

---

# Estudio de las células secretoras de inmunoglobulinas y su regulación en la púrpura de Schönlein-Henoch y nefropatía IgA

---

B. Casanueva

Laboratorio de Inmunología. Hospital Nacional Marqués de Valdecilla. Santander.

## Introducción

La púrpura de Schönlein-Henoch (PSH) se caracteriza por el complejo clinicopatológico de exantema cutáneo purpúrico, sintomatología articular manifestada por artralgias o artritis, dolor cólico abdominal con o sin hemorragia gastrointestinal y afección renal, como principales manifestaciones de una vasculitis que afecta vasos de pequeño calibre<sup>1</sup>. Su etiología es desconocida, pero la demostración en la inmunofluorescencia (IF) renal y cutánea de depósitos de inmunoglobulinas, fundamentalmente IgA<sup>2</sup>, hizo pensar que complejos antígeno-anticuerpo guardarían relación con el desarrollo del proceso.

Estas sospechas se confirmaron con la demostración de niveles séricos elevados de IgA<sup>3</sup>, crioglobulinas<sup>4</sup> y posteriormente de inmunocomplejos circulantes (ICC) formados fundamentalmente por anticuerpos del tipo IgA<sup>5,6</sup>. Sin embargo, los datos existentes sobre las bases celulares que intenten explicar este aumento de IgA son escasos y en ocasiones discordantes. Sakai et al<sup>7</sup> observan un aumento del número de linfocitos circulantes con IgA en su membrana; Beale et al<sup>8</sup>, un aumento policlonal de la síntesis de inmunoglobulinas por células mononucleares de sangre periférica (CMSP) en situación basal y una disminución de esta síntesis tras estímulo con mitógeno de *pokeweed* (PWM), mientras Egido et al<sup>9</sup>, a diferencia de Beale, observan un aumento únicamente de IgA polimérica en sobrenadantes de cultivos de CMSP estimuladas con PWM. Por tanto, a pesar de que la IgA parece desempeñar un papel fundamental en la PSH, se desconocen las alteraciones celulares responsables de su síntesis en esta patología.

En 1968, Berger y Hinglais<sup>10</sup> observaron la presencia de depósitos fundamentalmente mesangiales de IgA y en menor grado IgG en una serie de pacientes con proteinuria menor de 1 g/24 h y hematuria microscópica que se transformaba en macroscópica tras episodios de infección respiratoria de vías altas. Actualmente, la enfermedad de Berger o nefropatía IgA se define por la presencia de IgA en la inmunofluorescencia con o sin otras inmunoglobulinas, en ausencia de evidencia clínica o bioquímica de enfermedad sistémica, considerándose responsable de un 10-20 % de los casos de enfermedad renal terminal en adultos.

Como sucede en la PSH, la etiología es desconocida y también la IgA parece desempeñar un papel fundamental. Se han constatado niveles séricos elevados de IgA<sup>11</sup>, depósitos de esta inmunoglobulina en la inmunofluorescencia renal y cutánea<sup>12</sup> y presencia de ICC formados por anticuerpos fundamentalmente del tipo IgA<sup>13,14</sup>. Aunque existen más estudios sobre las bases celulares que tratan de explicar estas alteraciones, los datos son contradictorios.

Mientras Sakai et al<sup>15</sup> encuentran un aumento del número de linfocitos circulantes con IgA en su membrana en pacientes y familiares de pacientes con enfermedad de Berger, Aino-Nakal et al y Fiorinni et al<sup>16,17</sup> no son capaces de demostrar estas alteraciones en sus respectivas series. Tampoco existe acuerdo sobre las subpoblaciones T implicadas en estos trastornos; mientras algunos autores no encuentran alteraciones en la relación OKT4/OKT8<sup>18</sup>, otros observan un aumento de las células facilitadoras OKT4<sup>19,20</sup>, o una disminución de las supresoras OKT8<sup>21</sup>. Por tanto, también en la enfermedad de Berger la IgA parece desempeñar un papel fundamental, sin que queden claras las

bases celulares reguladoras de los hallazgos comentados.

Aunque los datos sobre el tipo de IgA encontradas en las lesiones son discordantes<sup>22,23</sup>, la mayoría de autores han observado IgA<sub>1</sub> en ambas entidades<sup>24,25</sup>.

A la luz de los datos comentados, es evidente la existencia de similitudes entre estas dos enfermedades, que han llevado a numerosos autores a considerarlas variantes de una misma entidad nosológica, con mecanismos patogénicos análogos. Sin embargo, la presencia de manifestaciones clínicas extrarrenales y la evolución generalmente aguda y autolimitada de la PSH, en contra de la evolución crónica de la enfermedad de Berger, hacen sospechar que deben existir diferencias, y más cuando autores como Kauffman et al<sup>26</sup> han observado que los ICC envueltos en la patogenia de ambas enfermedades parecen distintos en tamaño y características. Además, se desconocen en realidad las bases celulares de las alteraciones observadas.

