

## Contribución de la inmunofluorescencia al estudio de las nefropatías glomerulares

Alberto Torras Rabasa

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**CONTRIBUCION DE LA INMUNOFLORESCENCIA AL ESTUDIO**  
**DE LAS NEFROPATIAS GLOMERULARES**

por Alberto TORRAS RABASA

PARTE TEORICA

## PATOGENIA INMUNOLOGICA DE LAS NEFROPATIAS

### REVISION DE CONCEPTOS DE INMUNOLOGIA GENERAL

#### LOS ANTICUERPOS

La producción de anticuerpos como respuesta a un estímulo antigénico se presenta en dos modalidades según se trate del primer o segundo contacto con el antígeno; en el primer contacto el nivel de anticuerpos asciende suavemente para descender poco después; en el segundo contacto (respuesta secundaria) la producción de anticuerpos es más rápida, abundante y sostenida, se revela pues la "memoria" de un grupo de células productoras de anticuerpos, base esta sobre la que se asientan los más modernos principios de la Inmunología. (45)

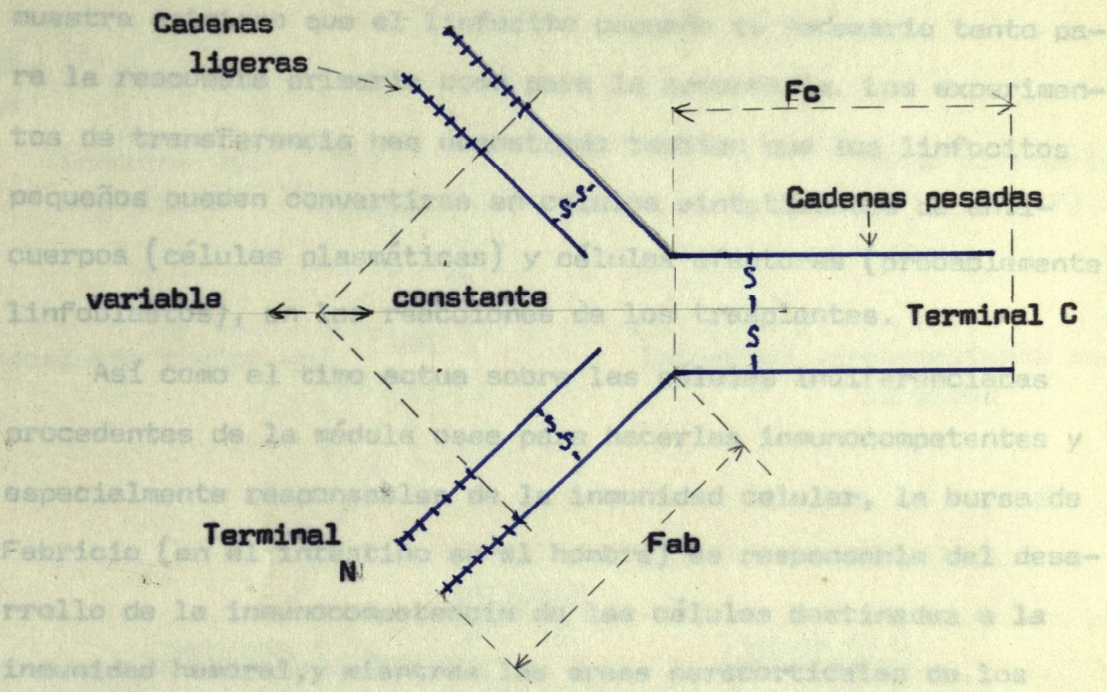
La asociación de la actividad de los anticuerpos con un grupo de proteínas séricas ha sido comprobado desde hace tiempo; las inmunoglobulinas así determinadas tienen un peso molecular de unos 150.000 (coeficiente de sedimentación 7S) de las cuales el principal componente es la Ig G, otra inmunoglobulina, la Ig M, tiene un peso molecular de 900.000 (19S). La Ig G, tomada como modelo, puede ser desdoblada por la papaina en tres fragmentos, dos de ellos idénticos aunque no precipitan pueden combinarse con el antígeno, son fragmentos de anticuerpo monovalentes y se denominan fragmentos Fab (fragmento fijador de antígeno); el tercer fragmento no se une al antígeno y se denomina Fac. Las inmunoglobulinas están constituidas por dos cadenas peptídicas pesadas y dos ligeras, unidas entre sí por enlaces disulfuro y adoptando forma de Y que se abre al combinarse con el antígeno, la región vulnerable por la papaina actúa como una bisagra. (19)

Dentro de la clase principal de inmunoglobulinas como es la Ig G, las porciones N terminales (ramas de la Y), tanto de las cadenas pesadas como de las ligeras, muestran variaciones considerables, en tanto que las partes restantes son relativamente constantes en su estructura; los sitios de combinación del antígeno están

esta heterogeneidad en la estructura sea la responsable de la especificidad de combinación de los diferentes anticuerpos. Los diversos tipos de cadenas pesadas han servido para dividir en diversas clases las inmunoglobulinas (Ig G, Ig M, Ig A, Ig D y Ig E); pero mientras cada clase de inmunoglobulinas esta asociada con un tipo particular de cadena pesada , todas ellas tienen cadenas ligeras kappa o lambda. (19-20)

