

Análisis de la infiltración intraglomerular de leucocitos en las glomerulonefritis rápidamente progresivas

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

Servicio de Nefrología, Hospital Clínico y Provincial. Departamento de Medicina, Universidad de Barcelona.

RESUMEN

Las interacciones locales entre linfocitos T y macrófagos están demostradas en las glomerulonefritis experimentales inducidas por anticuerpos antimembrana basal glomerular y por inmunocomplejos. En 14 biopsias de glomerulonefritis rápidamente progresivas (GNRP) (tres clase I, seis clase II, cinco clase III) hemos identificado la infiltración glomerular de células inmunocompetentes con anticuerpos monoclonales (AM) dirigidos contra el antígeno común de los leucocitos (CD45), linfocitos T (CD3), subpoblación colaboradora-inductora (CD4), supresora-citotóxica (CD8) y monocitos-macrófagos (CD14) con técnica de avidina-biotina. Hemos contado el número de células+ con cada AM en todos los glomérulos y expresado el índice número de células+/número de glomérulos. El índice de leucocitos fue 14 ± 5 ($\bar{x} \pm ES$), 13 ± 5 , $1,5 \pm 0,6$, $2,7 \pm 1,6$; el índice de macrófagos fue: $5,3 \pm 2$, $6,8 \pm 5,3$, $2,8 \pm 0,4$, $1,4 \pm 1,4$, y el índice de linfocitos T fue $3,6 \pm 1,4$, $1 \pm 0,7$, $0,4 \pm 0,3$, $1,5 \pm 0,7$ en las biopsias de clase I, clase II primitivas, clase II secundarias y clase III, respectivamente. La infiltración de linfocitos T presentó tanto el fenotipo CD4⁺ como el CD8⁺ en las biopsias de clase I y de clase II. Ninguna biopsia de clase III mostró células CD8⁺. Así, los monocitos-macrófagos predominan sobre los linfocitos T entre la infiltración celular intraglomerular en las GNRP y aparecen mucho más numerosos en las GNRP de clase I y de clase II primitivas que en el resto. La presencia de macrófagos y de linfocitos T con el fenotipo CD4⁺ y su detección en ausencia de depósitos inmunes (clase III) apoyaría el papel local de la inmunidad celular.

Palabras clave: **GNRP. Inmunidad celular.**

INTRAGLOMERULAR LEUKOCYTE ANALYSIS IN RAPIDLY PROGRESSIVE GLOMERULONEPHRITIS

SUMMARY

Local interactions between macrophages and T lymphocytes have been shown in both experimental anti-glomerular basement membrane antibody and immune complex induced-glomerulonephritis (GN). We have identified immunocompetent cell intraglomerular

Recibido: 6-XI-1991.
En versión definitiva: 19-II-1992.
Aceptado: 20-II-1992.

Correspondencia: Dra. P. Arrizabalaga.
Servicio de Nefrología.
Hospital Clínico.
Villarroel, 170.
08036 Barcelona.

infiltration by avidin-biotin-immunoperoxidase technique using monoclonal antibodies (MA) for common leukocyte antigen (CD45), all T lymphocytes (CD3), helper/inducer T cells (CD4), cytotoxic/suppressor T cells (CD8) and monocytes-macrophages (CD14) in 14 renal biopsies from patients with rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN) (3 type I, 6 type II and 5 type III). Positive cells identified with each MA were counted within all glomeruli. The number of positive cells: number of glomeruli ratio was calculated. The leukocyte ratio was 14 ± 5 ($\bar{x} \pm ES$), 13 ± 5 , 1.5 ± 0.6 , 2.7 ± 1.6 ; the macrophage ratio was 5.3 ± 2 , 6.8 ± 5.3 , 2.8 ± 0.4 , 1.4 ± 1.4 ; and the T lymphocyte was 3.6 ± 1.4 , 1 ± 0.7 , 0.4 ± 0.3 , 1.5 ± 0.7 for respectively: type I, primary type II, secondary type II, and type III RPGN. T lymphocytes were equally represented by CD4⁺ cells and CD8⁺ cells in type I-II RPGN. No CD8⁺ cells were seen in type III biopsies. Thus, monocytes-macrophages clearly predominated over T-cells on intraglomerular cell infiltration, and were more numerous in type I and primary type II GNRP than in the remaining types. The finding of macrophages as well as T-cells bearing CD4⁺ phenotype, and its detection without evidence of immune deposits (type III) suggests that cellular immunity may play a role in RPGN.

