

**EL TEST DE LA INHIBICIÓ DE LA MIGRACIÓ  
DELS MACRÒFAGS**

Comunicació presentada el dia 21 de desembre de 1972  
pels doctors

**A. CASTELLS i RODELLAS**

i

**T. CASTEL i RODÓ**

Del Departament i Escola Professional de Dermatologia i Venereologia  
de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona  
(Catedràtic Director: Prof. Dr. Joaquim Piñol i Aguadé)

El 1932, RICH i LEWIS,<sup>7</sup> treballant amb explantaments de melsa d'animal sensibilitzat a la tuberculina, veieren que si hom afegia tuberculina al medi de cultiu artificial, inhibia llur creixement. Hagueren de passar gairebé trenta anys perquè hom s'adonés de la importància d'aquest fet. El 1963, CARPENTER<sup>2</sup> aconseguí de demostrar que les cèl·lules que resten inhibides són els macròfags. GEORGE i VAUGHAN<sup>4</sup> reproduïren el fenomen amb cèl·lules lliures extretes de l'exsudat peritoneal d'animals. Més tard, DAVID<sup>3</sup> en modificà la tècnica bo i introduint dins tubs capil·lars les suspensions cel·lulars i mesurant l'àrea determinada per la sortida d'aquestes. La comprovació que aquesta inhibició seguia un curs paral·lel a la reactivitat tardana de la pell del donador de les cèl·lules representà la troballa d'un mètode de mesuració de la hipersensibilitat tardana reproducible *in vitro*.

BLOOM i BENNET,<sup>1</sup> el 1966, demostraren que, si en una suspensió de macròfags hom afegeix un antigen al qual el donador està sensibilitzat, no hi ha inhibició de la migració; això només és possible si l'antigen ha entrat en contacte amb els limfòcits abans que amb els macròfags, i fa pensar en l'alliberament d'un factor capaç de provocar aquest fenomen. PICK i TURK,<sup>5</sup> en una recent revisió dels factors alliberats pels limfòcits, assenyalen els següents (només anotem els que tenen acció sobre els macròfags):

- 1) Factor d'inhibició de migració dels macròfags (MIF).
- 2) Factor quemoatàctic per macròfags (*in vitro*).
- 3) Factor d'agregació de macròfags en suspensió.
- 4) Factor que promou la fagocitosi pels macròfags d'animals no sensibles.
- 5) Factor causant de canvis morfològics cel·lulars.
- 6) Factor que inhibeix l'estirament dels macròfags.
- 7) Factor d'activació dels macròfags que provoca l'alliberament de substàncies solubles per part dels macròfags.

De tots ells, el que ens interessa és el factor d'inhibició de la migració dels macròfags o MIF. En sabem, segons diversos estudis, que és una glicoproteïna, d'un pes molecular de 67.000. La seva activitat es destrueix per l'acció de la tripsina i de la neuroaminidasa, però, per contra, no es

perd per tractament amb RNA-asa i DNA-asa. Les temperatures altes, al voltant de 60 °C, i també les baixes, li fan perdre activitat.

#### MATERIAL I MÈTODES

Hom estudia uns malalts del Departament de Dermatologia i Venereologia de la Facultat de Medicina de Barcelona mitjançant la tècnica següent:

Hom fa un cultiu de limfòcits dels malalts, al qual s'afegeixen diferents antigens a la concentració adequada a cadascun d'ells. Al cinquè dia, hom recull el medi de cultiu sense les cèl·lules i el concentra per diàlisi. Quatre dies abans ha estat injectat per via peritoneal a un cobai, amb oli de parafina estèril. Cal obrir la cavitat peritoneal i rentar-la amb líquid de Hanks per a obtenir els macròfags. Aquests són col·locats dins tubs capil·lars i incubats en unes cambres juntament amb el sobrenedant dels cultius de limfòcits. Hom els manté durant 24 hores a 37 °C, i tot seguit, i amb l'ajut d'una ampliadora, hom projecta sobre un paper fotogràfic l'àrea determinada per la sortida dels macròfags. Ensenms, hom fa un control amb un cultiu de macròfags i medi de cultiu sense antigen i que no hagi estat en contacte amb els limfòcits. El resultat és obtingut aplicant la següent fórmula matemàtica:

$$\text{Percentatge d'inhibició de la migració} = 100 - \frac{\text{Àrea de cultiu estimulat}}{\text{Àrea de cultiu no estimulat}}$$