Por este motivo nos propusimos estudiar una serie de pacientes con PSH y enfermedad de Berger, determinando el número de células circulantes secretoras de cada clase de inmunoglobulina y la posible existencia de anomalías en los mecanismos reguladores de esta síntesis mediante: *a)* respuesta al PWM; *b)* respuesta tras estímulo inducido por el cultivo mixto autólogo (CMA), y *c)* valoración de la activación funcional de linfocitos T autólogos generados tras estímulo con concanavalina A. Por otro lado, estudiamos la posible existencia de correlación entre actividad clínica y respuesta inmunológica observada. Además, comprobamos la especificidad de los hallazgos obtenidos, mediante comparación de los resultados con controles normales, individuos portadores de infección respiratoria de vías altas, proceso implicado como desencadenante ocasional de la enfermedad y modelo de estímulo antigénico en mucosas y pacientes con otra vasculitis leucocitoclástica distinta de la PSH.

### Pacientes y métodos

Se estudiaron 64 pacientes diagnosticados de PSH, por la presencia, junto al exantema cutáneo típico, de al menos dos de las tres manifestaciones clínicas siguientes: *a)* afectación articular (artralgias/artritis); *b)* sintomatología abdominal (dolor abdominal, vómitos, hemorragia), y *c)* afectación renal (hematuria  $\geq 10$  hematíes/c; proteinuria  $\geq 50$  mg/24 h). La enfermedad se consideró activa en 28 pacientes

(20 varones y 8 mujeres, con una edad media de  $10,3 + 13,7$  años, rango: 3-78 años), al presentar junto al exantema cutáneo típico al menos dos de las tres afectaciones clínicas fundamentales. En 11 de ellos, la biopsia cutánea mostraba una vasculitis leucocitoclástica y en 10 existía afectación renal con hematuria, que se asociaba a proteinuria menor de 1 g/24 h en 4 individuos. Mostraban síntomas articulares 27 pacientes y alteraciones gastrointestinales, 24 pacientes.

La enfermedad se consideró inactiva en 46 pacientes (30 varones y 16 mujeres con una edad media de  $11,2 + 7,9$  años, rango: 3-40 años), que habiendo padecido un cuadro clínico típico de PSH se encontraban completamente asintomáticos y sin afectación renal. Diez casos se estudiaron tanto en la fase activa como durante su inactividad.

Dentro de la enfermedad de Berger se incluyeron 33 pacientes (24 varones y 9 mujeres, con una edad media de  $19,2 + 12,5$  años, rango: 4-57 años), que en la biopsia renal presentaban depósitos de IgA demostrados por inmunofluorescencia, con o sin otras inmunoglobulinas, en ausencia de evidencia clínica o bioquímica de enfermedad sistémica. La duración media de la enfermedad era de 6,4 años, y el estudio se realizaba en un momento cualquiera de evolución de la enfermedad, no coincidente o inmediatamente siguiente a exacerbación de la hematuria por IRVA, infección respiratoria de las vías altas, gastroenteritis u otro tipo de proceso. En el momento del estudio todos presentaban algún grado de hematuria, que en 14 casos se asociaba a ligera proteinuria, cuatro mostraban hipertensión arterial ligera y en ningún caso existía fallo renal.

Los resultados obtenidos se compararon con los de 77 controles normales, divididos en grupos de edad y sexo similares a las poblaciones de PSH y enfermedad de Berger.

Dentro del grupo con infección respiratoria de vías altas se incluían 27 individuos, diagnosticados entre 3 y 7 días antes de su estudio de faringitis o infección respiratoria (16 mujeres y 11 varones), con una edad media de  $13 + 12,1$  años, rango: 2-39 años).

Por último se estudiaban 10 casos diagnosticados mediante biopsia cutánea de vasculitis leucocitoclástica distinta de la PSH.

Para determinar el número de células circulantes secretoras de inmunoglobulinas y sus cifras tras estímulo policlonal con PWM, se obtenían las CMSP de sangre venosa heparinizada mediante centrifugación en gradiente de Ficoll-

TABLA I  
NÚMERO DE CÉLULAS CIRCULANTES SECRETORAS DE INMUNOGLOBULINAS

Poblaciones	Nº de casos	Edad media	Sexo (V/M)	Número de células secretoras de inmunoglobulinas/10 <sup>6</sup> CMSP		
				IgG	IgA	IgM
PSH activa	28	10,3	20/8	79×5,9	1044×1,5	248×2,6
PSH inactiva	46	11,2	30/16	43×4,2	343×2,0	123×2,2
Controles PSH	22	7,8	12/10	68×4,2	336×1,7	143×2,0
IRVA	27	13,0	11/16	86×4,0	519×1,7	175×3,4
VL	10	53,6	5/5	34×3,0	309×1,5	87×2,0
EB	23	21,1	16/7	94×4,4	657×1,8	120×2,3
Controles EB	44	22,6	27/17	30×3,4	327×1,7	117×2,0

PSH: púrpura de Schönlein-Henoch; IRVA: infección respiratoria de las vías altas; VL: vasculitis leucocitoclástica; EB: enfermedad de Berger; CMSP: células mononucleares en sangre periférica.

