

R. 10. 117



P  
30

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE MEDICINA

"CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA INMUNI  
DAD NO ESPECIFICA EN LAS HEPATOPATIAS"

Tesis presentada por  
Emilio Pujol de la Llave  
para aspirar al grado de  
Doctor en Medicina y Ci-  
rugía.

---

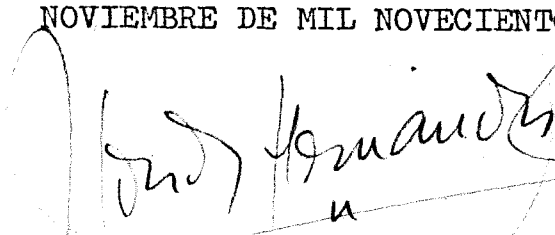
ENRIQUE ROMERO VELASCO, CATEDRATICO DE PATOLOGIA GENERAL Y PROPEDEUTICA CLINICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

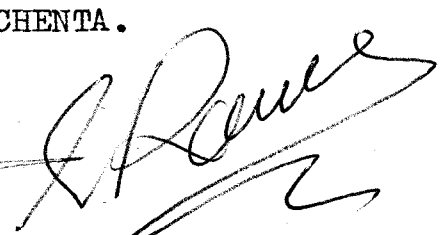
CERTIFICA:

Que Don Emilio Pujol de la Llave, licenciado en Medicina y Cirugía por la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, ha realizado bajo mi dirección y la del Dr. José Conde Hernández, el presente trabajo titulado:

"CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA INMUNIDAD NO ESPECIFICA EN LAS HEPATOPATIAS"

El cuál presenta como Tesis para aspirar al grado de Dr. Y PARA QUE CONSTE DONDE PROCEDA, FIRMO - EL PRESENTE CERTIFICADO EN SEVILLA A DIECINUEVE DE NOVIEMBRE DE MIL NOVECIENTOS OCHENTA.

  
Fdo: Dr. J. Conde Hernández

  
Fdo: Prof. E. Romero Velasco

A mi padre, que no pudo ver  
concluido este trabajo.

A Rosario, José y Pablo.

## AGRADECIMIENTO

Al Prof. Dr. Don Enrique Romero Velasco, que nos ha -- animado en todo momento en la realización de este trabajo.

Al Dr. Don José Conde Hernández, esta tesis es el fruto de muchas horas de trabajo compartidas juntos.

A la Dra. Doña Rosario Pérez Garrido, sin cuya ayuda técnica y valiosísimas orientaciones este trabajo no hubiera sido posible.

Queremos también expresar nuestro agradecimiento:

- a todos los compañeros del Servicio que nos ayuda--ron en el estudio y selección de los pacientes.
- a la Dra. Carmen Moreno, con la que compartimos muchas horas de trabajo en el laboratorio.
- a Doña Remedios Alcañiz y Mercedes Vidal, ATS del - Servicio.
- a la Srta. Manuela Contreras que trabajó eficazmente como laborantina.
- Las fotografías han sido realizadas por los Sres. - Periañez y Badia, fotógrafos del HUS a quienes agradezco las facilidades y eficacia mostrada.



## ABREVIATURAS

- C.F.I. : Factor Inhibidor del Quimiotactismo
- C.H.A. : Cirrosis Hepática Alcohólica
- C.H.C. : Cirrosis Hepática Criptogenética
- H.A. : Hepatitis Aguda
- M.E. : Migración Espontánea
- N.B.T. : NitroAzul de Tetrazoilo
- N.I.F. : Factor Inmovilizante de los Neutrofilos
- P.M.N. : Polimorfonucleares

## INDICE DE MATERIA

INTRODUCCION

CAPITULO I. INMUNIDAD NO ESPECIFICA

CAPITULO II. I ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN LAS HEPATOPATIAS.

II HEPATOPATIA Y SISTEMA FAGOCITICO.

III INHIBIDORES DEL QUIMIOTACTISMO EN PATOLOGIA.

CAPITULO III. MATERIAL Y METODOS

A. Sujetos Estudiados

B. Métodos:

1. Migración Espontánea
2. Índice Fagocitario
3. Test de reducción del N.B.T.
4. Quimiotactismo
5. Lisozima

C. Tratamiento de los resultados

CAPITULO IV. RESULTADOS

1. Migración Espontánea
2. Índice Fagocitario
3. Test de reducción del N.B.T.
4. Quimiotactismo
5. Lisozima

CAPITULO V DISCUSION Y COMENTARIOS

CONCLUSION

BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

En las hepatopatias crónicas existe una mar-  
cada tendencia a desarrollarse procesos infecciosos,  
que constituyen en muchos casos un importante factor  
de mortalidad.

Este aumento de la susceptibilidad a sufrir  
infecciones puede ser debido a varios factores (des--  
censo de la actividad plasmática del sistema Comple--  
mento, descenso de la capacidad fagocítica de las cé-  
lulas de Kupffer, existencia de anastomosis portosis-  
temicas ...), pero en los últimos años se ha prestado  
especial atención a los trastornos de la inmunidad no  
específica en la tendencia de estos pacientes a las -  
infecciones.

Los leucocitos PMN de la sangre son poten--  
tes agentes antiinfecciosos. Aseguran, esquematicamenu

te, esta función en tres etapas: desplazamiento hacia el lugar de la infección; ingestión del agente infeccioso y acción microbicida intraleucocitaria.

Cierto número de procesos en los que existe esta susceptibilidad a las infecciones, cursan con alteraciones permanentes o pasajeras de la Quimiotaxis, es decir, de la capacidad de desplazamiento de los -- PMN hacia el lugar donde se encuentran los agentes infecciosos. En las Hepatopatias Crónicas se ha descrito la existencia de alteraciones del quimiotactismo -- secundarias a anomalías séricas existentes en estos -- enfermos.

El objeto de nuestro trabajo es estudiar la inmunidad no específica, con especial referencia al -- quimiotactismo, en pacientes portadores de hepatopa--tias crónicas, de grado de afectación clínica y etiologías diversas; el papel de sus eventuales alteraciones y los procesos infecciosos que complican la evolución de estos enfermos. Así mismo, se estudian las correlaciones existentes entre los diversos parametros clínicos y biológicos de afectación hepática con las alteraciones del quimiotactismo.



CAPITULO I

EL SISTEMA FAGOCITICO

El sistema fagocítico es un mecanismo de de fensa del organismo que interviene en la eliminación de microorganismos invasores del huésped y de detri-- tus celulares, constituyendo la primera línea de de-- fensa.

Metchnikoff en 1905, estableció que este -- proceso constituya la base de la supervivencia del -- huésped, frente a las infecciones piógenas. Reciente-- mente numerosas publicaciones y revisiones generales como la de Stossel, 1974; Seminars in Hematology, 1975, entre otras, han sido dedicadas a este tema.

#### ESTRUCTURA DEL SISTEMA FAGOCITICO

Los componentes del sistema fagocitico son:

- Leucocitos polinucleares neutrofilos
- Fagocitos mononucleares: monocitos y macrofagos hísticos.

El origen de estas células radica en la médula ósea, a partir de la primera célula pluripotencial que derivaría hacia la formación de tipos celulares unipotenciales, engendrados de la serie granulocítica y monocítica. En este sentido, parece admitido que el polinuclear neutrofilo y el monocito, provienen de un mismo progenitor unipotencial o fagoblasto.

Los macrofagos hísticos son células ancladas en los tejidos, que provienen de los monocitos -- circulantes que han sufrido un proceso de diferenciación, modificando su morfología y metabolismo, adaptándose a las particularidades del tejido concreto en que residen.

La producción de estos tipos celulares, estaría regulada por unos factores humorales, liberados principalmente por las propias células citadas, que estimulan la serie poietica respectiva, y cuya inten-



sidad de acción aumentaría en presencia de productos bacterianos o endotoxinas. Por otra parte, existen -- sustancias de acción inhibitoria, llamadas chalonas, liberadas por los granulocitos y posiblemente por algunos macrofagos que actuarían específicamente sobre la estirpe granulocítica, cerrando así un mecanismo - feed - back de regulación de los mismos.

La vida media de los granulocitos circulantes en sangre periférica es de 6-7 horas aproximadamente, precisándose por ello, una enorme producción -- en la médula ósea, para mantener un nivel adecuado -- circulante. Sin embargo, el proceso de diferenciación llevado a cabo en la médula ósea, es mucho más lento, requiriéndose varios días para alcanzar el estadio de madurez. El monocito permanece menos tiempo en la médula ósea y madura más rápidamente, por lo que se mantiene durante más tiempo en la sangre circulante.

#### MECANISMO DE LA FAGOCITOSIS

La fagocitosis puede definirse como una secuencia de acontecimientos que aseguran la destruc---

ción intracitoplasmática del agente externo.

De una manera esquemática es posible individualizar la fagocitosis en cuatro etapas:

- Quimiotaxis: es la movilización de los fagocitos al lugar de la injuria.
- Oponización: consiste en la preparación de la partícula para la siguiente etapa.
- Ingestión: es la introducción de la partícula dentro del citoplasma del fagocito.
- Destrucción intracelular: por medio de agentes y sistemas bactericidas.

## I. LA QUIMIOTAXIS

Cuando los polinucleares adhieren a ciertas superficies pueden desplazarse gracias a movimientos ameboides, de esta manera pasan a través de los sinusoides de la médula o entre las células endoteliales de los vasos. Esta migración puede ser espontánea o al azar y es un movimiento sin dirección específica,

o activa hacia el foco de mayor concentración del estímulo quimiotactico. Esta actividad representa el -- acontecimiento inicial de la respuesta inflamatoria.

La quimiotaxis tiene dos aspectos fundamentales, bien descrito por Stossel, 1974:

- El origen y naturaleza de los mediadores leucotacticos.
  
- Los mecanismos celulares que permiten la respuesta móvil por el fagocito.

## A. LOS MEDIADORES LEUCOTACTICOS

La interacción entre microorganismos y tejidos dañados del huésped, conduce a la formación de factores quimiotácticos por diversos mecanismos, y gracias a la cámara descrita por Boyden se ha podido aclarar el papel de los diferentes factores con actividad quimiotáctica.

Dichos factores se pueden distribuir en varios grupos (Tabla nº 1), así:

### a) Productos de activación del sistema complemento. -

La activación del complemento puede realizarse por:

- La vía clásica de activación.- Por la acción de complejos antígenos-anticuerpos sobre C<sub>1</sub>, dando lugar a C<sub>1</sub> activado que actúa sobre C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> para formar la C<sub>3</sub> convertasa, la cual va a escindir de C<sub>3</sub> un fragmento, el C<sub>3a</sub> con propiedades quimiotácticas - demostradas por Ward, 1967. Posteriormente se va a producir una activación de los componentes terminales

TABLA Nº 1: MEDIADORES DE LA LEUCOTAXIS (tomado de Ryan, G.B. Majno, G. 1977)

LEUCOCITOS	FACTORES LEUCOTACTICOS	
Neutrofilos	Productos de virus y bacterias.	Productos de degradación de la fibrina.
	Productos de escisión del Complemento:	Prostaglandinas.
	Fragmentos de C5	Factor derivado de los neutrofilos
	Fragmentos de C3	Linfoquinas
	Complejo C567	Transfer factor
	Kalicreina	cAMP
	Activador del plasmi <u>n</u> ogeno	
Monocitos-macrofagos	Productos bacterianos	Activador del plasmino- geno.
	Fragmentos de C5	Linfoquinas
	Fragmentos de C3	Transfer factor
	Kalicreina	
	Factor del suero normal	

del complemento formándose los siguientes factores con actividad quimio actica: C5a y C567 (Ward y Newman, - (1969).

- Vía alternativa.- Los trabajos de los últi<sub>u</sub>mos años han revelado que existe otra vía de activa--ción del complemento, en la cual las primeras fraccio<sub>u</sub>nes (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> y C<sub>4</sub>) no están implicadas, la activación se realiza directamente sobre C<sub>3</sub> y ha sido denominada vía alternativa (Clark, Frank y Kimball, 1973).

El mecanismo de activación de C<sub>3</sub> se realiza por medio del C<sub>3</sub> activador, que existe en el plasma - en forma inactiva y es llamado C<sub>3</sub> proactivador y pare<sub>u</sub>ce ser idéntico al factor B del sistema properdina, - la activación se produce por la acción de un enzima: C<sub>3</sub> PA convertasa en presencia de liposacaridos, comple<sub>u</sub>jos antigenos - anticuerpos, productos de neutrofilos. La acción de la C<sub>3</sub>PA asa requiere la presencia de un producto de C<sub>3</sub>.

b) Productos de los linfocitos y de otras células

Los linfocitos, activados de varias maneras, ponen en libertad sustancias quimiotácticas para los macrofagos o los neutrofilos. Este fenómeno fue descrito por primera vez en el caso de linfocitos estimulados e incubados con antígenos por Ward, Remold y David en 1970, pero se observó también después, de una incubación con activadores policlonales. Tanto los linfocitos T, como los B, liberaban dichos factores (Wahl, Iverson y Oppenheim, 1974), que recibieron el nombre de linfokinas, son moléculas no dializables, y de factor de transferencia dializable que está siendo empleado como agente terapéutico en ciertos estados de carencia inmunitaria.

Los polinucleares tras la fagocitosis de complejos inmunes segregan una proteasa llamada  $C_5$  cleaving, localizada en las granulaciones que tiene la propiedad de escindir un fragmento de  $C_5$  con actividad quimiotáctica (Ward y Zvaifler, 1973).

c) Antigenos

Los neutrofilos y los macrofagos, cubiertos con anticuerpos citofilos, emigran hacia los antigenos, contra los cuales están dirigidos dichos anticuerpos, como demostró Jensen y Esquenazi en 1975.

d) Productos específicos de células o de tejidos lesionados

Las células destruidas (Zigmond y Hirsch, 1973) o infectadas por virus (Ward, Cohen y Flanagan, 1972) vierten sustancias que o atraen directamente a los leucocitos o actúan indirectamente a través de factores del suero, especialmente el complemento. Las proteínas que hayan sufrido alteraciones estructurales, debido a la acción de un enzima o a la denaturalización también pueden adquirir una actividad quimiotáctica para los leucocitos como demostró Wilkinson y Mc Kay (1974).



e) Las bacterias y sus productos

Proteasas no específicas segregadas por bacterias, pueden producir factores quimiotácticos por activación del complemento. Esto se ha podido comprobar para un cierto número de bacterias (Ward, Chappittis y Conroy, 1973), aunque otros microorganismos infecciosos no se han estudiado aún adecuadamente bajo este aspecto.

