

9. *Francolandin. L.*: Neumopatías en adultos hospitalizados. Guantánamo. Tesis de grado, 1976.

Recibido: 4 de noviembre de 1982.  
Aprobado: 8 de noviembre de 1982.

Dr. *Ubaldo Cardoso Rodríguez*  
Centro Provincial de Higiene y Epidemiología.  
Ciego de Avila.

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI"

## Inmunoglobulinas y determinantes B en los linfocitos

Por los Dres.:

OLIVER PEREZ MARTIN\* y ANTONIO GONZALEZ GRIEGO\*\*

Pérez Martín, O.; A. González Griego. *Inmunoglobulinas y determinantes B en los linfocitos*. Rev Cub Med 22: 3, 1983.

Al existir los determinantes del sistema ABO en los linfocitos y no ocurrir citotoxicidad al enfrentar linfocitos del grupo sanguíneo B a sueros A, en presencia de complemento se cuestionó si las inmunoglobulinas relacionadas con este sistema son fijadoras de complemento. Para ello se utilizaron técnicas de hemaglutinación, consumo y doble inmunodifusión radial. Se determinó que la IgG e IgM estaban relacionadas con el inmunosistema y que aun así no ocurría citotoxicidad.

### INTRODUCCION

Se sabe que existen los determinantes antigénicos del sistema ABO en los linfocitos y que, sin embargo, no ocurre citotoxicidad al enfrentar linfocitos del grupo sanguíneo B a sueros A.

Al tener la seguridad de que existen los determinantes en los linfocitos y esta prueba utiliza complemento (C) de probada actividad <sup>2-5</sup> queda por analizar el tercer componente requerido, los anticuerpos, por ello: ¿será que las inmunoglobulinas (Igs) relacionadas con este sistema no fijan C y por ende, no ocurre la linfocitotoxicidad?

Nos propusimos conocer:

¿Qué Igs están relacionadas con el sistema B-Anti-B?

Especialista de I grado en Inmunología. Departamento de helmintología.  
Candidato a Doctor en Ciencias. Laboratorio de inmunología. ISCM "Victoria de Girón".

## MATERIAL Y METODO

### a) Hemaglutinación

Se obtuvieron eritrocitos por centrifugación de sangre heparinizada de un adulto del grupo B y se ajustaron a una concentración de  $6 \times 10^7$  cel/ml en cámara de Neubauer. Fue obtenido suero A de puérperas.

Se introdujo en cada tubo 1 ml de eritrocitos y 0,4 ml de cada suero. Fue preparado un control de eritrocitos, sin suero. Se incubaron a 37°C X minuto (min) y a 4°C por igual tiempo. Centrifugándose a 900 g por 5 min, se desecha el sobrenadante y se conserva el sedimento para su utilización en el consumo.

### b) Consumo de Anti-inmunoglobulinas humanas

Se utilizaron los criterios de Mueller-Eckhardt C.<sup>6</sup> al emplear Anti-Igs humanas, obtenidas de conejos (Anti-IgG y Anti-IgM).

A cada sobrenadante obtenido mediante la hemaglutinación, se le añadió 45  $\mu$ l de Anti-IgG, se incubaron a 37°C por 30 min e igual tiempo a 4°C y se centrifugó a 900 g X 5 min. El sedimento fue lavado con 5 ml de solución salina, se le añadió 80  $\mu$ l de Anti-IgM y se le realiza el mismo procedimiento anterior.

El método de añadir sucesivamente Anti-IgG y Anti-IgM al inmunocomplejo fue concebido por limitaciones del volumen de los sueros A y con el fin de utilizar una misma muestra. La secuencia obedece a que se ha informado<sup>7</sup> que las clases relacionadas con el sistema ABO son la IgA, IgG y la IgM en orden ascendente. Pero de éstas, los fijadores de la C son la IgG y la IgM y por tanto, las relacionadas con nuestros propósitos. Para minimizar la influencia que podría ejercer el factor estérico, fue que se añadió primero la menos relacionada.

Los dos sobrenadantes fueron guardados.

### c) Doble inmunodifusión radial (DIDR)

Se utilizaron los criterios de Ouchterlony O. y Nilsson L. A.<sup>8</sup> modificados por González Griego A.<sup>9</sup> La modificación realizada consiste en partir del último título de la dilución seriada donde se observe línea de precipitación y realizar una nueva dilución sobre la placa, que permite cuantificar incrementos más pequeños de las diluciones, siempre por debajo del doble. Este incrementa la sensibilidad de este método, al conservar la especificidad.

