

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) 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) 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) 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

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.

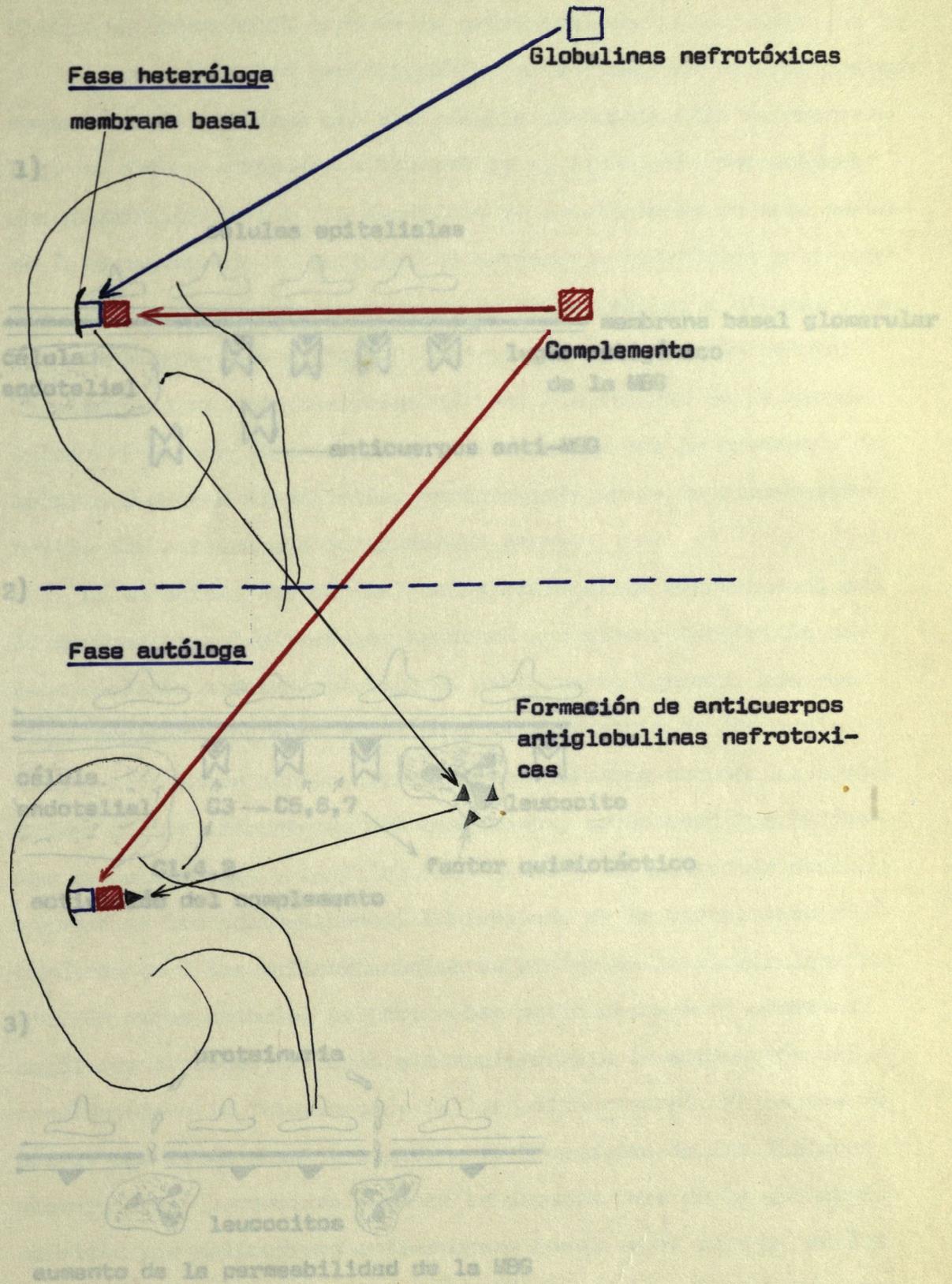
Tal como comprueban Krakowen y Greenpon, estos anticuerpos son estimulados ante todo por la membrana basal de los capilares glomerulares, pero dado que en organismo hay otros tejidos vasculares como el pulmón y la placenta, es posible también obtener sueros nefrotóxicos con estos tejidos.

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

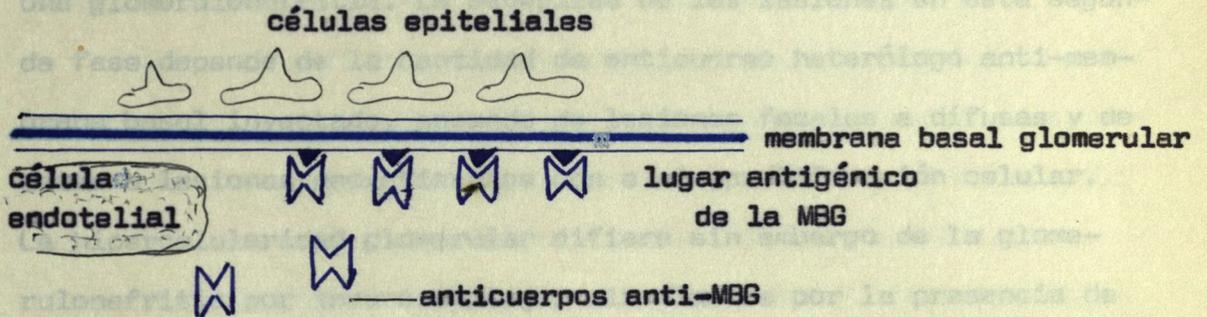
DESARROLLO DE LA LESION GLOMERULAR POR
ANTICUERPOS ANTI-MEMBRANA BASAL



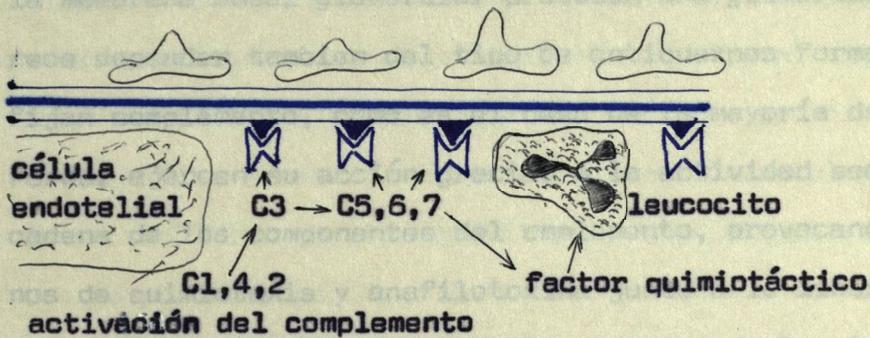
DESARROLLO DE LA LESION GLOMERULAR POR

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 las enzimas de los polinucleares. Sustrayendo de la circulación el complemento o los polinucleares 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 tenue 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)

**B) GLOMERULOPATIAS EXPERIMENTALES CON COMPLEJOS ANTIGENO-
ANTICUERPO CIRCULANTES**

LA NEFRITIS DE LA ENFERMEDAD DEL SUERO

Hace ya más de 50 años Longcope reconoce que la glomerulonefritis proliferativa tiene lugar en la enfermedad del suero que resulta de la administración de grandes dosis de proteínas séricas heterólogas a hombres o animales. Las numerosas experiencias de Rich y Gregory administrando grandes dosis de suero de caballo a conejos muestran una glomerulonefritis proliferativa y difusa con lesiones vasculares semejantes a la poliarteritis nodosa.

Los estudios de Hawn y Janeway muestran que pueden obtenerse lesiones similares con seroalbúmina (BSA) o inmunoglobulina de oveja.

Experimentalmente se pueden seguir dos esquemas de inmunización con BSA: una única y alta dosis de antígeno inyectada endovenosamente da lugar a la enfermedad del suero aguda; múltiples y menores dosis repetidas durante semanas dan lugar a la enfermedad del suero crónica. La mayor susceptibilidad de los capilares glomerulares a los efectos de los inmunocomplejos se debe posiblemente a la disposición anatómica-funcional excepcional de estos capilares, numerosos capilares sostenidos por células mesangiales, los numerosos poros de sus paredes, intercalación entre dos arteriolas que hace que la presión intracapilar sea cuatro veces mayor que en otros capilares, etc..

ENFERMEDAD DEL SUERO AGUDA.

La dosis única que produce respuestas más uniformes es la de 0.5g. de BSA endovenosa a un animal de 2 Kg. de peso (conejo). La mayor incidencia de las lesiones glomerulares tiene lugar cuando el BSA inyectado se hace indetectable en sangre, es posible detectar tres fases en la desaparición sérica del BSA:

- Equilibrio entre el espacio intravascular y el extracelular.
- Fase más lenta en la que se produce el catabolismo del antígeno; esta fase persiste en los animales que no producen anticuer-

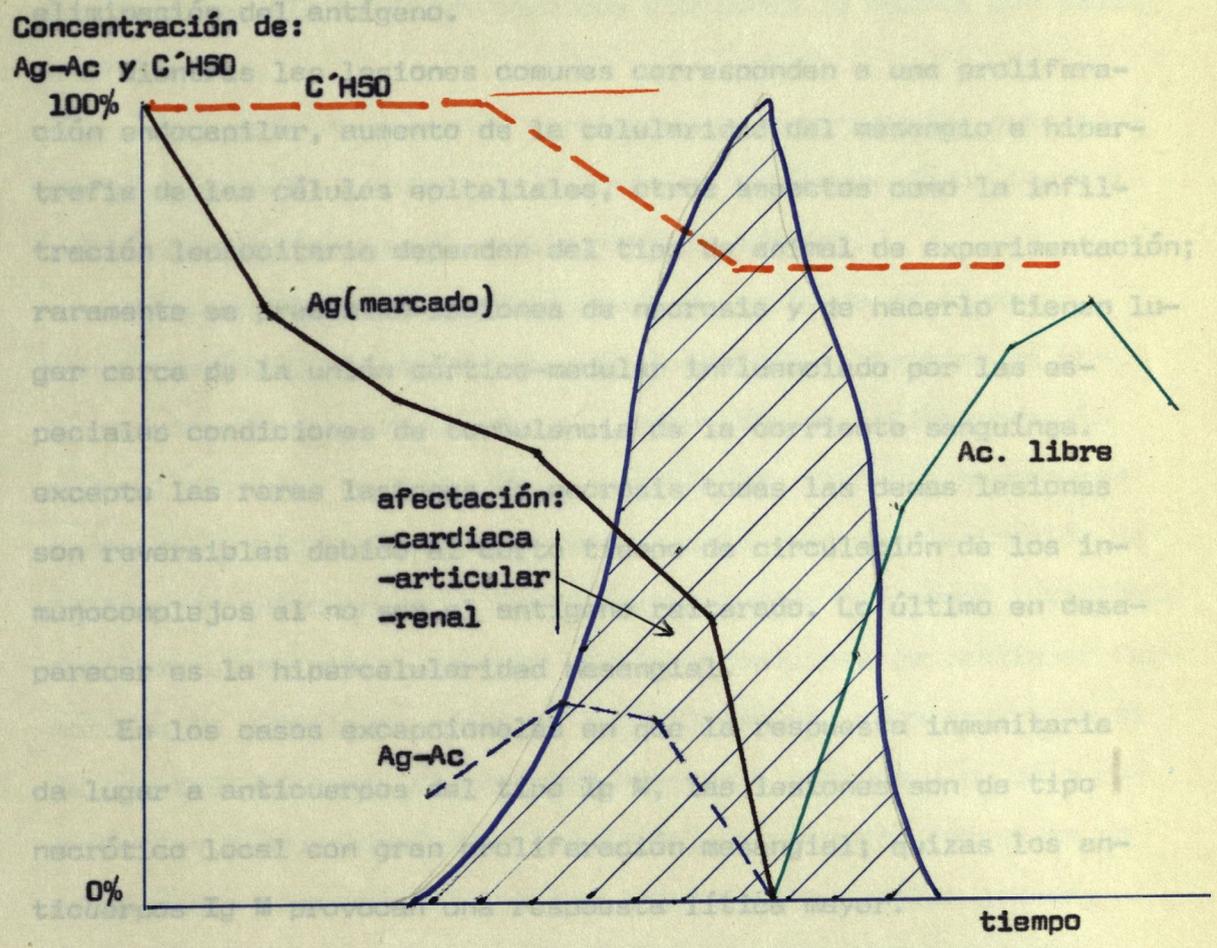
pos (irradiación, etc.).