TABLA II  
RESPUESTA INDUCIDA TRAS ESTÍMULO POLICLONAL CON PWM

Poblaciones	Nº de casos	Número de células secretoras de inmunoglobulinas/10 <sup>6</sup> CMSP		
		IgG	IgA	IgM
PSH activa	18	5.800×1,9	3.999×2,3	9.208×2,7
PSH inactiva	34	5.467×2,2	4.019×2,3	8.206×2,2
Controles PSH	15	5.519×1,8	4.005×1,6	8.289×2,1
EB	24	6.839×2,0	5.427×1,9	6.739×2,2
Controles EB	40	7.070×2,0	5.509×1,7	8.331×2,2

PSH: púrpura de Schönlein-Henoch; EB: enfermedad de Berger; CMSP: células mononucleares en sangre periférica.

Hypaque<sup>27</sup>, cuantificando el número de células secretoras mediante ensayo hemolítico con proteína A de estafilococo o *plaque forming cell assay* (PFC). Una parte de estas CMSP se mantenían en cultivo durante 7 días estimuladas con 10 µg/ml de PWM. Posteriormente eran recogidas y calculado el número de células secretoras tras dicho estímulo policlonal mediante el PFC.

Para estudiar las células secretoras tras cultivo mixto autólogo, las CMSP se separaban en subpoblaciones T y no-T mediante formación de rosetas con hematíes de carnero (SRBC) previamente tratados con S-2-aminoetil-isotiouronio-bromida-hidrobromida (AET). La pureza de las poblaciones obtenidas se comprobó por medio de la formación de rosetas E<sup>28</sup>, inmunoglobulinas de superficie por inmunofluorescencia<sup>29</sup> y tratamiento con alfa-naftil-acetatoesterasa<sup>30</sup>. El cultivo mixto autólogo se realizó de acuerdo con el método descrito por Gatenby et al<sup>31</sup>.

La actividad T supresora tras estímulo con concanavalina A se estudiaba mediante un cultivo autólogo compuesto por células T esti-

muladas o no con concanavalina A durante 48 horas y células B autólogas, que posteriormente se mantenían durante 6 días en cultivo estimulado con PWM. A continuación, se cuantificaba el número de células secretoras mediante el PFC.

La técnica del PFC se realizó según una modificación de Hammarstrom et al<sup>32</sup>, que utiliza SRBC a los que se ha adherido proteína A de estafilococo como células indicadoras, antiinmunoglobulina humana de conejo específica y complemento de cobayo.

Para la presentación de los datos se escogió la media geométrica ± DE, como el método más apropiado. La significación de las diferencias en el número de PFC entre los grupos se analizó mediante ANOVA y test de Tukey.

## Resultados

Los resultados sobre el número de células circulantes secretoras de inmunoglobulinas en los distintos grupos se presentan en la tabla I.

TABLA III  
NÚMERO DE CÉLULAS SECRETORAS GENERADAS TRAS CULTIVO MIXTO AUTÓLOGO

Poblaciones	Nº de casos	PFC-IgA	PFC-IgG	PFC-IgM
Controles	18	752 ± 1,8	288 ± 6,8	230 ± 3,0
PSH inactiva	12	1223 ± 1,6	659 ± 4,5	641 ± 2,9
EB	17	1689 ± 2,0	872 ± 2,5	280 ± 2,5

PSH: púrpura de Schönlein-Henoch; EB: enfermedad de Berger; PFC: *plaque forming cell assay*.

TABLA IV  
ACTIVIDAD SUPRESORA GENERADA TRAS ESTÍMULO CON CONCAVALINA A Y CULTIVO AUTÓLOGO

PFC-IgG	T Con A + B + PWM	T sin Con A + B + PWM	I-E(%)
Controles	2.790 ± 1,9	5.632 ± 2,1	50,4 (I)
EB	5.156 ± 3,5	4.635 ± 2,6	11,2 (E)
PSH inactiva	3.681 ± 2,1	5.985 ± 1,7	38,5 (I)
PFC-IgA			
Controles	2.380 ± 1,7	4.310 ± 2,5	44,8 (I)
EB	4.662 ± 2,9	4.296 ± 3,2	8,5 (E)
PSH inactiva	2.195 ± 2,2	3.124 ± 1,7	29,7 (I)
PFC-IgM			
Controles	2.633 ± 1,9	5.362 ± 4,8	50,9 (I)
EB	4.332 ± 3,3	4.261 ± 2,2	1,7 (E)
PSH inactiva	3.334 ± 2,4	4.989 ± 2,5	33,2 (I)

PSH: púrpura de Schönlein-Henoch; EB: enfermedad de Berger; PFC: *plaque forming cell assay*; I: inhibición; E: estimulación.

El número de células circulantes secretoras de IgA en la PSH activa era significativamente mayor que el observado en la PSH inactiva ( $p < 0,001$ ), que en los controles normales ( $p < 0,001$ ), individuos con infección respiratoria de las vías altas ( $p < 0,001$ ) y casos con vasculitis leucocitoclástica. El número de células circulantes secretoras de IgM en la PSH activa era también estadísticamente superior a las cifras encontradas en el resto de los grupos. En la enfermedad de Berger el número de células circulantes secretoras de IgG ( $p < 0,005$ ) e IgA ( $p < 0,001$ ) eran estadísticamente superiores a los encontrados en los controles normales.

