilares glomerulares e incremento de la matriz mesangial. (Impregnación argéntica según Jones, 400 X). B- Mayor detalle de A. (1000 X). C- Glomerulonefritis membranoproliferativa segmental con necrosis de la pared capilar. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 250 X).

Figura 34: A- Glomerulonefritis membranoproliferativa global con marcado incremento de la celularidad en posición mesangial y de matriz mesangial con necrosis de la pared capilar. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 200 X). B- Glomerulonefritis membranoproliferativa global, variante lobular, con necrosis de la pared capilar. (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 400 X). C- Fibrosis periglomerular de la cápsula de Bowman. (Tricrómica de Mallory, 400 X).

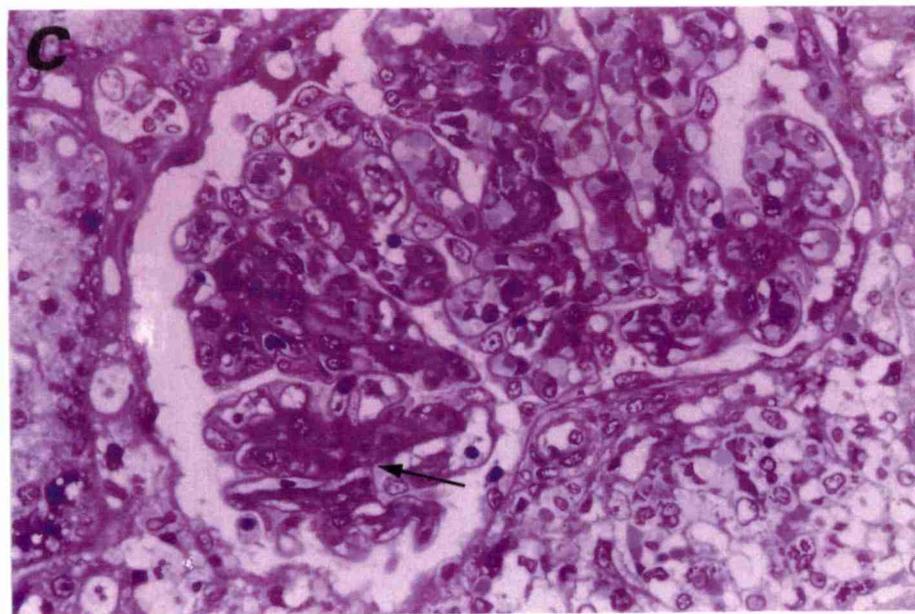
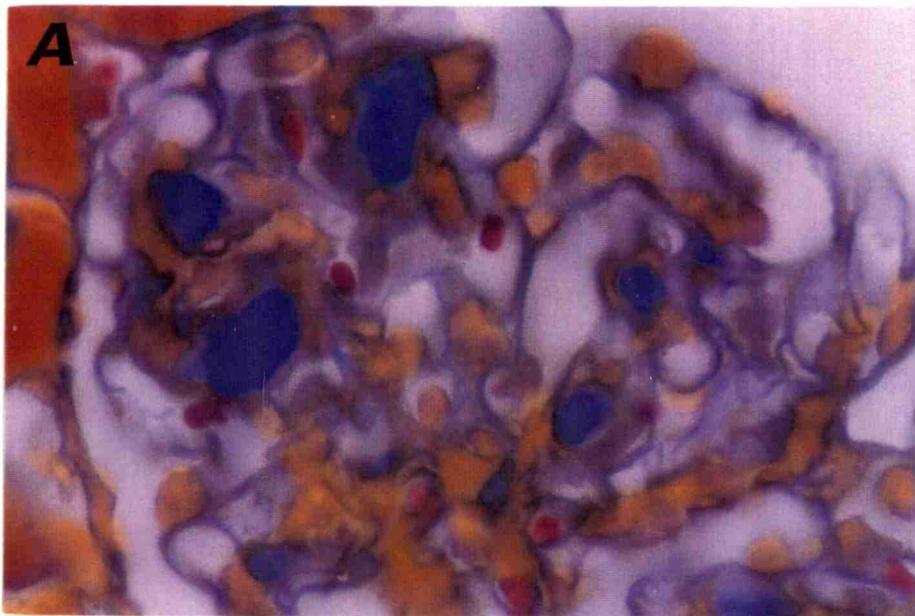
Figura 35: A- Fibrosis intraglomerular. (Tricrómica de Mallory, 200 X). B- Glomérulo con engrosamiento fibrótico de la cápsula de Bowman y amplio espacio subcapsular. Glomérulo totalmente hialinizado y acelular (→) rodeado por infiltrado intersticial crónico (P.A.S, 400 X). C- Fibrosis y atrofia del ovillo glomerular. (Tricrómica de Mallory, 400 X).

Figura 36: A- Hialinización glomerular segmental (→). (P.A.S, 400 X). B- Hialinización global y parcial de glomérulos en los que se observan ovillos glomerulares pobremente celulares (→), infiltrado intersticial crónico, dilatación tubular con presencia de cilindros hialinos en las luces tubulares (↓) asociados con alto grado de atrofia tubular. (P.A.S, 100X).

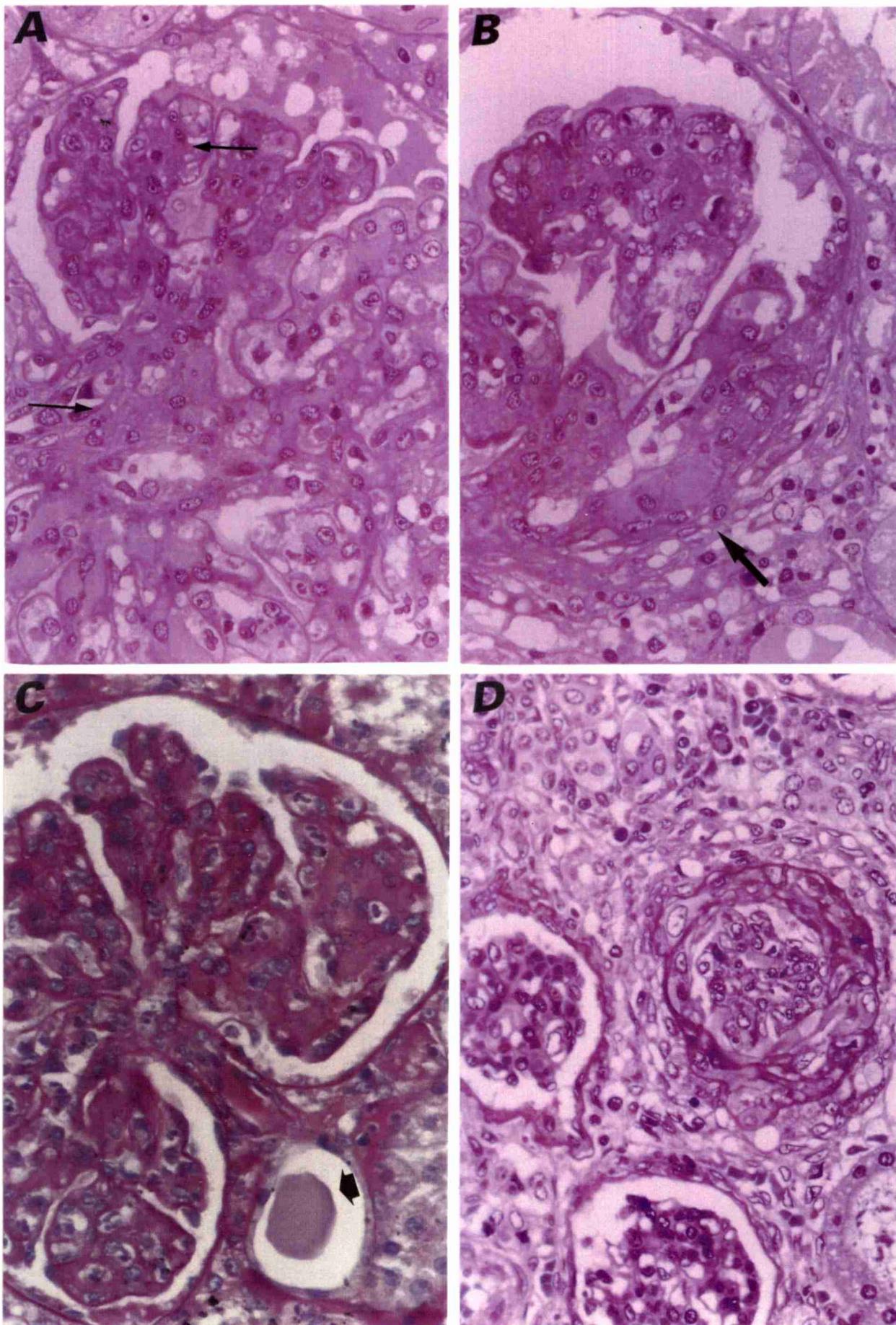
**Figura 28**



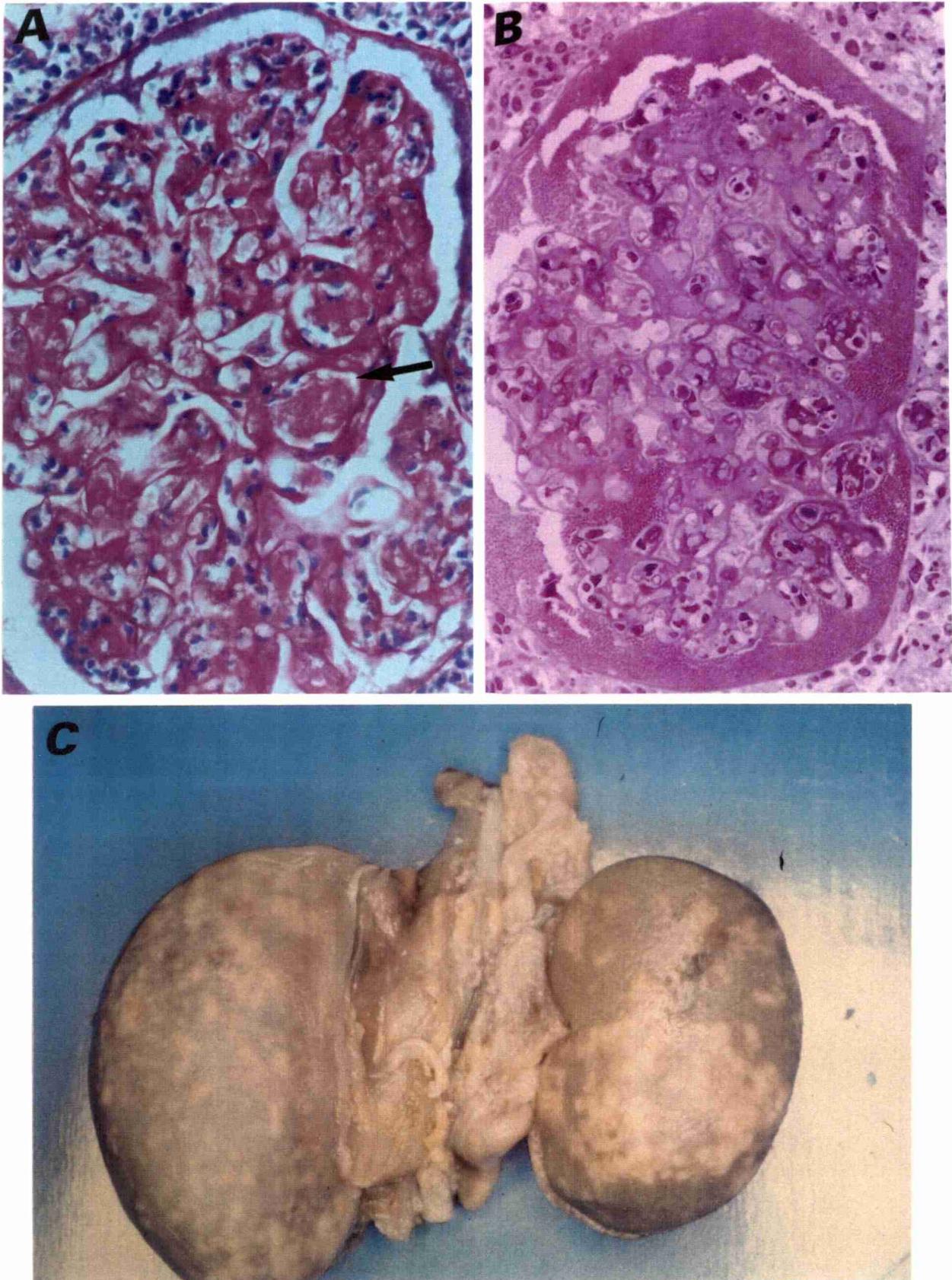
**Figura 29**



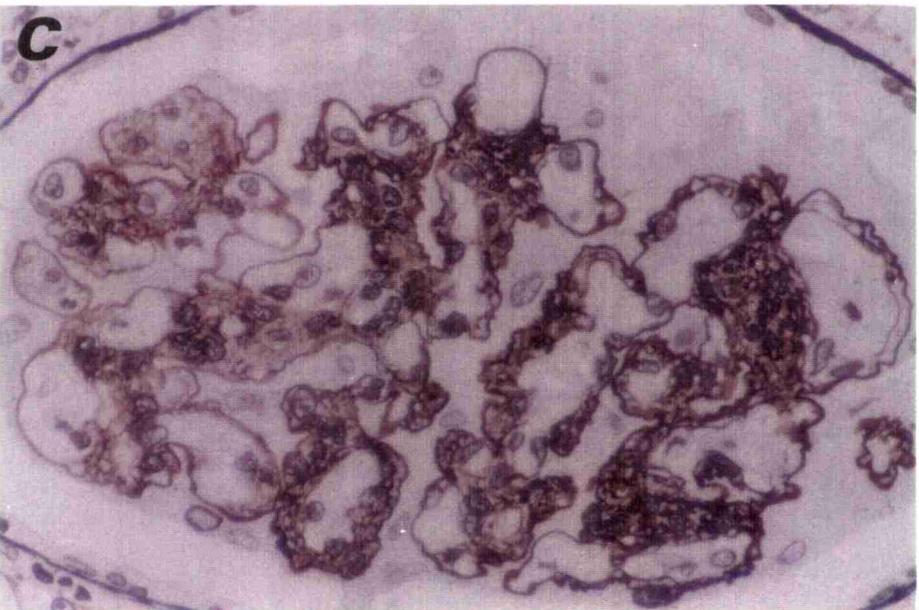
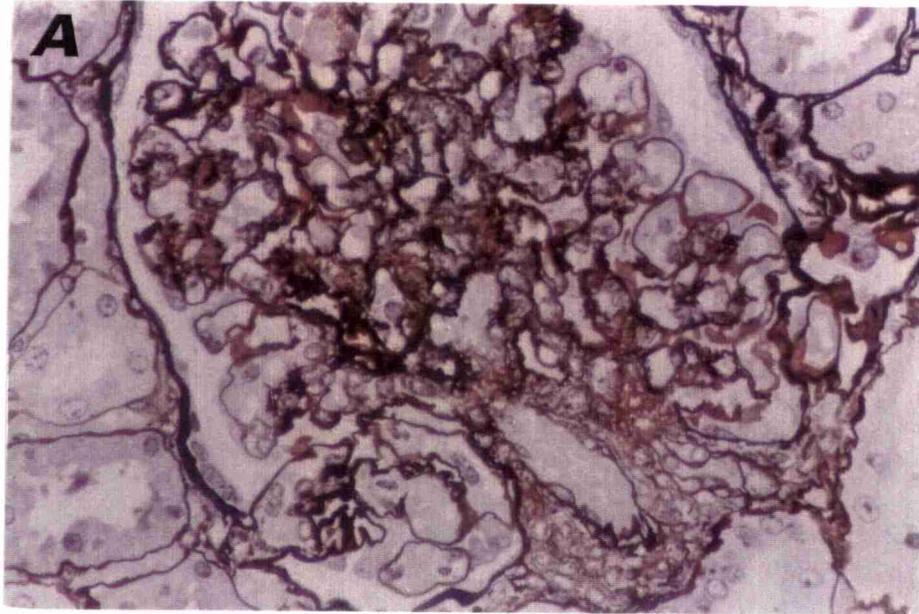
**Figura 30**



