LA FAGOCITOSIS EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA INESPECIFICA

Dr. Sergio Barba
Hospital General de las FF. AA. y Centro de Investigaciones Alérgicas, Quito.

Entre los elementos básicos para la supervivencia de las especies se encuentra la resistencia a la infección y a la invasión de micropartículas ambientales. En los vertebrados superiores este sistema de protección debe ser muy eficiente por lo que han llegado a constituir los organismos predominantes del planeta. De esta manera se han desarrollado dos sistemas de defensa que para su mejor estudio se ha convenido en llamarlos INESPECIFICOS y ESPECIFICOS, suponiéndose que los segundos se apoyan fuertemente en lo que también se ha convenido en llamar Respuesta Inmune. Desde luego, esta división es arbitraria pues desde nuestro punto de vista estos dos sistemas se correlacionan perfectamente, siendo la fagocitosis uno de sus principales puntos de relación y contacto.

De ahí que considero de importancia el estudio de todos los acontecimientos y elementos que modifiquen el proceso fagocitario, tanto fisiológicos como patológicos y aquellos que empleamos para revertir a la homeostasis a los últimos.

También es mi objeto hacer un pequeño homenaje a las ideas del brillante zoólogo ruso Ilya Ilich Metchnikoff, que frente a un ambiente científico convencido de sus avances, abrió en una época de controversia toda una fuente de investigación para el mejor conocimiento de los mecanismos básicos de la supervivencia. Han transcurrido sesenta años desde aquel 16 de julio en que el sabio nos legó sus ideas y vemos cada día que ellas siguen siendo válidas y merecen mas estudio.

LA DEFENSA ANTE LA INFECCION.—La defensa ante la miriada de elementos infectantes que nos rodean, se basa en primera instancia en Factores No específicos que pueden actuar de manera independiente del Sistema Inmune (SI) y en Factores Específicos en los que participa el mencionado sistema en forma predominante, con lo cual se incrementa y amplifica notablemente su efectividad.

En lo que se refiere a Defensa No específica, se han determinado algunos factores que la influencia: genéticos, hormonal, de edad, etc.

Factores Genéticos: Hay diferencia de comportamiento ante las infecciones entre las especies y aún dentro de la misma especie. Lurie obtuvo cepas de conejos que frente a bacilo tuberculoso, unos enfermaban y otros no en las mismas condiciones de experimentación. En el hombre, independientemente de las condiciones socio-económicas es mas frecuente la tuberculosis en indígenas y negros. Los gemelos univitelinos tienen una probabilidad de enfermarse con tuberculosis del 0.75, mientras que los bivitelinos lo tienen en un 0.32.

Factores de Edad: Además de existir factores nutricionales de depresión inmunológica, hay otros factores inespecíficos que hacen que los niños y los viejos diseminen mas las infecciones.

Factores Hormonales: La disminución de glucógeno intracelular provocada por los estrógenos es un mecanismo de infección genital. No se conoce como puede actuar el hipotiroidismo, el hipo o hipercorticismo.

TABLA Nº 1

MECANISMOS DE RESISTENCIA A LA INFECCION

LOCALIZACION	EJEMPLOS	
Inespecíficos :		
Piel y mucosas	Mecánicos:	Integridad, Secreciones
	Químicos:	pH, lisozima,interferon,
	Microbianos:	De competencia
Estómago	pH Gástrico	
Vías aéreas	Mecánicos:	Anfractuosidad, vellos, moco
	Químicos:	pH, lisozima, interferon
	Microbianos:	De competencia
Vasculares	Fagocitos:	Micrófagos, macrófagos
Intersticiales	Betalisinas	
	Polipéptidos Básicos	
	Acidos Orgánicos	
	Properdina, interferon	

	LOCALIZACION	EJEMPLOS
A. Pasivos	**Específicas**	
NATURALES	Intersticial, vascular	Transmitidos por la madre por la placenta; IgG
ARTIFICIALES	Intersticial, vascular	Humoral: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, IgAs, complemento, hormonas tímicas, transferrina interferon inmune, factor de transferencia Celular: Fagocitos, linfocitos macrófagos activados Transplante: médula, timo fetal, hígado fetal
B. Activos		
NATURALES	Intersticial, vascular en mucosas	Exposición a la infección; Humoral: IgAs, IgEs, IgM, complemento; Celular: Linfocitos TyB, macrófagos activados
ARTIFICIALES	Intersticial, vascular	Humoral: IgG, IgM, IgD, IgA, IgE, IgAs, complemento, hormonas tímicas, transferrina interferon, factor de transferencia. Celular: Fagocitos, linfocitos T, B y K, macrófagos activados.

MECANISMOS DE DEFENSA INESPECIFICOS

A. EN PIEL Y MUCOSAS

1. Factores Mecánicos, como la piel intacta, las secresiones que limpian las zonas expuestas, los vellos de la piel, nariz y árbol respiratorio. La tos, estornudos y los procesos descamativos de los epitelios.

2. Factores Químicos, el pH de la piel y mucosas, la presencia de lisozima, interferón (es). La producción por parte de las glándulas sebáceas de substancias antibacterianas como ácido láctico, oleico y antifúngicas como el caprílico, undecilénico. La composición del moco que compite con algunos virus (influenza) por receptores de neuraminidasa.

3. Factores Bacterianos de competición por nutriente con la flora normal mediante la secreción de bacteriolisinas inespecíficas.

B. LA INFLAMACION LOCAL: cuyo objeto principal es la atracción de leucocitos como medio de eliminación de elementos que han atravesado la primera línea de defensa.

C. LA DEFENSA INFLAMATORIA EN LOS LINFATICOS

D. LA DEFENSA INFLAMATORIA EN LA SANGRE PERIFERICA: verdaderos filtros localizados en los sinusoides hepáticos, renales y esplénicos.

E. LA SEPTICEMIA: con todos sus cambios físico-químico-metabólicos que constituye un excelente mecanismo de defensa inespecífico.

Tabla 2 : II : FAGOCITOS RESPONSABLES DE LA DEFENSA

TIPO DE CELULAS	LOCALIZACION
POLIMORFONUCLEARES	Sangre y Tejidos
— Neutrófilos	
— Eosinófilos	
— Basófilos	
MONOCITOS	Sangre
MACROFAGOS "LIBRES"	Sangre
MACROFAGOS "FIJOS"	
— Histiocitos	Tejido conectivo
— Macrófagos de los sacos serosos	idem
— Macrófagos de los exudados inflmat.	idem
— Macrófagos alveolares	Pulmón
— Células de Kupffer	Hígado
— Macrófagos esplénicos	Bazo
— Macrófagos medulares	Médula ósea
— Macrófagos de los ganglios lin	idem
— Microglia	cerebro
— Macrófagos placentarios	Placenta
— Macrófagos metalófilos	Hígado, Bazo, riñón bronquios, alveolos

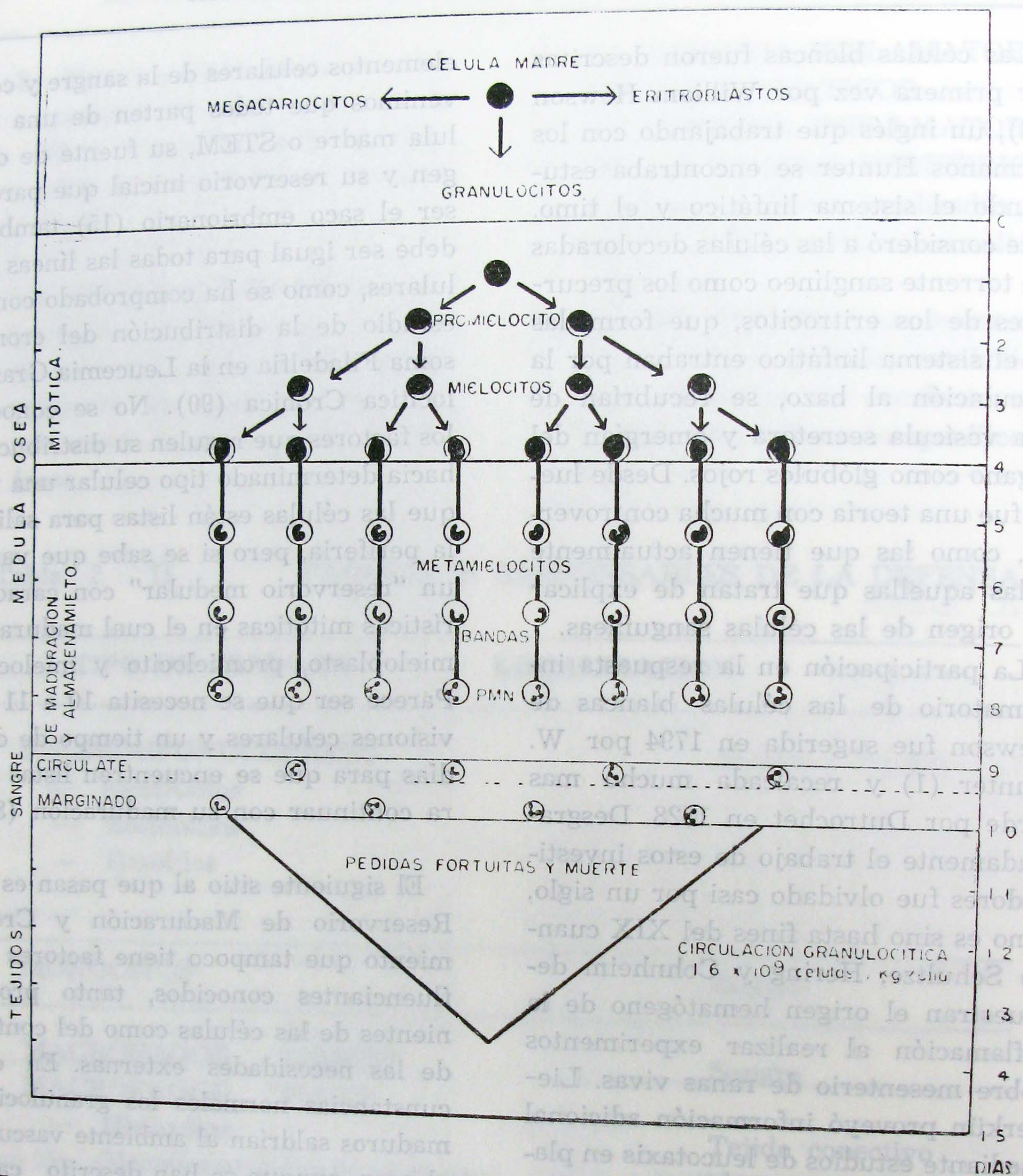
Las células blancas fueron descritas por primera vez por William Hewson (68), un inglés que trabajando con los hermanos Hunter se encontraba estudiando el sistema linfático y el timo. Este consideró a las células decoloradas del torrente sanglíneo como los precursores de los eritrocitos, que formadas en el sistema linfático entraban por la circulación al bazo, se recubrían de una vesícula secretora y emergían del órgano como glóbulos rojos. Desde luego fue una teoría con mucha controversia, como las que tienen actualmente todas aquellas que tratan de explicar en origen de las células sanguíneas.

