

Valoración de la Capacidad Antigénica de Extractos Tiroideos

Dr. J. R. Varea-Terán + y M. Paredes Suárez ++

Servicio de Endocrinología del Departamento Médico del Seguro Social Quito-Ecuador.

En 1955 Witebsky y E. Rose N. R., confirmaron la facultad antigénica de la Tiroglobulina, como principal antígeno del coloide folicular; también en el coloide se aisló posteriormente el antígeno llamado CA2 "Second Colloid Antigen", que es considerado como un antígeno específico de especie, pero no de órgano.

Belyavin y W. R. Trotter, localizaron el antígeno fijador de complemento en la fracción microsomal de los homogenizados de tiroides, que es un complejo lipotrópico insoluble.

Ultimamente se ha detectado el "factor citotóxico", que según Pulvertaf parece estar dirigido contra las células epiteliales del Tiroides.

El objetivo del presente trabajo ha sido valorar la capacidad antigénica de varios homogenizados del Tiroides, en su fracción microsomal. (Fig. 1).

MATERIAL Y METODOS.

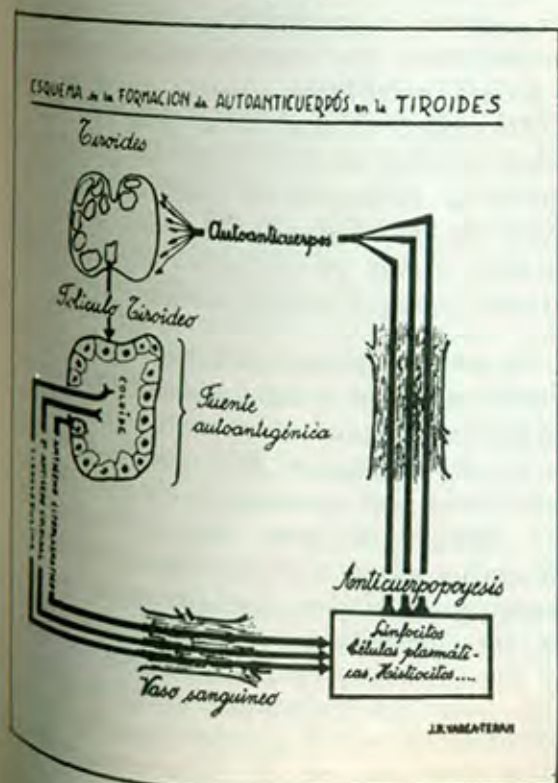
a) Preparación de los Antígenos.

Los tiroides utilizados para la preparación de los antígenos fueron recogidos inmediatamente. Veinte gramos de cada glándula fueron cortados en pequeños trozos y homogeneizados en un aparato mezclador con 4 volúmenes de buffer CET. El homogenizado se centrifuga luego a 1.500 r.p.m. durante 10 minutos, se extrae con una pipeta el sobrenadante, pipeteando lo más lejos posible de la capa superficial de grasa que se forma y se distribuye en pequeñas ampollas de 2 a 5 c.c. que se guardan en el congelador. Este extracto de tiroides, que queda al 20%, es posteriormente diluido según convenga para la realización del test.

b) Preparación del Buffer.

Este se prepara de la siguiente manera: 85 grs. de NaCl y 3.75 grs. de Na₂S₂O₅ dietilbarbiturato, se disuelven en 1 litro de agua. En otro frasco se disuelve 5.75 grs. de 5.5 dietilbarbiturato ácido en 500 c.c.

Fig. 1.

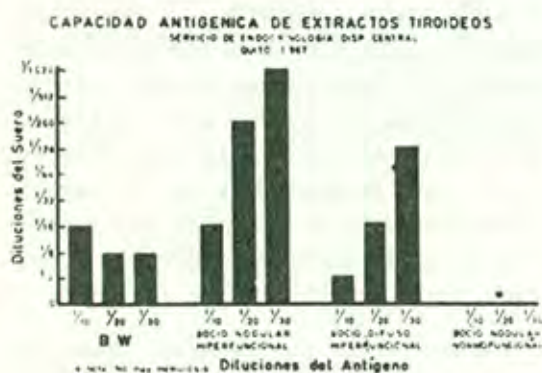


de agua caliente; luego se añade 5 c.c. de una solución que contenga 1 M. Mg. y 0.3 M Ca Cl₂. Se completa con agua hasta un volumen de 2 litros y se guarda a 4 C. Para usarlo se diluye 50 c.c. de la solución stock con 250 c.c. de agua destilada.