Otros productos de origen bacterino, pueden directamente, sin el concurso del complemento, actuar como quimioatrayentes (Walker, Barlet y Kurtz, 1969), se sabe que el factor de bajo peso molecular aparece durante la fase de replicación bacteriana.

f) Sistema de kininas y fibrinolítico

La activación del factor de Hageman va a desencadenar la coagulación, la fibrinólisis y la formación de kininas con la consiguiente producción de los siguientes factores con actividad quimiotáctica: plasminogeno, plasmina, fibrinopeptido B y calicreina ---

(Kaplan, Goetzl y Austen, 1973).

## REGULACION DE LA RESPUESTA QUIMIOTACTICA

Existe un complejo sistema que bloquea la respuesta quimiotáctica y limita así los procesos inflamatorios para evitar el autocatabolismo. Este sistema antiquimiotáctico incluye inactivadores de los factores quimiotácticos, así como inhibidores directos de la motilidad celular. Unos están presentes en el suero normal, mientras que otros son segregados durante la fagocitosis, tendiendo así a autolimitar la respuesta inflamatoria.

### A. Producidos durante la fagocitosis

#### 1. El N.I.F. Factor inmovilizante de los Neutrofilos

Este factor, descrito originariamente por Goetzl y Austen, 1972, es un inhibidor directo de las células por lo que también ha recibido el nombre de CID, que bloquea la respuesta celular de los neutrofilos a los factores quimiotácticos sin afectar la qui-

miotaxis de los macrofagos.

El N.I.F. es un producto termoestable, con un peso molecular de 65.000 daltons.

En los focos inflamatorios recientes, el N. I.F., que se encuentra en concentraciones bajas, retiene a los neutrofilos en dicho foco inflamatorio, y a una mayor concentración inhiben la llegada de estos - favoreciendo un predominio de células mononucleares.

## 2. Proteasas Neutras de los Polinucleares

Son un producto termolabil a 56°C, segregadas durante la fagocitosis y que actuarían inactivando al factor quimiotáctico dependiente del complemento C<sub>3</sub> y C<sub>5</sub>, así como a los factores quimiotáctico de origen bacteriano (Brozna, Senior y Kreutzer, 1977).

El inactivador que actúa sobre los factores quimiotácticos C<sub>3</sub> y C<sub>5</sub> se ha identificado como proteasas neutras: Elastasa y Catepsina G, las cuales están presentes en los granulos azurofilos de los polinu---

cleares y no están relacionados con el inactivador sérico de factores quimiotácticos (CFI). La actividad inhibitoria contra el factor quimiotáctico bacteriano no está aún caracterizada, pero es diferente de las proteasas antes descritas.

El potencial de regulación de la quimiotaxis por las proteasas neutras, puede ser menor por estar rápidamente inhibido por inhibidores circulantes y tisulares, tal como la alfa-antitripsina, alfa2-macroglobulina y el inhibidor presente en las secreciones bronquiales.

B. Inactivadores de los factores quimiotácticos presentes en el suero.

1. C.F.I.

Beremberg y Ward, 1973, demostraron que en el suero humano normal, existe un inactivador de los factores quimiotácticos presente en pequeñas cantidades: CFI, que tiene la capacidad de inactivar irreversiblemente una serie de peptidos con actividad quimio

táctica. Por técnicas de fraccionamiento se ha demostrado que este inactivador es heterogéneo y actúa sobre los factores quimiotácticos derivados de  $C_3$ ,  $C_5$  y  $C_{67}$  y sobre el factor derivado de E. Coli.

Till y Ward, 1975, aislaron dos fracciones que tienen características fisicoquímicas y funcionales diferentes. Una está representada por una betaGlobulina con una velocidad de sedimentación de 7S, que inactiva selectivamente la actividad quimiotáctica -- del fragmento  $C_3$ ; mientras que otra es una alfa-globulina con una velocidad de sedimentación de 4S, que -- inactiva selectivamente la actividad del fragmento  $C_5$ . Las bases de esta selectividad son desconocidas ya -- que no existe una definición estructural de los factores quimiotácticos. Por otra parte, ambas preparaciones de CFI inactiva el factor quimiotáctico bacteriano, considerablemente más pequeño que los factores derivados de  $C_3$  y  $C_5$ .

Se piensa que el CFI interacciona enzimáticamente con los factores quimiotácticos puesto que -- ciertos inhibidores enzimáticos bloquean el CFI. Ward

y Ozols, 1976, demostraron que tiene una actividad aminopeptidasa.

### Niveles anormales de CFI en el suero humano

Dos tipos generales de anomalías del CFI -- han sido encontradas: cifras elevadas y cifras bajas. Cifras elevadas han sido encontradas casi en la mitad de todos los sueros de pacientes con enfermedad de -- Hodgkin examinados, como señalan Berember y Ward ---- (1972).

En presencia de niveles elevados de CFI en el suero de pacientes con Hodgkin, la cantidad de actividad quimiotáctica generada en el mismo suero, después de la adición de Zymosan, es sustancialmente más baja que la cantidad generada en suero humano normal tratado similarmente. La adición de factor quimiotáctico preformado a los sueros de Hodgkin, determina -- una importante inactivación de la actividad quimiotáctica. Esta observación sugiere que a causa de cifras elevadas de CFI en suero de Hodgkin hay una anomalía significativa en el aparato que regula los media-

dores inflamatorios (quimiotácticos).

El segundo grupo de anomalías del CFI, está en relación con disminución del CFI en suero de pacientes con severa deficiencia de alfa-1-antitripsina. Estos pacientes demuestran de manera concomitante enfisema pulmonar progresivo. Hay correlación entre los niveles de alfa-1-antitripsina y de CFI.

El CFI parece ser un importante regulador de la respuesta inflamatoria. Su función es muy probablemente mantener un balance homeostático cuando la respuesta inflamatoria ha sido iniciada por la generación de mediadores quimiotácticos. Cifras aumentadas o disminuidas de CFI pueden condicionar una respuesta inflamatoria inadecuada o exagerada. Hay algunos datos clínicos que apoyan esta hipótesis, como señala Ward (1974). Hay ejemplos bien documentados de respuesta inflamatoria insuficiente en pacientes con Hodgkin. Cifras excesivas de CFI pueden provocar una relativa insuficiencia de factores quimiotácticos y disminuir así la respuesta inflamatoria. En el caso de deficiencia de CFI, no hay datos sobre el relativo

exceso de la respuesta inflamatoria. El CFI representa, probablemente, una importante y natural sustancia anti-inflamatoria en el suero. Un mejor conocimiento de este factor, puede abrir posibilidades terapéuticas en el aspecto de las enfermedades inflamatorias.

Gallin y Kaplan, 1974, han descrito inactivadores de la actividad quimiotáctica de la calicreína y del activador del plasminogeno presente en el suero. Estos inactivadores son inhibidores de C1 que inactiva la actividad quimiotáctica asociada a la calicreína y la macroglobulina alfa<sub>2</sub>, que inactiva la calicreína, así como el activador del plasminogeno.

#### B. ASPECTO CELULAR DE LA QUIMIOTAXIS

Si bien existe considerable información --- acerca de las numerosas sustancias que pueden actuar como factores quimiotácticos, la interacción adecuada de estos factores con los leucocitos, requiere la capacidad de estas células de responder al estímulo. Para que las células puedan experimentar la quimiotaxis se acepta que deben:



- adherirse a un sustrato.
- ser capaces de deformarse para atravesar la membrana basal y pasar a los espacios intersticiales.
- tener un movimiento al azar intrisecamente normal y poseer un conjunto adecuado de citoesqueleto incluidos microtubulos y microfilamentos.

Los Polinucleares avanzan extendiendo una parte del citoplasma hialino, que forma un pseudopodo, que está inicialmente desprovisto de granulaciones, cuando la célula avanza hay una movilización de las granulaciones hacia el pseudopodo, mediante movimientos browniano. El nucleo es rechazado a la porción distal y no tiene un papel activo en el movimiento. En el polo opuesto al pseudopodo hay una estructura en forma de cola que deja un rastro de fibrina. En los macrofagos, el movimiento es más lento y extienden el citoplasma hialino en todas direcciones.

Al microscopio electronico, el ectoplasma hialino está compuesto por microfilamentos y microtubulos. La prueba de que los microtubulos eran activos en el mecanismo de movimiento celular fue proporcionada

do por el hallazgo de que la colchicina y la vincristina, farmacos que alteran los microtubulos, inhiben la quimiotaxis de los neutrofilos humanos. En el movimiento direccional es necesario la reunión de los microtubulos.

La citochalasina B, que altera los microfilamentos, inhibe in vitro el quimiotactismo de los Polinucleares de sujetos normales. Los microfilamentos han sido identificados como polimeros de actina-miosina, con similitudes estructuradas y enzimaticas a la actinmiosina muscular, se piensa que el movimiento de los fagocitos puede tener características moleculares parecidas a la contracción muscular.

La redistribución del calcio intracelular - está relacionada integramente con el conjunto de la interacción de microfilamento y microtubulos.

Igualmente, es importante la regulación que sobre esta función parecen tener los nucleotidos ciclicos AMP y GMP, se ha demostrado que las sustancias que aumentan el AMP ciclico disminuyen la motilidad -

y las que disminuyen el AMP ciclico la estimulan.

Se han aportado pruebas de que en la fagocitosis tiene un papel importante, una bomba de sodio y potasio, son necesarios posteriores estudios para concretar el posible papel de dicha bomba en la migración leucocitaria.

#### EL RECONOCIMIENTO DURANTE LA QUIMIOTAXIS

Se entiende por reconocimiento el proceso -- por el cual un estimulo quimiotáctico induce un movimiento de migración orientada en los fagocitos.

Es posible que la leucotaxis pueda estar mediada por enlaces esteroespecíficos entre moléculas -- proteicas extrínsecas y receptores bien definidos en la membrana celular. Esto se ha pensado en el caso de los mencionados peptidos de peso molecular bajo. Sin embargo, actualmente la existencia de estos receptores no está comprobada, y en cualquier caso necesitaría un sinnúmero de receptores para poder enlazar todos los múltiples factores que activan los leucocitos.

Por lo que Wilkinson en 1976, piensa que la interacción entre los factores quimiotácticos y las membranas celulares sean a menudo inespecíficas. Las proteínas iniciarían la respuesta quimiotáctica al unirse al núcleo hidrofóbico de la doble capa lipídica de la membrana celular, penetrando en ella, y provocando de esta manera un aumento de la permeabilidad de dicha membrana.

Los trabajos de Becker en 1972, con leucocitos de conejos, demostraron la existencia de dos esterasas séricas diferentes, ligadas a la célula, que son necesarias para la quimiotaxis. Una de estas era activa en la célula antes de la exposición al estímulo quimiotáctico, la otra denominada esterasa 1, existía bajo la forma de una proesterasa y se activaba después de la exposición al estímulo quimiotáctico.

## II. OPSONIZACION

Los fagocitos, gracias a la migración, se sitúan en las proximidades de su víctima, reconociéndolo por el fenómeno de opsonización.

La función de las opsoninas es de reaccionar con partículas extrañas al organismo, haciéndolas susceptibles de ser ingerida por los fagocitos.

La heterogeneidad de las opsoninas, ha sido establecida por numerosas experiencias (Peltier, 1974). Ciertas opsoninas aparecen bajo la influencia de la inmunización, son las opsoninas termoestables y están representadas por los anticuerpos específicos tipo IgG y IgM.

Entre las subclases de IgG sólo las fracciones IgG 1 y IgG 3, presentan actividad opsonisante. Las IgG actúan como opsoninas por ellas mismas, en ausencia de complemento, la porción Fab 2 se combina con el antígeno superficial de las bacterias y entonces la porción Fc queda libre para fijarse a los receptores específicos de la superficie de los neutrofilos.

Las IgM no poseen como las IgG receptores en la membrana de los fagocitos, su actividad opsonizante, se realiza por intermedio del complemento, cuyo

tercer componente ( $C_3$ ) posee un receptor en la superficie de los fagocitos.

Otras opsoninas están presente en el suero independientemente de toda inmunización, son las opsoninas termolabiles y pertenecen al sistema complemento. La activación del sistema complemento susceptible de dar propiedades opsonizantes, puede hacerse por:

- La vía clásica, por medio de anticuerpos específico que se unen al antígeno bacteriano.
- La vía alternativa que no necesita obligatoriamente complejos antígenos-anticuerpos.

En ambos casos la activación debe llegar -- hasta  $C_3$ , produciendose un fragmento el  $C_3b$  que es directamente responsable de las propiedades opsonizantes del complemento. Algunos autores han descrito actividad opsonizantes de un fragmento de  $C_5$ , resultados que están por confirmar.

El contacto partícula-fagocito provoca dos

fenómenos: el desencadenamiento de la ingestión y profundos cambios metabólicos.

### III. LA INGESTION

Es el proceso por el cual los fagocitos tienen la propiedad de ingerir partículas y localizarlas en el interior de su citoplasma. Esta actividad presenta dos aspectos según la naturaleza del material ingerido: pinocitosis y fagocitosis, que son respectivamente la ingestión de pequeñas gotas fluidas y de partículas sólidas.

Una vez la partícula es opsonizada, se ve una invaginación de la membrana del fagocito, en forma de pseudopodos, que va a rodear completamente a la partícula, hasta que los bordes del pseudopodo se fusionan y la partícula queda alojada en una vacuola esférica que recibe el nombre de FAGOSOMA, posteriormente va a desplazarse hacia el interior del citoplasma, donde las granulaciones primarias y secundarias van a migrar hacia el fagosoma entrando en contacto con su membrana y vierten su contenido en su interior, recibiendo entonces el nombre de FAGOLISOSOMA. Este proce

so ha sido filmado en microscopio electronica por Zucker-Franklin y Hirsch en 1964.

Las granulaciones primarias contienen: enzimas hidroliticos, proteinas cationicas y microperoxidos.

Las secundarias: lisozima, lactoferrina y fosfatasas alcalina.

Constantopoulos, Najjar y Smith, 1962, han descrito un tetrapeptido natural de origen esplenico, la TUFSIN, que a bajas concentraciones estimula la fagocitosis, actuando no sobre la particula a ingerir, sino sobre los fagocitos.

