



PURIFICACIÓN DE ANTICUERPO ANTICARDIOLIPINA IgG Y ESTUDIOS DE UNIÓN A DIFERENTES TIPOS DE PLAQUETAS

**MARCELO ALARCÓN LOZANO
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

RESUMEN

Los pacientes portadores del síndrome antifosfolípido (SAF), pueden presentar trombosis, abortos espontáneos a repetición y trombocitopenia. Para unirse a la membrana plaquetaria los anticuerpos antifosfolípidos (Ac-a"FL"), requieren de la exposición de fosfolípidos aniónicos, lo que ocurre cuando las plaquetas sufren algún grado de activación, y la presencia de un cofactor, la β_2 -glicoproteína I (S_2 -GPI), proteína que presenta una alta afinidad por los fosfolípidos cargados negativamente. Al unirse a los fosfolípidos, la S_2 -GPI sufre un cambio conformacional, que genera un neoantígeno al que se unen los Ac-a"FL".

A partir del suero de un paciente portador de Lupus Eritematoso Sistémico (LES), se purifico por afinidad en una columna cardiolipina-colesterol (CL-Col) y posteriormente en una columna proteína A-sepharosa un anticuerpo anticardiolipina (AcaCL) IgG. Por otra parte, a partir de un suero normal, la S_2 -GPI fue purificada por precipitación con ácido perclórico, y luego separada por una columna sepharosa 2B. Ambas proteínas fueron monitoreadas a 280 nm. La purificación de ambas fue evaluada por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), y la actividad del Ac-aCL fue estudiada por un ELISA de fase sólida.

Además se realizaron ensayos de unión del Ac-aCL IgG a diferentes tipos de plaquetas (activadas con ionosforo de calcio, congeladas-descongeladas, almacenadas, lavadas con PBS-EDTA/ PGE_1 y

filtradas en gel), en presencia y ausencia de 5₂-GPI. En ausencia de 8₂-GPI no se encontró correlación entre la unión del anticuerpo y el recuento plaquetario, en cambio al adicionar B₂-GPI, dicha correlación si fue observada. Además se encontró que en presencia de 5₂-GPI, las plaquetas activadas con ionosforo de calcio, congeladas-descongeladas y almacenadas, inhiben la actividad anticardiolipina en un porcentaje significativamente mayor (95%, 92% y 90%, respectivamente), que las plaquetas lavadas y filtradas en gel (30% y 25%, respectivamente). Estos resultados permiten concluir que la unión del Ac-aCL a las plaquetas, aumenta en presencia de 5₂-GPI y cuya unión del anticuerpo es mayor en plaquetas activadas con ionosforo de calcio. Por la implicancia fisiopatológica, se destaca que los Ac-aCL también se unen, aunque en menor grado, a plaquetas filtradas en gel que serian mas similares a las plaquetas circulantes, pudiendo representar este un mecanismo de remoción fisiológico de plaquetas desde la circulación.