La participación en la respuesta inflamatorio de las células blancas de Hewson fue sugerida en 1794 por W. Hunter (1) y recalcada mucho mas tarde por Dutrochet en 1828. Desgraciadamente el trabajo de estos investigadores fue olvidado casi por un siglo, y no es sino hasta fines del XIX cuando Schultze, Hering y Cohnheim demuestran el origen hematógeno de la inflamación al realizar experimentos sobre mesenterio de ranas vivas. Lieberkün proveyó información adicional mediante estudios de leucotaxis en placa de vidrio, y es Metchnikoff quien llama a estos granulocitos neutrófilos como MICROFAGOS y presenta sólidas bases a su extraordinaria teoría de la inflamación, la cual con ligeras modificaciones es la base actual de nuestro conocimiento de las defensas del huésped (51).

CINETICA GRANULOCITICA.—Si es que aceptamos ser UNITARISTAS en nuestra concepción del origen de los elementos celulares de la sangre y convenimos que todos parten de una célula madre o STEM, su fuente de origen y su reservorio inicial que parece ser el saco embrionario (15) también debe ser igual para todas las líneas celulares, como se ha comprobado con el estudio de la distribución del cromosoma Filadelfia en la Leucemia Granulocítica Crónica (90). No se conocen los factores que regulen su distribución hacia determinado tipo celular una vez que las células están listas para salir a la periferia, pero si se sabe que van a un "reservorio medular" con características mitóticas en el cual maduran a mieloblasto, promielocito y mielocito. Parece ser que se necesita 10 a 11 divisiones celulares y un tiempo de diez días para que se encuentren listas para continuar con su maduración (87).

El siguiente sitio al que pasan es un Reservorio de Maduración y Crecimiento que tampoco tiene factores influenciantes conocidos, tanto provenientes de las células como del control de las necesidades externas. En circunstancias normales los granulocitos maduros saldrían al ambiente vascular al azar, aunque se han descrito cambios morfológicos que se suceden cuando las células están listas para salir y quedarse en la circulación o para marginarse en las paredes de los vasos o sinusoides.

En la sangre periférica la vida de los granulocitos es extremadamente corta: de 6-7 horas. Aquellos que se dirigen hacia los tejidos nunca regresan y mueren en el cumplimiento de su deber o en forma natural en 4 a 5 días (68).



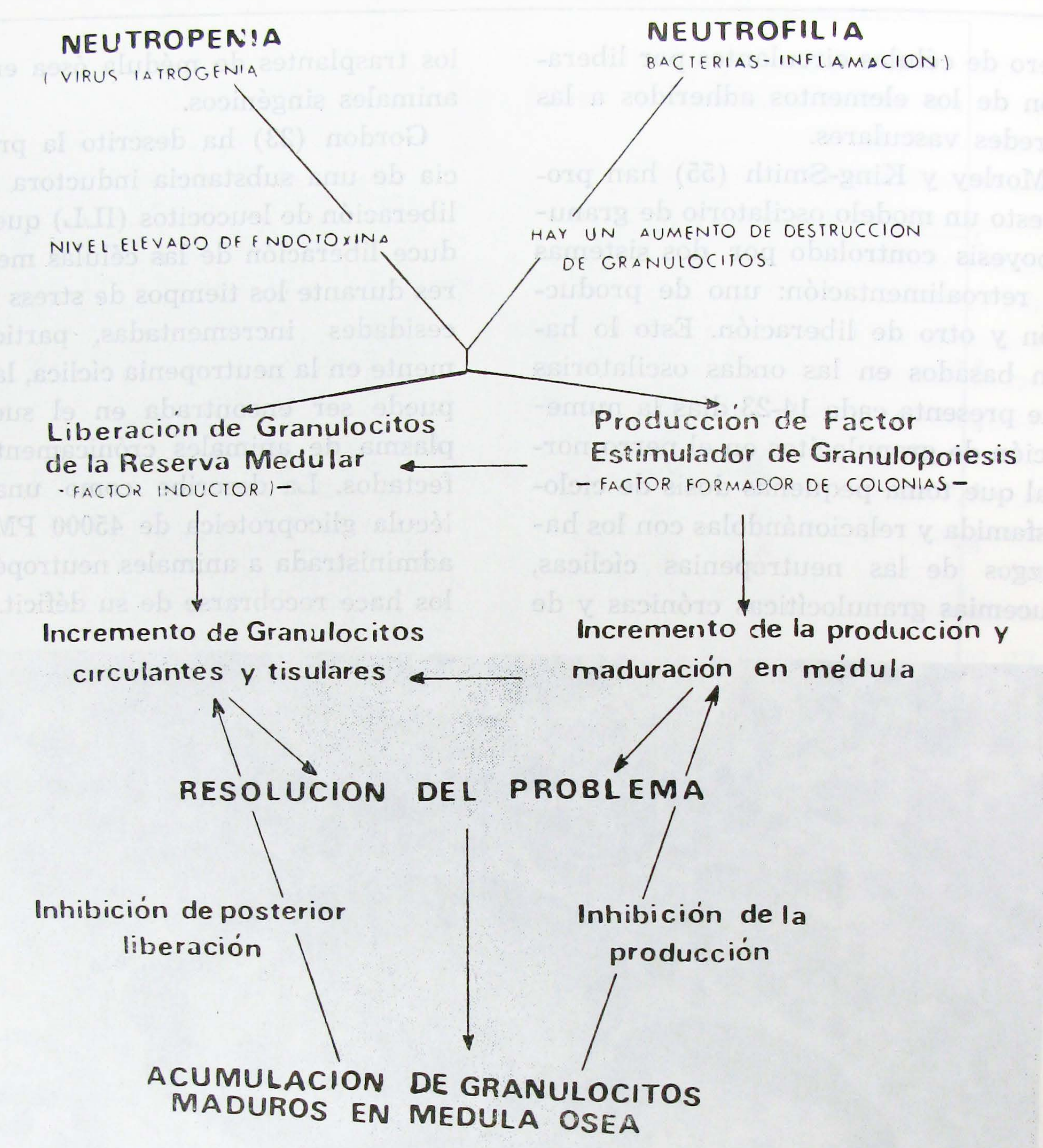
La producción de granulocitos ha sido calculada en 1.6 x 10^9 células x Kp y por día. Si el contaje normal es de 5 a 10.000 por mml, se necesitarían 25 litros de sangre libre para reemplazar las pérdidas diarias de un individuo de 70 kg de peso (68). Es probable que la eliminación periférica de granulocitos tenga que ver con su restauración, ya sea por aumento de mitosis en el primer compartimento o por aceleración de la maduración en el segundo. También operarían en este sentido los mecanismos anti-stress. Pero quedan muchos puntos obscuros acerca de la liberación, por lo cual se han estudiado algunos modelos experimentales. Los pirógenos bacterianos, la etiocolanolona y la hidrocortisona actúan posiblemente a través de un factor de liberación granulocítica (FLG); la epinefrina también aumenta el nú-

mero de células circulantes por liberación de los elementos adheridos a las paredes vasculares.

Morley y King-Smith (55) han propuesto un modelo oscilatorio de granulopoyesis controlado por dos sistemas de retroalimentación: uno de producción y otro de liberación. Esto lo hacen basados en las ondas oscilatorias que presenta cada 14-23 días la numeración de granulocitos en el perro normal que toma pequeñas dosis de ciclofosfamida y relacionándolas con los hallazgos de las neutropenias cíclicas, leucemias granulocíticas crónicas y de los trasplantes de médula ósea en los animales singénicos.

Gordon (23) ha descrito la presencia de una substancia inductora de la liberación de leucocitos (ILL) que produce liberación de las células medulares durante los tiempos de stress y necesidades incrementadas, particularmente en la neutropenia cíclica, la cual puede ser encontrada en el suero y plasma de animales crónicamente infectados. La describe como una molécula glicoproteica de 45000 PM que administrada a animales neutropénicos los hace recobrarse de su déficit.

Leucocito PMN (87400 X) Cortesía del Dr. O. Larraza (Patología H. G., S S A)



Chervenick (17) opina que los factores que controlan la liberación de neutrófilos y los que estimulan su maduración se relacionan íntimamente y parecen en realidad ser los mismos, aunque Broxmeyer y Quesenberry los han encontrado diferentes.

Con los nuevos sistemas empleados para averiguar la presencia de factores reguladores de la maduración y producción, no se ha podido demostrar la existencia de una "granulopoietina" en el sentido estricto de la palabra, ni de mecanismos retroalimentadores de regulación negativa. Esto es más aparente durante las infecciones bacterianas en humanos cuando la producción y maduración está aumentada para reemplazar la deplesión de las reservas y las pérdidas periféricas, lo cual podría hacer funcionar el mecanismo de retroalimentación negativo que pondría en peligro la vida del animal. De ahí que posiblemente solo exista un mecanismo positivo, a base de elementos de destrucción celular (68).