### Cambios metabólicos

La penetración de una particula produce en los polinucleares un aumento del consumo de oxigeno y una estimulación de la glicolisis, como lo demuestra la disminucción de la cantidad de glucogeno y el aumento de ácido láctico. También se observa una estimulación



enzimática, especialmente de la NADH y NADPH oxidasa y un aumento de la producción de peróxido de hidrógeno. (Sbarra y Karnovsky, 1959).

Esta estimulación de la glicólisis se produce desde el momento que la partícula entra en contacto con la membrana del fagocito, con la finalidad de generar la energía necesaria para su penetración en el interior de la célula (Tabla nº 2).

La estimulación de la glicólisis se realiza por la vía de las hexosas-monofosfato o vía de las pentosas, cuya principal particularidad es funcionar en aerobiosis, mientras que en condiciones basales los polinucleares utilizan esencialmente la glicólisis anaerobia.

Para la puesta en funcionamiento de esta vía es necesaria la presencia de G6P que transforma la G6P en 6P gluconolactona. Así la G 6 P D regula en su punto de partida esta vía, cuando existe un déficit de G6PD es inhibido el shunt y la capacidad bactericida.

Modificaciones bioquímicas de los granulocitos neutro-  
filos durante la fagocitosis

1. Aumento del consumo de O<sub>2</sub>.
2. Producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y de O<sub>2</sub>.
3. Aumento del Shunt Hexosa Monofosfato.
4. Oxidación de NADPH aumentada.
5. Aumento de la glicolisis.
6. Aumento del turnover de los fosfolípidos.

Tabla nº 2, tomada de Rossi, F. (1980)

La G6PD es activada en presencia de NADP con regeneración de NADPH, siendo necesaria la reoxidación de NADP. Se han individualizado en los granulocitos dos oxidasas que podrían cumplir esta misión, la NADPH y NADH oxidasa, con la consiguiente formación de peroxido de hidrogeno que intervendría en la formación de los sistemas bactericidas.

Otras hipótesis conceden un papel fundamental al sistema del glutathion. La oxidación del NADPH se realizaría por medio de la glutathion reductasa. La importancia de este sistema es difícil de precisar, -pués aunque se ha demostrado que a los 15 segundos de iniciarse la endocitosis, una estimulación de la glutathion reductasa, por otra parte, no se conoce ningún deficit selectivo de este sistema (Strauss, Paul, Jacobs y Sbarra, 1969).

#### Producción de Peroxido de hidrogeno:

Proviene esencialmente de dos mecanismos:

- a) Del metabolismo del leucocito: por oxidación de -- los nucleotidos pirimidinicos NADPH y NADH, analizados anteriormente.
- b) A partir del microorganismo fagocitado: a través - de la oxidación de los aminoacidos de la pared bac- teriana por la d 6 l-aminooxidasas que catalizan la oxidación de los aminoacidos con formación de pero- xido de hidrogeno en los germenos catalasa negati- vos.

#### IV. DESTRUCCION INTRACELULAR

Es la fase capital de la fagocitosis y con- duce a la destrucción de la particula ingerida. Los - medios utilizados por los granulocitos son numerosos y esquematicamente podemos diferenciar (Klebanoff, -- 1975). Tabla nº 3.

##### A. MECANISMOS MICROBICIDAS OXIGENO DEPEN---

##### DIENTES:

Comprenden:

Mecanismos microbicidas en los Neutrofilos

I. Oxigeno dependiente

1. Sistema M.P.O.- H<sub>2</sub> O<sub>2</sub>-cofactor
2. Productos reducción O<sub>2</sub>:
  - . anión superoxido
  - . oxigeno atomico
3. Radical hidroxilo

II. Oxigeno independientes

1. Acidosis vacuolar fagocitica
2. Lisozima o muramidasa
3. Lactoferrina
4. Proteinas cationicas

Tabla nº 3, tomada de Klebanoff, S.J. (1975)

1) El sistema Micloperoxidasa-Peroxido de hidrogeno--  
Cofactor: Descrito por Klebanoff en 1968, está forma-  
do por varios agentes bactericidas potenciando así su  
acción.

Micloperoxidasa.- Es una proteina cationica  
que se encuentra en las granulaciones primarias de --  
los polinucleares, siendo segregada en la fagosoma du-  
rante la degranulación, es bactericida y fungicida --  
por élla misma, aunque su gran poder microbicida lo -  
realiza formando parte del sistema micloperoxidasa-pe-  
roxido de hidrogeno-cofactor.

Peroxido de hidrogeno.- Es producido duran-  
te la fagocitosis y es bactericida a concentraciones  
elevadas, en ausencia de micloperoxidasa.

Cofactor.- Es un haluro pudiendo ser funda-  
mentalmente el yoduro o el cloruro.

La micloperoxidasa reacciona con el peroxi-  
do de hidrogeno para formar un complejo sustrato enzi-  
matico con fuerte poder oxidante, es probable que el

cofactor sea convertido por este complejo en un agente antimicrobiano fuerte.

- a) El sistema micloperoxidasa-peroxido de hidrogeno--yoduro: es bactericida in vivo gracias al  $I^-$  activado, el papel de este sistema es limitado in vivo, debido a que la concentración de Yodo in vitro no se encuentra in vivo nada más que en el cuerpo tiroideo y las glandulas salivares.
- b) El sistema micloperoxidasa-peroxido de hidrogeno--cloruro: el cloruro representa el sustrato más importante del sistema micloperoxidasa-peroxido de hidrogeno-cofactor, puesto que las concentraciones de cloruro utilizadas in vitro son iguales a las obtenidas in vivo.

La micloperoxidasa-peroxido de hidrogeno en presencia de cloruro descarboxila y desamina los aminoacidos de la pared bacteriana con producción de cloramina inestable que va a dar lugar al aldehido correspondiente, que es bactericida.

- 2) Los productos inestables de la reducción del oxige

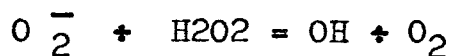
no por los polinucleares, tales como:

- el anion superoxido

- el oxigeno atomico

pueden contribuir a matar la bacteria.

3) La interacción: superoxido peroxido de hidrogeno - produce la formación de un potente agente oxidante -- bactericida: el radical hidroxilo.



B. MECANISMOS MICROBICIDAS OXIGENO-INDEPENDIENTES

Se han demostrado 4 agentes antimicrobiano oxigeno-independiente (condiciones anaerobia).

1) LA ACIDOSIS VACUOLAR FAGOCITICA.- La disminución - del PH en la vacuola fagocitica se produce por la acumulación de acido lactico secundario al aumento de la glicolisis que ocurre durante la ingestión, o bien -- por la producción de acido carbónico por la acción de la anhidrasa carbónica sobre el dióxido de carbono.



El descenso del PH tiene una acción bacteriostática, sobre la multiplicación de los germen y potencia otros sistemas bactericidas, tales como la micloperoxidasa y las proteínas cationicas.

2) LISOZIMA O MURAMIDASA.- La lisozima o muramidasa, descrita originariamente por Fleming (1922) y recientemente Blake (1977), le ha dedicado una importante revisión, es una proteína básica cationica, de relativo bajo peso molecular (aproximadamente 14.500), y que es bacteriolítica en virtud de su capacidad para hidrolizar los componentes de la pared celular. La pared de las células bacterianas consiste, en general, en cadenas de polisacaridos lineales que contienen unidades repetidas de N-acetilglucosamina y Acido N-acetilmurámico en unión Beta 1-4. La lisozima hidroliza los puentes glicosidicos entre el acido acetilmurámico y la acetilglucosamina. Los organismos bacterianos varían ampliamente en su susceptibilidad a la acción lítica de la lisozima, basado en las diferencias en la estructura de la pared celular.

La lisozima se encuentra en los granulos de

los leucocitos (Cohn e Hirsch, 1960), y es segregada a la vacuola fagocitica durante la fagocitosis.

Wardlaw (1962) señal6 como la lisozima tambien interviene junto a los anticuerpos y complemento en el proceso de lisis celular.

La lisozima se encuentra presente en el suero humano, en cantidades alrededor de 4 á 13 microgr/ml, la orina, saliva, lágrimas, secreciones vaginales, fluido seminal y leche.

3) LA LACTOFERRINA.- Localizada en las granulaciones secundarias, es una proteina fijadora del hierro, que puede inhibir el crecimiento normal de las bacterias por quedar el hierro necesario para su desarrollo.

Hirsch (1960), describi6 un agente microbicida llamado fagocitina en leucocitos de conejos, --- igualmente se ha aislado por extracci6n ácida prolongada, un agente antimicrobiano llamado leucina.

4) PROTEINAS CATIONICAS.- Localizadas en las granula-

ciones primarias, por su movilidad electroforéticas - han sido divididas en varias susfracciones. Se ha detectado que cada grupo tenía una actividad preferencial contra una clase de bacterias, que es atribuido a la composición en aminoácido de cada grupo.

Las proteínas cationicas se unirían a la pared bacteriana y producirían una alteración de la configuración estructural que tendría un efecto inhibitorio sobre la respiración de la bacteria.

Una vez que la bacteria es destruida, es digerida por la acción de los enzimas hidrolíticos contenidos en las granulaciones primarias (fosfatasa ácida, beta galactocidasa, alfa amilasa ... más de 18 conocidas).

Posteriormente el fagolisosoma que contiene cuerpos residuales, por un fenómeno extrínsecamente inverso al de la ingestión, se produce la expulsión hacia el exterior, por fusión del fagolisosoma a la membrana citoplasmática del fagocito. Este fenómeno -

se conoce con el nombre de EXOCITOSIS y no es una etapa obligatoria dentro de la fagocitosis.

La liberación al medio intersticial de ciertos enzimas, puede dar lugar a manifestaciones clínicas que reciben el nombre de ACONTECIMIENTOS POSTENDOCITICOS, así sabemos hoy, que la crisis inflamatoria articular aguda que observamos en la gota, no es más que la expresión clínica de la liberación de los enzimas lisosomiales por los leucocitos del líquido sinovial, que han fagocitado los cristales intracelulares de ácido úrico.

Estos fenómenos postendociticos juegan así mismo un papel importante en la patogenia de las lesiones de la poliartritis reumatoide, la glomerulonefritis crónica, vascularitis de las crioglobulinemias, periarteritis nudosa, purpura de Shonlein Henoch, y así como en los rechazos de injertos.

CAPITULO II

La Cirrosis Hepática es una enfermedad crónica y difusa del hígado que se caracteriza por la alteración de la arquitectura vascular hepática debida a la existencia de fibrosis y nódulos de regeneración.

El concepto de la enfermedad es histopatológico y viene definido por la existencia de necrosis celular, fibrosis y nódulos de regeneración.

Entre los numerosos factores etiológicos -- que favorecen el desarrollo de una cirrosis hepática, el alcohol ocupa un primer plano. El alcohol es un tóxico hepático directo y entre un 10% y un 20% de alcohólicos crónicos, tienen una cirrosis hepática. Se ha demostrado mediante biopsias hepáticas seriadas, que sucesivos brotes de Hepatitis Alcohólica Aguda pueden conducir a la aparición de la enfermedad. Se admite -

generalmente que para que el alcohol origine lesión hepática, es necesario ingerirlo en una cantidad superior a 80 gr. de etanol/día (el equivalente a 1 litro de vino de 10 grados) de manera continua y durante al menos 5 años.

La Cirrosis hepática es una enfermedad frecuente en nuestro país, con una progresión mantenida en el aumento de su frecuencia. En 1976, el 2'9% de la población hospitalaria española, lo era por cirrosis hepática. Según datos del Instituto Nacional de Estadística, la mortalidad por cirrosis en 1954 fue de 3.493, pasando a 5.812 en 1965. Según las estimaciones previstas, esta tasa de mortalidad tendrá una progresión mantenida y dentro de unos años, la cirrosis hepática será la tercera causa de mortalidad del país.

La Cirrosis hepática aumenta la susceptibilidad del huésped a padecer infecciones. Estas es uno de los factores comunes precipitantes del coma hepático en los pacientes cirróticos y es también, la causa inmediata de muerte de alrededor del 25% de pacientes con Cirrosis de Laennec, como señala Ratnoff y Patek (1942).

Rimola (1978) señala como los cirróticos, - no solo son más susceptibles a padecer infecciones, - sino que además una vez producidas éstas son más graves y de duración más prolongada que en los indivi--- duos sanos.

La incidencia real de infecciones no es --- bien conocida, ya que es posible que muchas de éstas sean asintomáticas o subclínicas, por lo que pasan -- inadvertidas. En un análisis retrospectivo sobre la - frecuencia de las infecciones en 190 cirróticos estu- diados por Rimola (1978), se demostró que la inciden- cia era muy elevada. El 48% de ellos, presentaban in- fecciones en algún momento de su estancia en el hospi- tal. Aproximadamente la mitad de estas infecciones, - fueron leves o moderadas, correspondiendo en su mayor parte a infecciones urinarias; la otra mitad, corres- pondió a infecciones graves, destacando una elevada - incidencia de sepsis. La mayoría de los germenés res--- ponsables de las infecciones de estos pacientes cirro- ticos, fueron enterobacterias Gramnegativas, entre -- las que debe señalarse por su frecuencia *Escherichia Coli*, *Proteus* y *Klebsiella*.



Ya Caroli y Patteborsè (1958) habían señalado que los pacientes con cirrosis de Laennec, tienen una susceptibilidad anormal a padecer infecciones por bacilos Gramnegativos. Los síndromes de peritonitis espontánea y septicemia por gramnegativos, están comúnmente asociados con esta enfermedad como señala Conn y Fessel (1971). En estos pacientes, son también anormalmente frecuentes las neumonías y las endocarditis bacterianas, como señala Yoshikawa y Schwabe (1968).

Esta alta incidencia para las infecciones, sugiere que los pacientes con cirrosis tienen anomalías en sus mecanismos de defensa contra las bacterias gramnegativas. Aunque la presencia de ascitis por ella misma, puede contribuir a la alta incidencia de peritonitis y bacteriemia, la también alta incidencia de infecciones en otras localizaciones, sugiere -- una anomalía más general en los mecanismos de defensa del organismo.

Las causas responsables del aumento de la incidencia y gravedad de las infecciones en estos pacientes es múltiple y su mecanismo de acción, no ha

sido aún completamente aclarado. Sabemos que estos pa  
cientes presentan alteraciones de la inmunidad humo--  
ral consistentes en una disminución del complemento -  
sérico total y sus fracciones como señala Rosen (1971),  
Potter, Trueman y Jones (1973).