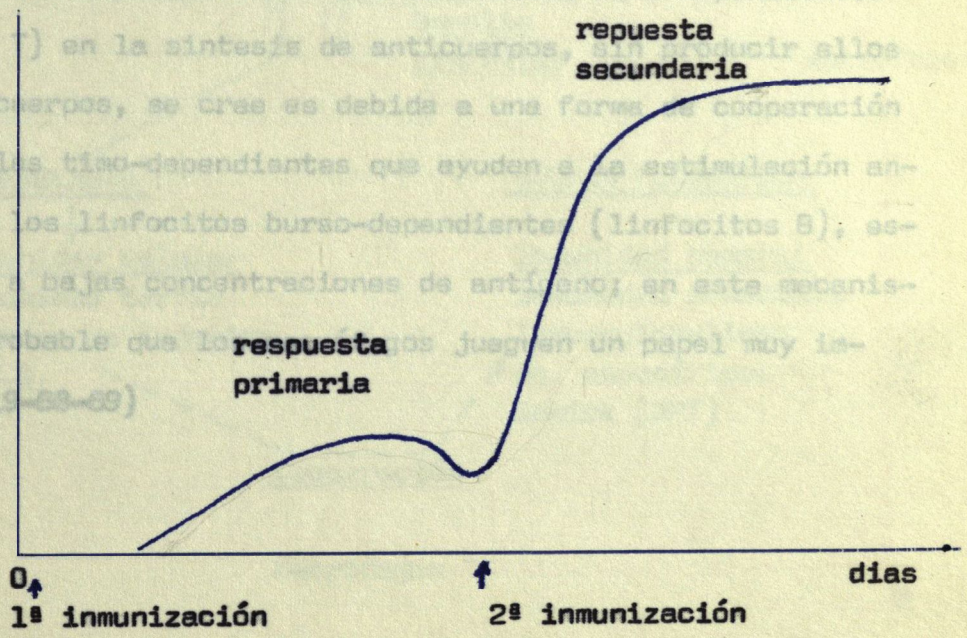
Respecto a la porción constante de la inmunoglobulina se puede afirmar casi con absoluta seguridad que la estructura Fc dirige la actividad biológica de la molécula de anticuerpo, determinando por un lado en cierto grado la distribución de las inmunoglobulinas en el cuerpo, y por otro, despues de la combinación del anticuerpo con el antígeno, la alteración estructural de la región Fc, debido a un efecto alostérico relacionado con la apertura de la "bisagra". Este cambio en la configuración de la región Fc puede dar lugar a la aparición de una nueva actividad, tal como la capacidad de fijar complemento, unión a los macrófagos, o desgranulación de la célula plasmática. (21)

### ESTRUCTURA DE LA INMUNOGLOBULINA G



### RESPUESTAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS

Concentración de Ac. en el suero

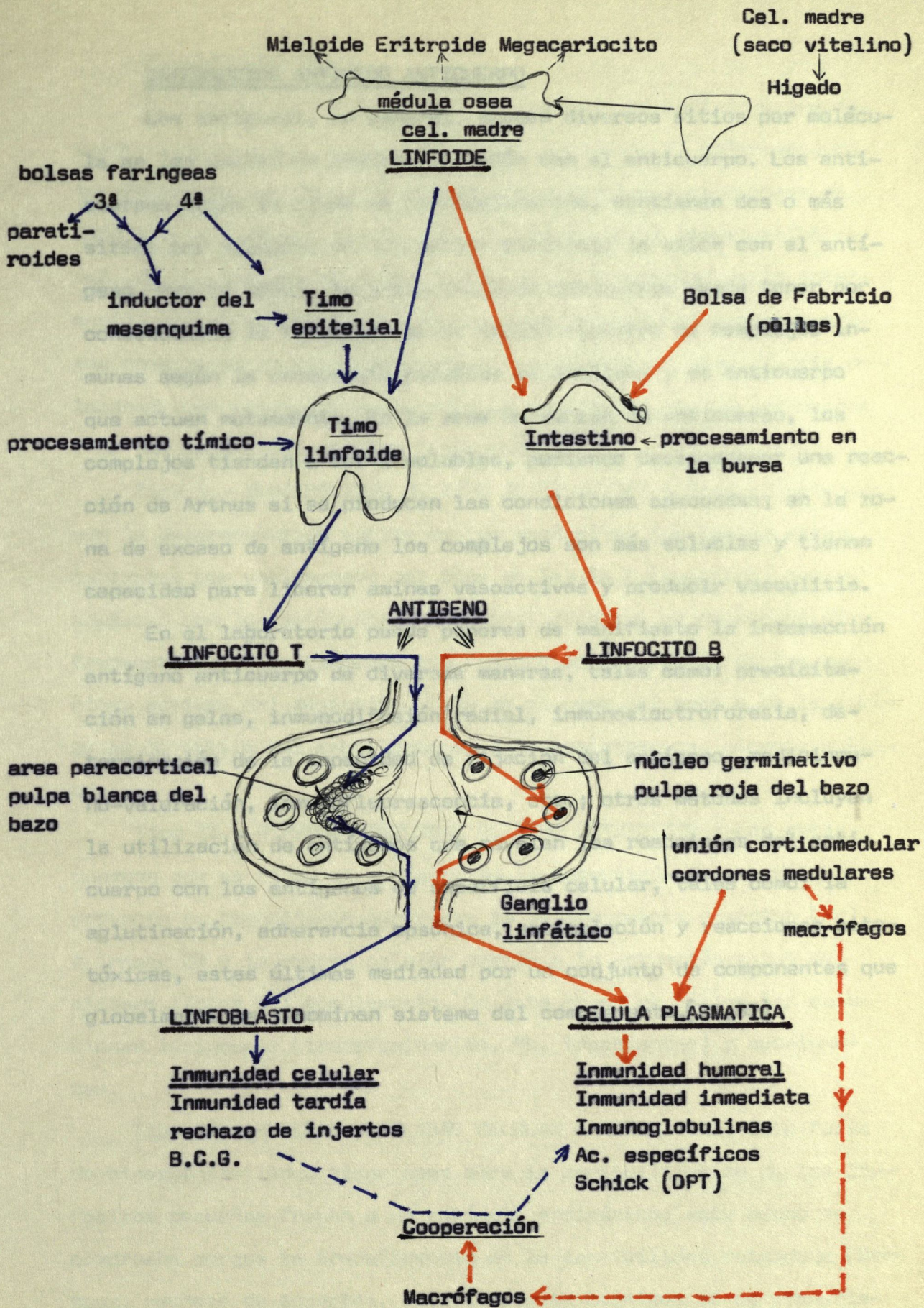


la cooperación celular en la respuesta inmune; la cualificación de los linfocitos timo-dependientes (linfocitos T) en la síntesis de anticuerpos, al producir ellos mismos anticuerpos, se cree es debida a una forma de cooperación de las células timo-dependientes que ayudan a la estimulación antigénica de los linfocitos burso-dependiente (linfocitos B); especialmente a bajas concentraciones de antígeno; en este mecanismo es muy probable que los linfocitos T juegan un papel muy importante. (19-68-69)

## LA RESPUESTA INMUNITARIA

Ya desde Gowans se conoce la importancia fundamental de los linfocitos para la inmunidad tanto celular como humoral, se demuestra asimismo que el linfocito pequeño es necesario tanto para la respuesta primaria como para la secundaria. Los experimentos de transferencia han demostrado también que los linfocitos pequeños pueden convertirse en células sintetizantes de anticuerpos (células plasmáticas) y células efectoras (probablemente linfoblastos), en las reacciones de los trasplantes.