#### RESULTATS

1) *Sensibilització a medicaments.* — Són estudiats mitjançant aquest test 82 malalts que havien presentat signes de sensibilització a medicaments. Els resultats són els següents:

Test de transformació limfoblàstica — 76 % de positivitats.

Test de la inhibició de la migració — 57 % de positivitats.

2) *Malalts amb reticulosi.* — Són estudiats 5 malalts en diferents fases de reticulosi mitjançant aquesta prova i emprant antigens microbians (Candidina, PPD, Microsporina, Tricofitina). En tots ells el test és positiu, i la migració és inhibida; solament surten negatius aquells en què tant la intradermoreacció com el test de transformació limfoblàstica eren negatius.

3) *Granulomes moniliàsics*. — Són estudiats amb el test 2 malalts amb aquesta malaltia. En un d'ells, J. B. V., hi ha una baixa global de totes les seves respostes immunitàries; tant és així que representen el 45 % dels valors considerats com a normals i obtinguts entre persones considerades sanes.

En l'altre, A.G.A., hom troba una manca de síntesi del factor d'inhibició dels macròfags.

Tractats tots dos amb limfòcits de persones sanes, histocompatibles i amb intradermoreaccions positives a la Candidina, hom obté una positivització de les proves que dura unes tres setmanes.

#### COMENTARI

En les sensibilitzacions medicamentoses solament sortirà un resultat positiu quan hi haurà participació de la immunitat tardana; això ens permet d'explicar els resultats, en els quals solament un percentatge d'un 57 % és positiu al test.

En la reticulosi, el fet de trobar positivitat en quasi tots els malalts és degut al fet que sempre resten clons limfocitaris normals, i aquests, en presència d'un antigen, són capaços de respondre amb normalitat. Si tenim en compte que, quan la concentració de MIF és de 40 ng, ja es manifesta la inhibició, pràcticament tots els malalts sintetitzen el factor. Per això no és una prova molt adequada per a l'estudi de les reticulosis.

En els granulomes moniliàsics aquesta prova té molta utilitat per tal com situa el defecte immunològic en alguna de les fases del procés. Així, en el segon cas hi ha una manca d'aquest factor i permet de catalogar-lo dins el segon grau d'immunodèficit segons Lehrer. Per contra, en el primer cas es tractaria d'un cinquè grau. També la terapèutica i els seus efectes poden ésser estudiats a través d'aquesta prova.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BLOOM, M. i BENNET, A.: *Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed tipe hypersensitivity*. «Science», 153: 80 (1966).
2. CARPENTER, J.: *In vitro studies of cellular hypersensitivity I. Specific inhibition of migration cells from adjuvant-immunized animals by purified derivative protein and other protein antigens*. «J. Immunol.», 91: 803 (1963).
3. DAVID, J.: *Macrophage migration*. «Fed. Proc.», 27: 6 (1965).
4. GEORGE, A. i VAUGHAN, C.: *In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity*. «Proc. Soc. exp. Biol.» (N. Y.), 111: 514 (1962).

5. PICK, R. i TURK, T.: *Soluble lymphocyte products*. «Clin. Exp. Imm.», 10: 1 (1972).
6. PIÑOL, J., CASTELLS i RODELLAS, A., LECHA, M., ROMAGUERA, C., CASTEL, T. y MONTIS, J.: *Problemas inmunológicos de ciertas micosis cutáneas*. «Med. Cutánea», 6: 275 (1972).
7. RICH, C. i LEWIS, M.: *The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies*. «Bull. St. Hopk. Hosp.», 50: 115 (1932).