Key words: **RPGN. Cellular immunity.**

Introducción

La glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP) es un síndrome clínico caracterizado por un descenso rápido de la función renal, acompañado de una glomerulonefritis con proliferación extracapilar aguda y generalizada. En la patogenia de las GNRP están bien demostrados dos mecanismos inmunes humorales: la formación de anticuerpos dirigidos contra antígenos de la membrana basal glomerular (MBG), que da lugar a las GNRP con depósitos inmunes lineales localizados en los capilares glomerulares, y la formación de complejos inmunes circulantes constituidos por antígenos no relacionados con las estructuras glomerulares y anticuerpos contra aquellos que actuaría en las GNRP con depósitos inmunes granulares¹. No obstante, un grupo de GNRP sin evidencia de depósitos inmunes, que por lo menos es tan numeroso como los anteriores, no puede ser atribuido a la mediación de ninguno de los mecanismos mencionados.

Las interacciones entre macrófagos y linfocitos T que conforman la denominada inmunidad celular (IC) están demostradas en modelos experimentales mediados por la inmunidad humoral (IH)^{2,3}. En la GN aguda inducida por anticuerpos anti-MBG a dosis nefritógenas en animales previamente sensibilizados frente al anticuerpo heterólogo, lo que permite desarrollar una respuesta inmune celular, los linfocitos T afluyen al glomérulo⁴ y preceden al acúmulo de macrófagos que provocan la proteinuria durante la fase autóloga de la enfermedad^{5,6}. El sobrenadante de los glomérulos eluidos contiene factor inhibitorio de la migración del macrófago, una linfoquina cuya detección y actividad son paralelas al número de linfocitos T presentes en el interior del glomérulo⁷. El mismo mecanismo se ha demostrado en un modelo de GN aguda inducida por inmunocomplejos circulantes⁸.

El análisis de la infiltración de linfocitos T y de macrófagos mediante la aplicación de anticuerpos monoclonales

a las biopsias con GNRP permite la máxima aproximación morfológica al estudio del posible papel de la IC en esta situación.

Material y métodos

Biopsias renales

Se han estudiado las biopsias renales de 14 pacientes seleccionados, esencialmente, en base a: la presencia de cinco o más glomérulos en el tejido incluido en parafina y/o en el tejido congelado, la presencia de proliferación extracapilar de carácter celular o fibrocelular en un porcentaje de glomérulos superior al 50 %, la disponibilidad de suficiente material para la aplicación de anticuerpos monoclonales y la ausencia de dificultades técnicas en el procedimiento histoinmunológico. Cuatro biopsias renales obtenidas con fines diagnósticos, que resultaron normales, fueron utilizadas como control tisular. Las características clínicas de los pacientes, así como las características histológicas de las biopsias procesadas para microscopía óptica e inmunofluorescencia indirecta rutinarias, están recogidas en la tabla I. Los tres primeros pacientes, que mostraron títulos de anticuerpos antimembrana basal glomerular séricos superiores a 10 ± 2 ($\bar{x} \pm DS$) %, detectados por radioinmunoensayo⁹, así como depósitos fluorescentes de inmunoglobulinas y de complemento de carácter lineal en los capilares glomerulares, eran portadores de una GNRP de clase I¹⁰. Dos de estos pacientes (núms. 1 y 3) que presentaron una hemorragia pulmonar fueron diagnosticados de síndrome de Goodpasture. Seis pacientes (núms. 4-9) mostraron depósitos inmunes granulares en los capilares glomerulares y fueron clasificados como GNRP de clase II. Las semilunas epiteliales acompañaban a lesiones de glomerulonefritis aguda en un paciente (núm. 6) y de nefropatía mesangial por

Tabla I. Características clínicas e histológicas

Paciente	Edad/ sexo	Anticuerpos anti-MBG *	Microscopia óptica			Inmunofluorescencia		
			N.º glomérulos	% PE †	% PE ge ‡	Ig	Complemento	Fibrinógeno
1	19/M	60 %	13	85	85	Lineal	Lineal	+
2	75/V	32 %	14	65	35	Lineal	Lineal	+
3*	20/M	33 %	1	100	100	Lineal	Lineal	-
4	45/M	11 %	13	54	38	Granular	Granular	+
5	47/M	11 %	10	50	33	Granular	Granular	-
6	52/V	nd	11	46	27	Granular	Granular	-
7	19/V	nd	10	80	20	Granular	Granular	-
8	45/V	10 %	8	60	60	Granular	Granular	+
9	40/M	nd	16	44	20	Granular	Granular	-
10*	75/V	nd	2	50	0	-	-	+
11	75/V	nd	12	50	40	-	-	-
12	74/V	nd	6	80	0	-	-	-
13	76/V	0 %	13	54	46	-	-	+
14*	78/V	nd	4	50	0	-	-	-

* Título de anticuerpos antimembrana basal glomerular en suero.