Así como el timo actúa sobre las células indiferenciadas procedentes de la médula ósea para hacerlas inmunocompetentes y especialmente responsables de la inmunidad celular, la bursa de Fabricio (en el intestino en el hombre) es responsable del desarrollo de la inmunocompetencia de las células destinadas a la inmunidad humoral, y mientras las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos y pulpa roja del bazo dependen de la estimulación tímica, los centros germinativos linfoides y la pulpa blanca del bazo son burso dependientes. Otro aspecto muy interesante es el de la cooperación celular en la respuesta inmune; en efecto, esta implicación de los linfocitos timo-dependientes (linfocitos T) en la síntesis de anticuerpos, sin producir ellos mismos anticuerpos, se cree es debida a una forma de cooperación de las células timo-dependientes que ayudan a la estimulación antigénica de los linfocitos burso-dependientes (linfocitos B), especialmente a bajas concentraciones de antígeno; en este mecanismo es muy probable que los macrófagos jueguen un papel muy importante. (19-00-69)



MECANISMOS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA



### INTERACCION ANTIGENO ANTICUERPO

Los antígenos, en general, poseen diversos sitios por molécula en los cuales es posible la unión con el anticuerpo. Los anticuerpos según la clase de inmunoglobulina, contienen dos o más sitios por molécula en los cuales es posible la unión con el antígeno. Por lo tanto, la unión antígeno anticuerpo puede tener por consecuencia la formación de un amplio espectro de complejos inmunes según la proporción relativa de antígeno y de anticuerpo que actúan mutuamente. En la zona de exceso de anticuerpo, los complejos tienden a ser insolubles, pudiendo desencadenar una reacción de Arthus si se producen las condiciones adecuadas; en la zona de exceso de antígeno los complejos son más solubles y tienen capacidad para liberar aminas vasoactivas y producir vasculitis.

En el laboratorio puede ponerse de manifiesto la interacción antígeno anticuerpo de diversas maneras, tales como: precipitación en geles, inmunodifusión radial, inmunolectroforesis, determinación de la capacidad de fijación del antígeno, radioinmuno-valoración, inmunofluorescencia, etc.; otros métodos incluyen la utilización de antígenos que revelan las reacciones del anticuerpo con los antígenos de superficie celular, tales como: la aglutinación, adherencia opsonica, estimulación y reacciones citotóxicas, estas últimas mediadas por un conjunto de componentes que globalmente se denominan sistema del complemento. (22, 69)

## HIPERSENSIBILIDAD

El contacto ulterior con el antígeno de un individuo previamente sensibilizado puede conducir no solamente al reforzamiento secundario de la respuesta inmune, sino también a reacciones de daño tisular; hablamos entonces de reacciones de hipersensibilidad, de las cuales los tipos I, II, III y V dependen de la interacción de los antígenos con los anticuerpos humorales siendo además reacciones de tipo más o menos "inmediato". El tipo IV está relacionado con anticuerpos unidos a la superficie de los linfocitos y se han denominado de tipo "retardado".

**Tipo I.- SENSIBILIDAD DE TIPO ANAFILACTICO :** Esta relacionada con la desgranulación súbita de los mastocitos los cuales están cubiertos por anticuerpos del tipo de las Ig E (reaginas) que en contacto con los antígenos (alergenos) producen un cambio en el fragmento Fc del anticuerpo que provoca la liberación de las quininas activas del mastocito. Este es el caso del asma o de la coriza en la célula del árbol bronquial en pacientes con alergia atópica.

**Tipo II.- HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO CITOTOXICO :** Los anticuerpos que se fijan al antígeno de la superficie de una célula provocan su fagocitosis por medio de la adherencia opsónica (Fc) o inmune C3 o la muerte celular debida a la actuación total del sistema lítico del complemento. En este grupo se hallan las reacciones isoinmunes (transfusionales, Rh, Trasplantes) y autoinmunes.

**Tipo IV.- HIPERSENSIBILIDAD CELULAR O RETARDADA :** Esta forma de hipersensibilidad tiene como base la sensibilización de los linfocitos pequeños frente a un estímulo antigénico, este hecho se comprueba porque la transferencia de la sensibilidad retardada (Mantoux, rechazo de injertos, etc. ) sólo se consigue si se transfieren linfocitos sensibilizados y no por anticuerpos séricos. La reacción de hipersensibilidad es iniciada probablemente por el antígeno que puede, a su vez, estar procesado por un macrófago, com-

binándose luego con los receptores de superficie de los linfocitos T apropiados (que han seguido un proceso previo de sensibilización). La membrana celular resulta activada y la señal es transmitida al interior de la célula iniciándose entonces la transformación blástica y mitosis. Simultáneamente se liberan factores solubles responsables de la respuesta hipersensible, tales como:

- a) Factor de inhibición de la migración de los macrófagos (MIF) potenciando además su efecto destructor.
- b) Factor quimiotáxico monocítico.
- c) Factor reactivo de la piel, aumentando la permeabilidad capilar y la exudación celular

La proliferación de las células sensibilizadas en contacto con el antígeno específico sirve para valorar "in vitro" el grado de hipersensibilidad celular frente al antígeno; también se puede medir la incorporación de timidina marcada. Un mitógeno natural, la fitohemaglutina (FHA) es un estimulante inespecífico y se valora globalmente la población de linfocitos T en estados de inmunodeficiencia.