Los extractos de tiroides que demostraron alguna capacidad antigénica fueron los pertenecientes a un Bocio Nodular Hiperfuncional y a un Bocio difuso Hiperfuncional, (de los cuales se hizo el respectivo estudio histopatológico) los mismos que fueron titulados para determinar su potencia antigénica.

c) *Titulación de los antígenos.* Se realizan diluciones del antígeno y de un suero POSITIVO con Fijación de Complemento, partiendo de la dilución de 1/4 hasta 1.024. Se efectúa la titulación de una placa de plástico "Perpex", realizándola en "tablero de ajedrez", esto es, las diluciones del antígeno en el sentido vertical y las del suero positivo en el horizontal. La diluciones de los antígenos utilizadas fueron de 1/10, 1/20, 1/30, que encontramos como las más convenientes, después de haber practicado la reacción partiendo del antígeno total hasta la dilución de 1/100. Con el antígeno total no hay hemólisis. (Fig. 2).

Fig. 2.



Se realizaron todas las titulaciones antigénicas teniendo como antígeno control al de tiroides tirotóxico fabricado por la Burroughs Wellcome.

DISCUSION

Se considera útil un antígeno cuando fija el complemento del suero positivo a una dilución de 1/16 o mayor y no muestra poder anticomplementario a diluciones mayores de 1/4. Los antígenos de Bocio Nodular Hiperfuncional y Bocio Difuso Hiperfuncional preparados por nosotros cumplían estos requerimientos, lo mismo que el antígeno de la Burroughs Wellcome; sin embargo nuestros antígenos frescos demostraron tener mayor capacidad antigénica, sobre todo el del Bocio Nodular Hiperfuncional, con el cual se llegó a tener hemólisis total a una dilución del suero positivo de 1/1.024. (Fig. 3).

Si lo que se pretende con estas técnicas es conocer dentro de la patología autoinmunitaria la actitud de "autoagresión o plasmonocividad" del tejido tiroideo y si los títulos inmunológicos son variables según la naturaleza del antígeno, consideramos que resulta extremadamente difícil establecer valores medios con significación clínica y lo que es más, cuales son esos títulos ya que no puede ser similar la autoagresión que, con un antígeno es positiva a 1/16 (del suero estudiado) y con un antígeno fresco llega a 1024, para el mismo suero.

Se podría pensar que algunos de los elementos de la reacción de fijación de complementos: complemento, hemólisis, células de carnero al 6% podrían haber modificado los resultados de la titulación antigénica, pero hemos trabajado con todos estos reactivos inmunológicos frescos y titulados diariamente, lo que nos ha permitido también comprobar que los reactivos inmunológicos importados para determinación de anticuerpos "antimicrosomales" pierden su potencia quizás por que en el transporte no se

Fig. 3



cumplen los requerimientos de almacenaje para los mismos.

Consideremos pues, que si las condiciones en que se realiza una técnica de fijación de complemento para determinación de anticuerpos tiroideos antimicrosomales son las mismas, en lo que se refiere a la preparación de las células y al complejo hemolítico y hacemos variar la capacidad antigénica participando en la reacción, los títulos obtenidos son diferentes y por lo tanto la utilidad clínica de la prueba condicionada a la potencia inmunológica del antígeno utilizado. Se debe por lo tanto practicar la detección de anticuerpos tiroideos antimicrosomales con reactivos inmunológicos frescos y fundamentalmente con un antígeno de Tiroides Hiperfuncional a la dilución de 1/30, tomado del homogenizado que queda al 20% después de preparado.