La respuesta inducida tras estímulo policlonal con PWM se representa en la tabla II.

No existían diferencias significativas entre ninguna de las poblaciones estudiadas tras este estímulo policlonal.

Con objeto de profundizar sobre posibles alteraciones de la regulación en la síntesis de inmunoglobulinas en estos procesos, se estudiaron el número de células secretoras generadas tras cultivo mixto autólogo. Los resultados se presentan en la tabla III.

El número de células secretoras de IgA generadas tras cultivo mixto autólogo era significativamente mayor en la enfermedad de Berger que en los controles normales ( $p < 0,01$ ). No se encontraron diferencias para el resto de enfermedad de células secretoras de inmunoglobulinas.

La actividad supresora generada tras estímulo con concanavalina A y cultivo autólogo se estudió en 15 pacientes con enfermedad de Berger, 10 individuos que habían padecido PSH y 8 controles normales. Los resultados se muestran en la tabla IV, expresándose en porcentajes de inhibición (I) o estimulación (E). Para su cálculo se aplicó la fórmula:

Porcentaje de I-E =  $100 - (\text{n.º de PFC concanavalina A} / \text{n.º PFC sin concanavalina A} \times 100)$

### Comentario

Como se deduce de estos resultados, el estímulo con concanavalina A no fue capaz de generar actividad supresora en la enfermedad de Berger a diferencia de lo que ocurría en la PSH y en los controles normales. Nuestro estudio demuestra que, en los pacientes con PSH, durante

la fase activa existe un aumento en el número de células circulantes secretoras de IgA y en menor grado IgM, que persiste durante la fase de actividad clínica del proceso. Este dato apoya un posible papel patogénico de esta inmunoglobulina en la enfermedad, en concordancia con su observación en las lesiones cutáneas y renales<sup>2</sup> y con la demostración de niveles elevados de ICC conteniendo anticuerpos fundamentalmente del tipo IgA<sup>5,6</sup>.

El aumento del número de células secretoras de IgA no se ha observado en otros tipos de vasculitis leucocitoclástica, por lo que su determinación puede tener utilidad para el diagnóstico diferencial de la PSH.

También en los países con enfermedad de Berger se ha observado un aumento en el número de células circulantes secretoras de IgA, independiente del tiempo de evolución de enfermedad, grado de hematuria, proteinuria y datos de la inmunofluorescencia renal.

La respuesta B en el cultivo mixto autólogo apoya la existencia de anomalías en los mecanismos reguladores de la producción de anticuerpos en la enfermedad de Berger. Nuestros hallazgos podrían interpretarse como el resultado de una excesiva proliferación de células T<sub>4</sub>, como un defecto en las influencias supresoras de los linfocitos T<sub>8</sub> y/o monocitos o alternativamente por la existencia de una hiperactividad B como defecto primario. A este respecto se han descrito en la enfermedad de Berger distintas anomalías en la cooperación T-B. Algunos autores han observado un aumento de la relación IKT4/OKT8 debido a una disminución de la subpoblación OKT8<sup>21</sup>, un incremento de la OKT4<sup>19,20</sup> o por una combinación de las anteriores<sup>20</sup>. Otros autores no han encontrado alteraciones en estas subpoblaciones celulares<sup>18</sup>. Estas diferencias podrían explicarse por varios motivos, como la diferente fase de actividad de la enfermedad al realizar el estudio, por la ausencia de una única función celular en las subpoblaciones definidas por anticuerpos monoclonales o por los pocos clones de ambas subpoblaciones envueltos en la secreción de IgA.

Con objeto de profundizar en estas posibles alteraciones, estudiamos la actividad funcional T supresora generada tras estímulo con concanavalina A en estos pacientes. Es evidente que en nuestro ensayo la concanavalina A generaba, tanto en los controles como en los casos con PSH, una actividad supresora que disminuía la respuesta B al estímulo inducido por PWM, de forma similar a la observada por otros autores.

Por el contrario, en la enfermedad de Berger, en lugar de generar supresión la concanavalina A producía una respuesta estimuladora opuesta a la de los controles. Este hallazgo estaría parcialmente de acuerdo con los de Egidio et al<sup>20</sup>, que han descrito alteraciones en la generación de células supresoras específicas para la IgA tras estímulo con concanavalina A. Estos mismos autores sospechan que la alteración podría ser secundaria a un aumento de la actividad T facilitadora. Sin embargo, la similitud de respuesta con la población control observada en nuestro ensayo tras el cocultivo sin estimular con concanavalina A, frente al fracaso en la generación de supresión en el cocultivo estimulado, apoya la sospecha de que la alteración radicaría fundamentalmente en una respuesta primariamente alterada de los linfocitos T a la concanavalina A. Nuestros hallazgos estarían de acuerdo con los estudios de Rothschild y Chatenau<sup>33</sup>, que sugieren un déficit de función supresora en algunos pacientes al encontrar un aumento de la síntesis de IgA por CMSP deplecionadas de la subpoblación OKT8<sup>+</sup>. Esta disminución de actividad supresora, al igual que en nuestras observaciones, no estaría restringida a un único tipo de inmunoglobulina, y tampoco se encontraría en todos los pacientes estudiados. También Cagnoli et al<sup>34</sup>, mediante estudio con anticuerpos monoclonales OKT4 y OKT8, detectan en algunos pacientes una reducción de la actividad supresora, mientras que en otros casos aprecian aumento de la actividad facilitadora específica o hiperactividad B específica para IgA. Esta disuniformidad de hallazgos se justificaría por una posible heterogeneidad de pacientes dentro de la enfermedad de Berger y de las subpoblaciones linfocitarias incluidas dentro de las OKT4 y OKT8.