† Porcentaje de glomérulos con proliferación extracapilar (PE) celular o fibrocelular.

‡ Porcentaje de glomérulos con PE celular o fibrocelular en más del 50 % del espacio de Bowman.

* El tejido congelado procesado para inmunofluorescencia e inmunohistoquímica contaba con ≥ 5 glomérulos.

depósitos inmunes de IgA en otro paciente (núm. 9). En dos casos, la GNRP fue secundaria a una enfermedad de Schönlein-Henoch (núm. 7) y a un lupus eritematoso sistémico (núm. 8). Cinco pacientes (núms. 11-14) no presentaron depósitos inmunes en el glomérulo y fueron clasificados como GNRP de clase III o pauci-inmune¹¹.

Histoinmunología

Las muestras de tejido renal fueron congeladas en nitrógeno líquido, cortadas en el criotomo a -20°C en secciones de 4 micras, fijadas en acetona y guardadas a -80°C hasta su utilización. Las secciones de tejido renal fueron procesadas con la técnica inmunoenzimática de avidina-biotina-peroxidasa, siendo tratadas con incubaciones sucesivas de: suero normal de caballo a dilución de 1/75, anticuerpo monoclonal (AM) a dilución apropiada, anticuerpo de caballo anti-IgG de ratón conjugado con biotina a dilución de 1/100 y complejo avidina-biotina-peroxidasa (Vector Laboratories Inc., Burlingame, California, USA). Se utilizaron AM dirigidos contra el antígeno común de los leucocitos (CD45, 200 KD, AM 72-5-D3)¹², monocitos-macrófagos (CD14, 50 KD, AM Cris-6)¹³ (gentileza ambos del doctor R. Vilella), linfocitos T (CD3, 22 KD, AM Leu 4) (Becton Dickinson, Mountain View, California, USA), linfocitos T colaboradores/inductores (CD4, 55 kd, AM Leu 3a) y linfocitos T citotóxicos/supresores (CD8, 33 KD, AM Leu 2a)¹⁴. La solución de diaminobencidina al 0,05 % (Sigma Diagnostics, St. Louis, Missouri, USA) fue el sustrato revelador, y la hematoxilina de Harris fue aplicada como contratinción. Se utilizaron secciones de amígdala palatina como control positivo de cada uno de los AM mencionados. Las células positivas intersticiales en el tejido renal también sirvieron como control positivo de

los AM en las secciones que nos mostraron celularidad intraglomerular positiva. Como control negativo de los AM se utilizaron secciones de cada muestra renal incubada con ascitis de mieloma NS1 o de PBS procesadas de la forma descrita, pero sin AM. Las secciones sucesivas de la misma muestra procesadas con cada uno de los AM fueron analizadas en un microscopio Leitz a 250 aumentos.

Evaluación

Las células positivas fueron identificadas por la observación de una tinción de membrana marrón uniforme alrededor de un núcleo azulado (fig. 1). Se contaron las células identificadas con cada uno de los AM en el interior de todos los glomérulos de la muestra. En los glomérulos con infiltración celular periglomerular sólo se contaron las células que aparecieron claramente en su interior. La ubicación exacta de las células positivas intraglomerulares en el flóculo o en la zona de proliferación extracapilar fue difícil de precisar en los glomérulos con semilunas epiteliales celulares o fibrocelulares (fig. 1b). Los resultados fueron expresados como número de células positivas por glomérulo.