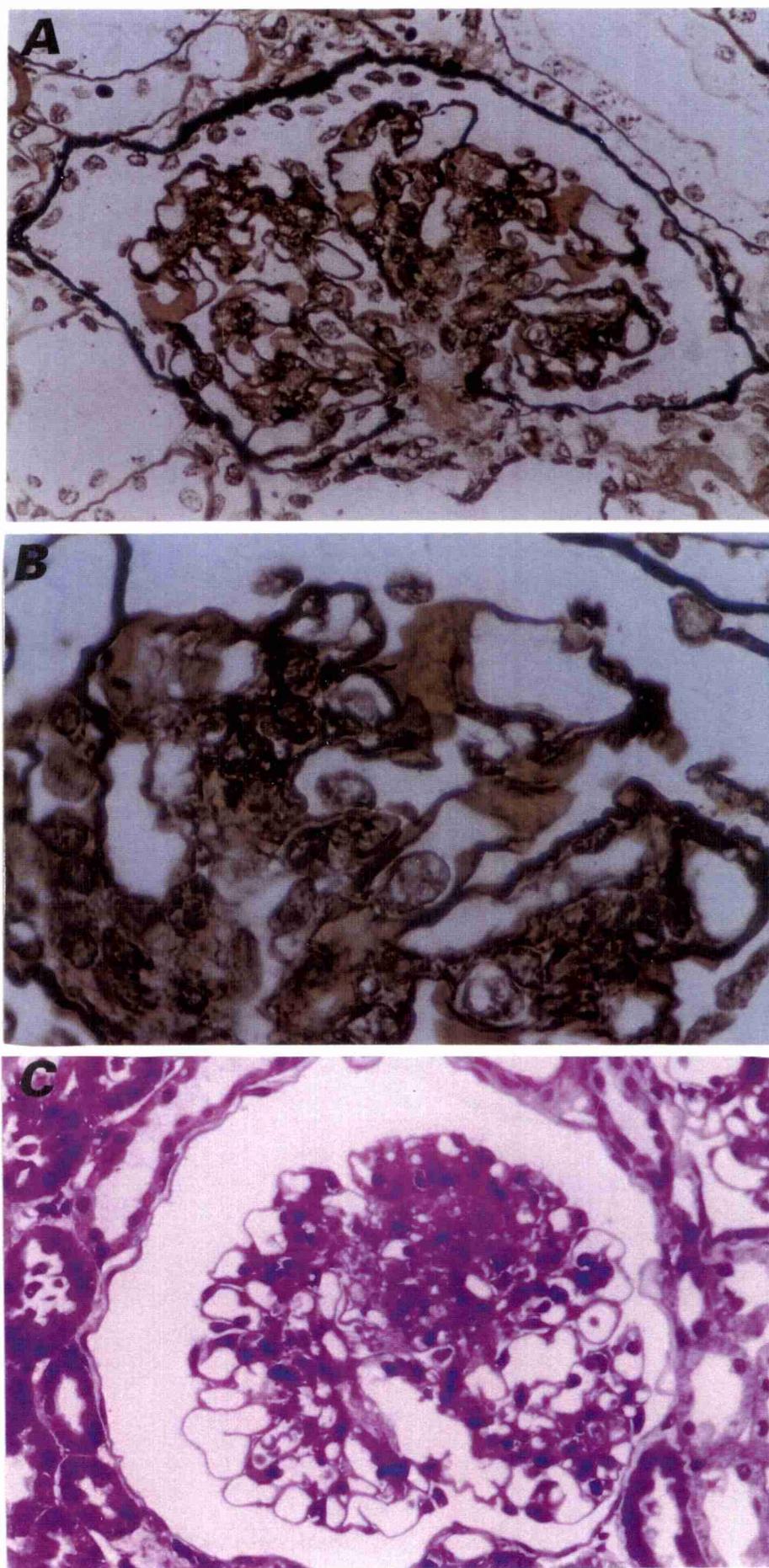
**Figura 31**



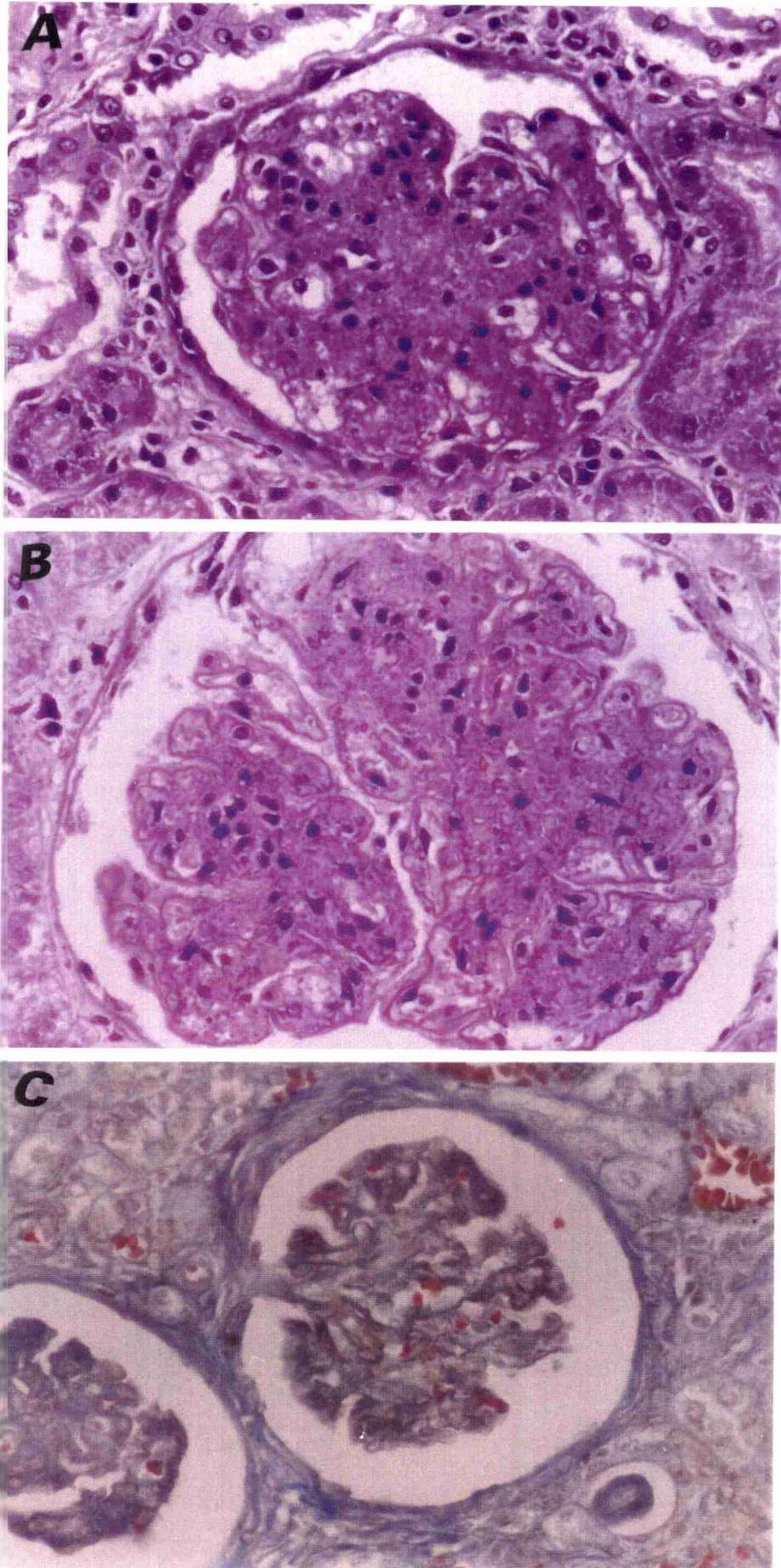
**Figura 32**



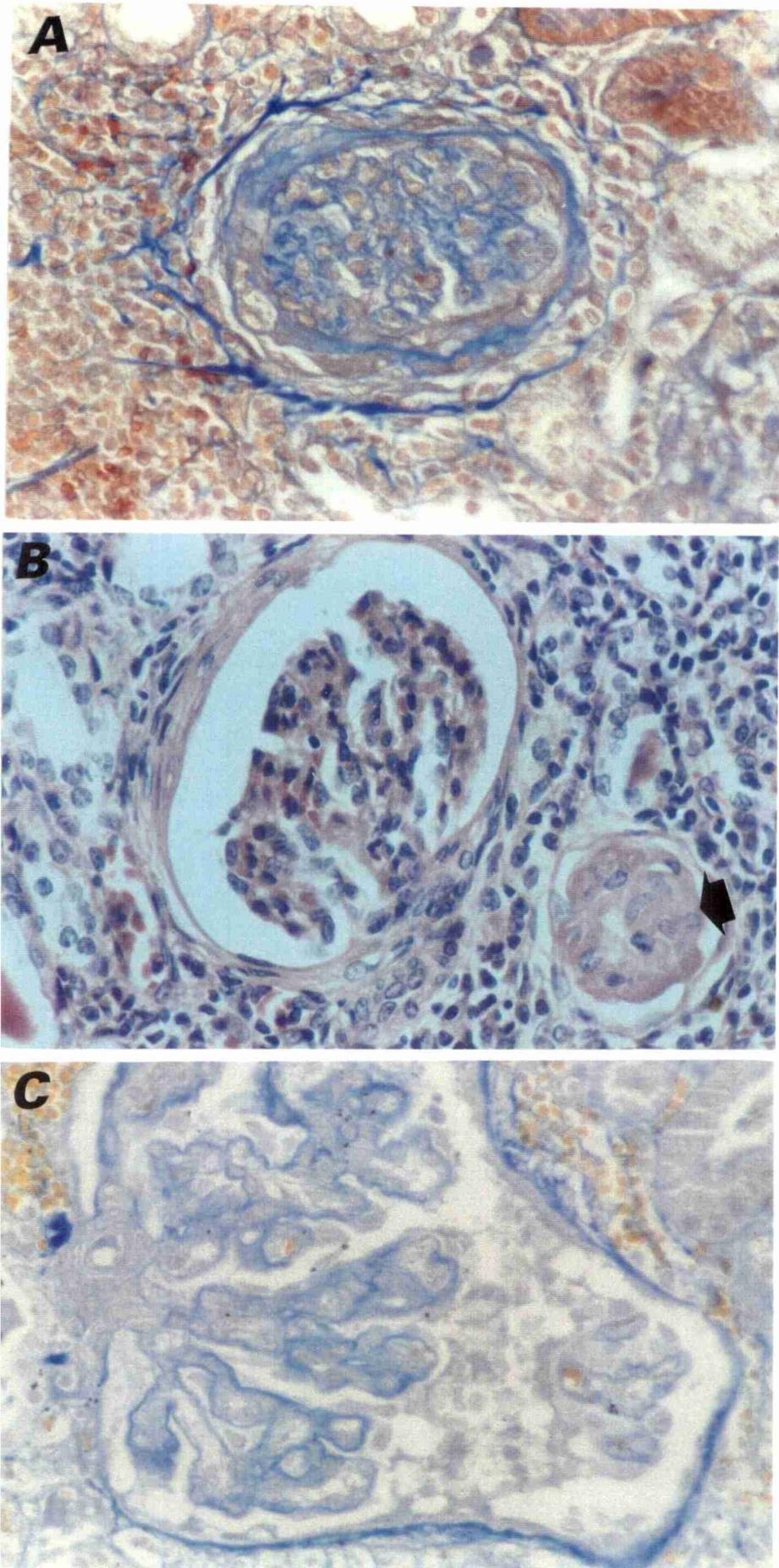
**Figura 33**



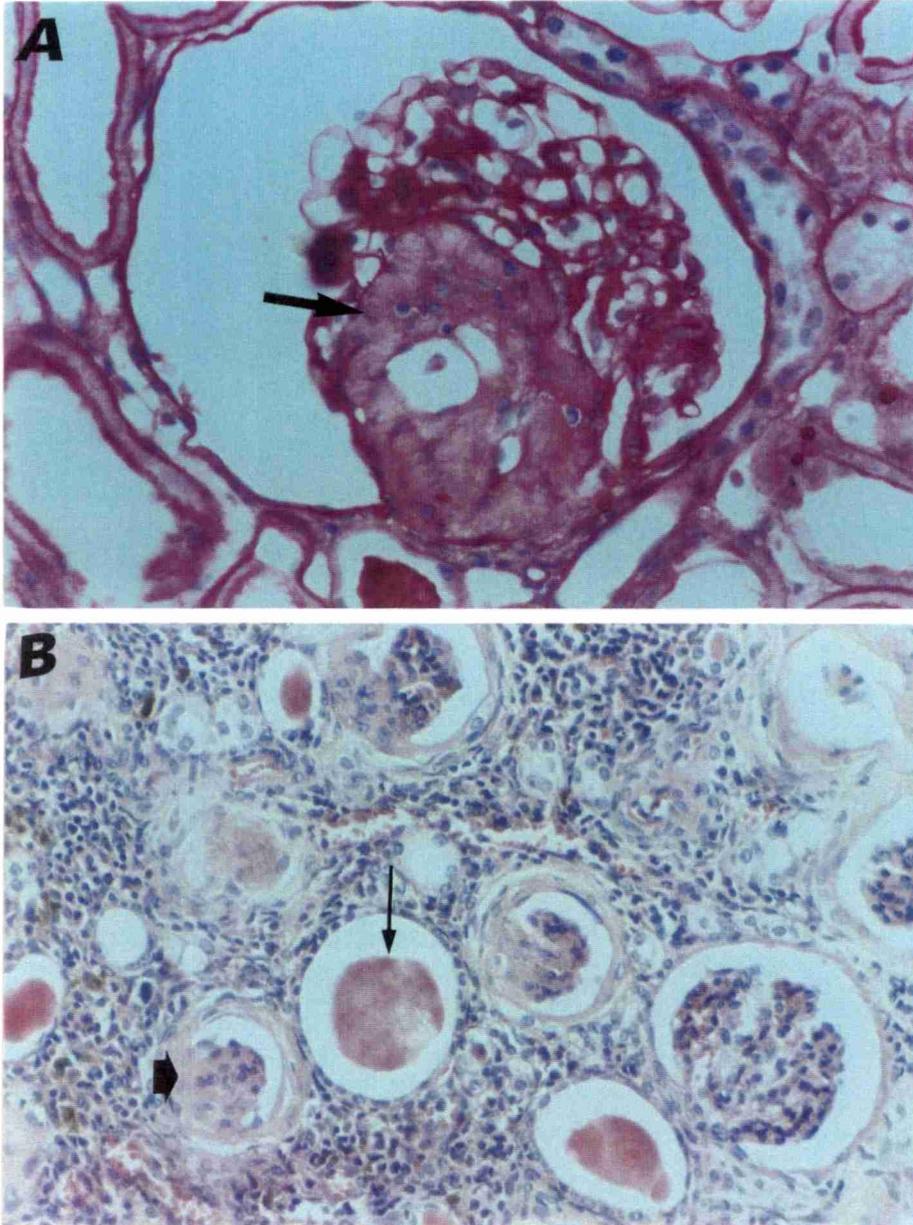
**Figura 34**



**Figura 35**



**Figura 36**



#### 4-3 Análisis histológico de la presencia de depósitos de inmunoglobulinas A, G y M en el material de biopsia y en el material de necropsia.

El total del material de biopsia y de necropsia mostró resultados negativos a la determinación de Ig A e Ig G mediante técnicas inmunohistoquímicas utilizando el "Kit StrepABCComplex/HRP Duet, Mouse/Rabbit" de laboratorios Dako® y antisueros de conejo contra Ig A e Ig G humana, pero evidenciaron resultados positivos a Ig M.

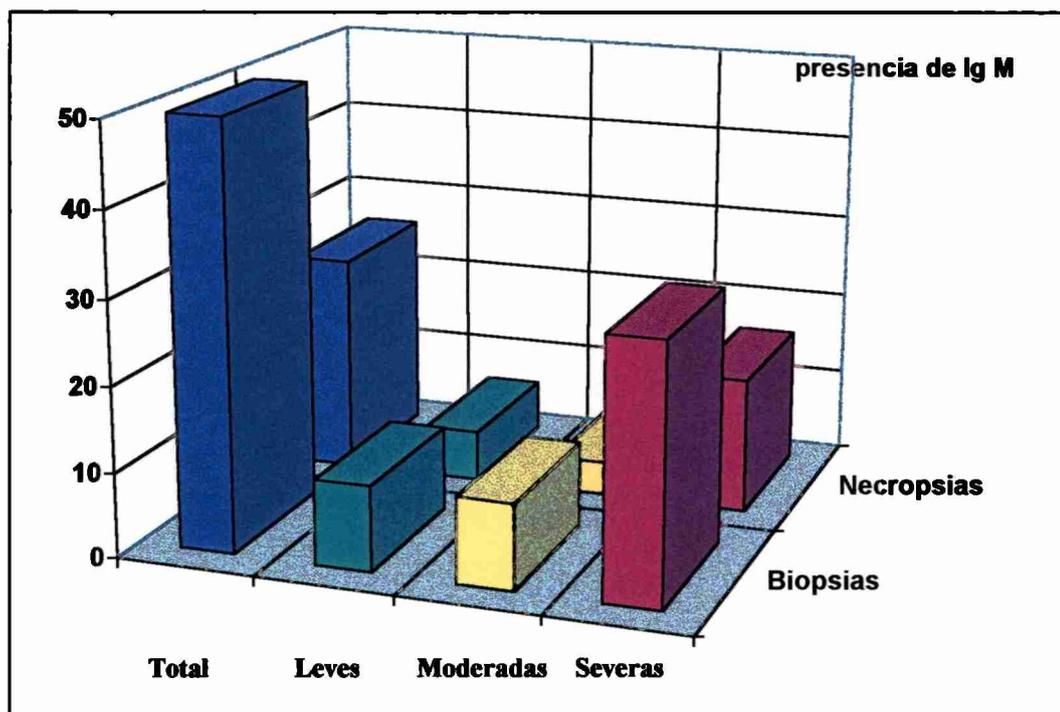
Para determinar la severidad de la extensión de los depósitos de Ig M, se consideró principalmente el compromiso de los glomérulos que presentaron dichos depósitos en la corteza renal. Cuando los depósitos de Ig M estuvieron presentes en forma focal, involucrando escasos glomérulos, fueron considerados leves (+) y, si los depósitos fueron detectados en la mayoría de glomérulos, fueron considerados severos (+++).

En la tabla 16 y en la figura 37 se consignan los resultados del estudio histopatológico de la determinación de Ig M en el material de biopsia y en el material de necropsia.

**Tabla 16:** Determinación de los depósitos de Ig M y severidad de los mismos en el material de biopsia (n=20) y en el material de necropsia (n=50).

Depósito de Ig M	Animales	Porcentaje	Severidad
Material de biopsia	2	10	+
	2	10	++
	6	30	+++
Material de necropsia	3	6	+
	2	4	++
	8	16	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontrados depósitos de Ig M. Los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron dichos depósitos. Severidad: + leves, ++ moderados, +++ severos.



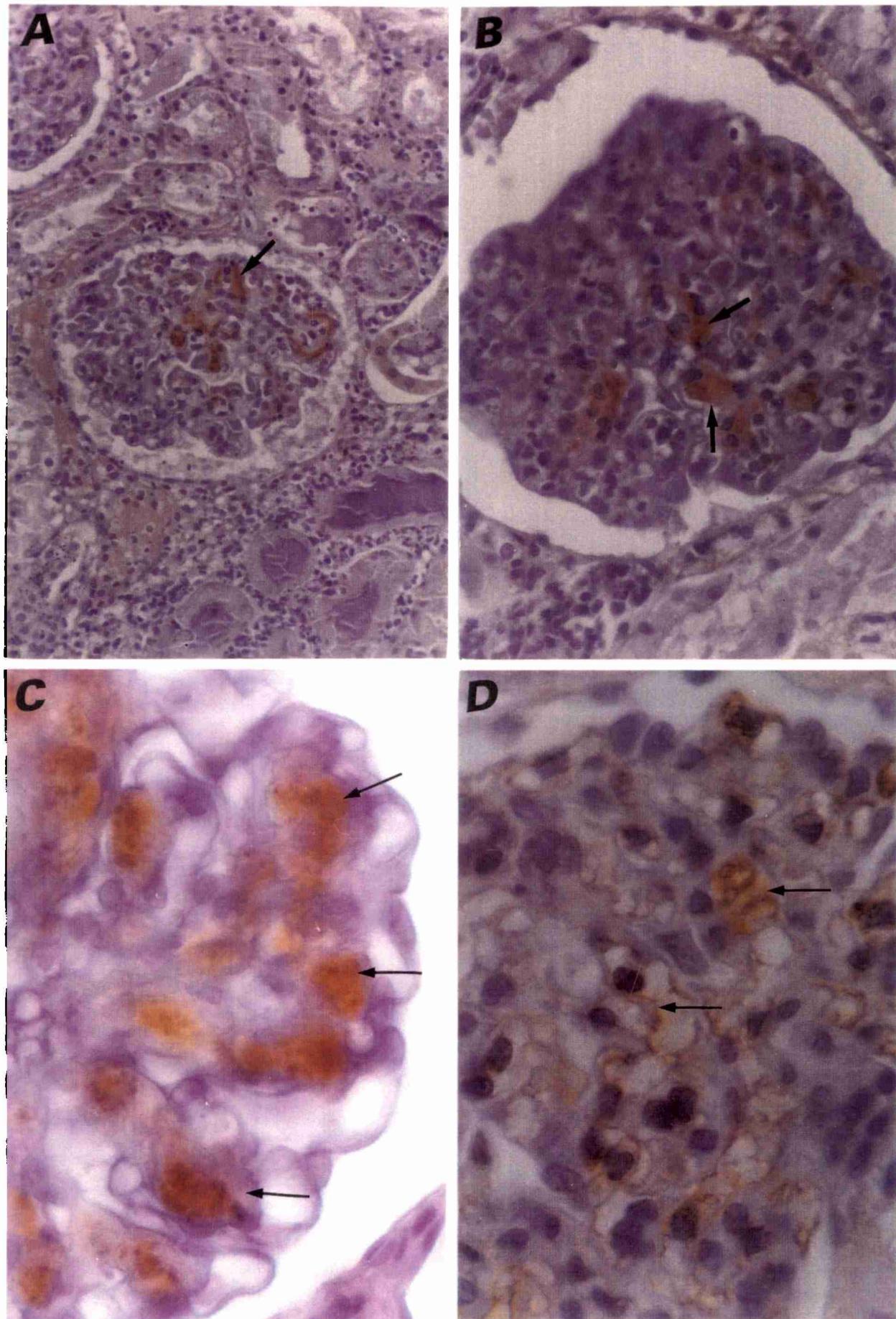
**Figura 37:** Representación gráfica de los depósitos mesangiales de Ig M y su severidad en el material de biopsia y en el material de necropsia.

En ambos grupos (material de biopsia y de necropsia) su presencia se manifestó con distinta severidad, en forma de depósitos granulares en el citoplasma de las células mesangiales y en la matriz mesangial (Figura 38, A, B y C).

En algunas biopsias, además de la distribución mesangial, se pudieron apreciar depósitos de Ig M a lo largo de las paredes de los capilares glomerulares (Figura 38, D).

---

Figura 38: A y B- Depósito de Ig M con localización mesangial (→). (StrepABC, 100 y 400 X). C- Depósitos granulares de Ig M exclusivamente en la región mesangial (→). ( StrepABC, 1000 X). D- Depósito granular de Ig M a lo largo de la membrana basal de los capilares glomerulares y en la región mesangial (→). (StrepABC, 1000 X).

**Figura 38**

#### 4-4 Análisis histológico de las lesiones tubulares en el material de biopsia.

En el material de biopsia las lesiones tubulares más sobresalientes se clasificaron en lesiones degenerativas del epitelio tubular, dilatación y presencia de cilindros hialinos. La mayoría fueron consideradas como lesiones moderadas.

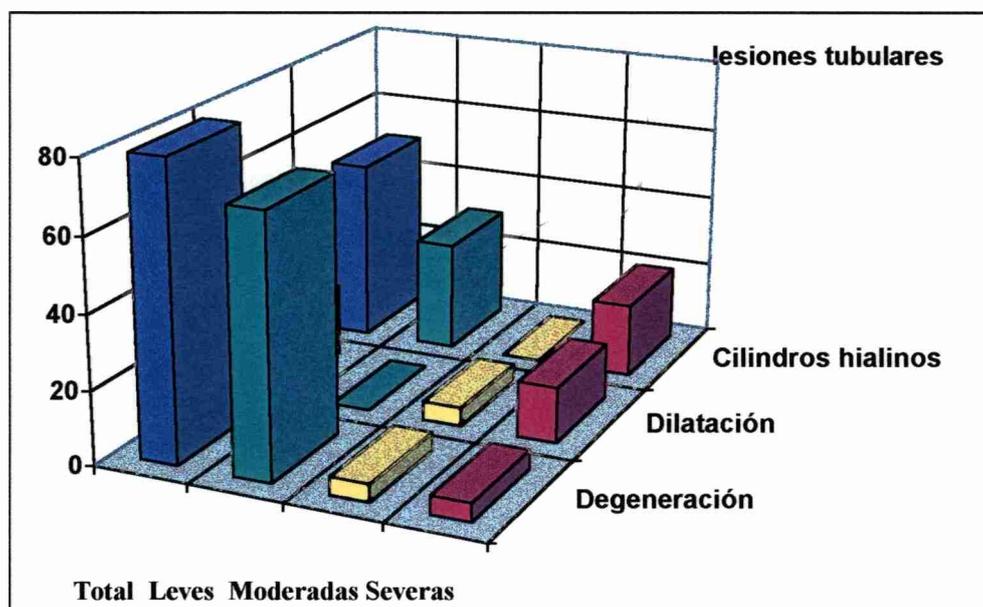
Para determinar la severidad de las lesiones tubulares se tuvieron en cuenta los criterios anteriormente descritos en la especie *Cebus apella*.

En la tabla 17 y en la figura 39 se consignan los resultados del estudio histopatológico de las lesiones tubulares.

**Tabla 17:** Estudio histopatológico de las lesiones tubulares en el material de biopsia y severidad de las mismas (n=20).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Degeneración	14	70	+
	1	5	++
	1	5	+++
Dilatación	1	5	++
	3	15	+++
Cilindros hialinos	6	30	+
	4	20	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 39:** Representación gráfica de las lesiones tubulares y su severidad en el material de biopsia.

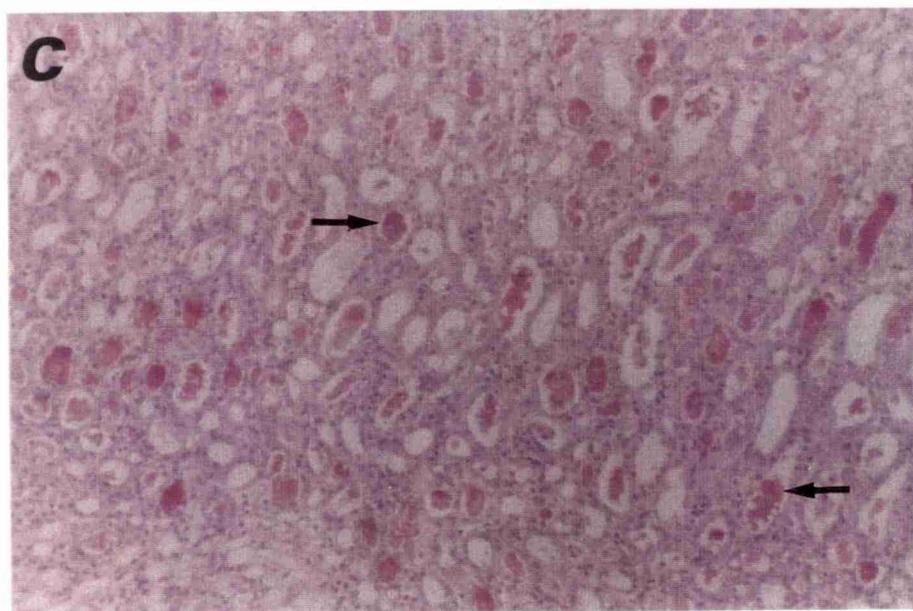
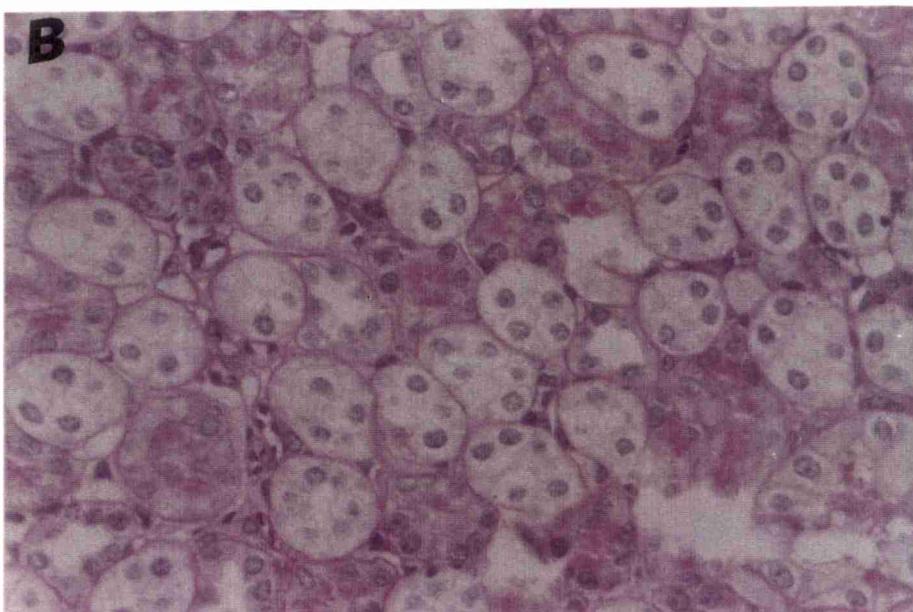
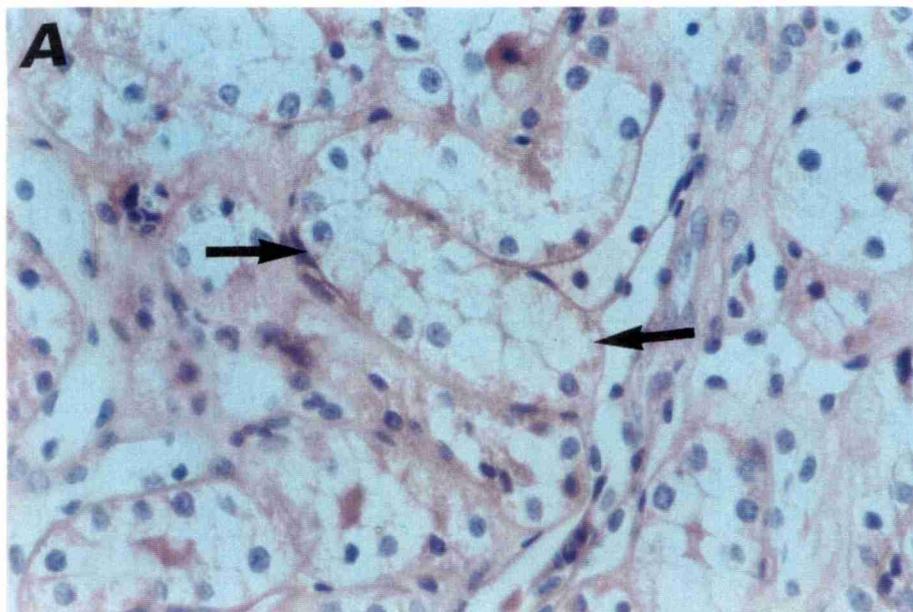
En la degeneración celular las luces tubulares aparecieron reducidas de tamaño y las células que conformaron el epitelio tubular se mostraron tumefactas, muchas de ellas con fenómenos de degeneración hidrópica y otras con marcada acidofilia citoplasmática (Figura 40, A y B).