-Rápida desaparición del antígeno por combinación con los anticuerpos formados, es la denominada "fase inmune de eliminación del antígeno"; el inicio de esta fase depende de la rapidez con que se inicia la síntesis de anticuerpos así como de la velocidad de su formación.

Se comprueba que "cuanto más rápida es la eliminación inmune del antígeno mayor es la incidencia de glomerulonefritis". Sacrificando los conejos a distintos tiempos de la inyección de la BSA se puede analizar la evolución de la glomerulonefritis; al inicio de la fase inmune de eliminación del antígeno la afectación glomerular es mínima, la máxima afectación glomerular tiene lugar poco después de la total desaparición de la BSA libre, a los 14 días; la recuperación se inicia cuando comienzan a aparecer anticuerpos libres. Esta secuencia se acelera a 5 días para la afectación glomerular máxima si el animal ha estado previamente inmunizado. Dato a resaltar es que el complemento sérico desciende coincidiendo con la fase inmune de eliminación del antígeno, posiblemente por fijación en el inmunocomplejo. La relación cronológica entre la aparición de la glomerulonefritis, la inmunoseliminación del antígeno y el descenso del complemento sérico se pueden relacionar patogénicamente.

Ultracentrifugando el suero del conejo en el que se ha inyectado BSA radioactivo se puede determinar el tamaño aparente de los complejos circulantes responsables de la glomerulonefritis. Hasta los 6 primeros días la mayor parte de la radioactividad se detecta a un nivel de tamaño superponible al BSA (PM de 69.000), del octavo al décimo día disminuye la cantidad total de radioactividad desplazándose además hacia la zona de la Ig M (PM de 900.000), debe corresponder a la fase de inmunoseliminación del antígeno (unión del BSA con el anticuerpo) comprobándose además por radioinmunolectroforesis que el anticuerpo es del tipo Ig G. Con tales experimentos se comprueba que los inmunocomplejos tienen

SECUENCIA DE LOS PROCESOS INMUNOLOGICOS DURANTE EL CURSO DE UNA ENFERMEDAD AGUDA DEL SUERO



ENFERMEDAD DEL SUERO CRÓNICA.

Para la obtención de la enfermedad del suero crónica debe conseguirse una exposición prolongada del antígeno, esto se consigue mediante inyecciones de pequeñas dosis repetidas diariamente; dosis altas producen lesiones vasculares más que glomerulares. Se pueden seguir dos protocolos:

a) La dosis diaria administrada de antígeno se ajusta para obtener un nivel mínimo de inmunocomplejos. Los animales así tratados se pueden dividir en tres grupos según la respuesta de los anticuerpos:

-No formación de anticuerpos

un PM entre 300.000 y 500.000, dado que el PM de la Ig G es de 160.000 y el del BSA de 69.000, se puede suponer que la composición de los inmunocomplejos oscila entre Ag_2-Ac y Ag_3-Ac_2 . Mediante técnicas de inmunofluorescencia se comprueba la fijación de antígeno, anticuerpo y complemento en el glomerulo durante la fase de inmunoeeliminación del antígeno.

Mientras las lesiones comunes corresponden a una proliferación endocapilar, aumento de la celularidad del mesangio e hipertrofia de las células epiteliales, otros aspectos como la infiltración leucocitaria dependen del tipo de animal de experimentación; raramente se presentan lesiones de necrosis y de hacerlo tienen lugar cerca de la unión córtico-medular influenciado por las especiales condiciones de turbulencia de la corriente sanguínea. excepto las raras lesiones de necrosis todas las demas lesiones son reversibles debido al corto tiempo de circulación de los inmunocomplejos al no ser el antígeno reiterado. Lo último en desaparecer es la hiper celularidad mesangial.

En los casos excepcionales en que la respuesta inmunitaria da lugar a anticuerpos del tipo Ig M, las lesiones son de tipo necrótico local con gran proliferación mesangial; quizás los anticuerpos Ig M provocan una respuesta lítica mayor.

ENFERMEDAD DEL SUERO CRONICA.

Para la obtención de la enfermedad del suero crónica debe conseguirse una exposición prolongada del antígeno, esto se consigue mediante inyecciones de pequeñas dosis repetidas diariamente; dosis altas producen lesiones vasculares más que glomerulares. Se pueden seguir dos protocolos:

a) La dosis diaria administrada de antígeno se ajusta para obtener un nivel mínimo de inmunocomplejos. Los animales así tratados se pueden dividir en tres grupos según la respuesta de los anticuerpos:

-No formación de anticuerpos

-Formación de grandes cantidades de anticuerpos. Presentan una glomerulonefritis similar a la observada con la inyección única de antígeno, ello ocurre en la fase inicial de inmunoeeliminación del antígeno; más adelante el exceso de anticuerpos da lugar a la formación de inmunocomplejos insolubles incapaces de perpetuar las lesiones glomerulares pero que ocasionan la muerte por shock anafiláctico.

-Formación de pequeñas cantidades de anticuerpos, precisando sólo pequeños ajustes en la dosis de antígeno; todos los animales desarrollan una glomerulonefritis crónica.

b) La dosis diaria administrada de antígeno es siempre constante (12'5 mg. de BSA en animal de 2 Kg.); también se observan tres grupos en cuanto a la respuesta de anticuerpos. En general el nivel de anticuerpos circulantes tiende a mantenerse constante y aún a disminuir, durante esta fase de disminución de la tasa de anticuerpos es precisamente cuando hay mayor incidencia de glomerulonefritis, la cual podría perpetuarse de continuar formándose la suficiente cantidad de anticuerpos, como ocurriría si se ajustase la dosis de antígeno. Con este protocolo no sólo desarrollan glomerulonefritis los animales con pobre respuesta en anticuerpos sino también los que inicialmente aportan grandes cantidades de anticuerpos y que luego disminuyen su tasa. Un tercer grupo de animales con respuesta intermedia de anticuerpos desarrollan unas lesiones bastante distintas de la glomerulonefritis aguda y consistentes en hipertrofia y proliferación de las células mesangiales con ocasional inflamación de las asas capilares yuxtamesangiales.

Sacrificando a los animales a las 6-7 semanas se pueden estudiar cuatro grupos dependiendo de la respuesta inmunitaria:

-Los animales con antígeno libre en su circulación no desarrollan lesiones glomerulares.

-Animales con bajo nivel constante de anticuerpos desarrollan constantemente una glomerulonefritis difusa; representa una

una progresión de la glomerulonefritis aguda que puede ocurrir en la fase inicial de la inmuneliminación del antígeno y que puede conducir a su vez a una glomerulonefritis obliterativa rápidamente progresiva.

-Con nivel intermedio de anticuerpos tiene lugar una proliferación de células mesangiales.

-Altos niveles de anticuerpos circulantes no producen lesiones.

Practicando el sacrificio de los animales a las 12-13 semanas se observa que:

-Los animales con nivel intermedio de anticuerpos circulantes producen unas importantes lesiones proliferativas mesangiales, si en dichos animales se persiste con el estímulo antigénico disminuyen los anticuerpos circulantes y desarrollan una glomerulonefritis difusa. Se demuestra además que persistiendo el estímulo antigénico, cualquier grupo de animales, tarde o temprano, podrá desarrollar una glomerulonefritis difusa al disminuir la producción de anticuerpos. Mediante los estudios con BSA radioactivo se puede comprobar que los inmunocomplejos sólo contienen Ig G y que su tamaño depende de la respuesta de anticuerpos.

Tamaño de los complejos:

-Respuesta con bajo nivel de anticuerpos, dan lugar a una glomerulonefritis difusa, son del tipo Ag_3Ac_2 ó Ag_4Ac_3 y tienen un peso molecular entre 500.000 y 700.000

-Respuesta con nivel intermedio de anticuerpos, la eliminación del BSA es más rápida, entre 15 min. y 5 h., sugiriendo la formación de grandes complejos insolubles fácilmente eliminables. El PM oscila entre 500.000 y 1.000.000; el amplio margen es debido a las diversas composiciones de los complejos dada la inyección brusca del antígeno en sangre y la combinación progresiva con los anticuerpos.

-Respuesta con altos niveles de anticuerpos, la eliminación del antígeno es muy rápida, 15 minutos, el PM de los complejos es

1.000.000 ó más y además son escasos.

El máximo interés reside en la comparación de las lesiones glomerulares respecto al tamaño de los inmunocomplejos:

-Respuestas con bajo nivel de anticuerpos dan lugar a lesiones difusas de dos tipos: si la dosis de BSA administrada oscila entre 1 y 5 mg. se produce un engrosamiento difuso de la membrana basal similar al de la glomerulonefritis membranosa y cursa con proteinuria importante sin insuficiencia renal; si la dosis de BSA es de 25 mg. tiene lugar una proliferación difusa de los elementos celulares del glomérulo, junto a grados diversos de necrosis de las asas que llevan a la muerte tras una glomerulonefritis severa progresiva. En contra de la reversibilidad de las lesiones de engrosamiento de las membranas basales, las lesiones de necrosis son irreversibles. Tanto la microscopía electrónica como la inmunofluorescencia evidencian los inmunocomplejos en la vertiente subepitelial de la membrana basal, en forma de los llamados "humps". Se demuestra además que los inmunocomplejos corresponden al tipo I de los experimentos "in vitro".

-Con niveles intermedios de anticuerpos los cambios glomerulares son menores; proliferación e hiperplasia de las células mesangiales sin exudado inflamatorio, ocasionalmente se puede acompañar de proliferación o inflamación de una o más asas capilares apareciendo entonces proteinuria. La inmunofluorescencia nos revela los complejos en el mesangio y en los casos de proliferación de algún asa capilar dichos complejos se extienden también hacia estas asas. Los inmunocomplejos corresponden al tipo II "in vitro".

-Con altos niveles de anticuerpos no se observan lesiones ni con el microscopio óptico, inmunofluorescencia ni electrónico; los complejos corresponden al tipo III. Si en animales que producen grandes cantidades de anticuerpos y que en un principio no presentaron lesiones glomerulares se detiene la producción de anticuerpos aparece una glomerulonefritis difusa (tardía) por la formación de complejos tipo I en este momento de transición; igual-

mente y muy raramente puede observarse en estos animales que en una fase muy precoz hay una fugaz formación de complejos tipo I antes de alcanzar los altos niveles de anticuerpos, esta glomerulonefritis precoz se observa más frecuentemente cuando la dosis diaria de BSA es de 25 mg. en lugar de 12'5 mg (13,14,22, 23,33,39,46)

DISCUSION:

De todo lo dicho podemos deducir que el tipo de lesión glomerular depende fundamentalmente del tamaño de los inmunocomplejos. Así los complejos tipo I se localizan en la membrana basal de las asas capilares y dan lugar a una glomerulonefritis difusa. Los complejos tipo II se localizan en el mesangio dando lugar a una proliferación mesangial a veces acompañada de lesiones locales inflamatorias de asas capilares aisladas. Los complejos tipo III son inocuos.

Aún cuando los acontecimientos reseñados son los más frecuentes a veces se presentan respuestas que se desvían de la regla ya por características del anticuerpo como del antígeno. Así aun cuando en la enfermedad del suero aguda los complejos son del tipo I, si los anticuerpos formados son del tipo Ig M los complejos formados serán del tipo II y por ello las lesiones desarrolladas serán fundamentalmente focales y mesangiales; por otra parte si el antígeno es de gran tamaño, como la tiroglobulina porcina o el DNA irradiado con U.V., impiden la formación de complejos tipo I.