Resultados

En ninguna biopsia de tejido renal normal hemos observado infiltración intraglomerular de leucocitos. El índice entre el número de leucocitos intraglomerulares y el número total de glomérulos que hemos hallado con cada uno de los AM en las biopsias renales de GNRP está expresado en la tabla II. Cuando se analizó más de una sec-

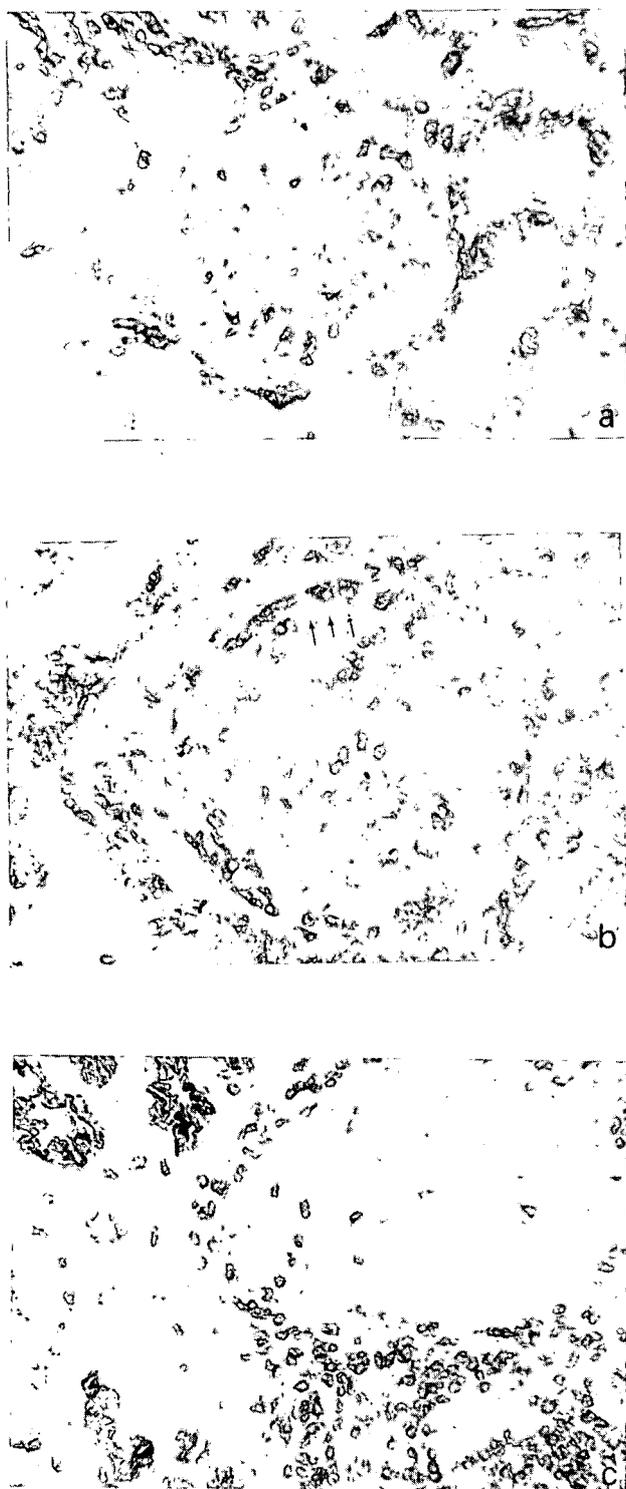


Fig. 1.—a) Biopsia teñida con el AM CD45: leucocitos intraglomerulares e intersticiales. b) Biopsia teñida con el AM CD14: monocitos-macrófagos en el floculo glomerular y probablemente en una semiluna epitelial (flechas). c) Biopsia teñida con el AM CD3: linfocitos T intraglomerulares y en acúmulos intersticiales. (Avidina-biotina-peroxidasa $\times 250$.)

ción con el mismo AM, la tabla recoge el valor medio de los índices observados en cada sección. Los leucocitos (CD45⁺) contribuyen a la proliferación celular intraglomerular característica de las GNRP, siendo la infiltración de monocitos-macrófagos (CD14⁺) mucho más numerosa que la infiltración de linfocitos T (CD3⁺). El valor medio del índice de la infiltración intraglomerular de leucocitos y el valor medio del índice de la infiltración intraglomerular de monocitos-macrófagos fueron mucho más elevados en las GNRP de clase I y en las GNRP de clase II primitivas que en las GNRP de clase II secundarias y en las biopsias de clase III (fig. 2). Las biopsias de clase I y de clase II primitivas fueron también las que habían mostrado un mayor porcentaje de glomérulos con semilunas epiteliales celulares y/o fibrocelulares en más del 50 % del espacio de Bowman. El índice intraglomerular de linfocitos T fue más alto en las GNRP de clase I que en el resto de grupos, lo que concuerda con la presencia más numerosa de leucocitos en estas biopsias. La figura 3 muestra que células T tanto inductoras/colaboradoras (CD4⁺) como supresoras/citotóxicas (CD8⁺) contribuyen a la infiltración intraglomerular de linfocitos T en las GNRP de clase I y en las GNRP de clase II. Ninguna de las cinco biopsias sin evidencia de depósitos inmunes con el microscopio de fluorescencia (clase III) presentó células CD8⁺ en el interior del glomérulo.

