

ORIGINALES

Estudio comparativo entre tres técnicas para la detección de Complejos Inmunes Circulantes. Su aplicación en pacientes afectados de distintas nefropatías glomerulares

E. MIRAPEIX *, L. BORCHE **, P. MAS **, C. MORENO **, J. VIVES ** y L. REVERT *

Servicio de Nefrología *, Servicio de Inmunología **, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona. España.

RESUMEN

En los sueros de 88 pacientes con diversas enfermedades glomerulares primarias y secundarias, se han medido los siguientes componentes del complemento C3, C4, CH50, el factor nefrítico y los inmunocomplejos circulantes, por tres métodos: microconsumo de complementos (MCT): unión del C1q (C1q-BA); precipitación con polietilenglicol y consumo de complemento (PEG-CC). La mejor correlación con las características clínicas e histopatológicas fue obtenida con PEG-CC, seguido por C1q-BA. El MCT dio a menudo falsos positivos. El PEG-CC permitió distinguir entre la glomerulonefritis aguda postestreptocócica activa y la no activa, mostrando una mejor correlación con la situación clínica que el perfil del complemento. El suero de pacientes con síndrome nefrítico o nefropatía membranosa, en el cual se mostraron inmunocomplejos circulantes con PEG-CC y C1q-BA, pertenecía a pacientes con formas no idiopáticas de esta enfermedad (Lupus, Artritis Reumatoide, HbAg+ y Sífilis), lo que apoya la opinión de que la enfermedad con cambios mínimos no está medida por inmunocomplejos circulantes, y con los inmunocomplejos de la nefropatía membranosa idiopática se forman *in situ*. El alto porcentaje de pacientes con glomerulonefritis mesangiocapilar con inmunocomplejos circulantes (42 %) sugiere que estos contribuyen a la patogenia de esta enfermedad y podrían causar activación del complemento por la vía clásica.

Palabras clave: Glomerulonefritis, inmunocomplejos.

SUMMARY

We have studied 88 sera of patients with various primary and secondary glomerula diseases, measuring complement components C3, C4, CH50, Nephritic factor, and Circulating Immune Complexes (CIC) with three tests: Microcomplement Consumption Test (MCT), C1q-binding assay (C1q-BA) and the Polyethylene glycol precipitation Complement Consumption test (PEG-CC). The best correlation with the clinical and histopathological features was obtained with PEG-CC, followed by C1q-BA. The MCT gave false positive results very often. The PEG-CC could distinguish between active and non active Acute post-streptococcal glomerulonephritis (AGN) showing better correlation with the clinical status than the complement profile. Sera from nephrotic syndrome and membranous nephropathy that showed CIC with PEG-CC and C1q-BA corresponded to patients with non idiopathic forms of these diseases (lupus, reumatoid, arthritis, HbAg+ and siphilis) supporting the opinion that minimal change disease is not mediated by CIC and the immune complexes of membranous nephropathy are formed *in situ*. The high percentage of patients with mesangiocapillary glomerulonephritis showing CIC (42 %) suggest that CIC contribute to the pathogenesis of this disease and could cause complement activation by the classical pathway.

INTRODUCCION

Existen suficientes razones para creer que el 80 % de las glomerulonefritis humanas tienen su origen etiopatogénico en el depósito de Complejos Inmunes (CI). Estas son: la demostración, con la microscopía de inmunofluorescencia, de depósitos granulares de inmunoglobulinas y complemento localizados en la membrana basal glomerular¹⁸, la hipocomplementemia⁴, y la gran semejanza existente entre las lesiones histológicas humanas y las de animales a los que experimentalmente se les ha inducido una glomerulonefritis por Complejos Inmunes Circulantes (CIC) de antígeno conocido⁵. La presencia de CI en el riñón puede explicarse de tres maneras: por anticuerpos anti-membrana basal, por la formación de CIC que quedan atrapados a su paso por el filtro glomerular y por la formación de complejos inmunes *in situ*. Está generalmente aceptado que los CIC son los responsables de algunas nefropatías secundarias, pero su papel patogénico en las nefropatías primitivas no está aún bien definido^{6,7}. Es por ello que la detección de CIC puede ser de gran interés, ya que podría ayudar a la clasificación, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las glomerulonefritis humanas. En este trabajo se han aplicado tres técnicas para la detección de CIC en varios tipos distintos de glomerulopatías primitivas y secundarias correlacionando los resultados con algunos datos clínicos y biológicos de cada enfermedad.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes

Se han estudiado sueros de pacientes afectados de: glomerulonefritis aguda (GNA), 12 casos; glomerulonefritis aguda rápidamente progresiva (GNARP), 11 casos; glomerulonefritis crónica, mesangio capilar (GNCMC), 22 casos; síndrome nefrótico ópticamente normal (SNON), 13 casos; glomerulonefritis extramembranosa idiopática (GNExI), 10 casos; y glomerulonefritis por depósitos de IgA (IgA-D), 9 casos. También se han estudiado algunas nefropatías consideradas secundarias, las cuales se han agrupado de dos maneras. Síndrome nefrótico secundario, incluyendo en este grupo 6 casos de GNExI; diabetes, 1 caso; hialinosis segmentaria y focal, 1 caso; trombosis de la arteria renal, 1 caso; amiloidosis, 2 casos; Hodgkin, 1 caso y algunas GNEx secundarias que cursaban con síndrome nefrótico como penicilamina, 1 caso; lupus, 2 casos y lues, 1 caso. Las GN. Ex. secundarias incluyen estos últimos cuatro casos y un paciente Au (+) que no presentaba síndrome nefrótico. En alguna enfermedad el número de sueros no coincide para los tres test por no disponer de muestra suficiente.

Sueros problema (SP)

El suero de estos pacientes se obtuvo dejando coagular la sangre en tubo de vidrio hasta un máximo de 2 horas a temperatura ambiente, y se guardó a -70°C en alíquotas de 0,5 ml. Las muestras se rechazaron después de una descongelación.