Otras experiencias dan fe de la flexibilidad de estos mecanismos, así la administración de altas dosis de cortisona a animales con alta respuesta en anticuerpos en la enfermedad del suero crónica, da lugar a la disminución de la producción de anticuerpos y al paso de complejos tipo III a tipo I con el consiguiente desarrollo de una glomerulonefritis difusa sobre todo al detener bruscamente la administración de cortisona. Además del efecto inmunosupresor la cortisona da lugar a un cambio físico-químico de la membrana basal que la hace menos permeable a las

grandes moléculas, de esta manera complejos del tipo I pueden localizarse únicamente en el mesangio en animales con baja respuesta en anticuerpos, se explica entonces que complejos del tipo I se localicen en sitios característicos de los complejos del tipo II. En este sentido los corticoides al desviar los inmunocomplejos desde las paredes capilares hacia el mesangio evitan la lesión glomerular, sin embargo esta idea terapéutica no coincide con la de otros autores que contraindican absolutamente los corticoides al suponer que disminuyen la formación de anticuerpos y con se corre el peligro de caer en la zona de exceso de antígeno favoreciendo la formación de complejos tipo I provocadores de mayores lesiones. Es también interesante la observación de que si en los últimos estadios de la nefritis de la enfermedad del suero crónica se administran grandes dosis de BSA, 50 veces superiores a la usada para provocar la enfermedad, es posible hacer remitir la glomerulopatía, es posible entonces que con el exceso de antígeno se solubilicen los complejos.

Cochrane observa que los inmunocomplejos tienden a localizarse en los vasos previamente tratados con histamina suponiendo entonces que un factor o factores que aumentan la permeabilidad vascular facilitan la deposición de los complejos, observa entonces que conejos tratados con agentes antiserotonínicos o antihistamínicos, como el suero antiplaquetario, antihistamínicos (clorprofen), antiserotonínicos (maleato de metisergida), etc., impiden la localización de los complejos en el glomérulo y con ello la aparición de la glomerulonefritis. Germuth demuestra la importancia de los mecanismos fisiológicos de filtración glomerular y flujo sanguíneo renal en la localización de los inmunocomplejos al obliterar la arteria renal u ocluir el ureter y observar que con ello se impide el desarrollo de la glomerulonefritis en la enfermedad del suero. Cuando los complejos antígeno-anticuerpo solubles son fagocitados por las células endoteliales del capilar glomerular se inicia la proliferación celu-

lar y el estrechamiento de la luz capilar. Seguidamente los inmunocomplejos avanzan desde la localización endotelial al espacio subendotelial y de ahí, tras dañar la membrana basal con la activación del sistema del complemento, llegan a la vertiente subepitelial.

Si bien las glomerulonefritis que hemos visto hasta ahora estaban provocadas por antígenos extraños al animal enfermo; otros experimentos demuestran que sustancias propias son capaces de provocar lesiones similares de glomerulonefritis; Hunter, Hackel y Heymann consiguen inducir una glomerulonefritis crónica en ratas por inyecciones repetidas intraperitonealmente de riñón de rata en coadyuvante completo de Freund, Edgington consigue iguales resultados al inyectar el borde en cepillo de las células del túbulo contorneado proximal. Utilizando iodo radioactivo que daña la glándula tiroides y expone la tiroglobulina a la circulación se consigue la formación de complejos antígeno-anticuerpo capaces de producir también glomerulonefritis. (22,48,55)

SECUENCIA DE ACONTECIMIENTOS
EN EL DESARROLLO DE GLOMERULONE-
FRITIS POR INMUNOCOMPLEJOS

1) Respuesta cuantitativa de anticuerpos que conlleva la formación de complejos solubles antígeno-anticuerpos en exceso de antígeno.

2) Formación de anticuerpos no precipitantes como respuesta a un antígeno extraño.

3) Localización de los inmunocomplejos en la pared del capilar glomerular, bajo la influencia de aminas vasoactivas y factores hidrodinámicos.

4) Atrapamiento de los inmunodepósitos y fagocitosis del material depositado por las células mesangiales.

5) Fijación de los componentes del complemento por los inmunocomplejos.

6) Producción de factores leucohemotáticos.

7) Daño de la membrana basal producido por la liberación de los enzimas proteolíticos de los leucocitos.

MEDIADORES DE LA LESION RENAL EN LAS GLOMERULONEFRITIS

Aunque esta bien establecido que los mecanismos que producen lesiones glomerulares son análogos en el hombre y en los modelos experimentales descritos, revisiones más cuidadosas muestran que la patogenia en el hombre es mas compleja. Así aunque se ha demostrado que la patogenia de la glomerulonefritis lúpica es por complejos antígeno-anticuerpo del tipo DNA-anti-DNA, las lesiones histológicas (focales, difusas proliferativas, membranosas) y cursos clínicos son muy variados, de la misma manera se puede demostrar a veces inmunoglobulina en el glomerulo de un riñón de un paciente afecto de LED sin que presente anomalías clínicas ni histológicas de nefropatía.

INMUNOGLOBULINAS

El papel de las inmunoglobulinas en el desarrollo de las glomerulonefritis viene determinado, como en otra parte se ha estudiado con detalle, por la posibilidad de actuar como anticuerpo ya contra la propia membrana basal glomerular, ya como integrante de un complejo antígeno-anticuerpo que dependiendo a su vez del caracter de solubilidad desarrolla distintas lesiones, en especial al activar el sistema del complemento. De las cinco clases de Ig humanas (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE), la IgG y la IgM son las únicas que pueden fijar complemento; sin embargo recientemente se han hallado indicios de que la IgA también puede activar el sistema del complemento. De los cuatro subgrupos de la IgG la G1 y la G3 fijan bien el complemento, la G2 lo hace pobremente y la G4 no lo hace en absoluto; de ello puede deducirse que la intensidad de las lesiones van a depender en parte del tipo de inmunoglobulina que constituya el anticuerpo del complejo antígeno-anticuerpo. (22, 40)

se activa el C₃ y el C₅ por el complemento y se precipita de forma de complejos

EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

La participación del sistema del complemento fue ya sospechada por Gunn's en 1914 al observar los bajos niveles séricos del mismo en la glomerulonefritis post-escarlatina. Se constatan luego depresiones en glomerulonefritis agudas, subagudas, crónicas y lúpicas. Kellat en 1935 relaciona esta hipocomplementemia con una reacción antígeno-anticuerpo ocurrida en los tejidos, sugiriendo que la glomerulonefritis aguda es el resultado de una reacción de los anticuerpos con la toxina bacteriana; se precisan 24 años para que Schwab (1950) ponga de manifiesto que la lesión renal depende de la reacción de los inmunocomplejos con el complemento que más tarde Lachmann demostrará en los glomerulos de las glomerulonefritis y nefritis lúpica.

La actividad atribuida al complemento depende de la acción de nueve componentes proteicos, C_1 hasta C_9 , actuando de manera secuencial. Globalmente el complemento se mide como una actividad, como ocurre con otros sistemas enzimáticos, expresándose en terminos del grado de lisis de una suspensión de hematies de carnero cubiertos de anticuerpos en proporciones optimas y durante un tiempo fijado; normalmente se valora el complemento preciso para producir el 50% de lisis (CH_{50}).

La activación de C_1 se inicia, en presencia de iones calcio, por su unión a través del C_{1q} a los sitios alterados de la región Fc de la inmunoglobulina por la formación de un complejo con el antígeno. Las diferentes clases de inmunoglobulinas tienen estructuras Fc diferentes, siendo en primer lugar la Ig M, luego la IgG y en mucho menor grado la IgA las que pueden fijar complemento. El C_{1q} es polivalente y necesita combinarse por lo menos con dos sitios Fc distintos para su activación; una vez activado el C_{1q} y con el concurso del C_{1r} y del C_{1s} se activa al C_4 y al C_2 por la acción C_1 esterasa alcanzada por el complejo y en presencia de iones magnesio. El complejo

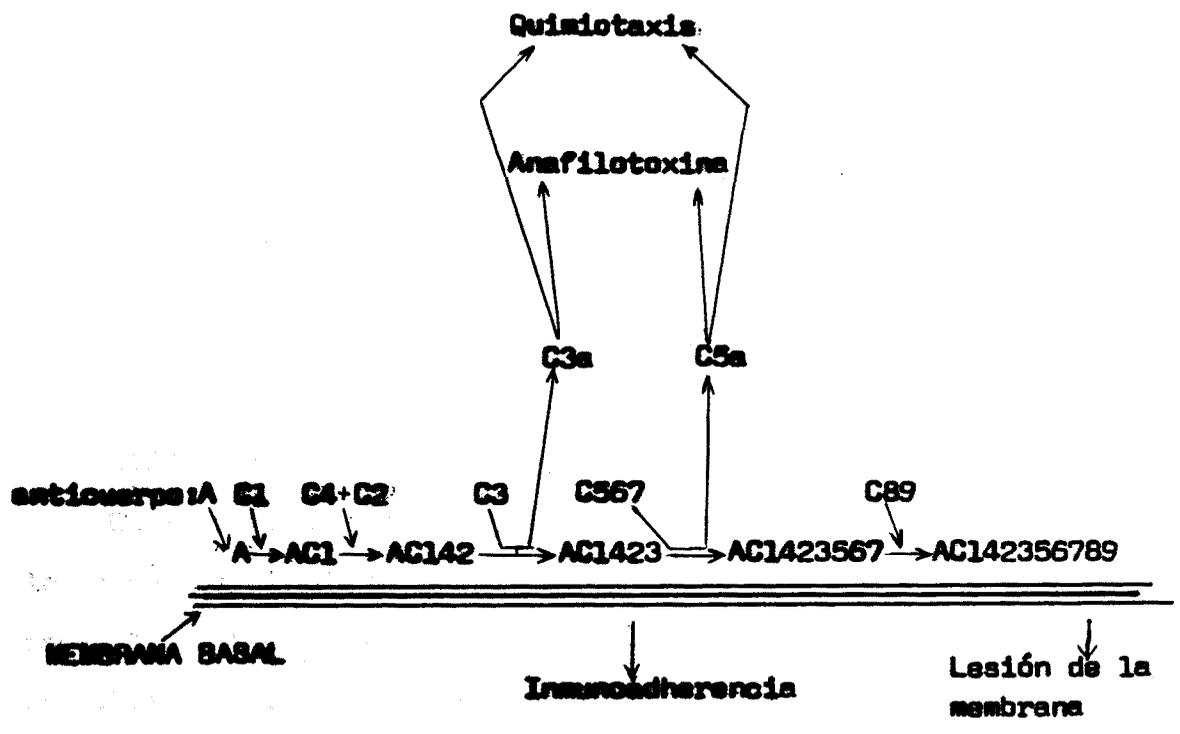
$Ag-Ac+C'_{142}$ tienen acción de C'_3 convertasa, pues al incidir en el C'_3 (beta-1-C globulina) se obtienen dos actividades principales: a) Quimiotaxis para leucócitos polimorfonucleares con actividad anafilotoxina que provocan la liberación de histamina de los mastocitos, b) Otras moléculas C'_3 modificadas se fijan se fijan a las membranas de superficie (plaquetas, globulos rojos) que permiten la inmunoadherencia del complejo a estas células, facilitando así la fagocitosis subsecuente. Los productos de desdoblamiento del C3 son el alfa-2D y el beta-1A; mientras la beta-1C se encuentra en los sueros frescos el beta-1A se encuentra en los sueros almacenados durante un mes a 4° o en los incubados a 37°, también se encuentra en los sueros a los que se ha añadido zymosan, hidracina o agregados de gammaglobulina.

La unión de la etapa C3 al complejo C567 ocasiona la liberación de fragmentos de nueva actividad quimiotóxica y anafilotoxina. Finalmente los componentes terminales C8 y C9 se unen a estos para provocar la lesión en la membrana por medio de la actividad fosfolipasa.