La dilatación tubular presentó características severas en el 15 % de las 20 biopsias; la mayoría de ellas estuvo relacionada con la presencia de cilindros hialinos en la luz tubular (Figura 40, C). En un elevado número de casos, estas lesiones tubulares se presentaron asociadas principalmente a lesiones intersticiales como fibrosis o infiltrado linfoplasmocitario o a las dos al mismo tiempo y lesiones glomerulares caracterizadas por fibrosis periglomerular, atrofia del ovillo glomerular y hialinosis glomerular.

---

Figura 40: A- Severa degeneración hidrópica tubular global (→). (H y E, 400 X). B- Degeneración hidrópica tubular. (P.A.S, 400 X). C- Severa dilatación tubular con presencia de cilindros hialinos (→). (H y E, 100 X).

**Figura 40**



#### 4-5 Análisis histológico de las lesiones tubulares del material de necropsia

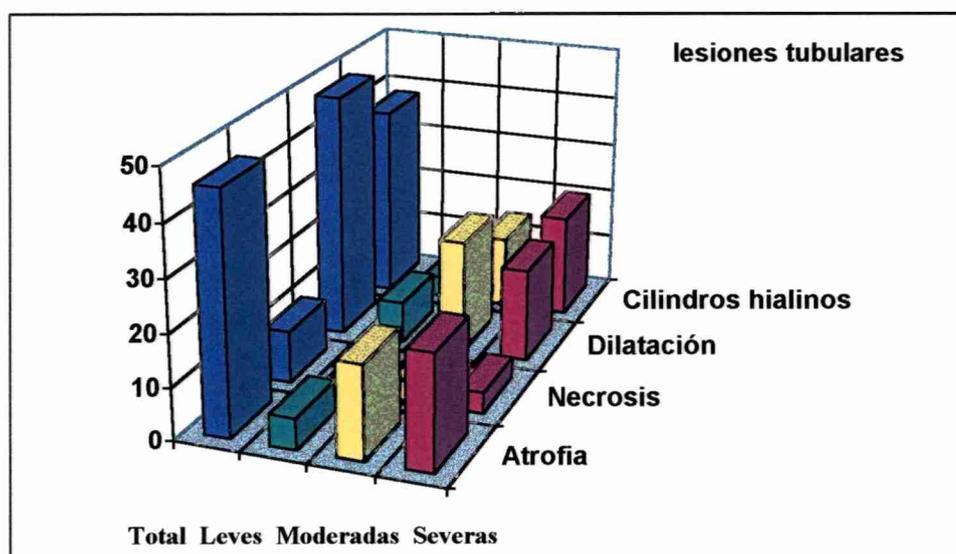
Las lesiones tubulares en el material de necropsia fueron: atrofia, necrosis, dilatación y presencia de cilindros hialinos.

En la tabla 18 y en la figura 41 se consignan los resultados del estudio histopatológico de las lesiones tubulares.

**Tabla 18:** Estudio histopatológico de las lesiones tubulares en el material de necropsia y severidad de las mismas (n=50).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Atrofia	3	6	+
	9	18	++
	11	22	+++
Necrosis	1	2	+
	2	4	++
	2	4	+++
Dilatación	4	8	+
	11	22	++
	9	18	+++
Cilindros hialinos	2	4	+
	7	14	++
	10	20	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 41:** Representación gráfica de las lesiones tubulares y su severidad en el material de necropsia.

Las lesiones predominantes fueron la atrofia y dilatación tubular y, por lo general, estuvieron asociadas a la presencia de cilindros hialinos en la luz de los túbulos.

En la atrofia tubular, la altura del epitelio estaba reducida, los núcleos aparecieron más cercanos y la luz tubular más amplia. En otras formas de atrofia se observó disminución del diámetro externo de los túbulos con disminución del número de células. En algunos casos, el epitelio tubular estaba compuesto por 2 o 3 células y la luz tubular era escasa o nula (Figura 42, A). En estos casos, las células que conformaban el epitelio tubular se mostraron tumefactas y globosas. Los túbulos se presentaron separados por un prominente tejido conectivo intersticial. La atrofia se relacionó con lesiones intersticiales inflamatorias.

La dilatación tubular se caracterizó por el aumento del diámetro externo de los túbulos con incremento de su luz. La presencia de material hialino intraluminal fue un hallazgo frecuente y las estructuras afectadas fueron los túbulos contorneados proximales y los túbulos colectores (Figura 42, B).

Cuando la dilatación tubular abarcó áreas extensas del parénquima renal formó las denominadas imágenes pseudotiroideas, caracterizadas por sectores de dilatación y atrofia tubular con fibrosis intersticial (Figura 42, C).

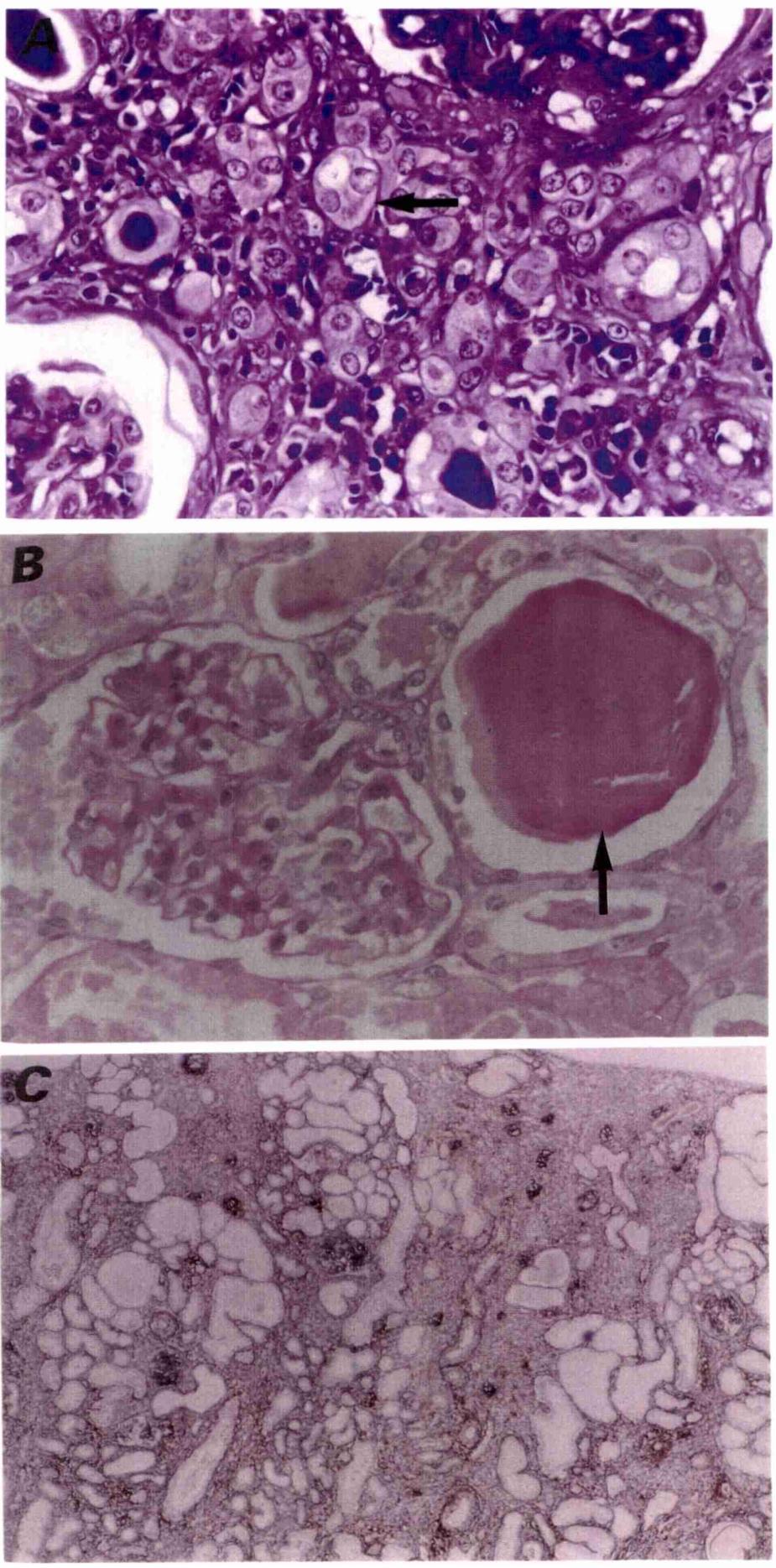
Otro hallazgo frecuente fue la presencia de material cristalino en las luces de los túbulos proximales (cálculos). Dicho material, en la mayoría de los casos, estuvo asociado a dilatación tubular, con presencia de cilindros hialinos y rodeado por infiltrado linfoplasmocitario.

La necrosis tubular se caracterizó por la desaparición de estructuras tubulares, células del epitelio tubular con pérdida de núcleos y núcleos en diferentes grados de lisis, caracterizados por picnosis, cariorexis y cariólisis. En ocasiones se apreció el desprendimiento del epitelio tubular.

---

Figura 42: A- Atrofia tubular con disminución del diámetro externo y reducción de las luces tubulares. Células epiteliales tubulares con citoplasma claro (→). (Imbibición en plástico, azul de toluidina, 400 X). B- Dilatación tubular con cilindro hialino intraluminal (→). (H y E, 200 X). C- Imagen pseudotiroidea caracterizada por sectores de dilatación y atrofia tubular, fibrosis intersticial y atrofia glomerular. (Imbibición en plástico, Movat, 40 X).

**Figura 42**



#### 4-6 Análisis histológico de las lesiones intersticiales en el material de biopsia.

Las lesiones intersticiales en el material de biopsia fueron fibrosis intersticial e infiltrado celular inflamatorio.

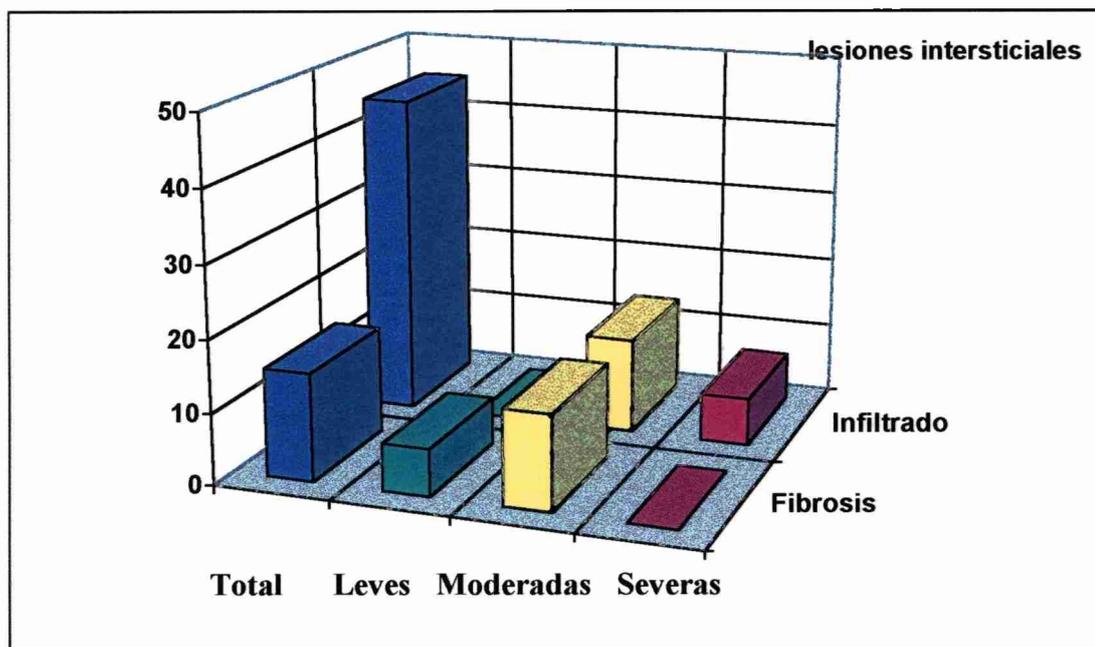
Para determinar la severidad de las lesiones intersticiales, se tuvieron en cuenta los criterios anteriormente descritos en la especie *Cebus apella*.

En la tabla 19 y en la figura 43 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones intersticiales.

**Tabla 19:** Estudio histopatológico de las lesiones intersticiales en el material de biopsia y severidad de las mismas (n=20).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Fibrosis	1	5	+
	1	5	++
	1	5	+++
Infiltrado	6	30	+
	2	10	++
	1	5	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 49:** Representación gráfica de las lesiones intersticiales y su severidad en el material de biopsia.

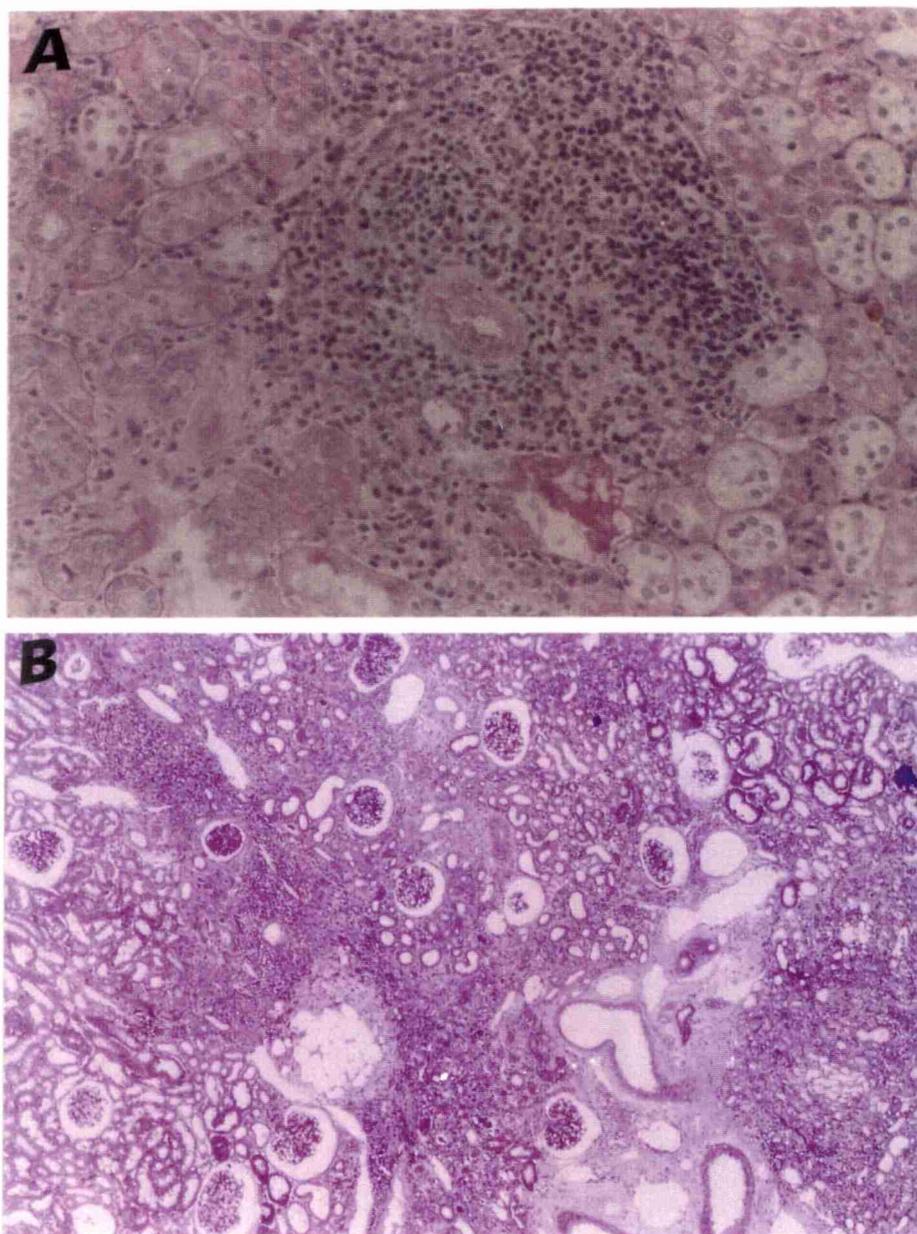
La fibrosis estuvo presente en menor proporción que el infiltrado celular y generalmente se presentó asociada a procesos inflamatorios crónicos, presentando una distribución focal. El infiltrado inflamatorio crónico estuvo compuesto por linfocitos y plasmocitos (Figura 44, A). No obstante, en algunos casos se detectó la presencia de exudado inflamatorio agudo compuesto por leucocitos polimorfonucleares neutrófilos.

Las lesiones intersticiales caracterizadas por infiltrado celular crónico abarcaron grandes sectores y fueron consideradas severas en el 11,1 % de los 9 casos que presentaron este tipo de lesión. Todos estos procesos estuvieron relacionados con alteraciones tubulares como atrofia y dilatación conteniendo material hialino en la luz y con lesiones glomerulares crónicas, tales como fibrosis de la cápsula de Bowman, atrofia del ovillo glomerular y hialinosis glomerular (Figura 44, B).

---

Figura 44: A- Infiltrado intersticial focal compuesto por linfocitos y plasmocitos. (P.A.S, 250 X). B- Nefritis intersticial crónica con dilatación y atrofia tubular. (Imbición en plástico, azul de toluidina, 40 X).

**Figura 44**



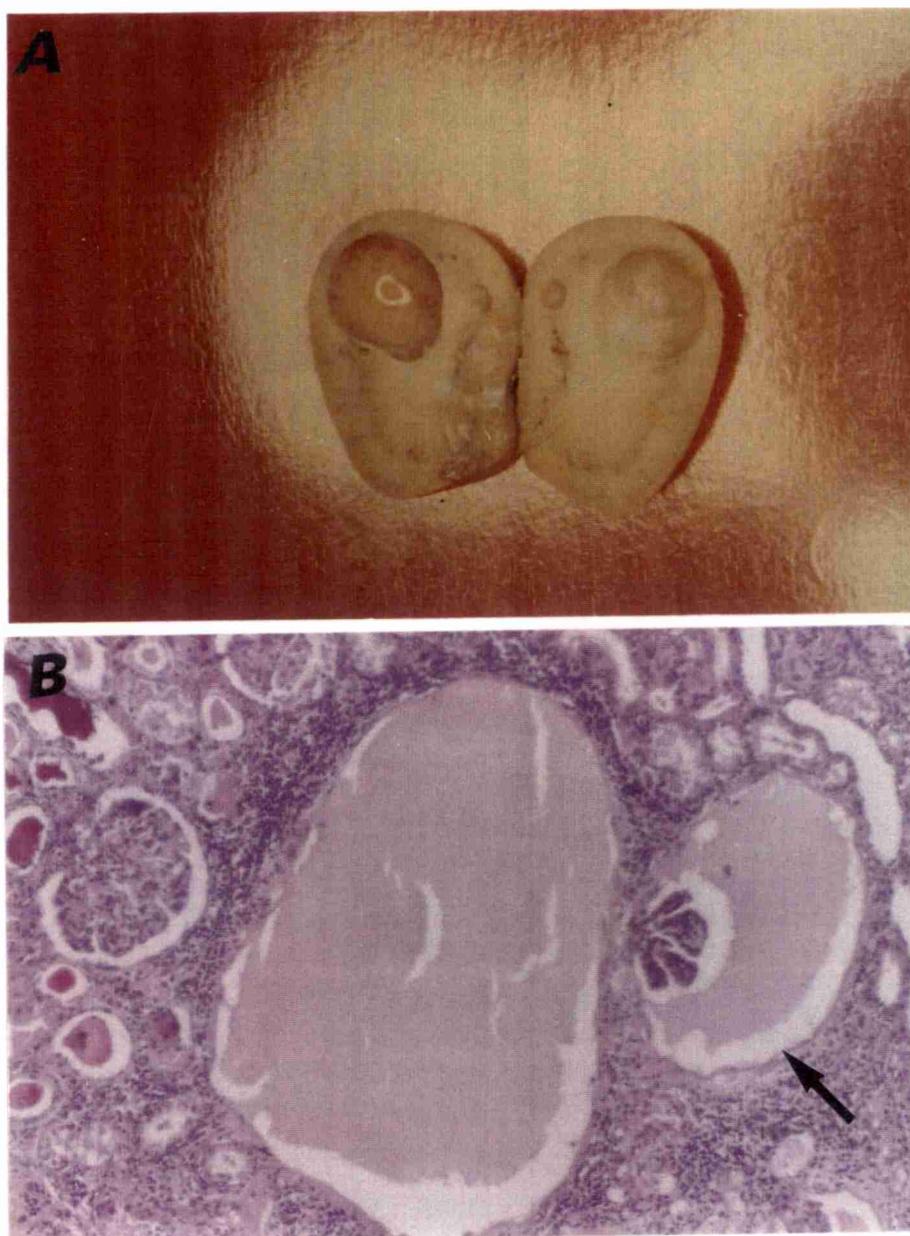
#### **4-7 Análisis histológico de las lesiones intersticiales del material de necropsia**

**Análisis macroscópico :** Las características más destacables de los riñones del material de necropsia consistieron en cambios de coloración. En cuatro especímenes se apreció la superficie externa de color rojo vinoso con aspecto hemorrágico. En seis riñones se observó la presencia de un puntillado blanquecino y estrias del mismo color. A la sección longitudinal, en ocho riñones se observaron formaciones quísticas de tamaños diferentes con contenido acuoso y la presencia de abscesos renales de diversos diámetros en seis casos (Figura 45, A). En dos riñones se observó disminución de tamaño y la superficie de los mismos se presentó rugosa.

El estudio microscópico de este material, demostró que las formaciones quísticas estaban rodeadas por infiltrado inflamatorio crónico y asociadas con atrofia y dilatación tubular, con presencia de cilindros hialinos (Figura 45, B). También se observó la presencia de microabscesos caracterizados por exudado purulento y detritus celulares.

---

Figura 45: A- Quiste renal en el polo superior del riñón derecho con compromiso medular. B- Formaciones quísticas con material hialino rodeadas por infiltrado intersticial crónico, cilindros hialinos en las luces tubulares y quiste glomerular (→). (H y E, 200 X).

