



INFLAMACION Revisión Bibliográfica

VIVIAN REGINA MOLINA KIRSCH

Guatemala, marzo de 1980

OBJETIVOS

- 1.- Actualización de conceptos acerca del proceso inflamatorio a través de una serie de publicaciones recientes.
- 2.- Que dicha revisión pueda ser de utilidad en la práctica clínica; así como en la enseñanza de las ciencias básicas

MATERIAL Y METODOS

- 1.- Revisión de Index Médico
- 2.- Recopilación de artículos de las bibliotecas INCAP, Facultad de Ciencias Médicas y Francis Conway Medical Library Bostón Mass.
- 3.- Redacción del trabajo e inclusión de Referencias.

1.- HISTORIA Y CONCEPTO

El término inflamación es tan antiguo como la herida, está descrito en los escritos de civilizaciones antiguas como Mesopotamia, Egipto, Grecia, (Celso 30 ad y Galeno 130-200-ad) y continúa siendo objeto de estudio hasta nuestros días (19, 40, 41, 57) lo que ha determinado su variada conceptualización y la utilización del término en forma imprecisa..

John Hunter en 1874 escribe en su "Tratado de la Inflamación y las Heridas" : Esta operación del cuerpo llamada inflamación requiere nuestra gran atención por ser una de las más comunes y extensas en sus efectos en el animal humano; yo llamo inflamación a la producción de los efectos locales de dolor, edema, enrojecimiento." Dice él: "La inflamación debe ser considerada únicamente como un estado de disturbio de las partes, el cual requiere un nuevo pero saludable modo de acción para restaurar la función; cuando este saludable modo de acción es necesario. (32)

En el tardío 1880 Conheim publicó todo lo conocido acerca de inflamación. Precediendo de la premisa original de Celso que la inflamación está asociada a los 4 signos cardinales, él demuestra que 3 de esos signos: enrojecimiento, calor, edema, resultan de extravasación del fluido intravascular normal dentro del área extravascular injuriada, él demuestra que el evento inicial en la fase aguda de la inflamación es un incremento en la permeabilidad de la microcirculación desarrollado por la infiltración de elementos formes de la sangre dentro del área injuriada. (27, 19, 40)

Metchnikof 1885-1892 añade algunas de sus observaciones acerca de la importancia de la fagocitosis y quimiotaxis. Una de sus importantes notas dice así: "El mecanismo fagocítico ha alcanzado ya un alto estado de desarrollo y en algu-

nos casos puede ser impropio cuando los fagocitos destruyen las células del cuerpo como en las esclerosis, es esta imperfección en las fuerzas curativas de la naturaleza la cual ha necesitado la intervención activa del hombre. Es pues, la racionalización de Metchnikof el pensamiento que ha dominado el área en esta centuria (57), es decir que los componentes de los mecanismos independientes envueltos en lo que se ha considerado ser un clásico proceso inflamatorio puede en cada uno representar un inteligente mecanismo de defensa, pero cuando ellos ocurren simultáneamente, el huésped sujeto a este efecto neto puede sufrir un inapropiado grado de injuria tisular, un posible resultado de ello es que las cosas que ocurren en la inflamación no estén en una cascada secuencial de eventos, cada uno designado a limitar la injuria pero; cuando algunos mecanismos trabajan en uno y otro sentido llegan a jugar un papel fuera de fase en la acción de otro.

Los conceptos de Metchnikof así como el de Grawitz (1890) : "Inflamación, es la reacción de los tejidos irritados y dañados tratando de mantener su vitalidad". Implican un proceso activo y no un estado pasivo como las anteriores. (57, 40, 19).

La mayoría de Patólogos actualmente están de acuerdo en definir la inflamación: "Como un proceso el que se inicia subsecuentemente a una injuria subletal del tejido y finalmente lleva a una destrucción permanente del tejido o a su recuperación total" (41, 57)

La inflamación y la injuria en sí se confunden a menudo. Por injuria debe entenderse los cambios pasivos ocasionados por un agente nocivo; estos cambios pueden afectar las células, el material extracelular o ambos. Del área injuriada o lesionada pueden originarse signos químicos y tal vez también físicos que desencadenan la respuesta inflamatoria. (41).

Los términos aguda y crónica aplicados a la enfermedad en general y a la inflamación en particular, tienen más de tres milenios de existencia en el léxico médico, ellos son de utilidad práctica y con toda probabilidad estarán con nosotros para siempre. Es fácil utilizar dichos términos en una forma vaga, en especial en clínica, pero es mucho más difícil definirlos en términos de la ciencia biológica moderna. A este respecto hay en la actualidad dos escuelas: La mayoría de los patólogos piensan que la reacción aguda y la crónica de la inflamación representan dos aspectos distintos de la misma; otros claman por una sola entidad que no puede dividirse en base a su curso en el tiempo. (41, 50, 26)

Es obvio que cualquier injuria local produce una respuesta aguda inmediata, la cual es básicamente la misma e independiente de la noxa. Esta respuesta inmediata es desencadenada por una variedad de mediadores químicos, la cual puede aparecer en los tejidos en cuestión de segundos y actúa primariamente en la microcirculación con dos efectos principales:

1. Exudado de líquidos
2. Exudado de células blancas primariamente leucocitos -- polimorfonucleares.

Esta es en esencia una respuesta estereotipada no específica. Es un mecanismo de defensa estratégicamente planeado, con múltiples caminos que conducen a efectos similares útiles, no importando cuál sea o fuere la causa.

Si nosotros examinamos un foco de inflamación crónica como por ejemplo la tuberculosis, observamos en primer lugar que la célula que predomina es de tipo mononuclear. Este hallazgo nos indica y aprendemos que el cuadro histológico o citológico de tal infiltrado inflamatorio es confuso; pocas células están específicamente informadas, o programadas como el linfocito y células plas-

máticas (los macrofagos tienden a retener una gran prolongada y no especializada función). Nos encontramos ante una respuesta altamente específica. (1, 2, 41, 3).

De lo anterior podemos concluir que la injuria local puede desencadenar dos tipos de respuesta: una inmediata y no específica (stress local) y la otra retardada y altamente específica. (14, 13, 41, 23)

De ello podemos inferir y guardar en mente que:

1. La respuesta aguda puede aparecer por un mecanismo inmunológico pero que su característica principal es que puede desencadenarse por cualquier agente que produzca una injuria. Esto es guardando su papel evolutivo de una defensa completa. (26, 41)
2. Aunque la respuesta aguda es esencialmente estereotipada, no debe entenderse como absolutamente invariable ya que existen grados diferentes de modelos dependientes del agente que causó la injuria; por ejemplo la eosinofilia en la respuesta inmediata de tipo inmune. (41, 4)
3. La forma crónica representa en la mayoría de los casos una respuesta inmune, ejemplo: respuesta a una sustancia antigénica en estos casos predominan los linfocitos y las células plasmáticas. Cuando el agente irritante es no antigénico, tal como un lípido o cuerpo extraño, predominan los macrofagos con o sin formación de células gigantes. (1, 2, 38, 36, 41, 47, 50)
4. Una respuesta aguda no necesariamente es seguida por una forma crónica, con todo el cortejo, en esta última de los diferentes tipos de células mononucleares; un ejemplo típico es la lesión alérgica focal; en ésta la respuesta aguda desaparece sin ninguna consecuencia crónica, -

excepto por la presencia de algunos macrofagos para remover detritus celulares. Como corolario Movat en 1960 puntualizó que las células plasmáticas no aparecían en el curso normal de cicatrización de una herida aséptica.

5. La idea sobre simplificada que prevalece entre los estudiantes quienes siempre claman por reglas generales, en el caso en particular de la Inflamación aguda, luego piensan en la presencia de polimorfonucleares; mientras que la presencia de mononucleares es sinónimo de inflamación crónica. Lo anterior admitámoslo es relativamente cierto, pero hay ciertas contradicciones, una de ellas lo constituyen los infiltrados linfocíticos en ciertas inflamaciones agudas, otra situación es la inflamación crónica purulenta de la osteomielitis; uno se pregunta qué hacen los polimorfonucleares en este tipo de infección crónica, y la respuesta es que si el agente causal persiste y es quimiotáctico para los polimorfonucleares, la respuesta aguda y crónica se superponen. (41, 26, 50, 5, 6, 15, 51)
6. Por las razones expuestas, es preferible hablar de respuesta inflamatoria aguda y crónica en lugar de fases, ya que este último término implica una secuencia obligatoria excluyendo un traslape. (41)
7. En la terminología de la respuesta inmune se incluyen las designaciones de respuesta inmediata y retardada: Cómo se relacionan estos términos con la inflamación aguda y crónica? Esta es otra pregunta hecha a menudo por los estudiantes. La respuesta es que los grupos de conceptos se traslapan. La respuesta inmune es de tipo inmediato (aunque los antígenos causales sean en sí mismos muy específicos) desencadenan de rutina la respuesta inflamatoria no específica; y la respuesta inmune retardada es específica, con infiltrado inflamatorio típico de la inflamación crónica. (41, 5, 6, 12)

8. Las infecciones virales son las que menos se ajustan al esquema de las respuestas inflamatorias aguda y crónica. Por ejemplo, en varias infecciones los polimorfonucleares casi no juegan ningún papel ya que no son atraídos por los virus. Sin embargo, en ciertas células infectadas con virus entre éstas producen agentes quimiotácticos para neutrofilos y macrófagos. En igual forma, la necrosis extensa producida por virus, tiene un efecto similar. Las células gigantes, características de la inflamación crónica granulomatosa pueden formarse en forma aguda, en el lapso de tiempo de horas, por el proceso de fusión celular, como sucede en el sarampión, y dicha fusión celular puede ocurrir tanto en células epiteliales como mesenquimatosas. Además, el infiltrado linfocítico puede formarse tan rápidamente como para competir con la respuesta aguda. A este respecto podemos recordar los experimentos de Agus y Col. quienes produjeron una gastroenteritis en voluntarios humanos y quienes encontraron linfopenia paralela a un infiltrado severo linfocítico en la mucosa del yeyuno, con uno que otro polimorfonuclear. Este infiltrado se desarrolló en 48 horas después de la administración del inóculo y fue interpretado como una redistribución de la población linfocítica. Tal tipo de infección puede ser común en las reacciones virales agudas acompañadas de linfopenias transitorias. En otras palabras, hay infiltrados linfocíticos que se desarrollan agudamente, siempre que aceptemos un cuadro de 48 horas de duración como un evento agudo. (41, 26, 50)
9. Si nosotros comparamos el uso de los términos agudo y crónico desde el punto de vista clínico e histológico, es obvio que los cambios histológicos se desarrollan más rápido que los eventos clínicos. Un infiltrado inflamatorio agudo puede aparecer histológicamente antes del apareamiento de los síntomas clínicos; y después de 4-

a 5 días un forúnculo puede aparecer clínicamente agudo, mientras que por ese entonces la histología incluye un componente crónico en mayor o menor grado. (5, 6, 41, 12).

2. Eventos vasculares

Dos tipos de eventos vasculares se llevan a cabo en la inflamación aguda.

- Cambios en la corriente sanguínea y calibre de los vasos
- Cambios en la permeabilidad vascular. (41, 57, 7)

a. Cambios en la corriente sanguínea y calibre de los vasos

Estos eventos son de primordial importancia en el desarrollo de la reacción inflamatoria aguda, porque los mismos determinan en gran parte la cantidad de exudado. Si el flujo de la corriente sanguínea está disminuido o se para temporalmente, el exudado estará disminuido o ausente respectivamente. Es una experiencia común de laboratorio que si un animal que se encuentra bajo los efectos de la anestesia profunda (especialmente si la piel está fría), el efecto de la permeabilidad aumentada, local inducida por sustancias del tipo de la histamina, es difícil o imposible de demostrar por las técnicas comunes que emplean marcadores vasculares: las áreas o focos azules o negros no se desarrollan como era de esperarse debido a que la irrigación sanguínea al área afectada ha fallado. Un ejemplo extremo de este mecanismo fisiopatológico lo encontramos en el Shock, el cual por definición implica una perfusión tisular inadecuada. Por ejemplo, si tomamos conejos y los hacemos hipovolémicos extrayéndoles de 30 a 40% de su volumen sanguíneo, produciéndoles una caída de la presión arterial del 70% de lo normal, la reacción de Arthus se halla inhibida, y el edema que lo acompaña se encuentra mar-

cadamente disminuido. (41, 57, 31)

Quizás el avance más importante, en relación a esto fue que el enrojecimiento después de la inyección de histamina estaba condicionado hasta cierto grado por el sistema nervioso central. En un estudio de 75 pacientes con lesiones cerebrovasculares demostró que las alteraciones en la sensación secundarias a lesiones en la corteza sensitivo-motora de un lado estaban asociadas con un aumento en el enrojecimiento del lado contra-lateral. Las lesiones talámicas o espino-talámicas estaban asociadas con una disminución en el enrojecimiento en el lado contralateral. En dos pacientes con transección clínicamente demostrable de la médula espinal, el área de enrojecimiento fue un 25% más pequeña que en los dermatomas anestésicos del muslo. Solamente la parálisis sin déficit sensorial no alteró el tamaño del área de enrojecimiento. (41, 39)

Han habido varias hipótesis para explicar el mecanismo del paso de líquidos a través de la pared vascular en base a efectos de tipo puramente vasomotor. Así se estableció que ciertos mediadores químicos de la inflamación inducían una contracción de las venas pequeñas, mientras que las vénulas pequeñas se elongan y estrechan hasta que su endotelio es desprendido por la corriente sanguínea. Esta teoría parecía atractiva por el hecho que correlacionaba las sustancias que producían que las paredes de las venas dejaran filtrar los líquidos, al mismo tiempo que producían contracción de la musculatura lisa (Histamina, Bradicinina) (31, 25, 54, 41).

Sin embargo estudios cinematográficos llevados a cabo en el músculo cremáster y en el mesenterio de la rata, demostraron que contracción venosa no ocurre después de la aplicación local de mediadores del tipo de histamina, y por consiguiente este mecanismo no fue considerado como clave.

La doble acción de estimulantes musculares=contracción en el músculo liso y en la permeabilidad de las vénulas tuvo entonces una explicación diferente y atractiva: es verdad que la permeabilidad es causada por la contracción celular, pero la respuesta contractil ocurre a nivel de las células endoteliales. (41)

Cambios en la permeabilidad vascular (27, 19, 40, 41)

El conocimiento de la permeabilidad vascular aumentada cumplió un centenario en 1977, cuando Conheim describió la diapedésis, así como el aumento en el calibre vascular y en la corriente sanguínea en la circulación, pero en ese momento no menciona aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos. En esa época se creía que habían pequeñas aberturas a todo lo largo de las uniones interendoteliales stomata y stigmata que se decía eran visibles con la técnica del nitrato de plata. Conheim creyó que la extravasación de células y líquido ocurría a través de las aberturas normales, ligeramente estrechas por la dilatación de los vasos sanguíneos. La idea de aumento de la permeabilidad apareció por vez primera en un artículo también publicado por Conheim 6 años más tarde. La evidencia que daba soporte a su idea era buena pero indirecta, y parece raro que él no tratara de probar su hipótesis inyectando intravenosamente, ya hubiera sido un colorante o un pigmento coloidal para visualizar la filtración, ya que ambas técnicas de laboratorio no le eran familiares. Él usó inyección intravascular de colorantes en sus estudios de embolismo e infarto, e inyección de pigmento coloidal para marcar a los fagocitos en la inflamación. (27, 19, 40, 41)

Por lo anterior, es obvio que la técnica de marcado vascular es un método importante para que entendamos la permeabilidad vascular. A continuación se explicará dicho método en forma concisa, la técnica de marcado vascular es un método simple

y morfológico, y puede emplearse en todas aquellos vasos sanguíneos de la microcirculación que se han alterado, sin que se hayan destruido, pudiéndose identificar por microscopía de luz o electrónica. Cualquier vaso sanguíneo se puede marcar siempre que la membrana basal permanezca intacta (41)

En un vaso microscópico cuyo endotelio se altere pero su membrana basal permanece intacta, todavía es posible que se lleve a cabo la corriente sanguínea, observándose que las células sanguíneas flotan sin escaparse, pero el plasma atraviesa la membrana basal, la cual se comporta como un filtro grueso, perdiéndose muchas proteínas, mientras que las moléculas grandes (lipoproteínas) son retenidas junto con los quilimicrones.

Soluciones coloidales inyectadas también son retenidas siempre y cuando las partículas sean de tamaño adecuado. Las partículas atrapadas en la membrana basal pueden permanecer en la pared del vaso sanguíneo por días, semanas o meses; por consiguiente estos vasos sanguíneos deberán ser designados como marcados. Eventualmente la mayor parte del material atrapado en la pared vascular es fagocitado por las células endoteliales y pericitos. La suspensión coloidal más fácil de manejar es tinta china (carbón negro) con moléculas de 300 Armstrong de tamaño, la cual se ve fácilmente con el microscopio de luz y el electrónico.

Con el empleo del azul Evans o el azul triptano puede demostrarse el aumento de la permeabilidad pero sin visualizar el vaso afectado. Sin embargo este método es bueno como un indicador sensible de la permeabilidad aumentada; además los colorantes azules son fácilmente cuantificables, por lo que sirven para hacer estudios comparativos de la potencia de los diferentes mediadores.

Injuria Vascular Directa e Indirecta

Es de primordial importancia enfatizar que la extravasación, después de una injuria local puede ocurrir por lo menos por dos mecanismos distintos:

A : Directamente como un efecto de la noxa en sí (calor, - trauma mecánico, etc.)

B : Indirectamente como un efecto de las sustancias químicas que aparecen en/o alrededor del sitio de la injuria.

Esta distinción básica ya había sido preconizada por Conheim en 1873; pero olvidada hasta recientemente. Uno se pregunta por qué este hecho obvio tardó tanto en ser reconocido. La razón fue sencilla ya que había poco interés en distinguir lo que sucedía en la injuria directa e indirecta, - excepto como conceptos abstractos (41, 7, 33).

La técnica de marcado vascular hizo posible esta distinción: en esencia demostró que la injuria directa puede afectar todos los tipos de vasos sanguíneos; arteriolas, capilares, venulas; mientras que la injuria indirecta muestra cierta especificidad por las venulas. La diferencia entre estos dos patrones puede demostrarse por medio de quemaduras producidas experimentalmente en la piel. Si la injuria térmica se calibra apropiadamente, el músculo subyacente muestra un área central en la cual todos los vasos sanguíneos están marcados por la injuria directa; esta se halla rodeada por un halo en el cual solo las vénulas están marcadas (una expresión de injuria mediada) (7, 31, 41)

La distinción entre injuria directa o indirecta es de importancia práctica, debido a que los agentes farmacológicos que actúan en una o en la otra puede que no sean los mismos. Sin embargo, debemos de llevar en mente que esta distinción teó-

ricamente simple no es sencilla. En la llamada forma retardada de extravasación, se debatió por largo tiempo si el mecanismo era directo o indirecto. Además cada día se hace más obvio que las bacterias pueden producir sustancias similares o idénticas en sus efectos a los mediadores químicos de la inflamación derivados de los tejidos lesionados; (41, 51, 33, 24) de aquí que es posible que una noxa directa tal como las bacterias pueden producir inflamación prestando por así decirlo una vía indirecta. El nombre de bacterias piogénicas indica que algunas bacterias pueden producir sustancias quimiotácticas para los leucocitos polimorfonucleares.

Así por ejemplo filtrados de cultivos de varias bacterias tienen actividad quimiotáctica para los neutrófilos. Actividades similares a la linfoquina se ha encontrado en el sobrenadante de cultivos de escherichia Coli (57)

Ultraestructura de la extravasación.

Si nosotros aceptamos la noción básica de que, los vasos sanguíneos de la microcirculación, pueden ser inducidos a extravasarse por dos mecanismos mayores directa e indirectamente; debemos examinar los mecanismos celulares del mismo. En la actualidad sabemos que la principal barrera para la permeabilidad es el endotelio (talvez en todos los vasos sanguíneos, con excepción del glomérulo). De lo anterior podemos esperar por consiguiente que la mayoría de los eventos celulares pertinentes se encuentran fuera del alcance del microscopio óptico (talvez con la única excepción de las impregnaciones de plata de las uniones interendoteliales).

El microscopio electrónico ha abierto nuevos horizontes, pero todavía el mecanismo preciso de intercambio transendotelial no se ha dilucidado.