Una explicación alternativa, como la existencia de una disminución de la actividad supresora de los monocitos, no parece probable, ya que se sabe que los monocitos no desempeñan un papel importante en la respuesta a la concanavalina A, y que los factores secretados por estas células en presencia del mitógeno están implicados en la proliferación T y no en la inhibición de producción de inmunoglobulinas por células B<sup>35</sup>.

En la PSH, el número de células secretoras de inmunoglobulinas tras cultivo mixto autólogo, aunque algo más elevado que el obtenido en los controles, no mostraba diferencias estadísticamente significativas. La concanavalina A generaba en este grupo una actividad supresora ligeramente inferior a la encontrada en los con-

troles normales, sin que tampoco en este caso la diferencias resultaran significativas. Algunos autores han descrito en la PSH un defecto celular supresor similar al observado en el lupus eritematoso sistémico<sup>8</sup>. Nuestros datos estarían más acordes con los resultados obtenidos por Clarkson et al<sup>36</sup>, que observan la desaparición de este efecto supresor tras plasmaféresis, lo que sugiere que factores solubles, ICC o anticuerpos contra células T pueden ser los responsables de esta modulación alterada.

La observación del desarrollo del cuadro tras infecciones respiratorias altas y de que la IgA encontrada en las lesiones sean dímeros o polímeros fundamentalmente de IgA<sub>1</sub><sup>24</sup> hace pensar en un origen mucoso para esta IgA depositada en las lesiones. A este respecto, Egido et al<sup>37</sup> han observado en amígdalas de pacientes con enfermedad de Berger un incremento en el número de linfocitos portadores de IgA, con inversión de la relación IgA/IgG, y un incremento de la producción de IgA polimérica tras estímulo con PWM similar a la observada en CMSP de estos pacientes. Kawanishi et al<sup>38</sup> han demostrado que algunas clonas de células T de las placas Peyer (PP) del ratón, estimuladas con concanavalina A, son capaces de inducir transformación de células B portadoras de IgM de superficie (IgMs) a células B con IgA de superficie (IgAs) sin modificar la población portadora de IgG. Esta subpoblación es capaz de colaborar en la producción de anticuerpos del tipo IgA cuando se cultivan con células B purificadas y antígeno, han mostrado expresar receptores Fc $\alpha$  y aumentar la síntesis de IgA en cultivos estimulados con PWM. Los pacientes con enfermedad de Berger presentan un aumento en el número de linfocitos circulantes portadores de RFc $\alpha$ <sup>39</sup> y un mecanismo por el que clonas T de PP promueven cambios de células B IgMs<sup>+</sup> a la expresión de IgAs es vía producción de RFc. Además se sabe que la mayoría de linfocitos T RFc $\alpha$  presentan fenotipo supresor/citotóxico (OKT8<sup>+</sup>) y su expresión puede ser inducida por IgA dimerica.

A la luz de nuestros hallazgos y de los datos aquí comentados, una hipótesis sugestiva entendería la patogenia de al menos ciertos casos de enfermedad de Berger por la existencia de alteraciones en clonas supresoras T en mucosas, que tras estímulo antigénico promoverían cambios de células B IgMs a la expresión de IgAs, aumentando el número de células secretoras de IgA<sub>1</sub> dimerica o polimérica y expresando RFc $\alpha$ , no descartándose que la heterogeneidad existente en este proceso implique

otras alteraciones inmunitarias en algunos casos. Que esta alteración resulte persistente podría explicarse por una predisposición genéticamente adquirida, que justificaría las anomalías observadas en familiares de estos pacientes, o por el mantenimiento permanente de una función alterada de las clonas T una vez activadas por el antígeno. A este respecto se ha observado *in vitro* que clonas T de las PP pueden mantenerse en cultivo durante extensos períodos de tiempo sin perder su actividad<sup>40</sup>.

