

SECCION LABORATORIO CLINICO**Valor de las células titilantes en el diagnóstico de la Pielonefritis**

LUIS E. SOLANO S.*

HERMAN WEINSTOK W.**

A partir de la publicación de Sternheimer y Malbin (6), sobre el uso de un nuevo colorante para el sedimento urinario y la observación de células titilantes ("Glitter cells"), en la orina de pacientes con pielonefritis, han aparecido varias publicaciones (1), (4), (5), algunas de ellas contradictorias, sobre el valor de dichas células para el diagnóstico de pielonefritis.

En vista de lo planteado, hemos iniciado una serie de estudios cuyos resultados serán publicados posteriormente. Esta comunicación servirá como introducción y revisión al tema.

Los leucocitos urinarios, al igual que los leucocitos de otros fluidos, están sujetos a cambios tanto en su tamaño como en su apariencia, por alteraciones de la solución que les sirve como medio de suspensión.

En la orina de los pacientes con pielonefritis, se ha logrado observar diferencias tintoriales de los leucocitos, cuando se les trata con el colorante de Sternheimer: se notan algunos que se colorean de un azul pálido, en contraste con otros que lo hacen intensamente; los primeros presentan cambios en su morfología y tamaño, vacuolización, proyección de fragmentos de citoplasma y gránulos con movimiento browniano. Actúan como indicadores biológicos de pielonefritis; su hallazgo se ha relacionado con datos obtenidos por biopsias renales (4), y se les conoce por varios nombres: células pálidas, resplandecientes (7), centellantes, titilantes (3), de gránulos móviles y "glitter cells" (2).

Los leucocitos que el riñón inflamado descarga con las características descritas anteriormente, se observan cuando se colorean con el colorante de Sternheimer y Malbin, cuya fórmula es la siguiente:

SOLUCION "A":

Cristal violeta:	3.0 gr.
Alcohol etílico 95%:	20.0 cc.
Oxalato de amonio:	0.8 gr.
Agua triple destilada:	80.0 cc.

* Jefe Laboratorio Clínico, Hospital Central C.C.S.S.

** Jefe Unidad Nefrología, Sección de Medicina, Hospital Central C.C.S.S.

SOLUCION "B":

Safranina:	0.25 gr.
Alcohol etílico 95%:	10.0 cc.
Agua triple destilada:	100.0 cc.

El colorante se prepara mezclando 3 partes de la solución de violeta "A" con 97 partes de la solución de safranina "B". La mezcla se filtra y tiene un pH cercano a 6, pero colorea en forma satisfactoria con pH de 4 a 8; con orinas muy alcalinas puede precipitarse; su estabilidad máxima es de tres meses; debe usarse únicamente muestras frescas de orina. Cuando se hace uso de este colorante, agregándole una gota al sedimento urinario, los constituyentes de éste se aprecian así:

1º)—ERITROCITOS: Los eritrocitos no toman el colorante o lo hacen muy débilmente; esta diferencia de tinción ayuda a investigar ciertas hematurias, en las cuales, por encontrarse agrupados tanto leucocitos como eritrocitos —simultáneamente— puede dificultarse la observación de estos últimos.

2º)—EPITELIO: Los elementos epiteliales toman el colorante rápidamente; las células de la vejiga aparecen de un azul pálido; las células grasas no toman el colorante y presentan una apariencia brillante.

3º)—CILINDROS: Los cilindros toman el colorante intensamente; ello los destaca en orinas con hematuria marcada, lo que es de provecho ya que a veces es difícil reconocerlos en sedimentos no coloreados, en esas condiciones. Las inclusiones de los cilindros, fácilmente se distinguen por sus diferentes características tintoriales.

4º)—OTROS ELEMENTOS: Las bacterias muertas, se colorean de púrpura oscuro, pero permanecen sin tomar el colorante o lo hacen muy débilmente cuando están vivas y activas. Los micelios y esporas toman un púrpura claro. Las *Trichomonas vaginalis* se observan incoloras o de un azul pálido; pierden su movilidad, pero destaca el movimiento vibratorio de su membrana, que se mantiene.