En relación con el mecanismo normal de intercambio transendo-

telial, dos estudios recientes del laboratorio de Palade de--ben de ser mencionados. Primero algunas células endotelia--les parece que se hallan atravezadas por pequeños canales --del tamaño de una vesícula pinocítica, éstos canales son --usualmente tortuosos para ser vistos en una sola sección y fue--ron demostrados viendo múltiples cortes a varios ángulos. --Segundo, las uniones intercelulares en las vénulas son tan --apretadas como en otras pequeños vasos. Esto fue demostra--do por la técnica de congelación de las arteriolas, vénulas--y capilares del mesenterio.

Entre los mecanismos celulares que pueden hacer que la ca--pa endotelial extravase se han demostrado o sugerido:

a) Dstrucción endotelial: Esta es evidente ya que las cé--lulas endoteliales están rotas o muertas, mientras que la membrana basal permanece intacta. Cuando esto ocurre las plaquetas se adhieren a la superficie lesionada pero--la trombosis usualmente no oblitera el lumen. La muerte de las células endoteliales ocurre un tiempo considera--blemente después de que la noxa ha actuado. (7, 41, 8, 9, 56, 43).

b) Formación de brechas intercelulares por contracción en--dotelial.

Los mediadores del tipo de la histamina inducen cambios ultra estructurales altamente sugestivos de contracción --endotelial en las vénulas. (31, 54, 57).

Estos cambios incluyen:

- a. Protrusión del cuerpo celular dentro del lumen
- b. Cambios en la forma del núcleo de oval a redondo.
- c. La aparición de múltiples pliegues en la membrana nu--clear.

- d. La aparición de pliegues en la membrana celular.
- e. Presencia de bandas de filamentos de 40 a 70 A en --diámetro, algunas veces marcadas por bandas obscu--ras dispuestas periódicamente.
- f. La aparición de un espacio intercelular en uno o en --ambos lados de la célula endotelial.

Cuando dos células endoteliales se separan, una de la--otra, a menudo permanecen parcialmente conectadas --por prolongaciones del citoplasma largas y finas, que --atraviezan el espacio entre dos células. Un hallazgo--similar se ha observado en células endoteliales cultiva--das in vitro. Por lo tanto no es raro ver en una sección extremadamente delgada un glóbulo rojo atravezando --dicho espacio. Estas proyecciones citoplásmicas de las células endoteliales que atraviezan el espacio existen--te entre ellas, han dado lugar a varias malas interpreta--ciones, con el microscopio electrónico; así por ejemplo se ha dicho que el espacio ocurre dentro de las células y no entre ellas; o a la formación de una burbuja de la superficie de la célula endotelial, cuando éstas se se--paran sin contracción. (41, 38)

La idea de que el endotelio de las venas es contractil--surgió por los estudios estructurales con microscopía --electrónica, lo cual tuvo un fuerte apoyo con la demos--tración de que las células endoteliales contienen pro--teína contráctil y la demostración in vivo de la contrac--ción de las vénulas en el mesenterio de la rata. Por --otro lado Ryan y Magno no están convencidos del todo--de que la contracción endotelial también puede llevar--se a cabo en las grandes arterias (41) además deberá lle--varse en mente que la presencia de filamentos intrace--lulares no es sinónimo de contracción celular; aunque --hay que hacer notar que existen dos clases de miofila--mentos "delgados y gruesos" de 40 a 70 A y de 170 A --

respectivamente; los cuales se han comparado con la actina y la miosina; existiendo un tercer tipo de filamentos de 100 Å los cuales no se han correlacionado con ningún tipo de proteína muscular y pueden ser estructuras semirígidas que funcionan como un citoesqueleto. (41, 57)

c) Formación de espacios por separación de las uniones endoteliales.

Cuando se examinan los tejidos después de injurias relativamente ligeras como el calor, turpentina, mostaza nitrogenada, la extravasación a menudo aparece entre las células endoteliales, encontrándose las células algunas veces normales, a veces oscuras o con cualquier evidencia de daño celular. La impresión es de que tales espacios pueden ocurrir también como resultado de injurias directas ligeras (ejemplo sin contracción endotelial como si las uniones intercelulares fueran particularmente delicadas). En la intoxicación aguda por cadmio se ponen de manifiesto los espacios intercelulares en las células endoteliales sin evidencia de contracción. Los leucocitos que emigran también son capaces de apartar de entre sí las células endoteliales. La evidencia disponible sugiere que el fenómeno de separación es real, y puede jugar un papel importante en la patología vascular.

d) Extravasación transcelular.

En teoría parecería imposible que una célula endotelial viva, pueda ceder su derecho privado de que su medio interno se haga libremente permeable y permita de ser por así decirlo, invadido por el plasma; a este respecto existen dos reportes en la literatura, que tal circunstancia puede ocurrir en el pulmón bajo los efec-

tos de las toxinas del antrax o del cólera. Desde luego se necesitan más estudios antes de que lo anterior se acepte como una verdad. Sin embargo, la noción de pasaje transcelular es aceptable si se entiende como una expresión de que éste se lleva a cabo en los canales transcelulares, ya que sabemos que tales canales existen en el endotelio normal. (41, 38)

e) Aumento del transporte activo por las vesículas pinocíticas.

En las descripciones de las células endoteliales en inflamación a menudo se indica que hay una vesiculación aumentada. Algunas veces un aumento en el diámetro de las vesículas como una expresión de hinchazón patológica, da la idea de un aumento aparente en número; pero aunque el aumento en el número de las vesículas fuera real, esto no indica o es sinónimo de un transporte aumentado. (41, 7, 33)

Otras fuentes posibles de origen del exudado inflamatorio:

En primer lugar no debe olvidarse que el exudado se encuentra mezclado con trasudado, ya que un aumento en la dilatación arteriolar hace que se produzca un aumento en la presión de la microcirculación y esto se traduce en un aumento en la ultrafiltración a través de la superficie del endotelio que ha permanecido intacto. Además, la lesión ocasionada por la toxina del cólera ha enseñado que las células intestinales pueden producir una enorme cantidad de líquido si el agente tóxico interfiere con su mecanismo secretor normal.

La secreción también puede ser una actividad prominente de las células del tejido conectivo, especialmente de los fibroblastos, es entonces posible que las bacterias u otros productos puedan irritar las células localmente e inducir las a que secreten excesiva o anormalmente. Los pasos que siguen a este respecto son bastante interesantes, ya que se ha observado

que varios tejidos humanos contienen un péptido activador del tejido conectivo, el cual induce hipermetabolismo en fibroblastos normales en cultivo de tejidos. Hubo aumento de la formación de lactato y hialuronato, así como aumento en la ingestión de glucosa, mientras que hubo disminución en la formación de colágeno fibroso y soluble. Este ejemplo de irritación celular nos recuerda el concepto de Virchow de inflamación parenquimatosa. (40, 41, 33).

PATRONES FUNCIONALES DE EXTRAVASACION

Hasta ahora hemos hecho un análisis de la extravasación y los mecanismos patogénicos de la misma. Si ahora examinamos la extravasación desde el punto de vista funcional clínico de acuerdo como éste se desarrolla en tiempo, nosotros observamos que éste debe presentarse de acuerdo a tres patrones básicos ó una combinación de éstos. Por consiguiente ahora nuestra misión es describir estos patrones funcionales y correlacionarlos con los eventos estructurales.

Extravasación Inmediata Transitoria

La extravasación inmediata transitoria, ocurre inmediatamente después de la exposición a una injuria y dura muy poco tiempo (promedio de 15 a 30 minutos). Esto ocurrirá dentro del área traumatizada si el daño es ligero (buenos ejemplos son la rueda alérgica o la rueda de la reacción triple desencadenada al lesionar la piel con un objeto romo) y alrededor del área afectada si el tejido es destruido. Estructuralmente está caracterizada por su alto grado de especificidad para afectar las vénulas de hasta 100 micras en diámetro (desprovista de músculo). Está firmemente establecido que esta respuesta se debe a la liberación de sustancias químicas en el sitio de la injuria; ya que puede

ser reproducida con sus aspectos típicos de: -aparición - -pronta. -corta duración. -alteración de las vénulas, por la inyección local de mediadores de la histamina. (54, 31, 57, 41)

Estos últimos son un grupo de sustancias químicas diferentes de aquí que no nos sorprenda que los antihistamínicos - por sí solos no la suprimen. De los tres patrones de la extravasación, sólo el primer patrón se conoce en definitiva - de que es causado por agentes químicos endógenos específicos, por lo tanto en teoría es el más susceptible de inhibición farmacológica.

Extravasación inmediata Prolongada

La extravasación inmediata prolongada es el resultado típico de injuria directa. Esta comienza inmediatamente y continúa hasta que los vasos sanguíneos dañados son reparados u obstruidos por trombos, y dura hasta dos días (41, 56). Un buen ejemplo de lo anterior lo constituye la extravasación de una quemadura, poco sabemos acerca de cómo el vaso sanguíneo lesionado es reparado. Probablemente nuevas células endoteliales crecen a lo largo de la membrana basal, siempre que ésta se encuentre preservada; y tal vez, las células endoteliales proliferadas también toman parte en el proceso de limpieza, fagocitando los detritus celulares y otro tipo de materiales extraños. (Esta variedad de extravasación ha sido llamada temprana, término que no es adecuado en virtud de que la respuesta histamínica arriba descrita es temprana.

Extravasación retardada prolongada.

En el caso particular de la extravasación retardada prolongada, es fácil describir los eventos funcionales, pero no así;

su patogénesis. Las observaciones iniciales hechas por Sir Arthur Miles. En la piel del cerdo de guinea usando la técnica de azulamiento y después de la inyección de bacterias vivas ó la toxina alfa del clostridium perfringens, ellos observaron por un período corto un aumento en la permeabilidad, seguido 2 a 4 horas más tarde por un segundo episodio más persistente. (41, 57, 7)

Una reacción retardada prolongada fue observada por Sevitt en 1958 usando una quemadura experimental ligera (55 grados por 5 segundos). Desde entonces este mismo tipo de reacciones han sido observadas y producidas con un sinnúmero de agentes incluyendo frío, rayos X, productos bacterianos, toxinas y una variedad de químicos que incluyen el caolín, carrageina y desde luego la turpentina. Un buen modelo para estudiar este fenómeno es la injuria térmica ligera producida con el extremo plano de un cilindro de cobre mantenido a la temperatura deseada con agua caliente circulante, usando este método en la piel y combinándolo con la técnica de marcado vascular, se encontró que la extravasación ocurría en la red capilar superficial; una lesión capilar similar fue hecha en el músculo cremáster de la rata cuando el cilindro caliente se aplicaba al escroto. Por lo tanto se concluyó en este tiempo que la extravasación retardada prolongada afecta principalmente los capilares. En ese entonces habían dos aspectos experimentales de la reacción que eran intrigantes:

- a) El porqué de la predilección de los capilares; y
- b) El mecanismo del retardo.

En la actualidad existen explicaciones satisfactorias para ambos. Primero: el problema de la selectividad por los capilares. Ciertamente las lesiones descritas eran capilares, y en el caso particular de la piel eran fáciles de explicar por la localización anatómica de los vasos sanguíneos, próximos a la superficie y fácilmente dañados por la injuria; siendo éstos los más susceptibles

de mostrar los primeros signos de injuria. Si esto es cierto, entonces el mismo tipo de injuria producida por el calor aplicada a una red vascular con un diferente patrón debería mostrar diferente selectividad. Esto es correcto, ya que aplicando directamente un disco calentado a la fascia de los músculos abdominales de la rata, en donde el patrón vascular incluía capilares y vénulas, la reacción retardada se llevaba a cabo en ambos tipos de vasos. Para explicar el problema del retardo en la reacción, Ryan y Hurley establecieron una analogía entre la injuria producida por el calor al endotelio de la microcirculación y la injuria tóxica a las células hepáticas. Ya por ese tiempo era un hecho establecido que el tetracloruro de carbono por ejemplo, llega al hígado muchas horas antes que el daño estructural sea evidente o demostrado. Esto sugirió que el mismo mecanismo podría ocurrir en los vasos sanguíneos dañados por el calor. Para poner a prueba esta hipótesis seleccionaron un número de drogas capaces de proteger las células hepáticas contra la injuria tóxica (por ejemplo la prometoxina) y también encontraron que ellas también suprimían la extravasación inducida por una injuria térmica ligera. Este fue un argumento más para sugerir que la extravasación retardada es debida a una injuria directa en el endotelio. Segundo: Otro argumento más es el siguiente: Si la intensidad del estímulo está aumentada (con una quemadura más severa), el retardo se hace más corto y la reacción eventualmente se vuelve monofásica (ejemplo: prolongado inmediata). Un tercer aspecto de la respuesta retardada que necesita ser explicado es su naturaleza prolongada. Esto también se ve fácil si nosotros tratamos de la injuria directa. En lesiones producidas con calor ligero Ham y Hurley encontraron espacios que se parecen a aquellos producidos por la histamina, pero también muchos más grandes acompañados de daño endotelial obvio (mucho más severo después de 24 a 48 horas que después de dos horas). (41, 57)

Ryan y Magno (41) creen que la respuesta retardada prolongada es hasta cierto punto un caso especial de injuria directa. Más precisamente, una consecuencia de injuria directa ligera. Ellos califican ésta agregando "hasta cierto punto", porque todavía existe la posibilidad de que los mediadores químicos juegen un papel menor, tal vez mediadores de larga acción, también tal vez agentes de corta acción, pero que se liberan continuamente. Se necesitan urgentemente estudios para determinar el efecto local crónico de los mediadores del tipo de la histamina. Pero cualquiera sea el resultado que muestren los estudios sobre la patogenesis de las reacciones retardadas, es actualmente claro que una substancia específica efectiva solamente sobre la permeabilidad de los capilares no es necesaria. Ryan y Magno agregan que la noción de mediador capilar tiene varias objeciones en contra en bases puramente teóricas. La naturaleza parece que ha protegido sabiamente a los capilares. En primer lugar en la evolución de la reacción inflamatoria aguda como ocurre después de un trauma mecánico, es obvio que pueden desarrollarse varias vías alternas para estar seguro que las vénulas van a extravasar, y desde luego de acuerdo con lo que conocemos ninguno de estos mediadores químicos afectan a los capilares. Un segundo ejemplo de respeto a los capilares, lo ofrece la diápedesis; los leucocitos corren a lo largo del lumen capilar y se deciden a adherirse y a emigrar sólo cuando han alcanzado las vénulas. En tercer lugar, a no ser por la diabetes mellitus, los capilares parece que son de los tejidos más sanos del organismo; aún los cambios de la vejez los deja casi intactos. Ellos casi no tienen enfermedades propias. (41)

Por el contrario, las vénulas son el blanco de un sinnúmero de enfermedades; extravasación, diápedesis, petequias, injurias alérgicas, etc. Todas tienen predilección mórbida por esos vasos sanguíneos. Por qué? representa esto un accidente o tal vez señala relacionado con la unión laxa de sus células endoteliales.

Ryan y Magno (41), al especular sobre este tópico creen que la naturaleza tiene razones fuertes para hacer que los capilares sean respetados, ya que ellos representan las unidades reales funcionales del sistema vascular entero. Ha dispuesto las cosas de tal forma que los preciados capilares siempre continuarán funcionando ciegamente, sin mucha oportunidad de elegir, estando asignada la flexibilidad de control a la corriente sanguínea de las arteriolas. Si esto no fuera así, imaginemos qué sucedería si la diápedesis se llevara a cabo en los capilares en donde el lumen es tan estrecho, que los leucocitos tienen que elongarse para poder ser transportados por la corriente sanguínea. Y tan pronto como un leucocito se adhiera a la pared como un paso preliminar de la diápedesis, este actuará como un trombo ó émbolo con sus efectos secundarios. En otras palabras, la circulación a través del capilar cesaría y no se continuaría sino hasta que el leucocito atravesara la pared vascular que le toma varios minutos. Este mecanismo a nivel capilar sería de lo más desastroso, ya que sabemos que la circulación a nivel del área de la injuria es de primordial importancia. También es posible que el leucocito actuando como émbolo tuviera problemas en su comportamiento, atrapado en el lumen vascular en ambos ó por todos lados rodeado de endotelio, podría quedar inútil de enviar sus pseudópodos y permanecer atrapado. A este respecto no es raro ver glóbulos rojos en esta manera. Finalmente si los mediadores del tipo de la histamina hacen que los capilares extravasen y no las vénulas se origina un problema circulatorio. La pérdida de plasma rápidamente da lugar a que los glóbulos rojos se apiñen como pilas de monedas, formando una columna, que encontraría mucha resistencia a circular. Un fenómeno similar ocurre también en las vénulas (estasis), pero en éstas el radio de volumen plasmático a superficie endoteliales mayor, de ma - - - - -

nera que la pérdida total de plasma y el apelonamiento son menos probables, por lo tanto la circulación continúa.

Por estas razones Ryan y Magno creen que el descubrimiento de un mediador endógeno específico que afecte los capilares es menos probable. Después de todo no se conoce un solo -- agente farmacológico capaz de modificar las funciones de la pared capilar. Es posible que la naturaleza ha propósito ha -- lla desposeído a las células endoteliales de los capilares de -- los receptores apropiados, para preservarlos de la tentación -- de responder. (41)

Producción de la Reacción de Arthus

Al inicio de la centuria, Mauricio Arthus, publica una serie -- de experimentos sobre una reacción cutánea que puede ser -- provocada en conejos sobresensibilizados a suero extraño -- (Arthus 1903, Arthus y Breton 1903).

Los conejos fueron inyectados subcutáneamente con suero de -- caballo 5cc. Durante los primeros cuatro días ninguna respues -- ta a la inyección ocurre, pero en el quinto y días subsecuen -- tes, reacciones edematosas y finalmente hemorrágicas y necró -- ticas aparecen en el sitio varias horas después de la inyección. El fenómeno fue repetido en algunos laboratorios, y en 1907 -- fue titulado Reacción de Arthus por Nicolle. En los años sub -- secuentes sin embargo el estado de sensibilidad aparente ha -- sido medido en términos de anticuerpo sérico que puede ser -- demostrado en conejos reactantes.

Nicolle en 1907 primero demuestra que la sensibilidad del an -- tígeno puede ser transferida de un conejo sensibilizado a un -- recipientario normal con suero. Ha sido Opie en 1924 quien -- de manera convincente demuestra que la sensibilidad de Arthus -- ha sido manifestada por anticuerpo sérico.

El: 1. Correlaciona la presencia de actividad precipitan -- te en el suero y la habilidad del conejo para responder al -- cambio antigénico intradérmico.

2. Al transferir la reactividad por medio de suero, demues -- tra que tiene anticuerpo precipitante.

3. Y al remover la sensibilidad del animal absorbiendo -- fuera el anticuerpo circulante con antígeno.

A pesar de esta fuerte evidencia experimental, opuesta a -- la hipótesis que el anticuerpo circulante era un mediador -- continuo de la sensibilidad.

Fueron Culbertson (1935), Cannon y Marshal (1941), Fis -- chel y Eabat (1947) y Benacerrof (1950), capaces de de -- mostrar una correlación entre la cantidad actual de anti -- cuerpo medido y la intensidad de la reactividad de Arthus, -- estos mecanismos antígeno anticuerpo han sido generalmen -- te aceptados. Cantidades conocidas de anticuerpo precipi -- tante pueden provocar reacciones de intensidad predecí -- ble.

Posteriormente con el advenimiento de la técnica del anti -- cuerpo fluorescente ha sido posible demostrar microscópi -- camente la presencia de antígeno anticuerpo. (57)

TABLA # 3 CORRELACION HISTOLOGICA Y ULTRAE STRUCTURAL DE VARIOS TIPOS DE FAGOCITOS MONONUCLEARES VISTOS EN INFLAMACION GRANULOMATOSA.