En la enfermedad de Berger, nuestras observaciones apoyarían la existencia de anomalías en los mecanismos de cooperación celular reguladores de la síntesis de IgA, probablemente genéticamente adquiridos, y que residirían al menos parcialmente en un fallo en la generación de supresión, permitiendo explicar el curso crónico de la enfermedad. En la PSH la respuesta inmunitaria podría estar alterada para algunos antígenos, diferentes en distintos pacientes, y que permitirían explicar las alteraciones producidas en la síntesis de IgA durante la fase aguda de la púrpura, justificando el curso habitualmente agudo y autolimitado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. CUPPS TR, FAUCI AS. The vasculitides. Vol 21. Major problems in Internal Medicine. W.B. Saunders. 1981; 61.
2. BAART DE LA FAILLE-KJIPER EH, KATER L, KOOSKER CJ, MEES EJD. IgA-deposits in cutaneous blood-vessel walls and mesangium in Henoch-Schönlein syndrome. Lancet 1973; 1: 892-893.
3. TRYGSTARD CW, STIEHM ER. Elevated serum IgA globulin in anaphylactoid purpura. Pediatrics 1971; 47: 1.023-1.028.
4. GARCIA-FUENTES M, CHANTLER C, WILLIAMS G. Cryoglobulinaemia in Henoch-Schönlein purpura. Br Med J 1977; 2: 163-165.
5. LEVINSKY RJ, BARRAT TM. IgA immune complexes in Henoch-Schönlein purpura. Lancet 1979; 2: 1.100-1.103.
6. HALL RP, LAWLEY TJ, HECK JA, KATZ SI. IgA-containing circulating immune complexes in dermatitis herpetiformis, Henoch-Schönlein purpura, systemic lupus erythematosus and other diseases. Clin Exp Immunol 1980; 40: 431-437.
7. KUNO-SAKAI H, SAKAI H, NOMOTO Y, TAKAKURA I, KIMURA M. Aumento de la cifra de linfocitos con IgA en su membrana en sangre periférica de niños afectados por púrpura de Schönlein-Henoch. Pediatrics (ed. esp) 1979; 8: 419-423.
8. BEALE MG, NAS-I GS, BERTOVICH MJ, MACDERMOTT RP. Similar disturbances in B cell activity and regulatory T cell function in Henoch-Schönlein purpura and systemic lupus erythematosus. J Immunol 1982; 128: 486-491.