Las inmunoglobulinas séricas aumentan debi-  
do a la presencia de antígenos de origen intestinal,  
que han escapado a la acción de las células de Kup---  
ffer, como señalaron Thompson, Carter, Stones, Geddes  
y Goodall (1973). En este sentido, Bjerneboe y Prytz  
(1975), señalan como una pequeña, pero continua absor-  
ción de microbios a la circulación general, provenien-  
tes del tracto intestinal es probablemente normal. --  
Una indicación de la presencia de estos microbios, --  
son los anticuerpos frente a Escherichia Coli, demos-  
trados en suero humano normal. Frente a las enterobac-  
terias, la defensa más importante es probablemente, -  
la fagocitosis, que es más importantes que la produc-  
ción de anticuerpos humorales, y esta fagocitosis, --  
tiene lugar preferentemente en las células de Kupffer.  
Si estas células son gravemente dañadas (por ejemplo,  
hepatitis vírica y alcohol), esto puede tener impor--

tantes consecuencias para la defensa contra los microbios absorbidos. Es posible que una de las consecuencias de este hecho, puede ser la inflamación del tejido hepático, la cual, si continua, puede abocar a la cirrosis.

## I. ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN LOS HEPATOPATIAS

El hígado es un órgano clave para eliminar antígenos extraños y nocivos, mediante la red reticuloendotelial: los macrófagos hepáticos o células de Kupffer. Los macrófagos de este sistema, ejercen funciones complejas e importantes en el conjunto de la respuesta inmune. Pueden secuestrar y degradar antígenos, transformándolos en no inmunogénicos, hacerlos operativos en la formación de anticuerpos, participar en las interacciones entre las células T y B ó bien actuar como células agresoras y ser activamente citotóxicas.

Las células encargadas de la reactividad inmunológica del hígado son: linfocitos B, los progenitores clonales de células plasmáticas que secretan inmunoglobulinas; y linfocitos T, que median la inmunidad celular, incluyendo la hipersensibilidad tardía.

Las células T, ayudan a regular la respuesta humoral inmunológica, actuando como potenciadores o inhibidores (células supresoras) de la transición de

las células B a células plasmáticas secretoras de inmunoglobulina. Las células potenciadoras y las supresoras o inhibidoras, parecen ser distintos subtipos de las células T, que pueden distinguirse por su antígeno superficial de membrana. La alteración de funcionamiento de las células T supresoras, pueden dar origen a una enfermedad autoinmunitaria.

La alteración de las subpoblaciones de linfocitos circulantes y tisulares, constituye un índice que nos revela la evolución de la lesión hepática. -- Los pacientes con enfermedades hepáticas activas, sufren disminución de las células formadoras de rosetas periféricas E, mientras que los linfocitos B, permanecen inalterados. La disminución de las células E, observadas en las hepatopatías, se atribuye a traslocación y secuestro de éstas, en el área esplacnica. La recuperación del padecimiento se acompaña de restitución de las cifras celulares periféricas. En la fase incipiente de la hepatitis alcoholica, a pesar de que ocurre una disminución de los linfocitos T periféri--cos, el número de linfocitos hepáticos permanece inalterado, ulteriormente, cuando desaparecen los infil--

trados de polimorfonucleares, la cantidad de linfocitos aumenta significativamente en el tejido hepático. En la hepatitis crónica activa, se observa una disminución de las células E y aumento de las células nulas, como señalan Chen, Kanagasundaram y Kakumu (1976).

### Antigenos Hepáticos

El hígado contiene antígenos específicos de órganos e inespecíficos de órganos que se han considerado en la patogenia de las hepatopatías y se han utilizado para su diagnóstico.

Autoantígenos en las Hepatopatías (tomado de Kanagasundaram y Leevy, 1979).

<u>Con Especificidad de Organó</u>	<u>Sin Especificidad de Organó</u>
Hialina Alcohólica (AHab) IA, IB, II, IIIA, IIIB	Mitocondrias
Antígeno "F"	Núcleo
Lipoproteína I	Microtubulos
Lipoproteína II	Membrana
	Microsoma

Un gran número de fenómenos inmunológicos, han sido descritos en pacientes con enfermedad hepática. Algunas asociaciones, tal como los anticuerpos antimitocondria en la Cirrosis Biliar Primaria y los -- factores antinucleares y títulos altos de anticuerpos antimúsculo liso en la forma lupoide de la hepatitis crónica activa, son específicas y reflejan una alteración del sistema inmune, en relación muy probablemente, con la patogenesis de estos procesos. En otro sentido, la hipergammaglobulinemia y la depresión de células inmunocompetentes, son comunes a muchas formas de hepatopatía crónica y probablemente resultan de la lesión hepática como señala Thomas (1977).

Triger, Alp y Wright (1972) y Bjorneboe, -- Prytz y Orskov (1972), describieron títulos aumentados de anticuerpos a las bacterias intestinales Gramnegativas, mientras investigaban la hipergammaglobuli--nemia de los pacientes con hepatopatía alcohólica y - hepatitis crónica activa. Sugerían estos autores, que los títulos aumentados podrían ser debido a un fallo del hígado cirrótico para secuestrar antigenos de origen intestinal.

El hígado puede recibir antígenos de origen intestinal bien directamente por vía de la circulación portal, o bien lo puede recibir de la circulación sistémica, por vía de la sangre arterial. En ambas circunstancias, en la cirrosis hepática, la capacidad fagocítica del hígado, está reducida y son captados cantidades incrementadas de antígeno por el bazo, como señalan Thomas, Singer, Folch, Tilney y Mac Swees (1976).

Cuando se inyectan antígenos en la circulación portal, directamente o en el sistema venoso, Thomas y col. (1976), encontraron una respuesta inmune mayor en la rata cirrótica que en las normales, aunque esta diferencia era estadísticamente significativa, solamente después de la segunda inmunización. Así la distribución alterada del antígeno entre el hígado y los lugares inmunológicamente competentes del organismo contribuye a la hiperglobulinemia de la rata cirrótica.

En el hombre, ¿se da una situación similar? La información que poseemos, deriva del estudio gram-



magráfico con coloides del hígado y bazo. En el sujeto normal, el radio-coloides es captado avidamente por los fagocitos mononucleares del hígado y solamente -- una pequeña cantidad es captada por otros órganos. No obstante, en pacientes con hepatopatías crónicas, la captación hepática está marcadamente reducida y la -- cantidad captada por el bazo y la médula ósea, está -- incrementada.

En los pacientes con hepatopatías crónicas, el estudio de las inmunoglobulinas, muestra en muchos casos un aumento muy importante de IgM, mientras que la IgG estaba solo ligeramente elevada. Este marcado incremento de IgM es, probablemente, un reflejo del -- hecho que muchos de los antígenos bacterianos gramnegativos son timo-independientes y estos antígenos provocan una respuesta IgM predominante, como señala Simjee, Hamilton-Miller, Thomas, Brumfitt y Sherlock --- (1975).

Desde un punto de vista clínico, las alteraciones de las inmunoglobulinas, están presentes en la Hepatitis Aguda, así como en las formas crónicas, en

la cirrosis y en las hepatopatias alcoholicas. Dos hechos fundamentales se han querido relacionar con las alteraciones de las inmunoglobulinas: el tipo de lesión histológica y la evolución de la enfermedad. --- Existe una indudable relación entre ciertas formas de lesión hepática y la elevación de algunas inmunoglobulinas: así en los periodos iniciales de la Hepatitis aguda, suele elevarse la IgM, fundamentalmente en las formas con Antigeno Australia negativo; en la cirrosis alcoholica, aumenta en mayor proporción la IgA -- (De Prado Isla y Artigas, 1973) y en la cirrosis biliar primera se evidencia generalmente una elevación de la IgM.

En algunos casos de hepatitis aguda que evolucionan hacia la cronicidad, disminuye el nivel de IgM y se produce un aumento progresivo de la IgG circulante (Wright, 1972). Torruelas, Guardia, Martínez-Vázquez, Bacardi, Tornos, Mari, Gallart y Martín ---- (1974) constatan, como la mayoría de los autores, una elevación de la IgG en las hepatitis crónicas.

El hallazgo de una Gammapatia monoclonal en

en curso evolutivo de una hepatitis crónica o una cirrosis, es una eventualidad rara, Slavin, Zlotnick, - Levit y Eliakim (1974).

De estos datos, se puede pensar que existe una alteración de la función reticuloendotelial en pacientes con enfermedad hepática. No obstante, la ad--ministración intravenosa del bacteriofago Ø X 174 dá lugar a una respuesta primaria reducida y una reduc--ción más marcada de la respuesta secundaria, como de--mostró Thomas en sus trabajos en 1977. Esto es verdad en la mayoría de los pacientes con hepatopatía alcoholica, cirrosis biliar primaria o hepatitis crónica activa. Esta observación está en contradicción con la - respuesta incrementada vista en el modelo animal. No obstante, la respuesta al Ø X 174 es timo-dependiente y por tanto, la respuesta disminuida en estos sujetos con cirrosis, puede resultar de una disminución de células T cooperadoras. El antígeno usado en el modelo animal, es timo-independiente y no puede por tanto --afectarse por cambios en la cooperación T celular.

Este fallo en la cooperación celular, puede

también dar lugar a un cambio en la producción relativa de anticuerpos IgM e IgG. En los sujetos normales, durante una respuesta secundaria, más del 90% de los anticuerpos son IgG, mientras que en pacientes con cirrosis biliar primaria, hepatitis crónica activa o cirrosis alcoholica, el porcentaje de anticuerpos IgM es mayor, como señalan Thomas, Holden, Verrier, Jones y Peacock en 1976. Esto es compatible con un defecto en la función T cooperadora, pero puede también resultar de la concentración incrementada de endotoxina, - lo que ocurre como resultado de una fagocitosis hepática defectuosa.

Estudiando las células inmunocompetentes en los pacientes con hepatopatía crónica, se puede demostrar una disminución de la función de las células T, la concentración de células T sanguíneas periférica - medidas por técnicas de rosetas, está disminuida en - muchos tipos de hepatopatías crónicas y hay un aumento de células nulas. Estudios utilizando el mitógeno fitohemaglutinina, demostraron que factores séricos, que inhiben la respuesta celular T, se encuentran en la hepatitis crónica activa, y hepatopatía alcoholica

inducida, como señalan MacSween, Galbraith, Thomas, -  
Watkinson y Sudlan (1973).

En la Hepatitis Alcohólica, en la que esta droga parece ser el único y evidente factor responsable de la enfermedad, se ha implicado recientemente, la existencia de factores inmunológicos. Así se ha -- descrito la infiltración predominante de células T en el hígado de pacientes con hepatitis alcohólica, sugiriendo la posibilidad de que linfocitos T, puedan jugar un papel citotóxico en la progresión de la hepatopatía alcohólica a la cirrosis, como sugiere Burbige, Tarder, Denton, Harkin, Luehrs y French (1976).

En estos pacientes, existe una reactividad inmunológica frente a una glicoproteína, la hialina - de Mallory, se han encontrado anticuerpos anti-hialina en el suero de estos enfermos. Complejos inmunes - formados por el antígeno hialina alcohólica y su anticuerpo se han implicado como responsables de la infiltración neutrofilica y de la necrosis de las células hepáticas en la hepatitis alcohólica, atribuyéndose - así mismo la nefropatía que presentan un cierto número

de pacientes cirróticos al depósito de tales complejos inmunes en el riñón (Callard, Feldman, Prandi, Belair, Mandet, Weiss, Druet, Benhamon y Bariety, 1975). En estos pacientes, se ha demostrado la existencia de un defecto celular de tipo T, presentando un 50% de los alcohólicos con hepatopatías, una respuesta deprimida al test cutáneo de hipersensibilidad retardada con dinitroclorobenceno, así como disminución de formación de rosetas T (Mutchnick y White, 1976).

En las Hepatitis virásicas, la respuesta inmunológica del organismo frente al virus, es responsable en gran medida de la lesión producida. La identificación del virus de la Hepatitis B y de sus sistemas antigénicos por Blumberg, Cerstlley, Hungerford, Condon y Sutnick (1967) ha permitido estudiar mejor los mecanismos inmunológicos que explican las diversas formas evolutivas tras el contacto con este agente. La respuesta de la inmunidad celular es fundamental para explicar la curación o la persistencia de las alteraciones inflamatorias. Si la respuesta de los linfocitos T y B es adecuada en el tiempo, contribuye a la curación. Si la respuesta es insuficiente -

se produciría un estado de portador sin lesión hepática sin que en esta circunstancia exista tampoco anticuerpos contra el Antígeno Australia. En las formas de evolución crónica se producirán anticuerpos en cantidad insuficiente para depurar el antígeno, pero suficiente para formar complejos antígeno-anticuerpo y los linfocitos T, mostrarían sensibilización frente al antígeno Australia y serían así responsables de la lesión inflamatoria producida en el parénquima hepático (Thomas, Hodgson, Jain, Potter y Sherlock, 1976).

Fernández-Nogués, Castells Rodellas y Verdiell (1972), observaron como en la cirrosis hepática se produce un descenso en el test de transformación linfoblástica, más acusado conforme la cirrosis se hallaba en fase de mayor descompensación.

Verdiell, Buendia, Castells Rodellas, Torres, Portris y Fernández-Nogués (1976), estudiaron la inhibición de la migración de macrofagos en los enfermos cirróticos. El factor de inhibición de la migración de los macrofagos, pertenece al grupo de las linfocinas, y es un factor labil y de naturaleza pro-

teica. Estos autores encontraron en los enfermos cirróticos, independientemente del tipo de cirrosis y de su grado de compensación o descompensación, valores del factor de inhibición de la migración de los macrofagos inferiores a los normales.

Otros factores están implicados también en el estado anergico de estos pacientes. Células supresoras, capaces de modular la actividad de células T efectoras, existe en el bazo y su actividad está incrementada por estimulación antigénica. La actividad de estas células está incrementada en la rata cirrótica como señalan Thomas y col. (1976).

En la cirrosis, la fagocitosis hepática reducida, puede provocar una estimulación antigénica incrementada al bazo y una respuesta inmune aumentada a los antígenos timo-independientes.

Estos cambios en la inmunidad humoral y celular resultan de la reducida función de la fagocitosis mononuclear del higado. Sherlock (1977), revisando las alteraciones inmunológicas en las enfermedades he



páticas, señalaba que la función de los macrófagos hepáticos era pobre en la cirrosis hepática. Aparte de haber encontrado títulos altos de hidrolasa en los monocitos sanguíneos, pocos datos sobre la función de los monocitos han sido publicadas hasta la fecha.

