

INSTITUTO MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI"

Suero A y linfocitotoxicidad

Por los Dres.:

OLIVER G. PEREZ MARTIN* y ANTONIO GONZALEZ GRIEGO**

Pérez Martín, O. G.; A. González Griego. *Suero A y linfocitotoxicidad*. Rev Cub Med 21: 1, 1982.

Se utilizó la separación de los linfocitos y la citotoxicidad mediada por complemento, con el objetivo de determinar el grado de citotoxicidad del suero A y la posibilidad de su uso como control negativo en la linfocitotoxicidad, donde se venía utilizando suero AB. Se llegó a la conclusión de que podía ser utilizado.

INTRODUCCION

La linfocitotoxicidad es una técnica ampliamente utilizada para análisis de histocompatibilidad, por la representación del sistema HLA, que presentan los linfocitos.

En los controles negativos, de esta prueba se utilizan sueros humanos AB,¹ ya que en los mismos, no existe isohemaglutininas Anti-A, ni Anti-B.

Por otra parte, el suero AB se encuentra con menor frecuencia que otros del sistema ABO.

Teniendo en cuenta lo anterior cabría preguntarse si:

¿Serán linfocitotóxicos los demás sueros del sistema ABO?

Ante ello nos propusimos:

Determinar el grado de citotoxicidad para linfocitos humanos del grupo sanguíneo B, por sueros A.

MATERIAL Y METODO

Los linfocitos fueron separados por el método de Sterucas D. referido y modificado por *Reyes Haydee y Arda L.*- Se garantizó la eliminación de los hematíes y plaquetas a través de una lisis osmótica con agua bidestilada y tres lavados con amortiguador fosfato salino. Se realizó un conteo

* Especialista de I grado en inmunología. Laboratorio de Protozoología, Departamento de parasitología, IMT "Pedro Kouri".

Candidato, Jefe de Investigaciones del IJCM/Victoria de Girón,

diferencial y un control de la viabilidad y posteriormente se ajustaron los linfocitos a una concentración de 3×10^6 cel/ml, en cámara de Neubauer.

En la realización de la linfocitotoxicidad se utilizaron los criterios de *Engelfriet, C. P. y Van den Berg-Leone, Ella:* Se emplearon sueros humanos de puérperas del grupo sanguíneo A, los cuales se almacenaron a menos 20°C hasta el momento de iniciar el trabajo. Posteriormente fueron incubados a 56°C durante 30 minutos para realizar su descomplementación y sólo valorar la actividad del complemento (C) aportado⁴⁰ como fuente complementaria se empleó suero de conejo, pues se ha informado⁷ que éste tiene gran actividad en presencia de inmunocomplejos donde intervengan isoanticuerpos humanos. Además, otros autores^{8,9} refieren que se incrementa la sensibilidad de la linfocitotoxicidad, ya que, en el suero de conejo existen xeroanticuerpos que amplifican la fijación del C y por ende el incremento en la permeabilidad y lisis del linfocito.

El C fue guardado a menos 20°C. ya que a esa temperatura la reducción de su actividad, en un periodo de un mes, no es significativa.¹⁰ No obstante ello, siempre lo utilizamos durante la primera semana de ser extraído y una vez descongelado se eliminaba. Además el C de conejo ha sido utilizado por múltiples autores en esta técnica.^{11,12}

Como control negativo se utilizó suero AB y en otro solamente C. El control positivo fue suero antilinfocítico, valorándose la muestra celular por un colorante supravital, el tripán azul.

Se realizó la lectura en microscopio de luz compuesto, con objetivo seco y aumento de 100 x.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se obtuvo un 96% de linfocitos en el conteo diferencial y una viabilidad de 98%.

De los sueros procesados se desecharon dos por existir muerte celular en los controles negativos. De los 52 restantes, sólo dos fueron citotóxicos, es decir, el 3,84%.

Comparando estos resultados con los informados en la literatura, cuando se utilizaron sueros de gestantes, multiparas o ambos,¹³ observamos que es extraordinariamente bajo. Esto es debido a que los sueros maternos se estudian frente a paneles de linfocitos, donde están representados los determinantes antigénicos de varios sistemas de histocompatibilidad y el nuestro sólo contempla un tipo de célula, en el que podría existir como máximo 8 determinantes para el HLA y uno para el ABO.

Teniendo en cuenta la ausencia de citotoxicidad en el 96,14% de los sueros, podemos inferir que el determinante B no es el causante de la misma. Además, como existen los determinantes B en la superficie linfocitaria,¹⁴ debíamos esperar citotoxicidad en el 100% de los casos, si es que los anticuerpos relacionados con este sistema son fijadores de complemento, como se ha señalado en la literatura.^{15,111}

CONCLUSION

El suero humano del grupo A, no es linfocitotóxico.

