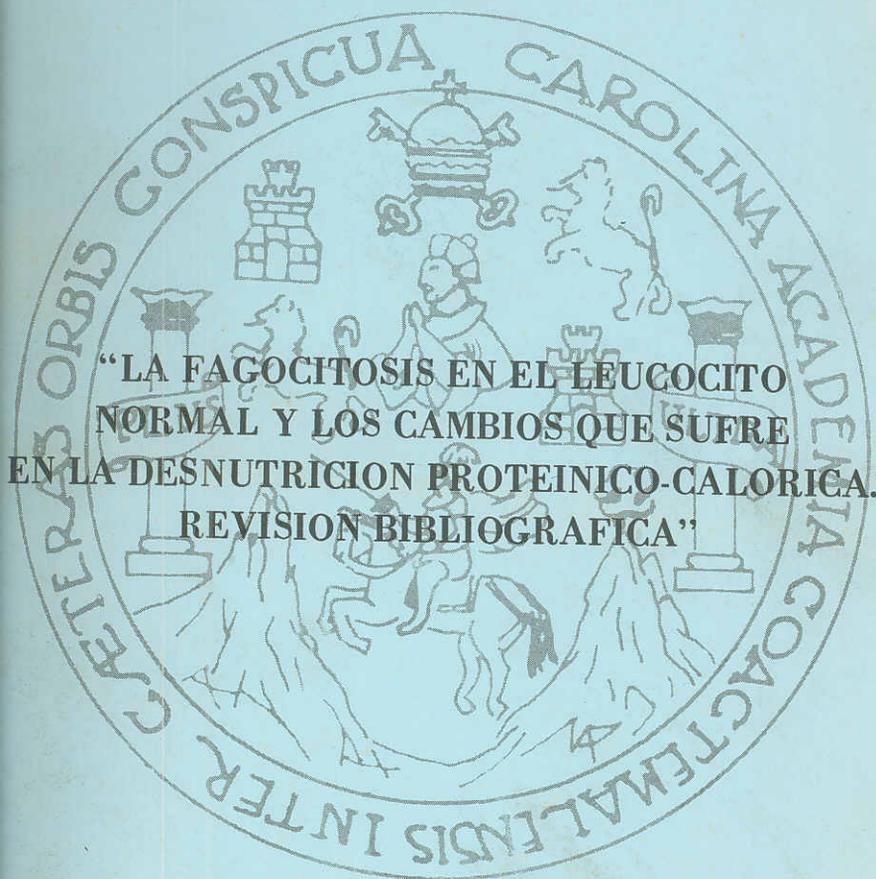


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS



**JUAN LUIS SIEKAVIZZA GIRON**

Guatemala, Mayo de 1975.

## PLAN DE TESIS:

1. INTRODUCCION.
2. OBJETIVOS.
3. LA FAGOCITOSIS NORMAL.
4. LA FAGOCITOSIS EN LA DESNUTRICION.
5. CONCLUSIONES.
6. RECOMENDACIONES.
7. SUMARIO.
8. BIBLIOGRAFIA.

## INTRODUCCION

La desnutrición proteínico-calórica es uno de los diagnósticos que se hacen al ingreso al hospital en un elevado número de pacientes. Sola o en asociación con diversas enfermedades, es un azote para la población de los países en vías de desarrollo. En nuestro país, por ejemplo, los investigadores del INCAP han encontrado que 73.40/o de los niños menores de cinco años padecen de desnutrición proteínico-calórica en algún grado (55). Debido a su frecuente complicación o asociación con enfermedades infecciosas, sobre todo en la infancia, se han hecho innumerables esfuerzos en los últimos años, para comprender los fenómenos que suceden en los diversos órganos y sistemas de defensa del paciente desnutrido.

Existe evidencia desde hace varios años, de que la desnutrición aumenta la susceptibilidad del huésped a la infección (43).

Esta susceptibilidad está dada por una respuesta insuficiente a la infección, lo que permite a los gérmenes multiplicarse en el organismo, y en determinados casos, producir una infección de efectos devastadores.

El organismo normal tiene varias líneas de defensa contra la infección. La piel y las mucosas están dispuestas anatómica y fisiológicamente para prevenir el ingreso de microorganismos, constituyéndose en la primera línea de defensa, junto con algunos de sus productos, como ácidos grasos y enzimas. Estas barreras se consideran como defensas no específicas, y normalmente son suficientes para mantener sano al organismo la mayor parte del tiempo, pero pueden ser rotas por traumatismo físicos o químicos y expuesto a la contaminación.

En el caso de que haya ingreso de los microorganismos al cuerpo, actúan los sistemas internos de defensa, que son los más importantes, e incluyen: a) La producción de anticuerpos (defensa humoral); y b) La actividad fagocitaria (defensa celular).

La importancia de la desnutrición en la producción de anticuerpos ha sido estudiada extensamente, y se ha encontrado que una severa deficiencia de diversos nutrientes, como proteínas, calorías, vitaminas y minerales (en especial hierro), interfiere con la producción de anticuerpos (11, 35, 42, 43).

En un experimento llevado a cabo por Nalder y colaboradores (35), en el que varios lotes de ratas fueron alimentadas con dietas de calidad nutritiva progresivamente disminuída, por diluciones cada vez mayores con sucrosa, se encontró que la producción de anticuerpos fue directamente proporcional a la deficiencia de la dieta. Basándose en estos hallazgos, Nalder y colaboradores, propusieron la determinación de los niveles de anticuerpos como un índice del grado de desnutrición proteínico-calórica.

En la actualidad la información que se tiene sobre los efectos de la desnutrición en la fagocitosis, es escasa y, en ocasiones contradictoria. La razón de esta se halla en que los primeros investigadores medían únicamente la fase de ingestión de la fagocitosis y no encontraron diferencia significativa (3, 9). Posteriormente, se han usado parámetros metabólicos más cuantitativos, que miden también la fase digestiva de la fagocitosis. Estos experimentos demostraron que los polimorfonucleares neutrófilos de pacientes desnutridos, tiene una marcada reducción en la capacidad de lisar células o partículas extrañas.

Indudablemente al diseñarse experimentos más completos, disponiendo de pruebas más sensibles, se descubrirán otros aspectos del problema, que aclararán el cuadro.

## OBJETIVOS

- 1o. Hacer una revisión del mecanismo de la fagocitosis en el leucocito normal, siguiéndolo en sus cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos.
- 2o. Hacer una revisión de los conocimientos actuales sobre el comportamiento del leucocito proveniente de un paciente desnutrido.
- 3o. Establecer una relación entre el metabolismo del leucocito y susceptibilidad a la infección del paciente desnutrido, a través de una fagocitosis inefectiva.