Uno de los aspectos fundamentales de la mecánica de los granulocitos neutrófilos es su contenido. La síntesis proteica es muy temprana, y los productos van depositándose en las vecindades del Golgy en forma de moléculas grandes, densas que se colorean de azul con Giemza y que contienen enzimas hidrolíticas, mieloperoxidasa (una hemoproteína con actividad peroxidasa), lisozima y proteínas catiónicas de actividad bactericida. En una etapa posterior aparecen los gránulos secundarios que pueden ser neutrófilos, basófilos o eosinofílicos de acuerdo a la estirpe con que se orienten las células. En general ya no hay enzimas digestivas aunque contienen lactoferrina que es una proteína microbicida, y en algunas especies fosfatasa alcalina asociada a la membrana del gránulo. Aunque no sintetize, también posee lisozima agregada. (5)

Los presursores de los neutrófilos contienen numerosas mitocondrias, lo cual sugiere la existencia de mecanismos de metabolismo oxidativo respiratorio en su desarrollo. Posteriormente, estas se transforman en acumulados de glucógeno, estableciéndose un predominio de los ciclos glicolíticos anaerobios, que tienen su justificación si se piensa que son células que van a operar en medios netamente hipóxicos. Son células relativamente rígidas, poco móviles e incapaces de ingerir partículas. Al pasar por los estrechos sinusoides medulares como que se hacen más móviles y plásticos para cumplir su misión. Se ha descrito que en infecciones severas y en las reacciones leucemoides extremas hay una defectuosa fagocitosis debido a alteraciones funcionales de este tipo. Se ha encontrado en los neutrófilos un mecanismo contráctil semejante a los controlados por la actinomiosina que les provee de versatilidad en animales como cobayos y caballos (20)

ALTERACIONES DE LA PRODUCCION Y MANTENIMIENTO DE LOS GRANULOCITOS POLIMORFONUCLEARES

NEUTROPENIAS PRIMARIAS:

1. Por defectuosa producción de neutrófilos: anemias, aplasias
2. Por excesiva destrucción de neutrófilos: isoinmunidad
3. Neutropenias Cíclicas
4. En el hiperesplenismo primario

NEUTROPENIAS SECUNDARIAS:

1. En las sepsis graves
2. Inducidas por drogas
3. Por radiaciones ionizantes, etc.

SISTEMAS "In VITRO" PARA MEDIR LA GRANULOPOIESIS: Se han ideado muchos sistemas para medir con alguna exactitud este paso de la fagocitosis. Todos ellos distan de ser ideales, pero en manos experimentadas han demostrado tener valor. Ellos tienden a buscar los siguientes parámetros:

1. Formación de colonias celulares "in vitro" (19)
   — Con médula ósea de monos
   — Con bazos de ratones irradiados

El valor de estas pruebas es prospectivo, sobre todo con el objeto de seguir la evolución de transplantes medulares

2. Presencia de factores estimulantes de la formación de colonias celulares "In Vitro" (granulopoietinas) (69)

3. Presencia de factores inhibidores (27)

LOS MACROFAGOS.— Las primeras referencias de la existencia de estas células datan de 1863, cuando Von Recklinghausen describió su presencia en la córnea inflamada y en el omento, entre los elementos formes del pus. Pontick inyectó sinabrio en la corriente sanguínea de ranas y demostró en 1869 que este colorante era tomado por células presentes en la vecindad de los vasos sanguíneos hepáticos. Mas tarde, en 1876 VonKupffer (86) describió los fagocitos del hígado como células estrelladas que se impregnaban con cloruro de oro; Wyssokowitch en 1887 comprobó que fagocitaban bacterias, y el mismo Kupffer en 1898 hizo la descripción clásica de sus células con la de sus propiedades, pero fue Metchnikoff quien realmente estableció la importancia de ellas (51) como elementos que participaban activamente en la defensa del organismo.

Las funciones fagocíticas de los macrófagos fueron extensivamente estudiadas por Kiyono (1914), Aschoff en 1924, el cual los incluyó dentro de su recién formado sistema "reticulo-endotelial" al igual que Kapell, Maximow y Jaffé, aunque en 1970 Van Furth (35) propone una heterogeneidad en el sistema, del cual los macrófagos formarían un grupo pequeño (85). Todos los estudios anteriores se pudieron hacer en virtud de la aparición de los colorantes primero y de los colorantes supravitaels luego. Carrel y Ebeling pensaron que estos deberían tener precursores posiblemente mas pequeños mediante estudios de preparaciones fijadas en secuencia, lo cual se vio favorecido por los estudios de contraste de fase hechos por Eberth y Florey en 1939 (13).

Relacionando los cambios morfológicos a la función de los macrófagos, se supuso que se sucedían frente a estímulos medicamentosos. Lurie en 1939 (47) demostró que los macrófagos en las lesiones tuberculosas fagocitaban partículas de carbón mas rápidamente, lo cual fue confirmado por los estudios de Grogg y Pearse, los cuales además encontraron un alto contenido de fosfatasa ácida en este tipo de macrófagos.

Para la mejor comprensión de la fisiología de estas células se han aplicado estudios de microscopía electrónica, de radioisótopos y se conoce con buen detalle la ultraestructura, la síntesis proteica y en general la citoquímica celular que los caracteriza. Siguiendo la distribución de los antígenos en el organismo, se sabe que juegan un papel importante en el "procesamiento" de los elementos que van a producir una respuesta inmune. Se conoce de su papel en el metabolismo lípido y del hierro, además de que tienen un importante rol en las lesiones inflamatorias crónicas.

Respecto a su localización hay unos que se encuentran libres (fuera de los órganos linforreticulares mayores), otros fijos o relativamente estables en los tejidos conectivos (histiocitos) y otros en los sacos serosos, exudados inflamatorios, en los alveolos pulmonares. Las células de Kupffer que se encuentran en la periferia de los lobulillos hepáticos, son distinguibles de las células endoteliales (Alterman 1963); los macrófagos esplénicos descritos por Klemperer (43), los macrófagos medulares que posiblemente tiene algo que ver en el metabolismo del hierro (Breton Gorius); los macrófagos de los ganglios linfáticos comprometidos en reacciones inmunológicas; la microglia en relación con lesiones neuronales; los macrófagos placentarios que a mas de remover bacterias de este órgano, están comprometidos en el secuestro de proteínas fetales y en la fagocitosis del meconio (Hofbauer 1925) y a los cuales Enders y King han descrito otras características; los macrófagos metalófilos que tienen afinidad argentófila, presentes en hígado, bazo y riñones, bronquios y alveolos normales, con un papel mas secretor que fagocítico aún no muy bien dilucidado (12,50).

III: LA FAGOCITOSIS.—Una vez maduros y aptos para su funcionamineto, los granulocitos cumplen sus funciones en varios pasos: quimiotaxis, reconocimiento e ingestión, degranulación, destrucción y digestión de lo incorporado y finalmente, su detoxificación.

QUIMIOTAXIS:—Es la respuesta móvil de los fagocitos durante el proceso inflamatorio. La migración activa de los micrófagos a través de los endotelios vasculares está procedida de cambios sutiles en la permeabilidad de las paredes como respuesta a una variedad de estímulos, tanto mecánicos, químicos, actínicos, biológicos de la fase exudativa de la inflamación. Tiene factores humorales y celulares de participación activa.

Factores Humorales:

1. Ciertas bacterias producen substancias quimiotácticas
2. El principal medio de quimiotaxis que ejercen las bacterias es a través del complemento, el cual puede ser activado de diferentes maneras, ya sea a través de la vía clásica por una reacción antígeno-anticuerpo que libera C3a. C5a, y el complejo C5-6-7; o en ausencia de anticuerpos, por medio de la vía alterna con iguales resultados. Además, la acumulación de plaquetas libera una substancia proteica con características quimiotácticas para C5
3. La activación de factor de Hageman libera Kalicreina y el activador del plasminógeno que también son quimiotácticos
4. La ingestión de partículas por parte del neutrófilo, desencadena la liberación de una substancia quimiotáctica sin la presencia de suero
5. Los linfocitos activados liberan linfocinas que también poseen estas cualidades.
6. Desde luego, también existen substancias que inmovilizan a los granulocitos, haciéndoles refractarios

a las substancias quimiotácticas, o que permiten su focalización para que puedan ejercer una mejor actividad "inSitu"

Factores Celulares:— La gradiente de moléculas quimiotácticas atrae hacia el sitio de inflamación a diferentes elementos celulares. Los neutrófilos ingresan rápidamente al foco, mientras que los mononucleares lo hacen más lentamente. Las partículas de complemento actúan sobre los dos tipos de células por igual. Los monocitos ingresan independientemente, lo cual demuestra que los PMN no son atrayentes primarios de ellos. Se puede decir que los neutrófilos llegan pronto por su propia velocidad, pero su flujo cesa cuando llegan los uninucleares, talvez por la presencia de inhibidores de la quimiotaxis o de metabolitos que absorven y/o neutralizan a las substancias quimiotácticas. Por otra parte, no se ha comprobado, aunque es posible que existan, substancias quimiotácticas con especialidad celular.

El neutrófilo se mueve siempre en dirección de la porción de ectoplasma prominente en uno de sus polos, presentando movimientos en su citoplasma interno y de sus organelos que exhiben vibraciones al igual que los gránulos, como si "danzaran" junto a los lamelopodios.

Ultraestructuralmente hay un sistema contráctil (18) influenciado por segundos (78) y terceros (88) mensajeros celulares que regulan los movimientos. También se describe la presencia de microtúbulos, (que proliferan en presencia de C5a) compuestos de tubulina e íntimamente relacionados con las anteriores estructuras contráctiles y que a manera de flagelos constituirían una fuerza paralela para los movimientos de la actinomiosina la cual se distribuye en el ectoplasma hialino en finos filamentos de 6nm de diámetro. Unos filamentos de miosina estructuralmente semejantes a los del músculo esquelético con actividad hidrolisante para el ATP han sido descritos por Stossel (78,79).

Otros Factores:—El calcio y el magnesio en estado iónico son necesarios para una máxima quimiotaxis. El Mg puede reemplazar al calcio ofreciendo un buen efecto, pero lo inverso no sucede. El incremento de potasio también incrementa la respuesta quimiotáctica, mientras que la oabaina deprime la respuesta estimulada por el potasio. Los agentes que incrementan el AMPc intracelular inhiben la motilidad de los leucocitos PMN y deprimen desde luego la respuesta quimiotáctica (20) (70,78). Esto sugiere que la adenil-ciclasa y su homóloga contraria, la guanilciclasa juegan un importante papel modulador de la motilidad aunque no intervengan directamente en esta fase.

En contraste con los beta-adrenérgicos que estimulan la adenil-ciclasa, los agentes colinérgicos como la acetil-colina, el carbacol, acetato miristato de forbal, los imidazólicos que incrementan el GMPc, aumentan la actividad quimiotáctica que puede ser inhibida por la atropina. Es como si el GMPc daría la señal de "adelante" con la actividad, mientras que el AMPc daría la de "alto" (20).

Como se ha postulado (20,70) que la quimiotaxis envuelve mecanismos contráctiles en los PMN, los agentes que alteren los microtúbulos como la colchicina, vincristina, vinblastina, inhiben la quimiotaxis, pero, a concentraciones mas bajas de 10—5moles, en que sí son estimuladoras. Igual la citocalasina-B que se ha descrito como inhibidora de la motilidad de los microfilamentos a dosis de 0.1 ug, en dósis menores, la estimula.

Proteínas semejantes a la actinomiosina han sido aisladas de los neutrófilos de caballos y cobayos, demostrándose que las fibras musculares aisladas con glicerina se contraían en presencia de ATP (80,82).

Becker (6,7) presenta una teoría respecto a la quimiotaxis tratando de unificar los conceptos de fondo, que si bien no puede ser aplicada a la universalidad de los elementos, sirve como base para investigaciones futuras. Se basa en que la quimiotaxis es un movimiento celular directamente relacionado con una gradiente de concentración de substancias químicas (factores quimiotácticos). Una o más moléculas de estas interactúan a distancia con receptores celulares de superficie de los PMN, lo cual resulta en una activación de una proestearasa I, que llega hasta estearaza I, la cual probablemente mediante una acción proteolítica dispara una serie de reacciones en las cuales están involucrados elementos intra y extracelulares modulados por la actividad de AMPc-GMPc, dando como consecuencia la contracción del material cuasi muscular de los micrófagos y su movilización. El movimiento es en el sentido del factor quimiotáctico, exponiéndose sucesivamente nuevos receptores y activándose desde luego nuevas moléculas de poestearasa I. El resultado neto es la tendencia del neutrófilo a acercarse a los sitios de mayor concentración de factor quimiotáctico.