Suero humano Normal (SHN)

Se ha utilizado como control, el pool de 25 sueros pertenecientes a voluntarios sanos miembros del personal de este hospital. El suero fue guardado en alíquotas de 0,5 ml. a -70°C . También se guardaron muestras de cada individuo para delimitar las normalidades.

Determinaciones de complemento

Los valores de C3 y C4 se determinaron por inmunodifusión radial utilizando placas comerciales (Behringwerke). Para cada determinación de C3, el suero fue incubado en estufa a 37°C durante 24 horas, para que el $\beta 1\text{C}$ pase a $\beta 1\text{A}$ y conseguir mejor homogeneidad en las lecturas. El CH50 se determinó con la técnica hemolítica de LACHMANN¹² expresándose los resultados en unidades CH50.

Complejos inmunes circulantes (CIC)

Test de consumo de complemento (MCT)

Se ha utilizado la técnica descrita por WOODROFFE¹³ con algunas modificaciones. Fundamentalmente consiste en calentar 100 μl de suero a 56°C durante 1 hora, luego se añaden 2-2,5 u.u. CH50 (68-71 % de hemólisis) de SHN en forma de 300 μl de la dilución adecuada, incubando la mezcla a 37°C durante 30 min. A continuación se añaden 300 μl de eritrocitos sensibilizados (EA) al 3 %, incubándose 1 hora a 37°C en agitación constante. Finalizada ésta, se añade un ml. de Tampón Veronal (T.V.) y se lee la hemoglobina del sobrenadante después de centrifugar, a 541 nm. con espectrofotómetro. El resultado se expresa en porcentaje de inhibición respecto al control positivo de las 2-2,5 u.u. CH50.

Test de capacidad de unión del C1q. (C1qBA)

Se ha utilizado la técnica de ZUBLER¹⁴. El C1q se purificó según la técnica de VOLANAKIS¹⁵, y el marcaje con I-125 según la técnica de HEUSER con lactoperoxidasa¹⁶ conservándose a -70°C en alíquotas de 100 μl . Para efectuar el test se descongela un vial de C1q marcado y se diluye en 5 ml. de T. V. al que se ha añadido SHN inactivado (56°C , 30 min.) para hacerlo al 1 %. Se centrifuga a 12.000 r.p.m. 40 min. a 4°C y se utiliza el sobrenadante. Cada test se efectúa por triplicado, incubándose 50 μl de suero problema con 100 μl de EDTA 0,2 M pH 7,5, a 37°C durante 30 min. para inactivar el suero. A continuación se añaden 50 μl de C1q marcado y 1 ml. de PEG-6000 al 3 %. (Technicon inst. corp.) durante 1 hora. Se centrifuga a 1.500 g. durante 20 min. a 4°C , se desprecia el sobrenadante y se procede al conteo del precipitado con un contador gamma. El resultado se expresa en tanto por ciento de C1q-125 añadido.

Test de precipitación con Polietilenglicol y consumo de complemento (PEG-CC).

Para este test se ha utilizado la técnica originalmente descrita por HARKISS¹⁷. Brevemente esta técnica consiste en desactivar el suero problema con EDTA 0,2M pH 7,2 seguido de una precipitación con PEG 2,5 % durante 24 horas a 4°C lavándose el precipitado con PEG al 2,5 % en T.V. dos veces. Se añade a continuación 20 μl de SHN como fuente de complemento, incubándose la mezcla 30 min. a 37°C .

A continuación se hacen dos diluciones (1/275, 1/300) para cada tubo del que se toman 450 μ l. y se mezclan con 50 μ l de EA 1 %, incubándose a 37° C durante 30 min. Se añaden 500 μ l. de T.V. y se lee la Hb. del sobrenadante a 415 nm. con espectrofotómetro. El resultado se expresa en porcentaje de inhibición del suero problema respecto a un control de la fuente de complemento que debe ser de 2-2,5 u.u. CH50.

Determinación de factor nefrítico (NeF)

Se ha determinado la capacidad que posee el NeF del suero problema de convertir el β 1C de un suero normal en β 1A, incubando 50 μ l de SP y 50 μ l de SHN en tubo de vidrio a 37° C durante 30 min. seguido de una inmunoelectroforesis bidimensional. En cada determinación se incluyeron los correspondientes controles de SHN + SP a 4° C. SHN + PBS a 37° C y 4° C, SP + PBS a 37° C y 4° C y finalmente SHN + SP a 37° C en presencia de 5 mM Mg y 10 mM EGTA para bloquear la posible participación de la vía clásica.

RESULTADOS

Técnicas de complejos inmunes circulantes (CIC)

Las técnicas MCT, PEG-CC y C1q BA detectan CIC en exceso de antígeno en los sobrenadantes de una curva de precipitación BSA- anti BSA ¹⁹. La sensibilidad de las distintas técnicas se comprobó con IgG humana (KABI-FIDES, Barcelona) calentada a 63° C durante 20 min. y ulterior fraccionamiento en columna de Sephacril 200 del que se utilizó el pico de exclusión y se cuantificó por absorbancia a 280 nm. El

MCT detecta 15 μ gr., el PEG-CC entre 2 y 5 μ gr. y el C1q BA a partir de 40 μ gr., cifras que se aproximan mucho a las descritas por sus autores originales ¹⁹.

Su aplicación a sueros de personas sanas nos ha delimitado el límite superior de la normalidad, considerando como tal a la media aritmética más dos desviaciones estándar. Para el MCT es de 10 %, para el PEG-CC el 26 % y para el C1q BA el 12,5 %.

Glomerulonefritis aguda post-estreptocócica. Se han estudiado 12 casos de los que 8 estaban en pleno síndrome nefrítico agudo y 4 casos estaban en fase de recuperación. A los primeros se les consideró en fase activa y a los segundos en fase inactiva.