Hassner, Kleter, Jedvab, Aronson y Shibolet (1979), estudiaron la función de los monocitos en la cirrosis hepática, encontrando que los monocitos de estos pacientes tenían una capacidad fagocítica y bactericida defectuosa. Estos autores concluyen su trabajo afirmando que la función del sistema monocito-macrófago, está alterada en los pacientes con cirrosis hepática.

En las hepatopatías existen una serie de trastornos inmunológicos que aparecen de forma secundaria a la lesión del órgano y que carecen por tanto, de papel etiológico. Los más conocidos son:

- Deficit de la Quimiotaxis
- Depresión de la Inmunidad Celular
- Hipergammaglobulinemia

- Crioglobulinemia
- Hipocomplementemia
- Anticuerpos Anti-Tejido
  - . Antinucleares
  - . Antimitocondria
  - . Antimicrosoma hígado/riñón
  - . Anticanaliculo bilar
  - . Antimembrana basal glomerular
  - . AntiHialina Alcoholica
  - . AntiLipoproteinas I y II
- Anticuerpos antibacterias
- Anticuerpos antiVirus

Estos trastornos son dependientes del hecho de que el hígado sintetiza muchas proteínas séricas. Esto incluye algunas macroglobulinas con función inmnoreguladora y también la mayoría de los componentes del complemento. Las concentraciones séricas de algunas de las macroglobulinas han sido medidas en varios tipos de lesión hepática. La alfa-1-fetoproteína, está producida por células entodérmicas del hígado y -- tiene propiedades inmunoreguladoras. Se producen cambios en su concentración sérica en hepatopatías agu--da y crónicas, como señala Eletheriou, Heathcote, Tho--mas y Sherlock, (1977), y en esas circunstancias la pro

teína, puede alterar la reactividad inmune. La alfa-2-macroglobulina está también producida en el hígado y tiene propiedades inmunosupresoras.

En algunos grupos de enfermedades, puede haber un aumento del catabolismo del Complemento, pero la causa más frecuente de disminución de las concentraciones séricas de C3 en su síntesis disminuida, --presumiblemente como resultado de una reducción de la masa celular hepática. Es probable que la síntesis de otros componentes del complemento, que son normalmente producidos por el hígado, estén también reducidos.

Titulos bajos de C3 se han encontrado en cirrosis y en hepatitis fulminante, Petz (1971). En la Hepatitis Crónica Agresiva y Hepatitis Crónica Persistente se ha encontrado un ligero descenso de C3 por Grob, Jemelka y Muller (1971).

En un grupo de pacientes que presentaban Hepatitis vírica aguda con artralgiás, artritis o urticaria se encontró en la fase aguda de la enfermedad, valores bajos de C3 y C4 y actividad hemolítica total

del Complemento, según Alpert, Isselbacher y Schur, - (1971).

La determinación de los niveles séricos - del complemento total o de los diferentes componentes del complemento dá solo un aspecto estático de la posible alteración del sistema complemento.

La demostración de productos circulantes de activación de C3, puede ser realizada por inmuno-electroforesis o por métodos de electroforesis cruzada antígeno-anticuerpo. Teisberg y Gjone (1973), emplean - este método para estudiar desde un punto de vista dinámico, la alteración del sistema complemento en diferentes formas de enfermedades hepáticas. Los resultados se correlacionaron con los niveles séricos de C3 y C4.

El producto de conversión C3b fue encontrado en 4 de 12 pacientes con Hepatitis Crónica Activa y en 7 de 9 pacientes con cirrosis biliar primaria. C3b se encontró también en un paciente con la forma - especial de hepatitis aguda caracterizada por prodro-

mos artríticos y un alto título de antígeno hepático en suero en la fase aguda.

El grupo de pacientes con Hepatitis crónica activa tenía niveles séricos bajos de C3 y C4 independientemente de si un descenso de productos de C3 se daba o no. En la cirrosis biliar primaria, los niveles séricos de C3 y C4 encontrados, fueron normales generalmente.

Estos autores concluyen que en algunos pacientes con Hepatitis crónica activa y en la mayoría de los pacientes con cirrosis biliar primaria, la activación del complemento tiene lugar in vivo, posiblemente sobre complejos inmunes depositados en el hígado. Concluyen diciendo, que el nivel sérico de C3, no es un buen parametro de la actividad inmunológica en la enfermedad hepática.

Grandjean, Nydegger, Widmann, Lambert y Miescher (1979), estudiaron la activación del Complemento en diversas afecciones hepáticas, con el objeto de determinar si las alteraciones son debidas a un hi

percatabolismo y/o una alteración de la síntesis. La activación del complemento se estudió por la dosificación cuantitativa de C3d sérico. Un valor significativamente elevado de C3d, se observó en la hepatitis viral aguda, que se acompaña de un aumento de la síntesis de C3 y C4, y en la cirrosis post-hepatitis, se observa al contrario, una disminución de C3, C4 y CH50. Estos últimos resultados son compatibles con una activación del sistema complemento por su vía clásica.

En las afecciones de origen alcohólico (esteatosis, enfermedad alcohólica crónica, cirrosis), observaron valores normales o ligeramente elevados de C3d y una elevación de C3. Los datos observados en la hepatitis viral aguda, son compatibles bien con una activación por la vía clásica asociada a una síntesis compensadora, o bien con una activación por la vía alternativa. Los casos de cirrosis post-hepatitis, caracterizadas por un proceso inflamatorio activo sin descompensación mayor de la función hepática, presentan una disminución de C3 y C4 asociadas a signos de activación del complemento. Esto es compatible con --

una síntesis de C3 y C4 insuficiente para compensar - su consumo prolongado.

El tejido hepático puede, por otro lado, -- elaborar factores humorales que son susceptibles de - bloquear una u otra etapa de la reacción inmunitaria.

La Tabla nº 4, tomada de Herrerías y Pérez Cano (1979), ilustra las características y funciones de los factores inmunosupresores originados en el hígado.

TABLA Nº 4

Características y funciones de los factores inmunosupresores

---

<u>Naturaleza del factor</u>	<u>Propiedades inmunosupresoras</u>
Lipoproteína	No inmunogeno. No inactiva - antígenos de transplante esplenico.
Macroglicoproteína 2H globulina	Inhibición de la transformación blastica inducida por - fitohemaglutinina y de la <u>se</u> creción de anticuerpos "in - vivo".

Naturaleza del factor

Propiedades inmunosupresoras

AlfaGlobulina

Inhibición de respuesta inmune a hematíes de carnero. Inhibición de estimulación de linfocitos por antígenos o -mitógenos específicos.

BetaGlobulina

Inhibición de transformación blastica inducida por fitohemaglutinina y cultivo mixto de linfocitos.

Peptido de degradación del Fibrinogeno

Inhibe estimulación de linfocitos por fitohemaglutinina y la respuesta a hematíes de carnero.

Alfa-Fetoproteina

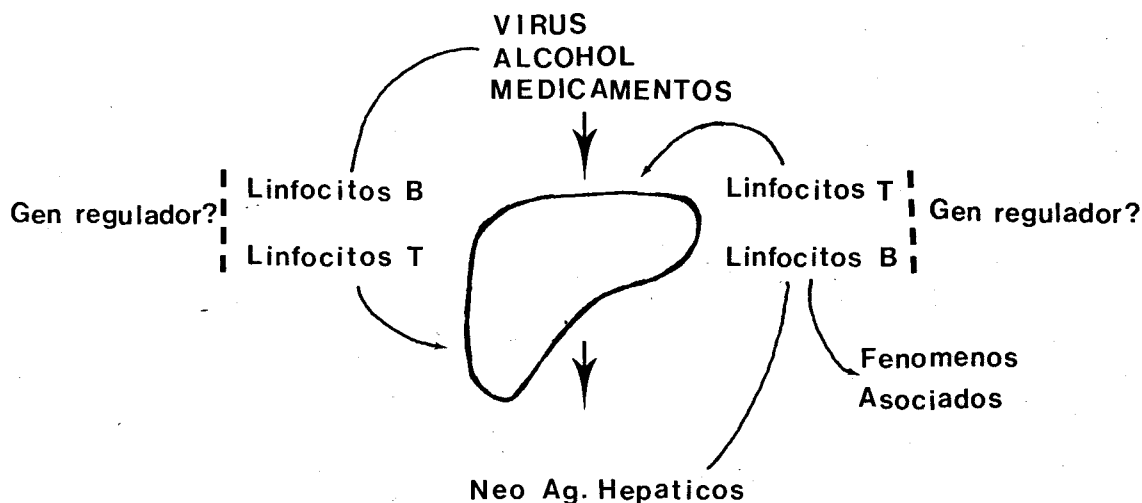
Inhibe respuesta primaria y secundaria en hematíes de --carnero. Inhibe reactividad de linfocitos.

Alfa-Macroglobulina

Inhibe transformación blastica, migración de leucocitos y formación de rosetas con --hematíes de carnero.



Figura nº 1, tomada de Guardia, Pedrera, Martínez-Vázquez, Bacardi y Tornos (1976).



Pls de Figura: En la mayoría de las ocasiones la lesión es iniciada por un agente exogeno que actúa bien sea directamente sobre el organo o a través de la respuesta inmunológica. Si la respuesta es inadecuada y/ o la virulencia de la agresión es intensa o persistente pueden liberarse del parenquima hepático antígenos constituidos en parte por material de la membrana celular, que al hacerse accesible al sistema inmunocompetente evoca respuestas inmunes humorales y celulares, que contribuirán a perpetuar la lesión. Al mismo tiempo se ponen en marcha las síntesis de anticuerpos inespecíficos y otros fenomenos responsables de manifestaciones clínicas asociadas.

## II. HEPATOPATIA Y SISTEMA FAGOCITICO

En 1972 DeMeo y Andersen estudiaron la función de los PMN en los pacientes cirróticos, encontrando que éstos PMN, tenían una quimiotaxis marcadamente afectada y que este defecto estaba asociado con la presencia en el suero de los cirróticos de un inhibidor del quimiotactismo y de un deficit del complemento.

En otras situaciones clínicas, se ha descrito también la existencia de inhibidores séricos del quimiotactismo como es el caso de los linfomas malignos (Ward y Berenberg, 1974), nefritis (Gewurz, Page, Pickering y Joad, 1967), infecciones recurrentes (Smith, Holler, Duprels, Goldman y Ford, 1972).

En 1973, Berenberg y Ward, también han descrito la presencia de inhibidores de la quimiotaxis en sueros humanos normales, en concentraciones muy bajas.

Van Epps, Strickland y Williams en 1975, es

tudiaron también la quimiotaxis en las hepatopatías al  
cohólicas. En el 50% de los pacientes estudiados por  
ellos, tenían en el suero una actividad inhibidora de  
la quimiotaxis. Esta actividad no pudo ponerse en rela  
ción con ningún dato aislado ni bioquímico ni histoló  
gico en los enfermos investigados. Los estudios seria  
dos practicados muestran que la actividad inhibitoria  
de la quimiotaxis, puede ser un fenómeno transitorio  
asociado a la hepatopatía alcohólica o a la aparición  
de una infección. Nueve de 15 enfermos, mostraron ---  
anergia para las pruebas cutáneas. Las concentracio---  
nes séricas de IgA e IgG eran significativamente supe  
riores en los enfermos con actividad inhibitoria de -  
la quimiotaxis, cuando se les comparó con los que no  
la tenían.

Los estudios de Van Epps y col. (1975), han  
revelado la presencia de inhibidores de la quimiota--  
xis en las fracciones 6,8 S y 10,7 S, separados cuan-  
do se fraccionó el suero de los enfermos con hepatopa  
tía alcohólica, mediante la ultracentrifugación en --  
gradiente de densidad de sucrosa. Las proporciones re  
lativas de estos inhibidores variaron entre los dis--

tintos enfermos, pero en la mayoría de los casos, la fracción predominante parecía ser la 6,8 S. La más pequeña de estas fracciones no se detectó en las muestras de suero precipitado con sulfato amónico al 50% y puede ser similar al factor inactivador de la quimiotaxis descrito por Berenberg y Ward en 1973.

Los inhibidores 6,8 S y 10,7 S eran los predominantes en la fracción precipitada por sulfato de amonio al 50% y previamente se había demostrado, que tenían una movilidad beta mediante la electroforesis zonal. Estos dos inhibidores parecen estar estrechamente asociados en la IgA.

Feliu y Hakin, 1979, estudiaron la función de los granulocitos en 20 pacientes con cirrosis hepática alcohólica y en 3 con Cirrosis criptogenéticas. Anomalías funcionales severas de los granulocitos se encontraron afectado al quimiotactismo y a otros estadios de la fagocitosis: ingestión bactericida, niveles de mieloperoxidasa, consumo de oxígeno, reducción de NBT, iodación. Muchas de las anomalías funcionales encontradas, fueron debidas a alteraciones séricas, -

aunque en ocasiones existe un defecto intrínseco de los neutrofilos.

Fernández-Huerta, Rodes y Rozman, 1978, estudiaron el quimiotactismo en un grupo de pacientes cirróticos, encontrando que estaba deprimido en todos los casos, independientemente de la etiología de la cirrosis, y del grado de descompensación. En tres de los pacientes por ellos estudiados, las experiencias realizadas sugirieron la existencia de inhibidores séricos de la quimiotaxis leucocitaria.

DeMeo y Andersen en el ya citado trabajo de 1972, encontraron que muchos de sus pacientes estudiados en varias ocasiones, presentaban cambios importantes en su respuesta quimiotáctica. Estos cambios tenían correlación con sus cambios clínicos, en general, cambios en los niveles de complemento se correlacionaban con cambios en el quimiotactismo.

Con el objeto de caracterizar el defecto observado en el quimiotactismo, estos autores estudiaron el quimiotactismo de donantes sanos con sueros de

sus pacientes cirróticos. El quimiotactismo permaneció marcadamente deprimido, pero si se estudiaban los leucocitos del paciente con suero normal, se encontraba una respuesta quimiotactica normal. Esto indica -- que los leucocitos de la mayoría de los cirróticos -- responden normalmente a los estímulos quimiotacticos producidos por suero normal activado.

Para investigar la posibilidad de que el defecto en el quimiotactismo fuera solamente debido a la hipocomplementemia, estos autores realizaron una serie de experimentos empleando suero normal de un conocido nivel de complemento, diluyéndolo y comparándolo con suero de pacientes de comparables concentraciones de Complemento en su capacidad de producir respuesta quimiotactica. Se vió que para concentraciones de complemento comparable, el suero control fue mucho más potente y efectivo generador de la respuesta quimiotactica. Aunque los niveles de complemento tienden a ser paralelos a la respuesta quimiotactica, la depleción del complemento solo no es una adecuada explicación para el defecto observado.