Se empleó agar noble al 1% (P/V) en solución salina, para preparar un gel en las placas con un espesor de 0,2 cm, en una superficie horizontal.

Como fuente antigénica se utilizaron 8 ml de varios sueros humanos que contenían las Igs mayores (IgG e IgM) en concentraciones de 10,84 y 0,59 mg/ml, respectivamente<sup>10</sup> y como anticuerpo, los sobrenadantes obtenidos anteriormente en el consumo de Anti-Ig, al emplearse éstos en diluciones de 1, 1,07, 1,16, 1,27, 1,4 y 1,55.

Las placas se colocaron en cámara húmeda durante 24 horas, se lavaron con solución de cloruro de sodio 0,15 N y posteriormente con agua destilada.

Se secaron con papel de filtro, se colorearon con amido negro y se decoloraron con ácido acético al 2% (V/V).

#### RESULTADOS Y DISCUSION

De las 18 muestras estudiadas, 6 adsorbieron frente a Anti-IgG y 4 con Anti-IgM, lo que representa el 33,3 y el 22,2% respectivamente. En total, 10 fueron positivas.

Como se puede observar en los resultados, ambas clases de Igs estaban relacionadas con el inmunosistema estudiado. Esto se pudo demostrar al menos, en el 55,5% de los casos estudiados.

La no determinación de la Ig relacionada en todos los inmunocomplejos podría deberse a la presencia de IgA en algunos de ellos o a la sensibilidad del método, lo primero no lo creemos probable puesto que la IgA ha sido señalada como la menos relacionada con este sistema,<sup>7</sup> por lo que la sensibilidad del método consideramos justifique este resultado.

Clásicamente se ha señalado que la actividad Anti-B detectada en suero A es fundamentalmente debida a IgM.<sup>11</sup> Sin embargo, nuestros resultados no concuerdan con estas observaciones. En apoyo de esto, está el hecho de que se ha determinado<sup>12</sup> que las aglutininas Anti-B en niños compatibles con este sistema, indican cifras altas en la mayoría de los casos, lo que estaría en contradicción con lo referido en la literatura ya que la IgM no difunde a través de la barrera placentaria.<sup>13-17</sup>

La presencia de Igs que pertenecen a las clases fijadoras de complemento de este inmunosistema, la existencia de los determinantes antigénicos en la superficie de los linfocitos y la ausencia de citotoxicidad para estas células, nos obligan a realizar algunas consideraciones.

Si sólo se hubiese demostrado la presencia de IgG, se podría pensar que las subclases relacionadas serían la IgG 4, la IgG 2, o ambas, que son las señaladas como menos fijadoras. Sin embargo, éste no es el caso, pues también se detectó la presencia de IgM, donde las subclases son informadas como fijadoras de C.<sup>18</sup>

Por otra parte, se ha demostrado que los anticuerpos relacionados con este inmunosistema producen hemólisis mediada por C.<sup>19,20</sup>

Por ende, existe citotoxicidad eritrocítica y no linfocítica y como sabemos, los hematíes presentan una mayor presión oncótica,<sup>21</sup> lo cual pudiese influir en que la actividad reparadora de éstos no fuese la suficiente para evitar los cambios en la permeabilidad y sí en los linfocitos.

#### CONCLUSIONES

1. La IgG e IgM están relacionadas con este sistema.

2. Están presentes los tres factores necesarios: los determinantes, las Igs fijadoras de C y el C; pero parece que por sí solamente, no son suficientes para que ocurra la linfocitotoxicidad.

#### SUMMARY

Pérez Martín, O.; A. González Griego. *Immunoglobulins and B determinants in lymphocytes*. Rev Cub Med 22: 3, 1983.

At existence of determinants of ABO system in lymphocytes and no cytotoxicity occurrence when lymphocytes of B blood type faces A sera, in complement presence, it was questioned if immunoglobulins related to this system are complement fixative. For this matter hemagglutination, waste, and double radial immunodiffusion techniques were employed. It was determined that IgG and IgM were related to immunosystem and that even though no cytotoxicity occurred.

#### RÉSUMÉ

Pérez Martín, O.; A. González Griego. *Immunoglobulines et déterminants B dans les lymphocytes*. Rev Cub Med 22: 3, 1983.