Aún cuando la depresión del complemento sérico quiera explicarse por el consumo que se hace de él, en realidad es muy posible que el nivel de complemento sérico dependa del equilibrio de múltiples factores tales como activadores, inhibidores, producción y catabolismo del mismo, de una manera semejante a lo que ocurre con el sistema de coagulación. Como se verá más adelante el equilibrio de estos dos sistemas se romperá por un factor común: el complejo antígeno-anticuerpo.

Como resumen y aportando un caracter más funcional a la acción del sistema del complemento podemos observar tres fases en su actuación:

a) Reconocimiento: el Clq reconoce la estructura alterada del fragmento Fc del anticuerpo al formarse el complejo antígeno-anticuerpo, se facilita así la unión al C1r y C1s con lo que se confiere la actividad eszimática que facilitará la fase



SECUENCIA DE LA ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO

siguiente.

b) Activación: mediante la incorporación del C2 y del C4 se adquiere la actividad C3-convertasa que activará al C3 inactivo posibilitando la fase siguiente.

c) Ataque: al activar secuencialmente el resto de los componentes del sistema del complemento, C5 hasta C9, provocando lisis celular, activación del factor Haggeman de la coagulación, etc.. (14, 33, 45, 48, 69)

DISCUSION:

Es de interes que los lisados de polimorfonucleares o los gránulos citoplásmicos de los polimorfonucleares son capaces "in vitro" de causar una proteolisis de la membrana basal glomerular, se aporta con ello un mecanismo para explicar la lesión glomerular en el fenómeno inmunológico. El sistema del complemento interviene claramente en la lesión glomerular de la glomerulonefritis experimental nefrotóxica, se demuestra que los anticuerpos nefrotóxicos son capaces de fijar complemento tanto "in vitro" como "in vivo".

La lesión e inflamación glomerular disminuyen significativamente ya disminución del complemento sérico ya por depleción leucocitaria. Sin embargo, se han podido demostrar lesiones glomerulares sin participación del sistema del complemento tanto en glomerulonefritis por inmunocomplejos como por anticuerpos antimembrana basal; antisuero nefrotóxico de ave inyectado a ratas deplecionadas de complemento provoca proteinuria y discretas lesiones glomerulares. Otros experimentos ponen de manifiesto que la depleción de neutrófilos en la enfermedad del suero no previene las lesiones glomerulares, falta, sin embargo, interpretar estos resultados en casos de neutropenia prolongada. Mediante las técnicas de la microscopía por inmunofluorescencia se demuestra fijación de complemento en la membrana basal, de forma lineal en la glomerulonefritis por anticuerpos antimembrana basal y de forma granular en la

glomerulonefritis por inmunocomplejos.

Los avances de los últimos años en relación con el complemento y las glomerulonefritis ha hecho revisar los conceptos clásicos. Se ha mostrado complemento en glomerulos de nefropatías que no mostraban disminución del nivel de complemento sérico. En algunas nefropatías mientras determinados componentes del complemento sérico permanecen a un nivel normal, otros se encuentran francamente descendidos. En la glomerulonefritis hipocomplementémica se ha descubierto un "factor S" que parece ser el responsable de la hipocomplementemia. Recientemente se ha encontrado en el suero de pacientes con glomerulonefritis aguda y LED factores que reaccionan directamente con el Clq, suponiéndose de esta manera, que al menos en estas dos nefropatías, la hipocomplementemia es debida a una reacción que ocurre en la circulación mas que en los propios riñones; prueba de ello es que en la glomerulonefritis membrano-proliferativa hipocomplementémica, la hipocomplementemia persiste en ausencia de riñones.

Los estudios de Gewurz han puesto de manifiesto que si bien la actividad del complemento esta descendida en la glomerulonefritis aguda, lúpica e hipocomplementémica, los niveles de los distintos componentes del complemento son característicos para cada una de dichas nefropatías.

El C2 se halla descendido en el LED y en los primeros días de la glomerulonefritis aguda, se halla normal en la glomerulonefritis hipocomplementaria (membrano-proliferativa).

El C3 se halla descendido en las tres nefropatías aunque proporcionalmente menos en el LED.

En el LED todos los componentes del complemento, C1 a C9 se hallan descendidos proporcionalmente hasta que su valor se restablece ya por remisión del brote ya por la acción de los inmunosupresores.

En la glomerulonefritis aguda se restablecen antes los primeros componentes del complemento, C1 C2 C4, que los últi-

los componentes, C3 y C9.

En la gl... NIVELES DE C2 Y C3 EN : -proliferativa hipocom-

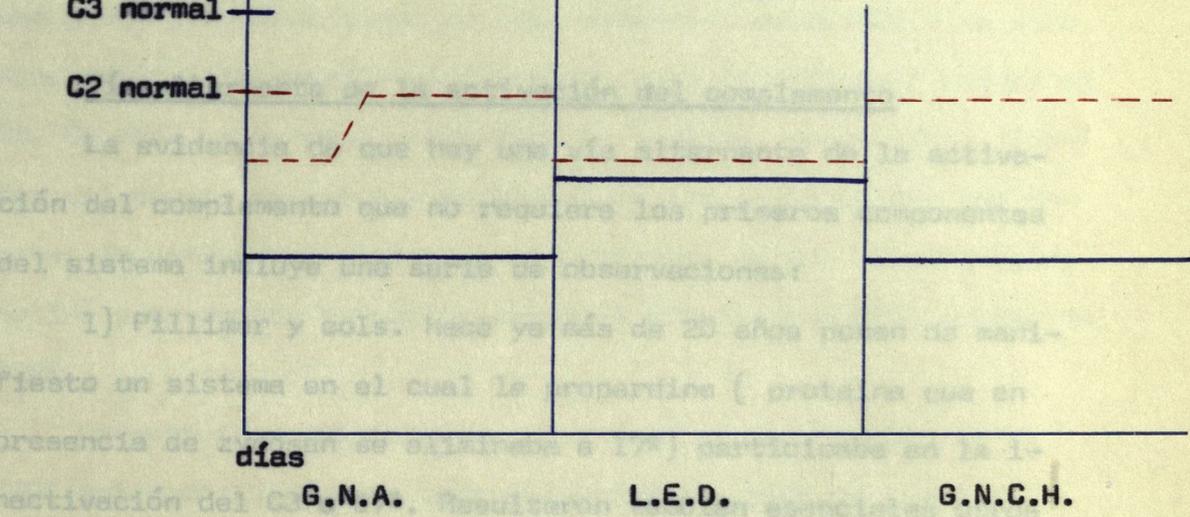
plementaria GLOMERULONEFRITIS AGUDA componentes del complemento los

que es GLOMERULONEFRITIS LUPICA mientos, C3 a C9, no restable-

ciendo GLOMERULONEFRITIS CRONICA MEMBRANO PROLIFERATIVA pre-

soras. HIPOCOMPLEMENTEMICA

Estas observaciones hacen suponer la existencia de una via de activación del complemento que no precise el concurso de sus primeros componentes. (30, 32, 46, 58, 66, 77)



La evidencia de que hay una vía de activación del complemento que no requiere los primeros componentes del sistema incluye una serie de observaciones:

1) Filler y cols. Hace ya más de 20 años por un no vari-fiesto un sistema en el cual le proporción (proteína que en presencia de ... se disuelve a 1%) participó en la in-activación del C3. Resultaron esencial-

dos factores, el factor A (o factor hidrazine sensible) y el factor B (o termo lábil). Varias observaciones han hecho su-

poner una activación semejante en enfermedades humanas, se ha demostrado una disminución de la proporción sérica en las glo-

merulonefritis agudas post-estreptocócicas y en algunas gloe-

rulonefritis crónicas. Michael demuestra por inmunofluorescen-

cia depósitos de properdina en glomerulonefritis membrano-pro-

liferativas y menos frecuentemente en el LED. Recientemente se

ha podido sospechar que el factor A es el C3b, producto de de-

gradación del C3, y que juega un papel importante en la hipocom-

plementemia de algunas glomerulonefritis membrano-prolife-

rativas. El factor B se identifica con el C3PA (C3-proactiva-dor ó beta-glicoproteína rica en glicina, 88G). Aunque se discute, se postula la existencia de un cuarto factor, "la pro-teína unida al veneno de cobra" o CWF-proteína.

C3 —————
C2 - - - - -

mos componentes, C3 a C9.

En la glomerulonefritis membrano-proliferativa hipocomplementaria son los últimos componentes del complemento los que están descendidos permanentemente, C3 a C9, no restableciéndose ni con la remisión clínica ni con los inmunosupresores.

Estas observaciones hacen suponer la existencia de una vía de activación del complemento que no precisa el concurso de sus primeros componentes. (30, 32, 48, 58, 66, 77)

Vía alternante de la activación del complemento

La evidencia de que hay una vía alternante de la activación del complemento que no requiere los primeros componentes del sistema incluye una serie de observaciones:

1) Pillimer y cols. hace ya más de 20 años ponen de manifiesto un sistema en el cual la properdina (proteína que en presencia de zymosan se eliminaba a 17%) participaba en la inactivación del C3 a 37%. Resultaron también esenciales otros dos factores, el factor A (o factor hidrazina sensible) y el factor B (o termo lábil). Varias observaciones han hecho suponer una activación semejante en enfermedades humanas, se ha demostrado una disminución de la properdina sérica en las glomerulonefritis agudas post-estreptocócicas y en algunas glomerulonefritis crónicas. Michael demuestra por inmunofluorescencia depósitos de properdina en glomerulonefritis membrano-proliferativas y menos frecuentemente en el LED. Recientemente se ha podido sospechar que el factor A es el C3b, producto de degradación del C3, y que juega un papel importante en la hipocomplementemia de algunas glomerulonefritis membrano-proliferativas. El factor B se identifica con el C3PA (C3-proactivador ó beta-glicoproteína rica en glicina, GBG). Aunque se discute, se postula la existencia de un cuarto factor, "la proteína unida al veneno de cobra" o CVF-proteína.

2) Gewurz demuestra la preferente fijación de los seis componentes terminales del complemento por endotoxinas de bacterias gram negativas.

3) Müller, Eberhard y Götze han evidenciado la existencia de este segundo sistema de activación del complemento al lo-reemplazar la necesidad de los tres primeros componentes.

El proactivador C3 (C3PA) es una beta globulina rica en glicina (GGG) con un peso molecular de 80.000 y constituido por dos fragmentos. El mayor con una movilidad electroforética de una gamma globulina tiene un peso molecular de 60.000 y ha sido denominado activador C3 dado que es capaz de activar y romper el C3. Ciertas sustancias incluyendo la inulina, endotoxinas, factor del veneno de cobra y agregados de inmunoglobulinas son capaces de activar este sistema en presencia de una 3S-alfa-2globulina y un factor hidrazina-sensible (factor A o C3b) además del C3PA.

La actividad del primitivo factor B se ha descrito en el C3PA así como vez en una beta glicoproteína rica en glicina, moléculas ambas con determinantes antigénicos similares y que en la actualidad es motivo de debate la relación de identidad entre ambas. El paso de C3PA a activador C3 se debe a la acción de otros factores, como la C3PA convertasa la cual a su vez precisa para actuar un producto de degradación del C3, el C3b, que a su vez es posible que se forme por inmunoglobulinas alteradas y polisacaridasas; con todo ello se adivina un mecanismo en feed-back.

Ciclo feed-back del C3b : El C3 se rompe para dar lugar al C3b por la acción de una C3 convertasa. Esta actividad se cree se debe a un producto de escisión de la beta-glicoproteína rica en glicina que es la alfa-glicoproteína rica en glicina (GGG) que rápidamente se inactiva. El C3b es una parte esencial en la GGGasa que hace pasar la GGG a GGG. El otro factor esencial de la GGGasa es la pro-GGGasa (3alfa-2 globulina o

C3PA convertasa). Es posible que el factor proteína veneno de cobra también juegue un papel. La actividad del C3b se destruye por el C3b inactivador (factor activador del conglutinógeno o KAF) que previene normalmente la acción continua del feed-back y con ello el agotamiento del sistema. El CVF C3 convertasa es mucho más estable que el GGG y contiene además GBG; el CVF puede generar C3 convertasa en ausencia de C3.