Complemento: (Tabla I). Todos los activos presentaban hipocomplementemia de los cuales 6 eran por la vía alternativa y dos por la vía clásica. De los 4 pacientes considerados inactivos 2 presentaban hipocomplementemia por la vía alternativa y 2 presentaban normocomplementemia.

Complejos inmunes circulantes (Fig. 1). El porcentaje de positividad global fue muy parecido para las tres técnicas aplicadas, sin embargo el PEG-CC fue el test que mejor pudo distinguir entre los activos e inactivos, ya que un solo caso de activos no fue positivo y todos los inactivos, excepto uno, estaban dentro de la normalidad. El C1qBA fue capaz de discriminar entre ambos grupos pero con menor sensibilidad, mientras que el MCT no discrimina en absoluto entre activos e inactivos. Estadísticamente sólo el PEG-CC pudo diferenciar significativamente a las GNA activas de las GNA inactivas ($\chi^2 = 14,8$ $p < 0,001$).

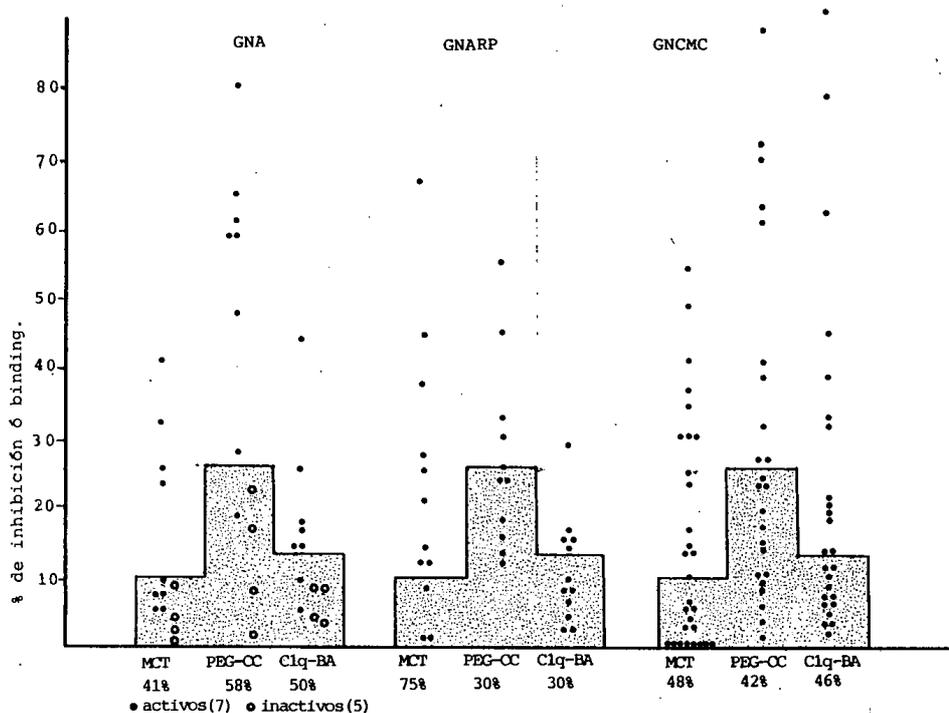


Fig. 1

Valores de CIC en la glomerulonefritis aguda (GNA), glomerulonefritis aguda rápidamente progresiva (GNARP) y glomerulonefritis crónica mesangiocapilar (GNMC). Las zonas punteadas corresponden a los valores normales.

TABLA I

VALORES DE C3, C4 y CH50 en la GNA, GNARP y GNCMC

| | Paciente | C3 | C4 | CH50 | | |
|--|--|-------|-----|------|--------|----|
| Glomerulonefritis aguda post estreptocócica (GNA) | A. S. | 32 | 22 | 110 | Activa | |
| | H. P. | 114 | 44 | 470 | | |
| | J. S. | 14 | 32 | 0 | | |
| | A. C. | 34 | 13 | 0 | Activa | |
| | E. G. | 66 | 41 | 400 | | |
| | T. S. | 24 | 26 | 0 | Activa | |
| | A. E. | 44 | 50 | 170 | Activa | |
| | S. M. | 57 | 41 | 0 | | |
| | F. L. | 66 | 27 | 98 | Activa | |
| | A. C. | 70 | 40 | 125 | Activa | |
| | D. B. | 52 | 16 | 185 | Activa | |
| | F. A. | 24 | 36 | 0 | Activa | |
| | Glomerulonefritis aguda rápidamente progresiva (GNARP) | J. M. | 70 | 25 | 730 | |
| M. H. | | 108 | 58 | 810 | | |
| E. K. | | 88 | 45 | 420 | | |
| F. C. | | 70 | 40 | 525 | | |
| A. G. | | 82 | 40 | 420 | | |
| J. M. | | 140 | 40 | 395 | | |
| J. O. | | 136 | 54 | 490 | | |
| M. S. | | 98 | 38 | 575 | | |
| J. S. | | 114 | 52 | 550 | | |
| F. R. | | 90 | 31 | 710 | | |
| J. M. | | 92 | 49 | 540 | | |
| Glomerulonefritis crónica mesangio capilar (GNCMC) | | P. G. | 32 | 4 | 0 | - |
| | A. T. | 102 | 25 | 585 | - | I |
| | J. E. | 40 | 19 | 200 | - | I |
| | O. M. | 26 | 43 | 0 | + | II |
| | L. M. | 49 | 51 | 112 | + | II |
| | P. E. | 71 | 28 | 370 | - | I |
| | E. L. | 56 | 30 | 980 | - | I |
| | I. L. | 87 | 35 | 400 | - | I |
| | M. R. | 0 | 26 | 50 | + | II |
| | A. G. | 68 | 31 | 335 | - | I |
| | J. B. | 30 | 41 | 20 | + | II |
| | D. G. | 44 | 12 | 25 | - | I |
| | J. G. | 64 | 4 | 95 | - | I |
| | J. M. | 76 | 56 | 650 | - | I |
| | O. P. | 54 | 89 | 430 | - | I |
| | R. T. | 48 | 32 | 285 | + | I |
| | P. C. | 43 | 30 | 110 | - | I |
| | C. F. | 210 | 45 | 0 | - | I |
| E. O. | 106 | 49 | 620 | - | I | |
| E. L. | 54 | 46 | 215 | - | III | |
| J. E. | 48 | 30 | 0 | + | II | |
| J. R. | 74 | 42 | 430 | - | I | |

Valores normales: C3:80-140 mg/100 ml. C4:20-40 mg/100 ml. CH50: 400-700 uu.