El aumento de la producción de anticuerpos contra antígenos proteicos incorporados en coadyuvante completo de Freund (emulsión de agua en aceite que contiene bacilos tuberculosos muertos) es parcialmente debido a un efecto de depósito de antígeno, pero puede también ser debido a la respuesta hipersensible retardada provocada por este material ya que los linfocitos T sensibilizados específicamente favorecerían la síntesis de anticuerpos por medio de la cooperación.

Tipo V.- HIPERSENSIBILIDAD ESTIMULANTE : Ciertos anticuerpos no fijadores del complemento dirigidos contra ciertos componentes celulares de superficie pueden estimular la actividad de dichas células, este puede ser el mecanismo de la secreción del LATS en la tirotoxicosis. (19,20,45,68,69)

### Tipo III.- HIPERSENSIBILIDAD MEDIADA POR COMPLEJOS

Dado que cada antígeno tiene varios determinantes antigénicos y que cada anticuerpo tiene por lo menos dos lugares de combinación se pueden formar distintos tipos de complejos antígeno-anticuerpo (inmunocomplejos) dependiendo de la proporción relativa de antígeno y de anticuerpo, a su vez la acción biológica de estos inmunocomplejos no sólo dependerá de la cantidad formada sino también del tipo de los mismos. Así pues los inmunocomplejos pueden ser de los siguientes tipos: **(13,14,22,33,69)**

Tipo I.- Formados en exceso de antígeno son pequeños y solubles.

Tipo II.- Son complejos de tamaño intermedio y poco solubles.

Tipo III.- Formados en exceso de anticuerpos son de gran tamaño e insolubles.

El tipo de inmunocomplejos se puede demostrar añadiendo cantidades de antígeno crecientes a una serie de tubos que contienen una cantidad constante de anticuerpo. En estas circunstancias se denomina E, o zona de equivalencia, a la cantidad de antígeno que al añadirse a la cantidad fija de anticuerpo forma la máxima cantidad de inmunocomplejos insolubles. De esta manera si la cantidad de antígeno añadida es menor que E habrá un exceso de anticuerpos formándose complejos insolubles tipo III; si por el contrario la cantidad de antígeno es superior a E habrá un exceso de antígeno y se formarán complejos solubles tipo I.

Además de la proporción de antígeno y de anticuerpo, el tamaño de los inmunocomplejos está influenciado por:

a) Fuerza de unión entre el antígeno y el anticuerpo que a su vez está condicionada por una inmunización continuada que la aumenta y por las reacciones cruzadas que la disminuyen.

b) Tamaño de la molécula de antígeno y con ello del número de determinantes antigénicos; el hapteno, con un solo determinante, si bien no es capaz de inducir la formación de anticuerpos se puede unir con ellos e inhibir la unión del antígeno con anticuerpos homólogos y multivalentes. La configuración espacial

de los determinantes antigénicos puede limitar la combinación con los anticuerpos. Los determinantes antigénicos pueden aumentar en el curso de una inmunización crónica.

c) Tipo de inmunoglobulina que forma el anticuerpo. Un determinado estímulo antigénico provoca un amplio espectro de anticuerpos que difieren en el peso molecular, valencia, precipitabilidad, etc. y todo ello dependiendo del tipo de inmunoglobulina. De todas ellas la Ig G es la que existe en mayor cantidad y es bivalente. La Ig M es la de mayor peso molecular, tiene una valencia de 5 a 10 formando por todo ello complejos de gran tamaño e insolubles en presencia de exceso de antígeno.

d) El complemento y el factor reumatoide pueden aumentar el tamaño de los inmunocomplejos y disminuir su solubilidad.

Así pues, con la misma proporción de antígeno- anticuerpo los complejos formados serán de mayor o menor tamaño y por ende solubles o insolubles dependiendo de los factores citados.


#### EXCESO DE ANTICUERPOS. Reactividad Tipo Arthus


Los complejos inmunes insolubles provocados por ejemplo por la inyección intradérmica de antígeno soluble en conejos hiperinmunizados con elevadas niveles de anticuerpos precipitantes produce una reacción de Arthus (lesión cutánea que se desarrolla a las 4-10 horas con infiltrados de leucocitos polimorfonucleares en las venulas y rodeado por edema y hemorragia con o sin trombosis) por un mecanismo que incluye depósito de complejos antígeno anticuerpo en la pared de los vasos, activación del complemento, quimiotaxis, fagocitosis de precipitados inmunes, destrucción de lisosomas, liberación de enzimas proteolíticas y lesión tisular resultante. Este proceso requiere la formación de gran cantidad de precipitado inmune en una zona localizada.

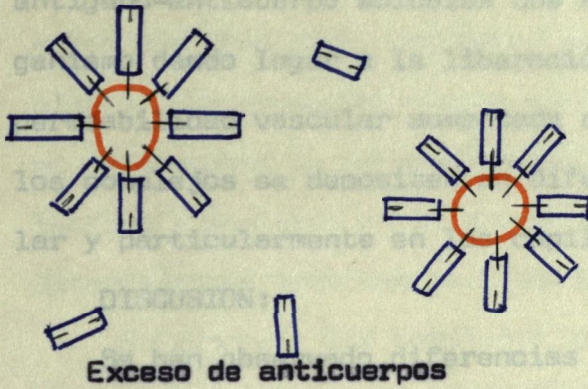
#### EXCESO DE ANTIGENO. Enfermedad del suero

La enfermedad del suero ( fiebre, adenopatías, erupción urticariana, poliartalgias, hipocomplementemia y proteinuria transitoria) puede considerarse como una forma diseminada de la reac-

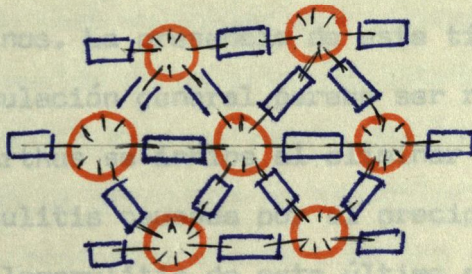
TIPOS DE INMUNOCOMPLEJOS

 ANTIGENO

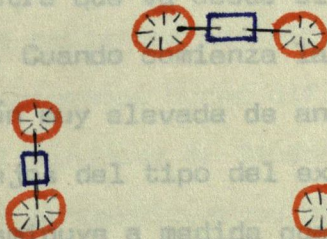
 ANTICUERPO



**TIPO III**  
**INSOLUBLES**  
**(gran tamaño)**



**TIPO II**  
**INTERMEDIOS**



**TIPO I**  
**SOLUBLES**  
**(pequeño tamaño)**

**Exceso de antígeno**

ción de Arthus la vasculitis es menos intensa, el exceso de antígeno al primer momento de la inyección de dosis sucesivas de antígeno ocasiona la formación de complejos antígeno-anticuerpo solubles que se distribuyen por todo el organismo liberando aminas vasoactivas. La vasculitis vascular que se sigue en este tipo de vasculitis local y particularmente en la zona de los riñones.