5º)—LEUCOCITOS: Como ya se ha mencionado, son el objeto fundamental de la tinción; los leucocitos asociados a pielonefritis, conocidos como "glitter cells", células pálidas, resplandecientes, titilantes o de gránulos móviles, son neutrófilos polinucleados de tamaño algo mayor que los normales, de aspecto tumefacto, con núcleo globuloso, que se colorean de azul pálido o rosa pálido, con proyecciones del citoplasma, pequeñas vacuolas y granulaciones agitadas por movimiento browniano, que pueden variar en intensidad, así como persistir por largo tiempo. Para algunos, sólo las células que presentan esa típica movilidad browniana, están asociadas a pielonefritis. Poirier y Jackson (4) dan igual importancia a células de iguales características tintoriales, que carecen de gránulos móviles.

En algunas ocasiones la membrana celular forma una proyección que contiene los gránulos en movimiento y este tipo de leucocitos aparece como una bolsa transparente, en los cuales no se distingue estructura nuclear; es fácil su confusión con células "ghost" (fantasmas); pueden ser de forma redonda, oval o de pera y se identifican como leucocitos por reacción a las peroxidadas. El núcleo de estas células hinchadas es muy lobulado, y puede tener de una a cuatro

divisiones. No hay correlación entre el número de estas células y el grado de patología y alteraciones que se pueden observar post-mortem. La ausencia repetida de ellas en sedimentos urinarios, se acepta como una fuerte evidencia contra el diagnóstico de pielonefritis.

El resto de los leucocitos se colorean de violeta intenso; son de tamaño uniforme; contienen núcleos rojo o púrpura y gránulos violeta no móviles.

Teóricamente, las variaciones morfológicas de los leucocitos que han sido eliminados con la orina pueden deberse a:

- 1º) Cambios en las propiedades osmóticas del fluido orina versus sangre.
- 2º) Efectos quimo-bacterianos de la orina.
- 3º) Alteraciones en la estructura físico-química de los leucocitos antes de pasar a la orina.
- 4º) Diferencias en la resistencia osmótica de varios tipos de leucocitos.

Los leucocitos de la sangre pueden ser inducidos a exhibir gránulos móviles, por inmersión en soluciones hipotónicas de 0.2 a 0.4% de NaCl. El fenómeno es, en parte, inducido por hipotonicidad, hecho que se comprueba en la clínica, ya que persistentemente se elimina orina hipotónica en pielonefritis, al perder el riñón capacidad para concentrar. Pero el fenómeno es más complejo aún, ya que pueden encontrarse diferentes tipos de leucocitos en orinas con densidad y pH iguales.

Cuando se trasladan las "glitter cells" a orinas de personas normales, se transforman, adquiriendo tamaño menor y uniforme, apariencia vidriosa, y gránulos inmóviles; sus propiedades tintoriales permanecen sin alterar. El fenómeno es reversible: cuando se pasan nuevamente a orinas patológicas, vuelven a exhibir el movimiento browniano perdido; por tanto, este movimiento depende de la concentración de electrolitos en la solución, y ha sido objeto de estudios cuantitativos; en general se dice que es inhibido cuando la concentración de la orina excede los 600 mOsm/litro. No obstante, se ha encontrado en soluciones con osmolalidad mayor, de donde se deduce que los factores osmóticos sólo participan en forma parcial en la variabilidad de dichas células.

Cuando los leucocitos se trasladan a orinas muy hipotónicas o a agua destilada, se rompen, y tanto su protoplasma como núcleo toman un color violeta con el colorante de Sternheimer. Los linfocitos, en contraste con los granulocitos, retienen en soluciones hipotónicas su integridad morfológica; este es un dato de importancia, ya que en la glomerulonefritis aguda y crónica los linfocitos predominan, mientras que en la pielonefritis, la gran mayoría de las células son granulocitos. La composición de la orina no puede ser, por otra parte, la única responsable de estos cambios, ya que una misma muestra de orina puede contener leucocitos de varios tipos.