CELULA	HISTOLOGICO	ULTRAE STRUCTURAL
MONOCITO	Pequeñas células redondas, núcleo oscuro central, citoplasma hialino basofílico y <u>es</u> <u>caso</u> .	Células muy simples cromatina heterocromática núcleo inconspicuo, citoplasma escaso, conteniendo pocas mitocondrias y vesículas pinocíticas.
MACROFAGO INMADURO	Núcleo redondo localizado centralmente - cromatina altamente aumentada, citoplasma eosinofílico y altamente espumoso, <u>bor</u> <u>des</u> <u>celulares</u> <u>diferentes</u> .	Prominente Eucromatismo nuclear, apiñamiento temprano de heterocromatina en la membrana nuclear; citoplasma conteniendo algunos ribosomas, polisomas, canales y retículo endoplásmico liso y rugoso; Mitocondrias y unos pocos canales de Golgi y lisosomas.
MACROFAGO MADURO	Grandes células poligonales, grandes núcleos ovals excentricos, cromatina marginada vesicular y abierta; nucleolos grandes eosinofílicos, células que se tocan una a la otra, borramiento de los bordes citoplásmicos, granulomas se encuentran <u>presen</u> <u>tes</u> .	Grandes núcleos, cromatina Eucromática, la eterocromática está marginada, - - grandes nucleolos activados; mucho citoplasma lleno con lisosomas, canales de Golgi, retículo endoplásmico liso y rugoso, Ribosomas, polisomas y mitocondri-- sas.
CELULA EPITELIOIDE INMADURA	Nucleo excéntrico reniforme, cromatina - completamente vesicular, la que es alta-- mente marginal nucleolo menos prominente, citoplasma hialino eosinofílico, borramiento moderado de los bordes citoplásmico, - <u>célu</u> <u>las</u> <u>cerradas</u> <u>pegadas</u> .	Grandes macrofagos con algunos pseudopodos, núcleo eucromático, citoplasma-- muy grande, numerosos, lisosoma y mitocondrias, pocos ribosomas, polisomas y - retículo endoplásmico rugoso, aparato de Golghi prominente.
CELULAS EPITELIOIDES	Grandes células elongadas, las cuales están pegadas, borde citoplásmicos indistintos, núcleo excéntrico reniforme, cromatina fina-- mente marginada, citoplasma pálido abundante, el cual es Eosinofílico y granular, <u>tu</u> <u>bérculos</u> <u>definidos</u> <u>presentes</u> .	Grandes macrofagos poligonales, grandes núcleos eucromáticos, nucleolos pro-- minentes, citoplasma abundante que llena con algunos lisosomas, pinositis <u>ac</u> <u>tiva</u> <u>y</u> <u>fagocitosis</u> ; células pegadas asociadas e intercomunicadas por pseudopos gemelos.

3. EVENTOS CELULARES

1. Aspectos Generales

1.1 Adherencia Leucocítica.

1.2 Curso del tiempo en la infiltración

1.3 Quimiotaxis

1.4 Fagocitosis

2. Tipos celulares envueltos

2.1 Polimorfonucleares

2.2 Macrófagos Mononucleares

2.3 Linfocitos.

3. EVENTOS CELULARES

1. Aspectos Generales.

El aspecto patognomónico de la inflamación es la infiltración por leucocitos. En los estadios tempranos y especialmente si hay infección bacteriana, la célula predominante es el neutrófilo. En los estadios tardíos y durante la fase de resolución, la célula predominante es el fagocito mononuclear. Ambos tipos celulares son derivados de la célula sanguínea correspondiente, la cual se adhiere al endotelio y emigra a través de la pared vascular.

Una vez en los tejidos, los leucocitos fagocitan las bacterias y detritus celulares. Estudios recientes de los defectos clínicos de la función de los leucocitos han demostrado claramente que trastornos en la locomoción celular, quimiotaxis, fagocitosis, y/o actividad microbicida, pueden conducir a infecciones serias y a veces fatales. (12, 38, 41)

1.1 Adherencia Leucocítica (30, 41, 57)

La pavimentación o adherencia de los leucocitos en la pared de los vasos sanguíneos en las áreas inflamadas ocurre principalmente en las vénulas. En los primeros tiempos se creía que este fenómeno de adherencia se debía a la presencia de un material gomoso presente en la superficie luminal de las células endoteliales, el cual se visualizaba usando coloraciones especiales, como el rojo rutenio, el hierro coloidal, y el azul de alsacia. Sin embargo, no se ha observado ninguna alteración de este material en los vasos inflamados, aunque no hay seguridad que un aumento en esa capa estaría necesariamente asociado a un cambio morfológico detectable. Un punto de vista diferente fue adoptado por investigadores suecos, quienes estudiaron el mesenterio del conejo y la bolsa del carrillo de Hamster, inflamados y concluyeron que siempre que un granu-

lo cito (o glóbulo rojo o plaqueta) se adhieren, lo hacen siempre sobre un espacio de 0.1 a 1 micra en diámetro o mayor; un espacio que no tiene ninguna relación con las uniones endoteliales (la última premisa es sorpresiva debido a que no puede sostenerse únicamente en base a los hallazgos electromicroscópicos). Los espacios endoteliales ciertamente pueden atrapar células de todos los tipos, pero la adherencia leucocítica es cosa completamente diferente. También se han hecho intentos para explicar la adherencia de los leucocitos por medio de un cambio molecular invisible, siendo posible que una alteración local de las membranas celulares permite en alguna forma la formación de un puente entre el endotelio y el leucocito a expensas del calcio.

Bangham ha sugerido que esta formación del puente puede comenzar en los sitios de contacto de las protuberancias celulares (pseudópodos); en los sitios en que las fuerzas electrostáticas mutuamente opuestas o repulsivas están disminuidas ó reducidas. Que los cationes divalentes, especialmente el calcio, podrían jugar un papel en la adherencia de los leucocitos.

En resumen, todo lo que se puede decir acerca del mecanismo envuelto en la pavimentación de los leucocitos in vivo, es que los cationes divalentes de alguna forma se hallan envueltos en el proceso.

Siguiendo la corriente actual de examinar la función de los leucocitos, se han desarrollado métodos para cuantificar la adherencia de los mismos. Estos métodos se basan en la adherencia leucocitaria a superficies de vidrio, o fibras de Nylon y por lo tanto están sujetos a que los hallazgos no pueden ser representativos de lo que la adherencia de los leucocitos al endotelio.

A pesar de ello los resultados obtenidos indican que la adhesión depende de la glicólisis y requiere la presencia de cationes divalentes, y es suprimida por la acción de agentes que incrementan el AMP cíclico intracelular. (ejemplo: el dibutiril AMP cíclico, la prostaglandina F, Histamina, Teofilina) o por el tratamiento de las de las células con etanol, predmisona o aspirina.

EMIGRACION LEUCOCITICA (41, 5, 33, 5, 12, 14, 28)

Como lo indicó Arnold en 1875, los estudios con microscopía electrónica han mostrado que los leucocitos emigran a través de la pared vascular por vía de las uniones endoteliales. La afirmación de Marchesi y Gorvaus de que los linfocitos atraviesan el citoplasma de las células endoteliales en las vénulas postcapilares del ganglio linfático. Lo cual ha sido refutado por Schoefl empleando técnicas de cortes seriados, con lo cual han encontrado que los linfocitos atraviesan la pared vascular a nivel de los espacios interendoteliales.

Hurley encontró, que la emigración leucocítica solamente en la injuria ligera no induce extravasación. Indicando que los leucocitos se insinúan en forma precisa y apretada en las uniones endoteliales. A este respecto la emigración leucocítica no aumenta la concentración local de albúmina marcada con yodo en los sitios de inyección de histamina. Sin embargo si se provoca extravasación vascular (ejemplo inyección de histamina) concomitante con emigración leucocítica (en la piel inyectada 4 horas antes con suero), las partículas de carbón administradas intravenosamente, escapan libremente a los tejidos, tiñéndose de negro. Esto generalmente ocurre porque la membrana basal de las células endoteliales se halla temporalmente alterada por los leucocitos que escapan. La adherencia de los leucocitos y la emigración a través del endotelio, también puede ocurrir en venas de mediano tama-

ño como respuesta de un trauma perivascular. Los agentes que median o intervienen en la emigración leucocítica, son desconocidos. Se ha concluido que los factores responsables de la emigración leucocítica son producidos cuando un suero es activado por sustancias derivadas de los tejidos injuriados o de los neutrófilos. Posteriormente se demostró que tales sustancias pueden ser quimiotácticas.

1.2 Curso del tiempo en la infiltración leucocítica. (41, 37, 38, 52).

El número de células que emigran dentro del exudado inflamatorio, puede medirse después de la inyección de agentes flogísticos dentro de la cavidad peritoneal, cavidad pleural, o en cámaras colocadas en abrasiones cutáneas pequeñas. Los hallazgos nos indican que con irritantes relativamente ligeros (sol de glicógeno y suero), la acumulación de neutrófilos alcanza su máximo aproximadamente a las 4 horas, y luego declina rápidamente, mientras que el número total de células mononucleares empieza a elevarse sólo después de 4 horas y alcanza un máximo sostenido entre 18 y 24 horas. La concentración máxima de neutrófilos muestra gran variación con diferentes estímulos, mientras que por el contrario, existe poca variación en el máximo de concentración de mononucleares.

Cuando la *klebsiella pneumoniae*, viva se inyecta intrapleuralmente, se observa una infiltración masiva de neutrófilos, la cual aumenta progresivamente en las 24 horas de observación, no encontrándose en este período una respuesta mononuclear. Previamente se había sugerido que los neutrófilos y los fagocitos mononucleares emigraban simultáneamente dentro del exudado inflamatorio y de que los neutrófilos desaparecían rápidamente, exponiendo en ésta a los agentes injuriantes a la acción de los mononucleares que actúan en forma más

prolongada y vivían más en los estadios tardíos. Esto tuvo apoyo en ese entonces por la creencia de Harris que los neutrófilos y los monocitos no mostraban diferencias en la reacción quimiotáctica ante los diferentes estímulos. Sin embargo, los resultados de los experimentos anteriormente descritos indican que la entrada de los monocitos en el exudado inflamatorio empieza justamente cuando la emigración de los neutrófilos declina y continúa por un período de tiempo considerable. (41, 15, 1, 2)

En la actualidad sabemos que existen diferencias en la respuesta quimiotáctica para los dos tipos de células, por ejemplo los monocitos aparentemente responden en forma significativa a una proteína lisosómica catiónica derivada del neutrófilo. (12)

1.3. Quimiotaxis

Quimiotaxis ó sea la atracción de células hacia sustancias químicas, ha fascinado a los biólogos por más de una centuria. (19, 40, 41, 57). Por el año 1940 a partir de los trabajos de Leber, Commandon, Clark, generalmente se creyó que los neutrófilos eran atraídos por varias bacterias y sus productos y factores derivados de la destrucción tisular. En 1950 Harris indicó que muchos de los conocimientos que se tenían en relación con la quimiotaxis de los leucocitos, eran el resultado de experimentos pobremente controlados. Por consiguiente, él ideó un sistema que permitía la observación y la fotografía continua de la locomoción leucocítica de la manera como sigue:

Las células se colocaban en una película de plasma coagulado entre cubre y porta objeto y empleando la microscopía de campo oscuro y exposiciones fotográficas prolongadas, las huellas al moverse las células eran visualizadas como manchas

blanquecinas en un fondo negro. Harris confirmó que varios grupos de bacterias eran quimiotácticas; él también comprobó que no había polarización de las huellas hacia fragmentos de tejido injuriado o autolizado. El siguiente evento importante fue la introducción de un nuevo sistema de investigación por Boyden en 1962. Este consistía básicamente en una cámara con dos compartimientos separados por un filtro de membrana colocado en forma horizontal. Los leucocitos se colocaban en el compartimiento superior y emigraban a través del filtro cuando se colocaban en el compartimiento inferior una solución quimiotáctica. La actividad quimiotáctica de la sustancia a investigar, se medía contando el número de células presentes en la solución inferior en un período de tiempo determinado. (37, 41)

En una modificación de esta técnica, Keller y Cols. colocaron un segundo filtro más fino, cerca del filtro original de Boyden, para atrapar y contar las células que podrían desprenderse de la superficie de este último. Las ventajas del sistema de Boyden son: que puede usarse para detectar la actividad quimiotáctica de sustancias en solución y que permite hasta cierto límite, cuantificar y así comparar la actividad quimiotáctica de diferentes sustancias.

La mayor y tal vez la desventaja más crucial es de que cuando se realiza en forma ordinaria, puede que no se distinga entre la locomoción acelerada de las células y la quimiotaxis verdadera. Boyden reconoció este problema y llevó a cabo experimentos control, en los cuales la solución quimiotáctica a investigar, se colocaba juntamente con las células en el compartimiento superior, habiendo notado que en esta situación, las células tenían menos tendencia a atravesar el filtro que con el experimento original. Este hallazgo fue interpretado y citado repetidamente como una evidencia de que la locomoción randomizada no se halla comprometida como un resultado positivo. Sin embargo, esta presunción fue reexaminada

por Zigmound y Hirsch, quienes encontraron que las sustancias pueden estimular la locomoción en concentraciones bajas, pero inhibirla en concentraciones altas. Estos investigadores concluyeron que bajo la mayoría de circunstancias es difícil o imposible distinguir en la cámara de Boyden entre los defectos de Locomoción y Quimiotaxis. Ellos propusieron una forma de realizar estos experimentos en forma más rigurosa en donde la distancia recorrida por las células dentro del filtro fue primero determinada en la ausencia de un gradiente, pero en experimentos individuales con un margen completo de concentraciones de las sustancias a investigar arriba y abajo del filtro. Estos resultados deberían entonces ser comparados con aquellos obtenidos empleando un rango completo de gradientes, permitiendo así un análisis para ver si las células expuestas a un gradiente positivo se movían dentro del filtro más rápidamente que lo esperado en base a la locomoción al azar solamente, y la verdadera locomoción en ese sistema permaneciera difícil de elucidar. Ryan y Magno están de acuerdo con Hirsch al afirmar que los resultados obtenidos con tales técnicas indirectas deberán ser comprobados con observación microscópica de los leucocitos en preparaciones delgadas, tales como las empleó Harris. (41, 57, 44)

Volviendo nuevamente a las observaciones de Harris. El descubrió que la actividad quimiotáctica para los neutrófilos se generaba en un sistema de suero labil al calor (posiblemente complemento) durante la incubación con precipitados antígeno anticuerpo. Hurley pronto utilizó la técnica para demostrar que el suero activado por tejidos desmenuzados era también quimiotáctico. Ryan y Hurley usando la técnica fotográfica de trazado preconizada por Harris, directamente demostraron que los neutrófilos se dirigían lentamente hacia los tejidos que previamente habían sido incubados por suero fresco. Estos hallazgos no sólo reinstalaron el concepto que los factores quimiotácticos pueden ser liberados durante el daño tisular, pero también establecieron el nuevo concepto de que tales factores pueden derivarse de una interacción entre productos tisulares y substrato del suero. Va--

rios investigadores a partir de lo anterior, han puntualizado el papel importante que desempeña el complemento del suero en la producción endógena de factores quimiotácticos, (ejemplo de fragmentos C3 y C5).

Además de dar origen a productos que liberan moléculas quimiotácticas de los componentes del complemento, parece que también las células lesionadas pueden liberar agentes quimiotácticos suero independientes. Empleando un sistema de porta y cubreobjetos, Bessis y Burte, injuriaron células individuales por medio de un rayo Lasser y directamente observaron la atracción de los neutrófilos hacia las células dañadas. Bessis preconizó el término necrotaxis para definir este fenómeno e hizo énfasis en que la atracción sólo ocurría por un corto período de tiempo, y siempre durante la desintegración de la célula blanco; posteriormente se demostró que esta atracción ocurría también en un medio libre de suero.

Grimmes y Barnes sugirieron que el AMP cíclico podría ser el principio quimiotáctico liberado por las células lesionadas con el Rayo Lasser. Con los resultados obtenidos con la técnica del Porta cubre objetos, Zigmound y Hirsch postularon que los neutrófilos dañados o que fagocitan, pueden liberar productos quimiotácticos suero independientes, posiblemente de origen lisosómico. (6, 10, 11, 12, 17)

Estudios usando el sistema de Boyden han demostrado que otros leucocitos además de los neutrófilos, por ejemplo mononucleares, eosinófilos, basófilos y talvéz linfocitos, pueden responder quimiotácticamente a varios estímulos. (4, 15, 41).

Cabe la pregunta entonces: Cuáles son los mecanismos envueltos en la respuesta quimiotáctica? Cómo detectan los-

leucocitos un gradiente de moléculas quimiotácticas? y cómo este gradiente influye en el movimiento direccional de las células?

Si uno observa cómo una bacteria responde quimiotácticamente, parece que la atracción se debe a que quimiorreceptores específicos de la superficie celular por ejemplo para la E. Coli, existen por lo menos 5 químicos quimiotácticos (galactosa, glucosa, ribosa, aspartato y serina). A varios mutantes de la E. Coli les faltan estos receptores, pero muestran respuesta normal hacia otros químicos, otros mutantes fallan en responder a cualquiera de los químicos y probablemente son defectuosos en la transmisión de información del receptor a la maquinaria de locomoción celular o en la maquinaria propiamente dicha. Asumiendo que una célula tiene receptores de superficie para quimioatrayentes, se puede detectar un gradiente ya sea por A. Mecanismo Temporal, en el cual la célula investiga el medio en que se encuentra a diferentes períodos de tiempo y compara las concentraciones de las sustancias que la atraen en dos o más localizaciones al mismo tiempo, o bien por: B. Un mecanismo espacial, en el cual la célula compara las concentraciones de la sustancia que la atrae en una o más localizaciones en la superficie al mismo tiempo. Para las bacterias, el trabajo de Mc Nab sugiere que se halla envuelto un mecanismo temporal en esos experimentos la Salmonella Thyphymorium a cambios repentinos en la concentración del atrayente, por ejemplo una disminución repentina hacía que la bacteria tuviera un movimiento incoordinado; mientras que un aumento repentino hacía que la bacteria se volviera lisa supercoordinada, teniendo un movimiento recto por varios minutos.

Estos efectos obviamente dan como resultado una respuesta direccional hacia un gradiente y desde luego dan lugar a una implicación interesante de que la bacteria tiene algún tipo de memoria para permitirle comparar información nueva y vieja. (41, 44).

Por otro lado, se ha sugerido que el mecanismo espacial se halla -

comprometido en la quimiotaxis de los leucocitos.

Zigmound, empleando la cinematografía en lapso de tiempo en preparaciones de leucocitos en cubre y porta objetos, demostró que las células estacionarias expuestas a un gradiente quimiotáctico hacían su primer movimiento quimiotáctico hacia la fuente quimiotáctica. Esto nos indica que un leucocito puede distinguir el número de moléculas quimiotácticas por su dimensión. Sin embargo, no se sabe cómo tal gradiente conduce a un movimiento direccional. Por ejemplo, cómo los elementos contractiles Actina y Miosina de la célula son puestos en acción y producen movimientos coordinados para producir la respuesta correcta. Tampoco sabemos qué pasa a los quimiorreceptores específicos si es que existen como tales durante el movimiento celular, o si por ejemplo ocurre como en otros componentes, superficie de los neutrófilos, ellos se deslizan hacia la cola de la célula.

Se ha dicho que las tasas de locomoción no son afectadas durante la quimiotaxis, otros dicen que la locomoción es estimulada en la presencia de agentes quimiotácticos.

Otros efectos generales de los agentes quimiotácticos han sido informados. Goetzl encontró un aumento de dos a seis veces la actividad del Shunt hexosa monofosfato inducida en neutrófilos humanos, además bloqueando este Shunt parcialmente con 6 Aminonicotinamida se suprimía la respuesta quimiotáctica; el tratamiento con dosis altas de ácido ascórbico, el cual estimula el Shunt, aumentaba tanto la migración como la quimiotaxis en el sistema modelo de Boyden.

Además, se ha demostrado que los agentes quimiotácticos inducen liberación de enzimas lisosómicas del neutrófilo, expansión del volumen celular, efusión de calcio y disminución de la carga eléctrica negativa de la superficie.

Lo más probable es de que la mayoría de los tratamientos que se cree disminuyen la respuesta quimiotáctica en el sistema modelo de Boyden, actúan disminuyendo la locomoción celular. Esto podría explicar la inhibición quimiotáctica que algunos han llamado ocurre con la Citochalasin B, con tratamientos que aumentan la cantidad de AMP cíclico intracelular, y con varias drogas (ej. corticosteroides, cloroquina, fenilbutazona).

En igual forma la potencialización quimiotáctica que se atribuye a ciertos tratamientos que aumentan el GMP cíclico pueden ser debidos a una aceleración de la locomoción. Se ha informado que la Colchicina y otras drogas que afectan los microtúbulos de la célula inhiben la quimiotaxis en el sistema de Boyden.

Sin embargo, recientemente se ha observado en experimentos con el método de porta cubre objetos, que la polarización quimiotáctica de los neutrófilos hacia grupos de bacterias no se halla alterada en presencia de Colchicina. (41, 44)

Los estudios de Ward y Becker sugieren que un paso esencial en la respuesta de los neutrófilos a las diferentes sustancias quimiotácticas (Ej: Fragmentos C567, C3) fragmentos C5 y factores bacterianos) envuelve la activación por el agente quimiotáctico de una serina esterasa unida a la célula (esterasa activable).