## LA FAGOCITOSIS NORMAL

Esta importante propiedad de los leucocitos fue descubierta por Metschnikoff en 1883, y consiste en la capacidad de englobar en su protoplasma a células o partículas. La poseen los polimorfonucleares y en especial los neutrófilos (microfagos), que engloban en la sangre a corpúsculos pequeños y bacterias. También la muestran los monocitos e histiocitos (macrófagos) tisulares, entre los que se encuentran células de Kupffer y macrófagos alveolares, y que engloban elementos más voluminosos, como eritrocitos, células dañadas, etc. Estos macrófagos se originan de los histiocitos, monocitos y linfocitos de los tejidos, y tienen en común la propiedad de fagocitar. El conjunto de los elementos fagocitarios fijos constituye el sistema retículo endotelial.

La fagocitosis por los polimorfonucleares neutrófilos inicia una secuencia de cambios morfológicos y bioquímicos, que conducen, la mayoría de las veces, a la muerte de los organismos ingeridos.

La fagocitosis juega un papel muy importante en el delicado equilibrio entre el huésped y el microorganismo patógeno. La virulencia de ciertos organismos se debe en parte a su habilidad de resistir la ingestión por los leucocitos; la virulencia de otros se debe a que son inmunes a las reacciones microbicidas intracelulares y permanecen en el interior de las células a salvo de los sistemas microbicidas del suero y de la acción letal de aquellos antibióticos (62) que no atraviesan la pared celular. Una fagocitosis efectiva durante el curso inicial de una invasión bacteriana puede limitar la diseminación de la misma y prevenir la infección clínica resultante; en contraste, una fagocitosis deficiente, si la actividad bactericida y bacteriostática del suero es inefectiva, puede llevar a una multiplicación bacteriana incontrolable y a una infección abrumadora. Por estas razones, la fagocitosis es un factor determinante y muy importante en la resistencia del huésped a la infección.

El proceso fagocítico puede ser dividido en cuatro fases distintas: quimiotaxis, opsonización, ingestión y digestión.

**a) Quimiotaxis:**

Es el movimiento unidireccional de fagocitos hacia la bacteria, atraídos por compuestos químicos y resultante en la acumulación de leucocitos en el foco de inflamación (15).

En la quimiotaxis participan polimorfonucleares neutrófilos, que empiezan a llegar inmediatamente después de que aparecen el estímulo, y monocitos que lo hacen unas 12 horas después.

**Factores quimiotácticos:**

Tres sustancias producidas por el sistema de complemento sérico al ser activado por complejos antígeno-anticuerpo, se ha encontrado que tienen actividad quimiotáctica (14);

- 1) Un complejo trimolecular formado de los componentes C5, C6, y C7, nombrado como C567, es generado de componentes purificados del sistema de complemento, después de reacciones por los componentes C1, C4, C2 y C3; los otros integrantes del sistema de complemento no son necesarios para la formación de C567. Este complejo es estable al calor, no dializable y no posee especificidad de especie (58).
- 2) Se ha encontrado que la plasmina, la tripsina, las proteasas y la C3 convertasa separan un pequeño fragmento de C3, llamado C3a, que es dializable (su peso molecular es de 6000) y lábil al calor (57).
- 3) Un péptido de bajo peso molecular con actividad anafilotóxica y quimiotáctica, llamado C5a, se ha producido del componente C5 purificado, sin la participación de C6 ó C7 (47).

Los leucocitos por su parte, al ingerir partículas, forman factores quimiotácticos, independientemente de la presencia de suero (60). Los gránulos y los extractos de polimorfonucleares son quimiotácticos, además los polimorfonucleares neutrófilos activan kaliceína, C3a, C5a, y C567 del suero, mientras los eosinófilos y monocitos producen C3a y C5a. Por otra parte, las bacterias, los filtrados de cultivos bacterianos, las proteínas bacterianas y los lipopolisacáridos son capaces de iniciar la quimiotaxis (16). También la activación del factor de Hageman de la coagulación, produce dos agentes quimiotácticos la kaliceína y el activador del plasminógeno (25, 26). Los linfocitos en respuesta a antígenos elaboran en ciertas ocasiones, linfokinas, que entre otras propiedades son factores quimiotácticos (2).

**b) Opsonización:**

Las opsoninas (del griego: opsono, "yo preparo la comida para") son componentes del suero que facilitan la fagocitosis de bacterias, alterando las características físico-químicas de su pared. Hay varias sustancias que pueden actuar como opsoninas. Por ejemplo, anticuerpos específicos (20, 56), anticuerpos naturales y otros componentes del suero distintos del anticuerpo y del complemento (20).

Las opsoninas fueron demostradas por Wright y Douglas en 1903, quienes posteriormente demostraron que su acción era sobre las bacterias y no sobre el leucocito.

Las opsoninas pueden ser estables o lábiles al calor (61). Las primeras son anticuerpos específicos para antígenos de superficie de los microorganismos (29, 56), mientras que las últimas forman parte del sistema sérico de complemento (23). Las inmunoglobulinas G y M funcionan como opsoninas, anticuerpo específicas, contra antígenos capsulares (40); de ellas, las subclases IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> participan de una manera más activa en la opsonización. Aunque no se sabe si actúan anulando la propiedad antifagocítica de la cápsula bacteriana, o formando

una unión entre la bacteria y el fagocito, se cree que el anticuerpo se combina con el antígeno bacteriano en la parte F (ab) de su molécula, quedando la parte Fc libre para combinarse con el sitio receptor específico del leucocito (32). Los sitios Fc y F (ab) tienen que estar intactos para que haya fagocitosis (39).

Un segundo mecanismo por el que puede suceder la opsonización es el de la acción combinada del anticuerpo específico y el sistema de complemento sérico (56). Recientemente se ha demostrado que son los primeros cuatro de los nueve componentes del sistema de complemento, los que funcionan como opsoninas (24); la secuencia parece ser: La activación de C1 genera un compuesto bimolecular formado por C42, llamado también C3 convertasa, que divide C3 en los compuestos activos C3a, que como vimos es quimiotáctico y anafilotóxico, y C3b, para el que se han demostrado sitios receptores en la membrana del leucocito (22,30). Aparentemente C3b funciona como un lazo de unión entre la bacteria y el leucocito.

El tercer mecanismo de opsonización ha sido recientemente descrito (49), e incluye una vía alterna para activar C3, sin necesidad de pasar por C142. Funciona en animales no inmunes y se destruye por calor (más de 56°C). La vía alterna de C3b fue sugerida por Pillemer y colaboradores hace 15 años (38). Nuevos estudios han encontrado que consta del sistema de properdina, C5, magnesio y proteínas aún no bien identificadas (49). Este sistema es muy importante para la respuesta a la infección, en las etapas previas a la formación de anticuerpos, porque está presente antes del estímulo productor de la respuesta inmunológica.

El fragmento C3a es un péptido de peso molecular 70000, muy resistente al ataque por agentes físicos y que se une a la bacteria por firme unión hidrofílica, la cual puede ser rota por una enzima proteolítica, también llamada inactivador de C3a.