Glomerulonefritis aguda rápidamente progresiva. Se han estudiado 11 casos de esta enfermedad en la que todos ellos presentaban más del 70 % de glomérulos con proliferación epitelial.

El estudio del complemento (Tabla I) indicó que en ningún caso hubo hipocomplementemia, ni siquiera en aquellos 2 casos que dieron valores muy positivos con los test de CIC.

Complejos inmunes circulantes: Tal como puede verse en la Figura 1 el PEG-CC y el C1qBA muestran un porcentaje de positividad bajo, 30 %. No sucede

así con el MCT, que presenta un 75 % de casos positivos.

Glomerulonefritis crónica mesangio capilar: De los 22 casos estudiados, 16 corresponden al tipo I, 5 al tipo II y 1 caso al tipo III⁹. Los cinco casos de tipo II y 1 caso de tipo I presentaba Factor Nefrítico en el suero⁴.

El estudio del complemento ha sido publicado con detalle en otro artículo⁴, pero fundamentalmente muestra 8 casos con normocomplementemia y 14 con hipocomplementemia, de los cuales 5 eran por la

vía clásica y 9 por la vía alternativa, la mayoría de estos últimos con factor nefrítico en el suero (Tabla I).

Complejos inmunes circulantes. Los tres test dieron un porcentaje de positividad muy semejante entre sí 48,42 y 46 % respectivamente.

Síndrome nefrótico. Se han estudiado 13 casos de síndrome nefrótico ópticamente normal (SNON) y 15 casos de síndrome nefrótico secundario a diversas etiología tales como diabetes y hialinosis segmentaria y focal, trombosis de la arteria renal, amiloidosis, G.N. extramembranosa idiopáticas y secundaria a lues, lupus, Hodgkin y penicilamina.

Los valores de C3 y C4 fueron normales en todos los casos, excepto en los dos casos de lupus, en los que existía una moderada hipocomplementemia. Sin embargo; los valores de CH50 estuvieron descendidos en la mayoría de pacientes afectados de SNON.

Complejos inmunes circulantes (Fig. 2) El MCT dio resultado positivo en la mayoría de los casos, tanto de SNON como en los secundarios. El PEG-CC fue negativo en todos los SNON y sólo fue positivo en 2 casos de lupus y 1 caso de lues. Por su parte el C1qBA únicamente dio positivo para el caso de lues mientras los dos casos de lupus estaban en los límites de la normalidad. Debemos destacar que estos tres casos detectados por el PEG-CC dieron resultado negativo con el MCT.

Glomerulonefritis extramembranosa. Se han estudiado 10 casos de G.N. Ex. idiopática y 5 secundarias, de las cuales 2 eran lupus, 1 lues, 1 artritis reuma-

toide tratada con penicilamina, y 1 antígeno Australia positivo.

Los valores de C3, C4 y CH50 fueron normales en todos los casos, excepto en los 2 casos de lupus en los que se detectaba una moderada hipocomplementemia.

Complejos inmunes circulantes. De nuevo el MCT dio resultado positivo para la mayoría de casos, tanto idiopáticos como secundarios. El PEG-CC dio resultado negativo en las idiopáticas y fue positivo en 4 de las 5 secundarias, correspondiendo a 2 sueros de lupus 1 lues y un paciente con hepatitis Au (+). Estadísticamente, existen entre ambos grupos diferencias significativas ($\chi^2 = 4,5$ $p < 0,05$). El C1q BA sólo fue positivo en el caso de la lues y el caso Au (+), siendo negativo en el resto de las secundarias y todas las idiopáticas.

Nefropatía por IgA. Se han estudiado 10 casos afectados de nefropatía por depósitos de IgA mesangial.

Los niveles de C3, C4 y CH50 fueron normales en todos los casos, excepto uno en el que había una activación de la vía clásica.

Complejos inmunes circulantes. El MCT fue positivo en 4 de los 10 casos estudiados, el PEG-CC muy positivo en 1 y escasamente positivo en 2, mientras que el C1qBA únicamente fue muy positivo en uno de ellos. Este caso particular detectado con el PEG-CC y por el C1qBA corresponde al suero con activación de la vía clásica del complemento y cuya biopsia renal mostraba depósitos de IgA e IgG, acompañados de