Discusión

En el tejido renal normal no hemos observado leucocitos en el interior de los glomérulos con ninguno de los AM utilizados; sólo algunas células CD45⁺ y CD14⁺ fueron identificadas ocasionalmente en el intersticio.

En las biopsias de GNRP hemos observado leucocitos (CD45⁺) intraglomerulares, siendo los macrófagos (CD14⁺) sobre los linfocitos T (CD3⁺) los leucocitos predominantes entre la infiltración celular. La detección de macrófagos en las lesiones glomerulares ya era bien conocida mediante técnicas histoquímicas en las GNRP proliferativas¹⁵⁻¹⁸. La aplicación histológica de AM dirigidos contra antígenos de membrana que ofrecen una identificación celular más nítida y permiten la evaluación cuantitativa de la infiltración celular confirmando la presencia intraglomerular de macrófagos en la GNRP¹⁹⁻²². Los macrófagos parecen el principal componente de la proliferación extracapilar celular^{23,24}, especialmente si existe disrupción de la cápsula de Bowman²⁵; aunque otros trabajos aplicando también AM discrepan de esta observación y consideran que las semilunas recientes están compuestas fundamentalmente por células de origen epitelial²⁶. En nuestras biopsias de GNRP, revelando los AM con la técnica de avidina-biotina-peroxidasa, no hemos distinguido con exactitud entre el floculo de capilares glomerulares y la semiluna epitelial en todos los glomérulos hiper celulares. No obstante, la mayor infiltración de macrófagos observada en las biopsias que muestran una proliferación extracapilar más

Tabla II. Infiltración intraglomerular de leucocitos en las GNRP

Paciente	Clase	CD 45+	CD 14+	CD 3+	CD 4+	CD 8+
1	I	* 9 (2)	8 (7)	6,3 (3)	4,3	0,2
2	I	19,25	6,5	4,4	14	11
3	I	nd	1,5 (2)	0,3	0,1	0,1
4	II	8 (2)	12,2 (2)	0,35	0,5	0
5	II	8,11	1,55	1,85	0,5	2
6	II	0,33	3 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)
7	II	1,2 (3)	0,14 (2)	0,3	nd	nd
8	II	1,5 (3)	2 (2)	nd	nd	nd
9	II	3,3	3,6	1 (2)	3,2	1
10	III	1,4	nd	4	nd	0
11	III	7,5	5,6	1	2,2 (2)	0 (2)
12	III	1	0	0	0	0
13	III	nd	0,04 (2)	0,3 (2)	0,1	0
14	III	1	0	nd	nd	0

* Índice entre el número de células positivas y el número total de glomérulos. Se expresa como valor medio cuando se analiza más de una sección (n).

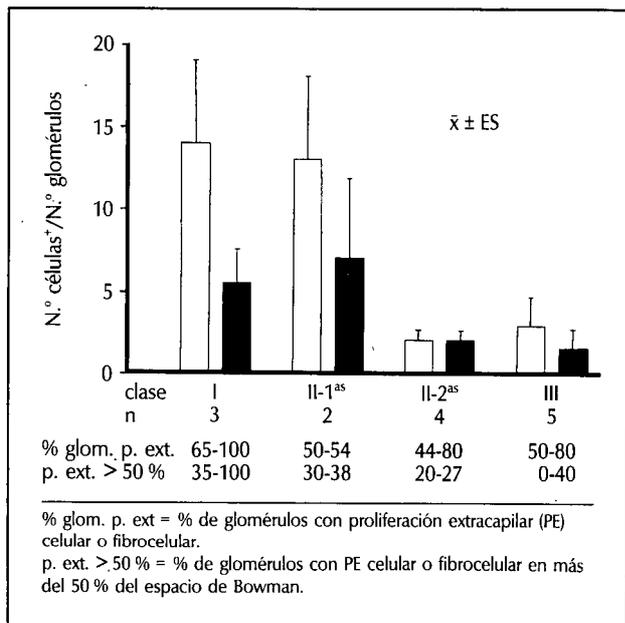


Fig. 2.—Histograma de la infiltración intraglomerular de leucocitos (CD45⁺) □ y de monocitos-macrófagos (CD14⁺) ■ en las GNRP.