### c) Ingestión:

Depende de factores celulares tan diversos, como madurez de la célula, la presencia de receptores específicos en la pared del leucocito y el potencial energético de la célula. Para la ingestión se requiere del contacto íntimo entre las superficies del fagocito y la bacteria, lo que resulta en diferencias de tensión superficial entre la bacteria, el medio ambiente y el leucocito. Este contacto genera una carga positiva en los polimorfonucleares neutrófilos, que es necesaria para la ingestión.

Se ha encontrado que los polimorfonucleares neutrófilos, los monocitos y los macrófagos tisulares fijos tienen sitios receptores específicos para la unión con ciertos tipos de microorganismos (30).

Observaciones directas han demostrado que la membrana externa del fagocito se extiende hacia la bacteria con un movimiento similar al de la migración; cuando hacen contacto, el citoplasma se extiende formando pseudópodos, que se unen entre sí en el extremo distal de la bacteria, envolviéndola. La membrana externa fija a la bacteria en su sitio receptor, es internalizada, arrastrando con ella a la bacteria. Se forma la vacuola fagocítica, que entonces se mueve de la periferia al interior de la célula fagocítica. Este es un proceso determinado también por factores extra celulares, tales como la temperatura, el pH y la presión osmótica del medio ambiente (10).

La ingestión de partículas es un proceso activo que necesita de energía para realizarse. La ingestión activa los procesos productores de ATP, especialmente, glucólisis y glucogenólisis en los polimorfonucleares neutrófilos, y la fosforilación oxidativa en los macrófagos alveolares (19). La ingestión es inhibida por venenos metabólicos que interfieren con los mecanismos de producción de energía.

Cambios considerables ocurren en el metabolismo de los lípidos durante el remodelamiento de la membrana, como aumento de la incorporación de fósforo inorgánico a

fosfolípidos, y aumento en el recambio de ácidos grasos, aunque sin variación en el contenido total de lípidos de la membrana.

#### d) Digestión:

Esta parte del proceso de fagocitosis se ha dividido en tres etapas (7):

- 1a. Degranulación de los lisosomas del citoplasma.
2. Incremento en el metabolismo oxidativo del leucocito, que suministra algunos de los elementos necesarios para la siguiente etapa.
- 3a. Muerte y digestión de la bacteria en la vacuola fagocítica.

#### Degranulación:

Después de formarse la vacuola fagocítica, los gránulos lisosómicos del citoplasma se adhieren a ellas, las membranas intermedias se funden y el contenido de los gránulos pasa a la vacuola que contiene líquido extracelular, ingerido junto con la bacteria (17). Los gránulos contienen una gran cantidad y variedad de enzimas digestivas y proteínas con actividad bactericida, rodeadas por una membrana lipídica. Los polimorfonucleares neutrófilos humanos contienen dos tipos de gránulos, los gránulos primarios formados en el promielocito de la médula ósea, que contienen enzimas hidrolíticas como las fosfatasa ácida, beta-glucuronidasa y mieloperoxidasa; y los gránulos secundarios, que aparecen en el mielocito y contienen fosfatasa alcalina, lactoferrina, y lisozima, todas ellas con actividad antimicrobiana (59).

Los gránulos se funden en la vacuola a diferentes velocidades (52). Stossel y colaboradores encontraron que los gránulos primarios se unen a la vacuola antes que los secundarios (8).

Los corticosteroides, las drogas antipalúdicas y otros agentes inhiben la degranulación, por su capacidad de evitar la

ruptura de la membrana de los lisosomas, de inhibir la ingestión o para interferir con el mecanismo de degranulación (60).

#### Estimulación del metabolismo oxidativo:

Después de que bacterias o partículas son añadidas a una suspensión de leucocitos, aparece en la célula, un incremento en el consumo de oxígeno, en la producción de peróxido de hidrógeno y en la oxidación de la glucosa a través de la vía de la hexosa monofosfato (5). Esto último, ha sido fácilmente comprobado por la medición de  $^{14}\text{CO}_2$ , formado a partir de la glucosa  $1\text{-}^{14}\text{C}$ .

La respiración del fagocito en ausencia de sustrato exógeno se debe, por lo menos en parte, a glucogenólisis, ya que se ha demostrado una disminución de ácido láctico, en especial en condiciones anaeróbicas.

El incremento del metabolismo oxidativo está en relación con la formación de peróxido de hidrógeno, que como veremos, interviene a su vez en el proceso de lisis bacteriana.

La síntesis de peróxido de hidrógeno en los polimorfonucleares neutrófilos, monocitos y en algunos macrófagos peritoneales se ha demostrado que no es inhibida por venenos metabólicos, como el cianuro, permitiendo deducir que la síntesis depende de mecanismos distintos de la oxidación para realizarse. La toxicidad del cianuro es debido a su reacción rápida con el hierro trivalente de la citocromo oxidasa. El papel de la enzima en la utilización celular del oxígeno es inhibido por la formación del complejo citocromo oxidasa-cianuro.

Los puntos sobresalientes de la estimulación del metabolismo oxidativo son:

- i) Un aumento en el consumo de oxígeno;
- ii) Aumento de la actividad de la vía de la hexosa monofosfato (21);

- iii) El incremento en la producción de peróxido de hidrogeno (18).

Todos ellos se han reportado que se encuentran en íntima relación con las facultades bactericidas intracelulares del fagocito, y que no son necesarias para la ingestión de la bacteria o partícula (44).

Como medida del incremento del metabolismo oxidativo y de la producción de peróxido de hidrógeno durante la fagocitosis, se ha usado la prueba de reducción del azul de nitro tetrazolium (37). Este es un colorante amarillo pálido, que al incubarse con leucocitos activos es ingerido por ellos, participa en el metabolismo oxidativo y es reducido a gránulos de formazán de color azul intenso. De esta manera, se puede determinar cuantitativamente el número de células capaces de fagocitar, contando las que poseen los gránulos azules en su interior (36, 37).

La prueba de reducción del azul de nitro tetrazolium había sido menospreciada en los años pasados, considerándola una prueba menos específica para investigar la presencia de una infección (51), que otras pruebas ya conocidas (recuento y fórmula de leucocitos, eritrosedimentación, recuento de granulaciones tóxicas, etc.) y por lo tanto, de poca utilidad práctica. Investigaciones recientes han aclarado ciertos aspectos del mecanismo de la prueba y al concederle su verdadero valor, han abierto un campo amplio de aplicación clínica y experimental (31).

Desde el punto de vista enzimático, el incremento del metabolismo oxidativo se puede dividir en dos mecanismos:

1. La oxidasa primaria responsable del aumento del consumo de oxígeno y de la producción de peróxido de hidrogeno.
2. El enlace entre la actividad de esta oxidasa y la oxidación aumentada de la NADPH, requerida para la operación de la hexosa monofosfato.