RESUMEN:

Se ha preparado homogenizados de glándulas tiroideas y se ha determinado su capacidad antigénica en lo que a la detección de anticuerpos tiroideos antimicrosomales se refiere. Para ello, trabajando con reactivos inmunológicos frescos, los antígenos han sido titulados frente a un suero positivo fijador de complemento, demostrándose que la capacidad antigénica de los tiroides hiperfuncionales es mayor y que los valores obtenidos son de mayor significación clínica.

CONCLUSIONES.

1. Para practicar la técnica de F. de C., utilizada en la detección de autoanticuerpos antimicrosomales debe utilizarse un antígeno fresco de tiroides hiperfuncional.

2. Los reactivos inmunológicos importados, pierden su potencia posiblemente por condiciones anormales de almacenamiento durante su transporte y para ser utilizados deben ser nuevamente titulados, sobre todo en lo que se refiere a la hemólisis y al complemento.

3. Los títulos de autoagresión son variables en relación a la potencia antigénica, en este sentido aquellos que sean altos, obtenidos con un antígeno hiperfuncional fresco, deben considerarse su significación clínica.

4. Se tratará de obtener en el futuro valores medios (al estudiar más sueros), que nos sirvan de pauta para afirmar cuando exista "autoagresión tiroidea", si junto a positividad inmunológica se cumplen los otros, ya clásicos postulados de Witebsky.

+ Jefe del Servicio de Endocrinología del Departamento Médico del Seguro Social. Quito - Ecuador.

++ Jefe de Laboratorio Hormonal del Seguro Social. Quito - Ecuador.

BIBLIOGRAFIA

- WITEBSKY, E., ROSE, N. E., and TERPLAN.: Chronic Thyroiditis and Autoimmunización. *JAMA*, **164**, pág. 1.439. 1957.
- WITEBSKY, E. ROSE, N. R.: Studies on Organ Specificity. IV.- Production of Rabbit thyroid antibodies in the rabbit. *J. Immunology* **76**, 408, 1956.
- WITEBSKY, E. ROSE, N.: Studies on Organ Specificity. VII.- Production of Antibodies to Rabbit Thyroid by Injection of Foreign Thyroid Extracts. *J. Immunology*, **83**, 41, 1959. Studies on Organ Specificity.- VIII.- Production of Antibodies to Rabbit Thyroid.
- SHULMAN, R., ROSE, N. R., and WITEBSKY, E.: Studies on Organ Specificity III Ultracentrifugal and Electroforetic Examinations of the Thyroid Extracts. *J. Immunology* **75**: 291, 1955.
- ROSE, N. R. and WITEBSKY, E.: Studies on Organ Specificity, V.- Changes in the Thyroid Glands of Rabbits. Following Active Immunization with Rabbit Thyroid Extracts. *J. Immunology* **76**, pág. 417-427, 1956.
- ROSE, N. R. and WITEBSKY, E.: Studies on Organ Specificity, VI.- Cross - reaction of Thyroid Autoantibodies with Thyroid of other Species. *J. Immunology*.
- ANDERSON, J. R., GOUDIE, R. B., GRAY, K. G.: Complement Fixing Autoantibody to Thyroglobulin in Hashimoto's disease. *Lancet* **1**, pág. 644-647, 1959.
- PULVERTAFT, R. J. V. DONIACH, D. HUDSON, R. V.: Cytotoxic effects of Hashimoto serum on human thyroid cells in tissue culture. *Lancet* **2**, pág. 214, 1959.
- J. GORDON, B., ROSE, M. D. and A. H. SENON.: Detection of "non-precipitating" antibodies in sera of individuals allergic to ragweed pollen by an in vitro method. *Journ. Exp. Med.* pág. 37, 108, 1958.
- ANDERSON R. B., GOUDIE, R. B., K. G. GRAY.: Complement Fixing Autoantibody to Thyroglobulin in Hashimoto's disease. *Lancet* **1**, pág. 644-647, 1959.
- DONNELLY, M., C. F. T. Method. *Aust. J. Exp. Med. Sci.* **29**, 173, 1951.
- KOLMER, J. A., LINCH, E. R.: (Técnica de Fijación de Complemento). (*Amér. J. Clin. Path.*, **12**, 109 1942).