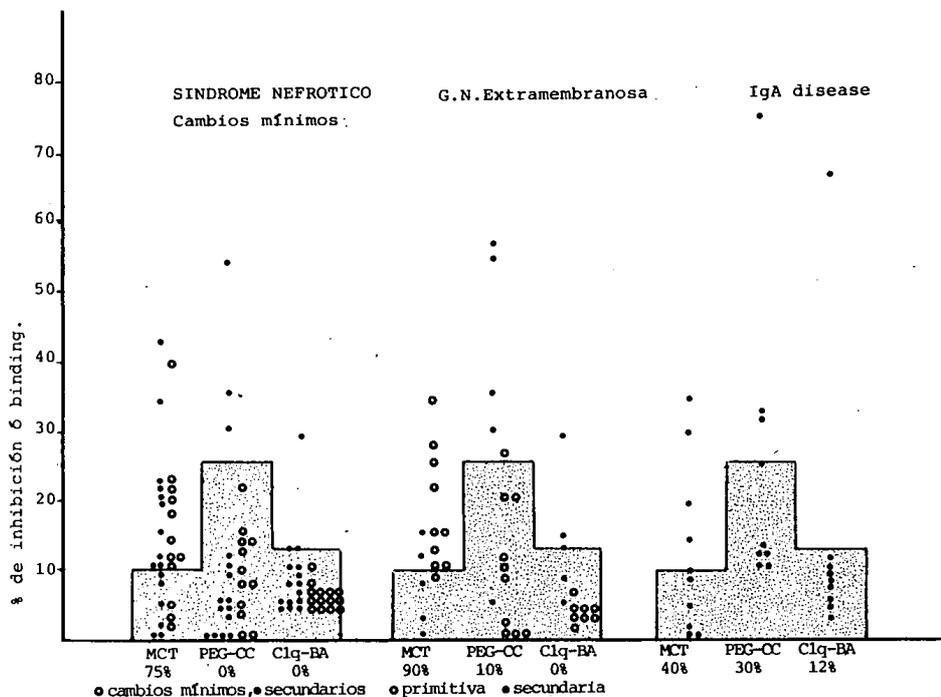


Fig. 2

Valores de CIC en el síndrome nefrótico por cambios mínimos y secundario. Glomerulonefritis extramembranosa (GN Ex) y en la nefropatía por IgA. Las zonas punteadas corresponden a los valores normales.

una considerable proliferación epitelial en más del 50 % de glomérulos.

DISCUSION

La mayoría de glomerulonefritis humanas son debidas a depósitos de complejos inmunes en el riñón. Los depósitos de complejos inmunes en el glomérulo renal pueden ser la expresión renal de un proceso sistémico, o la enfermedad puede afectar exclusivamente al riñón. En general se acepta que la nefropatía por complejos inmunes correspondiente a una enfermedad de sistema se acompaña de niveles altos de complejos inmunes circulantes, mientras que en las formas primarias de glomerulonefritis la presencia de CIC no es tan frecuente^{1,13}. Recientemente se ha propuesto, y de hecho ya se acepta, la formación de complejos inmunes *in situ* en algunas nefropatías glomerulares, mecanismo que explicaría en parte la baja frecuencia de CIC en las glomerulopatías primitivas. Tal mecanismo parece demostrado en algunas glomerulonefritis con depósitos de inmunoglobulinas y complemento en la vertiente epitelial de la membrana basal, como sucede en las glomerulonefritis extramembranasas^{7,11}, sin que haya podido demostrarse aún en la glomerulonefritis aguda, enfermedad en la que los depósitos están localizados también en la vertiente epitelial en forma de «humps»¹. Sin embargo, la gran similitud que existe entre los depósitos granulares de inmunoglobulinas humanas y las de los animales de experimentación que han sufrido una glomerulonefritis por complejos inmunes circulantes, como la enfermedad aguda del suero o las diversas formas de la enfermedad crónica del suero, ha animado a muchos investigadores clínicos a determinar CIC en las distintas nefropatías glomerulares primitivas. A pesar del entusiasmo de algunos autores, los cuales opinan que la determinación de CIC tiene valor en el diagnóstico y manejo de las distintas glomerulonefritis¹⁰, el hecho de que los CIC estén presentes en casi todos los tipos de glomerulonefritis significa para otros, que su detección y cuantificación no es excesivamente útil desde el punto de vista diagnóstico ni pronóstico².

Uno de los problemas que surgen en el momento de analizar el papel de los CIC en las distintas enfermedades renales es el derivado de la gran profusión de técnicas diseñadas para su detección en suero. Hoy día se han descrito más de 30 técnicas, de las cuales ninguna es capaz de detectar el antígeno y todas ellas requieren laboriosos procesos de purificación proteica o cultivos celulares. Intentando unificar criterios, LAMBERT y cols.⁸ en un estudio colaborativo entre 11 laboratorios de todo el mundo, evalúan 18 técnicas para la detección de CIC llegando, entre otras, a la conclusión de que sería recomendable el

empleo simultáneo de dos o más técnicas, ya que todos los CIC no son reconocidos de igual modo por las distintas técnicas, pareciendo incluso que algunas de ellas detectan mejor los CIC de ciertas enfermedades y otras detectan mejor los CIC de otras enfermedades. Otra conclusión que se desprende de este trabajo es que debido a la gran complejidad, se hace difícil la aplicación de estos métodos en la práctica clínica diaria.

El test de consumo de complemento (MCT) es una técnica relativamente sencilla que no exige procesos preparativos complejos y que ha sido propuesta como técnica de selección desde el punto de vista clínico¹³. Sin embargo, la facilidad con que se genera actividad anticomplementaria por defectos en el manejo del suero y los falsos positivos por hipergammaglobulinemia y/o hipocomplementemia (observación personal) nos ha movido a buscar otro test con menos causas de error.

Tal como puede verse en los resultados, en la GNARP, el SNON y la GN extramembranosa idiopática, aparecen resultados positivos con el MCT que, a nuestro juicio, no son debidos a la presencia de CIC por comparación con las otras dos técnicas y con los resultados que presentan otros autores.

El C1qBA es una de las seis técnicas recomendadas por la O.M.S.⁸ pero la purificación y marcaje del C1q dificulta su empleo rutinario. A su vez el PEG-CC es otra técnica sencilla, sensible y que no presenta problemas de falsos positivos por defectos de almacenamiento del suero, presencia de DNA libre, LPS, heparina, factor reumatoide, factor nefrítico, o hipergammaglobulinemia¹⁷. Además, en nuestras manos y estudiando sueros de pacientes afectados de LES, el PEG-CC y C1qBA, muestran un alto grado de correlación, indicando que ambos son capaces de detectar el mismo tipo de CIC haciéndolo en PEG-CC con mayor sensibilidad¹⁹.