**Figura 45**

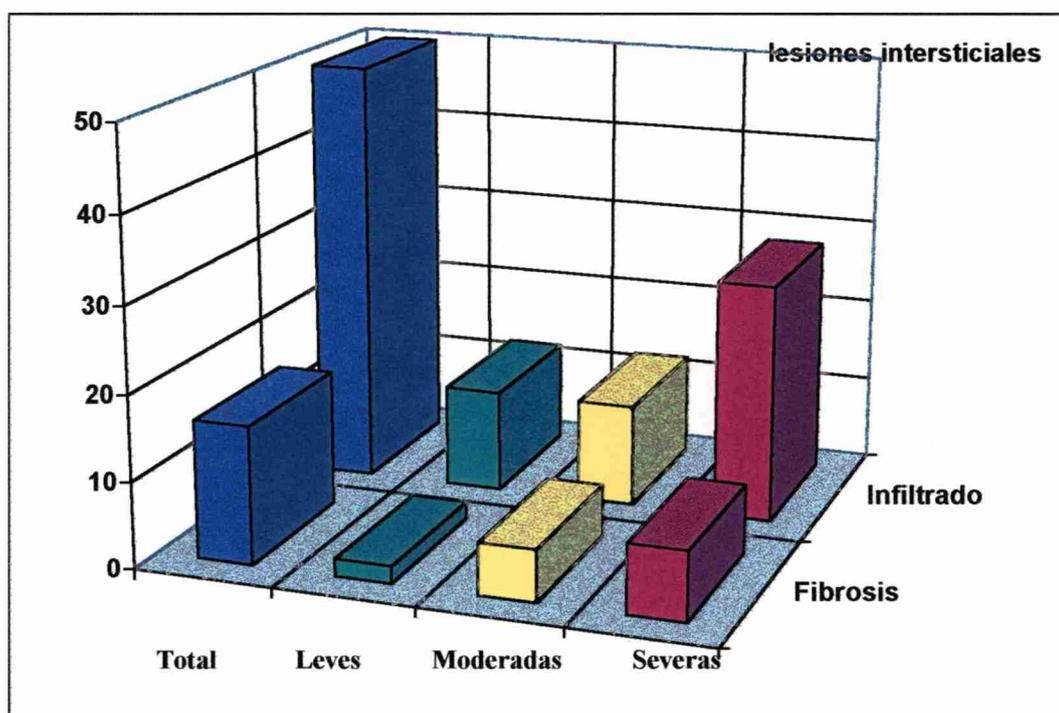
Las lesiones intersticiales más destacables se caracterizaron por fibrosis e infiltrado celular inflamatorio.

En la tabla 20 y en la figura 46 se consignan los resultados del estudio histopatológico y la distribución de las lesiones intersticiales.

**Tabla 20:** Estudio histopatológico de las lesiones intersticiales en el material de necropsia y severidad de las mismas (n=50).

Tipos de lesiones	Animales c/lesiones	Porcentaje	Severidad
Fibrosis	1	2	+
	3	6	++
	4	8	+++
Infiltrado	6	12	+
	6	12	++
	14	28	+++

Los números identifican la cantidad de animales en los que fueron encontradas las lesiones y los porcentajes establecidos se refieren a los animales que presentaron lesiones. Severidad: + leves, ++ moderadas, +++ severas.



**Figura 46:** Representación gráfica de las lesiones intersticiales y su severidad en el material de necropsia.

La fibrosis del intersticio estuvo presente en menor proporción que el infiltrado inflamatorio. La misma tuvo una distribución focal o difusa asociada o no a procesos inflamatorios.

El infiltrado inflamatorio crónico se caracterizó por la presencia de plasmocitos y linfocitos, asociado a atrofia del parénquima con marcada fibrosis intersticial, atrofia y dilatación tubular (Figura 47, A). La distribución del infiltrado fue difusa o focal y, en algunas secciones de tejido renal, este infiltrado inflamatorio fue marcadamente sectorial involucrando a túbulos y glomérulos, los que también mostraron diferentes tipos de lesiones (Figura 47, B y C). En otros casos, se observó infiltrado inflamatorio crónico focal y periglomerular y otras veces solamente periglomerular.

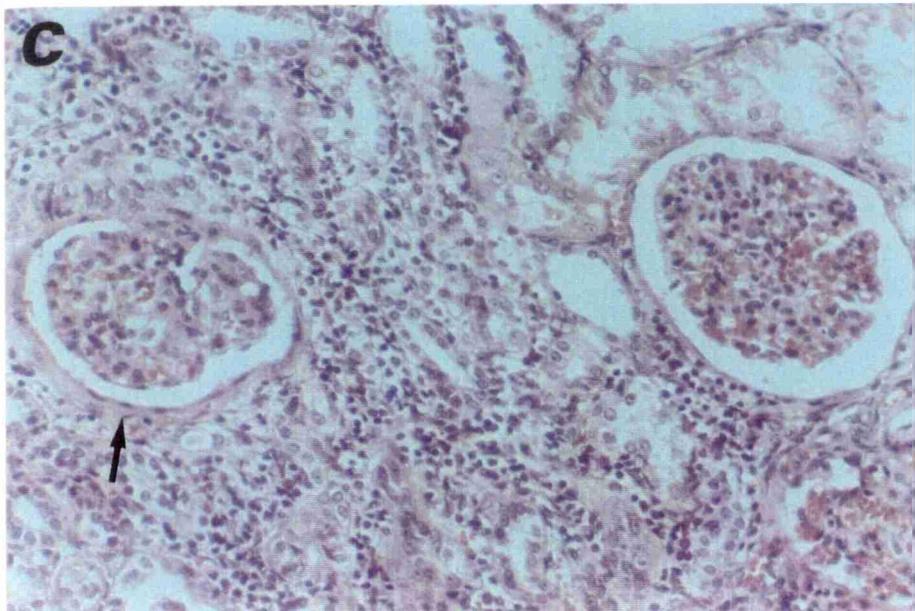
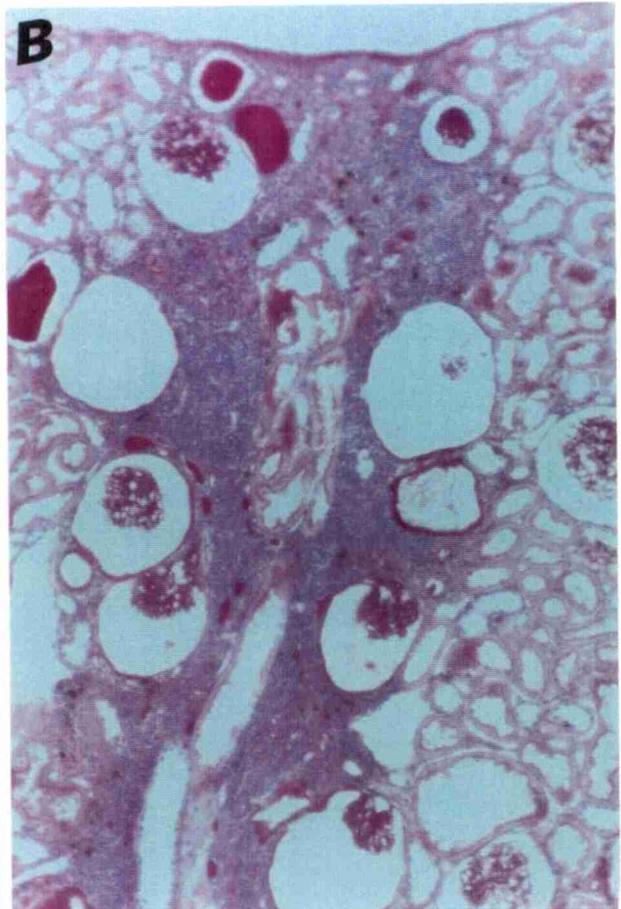
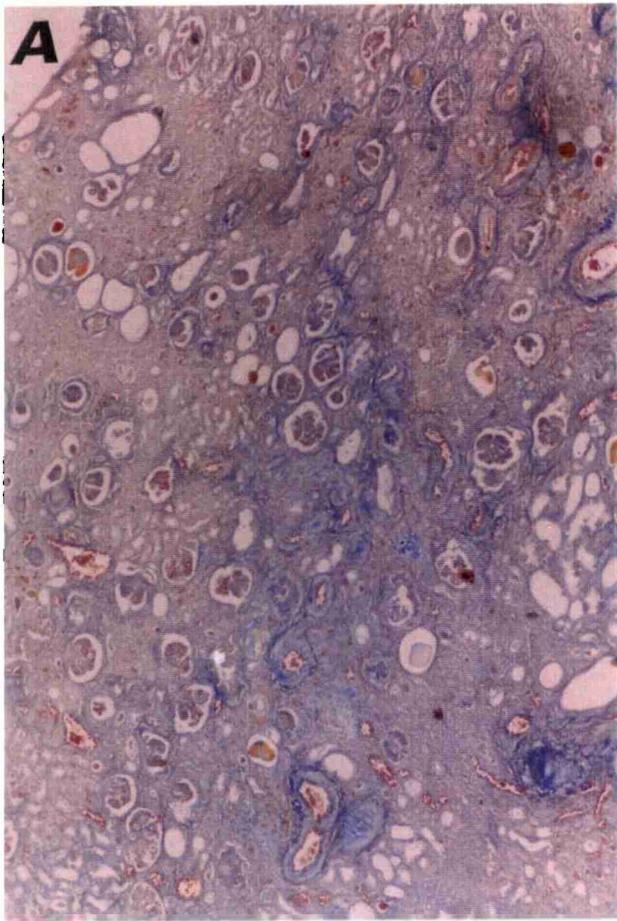
En especímenes del material de necropsia se corroboró la existencia de infiltrado inflamatorio crónico o agudo en la pelvis renal. En los procesos agudos, dicho infiltrado estuvo compuesto por un gran número de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos asociados a colonias bacterianas, presumiblemente de origen ascendente, determinando la formación de microabscesos, con detritus celulares, piocitos, neutrófilos y colonias bacterianas de gérmenes cocoides. En otros especímenes se corroboró diseminación bacteriana en estructuras tubulares y glomerulares. También se evidenció la diseminación progresiva de procesos inflamatorios crónicos desde la pelvis renal hacia el componente intersticial de médula y corteza (Figura 48, A). En dos especímenes se destacó un marcado engrosamiento del epitelio transicional de la pelvis renal, debido a hiperplasia y fenómenos de exocitosis a expensas de células linfoideas (Figura 48, B). Cabe consignar que en el estudio macroscópico, estos riñones presentaron superficie rugosa y disminución de tamaño.

---

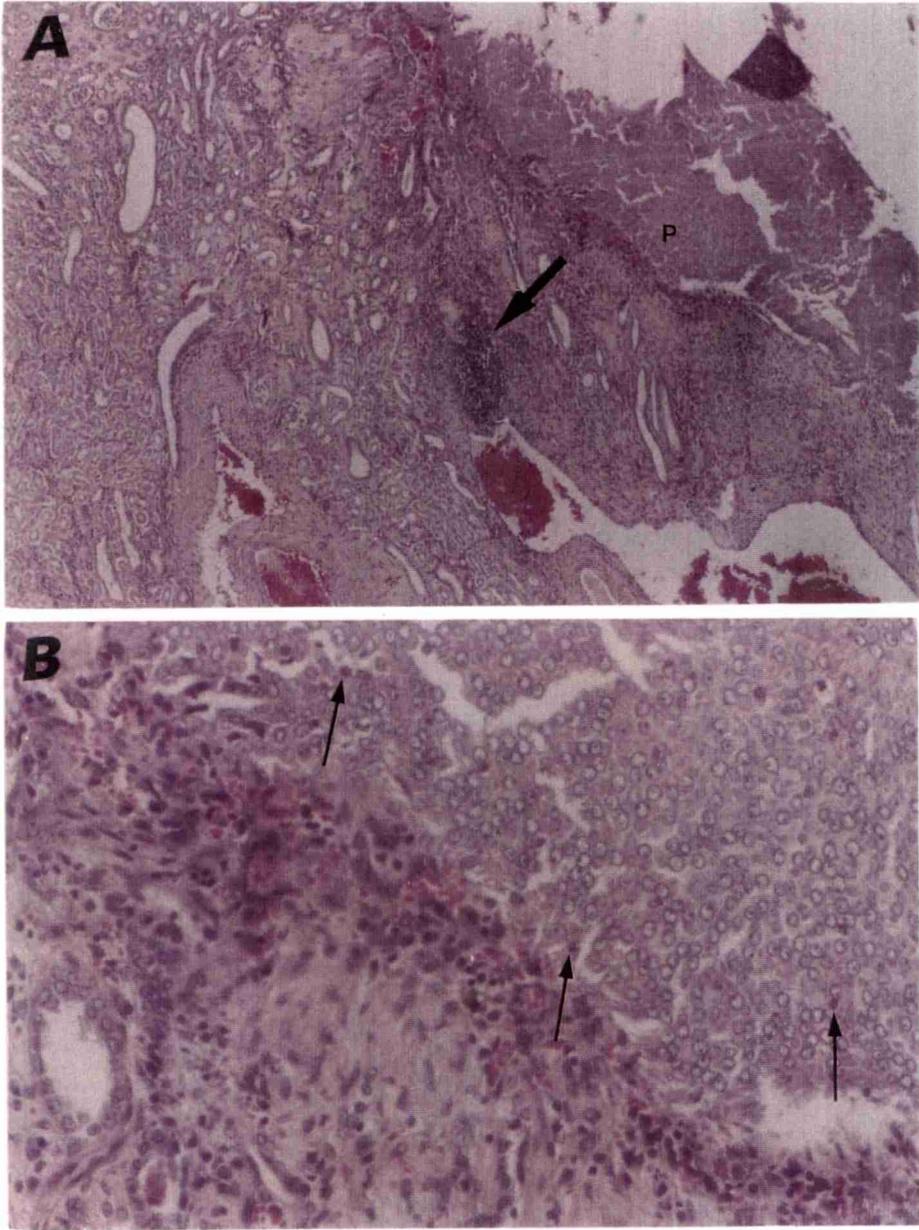
Figura 47 : A- Nefritis intersticial crónica con fibrosis intersticial, severa atrofia glomerular, dilatación y atrofia tubular. (Tricrómica de Mallory, 40 X). B- Infiltrado intersticial focal sectorial con atrofia de los ovillos glomerulares. (P.A.S, 100 X). C- Glomérulo normal en sector de tejido renal sin alteración y glomérulo con incipiente fibrosis de la cápsula de Bowman en sector con lesión intersticial crónica (→). (P.A.S, 200 X).

Figura 48: A- Foco de infiltrado intersticial crónico en pelvis renal (→) e hiperplasia del epitelio transicional de la pelvis renal (P). (H y E, 40 X). B- Hiperplasia del epitelio transicional de la pelvis renal con fenómenos de exocitosis a expensas de células linfoideas (→). (H y E, 200 X).

**Figura 47**



**Figura 48**



#### 4-8 Análisis microbiológico en el material de necropsia.

Con la finalidad de evaluar la presencia de agentes infecciosos en las vías urinarias, en el momento de realizar la necropsia se realizó la toma de muestras de pelvis renal y vejiga urinaria mediante hisopos estériles. En la tabla 21 se consignan los resultados del estudio bacteriológico.

**Tabla 21:** Resultados del estudio bacteriológico en órganos que conforman el aparato urinario en el material de necropsia (n=30).

Tipo de bacteria	Cantidad de animales	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	9	30
<i>Proteus sp.</i>	4	13,3
<i>Streptococcus sp.</i>	4	13,3

El análisis microbiológico demostró que el 56,6% de 30 animales que murieron por diferentes causas, arrojó resultados positivos a distintos tipos de microorganismos.

## V-DISCUSSION

### **Signos clínicos y análisis clínicos de sangre y orina en las enfermedades renales en *Cebus apella* y *Saimiri boliviensis***

Las enfermedades renales en algunas especies de primates del nuevo mundo pueden manifestarse a partir de ciertos signos y síntomas <sup>(216)</sup>

Los resultados de nuestros estudios en el presente trabajo permitieron determinar que tanto *C. apella* como *S. boliviensis* no presentaron signos y síntomas que indicaran la existencia de lesiones renales.

Weller <sup>(216)</sup> sostiene que en el owl monkey los signos clínicos de la enfermedad renal crónica consisten en polidipsia, poliuria, anorexia, deshidratación, depresión, vómito, diarrea, edema periférico y constante pérdida de peso.

En nuestra experiencia, los resultados de los análisis bioquímicos de sangre en la especie *C. apella* no demostraron variaciones de los parámetros estudiados, encontrándose los mismos dentro del rango considerado normal para la especie. Resulta importante destacar que, gran parte de estos primates, presentaron en el estudio histopatológico de las biopsias la existencia de lesiones abarcando diferentes áreas en médula y corteza renal.

En contraposición, en la especie *S. boliviensis*, algunos individuos presentaron valores marcadamente elevados de urea y creatinina sérica. Dichos resultados determinaron que la media de urea y creatinina sérica en el total del grupo se encontrara por encima de los valores considerados normales para la especie. El estudio histopatológico de las biopsias de lo mismos animales demostró la existencia de lesiones túbulo-intersticiales y glomerulares, muchas de ellas con características severas.

En *Aotus muncymai*, primate del nuevo mundo, el diagnóstico de insuficiencia renal está basado en los hallazgos de laboratorio, citándose a la anemia, azotemia, incremento de la creatinina sérica e incremento de la concentración de fosfato en suero como elementos de valor diagnóstico <sup>(216,218)</sup>. En esta especie es posible determinar, mediante los análisis clínicos, la existencia de un síndrome nefrítico <sup>(216)</sup>.

En *Callithrix jacchus* y *Saguinus mystax*, dos especies de primates del nuevo mundo, se describe una glomerulonefritis mesangioproliferativa y algunas nefropatías

mediadas inmunológicamente, caracterizadas por depósitos de Ig A <sup>(179,215)</sup>. En estos casos los animales no presentan sintomatología clínica ni alteraciones en los resultados de los análisis bioquímicos en cuanto a creatinina y urea sérica. En estas especies, la alteración de estos parámetros se manifiesta particularmente en la etapa final del denominado síndrome de desgaste (Wasting Marmoset Syndrome) caracterizado por pobre ganancia de peso, anorexia, alopecia, anemia, diarreas transitorias y susceptibilidad a agentes infecciosos oportunistas, con marcada albuminuria <sup>(179)</sup>. La deficiencia crónica de proteína es el factor fundamental en la patogénesis de esta condición <sup>(8,128, 179,215)</sup>.

La determinación de los valores de proteína en orina resulta de gran valor en el diagnóstico de insuficiencia renal <sup>(108)</sup>. Guyton <sup>(90)</sup> sostiene que una de las determinaciones de mayor importancia en la realización de los análisis químicos de orina es la cuantificación de la proteína en la misma, necesaria para documentar la proteinuria.

En nuestro trabajo, y durante la evaluación de los resultados de los análisis químicos de orina tomados mediante tiras reactivas, se determinó en algunos de los animales de la especie *C. apella* la existencia de una leve proteinuria, la que luego se corroboró a través de la prueba de Heller, a pesar del escaso volumen de orina obtenido.

En los individuos en que se constató proteinuria también se hallaron, mediante el estudio histopatológico de las biopsias, lesiones túbulo-intersticiales y glomerulares, lo que demuestra la relación existente entre proteinuria y lesiones renales.

En la especie *S. boliviensis*, los resultados de los análisis bioquímicos de orina no evidenciaron modificaciones relevantes que indicaran la existencia de algún tipo de lesión.

En primates de la especie *Aotus*, la hipoproteinemia y la proteinuria siempre están presentes. Esta proteinuria anormal puede resultar de una hemorragia o de un proceso inflamatorio en algún punto del tracto urinario. En estos casos, la presencia de proteína en orina podría deberse a causas ajenas a las lesiones renales <sup>(216)</sup>.

En *Macaca nemestrina*, primate del viejo mundo, las enfermedades renales se manifiestan bioquímicamente con una elevada proteinuria <sup>(25)</sup>.

La evaluación del sedimento urinario es de gran importancia en el estudio de las enfermedades renales. La misma brinda diferentes resultados en las distintas especies de primates, los que, generalmente, están relacionados con los análisis químicos de orina.

En nuestro estudio, en la especie *C. apella*, la proteinuria fue corroborada indirectamente a través del estudio microscópico del sedimento urinario. En dicho análisis se determinó la presencia abundante de cilindros hialinos, cilindroides, cilindros hemáticos y cilindros granulados.

Los cilindros hialinos son el resultado de la presencia de proteína de origen tubular y/o glomerular y los demás elementos como cilindroides, cilindros granulados y cilindros hemáticos están formados internamente por una matriz proteica, sobre la cual se agregan los demás elementos celulares <sup>(89,126,127)</sup>.

En el estudio del sedimento urinario, en la especie *C. apella*, llamó la atención el elevado porcentaje de animales en los que se observó la presencia de leucocitos. El hallazgo de estos elementos celulares estaría indicando la existencia de un posible proceso inflamatorio en las vías urinarias ascendentes. Algunos autores <sup>(126)</sup> consideran normal la presencia de 5 a 10 leucocitos por campo de mayor aumento. Su incremento se debe a procesos inflamatorios del aparato urinario, principalmente infecciosos, aunque también puede ser por causas no infecciosas del riñón, uréteres, vejiga, próstata y uretra <sup>(89,127)</sup>

Otros elementos hallados en el estudio del sedimento urinario en esta especie fueron glóbulos rojos, células epiteliales y cilindros hemáticos. Creemos prudente no asignarle valor a su presencia, ya que la misma pudo haberse debido al método utilizado para la obtención de orina. Se considera normal la presencia de 5 a 8 glóbulos rojos por campo de mayor aumento. Cantidades mayores pueden deberse a enfermedades túbulo-intersticiales, glomerulopatías inflamatorias, enfermedades prostáticas y traumatismos del aparato urinario <sup>(89,126)</sup>

En el estudio del sedimento urinario de *S. boliviensis*, los elementos observados en mayor proporción fueron células epiteliales e hilos mucosos, en tanto que los demás elementos estuvieron presentes en menor proporción. Las células epiteliales pertenecían al epitelio uretral, vesical y vaginal lo que hace suponer que su presencia se debió a las maniobras realizadas para la obtención de orina.

Algunos autores sostienen que en ciertas especies de primates el análisis del sedimento urinario brinda escasa información <sup>(216)</sup>. En *Aotus nancymai*, muchas veces la ausencia de sedimento urinario indica enfermedad renal <sup>(218)</sup>.

Es importante destacar que, en la especie *C. apella*, la extensión de las lesiones observadas en el estudio histopatológico de las biopsias no abarcaban áreas extensas en el parénquima renal. Esta podría ser una de las causas por lo que la función renal no se encontró comprometida y los valores de los análisis sanguíneos permanecieron dentro del rango normal.

En tres individuos de la especie *S. boliviensis* se verificó una relación entre los resultados elevados de urea y creatinina sérica con las lesiones halladas durante el estudio histopatológico. Debe destacarse que las lesiones observadas en estos individuos eran más severas y abarcaban áreas más extensas en el parénquima renal que en la especie *C. apella*.

En el hombre, la función renal se encuentra alterada en diferentes tipos de glomerulonefritis cuando la lesión abarca áreas extensas de la estructura renal<sup>(170)</sup>. En otros casos, la misma permanece normal durante la fase latente o crónica de algunas glomerulonefritis, dependiendo de la evolución de las lesiones<sup>(99)</sup>.

### **Biopsias**

En la totalidad de los casos, las biopsias se realizaron en el riñón izquierdo, el cual presenta una disposición anatómica (1 cm más hacia caudal que el riñón derecho) que facilita la maniobra. Las biopsias renales se obtuvieron mediante laparotomía y por método percutáneo o ciego. Ambos métodos pueden considerarse adecuados, de bajo costo y óptimos para el estudio microscópico. El 100 % de los animales sometidos a la biopsia se recuperaron sin complicaciones. El material obtenido permitió el estudio de estructuras tubulares, intersticiales y glomerulares.

La diferencia fundamental entre ambas técnicas fue que, a través de la técnica directa, se tuvo un absoluto control sobre el sitio de la biopsia. Esto posibilitó un buen control hemostático y una amplia visualización del riñón y de los vasos renales, lográndose biopsias selectivas de determinados sectores del riñón y masas de parénquima renal libres de tejidos adyacentes.

En cuanto al número de glomérulos, las dos técnicas resultaron adecuadas en las dos especies de primates, a pesar de la diferencia de tamaño corporal existente entre ambas (*C. apella* con un promedio de 2,100 kg y *S. boliviensis* con un promedio de 550 g).

Cuando la biopsia se realizó mediante laparatomía se obtuvieron, en promedio, 10 glomérulos y a través de la técnica percutánea un promedio de 8 glomérulos.

Algunos autores consideran que la biopsia renal es adecuada cuando pueden observarse no menos de cinco glomérulos <sup>(228)</sup>.