En realidad esto parece ser un poco más complejo de lo expuesto. Se necesitan fuentes de energía, lo cual se hace especialmente mediante glicólisis anaerobia. Suficientes concentraciones de Ca y Mg en el medio extracelular, y básicamente de la activación de la proestearasa que resulta en un movimiento en dirección del sitio de localización del receptor que captó la señal de la substancia.

Los investigadores han enfocado el análisis de los movimientos celulares a tres tipos de pruebas farmacológicas:

1. Agentes que influencian los nucleótidos cíclicos intracelulares
2. Agentes que como las citocalasinas rompen los filamentos de actinomiosina e inhiben el transporte de las hexosas de los fagocitos
3. Inhibidores de agentes quimiotácticos como las serino-estearasas.

Desde el punto de vista clínico los métodos para valorar la migración de neutrófilos hasta hace poco tiempo fueron cualitativos. Actualmente existen métodos cuantitativos como la técnica de la cámara cubierta en ventana cutánea de Rebuck (semicuantitativo), (66) que nos da una idea aceptable. Mediante esta técnica se obtienen cifras de movilización leucocitaria total

(MLT) en 24 horas, la tasa de movilización leucocitaria (TML) por hora, el clearance de granulocitos sanguíneos (CGS). Los valores dados como normales por Jörg Senn y Félix-Jungi (36) son los siguientes:

INVESTIGADOR	EDAD MEDIA	M L T (gran. x10⁶ x cm²) 2 Hor.	4 Hor.	8 Hor.	24 Hor.
Jörg Senn -	27.0	0.5+0.2	3.9+0.8	16.1+2.4	73.1+6.4
Perril y Finch	24-63	0.7 (3 Hor.)	—	—	24.5

La medición del movimiento directo de la célula puede hacerse con alguna exactitud por medio de la cámara tipo Boyden (5) que utiliza métodos sofisticados fuera de la práctica clínica corriente. La movilización al azar puede medirse por técnica del tubo capilar y por métodos que emplean filtros en la técnica de Boyden en ausencia de gradiente quiimotáctica (54).

Como se expuso anteriormente hay factores que alteran la quimiotaxis normal. Las toxinas bacterianas son un gran elemento quimiotáctico por si solas, y mucho más las fracciones de complemento y linfocinas que se pueden producir por su influencia. Los mecanismos de coagulación por intermedio del Hageman y las cininas son potentes productores de factores quimiotácticos. Los productos de destrucción de los leucocitos también atraen a otras células blancas por un mecanismo de acción combinado. Mientras las endotoxinas actúan por intermedio de los nucleótidos cíclicos, las moléculas de complemento más bien tienen papel sobre la superficie del granulocito. Los agentes virales como el virus de la influenza actúan sobre la quimiotaxis sin alterar el ciclo de las hexosas monofosfato (45); substancias farmacológicas, todas aquellas que alteran los nucleótidos cíclicos intracelulares, especalmente a nivel de adenil y guanil - ciclasa alteran la respuesta quimiotáctica (20, 70, 92); los agentes colinérgicos aumentan la quimiotaxis lo cual es bloqueado por atropina; los agentes que destruyen los microtúbulos se comportan de manera diferente de acuerdo a la dósis, igual los elementos que destruyen el resto del sistema contráctil de los leucocitos. La fenil butazona por mecanismos desconocidos también disminuye la fagocitosis.

Los mediadores de la respuesta alérgica tipo I aparentemente no tienen ningún efecto sobre la migración leucocitoria (24, 32, 52, 54). La hidrocortisona y prednisona causan moderada depresión de la migración, mientras que los fluorinados y las altas dósis de los primeros sí producen depresión importante, (62) posiblemente por alteraciones metabólicas de la utilización de la glucosa intrafagocitaria. Las substancias pirogénicas como la etiocolanolona activan sistemáticamente a los leucocitos al igual que la equinacina

que puede ser utilizada incluso para acelerar la prueba de Rebuck. El alcohol etílico deprime la respuesta por su acción tóxica directa sobre las células circulantes (Jörg Senn, Jungi) (36).

Se ha descrito que la quimiotaxis se encuentra normal en algunas enfermedades como el lupus eritematoso sistematizado, la espondilitis anquilosante, infecciones bacterianas crónicas, asma aguda y crónica. Pero se ha encontrado más amplio el espectro de enfermedades con alteraciones en la quimiotaxis:

1. Por defectos intrínsecos de los PMN como sucede en síndrome de Lazy, de Chediak-Higashi, en defectos de tipo familiar, en deficiencias de la RIC asociadas con infecciones recurrentes, en la diabetes mellitus, en hipogammaglobulinemias especialmente de tipo IgG, en pacientes sometidos a hemodiálisis, en la artritis reumatoide, uremia, durante la etapa neonatal, candidosis muco-cutánea, enfermedades neoplásicas como leucemias y linfomas; en la anemia perniciosa y en la hemoglobinuria paroxística nocturna.
2. En defectos combinados que comprenden alteraciones de la mecánica intracelular y alteraciones no bien determinadas de la superficie de los granulocitos, de la actividad antibacteriana a diferentes gérmenes o de su adherencia a placas de vidrio o que cursan conjuntamente con hipogammaglobulinemias.
3. En defectos asociados con deficiencias del sistema del complemento: Clr, C2, C3, C5, C6, tanto en la vía clásica como alterna, hipercatabolismo esencial de C3 tipo I)en la anemia por células falciformes)
4. En deficiencias asociadas a la presencia de inhibidores: la presencia de inactivadores de factor quimiotáctico de Beremberg que se ha demostrado en la enfermedad de Hodkin, en pacientes cirróticos, en la enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC), en ciertas infecciones recurrentes de niños, en el sindrome de Wiskott-Aldrich, en deficiencias asociadas con hipergammaglobulinemias E, síndrome de Job, candidiasis muco-cutánea con hiper IgG y enfermedad estafilocóccica grave asociada también a hiper IgE (54)

RECONOCIMIENTO:—Una vez que el granulocito ha llegado al foco inflamatorio, debe reconocer lo que va a ingerir. Naturalmente no introduce a su interior cualquier elemento particulado, ellos demuestran selectividad. Así, los macrófagos atacan los eritrocitos alterados, no los sanos; mientras devoran algunos microorganismos, otros, como los encapsulados son rechazados. Existe una dificultad bastante grande en la cuantificación de esta fase, en determinar el grado de posible atrapamiento de partículas indiferenciadas y las perfectamente reconocibles. Ultimamente se ha encontrado gran apoyo en la inmunología, bioquímica, farmacología, microbiología y estudios de ultraestructura para dilucidar este asunto;

pero siempre existen algunas limitaciones como son la imposibilidad de que las propiedades físico-químicas de la partícula sean estables por algún tiempo, por lo que las tasas de ingestabilidad (que serían el efecto) no son comparables para las diferentes clases de partículas, además, porque no se ha podido controlar o eliminar los componentes séricos. Las hipótesis que involucran cambio completo de cargas de superficie asi como de la hidrofobicidad de las membranas (56, 65, 74, 81) pueden ser válidas en los momentos sutiles del reconocimiento, pero es de mayor importancia la influencia de los mecanismos séricos en los organismos evolucionados. OPSONINAS: Fueron Wright y Douglas en 1903 los que describieron por primera vez la presencia de estas proteínas que servían de "aderezo" para la fagocitosis y que sirvieron en parte para conciliar las teorías humorales y celulares de la inmunidad. Subsecuentes observaciones han comprobado plenamente también que el suero calentado perdía características de fuerza opsónica, mientras partículas incubadas en suero inmune completo, presentan una gran capacidad de opsonización. De esta manera se llegó a la conclusión que la parte lábil del sistema corresponde al complemnto, mientras que la parte estable eran anticuerpos. Se ha comprobado que los complejos de C1, C4, C2 y C3 son opsónicos, pero el principal elemento que inclusive actúa por si solo es C3 como una molécula de 70.000PM que puede desencadenar mecanismos de complemento tanto por vía clásica como alterna. C5 también se ha encontrado con estas características sobre todo porque se ha visto que animales deficientes de esta proteína carecen de una buena fagocitosis. El control de la actividad de C3 como opsonina se hace en base a su actividad proteolítica y parece ser C3b inactivador (factor activador del conglutinógeno) el elemento más importante sin que sea conocido su sitio exacto de actividad.

En cuanto a las in munoglobulinas, estas se han identificado como 7-s, siendo IgG-1 e IgG-3 intactas quienes han demostrado adherencia opsónica mediante su FC.. IgA no tiene capacidad opsónica y hay algún reporte de efectividad de IgM e IgG-2 (58).

LOS ELEMENTOS CELULARES del reconocimiento son receptores de superficie. Estos son para C3 e IgG, y aparentemente tienen algunas diferencias estructurales entre sí. La actividad opsonina-receptor puede ser bloqueada con fragmentos FC de inmunoglobulinas libres, (inhibición de la endocitosis) lo cual indica que los receptores para IgG-1 e IgG-3 al menos, son también inmunoglobulinas.

INGESTION:—La consecuencia del reconocimiento de partículas es el englobamiento de las mismas.

Mecanismos de Ingestión: Tempranas observaciones hacen suponer que se encuentran involucrados mecanismos semejantes a los de migración. El ectoplasma hialino se extiende a manera de sudópodos, formando lamelopodios que rodean a la partícula. Los seudópodos se fusionan en sus extremos distales, formando la vesícula Fa-

gocítica o FAGOSOMA, siempre limitada por la membrana plasmática. Esta membrana es vital para el proceso. Uno de los modelos más atractivos de esta estructura lo trae el esquema de Singer (72) en el cual la considera como bicapa de moléculas de fosfolípidos con grupos hidrofóbicos orientados en sentido inverso a los hidrofílicos y entre las cuales se intercalan moléculas de colesterol y proteínas "flotando" en el medio coloide. Este modelo en "mosaico fluido" le da extraordinarias características de versatilidad que servirían para explicar teóricamente el dinamismo que les caracteriza.