La glomerulonefritis aguda post-estreptocócica (GNA) es una enfermedad que clásicamente se considera mediada por CIC³. La detección de CIC resulta positiva en un alto porcentaje de casos para la mayoría de autores, oscilando entre el 58 % y el 95 %^{2,13,20,24}. La similitud que tiene esta enfermedad con las enfermedades experimentales por complejos inmunes²⁵, sugiere que los CIC son los responsables de la nefritis, si bien estudios efectuados en pacientes con fiebre reumática y pacientes con glomerulonefritis, demostraron CIC del mismo tamaño en ambas secuelas postestreptocócicas²⁴. Los escasos datos referentes a estudios seriados indican que los CIC están presentes en la primera fase de la enfermedad, desapareciendo a partir de la segunda o tercera semana^{20,22}. Las alteraciones del complemento sérico también son características, expresándose como hipocomplementemia por activación de la vía clásica al comienzo de la enfermedad, probablemente debido a la

presencia de CIC^{22,24}; más adelante, la activación del complemento adquiere el patrón de vía alternativa, explicable por la desaparición de los CIC y persistencia en el glomérulo de las convertasas de la vía alternativa C3bBb, y ausencia de sus inhibidores C3bINA y B1H²⁶. Nuestros resultados obtenidos en la GNA son parecidos a los de otros autores^{2,13,20,24} y si bien el estudio no incluye tomas seriadas, ha sido posible distinguir con el PEG-CC entre las GNA activas y las ya inactivas. El estudio del complemento sérico confirma que en la primera fase existe una activación de la vía clásica, seguida de una activación de la vía alternativa durante un período de tiempo más largo que el que corresponde a la presencia de CIC, siendo este último parámetro el que se correlaciona mejor con la evolución clínica de la enfermedad.

La glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNARP) en su forma idiopática tiene un origen oscuro y su etiopatogenia no parece tener relación con los complejos inmunes circulantes, puesto que en el riñón de estos enfermos raramente se encuentran inmunoglobulinas y/o complemento. Sin embargo la literatura aporta resultados contradictorios respecto a la presencia de CIC en el suero de estos pacientes, pues si bien unos autores detectan CIC en un alto porcentaje de enfermos^{20,23,27}, otros no los detectan o lo hacen en proporción moderada^{2,13}. Nuestros pacientes, todos ellos normocomplementémicos, muestran un porcentaje de positividad bajo con el PEG-CC y C1qBA, lo cual coincide con la serie más amplia descrita². El alto porcentaje de positivos obtenidos con el MCT, y que no se reproduce con las otras dos técnicas, podría deberse a falsos positivos debido a las razones antes apuntadas, o a la presencia de un factor desconocido que sería capaz de activar el complemento *in vitro* después de calentar el suero a 56° C y que no son CIC.

La glomerulonefritis crónica mesangio capilar (GNCMC) es una enfermedad que en la mayoría de casos se caracteriza por presentar depósitos de IgG y C3 en el glomérulo e hipocomplementemia por la vía clásica o por la vía alternativa. En su forma histológica de depósitos densos, el suero de estos pacientes posee una IgG llamada factor nefrítico (NeF) que se comporta como un auto anticuerpo frente a las convertasas de la vía alternativa C3bB y C3bBb, causando una activación persistente de esta vía. La GNCMC presenta CIC sólo ocasionalmente^{2,4,13,10,20,21,23,25} opinando la mayoría de autores que su presencia es oscilante, pero que de algún modo contribuyen a la génesis de esta enfermedad^{4,25}. Nuestros resultados, sea cual sea la técnica empleada, muestra un porcentaje de positividad mucho más alto que el descrito por la mayoría de autores, quizás debido a una selección involuntaria del momento de hacer la toma de sangre, ya que ésta siempre se ha hecho en los momentos en que la en-

fermedad estaba en brote activo, y que coincidía generalmente con el momento de la biopsia renal. La escasa correlación entre las cifras de CIC y C4⁴ sugiere que los CIC sólo contribuyen en parte a la activación de la vía clásica del complemento y que su participación en la etiopatogenia de la enfermedad no está aún bien definida.

Un capítulo muy interesante lo constituyen el síndrome nefrítico ópticamente normal (SNON) y la glomerulonefritis con depósitos extramembranosos (GNEx). La etiología de SNON se supone inmunológica debido a la excelente respuesta a los corticoides con dosis inmunosupresoras, y a la supuesta participación de factores séricos liberados por células supresoras^{29,30}, si bien el riñón de estos pacientes no presenta ni IgG ni C3 por inmunofluorescencia. Este hecho coloca al SNON en el capítulo de enfermedades no mediadas por CIC^{13,23,31} si bien son varios los autores que con distintas técnicas han detectado CIC^{2,28,32,33,34,35} cuyo papel patológico sería el de unirse a los receptores celulares de las células T colaboradoras y supresoras causando la liberación de linfoquinas^{2,32,36}. Nosotros no hemos podido detectar CIC ni con el PEG-CC ni con el C1qBA en los SNON. Únicamente se han detectado CIC en cantidades apreciables en tres casos de síndrome nefrítico secundaria dos de ellos a SLE y uno a una sífilis, todos con depósitos extramembranosos. El alto porcentaje de CIC detectado con el MCT tanto en SNON como en los secundarios (diabetes, amiloidosis, y hialinosis segmentaria y focal, etc.) sugiere que se trata de positivities no debidas a verdaderos CIC, sino a la presencia de actividad anticomplementaria de origen desconocido.