9. EGIDO J, SANCHO J, MAMPASO F et al. A possible common pathogenesis of the mesangial IgA glomerulonephritis in patients with Berger's disease and Schönlein-Henoch syndrome. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1980; 17: 660-666.
10. BERGER J, HINGLAIS N. Les dépôts intercapillaires d'IgA-IgG. *J Urol Nephrol* 1968; 74: 694-695.
11. WHITWORTH JA, LEIBOWITZ S, KENNEDY MC, CAMERON JS, CHANTLER C. IgA and glomerular disease. *Clin Nephrol* 1976; 5: 33-36.
12. MCCOY RC, ABRAMOWSKY CR, TISHER CC. IgA nephropathy. *Am J Pathol* 1974; 76: 123-140.
13. WOODROFFE AJ, GORMLY AA, MCKENZIE PE, WOOTTON AM, THOMPSON AJ, SEYMOUR AE, CLARKSON AR. Immunologic studies in IgA nephropathy. *Kidney Int* 1980; 18: 336-374.
14. MUSTONEN J, PASTERNAK A, HELIN H et al. Circulating immune complexes, the concentration of serum IgA and the distribution of HLA antigens in IgA nephropathy. *Nephron* 1981; 29: 170-175.
15. SAKAI H, NOMOTO Y, ARIMORI S, KOMORI K, INOUE H, TSUJI K. Increase of IgA-bearing peripheral blood lymphocytes in families of patients with IgA nephropathy. *Am J Clin Pathol* 1979; 72: 452-456.
16. ALNO-NAKHAL M, ANDRE JPS, HOUSSIN A, HUREZ D. Augmentation ou non du nombre de lymphocytes B porteurs d'IgA dans la maladie de Berger. *Nouv Presse Med* 1981; 10: 2.583.
17. FIORINI G, FORNASIERI A, SINICO R et al. Lymphocyte population in the peripheral blood from patients with IgA nephropathy. *Nephron* 1982; 31: 354-357.
18. CAGNOLI L, TABACCHI P, PASQUALI S, CENCI M, SASDELLI M, ZUCHELLI P. T cell subset alterations in idiopathic glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 1982; 50: 70-76.
19. D'AMICO G. Idiopathic mesangial IgA nephropathy. In: *Glomerular Injury 300 years after Morgagni*. Ed. Bertani T, Remuzzi G, Milano Wichtig 1983; 205.
20. EGIDO J, BLASCO R, SANCHO J, LOZANO L. T-cell dysfunctions in IgA nephropathy: Specific abnormalities in the regulation of IgA synthesis. *Clin Immunol Immunopathol* 1983; 26: 201-212.
21. HATENAUD L, BACH MA. Abnormalities of T cell subsets in glomerulonephritis and systemic lupus erythematosus. *Kidney Int* 1981; 20: 267-270.
22. ANDRE C, BERTHOUX FC, ANDRE F, GUILLON J, GENIN C, SABATIER JC. Prevalence of IgA2 deposits in IgA nephropathies. A clue to their pathogenesis. *N Engl J Med* 1980; 303: 1343-1346.
23. CONLEY ME, COOPER MD, MICHAEL F. Selective deposition of immunoglobulin A1 in IgA nephropathy, anaphylactoid purpura nephritis and systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1980; 66: 1.432-1.436.
24. VALENTIN RM, RALD I, HAAMAN JJ, DAHA MR, VAN ES LA. Circulating macromolecular IgA1 and mesangial secretory component binding IgA1 in primary IgA nephropathy. *Kidney Int* 1983; 24: 408.
25. HALL RP, STACHURA I, CASON J, WHITESIDE TL, LAWLEY TJ. IgA-containing immune complexes in patients with IgA nephropathy. *Am J Med* 1983; 74: 56-63.
26. KAJFFMAN RH, VAN ES LA, DAHA MR. The specific detection of IgA immune complexes. *J Immunol Methods* 1981; 40: 117-121.
27. BOYUM A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood: Isolation of mononuclear cells by one centrifugation and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest* 1968; 21: suppl 97, 77-89.
28. KAPLAN ME, CLARK C. An improved rosetting assay for detection of human T-lymphocytes. *J Immunol Methods* 1974; 5: 131-136.
29. AMMAN AJ, BORG D, KONDO L, WARA DW. Quantitation of B cells in peripheral blood by polyacrylamide beads coated with anti-human chain antibody. *J Immunol Methods* 1977; 17: 365-371.
30. YAM LT, LI CY, CROSBY WH. Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am J Clin Pathol* 1971; 55: 283-289.
31. GATENBY PA, KOTZIN BL, ENGLEMAN EG. Induction of immunoglobulin-secreting cells in the human autologous mixed leukocyte reaction: regulation by helper and suppressor lymphocyte subsets defined with monoclonal antibodies. *J Immunol* 1981; 127: 2.130-2.135.
32. HAMMARSTROM L, BIRD AG, BRITTON S, SMITH CIE. Pokeweed mitogen-induced differentiation of human B cells: evaluation by a protein A haemolytic plaque assay. *Immunology* 1979; 38: 181-189.
33. ROTHSCHILD E, CHATENAUD L. T cell subset modulation in immunoglobulin production in IgA nephropathy and membranous glomerulonephritis. *Kidney Int* 1984; 25: 557-564.
34. CAGNOLI L, BELTRANDI E, PASQUALI S et al. B and T cell abnormalities in patients with primary IgA nephropathy. *Kidney Int* 1985; 28: 646-651.
35. SMOLEN JS, CHUSED TM, NOVOTNY EA, STEINBERG AD. The human autologous mixed lymphocyte reaction. III. Immune circuits. *J Immunol* 1982; 129: 1.050-1.053.
36. CLARKSON AR, WOODROFFE AJ, BANNISTER KM, LOMAX-SMITH JD, AARONS I. The syndrome of IgA nephropathy. *Clin Nephrol* 1984; 21: 7-14.
37. EGIDO J, BLASCO R, LOZANO L, SANCHO J, GARCIA-HOYO R. Immunological abnormalities in the tonsils of patients with IgA nephropathy: inversion in the ratio of IgA/IgG bearing lymphocytes and increased polymeric IgA synthesis. *Clin Exp Immunol* 1984; 57: 101-106.
38. KAWANISHI H, SALTMAN LE, STROBER W. Mechanisms regulating IgA class-specific immunoglobulin production in murine gut-associated lymphoid tissues. I. T cells derived from Peyer's Patches that switch sIgM B cells to sIgA B cells in vitro. *J Exp Med* 1983; 157: 433-450.
39. ADACHI M, YODOI J, MASUDA T, TAKASUKI K, UCHINO H. Altered expression of lymphocyte Fc receptor in selective IgA deficiency and IgA nephropathy. *J Immunol* 1983; 131: 1.246-1.251.
40. KIYONO H, MCGHEE JR, MOSTELLER LM et al. SM. Murine Peyer's Patch T cell clones. Characterization of antigen-specific helper T cells for immunoglobulin A response. *J Exp Med* 1982; 156: 1.115-1.130.

## DISCUSIÓN

A. ORDINAS: Quiero felicitar al doctor Casanueva por esta amplia casuística de dos enfermedades que realmente son poco frecuentes en nuestro ambiente médico.

Quisiera preguntarle si ha observado correlación entre alguno de los parámetros evaluados en su estudio y la afectación renal, por otra parte no excesivamente frecuente, en pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch.

B. CASANUEVA: Nuestro estudio incluía pocos casos de púrpura de Schönlein-Henoch con afectación renal, por lo que no evaluamos la posible relación entre el número de células circulantes secretoras de inmunoglobulinas y este dato clínico. Observamos que en tres de los 4 pacientes que presentaron afectación renal, el número de células circulantes secretoras de IgA se mantuvo elevado durante todo el estudio de seguimiento, que fue de un año. Este hallazgo podría tener cierta implicación patogénica y servir tal vez como parámetro de control de estos pacientes. A diferencia de los casos con afectación renal, el número de células circulantes secretoras de IgA en aquellos pacientes que no la desarrollaron, disminuía en el estudio de seguimiento, permaneciendo en límites normales.

J.V. CASTELL: ¿Cómo es posible que no exista relación entre esta inmunoglobulina y los niveles séricos? Es algo que me ha llamado la atención.