La ingestión de partículas es un evento que requiere energía. El englobamiento activa procesos de generación de ATP (ya sea por glicolisis o glicogenolisis en los neutrófilos o fosforilización oxidativa en los macófagos pulmonares) que son inhibidos por tóxicos metabólicos. Esto es compatible con la idea de que los mecanismos de actino-miosina manejan también los procesos de ingestión. La citocalasina B inhibe tanto la migración como la endocitosis. La colchisina y otros agentes semejantes afectan la ingestión, aunque no se encuentra claro el mecanismo de actividad de los microtúbulos en esta fase.

La ingestión se acelera cuando se añade lisofosfátidos acilados al medio celular, cosa que es importante pues los lisocompuestos inducen la fusión de las membranas celulares.

La parte de la membrana que forma el fagosoma parece que no arrastra sitios de transporte (¿receptores?) aunque se ha encontrado que los fagocitos que ya han ingerido son poco ávidos para hacerlo nuevamente. Los micrófagos no tienen capacidad de sintetizar nueva proteína plasmática (incluso de los receptores) como lo hacen los macrófagos en un proceso que requiere suero, colesterol, y posiblemente otras moléculas.

El paso de los mecanismos de reconocimiento a los de ingestabilidad es desconocido. Los mycoplasmas son excelentemente reconocidos por los leucocitos PMN, pero no son ingeridos. Anticuerpos específicos favorecen el reconocimieno de ciertas partículas, pero curiosamente estas partículas no son ingeridas por los PMN.

Los cationes divalentes: calcio, magnesio, cobalto y manganezo (8, 9, 49, 82), especialmente los dos primeros, juegan importante papel, pero C3 opsónicamente activo es un potenciador de su efecto. Ciertas drogas que elevan los niveles de AMPc intracelular inhiben la tasa de ingestión; la alteración tanto física como metabólica de la membrana plasmática afecta la ingestabilidad. Un medio hipertónico inhibe la ingestión; algunos fragmentos de gammaglobulina (30) aumentan la adherencia y englobamiento de estafilococos opsonizados. Los inhibidores de la glicólisis, agentes tensio activos: etanol, levorfanol, hidrocortisona en altas dósis, asi como drogas que alteran grupos sulfidrilos y los agentes quelantes de los cationes divarlentes (EDTA), empeoran el englobamiento. (29). Los mononucleares ingieren mas lentamente que los PMN por mecanismos que talvez no solamente se relacionan con su lento desplazamiento.

degranulación extracelular mediante un mecanismo de remosión de la barrera de ectoplasma hialino de fusión de gránulos - membrana plasmática. También aumenta este tipo de degranulación los agentes que aumentan el AMPc intracelular y las substancias que interactúan con los microtúbulos, cosa que es mejorada por elevadores del GMPc (92). El papel de los microtúbulos también es importante y desde luego sería regulado por los mismos nucleótidos (92).

Los corticoesteroides, las drogas antimaláricas pueden impedir la degranulación por su capacidad de prevenir la ruptura de las membranas de los gránulos, inhibiendo también de esta manera digestión, o también interfiriendo mecanismos más íntimos del proceso (89).

Mycobacteria tuberculosis y toxoplasma Gondii dentro de los fagosomas en algunas ocasiones impiden la fusión de las estructuras lisosomales, igual que si se tratara de una ingestión de organismos muertos. (2,34)

ALTERACIONES DE LA DEGRANULACION

1. Por falta de gránulos: congénita (no relatada) o adquirida
2. Por deficiencias enzimáticas de los gránulos
3. Degranulación retardada (EGC) o hiperactiva:
   - — Por presencia de complejo inmunes
   - — Por alteración en la polimerización de la actina
   - — En estados inflamatorios con acumulación de PMN: gota, artritis reumatoide, silicosis, nefritis por complejos inmunes
4. Por degeneración de los neutrófilos en los exudados o por degranulación extracelular
5. Por agentes antiflogísticos: colchicina, esteroides, fenil butazona etc.

SISTEMAS ANTIMICROBIANOS DE LA VACUOLA FAGOCITICA:—

Es necesario seguir determinado orden para el estudio de todos los procesos de que hecha mano el fagocito para destruír lo encerrado en una vacuola fagocítica, en la cual se han vertido el contenido granular. Cada uno de estos sistemas ha sido descrito anacrónicamente, por lo que es conveniente cierto orden en su descripción, lo cual siguiendo a Klebanoff (42) es como presentamos a continuación:

1. Sistemas Antimicrobianos Dependientes de oxígeno
   A. Mediados por Mieloperoxidasa, que es una enzima que cataliza la oxidación de un número de substancias (donadores de H o electrones) mediante H202 (reacción peroxidática). Generalmente son proteínas heme que deben ser distinguidas de seudoperoxidasas como la methemoglobina, citocromo C etc., que se encuentran en altas concentraciones en los leucocitos humanos y de varias especies. Se calcula que está en una cantidad en-

tre el 1-5% del peso seco de la célula. El color verde del pus está dado por esta enzima y se localiza en los gránulos primarios. Se le puede determinar en la vacuola fagocítica mediante técnicas citoquímicas en microscopio lectrónico (14)

B. Independientes de Mieloperoxidasa:

— H202: mediante dos mecanismos: uno dependiente del metabolismo leucocitario y otro del metabolismo microbiano.

Metabolismo Leucocitario: la fagocitosis está relacionada con el inicio del metabolismo oxidativo. El oxígeno consumido en este proceso es en parte convertido en H202 mediante mecanismos en los que actúan otras enzimas como citocromo-oxidasas, flavoproteinoxidasas y cuya eficiencia no ha podido ser calculada y que posiblemente también se relacionen con la reducción del NAT y la formación del unión superóxido

Metabolismo Microbiano: Los microorganismos clasificados por Orla - Jensen como lactobaciláceos (lactobacilo, estreptococo, neumococo) carecen de proteínas heme y por lo tanto de sistema citocromo. Las oxidaciones terminales en éstos son catalizadas por flavoproteínas, que reducen el oxígeno a H202 y aunque carecen también de catalasas están provistos de seudocatalasas que contribuyen a esta acción. El H202 también es formado por ciertas cepas de micoplasma (76). La presencia de H202 en el micro-organismo es tóxica, lo cual se aumenta más por la de la mieloperoxidasa y haluros. En ausencia de una buena generación de H202 por parte de los leucocitos humanos como en la EGC, la presencia de mecanismos de detoxificación es importante (41,42)

— Anión Superóxido: Este es un radical altamente reactivo, que puede actuar ya sea como agente oxidante o reductor. Actúa como reductor en la reducción de ferrocitocromo o del NAT, y como oxidante de la epinefrina en una reacción de dismutación catalizada por enzimas superoxido dismutasas. Se han determinado dos tipos de superóxido - dismutasas en las células eucarióticas: una metaloproteína presente en los citosoles de color azul-verde y una manganoenzima rosada presente en las mitocondrias. La formación de aniones superóxido en los PMN intactos puede realizarse por la reducción del ferrocitocromo C y su inhibición por una reducción de una superoxido-dismutasa. Esta formación está incrementada en la fagocitosis y disminuída notablemente en la enfermedad granulomatosa crónica (16).

— Radicales Hidroxilos: la supresión de los procesos químicos por catalasas, superoxido-dismutasas y por otros eliminadores de OH- como los benzoatos, el etanol, manitol, etc., es una evidencia presuntiva de la participación de hidroxilos

en estas reacciones tóxicas, pero es necesario mayor estudio para su completa dilucidación (42).

— Formación de Oxígeno Naciente (Singlet): Leucocitos intactos incubados con partículas inertes emiten luz, lo cual sugiere que se forma oxígeno naciente en las células intactas (42). Esta quimioluminiscencia no se observa en ausencia de fagocitosis ni en los leucocitos de enfermos con EGC. Se supone que este tipo de oxígeno inhibe la acción fotodinámica de la eosina y al sistema antimicrobiano dependiente de la mieloperoxidasa, pero que generado contínuamente puede producir reacciones electrónicas en grupos esenciales llevando a la muerte celular.

— Cofactores: existen sistemas que actúan como cofactores de la mieloperoxidasa. Primero fue descrita la actividad de los tiocianatos y luego la de los bromuros y yoduros Los tiocianatos deprimen el crecimiento bacteriano y fueron utilizados como antibacterianos. Paradójicamente, en ciertas condiciones también pueden inhibir la acción bactericida de los sistemas mieloperoxidasa -H202 Haluros.

Los Cloruros deben estar en concentraciones intracelulares adecuadas para ejercer acción bactericida. Se ha visto que las concentraciones efectivas en los leucocitos PMN de conejo son de 75 mEq/lt, lo cual desde luego no se encuentra en relación a las concentraciones plasmáticas. Su capacidad bactericida se incrementa notablemente con la presencia en adecuadas concentraciones de mieloperoxidasa y H202.

Los yoduros son más efectivos que los anteriores y su concentración intraleucocitaria parece que obedece a una gradiente electro-química, concentraciones de 5 x 10^{-6} M son efectivas para una completa destrucción bacteriana (40).

Las hormonas tiroideas: T3 y T4 liberarían radicales yoduro al ser tomados por los fagocitos e incorporados a sus fagosomas, pudiendo ser un mecanismo adicional de yoduración de la célula.

Los bromuros tienen un mecanismo de acción semejante al sistema de yoduros (42) para su acción bactericida.

2. Sistemas Antimicrobianos Independientes de Oxígeno.

A. La Acidez: Metchnikoff fue el primero en reportar que el pH intravacuolar era menor que en el citoplasma. Se estima que los valores oscilan entre 6.5-3.5(42). El origen de esta acidez no es muy conocido. Puede ser una consecuencia del ácido láctico, o por el movimiento de hidrogeniones a través de la membrana plasmática. Muchos microorganismos pueden resistir en algún grado la disminución del pH, pero en general se deprime su crecimiento, favorece la actividad de otros sistemas bactericidas, especialmente de mieloperoxidasa, acelera la digestión de los organismos intracelulares por las hidrolasas lisosomales ácidas.

Los gránulos de PMN aislados se lisan al pH menor de 5.5 debido a que la membrana de la vacuola fagocítica es en parte la membrana granular y al disminuír el pH intrafagosomal se influenciarían algunas propiedades de ésta membrana, especialmente su permeabilidad (42).

B. Lisozima: (Muramidasa, N-acetilmuramida - glicanohidrasa) es una proteína básica de alrededor de 14.500 PM que tiene capacidad de hidrolisar los enlaces beta-1-4 entre el ácido acetil-murámico y la acetil-glucosamina que constituyen parte fundamental de la pared celular de algunos microorganismos. Pero estos debido a pequeñas diferencias en la composición de su pared son diferentemente suceptibles a la acción de la lisozima: mientras que micrococcus lysodeikticus que presenta un 50% de uniones de este tipo es sensible a la acción enzimática, estafilococo aureus no lo es. Una actividad sinérgica con otros sistemas tóxite en gérmenes resistentes a la acco puede ser posible, especialmención de la lisozima a los que se les ha tratado con complemento hemolítico, ácido ascórbico y peróxido de hidrógeno (53).