### Muerte y digestión de la bacteria

En la etapa final de la fagocitosis, intervienen los sistemas microbicidas del leucocito. Klebanoff (28) los ha clasificado de la siguiente manera: i) Productos de la actividad metabólica del fagocito; ii) Agentes sin actividad enzimática reconocida; y iii) Agentes con actividad enzimática.

- i) Productos de la actividad metabólica: incluyen los productos del incremento en el metabolismo oxidativo: el pH y el peróxido de hidrógeno (ver figura No. 2). La caída en el Ph del interior de la vacuola se debe a la formación de ácido láctico (19) y puede fomentar la actividad bactericida de otros sistemas, como las proteínas granulares catiónicas o la mieloperoxidasa, que funcionan mejor en un medio ácido. Este pH ácido se encuentra únicamente en el interior de la vacuola, mientras el citoplasma permanece con un pH dentro de los límites normales.

El déficit en la producción de peróxido de hidrógeno por los polimorfonucleares neutrófilos humanos da lugar a la aparición de la enfermedad granulomatosa crónica (4), lo cual fue confirmado por Baehner y Nathan (6), quienes alimentaron fagocitos deficientes con un sistema capaz de generar peróxido de hidrógeno, y obtuvieron una respuesta fagocitaria adecuada.

El peróxido de hidrógeno sobrante, para evitar daño al fagocito, es detoxificado por el sistema de la enzima catalasa.

- ii) Agentes sin actividad enzimática: Entre estos se encuentran las proteínas granulares catiónicas (fagocitina y leucocidina), que son liberadas después de la fagocitosis y cubren la partícula ingerida; lactoferrina, una proteína bacteriostática, que se encuentra en los gránulos secundarios.

- iii) Agentes con actividad enzimática: Lisozima (muramidasa) que hidroliza los mucopolisacárido de la pared celular de ciertas bacterias, haciéndolas más susceptibles al shock osmótico. La mieloperoxidasa (27) que está presente en los gránulos primarios en altas concentraciones, es una hem proteína bactericida potente, que además tiene una actividad fungicida y viricida (7).

La mieloperoxidasa actúa en el sistema de halogenación bacteriana, junto con peróxido de hidrógeno y un halógeno (yoduro, bromuro, cloruro) o un ion tiocianato, que funcionan como cofactores oxidables. En este sistema el mecanismo final de muerte bacteriana es la descarboxilación y desaminación de radicales carboxilo y amino en la pared celular, lo que daría aldehidos de actividad bactericida.

## LA FAGOCITOSIS EN LA DESNUTRICION

La fagocitosis de los leucocitos provenientes de pacientes con desnutrición proteínico-calórica de diverso grado, ha sido sometida relativamente a pocas investigaciones sistemáticas, y los reportes de estas, en ocasiones son contradictorios. Por ejemplo, el concepto actual de que la desnutrición disminuye la fagocitosis, es opuesto a los hallazgos de los primeros investigadores que se ocuparon del problema, quienes encontraron que la fagocitosis era normal en los desnutridos. Balch y Spencer (9) en 1954, midieron la cantidad de bacterias fagocitadas por los leucocitos, después de incubarlos con estafilococos no patógenos, y encontraron que el promedio en los leucocitos de pacientes desnutridos era comparable con el promedio en leucocitos normales; en otras palabras, que la fagocitosis era normal.

Tejada y colaboradores (53) 1964, en un estudio en ocho niñas con kwashiorkor, midieron la fagocitosis usando el índice opsonocitofágico, que definieron como el promedio de estafilococos ingeridos por células en cien polimorfonucleares neutrófilos. Midieron este índice al ingreso de las niñas y durante la recuperación nutricional, y llegaron a la conclusión de que la fagocitosis, por lo menos in vitro y con estafilococos no patógenos, era normal sin importar el grado de desnutrición proteínico-calórica.

La aparente contradicción entre estos resultados y lo que se demostró posteriormente estriba en el método usado en los primeros estudios. Este procedimiento morfológico es semicuantitativo y además, solo mide la ingestión y no permite saber si el leucocito lisa las bacterias después de ingerirlas.

Experimentos más recientes usaron parámetros metabólicos que se sabe están asociados con la ingestión y muerte intracelular de bacterias, y que miden la fagocitosis de una manera indirecta, pero más efectiva. Scrimshaw, Gordon, y

Taylor, en su excelente monografía (43), hablan de una tendencia a la fagocitosis alterada en los leucocitos de desnutridos, aunque, sin lograr identificar las alteraciones bioquímicas específicas.

Durante la fagocitosis ocurre un aumento en el metabolismo oxidativo y glicolítico de los polimorfonucleares neutrófilos (41) y su importancia en la ingestión y muerte intracelular de las bacterias ha sido bien establecida (41, 44).

Se había demostrado que la actividad glicolítica de los polimorfonucleares neutrófilos provee la energía necesaria para la ingestión de bacterias o partícula y, que las enzimas lisosómicas y la vía de la hexosa monofosfato están relacionadas con la actividad bactericida intracelular. En experimentos más recientes, se cuantificaron estos parámetros para medir la fagocitosis.

Yoshida y colaboradores (63) encontraron que en los glóbulos de niños con desnutrición proteínico-calórica, los contenidos de fosfoenolpiruvato, oxaloacetato están disminuídos, así como la actividad de las enzimas piruvato kinasa, deshidrogenasa láctica y deshidrogenasa isocítrica; todos los cuales son productos intermedios y enzimas necesarios en el metabolismo del ATP. Esto sugiere una inhibición de la glicólisis terminal y del ciclo del ácido cítrico y por lo tanto, del metabolismo energético de la célula, lo que se confirmó al encontrar bajos los valores celulares de ATP (63, 64).

Selvaraj y Bhat (44), en un estudio realizado en 1973, hicieron varios hallazgos que contribuyen a aclarar ciertos aspectos de la deficiente fagocitosis en los glóbulos blancos de los desnutridos. Confirmaron lo dicho por Yoshida y colaboradores (63), de que la actividad glicolítica, que produce la energía necesaria para la ingestión de bacterias, está disminuída en leucocitos de los desnutridos, lo cual indica una fagocitosis disminuída o un defecto metabólico.

La estimulación de la actividad glicolítica que se observa en leucocitos normales al ponerlos en contacto con bacterias o

partículas (41), encontraron que está ausente en los desnutridos. la oxidación directa de la glucosa a través de la vía de la hexosa monofosfato es estimulada en menor grado durante la fagocitosis en los desnutridos (44). Además determinaron que estas alteraciones son secundarias a cambios dentro de los leucocitos y no a factores séricos. Después de un tratamiento dietético hasta volver al paciente a un estado de nutrición dentro de los límites de la normalidad, todos estos cambios desaparecen y se vuelve a patrones de fagocitosis normales.