Se han establecido las siguientes propiedades de la vía "alternativa" de activación del complemento:

1.-Se activa por varios polisacáridos (zymosan, endotoxinas bacterianas y suspensiones pero no soluciones de inulina). Posiblemente pequeñas cantidades de anticuerpos naturales participan en esta activación. Inmunocomplejos conteniendo ciertas inmunoglobulinas que no activan la vía clásica son capaces de activar la vía alternativa. Estas inmunoglobulinas incluyen la IgA para el hombre, la IgG₁ para el cobaya y la IgG₂ para los rumiantes.

2.-Se requiere iones de magnesio y no de calcio. Tampoco interviene el cloro.

3.-Puede ser activado en el suero de cobayos en los que genéticamente hay una deficiencia de C4 y en el de los humanos con déficit genético de C2. Se demuestra con ello que no se precisan ninguno de los dos componentes.

4.-La vía "alternativa" está en íntima relación con el mecanismo inactivador del complemento que se consigue al añadir al suero un factor purificado proteína unida a veneno de cobra.

5.-Requiere una concentración de complemento mucho mayor que la vía clásica.

6.-La vía "alternativa" sufre una activación espontánea si el C3b inactivador (KAF o factor activador del conglutinógeno) está ausente, esta observación se efectuó en un paciente con severa inmunodeficiencia.

4) West, Spitzer y Vallota han descrito un factor en la fracción pseudoglobulina del suero de pacientes con glomerulonefritis crónica membrano-proliferativa denominado factor nefrítico C3 (C3NeF) el cual junto a un cofactor pseudoglobulina (C3b) y magnesio forma el factor nefrítico C3 lítico (C3LyNeF) el cual a su vez es capaz de dividir el C3 en alfa2-D y beta1-A. Vease la discusión en la glomerulonefritis crónica hipocomplementaria.

C3PA, Properdina y beta-1-A

Los valores aislados de C3PA, properdina y beta-1-A no reflejan los cambios dinámicos que ocurren "in vivo". Sin embargo se ve claramente que los valores significativamente descendidos de properdina se hallan solamente cuando la beta-1-A esta también descendida, especialmente en la glomerulonefritis aguda y glomerulonefritis crónica hipocomplementaria. En los sueros normales y en los de pacientes con LED no hay correlación entre los niveles de beta-1-A y properdina.

Exactamente la situación opuesta tuvo lugar cuando se estudió el C3PA observandose una correlación positiva entre los niveles de beta-1-A y C3PA en sueros normales y en los de pacientes con LED, pero no se halló ninguna relación en la glomerulonefritis aguda y membrano-proliferativa hipocomplementaria. El C3PA se hallaba más significativamente descendido en los pacientes con hipocomplementemia.

Sería una excesiva simplificación el sacar la conclusión de que el C3PA interviene sobre todo en el LED y la properdina en la glomerulonefritis aguda. (3,27,40,76,77)

FACTORES DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Componente	Concentración g/ml	Mobilidad electroforética	Coficiente sedimentación	Peso Molecular	Euglobulina Seudoglobul.	Lábil al calor frío	Probable identidad con:
<u>Sistema Properdina</u>							
Properdina	10-20	beta	5-2	220.000	Euglob.	-	
Factor A	-	-	-	-	Seudoglob.	+	C3b
Factor B	-	beta	-	-	"	-	C3PA, GBG
<u>Sistema Factor Veneno de Cobra</u>							
C3PA	100-200	beta	5-5	80.000	"	+	Factor B, GBG
C3PAasa	-	alfa	3-0	-	Euglob.	+	ProGBGasa
Factor C	-	-	-	95.000	-	-	CVF unido a prot.
Factor D	-	-	-	45.000	"	-	ProGBGasa
Proteína unida a CVF	indicios	beta	5-6	-	Seudoglob.	-	Factor C ?
<u>Sistema C3b inactivador</u>							
GBG	90-460	beta	6-2	-	"	+	Factor B, C3PA
Pro GBG asa	-	alfa-2	4-0	-	Euglob.	+	C3PA convert.

PAPEL DE LA COAGULACION

Gran cantidad de datos ponen en evidencia el papel de la coagulación en las lesiones glomerulares, ya experimentales ya en la glomerulonefritis humana; sin embargo los mecanismos por los cuales los fenómenos de hipersensibilidad dan lugar a trombosis locales no se conocen. Robbin y Stetson demuestran como los inmunocomplejos pueden aumentar el proceso de coagulación "in vitro". Se puede producir una coagulación intravascular "in vivo" ya bajo adecuadas condiciones experimentales ya en las formas mas convencionales de lesión tisular producidas por complejos antígeno-anticuerpo, tales como la enfermedad del suero o el fenómeno de Arthus. Les induce la polimerización intravascular de fibrina con la producción de una necrosis cortical en el riñón al inyectar complejos antígeno-anticuerpo a animales con el sistema retículo-endotelial bloqueado por el dióxido de thorio.

Mc Cluskey y cols. señalan que el caracter de las lesiones glomerulares en la nefritis nefrotóxica depende tanto de la deposición específica de anticuerpos y complemento como del proceso de la coagulación; demuestran que en las glomerulonefritis proliferativas extracapilares con formación de semilunas epiteliales esta intimamente asociada a la deposición de fibrina y derivados del fibrinógeno, evidencian por inmunofluorescencia la acumulación de fibrina y sus derivados entre las células de la semiluna epitelial y de las células mesangiales, en contraste la gammaglobulina se deposita solamente a lo largo de la membrana basal. Si antes de inyectar el suero nefrotóxico se tratan a los animales con heparina hay fijación de los anticuerpos en la membrana basal y aparece proteinuria, sin embargo el componente de proliferación epitelial queda mermado. Ellis demostró de manera similar en el hombre la presencia de fibrina en las semilunas epiteliales, en mesangio e incluso en los vasos.

Trygstad ha demostrado productos de degradación de fibrinógeno en el suero de niños con glomerulonefritis post-estreptocócica, nefropatía lúpica, síndrome hemolítico urémico y ciertas glomerulonefritis crónicas, todo ello sugiere una coagulación intravascular en los glomerulos de estos enfermos.

Interacción de la coagulación con otros procesos reaccionales

En la sangre circulante el sistema de coagulación (plaquetas y proteínas plasmáticas) están a un nivel nulo de actividad. Bajo un estímulo bioquímico (quinasas) inducido por la efracción vascular se pone en marcha toda la cadena enzimática que termina con formación de fibrina insoluble. La focalización del proceso se favorece por las propiedades de adhesividad y agregación de las plaquetas. En la sangre circulante las quinasas y los productos de su acción están neutralizados por un doble sistema inhibitor, plasmático (antiproteasas) y celular (fagocitosis). En situaciones patológicas la coagulación se puede desencadenar por situaciones distintas a la de la efracción vascular.

Desencadenamiento de la coagulación.-

Kinasa plasmática: Tiene por soporte el factor XII (o factor Hageman) que en contacto con ciertas superficies adquiere actividad enzimática esterásica. El factor XII-activado forma con el factor XI (PTA) un complejo que activa el factor IX desencadenando una serie de reacciones que terminan con la formación de trombina. El factor XII aparte de desencadenar la coagulación tiene otras acciones como:

-acción sobre el sistema fibrinolítico con la formación de plasmina.

-acción sobre la inflamación con el factor de permeabilidad vascular y el kaliceinógeno.

-intervención en las reacciones antígeno-anticuerpo ac-

tivando la Cl esterasa; inversamente, diversos argumentos hablan en favor de la activación de factor XII por complejos antígeno-anticuerpo. La existencia de un parentesco entre estos dos enzimas bioquímicos lo sugiere la no especificidad de su acción biológica, en efecto, el inhibidor plasmático de la Cl esterasa inhibe igualmente el factor XII activado, al igual que la plasmina y la kallikreina.

Kinasa tisular: El factor tisular (o tromboplastina tisular) junto con el factor VII y el ión calcio forma un complejo con actividad proteolítica sobre el factor X que conduce a la formación de trombina.

El factor tisular de origen intracelular, se libera con la efracción vascular o de otros tejidos. Niemetz ha demostrado recientemente la estimulación de los leucocitos por la endotoxina de la E. Coli dando lugar a la síntesis de un factor parecido al factor tisular; con ello posiblemente se esclarece algo la patogenia del fenómeno de Sanarelli-Shwartzman y de numerosas coagulaciones intravasculares de origen infeccioso. Se precisan mayores investigaciones para asegurar que los complejos antígeno-anticuerpo provocan la misma respuesta fagocítica.

Las plaquetas.-

El papel fundamental de las plaquetas parece ser el de la focalización del fenómeno a nivel de la efracción vascular, lo cual consigue gracias a la "adhesividad" a ciertas estructuras, fibras de colágena, y a su "agregación". Estas dos propiedades están estrechamente ligadas ya que la adherencia de las plaquetas a las fibras de colágeno desencadena entre otros fenómenos la hidrólisis del ATP a ADP, efector este último de la agregación plaquetaria, alrededor de la cual aparece la fibrina como testimonio de la formación de trombina. Es precisamente esta trombina la que provoca el fenómeno de agregación irreversible de las plaquetas con los profundos cambios morfológicos y

bioquímicas que en conjunto se han llamado "release". Ha sido ampliamente probado que los complejos antígeno-anticuerpo producen modificaciones plaquetarias a las de la trombina. Las plaquetas tratadas así presentan el fenómeno de release y en presencia del ión calcio tiene lugar su agregación plaquetaria irreversible. La actividad de los complejos inmunes sobre las plaquetas está sometida a las mismas condiciones que la activación del complemento, sin embargo, al menos en el hombre, no parece que el complemento sea imprescindible para la acción de los inmunocomplejos sobre las plaquetas. El mecanismo de este fenómeno y su papel en la coagulación intravascular son aún imprecisos. Experimentalmente es posible provocar una coagulación intravascular con depósitos de fibrina en los pequeños vasos por inyección a un conejo de complejos inmunes preformados. Además la producción de una trombopenia profunda por quimioterapia preservan al animal de la formación de trombos fibrinosos intraglomerulares; esta observación también se pudo reproducir con la prevención de las lesiones renales en fenómeno de Schwartzman generalizado tras la inducción de trombopenia en el animal. Se puede suponer con ello que la destrucción de las plaquetas por los inmunocomplejos (y por las endotoxinas directa o indirectamente) desencadena una coagulación intravascular difusa y como consecuencia la formación de trombos fibrinoides en los glomerulos.

La interacción de las plaquetas con la "pared vascular alterada" constituye el acontecimiento inicial del proceso de la hemostasia. Por similitud a la propiedad de fagocitosis, la adhesión de las plaquetas a ciertas superficies ha sido comparada a una tentativa de fagocitosis a una partícula de tamaño ínfimo. Esta hipótesis es plausible ya que las modificaciones plaquetarias son idénticas tanto cuando se adhieren a las fibras de colágeno como cuando fagocitan los complejos antígeno-anticuerpos o partículas de latex cubiertas de inmunoglobulinas. La lo-

calización de los agregados plaquetarios en el transcurso de la coagulación intravascular depende pues de la naturaleza de las superficies a las cuales las plaquetas son susceptibles de adherirse. Después de la abrasión experimental del endotelio vascular, la membrana basal desnuda se recubre también de plaquetas adherentes, se comprueba además que "in vitro" las plaquetas se adhieren a la membrana basal glomerular. En resumen: si las plaquetas fagocitan complejos inmunes, la fijación de ellas a una superficie a su vez alterada podría provocar agregados plaquetarios.