Esta esterasa parece que existe en forma inerte como proesterasa y tiene una forma activa esterasa. Esta última es inhibida por compuestos organofosfóricos, inhibiendo así la respuesta quimiotáctica. El papel preciso de esta esterasa en la célula se desconoce. Una nota de precaución en relación a estos datos, fue emitida por Woodin y sus colegas, quienes pusieron en duda el efecto de los compuestos organofosfóricos. Ellos sugieren que en las dosis usadas, tales químicos pueden causar inhibición no específica de la locomoción celular, tal vez debido a su efecto detergente.

Existe la Quimiotaxis negativa de los Leucocitos? No, - con alguna certeza. Algunos reportes que indican que los leucocitos podrían ser repelidos por ciertos materiales, -- ejemplo Caolín, no han soportado la crítica al ser reestudiados.

Finalmente puede la quimiotaxis ser demostrada in vivo? En la cámara de la oreja del conejo se ha observado acúmulos de leucocitos en sitios de injuria térmica, con Rayos Lasser, quemaduras. Estos experimentos ofrecen poca información en relación a si hubo quimiotaxis verdadera -- debido a que no se intentó estudiar el movimiento de las células individualmente. Los leucocitos puede ser que hayan entrado al área lesionada en forma fortuita durante sus movimientos y hubieran quedado atrapados en la misma. Sin embargo Bucley examinó este aspecto en forma precisa y encontró que la injuria producida por el calor en un área diminuta de la cámara de la oreja de conejo, era seguida de un movimiento activo de los neutrófilos hacia el foco dañado. (41, 44)

4. FAGOCITOSIS (46, 15, 41)

La tarea más importante para los neutrófilos y fagocitos mononucleares en los sitios de inflamación, es la ingestión, digestión y eliminación del agente injuriante y otros detritus. Este proceso llamado fagocitosis fue reconocido como defensa vital del Huésped por Iliá Metckinof (57).- La fagocitosis puede ser dividida en las siguientes fases:

- Adherencia de las partículas a la superficie celular incluyendo el contacto y reconocimiento;
- Ingestión de las partículas por la célula que también envuelve la formación del fagosoma y degranulación.
- Fragmentación de las partículas dentro de las células incluyendo los efectos microbicidas.

A. Fase de Adherencia de la Fagocitosis:

Poco sabemos acerca de la forma que los fagocitos reconocen que deberán atacar. En algunos casos, como por ejemplo la ingestión de restos de poliestireno, la fagocitosis puede llevarse a cabo en ausencia de suero. En la mayoría de los casos el recubrimiento u opsonización de las partículas por factores del suero, es de primordial importancia para acelerar la fagocitosis, por ejemplo microorganismos.

Los factores opsonómicos del suero que se han identificado, pertenecen a dos grupos principales:

Primero, están los anticuerpos específicos estables al calor IgG1 e IgG3 que actúan indirectamente contra los componentes de superficie de las partículas.

Segundo, los fragmentos opsonómicos lábiles al calor C3, los cuales se pueden unir firmemente a partículas cuando se dispara el sistema complemento. Después del contacto de la célula con una partícula opsonizada, la unión probablemente ocurre por unión a receptores específicos de la superficie celular por anticuerpos (probablemente un receptor Fc) ó por el fragmento C3.- (46, 15, 41)

Fase de ingestión de la Fagocitosis.

(Incluyendo la formación del fagosoma y degranulación).

La ingestión ocurre en la secuencia siguiente: la célula extiende pequeñas expansiones o pseudópodos, los cuales se adhieren a la superficie de una partícula; estos pseudópodos juntamente la rodean, se encuentran y fusionan alrededor de la misma, formando el fagosoma, el cual es incorporado dentro de la célula.

Usando cinematografía y microscopía electrónica se ha demostrado

do que los gránulos citoplásmicos convergen hacia el fagosoma en formación, se fusionan con él y descargan su contenido dentro del lumen vacuolar alrededor de la partícula. Este proceso es llamado degranulación. En los neutrófilos parece que los gránulos específicos se fusionan unos instantes antes que los gránulos azurófilos, esta fusión secuencial puede estar relacionada con cambios en el PH dentro del fagosoma. Los gránulos también pueden ser liberados fuera de la célula durante la fagocitosis, presumiblemente debido a extravasación de fagosomas incompletamente cerrados.

La ingestión de una partícula es un proceso que requiere energía y usualmente depende de la presencia de cationes divalentes de Calcio y Magnesio. Se ha reportado inhibición de la ingestión con drogas que aumentan los niveles intracelulares de AMP cíclico, aunque esto está en disputa (citochalasin, colchisina).

La ingestión por los neutrófilos no es específicamente estimulada por la unión con una gama globulina leucófila, se ha atribuido esto a la acción de la tuftsin un tetrapéptido liberado por la molécula de gama globulina por una enzima de la superficie externa de la célula. Además, la activación de la capacidad fagocítica y microbicida ocurre cuando los fagocitos mononucleares están en el foco inflamatorio o cuando ellos se exponen a ciertos productos de los linfocitos, tal vez MIF. (factor inhibitorio de la migración).

Una vez ha ocurrido extensa endocitosis, el fagocito es incapaz de ingerir más partículas, sugiriendo que los sitios receptores fagocíticos pueden perderse de la superficie celular, debido a que entran dentro de la vacuola fagocítica. Los fagocitos mononucleares pero no los neutrófilos, tienen la capacidad con el transcurso del tiempo de recuperar la habilidad endocítica, probablemente porque ellos pueden sintetizar nuevos receptores de superficie. Es interesante hacer notar que la fagocitosis por los neutrófilos no está acompañada por la internalización de los sitios

de la membrana comprometidos en el transporte específico de aminoácidos. Sin embargo, se cree que los microtúbulos celulares pueden de alguna manera estar comprometidos en el movimiento de los componentes de membrana durante la fagocitosis.

Procesos que conducen al rompimiento de las partículas dentro de la vacuola fagocítica.

Incluyendo efectos microbicidas. Durante la fagocitosis y después de la exposición a endotoxina o digitonina, o factores quimiotácticos, el neutrófilo muestra un incremento de su actividad metabólica, caracterizado por un aumento 2 a 3 veces en el consumo de oxígeno, formación aumentada de peróxido de hidrógeno y un aumento (de 10% de un 1% en estado de reposo) en la cantidad de glucosa metabolizada vía hexosa monofosfato (HMF).

Aunque las enzimas hidrolíticas lisosómicas derivadas de los gránulos azurófilos pueden degradar material digerible (incluyendo bacterias muertas) dentro de la vacuola fagocítica, ellas probablemente juegan un papel menor en la muerte microbiana. Por el contrario, la actividad antimicrobiana ha sido atribuida a un grupo de otros factores que incluyen, Ph ácido dentro de la célula, proteínas catiónicas de los gránulos azurófilos (ejemplo fagocitina) lisosima (una enzima lítica encontrada en ambos tipos de gránulos), lactoferrina (una proteína unida al hierro bacteriostática presente en los gránulos específicos), anión superóxido (O₂⁻) derivado de la reducción de oxígeno y agua particularmente en asociación con mieloperoxidasa y aniones hálidos, o tal vez menos efectivamente con ácido ascórbico y trazas de cobre.

El agua es un componente muy importante en el armamentarium bactericida del fagocito. Klebanoff demostró que la mieloperoxidasa y los iones Hálidos (I, Cl, Br) aumentaban en gran forma la efectividad del agua contra las bacterias, hongos y virus.

El mecanismo envuelto en matar estos agentes infecciosos es des

conocido, pero ellos pueden incluir iodación o la formación de cloraminas o aldehidos tóxicos.

El fagocito aparentemente se protege contra sí mismo a partir de los efectos del agua, tratando a esta última en dos formas, una pequeña cantidad puede ser empleada en la reducción de glutathion, pero la mayor parte es degradado en el citoplasma por una catalasa.

Ultimamente se ha llamado la atención en el papel antimicrobiano del anión superóxido. Este es un radical altamente reactivo, formado por la reducción de un electrón del oxígeno y destruido por dismutasa superoxidada. Su producción es estimulada por la fagocitosis y ha sido propuesto como un intermediario en la formación de agua. La sugestión interesante de que el superóxido es bactericida, tal vez vía la formación de radicales hidróxido tóxico, no se ha demostrado claramente. (46, 15, 41)

2. TIPOS CELULARES ENVUELTOS

2.1 EL LEUCOCITO POLIMORFONUCLEAR

La mayor fuente de enzimas que ataca las células y material intercelular en el curso de los procesos inflamatorios son los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos. (L8)

Ambas células son fagocitos y tienen un equipo similar de proteasas neutrales y ácidas, pero ellas difieren considerablemente en su tiempo de vida y en la fisiología de su aparato vacuolar. Papel de los polimorfonucleares en inflamación y tejido dañado: Los polimorfonucleares tienen un período de maduración de más o menos dos semanas antes de ser liberados de la médula ósea a la circulación. Durante su maduración ellos adquieren dos grupos de grá-

nulos almacenados y subsecuentemente esparcidos en la maquinaria endoplásmica, la cual produce y almacena sus contenidos. En los polimorfonucleares maduros los gránulos constituyen los mayores compartimientos subcelulares.

Los gránulos Polimorfonucleares:

El trabajo de Hirsch y sus colegas en PMN de conejos, demuestra que los gránulos de los PMN son similares a los lisosomas y tienen el destino de los gránulos contenidos en la vacuola fagocítica; el hecho de que los gránulos estén preformados y liberen su contenido durante la fagocitosis, hace que los PMN sean un modelo muy usado para el estudio de las enzimas exportables de los fagocitos, y sus mecanismos de exportación.

En los gránulos azurófilos los constituyentes clásicos de los lisosomas están complementados por diferentes tipos de proteínas neutrales y por agentes bactericidas. Los gránulos azurófilos están extremadamente bien equipados para matar y digerir los microorganismos y pueden por eso satisfacer los requerimientos de los polimorfonucleares para llenar su papel en la defensa del huésped. (19, 41, 50, 38)

Los gránulos específicos no están bien caracterizados, ellos aparentemente carecen de hidrolasas lisosómicas y sus constituyentes no han sido particularmente bien caracterizados de fuentes microbicas.

Acciones de los polimorfonucleares en sitios de inflamación:

La acción mejor conocida de los polimorfonucleares es la muerte de microorganismos ocurrida intracelularmente por vacuolas fagocíticas. Por contraste, los procesos principales mediados por polimorfonucleares en el curso de inflamación, son eventos extracelulares. En ambos casos su acción depende de la liberación del-

contenido de los gránulos. (Ver tabla 1 y 2)

Proteínas catiónicas:

La proteína catiónica mejor caracterizada induce extravasación, porque causa de granulación de las células cebadas, (Sin embargo probablemente no en humanos).

Cuatro agentes inductores de permeabilidad separados han sido identificados en la fracción de proteína catiónica de lisosomas de neutrófilos de ratas y conejos; uno de éstos (Banga 2 Prot), induce de granulación de las células cebadas, pero los otros actúan independientemente de la liberación de histamina.

Un factor quimiotáctico para los leucocitos mononucleares, ha sido extraído de los neutrófilos y también parece ser una proteína catiónica. Por otro lado, unos claman que el pirógeno endógeno es una proteína catiónica de los neutrófilos, esto no ha sido confirmado. Un factor inmovilizante de los neutrófilos ha sido extraído de neutrófilos humanos y se ha encontrado que es una proteína catiónica, este factor inhibe la locomoción de neutrófilos humanos y eosinófilos, pero no de monocitos. (18, 41, 5, 6)

Proteasas Ácidas:

Se ha encontrado que las proteasas ácidas de lisosomas de neutrófilos de conejo degradan las membranas basales y otras proteínas a PH ácido in vitro.

Sin embargo, la significación de dicho efecto in vivo puede resultar desconocida. Hasta que los niveles de PH sean determinados en sitios de aposición entre neutrófilos y membranas basales en estado de enfermedad.

Jannoff, favorece el punto de vista que dichas enzimas funcio-

nan primariamente en la digestión intracelular de material fagocitado como vacuolas, y esto las hace responsables de los restos de daño extracelular juntamente con las proteasas neutrales.

Otros efectos propuestos de las proteasas ácidas es la liberación de las leucocininas del plasma que son compuestos farmacológicamente activos con acción similar a las kininas generados de una no bien caracterizada proteína plasmática (Leukininógeno), por la acción de extractos de neutrófilos de conejo. Este sistema de Leukokinina ha sido diferenciado del sistema de bradicinina como sigue:

- a) Kalikreina actúa a un PH neutral, y es inhibida por Trasylol, cuando la leukokininogenasa actúa en un pH ácido y no es inhibida por trasylol.
- b) Bradicinina es un nonapéptido, mientras que las leukokininas son grandes polipéptidos consistentes de 21 a 25 aminoácidos. Incidentalmente en experimentos inicialmente designados a estudios del sistema leukokininas, Wintrob y colaboradores han encontrado recientemente un sistema diferente, en el cual un péptido neutral biológicamente activo es partido por un substrato de proteína plasmática por una proteasa aparentemente presente en la superficie de la membrana de los neutrófilos humanos; el péptido induce contracción del músculo liso, pero parece distinto de la bradicinina, la proteasa es inhibida por alfa 1 antipripsina. (18, 41, 57).

PROTEASAS NEUTRALES

Las proteasas neutrales son probablemente de considerable importancia en la patogénesis de varios tipos de daño tisular, variando de una simple forma de absceso a la condición aparentemente compleja de la reacción de Arthus, Arteritis del suero, nefritis nefrotóxica, varias formas de artritis y enfisema pulmonar.

Los mayores efectos de estas enzimas incluyendo la degradación de colágeno, elastina, membrana basal renal, cartílago y fibrina. En suma tan discutido tempranamente las proteasas neutrales de los neutrófilos, también tanto como de las plaquetas y -- otros tipos celulares han inhibido la formación de fragmentos -- quimiotácticamente activos para enzimas que liberan los fragmentos del complemento C5 y C3. (18, 41, 5, 6).

Han sido extraídos de varios tejidos, recientemente el grupo de Movat ha presentado evidencia que una proteasa neutral en neutrófilos humanos es capaz de liberar sustancias como la kinina de un kininógeno plasmático.

El grupo de Hayashi también ha reportado que la SH dependiente proteasa neutral, extraída de sitios de la reacción cutánea de Arthus puede incrementar la permeabilidad vascular o puede actuar con Ig G para producir la llamada leukogresina un factor -- que tiene actividad quimiotáctica para los neutrófilos.

El suero humano normal contiene un inhibidor potente de la actividad de las proteasas neutrales, es probable que este inhibidor -- alfa 1 antitripsina juegue un rol en la limitación del grado del -- daño del tejido en lesiones inflamatorias. Ha sido postulado por ejemplo que el enfisema pulmonar comúnmente encontrado en pacientes con una deficiencia genéticamente determinada de alfa -- 1 antitripsina resulta de los efectos no controlados de proteasas -- neutrales derivados de neutrófilos o macrófagos alveolares en el pulmón. No todos los pacientes con deficiencia de alfa 1 antitripsina desarrollan enfisema, pero esto podría ser explicado por el hallazgo de ciertos individuos de la población general, tienen niveles de elastasa anormalmente baja en sus neutrofilos, un factor adicional puede ser que tal como fue mencionado ante pacientes enfisematosos con deficiencia de alfa 1 antitripsina se ha encontrado que tienen una deficiencia del inactivador del factor -- quimiotáctico en su suero. Esto podría contribuir a la proteólisis

del tejido por la persistencia de cantidades supernormales de -- factores quimiotácticos. Resultando en una llegada desordenada de factores lisosomales a los sitios de inflamación en el pulmón. (18, 41, 57, 24)

Mecanismos de descarga extracelular de enzimas de los gránulos de los polimorfonucleares.

La liberación de enzimas de gránulos de polimorfonucleares -- del espacio extracelular frecuentemente conducen a daño tisular e inflamación. Parece haber dos mecanismos involucrados -- en la liberación de productos lisosomales de las células. (18, -- 41)

- a) Una liberación citotóxica que ocurre durante la muerte -- celular debido o a daños tóxicos u otro daño a la membrana externa de la célula o posiblemente debido a la perforación interna de la membrana de la vacuola fagocitaria -- por la acción de ciertas materias ingeridas, por ejemplo: Cílica o cristales de urato monosódico.
- b) Liberación secretoria ocurriendo durante la fagocitosis -- por la célula de gama globulina, complejo antígeno anticuerpo, Zymosan etc.

Tal liberación fagocítica de componentes lisosomales no -- está acompañada por la salida de enzimas citoplásmicas, una -- liberación secretoria semejante de los gránulos precede el último efecto citotóxico de la leucocidina, un producto estafilocócico sobre monocitos y neutrófilos.

En un modelo que puede ser análogo a la situación donde neutrófilos son encontrados adheridos a la membrana basal vascular. Henson ha encontrado que una descarga activa de enzimas lisosomales ocurre en neutrófilos que están aplanados contra un filtro micropore con agregaciones de gama globulina o --

complejos inmunes. Esto ha sido llamada fagocitosis frustrada o endocitosis reversa. (18, 41, 5, 6)

El AMP cíclico está probablemente involucrado de algún modo en la regulación de la liberación de enzimas activas en tales sistemas celulares. Así la exposición a los agentes que aumentan los niveles intracelulares de AMP cíclico suprimen la salida de estas enzimas. En contraste, compuestos que aumentan los niveles de GMP cíclico, causan aumento de la salida.

Ha sido reportado que un factor liberador de enzima lisosomal - posiblemente un fragmento C5 es generado cuando la vía alterna del complemento está activada en suero humano fresco. Este factor provoca la liberación enzimática de neutrófilos tratados con citochalasina en la ausencia de partículas fagocitables.

Es apropiado mencionar aquí qué factores derivados de neutrófilos pueden ser quimiotácticos para los neutrófilos. La naturaleza de dichos factores no está clara; varios pueden ser lisosomales en su origen, porque su liberación ocurre durante la fagocitosis tanto como durante disrupción celular. (41, 18).

En resumen se puede decir que la fagocitosis es el mecanismo más eficiente para la degradación de estructuras extracelulares y es este substrato el que induce la liberación de las enzimas líticas; la liberación es programada desde que los gránulos parecen fundirse selectivamente con el área de la membrana plasmática del polimorfonuclear que interactúa con la partícula. Dicho proceso puede recordar la degradación del osteoclasto de la matriz ósea, tan descrito que la matriz ósea y su liberación de enzimas líticas contra el substrato opuesto. En el pequeño espacio entre osteoclasto y hueso es posible mantener altas concentraciones de enzimas y una composición del medio óptimo mientras los inhibidores de tales enzimas pueden estar presentes en el medio extracelular.

Durante la fagocitosis, una determinada cantidad de gránulos de enzimas es perdida dentro del fluido extracelular. Este fenómeno, el cual ha sido comparado con regurgitación, ocurre cuando los gránulos se funden con vacuolas fagocíticas incompletas. La extensión de la regurgitación es predecible cuando los polimorfonucleares son expuestos a partículas y éstas son demasiado grandes para ser engolfadas.

Se ha propuesto un mecanismo alternativo en el mecanismo secretorio de los gránulos específicos. Desde que algunos de sus constituyentes mayores lisosima, lactoferrina y colagenasa, son frecuentemente encontrados en fluidos extracelulares, es oportuno considerar que los gránulos específicos actúan en ciertas ocasiones como una organela secretoria.

Otros creen que ambos tipos de gránulos son descargados. La evidencia de una liberación extracelular preferencial de contenido de gránulos específicos durante la fagocitosis, ha sido encontrada por algunos investigadores. Su contenido tiene además oportunidad de escapar cuando son abiertas las vacuolas que contienen gránulos azurófilos. (18, 37, 41).

TABLA No. 1

Constituyentes de gránulos azurófilos y gránulos específicos de leucocitos polimorfonucleares humanos (18)

Clase de Constituyente	Gránulos Azurófilos	Gránulos Específicos
HIDROLASAS ACIDAS	B Glicerofosfatasa	
	Nacetil beta glu- cosa midasa	
	B glucoronidasa	
	Mannoside Catepsina D Catepsina B	
PROTEINASAS NEUTRALES	Elastasa	colagenasa espe- cífica
	Catepsina G	colagenolítica
	Tercera proteinasa sérica.	metalo proteina- sa
ENZIMAS MICROBICIDAS	Mieloperoxidasa	
	Lisosima	Lisosima
OTRAS		Lactoferrina.