### **Evaluación de lesiones glomerulares**

La lesión glomerular más frecuente en las dos especies de primates, tanto en material de biopsia como de necropsia, fue la GN mesangioproliferativa. En la especie *C. apella*, esta lesión estuvo presente en el 46,6 % de las biopsias y en el 41 % del material de necropsia, en tanto que en la especie *S. boliviensis* se observaron lesiones mesangiales en el 35 % de las biopsias y en el 40 % del material de necropsia.

En primates del nuevo mundo, tamarinos y marmoset, Brack <sup>(29,31)</sup> sostiene que los cambios glomerulares dominantes son la hiperplasia mesangial con incremento de la matriz mesangial.

Rotter <sup>(170)</sup> afirma que, en humanos, la mayor cantidad de las lesiones glomerulares ocurre en el mesangio. También opina que el mesangio es la estructura glomerular más sensible y, en consecuencia, la más afectada, reaccionando con proliferación celular e incremento de la matriz mesangial. Otros investigadores <sup>(137,178)</sup> sostienen que el curso de esta lesión es relativamente prolongado, debido a que es el primer componente glomerular en reaccionar ante las injurias y el último en retornar al estado normal.

Laberke <sup>(124)</sup> afirma que, en humanos, la presencia de severas GN mesangioproliferativas asociadas a nefritis intersticiales difusas es compatible con función renal normal.

En las GN mesangioproliferativas la circulación sanguínea y la función renal permanecen sin alteraciones <sup>(18,170)</sup>.

Teniendo en cuenta las apreciaciones de Laberke y Rotter <sup>(152,170)</sup>, referente a que en las nefritis intersticiales severas y en las GN mesangioproliferativas la circulación sanguínea y la función renal pueden permanecer normales, podemos inferir que dichas

lesiones en estos animales tampoco se expresaron a través de los análisis bioquímicos de sangre.

En nuestro estudio, las GN caracterizadas por incremento de matriz mesangial y depósitos de Ig M se constataron en el 50 % de las biopsias y en el 26 % del material de necropsia de la especie *S. boliviensis*.

Brack <sup>(29,31)</sup> demuestra, mediante estudios inmunohistoquímicos en tamarinos y marmoset, que en los cambios glomerulares caracterizados por hiperplasia mesangial con incremento de la matriz mesangial, la Ig M se encuentra presente en el 100% de los casos. La misma se encuentra presente en tres sitios, predominantemente en el mesangio, ocasionalmente a lo largo de la pared de los capilares glomerulares e infrecuentemente en cilindros hialinos.

Couser y Stilmant <sup>(45)</sup> sostienen que, en ratas de edad avanzada, los depósitos de Ig M preceden y probablemente llevan a la lesión glomerular. Por otro lado, Bolton y colaboradores <sup>(20)</sup> indican que los depósitos de Ig M en estos animales son independientes de la lesión glomerular.

Algunos autores describen a la GN mesangioproliferativa en el hombre como una entidad caracterizada morfológicamente por el incremento de la celularidad mesangial y depósitos de Ig M con distribución mesangial. Se la considera como una entidad clínica e inmunopatológica distinta, con respuesta variable al tratamiento y pronóstico relativamente benigno <sup>(15,41,54,125)</sup>.

En la especie *C. apella*, utilizando técnicas de inmunohistoquímica con anticuerpos primarios de conejo contra inmunoglobulinas A, G y M humana, no observamos la presencia de Ig A, Ig G o Ig M.

Algunos investigadores <sup>(223)</sup> sostienen que, frecuentemente, los resultados negativos en las técnicas inmunohistoquímicas para la determinación de ciertos anticuerpos en materiales incluidos en parafina, se deben a la falta de especificidad de los anticuerpos primarios utilizados. Probablemente, esta podría ser la causa por la que no se pudo demostrar la presencia de Ig A, Ig G o Ig M en la especie *C. apella*.

En muchos casos, puede existir una lesión crónica, pero puede no detectarse Ig G, A o M, debido, precisamente, a la evolución del proceso <sup>(42)</sup>.

En nuestro estudio, las lesiones de membrana ocuparon un segundo lugar en cuanto a frecuencia. En la especie *C. apella*, estas lesiones estuvieron presentes en el 26,5 % de las biopsias y en el 17,5 % del material de necropsia. En la especie *S. boliviensis*, las lesiones de membranas se observaron en el 5 % de las biopsias y en el 30 % del material de necropsia. En la mayoría de los animales de las dos especies que presentaron lesiones en la membrana basal glomerular, y mediante la utilización de técnicas de impregnación con sales de plata, se observó que la misma estaba engrosada y/o duplicada con dos o más capas paralelas. En otros casos, estas lesiones estuvieron asociadas con un incremento de la matriz mesangial. No fue posible demostrar la presencia de depósitos granulares de inmunocomplejos en el lado epitelial de la membrana basal en ninguna de las dos especies.

Rotter <sup>(170)</sup> opina que, en los estados avanzados de las nefropatías membranosas, los complejos inmunes se disuelven en el interior de la membrana basal y esta aparece vacuolada y duplicada. Al mismo tiempo, existe un incremento de la matriz mesangial.

Para muchos autores, la formación de nuevas membranas tiene su origen en el depósito de material fibrinoide del lado epitelial o interno de la membrana basal ; el mismo es el producto de las células mesangiales, endoteliales o epiteliales <sup>(18, 137,170,228)</sup>

Basándonos en estas observaciones y en coincidencia con las opiniones de autores como Rotter <sup>(170)</sup>, pensamos que no fue posible la observación de los depósitos granulares de inmunocomplejos en el lado externo de la membrana basal de los capilares glomerulares, debido a que la mayoría de los casos que presentaron este tipo de lesión eran nefropatías crónicas y, probablemente, de origen inmunológico.

En la especie *S. boliviensis* y en el material de biopsia, mediante la utilización de técnicas inmunohistoquímicas, se determinó, ocasionalmente, la presencia de Ig M a lo largo de la membrana basal glomerular.

Las GN espontáneas, asociadas con el depósito de complejos inmunes, también están documentadas en prosimios (*Galago sp.*)<sup>(37)</sup>, primates del nuevo mundo (*Aotus trivirgatus*) <sup>(107,119)</sup> y en primates del viejo mundo (*Macaca fascicularis* <sup>(153)</sup> y *Macaca nemestrina*)<sup>(25,74)</sup>.

La GN membranoproliferativa también puede ser mediada inmunológicamente y, dentro de las GN, es considerada la más severa. A su vez, puede ser idiopática o secundaria y puede ocurrir en asociación con enfermedades sistémicas <sup>(70)</sup> o en pacientes inmunodeprimidos <sup>(34,117,134,149)</sup>.

En las nefritis por complejos inmunes, las causas son usualmente desconocidas (GN membranosas idiopáticas). El antígeno es conocido en, solamente, un limitado número de casos, por ejemplo en la sífilis generalizada, hepatitis B, lupus eritematoso, sarcoidosis, tumores malignos, etc. <sup>(170)</sup>.

Algunos autores <sup>(28,32,78)</sup> afirman que los antígenos que provocan incremento de Ig M como respuesta, pueden variar considerablemente, pudiendo ser de origen medio ambientales, dietéticos o infecciosos.

En nuestro estudio, la evaluación de los extendidos sanguíneos y gota gruesa, arrojó resultados positivos para microfilarias en la especie *Cebus apella* y para *Plasmodium sp.* en la especie *S. boliviensis*.

En la especie *C. apella* se constataron anticuerpos contra antígenos de *Toxoplasma gondii* en la dilución 1/512 en el 13,3 % de los animales y anticuerpos contra antígenos de *Trypanosoma cruzi* en la dilución 1/32 en el 6,6 % de los animales.

Teniendo en cuenta estos resultados y las apreciaciones de numerosos autores, de que los antígenos que provocan incremento de Ig M pueden ser de orígenes diversos y que las causas de las nefritis por complejos inmunes son usualmente desconocidas, sugerimos que la presencia de estos parásitos podría inducir la formación de Ig M o la formación de complejos inmunes como respuesta.

Entre las lesiones glomerulares, la fibrosis ocupó un lugar destacado en el material estudiado. En la especie *C. apella*, esta lesión estuvo presente en el 13,2 % de las biopsias y en el 5,8 % de los especímenes del material de necropsia, en tanto que en la especie *S. boliviensis* se observó fibrosis glomerular en el 10 % de las biopsias y en el 24 % del material de necropsia.

Meadows <sup>(137)</sup> afirma que la fibrosis peri e intraglomerular, lleva a la fibrosis total del glomérulo.

En la descripción de las lesiones glomerulares hemos indicado la existencia de la combinación de las mismas. Una de las combinaciones más frecuentes fue la de glomérulos con lesiones de membrana y otros con fibrosis glomerulares intensas. A nuestro criterio, las lesiones de membrana conducen a lesiones glomerulares severas, tales como esclerosis y hialinización.

En nuestro estudio, no se observó hialinización glomerular en las biopsias pertenecientes a primates de la especie *C. apella*, pero estuvo presente en el 5,8 % de los especímenes en el material de necropsia. En la especie *S. boliviensis*, se observó hialinización glomerular, tanto en biopsias como en el material de necropsia, en un 15 % y un 26 % de las muestras, respectivamente.

En dos especies de primates del viejo mundo, *Macaca mulatta*<sup>(184)</sup> y *Papio cynocephalus*<sup>(26)</sup>, se cita la hialinización ocasional de glomérulos.

Zollinger<sup>(228)</sup> afirma que, en el hombre, la hialinización del 70 a 80 % de los glomérulos en una biopsia de adecuado tamaño significa el estadio final de una enfermedad renal.

Meadows<sup>(137)</sup> opina que estas lesiones son consecuencia de alteraciones ultraestructurales que ocurren en la etapa neonatal.

Otros autores<sup>(99,228)</sup> sostienen que esta lesión se debe a la sumatoria de pequeñas injurias que ocurren durante la vida. Por otro lado, afirman que, en el hombre, estos glomérulos son encontrados más frecuentemente en el área subcapsular que en la zona yuxtamedular.

En nuestro estudio, este tipo de lesión se observó más frecuentemente en el área yuxtamedular.

### **Evaluación de las lesiones renales tubulares e intersticiales**

Tanto en el material de biopsia como de necropsia, las lesiones tubulares e intersticiales variaron considerablemente en lo referente a sus combinaciones. En la mayoría de los casos existió combinación de lesiones en un mismo individuo, debido a que las alteraciones afectaron una o más estructuras del parénquima renal.

De esta manera, se pone en evidencia el concepto vertido por numerosos autores, referido a que la lesión de una de las estructuras renales lleva, casi siempre, a la afección secundaria de las demás <sup>(58,99,161)</sup>.

Durante el estudio histopatológico de las biopsias y entre las lesiones tubulares, la degeneración celular del epitelio fue la más frecuente. En la especie *C. apella*, esta lesión estuvo presente en el 53,2 % de las biopsias y en la especie *S. boliviensis* en el 80 % de las mismas. Esta lesión se caracterizó porque las luces tubulares aparecieron reducidas en tamaño y las células que conformaban el epitelio se mostraron tumefactas y con fenómenos de degeneración vacuolar.

Llamó la atención que la tumefacción tuvo características similares en todos los animales sometidos a biopsia, pero con mayor incidencia en la especie *S. boliviensis*, razón para suponer que la misma podría ser la consecuencia de alteraciones pos-biopsia.

Zollinger <sup>(228)</sup> destaca que estos cambios celulares no son regularmente encontrados en el hombre pero sí en animales de experimentación.

Bohle <sup>(18)</sup> manifiesta que, en humanos, estos cambios epiteliales ocurren en el material de biopsia en el tiempo transcurrido entre la extracción de la muestra de tejido y la fijación del mismo. En este tiempo se produce la captación pasiva de fluidos a partir de la luz tubular y, probablemente, exista interrupción de la actividad de la bomba de sodio. En consecuencia, las células del epitelio tubular sufren inmediatamente fenómenos de tumefacción.

En primates del viejo mundo y entre las lesiones degenerativas en *Macaca nemestrina*, se describe la nefrosis tubular. La misma se caracteriza por pérdida del ribete en cepillo y disminución de la altura del epitelio tubular pasando a un patrón cuboidal con incremento del diámetro de la luz tubular <sup>(74)</sup>.

Otra lesión en las dos especies estudiadas en nuestra experiencia fue la dilatación tubular. La misma se observó más frecuentemente en el material de necropsia que en el de biopsia.

Para algunos autores, la dilatación tubular está relacionada con el incremento de la presión intratubular <sup>(137,228)</sup>.

En este trabajo no describimos fenómenos de hipertrofia, debido a que la hipertrofia de los túbulos es también considerada una dilatación tubular<sup>(228)</sup>.

La dilatación tubular se presentó asociada con procesos inflamatorios crónicos del intersticio y, más frecuentemente, relacionadas con la presencia de un material cristalino en las luces tubulares. Esta característica fue más frecuente en *S. boliviensis* aunque también se observó en *C. apella*, vinculada con la presencia de sales de calcio en la luz tubular.

En la especie *C. apella*, la lesión más frecuente en el material de necropsia fue la atrofia tubular. La misma estuvo presente en el 35,28 % de los especímenes, en tanto que en la especie *S. boliviensis*, este tipo de lesión se observó en el 46 % de los casos.

En la especie *S. boliviensis*, a diferencia de *C. apella*, se constató una segunda forma de atrofia. En ésta, los túbulos estaban formados por no más de dos células epiteliales, no observándose, prácticamente, luz tubular.

Zollinger<sup>(228)</sup> describe lesiones de atrofia tubular con similares características en humanos.

En el material de necropsia de ambas especies observamos necrosis tubular. Las estructuras afectadas fueron segmentos de los túbulos proximales, mientras que la membrana basal permaneció intacta. Esta necrosis podría interpretarse como una lesión de probable origen tóxico, ya que mediante consulta de las fichas de los individuos que la presentaron, se determinó que estos animales fueron sometidos a antibioticoterapias asociadas a baños de inmersión o pincelaciones con soluciones yodadas en los días previos a su muerte<sup>(130)</sup>.

La alteración más frecuente en el tejido intersticial de las dos especies de primates fue el infiltrado leucocitario, generalmente compuesto por linfocitos y plasmocitos, y asociado, en la mayoría de los casos, con fibrosis intersticial. Esta lesión fue más frecuente en *S. boliviensis* que en *C. apella*, tanto en material de necropsia como en material de biopsia.

En algunos especímenes se apreciaron lesiones intersticiales crónicas, que abarcaban solamente un sector del corte histológico. En nuestra opinión, estas lesiones

podrían ser causadas por hemoparásitos (por ej. microfilarias) que enlentecen u obstruyen la circulación capilar.

Nuestra opinión se basa en los resultados de la lectura de los extendidos sanguíneos y de la gota gruesa. En la especie *C. apella*, los mismos indicaron que el 26,6 % fueron positivos a microfilarias, encontrándose 1 a 2 microfilarias por extendidos y el 33,3 % fueron positivos a microfilarias por el método de la gota gruesa, observándose entre 4 a 7 microfilarias por gota.

En la especie *C. apella*, algunos autores sugieren que la nefritis intersticial crónica, caracterizada por abundante infiltrado leucocitario y fibrosis, es provocada por las microfilarias <sup>(174)</sup>.

Por otro lado, las características morfológicas de algunas lesiones nos permiten sugerir que la mayoría de ellas tuvo su foco inicial en procesos inflamatorios de la pelvis renal y que luego progresaron a lesiones renales más extensas. Esto podría ser una particularidad de los animales en cautiverio (los que están más expuestos a estar en contacto con las heces), ya que en los resultados de los estudios bacteriológicos de riñones del material de necropsia se determinó la presencia de bacterias entéricas (*Escherichia coli*, *Proteus sp.*, *Streptococcus sp.*).

En el material de biopsia no se pudieron establecer procesos inflamatorios en la pelvis renal, debido a que ninguna de las muestras obtenidas involucró a la misma. En el material de necropsia, y en algunos especímenes, se observó en la pelvis renal la presencia de epitelio transicional hiperplásico con fenómenos de exocitosis. En los mismos casos también se observó la presencia de sales de calcio en los túbulos colectores, razón por la cual inferimos que dicha lesión podría deberse a la acción irritante provocada por la presencia de sales de calcio.

Laberke <sup>(124)</sup> afirma que, en el hombre, la aparición de severas nefritis intersticiales difusas es compatible con función renal normal.

Por otro parte, y para algunos autores, todos lo procesos que asientan en el intersticio renal conducen, finalmente, al incremento del colágeno y éste lleva a la retención de sustancias que usualmente son eliminadas con la orina, a pesar de no observarse cambios

glomerulares. Esto se debe a que existen, principalmente, compresión o destrucción de capilares y atrofia de túbulos <sup>(133,152)</sup>.

## VI- CONCLUSIONES

Del presente estudio pueden extraerse las siguientes conclusiones:

### 1- En relación a los análisis bioquímicos de sangre y orina.

En la especie *C. apella* y *S. boliviensis* los animales no manifestaron sintomatología alguna que indicara la existencia de enfermedad renal.

Del estudio de los resultados de los análisis bioquímicos de sangre en la especie *C. apella*, surge que los valores normales no se modifican ante la existencia de lesiones renales con características leves y moderadas, si bien dichos valores podrían modificarse en etapas más avanzadas o ante la presencia de lesiones severas.

El análisis microscópico del sedimento urinario es de valor diagnóstico para la determinación de lesiones renales en primates de la especie *C. apella*. Esto se basa en que los resultados de los análisis bioquímicos de orina que indicaron leve proteinuria, se relacionaron con la presencia de elementos de constitución proteica durante el estudio del sedimento urinario y con la presencia de lesiones renales.

El estudio de los resultados de los análisis bioquímicos de sangre en la especie *S. boliviensis* permitió corroborar que existe relación entre lesiones renales severas y valores elevados de urea y creatinina sérica.

Los análisis bioquímicos de orina para la determinación de las alteraciones renales en la especie *S. boliviensis* no tienen valor diagnóstico al igual que el estudio microscópico del sedimento urinario, debido a la escasez o ausencia del mismo.

### 2- Con respecto a la realización de la biopsia renal.

Los métodos utilizados para la realización de la biopsia renal en ambas especies de primates pueden considerarse apropiados, debido a que el 100 % de los animales sometidos a la biopsia se recuperaron sin complicaciones, a su bajo costo y a que el material obtenido fue óptimo para el estudio microscópico.

La realización de biopsias renales con las técnicas utilizadas en este estudio son consideradas apropiadas para una completa evaluación morfológica renal.

La realización de biopsias renales para el diagnóstico definitivo de las diferentes nefropatías, resulta esencial, debido a que las mismas no son diagnosticadas mediante análisis químicos de sangre y orina.

### **3- En cuanto al estudio histopatológico de las biopsias y del material de necropsia.**

El estudio histopatológico de las biopsias permitió determinar que la mayoría de las biopsias presentaron características morfológicas indicadoras de lesión renal de diversa intensidad.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas se determinó que los depósitos de Ig M en la especie *S. boliviensis* tuvieron un patrón de distribución mesangial y que su presencia estuvo fuertemente relacionada con lesiones glomerulares caracterizadas por incremento de la matriz mesangial.

Lesiones con diversos grados de intensidad son hallazgos frecuentes en el material de necropsia en primates de las especies *C. apella* y *S. boliviensis*.

Las características morfológicas y la frecuencia de las lesiones renales predominantes en el material de biopsia de las dos especies, se repitieron en el material de necropsia, aunque con mayor severidad.

Muchas lesiones renales en las dos especies de primates probablemente son consecuencia de procesos infecciosos ascendentes de las vías urinarias y, en menor proporción, debidas a complejos antígeno-anticuerpo circulantes, de diversos orígenes.

Los estudios bioquímicos, la realización de biopsia renal y el estudio histopatológico efectuados en *C. apella* y *S. boliviensis* contribuyeron con el conocimiento de aspectos referidos a las características morfológicas de las lesiones, a posibles causas y mecanismos patogénicos.

## VII- BIBLIOGRAFIA

- 1-AIKAWA, M.; BRODERSON, J.R.; IKUO, I.; PAPPALIOANOU, M.; COLLINS, W.P.; CAMBELL, C.C. (1990). An atlas of renal disease in aotus monkeys with experimental plasmodial infection. *J. Med. Primatol.* 19:515-516.
- 2-ALLEN, D.E. ; DOWLING, J.P. (1981). *Techniques for Nephropathology*. CRC Press Inc, Florida.
- 3-ANDERSON, W.A.D.; SCOTTI, T.M. (1976). Riñones, tracto urinario inferior y aparato genital femenino. En: Anderson, W.A.D. ; Scotti, T.M. (eds): *Sinopsis de Patología*. 2<sup>da</sup> Ed. López Libreros S.R.L, Buenos Aires, 341-406.
- 4-ANDREOLI, S.P. (1995). Chronic glomerulonephritis in childhood. Membranoproliferative glomerulonephritis, Henoch-Schonlein purpura nephritis, and IgA nephropathy. *Pediatr. Clin. North. Am.* 42:1487-1503.
- 5-ANONIMO. (1986). Caring for laboratory animals. *Foundation for Biomedical Research*. July:1-8.
- 6-ASSCHER, A.W. (1979). Renal damage due to urinary tract infection. *Contr. Nephrol.* 16:5-10.
- 7-BANCHEREAU, J. (1995). Molecules controlling B-Lymphocyte growth and differentiation. *Contr. Nephrol.* 111:55-59.
- 8-BARNARD, D.; KNAPKA, J.; RENQUIST, D. (1988). The apparent reversal of a wasting syndrome by nutritional intervention in *Saguinus mystax*. *Lab. An. Sci.* 38:282-288.
- 9-BASKIN, G.B.; WOLF, R.H.; WORTH, C.L.; SOIKE, K.; GIBSON, S.V ; BIERL, J.G. (1983). Anemia, steatitis, and muscle necrosis in marmosets *Sanguinus labiatus*. *Lab. An. Sci.* 33:74-80.
- 10-BASKIN,G.B. ; ROBERTS, J.A. ; McAFEE, R.D. (1981). Infantile polycystic renal disease in a rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Lab. An. Sci.* 31:181-183.
- 11-BECKER, L. (1975). *A Handbook of Kidney Nomenclature and Nosology : Criteria for Diagnosis, Including Laboratory Procedures*. Little, Brown and Company, Boston.
- 12-BENIRSCHKE, K. ; GARNER, F.M. (1978). *Pathology of Laboratory Animals*. Springer-Verlag, Heidelberg.
- 13-BENNETT, B.T.; BELUNHAN, F.Z.; WELSH, T.J. (1982). Malignant nephroblastoma in *Macaca fascicularis*. *Lab. An. Sci.* 32:403-404.
- 14-BERGER, J. (1984). Ig A mesangial nephropathy 1968-1983. *Contr. Nephrol.* 40:4-6.