El sistema fibrinolítico.-

La actividad enzimática de la plasmina es polivalente, no limitada a las proteínas de la coagulación, interviene en la formación de kinasas y en la activación del sistema del complemento activando el kallicreínógeno.

La coagulación intravascular.-

La exposición en la interfase sangre-pared de agrupaciones químicas pueden inducir la agregación plaquetaria por varios mecanismos tales como: la alteración y descamación de las células endoteliales como se observa en el curso de accidentes infecciosos (septicemias, shock endotoxínico); la precipitación de complejos antígeno-anticuerpo y sin duda ciertas lesiones de las paredes arteriolas, de génesis desconocidas, en el transcurso del síndrome urémico-hemolítico y en ciertos casos de hipertensión maligna.

Diversos argumentos morfológicos dan fe de la coagulación intravascular a nivel renal. Mediante el microscopio óptico se evidencia en los glomerulos la denominada sustancia "fibrinoide", llamada así tras el reconocimiento de la estructura fibrilar con el microscopio electrónico y la identificación por inmunofluorescencia de sus determinantes antigénicos, esta última técnica tiene la ventaja de reconocer la fibrina en sus formas degradadas cuando ya no son reconocibles por el microscopio

electrónico. De esta manera se pueden poner de manifiesto depósitos de fibrina en las luces capilares, en el seno de las proliferaciones celulares, a lo largo de la membrana basal, en las semilunas epiteliales de la capsula de Bowman. A veces existe una cierta correlación entre la disposición geográfica de los depósitos y el tipo de lesiones renales asociadas.

Las afecciones glomerulares humanas de origen inmunológico.-

La excelente revisión de Vassalli y Mc Cluskey ilustra la acción mediadora que podría tener la coagulación intravascular en la génesis de las lesiones anatómicas en el riñón. Experimentalmente el mecanismo inmunológico primitivo puede ser el depósito en el riñón del complejo antígeno-anticuerpo. Estas condiciones tienen lugar, al menos aparentemente, en el hombre en el curso de diversas nefropatías tales como: glomerulonefritis agudas proliferativas, púrpura reumatoide, síndrome de Goodpasture, nefritis lúpica y ciertas lesiones glomerulares observadas en los riñones trasplantados. La prueba de una coagulación intrarrenal ha podido ser aportada por diversos medios. La presencia de fibrina intraglomerular ha sido puesta en evidencia por inmunofluorescencia y por el microscopio electrónico en el glomerulo de glomerulonefritis agudas proliferativas y en ciertos casos de glomerulonefritis subagudas (malignas) y crónicas; tal como señalan Vassalli y Mc Cluskey la fibrina es generalmente extracapilar y especialmente situada en las zonas de proliferación celular, esta localización sugiere un nexo de unión entre coagulación y reacción inflamatoria local. Por otra parte y especialmente en el curso de la nefropatía lúpica la fibrina aparece asociada a los depósitos de inmunoglobulinas y complemento. Otros argumentos en favor de la coagulación intraglomerular han sido la eliminación urinaria de ciertos productos de degradación de la fibrina así como su presencia electiva en la sangre venosa renal.

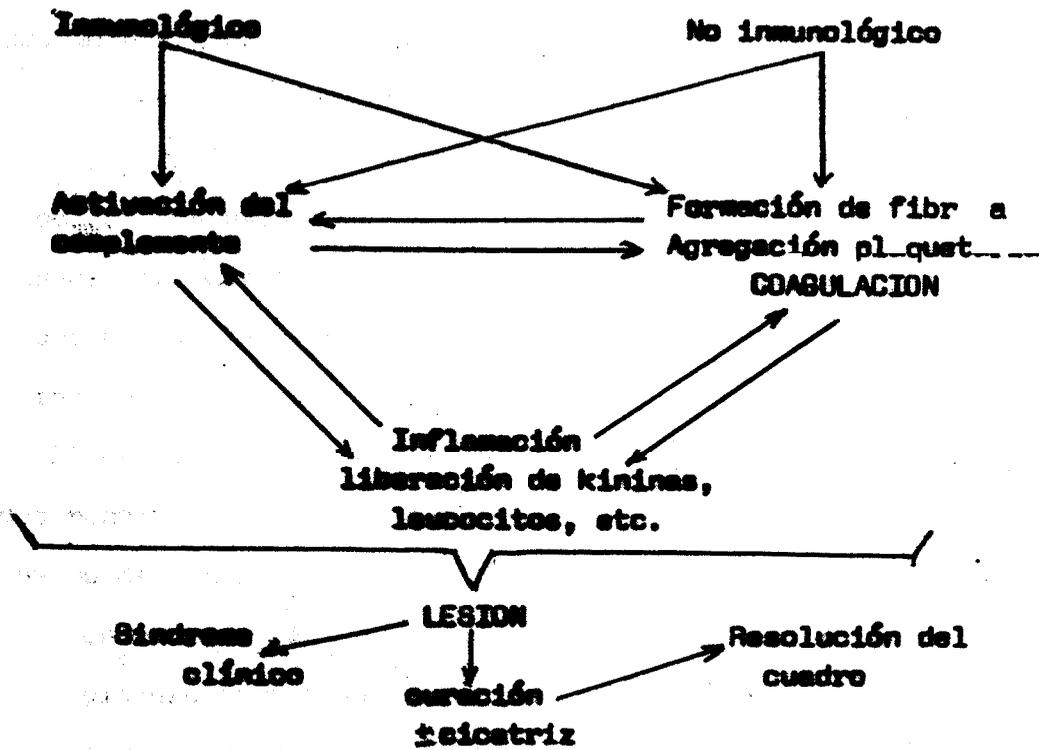
Como hemos visto hasta ahora se han podido vislumbrar los

mecanismos por los cuales la reacción antígeno-anticuerpo y su focalización podrían desencadenar un proceso local de coagulación y como también este último proceso podría ser responsable de lesiones anatómicas secundarias. Experimentalmente la coagulación intraglomerular ha hecho posible reproducir todos los tipos de lesiones morfológicas conocidas excepto los depósitos extramembranosos. Sin embargo, a menudo la evidencia de un mecanismo fisiopatológico posible no debe hacernos descartar la existencia de otros. El parentesco entre las lesiones morfológicas de ciertas glomerulonefritis y las lesiones provocadas por la coagulación intravascular ha sido establecido por el examen de los efectos producidos por la inyección de Liquoid; sin embargo la coagulación intravascular inducida por métodos más fisiológicos (inyección de tromboplastina o de trombina) esta lejos de reproducir con constancia tales lesiones glomerulares. Por otra parte la evidencia de depósitos de fibrina en los islotes de proliferación celular no significa a priori que estos sean consecuencia de los primeros. Se puede concebir que la activación por los complejos inmunes de sistemas enzimáticos distintos a los de la coagulación, principalmente el sistema del complemento, puede inducir una reacción local secundaria, humoral y celular en la cual la coagulación no sería más que un fenómeno satélite. (18, 33, 36, 39, 48, 52, 55, 73)

En resumen: Los complejos antígeno-anticuerpo son capaces de incidir, ya directa ya indirectamente, en varios sistemas homeostáticos (complemento, coagulación, quininas, fibrinolisis) desviándolos de tal manera que ocasionan entonces un efecto nocivo para el organismo, el resultado final es el efecto inflamatorio responsable en la mayoría de los casos de la deterioración morfológica y funcional del órgano. Posiblemente la mayoría de las glomerulonefritis no se presentarían con la simple deposición de los inmunocomplejos a no ser que se acompañase del efecto inflamatorio por ellos desencadenado.

MECANISMOS DE LESION GLOMERULAR

FACTORES PRECIPITANTES



HIPERSENSIBILIDAD CELULAR

La importancia de los anticuerpos humorales en la patogénesis de la glomerulonefritis experimental ha sido ya discutida. El amplio espectro de cursos clínicos y de lesiones histológicas vistas en las nefropatías humanas hace sospechar que haya otros mecanismos de lesión distintos a los experimentales de la enfermedad del suero o de la nefritis nefrotóxica. La posibilidad de que linfocitos sensibilizados pueden estar implicados en la mediación de lesiones renales en el animal de experimentación (nefritis autóloga por inmunocomplejos, Heymann) esta sugerida por los experimentos de transferencia. Sin embargo las lesiones producidas por estos investigadores podían haber sido producidas por la transferencia de anticuerpos más que por linfocitos sensibilizados.

El papel de los linfocitos sensibilizados en las enfermedades renales humanas ha sido objeto de controversia. Es común el hecho de las densas colecciones de linfocitos y células mononucleares en el cortex de nefropatías humanas, particularmente en las glomerulonefritis rápidamente progresivas, síndrome de Goodpasture y la nefritis lúpica. Además han sido descritas células multinucleadas gigantes del tipo de Langhans en los glomerulos de riñones afectados; sin embargo estos datos histológicos no tienen porque expresar una reacción inmunológica específica.

En experimentos "in vitro" se ha podido comprobar una hipersensibilidad celular en pacientes con glomerulonefritis utilizando el MIF para antígenos de la membrana basal glomerular. Primeramente Bendixen evidenció la migración periférica de los leucocitos con homogeneizado fetal de riñón en algunos pacientes con glomerulonefritis. Rosenberg y David confirman que estos experimentos son indicadores de una hipersensibilidad retardada. Zabriskie y cols. aportan un mayor interés a la sensibiliza-

ción celular al demostrar que pacientes con glomerulonefritis progresiva manifiestan "in vitro" una hipersensibilidad celular para partículas antigénicas de estreptococo. Estos investigadores sugieren que la hipersensibilidad para el antígeno estreptocócico o quizás para un antígeno renal (como la membrana basal glomerular) el cual podría estar relacionado inmunológicamente con el antígeno estreptocócico, explicaría la continuidad de la lesión mediada inmunológicamente en algunos pacientes con glomerulonefritis.

Pirofsky y cols. han tratado pacientes con síndrome de Goodpasture y otras nefropatías con antisuero timocito anti-humano con la intención de deprimir la hipersensibilidad celular, y en efecto, se logró una mejoría en el curso de la enfermedad. Un ejemplo similar obtenemos en la inmunosupresión de los trasplantes renales.

Mabieu y cols, efectúan un estudio en el que ponen de manifiesto la relación entre los anticuerpos anti-membrana basal glomerular, y la inmunidad celular medida con el test de migración leucocitaria. Demuestran y confirman la existencia de anticuerpos anti-membrana basal glomerular y tubular en glomerulonefritis con depósitos lineales, granulares y en necrosis corticales. Utilizando muestras de suero pacientes con "el mismo título" de anticuerpos anti-membrana basal ven que se precisan 25 microgramos de antígeno soluble de membrana basal glomerular para neutralizar la hemaglutinación pasiva en los pacientes con glomerulonefritis con depósitos lineales, mientras que se precisan de 50 a 100 microgramos del mismo antígeno en las glomerulonefritis con depósitos granulares y con lesiones vasculares mayores. Estos datos hacen suponer que los anticuerpos circulantes tienen distintas afinidades para el antígeno de la membrana basal en las diversas nefropatías y podría además explicar el hecho de que sólo se transfieren anticuerpos a un corte de riñón normal cuando se utiliza suero de paciente con glomerulonefritis pro-

liferativa con depósitos lineales.

Los mismos autores encuentran un test de migración de leucocitos positivo no solamente en glomerulonefritis con depósitos lineales sino también en las glomerulonefritis con depósitos granulares y necrosis renal. La hipersensibilidad retardada se observa tanto con los antígenos glomerulares como con los tubulares, ya que el determinante antigénico es el glicopeptido que contiene glucosa-galactosa común a ambos, esta prueba es positiva en el 50% de los pacientes con el test de hemaglutinación positivo. Estos resultados no indican que la inmunidad celular sea la responsable de la glomerulonefritis, dado que es difícil distinguir entre inmunidad celular e inmunidad celular simplemente asociada a la inmunidad humoral, como es el caso de pacientes con grandes lesiones vasculares. El pronóstico de los pacientes que muestran anticuerpos anti-membrana basal circulantes es peor que el que presentan una inmunidad celular. Este argumento podría ser usado en contra del papel patogénico de la inmunidad celular en la nefritis por anticuerpos anti-membrana basal.