TABLA No. 2

EFFECTOS INFLAMATORIOS DE PRODUCTOS LISOSOMICOS

Proteínas catiónicas

- Incremento de la permeabilidad vascular
 - . Factor dependiente de la degranulación de las células cebadas.
 - . Factor independiente de la liberación de histamina.
- Quimiotaxis de los fagocitos mononucleares.
- Factor inmovilizante de los neutrófilos.
- Proteasas Acidas
- Degranulación de membranas basales etc. (si PH ácido)
- Liberación de leucocinina del plasma
 - . Leukinínógeno.
- Proteasas Neutrales
- Degradación de
 - . Colágeno
 - . Elastina
 - . Membrana basal renal
 - . Cartílago
 - . Fibrina
- Generación de fragmentos quimiotácticos C3-C5
- Liberación de kinina de kininógeno plasmático
- SH proteasa dependientes de la reacción de Arthus.
 - . Permeabilidad vascular incrementada
 - . Liberación de leucogresina de IgG.

MONONUCLEARES

Estructura del fagocito Mononuclear.

Los fagocitos mononucleares del huésped están grandemente distribuidos en un gran sistema de células fagocíticas, las cuales constituyen el sistema reticuloendotelial (SRE).

La biografía de estas células puede ser sumariada así:

Elas provienen de la médula osea de precursores inmaduros (pro monocitos), circulan brevemente por la sangre como monocitos y pueblan los tejidos y focos inflamatorios como macrófagos.

En estos focos, los fagocitos mononucleares juegan papeles significantes en: La economía corporal del huésped y las defensas de agentes extraños. Su eficacia en estos papeles particularmente el último, radica en su habilidad para diferenciarse (madurar) y en verdad, el encuentro entre los fagocitos mononucleares y el intruso puede girar de acuerdo a que los monocitos estén o no diferenciados. Esto es porque los fagocitos mononucleares a diferencia de los polimorfonucleares no están completamente maduros al salir de la médula y continúan diferenciándose fuera de ella. (1, 2,

A pesar de su significación obvia la diferenciación de fagocitos mononucleares en incompletamente comprendida.

De grandes estudios in vitro, los hallazgos esenciales del proceso han sido delineados y demuestran la maduración de monocitos inmaduros pequeños, a macrófagos grandes maduros. La morfología de la diferenciación in vitro incluye agrandamiento del núcleo y citoplasma e incremento de las mitocondrias, canales de Golgi, retículo endoplásmico y lisosomas. Dichos fagocitos diferenciados, poseen incremento en la tasa respiratoria, síntesis de

proteínas, utilización de glucosa y actividad de la citocromo oxidasa con un incremento de la capacidad digestiva, fagocítica y microbiciada. (1, 2,

Adams (1,2), realizó un estudio de los efectos de BCG in vivo y los cambios secuenciales histológicos en la estructura de los fagocitos mononucleares encontrando: que inicialmente los monocitos invaden los tejidos y coalescen se agrandan y forman pequeños granulomas. Los monocitos estructuralmente células muy simples desarrollan incremento de la eucromatina nuclear, nucleolos prominentes, aumento del citoplasma, ribosomas libres, canales de Golgi, mitocondrias y grandes y numerosos y lisosomas y llegan a ser macrófagos.

Los macrófagos en turno presentan alargamiento y se pegan uno a otro para formar células epitelioides.

Los estados que llevan a un monocito a ser célula epitelioides son 5; Monocito, macrófago inmaduro, macrófago, célula epitelioides inmadura y célula epitelioides. Como una diferenciación in vivo de los fagocitos mononucleares. (Ver tabla No. 3).

Las observaciones que demuestran directamente la diferenciación de estas células in vivo y sugieren que algunos, si no todos los hallazgos característicos de la inflamación granulomatosa, resultan de dicha diferenciación.

La importancia del estudio de Adams (1,2), radica en:

1. La observación secuencial de la maduración de los macrófagos in vivo, cuyos cambios son similares y en estudios in vitro con algunas variaciones, por ejemplo tiempo el cual tiene correlación directa con el agente estimulante.
2. En la descripción original de las células epitelioides, se creía que estas células representaban monocitos paralizados, aberrantes o hiperactivos transformados a otro tipo ce-

lular en alguna forma particular. Con este trabajo se en -
contró que estas células son fagocitos mononucleares alta -
mente diferenciados; esto evidenciado por su estructura y -
morfogénesis.

3. Dicho estudio confirma que la BCG al provocar formación
de granulomas, produce una diferenciación extensa de ma -
crófagos. Sin embargo, ello también demuestra de acuer -
do con otros estudios, que la BCG requiere una significan -
te cantidad de tiempo, 31 días para producir granulomas -
epitelioides.

Esto es importante por el uso de la BCG en tratamiento de tumo -
res, ya que una extensiva diferenciación de fagocitos mononu -
cleares es necesaria para la regresión de dichos tumores, este es -
tudio sugiere que la BCG cumple este fin por otros medios más -
que la estimulación directa de los fagocitos. Dicho mecanismo -
puede ser por ejemplo evocación de la hipersensibilidad retarda -
da por el bacilo, liberación de mediadores solubles de linfoci -
tos estimulados y aumento de la diferenciación de macrófagos -
por dichos mediadores. (1, 2)

Funciones de macrófagos.

Los macrófagos participan en todos los tipos de inflamación y -
predominan cuando la inflamación se resuelve o tiende a ser -
crónica. (3, 15, 16, 36, 47, 50)

Son una fuente de defensa local, eliminan células muertas, des -
naturalizan proteínas y material extraño incluyendo agentes in -
fecciosos, tienen un importante papel en inmunidad específica -
ya que han desarrollado una íntima asociación funcional que se
ha desarrollado entre ellos y el linfocito, principalmente los de
la clase tímica.

Se ha creído que la función principal de los macrófagos es como
fagocitos que ingieren y digieren o secuestran una variedad de -
sustancias endógenas y extrañas, sin embargo, estudios recien -
tes han demostrado que los macrófagos también liberan enzimas -
hidrolíticas activas y otras sustancias durante su vida y después
de muertas. (15, 3, 46) Desde que los macrófagos son los fagoci -
tos medios del cuerpo sus funciones ingestiva, digestiva, intracé -
lular y microbicida son probablemente más importantes al hués -
ped que sus funciones extracelulares.

Sin embargo, estas funciones extracelulares juegan un papel ma -
yor en inflamación crónica. Para que un macrófago ataque un -
agente infeccioso, él debe viajar en tejido conectivo y debrida -
do necrótico, se ha observado macrófagos activados en cultivo -
los que secretan: activador de plasmina, colagenasa, elastasa, li -
sosima, bactericidinas, pirógeno endógeno, factor estimulatorio -
para la producción de leucocitos, hialuronidasa y otros.

Los materiales secretados por los fagocitos pueden ser agrupados -
en tres grupos.

- a. Enzimas que afectan la proteína extracelular.
- b. Productos envueltos en la defensa del huésped.
- c. Productos que afectan las células que los rodean. (Ver tabla -
No. 4)

A continuación se hace una breve descripción de las mismas En -
zimas que afectan las proteínas extracelulares.

- Enzimas lisosómicas: Ver neutrófilos (24)
- Lisosima: Una proteína de cerca de 14,000 daltons es encon -
trada en abundancia en los fluidos corporales. Ella actúa en
el peptoglicano de ciertas paredes celulares bacterianas, es -
pecíficamente hidrolizando la única de cuatro uniones glico -

sídicas entre el ácido acetilmurámico y acetilglucosamida.

- Los activadores del plasminógeno: convierten el plasminógeno en plasmina, resultando en actividad fibrinolítica, los macrófagos secretan dos especies moleculares de 48,000 y = 28,000 daltons.

- La macrófago colagenasa: es una metaloproteína de la misma especificidad como otras colagenasas que actúan a pH neutral y fragmentan tropocolágeno en fragmentos de un cuarto y tres cuartos de el tamaño de la cadena original.

La elastasa de los macrófagos es una proteasa sérica, la cual degrada elastina insoluble. Tiene propiedades diferentes de las elastasas de granulocitos y pancreática.

- Enzimas del complemento: está bien establecido que los fagocitos fabrican algunas de las enzimas del complemento. Los fagocitos sintetizan y liberan C2 C4 C3 y más C5. La liberación de C4 y C2 incrementa la fagocitosis de las bacterias.

También secretados en cultivo de macrófagos, están los interferones y el material pirogénico, tan bien como un factor estimulante de colonias. El factor estimulante de colonias es necesario para la formación de colonias hematopoyéticas de las células de Stem. La exposición de los macrófagos a endotoxina o a polinucleotidos sintéticos, resulta en un incremento del factor estimulante de colonias.

Las moléculas linfoestimuladoras secretadas por macrófagos, tienen varios efectos: a. incremento de la síntesis de DNA por linfocitos. b. Maduración temprana de timocitos a células T maduras. c) Diferenciación de algunas células B a células secretantes de anticuerpo. (46, 32, 57, 15, 3, 16).

TABLA No. 4

PRODUCTOS SECRETADOS POR MACROFAGOS (46)

Enzimas que afectan las proteínas extracelulares

- Enzimas lisosómicas
- Activador del plasminógeno
- Colagenasa
- Elastasa

Productos que están envueltos en la defensa del huésped.

- Lisosima
- Proteínas de complemento
- Interferon
- Productos Microbicidas

Productos que modulan las células.

- Factor estimulante de Colonias
- Proteínas Linfoestimuladoras
- Inhibidores del crecimiento celular.

LINFOCITOS

Durante el pasado cuarto de centuria, el estudio de la hipersensibilidad de tipo retardado ha ofrecido mucha información.

Específicamente los linfocitos pueden ser subclasificados dentro de timo dependientes, médula ósea dependientes, en T. B O Null-células, las cuales tienen funciones diferentes.

La célula T está exclusivamente envuelta en tipo de hipersensibilidad retardada y no en la síntesis de anticuerpo circulante e inmunoglobulinas. (107, 38, 12) Las células B no están envueltas en hipersensibilidad de tipo retardado, pero son principalmente responsables de la síntesis de anticuerpos serológicos.

Cuando cada tipo celular está expuesto a un antígeno, éste puede ser reconocido, la transformación de células T de un pequeño linfocito a un gran linfoblasto, la síntesis y liberación de grandes cantidades de mediadores extracelulares de hipersensibilidad de tipo retardado llamados linfokinas.

Por otro lado, las células B transforman y liberan anticuerpos específicos. Los anticuerpos son también liberados por las células B transformadas. Estos no entran a la circulación como anticuerpos serológicos; pero, son citofílicos y se pueden adherir a la superficie de los macrófagos, los cuales pueden dirigirse y destruir ciertas células específicas o materiales vía fagocitosis. (27, 23) Detalles de estas respuestas no son claros, las células T de ayuda pueden estar envueltas en la transformación de células B y la distinción entre células B y células T pueden estar afectadas por una hormona del timo llamada timosina. El papel de las opsominas en desgarrar materiales sujetos a fagocitosis por macrófagos y la capacidad de estas células para procesar el antígeno, puede estar estimulada por el linfocito. Dichos puntos no están todavía claros. (27, 41, 15, 29, 51, 57, 29)

Hipersensibilidad retardada o Alergia

Es experimentalmente claro que el tipo de hipersensibilidad retardada está mediado por linfocitos intactos y no por los factores serológicos. (13, 14, 23) Desde que la sensibilidad a un antígeno dado puede ser transferida únicamente por un linfocito intacto y no por el suero o plasma, el retardo cinético en la respuesta del huésped al antígeno apropiado es probablemente debido a la necesidad de recrudecer y amplificar la respuesta inicial de los linfocitos sensibilizados al agente cambiante, todo lo cual toma de 24 a 48 horas.

Recientemente han habido algunos importantes hallazgos de los mediadores para este tipo de reacción inmunológica. Se han determinado y escrito. Durante el proceso de transformación, un pequeño linfocito usualmente célula de tipo T dentro de un gran linfoblasto; por antígenos a los cuales la célula ha sido previamente sensibilizada o por lecitinas, tales como la fitohemaglutinina o mitógenos, la célula sintetiza grandes cantidades de DNA y RNA y proteínas. Algunas de estas proteínas son de relativamente bajo peso molecular y son mediadores específicos de algunos eventos biológicos envueltos en hipersensibilidad de tipo retardado e inflamación. Los mediadores celulares libres de función linfocítica en hipersensibilidad de tipo retardado son llamados linfokinas. Un número de ellas han sido identificados por las reacciones biológicas que producen in vitro e in vivo (27, 15).

Papel de las linfokinas.

Linfotáctina: cuando un animal el cual ha sido sensibilizado a un antígeno dado, recibe una inyección intradérmica, de ese antígeno, una de las respuestas tempranas es la infiltración de linfocitos en esa área. McCluskey ha demostrado que en un día un enorme número de linfocitos se infiltra dentro del área inyectada.

Estos trabajos demuestran que el 98% de estos linfocitos no son transformados por una respuesta al antígeno apropiado, pocas clonas de células reconocen el inmunógeno (sofisticadas), y transformadas por la liberación de un mediador quimiotácticamente atractivo a otros linfocitos inmunológicamente no sofisticados.

En esta forma, la respuesta inmunológica a un antígeno dado puede ser enormemente amplificada por la presencia de gran número de estas células no sofisticadas dentro de la respuesta. Ward ha encontrado que las fracciones sobrenadantes de los cultivos de linfocitos transformados contienen un material, el cual es quimiotáctico para linfocitos in vitro en la cámara de Boydem. El estímulo normal de polimorfonucleares y macrófagos (ej. los péptidos de C3 y C5 del complemento o algunos productos de proteólisis de proteína) que son quimiotácticos para los linfocitos.

Se ha encontrado que los extractos acuosos de Timo contienen un material de peso molecular cerca de 10,000 daltons, el cual es termolábil, destruido por preincubación con tripsina y neuroamidasa, el cual es específicamente quimiotáctico para linfocitos in vitro e in vivo. Este material ha sido llamado linfotactina.

Cuando es inyectado dentro del peritoneo de animales está linfokina produce una llegada de células mononucleares en 4 horas porque debido a la acción de linfotactina la sofisticación inmunológica de los linfocitos es amplificada, estas células son quimiotácticas en el área de estimulación del antígeno.

Ellas y sus células hermanas pueden ser sensibilizadas a un antígeno particular. (27, 41, 15)

Factor inhibitorio de Macrófagos (MIF) (35, 41, 27, 15, 46)
Factor de activación de macrófago (MAF)

Tanto como el número de linfocitos sensibilizados a un antígeno dado, las linfokinas liberadas durante su transformación aumentan. De particular importancia es el factor inhibitorio de la migración de macrófagos y el factor activante de macrófagos.

Los sobrenadantes de linfocitos transformados contienen un material, el cual inhibe la migración de macrófagos in vitro, activa la fagocitosis de estas estacionarias e inmóviles células.

Las medidas bioquímicas de la oxidación incrementada de carbohidratos a eventualmente formas peroxidas, así como otras medidas de fagocitosis, están todas incrementadas cuando los macrófagos están expuestos a los sobrenadantes de linfocitos transformados inmunológicamente o por lectina.

Se ha encontrado que los extractos acuosos de timo contienen una macromolécula, la cual es lábil a la tripsina y a la neuroamidasa, pero es termoestable e inhibe la migración de los macrófagos in vitro; cuando es purificada al punto de homogeneidad electroforética, es capaz de activar estas células fagocíticamente. Se cree que el MIF es una manifestación de la fuente primaria de linfokina nombrada a incrementar la actividad fagocítica de estos macrófagos. Desde que el MIF no es quimiotáctico a los macrófagos, otros mecanismos pueden estar envueltos en llevar macrófagos dentro del área. La glicoproteína MIF la cual contiene ácido siálico y O-Metil glicopiranosida como único carbohidrato es extraordinariamente susceptible a las enzimas proteolíticas. Desde que los macrófagos liberan sus enzimas digestivas extracelularmente mientras comen, éste puede ser el mecanismo para limitar los efectos de MIF desde que estas enzimas digestivas efectivamente destruyen el mediador.

Esta MIF y MAF es mantenida únicamente en presencia de antígenos y actividad linfocitos frescos. Desde que el irritante antígeno es destruido por fagocitos, el mediador es rápidamente destruido por proteólisis. Mientras que los macrófagos se relajan den

tro de su estado de sueño postpandrial y migran en busca de una nueva presa. (27, 41, 15, 57, 13, 14, 23)

Factor Reactivo de la Piel

Otras numerosas linfocinas se cree con liberadas por linfocitos *in vitro* e *in vivo*. De éstas únicamente es importante y relevante -- Nombada factor reactivo de la piel (SRF) Pick y Turk y en un estudio independiente Bennett y Bloom demostraron que el sobrenadante de linfocitos transformados, contiene un material el cual -- cuando es inyectado dentro de la piel de cuyos produce una rápida y severa induración de el sitio injuriado.

Este estudio es similar a los de Spector y Willougby quienes encontraron por medio de la técnica de piel teñida que los extractos de nódulos linfáticos y otros tejidos linfoideos, incrementan la permeabilidad de la microcirculación.

El drenaje linfático en piel de rata es tan rápido que es imposible inducir edema e induración en esas especies.

Dos efectos de inyectar el factor de permeabilidad del nódulo linfático (LNPT) o SRF dentro de la piel de cuyos o ratas son: un incremento de la permeabilidad de la microcirculación que lleva a edema cuando es apropiado y la infiltración de leucocitos dentro del área inyectada.

Estudios morfológicos han indicado que los tipos celulares envueltos en su infiltración son ambos polimorfonucleares y mononucleares. (15) Al investigar este factor en tejidos linfoideos nódulos linfáticos, bazo y linfocitos transformados, se demostró básicamente el mismo tipo de material en términos de tamaño molecular, -- carga, densidad y punto isoeléctrico, el cual produce induración en piel de cuyos e incremento de la permeabilidad en piel de ratas. La inyección intradérmica de los tres materiales purificados--

causa infiltración de células mononucleares y algunos granulocitos dentro del área inyectada. El hecho de que estos materiales purificados digieran la hemoglobina a PH ácido, sugiere que ellos contienen una enzima parecida a la catepsina D. Además cuando estos extractos purificados de tejido linfoide son tratados con pepstatín, un poderoso inhibidor de las proteasas ácidas incluyen do catepsina D, se inhibe la digestión de hemoglobina por SRF y LNPF completamente.

Se cree por esto que los linfoblastos transformados liberan una enzima similar a la Catepsina D dentro del espacio extravascular -- extracelular, extrafibrilar de la substancia del crecimiento del tejido conectivo. Esta proteasa ácida puede actuar hidrolítica -- mente en las proteínas preexistentes en la substancia de crecimiento. Productos los cuales son quimiopáticos para macrófagos y Polimorfonucleares. (27, 41, 15)

Papel de las leukokinas Ácidas. (25)

Recientemente Greenbaum ha encontrado un kininógeno en fluido ascítico, el cual puede ser liberado vía actividad de Catepsina D, una nueva clase de kininas, las leukokinas ácidas.

Las cuales similarmente a otras kininas incrementa la permeabilidad de la microcirculación pero difiere químicamente de ellas. -- Además se ha encontrado en la substancia de crecimiento de la piel, una gran cantidad del mismo kininógeno, del cual vía incubación de catepsina D, o por incubación con SRF ó LNPF, Greenbaum demostró la liberación de leukokina ácida.

Se cree que el incremento de la permeabilidad característica de SRF o LNPF es el resultado de la habilidad de esta enzima similar a la catepsina D. Al liberar leukokina ácida de su kininógeno apropiado el cual existe como una macromolécula preformada en la substancia de crecimiento.

Además los linfocitos transformados por exposición a antígenos - los cuales han sido previamente sensibilizados, liberan linfotacina, la cual llama a un gran número de linfocitos no sofisticados dentro del sistema de defensa inmunológico. Dando como resultado que grandes cantidades de MAF y SRF sean liberados dentro del área que contiene el antígeno.

La activación de macrófagos es un intento de destrucción fagocítica al antígeno invasor.

SRF incrementa la permeabilidad de la microcirculación en el área y quimiotácticamente atrae algunos de los elementos formados de la sangre a infiltrar y a soportar la defensa contra el antígeno invasor.

Esta serie de eventos constituyen los principales mecanismos inmunológicos de defensa además de los anticuerpos circulantes a la invasión del huésped por antígenos extraños. (27, 41, 15, 32)

4. MEDIADORES EN LA INFLAMACION

Varios de los procesos envueltos en la inflamación se atribuyen a la acción de agentes químicos llamados mediadores. Algunos productos bacterianos pueden causar extravasación o atracción de leucocitos. Estos se incluyen entre los mediadores llamados exógenos y ciertamente juegan algún papel en la respuesta a la infección bacteriana. (5, 56, 10, 31, 49, 32, 54, 36).