- 15-BHASIN, H.K.; ABUELO, J.G.; NAYAK, R.; ESPARZA, A.R. (1978). Mesangial proliferative glomerulonephritis. *Laboratory Investigation*. 39:21-29.
- 16-BIRMINGHAM, D.J.; HEBERT, L.A.; VANAMAN, M.E. (1990). Immune complex erythrocyte complement receptor interactions in vivo during induction of glomerulonephritis in nonhuman primate. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 116:242-252.
- 17-BLUM, J.R.; CORK, L.C.; MORRIS, J.M.; OLSON, J.L.; WINKELSTEIN, J.A. (1985). The clinical manifestations of a genetically determined deficiency of the third component of complement in the dog. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 34:304-314.
- 18-BOHLE, A.; GARTNER, H.V.; LABERKE, H.G.; KRUCK, F. (1989). *The Kidney. Structure and Function*. F.K Schattauer, Stuttgart.
- 19-BOHLE, A.; BUCHBORN, B.; EDEL, H.H.; RENNER, E.; WEHNER, H.H. (1969). Zur pathologischen Anatomie und Klinik der Glomerulonephritis. *Klinik der Glomerulonephritis. Klin. Wschr.* 47:733-742.
- 20-BOLTON, W.K.; BENTON, F.R.; MACLAY, J.C.; STURGILL, B.C. (1976). Spontaneous glomerular sclerosis in aging Sprague-Dawley rats. *Amer. J. Pathol.* 85:277-302.
- 21-BORASKY, E.A. (1981). Renal disease in prosimians. *Vet. Pathol.* 18:1-5.
- 22-BORDA, J.T.; PEREZ-ESCALA, S.; NUNES-VASTOS, V.; SANCHEZ NEGRETTE, M. (1993). Incidencia de enfermedades renales en *Cebus apella* (Primate Cebidae). *Bol. Primatol. Lat.* 4:1-4.
- 23-BOURNE, J.A. (1993). *Handbook of Immunoperoxidase Staining Methods*. Immunohistochemistry Laboratory, Dako Corporation, Hamburg.
- 24-BOWMAN, W. (1842). On the structure and use of the Malpighian bodies of the kidney, with observations on the circulation through that gland. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* :7-70. Citado en: Schillings, P.H.M.; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology*, S.Karger, Basel, 1-21.
- 25-BOYCE, J.T.; GIDDENS, W.E.Jr.; SEIFERT, R. (1981). Spontaneous mesangioproliferative glomerulonephritis in pitailed macaques *Macaca nemestrina*. *Vet. Pathol.* 18 (Suppl 6):82-88.
- 26-BRACK, M. (1981). Renal pathology in captive baboons *Papio cynocephalus*. *Vet. Pathol.* 18:55-58.
- 27-BRACK, M. (1985). Renal papillary adenoma in a cotton-topped tamarin *Saguinus oedipus*. *Laboratory Animals*. 19:132-133.
- 28-BRACK, M. (1987). *Agents Transmissible from Simians to Man*. Spriger-Verlag, Heidelberg.

- 29-BRACK, M. (1988). Ig M-mesangial nephropaty in Callithricids. Vet. Pathol. 25:270-276.
- 30-BRACK, M. (1990). [Ig M- nephropathy (-nephritis) in callitrichids (Primates, Anthropoidea, Platyrrhini, Callitrichidae)]. J. Vet. Med. 37:692-707.
- 31-BRACK, M. ; ROTHE, H. (1981). Chronic tubulointerstitial nephritis and wasting disease in marmoset *Callithrix jacchus* Vet. Pathol. 18:45-54.
- 32-BRACK, M.; FOOKE, M. (1991). Circulating Ig. M in callitrichid Ig. M-nephropathy. Primate Report. 30:9-15.
- 33-BRACK, M.; WEBER M. (1994). Ultrastructural and immunohistochemical studies in callitrichids renal glomeruli. J. Med. Primatol. 23:325-332.
- 34-BREES, D.K.; HUTCHISON, F.N.; COLE, G.J.; WILLIAMS, J.C. JR.Jr. (1996). Differential effects of diabetes and glomerulonephritis on glomerular basement membrane composition. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 212:69-77.
- 35-BRENNER, B.M. ; STEIN, J.H. (1981). Chronic Renal Failure. Churchill Livingstone, New York.
- 36-BRIGHT, R. (1827). Reports of medical cases. London: Longman, Rees, Orme, Brown and Green, Vol. 1. Citado en : Heptinstall,R.H.(ed.): Patología del Riñón. Salvat, Barcelona, 247-255.
- 37-BURKHOLDER, P.M. ; BERGERON, J.A. (1970). Spontaneous glomerulonephritis in the prosimian primate Galago. A correlative light, immunofluorescence and electron microscopic study. Amer. J. Path. 61:437-456.
- 38-BURKHOLDER, P.M.; BRADFORD, W.D. (1969). Proliferative glomerulonephritis in children. Am. J. Path. 56:423-467.
- 39-CALIGIURI, R.; NORTON, T. JACOBSON, E.; HART, O.J.; LOCKE, R.; ACKERMAN, N; SPENCER, C. (1990). Urethral obstruction and abscessation in a chimpanzee *Pan troglodytes*. J. of Zoo and Wildlife Med. 21:206-214.
- 40-CARLSON, J.R.; McGRAW, T.P.; KEDDIE, E.; YEE, J.L.; ROSENTHAL, A.; LANGLOIS, A.J.; DICKOVER, R.; DONOVAN, R.; LUCIW, P.A.; JENNINGS, M.B.; GARDNER, M.B. (1990). Vaccine protection of rhesus macaques against simian immunodeficiency virus infection. Aids Research and Human Retroviruses. 6:1239-1246.
- 41-CAVALLO, T.; JOHNSON, M.P. (1981). Immunopathologic study of minimal change glomerular disease with mesangial Ig M deposits. Nephron. 27:281-284.
- 42-COCHRANE, C.G. ; DIXON, F.J. (1978). Immune complex injury. En : Max Samter, M.D.(ed.): Immunological Diseases. 3<sup>rd</sup> Ed. Little, Brown and Company, U.S.A, 210-230.

- 43-COOPER, R.W. (1978). Squirrel monkey taxonomy and supply. En: Rosenblum, L.A. and Cohe, C.L. (eds.): The Squirrel Monkey. Plenum Press, New York, 1-29.
- 44-COPPO, R.; BASOLO, B.; ROLLINO, C.; ROCCATELLO, D.; MARTINA, G.; AMORE, A.; PICCOLY, G. (1985). Dietary gluten and primary IgA nephropathy. The New England Journal of Medicine. 315:1167-1168.
- 45-COUSER, W.G ; STILMANT, M.N. (1975). Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the aging rat. Lab. Invest. 33:491-501.
- 46-CZERKINSKY, C.; KOOPPMAN, J.C.; COLLINS, J.E.; CRAGO, S.S.; SCHROHENLOHER, R.E.; JULIAN, B.A.; GALLA, J.H.; MESTECKY, J. (1986). Circulating immune complexes and immunoglobulin A rheumatoid factor in patients with mesangial immunoglobulin A nephropathies. J. Clin. Invest. 77:1931-1938.
- 47-CHALIFOUX, L.V. (1986). Crossed renal ectopia in a squirrel monkey *Saimiri sciureus* and owl monkey *Aotus trivirgatus*. J. Med. Primatol. 15:235-239.
- 48-CHALIFOUX, L.V. ; BRONSON, R.T.; SEHGAL, P.; BLAKE, B.J.; KING, N.W. (1981). Nephritis and hemolytic anemia in owl monkeys *Aotus trivirgatus*. Vet. Phatol. 18:23-37.
- 49-CHURG, J. ; SOBIN, L.H. (1982). Renal Disease: Classification and Atlas of Glomerular Diseases. Igaku-Shoin Ltd, Tokyo.
- 50-D'AMICO, G. (1987).The commonest glomerulonephritis in the world: Ig A nephropathy. Quaterly Journal of Medicine. New Series. 64:709-727.
- 51-DANIS, D.; POPRAC, P.; NYTRAYOVA, O.; SLUGEN, M.; NYULASSY, S.; KOVAC, A.; FURKOVA, K. (1995). Variations in histologic and ultrastructural findings in renal glomerular biopsies. Bratisl. Lek. Listy. 96:671-674.
- 52-DAVIES, D.R.; WING, A.J. (1990). Malaria, microscopy and marmoset: the saga of tropical nephrotic syndrome. Quaterly Journal of Medicine. News Series. 75:533-535.
- 53-DILWORTH, J.P.; NEAL, D.E.Jr.; FUSSELL, E.N.; ROBERTS, J.A. (1990). Experimental prostatitis in nonhuman primates: I. Bacterial adherence in urethra. Prostate 17:227-231.
- 54-DISCIULLO, S.O.; ABUELO, J.G.; MOALLI, K.; PEZULLO, J.C. (1988). Circulating heavy Ig M in Ig M nephropathy. Clin. Exp. Immunol. 73:395:400.
- 55-DIXON, F.J.; WILSON, C.B. (1990). The development of immunopathologic investigations of kidney disease. American Journal of Kidney Disease. 16:574-578.
- 56-DUNKER, H.; NIZZE, H. (1987). Morphology of Ig A nephritis (Morbus Berger). Immunohistological, light and electron microscopic findings. Zentralbl. allg. Pathol. pathol. Anat. 133:263-278.

57-EJIDO, J.; SANCHO, J. ; RIVERA, F.; HERNANDO, L. (1984). The role of Ig A and Ig G immune complexes in Ig A nephropathy. *Nephron*. 36:52-59.

58-ELSNER, B.; IOTTI, R.M.; PARISI, C.E.; CAPUTTI, E.M. (1979). Enfermedades del riñón y de las vías urinarias. En : Elsner, B. ; Iotti, R.M. ; Parisi, C.E. ; Caputti, E.M. (eds.): *Lecciones de Patología*. 1<sup>ra</sup> Ed. La Prensa Médica Argentina S.R.L, Buenos Aires, 523-591.

59-EMANCIPATOR, S.N.; LAMM, M.E. (1989). Biology of disease. Ig A nephropathy: pathogenesis of the most common form of glomerulonephritis. *Laboratory Investigation*. 60:168-183.

60-ENCARNACION, F.; ESTUPIÑAN, J.; SAMAME, H.; WATSON, C.R. ; WELLER, R.E. (1990). *Primates of Americas*. Battelle Press, Seattle.

61-EVANS, K.M. ; DILLEHAY,D.L. ; HUERKAMP, M.J. ; WEBB, S.K. (1996). Diagnostic exercise: azotemia in rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Lab. An. Sci.* 46:442-443.

62-FITZGIBBON, W.R.; WEBSTER, S.K.; IMAMURA, A.; PLOTH, D.W.; HUTCHISON, F.N. (1996). Effect of dietary protein and enalapril on proximal tubular delivery and absorption of albumin in nephrotic rats. *Am. J. Physiol.* 270:986-996.

63-FLOEGE, J.; KRIZ, W.; SCHULZE, M.; SUSANI, M.; KERJASCHKI, D.; MOONEY, A.; COURSER, W.G.; KOCH, K.M. (1995). Basic fibroblast growth factor augments podocyte injury and induces glomerulosclerosis in rats with experimental membranous nephropathy. *J. Clin. Invest.* 96:2809-2819.

64-FOLTZ, C.J. ; CORK, L.C. ; WINKELSTEIN, J.A. (1994). Absence of glomerulonephritis in guinea pigs deficient in the fourth component of complement. *Vet. Pathol.* 31:201-206.

65-FRELIER, P.F.; ARMSTRONG , D.L.; PRITCHARD, J. (1990). Ovine mesangiocapillary glomerulonephritis type I and crescent formation. *Vet. Pathol.* 27:26-34.

66-FUSCHS, E.; ROSEMBUSCH, J.; ANZENBERGER, G. (1991). Urinary protein pattern reflects social rank in male common marmosets *Callithrix jacchus*. *Folia Primatologica*. 57:177-180.

67-GAD, S.C. (1990). Model selection in toxicology: principles and practice. *J. of the Am. College of Toxicology*. 9:291-302.

68-GARDNER, M.B. (1990). General discussion: the most appropriate animal model for the study of HIV sexual transmission. En: *Heterosexual Transmission of AIDS*. Ed. Alan R. Liss, Inc, 137-145.

69-GARDNER, M.B. (1990). Natural history of animal retroviruses: an overview. En: *Heterosexual Transmission of AIDS*. Alan R. Liss, Inc, 93-105.

70-GÄRTNER, H.V, GRESCHNIOK, A.; WEHRMANN , M.; BOGENSCHÜTZ, O.; OLIVEIRA, V.; MALL, A.; JUNGHANS, R.; MIKELER, E. ; BOLHE, A. (1989). Clinical pathology of the glomerulus - from phenomenon to entity. The mesangial lesion. Verh. Dtsch. Ges. Path. 73:41-60.

71-GERMUTH, F.G. ; RODRIGUEZ, E. (1986). Immunopathology of the Renal Glomerulus: Immune Complex Deposit and Antibasement Membrane Disease. Little, Brown and Company, Boston.

72-GHONIEM, G.M.; SHOUKRY, M.S.; VANDENBERG, T.L.; ROBERTS, J.A. (1994). Monkey as an animal model. Neurourology and Urodynamics. 13:181-198.

73-GHONIEM, G.M.; VANDENBERG, T.L. (1994). Dollars and sense: considerations for experimental model design. Neurourology and Urodynamics. 13:91-96.

74-GIDDENS, W.E.Jr.; BOYCE, J.T. ; BLAKLEY, G.A. ; MORTON, W.R. (1981). Renal disease in the pigtailed macaque *Macaca nemestrina*. Vet. Pathol. 18:70-81.

75-GIL, G.; HEINONEN, S. (1993). Presencia de mono caí *Cebus apella* en la Provincia de Formosa, Argentina. Bol. Primatol. Lat. 4(1):15-17.

76-GLASSOCK, R.J.; COHEN, A.H. (1996). The primary glomerulopathies. Dis. Mon. 42:329-383.

77-GOLDEN, A. ; MAHER, J.F. (1977). The Kidney : Structure and Function in Disease. 2<sup>nd</sup> Ed. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

78-GOODE, N.P. ; DAVISON, A.M. ; GOWLAND, G. ; SHIRES, M. (1976). Spontaneous glomerular immunoglobulin deposition in young Sprague-Dawley rats. Lab. Anim. 22:287-292.

79-GOORMAGHTIGH, N. (1932). Les segments neuro-myo-artériels yuxta-glomerulaires du rein. Archs Biol. Paris. 43:575-591. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H. (eds.): Atlas of Glomerular Histopathology, S.Karger, Basel, 1-21.

80-GOORMAGHTIGH, N. (1940). Histological changes in the ischemic kidney with special reference to the yuxtaglomerular apparatus. Am. J. 16:409-421. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): Atlas of Glomerular Histopathology, S.Karger, Basel, 1-21.

81-GOZALO, A. ; MONTOYA, E. (1990). Mortality causes of owl monkeys *Aotus nancymae* and *Aotus vociferans* in captivity. J. Med. Primatol. 19:69-72.

82-GOZALO, A.; DAGLE, G.E.; MONTOYA, E.; WELLER, R.E.; MALAGA, C.A. (1992). Spontaneous cardiomyopathy and nephropathy in the owl monkey *Aotus sp* in captivity. J. Med. Primatol. 21:279-284.

- 83-GRAUER, G.F. ; CULHAM, C.A ; DUBIELZIG, R.R. ; LONGHOFER, S.L. ; GRIEVE, R.B. (1989). Experimental *Dirofilaria immitis*- associated glomerulonephritis induced in part by in situ formation of immune complexes in the glomerular capillary wall. *J. Parasitol.* 75:585-593.
- 84-GRAUER, G.F. ; FRISBIE, D.D ; LONGHOFER, S.L. ; COOLEY, A.J. (1992). Effects of a thromboxane synthetase inhibitor on established immune complex glomerulonephritis in dogs. *Am. J. of Vet. Research.* 53:808-813.
- 85-GRAUER, G.F. ; FRISBIE, D.D. ; SNYDER, P.S. ; DUBIELZIG, R.R. ; PANCIERA, D.L. (1992). Treatment of membranoproliferative glomerulonephritis and nephrotic syndrome in a dog with thromboxane synthetase inhibitor. *J. of Vet. Int. Med.* 6:77-81.
- 86-GRAUER, G.F. ; GRECO, D.S. ; BEHREND, E.N. ; FETTMAN, M.J. ; JAENKE, R.S. ; ALLEN, T.A. (1994). Effects of dietary protein conditioning on gentamicin-induced nephrotoxicosis in healthy male dogs. *Am. J. of Vet. Research.* 55:90-97.
- 87-GRÖNE, H.J. (1996). Systemic lupus erythematosus and Antiphospholipid. *Pathologe.* 17:405-416.
- 88-GRUBER, A.D.; SCHULZE, C.A.; BRÜGMANN, M.; POHLENZ, J. (1996). Renal coccidiosis with cystic tubular dilatation in four bats. *Vet. Pathol.* 33:442-445.
- 89-GUERCI, A.A. (1975). *Métodos de análisis clínicos y su interpretación.* Editorial El Ateneo, Buenos Aires.
- 90-GUYTON, A.C. (1976). Micción, enfermedades renales y diuresis. En : Guyton, A.C. (ed.) : *Tratado de Fisiología Médica.* 5<sup>ta</sup> Ed. Nueva Editorial Interamericana, México, 500-513.
- 91-HABIB, R. (1970). Classification anatomique des néphropathies glomérulaires. *Pädiat. FortbildK. Praxis,* 28:3-47.
- 92-HABIB, R. (1973). Classification of glomerulonephritis based on morphology. En: Kinkaid-Smith, M. ; Becker, L. (eds.): *Glomerulonephritis,* Wiley, New York, 17-41.
- 93-HAMASHIMA, Y. (1976). *Immunohistopathology.* 1<sup>st</sup> English Ed. Igaku Shoin Ltd, Tokyo.
- 94-HARRINGTON, A.R. ; ZIMERMAN, S.W. (1982). *Renal Pathophysiology.* John Willey and Sons, New York.
- 95-HAYMAN, J.M. (1925). Malpighi's "Concerning the structure of the Kidney" A traslation and introduction. *Ann. med. Hist.* 7: 242. Citado en: Schillings, P.H.M.; Schuurmans-Stekhoven, J.H. (eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology,* S.Karger, Basel, 1-21.

- 96-HEBERT, L.A.; COSIO, F.G.; BIRMINGHAM, D.J.; MAHAN, J.D.; SHARMA, H.N.; SMEAD, W.L.; GOEL, R. (1991). Experimental immune complex-mediated glomerulonephritis in the nonhuman primate. *Kidney International*. 39:44-56.
- 97-HEIDEL, J.R. (1981). Renal pathology of catheterized *Papio cynocephalus*. *Vet. Pathol.* 18:59-69.
- 98-HENDRICKX, A.G.; TARANTAL, A.F. (1994). Infant mortality: the role of the macaque as a model for human disease. *Am. J. of Primatology*. 34:35-40.
- 99-HEPTINSTALL, R.H. (1979). *Patología del Riñón*. 2<sup>da</sup> Ed. Salvat, Barcelona.
- 100-HEPTINSTALL, R.H.; BHAGAVAN, B.S.; SOLEZ, K. (1979). Urinary deposits in veins and interstitium of the kidney: their possible role in causing renal damage. *Contr. Nephrol.* 16:70-77.
- 101-HEPTINSTALL, R.H. (1974). *Pathology of the Kidney*. 2<sup>nd</sup> English Ed. Little, Brown and Company, Boston.
- 102-HERTZKE, D.E.; COWAN, L.A.; SCHONING, P.; FENWICK, B.W. (1995). Natural disease: glomerular ultrastructural lesions of idiopathic cutaneous and renal glomerular vasculopathy of greyhounds. *Vet. Pathol.* 31:451-459.
- 103-HEWICKER, M.; KROMSCHRÖDER, E.; TRAUTWEIN, G. (1989). Studies on the pathogenesis of glomerulonephritis in MRL mice. Murine Lupus Erythematosus. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 73:129-132.
- 104-HIGGINS, P.M. (1996). Acute poststreptococcal glomerulo-nephritis in general practice: the contribution of infection to its onset and course. *Epidemiol. Infect.* 116:193-201.
- 105-HIRONAKA, K.; MAKINO, H.; ONBE, T.; YLAMASAKI, Y.; SHIKATA, K.; KAMATA, K.; OTA, Z. (1996). Ultrastructural change of the glomerular basement membrane in rats with Heymann nephritis revealed by ultrahigh resolution scanning electron microscopy. *J. Pathol.* 179:112-120.
- 106-HUNT, R.D. ; BLAKE, B.J. (1993). Urinary System. En : Jones, T.C. ; Mohr, U. ; Hunt, R.D. (eds.) : *Nonhuman Primates II*. 1<sup>ra</sup> Ed. Springer-Verlag, Heidelberg, 143-150.
- 107-HUNT, R.D. ; VAN ZWIETEN, M.J ; BAGGS, B.R. ; SEHGAL, P.K. ; KING, N.W. ; ROACH, S.M. ; BLACKKE, B.J. (1976). Glomerulonephritis in owl monkey *Aotus trivirgatus*. *Lab. Anim. Sci.* 26:1088-1092.
- 108-HUTTER, E.R. (1995). *Enfermedades de los Riñones y de las Vías Urinarias*. Buenos Aires.
- 109-IMAI, H.; YASUDA, T.; SATOH, K.; MIURA, A.B.; SUGAWARA, T.; NAKAMOTO, Y. (1996). Pan-nephritis (glomerulonephritis, arteriolitis, and

tubulointerstitial nephritis) associated with predominant mesangial C1q deposition and hypocomplementemia: a variant type of C1q nephropathy?. *Am. J. Kidney Dis.* 27:583-587.

110-JOHNSON, D.W.; AXELSEN, R.A.; HAWLEY, C.M. (1995). Acute interstitial nephritis complicating Ig A nephropathy. *Clin. Nephrol.* 44:342-343.

111-JONES, S.R.; CASEY, H.W. (1981). Primary renal tumors in non human primates. *Vet. Pathol.* 18:89-104.

112-JULIAN, B.A.; WALDO, F.B.; RIFAI, A.; MESTECKY, J. (1988). Ig A nephropathy, the most common glomerulonephritis worldwide. *Am. J. of Med.* 84:129-132.

113-KAISSLING, B. ; WILHELM, K. (1979). *Structural Analysis in the Rabbit Kidney. Advances in Anatomy, Embriology and Cell Biology.* Springer-Verlag, Berlin.

114-KATHARINE, M. (1993). Diet and primate evolution. *Scientific American.* August: 70-77.

115-KAYSEN, G.A.; JONES, H.Jr.; JOLES, J.A.; VAN-TOL, A. (1996). Effect of plasma oncotic pressure on apolipoprotein levels in rats with Heymann nephritis. *Miner. Electrolyte. Metab.* 22:31-38.

116-KERLIN, R.L.; VAN WINKLE, J.T. (1995). Renal displasia in golden retrievers. *Vet. Pathol.* 32:327-329.

117-KIMMEL,P.L; ABRAHAM, A.A.; PHILLIPS, T.M. (1994). Membranoproliferative glomerulonephritis in a patient treated with interferon-alfa for human immunodeficiency virus infection. *Am. J. of Kidney Disease.* 24:858-863.

118-KINCAID-SMITH, P.; RYAN, G.B.; DOWLING, J.P. ; NICHOLLS, K. (1994). Acute renal failure in mesangial Ig A nephropathy. *Contr. Nephrol.* 40:182-186.

119-KING, N.W.Jr. ; BAGGS, R.B. ; HUNT, R.D. ; VAN ZWIETEN, M.J. ; McKEY, J.J. (1976). Glomerulonephritis in the owl monkey *Aotus trivirgatus*. Ultrastructural observations. *Lab. An. Sci.* 26:1093-1103.

120-KINTER, L.B. ; SHORT, B.G. (1993). *Anatomy and physiology of the kidney.* En: Hook, J.B. and Goldstein, R.S. (eds.) : *Toxicology of the Kidney.* 2<sup>nd</sup> Ed. Raven Press, Ltd., New York, 1-36.

121-KOEMAN, J.P. ; BIEWENGA, W.J. ; GRUYS, E. (1994). Proteinuria associated with glomerulosclerosis and glomerular colagen formation in three newfound dog littermates. *Vet. Pathol.* 31:188-193.

122-KURTZ, S.M. The electron microscopy of the developing human renal glomerulus. *Expl. Cell. Res.* 14:355-367. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology,* S.Karger, Basel, 1-21.