DISCUSION

Exceso de anticuerpos

Exceso de antígeno

La enfermedad por inmunocomplejo soluble puede resultar manifiesta cuando el individuo se encuentra en la zona de

ción de Arthus en la que la vasculitis es menos intensa. El exceso de antígeno provocado en el primer momento de la inyección de dosis elevadas de antígeno ocasiona la formación de complejos antígeno-anticuerpo solubles que se distribuyen por todo el organismo dando lugar a la liberación de aminas vasoactivas. La permeabilidad vascular aumentada que ellas provocan facilita que los complejos se depositen en diferentes lugares del lecho vascular y particularmente en los capilares de los glomérulos renales.

#### DISCUSION:

Se han observado diferencias entre el mecanismo de Arthus y el mecanismo de lesión por complejos inmunosolubles. La reacción de Arthus parece representar un fenómeno local en el cual el antígeno debe difundirse a partir de un depósito para formar un precipitado con el anticuerpo en las paredes de los vasos sanguíneos vecinos. La presencia de este tipo de precipitados inmunes en la circulación general parece ser relativamente inocua. La reacción de Arthus se inhibe al eliminar el complemento, al igual que la vasculitis causada por el precipitado inmune soluble; sin embargo la glomerulitis de este último no está influenciada por la falta de complemento. Todos los aspectos de la enfermedad por inmunocomplejos solubles quedan inhibidos por el empleo combinado de antagonistas de la histamina y de la serotonina, tratamiento que no influye en absoluto en la enfermedad de Arthus.

Un individuo inmunizado progresa pasando por un amplio espectro que va desde el exceso de antígeno al exceso de anticuerpo. Cuando comienza la producción de anticuerpos hay una proporción muy elevada de antígeno dando lugar a la producción de complejos del tipo del exceso de antígeno. La proporción de antígeno disminuye a medida que aumenta la producción de anticuerpos, atravesando la zona central para terminar en la zona de exceso de anticuerpos. La enfermedad por inmunocomplejo soluble puede resultar manifiesta cuando el individuo se encuentra en la zona de

exceso de antígeno, pero por fortuna este tipo de enfermedad no ocurre con todas las respuestas inmunes. La producción de la enfermedad depende de factores todavía mal conocidos. En estudios experimentales la enfermedad por complejos inmunes se comprobó en animales que producían cantidades intermedias de anticuerpos. Los animales que producían muchos anticuerpos o que no los producían no presentaban la enfermedad típica; es posible entonces que la velocidad y amplitud en la producción de anticuerpos sean factores determinantes importantes. (20-48)

En general, los complejos inmunes formados "in vivo" pueden reconocerse por las técnicas de inmunofluorescencia, por su estimulación antigénica de antiglobulina medidos por los niveles de inmunoconglutinina (autoanticuerpo contra el complejo anticuerpo-antígeno-complemento), por la aparición anormal de curvas de elevado peso molecular por ultracentrifugación y algunas veces por la formación de un crioprecipitado. Un indicador sensible de la utilización de complemento por los complejos lo constituye la aparición de productos de desdoblamiento de C3, identificados inmunoelectroforéticamente como los arcos beta 1 A y alfa 2 D. (22,68)

#### AUTOINMUNIDAD

Cuando se forman autoanticuerpos contra componentes solubles del propio organismo con acceso continuo a la circulación, pueden crearse complejos que dan origen a lesiones similares a las de la enfermedad del suero. En el lupus eritematoso sistémico puede detectarse por inmunofluorescencia complejos anticuerpo-DNA en pacientes con signos de alteración renal. Asimismo diversos experimentos hacen difícil eludir la posibilidad de que la lesión en el síndrome de Goodpasture sea la consecuencia del ataque directo de autoanticuerpos contra la membrana basal glomerular, la afectación pulmonar podría ser la consecuencia de reacciones cruzadas con la membrana basal del alveolo pulmonar. (33,46,69)



## MECANISMOS BASICOS DE LA INMINOPATOLOGIA EN LAS

### GLOMERULOPATIAS

#### MECANISMOS EXPERIMENTALES

Existen numerosos modelos inmunológicos que reproducen más o menos exactamente la glomerulonefritis humana, bien de una manera espontánea en animales, bien provocados por el experimentador, llegando al final a dos tipos básicos de mecanismos inmunológicos. El primero evidencia anticuerpos capaces de reaccionar con antígenos pertenecientes al glómerulo y en especial a la membrana basal. El segundo mecanismo pone de manifiesto complejos antígeno-anticuerpo circulantes y el atrapamiento de los mismos en los glomerulos, en este mecanismo dado que el antígeno no es glomerular, no hay ninguna relación inmunológica entre los anticuerpos y el glomerulo. Ambos mecanismos son capaces de suscitar respuestas inflamatorias locales similares, siendo diferenciables únicamente por la disposición lineal de inmunoglobulinas y complemento en el caso de anticuerpos anti-membrana basal frente a la disposición granular en el caso de complejos antígeno-anticuerpo circulantes. La severidad de la enfermedad y su potencial evolutivo parecen depender ante todo de la cantidad de anticuerpo y de antígeno reaccionantes, y en segundo lugar de la capacidad inflamatoria de los anticuerpos, fijando o no complemento, etc..

#### A) GLOMERULOPATIAS POR ANTICUERPOS ANTIMEMBRANA BASAL

Estos anticuerpos pueden ser heterólogos (técnica de Masugi) o bien autólogos (técnica de Steblay).