Étant donné qu'il existe les déterminants du système ABO dans les lymphocytes et qu'il ne se produit pas de cytotoxicité lors de mettre en contact des lymphocytes du groupe sanguin B avec des sérums A, en présence de complément, on s'est demandé si les immunoglobulines concernant ce système fixent le complément. Pour ceci l'on a utilisé des techniques d'hémagglutination, de consommation et d'immunodiffusion radiale double. Il a été déterminé que l'IgG et l'IgM étaient en rapport avec l'immunosystème et que, même ainsi il ne se produit pas de cytotoxicité.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Pérez, M. O. G.: Linfocitotoxicidad e Inmunoglobulinas Anti-B en Humanos. Tesis de especialidad. 1980.
2. Welsh, K. I. J. R. *Batcheler*: Assays for antibodies against histocompatibility antigens. Handbook of Exp Immunology. Cap. 35. 3ra. éd., vol 4. Blackwell Scientific Publication. Oxford, Great Britain, 1978.
3. Ferrene, S. et al.: The lymphocytotoxic reaction: The mechanism of rabbit complement action. J. Immunol 107 (4): 939, 1971.
4. Quindlen Eugene, A. et al.: Mechanism of humoral cytotoxicity testing the role of rabbit serum, xenoantibody and human IgM. J. Immunol 118 (5): 1836, 1977.
5. Joysey, V. C.: A modified microcytotoxic test for lymphocyte typing using silico glass slides and ordinary phase contract microscopy. Niaid Manual of tissue typing techniques, Ray, J. G. et al. Maryland, 1976-77.
6. Mueller-Eckhardt, C.: Blood Group Serology. Laboratory notes for medical diagnostics. 1975.
7. Thomaidis, T. H. et al.: Natural isohemagglutinin production by the fetus. J Pediatr 74 (1): 39, 1969.
8. Ouchterlony, G.: L. A. Nillson: Immunodiffusion and Immunoelectrophoresis. Handbook of Exp Immunology. Cap. 19. 3ra. éd., vol 1. Blackwell Scientific Publications. Oxford, Great Britain, 1978.
9. González Griego, A.: Modificación de la Doble Inmunodifusión Radial. 1979 (Comunicación personal).
10. Dorta, A.: Normalización de Inmunoglobulinas Humanas. 1979 (comunicación personal).
11. Fong, S. W. et al.: Developmental patterns of ABO-Isoagglutinins in normal children

- correlated with the effects of age, sex and maternal isoagglutinins, *Transfusion* 14 (6): 551, 1974.
12. *González Griego, A. et al*: Tema de Ciencia y Técnica. Inmunodeficiencia en la valoración nutricional. ISCM Victoria de Girón, 1979 (pendiente de publicación).
  13. *Gitlin, D. et al.*: The marked selectivity of the human placenta in the transfer of proteins from mother to fetus. *J. Pediatr* 63 (4): 870, 1963.
  14. *Pillot, J.; A. P. Peltier*: Exámenes de Laboratorio técnico de Inmunología. Primera edición española. Jims, Barcelona, 1976.
  15. *Eidinger, D. et al.*: The heterocytotoxicity of human serum II. Role of natural antibody and the classical and alternative complement pathways. *Cell Immunol* 29: 187, 1977.
  16. *Balfour, A. H.; E. A. Jones*: The binding of plasma proteins to human placental cell membranes. *Clin Sci Mol Med* 52: 383, 1977.
  17. *Cederqvist, L. L. et al.*: IgD and the fetal immune response. *Scand J Immunol* 6: 821, 1977.
  18. *Stanwerth, D. R.; M. W. Turner*: Immunochemical analysis of immunoglobulins and their subunits. *Handbook of Experimental Immunology*. Cap. 6. 3ra. ed., vol. 1, D. M. et al. Blackwell Scientific Publications, Oxford-London-Great Britain, 1978.
  19. *Dodd Barabara, E.; P. J. Lincoln*: Currents topics. In: *Immunology* No. 3. Blood group topic, 1975.
  20. *Díaz, G.*: Inmunohematología de la gestación y el recién nacido. Ed Científico-Médica, Barcelona-Madrid, 1962.
  21. *Davsen, H.*: Ionic equilibrium, bioelectric potential and active transport. A textbook of general physiology. Cap X. 3ra. ed., Instituto Cubano del Libro, 1969.

Recibido: 11 de febrero de 1982.  
Aprobado: 15 de febrero de 1982.

Dr. *Oliver Pérez Martín*  
Instituto de Medicina Tropical  
"Pedro Kourí".  
Avenida 15 y calle 200, Siboney.  
Ciudad de La Habana.