C. Lactoferrina: Es una proteína férrica que tiene propiedades bacteriostáticas cuando no se encuentra completamente saturada, al "robar" el hierro necesario para el crecimiento bacteriano. Se encuentra en los gránulos de los fagocitos y también se libera después de la ingestión. Hay sinergismo entre su mecanismo y otros sistemas bactericidas, pero no se ha demostrado cooperación con el sistema de lisozima (73).

D. Proteínas Granulares Catiónicas: Se ha descrito la presencia de moléculas proteicas catiónicas de relativamente alto PM en los gránulos de los PMN. Estas se han separado en siete bandas de dispersión: cinco ya han sido purificadas, y dos, la fagocitina (28) y la leucocina (73), se ha comprobado histoquímicamente que se liberan hacia el fagosoma y se pegan a la superficie de los microorganismos ingeridos. Ellas se unen a grupos acídicos e intervienen en algunos pasos del metabolismo celular especialmente del crecimiento y viabilidad. Parece que su acción no es muy determinante en todo el proceso de destrucción puesto que no se han detectado alteraciones asociadas a su carencia en humanos (42).

3. Sistemas Inhibidores:

A. Catalasa. Aunque la catalasa puede reemplazar a la mieloperoxidasa en su sistema, lo mas frecuente es que la inhiba. Los microorganismos catalasa positivos parecen gozar de cierta protección ante la acción de los sistemas mie loperoxidasa-H202, y los enfermos con EGC infectados con esta clase de gérmenes empeoran su situación.

B. H202. El exceso de H202 inhibe al sistema mieloperoxidasa y se ha propuesto que cuando está en for-

ma de complejo con el Fe de los grupos heme de la mieloperoxidasa, la degradan por acción catalítica a O2 y H2O inactivándola.

C. Otros Inhibidores. Substancias como el glutation reducido, el ácido ascórbico y substancias de bajo peso molecular inhiben las reacciones bactericidas posiblemente por mecanismos de competencia con los sistemas mieloperoxidasa -H202-Haluros.

Tabla. 4 SISTEMAS ANTIMICROBIANOS DE LOS LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES (42)

1. DEPENDIENTES DE OXIGENO
   - A. Mediados por Mieloperoxidasa
   - B. No mediados por mieloperoxidasa
     - — H202
     - — Aniones Superóxido
     - — Cofactores
     - — Formación de Oxígeno Naciente
     - — Radicales Hidroxilos
2. INDEPENDIENTES DE OXIGENO
   - A. Acidés
   - B. Lisozima
   - C. Lactoferrina
   - D. Proteínae catiónicas granulares (fagocitina, leucocina)

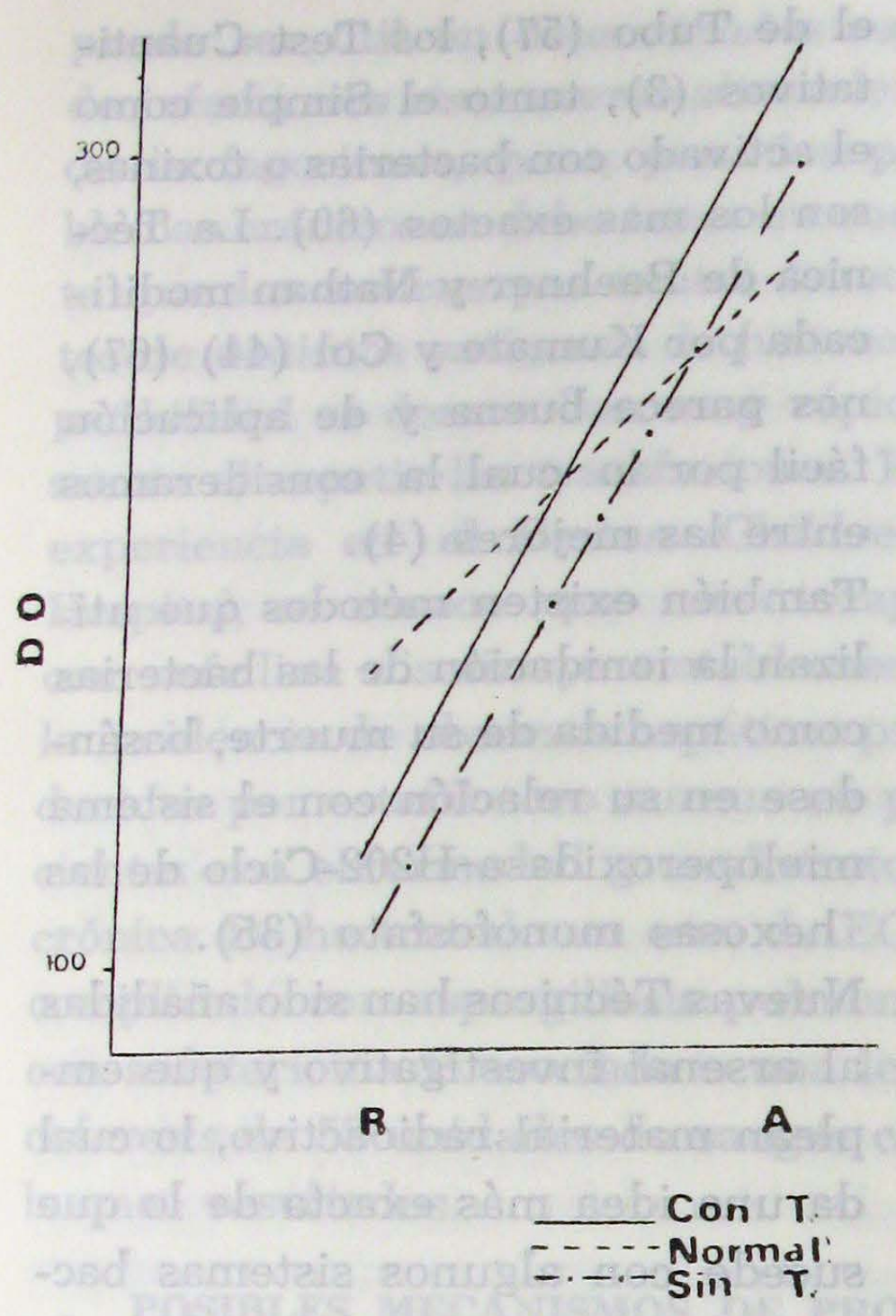
ALTERACIONES EN LA DESTRUCCION INTRAFAGOSOMAL DEPENDIENTE DE LAS ENZIMAS GRANULARES:—

1. Enfermedad granulomatosa crónica: en la que existe una deficiencia en el metabolismo oxidativo - respiratorio. Los neutrófilos no responden con fagocitosis ante un incremento del consumo de oxígeno, de la actividad del ciclo de las hexosas-monofosfato o con el incremento de la producción de peróxido de hidrógeno. Las bacterias productoras de peróxido de hidrógeno (estreptococo piógenes, fecalis y viridans) son destruídas normalmente debido a que aportan su propio peroxido para "suicidarse" en el fagosoma al ser disparados los mecanismos Peroxido-Mieloperoxidasa-H202-Haluros. No se ha demostrado la ausencia de proteínas catiónica en los gránulos.

Se ha descrito dos distintas formas de EGG según exista o no glutation-peroxidasa, lo cual estaría relacionado con el cromosoma X. Se supone que la carencia de esta enzima está relacionada con la ausencia del ciclo de las hexosas-monofosfato, manteniéndose niveles adecuados de NADP.

2. Síndrome Chediak - Higashi: los neutrófilos de estos pacientes son hiperactivos en la fase de reposo; la actividad del ciclo de la hexosa-monofosfato es normal; la ionidación intracelular se encuentra un poco disminuída; hay un incremento del metabolismo lípido y una mayor actividad del peróxido de hidrógeno (37). Pero el mayor defecto radica en la dificultad de la degranulación y liberación de enzimas dentro de las vacuolas así como una defectuosa quimiotaxis y migración. A esto se añade autodestrucción de leucocitos intramedulares.
3. Ausencia de Mieloperoxidasa: congénita, adquirida o alteración funcional de la misma.
4. Deficiencia de Lisozima o Lactoferrina (77).
5. Deficiencia de glucosa-6-fosfato - de hidrogenasa, con falta celular de NADH y NADPH, aunque con actividad oxidasa de estas normal por la pequeña actividad del ciclo de las hexosas monofosfato y producción de H202. Esta parece ser una alteración asociada a cromosoma X como lo sugiere Gray (26).
6. Inestabilidad o deficiencia de piruvato - kinasa que se ha reportado en infecciones estafilocóccicas recurrentes (11).
7. Los neutrófilos de los infantes normales presentan actividad bactericida en los límites aceptables como normales, e incluso se puede mostrar algo aumentada en el recién nacido hasta las 24 horas de edad (31). Pero también hay reportes de "labilidad" fagocítica en infantes inmaduros y de defectuosa actividad en niños enfermos (21).

   Desde luego, las mayores alteraciones parece estar determinadas por déficit de la actividad opsónica del suero.
8. En el asma bronquial alérgico se ha reportado normalidad en los pasos de ingestión, degranulación y destrucción (5). Nosotros hemos visto con la técnica de Baehner y Natham modificada al 50% que los niveles de reducción del NAT Basales se encuentran deprimidos en forma significativa, no así los de activación, los cuales incluso superan a los de los normales, como si se tratara de leucocitos PMN un poco deprimidos pero que responden fácilmente a los estímulos de fagocitosis (4).
9. Disfunción de la Actividad Bactericida (adquirida o pasajera) ha sido encontrada en el laboratorio en pacientes sufriendo agudas infecciones, incluso cuerpos de Döhle - tóxicos - y vacuolas citoplasmáticas que en algunos casos tienen disminución de mieloperoxidasa.