Sin embargo los llamados mediadores endógenos, o sea aquellos derivados del área injuriada, son de más importancia e interés general. Estos últimos pueden ser clasificados en dos grupos mayores; aquellos derivados del plasma y aquellos de los tejidos. - Ver tabla No. 5. (41)

Factores que se liberan del plasma.

En el plasma hay tres sistemas interrelacionados que producen mediadores: a) el sistema Kinina; b) el sistema complemento; c) el sistema de coagulación.

TABLA No. 5

CLASIFICACION DE LOS MEDIADORES ENDOGENOS DE LA INFLAMACION (41)

ORIGEN	GRUPOS MAYORES	MEDIADORES MAYORES
PLASMA	Sistema Kinina	Bradiquinina Kalikreina Activador del plasminógeno
	Sistema Complemento	Fragmentos C3 Fragmentos C5 Fragmentos C567 Kinina C
	Sistema de Coagulación	Fibrinopéptidos Productos de degradación de fibrina.
TEJIDOS	Aminas vasoactivas	Histamina 5-Hidroxi Triptamina
	Lípidos Acídicos	Prostaglandinas Substancia de reacción lenta de anafilaxia
	Componentes lisosómicos	Proteinas catiónicas Proteasas Acidas Proteasas neutrales.
	Productos de Linfocito	Factor inhibitorio de la migración. Factores quimiotácticos Linfotoxina Factor mitogénico Factor de permeabilidad del ganglio linfático.

(Continuación Tabla No. 5)

OTROS	Pirógenos endógenos
	Factores de la leucocitosis
	Substancia P
	Neurotensina
	AMP Cíclico

A) Sistema de Kininas

Werle y colaboradores (1937), aislan una substancia vasodepresora de la orina. Observando que los extractos pancreáticos y jugo pancreático tienen un vaso depresor similar, ella parece kalikreina (Kalikreas = páncreas; kraut y colaboradores 1930) y es liberada dentro de la sangre formando luego un complejo inactivo que es excretado por el riñón.

El siguiente Hallazgo de la cadena de Kininas fue hecho en Sudamérica en 1949 por Rocha e Silva y Colaboradores quienes encontraron: la liberación de un factor polipéptido de fracciones de pseudoglobulina tratado con tripsina y veneno de culebra. El factor el cual fue llamado, bradikinina, inducía hipotensión también como prolongada contracción del músculo liso.

Rocha e Silva en su trabajo sugirieron que la Kalikreina tenía efectos similares a la tripsina y veneno de culebra y la substancia descrita por Werle y sus colegas.

Armstrong y colaboradores en 1954 descubrieron que al exponer el plasma en contacto con un vidrio se producía el apareamiento de una substancia que causaba dolor y estimulaba la contracción del músculo liso. En 1955 Miles y Wilhelm describieron la existencia de un factor inductor de la permeabilidad cuando el suero se diluía por lo cual fue llamado PF dil pero pronto se encontró que el desarrollo de este factor no dependía de la dilución en sí (ya que simplemente se diluía un inhibidor del factor de permeabilidad), sino del contacto del suero con el vidrio del tubo, en el cual se llevaba a cabo la dilución. Margolis, estableció que la activación en el vidrio dependía del factor de Hagemán (Factor XII del sistema de coagulación).

En la actualidad se reconoce que éste conduce a la producción farmacológica de Kininas activas. De los trabajos de Cochrane y Wuepperr en los que se hicieron esfuerzos para aislar, purificar y

caracterizar los componentes individuales en secuencia, se desarrolló el esquema del sistema Kinina. (Ver esquema No. 1) (157, 19, 27, 40)

El factor de Hageman, es activado por el contexto de sustancias que tienen cargas negativas en su superficie, tales como vidrio, caolín, y una variedad de materiales biológicos incluyendo colágeno, membranas basales, cristales de urato de sodio y cartilago. Además la activación ocurre cuando el factor de Hageman interacciona con la tripsina, la kalikreina (un último componente del sistema kinina), plasmina (la enzima fibrinolítica), el factor de coagulación XI, o lipopolisacáridos bacterianos (endotoxinas). Complejos antígeno anticuerpo.

El factor de Hageman tiene tres efectos:

- a) Desencadenar la cascada de la coagulación por activación del factor XI
- b) Desencadenar el sistema fibrinolítico (por activación del proactivador del plasminógeno para dar origen al activador del plasminógeno, el cual convierte el plasminógeno en plasmina)
- c) Activar el activador de Prekalikreina (PKA).

El PKA es aparentemente un componente del factor de Hageman, activa la prekalikreina para formar Kalikreina. La kalikreina actúa como una kininogenasa, E₁; Parte kininógenos para producir kinina. De la activación del sistema kinina, la kinina producida es bradikina. (41, 57)

Varias secreciones como la saliva, jugo pancreático, sudor, lágrimas, heces y orina contienen Kalikreinas tisulares, las cuales parten kininógeno para producir un decapeptido kinina (llamado kalidina) que es rápidamente convertido a bradikina por una aminopeptidasa plasmática. (31, 32)

El factor de dilución de permeabilidad (PF dil) se pensó en algún tiempo que era responsable de activar la prekalikreina. Sin embargo, trabajos recientes muestran que es muy diferente del preactivador de la prekalikreina. De tal suerte que su posición o participación en el sistema kinina es desconocida. Es probable que represente una combinación funcional de varios factores (probablemente formas del factor Hageman activado más que una especie molecular específica).

Las kininas son rápidamente destruidas por las kininasas, las cuales son péptidasas presentes en plasma y tejidos. Virtualmente la inactivación completa de la bradikina ocurre durante un sólo-pasaje a través de la circulación pulmonar.

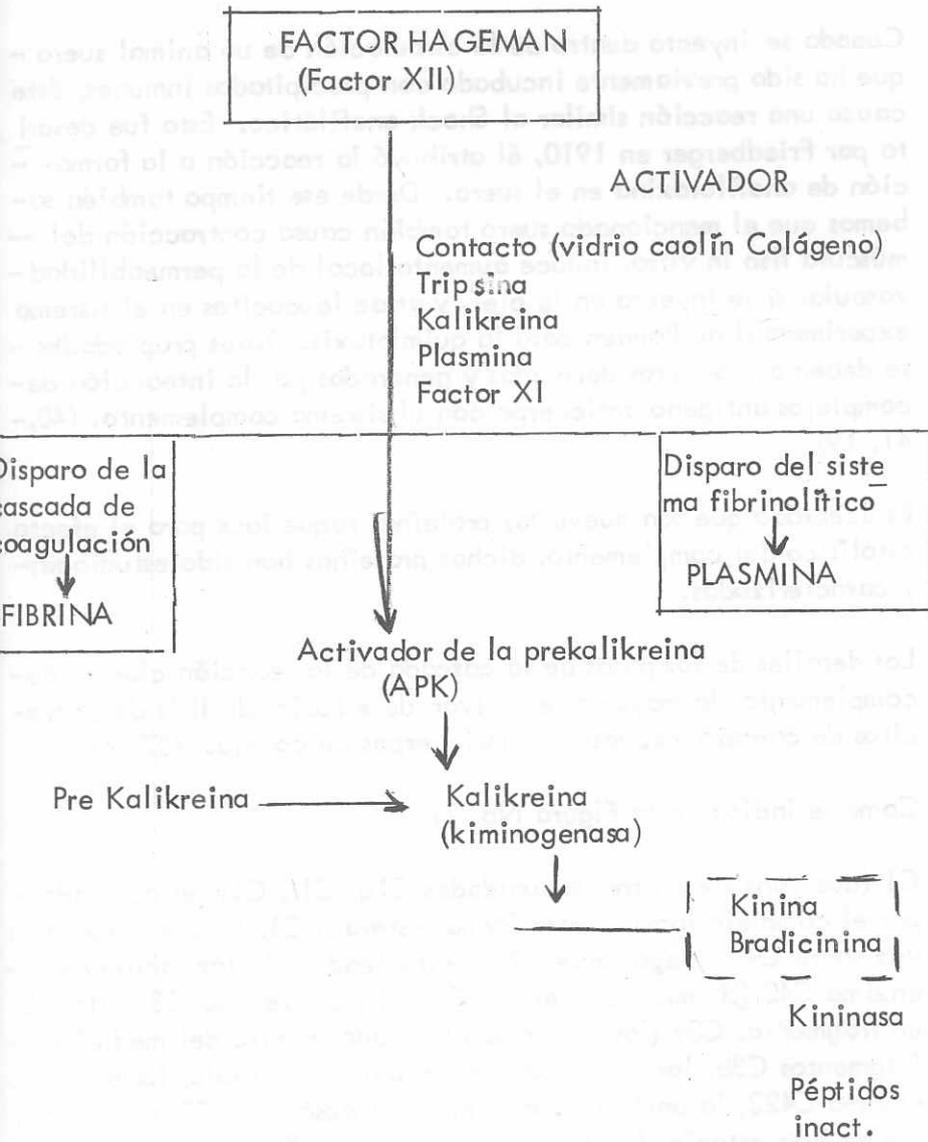
El sistema kinina también está bajo control por la acción de los antagonistas de la kalikreina en plasma y tejidos; uno de éstos originado en los tejidos bovinos se vende en el mercado como Trasylol. Además el inhibidor de la esterasa C1 no sólo actúa contra la esterasa C1 del sistema de complemento sino que también inhibe el sistema kinina inhibiendo los efectos del factor de Hageman activado, y la kalikreina y la plasmina.

La bradikina es el mayor agente efector del sistema kinina. En dosis bajas causa:

- a) Contracción lenta de ciertos tipos de músculo liso in vitro.
- b) Dilatación de los vasos sanguíneos in vivo produciendo hipotensión.
- c) Dolor cuando se aplica a la base de una vesícula cutánea o cuando se inyecta dentro de la piel.
- d) Aumento de la permeabilidad vascular después de una inyección local.

No atrae leucocitos en el sistema experimental de Boyden de la quimiotaxis. Por otro lado, se ha dicho que la kalikreina y el activador del plasminógeno tienen actividad quimiotáctica para los neutrófilos y fagocitos mononucleares y basófilos. (31, 32, 41, 57)

Figura No. 1 SISTEMA KININA DEL PLASMA (41)



B. SISTEMA COMPLEMENTO

Cuando se inyecta dentro de la circulación de un animal suero que ha sido previamente incubado con precipitados inmunes, éste causa una reacción similar al Shock anafilático. Esto fue descrito por Friedberger en 1910, él atribuyó la reacción a la formación de anafilotoxina en el suero. Desde ese tiempo también sabemos que el mencionado suero también causa contracción del músculo liso in vitro, induce aumento local de la permeabilidad vascular si se inyecta en la piel, y atrae leucocitos en el sistema experimental de Boyden para la quimiotaxis. Tales propiedades se deben a productos derivados y generados por la interacción de complejos antígeno anticuerpo con el sistema complemento. (40, 41, 19)

Es aceptado que son nueve las proteínas requeridas para el efecto citolítico del complemento, dichas proteínas han sido estudiadas y caracterizadas.

Los detalles de los pasos de la cascada de la reacción clásica de complemento, la mayoría se derivan de estudios de lisis de eritrocitos de carnero expuestos a anticuerpos de conejo. (57, 41)

Como se indica en la Figura No. 2:

C1 (que consiste en tres subunidades C1q, C1r, C1s) es activado por el complejo inmune para formar esterasa C1, la que actúa a su vez sobre C4 y luego sobre C2, conduciendo a la formación de la enzima C423 (llamada convertasa C3). La convertasa C3 parte C3 en fragmentos C3a (los cuales son liberados dentro del medio) y fragmentos C3b, los cuales se pueden unir a la célula, formando la enzima C423; la unión de los fragmentos opsonicos C3 a la superficie en este estado, facilita la adherencia (adherencia inmune) a las células fagocíticas. La enzima C423 interacciona con C5, seguida por C6 y C7 aparentemente con la producción de complejo C567; la célula en este estado muestra una susceptibilidad aumen-

tada a ser dañada por linfocitos. Finalmente existe una unión de C8 y C9 que conducen a daño de la membrana y lisis de la célula. Después de años de controversia, el sistema de properdina descrito por Pilemer y asociados en 1954, ha venido a establecerse como una vía alterna en la activación del sistema complemento, ejemplo, haciendo un puente y dejando intacto C1, C4 y C2, pero causando activación de C3 y por ende los últimos componentes del complemento. Parece que el sistema activador C3 descrito recientemente es idéntico al sistema properdina. Una serie de componentes del suero (ej: properdina factor B, Factor D) han sido identificados como que están envueltos en el sistema, pero todas las etapas de activación no han sido precisamente delineadas.

La vía clásica que envuelve C1, C4 y C2 con la producción de convertasa C3 es activada por complejos antígeno anticuerpo, así como por agentes no inmunológicos como la plasmina y la tripsina. La vía alterna es activada por cierto tipo de complejos antígeno anticuerpo, varios polisacáridos, lipopolisacáridos bacterianos (endotoxina) y veneno de cobra. Ver figura No. 3. (41, 57, 42)

El sistema de complemento se mantiene bajo control por la inestabilidad inherente de ciertos de sus componentes enzimáticos y por la presencia en el suero de varios inhibidores o inactivadores. Ejemplo inhibidor de la C1 esterasa e inactivador C3b (el cual destruye las propiedades hemolíticas, de adherencia inmune y propiedades de promover fagocitosis de fragmentos C3 unidos a la superficie; y también actúa inhibiendo la vía alterna.

En otras palabras, el papel principal del sistema complemento es la formación de productos activos que pueden actuar como mediadores inflamatorios, como se indica en la figura No. 2, tales productos son producidos como un resultado en secuencia de la activación del sistema complemento, (ya sea por la vía clásica o alterna), o por la acción directa de varias enzimas "extracomple-

mentarias" ya sea en C3 o C5 estos productos incluyen:

- a) fragmentos C3 = factores de bajo peso molecular liberados durante la activación del complemento o de fragmentación de C3 = por la plasmina, tripsina, proteasas bacterianas, o por enzimas que fragmentan C3 encontradas en varios tejidos. b) fragmentos C5 = factores de bajo peso molecular liberados durante la activación del complemento o fragmentación de C5 por tripsina proteasas bacterianas, o enzimas que fragmentan C5 encontradas en lisosomas de neutrofilos (18), plaquetas y posiblemente otros tipos celulares; c) complejos C567 = complejos C5, C6, C7, de peso molecular elevado, resultando solamente de la activación en secuencia del sistema complemento (coásico o alterno); d) y tal vez Kinina C= un péptido similar a la kinina (posiblemente derivado de C2, aislado del plasma de pacientes con edema angioneurótico hereditario. = (57, 41).

Los efectos inflamatorios mayores del sistema de complemento se resumen como sigue: (Ver tabla No. 6)

Aumento de la Permeabilidad Vascolar

Esto ha sido atribuido a la formación de anafilotoxinas, las cuales actúan primariamente como agentes liberadores de histaminas, aunque en algunas circunstancias (ejemplo en el músculo liso en contracción) ellas pueden ser también capaces de actuar independientemente de la liberación de Histamina. La actividad de la anafilotoxina ha sido descrita tanto en fragmentos C3a como en C5a, aunque es posible que la anafilotoxina clásica originada en el suero activado del cerdo de guinea es predominantemente C5a. En estudios realizados con anterioridad era difícil demostrar la formación de anafilotoxina en el suero humano debido a la presencia de un inactivador de la anafilotoxina, lo cual se superó al remover e inhibir el inactivador; después de la inyección en piel humana, estos fragmentos produjeron eritema y extravasación en dichos estudios

C5a muestra 1,000 veces más la actividad que C3a. (41, 57, 7)

Atracción Quimiotáctica de Leucocitos

En 1961 Hurley y Spector demostraron una infiltración rápida y masiva de neutrófilos dentro de la dermis de ratas inyectadas con suero que había sido previamente incubado con tejido machacado. Ellos atribuyeron esto como debido a la acción de un factor tisular en un substrato lábil al calor en el suero.

Un año más tarde Boyden inventó su sistema experimental de cámara de filtro descrito anteriormente para determinar la actividad quimiotáctica de sustancias en solución. Boyden encontró que un factor quimiotáctico se producía cuando suero no calentado era incubado con precipitado antígeno anticuerpo.

Hurley demostró entonces que el suero que había sido incubado con el tejido machacado era también quimiotáctico en el sistema de Boyden y fue posteriormente demostrado por observación directa y registro de la locomoción por cinematografía, que los neutrófilos eran atraídos hacia los fragmentos tisulares, atraídos por el tejido que había sido incubado con el suero. (41, 57, 44)

Desde ese entonces, se ha aclarado que los fragmentos tisulares y los precipitados inmunes actúan sobre el sistema complemento del suero para producir agentes quimiotácticos.

A partir de estudios usando el sistema de Boyden, Word y asociados propusieron que el factor quimiotáctico mayor producido por la interacción del suero con precipitados inmunes, está compuesto por el complejo C567 de alto peso molecular.

Esto ha sido negado por otros investigadores. Primero Stecher y Sarkin, reportaron que la actividad quimiotáctica podría desarrollarse en suero incubado por precipitados inmunes deficientes

en C6. Segundo, Syderman y colaboradores dijeron que el factor quimiotáctico mayor formado en el suero tratado con complejos inmunes preformados con endotoxina, es de bajo peso molecular y tiene las características de los fragmentos de C5, ellos no detectaron actividad quimiotáctica que pudiera ser atribuida al complejo C567. La explicación para estos resultados en conflicto no es clara, puede ser que se deba a diferencias en técnica. Sin embargo, los hallazgos del grupo de Syderman sugieren que una proporción significativa de la actividad primero atribuida a C567 podría deberse a la presencia o generación de fragmentos activos C5. Esta presunción no niega que C567 podría tener actividad quimiotáctica bajo ciertas circunstancias como lo confirmó otro grupo de investigadores; así como otros efectos, tales como participación en lisis reactiva, debido a unión con los complejos de superficie seguido de unión con C8 y C9 con el resultante daño en la membrana celular.

Los factores quimiotácticos que se forman cuando el tejido lesionado interactúa con el suero, son probablemente derivados de C3 y C5. Como ya se mencionó, los fragmentos resultantes son tanto quimiotácticos como anafilotóxicos. El significado biológico de estos factores derivados del complemento, han sido menospreciados por el hallazgo de fragmentos C3 quimiotácticos en el músculo cardíaco con infarto reciente, y en fluido sinovial de enfermedad inflamatoria articular no reumática y por el hallazgo de fragmentos C5 quimiotácticos en líquido sinovial en artritis reumatoidea y extractos de tejido con vasculitis inmunológica. (41, 57, 44)

Hasta el momento hemos considerado la atracción quimiotáctica del neutrófilo. Experimentos llevados a cabo usando el sistema de Boyden nos indican que subproductos del complemento también atraen otro tipo de leucocitos. El suero normal contiene una sustancia todavía no tipificada, que es lábil al calor y que es quimiotáctica para los fagocitos mononucleares. La actividad quimiotáctica de tal suero se encuentra marcadamente aumentada con el tratamiento de complejos inmunes, endotoxinas y el factor del veneno de cobra;

como para los neutrófilos el mayor efecto de incremento de la permeabilidad es probablemente el fragmento C5.

Un hallazgo que probablemente ayuda a explicar la infiltración persistente de los macrófagos en las lesiones tuberculosas, es la demostración de que con el tratamiento con suero fresco con microorganismos del micobacterium Tuberculosis muertos por el calor, conduce a la formación de actividad quimiotáctica de los fagocitos mononucleares. (37, 5) Así como el suero que es incubado con complejos inmunes es quimiotáctico para los neutrófilos y fagocitos mononucleares, así también lo es para los eosinófilos. Además se ha reportado que los fragmentos C5 son quimiotácticos para los basófilos. Recientemente se ha dicho que la endotoxina activada del plasma es quimiotáctica para las líneas celulares humanas de células linfocitoides B. (57, 44)

OTROS EFECTOS

Test llevados a cabo en medios adecuados han demostrado que los subproductos del complemento tienen otros efectos significativos, además de producir extravasación o la atracción de leucocitos. Por ejemplo, se ha encontrado que un factor movilizador de leucocitos posiblemente se halla comprometido en la producción de leucocitosis, éste se forma en el suero tratado con precipitados inmunes. Se cree que éste es un factor no quimiotáctico C3. Se ha reportado que la estimulación de la vía alterna (tratando suero fresco con Zymosan) genera un factor enzimático lisosómico liberador tentativamente identificado como un fragmento C5. (41)

TABLA No. 6

EFFECTOS INFLAMATORIOS MAYORES DE LOS DERIVADOS DEL SISTEMA COMPLEMENTO

DERIVADO del

Complemento	extravasación	quimiotaxis	otras
Fragmento C3	+	+	leucocitosis
Fragmentos C5	+	+	liberación de enzima lisosómica de los neutrófilos.
Complejo C567	-	+	lisis de células
Kinina C	+	-	-

URA No. 2 El Sistema de Complemento y Subproductos Biológicamente Activos.

