

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.

TESIS DOCTORAL

BARCELONA JUNIO 1974



CONTRIBUCION DE LA INMUNOFLORESCENCIA AL ESTUDIO
DE LAS NEFROPATIAS GLOMERULARES

por Alberto TORRAS RABASA

A mi esposa que con su ayuda, comprensión y sacrificio ha hecho posible este trabajo.

Al Profesor Soriano que con
sus enseñanzas se hizo "sentir"
la medicina.

Al Dr. Revert verdadero artífice de este trabajo gracias a su constante estímulo y al ejemplo de su trabajo e insaciable curiosidad científica.

A los compañeros del Servicio de Nefrología que han sabido darme ánimos en los momentos difíciles.

Un especial reconocimiento a la
Sra. Ramona Arnau , laborantina de ana-
tomía patológica, que con su pulcritud y
esmerado trabajo ha incorporado a la ru-
tina del Servicio una técnica de alto
nivel científico.

PLAN DE TRABAJO

TITULO:

CONTRIBUCION DE LA INMUNOFLORESCENCIA AL ESTUDIO DE LAS NEFROPATIAS GLOMERULARES

CONCEPTO:

ESTUDIO DE LAS NEFROPATIAS POR INMUNOFLORESCENCIA COMO BASE PARA UNA REVISION DE LA INMUNOPATOLOGIA RENAL

DESARROLLO:

PARTE TEORICA:

PAATOGENIA INMUNOLOGICA DE LAS NEFROPATIAS

PARTE PRACTICA:

I) TECNICA DE LA INMUNOFLORESCENCIA

II) ESTUDIO POR INMUNOFLORESCENCIA DE 100 BIOPSIAS RENALES

INDICE GENERAL

INTRODUCCION - JUSTIFICACION	4
------------------------------------	---

PARTE TEORICA

A) REVISION DE CONCEPTOS DE INMUNOLOGIA GENERAL.

- Los anticuerpos	7
- La respuesta inmunitaria. Interacción antígeno-anticuerpo y complemento.	10
- Hipersensibilidad. Hipersensibilidad mediada por complejos.	13

B) MECANISMOS BASICOS DE LA INMUNOPATOLOGIA EN LAS GLOMERULOPATIAS.

- Mecanismos experimentales.	20
Anticuerpos antimembrana basal y autoinmunidad.	20
Complejos antígeno-anticuerpo circulantes, enfermedad del suero.	29
- Mediadores de la lesión renal en las glomerulonefritis.	41
Inmunoglobulinas.	41
El sistema del complemento. Vías de activación. ..	42
Papel de la coagulación.	54
Hipersensibilidad celular.	62
- Agentes capaces de inducir glomerulonefritis.	66
- Glomerulonefritis espontáneas en animales.	68
Glomerulonefritis en ratones NZB y NZB/W.	68
Enfermedad del visón aleutiano.	69
DISCUSION.	71

C) ENFERMEDADES RENALES HUMANAS.

POR INMUNOCOMPLEJOS TIPO I

- Glomerulonefritis post-estreptocócica.	79
Autolimitada	85

Rápidamente progresiva	86
Persistente	87
Paso a la cronicidad	95
- Glomerulonefritis membranosa	101
Idiopática	101
Lúpica	106
 POR INMUNOCOMPLEJOS TIPO II		
- Glomerulonefritis membrano-proliferativa	108
Inmunopatogénesis	110
- Glomerulonefritis por depósitos densos en el seno de la membrana basal	116
- Glomerulonefritis mesangiopática del L.E.D.	118
Inmunopatogénesis	123
Etiología	127
- Glomerulonefritis mesangiopática	129
Schönlein-Henoch	129
Hematurias recurrentes	131
Enfermedad de Berger	131
- Glomerulonefritis focal esclerosante	134
- Síndrome nefrótico idiopático o con lesiones mínimas.	136
- Crioglobulinemia	139
- Glomerulonefritis asociadas a lesiones vasculares....	141
Schönlein-Henoch	143
Periarteritis nodosa	143
L.E.D.	144
Artritis reumatoide	145
Esclerodermia	145
SINDROME DE GOODPASTURE	146
ALTERACIONES TUBULARES RENALES	151