La enzima piruvato kinasa que cataliza el paso de fosfoenolpiruvato a piruvato antes de entrar al ciclo de Krebs (ver figura No. 1) se ha encontrado por medio de análisis cinético, que es deficiente en los leucocitos de los desnutridos (64).

Krebs ha demostrado que la desnutrición disminuye la actividad de la enzima piruvato kinasa del hígado y que la misma, mejora después de dar una dieta adecuada (29).

Salvaraj y Bhat (46), trataron de identificar el defecto enzimático de los fagocitos de pacientes desnutridos, y encontraron que la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa poseen actividad comparable a lo normal, pero hallaron que la NADPH oxidasa de los gránulos, tiene una actividad inferior a la que se encuentra en los leucocitos normales y que no es estimulada durante la fagocitosis. Todos estos cambios son reversibles y se corrigen con una dieta adecuada. Lo anterior nos indica, que al no ser adecuada la NADPH oxidasa, no hay suficiente producción de peróxido de hidrógeno y no puede realizarse la reciclación del NADPH, que es fundamental en la vía, de la hexosa monofosfato, la cual como ya vimos, proporciona algunas de las sustancias de los sistemas microbicidas del leucocito.

Las deficiencias nutricionales de proteínas y ciertas vitaminas como tiamina, piridoxina, riboflavina, ácido ascórbico, colina y ácido pantoténico, en ratones jóvenes disminuye la fagocitosis y se ha encontrado una relación directa entre la cantidad de proteína y el grado de actividad fagocítica (13, 34)

Cannon confirmó la importancia para una fagocitosis adecuada de tener valores suficientes de proteína en el organismo, en una revisión de casos, en la que encontró que en pacientes que fallecieron de diversas enfermedades, uno de los hallazgos clínicos más frecuentes era la hipoproteïnemia. En estos pacientes, la frecuencia de infección como desencadente del episodio final, fue alta. Encontró que la mayoría de los pacientes que murió de infección tenía valores de proteína en sangre de cinco gramos por cien mililitros o menos (12).

El grupo de Arbeter (3) en 1971, encontró que la fagocitosis en los desnutridos era defectuosa únicamente cuando los valores séricos de hierro estaban disminuídos. Nalder (35) al año siguiente, demostró los efectos específicos de las deficiencias de calcio y hierro en la dieta. Mientras que la deficiencia de calcio, con o sin déficit de vitamina D, no tiene efecto sobre la producción de anticuerpos, la deficiencia de hierro la disminuye marcadamente. También encontró que la producción de anticuerpos es un mejor índice de la deficiencia de hierro de la dieta, que los valores de hemoglobina, hierro sérico, transferrina o hierro hepático, que se han usado tradicionalmente con este fin.

Cuando se establece una infección, la velocidad con que se repongan los leucocitos muertos o dañados durante el esfuerzo por contenerla, influirá sobre el resultado final: que se domine la infección o que esta prospere. Se ha demostrado que en ancianos y desnutridos esta velocidad de reposición es inferior a la normal y que las reservas de la médula ósea también son menores (11).

Para la fagocitosis, es importante también la calidad de las células de reposición. Se ha demostrado (50) que los glóbulos blancos inmaduros al compararlos en igualdad de condiciones con glóbulos blancos maduros, muestran una menor capacidad de fagocitar.

Otro grupo de investigadores (54), encontró un cierto parecido entre los glóbulos blancos de los recién nacidos con bajo

peso al nacer y edad de gestación, grupo que llamaron de crecimiento intrauterino retrasado, y los niños o adultos de cualquier edad con desnutrición proteínico-calórica. Entre las causas de este crecimiento intrauterino retrasado se encuentran la insuficiencia placentaria, que produce una desnutrición fetal, y la desnutrición de la madre antes y durante el embarazo. Hallaron que los leucocitos eran mayores en los niños de bajo peso al nacer y edad gestacional adecuada (o del grupo de crecimiento intrauterino retrasado), pero con un contenido de ATP por célula menor, lo mismo que con una reducción en la actividad de las enzimas piruvato kinasas y kinasas adenílicas (54,65).

Los leucocitos de las madres con desnutrición proteínico-calórica tienen disminuída la producción de ATP, junto con un déficit marcado en la capacidad de sintetizar proteínas, lo cual fue demostrado por una disminución en la actividad de la RNA polimerasa, enzima que cataliza la síntesis de proteínas (33).

Concluyeron que los cambios en los leucocitos polimorfonucleares de los desnutridos intrauterinamente y de los que se desnutren a mayor edad, son semejantes y con un efecto marcado sobre la producción de ATP.

La prueba de reducción del azul de nitro tetrazolium ya fue aplicada por dos grupos distintos de investigadores a pacientes con desnutrición proteínico-calórica de diverso grado, sin infección bacteriana sobre agregada. Shousha en Arabia y Altay en Turquía (1,48), durante el año 1972, trataron de demostrar una disminución de la actividad fagocitaria de los neutrófilos en los pacientes desnutridos al compararlos con pacientes normales. Además de que en ambos trabajos el número de casos estudiados no es significativo estadísticamente, los resultados finales fueron contradictorios. Mientras que Altay y colaboradores no encontraron una deficiencia en la actividad fagocitaria, el grupo de Shousha, si la demostró en los neutrófilos de los pacientes desnutridos.

## CONCLUSIONES

- 1o. Aún en la actualidad, el tema de las alteraciones de la fagocitosis en la desnutrición, no está bien estudiado y hay varios aspectos del mismo que no se conocen.

Esta ignorancia es mayor en nuestro medio, donde a pesar de que la desnutrición proteínico-calórica es un problema importante, se han realizado pocas investigaciones sobre el mismo.

- 2o. La fagocitosis en los leucocitos de pacientes desnutridos es deficiente en todas sus fases. Así, tenemos quimiotaxis y opsonización insuficientes, por una deficiente producción de anticuerpos; la ingestión y digestión son anormales por las alteraciones en el metabolismo del leucocito.

- 3o. La deficiencia en la fagocitosis es un proceso reversible al desaparecer el estado de desnutrición.

## RECOMENDACIONES

- 1o. Estudiar los efectos de la desnutrición sobre la fagocitosis en nuestro medio y comparar estos hallazgos con los datos de la literatura mundial.
  
- 2o. Utilizar la prueba de reducción del azul de nitro tetrazolium y medir el porcentaje de positividad en los leucocitos de pacientes con una nutrición adecuada sin otros procesos que puedan interferir con los resultados (por ejemplo infecciones agudas o crónicas, parasitismo) y encontrar los valores normales para nuestra población. Luego realizar esta prueba en leucocitos de personas desnutridas y comparar los resultados obtenidos.

Esta prueba nos da un parámetro fácil de usar y poco costoso, para cuantificar el déficit en las diversas fases de la fagocitosis.