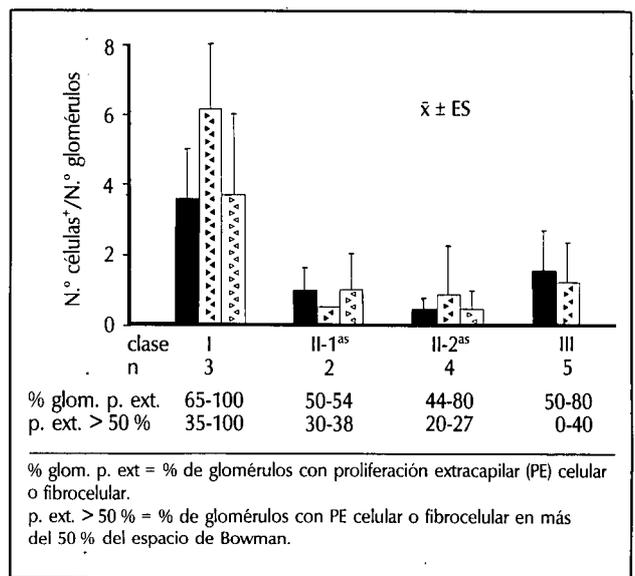


Fig. 3.—Histograma de la infiltración intraglomerular de linfocitos T (CD3⁺) ■ y de las subpoblaciones colaborada/inductora (CD4⁺) ▴ y supresora/citotóxica (CD8⁺) ▾ en las GNRP.

generalizada y difusa en la microscopía óptica, concordaría con que aquellos formasen parte de su composición. La presencia intraglomerular de macrófagos en las GNRP podría reflejar la respuesta a la liberación de sustancias quimiotácticas durante la activación del sistema del complemento y del sistema de la coagulación con la formación final de fibrinógeno-fibrina, que resulta de la reacción antígeno-anticuerpo en los capilares glomerulares. La asociación entre la presencia de macrófagos y la detección de depósitos de C3²⁷ y de depósitos de fibrinógeno-fibrina^{27,28} en series de GN de diversos tipos his-

tológicos, así como su asociación con la presencia intraglomerular de polimorfonucleares en las GN agudas^{18,29} y con la localización subendotelial de los depósitos inmunes³⁰ en series de GN seleccionadas, apoyaría que la infiltración intraglomerular de macrófagos en las GNRP resultase de la inflamación local.

En este trabajo hemos detectado macrófagos en las GNRP incluso en las biopsias de clase III que no reflejan la participación de un mecanismo inmune humoral. Además hemos detectado linfocitos T en 10 de 12 biopsias estudiadas con el AM CD3, correspondiendo esta celular-

ridad tanto a la subpoblación inductora/colaboradora (CD4⁺) como a la subpoblación supresora/citotóxica (CD8⁺) en la biopsias de clase I y de clase II. Ninguna biopsia de clase III presentó células CD8⁺. La infiltración intraglomerular de macrófagos y de linfocitos T en las GN con proliferación extracapilar, como han observado otros trabajos³¹, y la asociación entre su intensidad y la severidad de la pérdida funcional³², sugieren un papel de la inmunidad celular en las GNRP. La identificación de células con el fenotipo CD4⁺ como el de la célula efectora de la reacción de hipersensibilidad tardía³³, tal como sucede en el rechazo al trasplante renal^{34,35}, y la detección intraglomerular de linfocitos T activados^{36,37} en las GN con semilunas, apoyarían el papel de la IC en las GNRP. Además, a nivel experimental en un modelo pasivo de GN aguda inducido por anticuerpos anti-MBG³⁸ y en un modelo de GN aguda inducido por inmunocomplejos³⁹, se ha demostrado que la actividad procoagulante (AP) del macrófago que activa la coagulación por la vía extrínseca a través de los factores VII, X y fibrinógeno resulta en la formación de depósitos intraglomerulares de fibrina. La AP depende de una glicoproteína de membrana cuya expresión requiere la interacción entre el macrófago y el linfocito T activado. Así, la asociación entre la infiltración intraglomerular de macrófagos y la detección de depósitos de fibrinógeno-fibrina observada en las GNRP⁴⁰ podría también ser explicada por la respuesta inmune específica.