RECOMENDACIONES

- Puede utilizarse el suero A, como control negativo en la linfocitotoxicidad.
- Debe estudiarse si esta ausencia de actividad citotóxica del suero A, se generaliza para el resto del sistema ABO.
- Es necesario precisar si los isoanticuerpos pertenecen a las inmunoglobulinas fijadoras de C.

SUMMARY

Pérez Martín, O. G.; A. González Griego. *Serum A and lymphocytotoxicity*. Rev Cub Med 21:

1, 1982.

Segregation of lymphocytes and cytotoxicity mediated by complement was used, with the object of determining serum A cytotoxicity degree and possibility of being used as negative control for lymphocytotoxicity where serum AB was used before. Conclusion was that it can be used.

RÉSUMÉ

Pérez Martín, O. G.; A. González Griego. *Serum A et lymphocytotoxicité*. Rev Cub Med 21: 1, 1982.

Nous avons utilisé la séparation des lymphocytes et la cytotoxicité à médiation du complément, afin de déterminer le degré de cytotoxicité du sérum A et la possibilité de son emploi en tant que contrôle négatif dans la lymphocytotoxicité, où l'on utilisait le sérum AB. Nous avons conclu qu'il pouvait être utilisé.

BIBLIOGRAFIA

1. *Bodmer, I N J . Bodmer. Cytofluorochromasia. Cytotoxicity assay. Naid manual of tissue typing techniques. Ray, et al. Maryland, 1976-77.*
2. *Reyes, H.; L. Arda. Uso de contraste iodado en la separación preparativa de los linfocitos. Sección de inmunología. Departamento de investigaciones Españolas. Instituto de Gastroenterología, 1975.*
3. *Engelfriet, C.P.; E. Van den Berg-Leone. Development of monospecific Antisera 4. Performance of the lymphocytotoxicity test. Naid manual of tissue typing techniques. Ray, et al. Maryland (1976-77).*
4. *Mueller-Eckhardt, C. Blood Group Serology. Laboratory Notes for Medical Diagnostics 1975.*
5. *Pillot, J.; A.P. Beltier. Exámenes de laboratorio. Técnicas de Inmunología. Primera edición española. Jims, Barcelona, 1976.*
6. *Eidinger, D. et al. The heterocytotoxicity of human serum II. Role of natural antibody and the classical and alternative complement pathways. Cel Immunol 29: 187, 1977.*

7. *Welsh, K.I.; J. fi. Batcheler.* Assays for antibodies against histocompatibility antigens. Handbook of Exp. Immunology. Cap. 35. 3ra. ed. Vol. 4. Weir, D.M. et al. Blackwell. Scientific Publication, Oxford, London. Great Britain, 1978.
8. *Ferrone, A. et al.* The lymphocytotoxic reaction: the mechanism of rabbit complement action. J Immunol 104 (4): 939, 1971.
9. *Oindlen, E.A. et al.* Mechanisms of humoral cytotoxicity testing the role rabbit serum, senoantibody and human IgM. J Immunology 118 (5): 1836, 1977.
10. *Dodd, B.E.; P.J. Lincoln.* Current topics in immunology No. 3 Blood Group Topic, 1975.
11. *Joysey, V.C.* A modified microcytotoxic test for lymphocyte typing using silicones glass slides and ordinary phase contrast microscopy. Niaid manual of tissue typing techniques. Ray, J. G. et al. Maryland, 1976-77.
12. *Rogentine, G.N.* Cr Release cytotoxicity technique. Niaid manual of tissue typing techniques. Ray, J. G. et al. Maryland, 1976-77.
13. *Rodey, G.E. et al.* Adquisition of HL-A lymphocytotoxic antibodies. Niaid manual of tissue typing techniques. Ray, J. G. et al. Maryland, 1976-77.
14. *Pérez, M.O.G. et al.* Antigenicidad de los linfocitos y hematías del grupo B. 1980, (Pendiente publicación).
15. *Miescher, P.A.; H.J. Müller-Eberhard* Estructura de los anticuerpos. Métodos de Inmunología. Vol. 1. Científica-Médica. Barcelona, 1971.
16. *Stanworth, DR.; M.W. Turner.* Immunochemical analysis of Immunoglobulins and their subunits. Handbook of Exp Immunology, third edition. Vol. 1, Cap. 6. Blackwell Scientific Publications, Oxford. London. Great Britain, 1978.

Recibido: marzo 12, 1981. Aprobado: noviembre 10, 1981.

Dr. *Oliver G. Pérez Martín.* Instituto de Medicina Tropical. "Pedro Kouri". Ave. 15 y 200. Siboney. Ciudad de La Habana.