**GLOMERULONEFRITIS POR SUEROS NEFROTOXICOS.** Glomerulonefritis anti-membrana basal pasiva:

Aunque el mecanismo inmunológico se consideraba seriamente ya desde los primeros trabajos de Longcope, fue difícil evidenciar la lesión característica en los modelos experimentales. La primera nefritis provocada por suero nefrotóxico fue descrita por primera vez por Lindermann en 1900; se obtuvo con anticuerpos heterólogos antiglomerulares, habitualmente anticuerpos de conejo

anti-rifón de rata inyectados a ratas.

Masugui, en 1934, inmuniza conejos y patos con rifón de rata y produce glomerulonefritis en ratas por inyección de estos anticuerpos antirifón de patos o conejos.

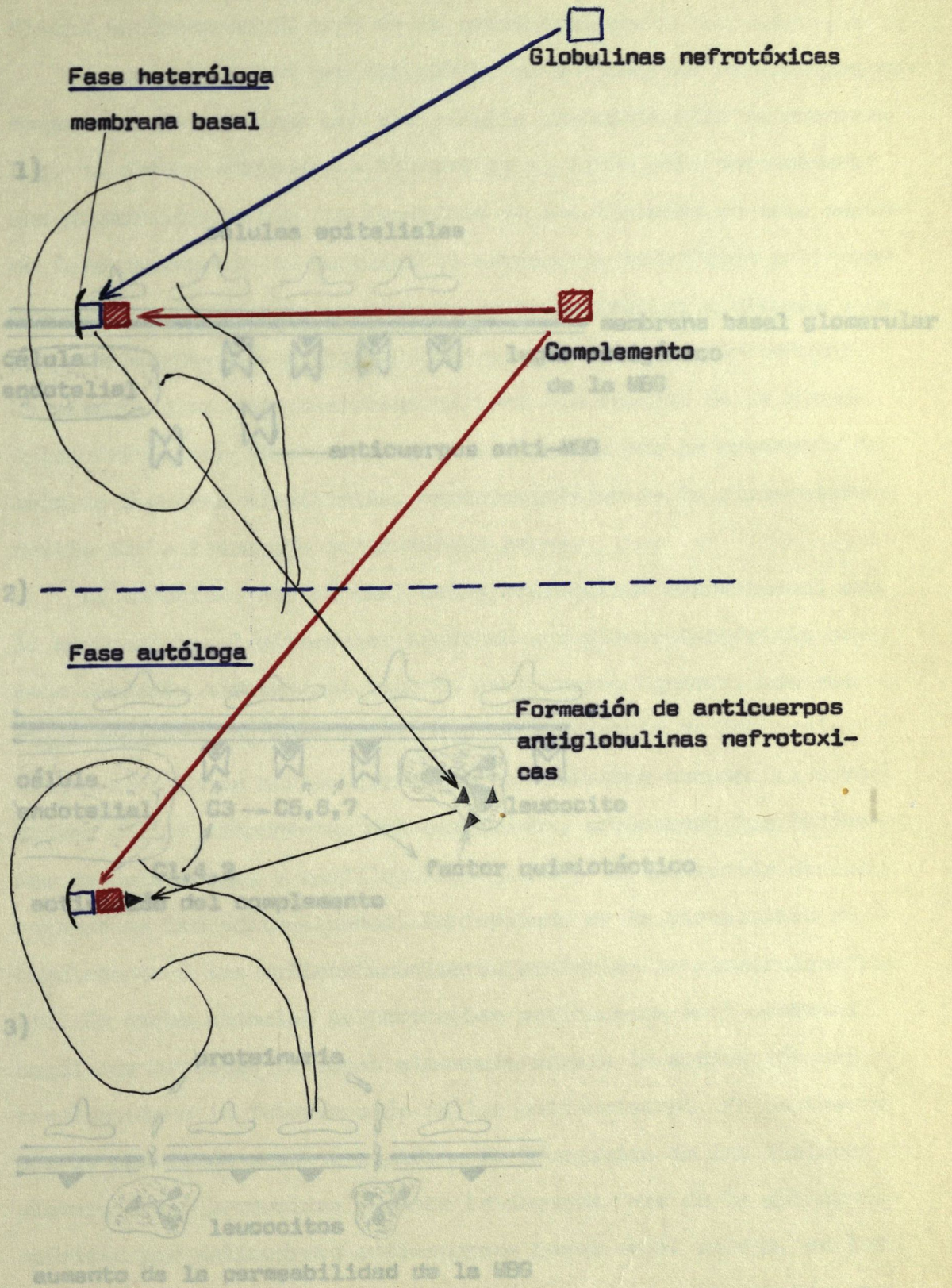
Tal como comprueban Krakowen y Greenpon, estos anticuerpos son estimulados ante todo por la membrana basal de los capilares glomerulares, pero dado que en organismo hay otros tejidos vasculares como el pulmón y la placenta, es posible también obtener sueros nefrotóxicos con estos tejidos.

Una vez circulando en el receptor, estos anticuerpos heterólogos se combinan rápidamente con la membrana basal glomerular expuesta a la circulación por los poros de las células endoteliales del glomerulo. Estos anticuerpos no se localizan en gran cantidad en otras membranas basales con las que se podrían combinar debido a la barrera endotelial continua que existe en la mayoría de los vasos extrarrenales. A partir del momento de la combinación del anticuerpo con el antígeno de la membrana basal glomerular comienzan una serie de acontecimiento que terminan con una glomerulonefritis.

