

Purificación y caracterización de los inmunocomplejos obtenidos del líquido sinovial de artríticos

Dr. Nazario RUBIO ARAZURI

Trabajo resumen de la Beca Fundación MAPFRE

La artritis reumatoide, una afección descrita desde los comienzos de la civilización, afecta al 1-2 por 100 de la población mundial.

Las graves deformaciones que produce y su curso doloroso hacen que hoy en día se investigue intensamente cuál puede ser la causa o causas que la generan.

El resultado de dichos trabajos ha demostrado que su origen es autoinmune, lo que significa que es producida por una alteración del sistema inmunológico de defensa que considera por error que algún componente «normal» del paciente es extraño al organismo.

Esta respuesta defensiva equivocada se traduce en la formación de unos complejos en los cuales, el antígeno desencadenante de la formación de aquéllos está rodeado y neutralizado por anticuerpos producidos por el paciente.

Estos inmunocomplejos desencadenan lesiones muy graves en las articulaciones y producen los trastornos detectados clínicamente.

Estas lesiones vienen dadas primordialmente por la liberación de superóxido de los macrófagos de las articulaciones, estimulados o «excitados» por la fijación de los inmunocomplejos a sus membranas citoplasmáticas mediante la unión a ciertos receptores.

Nosotros pensamos que el primer paso para la comprensión y posterior cura de la artritis reumatoide es conocer a fondo las características bioquímicas de dichos complejos.

Para ello, hemos puesto a punto dentro de este programa de investigación financiado por la Fundación MAPFRE, un sistema de purificación de los inmunocomplejos a partir del líquido sinovial de pacientes artríticos.

La estrategia de separación ha sido basada en el hecho de que los inmunocomplejos, por ser el agregado de varias moléculas, pesan mucho más que el resto de moléculas aisladas que forman el líquido sinovial. La composición de éste es análoga a la del suero y nosotros hemos intentado poner a punto técnicas que separen esos complejos pesados del resto de las proteínas ligeras que componen los fluidos biológicos.

En primer lugar hemos conseguido de diversas fuentes hospitalarias muestras de líquido sinovial de pacientes que habían sido diagnosticados de procesos artríticos.

El primer paso a partir de estas muestras es determinar cuál de ellas era rica en inmunocomplejos. La técnica empleada fue la precipitación de aquéllos por una sustancia, el polietilenglicol al 4 por 100. Este polímero hace precipitar las moléculas pesadas y por ello los inmunocomplejos. El precipitado lechoso obtenido es centrifugado, disuelto en un tampón y cuantificado por medio de la espectrofotometría. De los líquidos con más inmunocomplejos se seleccionaron aquellos que poseen más factor reumatoide (anticuerpo que origina la formación de complejos). La determinación de este parámetro se llevó a cabo mediante la técnica del látex.

De todos los líquidos estudiados se seleccionaron mediante estos dos criterios los más idóneos, con los cuales se prosiguió el estudio.

El paso siguiente fue el poner a punto un sistema de separación en función del peso molecular denominado cromatografía en columna.

Se empleó como gel idóneo para esta separación el Sephacril S-200 y el resultado de esta separación,

precedida de precipitación con polietilenglicol, fue la separación de los complejos de los demás componentes del líquido sinovial. Gracias a esto disponemos de la suficiente cantidad de este material para su caracterización bioquímica.

Para estudiar los componentes de los complejos de una manera más pura se eliminaron de éstos los diversos componentes del complemento, mediante la eliminación con sustancias quelantes de los metales que son necesarios para unión estructural de estos factores al inmunocomplejo. De este modo obtuvimos inmunocomplejos puros para su estudio estructural.

Estos inmunocomplejos fueron separados en sus unidades por desnaturalización con el detergente SDS. Posteriormente, se separaron empleando la técnica de la electroforesis, mediante la cual se separan las proteínas en función de su peso molecular.

Como se conocen sus pesos y posiciones en los geles de acrilamida que se usan en la separación, los elementos que forman los complejos pueden ser caracterizados.

Según estos estudios, aquéllos están formados por anticuerpos de la clase IgM, IgG e IgA, representados por sus cadenas pesadas y ligeras. Por otra parte, y lo que es la conclusión más importante de este estudio, se detectó una molécula de peso molecular aproximado de 35.000 daltons, que no puede ser asignada a ninguna cadena de anticuerpo conocida, que, y nosotros sospechamos, puede ser el antígeno desencadenante de los inmunocomplejos y, por tanto, del proceso patológico que originan.