- 3o. Como un medio más de disminuir la morbi-mortalidad de las enfermedades infecciosas, se hace ver la necesidad de combatir la desnutrición para mejorar la resistencia a la infección en la población infantil y adulta, sobre todo en las mujeres de edad reproductiva.

## SUMARIO

Se revisó la literatura mundial disponible hasta la fecha, sobre la fagocitosis en el leucocito polimorfonuclear normal; se describieron sus etapas, haciendo el análisis de los hechos generalmente aceptados, así como también, de los descubrimientos recientes.

Luego se hizo el análisis del mecanismo de la fagocitosis en el leucocito polimorfonuclear neutrófilo proveniente de pacientes con desnutrición proteínico-calórica; se expusieron las distintas hipótesis que han intentado explicar las causas del incremento en la susceptibilidad a la infección.

A pesar de que el tema no está suficientemente estudiado, hay varios hechos aceptados actualmente, que explican de una manera parcial, la deficiencia leucocitaria.

En el desnutrido con valores de hierro sérico inferiores a lo normal, se ha demostrado la deficiencia en la producción de anticuerpos, lo que trae como consecuencia la disminución en la defensa humoral y en la capacidad de opsonización, pues algunos anticuerpos funcionan como opsoninas.

Se han encontrado valores inferiores a los normales, en la actividad de las enzimas piruvato kinasa, deshidrogenasa láctica, deshidrogenasa isocítrica, así como, del contenido de fosfoenolpiruvato y oxaloacetato, indican una producción disminuída de ATP, lo que está de acuerdo con las cantidades de ATP halladas en el interior de los leucocitos. En la fagocitosis, la fase de la ingestión depende para realizarse de los niveles de energía disponibles.

La actividad de la NADPH-oxidasa es menor que en los leucocitos normales. Esta enzima es fundamental en la vía de la hexosa monofosfato; su actividad insuficiente reduce la producción de peróxido de hidrógeno y la cantidad de NADP

disponible para reciclarse en la vía de la hexosa monofosfato. Esto reduce la capacidad de lisar y dar muerte a las bacterias en el interior del leucocito.

Estas son las razones conocidas a la fecha, por las que se ve alterada la fagocitosis de los leucocitos de pacientes desnutridos, y por ellas tienen una susceptibilidad mayor a la infección, la cual se ha demostrado que existe mientras no se corrija la desnutrición.

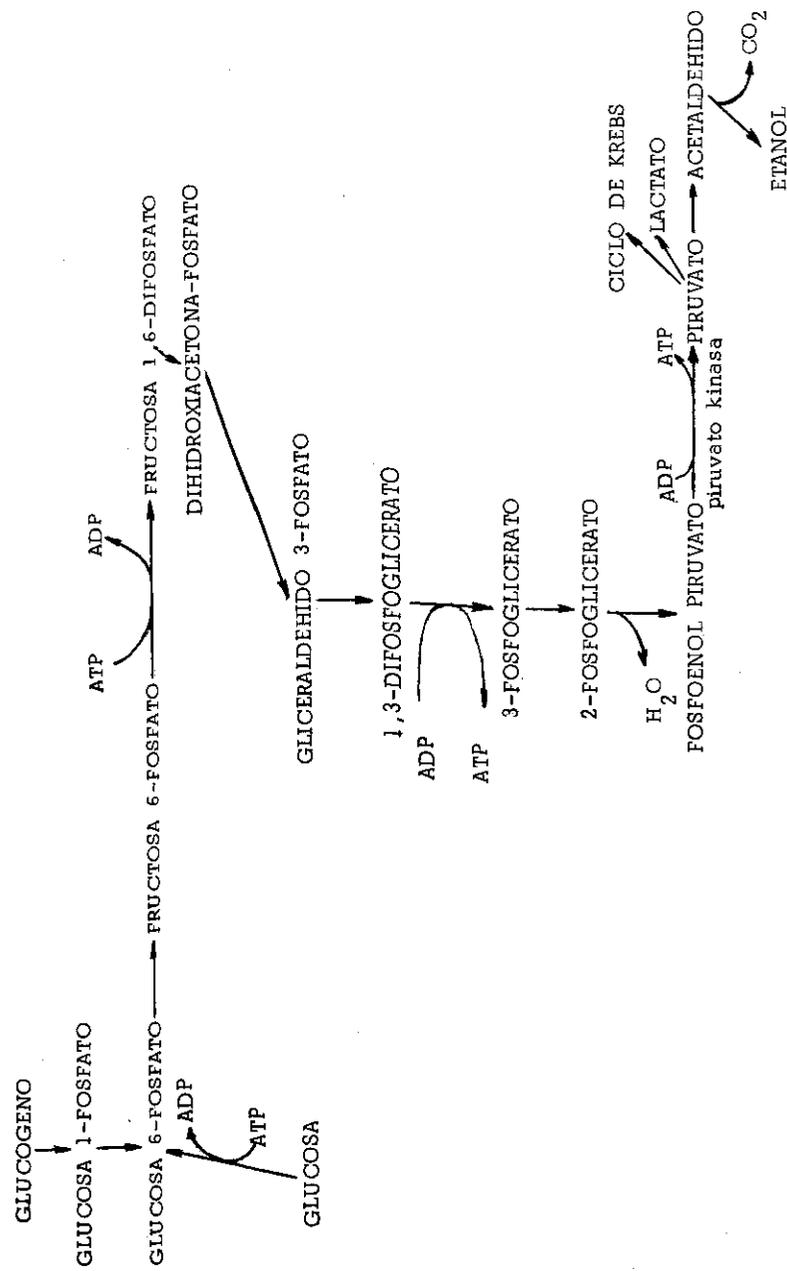


Figura No. 1: Metabolismo anaeróbico de la glucosa.