En conclusión, la aplicación histológica de AM a la biopsias de GNRP es útil para la identificación de las células inmunocompetentes que contribuyen a las lesiones proliferativas. La detección simultánea de macrófagos y de linfocitos T, mostrando además el fenotipo colaborador/inductor y en ausencia de depósitos inmunes, tal como sucede en las GNRP de tipo III, sugiere que la infiltración de macrófagos puede reflejar el papel de la inmunidad celular en esta situación.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del Proyecto 90/0304 del Fondo de Investigación de la Seguridad Social y ha sido premiado por la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid en el curso académico de 1991. Agradecemos a Judith Vela la asistencia técnica y a Montserrat Escartín su ayuda mecanográfica.

Bibliografía

- Darnell A: Inmunopatogenia de las glomerulonefritis. En *Glomerulonefritis. Conceptos actuales sobre clasificación, inmunopatogenia y tratamiento*. Monografía Medicina Interna. Barcelona, pp. 519-538, 1983.
- Bhan AK, Schneeberger EE, Collins AB y McCluskey RT: Evidence for a pathogenic role of a cell-mediated immune mechanism in experimental glomerulonephritis. *J Exp Med*, 148:246-260, 1978.
- Bhan AK, Collins AB, Schneeberger EE y McCluskey RT: A cell-mediated reaction against glomerular-bound immune complexes. *J Exp Med*, 150:1410-1420, 1979.
- Tipping PG, Neale TJ y Holdsworth SR: T Lymphocyte participation in antibody-induced experimental glomerulonephritis. *Kidney Int*, 27:530-537, 1985.
- Holdsworth SR, Neale TJ y Wilson CB: Abrogation of macrophage-dependent injury in experimental glomerulonephritis in the rabbit. *J Clin Invest*, 68:686-698, 1981.
- Schreiner CF, Cotran RS y Unanue ER: Macrophages and cellular immunity in experimental glomerulonephritis. *Springer Semin Immunopathol*, 5:251-267, 1982.
- Boyce NW, Tipping PG y Holdsworth SR: Lymphokine (MIF) production by glomerular T-lymphocytes in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int*, 30:673-677, 1986.
- Parra G, Mosquera J y Rodríguez-Isturbe B: Migration inhibition factor in acute serum sickness nephritis. *Kidney Int*, 38:1118-1124, 1990.
- Mirapeix E y Revert L: Functional identity between renal and pulmonary Goodpasture's antigen. *Kidney Int*, 30:128, 1986.
- Glasscock RS, Adler SC, Ward HS y Cohen AH: Primary glomerular diseases. En Brenner BM y Rector FC (eds.). *The Kidney*. Saunders Co. Philadelphia, pp. 1194-1200, 1991.
- Falk RJ: ANCA-associated renal disease. *Kidney Int*, 38:998-1010, 1990.
- Cobbold S, Hale G y Waldmann H: Non-lineaje, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. En Michael AJ (ed.) *Leucocyte typing III*. Butler and Tanner Ltd. Oxford, pp. 788-803, 1987.
- Bernstein ID y Self S: Joint report of the myeloid section of the second international workshop on human leukocyte differentiation antigens. En Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM y Bernstein ID. *Leucocyte typing II*. Springer-Verlag, New York Inc, pp. 1-25, 1986.
- Reinherz EL y Schlossman SF: The differentiation and function of human T lymphocytes: A review. *Cell*, 19:821-827, 1980.
- Jothy S y Swka R: Presence of monocytes in systemic lupus erythematosus-associated glomerulonephritis. *Arch Pathol Lab Med*, 105:590-593, 1981.
- Magil AB y Wadsworth LD: Monocytes involvement in glomerular crescents. A histochemical and ultrastructural study. *Lab Invest*, 47:160-166, 1982.
- Laohapand T, Cattel V y Gabriel JRT: Monocyte infiltration in human glomerulonephritis: alpha-1-antitrypsin as a marker for mononuclear phagocytes in renal biopsies. *Clin Nephrol*, 19:309-316, 1983.
- Magil AB: Monocytes and glomerulonephritis associated with remote visceral infection. *Clin Nephrol*, 22:169-175, 1984.
- Hooke DH, Hancock WW, Gee DC, Kraft N y Atkins C: Monoclonal antibody analysis of glomerular hypercellularity in human glomerulonephritis. *Clin Nephrol*, 22:163-168, 1984.
- Stachura I, Si L, Madan E y Whiteside T: Mononuclear cell subsets in human renal disease. Enumeration in tissue section with monoclonal antibodies. *Clin Immunol Immunopathol*, 30:362-373, 1984.
- Nolasco F, Cameron JS y Hartley B: T-lymphocyte and macrophage involvement in the glomerular lesions of microscopic polyarteritis. *Proc EDTA*, 22:752-758, 1985.
- Hooke DH, Gee DC y Atkins RC: Leukocyte analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis. *Kidney Int*, 31:964-972, 1987.
- Hancock WW y Atkins RC: Cellular composition in human rapidly progressive glomerulonephritis identified using monoclonal antibodies. *Am J Nephrol*, 4:177-181, 1984.
- Müller GA, Müller CA, Markovic-Lipkouski J, Kilper RB y Risler T: Renal, major histocompatibility complex antigens and cellular components in rapidly progressive glomerulonephritis identified by monoclonal antibodies. *Nephron*, 49:132-139, 1988.
- Boucher A, Droz D, Adaffer A y Noël LH: Relationship between the integrity of Bowman's capsule and the composition of cellular crescents in human crescentic glomerulonephritis. *Lab Invest*, 56:526-533, 1987.
- Yoshioka K, Takemura T, Akano N, Miyamoto H, Iseki T y Maki S: Cellular and non-cellular compositions of crescents in human glomerulonephritis. *Kidney Int*, 32:284-291, 1987.
- Arrizabalaga P, Mirapeix E, Darnell A, Torras A y Revert L: Cellular