10. Agentes farmacológicos como la morfina y sucedáneos inhiben la actividad del ciclo hexosa-monofosfato, pero no afectan la destrucción intracelular de E. Coli. La fenil-butazona que disminuye la glucosa-6-fosfato dehidrogenasa, según los estudios de Solberg (75) retarda la actividad bactericida. Mandell (48) reporta que el succinato de hidrocortisona inhibe in vitro el consumo de oxígeno, la producción de peroxído y la actividad oxidasa del NADH, pero en dósis 100 veces más grandes que las terapéuticas.
11. Se ha encontrado en nuestro laboratorio que los medicamentos beta-2 estimulantes adrenérgicos, que se supondría que al elevar los niveles del AMPc y disminuír los del GMPc deprimirían la fagocitosis, solamente producían este efecto en lo que se refiere a los valores Basales (4) sin afectar en forma significativa los de Activación con partículas de látex, al valorar su acción frente a leucocitos de pacientes asmáticos alérgicos que cursaban asintomáticos.
12. Lehrer (46) encontró que las sulfamidas, incluso las de acción intermedia disminuían la actividad candidicida de los leucocitos PMN posiblemente por inhibición de reacciones mediadas por mieloperoxidasa.
13. Hay evidencias de que el hierro y los productos de desintegración de las células rojas como la hematina tienen efecto adverso sobre la destrucción de microorganismos. Gladstone (22) ha demostrado que el hierro ferroso o férrico en concentraciones intracelulares arriba de 0.1 um, inhibe la muerte de estafilococos posiblemente por alteración de las proteínas catiónicas o inhibición del metabolismo oxidativo. Talvez sea éste uno de los mecanismos de las infeciones repetidas que presentan los niños desnutridos.
14. Experimentalmente, en alimentación parenteral total, hay deficiencia de acción bactericida debido a una falta de ATP condicionada por la hiperfosfatemia.
15. Finalmente, se ha asociado deficiente actividad bactericida en las blefaroconjuntivitis producidas por moraxella en individuos deficientes de piridoxina (84).

La actividad bactericida de los neutrófilos pede medirse mediante una serie de métodos cuya eficacia completa no es posible por dificultades de estandarización, de ahí que hay que tomarlos no como diagnóstico sino como una ayuda en la interpretación del cuadro clínico:

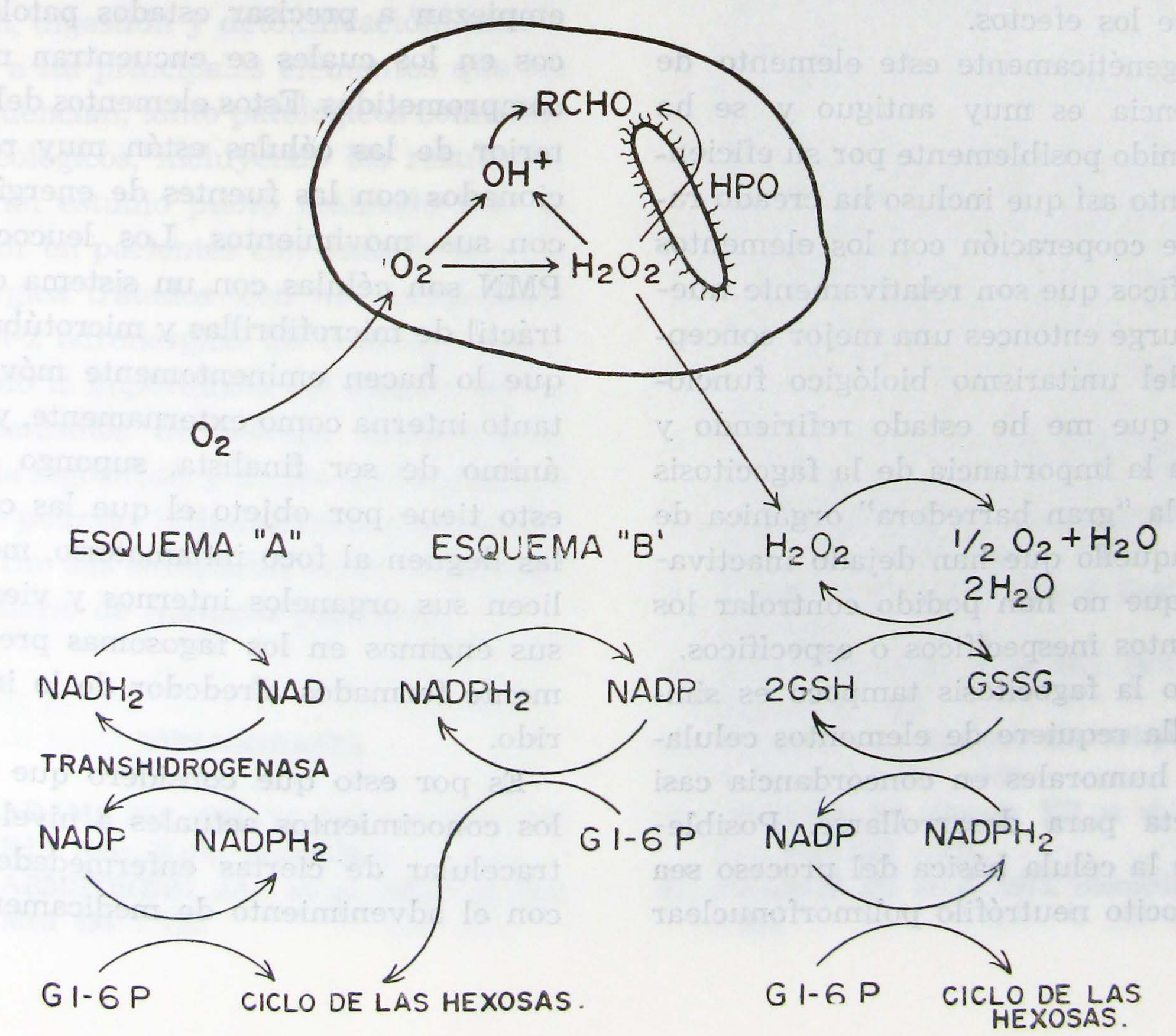
1. Una técnica bastante sencilla para la determinación de peroxidasa en granulocitos (suponiéndose que constituyen más del 85% de células blancas de un frotis de sangre capilar) es el extendido de sangre y su tinsión con el método de peroxidasa (91). Creemos que es una prueba que no sirve para detectar alteraciones moleculares finas porque en un estudio paralelo no se encontraron mayores diferencias en distintas alteraciones patológicas en relación a los normales (4,84).
2. Para medir la muerte bacteriana intracelular el método más frecuentemente utilizado fue el de Quie (64), pero se ha visto que tiene muchas limitaciones, por lo cual modificaciones como la adisión de antibióticos que maten bacterias extracelulares tienen mayor aceptación (83).
3. Las técnicas que utilizan el Nitroazul de Tetrazolio (NAT) identifican a los leucocitos con actividad oxidasa. El azul de tetrazolio al ser oxidado se puede detectar como azul-formazán. Es una prueba altamente específica para el diagnóstico de EGC y tiene algunas variantes: el test de Placa (38, 59), el de Tubo (57), los Test Cuantitativos (3), tanto el Simple como el activado con bacterias o toxinas, son los mas exactos (60). La Técnica de Baehner y Nathan modificada por Kumate y Col (44) (67), nos parece buena y de aplicación fácil por lo cual la consideramos entre las mejores (4).
4. También existen métodos que utilizan la ionidación de las bacterias como medida de su muerte, basándose en su relación con el sistema mieloperoxidasa-H202-Ciclo de las hexosas monofosfato (35).
5. Nuevas Técnicas han sido añadidas al arsenal investigativo y que emplean material radioactivo, lo cual da una idea más exacta de lo que sucede con algunos sistemas bactericidas, pero tienen también la dificultad de su difícil reproductibilidad y sofisticación, lo cual los pone fuera del uso clínico de rutina (10,25). Se puede medir por radioinmuno ensayo todas las enzimas, pero no nos da la idea de "funcionabilidad" que el estudio requiere.

EL TRATAMIENTO de los pacientes con defectos en los neutrófilos debe orientarse siempre a la efectividad antibiótica específica, y más todavía a aquellos antimicrobianos que pueden penetrar dentro de los fagocitos, como es el caso de la rifampicina. Los neutrófilos guardados en los Bancos de Sangre mantienen una adecuada función bactericida hasta 48 horas después de ser almacenados (al igual que la actividad opsónica del suero). Esto

puede ser útil en determinados casos de infecciones con severas alteraciones de la fagocitosis; pero, para los problemas crónicos se debe tener en cuenta que los anticuerpos contra leucocitos de distintos antígenos de histocompatibilidad se desarrollan muy rápidamente al repetir las transfusiones. Por experiencia en el Boston Children's Hospital, se conoce que una terapia con nafcilina disminuye notablemente la incidencia de abscesos hepáticos producidos por estafilococo aureus en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. Se ha tratado un caso de EGC complicado con aspergillosis pulmonar con anfotericina B asociada a una leucoferesis de 58 unidades de sangre con buenos resultados.

DETOXIFICACION DE PEROXIDOS:—La ubicación de las enzimas, especialmente de los peróxidos, dentro del fagosoma, tiene la ventaja de proteger al citoplasma celular de su acción; pero, el peróxido de hidrógeno es relativamente permeable a la membrana celular por lo cual en determinado momento puede ejercer una acción tóxica sobre los constituyentes celulares. Los neutrófilos tienen dos sistemas en sus citosoles con el objeto de detoxificarse: las catalasas y una serie de reacciones enzimáticas que comprometen al glutation reducido (39) y los mecanismos de retroalimentación a cargo de Glucosa-6-fosfato de hidrogenasa.

POSIBLES MECANISMOS DE PRODUCCION, ACCION Y DETOXIFICACION DE PEROXIDOS DE LOS POLIMORFONUCLEARES



Pero también los aniones superóxido pueden ser tóxicos al acumularse fuera de los fagosomas por lo cual se cree que la carencia de superoxido - dismutasa (que cataliza el superóxido a peróxido) le protege de alguna manera de caer a la célula a merced de sus propias enzimas (79) (Fig. 6).

DISCUSION:—La defensa inespecífica del huésped es un sistema de protección muy eficiente de los organismos. Ella empieza a nivel de la superficie corporal del individuo con factores mecánicos como la integridad de la piel y poco a poco se van añadiendo elementos químicos gradualmente complicados hasta llegar a formar sistemas verdaderamente complejos que se confunden con los inmunológicos debido a la estrecha relación e incluso potenciación de los efectos.

Filogenéticamente este elemento de resistencia es muy antiguo y se ha mantenido posiblemente por su eficiencia; tanto así que incluso ha creado ramas de cooperación con los elementos específicos que son relativamente nuevos. Surge entonces una mejor concepción del unitarismo biológico funcional a que me he estado refiriendo y resalta la importancia de la fagocitosis como la "gran barredora" orgánica de todo aquello que han dejado inactivado o que no han podido controlar los elementos inespecíficos o específicos.

Pero la fagocitosis tampoco es simple; ella requiere de elementos celulares y humorales en concordancia casi perfecta para desarrollarse. Posiblemente la célula básica del proceso sea el fagocito neutrófilo polimorfonuclear sin querer decir con esto que no sea de igual importancia el macrófago, pero esta célula es aún mas complicada, lo cual nos hace suponer que se ocupa además de otros procesos tan valiosos como el que nos ocupa. Igual cosa podemos afirmar de los eosinófilos, basófilos y mastocitos cuyos papeles fisiológicos son estudiados exhaustivamente y siempre nos parecen mas y mas intrigantes.