- 123-LABEEUW, W.; CAILLETTE, A.; DJOUD, F. (1996). Renal biopsy in the elderly. *Presse. Med.* 25:611-614.
- 124-LABERKE, H.G.; BOHELE, A. (1980). Acute interstitial nephritis: correlation between clinical and morphological findings. *Clin. Nephrol.* 14:263-273.
- 125-LAWLER, W.; WILLIAMS, G.; TARPEY, P.; MALLICK, N.P. (1980). Ig M associated primary diffuse mesangial proliferative glomerulonephritis. *J. Clin. Pathol.* 33:1029-1038.
- 126-LEVINSON, S.A. ; Mc FATTE, R.P. (1972). Análisis químico de la orina. En : Levinson, S.A. ; Mc Fatte, R.P.(eds.) : *Diagnóstico Clínico de Laboratorio 3<sup>ra</sup> Ed.* Editorial El Ateneo, Buenos Aires, 475-528.
- 127-LEVINSON, S.A. ; Mc FATTE, R.P.(1972). Los riñones. En : Levinson, S.A. ; Mc Fatte, R.P.(eds.) : *Diagnóstico Clínico de Laboratorio 3<sup>ra</sup> Ed.* Editorial El Ateneo, Buenos Aires, 439-474.
- 128-LEWIS, D.H.; STEIN, F.J.; SIS, R.F.; Mc MURRAY, D.N. (1987). Fecal microflora of marmoset with wasting marmoset syndrome. *Lab. An. Sci.* 37:103-105.
- 129-LIN, S. (1995). Progresses in nephrology in China, 1995. *Chung. Hua. I. Hsueh. Tsa. Chih.* 75:719-720.
- 130-LITTER, M. (1975). Quimioterapia. Antibióticos de espectro reducido. En : Litter, M. (ed.) : *Farmacología Experimental y Clínica.* 5<sup>ta</sup> Ed. Editorial El Ateneo, Bs.As, 1510-1599.
- 131-LOER, W.F. (1972). The kinetic of sulfobromophthalein clearance in the rhesus monkey. *Lab. An. Sci.* 22:393-396.
- 132-LONGHOFER, S.L. ; FRISBIE, D.D. ; JOHNSON, H.C. ; CULHAM, C.A. ; COOLEY, A.J. ; SCHULTZ, K.T. ; GRAUER, G.F. (1991). Effects of thromboxane synthetase inhibition on immune complex glomerulonephritis. *Am. J. of Vet. Research.* 52:480-487.
- 133-MACKENSEN-HAENS, S.; BADER, R.; GRUND, K.E. ; BOHELE, A. (1981). Correlation between renal cortical interstitial fibrosis, atrophy of the proximal tubules and impairment of the glomerular filtration rate. *Clin. Nephrol.* 15 :167-171.
- 134-MAKKER, S.T.; WIDSTROM, R.; HUANG, J. (1996). Membranous nephropathy, interstitial nephritis, and Fanconi syndrome glomerular antigen. *Pediatr. Nephrol.* 10:7-13.
- 135-MARGNI, R.A. (1989). Anticuerpos. En: Margni, R.A. (ed.): *Inmunología e Inmunológica.* 4<sup>ta</sup> Ed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 67-108.
- 136-Mc CLUSKEY, R.T. (1983). Modification of glomerular immune complex deposits. *Laboratory Investigation.* 48:241-244.

- 137-MEADOWS, R. (1978). Renal Histopathology. 2<sup>nd</sup> Ed. Oxford University Press, New York.
- 138-MIATELLO, V.R. ; MIATELLO, V.R.Jr. (1982). Grandes síndromes renales. En : Cossio, P. ; Martinez, F. ; Fustinoni, O. ; Rospide, P.C. ; Miatello, V.R. (eds.) : Medicina Interna (Fisiopatología, Semiología, Clínica, Tratamiento). CTM Servicios Bibliográficos S.A., Buenos Aires, 954-958.
- 139-MICHAEL, A.F. (1984). The glomerular mesangium. *Contr. Nephrol.* 40:7-16.
- 140-MILLER, T.E.; STEWART, E.; NORTH, J.D.K. (1979). Immunobacteriological aspects of pyelonephritis. *Contr. Nephrol.* 16:11-15.
- 141-MINKUS, G. ; REUSCH, C. ; HÖRAUF, A. ; BREUER, W. ; DARBES, J. ; KRAFT, W. ; HERMANN, W. (1994). Evaluation of renal biopsies in cats and dogs -histopathology in comparison with clinical data. *J. of Small Animal Practice.* 35:465-472.
- 142-MITWALLI, A.H.; AL-WAKEEL, J.S.; AL-MOHAYA, S.S.; MALIK, H.G.; ABU-AISHA, H.; HASSAN, O.S.; AKHTAR, M. (1996). Pattern of glomerular disease in Saudi Arabia. *Am. J. Kidney Dis.* 27:797-802.
- 143-NAGATAKE, T.; BRODERSON, J.R.; TEGOSHI, T.; COLLINS, E.W. and AIKAWA, M. (1992). Renal pathology in owl monkey with *Plasmodium falciparum* asexual blood-stage syntetic peptide antigens. *Am. J. Med. Hig.* 47:614-620.
- 144-NAGLE, C.A.; PAUL, N.; MAZZONI, I.; QUIROGA, S.; TORRES, M.L; MENDIZABAL, A.F.; FARINATI, Z. (1989). Interovarian relationship in the secretion of progesterone during the luteal phase of the capuchin monkey *Cebus apella*. *J. Reprod. Fert.* 85:389-396.
- 145-NAIKER, I.P.; RAMSAROOP, R.; SOMERS, S.R.; RANDEREE, I.G.; NAICKER, S.; SEEDAT, Y.K. (1996). Leucocyte analysis of tubulointerstitial nephritis in primary membranoproliferative glomerulonephritis. *Am. J. Kidney. Dis.* 27:316-320.
- 146-NAKAMURA, S.; SHIBATA, S.; SHIROTA, K.; ABE, K.; UETSUKA, K.; NAKAYAMA, H.; GOTO, N.; DOI, K. (1996). Renal glomerular fibrosis in a cat. *Vet. Pathol.* 33:696-699.
- 147-OGURA, A.; FUJIMURA, H., ASANO, T.; KOURA, M.; NAITO, I.; KOBAYASHI, Y. (1995). Early ultrastructural glomerular alterations in neonatal nephrotic mice (IGGN strain). *Vet. Pathol.* 32:321-323.
- 148-OKADA, K.; SAITOH, S.; SAKAGUCHI, Z.; ZHANG, R.J.; KUHARA, T.; YLASUTOMO, K.; KURODA, Y. (1996). IgA nephropathy presenting clinicopathological features of acute post- streptococcal glomerulonephritis. *Eur. J. Pediatr.* 155:327-330.
- 149-OOI, B.S.; COHEN, D.J. (1995). Host immune deficiency in immune complex nephritis<sup>1</sup>. *J. Am. Soc. Nephrol.* 6:1342-1346.

- 150-PATIÑO, E.M.; BORDA, J.T.; RUIZ, J.C. (1996). Sexual maturity and seasonal reproduction in captive *Cebus apella*. *Laboratory Primate Newsletter*. 35:8-9.
- 151-PATIÑO, E.M.; RUIZ, J.C.; BORDA, J.T. (1995). Hand-rearing of squirrel monkeys *Saimiri boliviensis* in CAPRIM. *Laboratory Primate Newsletter*. 34:1-3.
- 152-PEDERSEN, J.C.; PERSSON, A.E.G.; MAUNSBACH, A.B. (1980). Ultrastructure and quantitative characterization of the cortical interstitium in the rat kidney. En: Manunsbach, A.B.; Olsen, T.S.; Christensen, E.I. (Eds): *Functional Ultrastructure of the Kidney*. Academic Press, London, 157-215.
- 153-POSKITT, T.R. ; FORTWENGLER, H.P.Jr. ; ROBROW, J.C. ; ROTH, G.J. (1974). Naturally occurring immune complex glomerulonephritis in monkeys *Macaca iris*. Light, immunofluorescence, and microscopic electron studies. *Am. J. Path.* 76:145-164.
- 154-POTKAY, S. (1992). Disease of the Callitricidae: a review. *J. Med. Primatol.* 21:189-236.
- 155-RAMBAUSEK, M.; WALDHERR, R.; JÜNGER, E.; KRUPP, G.; DEMAINE, A.; RITZ, E. (1989). RFLP (Restrictionfragmentlength-polymorphism) of immunoglobulin heavy chain genes in mesangial Ig A nephritis and Henoch Schönlein Purpura. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 73:124-128.
- 156-RAYCHOWDHURY, R.; ZHENG, G.; BROWN, D.; Mc CLUSKEY, R.T. (1996). Induction of Heymann nephritis with a gp330/megalin fusion protein *Am. J. Pathol.* 148:1613-1623.
- 157-RENNER, E. (1989). The important role of the pathologist for the clinical decision in the treatment of glomerular diseases. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 73:139-148.
- 158-RENYI-VAMOS, F.; BALOGH, F. (1979). Acute pyelonephritis In: *Pyelonephritis. Akademiai Kiado, Budapest* :47-81.
- 159-RICHET, G. (1984). Ig A mesangial nephropathy. *Contr. Nephrol.* 40:1-3.
- 160-RIFAI, A. (1987). Experimental model for Ig A associated nephritis. *Kidney International.* 31:1-7.
- 161-ROBBINS, S.L. ; COTRAN, R.S. ; KUMAR, V. (1990). El riñón. En: Robbins, S.L. ; Cotran, R.S. ; Kumar, V (Eds.) : *Patología Estructural y Funcional*. 4<sup>ta</sup> Ed. Interamericana de España, Madrid, 1063-1136.
- 162-ROBERTS, J.A. (1972). The urinary system. En: *Patology of Simian Primates*. Karger-Basel, New York, 821-840.
- 163-ROBERTS, J.A. (1992). Vesicoureteral reflux and pyelonephritis in the monkey: a review. *The Journal of Urology.* 148:1721-1725.

- 164-ROBERTS, J.A.; DOMINGUE, G.J.; MARTIN, L.N.; KIM, J.C.S. (1981). Immunology of pielonephritis in the primate model: live versus head- killed bacteria. *Kidney International*. 19:297-305.
- 165-ROBERTS, J.A.; KAACK, M.B.; BASKIN, G.; MARTIN, L.N. (1993). Events leading to septic death from experimental acute pyelonephritis in the monkey. *The Journal of Urology*. 150:1030-1033.
- 166-ROBERTS, J.A.; KAACK, M.B.; BASKIN, G.; SVENSON, S.B. (1993). Prevention of renal scarring from pyelonephritis in nonhuman primates by vaccination with a synthetic *Escherichia coli* serotype O8 oligosaccharide-protein conjugate. *Infection and Immunity*. 61:5214-5218.
- 167-RODRIGUEZ, L.; GERTNER, M. (1996). Atypical streptococcal nephritis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 15:92-93.
- 168-ROSENBLUM, L.A. ; COHE, C.L. (1985). *Handbook of Squirrel Monkey Research*. Plenum Press, New York.
- 169-ROSS, S. ; DENSEN, P. (1984). Complement deficiency state and infection: epidemiology, pathogenesis and consequences of Neisseria and others infections in an immune deficiency. *Medicine*. 155:1266-1275.
- 170-ROTTER, W. (1983). *Color Atlas of Kidney Biopsy*. F.K Schattauer, Verlag GmbH, Stuttgart.
- 171-RUIZ, J.C. ; ARZUAGA, E. (1990). Valores hematológicos y de química sanguínea de monos capuchinos *Cebus apella* en cautiverio. *Bol. Primatol. Lat.* 29:14-22.
- 172-RUYTER, J.H.C. Über einen merkwürdigen Abschnitt der Vassa afferentia in der Mäuseniere. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* 2:242-248. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology*, S.Karger, Basel, 1-21.
- 173-SAMI, S. ; FISCHER-SCHERL, T. ; HOFFMANN, R.W. ; PFEIL-PUTZIEN, C. (1992). Immune complex-mediated glomerulonephritis associated with bacterial kidney disease in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Pathol.* 29 :169-174.
- 174-SANCHEZ NEGRETTE, M. (1983). Microfilariasis en monos platirinos *Cebus apella*. *Gaceta Veterinaria*. 381:614-625.
- 175-SCANZIANI, E. ; GRIECO, V. ; SALVI, S. (1993). Expression of vimentin in the tubular epithelium of bovine kidneys with interstitial nephritis. *Vet. Pathol.* 30:298-300.
- 176-SCOTT, G.B.D. (1992). The urinary system. En :Scott, G.B.D. (ed.) : *Comparative Primate Pathology*. 1<sup>st</sup> Ed. Oxford University Press, Oxford, 216-233.

- 177-SCHACHINGER, H.; BOCK, A. (1996). A case from practice. Mesangioproliferative glomerulonephritis (IgA nephritis)-nephrotic syndrome. Type II diabetes mellitus. Arterial hypertension (WHO-stage II)-grade II fundus hypertension. Chronic bronchitis following long-term nicotine abuse. *Schweiz. Rundsch. Med. Prax.* 85:699-700.
- 178-SCHILLING, P.H.M.; SCHUURMANS STEKHOVEN, J.H. (1980). *Atlas of Glomerular Histopathology*. S. Karger, Basel.
- 179-SHIMWELL, M.; WARRINGTON, B.F.; FOWLER, J.S.L. (1979). Dietary habits relating to 'Wasting marmoset syndrome' (WMS). *Laboratory Animals*. 13:139-142.
- 180-SHIROTA, K.; MASAKI, T., KITADA, H.; YANAGI, M.; IKEDA, Y.; UNE, Y.; NOMURA, Y.; JOTHY, S. (1995). Renal glomerular fibrosis in two pigs. *Vet. Pathol.* 32:236-241.
- 181-SIBLEY, R.K.; ROSAI, J. (1983). Vías urinarias. En : Rosai, J. (ed.): *Patología Quirúrgica*. 6<sup>ta</sup> Ed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 746-846.
- 182-SINICO, A.R.; FORNASIERI, A.; ORENI, N.; BENUZZI, S.; D'AMICO, G. (1986). Polymeric Ig A rheumatoid factor in idiopathic Ig A mesangial nephropathy (Berger's Disease)<sup>1</sup> *The Journal of Immunology*. 137:536-541.
- 183-SINNIAH, R. (1984). Idiopathic Ig A mesangial nephropathy: histological features. *Contr. Nephrol.* 40:156-166.
- 184-SKELTON-STROUD, P.N. ; GLAISTER, J.R. (1987). Naturally occurring renal disease in non-human primates. En: Bach, P.H. ; Lock, E.A. (eds.): *Nephrotoxicity in the Experimental and Clinical Situation*. Martinus Nijhoff Publishers, New York, 189-210.
- 185-SKELTON-STROUD, P.N.; GLAISTER, J.R. (1994). Oxalate nephrosis in *Macaca fascicularis*. *Laboratory Animals*. 28:265-269.
- 186-SKINNER, H.A. (1961). The origin of medical terms, p.193 (Williams and Wilkins, Baltimore. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology*, S.Karger, Basel, 1-21.
- 187-SLOAN, R.P.; SCHWARTZ, M.M.; KORBET, S.M.; BOROK, R.Z. (1996). Long-term outcome in systemic lupus erythematosus membranous glomerulonephritis. Lupus nephritis collaborative study group. *J. Am. Soc. Nephrol.* 7:299-305.
- 188-STEINHAUSEN, M. (1989). Current results on humeral and autoregulatory control of renal blood flow. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 73:149-162.
- 189-STILLS, H.F.Jr. ; BULLOCK, B.C. (1981). Renal disease in squirrel monkeys *Saimiri sciureus*. *Vet. Path.* 18:38-44.
- 190-STONARD, M.D. (1990). Assessment of renal function and damage in animal species. A review of the current approach of the academic, governmental, and industrial institution

represented by the animal clinical chemistry association. *Journal of Applied Toxicology*. 10:267-264.

191-SUGIHARA, K.; SADO, Y.; NINOMIYA, Y.; WADA, H. (1996). Experimental anti-GBM glomerulonephritis induced in rats by immunization with synthetic peptides based on six alpha chains of human type IV collagen. *J. Pathol.* 178:352-358.

192-SUKY, W.N. ; EKNOYAN, G. (1981). *The Kidney in Sistemic Disease*. 2<sup>nd</sup> Ed. John Willey and Sons. New York.

193-TAUGNER, R. ; HACKENTHAL, E. (1989). *The Yuxtaglomerular Apparatus. Structure and Function*. Springer- Verlag, Berlin.

194-THOENES, W. (1974). *Pathomorphologische Prinzipien und Formen der Glomerulonephritis*. Mschr. Kinderheilk. 122:728-740.

195-THOENES, W. (1979). Current problems of glomerulonephritis. *Klin. Wochenschr.* 57:799-814.

196-THOMPSON, E.M.; HUGHES, J.; VAN-NOORDEN, S.; SHARPE, J.; SAVILL, J. (1996). Expression of the multifunctional extracellular matrix protein thrombospondin in crescentic glomerulonephritis. *J. Pathol.* 178:89-94.

197-THORINGTON, R.W.Jr. (1967). Feeding and activity of *Cebus apella* and *Saimiris ciureus* in a colombian forest. En: Starck, D.; Schneider, R.; Kuhn, H.J. (eds.): *Progress in Primatology*. Fischer, Stuttgart, 180-184.

198-TISHER, C.C. ; BRENNER, B.M. (1994). *Renal Pathology with Clinical and Funtional Correlations*. 2<sup>nd</sup> Ed. Lippincott Company, Philadelphia.

199-TSENG, C.H. (1986). *Color Atlas of Diagnostic Histopathology*. Library of Congress Cataloging, Philadelphia.

200-TUBBS, R.R. ; GEPHARDT, G.N. ; PETRAS, R.E. (1976). *Atlas of Immunohistology*. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago.

201-TURNER, D.R. (1978). Glomerulonephritis. En: Woolf, A. (ed.): *Recent Advances in Histopathology*, Churchill, Edinburgh, 236-257.

202-VAERMAN, J.P.; DELACROIX, D.L. (1984). Role of the liver in the immunobiology of Ig A in animals and humans<sup>1</sup> *Contr. Nephrol.* 40: 17-31.

203-VANGELISTA, A.; FRASCA, G.M.; MONDINI, S.; BONOMINI, V. (1984). Idiopathic Ig A mesangial nephropathy: immunohistological features. *Contr. Nephrol.* 40:167-173.

204-VILAFRANCA, M. ; DOMINGO, M. ; FERRER, L. (1994). Tubular vimentin metaplasia in canine nephropaties. *Research in Veterinary Science.* 57:248-250.

- 205-VILAFRANCA, M. ; FERRER, L. (1994). Juvenile nephropathy in alaskan malamute littermates. *Vet. Pathol.* 31:375-377.
- 206-VILAFRANCA, M. ; FERRER, L. (1995). Ultrastructural co-localisation of vimentin and cytokeratin in visceral glomerular epithelial cells of dogs with glomerulonephritis. *Research in Veterinary Science.* 00:1-5.
- 207-VILAFRANCA, M. ; FERRER, L. ; WOHLSEIN, P. ; TRAUTWEIN, G. (1994). Participation of monocytes and macrophages in canine glomerular disease. *J. Vet. Med. A.* 41:770-779.
- 208-VILAFRANCA, M. ; WOHLSEIN, P. ; LEOPOLD-TEMMLER, B. ; TRAUTWEIN, G. (1993). A canine nephropathy resembling minimal change nephrotic syndrome in man. *J. Comp. Pathol.* 109:271-280.
- 209-VILAFRANCA, M. ; WOHLSEIN, P. ; TRAUTWEIN, G. (1994). Evidence of cytokeratin expression in canine visceral glomerular cells in vivo. *Research Veterinary Science.* 57:39-44.
- 210-VILAFRANCA, M. ; WOHLSEIN, P. ; TRAUTWEIN, G. (1995). Expression of class II major histocompatibility complex molecules in renal tubular epithelial cells of canine kidneys affected with tubulointerstitial nephritis. *Research in Veterinary Science.* 00:1-4.
- 211-VILAFRANCA, M.; WOHLSEIN, P. ; TRAUTWEIN, G. ; LEOPOLD-TEMMLER, B. ; NOLTE, I. (1994). Histological and immunohistological classification of canine glomerular disease. *J. Vet. Med. A.* 41:599-610.
- 212-VOGT, A.; BATSFORD, S.; ROHRBACH, R.; SCHMIEDEKE, T.; STÖCKL, F.; SUGISAKI, Y. (1989). Macromolecular basis of filtration and immune complex formation in the glomerulus. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 73:13-23.
- 213-VOGT, A.; BATSFORD, S.R. (1982). A new concept for the pathogenesis of immune complex nephritis. *Klin Wochenschr.* 60:1095-1101.
- 214-WAUGH, D.; SCHLIETER, W.; JAMES, A.W. (1964). Infraglomerular epithelial reflux: An early lesion of acute renal failure. *Arch. Pathol.* 77:93.
- 215-WEDDERBURN, N.; DAVIES, D.R.; MITCHELL, G.H.; DESGRANGES, C. ; THÉ, G. (1988). Glomerulonephritis in common marmosets infected with *Plasmodium brasiliacum* and Epstein-Bar virus. *The Journal of Infectious Diseases.* 158:789-794.
- 216-WELLER, R.E. (1994). Diseases of the genitourinary system. En : Baer, J.F. ; Weller, R.E. ; Kakoma, I.(eds): *Aotus: The Owl Monkey.* Academic Press, London, 205-209.
- 217-WELLER, R.E.; BAER, J.F.; MALAGA, C.A.; BUSCHBOM, R.L.; RAGAN, H.A. (1992). Renal clearance and excretion of endogenous substances in the owl monkey. *Am. J. of Primatology.* 28:115-123.

- 218-WELLER, R.E.; BUSCHBOM, R.L.; RAGAN, H.A.; BAER, J.F.; MALAGA, C.A. (1990). Relationship of serum total calcium and total protein in owl monkeys *Aotus nancymai*. *J. Med. Primatol.* 19:429-446.
- 219-WEST, C.D.; Mc ADAMS, A.J. (1978). The chronic glomerulonephritides of childhood. Part I. *J. Pediat.* 93:1-12.
- 220-WHITNEY, R.A. (1990). Importancia de la conservación de primates a la salud pública. En : Encarnación, F. ; Estupiñán, J. ; Samamé, H. ; Watson, C.R. ; Weller, R.E. (eds.) : *Primates of Americas*. Battelle Press, Seattle, 207-211.
- 221-WINTER, H. ; MAJID, N.H. (1984). Glomerulonephritis -An emerging disease ?. *Veterinary Bulletin.* 54:327-335.
- 222-WOLF, D.C. ; TURECK, J.J. ; CARLTON, W.W. (1992). Early sequential ultrastructural renal alterations induced by 2-bromoethylamine hidrobromide in the swiss ICR mouse. *Vet. Pathol.* 29:528-535.
- 223-WYKRZYKOWSKA, J.J.; PAULEY, D.R.; LACKNER, A.A.; SIMON, M.A. (1996). Evaluation of anti-human antibodies for immunohistochemistry on archival nonhuman primate tissues. *J. Med. Primatol.* 25:71-77.
- 224-YAMAMOTO, K.; ISIYAMA, N.; YAMAGA, Y.; HAYASHI, T.; KAGOTA, K. (1991).Ultrasound-guided techniques for biopsy of the kidney of the medium-sized dog. *J.Vet. Med. Sci.* 53:345-346.
- 225-ZIMMERMANN, K.W. (1929). Über den Bau des Glomerulus der menschlichen Niere. *Z. mikrosk. Anat. Forsch.* 18:520-552. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology*, S.Karger, Basel, 1-21.
- 226-ZIMMERMANN, K.W. (1933). Über den Bau des Glomerulus der Säugerniere. *Z. mikrosk. Anat. Forsch.* 32:176-278. Citado en: Schillings, P.H.M. ; Schuurmans-Stekhoven, J.H.(eds.): *Atlas of Glomerular Histopathology*, S.Karger, Basel, 1-21.
- 227-ZOLLINGER, H.U. (1971). Morphologische Nosologie der Glomerulonephritiden. *Beitr. Pathol.* 143:395-406.
- 228-ZOLLINGER, H.U. ; MIHATSCH, M.J. (1978). *Renal Pathology in Biopsy*. Springer-Verlag, Berlin.
- 229-ZOLLINGER, H.U.; MIHATSCH, M.J. (1979). Morphology of acute interstitial nephropaties<sup>1</sup> *Contr. Nephrol.* 16: 118-125.
- 230-ZUNINO, G.E.; MUDRY, M.A. (1993). Estudio morfológico y cariológico de las subespecies de *Cebus apella* (Primate, Cebidae) en la Argentina. *Bol. Primatol. Lat.* 4:9-13.