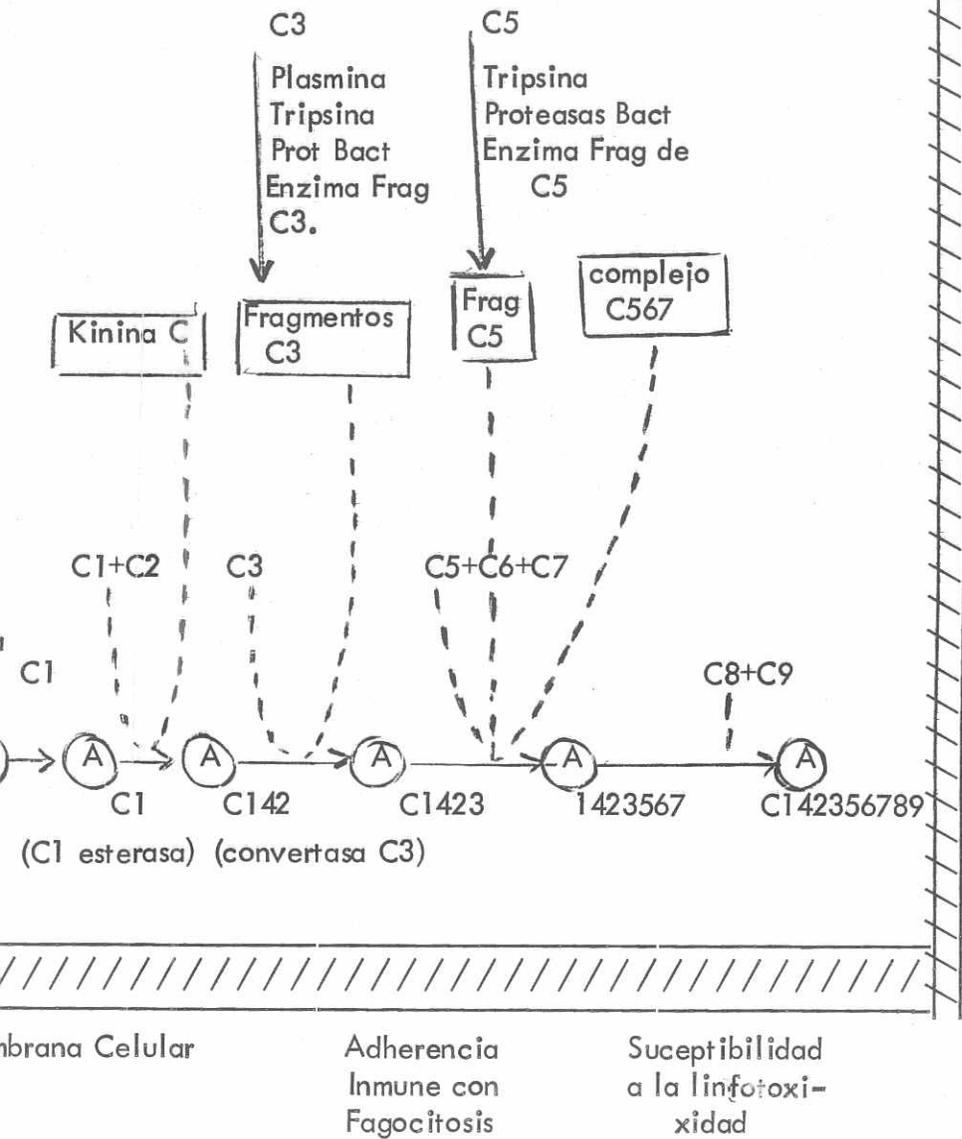
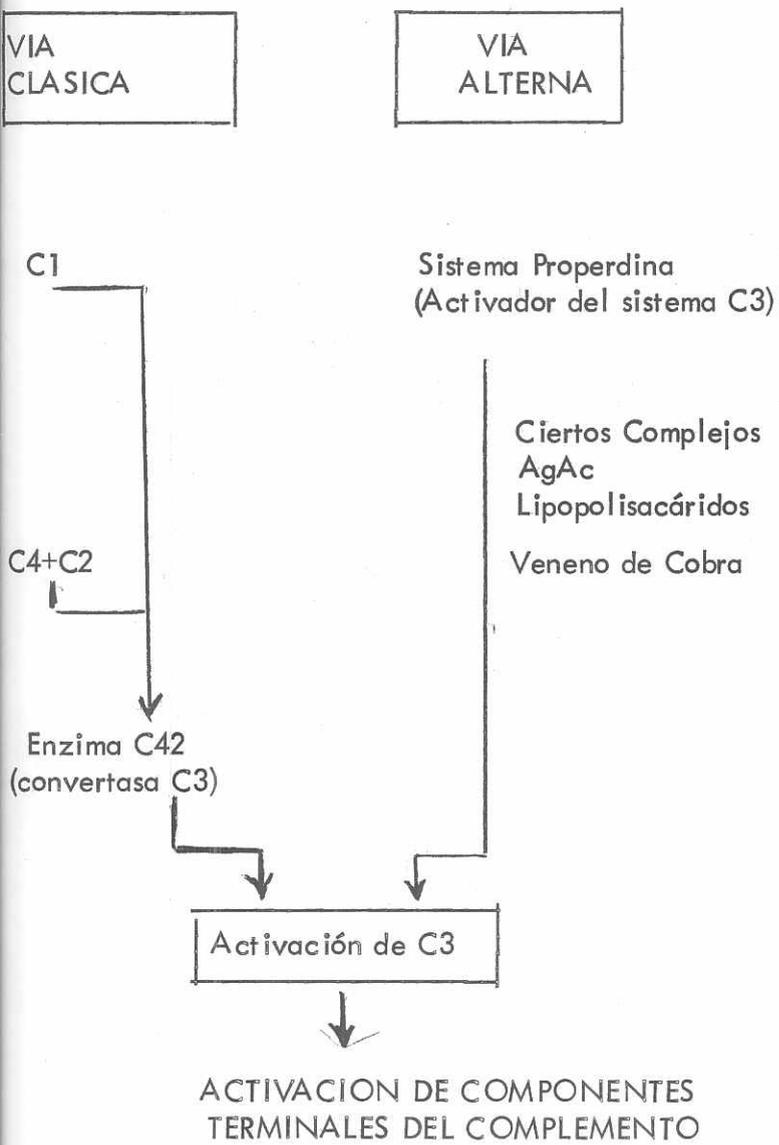


FIGURA No. 3 Activación del Complemento



SISTEMA DE COAGULACION

Desde hace algunos años se ha hecho aparente que el sistema de coagulación está íntimamente comprometido con la respuesta inflamatoria. Las proteínas del plasma y elementos celulares del sistema de coagulación interactúan con el sistema formador de kinina, fibrinolítico, complemento y sistemas de inmunoglobulinas en múltiples sitios. Estas acciones pueden ser inferidas de reacciones in vitro y pueden ser evidentes de respuestas del organismo intacto. Reacciones inflamatorias pueden llevar a desórdenes de coagulación de la sangre, o el sistema de coagulación puede jugar un papel permisivo o adjunto en la respuesta inflamatoria. (41, 56)

Los fibrinopéptidos (liberados de las moléculas de fibrinógeno por la acción de la trombina durante la coagulación), son potencialmente mediadores durante la inflamación. Se ha reportado que éstos producen un aumento de la acción de la bradiquinina en el músculo liso, inducen extravasación y causan atracción quimiotáctica de neutrófilos.

Fragmentos biológicamente activos pueden también ser liberados durante la proteólisis de la fibrina por la plasmina.

Recientemente se ha mencionado que tal degradación de la fibrina aumenta la permeabilidad vascular en la piel, y es quimiotáctico para los neutrófilos.

La formación de mediadores tales como los fibrinopéptidos y los productos de degradación de la fibrina pueden contribuir en la patogénesis de la inflamación en ciertas enfermedades que parece que son inhibidas por el uso de anticoagulantes, ejemplo: ciertos tipos de injuria glomerular y reacciones retardadas de hipersensibilidad.

Interacciones entre los sistemas productores de mediadores deri-

vados del plasma "la red enredada".

Los sistemas dependientes del factor de Hageman (comprometidos en la coagulación, producción de kinina y fibrinólisis), interactúan con el sistema complemento, formando lo que Ratnoff -- apropiadamente ha llamado la Red Enredada. (Ver figura No. 4).

Un componente clave en esta red es la plasmina, la enzima fibrinolítica generada del plasminógeno, ya sea por el factor de Hageman o por la acción de otros agentes, tales como factores bacterianos (ejemplo, la estreptoquinasa); un factor urinario (la uroquinasa); y factores celulares ejemplo en neutrófilos; en ciertas células endoteliales, células mesoteliales, o liberadas de los macrófagos fagocíticos.

La plasmina tiene por lo menos cuatro efectos: Ver Figura No.

- a) Digestión del fibrinógeno y la fibrina (fibrinólisis)
- b) Activación del factor de Hageman (particularmente disparando el sistema kinina)
- c) Activación de C1 para formar esterasa C1 (en la clásica vía de la secuencia del complemento)
- d) Fragmentación de C3 para dar origen a fragmentos anafilotóxicos y C3 quimiotácticos. (41, 56, 57, 31).

La importancia de la Kalikreina es ilustrada por la deficiencia del factor de Fletcher, una condición caracterizada por coagulación defectuosa. Parece que una deficiencia en el factor de Fletcher actualmente representa una deficiencia en prekalikreina. Así el plasma deficiente en factor de Fletcher incubado con caolín no genera Bradiquinina.

La coagulación defectuosa y la fibrinólisis también ocurren en esta condición porque la retroalimentación de la bradiquinina sobre el factor de Hageman se necesita para que las vías depen-

dientes del factor de Hageman se lleven a cabo en un período normal.

Así como los efectos de la plasmina en C1 y C3 existen otras -- uniones entre el sistema del factor de Hageman y el complemento. Así la activación del sistema kinina produce un fragmento Kf que de alguna manera ayuda completamente a la esterasa activada C1 a ser más eficiente para producir convertasa C3. Por el contrario, parece que el sistema complemento activado también puede afectar la vía de coagulación. Varias sustancias activas del complemento (tales como los agregados de inmunoglobulinas y endotoxina) disparan la coagulación de la sangre del conejo, pero no en sangre deficiente de C6. Se ha propuesto -- que este hallazgo refleja un requerimiento de C6 en la liberación de las plaquetas y la liberación consecuente de los factores de coagulación que ocurre en respuesta a estos agentes activadores del complemento. Cualquiera que sea el mecanismo envuelto, el efecto de la activación del complemento para promover la coagulación puede explicar la coagulación intravascular y depósito glomerular de fibrina que ocurre en ciertas enfermedades renales inducidas inmunológicamente.

Se debe hacer énfasis de que mucha de la información relacionada con estas vías ha sido obtenida de estudios in vitro, la extrapolación in vivo puede que no sea válida.

Así el plasma en la deficiencia del factor de Hageman muestra una coagulación defectuosa en tubos de vidrio, sin embargo individuos con tal deficiencia no muestran tendencia hemorrágica. Ejemplo de ello es como una ironía; el señor Hageman en quien se descubrió el factor que lleva su nombre por primera vez, falleció a consecuencia de un embolismo pulmonar. También debe mencionarse que individuos con tal deficiencia muestran una respuesta inflamatoria normal, indicando ya sea que la bradiquinina es un mediador insignificante en la inflamación en el humano o de que la activación de la kinina al igual que la activación --

de la coagulación, pueden ocurrir in vivo sin el factor de Hageman, o de que otros mediadores en tales circunstancias pueden tomar y compensar el papel desempeñado por las kininas.

Se ha dicho que varios componentes individuales de la Red, inducen efectos inflamatorios bajo ciertas circunstancias (Kalikreina, activador del plasminógeno, plasmina) y esterasa C1. Sin embargo, bajo condiciones normales, los productos finales inflamatorios mayores son probablemente: a) bradiquinina; b) Subproductos del sistema complemento. Particularmente fragmentos C3 y C5. (41, 56)

FIGURA No. 4 Sistemas Kinina, de Coagulación, Fibrinolítico y de Complemento

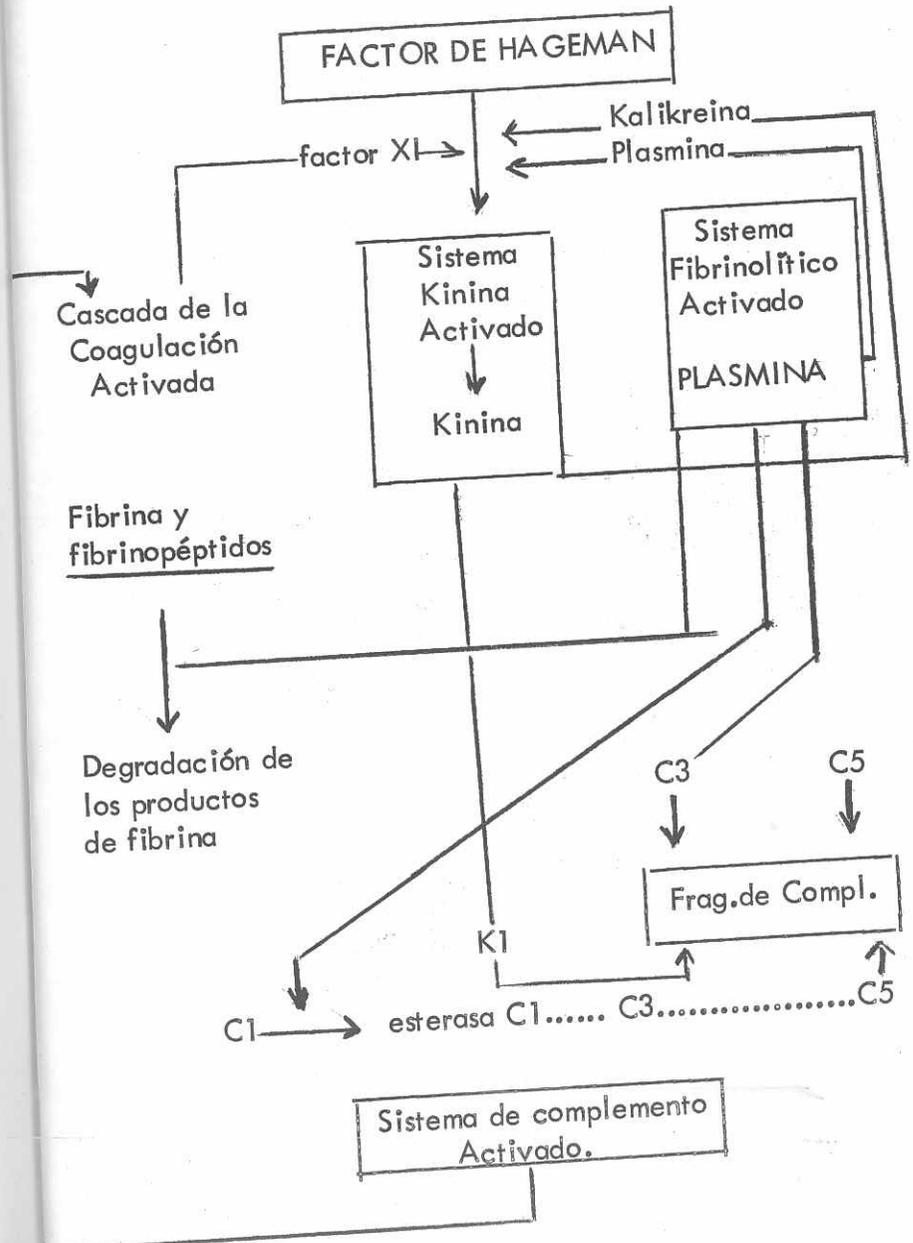
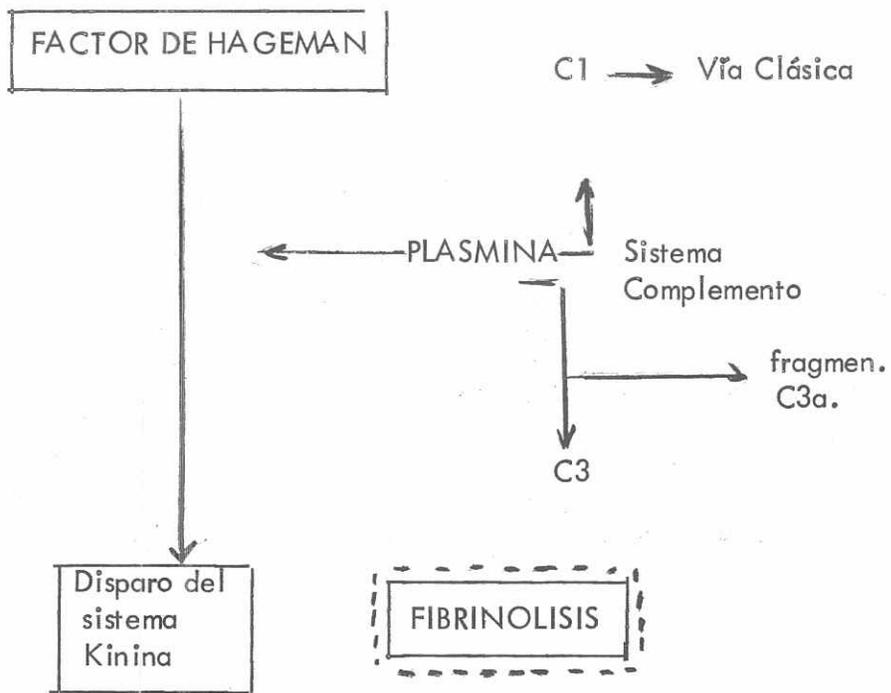


FIGURA No. 5 EFECTOS DE LA PLASMINA



Factores liberados de los tejidos

Existen varios grupos distintos de mediadores inflamatorios potenciales que pueden ser liberados por las células. Pueden ser clasificados como sigue:

- a) aminas vasoactivas
- b) lípidos ácidos
- c) componentes lisosómicos (ver parte 3)
- d) productos del linfocito (ver parte 3)

Aminas Vasoactivas (Histamina, 5 hidroxitriptamina)

La histamina se encuentra en los gránulos de las células y en los basófilos, en las plaquetas, en la región parietal del estómago. - (21, 45, 48)

La 5 hidroxitriptamina (5HT o serotonina) se encuentra en las células cebadas (roedores) y plaquetas, como en la mucosa del intestino y cerebro. La liberación de aminas de las células cebadas ocurre en respuesta a:

- a) injuria física: ejemplo, trauma mecánico, irradiación, calor
- b) varios agentes químicos, tales como veneno de serpientes, Melitina o veneno de abejas, toxinas, tripsinas, surfactantes (tales como las sales biliares), dextrán, polivinilpirrolidona, alquilaminas, liberadores de histamina, ATP y una proteína catiónica del neutrófilo.
- c) procesos inmunológicos, ejemplo, exposición a anafilotoxinas o al cambio antigénico homocitotrópico de células sensibilizadas anticuerpo, y exposición a anafilotoxinas (C3a y C5a).

La liberación a partir de las plaquetas ocurre durante la reacción de liberación plaquetaria desencadenada por estímulos, tales como la trombina, tripsina, colágeno, partículas de poliestireno, - -

emulsiones de ácidos grasos de cadena larga, complejos antígeno anticuerpo, superficies cubiertas con gamaglobulina, veneno de serpiente, epinefrina y ADP.