Necesariamente también había que tener en cuenta aunque sea en forma superficial la fisiología celular. La medicina clásica va enriqueciéndose diariamente de los estudios moleculares e incluso submoleculares. Ya nadie discute acerca de la importancia de los nucleótidos cíclicos intracelulares, y a pesar de que no conocemos sus mecanismos íntimos de funcionamiento, se empiezan a precisar estados patológicos en los cuales se encuentran muy comprometidos. Estos elementos del interior de las células están muy relacionados con las fuentes de energía y con sus movimientos. Los leucocitos PMN son células con un sistema contráctil de microfibrillas y microtúbulos que lo hacen eminentemente móviles, tanto interna como externamente, y sin ánimo de ser finalista, supongo que esto tiene por objeto el que las células lleguen al foco inflamatorio, movilicen sus organelos internos y viertan sus enzimas en los fagosomas previamente formados alrededor de lo ingerido.

Es por esto que considero que con los conocimientos actuales a nivel intracelular de ciertas enfermedades y con el advenimiento de medicamentos

con actividad sobre segundos y terceros mensajeros, es nuestro deber el estudiar todos y cada uno de los efectos que producen en las distintas funciones orgánicas (en nuestro caso la fagocitosis) cuando los empleamos con alguna frecuencia.

V. RESUMEN

Se hace una revisión bibliográfica acerca de los mecanismos de defensa orgánica específicos y no específicos y de sus relaciones con la fagocitosis, considerando que a ésta convergen las dos funciones. Luego de identificar a las células participantes, su origen y cinética, se explican los pasos conocidos del proceso fagocítico: quimiotaxis, reconocimiento, ingestión, degranulación, digestión y detoxificación, asi como a los principales elementos que los influencian, tanto patológicos como farmacológicos, incluyendo los resultados de un estudio piloto realizado por el autor en pacientes con asma bronquial alérgica tratados con un estimulante beta-2 adrenérgico. Se concluye recalcando la importancia del estudio de los mecanismos de defensa inespecíficos, de la fagocitosis y de los medicamentos que podrían influenciarlos para poder aplicar sus resultados en el tratamiento diario de nuestros pacientes.

BIBLIOGRAFIA

1 ADAMI JG. 1907, in Inflammation (III Ed.) New York, Macmillan.
2 ARMSTRONG JA et al. 1971, J Exp Med **134** : 713.
3 BAEHNER RL, Suzanne KM. 1975, J Clin Invest **56** : 571.
4 BARBA ALBAN SF., 1977 Rev. Ecuatoriana de Mdicina **XII** : 157.
5 BAUM JL. 1975, in Tre Phagocytic Cell in Host Resistance, Bellanti J and Dayton DH Eds., Raven Press : 283.
6 BECKER EL, Showell HJ, 1974, J Immunol **112** : 2047.
7 BECKER EL, 1975, in The Phagocytic Céll in Host Resistance, Bellanti J and Dayton DH Eds., Raven Press : 1.
8 BROGAN TD, 1966, Immunnology **10** : 137.
9 BRYANT RE, DesPrez RM, et al. 1966, J Exp Med **124** : 483.
10 BRZUCHOWSKA W. 1966, Nature **212** : 210.
11 BURGE PS et al. 1976, Bri Med J **I** : 742.
12 CARR I. Williams MA, 1976, in The Rethiculo-Endothelial System and Atherosclerosis, Diluzio NR Eds, Plenum Press, New York : 98.
13 CARR I. 1973, in The Macrophage: A review of Ultraestructure and Function, Academic Press : 1.
14 CLARK RA et al. 1971, J Clin Invest **50** : 2645.
15 COOPER MD, Lawton III AD. 1974, Scientific American **59** : 231.
16 CURNIETTE JT et al. 1974, N Engl J. Med **290** : 593.
17 CHERVENICK PA, Boggs DR. 1970, Science **169** : 691.
18 DALE DC, Wolff SM. 1971. Blood **38** : 138.
19 DICKE KA, et al. 1971, Cell Tissue Kinet **4** : 463.
20 ESTENSEN RD, Hill HR, Quie PG et al. 1973, Nature **245** : 458.
21 FORMAN ML et al. 1969, N Engl J Med **281** : 926.
22 GLADSTONE JP, et al. 1971, Brit J. Exp Pathol **52** : 452.
23 GORDON AS, Handler ES. 1964, Ann N. Y. Acad Sci **113** : 766.
24 GRAHAM RC, Eberth RH et al. 1965, J Exp Med **121** : 807.
25 GRANGE MJ et al. 1975, Biomedicine **23** : 414.

26 GRAY GR et al. 1973, Lancet **II** : 530.
27 HASKILL JS, Mc Knigth RD et al. 1972, Blood **40** : 394.
28 HIRSCH JG. 1956, J Exp Med **103** : 589.
29 HUBER H, Fudemberg HH. 1968, Int Arch Allrgy **34** : 18.
30 HUBER H, Douglas SD, et al. 1971, Nature **229** : 419.
31 HUMBERT JR et al. 1970, Pediatrics **45** : 125.
32 HURLEY IV. 1964, Ann N Y. Acad Sci **116** : 2918.
33 IYER GY et al. 1961, Nature **192** : 535.
34 JONES TC et al. 1972, J Exp Med **136** : 1173.
35 JOHNSTON RB Jr. 1969, Pediatrics **43** : 122.
36 JORG SENN H, Jungi FW. 1975, in Neutrophil Physiology and Pathology Humbert JR, Miescher PA and Jaffé ER Eds., Grune & Stratton : 25.
37 KANFER JM et al. 1968, N Engl J Med **279** : 410.
38 KAPLOW LS. 1965, Blood **26** : 215.
39 KHANDWALA A et al. 1973, Science **182** : 136.
40 KLEBANOFF SJ. 1967, J Exp Med **126** : 1063.
41 KLEBANOFF SJ et al. 1971, J Clin Invest **50** : 2226.
42 KLEBANOFF SJ. 1975 in Neutrophil Physiology and Pathology, Humbert JR Miescher PA, Jaffé ER Eds. Grune & Stratton : 127.
43 KLEMPERER P. 1938, in Handbook of Hematology, Downey H Ed. Hoeber New York, Vol III : 1591.
44 KUMATE J. et al. 1972, Proc West Hemisphere Nutrition Congress III : 346.
45 LARSON HE, Blades R. 1976, Lancet **I** : 283.
46 LEHRER RI et al. 1971, J Clin Invest **50** 2498.
47 LURIE MB. 1939, J Exp Med **69** : 579.
48 MANDELL GL et al. 1970, J Clin Invest **49** : 1381.
49 MASON RJ, Stossel TP, Vaughan M. 1972, J Clin Invest **51** : 3399.
50 McFADDEN KD. 1968, J Reticuloendothel Soc **5** : 385.
51 METCHNIKOFF E. 1891, Lectures on the Comparativ Pathology of Inflammation. Reprinted 1968, Dave Public. N Y.
52 MILLER TE. 1969, J Bacteriol **98** : 949.
53 MILLER ME, Oski FA. 1971, Lancet **I** : 559.
54 MILLER ME. 1975, in Neutrophil Physiology and Pathology, Humbert JR, Miescher PA, Jaffé ER Eds. Grune & Stratton : 69.
55 MORLEY A, King-Smith EA, 1970 in Hemopoietic Cellular Proliferation. New York, Grune & Stratton.
56 MUDD S, McCutcheon M., Lucké B. 1934, Physiol Rev **14** : 210.
57 NATHAN DG. 1974, N Engl J Med **290** : 280.
58 NICKERSON DS, Williams RC et al. 1970, Ann Intern Med **72** : 671.
59 PARK BH. 1968, Lancet **II** : 532.
60 PARK BH., Good RA. 1970, Lancet **II** : 616.
61 RERILLIE PE., Finch SC. 1964, J Clin Invest **43** : 425.
62 PETERS W. Holland JF et al. 1972, N Engl J Med **286** : 342.
63 QUESENBERRY P., Morley A et al. 1972, N Engl J Med **286** : 227.
64 QUIE PG et al. 1967, J Clin Invest **46** : 668.
65 RAVINOVITCH M et al. 1975, J Exp Med **142** : 827.
66 REBUCK JW, Crowney JH. 1955, Ann N Y Acad Sci **59** : 757.
67 REYES MAR. 1975, Alergia **XXII-2** : 47.
68 ROBINSON WA, Mangalick A. 1972, Lancet **II** : 742.
69 ROBINSON WA, Mangalick A. 1975, in Neutropil Physiology and Pathology. Humbert JR, Miescher PA, Jaffe ER Eds. Grune & Stratton : 1.
70 RIVKIN I. 1973, PH.D Thesis. University of Connecticut, Storrs.
71 SHOHET S B, Lux SE. 1975, in Hematology of Infancy and Childhood Nathan PG Eds. Phil. Saunders.
72 SINGER SJ, Nicholson GL. 1972, Science **175** : 720.
73 SKARNES RC et al. 1956, J Exp Med **104** : 829.

74 SKUTELSKY E, Danon D. 1969, J Cell Biol **43** : 8.
75 SOLBERG GO. 1972, Ac Pathol Microbiol Scandinav Sec B : **80** : 10.
76 SOMERSON ML et al. 1965, Science **150** : 226.
77 SPITZNAGEL JK et al. 1972, J Clin Invest **51** : 93.
78 STOSSEL TP, Pollard TD. 1973, J Biol Chem **248** : 8288.
79 STOSSEL TP. 1974, N Engl J Med **290** : 717.
80 STOSSEL TP. 1974, N Engl J Med **290** : 774.
81 STOSSEL TP. 1974, N Engl J Med **290** : 833.
82 STOSSEL TP. 1975, in Neutrophilic Physiology and Pathology, Humbert JR, Miescher TA, Jaffé ER Eds. Grune & Stratton : 93.
83 TAN JAS et al. 1971, J Lab Clin Med **78** : 316.
84 Van BIJSTERVELD OP. 1971, J Med Microbiol **44**: 165.
85 Van FURTH R, Hirsch JG et al. 1970, J Exp Med **132** : 794.
86 Von KUPFFER C. 1876, Arch Mikrosk Anat **12** : 353.
87 WARNER MR, Athens JW. 1964, Ann N Y Acad Sci **113** : 523.
88 WEISENBERG RC. 1972, Science **177** : 1104.
89 WEISSMANN G. 1972, N Engl J Med **286**:141
90 WHANG PENG J, Frei E III et al. 1963, Blood **22** : 664.
91 WINTROBE MM. 1967 in Clinical Hematology. LEA & Febiger, Phil. Eds. : 449.
92 ZURIER RB et al. 1974, J Clin Invest **53** : 297.