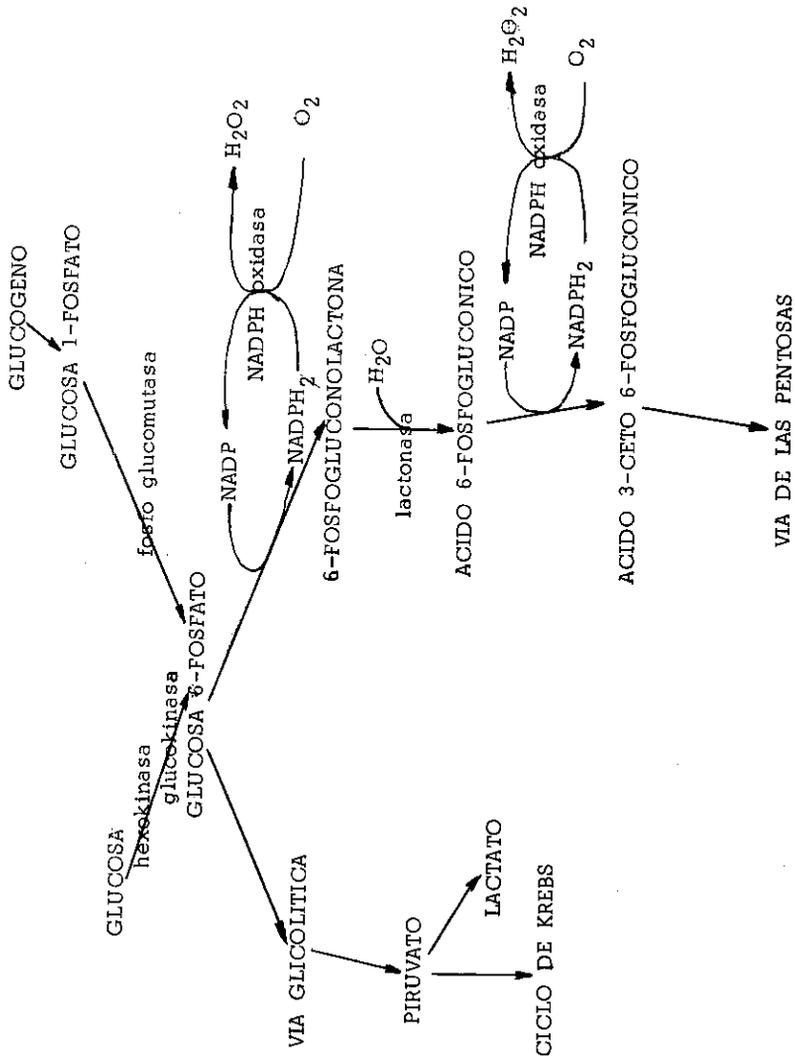


Figura No. 2. Via de la hexosa monofosfato.

## BIBLIOGRAFIA

1. Altay C., et al.: NBT test in children with malnutrition. **Pediatrics** 81: 392-393, Jul, 1973.
2. Altman L.C., R. Snyderman, J. Oppenheim, et al.: A human mononuclear leukocyte chemotactic factor: characterization, specificity and kinetics of production of homologous leukocytes. **J Immunol**, 110: 801-810, Mar 1973.
3. Arbeter A., L. Echeverri, D. Franco, et al.: Nutrition and infection. **Fed Proc** 30: 1421-1436, Jul-Aug 1971.
4. Baehner R.L. y M.L. Karnovsky: Deficiency of reduced nicotinamide adenine dinucleotide oxidase and chronic granulomatous disease. **Science** (4) 162: 1277-1296, Nov 1968.
5. Baehner R.L., N. Gilman y M.L. Karnovsky: Respiration and glucose oxidation in human and guinea pigs leukocytes: Comparative studies. **J Clin Invest** 49: 692-700, Apr 1970.
6. Baehner R.L., J.G. Nathan y M.L. Karnovsky: Correction of metabolic deficiencies in the leukocytes of patients with chronic granulomatous disease. **J Clin Invest** 49: 865-870, May 1970.
7. Baehner R.L.: Molecular basis for functional disorders of phagocytes. **J Pediatr** 84: 317-327, Mar 1974.
8. Bainton D.F.: Sequential degranulation of the two types of polymorphonuclear granules during phagocytosis of microorganisms. **J Cell Biol** 58: 249-264, Feb 1973.
9. Balch H.H. y M.T. Spencer: Phagocytosis by human leukocytes. II. Relation of nutritional deficiency in man to phagocytosis. **J Clin Invest** 33: 1321-1329, Aug 1954.

10. Brogan J.D.: Mechanism of phagocytosis in human polymorphonuclear leukocytes. *Immunology* 18: 137-144, Aug-Sep 1966.
11. Cannon P.R.: The importance of proteins in resistance to infection. *JAMA* 128: 350-372, May 1945.
12. Cannon P.R.: Protein metabolism and resistance to infection. *J Mich M Soc* 43: 323-329, Sep 1964.
13. Cottingham E. y C.A. Mills: Influence of environmental temperature and vitamin deficiency in phagocytic function. *J Immunol* 47: 493-499, Oct 1943.
14. Dossett J.H.: Microbial defenses of the child and man. *Pediatr Clin North Am* 19: 355-362, May 1972.
15. Harris H.: Role of chemotaxis in inflammation. *Physiol Rev* 34: 529-544, Nov 1959.
16. Harris H.: Mobilization of defensive cells in inflammatory tissue. *Bacteriol Rev* 24: 3-7, Jan 1960.
17. Hirsch J.G. y Z.A. Cohn: Degranulation of polymorphonuclear leukocytes following phagocytosis of microorganisms. *J Exp Med* 112: 1005-1014, Oct 1960.
18. Iyer I.G., M.F. Islam y J.H. Quastel: Biochemical aspects of phagocytosis. *Nature* 192: 535-541, Mar 1961.
19. Karnovsky M.L.: Metabolic basis of phagocytic activity. *Physiol Rev* 42: 143-168, Jul 1962.
20. Hirsch J.G. y B. Strauss: Studies on heat labile opsonin in rabbit serum. *J Immunol* 92: 145-152, Aug 1964.
21. Olmes B.M. y A.R. Page: Studies on metabolic activity of leukocytes from patients with genetic abnormality of phagocytic function. *J Cell Biochem* 31: 48-53, Jun 1966.

22. Huber H., M.J. Polley, W.D. Linscott, et al.: Human monocytes: Distinct receptor sites for the third component of complement and for immunoglobulin G. *Science* 162: 1281-1295, Oct 1968.
23. Jeter W.S., A.P. McKee y R.J. Marson: Inhibition of immune phagocytosis of diplococcus pneumoniae by human neutrophils with antibody against complement. *J Immunol* 86: 386-396, Mar 1961.
24. Johnston R.B., et al.: The enhancement of complement of bacterial phagocytosis by serum. The enhancement of complement of bacterial phagocytosis by serum. The role of complement components and two cofactors. *J Exp Med* 129: 1275-1290, Jun 1969.
25. Kaplan A.P., A.B. Kay y K.F. Austen: A prealbumin activator of prekallikrein. II. Appearance of chemotactic activity of human neutrophils by the conversion of human prekallikrein to kallikrein. *J Exp Med* 135: 81-97, Jan 1972.
26. Kaplan A.P., E.J. Goetzl y K.F. Austen: The fibrinolytic pathway of human plasma. II. The generation of chemotactic activity by activation of plasminogen activator. *J Clin Invest* 52: 2591-2595, Oct 1973.
27. Klebanoff S.J.: Myeloperoxidase: Contribution to the microbicidal activities of intact leukocytes. *Science* 169: 1095-1097, 11 Sep 1970.
28. Klebanoff S.J.: Intraleukocytic microbicidal defects. *Ann Rev Med* 22: 39-62, 1971.
29. Krebs H.A. y L.V. Eggleston: The role of pyruvate kinase in the regulation of gluconeogenesis. *Biochem J* 94: 3 C, May 1965.
30. Lay W.H. y V. Nussenzweig: Receptors for complement on leukocytes. *J Exp Med* 128: 991-1003, Jun 1968.