La glomerulonefritis extramembranosa es una enfermedad en donde la histología muestra con claridad depósitos de C3 y de IgG en la vertiente epitelial de la membrana basal, hallazgos que hasta hace poco eran atribuidos al depósito de CIC de tamaño pequeño que atravesaba la membrana basal glomerular³⁷. Sin embargo el mecanismo de formación *in situ* de los complejos inmunes ha sido ampliamente demostrado en animales de experimentación^{38,39} y hoy día es el modelo que se acepta como responsable de las lesiones renales en el GN Ex.^{1,2,3,7,11} La mayoría de los autores que han estudiado la presencia de CIC en esta enfermedad dan porcentajes bajos de positividad^{2,13,20,23,31,34,35} oscilando entre el 0 y el 30 %, lo cual apoyaría la hipótesis de la formación de los complejos inmunes *in situ*. Hay algunos autores que encuentran CIC en altos porcentajes^{10,28,33}, lo cual es atribuible a que sus series incluyen GN Ex. idiopáticas y secundarias. Nuestros resultados no sólo coinciden con la mayoría de autores, sino que permiten distinguir entre las formas idiopáticas, las cuales en ningún caso presentaban CIC con el PEG-CC y el

C1qBA y algunas de las secundarias (SLE, lues, Au + y AR-penicilina), las cuales sí tenían CIC.

En los pacientes afectados de la enfermedad por depósitos de IgA mesangial todas las determinaciones, excepto una, fueron negativas, resultados que coinciden con varias series descritas^{2,10,20,23} en las que los test empleados no son capaces de detectar CIC de IgA⁴⁰.

En resumen podríamos concluir de este estudio que la determinación de CIC preferentemente con el PEG-CC es útil en las nefritis agudas, distinguiendo entre GNA activas e inactivas; apoya la opinión de que la GNARP es una enfermedad no mediada por CIC; que los CIC posiblemente juegan algún papel en la génesis de la GNMC debido al alto porcentaje de valores positivos y por último que la presencia de CIC en un síndrome nefrótico y/o una GN Ex., es indicativo de formas secundarias.