Andersen, 1975, comparó la respuesta quimiotactica de granulocitos normales a actividad quimio--tactica de suero normal y la respuesta de los granulocitos de 22 pacientes cirróticos a sus propios factores quimiotacticos séricos. La respuesta quimiotactica de los granulocitos de pacientes cirróticos al suero normal, fue en muchos casos enteramente normal. Se había demostrado que los componentes del complemento esta--ban deprimidos en muchos pacientes con cirrosis, especialmente C3, C4 y C3 proactivador e inicialmente se pensó que la pobre respuesta quimiotactica era debida a estas deficiencias.

No obstante, la adicción de suero normal a suero del paciente, no corregía el defecto. Un inhibidor sérico del quimiotactismo se demostró en muchos -pacientes con cirrosis de Laennec avanzada.

Maderazo, Ward y Quintiliani (1975), estu--dieron la inmunidad inespecífica en los pacientes cirróticos, encontrando también una regulación deficiente del quimiotactismo en estos pacientes. El defecto quimiotactico está asociado, según sus datos, no con

los leucocitos, sino con anomalías séricas de los cirróticos. Esta anomalía es atribuible a cifras elevadas del CFI en estos sueros, y estos autores encuentran cifras elevadas de CFI en el suero de todos los pacientes por ellos estudiados.

El suero normal contiene un inhibidor de la leukotaxis y un antagonista de este inhibidor. Hughes, Armendariz y Goldman (1974), estudiaron la actividad de este antagonista en pacientes cirróticos. Nueve de doce de sus enfermos estudiados, tenían una leukotaxis defectuosa que afectaba a la migración espontánea y al quimiotactismo. En varios trabajos, DeMeo y Andersen (1972), Maderazo y col. (1975), se demostró -- que la motilidad de los leucocitos PMN normales incubados con suero de cirróticos estaba deprimida. Por otro lado, la motilidad de los PMN de pacientes cirróticos incubado en suero normal fue normal. El inhibidor leucotactico del suero cirrótico, fue antagonizado por plasma normal, pero el plasma de cirróticos no era capaz de antagonizar el inhibidor. La transfusión de tres unidades de plasma fresco normal en un paciente hipoproteinemico con hepatitis crónica activa con



Antígeno Australia positivo, corrigió parcialmente el defecto del paciente en actividad antagonista en una semana. Este trabajo sugiere que una deficiencia de una antagonista a un inhibidor sérico de la leukotaxis, puede ser común en pacientes con cirrosis hepática. El valor de la terapia de reemplazamiento con plasma normal rico en antagonista, debe ser tenido en cuenta.

La significación biológica general de estos hallazgos debe ser vista en el contexto de las anomalías séricas de la inflamación en los pacientes cirróticos.

Simberkoff, Moldover y Weiss (1978), estudiaron la actividad bactericida y la opsonización de las ascitis de los cirróticos y del líquido peritoneal no ascítico con el objeto de estudiar la alta incidencia de infecciones por bacilos entericos Gramn negativos en el líquido ascítico de los pacientes cirróticos.

Conn y Fessel en 1971, habían ya señalado la alta susceptibilidad de los pacientes cirróticos -

a peritonitis espontáneas bacterianas, y la mayoría de estas infecciones, son causadas por germenes Gramn negativos aerobios pertenecientes a la familia de las - Enterobacterias.

El suero de los cirróticos estudiados, de--  
mostró una significativa reducción de la actividad --  
bactericida y de la opsonización contra uno de los organísmos testados, Serratia, Marcense. El líquido ascitico fue marcadamente deficiente en actividad bactericida y opsonización, cuando se comparó al suero cirrótico y al líquido peritoneal no ascitico. Las inmunoglobulinas y el complemento del líquido ascitico, -  
estaban reducidas.

El deficit comprobado en actividad bactericida y opsonización de las ascitis, puede ser un factor en la frecuencia de peritonitis espontánea por bacilos entéricos en los pacientes cirróticos, concluyen Simberkoff y col.(1978).

Fierer y Finley (1979) encontraron una actividad bactericida deficiente del suero contra Escheria

chia Coli en pacientes con cirrosis hepática. Algunos pacientes presentaban hipocomplementemia, pero esta anomalía no se correlacionaba con la presencia del defecto bactericida.

Muchos trabajos han estudiado la actividad funcional de los componentes conocidos del sistema bactericida sérico. La significación clínica de las determinaciones séricas de lisozima, han sido revisadas por Davis (1971), Zucker, Hanes, Vogler y Eanes (1970). Fierer y col. (1979), midieron la lisozima sérica en un grupo de pacientes cirróticos a los que ellos estudiaron la actividad bactericida del suero, contra *Escherichia Coli*, encontrando cifras normales o altas. Los valores normales para ellos, fueron de 6-12 U/ml, y los pacientes con Cirrosis Hepática, tenían unos valores que oscilaban entre 6 y 31 U/ml.

Se encuentra también en clínica humana, una actividad lisozima sérica aumentada en pacientes con tuberculosis (Perillie, Khan, Finch, 1973), sarcoidosis (Pascual, Gee, Finch, 1973), enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (Falchuk, Perrotto, Isselbacher, --

1975). Estos autores coinciden en señalar que las concentraciones séricas de lisozima, pueden reflejar el número o actividad de los fagocitos mononucleares, -- particularmente en procesos con base granulomatosa, -- como son la tuberculosis y sarcoidosis.

Territo, Davidson y Tanaka (1974), estudiaron el metabolismo oxidativo de la glucosa en los granulocitos de 15 pacientes con enfermedad hepática (10 cirrosis alcohólica y 5 con hepatitis infecciosa). El plasma de estos pacientes, aumentaba significativamente la actividad oxidativa de la glucosa de los granulocitos normales en reposo. Los granulocitos de los -- pacientes, en presencia de su plasma, también aumentaba la actividad metabólica de la glucosa en reposo, -- aunque no significativamente.

Los pacientes con enfermedad hepática, pa--recen tener en el plasma, un factor que origina aumento del metabolismo oxidativo de la glucosa en los granulocitos en reposo. Todos los pacientes tenían una -- concentración de bilirrubina de 10 mg/100 ml. Se in--vestigó el posible papel de la bilirrubina a altas --

concentraciones (25 mg/ 100 ml) y niveles bajos de proteínas, que causa una estimulación significativa de la actividad en reposo. No parece haber ninguna anomalía intrínseca del metabolismo de la oxidación de la glucosa de los granulocitos en enfermos hepáticos.

En pacientes con policitemia vera, infectados y recién nacidos, existe un aumento de la actividad oxidativa de la glucosa en los leucocitos en reposo. La significación de estos cambios en estos pacientes, no está aclarada, y en los pacientes con hepatopatía estudiados, por estos autores, resulta probablemente por la estimulación de un factor plasmático, que puede ser la bilirrubina.

DeMeo y col. (1972), estudiando la capacidad candidada en enfermos cirróticos, no encontraron diferencias entre los pacientes y el grupo con---trol.

La función de los monocitos en enfermos cirróticos, ha sido investigada por Hassner, Kletler, ---Jedvas, Aronson y Shibolet en 1974, observando que ---

los monocitos tienen menos capacidad de ingerir y de destruir *C. Albicans* que el grupo control. Estos hallazgos, indican que los monocitos de los pacientes con cirrosis hepática, tienen una alteración en la fagocitosis.

Magliulo y Benzi-Cipelli (1975), observaron una reducción de la respuesta quimiotáctica de leucocitos circulantes en Hepatitis B Antígeno Australia positiva. Los datos de estos autores, indican que los leucocitos de los pacientes en la fase aguda de la Hepatitis B, responden menos al estímulo quimiotáctico que los leucocitos normales.

La acción directa del virus sobre los leucocitos y la acción de los Complejos Inmunes sobre los mismos, son factores que no deben olvidarse para explicar esta disminución del quimiotactismo en la Hepatitis B.

Vierucci, De Martino, London y Blumberg (1977), estudiaron la función de los neutrofilos en niños portadores de Antígeno Australia. Los resulta-

dos por ellos obtenidos muestran que estos portadores de Antígeno Australia, tienen una función de los leucocitos PMN distinta de la observada en un grupo control, presentaba una actividad bactericida significativamente reducida y el test del NBT mostraba que había una proporción más alta de neutrofilos estimulados en los portadores crónicos de HbsAg que en los controles.

Por otro lado, en la Hepatitis Aguda, en contraste con la cirrosis, no se observan niveles elevados de CFI en el suero, Maderazo y col. (1975).

En la Tabla nº 5, se resumen los principales factores que en los pacientes con Hepatopatías, favorecen el desarrollo de infecciones.

TABLA Nº 5

Factores favorecedores de las Infecciones en las Hepatopatias

---

1. Alteraciones de la Flora Intestinal

- . Mayor porcentaje de germenés patógenos (Disbacteriosis).
- . Colonización bacteriana del intestino delgado.
- . Aumento de la entrada de germenés intestinales - al interior del organismo y sus endotoxinas.

2. Trastornos del Sistema Reticuloendotelial

- . Disminución de la capacidad fagocítica de las células de Kupffer.
- . Importante material antigénico escapa a la acción de las células de Kupffer, lo que provoca un aumento de la síntesis de anticuerpos.

3. Trastornos Leucocitarios

- . Disminución del Quimiotactismo por la presencia de inhibidores séricos.
- . Migración Espontánea disminuida.
- . Disminución de la actividad bactericida del suero
- . Disminución de la actividad bactericida del líquido Ascítico.
- . Iodación defectuosa
- . Reducción del NBT disminuida.

4. HipoComplementemia

5. Trastornos de la Inmunidad

- . Hipergammaglobulinemia



. Depresión Inmunidad celular:

- . Menor respuesta cutanea a varios antigenos
- . Disminución de Linfocitos T (formación de rosetaE).
- . Elevación de Células nulas.

Alcohol e Inmunidad no específica

El alcohol provoca importantes modificaciones metabólicas en el organismo, que son bien recogidas por Herrerias y Pérez Cano (1979), en la siguiente tabla:

TABLA Nº6

Efectos Metabólicos del Alcohol

1. Efectos sobre Hidratos de carbono

- a) ↓ Gluconeogenesis (Hipoglucemia)
- b) ↓ Oxidación de galactosa

2. Efectos sobre Lipidos

- a) ↑ Acidos grasos hepáticos
- b) ↓ Oxidación acidos grasos
- c) ↑ Alfa-Glicerofosfato
- d) ↑ Trigliceridos séricos (Hiperlipemia)

- e) ↑ Trigliceridos hepáticos (Esteatosis)
- f) ↑ Sintesis colesterol

### 3. Efectos sobre Proteina

- a) ↑ Sintesis lipoproteinas (Hiperlipemia)
- b) ↓ Absorción de aminoacidos
- c) ↓ Sintesis de albumina
- d) ↓ Sintesis de transferrina
- e) ↓ Sintesis de complemento

### 4. Otros Efectos

- a) ↑ Producción láctico
- b) ↑ Producción úrico
- c) ↓ Eliminación úrico
- d) ↓ Ciclo de Krebs
- e) ↑ Consumo de O<sub>2</sub>
- f) ↑ Cuerpos cetonicos
- g) ↑ Fragilidad membrana hematies (hemolisis)
- h) ↑ Catecolaminas
- i) ↓ Sensibilidad receptores beta-adrenergicos
- j) ↑ Catabolismo tetosterona (feminización)

Junto a estas acciones metabólicas, el alcohol actúa modificando la función de los leucocitos.

Los alcoholicos crónicos tienen una incre--mentada susceptibilidad a enfermedades infecciosas, -especialmente neumonas, como señalan Chomet, y Gach, ... (1967).

No obstante, la propensión de los alcohólicos para desarrollar infecciones, no ha sido explicada satisfactoriamente.

Pickrell, 1938, señaló que la intoxicación aguda con etanol, inhibe el movimiento de los granulocitos hacia las áreas de infección experimental en -- animales.

Brayton, Stokes, Schwart y Houvia (1970), -- demostraron que la intoxicación aguda inhibe la movilización granulocítica local, utilizando la técnica -- de Rebeck de ventana en la piel.

Sin embargo, estudiando el quimiotactismo -- con técnicas in vitro, los resultados han sido contra -- ditorios.

Phelps y Stanislaw (1969), usando la cámara de Boyden, encontraron una movilidad de los leucocitos PMN disminuida a una dosis de alcohol de 0,4 g/l.

Crowley y Abramson (1971) estudiaron la in-

fluencia del alcohol sobre los leucocitos, empleando una cámara de Boyden modificada, y encontraron una respuesta quimiotáctica disminuida con 8-16 gr/l y sugieren que este defecto, era debido a una alteración en la formación del factor quimiotáctico y no a una influencia directa sobre los leucocitos.

Spagnuolo y MacGregor (1975), usando una técnica de Boyden modificada, no pudieron demostrar ninguna influencia de alcohol en concentraciones por debajo de 8 gr/l, sobre el quimiotactismo de los PMN.

Hallengren, y Forsgren, 1978, investigan la acción del alcohol in vitro sobre la adherencia leucocitaria, quimiotactismo y capacidad bactericida.

In vitro, los resultados sobre el quimiotactismo son contradictorios. Según la dosis de alcohol, así varía el quimiotactismo. A dosis bajas, estos autores encuentran incluso un aumento del quimiotactismo de dudosa significación.

Con una dosis de 6,4 gr/l de alcohol, no -- hay inhibición del quimiotactismo, pero con una de 64 gr/l el quimiotactismo está completamente inhibido.

El efecto del alcohol sobre la fagocitosis, no ha sido investigado exhaustivamente. A altas con-- centraciones de alcohol, la fagocitosis está disminui da y está abolida a dosis de alcohol que no pueden -- ser obtenidas clínicamente.

Desde un punto de vista clínico es evidente que el alcohol per se, no tiene una influencia signi-- ficativa sobre el quimiotactismo, adherencia, fagoci-- tosis y capacidad bactericida. Una observación de --- gran interés no señalada anteriormente, es el incre-- mento de estas funciones con dosis bajas o moderadas de alcohol.

Este estudio no excluye la posibilidad que varios problemas asociados con el alcoholismo crónico, como malnutrición, y cirrosis hepática, pueden influir la función de la respuesta inflamatoria.