## VIII- ANEXOS

### ANEXO N° 1

#### Tinción de Giemsa

Extendidos de sangre:

Procedimiento: Fijar el extendido con alcohol metílico durante 3 a 5 minutos, se vuelca y sin lavar se cubre con solución de Giemsa diluida (1 a 3 gotas por cada mililitro de agua neutra), dejar actuar de 20 a 30 minutos, y posteriormente se lava el preparado con agua corriente y se deja secar en posición vertical.

Gota gruesa:

Procedimiento : Deshemoglobinizar con agua destilada o agua corriente colocando el portaobjeto vertical dentro del borrel. Secar a temperatura ambiente, fijar en alcohol metílico de 2 a 5 minutos, secar nuevamente y colorear con solución de Giemsa diluida (1 a 3 gotas por cada mililitro de agua neutra) durante 15 a 20 minutos. Secar nuevamente.

### ANEXO N° 2

#### Fijación en formol bufferado

Formol comercial (40 % o 35 %) 100 ml.

Agua destilada 900 ml.

Fosfato de Na monobásico monohidrato p.a ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 4 g.

Fosfato de Na bibásico anhidro p.a ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 6,5 g.

Solución con pH 7.0.

#### Fijación en solución de Bouin

Solución acuosa saturada de ácido pícrico 75 ml.

Formol 20 ml.

Acido Acético 5 ml.

**ANEXO N° 3****Esquema y tiempos del procesamiento histológico para bloques de parafina****Deshidratación (piezas no superiores a 5 mm de espesor)**

- 1-Alcohol 70°                    2 horas.
- 2-Alcohol 96° (N° 1)    2 horas.
- 3-Alcohol 96° (N° 2)    2 horas.
- 4-Alcohol 100° (N° 1)   2 horas.
- 5-Alcohol 100° (N° 2)   2 horas.

**Aclaramiento**

- 6-Xileno                    1 hora (hasta lograr transparencia).

**Inclusión**

- 7-Parafina 1 (\*)            Toda la noche.
- 8-Parafina 2 (\*)            2 horas.
- 9-Parafina 3 (\*)            2 horas.

(\*) En estufa a temperatura máxima de 58° C.

**Confección de taco y moldeado**

Corte en micrótopo de deslizamiento Reicher Jung manual (4-5 µm) y en micrótopo de rotación Leica modelo 1516 semiautomático (3µm), montaje con albúmina de Mayer (Anexo N° 3, secado en estufa a 37° C).

**Desparafinado**

- 10-Xileno 1                1 hora.
- 11-Xileno 2                1 hora (puede quedar toda la noche).

**Hidratación.**

- 12-Alcohol 96° N°1 (\*)
- 13-Alcohol 96° N°2 (\*)
- 14-Alcohol 70° N°3 (\*)
- 15-Alcohol 70° N°3 (\*)

(\*) Baños de 5 minutos en cada líquido.

Coloración con hematoxilina-eosina, P.A.S., tricrómica de Mallory, tricrómica de Masson modificada por Goldner, impregnación argéntica según Jones, técnicas inmunohistoquímicas.

**Montaje definitivo (Deshidratación y aclarado).**

- 17-Baño en alcoholes crecientes (según coloración).
- 18-Aclaramiento por baño en xileno.
- 19-Montaje del cubreobjeto con bálsamo de Canadá.

**ANEXO N° 4****Hematoxilina de Mayer**

Hematoxilina	1 g.
Alumbre de K	50 g. (Sulfato de aluminio y potasio).
Hidrato de cloral	50 g.
Iodato de Na	0,2 g.

Agua destilada c.s.p. 1000 ml.

Acido cítrico 1 g.

Disolver la hematoxilina en 5 ml. de alcohol 96° o en 100 ml de agua destilada. Disolver aparte el alumbre y el hidrato de cloral en 200 ml de agua destilada. Mezclar ambas soluciones y agregar el resto de agua destilada. Dejar oxidar durante 8 -12 días a luz diurna. Agregar el ácido cítrico y filtrar.

Para coloración sumergir el preparado durante 5 minutos y luego virar 15 minutos en agua corriente.

**Eosina**

Disolver eosina al 1 % en agua o alcohol 70°.

Para colorear, sumergir 1 minuto controlando sobrecoloración. Diferenciar con alcohol 70°.

**ANEXO N° 5****Tinción ácido periódico de Schiff (P.A.S.)**

Para la determinación de carbohidratos en tejidos.

Reactivos provistos en el equipo Biopur ®.

- 1) Solución de ácido periódico al 1 % (conservar en refrigerador)
- 2) Reactivo de Schiff Biopur ® (Conservar en refrigerador 3-6° C)

Colorante auxiliar (no provisto en el equipo).

- 1) Solución hematoxilina de Mayer.

**Procedimiento:**

- 1) Desparafinar e hidratar.
- 2) Lavar con agua corriente 5 a 10 minutos.
- 3) Sumergir en solución de ácido periódico (5 minutos).
- 4) Lavar suavemente con agua corriente 20 minutos.
- 5) Sumergir en reactivo de Schiff (3 minutos).
- 6) Enjuagar con agua destilada.
- 7) Efectuar coloración de fondo con hematoxilina de Mayer (1 minuto).
- 8) Lavar rápidamente con agua corriente (5 minutos).
- 9) Deshidratar, clarificar y montar.

**ANEXO N° 6****Tricrómica de Mallory****Soluciones:**

- a) Fucsina ácida al 0,5 % - 1 %.
- b) Acido fosfomolibdico al 2 %.
- c) Solución de Mallory: Azul de anilina soluble en agua 0,5 g.

Orange G	2 g.
Acido oxálico	2 g.
Agua destilada	100 ml.

Hervir y filtrar.

**Procedimiento:**

- 1) Desparafinar e hidratar.
- 2) Colorear con fucsina ácida durante 20 minutos.
- 3) Lavar con agua destilada.
- 4) fijar y diferenciar en ácido fosfomolibdico entre 3 y 5 minutos (preferentemente 5 minutos).
- 5) Lavar con agua destilada.
- 6) Colorear con solución de Mallory disuelta en agua destilada en proporción 1:3 durante 5 minutos.
- 7) Lavar en agua destilada.
- 8) Diferenciar en alcohol 96°.
- 9)Deshidratar, aclarar en xilol y montar

**ANEXO N° 7****Tricrómica de Masson modificada por Goldner****Solución A :**

<b>Ponceau al 1 %</b>	<b>6 ml.</b>
<b>Fucsina ácida al 1 %</b>	<b>2 ml.</b>
<b>Azofloxina al 1 %</b>	<b>1 ml.</b>
<b>Acido acético al 2 %</b>	<b>9 ml.</b>

**Solución B :**

<b>Orange G</b>	<b>8 g.</b>
<b>Acido fosfotúngstico</b>	<b>16 g.</b>
<b>Agua destilada</b>	<b>400 ml.</b>

Solución C :

Verde suave            2 g.  
Acido acético        100 ml.

Procedimiento :

Colocar en solución azul celeste 45 minutos.

Enjuagar en agua destilada.

Hematoxilina 3 minutos.

Diferenciar en ácido clorhídrico al 1 % (pasaje).

Enjuagar en agua templada.

Sumergir 30 minutos en solución A.

Sumergir 1 minuto en solución B.

Sumergir 15 minutos en solución C.

Para finalizar, enjuagar muy bien en solución de ácido acético, secar, pasaje por alcohol absoluto, xilol y montar.

## **ANEXO N° 8**

### **Impregnación argéntica para secciones de tejido incluidos en parafina según Jones**

Solución Stock:

Mezclar bien 40 ml. de una solución de hexametileno tetramina (urotropina) al 3 % con 5 ml de una solución de nitrato de plata al 5 %. Añadir 5 ml de una solución de bórax al 2 %.

Modo de operar:

Los cortes se llevan directamente al agua destilada. Luego se trata de la siguiente forma:

1-Acido periódico al 1 %, 10 minutos.

2-Agua bidestilada, 2 veces, cada vez 5 minutos.

3-Los cortes se dejan 30-60 minutos en la solución argéntica (Stock) en la estufa a 50-60° C (hasta 2 horas si se trata de inclusión de araldita). (Es posible controlar los cortes al microscopio).(Hasta obtener un color pajizo).

- 4-Lavado con agua destilada.
- 5-Tiosulfato sódico al 3 %, 5 minutos.
- 6- Hidratar en agua destilada y deshidratar. (Pasajes nada más).
- 7- Secar en estufa a 37° C.
- 8- Aclarar en acetato de butilo/xilol.
- 9- Montar con bálsamo.

## **ANEXO N° 9**

### **Técnicas de inmunohistoquímica**

**Método : Streptavidin-Biotin-Complex para secciones de tejido incluidos en parafina y recuperación antigénica en microondas.**

#### **1-Desparafinar:**

Xilol 1 x 10 minutos

Xilol 2 x 10 minutos

#### **2-Hidratar:**

Alcohol 100

Alcohol 90

Alcohol 70

Alcohol 50

Agua destilada.

(5 minutos en cada alcohol, si son 2 grupos de vidrios, entre uno y otro 5 minutos de diferencia).

#### **3-Pre-tratamiento en horno de microondas para recuperación antigénica:**

a) preparación de la solución stock de buffer citrato, ANEXO N° 10.

b) llenar una cubeta plástica para uso en microondas con 500 ml de buffer citrato y llevar al horno de microondas, calentar hasta el punto de ebullición mientras el tejido se hidrata, al mismo tiempo preparar más buffer por si falta y también calentar.

c) sumergir los vidrios durante 15 minutos a 750 W de potencia. Se puede abrir controlar cuando se quiere. Si falta buffer agregar del que se está calentando. No tapar el recipiente con los vidrios, solamente apoyar la tapa.

4-Inactivación de Peroxidasa Endógena (190 ml de agua bidestilada + 10 ml de peróxido de hidrógeno) durante 30 minutos.

5-Enjuagar con buffer 3 veces, con Tris-buffer-leche 5 minutos cada vez, ANEXO N° 10.

6-Incubación con suero de cabra normal, dilución 1:5 durante 20 minutos en cámara húmeda.

7-Decantar el suero normal e incubar con el anticuerpo primario durante 1 hora o toda la noche a 4°C en heladera.

8-Enjuagar con buffer 3 veces, con Tris-buffer-leche 5 minutos cada vez.

9- Incubar con el anticuerpo secundario biotilado. Dako-Kitt Duett 20 minutos a temperatura ambiente en cámara húmeda.

10- Enjuagar con buffer 3 veces con Tris-buffer-leche 5 minutos cada vez.

11-Incubar con Streptavidin-Biotin-Complex. Dako-Kitt Duet ABCComplex/HRP durante 20 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.

12-Enjuagar con buffer 3 veces con Tris-buffer, 5 minutos cada vez.

13-Reacción enzimohistoquímica: alicuota de la solución de 100g de DAB in 50 ml de Tris-buffer congelada a -25°C, filtrar esta alicuota en doble papel de filtro agregando 150 ml de Tris-buffer. Incubar durante 10 minutos, preferentemente en un lugar oscuro (manejar todos estos pasos con guantes).

14- Enjuagar con buffer 2 veces con Tris-buffer, 5 minutos cada vez.

15-Enjuagar en agua de canilla durante 10 minutos.

16-Colorear con hematoxilina, durante 45 segundos.

Enjuagar con agua destilada durante 30 segundos.

Enjuagar con agua de canilla durante 10 minutos.

Alcohol 50 %.

Alcohol 70 %.

Alcohol 90 %.

Alcohol 100 %.

Xilol 1

Xilol 2

Xilol 3

Cada uno de los alcoholes y xiloles durante 5 minutos.

17- Montar con bálsamo.

Método directo: Se incuba con el anticuerpo primario marcado, luego se enjuaga 3 veces en Tris-buffer y se continua con la enzimo reacción de la DAB.

## **ANEXO N° 10**

### **Preparación de buffer citrato para tratamiento en horno de microondas**

**Soluciones stock A:** Acido cítrico 0,1 M (C<sub>2</sub> H<sub>8</sub> O<sub>7</sub> H<sub>2</sub> O).

Acido cítrico	21,01 g.
Agua bidestilada	1000 ml.

**Solución stock B:** Citrato de Na 0,1 M (C<sub>6</sub> H<sub>5</sub> O<sub>7</sub> X<sub>2</sub> H<sub>2</sub> O).

Citrato de Na	29,41 g.
Agua bidestilada	1000 ml.

**Solución final lista para usar:** 10 mM, pH 6.

Solución A	9 ml.
Solución B	41 ml.
Agua bidestilada	450 ml.

### **Preparación de Tris-buffer**

**Solución stock: Tris-buffer (0,5 M pH 7,6)**

TRIS (hidroximetil) aminometano	60,57 g.
Agua bidestilada	500 ml.

Ajustar a pH 7,6 con HCl.

Completar hasta 1000 ml con agua bidestilada.

**Solución de uso a partir de la solución stock 0,05M pH 7,6**

Cloruro de Na (9,0 g cloruro de Na en 1000 ml de agua bidestilada) 900 ml.  
Solución stock 0,05M TRIS-buffer 100 ml.

### **Preparación de Tris-buffer + Leche en polvo**

Leche en polvo descremada 20 g.  
TRIS-buffer (0,05M, pH 7,6) 1000 ml..

### **ANEXO N° 11**

#### **Imbibición en plástico**

**Procedimiento:**

**Fijación y deshidratación:** Según Anexo N° 2

1-Formol al 10 %.

2-Agua de canilla por 10 minutos.

3-Alcohol 70 % por 1 día.

4-Alcohol 100 % por 1 noche.

**Pre-infiltración:**

5-Preparar en relación 1:1 alcohol 100 % + Technovit 7100 (100 ml del contenido líquido del frasco de 500 ml + 1 sobre de endurecedor, 1 de los 5 que vienen) durante 1 día.

**Infiltración:**

6-Technovit concentrado sin alcohol toda la noche.

7-Preparar los pocillos para los órganos colocando en el fondo papel de filtro.

**Polimerización:**

8-Preparar la solución completa de "KULZER HISTO-TECHNIQUE ®"(colocar 1 ml de los 40 ml que vienen + 15 ml de la solución que se preparó anteriormente con 100 ml del frasco de 500 ml + 1 sobre de los 5 que vienen), esta es la proporción. Se debe preparar de acuerdo a la cantidad de pocillos en los que necesitamos colocar los órganos durante 3 a 4 horas.

9-Llenar los pocillos y acomodar los órganos sobre el papel de filtro; dejar endurecer a temperatura ambiente.

Para mejores resultados se pueden mezclar los alcoholes con una pequeña cantidad de agua. Esto le confiere color blanquecino.

### **Montaje de los bloques:**

10- Preparar Technovit 3100 y llenar hasta completar los pocillos.

11-Despegar los bloques con pinza.

KULZER HISTO-TECHNICK ® Technovit 7100 es particularmente utilizado para obtener cortes muy finos. Su estabilidad y elasticidad permite realizar cortes de solamente 1 µm de espesor cuando utilizamos micrótopo de rotación para ser examinados en microscopio de luz.

Para realizar técnicas de inmunohistoquímica debe utilizarse Technovit 8100.

### **Procedimiento realizado con secciones de tejido renal incluidas en parafina.**

1- Se colocan los bloques de parafina en bolsas plásticas. Luego se llevan a estufa de 60° durante 24 hs (Para derretir la parafina).

2- El tejido pasa directamente a cloroformo durante 1 hora.

3- Alcohol 100° durante la noche.

4- Technovit a/a alcohol 100° durante 24 hs.

Continuar el proceso para la imbibición en plástico (Technovit 7100). Comenzar directamente en el punto 4.

## **ANEXO N° 12**

### **Azul de toluidina**

Solución 1:

Azul de toluidina	2 g.
Bórax	1 g.
Agua bidestilada	200 ml (mezclar).

Solución 2:

Pironina G	0,5 g.
Aguas bidestilada	50 ml (mezclar).

Antes de usar mezclar la solución 1 y 2 durante 15 minutos.

Esta solución puede durar hasta 6 mese.

**Procedimiento:**

- 1- Colocar los portaobjetos con los cortes en peróxido de hidrogeno al 10 % (agua oxigenada) durante 10 minutos.
- 2- Pasaje por agua bidestilada durante 2 a 5 minutos.
- 3- Filtrar la solución de azul de toluidina.
- 4- Sumergir en azul de toluidina durante 1 minuto.
- 5- Colocar en agua bidestilada a temperatura ambiente hasta que el color del plástico desaparezca (aproximadamente 5 minutos).
- 6- Secar, puede ser en cámara caliente a 60° C o a temperatura ambiente.
- 7- Xilol, limpiar en ese momento.
- 8- Montar con bálsamo.

### **ANEXO N° 13**

#### **Técnica de Movat para cortes finos embebidos en plásticos**

- 1- Oxidar en solución de ácido periódico (Merck 524 ®) al 1 %: 2 g en 200 ml agua destilada, 10 minutos a temperatura ambiente.
- 2- Enjuagar en agua destilada, 3 veces durante 2 minutos c/u.
- 3- Impregnar con solución de plata, en caja de vidrio caliente a 60° C durante 30 a 60 minutos.

**Solución de plata:**

- |                                 |                                    |
|---------------------------------|------------------------------------|
| a) Hexametilentetramina al 3 %: | 4,8 g en 160 ml de agua destilada. |
| b) Nitrato de plata al 5 %:     | 1g en 20 ml.                       |
| c) Bórax al 2 % :               | <u>20 ml.</u>                      |
|                                 | Total: 200 ml.                     |

- 4- Enjuagar en agua destilada.

- 5- Fijar en solución de tiosulfato sódico al 3 % (Merck 6509 ®), 6 g en 200 ml de agua destilada durante 5 minutos.
- 6- Hidratar en agua de canilla, durante 5 minutos.
- 7- Hematoxilina durante 5 minutos (Shandon ®).
- 8- Hidratar 10 minutos.
- 9- Secar a temperatura ambiente.
- 10- Colocar en xilol, limpiar el preparado y luego montar con bálsamo.

#### **ANEXO N° 14**

##### **Técnicas para microscopía electrónica de transmisión (TEM)**

###### **Procesamiento general**

- 1- Obtención del material (bloques de 0,5 x 1 mm).
- 2- Fijar en glutaraldehído 3 % (en buffer cacodilato 0,1 M pH 7,4 a 4°C durante 2 horas). ANEXO N° 15.
- 1- Mantener en solución de sucrosa al 5 % en buffer cacodilato 0,1 M . ANEXO N° 15.
- 2- Tres lavados de 20 minutos en buffer cacodilato 0,1 M. ANEXO N° 15.
- 3- Post-fijar en tetróxido de osmio al 1 % 2 hs a 4°C. ANEXO N° 16.
- 4- Tres lavados de 20 minutos en buffer cacodilato 0,1 M.
- 5- Deshidratar : Acetona 50°-70°-90°-100° (3-4 cambios) 10 minutos c/u.
- 6- Colocar en óxido de propileno (3 veces) 10 minutos c/u.
- 7- Preinclusión : Poly /Bed 812- óxido de prop. 1:1                    2 horas.  
Poly/ Bed 812 75 % - óxido de prop. 25 %   2 horas.  
Secar con papel de filtro e incluir en forma definitiva en Poly/Bed 812.
- 9- Tallado bajo lupa.
- 10- cortes gruesos en ultramicrotomo Supernova.
- 11- Coloración de cortes gruesos 1 µm con azul de metileno. ANEXO N° 17.

12- Selección de campos y retallado bajo lupa.

13- Cortes finos (90nm) en ultramicrotomo y montaje en grilla de 300 mesh.

14- Coloración (electrodensificación) de cortes finos en acetato de uranilo durante 15 segundos y luego en citrato de plomo durante 2 minutos. ANEXO N° 17.

1- Observación y fotografía de especímenes seleccionados en Microscopio JEM 1.200 EXII (Jeol LTD).

### **ANEXO N° 15**

#### **Buffer cacodilato 0,2 M pH 7,4**

Cacodilato de Sodio (con 3 H<sub>2</sub>O) 21,4 g.

Agua destilada 300 ml.

Acido clorhídrico 1N 6 ml.

Medir pH, ajustar si es necesario y completar hasta 500 ml con agua destilada.

#### **Glutaraldehído al 3 % (en buffer 0,1 M, pH ,4)**

Glutaraldehído al 25 % 12 ml.

Agua destilada 38 ml.

Buffer cacodilato 0,2 M pH 7,4 50 ml.

#### **Solución de sucrosa al 5 % en buffer cacodilato 0,1 M**

Sucrosa 5 g.

Buffer cacodilato 0,2 M 50 ml.

Agua destilada 1000 ml.

#### **Buffer para lavado**

Buffer cacodilato 0,2 M 5 ml.

Agua destilada 5 ml.

**ANEXO N° 16****Solución madre de tetróxido de osmio al 4 %**

Cristales de tetróxido de osmio	1 g.
Agua destilada	25 ml.

Guardar en frasco color ámbar y cierre hermético. Para disolución total de la mezcla se requiere, por lo menos, 1 semana. Agitar la mezcla cada 2 días.

**Solución de trabajo de tetróxido de osmio al 1%**

Sol. de tetróxido de osmio al 4 %	2,5 ml.
Buffer cacodilato 0,2 M	5 ml.
Agua destilada	2,5 ml.

**Resina para inclusión: Poly/bed 812 (Poliscience)**

Poly-Bed 812	21 ml.
Dodencenyl Succinic Anhydride (DDSA)	13 ml.
Nadic Methyl Anhydride (NMA)	11 ml.

Volcar en un vaso de precipitación y mezclar vigorosamente bajo agitación magnética durante 5-10 minutos.

Agregar 0,7 ml de DMP-30 (acelerador epoxi) y continuar mezclando durante 10 minutos.

**ANEXO N° 17****Coloración de cortes gruesos**

Solución colorante :

Azul de metileno	1g.
Carbonato de potasio	1 g.
Agua destilada	1 g.

Modo de operar :

- 1- Secar los cortes a 35-40°C.
- 2- Colocar 1 gota del colorante sobre los cortes y dejar actuar 1 minuto.
- 3- Lavar con agua destilada.
- 4- secar y montar con aceite de inmersión, sellando con esmalte de uñas.

### **Coloración de cortes finos (electrodensificación)**

#### **Acetato de uranilo :**

- 1- Disolver a saturación el uranilo en agua bidestilada.
- 2- Tomar de la parte media de la solución 10 ml.
- 3- Llevar al 50 % con acetona.
- 4- Colorear durante 15 segundos apoyando la grilla sobre una gota del colorante colocada en papel parafilm.
- 5- Lavar con agua destilada, varios lavados.

#### **Citrato de plomo :**

Hidróxido de sodio	100 mg. (una perla)
Citrato de plomo	75 mg.
Agua destilada	75 mg.

Guardar en frasco color ámbar y con cierre hermético.

Colocar una gota sobre papel parafilm y apoyar la grilla 2 min.

Colorear bajo atmósfera de hidróxido de sodio.