31. McCall C.E., et al.: The biological basis for the elevated histochemical Nitro Blue Tetrazolium reaction. *J Clin Invest* 54: 1227-1234, Nov 1974.
32. Messner R.P. y J. Jellinek: Receptors for human gamma globulin on human neutrophils. *J Clin Invest* 49: 2165-2171, Dec 1970.
33. Metcalf J., et al.: Energy metabolism and protein synthesis in human leukocytes during pregnancy and in placenta-related to fetal growth. *Pediatrics* 51: 866-877, May 1973.
34. Mills C.A. y E. Cottingham: Phagocytic activity as affected by protein intake and heat and cold. *J Immunol* 47: 503-512, Jun 1943.
35. Nalder B.N., et al.: Sensitivity of the immunological response to the nutritional status of rats. *J Nutrition* 102: 535-541, Apr 1972.
36. Nathan D.G.: NBT reduction by human phagocytes. *New Eng J Med* 290: 281-281, 31 Jan 1974.
37. Park B.H., B.M. Holmes y R.A. Good: Metabolical activities in leukocytes of newborn infants. *J Pediatr* 76: 237-241, Feb. 1970.
38. Pillemer L., L. Blum y I.H. Lepow: The properdin system and immunity. I. Demonstration and isolation of a new serum protein, properdin, and its role in immune phenomena. *Science* 120: 279-284, Jul 1954.
39. Quie P.G.: Bactericidal functions of human polymorphonuclear leukocytes. *Pediatrics* 50: 264-270, Aug 1972.
40. Robbins J.B., K. Kennedy y E. Suter: The isolation and biological activities of rabbit gamma M and gamma G anti-salmonella typhimurium antibodies. *J Exp Med*

41. Sbarra A.J. y M.L. Karnovsky: The biochemical basis of phagocytosis. I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem* 234: 1355-1364, Sep 1959.
42. Scrimshaw N.S.: Protein deficiency and infective disease, en su: *Mamalian protein metabolism*, New York: Academic, 1964, Vol. II, página 569.
43. Scrimshaw N.S., C.E. Taylor y J. El Gordon: Interaction of nutrition and infection. WHO, 1968, Cap. 3, pág. 32. Génova.
44. Selvaraj R.J. y A.J. Sbarra: Relationship of glycolitic and oxidative metabolism to particle entry and destruction in phagocytosing cells. *Nature* 211: 1272-1283, Oct 1966.
45. Selvaraj R.J. y K.S. Bhat: Metabolic and bactericidal activities of leukocytes in protein-calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr* 25: 166-174, Feb 1972.
46. Selvaraj R.J. y K.S. Bhat: Phagocytosis and leukocyte enzymes in protein-calorie malnutrition. *Biochem J* (número 1) 127: 255-259, 1972.
47. Shin H.S., R. Snyderman, E. Friedman, et al.: Chemotactic and anaphylotoxic fragment cleaved from the fifth component of complement system. *Science* 162: 361-363, 18 Oct 1968.
48. Shousha J. y Kamel K.: NBT test in children with Kwashiorkor with a comment on the use of latex particles in the test. *J Clin Pathol* 25: 494-497, Jun 1972.
49. Smith M.R. y W.B. Wood: Heat labile opsonins to pneumococcus. Participation of complement. *J Exp Med* 139: 1209-1213, Aug 1969.

- 52
50. Stanmia M.M. y F. Boerner: Phagocytic activity of circulating cells in the various types of leukemia. *Am J Pathol* 13: 335-342, Feb 1937.
51. Steigler R.T., P.K. Johnson y J.S. Remington: The NBT reduction test vs. conventional hematology in the diagnosis of bacterial infections. *New Eng J Med* 290: 235-239, 21 Oct 1974.
52. Stossel T.P., T.D. Pollard, R.J. Masson, et al.: Isolation and properties of phagocytic vesicles from polymorphonuclear leukocytes. *J Clin Invest* 50: 1745-1757, No.8, 1964.
53. Tejada C., et al.: Phagocytic and alkaline phosphatase activity of leukocytes in Kwashiorkor. *J Pediatr* 64: 753-761, May 1964.
54. Urrusti J., P. Yoshida, L. Velasco, et al.: Human fetal growth retardation. I. Clinical features of sample with intrauterine growth retardation. *Pediatrics* 50: 547-553, Mar 1972.
55. Viteri F.E., M. Behar y J. Alvarado: El problema de la desnutrición proteínico-calórica en el istmo centroamericano. *Tribuna Médica*, Tomo VIII (No.10), página A2 y siguientes, 1974.
56. Ward H.K. y J.F. Enders: An analysis of the opsonic and tropic action of normal and immune sera based on experiments with the pneumococcus. *J Exp Med* 57: 527-534, Apr 1933.
57. Ward P.A.: A plasmin-split fragment of C<sub>3</sub> as a new chemotactic factor. *J Exp Med* 126: 189-195, Feb. 1962.
58. Ward P.A., C. G. Cochrane y H.J. Muller-Eberhard: Further studies on the chemotactic factor of complement and its formation in vivo. *Immunol* 11: 141-149, Jan 1966.
59. Weissman G.: The role of lysosomes in inflammation and disease. *Ann Rev Med* 18: 97-105, 1967.
60. Weissman G.: Lysosomal mechanisms of tissue injury in arthritis. *New Eng J Med* 286: 141-147, 20 Jan 1972.
61. Winkelstein J.A.: Opsonins: Their functions, identity and clinical significance. *J Pediatr* 82: 747-753, May 1973.
62. Wood W.B.: Studies on the cellular immunology of acute bacterial infections. *Harvey Lect* 47-72-77, 1951.
63. Yoshida T., et al.: Intermediary metabolites and adenine nucleotides in leukocytes of children with protein-calorie malnutrition. *Nature* (50) 214: 525-538, 1967.
64. Yoshida T., et al.: Reduced pyruvate kinase activity, altered growth patterns of ATP in leukocytes and protein-calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr* 21: 162-166, Feb 1968.
65. Yoshida T., et al.: Human fetal growth retardation. II. Energy metabolism in leukocytes. *Pediatrics* 50: 559-566, Mar 1972.
66. Zigmond Z.H. y Hirsch J.G.: Leukocyte locomotion and chemotaxis: New methods for evaluation and demonstration of a cell-derived chemotactic factor. *J Exp Med* 137: 387-410, 1 Feb 1973.
- 33

BR. Juan Luis Siekavizza Girón

ASESOR: Dr. Oscar Pineda

REVISOR. Dr. César Leonel González C.

DIRECTOR DE FASE III. Dr. Julio de León M.

SECRETARIO GENERAL. Dr. Mariano Guerrero R.

Vo. Bo.

DECANO. Dr. Carlos Armando Soto G.