B. CASANUEVA: Efectivamente no encontramos correlación entre el número de células circulantes secretoras de IgA y los niveles séricos de esta inmunoglobulina. La mayor parte de la IgA sérica es monomérica y sólo un 10-15 % se halla en forma de polímeros. Los estudios sobre producción de ambas formas de IgA en tejidos humanos muestran que la IgA monomérica es sintetizada fundamentalmente en medula ósea y bazo. Además, la IgA del suero está formada en un 90 % de IgA<sub>1</sub> y un 10 % de IgA<sub>2</sub>, proporción similar a la encontrada en la medula ósea. Aunque la contribución de cada uno de los compartimientos celulares a la cifra de IgA circulante no está aclarada, los datos comentados hacen pensar que la mayor parte de la IgA sérica estaría sintetizada por células plasmáticas de bazo y medula ósea. Se sabe que las células B de amígdalas, ganglios linfáticos y sangre periférica secretan proporciones similares de IgA monomérica y polimérica, composición diferente a la encontrada en el suero. Nosotros de-

terminamos el número de linfocitos B circulantes secretores de IgA, con un origen distinto en su mayor parte que el de la IgA sérica.

J.V. CASTELL: Una matización al respecto. ¿Han sido estimuladas estas células para el experimento de formación de placas?

B. CASANUEVA: Nosotros lo hicimos de varias formas. En primer lugar estudiamos el número de células circulantes secretoras de inmunoglobulinas en condiciones basales, sin estímulo. Existía un aumento de las secretoras de IgA y no existía correlación entre su número y los niveles séricos de inmunoglobulinas. Posteriormente, determinábamos la respuesta tras diferentes estímulos con mitógenos, como el pokeweed y la concanavalina A, y también tras cultivo mixto autólogo.

J.V. CASTELL: El motivo de la pregunta era la posibilidad de que fueran las propias condiciones del ensayo las que de alguna forma hubieran condicionado una respuesta anormal, aunque por lo que usted ha comentado parece que no fue así. Es decir, que en condiciones basales existe realmente un mayor número de células secretoras y que además éstas están secretando más IgA.

B. CASANUEVA: Sí. En sangre periférica de estos pacientes observamos un aumento del número de células secretoras de IgA. El problema residiría en cómo interpretar los otros resultados obtenidos en el laboratorio. Es evidente que tanto tras estímulo policlonal con PWM, como en los estudios de la función T supresora con concanavalina A, o de la respuesta al cultivo mixto autólogo, existía siempre una población control en la que las condiciones del ensayo eran idénticas a las de los pacientes. Además, en el estudio con la concanavalina A separamos células T estimuladas y sin estimular con el mitógeno, observando que los valores obtenidos para la generación de placas con células T no estimuladas eran similares, tanto para los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch como para los controles normales y los casos de nefropatía IgA. Sin embargo, tras estímulo supresor la respuesta es completamente distinta, y mientras en los controles y pacientes con púrpura se produce una disminución de la respuesta, en los casos de nefropatía IgA la concanavalina A produce una estimulación en la generación de placas. Por consiguiente, la respuesta alterada no parece depender, al menos en principio, de las propias condiciones del ensayo.



- S. ERILL: Quisiera preguntar si alguien ha realizado estudios de este tipo de células secretoras de IgA en condiciones de infección mucosa.
- B. CASANUEVA: Efectivamente, se han realizado estudios en otras muchas enfermedades. Nosotros seleccionamos precisamente un grupo de pacientes con infección respiratoria de vías altas, como modelo de infección en mucosas, debido a que este tipo de afectación se ha implicado como factor desencadenante, tanto de la púrpura de Schönlein-Henoch como de la nefropatía IgA.
- J. SEGOVIA: El Dr. Casanueva ha hablado de enfermedades que cursan a brotes. Mi pregunta se refiere a si en el curso de su investigación identificó algún parámetro experimental que pudiera alertar al clínico sobre un posible nuevo brote de estas enfermedades.
- B. CASANUEVA: Basándonos en nuestro estudio de seguimiento y aunque no podamos extraer conclusiones definitivas por lo limitado del número de casos, la determinación seriada del número de células circulantes secretoras de IgA podría predecir, en teoría, qué pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch van a desarrollar afectación renal y cuáles no.
- J. SEGOVIA: Yo me refería no tan sólo a los aspectos pronósticos, sino también a si previamente al brote individual existiría algún hallazgo que permitiera predecirlo.
- B. CASANUEVA: No sabemos si inmediatamente antes de las manifestaciones clínicas de la púrpura de Schönlein-Henoch se encuentra ya un aumento en el número de células circulantes secretoras de IgA que pudiera predecir el inicio del brote o de la enfermedad. Es evidente que en el conjunto de la población general es muy difícil realizar este tipo de estudio. Sin embargo, se ha descrito en familiares de pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch un mayor número de células circulantes con IgA en su membrana que tal vez suponga una predisposición genética a desarrollar el síndrome. No existen estudios sobre una posible mayor incidencia de la enfermedad en estos familiares. Tampoco hemos podido comprobar modificaciones previas en el número de células circulantes secretoras de IgA al brote de hematuria en la enfermedad de Berger. En dos casos estudiados durante el brote de hematuria y no presentados en nuestro trabajo, el número de células circulantes secretoras de IgA se encontraba extraordinariamente elevado con respecto a las cifras obtenidas en situación basal.