

## Resumen

En el suero de humanos y murinos sanos se detectan anticuerpos contra antígenos propios, llamados autoanticuerpos naturales (revisado por Avrameas, 1991). En particular, en humanos se distinguen las aglutininas frías que reconocen el antígeno eritrocitario I (Wiener y col., 1956). Se ha propuesto que las aglutininas frías naturales podrían participar en la eliminación de eritrocitos envejecidos (Goñi y col., 1990). Esta idea se apoya en el hecho de que el tratamiento de eritrocitos *in vitro* con proteasas aumenta la reactividad de las aglutininas frías, por lo cual podría tratarse de antígeno previamente inaccesible. Se sugiere que *in vivo* podría ocurrir algún mecanismo semejante que permitiera exponer mayor concentración de antígeno I en eritrocitos envejecidos.

En este trabajo se estudió si las aglutininas frías reaccionan en forma diferencial frente a los eritrocitos con distinto grado de envejecimiento.

Para ello en primer lugar se separaron eritrocitos de diferente grado de envejecimiento, utilizando gradientes de densidad, ya que está descrito que existe correlación entre densidad y edad. El grado de envejecimiento de las distintas fracciones se evaluó de acuerdo a algunos marcadores de edad anteriormente descritos (Branch y col., 1983). Con un nivel de significación del 5% se encontraron diferencias significativas, tanto en el porcentaje de reticulocitos como en el porcentaje de hemoglobina glicosilada, entre las poblaciones de edades extremas y la media de los eritrocitos.

En segundo lugar, se estudió la interacción entre las aglutininas frías y los eritrocitos de edades extremas. Para ello se optimizó un ensayo de alta sensibilidad que permitió determinar el número de sitios de antígeno I por eritrocito. Esto requirió en primer lugar purificar la aglutinina fría y en segundo lugar marcarla con  $^{125}\text{I}$ . Los resultados sugieren que la incorporación de yodo en residuos de tirosina, ligadas al sitio activo, afectó su actividad biológica en tanto que en residuos de lisina permaneció inalterada.

En términos generales se encontró que el número de sitios de antígeno I por eritrocito en adultos normales fue de  $(27.000 \pm 9.000)$  en tanto que con eritrocitos tratados con papaína fue de  $(80.000 \pm 20.000)$ , siendo en cada individuo el número de sitios de antígeno I en eritrocitos sin tratar entre un medio y un tercio de los expuestos luego del tratamiento. Esto último es consistente con la idea de que la reactividad de las aglutininas frías con los eritrocitos tratados con papaína se debe a un aumento en el número de sitios expuestos.

La reproducibilidad del ensayo fue baja, lo cual no permitió discriminar si se producen pequeñas variaciones en la exposición del antígeno I en las fracciones de eritrocitos de diferente grado de envejecimiento que pudiesen tener un rol *in vivo*. Se estudió la incidencia de algunas fuentes de error del ensayo con el objetivo de optimizarlo.