Las bacterias y sus productos, son también responsables de cambios morfológicos en los leucocitos; influyen en la reducción de la capacidad fagocitaria, aumento de tamaño de las células y pérdida del movimiento amiboideo.

Se han citado también las alteraciones físico-químicas que tienen los leucocitos de la sangre al pasar a la orina y se ha encontrado que las diferencias osmóticas pueden hacer variar a distintos leucocitos derivados de la misma sangre.

En una solución compleja, como la orina, existen varios agentes químicos que ejercen su acción sobre los leucocitos: se ha demostrado que la urea en concentraciones altas, produce alteraciones tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células; soluciones isotónicas de urea, destruyen a los leucocitos en seis horas. La adición de urea a los leucocitos de una orina hipotónica que muestran gránulos móviles, elimina el movimiento de éstos, al llegar a un grado de isotonía.

Se debe tomar en cuenta, también, el efecto protector de los coloides, en especial proteínas, así como la acción del amonio diluido que induce al movimiento browniano en soluciones isotónicas. El calcio participa en las propiedades tintoriales de los leucocitos: por lo general, en orinas hipotónicas con leucocitos de gránulos móviles, el reactivo de Sulkowitch no precipita o lo hace muy débilmente; en cambio, cuando precipita en forma notoria, los leucocitos son de tipo pequeño y se colorean intensamente.

Como resumen de lo anterior, podemos anotar que en las orinas hipotónicas de las personas con pielonefritis, aparecen los leucocitos que se colorean en forma débil cuando se utiliza el colorante de Sternheimer-Malbin, más grandes que los corrientes, con núcleo globoso y con gránulos dotados de movilidad browniana. En orinas con densidad alta, estas células aparecen más pequeñas, ligeramente azuladas, con núcleo más grueso, y con gránulos, pero sin movimiento browniano.

En general, las células pálidas, tanto móviles como no móviles, no son específicas de pielonefritis. Pueden aparecer en orinas hipotónicas y son frecuentes en secreciones vaginales, especialmente cuando son causadas por *Trichomonas*, en secreciones prostáticas y uretrales; después de cirugía prostática se las encuentra en número predominante; su eliminación puede ser intermitente por lo que conviene repetir su búsqueda en varias muestras; las exacerbaciones de la pielonefritis provocan su aparición, mientras que el uso repetido de antibióticos las hace desaparecer.

B I B L I O G R A F I A

- 1.—JACKSON, JOHN F.
The citology of the degenerating leucocyte, J. Lab. Clin. Med., 43:227-234, 1954.
- 2.—PAGE, LOT B., AND CULVER, PERRY J.
A Syllabus of Laboratory Examinations in Clinical Diagnosis, 580 pp, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1961.
- 3.—PADILLA, TIBURCIO.
Semiología del riñón, del bazo y de la sangre, 7a. edición, 282 pp., El Ateneo, 1961.
- 4.—POIRIER, PETER K., AND JACKSON, GEORGE G.
Characteristics of Leucocytes in the urine sediment in pyelonephritis correlation with renal Biopsies. Am. J. Med. 23:579-586, 1957.
- 5.—ROBERTS, H. J.
Difficult diagnosis. A guide to the interpretation of obscure illness. H. J. Roberts Philadelphia, W. B. Saunders, 913 pp., 1958.
- 6.—STERNHEIMER, R. AND MALBIN, B.
Clinical recognition of pyelonephritis with a new stain for urinary sediments. Am. J. Med., 11:312-323, 1951.
- 7.—WALLACE, G. McCUNE.
Urinálisis y valoración de la función renal en el consultorio. Clin. Med. Norte América. Ed. Interamericana, S. A. 1479-1493 pp. Nov. 1960.