Estos acontecimientos pueden ser divididos en dos fases; la primera o fase heteróloga, comporta la combinación de los anticuerpos heterólogos a lo largo de la superficie interna de la membrana basal glomerular del receptor en posición intermembrano-endotelial que por medio de la inmunofluorescencia se nos presenta como depósitos lineales. En la rata, se deben fijar de 150 a 200 g. de anticuerpo en los riñones para provocar una proteinuria inmediata y alteraciones notables de glomerulonefritis. Una vez fijado sobre la membrana basal de la rata el anticuerpo desaparece lentamente, con una vida media de tres semanas. Al cabo de 5 a 7 días la rata receptora empieza a fabricar anticuerpo contra la inmunoglobulina heteróloga inyectada, combinándose con la misma en la membrana basal glomerular; comienza así la segunda fase o fase autóloga. Como la inmunoglobulina queda fijada a la mem-

NEFRITIS NEFROTOXICA

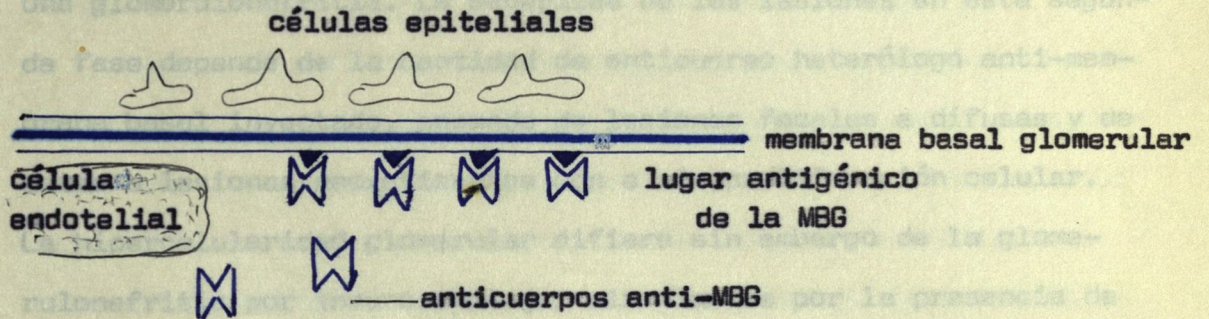
DESARROLLO DE LA LESION GLOMERULAR POR  
ANTICUERPOS ANTI-MEMBRANA BASAL



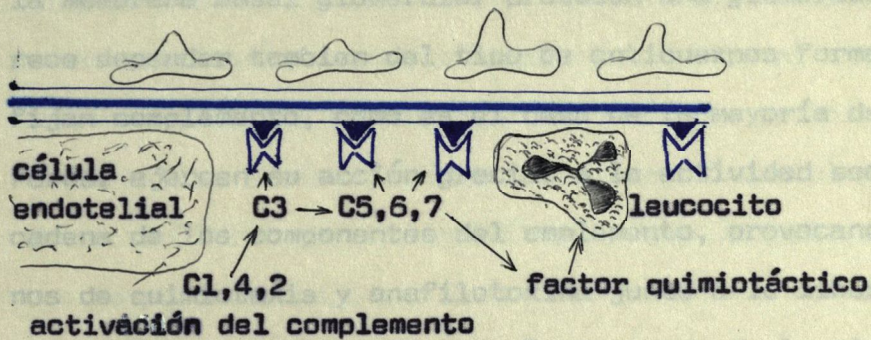
DESARROLLO DE LA LESION GLOMERULAR POR

ANTICUERPOS ANTI-MEMBRANA BASAL

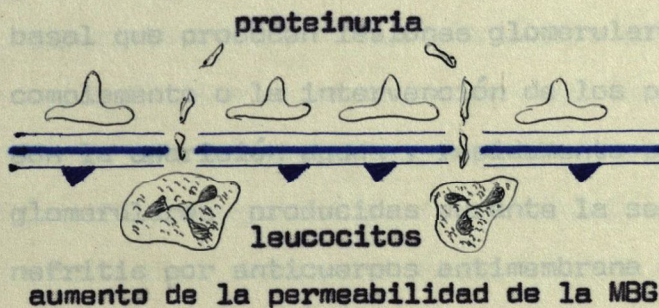
1)



2)



3)



brana basal glomerular por varias semanas, ella sirve de estímulo duradero para los anticuerpos del receptor manteniendo así el conflicto antígeno-anticuerpo en la pared capilar.

Contrastando con los 150-200 g. de anticuerpos heterólogos necesarios para provocar una proteinuria inmediata sólo se precisan 2 g. de dichos anticuerpos fijados en el riñón para desencadenar una glomerulonefritis. La severidad de las lesiones en esta segunda fase depende de la cantidad de anticuerpo heterólogo anti-membrana basal inyectado, pasando de lesiones focales a difusas y de estas a lesiones necrotizantes con o sin proliferación celular. La hiper celularidad glomerular difiere sin embargo de la glomerulonefritis por inmunocomplejos circulantes por la presencia de células gigantes sincitiales, características de la glomerulonefritis por anticuerpos antimembrana basal.

El mecanismo por el cual estos anticuerpos reaccionando con la membrana basal glomerular provocan una glomerulonefritis parece depender también del tipo de anticuerpos formado. Los que fijan complemento, como es el caso de la mayoría de los mamíferos, ejercen su acción gracias a la actividad secuencial o en cadena de los componentes del complemento, provocando los fenómenos de quimiotaxis y anafilotoxina junto a la liberación de los enzimas de los polinucleares. Sustrayendo de la circulación el complemento o los polimorfonucleares se impide la glomerulonefritis. En otros animales se comprueban anticuerpos anti-membrana basal que producen lesiones glomerulares sin la activación del complemento o la intervención de los polinucleares. En contraste con la aparición aguda y rápidamente progresiva de las lesiones glomerulares producidas durante la segunda fase de la glomerulonefritis por anticuerpos antimembrana basal en el conejo, en las ratas se desarrolla un síndrome nefrótico de lenta evolución con una imagen histológica semejante a una glomerulonefritis membranosa. El microscopio electrónico no revela lesiones en la membrana basal y menos aún depósitos, puede presentarse un engrosamien-

de homogéneo de la membrana basal; sólo se encuentran depósitos densos cuando la cantidad de proteínas extrañas (anticuerpo antimembrana basal) es tal que se asocia además una glomerulonefritis por inmunocomplejos circulantes

C) LA NEFRITIS POR AUTOINMUNIDAD ANTI-MEMBRANA BASAL GLOMERULAR. Glomerulonefritis antimembrana basal activa:

Aunque la nefritis experimental por suero nefrotóxico ha demostrado el poder de los anticuerpos antimembrana basal para provocar una glomerulonefritis, no aporta, sin embargo, ninguna luz sobre la producción posible por el mismo sujeto de anticuerpos capaces de reaccionar con sus propios glomerulos. Esta posibilidad fue sugerida por Steblay a consecuencia de unas experiencias en que inmunizando un carnero con membranas basales heterólogas u homólogas observó el desarrollo de una glomerulonefritis severa y progresiva. Demuestra que esta enfermedad estaba causada por anticuerpos anti-membrana basal circulantes al ocasionar una enfermedad idéntica en carneros normales que recibían dichas inmunoglobulinas séricas, también lo demostró con eludidos de parenquima renal de carneros nefríticos. Para obtener niveles suficientes de anticuerpos circulantes anti-membrana basal, primeramente se debía efectuar una nefrectomía bilateral de los carneros portadores de esta glomerulonefritis experimental. Posteriormente se observa una enfermedad análoga en otro gran número de animales, especialmente el conejo. Es digno de señalar que en el transcurso de 60 años de trabajos consagrados a la nefritis experimental de la rata provocada por anticuerpos de conejo, los riñones de los conejos dadores del suero nefrotóxico no fueron jamás examinados siendo casi seguro que desarrollaban constantemente una nefritis. Esta enfermedad autoinmune por anticuerpos antimembrana basal provocada inmunizando el animal por medio de antígenos de la membrana basal en coadyuvante completo de Freund, se presenta de diversa manera según la especie animal. En el carnero la enfer-

edad es de tendencia severa y progresiva con una evolución fatal en pocas semanas. En el conejo, la nefritis es menos severa y en ocasiones los anticuerpos que se forman son contra las membranas basales tubulares en lugar de anti-membrana basales glomerulares. A menudo, la presencia en el conejo de inmunoglobulinas y de complemento en las membranas basales tubulares no altera dichas funciones tubulares.

En el cobaya, por ejemplo, es una lesión tubular la que se desarrolla en primer lugar después de su inmunización con membranas basales ya glomerulares ya tubulares.

Los antígenos de la membrana basal utilizados para provocar esta enfermedad experimental son habitualmente extraídos de los glomerulos, sin embargo esta enfermedad puede producirse también inmunizando por medio de membranas basales del pulmón (dadas las reacciones cruzadas que existen entre los componentes antigénicos de las membranas basales de ambos órganos). Los antígenos de membrana basal extraídos de orina normal pueden igualmente provocar una nefritis autoinmune. Basado en estas observaciones Steblay especula que las nefritis debidas a anticuerpos anti-membrana basal glomerular podrían ocurrir naturalmente debido a varios posibles mecanismos:

- 1) La exposición al sistema inmunitario de un cierto antígeno el cual ordinariamente no estaría expuesto y por tanto sería tolerante, podría inducir la formación de auto-anticuerpos. Es posible que antígenos residentes en la membrana basal glomerular no estén normalmente en contacto con el sistema inmunitario; el escape de dichos antígenos hacia la circulación podría inducir la formación de anticuerpos anti-membrana basal, de la misma manera que la propia inyección de orina normal de conejos provoca una nefritis. El agente inmunizante en este caso es una glicoproteína soluble con características antigénicas de membrana basal glomerular y con un peso molecular de 70 a 100.000, estas glicoproteínas se hallan presentes en pequeña cantidad en la orina normal.

2) Un antígeno glomerular podría ser cambiado químicamente por un agente biológico, tal como un virus, pudiendo aparecer entonces extraño para el sistema inmunitario y desarrollando anticuerpos anti-membrana basal glomerular. Sin embargo no hay ninguna prueba de ello ocurra naturalmente.

3) Anticuerpos contra un antígeno extraño el cual tiene un parecido con alguno de la membrana basal glomerular podrían dar lugar a reacciones cruzadas. Se sabe que un antígeno presente en la pared del estreptococo tiene una reacción cruzada con anticuerpos contra la glicoproteína de la membrana basal glomerular. De esta manera se podría concebir que el estreptococo pueda inducir una nefritis de una manera similar a lo que ocurre con las técnicas de Steblay. Estudios inmunopatológicos de las glomerulonefritis post-estreptocócicas no dan bases suficientes para aceptar esta patogénesis. Seegal y Loeb señalan que el antisuero contra tejido placentario es capaz de causar una nefritis nefrotóxica.

En la nefritis por anticuerpos antimembrana basal los anticuerpos se disponen uniformemente y de manera lineal a lo largo de la membrana basal, con el microscopio electrónico se evidencian los depósitos en la vertiente endotelial de la membrana basal, al contrario de los "humps" de la nefritis por inmunocomplejos que son subepiteliales; a veces la proliferación epitelial es tan acentuada que al comprimir las asas capilares las membranas basales toman un curso tortuoso. Es frecuente que cerca del mesangio y después de un curso tortuoso la membrana basal se haga más ténue hasta que desaparece (como un agujero en la pared capilar), se cree que ésta sería la lesión básica de la glomerulonefritis por anticuerpos anti-membrana basal.

En experimentos efectuados en cabras y corderos se ha podido comprobar que la incidencia y frecuencia de glomerulonefritis depende de la forma o estado físico del antígeno glomerular de conejo usado como agente inmunizante. Cuando a los animales se les



inyecta el antígeno de la membrana basal insoluble o enzimáticamente soluble, desarrollan una glomerulonefritis fulminante caracterizada por la aparente desaparición de las asas capilares periféricas, acentuación del mesangio y proliferación epitelial y endotelial con grado variable de infiltración leucocitaria.

De los animales que se inyectan con glomerulos intactos menos de la mitad desarrollan lesiones, las cuales son de caracter focal en contraste con las lesiones difusas de animales inyectado con glomerulos rotos. Es digno de mención que todos los animales muestran deposición lineal de la inmunoglobulina huesped independientemente de la presencia o no de lesiones, se supone entonces que debido a la gran cantidad y variedad de componentes de la membrana basal, no todos podrían inducir la formación de anticuerpos nefritógenos; es posible entonces que la fijación de un anticuerpo a un glomerulo humano no vaya unido necesariamente a daño glomerular. (12,14,18,22,33,39,48)