BIBLIOGRAFIA

- DIXON, F. J., WILSON, C. B.: «Immunological Renal Injury produced by formation and deposition of Immune Complexes.» *Immunological Mechanisms of Renal Disease*. Wilson, C. B., Brenner, B. M., y Stein, J. H. pp. 10-34. Ed. Churchill Livingstone. New York, 1979.
- BORDER, W. A.: «Immune Complex detection in glomerular diseases.» *Nephron*, 24: 105-113, 1979.
- WILSON, C. B., DIXON, F. J.: «Renal response to immunologic injury.» *The Kidney*. Brenner and Rector p. 876. Ed. Saunders. Philadelphia, 1976.
- MIRAPEIX, E.; YAGÜE, J.; VIVES, J., y REVERT, L.: «Estudio del Complemento, Nefrítico factor y Complejos Inmunes Circulantes en la Glomerulonefritis crónica mesangiocapilar tipo I y tipo II. Med. Clin.», 77: 21-26, 1981.
- DIXON, F. J., VAZQUEZ, J. J., WEIGLE, W. O., y COCHRANE, C. G.: «Pathogenesis of serum sickness.» *Archs. Path.*, 65: 18-23, 1958.
- DIXON, F. J.: «The pathogenesis of glomerulonephritis.» *Amer. J. Med.*, 44: 493-499, 1978.
- COUSER, W. G., y SALANT, D. J.: «In situ immune complex formation and glomerular injury.» *Kidney Int.*, 17: 1-13, 1980.
- LAMBERT, P. H. y cols.: «A WHO collaborative study for the evaluation of eighteen methods for detecting immune complexes in serum.» *J. Lab. Clin. Immunol.*, 1: 1-5, 1978.
- STRIFE, C. F.; McENERY, P. T.; McADAMS, A. J., y WEST, C. D.: «Membranoproliferative glomerulonephritis with disruption of the glomerular basement membrane.» *Clin. Nephrol.*, 7: 65-72, 1979.
- PUSELL, B. A.; SCOTT, D. M.; LOCKWOOD, C. M.; PINCHING, A. J., y PETERS, D. K.: «Value of immune-complex assays in diagnosis and management.» *Lancet II*: 359-364, 1978.
- CAMERON, J. S.: «Pathogenesis and treatment of membranous nephropathy.» *Kidney Int.*, 15: 88-103, 1979.
- LACHMANN, P. J., y HORBART, M. J.: Complement technology 5 A1. Handbook of Experimental Immunology Vol. 1 Blackwell Scientific Publications. Ed. Weir D. M. Londres, 1978.
- WOODROFFE, A. J.; BORDER, W. A.; THEOFILOPOULOS, A. N.; GOTZE, O.; GLASSOCK, R. J.; DIXON, F. J., y WILSON, C. B.: «Detection of circulating immune complexes in patients with glomerulonephritis.» *Kidney Int.*, 12: 268-277, 1977.
- ZUBLER, R. H.; LANGE, G.; LAMBERT, P. R., y MIESCHER, P. A.: «Detection of immune complexes in unheated sera by a modified I-C1q binding test. Effect of heating on the binding of C1q by immune complexes and application of the test to Systemic Lupus Erythematosus.» *J. Immunol.*, 116: 232-235, 1976.
- VOLANAKIS, J. E., y STROUD, R. M.: «Rabbit C1q purification, functional and structural studies.» *J. Immunol. Meth.*, 2: 25-34, 1972.
- HEUSER, C.; BOESMAN, M.; NORDIN, J. H., y ISLIKER, H.: «Effect of chemical and enzymatic radioiodination on in vitro human C1q activities.» *J. Immunol.*, 110: 820-828, 1973.
- HARKISS, G. D., y BROWN, D. L.: «Detection of immune complexes by a new assay, the polyethylen glycol precipitation, complement consumption test (PEG-CC).» *Clin. exp. Immunol.*, 36: 117-129, 1979.
- WILSON, C. B., y DIXON, F. J.: «Diagnosis of immunopathologic renal disease.» *Kidney Int.*, 5: 389-401, 1974.
- MIRAPEIX, E.; BORCHE, L.; MAS, P.; YAGÜE, J.; VIVES, J., y REVERT, L.: «Estudio comparativo entre tres técnicas para la detección de Complejos Inmunes Circulantes. I. Su aplicación en pacientes afectados de Lupus Eritematoso Sistémico.» (en prensa). *Inmunología*.
- TUNG, K. S. K.; WOODROFFE, A. J.; AHLIN, T. D.; WILLIAMS, R. C., y WILSON, C. B.: «Application of the solid phase C1q and Raji Cell Radioimmune assays for the detection of Circulating Immune Complexes in Glomerulonephritis.» *J. Clin. Invest.*, 62: 61-72, 1978.
- OOL, Y. M.; VALLOTA, E. H.; WEST, C. D.: «Serum immune complexes in membranoproliferative and other glomerulonephritides.» *Kidney Int.*, 11: 275-283, 1977.
- RODRIGUEZ-ITURBE, B.; CARR, R. I.; GARCIA, R.; RABIDEAU, D.; RUBIO, L., y McINTOSH, R. M.: «Circulating immune Complexes and serum immunoglobulins in acute post-streptococcal glomerulonephritis.» *Clin. Nephrol.*, 13: 1-4, 1980.
- DIGEON, M.; LAUER, M.; RIZA, J., y BACH, J. F.: «Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol.» *J. Immunol. Meth.*, 16: 165-183, 1977.
- VAN DE RIJN, I.; FILLIT, H.; BRANDEIS, W. E.; REID, H.; POON-KING, T.; McCARTHY, M.; DAY, N. K., y ZBRISKIE, J. B.: «Serial studies on circulating immune complexes in post-streptococcal sequelae.» *Clin. Exp. Immunol.*, 34: 318-325, 1978.
- WILSON, C. B., y DIXON, F. J.: «Antigen quantitation in experimental immune complex glomerulonephritis I. Acute serum sickness.» *J. Immunol.*, 105: 279-285, 1970.
- WYATT, R. J.; McADAMS, A. J.; FORRISTAL, J.; SNYDER, J., y WEST, C. D.: «Glomerular deposition of complement-control proteins in acute and chronic glomerulonephritis.» *Kidney Int.*, 16: 505-512, 1979.
- LOCKWOOD, C. M.; PINCHING, A. J.; SWENY, P.; RES, A. J.; PUSSELL, B. A.; UFF, J., y PETERS, D. K.: «Plasma-exchange and immunosuppression in the treatment of fulminating immune-complex crescentic glomerulonephritis.» *Lancet I*: 63-67, 1977.
- STUHLINGER, W. D.; VERROUST, P. J., y MOREL-MAROGER, L.: «Detection of circulating soluble immune complexes in patients with various renal diseases.» *Immunol.*, 30: 43-47, 1976.
- MALLICK, N. P.: «The pathogenesis of minimal change nephropathy.» *Clin. Nephrol.*, 3: 87-95, 1977.
- BEALE, M. G.; HOFFSTEN, P. E.; ROBRON, A. M., y McDERMOT, R. P.: «Inhibitory factors to lymphocyte transformation in sera from patients with minimal change nephrotic syndrome.» *Clin. Nephrol.*, 13: 271-276, 1980.
- SIMPSON, I. J.; DOAK, P. B.; WILLIAMS, L. C.; WARD, B. G., y NORTH, J. D. K.: «Circulating Immune Complexes in primary glomerulonephritis and systemic lupus erythematosus.» *Proc. Aust. Soc. Nephrol.*, Feb. 20, 1978.
- LEVINSKY, R. J.; MALLESON, P. N.; BARRAT, T. M., y SOOTHILL, J. F.: «Circulating immune complexes in steroid responsive nephrotic syndrome.» *N. Engl. J. Med.*, 298: 126-129, 1977.
- ABRAS, CH. K.; HALL, C. L.; BORDER, W. A.; BROWN, C. A.; GLASSOCK, R. J., y COGGINS, C. H.: «Circulating immune complexes in adults with idiopathic nephrotic syndrome.» *Kidney Int.*, 17: 545-553, 1980.
- SOBEL, A.; GABAY, Y., y LAGRUE, G.: «Recherche de complexes immunocirculants par le test de deviation de la fraction C1q du complement: Premieres applications a l'etude des glomerulopathies humaines.» *Nouv. Presse Med.*, 5: 1465-1467, 1976.
- SMITH, M. D.; BARRATT, T. M.; HAYWARD, R. A., y SOOTHILL, J. P.: «The inhibition of complement dependent lymphocyte rosette formation by the sera of children with steroid sensitive nephrotic syndrome and other renal diseases.» *Clin. Exp. Immunol.*, 21: 236-243, 1975.
- THEOFILOPOULOS, A. N., y DIXON, F. J.: «The biology and detection of immune complexes.» *Advances Immunol.*, 21: 23-6-243, 1975.
- GERMUTH, F. G., y RODRIGUEZ, E.: Immunopathology of the renal glomerulus: Immune Complex Deposit and Antibasement Membrane Disease. Little Brown and Company. Boston, 1973.
- SALANT, D. J.; DARBY, CH., y COUSER, W. G.: «Experimental membranous glomerulonephritis in rats.» *J. Clin. Invest.*, 66: 71-76, 1980.
- FLEUREN, G. J.; CROUS, J., y HOEDEMAEKER, J.: «The pathogenic role of free circulating antibody in autologous immune complex glomerulonephritis.» *Clin. exp. Immunol.*, 41: 205-211, 1980.
- KAUFFMANN, R. M.: «Circulating IgA Immune complex en Henoch-Schonlein Purpura.» *Amer. J. Med.*, 69: 859-864, 1980.