Gluckman y MacGregor (1978), estudiaron los efectos sobre la respuesta inflamatoria de la intoxicación alcohólica aguda y más específicamente sus --- efectos sobre la movilización de los granulocitos, en contrando que la intoxicación alcohólica, tiene pro--- fundos efectos sobre la movilización de los granulocitos, con una significativa inhibición de la movilizacion de granulocitotos al lugar de la inflamación, -- que es el resultado de una depresión de la adherencia granulocitica. La intoxicación tambien causa un des-- plazamiento de los granulocitos desde la porción marginal a la central de la circulación. Los movimientos de las células desde la médula hacia la circulación, no parece afectarse por el etanól.

MacGregor, Spagnuolo y Lentnek (1974) estudian el efecto del etanól, prednisona y aspirina, sobre la adherencia granulocitica, empleando para ello, una técnica simple, usando una columna de fibra de nylón. Encuentran una inhibición significativa de la adherencia con estas tres substancias, y afirmando así que el efecto anti-inflamatorio de los salicilatos, - prednisona y etanól, puede ser secundario a su inhibio

ción de la adherencia granulocítica.

Atkinson, Sullivan, Kelly y Parker (1977), estudian el posible rol del AMP cíclico en el efecto anti-inflamatorio del etanol. Encuentran que el etanol produce un incremento significativo en la concentración de AMP cíclico de leucocitos humanos. El mecanismo de la acumulación alcohol-inducida de AMPc es probablemente secundaria a perturbación de la membrana y secundaria activación de la adenilciclasa. En general, la importancia de la inhibición de la respuesta inflamatoria estaba correlacionada con la capacidad del alcohol de elevar las concentraciones de AMPc.

### III. INHIBIDORES DEL QUIMIOTACTISMO EN PATOLOGIA

En un cierto número de enfermedades en las que existe un aumento de la incidencia de infecciones bacterianas, se ha descrito una quimiotaxis leucocitaria anormal.

Los trastornos del quimiotactismo, pueden producirse por defectos humorales, por alteración intrínseca de los polinucleares (defectos celulares) o por alteración de los inhibidores o inactivadores del quimiotactismo.

A. Los defectos humorales, pueden ser:

- a) Primarios o congénitos: Los déficit de uno de los seis primeros componentes del complemento, no son excepcionales. Sin embargo, es excepcional que un déficit congénito del complemento sea responsable de infecciones graves, y solo se conocen dos tipos de déficit en la literatura. El primero ha sido estudiado por Alper, Abramson y Johnston (1970), en un déficit de C3. El segundo caso ha sido descrito



por Miller y Nilsson (1970) en un deficit funcional de C5.

- b) Deficit humorales secundarios: por disminuci3n de la cifra de complemento o de algunos de sus componentes en el curso de Lupus Eritematoso Diseminado (Clark, Kimball y Decker, 1974), artritis reumatoide (Mowat, y Braum, 1971) y en neonatos (Miller, 1971).

B) Los defectos celulares, pueden ser:

- a) Primarios: entre los que destacan el sindrome de los leucocitos perezosos (Miller, Oski y Harris, 1971), deficit de actina (Boxer, Hedley-Whyte y Stossel, 1974), sindrome de Chediak-Higashi (Clark y Kimbal, 1971).
- b) Secundarios: en el curso de diabetes mellitus (Mowat y Baum, 1971), uremicos (Clark, Harmoy, Fard y Kimball, 1972), Talasemia mayor (Khan, Lee, Wolff, Chang, Khan y Evans, 1977), enfermos atopicos (Furukawa y Altman, 1978)

C) Inactivadores o inhibidores del quimio--  
tactismo: Se ha descrito en una serie de enfermeda--  
des, una disminución del quimiotactismo producida por  
la presencia en el suero de niveles elevados de inac-  
tivadores de los factores quimiotacticos o por la -  
existencia de inhibidores.

a) Enfermedad de Hodgkin

La capacidad defectuosa de pacientes con en  
fermedad de Hodgkin para movilizar células inflamato-  
rias, es bien conocida. Young, Corder y Haynes (1972)  
demostraron una hipersensibilidad retardada defectuosa  
frente a una variedad de antígenos conocidos. Median-  
te la ventana cutánea de Rebeck se ha descrito un fra-  
caso en la movilización de las células inflamatorias,  
tanto en los polinucleares como en los monocitos. Se  
han observado test negativos al D.N.C.B. El hallazgo  
de que los pacientes con enfermedad de Hodgkin, tie--  
nen alterado el test de transformación linfoblástica,  
puede ser asociado con el fracaso de estas células de  
producir linfocinas, dando como resultado la ausencia  
de los necesarios mediadores inflamatorios para la --

reacción de hipersensibilidad retardada (Hersh y Oppenheim, 1965).

La última expresión de la hipersensibilidad retardada es una reacción inflamatoria caracterizada por el acumulo de células mononucleares. Ha sido descrito por Ward y Berenberg (1974) un defecto en la regulación de los mediadores leucotacticos en la enfermedad de Hodgkin que es debido a la presencia en el suero de niveles elevados de un inactivador del factor quimiotactico (C.F.I.). El C.F.I. está presente en bajas concentraciones en el suero normal e inactiva irreversiblemente los factores quimiotacticos (Berenberg y Ward, 1973). Puede pensarse que en base a este defecto, estos pacientes pueden tener una inadecuada respuesta inflamatoria.

b) Sarcoidosis

Un defecto relativo de la inmunidad celular es característico de la sarcoidosis. Esto se avala por un número creciente de trabajos sobre la incidencia de infección fungal, nocardial, micobacterial y -

viral en pacientes con sarcoidosis, como señalan Sula vik y Quintiliani (1974) y Modi y Valaitis (1974). Un número importante de pacientes con sarcoidosis demuestran una reducida reactividad a los test cutáneos a varios antígenos proteicos y no proteicos, como señala Citrom (1957).

Trabajos recientes, como el de Van Epps, -- Palmer, Williams (1974), han demostrado la asociación entre defectos de la leucotaxis y alteraciones de la reactividad de los test cutaneos. Esto sugiere la importancia de una función leucotactica intacta en la respuesta terminal de la hipersensibilidad retardada.

Maderazo, Ward, Woronick, Kubi y Degrall -- (1976), estudian la función leocotactica en pacientes con sarcoidosis. Describen la presencia de un defecto quimiotactico en estos pacientes. Los datos encontrados, indican que este defecto es debido a elevados niveles de CFI en el suero de estos enfermos, más que a una anormalidad intrínseca de las células o a niveles anormales del recientemente descrito por Maderazo, -- Ward, Woyonick (1975) inhibidor celular directo de la

magnitud observada previamente en el suero de pacientes con enfermedad de Hodgkin y cirrosis hepática. Esta evidente diferencia del grado de anormalidades del CFI, es congruente con las diferencias observadas en la severidad de las expresiones clínicas de su deficiente defensa e inmunidad celular.

Los cambios del CFI observados en este trabajo no se pueden correlacionar con la actividad clínica de la enfermedad, la anormalidad pulmonar en la radiografía de Torax, o la presencia o ausencia de terapia esteroidea. Practicamente, todos los pacientes estudiados fueron anormales.

La significación biológica de los datos del referido estudio son congruentes con la anormalidad observada previamente de la inmunidad en la sarcoidosis.

c) Lupus Eritematoso Diseminado

La infección es una causa mayor de mortalidad y morbilidad entre los pacientes con LED como han

señalado Staples, Gerding, Decker y Gordon (1974). -- Aunque el tratamiento con corticoides es un factor importante, hay evidencia de que la enfermedad per se se asocia con anomalías de las defensas del huésped contra la infección. La mayoría de las infecciones que ocurren en pacientes con LED son causadas por bacterias piógenas. Se ha estudiado detenidamente el sistema complemento y la función de los PMN periféricos.

Los PMN son esenciales para una normal defensa del huésped a través de su capacidad para reconocer, ingerir y matar a los micro-organismos invasores, como señala Stossel (1975). Esto requiere una serie de pasos: el primero de los cuales es la migración directa (quimiotaxis) de las células hacia los agentes patógenos. Tal migración directa de los PMN es medida por componentes del sistema complemento, que son generados después de la activación de la vía clásica o alternativa.

Anomalías de la quimiotaxis de los PMN han sido ya señalados en algunos pacientes con LED. Por ejemplo, PMN de un pequeño número de pacientes sin --

tratamiento, se ha visto que emigran anormalmente hacia estímulos quimiotácticos estándar, como señala -- Landry (1977).

Pérez, Lipton y Goldstein (1978), estudiando el quimiotactismo de los PMN en pacientes con LED, han encontrado un inhibidor de la actividad quimiotáctica derivada de C5, que no había sido previamente -- descrita. La presencia de este inhibidor de la actividad quimiotáctica derivada de C5 en pacientes con LED puede contribuir, en parte, a la anormal respuesta -- del huésped y a la aumentada susceptibilidad a la infección debida a microorganismos piógenos.

Pérez, Androm y Goldstein (1979), han encontrado cifras subnormales de actividad quimiotáctica -- en suero tratado con zymosan en 13 de 28 pacientes con LED. Esta disminución del quimiotactismo está producida por la presencia de un inhibidor específico de la actividad quimiotáctica generada por C5, que es termostable, en 11 pacientes, el suero de los otros dos pacientes, contenía niveles elevados de actividad CFI termolabil, no específico.

Este inhibidor no actúa sobre la célula, si no que actúa sobre el factor quimiotactico C5, de forma reversible e interfiere su actividad quimiotactica. Se ha aislado este inhibidor y se ha encontrado que es una proteina altamente cationica con un peso molecular de 69.000 determinado en el electroforesis de gel poliacrilico. Su identidad precisa es aún desconocida.

d) Artritis Reumatoide

La infección es una causa frecuente de muerte en pacientes con A.R. Las razones de esta incidencia incrementada a padecer infecciones no están claras.

En los últimos años, se ha mostrado gran interés en la posibilidad que ciertos microorganismos puedan jugar un papel en la etiología de la A.R. y que la continua presencia de estos organismos en las articulaciones puede explicar algunos de los cambios inmunológicos asociados con la enfermedad, como señala -- Hill (1968).



Mowat y Baum (1971) estudiaron el quimiotac-  
tismo de los PMN en un grupo de pacientes afecto de -  
A.R., utilizando para ello un método simplificado de  
estudio de la quimiotaxis, descrito por Baum, Mowat y  
Kirk en 1971. Encuentran una significativa disminu-  
ción del índice quimiotactico en el grupo de pacien-  
tes de A.R. comparado al grupo control.

No existe correlación con la edad, sexo, ac-  
tividad de la enfermedad, drogas usadas en el trata-  
miento, título de latex y nivel de inmunoglobulinas.

La incubación de células normales con suero  
de artritis reumatoide, altera el quimiotactismo de -  
éstas. Esto sugiere que la fagocitosis de los Comple-  
jos inmunes in vivo es un posible mecanismo, por el -  
cual la quimiotaxis de los PMN de los pacientes con -  
A.R. está alterada.

La alteración de la quimiotaxis, puede ex-  
plicar la incidencia aumentada a las infecciones bac-  
terianas de estos pacientes.

e) Glomerulonefritis

El papel de los leucocitos polimorfonucleares y del sistema complemento en la glomerulonefritis inducida inmunologicamente, ha sido sugerido por los modelos experimentales. El complemento tiene actividad quimiotáctica. Se cree que la unión del complemento o complejos inmunes en la membrana basal glomerular, produce factores con actividad quimiotáctica, -- que atraen a los polinucleares. Tales leucocitos, mediante la secreción de productos lisosomiales, por el fenómeno de la exocitosis, pueden lesionar la membrana basal del glomerulo.

Norman y Miller (1973) demuestran una actividad quimiotáctica aumentada en el suero de algunos pacientes con glomerulonefritis. Gewurz y col. (1967) describieron la presencia de un inhibidor sérico del quimiotactismo, inhibidor que es termolabil y altera la respuesta de los polinucleares normales. La diferencia con el trabajo de Norman y col. (1973), pueden explicarse porque la generación de actividad quimiotáctica es realizada después de calentar el suero y por

tanto, destruir el inhibidor.

f) Infecciones

Repine, Clawson, Rasp, Sarosi y Hoidal ----  
(1978) estudiaron el quimiotactismo en pacientes con  
Blastomycosis no tratados, demostrando que existía --  
una disminución de la misma, producida por un inhibi-  
dor sérico, que es termoestable y que actúa directa--  
mente inhibiendo la motilidad celular.

Maderazo, Ward, Woronick y Quintiliani (1977)  
han detectado niveles aumentados de CDI en el suero -  
de dos pacientes, uno con infecciones intercurrentes  
mucocutáneas por herpes simples y otra con meningitis  
por listeria monocitogena.

Ward y Schlegel (1969) describen en un niño  
de 4 años con infecciones cutaneas y respiratorias de  
repetición por germen Gramnegativos, un defecto in-  
trinseco en la fagocitosis y en la muerte de las bac-  
terias, y una leocotaxis disminuida debido a un inhibi  
dor sérico de la migración celular.

Smith y col. (1972), describieron un niño - de 7 años de edad, con infecciones recurrentes, inmunidad celular y endocitosis normales, pero con una migración al azar y quimiotactismo defectuosa que se relacionó con un inhibidor sérico de la motilidad celular.

Soriano, South y Goldman (1973) describen - un inhibidor sérico de la leucotaxis en un niño varón con infecciones estafilocócicas graves recidivantes, una infección vírica citomegálica diseminada y reac--ciones autoinmune, estando respetadas todas las eta--pas de la fagocitosis, exceptuando la migración al --azar y el quimiotactismo.

Davis, Grady, Shapira y Pachman (1977) estudiaron un niño con infecciones piógenas recurrentes, concentraciones elevadas de IgA en suero y ausencia - de actividad quimiotáctica en los polinucleares. El - defecto quimiotáctico fue caracterizado como un inhi--bidor humoral presente en el suero y en el plasma, --que actuaría inhibiendo la motilidad de los leucocitos. del paciente y de los testigos. Estudios inmunoquimi-

cos revelan que ese inhibidor es una crioglobulina --  
compuesta por un complejo IgM-IgA.

g) Estados de Anergia

Van Epps y col. (1974), han demostrado la --  
existencia de inhibidores de la quimiotaxis en el sue--  
ro de personas gravemente enfermas, con una gran va--  
riedad de procesos sistemicos, como embolismo pulmo--  
nar, septicemia, peritonitis y neumonia bacteriana --  
grave. En estos estudios , la presencia de actividad  
inhibitoria de la quimiotaxis, se asocia con un esta--  
do relativo de anergia para las pruebas cutáneas.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

#### A. SUJETOS ESTUDIADOS

Hemos estudiado un grupo de 31 enfermos ---  
afectos de Hepatopatía Crónica, pertenecientes al Servi  
cio de Medicina Interna del HUS (Prof. Romero Velas-  
co).