- immunity analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis. *Nephron*, 53:41-49, 1989.
28. Ferrario F, Castiglione A, Colosanti G, Belgioso GB, Bertoli S y D'Amico G: The detection of monocytes in human glomerulonephritis. *Kidney Int*, 28:513-519, 1985.
 29. Monga C, Mazzucco G, Barbiano G y Busnach G: Monocyte infiltration and glomerular hypercellularity in human acute and persistent glomerulonephritis. *Lab Invest*, 44:381-387, 1981.
 30. Magil AB, Wadworth LD y Loewen M: Monocytes and human renal glomerular disease. A quantitative evaluation. *Lab Invest*, 44:27-33, 1981.
 31. Nolasco F, Cameron JS, Hartley B, Coelho GH y Reuben R: Intraglomerular T cells and monocytes in nephritis: Study with monoclonal antibodies. *Kidney Int*, 31:1160-1166, 1987.
 32. Bolton WK, Innes DJ, Sturgill BC y Kaiser DL: T-cells and macrophages in rapidly progressive glomerulonephritis: Clinicopathologic correlations. *Kidney Int*, 32:869-876, 1987.
 33. Platt JL, Grant BW, Eddy AA y Michael AF: Immune cell populations in cutaneous delayed-type hypersensitivity. *J Exp Med*, 158:1227-1242, 1983.
 34. Hall BM y Duggin GG: Increased expression of HLA-DR antigens on renal tubular cells in renal transplants: relevance to the rejection response. *Lancet*, ii:247-251, 1984.
 35. Arrizabalaga P, Mirapeix E, Damell A, Andreu J, Oppenheimer F, Gallart T, Torras A y Revert L: Cellular infiltrate in renal graft rejection: T-lymphocyte subsets detected by monoclonal antibodies. *Nephron*, 44:11-17, 1986.
 36. Li HL, Hancock WW, Dowling JP y Atkins RC: Activated (IL-2R⁺) intraglomerular monoclonal cells in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int*, 39:793-798, 1991.
 37. Li HL, Hancock WW, Hooke DH, Dowling JP y Atkins RC: Mononuclear cell activation and decreased renal function in IgA nephropathy with crescents. *Kidney Int*, 37:1552-1556, 1990.
 38. Holdsworth SR y Tipping PG: Macrophage induced glomerular fibrin deposition in experimental glomerulonephritis. *J Clin Invest*, 76:1367-1374, 1985.
 39. Tipping PG, Worthington LA y Holdsworth SR: Quantitation and characterization of glomerular procoagulant activity in experimental glomerulonephritis. *Lab Invest*, 56:155-159, 1987.
 40. Couser WC: Rapidly progressive glomerulonephritis: classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis*, 11:449-464, 1988.