PARTE PRACTICA

TECNICA DE LA INMUNOFUORESCENCIA

A) Las técnicas de inmunofluorescencia en la demostración de las reacciones antígeno-anticuerpo.	157
--	-------	-----

B) La fluorescencia	162
- Naturaleza de la fluorescencia	162
- Microscopio de fluorescencia	164
C) Los fluorocromos	167
- Nuestra experiencia	169
D) Antisueros marcados, problemas.	1.....	171
E) Procesado de la pieza biopsica.	174
- Congelación	174
- Cortes	175
- Inmunomarcado	177

ESTUDIO POR INMUNOFLUORESCENCIA DE 100 BIOPSIAS RENALES

A) Material y métodos	180
B) Resultados	185
C) Discusión	228
D) Conclusiones	230
E) Resumen de las conclusiones	241

<u>BIBLIOGRAFIA GENERAL.</u>	243
------------------------------	-------	-----

INTRODUCCION. JUSTIFICACION

Durante mucho tiempo se había sospechado la naturaleza inmunológica de los fenómenos patogénicos de la glomerulonefritis humana; aún antes de que la Inmunología tomase cuerpo como una rama más amplia, en la cual sólo los agentes bacterianos eran capaces de influir en los procesos inmunológicos, Bright sugirió que la "inflamación" del riñón en las nefritis era debida a una "acción" mórbida que afectaba directamente al organo, a consecuencia de dicha acción mórbida en otra parte del organismo.

Es Schick quien aportó nueva luz al observar que la nefritis asociada a la escarlatina o a la amigdalitis no aparece en el estado agudo de la infección, cuando se espera que el estreptococo o sus productos estan en mayor abundancia, sino tras un periodo de latencia; sugiere entonces que el lapso de tiempo transcurrido entre la infección sintomática y el inicio de la nefritis podría representar el periodo requerido para el desarrollo de una hipersensibilidad del huésped frente a los organismos todavía existentes. Von Pirquet llama la atención sobre la similitud entre el periodo de latencia en el desarrollo de la nefritis post-estreptocócica y el de la enfermedad del suero producida al inyectar suero de caballo, evidencia además el aspecto similar de la glomerulonefritis en ambas situaciones permitiendole sostener la hipótesis de que la glomerulonefritis era el resultado de la interacción de los microorganismos con los anticuerpos producidos en el periodo de latencia de la enfermedad. La disminución del complemento sérico apoya todavía más estos supuestos. Finalmente Seegal, Andres, Hsu, y Zabriskie demuestran la presencia de 7S-alfa globulina, beta-1C y antígeno estreptocócico en los glomerulos de pacientes con glomerulonefritis aguda. Los últimos 50 años de inmunología experimental no han hecho otra cosa que apoyar en todos los aspectos la implicación inmunológica de

de las glomerulonefritis humanas.

Los fenómenos inmunitarios se presentan para el nefrólogo como una ciencia paradójica, pues si bien por un lado va a permitir conocer la etiopatogenia de ciertas nefropatías que faciliten un adecuado abordaje terapéutico, por otro lado impide un acto terapéutico esencial en nefrología, el trasplante.

La microscopía óptica convencional ha renovado la patología renal permitiendo reconocer y clasificar, sobre bases morfológicas, las principales glomerulopatías. Esta vía habría sido medio ciego en ausencia de otras técnicas. Así, la microscopía electrónica proporciona el medio de analizar con más precisión las lesiones visibles con el microscopio óptico, revela al mismo tiempo alteraciones glomerulares indescifrables anteriormente, así como los lazos que pueden unir éstas con las precedentes. Si bien en algunos casos el exámen en alta resolución permite identificar la naturaleza de los depósitos gracias a la periodicidad característica, como es el caso de la amiloide o de la fibrina, en general no se pueden definir más que con su densidad óptica o por su afinidad por ciertas sustancias, el ácido ósmico o las sales de plata, por ejemplo. El exámen por inmunofluorescencia llena en parte la laguna dejada por la microscopía electrónica, nos revela los íntimos componentes de un fenómeno inmunológico, nos aumenta la resolución de nuestros microscopios no en unidades ópticas sino en acercamiento patogénico; en resumen, plasma "in vitro" un aspecto de la reacción inmunológica vital que ya en sus primeros experimentos vislumbró Masugui.