Por último, en recientes e independientes trabajos, se ha podido demostrar la transferencia de la nefrosis autoinmune de Heymann con células solas.

Unas pocas observaciones han sugerido en el hombre la posibilidad de que la hipersensibilidad juegue algún papel en el infiltrado intersticial de mononucleares. En diversas infecciones bacterianas del riñón es evidente una infiltración mononuclear semejante a la de una hipersensibilidad retardada. Estos hechos son fuertemente sugestivos en la tuberculosis renal, en la cual la infiltración linfocítica difusa a menudo se acompaña de lesiones granulomatosas típicas. Abundando más aún, nefritis intersticiales en las que abundan los mononucleares son características de las reacciones por hipersensibilidad a drogas, tales como la meticilina; puede suponerse entonces que las alte-

raciones intersticiales representan una reacción de hipersensibilidad retardada para el material antigénico localizado en el riñón. (34, 48, 49, 50, 53, 72)

AGENTES CAPACES DE INDUCIR GLOMERULONEFRITIS

VIRUS

Diversos investigadores han investigado la posibilidad de que antígenos virales estén implicados en la patogénesis de las glomerulonefritis a través de la formación de complejos antígeno-anticuerpo.

Se han descrito glomerulonefritis clínicas asociadas a parotiditis, sarampión, vacunas, virus Coxackie B3, varicela, adenovirus, virus ECHO tipo 9, hepatitis infecciosa y coriomeningitis linfocitaria aguda. El mismo Goodpasture sugiere la etiología vírica de un paciente que muere con una glomerulonefritis proliferativa y hemorragias pulmonares al coexistir con una influenza. Duncan describe además partículas parecidas a los virus en el tejido renal de un síndrome de Goodpasture.

Oldstone y Dixon demuestran anticuerpos anti-coriomeningitis linfocitaria en glomerulo afecto de una glomerulonefritis de un gato recién nacido infectado con el virus de la coriomeningitis linfocitaria. Lo mismo observa Burch con el virus ECHO tras seis días de inoculación a un gato. Lewis lo demuestra en la enfermedad alogénica del gato.

Por último, en pocos casos, aunque bien documentados, se ha referido la asociación de glomerulonefritis con la hepatitis viral. Goke demuestra que pacientes con poliarteritis nodosa y antígeno Australia positivo presentan depósitos de inmunocomplejos vasculares formados por inmunoglobulinas y antígeno Australia. De la misma manera Burton y cols. estudian un paciente persistentemente antígeno Australia positivo por hepatitis post-transfusional que desarrolla una glomerulonefritis membranosa y en la que se demuestra por inmunofluorescencia depósitos de IgG y C3 y por inmunofluorescencia indirecta evidentes depósitos de antígeno Australia. (8, 18, 14, 16, 18, 22, 26, 48, 72)

ANTIGENOS AUTOLOGOS

Modelo Heymann: En 1959 Heymann describe la inducción de

una glomerulonefritis membranosa al inmunizar ratas por vía intraperitoneal con tejido renal autólogo u homólogo en coadyuvante completo de Freund. Se demostraron depósitos de inmunoglobulinas que sugerían la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Edginton y Glassock evidencian que el antígeno de estos inmunocomplejos deriva del borde apical del ribete en cepillo de las células del túbulo contorneado proximal. La inducción de esta enfermedad en ratas utilizando antígeno humano pone de manifiesto que parte de los inmunocomplejos que se fijan en el glomerulo están formados por el antígeno del borde en cepillo tubular propio, en lugar del humano; esto sugiere que el propio antígeno es capaz de liberarse a la circulación y combinarse con el anticuerpo haciendo posible pensar que una pérdida similar de la tolerancia para un auto-antígeno puede ocurrir en el hombre como resultado de la producción de anticuerpos frente a un antígeno extraño o nativo alterado. Recientes y distintos trabajos han puesto de manifiesto que la nefritis de Heymann se ha podido producir por la transferencia tanto de anticuerpos libres como de células aisladas.

Tiroglobulina: Weigle y High han demostrado que ratas inmunizadas con tiroglobulina heteróloga forman anticuerpos con reacción cruzada con la tiroglobulina autóloga. Se ha podido observar una nefritis por inmunocomplejos si la tiroglobulina llega al torrente circulatorio cuando están presentes los anticuerpos antitiroglobulina.

Antígenos de la membrana basal: La nefritis por anticuerpos antimembrana basal glomerular también puede producirse por inmunización de animales con membrana basal glomerular autóloga o heteróloga, membrana basal pulmonar heteróloga y antígenos urinarios autólogos o heterólogos; todos ellos contienen en común una glicoproteína similar a la de la membrana basal glomerular.

GLOMERULONEFRITIS ESPONTANEAS EN ANIMALES

GLOMERULONEFRITIS EN RATONES HIBRIDOS NZB Y NZB/W

En 1959 Bielschowsky y cols. describieron una enfermedad que se presentaba espontáneamente en los ratones negros (NZB) de Nueva Zelanda con anemia hemolítica con test de Coombs positivo. Los híbridos F_1 de NZB y NZW(NZB/W) desarrollaban posteriormente una glomerulonefritis membranosa asociada al fenómeno celular del Lupus eritematoso y factor reumatoide. Burnet y Holmes evidencian que al 98% de los ratones hembras NZB/W morían por la glomerulonefritis antes de un año; estos autores demuestran el test de Coombs hemolítico positivo y sugieren que esta enfermedad tiene una base inmunológica similar al LED del hombre. La severidad de las lesiones glomerulares de los ratones NZB varía ampliamente entre los ratones de la misma edad, entre los glomerulos de un mismo ratón y entre las partes de un mismo glomerulo. Una mínima afectación glomerular muestra un aumento de la matriz y células mesangiales. La inmunofluorescencia muestra depósitos gruesos esparcidos por la región centrolobular del glomerulo. El microscopio electrónico muestra depósitos densos en el mesangio. Las asas periféricas muestran areas aisladas de engrosamiento así como discreta fusión de los podocitos. Las lesiones más severas presentan un material eosinofílico mesangial que hace prominencia hacia la luz de los capilares contiguos. El microscopio electrónico muestra ademas engrosamientos focales de la membrana basal y nodulos subepiteliales en asas aisladas, estos nódulos tienen una densidad aparente similar a la membrana basal y a menudo se hallan asociados a la fusión de los podocitos. La progresión de esta lesión dará por resultado la interposición circunferencial completa del mesangio con la abolición del asa capilar.

El desarrollo de las lesiones glomerulares en las capas híbridas NZB/NZW F_1 difieren solamente en la mayor rapidez de su curso.

Lambert, Dixon y Seegal demuestran que los complejos inmunes en tales lesiones glomerulares contienen anticuerpos anti-DNA así como antígeno nuclear. Se comprueba además una predisposición genética para esta enfermedad pues si bien la cepa NZB/W titulos altos de anticuerpos y desarrolla glomerulonefritis, otras cepas como la AVAX, DBA/Z, AKR y CBA producen títulos bajos de anticuerpos y no desarrollan glomerulonefritis.

Lambert y Dixon advierten que un ratón NZB/W inyectado ya con el virus de polioma, ya con el virus de la coriomeningitis linfocitaria, desarrollan anticuerpos antinucleares a los 4 meses, mientras que si el ratón permanece sin infectarse raramente presenta anticuerpos antinucleares a esta edad; Steinberg ha demostrado que la inmunización del ratón NZB/W con ácido poliinosico-policitidilico (polyI-polyC) induce la formación de anticuerpos anti-RNA y anti-DNA. Esta respuesta inmunológica anormal para los estímulos virales, puede, quizás, desarrollar la formación de inmunocomplejos productores de glomerulonefritis.

En resumen: La evidencia derivada de los ratones de Nueva Zelanda indica que factores genéticos cean un estado de reactividad inmunológica alterada capaz de producir títulos altos de auto-anticuerpos quizás influenciado por la infección viral.

LESIONES GLOMERULARES EN RATONES INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA

Las lesiones desarrolladas por estos ratones son en todo parecidas a las descritas para los ratones NZB y tienen una base inmunopatológica similar.

ENFERMEDAD DE LOS VISONES ALEUTIANOS

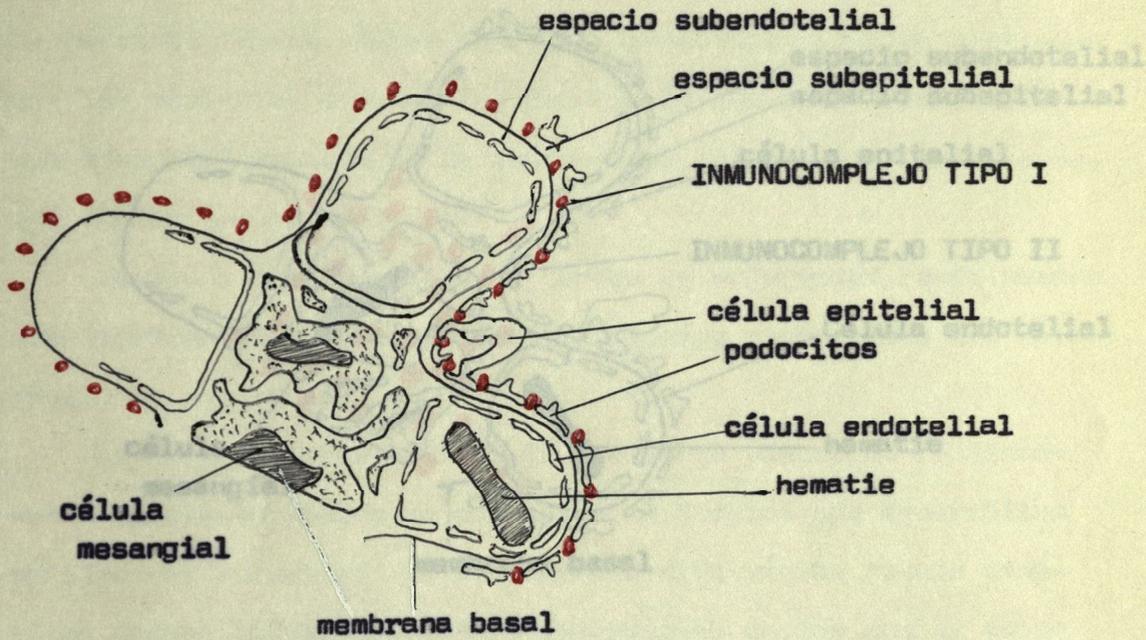
En los visones aleutianos ocurre naturalmente una enfermedad caracterizada por hipergammaglobulinemia, poliarteritis, proliferación de células plasmáticas y glomerulonefritis. Esta enfermedad ha sido transmitida por filtrados libres de células y se ha supuesto un origen viral. Se encuentran depósitos densos en la membrana basal glomerular y gammaglobulina en el mesangio de los

glomerulos. Ha sido descrita, aunque no se han demostrado lesiones glomerulares, la aparente transmisión de la enfermedad de los visones aleutianos al hombre.(12,14,33,48)

D I S C U S I O N

En el sistema de la enfermedad del suero del conejo los inmunocomplejos del tipo I se localizan en la pared externa del asa capilar y se asocia a una enfermedad glomerular difusa. En contraste los complejos tipo II se localizan primariamente en el mesangio con extensión ocasional a las asas contiguas y asociados a alteraciones glomerulares focales. Si bien la enfermedad glomerular espontánea por depósitos de complejos tipo I es rara en animales, el desarrollo de lesiones por la aparente deposición de complejos en el sistema subendotelial-mesangial es frecuente. Estos hechos inmunopatológicos estan en concordancia con la hipótesis de que estas lesiones son consecuencia del depósito de complejos tipo II en el glomérulo. Además la incapacidad para detectar el antígeno directamente con anticuerpo anti-antígeno marcado con fluoresceína en los depósitos glomerulares de ratones NZB/NZW afectados va en favor de que los complejos estan formados en exceso de anticuerpos, lo cual concuerda con el supuesto tipo II de los inmunocomplejos.