Además las aminas pueden secretarse de las plaquetas por un proceso llamado liberación de Histamina leucocito dependiente (LDHR); la reacción de antígeno con IgE en la superficie de los basófilos circulantes, causa la liberación de un factor activador-plaquetario (PAF), que a su vez induce la liberación de aminas de las plaquetas. Se ha sugerido que la LDHR contribuye a la deposición en los tejidos de complejos inmunes circulantes, (ejemplo en arterias dando arteritis, o en glomerulos dando glomerulonefritis), debido al efecto inductor de la permeabilidad de las aminas vasoactivas liberadas. (21, 45, 48)

El mecanismo envuelto en la liberación de aminas y otros agentes farmacológicos a partir de las células cebadas, basófilos y plaquetas, ha sido estudiado intensamente. De interés particular es el papel de la liberación del anticuerpo homocitotrópico en reacciones de varios sistemas, (ejemplo: fragmentos de pulmón, basófilos sanguíneos y células cebadas peritoneales) y cómo tales reacciones pueden explicar la patogénesis y las manifestaciones de las reacciones anafilácticas. Se ha aclarado que la liberación depende más de un mecanismo secretor que citotóxico. El puente antígeno célula fijada con IgE cuando se sensibiliza con tejido pulmonar humano, es cambiado con el antígeno apropiado es seguido de una serie de eventos bioquímicos, caracterizados por: a) activación de una serina esterasa calcio dependiente que es sensitiva a DPF; b) mayor activación autocatalítica de la esterasa; c) una fase que requiere energía; d) una fase de AMP inhibiciclo, que conduce finalmente a la liberación de los mediadores bioquímicos. Los mediadores en tales circunstancias, pueden dividirse en dos grupos: Mediadores preformados que se encuentran presentes en las células cebadas asociados con los granulos y liberados en segundos (al ponerse en contacto la célula-

con un antígeno), estos incluyen histamina eosinófilo de anafilaxia (ECF-A) el cual es un péptido ácido y 2) mediadores formados de nuevo (los cuales apenas si se detectan antes del estímulo antigénico, pero se sintetizan rápido y se liberan en pocos minutos.

Estas son las sustancias de reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A) y un factor activador de las plaquetas. Además es posible que se liberen otras sustancias, (ejemplo: prostaglandinas). Inhibición de la liberación de SRS-A causada por un aumento intracelular de AMP cíclico, ocurre después del tratamiento de las células con catecolaminas, (ej: isoproterenol), metilxantinas (ej: teofilina) y ciertas prostaglandinas (PGE1).

Tal efecto sobre el AMP cíclico intracelular provee una explicación posible acerca de la eficacia del isoproterenol, teofilina y drogas similares en el tratamiento de reacciones inmediatas de hipersensibilidad en el hombre. Además la histamina exógena produce una inhibición similar del AMP cíclico, proveyendo en esta forma un mecanismo de retroalimentación potencialmente importante.

Tanto la Histamina como la 5-HT inducen contracción del músculo liso y aumentan la permeabilidad vascular. Parece que ninguno de los dos son quimiotácticos para los eosinófilos. Recientemente, sin embargo, se ha informado que la histamina es específicamente quimiotáctica para los eosinófilos, así la histamina y la ECF-A ambos liberados de las células cebadas probablemente causan el influjo y la localización de los eosinófilos en reacciones de hipersensibilidad inmediata. (41, 57, 21, 48)

Substancia de reacción lenta de la Anafilaxia

El término substancia de reacción lenta fue preconizado por Feldberg y Kelleway en 1938, para describir una substancia -

la cual aparecía en el líquido del pulmón perfundido, de cuyos y gatos tratados con veneno de cobra. La sustancia estaba particularmente caracterizada por su capacidad para provocar una contracción lenta y más prolongada de ciertos preparados de músculos lisos, que como lo hacía la histamina. Kellaway descubrió entonces una sustancia farmacológica similar en el líquido efluente del pulmón, de cuyos sensibilizados tratados con antígeno específico.

Broklehust, más tarde, llamó a esta sustancia como se le conoce en la actualidad (SRS-A). Dicha sustancia es un sulfuro ácido conteniendo lípido que es generada, y luego liberada junto con histamina, ECF-A, PAF y prostaglandinas de células apropiadamente sensibilizadas y estimuladas por un antígeno. Además de su efecto en el músculo liso, SRS-A puede inducir extravasación, pero no ejerce atracción quimiotáctica para los leucocitos. Incidentalmente los eosinófilos humanos (pero no los neutrófilos), contienen grandes cantidades de Aril sulfatasa B, la única enzima que se conoce que destruye (SRS-A), esto sugiere que la infiltración eosinofila en las lesiones anafilácticas actúa como un mecanismo de control de SRS-A. (15, 41, 57)

TABLA No. 7 (41)

MEDIADORES INFLAMATORIOS POTENCIALES (o que se presume) SE DERIVAN DE LAS CELULAS CEBADAS.

- AMINAS VASOACTIVAS (histamina, 5HT)
- SUBSTANCIAS DE LA REACCION LENTA DE LA ANAFILAXIA
- FACTOR QUIMIOTACTICO EOSINOFILO DE ANAFILAXIA
- FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS
- SUBSTANCIA QUE CONTRAE LA AORTA DEL CONEJO
- PROSTAGLANDINAS.

PROSTAGLANDINAS

Jonh Hunter fue el primero en reconocer que el enrojecimiento en inflamación, era debido a un incremento en el suplemento sanguíneo de los tejidos afectados y que este edema tisular era debido a una extravasación de fluido de la sangre.

Un contemporáneo de Hunter, el Reverendo Edmundo Stone, descubre que la corteza de sauce contenía un ingrediente activo más tarde llamado Aspirina. Dos centurias pasan después de que la evidencia fue obtenida y se haga un enlace entre estas observaciones (32).

Primeramente Willis detecta prostaglandinas en exudados inflamatorios y seguidamente Vane y colaboradores descubre que la aspirina inhibe la síntesis de prostaglandinas in vitro. (32, 49, 55)

Estructuralmente las prostaglandinas son grandes compuestos de cadena larga de 20 carbonos sintetizados en las células a partir de ácidos grasos poliinsaturados, como sigue: El ácido araquidónico movilizado de fosfolípidos de membrana celular, es convertido por un sistema enzimático (ciclo oxigenasa) a intermediarios inestables prostaglandinas enteroperóxidas PGG₂ y PGH₂. Esta conversión es inhibida por compuestos similares a la aspirina. Los enteroperóxidos pueden ser convertidos enzimáticamente o espontáneamente en prostaglandinas estables PGF₂, gama y PGD₂. Alternativamente los enteroperóxidos pueden ser convertidos enzimáticamente a Tromboxane A₂, un potente inhibidor de la acción plaquetaria. Estas substancias inestables espontáneamente, se rompen en solución acuosa a Tromboxane B₂ y 6oxo PGF₁ alfa respectivamente. (20, 22, 28, 34)

El significado completo de las prostaglandinas como agentes farmacológicos, no ha sido claramente definido. La informa-

ción concerniente a su papel en inflamación es fragmentaria y algunas veces conflictiva. La actividad de las prostaglandinas ha sido detectada en exudados inflamatorios y las mismas son liberadas de neutrófilos durante la fagocitosis.

Prostaglandinas e incremento de la Permeabilidad Vascular.

Kaley y Weiner de sus estudios en piel de rata, propusieron que la PGF₂ mide el edema inflamatorio por incremento de la permeabilidad vascular. Sin embargo, Crunkhorn y Willis consideran que la prostaglandina F actúa indirectamente por liberación de aminas de las células cebadas.

Otras prostaglandinas han sido implicadas en inflamación:

Willoughby y colaboradores, sugieren que la PGF₂ es proinflamatoria y la PGF₂ alfa es antiinflamatorio. Ellos reportan que la PGF₂ es vista tempranamente en la respuesta inflamatoria y la PGF₂ alfa se observa en los estadios tardíos; esto sugiere un sistema de control. En otro estudio, Flower y colaboradores, sugieren que un isomero de PGF₂, PGD₂ puede ser un importante mediador antiinflamatorio. (53, 20, 22, 28, 34)

PROSTAGLANDINAS Y LA POTENSIACION DE LA EXUDACION DEL PLASMA.

Estudios en ratas y en piel de conejo exhiben que cuando la exudación del plasma fue medida cuantitativamente usando técnicas de radio isotopos, ninguna de las prostaglandinas produjeron significativa exudación cuando fueran inyectadas intradérmicamente. Una situación similar ha sido reportada en el hombre cuando una inyección intradérmica de PGF₁ o PGF₂ produjo eritema con poco o ningún edema. En términos de edema inflamatorio, Williams ha considerado la importancia de las prostaglandinas y su habilidad de potenciar la exudación de plasma inducida por otros

mediadores como la bradicinina y la histamina; esto ha sido demostrado por él en ratas y conejos y por Moncada en las ratas. Inicialmente se pensó que este fenómeno era análogo a la hiperalgesia inducida por prostaglandinas. Sin embargo, se ha sugerido que las prostaglandinas inducen potenciación de la exudación de plasma como una consecuencia de la actividad de vasodilatador potente de algunas de ellas.

La acción de los vasodilatadores endógenos puede ser minimizada, por ciertas de las prostaglandinas (PGF₂, PGI₂) y gran evidencia existe e indica que estas sustancias son importantes en mediar vasodilatación en inflamación. PGD₂ y PGF₂ alfa tienen únicamente débil la actividad vasodilatadora y probablemente no son de importancia. (53, 20, 22, 28, 32)

Otros efectos inflamatorios relativos a la prostaglandinas: A) dilatación arteriolar prostaglandina PGF provocadilatación arteriolar en el mesenterio de la rata y músculo cremaster. B) Dolor: las infusiones de prostaglandina producen cefalea y se ha encontrado que la PGF₁ PGF₂ en altas dosis causa dolor directamente cuando es inyectada en piel humana, cuando es inyectada en bajas dosis parece sensibilizar los receptores del dolor a la estimulación por histamina o bradicinina. C) Fiebre: un incremento de la actividad de las prostaglandinas ha sido detectado en el fluido cerebroespinal del tercer ventrículo de gatos con fiebre inducida por pirógenos o intravenosamente en mujeres al terminar la preñez. (41, 32, 49, 55)

CONCLUSIONES

1. Se define actualmente inflamación como: "Un proceso el - que se inicia subsecuentemente a una injuria subletal del - tejido y finalmente, lleva a una destrucción permanente - del tejido o a su recuperación total. "
2. Dos tipos de eventos vasculares se llevan a cabo en infla - mación:
 - a) Cambio en la corriente sanguínea y en el calibre de los vasos.
 - b) Cambios en la permeabilidad vascular.
3. Los cambios en la corriente sanguínea y calibre de los va - sos son eventos de primordial importancia porque determi - nan en gran parte la cantidad de exudado; si el flujo de - la corriente sanguínea está disminuido o se para temporal - mente, el exudado estará disminuido o ausente respectiva - mente.
4. La extravasación después de una injuria local puede ocu - rrir por lo menos por 2 mecanismos distintos: a) Directamen - te: Como un efecto de la noxa en sí (calor, trauma mecáni - co, etc.) b) Indirectamente: Como un efecto de las subs - tancias químicas que aparecen en ó alrededor del sitio de la injuria.
5. Entre los mecanismos celulares que pueden hacer que la ca - pa endotelial extravase, se han demostrado o sugerido:
 - a) Destrucción endotelial
 - b) Formación de brechas intercelulares por contracción en - dotelial.
 - c) Formación de espacios por separación de las uniones en - doteliales.
 - d) Extravasación transcelular

- e) Aumento del transporte activo por las vesículas pinocíticas.
- f) Secreción aumentada de líquidos por la célula por irritación celular.

- 6. Los patrones funcionales de extravasación son: a) Extravasación inmediata transitoria. b) extravasación inmediata - prolongada. c) Extravasación retardada prolongada.
- 7. La mayor fuente de enzimas que ataca las células y material intercelular en el curso de los procesos inflamatorios - son los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos.

Los primeros son vistos más en respuesta inflamatoria aguda y los segundos más en crónica. Los linfocitos son responsables de las respuestas de la producción de inmunoglobulinas y de la memoria inmunológica.

- 8. Los mediadores son, agentes químicos, responsables de varios de los procesos envueltos en la inflamación. Pueden ser divididos en exógenos y endógenos; estos últimos a su vez se dividen en derivados del plasma y derivados de los tejidos.
- 9. Los mediadores derivados del plasma son: Sistema kinina, sistema complemento, sistema de coagulación.
- 10. Los mediadores liberados de los tejidos son: Aminas vaso - activas, lípidos acídicos, componentes lisosómicas y productos del linfocito.
- 11. El proceso inflamatorio está compuesto por múltiples mecanismos que buscan la protección del individuo contra diferentes noxas aunque en ocasiones su persistencia lleva a destrucción permanente de los tejidos, tal es el caso de las enfermedades autoinmunes.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Adams D.O; The structure of mononuclear phagocytes differentiation in vivo I: Secuential fine and histologic studies - of the effects of Bacilus Calmette Guerin (BCG). Am J. Pathol 76: 17-48. 1974.
- 2. Adams D. O; The structure of mononuclear phagocytes differentiation in vivo: the efect of Micobacterium Tuberculosis. Am Journal of Pathology. 80 (1): 101-116 Jul. 75
- 3. Allison A.C. et al; The Role of Macrophage Activation in chronic inflammation. Agents Actions 8 (1-2) 27-35 Jan. 78.
- 4. Bass D.A; Posinophil dynamics during acute inflammation. - Journal of Clinic Invest. 56(4) 870-79. Oct. 75.
- 5. Bazym S et al; The influence of Chemical mediators of acute inflammation on the cells of subacute inflammation. - Agents Actions 3: 317-22 Dec. 73.
- 6. Billingham N.F. et al; The role of the acute phase reaction in inflammation. Agents Actions. 6 (1-3) 195-200 Feb. 76.
- 7. Böhn G; Vascular events in inflammation. Agents Actions. Suppl 3: 31-50 1977.
- 8. Bolam J.P et al; Accumulation of platellets at acute inflammatory sites. Br. J. Pharmacol 6 (1): 158-159. Sept. 1977
- 9. Bolam J P et al; Platelets in inflammatory exudates. J Pharm Pharmacol 29 (11) 674-6 Nov. 77.
- 10. Bonta I.L; Endogenous Substances as modulators of inflammation. Agents Actions Supl 3: 9-16. 1977.

11. Bourne R. H. et al; Modulation of inflammation and immunity by Cyclic AMP. *Science* 184: 19-28 Apr 5,74.
12. Chochrane C.G; Herman Beerman lecture; the participation of cells in the injury inflammatory of tissues. *Journal Invest Dermatol* 64 (5) 301-6. May 75.
13. Cohen; Cell mediated immunity and the inflammatory system. *S. Eum Pathol.* 7(3) 249-64 May 76.
14. Cohen; The role of the cell mediated immunity in the induction of inflammatory responses *Am J. Pathol.* 88(3) 502 - 28. Sept 77.
15. Dannenberg; Macrophages in inflammation and infection. - *New Engl. J Med* 293 (10) 489-93 Sept 4,75.
16. Davies P et al; The macrophage as a secretory cell in chronic inflammation. *Agents Actions* 6(1-3) 60-74 feb. 76
17. Deprle D.A. et al; the relation of levels of AMP cyclic levels to fagocytosis and enzyme release in acute inflammation in vivo. *J Pathol* 12 (3) 124-39 Mar. 77.
18. Dewald B, Bagglioni M, Bretz et al; The Polimorphonuclear leucocyte. *Agents Actions* 8 (1-2) 1978.
19. Bisen V; Past and presents views of inflammation. *Agents - Actions* 8 (1-2) 45-9. Jan. 78.
20. Ferreira S. H; Inflammation, prostaglandins and aspirin like Drugs. *Trans Med Soc Lond* 89: 29-31. 1973.
21. Ferreira SH et al; Plateletes, acute inflammation and inflammation mediators. *Agents Actions.* 6 (1-3): 313-17 Feb. - 76

22. Flower R.J; Prostaglandins and compounds related. *Agents Actions.* Suppl 3 99-105. 1977.
23. Franchumont. P et al; Induction of inflammation By immunological reactions. *Agents Actions* 6 (1-3); 2-4 feb 1976
24. Gordon S; Macrophage neutral proteinases and chronic inflammation. *Ann New Y Acad Sci.* 268: 176-89. 1976
25. Greenbaum L,M et al; The leukokinin sistem its role in fluid accumulation in malignancy and inflammation. - *Agents Actions* 3: 332-4 Dec 73.
26. Hirata-Hibi et al; Acute inflammation as a prerequisite for the immune response. *J. Reticuloendothel Soc.* 16(2) - 69-74 Aug 74.
27. Houck J.C; Inflammation: a quarter of century of progress. *Journal Invest dermatol* 67(1): 124-8 jul 76.
28. Hutchinson et al; Prostaglandins and leucocyte migrations in inflammatory reactions. *Agents Actions* 7(4): 769-72 - Oct 77.
29. Leme J.G; limphocytes and non immune inflammation proceedings. *Agents Actions* 8 (1-2) 160-2 Jan 78.
30. Lentnek A; the induction of augmented granulocyte adherence by inflammation mediator by plasma factor, *J Clin-- nic Inv.* 57 (4) 1098-103. Apr 76.
31. Lewis G.P; Mediator concept as it developed. *Histamine- and bradycinine.* *Agents Actions* suppl (3) 93-7. 1977

32. Lewis G. P; inflammation with emphasis on its mediation
Ann R. Coll Surg Engl. 60(3): 198-201. May 78.
33. Melmon K.L. et al Mechanism of inflammation. Clin -
Pharmacol 16(2): 186-91 Nov 78.
34. Moncada S. et al: Prostaglandins. Agents Actions Suppl
3 141-8 1977.
35. Morley J; Interaction between lymphocytes and macro-
phages Agents Actions Suppl(3) 75-92 1977.
36. Page R.C. et al; Participation of mononuclear phagocytes
in chronic inflammatory disease. Journal Reticuloendothel
Sec 15: 413-38. May 74.
37. Perper R.J. Mechanism by which leucocytes emigrate and
induce tissue destruction. Agents Actions 6 (1-3) 232-42
feb. 76.
38. Port et al; Histopathology of acute and chronic inflamma-
tion Agents Actions Suppl (3) 25-30 1977.
39. Raulino Tilho M. et al; Participation of sensory nerve
structures in development of inflammatory reactions Br. J.
Exp Pathol 58(2): 124-9 Apr 77.
40. Rocha e Silva M; A brief survey of the history of inflam-
mation. Agents Actions 8 (1-2): 45-9 Jan 78.
41. Ryan G.B. et al; Acute inflammation a review. Am -
Journal Pathol 86(1): 183-276 Jan. 77.
42. Scholenmer H.U. et al; Complement activation by the -
alternative Pathway and macrophage enzyme secretion -
in pathogenesis of chronic inflammation. Immunology 32
(6): 929-40 Jun 77

43. Silver M.J. et al; Blood Platelets and the inflammatory pro-
cess. Agents Actions 4(4) 233-40. Oct 74.
44. Till G; the regulation of leucocyte chemotaxis and its role -
in the inflammatory response. Monogr Allergy 12: 169-78 -
1977.
45. Ubatuba J.B et al; platelets Arthus type reactions and infla-
mmatory mediators. Agents Actions 6(4): 483-9 Jul 76
46. Unanue et al; Regulation of immunity and inflammation by -
mediators from macrophages. Am J Pathol 85(2) 465-78 - -
Nov 76.
47. Van Arman C.G; Brief review of mechanism in chronic infla-
mmation. Agents Actions 6(1-3) 104-6 Feb 76
48. Vargaftiy; platelets and inflammation. Agents actions Suppl
(3) 75-92 1977.
49. Velo J P et al; distributions of prostaglandins in inflamma-
tory exudates. J. Pathol 149-58 Nov. 73.
50. Waksman B.H; Chairmans Summary acute and chronic inflamma-
tion Ann N.Y Acad Sci 221; 376-82. 1974
51. Wittehouse M.W; Chronic inflammation: events cellular. - -
Agents Actions. 6(1-3): 44-9 Feb. 76.
52. William D. M et al; Alterations in peripheral blood leucocy-
te distribution in response to local inflammatory stimuli in -
the rat. J. Pathol 118(3): 129-41 Mar 76
53. Williams T.J. et al; vasodilatation in inflammation the relevan-
ce of prostaglandins. Post grad med J 53(625): 660-2 Nov 77.

- 54. William T.J. et al; Chemical mediators of vascular responses in inflammation. Ann R.Coll Surg Engl 60(3): 198-201 - May 78.
- 55. Williams T.J et al; the role of prostaglandins in inflammation. Ann R coll Surg Engl. 60(3): 198-201 May 78.
- 56. Zimmerman T.S. et al; Blood Coagulation and the inflammatory response. Semin Hematol 14(4): 391-408. Oct 77.
- 57. Zwefach, Giant, Mc Cluskey; The inflammatory process. Academic Press New York and London, second edition 1974.

Br. Molina Kirsch
Vivian Regina Molina Kirsch

Dr. Héctor Federico Castro
Asesor.
Dr. Héctor Federico Castro

Dr. Julio Cabrera
Revisor.
Dr. Julio Cabrera

Dr. Héctor Nuila
Director de Fase III
Dr. Héctor Nuila

Dr. Raul Castillo R
Secretario

Vo. Bo.
Dr. Rolando Castillo Montalvo
Decano.
Dr Rolando Castillo Montalvo