El marcaje de estos elementos con radiactividad, empleando el

Influencia del sistema nervioso central en la consolidación de las fracturas

Dres. Gerardo GARCÉS MARTÍN y René SERRAT TORSEQUITART

Resumen del Premio Fundación MAPFRE-SECOT

La hipótesis de nuestro trabajo surgió de una observación de la práctica diaria: La mayoría de los individuos que tras sufrir un accidente presentaban fracturas de sus miembros asociadas a daño cerebral de cierta intensidad, por el que debían de ser ingresados en la U.M.I. (Unidad de Medicina Intensiva), en poco tiempo producían un tejido reparador de sus fracturas (callo óseo) mucho mayor que individuos sin lesión de su cerebro. Varios artículos médicos confirmaban este hallazgo sin ponerse de acuerdo en su causa. Por el contrario, aunque no contábamos con datos estadísticos significativos, pudimos comprobar cómo algunos individuos que tenían una fractura y estaban sometidos a una fuerte tensión emocional, tardaban más en curar de sus fracturas que las personas que, por decirlo de algún modo, se lo tomaban con filosofía.

Ante estos antecedentes pensamos que el sistema nervioso debía jugar un papel muy importante en la consolidación de las fracturas y nos propusimos crear un modelo experimental que demostrase nuestra teoría.

Yodo 125 y su precipitación con sueros monoespecíficos, verificó los resultados anteriormente expuestos.

En resumen, se ha puesto a punto un sistema de purificación de inmunocomplejos a partir de lesiones artríticas. Esto nos permite estudiarlos y caracterizarlos. El resultado de dicho estudio es que están formados por anticuerpos y un posible antígeno de peso molecular 35.000.

Este método de separación podría ser empleado con fines diagnósticos en laboratorios de análisis clínicos y la separación de los complejos puede abrir la vía a métodos para disolverlos y así intentar una terapéutica de los procesos artríticos. ■



Radiografía de tibia de ratona a las dos semanas de fracturada.
HN-2: corresponde a un animal de control; pudiendo observarse la exuberancia de callo de fractura.
ST-2: Animal sometido a stress emocional donde se demuestra el retraso en la curación, con un callo de fractura muy escaso.

MÉTODOS Y RESULTADOS

Para realizar nuestro estudio utilizamos ratas blancas de laboratorio jóvenes y adultas para comprobar que los resultados fuesen los mismos a pesar de la edad. A todas, bajo anestesia, se les fracturaba un hueso de su pata trasera derecha. A continuación se dividían en dos grupos iguales, uno que serviría como control era permitido vivir en su hábitat normal, mientras que el otro era introducido en jaulas metálicas individuales con objeto de provocarles una tensión emocional importante que se asemejará a la vida stressante en que están inmersas muchas personas en nuestra sociedad.

Cada semana, durante cuatro, se sacrificaba la misma cantidad de animales enjaulados y controles y a todos se les realizaba una radiografía de la pata fracturada y luego se seguía con la misma un proceso de laboratorio encaminado a efectuar un estudio con microscopio óptico y electrónico.

Desde el principio pudo comprobarse que al callo de fractura en los animales stressados era menos vo-

luminoso que en los controles, hallazgo confirmado radiológicamente. El microscopio demostró que los cauces por los que transcurre la curación de la fractura eran prácticamente los mismos en ambos casos, pero con un evidente retraso cronológico en los animales sometidos a tensión emocional.

Los resultados obtenidos tras nuestro estudio confirmaban de este modo que, cuando el animal está influido por una situación de angustia vital, su organismo parece más «preocupado» por ese ambiente adverso que por resolver los procesos de reparación que de ese modo se ven enlentecidos.

Con las reservas propias que debemos tener a la hora de realizar una transposición de los hallazgos experimentales a la clínica humana, pensamos que la tensión psíquica a la que estamos sometidos en la actualidad puede ser la responsable de las diferencias en el tiempo de consolidación de fracturas en idénticas condiciones biológicas. ■

* N. R.—Los interesados en recibir una copia de los trabajos de investigación aquí resumidos, pueden solicitarse a Fundación MAPFRE o a los autores.