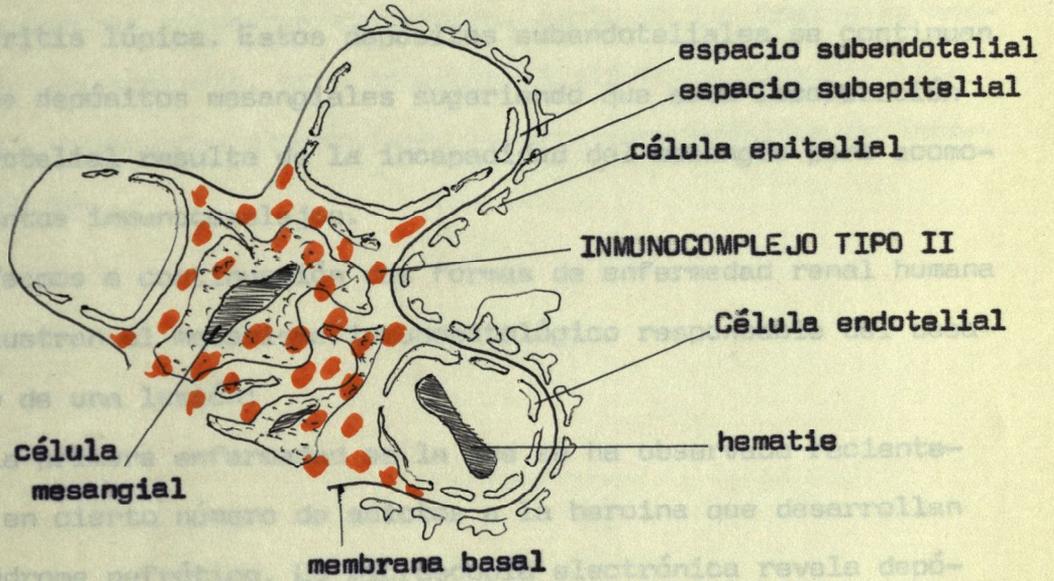
En contraste con los mínimos efectos de la deposición de complejos tipo II de BSA-IgG en la enfermedad crónica del suero, las enfermedades espontáneas de los animales muestran un depósito continuado de ciertos inmunocomplejos tipo II que dan lugar a una glomerulonefritis focal progresiva. En las lesiones incipientes de la enfermedad animal espontánea los complejos se localizan fundamentalmente en el mesangio quedando inalterada la filtración glomerular. A medida que progresa el depósito de inmunocomplejos el mesangio responde con una hipertrófia que conlleva una expansión hacia las asas capilares de las células mesangiales y de la matriz mesangial conteniendo los inmunocomplejos. Este proceso puede hacerse tan extenso que la circunferencia entera del asa se forre internamente con la matriz y células mesangia-



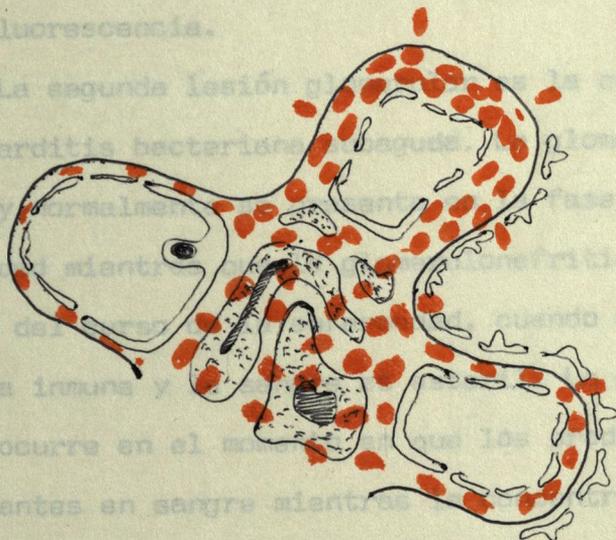
LESION GLOMERULAR POR INMUNOCOMPLEJOS TIPO I

LESION GLOMERULAR POR INMUNOCOMPLEJOS TIPO II

los con el evidente compromiso de la filtración glomerular. A es-
 tos hechos en los ratones NZB y NZB/NZW se añade el que la de-
 posición continuada de inmunocomplejos hace que estos se localicen
 en el espacio subendotelial formando el "wire loop" típico de
 la nefritis lúpica. Estos



que ilustra el desarrollo de una lesión que ilustra el desarrollo de una lesión
 rrollo de una lesión que ilustra el desarrollo de una lesión
 mente en el tipo de lesión que se desarrolla en un síndrome nefrítico.
 un síndrome nefrítico. La inmunofluorescencia revela depó-
 sitos densos subendoteliales y mesangiales en los que se supo-
 ne la naturaleza de inmunocomplejos por el estudio mediante in-
 munofluorescencia.



La segunda lesión que se encuentra en la
 endocarditis bacteriana aguda es
 rara y normalmente se ve en las septicémias de la en-
 fermedad sistémica. La nefritis focal ocurre más ade-
 lante que la glomerulonefritis difusa. Cuando esta presenta la res-
 puesta inmune y la glomerulonefritis difusa
 fuse ocurre en el momento en que los gérmenes son
 abundantes en sangre mientras que la formación de anticuerpos es
 baja, condición esta que favorece la formación de complejos inmu-
 nos o tipo I. La glomerulonefritis focal se ve específicamente
 cuando

LESION GLOMERULAR POR INMUNOCOMPLEJOS TIPO II

La concentración de antígeno es baja, con lo que se favorece la formación
 de complejos de mayor tamaño tipo II ó III.

Estas consideraciones ponen de relieve la importancia del
 tamaño de los inmunocomplejos en la producción de las distintas
 lesiones glomerulares en pacientes afectados de una enfermedad auto-

los con el evidente compromiso de la filtración glomerular. A estos hechos en los ratones NZB y NZB/NZW se añade el que la deposición continuada de inmunocomplejos hace que estos se localicen en el espacio subendotelial semejando el "wire loops" típico de la nefritis lúpica. Estos depósitos subendoteliales se continúan con los depósitos mesangiales sugiriendo que esta localización subendotelial resulta de la incapacidad del mesangio para acomodar tantos inmunocomplejos.

Veamos a continuación dos formas de enfermedad renal humana que ilustran el mecanismo inmunopatológico responsable del desarrollo de una lesión:

La primera enfermedad es la que se ha observado recientemente en cierto número de adictos a la heroína que desarrollan un síndrome nefrótico. La microscopía electrónica revela depósitos densos subendoteliales y mesangiales en los que se supone la naturaleza de inmunocomplejos por el estudio mediante inmunofluorescencia.

La segunda lesión glomerular es la que se encuentra en la endocarditis bacteriana subaguda. La glomerulonefritis aguda es rara y normalmente se presenta en la fase septicémica de la enfermedad mientras que la glomerulonefritis focal ocurre más adelante del curso de la enfermedad, cuando esta presente la respuesta inmune y la sangre es estéril. La glomerulonefritis difusa ocurre en el momento en que los productos bacterianos son abundantes en sangre mientras la concentración de anticuerpos es baja, condición esta que favorece la formación de complejos pequeños o tipo I. La glomerulonefritis focal se ve específicamente cuando los anticuerpos específicos son abundantes y la concentración de antígeno es baja, con lo que se favorece la formación de complejos de mayor tamaño tipo II ó III.

Estas consideraciones ponen de relieve la importancia del tamaño de los inmunocomplejos en la producción de las distintas lesiones glomerulares en pacientes afectados de una enfermedad de

terminada. Germuth a la vista de estos resultados, de las correlaciones entre las enfermedades renales experimentales en animales y las espontáneas en el hombre, así como de un cuidadoso estudio morfológico con microscopía óptica, electrónica e inmunofluorescencia, encuentra argumentos, parte de los cuales se analizarán más adelante, para proponer la siguiente clasificación de las enfermedades glomerulares humanas por depósitos de inmunocomplejos:

CLASIFICACION DE LAS ENFERMEDADES GLOMERULARES HUMANAS

POR DEPOSITOS DE INMUNOCOMPLEJOS

CLASIFICACION

Localización característica de los complejos	Nomenclatura propuesta	Nomenclatura convencional
I) Debajo del epitelio	I) Enfermedad por complejo Tipo I	
A) En las hendiduras epiteliales	A) G. N. Transmembranosa	A) G. N. Difusa
B) En el espacio subepitelial	B) Glomerulopatía transmembranosa	B) Glomerulopatía membranosa
II) Sistema subendotelial mesangial	II) Enfermedad por complejo Tipo II	
A) En espacio subendotelial	A) G. N. endomembranosa	A) G.N. membrano-proliferativa o lobular
B) En la lámina densa	B) G.N. laminar	B) Ninguna
C) En el mesangio y asas contiguas	C) G.N. mesangiopática	C) Sólo en parte definidas como G.N. focales

Clasificación de 141 pacientes afectados de enfermedad glomerular por depósitos de inmunocomplejos (Germuth):

CLASIFICACION	Enfermedad sistémica asociada	Incidencia	
		nº casos	%
		144	100
Tipo I complejos			
• A) G.N. transmembranosa	Infección estreptocócica	9	6´4
	Desconocida	20	14´2
	Total	29	20´6
B) Glomerulopatía transmembranosa	Lupus sistémico	13	9´2
	Desconocido	18	12´8
	Total	31	22
TOTAL		60	42´6
Tipo II complejos			
A) G.N. endomembranosa	Fiebre reumática	1	0´7
	Desconocida (hipocomplementemia)	13	9´2
B) G.N. Laminar	Desconocida	2	1´4
C) G.N. mesangiopática	Lupus sistémico	28	19´8
	Púrpura de Henoch	7	5
	Poliarteritis nodosa	1	0´7
	Lupus por drogas	2	1´4
	Wegener	1	0´7
	Desconocida	26	18´4
	Total	65	46
TOTAL		81	57´3

ENFERMEDADES RENALES HUMANAS EN LAS QUE SE PRESUMEN O SE
CONOCEN LOS MECANISMOS INMUNOLOGICOS

I) GLOMERULONEFRITIS POR INMUNOCOMPLEJOS

A) Enfermedad de etiología conocida

- 1) G.N. post-esreptocócica (*)
- 2) G.N. asociadas con otras infecciones bacterianas: estafilococos, sífilis, endocarditis bacteriana, (?)
- 3) G.N. asociada a la malaria (*)

B) Enfermedades glomerulares asociadas a enfermedades sistémicas de causa oscura

- 1) Lupus eritematoso †
- 2) N. de la purpura anafilactoidea ?
- 3) N. de la periarteritis nodosa ?
- 4) N. de la crioglobulinemia idiopática ? ††

C) Enfermedades glomerulares de causa desconocida

- 1) G.N. membranosa ?
- 2) G.N. membrano-proliferativa ?
- 3) G.N. crónica esclerosante ?
- 4) G.N. focal ?
- 5) G.N. IgA-IgG (Berger) ?
- 6) Enfermedades glomerulares inclasificadas

II) ENFERMEDAD POR ANTICUERPOS ANTI-MEMBRANA BASAL

- A) G.N. del síndrome de Goodpasture
- B) Algunos casos de G.N.C. y/o rápidamente progresiva

III) INTERSTICIAL Y/O AFECIONES TUBULARES

- A) Depósitos de inmunoglobulinas en la membrana basal tubular (inmúnocomplejos?)

B) Infiltración mononuclear intersticial

- 1) Debido a drogas
- 2) Otras sustancias extrañas ?
- 3) Autoinmunidad ?

(*) Antígeno experimentalmente identificado en depósitos glomerulares

† Antígeno (DNA) definitivamente identificados en depósitos glomerulares

†† Antígeno posiblemente alterado, IgG.