Todos ellos, reunían criterios clínicos, --  
biológicos y/o histopatológicos característicos de Hep  
atopatía Crónica, y se dividieron según el diagnóstico  
anatomoclínico en los siguientes subgrupos:

- Cirrosis Hepática Alcohólica: 23
- Cirrosis Hepática Criptogenética: 5
- Hepatitis Aguda: 3

Para aceptar el epigrafe de alcohólico, se ha exigido la toma continua de alcohol durante un periodo no inferior a 5 años, de una cantidad equivalente a 80 gr/etanól-día, si bien la mayoría de ellos, ingerían cantidades que oscilaban muy por encima de los 150 gr/día. La cantidad de alcohol o etanól se calculó según la conocida fórmula:

$$\text{Cantidad de Alcohol} = \frac{\text{Concentración} \times \text{Cantidad} \times 0,8}{100}$$

lo que a efectos prácticos, supone que un litro de vino de 10º contiene 80 gr. de etanól.

Todos estos enfermos fueron sometidos a un estudio protocolizado común, y que consta de:

- . Datos sobre la ingestión de alcohol.
- . Antecedentes, inmediatos o no, de procesos infecciosos.
- . Toma de medicamentos.
- . Estudio biológico:
  - . Hemograma Completo, Velocidad de Sedimentación.
  - . Estudio de Coagulación: T. de Protrombina, T. de Tromboplastina y Plaquetas.



- . Perfil Bioquímico (SMAC-20)
- . Proteinograma
- . Dosificación de IgA, IgM e IgG
- . C3 y C4
- . Amonemia
- . Alfa-1-Antitripsina
- . Antígeno Australia
- . Alfa-feto Proteína
- . Test Cutáneos: Tuberculina, Candidina, Va  
ridasa
- . Gammagrafía Hepática.
- . Biopsia Hepática.

Todos estos pacientes, fueron estudiados -- desde el punto de vista de Inmunidad no Específica, - de acuerdo a la metodología que se describe en el --- apartado siguiente.

Junto a este grupo de pacientes, se estudió un grupo Control de 32 sujetos sanos, sin antecedentes de procesos infecciosos, en edades comprendidas en tre 20 y 40 años y que eran estudiantes de Medicina y personal de este Hospital.

GRUPO DE PACIENTES ESTUDIADOS

<u>Iniciales</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Alcohol</u>	<u>Diagnostico</u>
G.A.S. (1)	63	H	no	C.H.C.
J.R.J. (2)	36	V	si	C.H.A.
J.R.Q. (3)	51	V	si	C.H.A.
F.M.A. (4)	38	V	si	H.A.
A.M.M. (5)	65	V	si	C.H.A.
A.L.I. (6)	55	V	si	C.H.A.
M.B.C. (7)	79	V	si	C.H.A.
J.M.T. (8)	45	V	si	C.H.A.
F.S.A. (9)	30	V	si	C.H.A.
C.S.M. (10)	53	H	no	C.H.C.
J.T.B. (11)	59	V	si	C.H.A.
M.B.C. (12)	70	V	si	C.H.A.
E.C.V. (13)	38	V	si	C.H.A.
J.T.D. (14)	58	V	si	C.H.A.
C.H.M. (15)	63	H	no	C.H.C.
D.C.N. (16)	47	V	si	C.H.A.
M.R.J. (17)	62	V	si	C.H.A.
J.V.C. (18)	46	V	si	C.H.A.
J.J.B. (19)	55	V	si	C.H.A.
A.O.H. (20)	65	H	no	C.H.C.
F.L.M. (21)	47	H	si	C.H.A.
J.M.S. (22)	66	H	si	C.H.A.
F.C.M. (23)	74	V	no	C.H.C.
J.M.R. (24)	15	V	no	H.A.
M.E.R. (25)	45	V	si	C.H.A.
J.S.L. (26)	37	V	si	C.H.A.

<u>Iniciales</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Alcohol</u>	<u>Diagnostico</u>
R.T.R. (27)	45	H	no	H.A.
E.V.M. (28)	54	V	si	C.H.A.
E.V.G. (29)	58	V	si	C.H.A.
R.M.T. (30)	60	V	si	C.H.A.
A.J.J. (31)	49	V	si	C.H.A.

**TABLA Nº 7:** Representación de algunos datos biológicos de interés, encontrados en nuestros pacientes.

Paciente	Albumina (gr%)	IgA (mg%)	Alfa-1-At (mg %)	Bil. (mg%)
1	2.3	375	350	2.7
2	2.3	750	550	0.9
3	2.5	425	570	1.2
4	2.5	275	850	10
5	2.6	580	560	1.50
6	2.8	320	620	4.3
7	2.4	1.176	920	1
8	2.9	768	490	2
9	2.9	384	580	0.15
10	2.7	680	350	2.5
11	2.6	640	320	1.50
12	3	965	450	3
13	2.1	768	570	15
14	1.8	640	680	2.5
15	2.2	778	450	6.6
16	2	1.080	350	3.4
17	2.6	750	700	1.2
18	1	1.300	375	5.4
19	2.5	580	275	8
20	4	965	520	0.7
21	3	946	410	0.8
22	2.6	334	350	0.7
23	3.3	182	320	1
24	3.2	126	350	0.2

Paciente	Albumina (gr %)	IgA (mg%)	Alfa-1-At (mg %)	Bil. (mg%)
25	2.8	388	420	0.8
26	2.6	580	690	3.6
27	2.8	340	320	16
28	2.9	1.710	690	0.3
29	2.1	936	410	3.5
30	2.9	284	490	14.5
31	3.1	784	590	
Valores Normales	3.5	90-450	200-400	0-1

**TABLA Nº 8:** Representación de algunos datos biológicos de interés, encontrados en nuestros pacientes.

Pacientes	C3 (mg %)	C4 (mg%)	Amoniemia (mg %)	T.Protromb. %
1	100	18	170	100
2	80	15	150	100
3	85	19	200	90
4	98	23	175	100
5	84	18	200	100
6	83	17	215	100
7	84	18	70	45
8	95	17	75	90
9	112	26	-	80
10	62	10	-	90
11	60	12	-	80
12	80	14	-	
13	60	10	220	33
14	42	14	260	13
15	40	15	-	44
16	98	12	215	66
17	184	12	75	
18	84	30	150	90
19	101	13	131	65
20	170	6		90
21	60	17	91	90
22	90	22	82	100
23	184	35	215	110

Pacientes	C3 (mg %)	C4 (mg%)	Amoniemia (mg %)	T.Protromb. %
24	194	35		110
25	138	27	169	110
26	104	14	177	90
27	164	31		100
28	184	35	157	110
29	82	13	128	50
30	268	57	144	100
31	105	29	157	
Valores Normales	80-140	20-50	70-170	100

El conjunto de nuestros pacientes estudiados presentaban en el momento del estudio, un brote de descompensación de su hepatopatía.

El 51,6% de estos pacientes, presentaban hiperbilirrubinemia (con cifras que oscilan entre 2 y 16 mg %), con un valor medio de 3.83 mg %  $\pm$  4.42. La hipoalbuminemia es un rasgo común en la mayoría de estos pacientes, con un valor medio de 2.59 gr %  $\pm$  0.36. Valores muy elevados de IgA se encontraron en los casos n<sup>os</sup> 7, 12, 16, 18, 20, 28 y 29; con una media de 671.25 mg %  $\pm$  350, cifra por encima de los valores normales.

La media de la Alfa-1-Antitripsina es de 495.80 mg %  $\pm$  163.02, encontrándose cifras francamente elevadas en los casos n<sup>os</sup> 4, 7, 17, 26, 28. No se encontró ningún caso de deficit total o parcial de alfa-1-Antitripsina.

Sólo el 17,3% de nuestros casos estudiados presentaban cifras bajas de C<sub>3</sub>, estando el valor medio dentro de la normalidad: 108.87 mg %  $\pm$  51.48. Por



el contrario, 69.5% de los casos, presentaban cifras bajas de C4, con un valor medio en los límites inferiores de la normalidad:  $20.45 \text{ mg \% } \pm 10.35$ .

La Amoniemia se encontró solo discretamente elevada en el 30.4% de los casos, con un valor medio dentro de la normalidad:  $157.65 \text{ mg \% } \pm 51.99$ .

En los casos nºs 12 y 13, se encontró una Alfa-Feto Proteina positiva, tratándose en el caso nº 13 de una Hepatoma injertado sobre una Cirrosis.

En Antigeno Australia fue negativo en todos los casos, salvo en los casos nºs 4, 23 y 27 y que corresponden a tres Hepatitis Agudas. En el caso nº 20, se detectaron en varias ocasiones niveles elevados de Complejos Inmunes Circulantes.

El Líquido Ascítico se estudió citológica y bacteriológicamente en 5 pacientes, no mostrando en ninguno de los casos signos de infección.

En el momento de realizar el estudio, ningún

paciente había ingerido alcohol recientemente, y ningu  
no tomaba corticoides ni otros anti-inflamatorios.

## B. MÉTODOS

### I. MIGRACION ESPONTANEA

La migración espontánea estudia la propiedad de moverse al azar los leucocitos PMN, sin la atracción de una sustancia química.

#### a) Método

La técnica que nosotros hemos empleado es derivada de la descrita por Ketchel y Favour (1955), con algunas modificaciones.

#### Material

- sangre venosa: 4 ml, más 20 microlitros de heparina calcica.
- Tubos microhematocritos (Clay Adams 75 mmx1, 10mm) no heparinizados.

#### Realización práctica

En un tubo de plástico conteniendo 20 micro

litros de heparina calcica, se deposita 4 ml de sangre venosa. Con esta sangre, se llenan hasta las 3/4 partes 10 tubos de microhematocrito no heparinizados y se obtura una extremidad de éstos con un poco de mastic (plastilina).

Estos tubos se colocan en una centrifuga (M.S.E.) á 4.000 revoluciones por minuto durante 4 minutos.

Una vez acabada la centrifugación, se colocan los tubos verticalmente en una placa de vidrio y se mantienen así con un trozo de material adhesivo. Luego se coloca la placa de vidrio verticalmente sobre un soporte en una estufa a 37°C durante 4 horas.

La lectura se realiza fijando una placa de vidrio en la platina de un microscopio colocado de tal manera, que la platina esté en posición vertical.

Gracias a un tornillo micrometrico se puede medir la distancia recorrida por los leucocitos PMN desde la mitad de la capa de globulos blancos, hasta-

la zona de las últimas células agrupadas, que constituyen el frente de migración. El resultado se expresa en milímetros (mm). (Foto nº 1).

## II. INDICE FAGOCITARIO

La capacidad de endocitosis de los granulocitos puede estudiarse comodamente mediante el estudio del índice Fagocitario.

### a) Método

Hemos utilizado la técnica propuesta por Brandt (1967).

### Material

- sangre venosa heparinizada en una jeringa de plástico: 8 ml de sangre más 0,2 ml de heparina a 10000/ml.
- sangre venosa con anticoagulante para la numeración.
- extensiones de sangre para establecer la fórmula leucocitaria.
- levadura en solución de CLNa al 0,9 % a la concen--

tracción de 4.000/mm<sup>3</sup>.

- E.D.T.A. á 0,9 en suero fisiológico y
- plasmagel.

### Realización práctica

Se ponen 8 ml de sangre heparinizada más 2 ml de plasmagel en una jeringa de plástico. A continuación se hace sedimentar en posición vertical durante 30 minutos en una estufa a 37°C.

Se recoge la totalidad del sobrenadante y se ajusta el número de polinucleares a 5.000/mm<sup>3</sup>.

Luego en un tubo de hemolisis de plástico, se colocan 0,4 ml de plasma más 0,4 ml de levadura. Se cierra el tubo, se agita lentamente y se coloca en la estufa verticalmente durante 30 minutos a 37°C.

Se añade 0,1 ml de EDTA á 0,9 % en suero fisiológico. Se agita con cuidado para prevenir la adherencia de células sobre la pared y evitar su retracción.

Después se centrifuga a 800 vueltas por minuto durante 5 minutos. Se elimina el sobrenadante, no dejando más que unas gotas para permitir la puesta en suspensión del sedimento celular.

Se hacen dos buenas extensiones de esta suspensión celular y se tiñe con May Grunwal Giemsa.

El Índice fagocitario se establece sobre -- 100 PMN, se calcula el número de ellos que han fagocitado respectivamente 0 levadura, 1 levadura, 2 levaduras, ..... 7 ó más levaduras. De esta manera se puede calcular la cantidad de levaduras fagocitadas por 100 PMN. Este resultado dividido por 100 traduce el Índice Fagocitario. (Foto nº 2).

### III. TEST CUALITATIVO DE REDUCCION DEL N.B.T.

El nitroazul de tetrazolio (NBT) es un colorante amarillo que durante la ingestión por fagocitos normales se reduce en el fagosoma, mitocondrias y --- otras estructuras citoplasmáticas a formazan (precipitado azul oscuro), en relación con el metabolismo de

H202. El test es basa, por tanto, en un estudio citoquímico, en microscopia óptica, de las células que presentan un precipitado azul de formazan.

a) Método

Nosotros hemos utilizado el método de Park, Fikrig y Smithwick (1968).

Material

- sangre venosa heparinizada extraída en un tubo de vidrio siliconado: 2 ml de sangre más 0,2 ml de heparina (á 10.000).
- sangre venosa con anticoagulante, para numeración.
- extensiones de sangre para recuento leucocitario.
- reactivos: solución de NBT á 0,1 % en suero fisiológico, tampón de Krabs-Ringer (pH = 7,40) May-Grunwald Giemsa.

Realización práctica

En las dos horas que siguen a la extracción



de sangre, colocar en un tubo de vidrio siliconado:

- 0,50 ml de tampon filtrado inmediatamente antes con un filtro miliporo de 0,22 micras.
- 0,50 ml de NBT filtrado inmediatamente antes con -- filtro miliporo de 0,22 micras.
- 1 ml de sangre

Se agita lentamente. Se incuba 20 minutos - á 37°C. Se hacen dos extensiones de buena calidad, se seca inmediatamente con la ayuda de un ventilador.

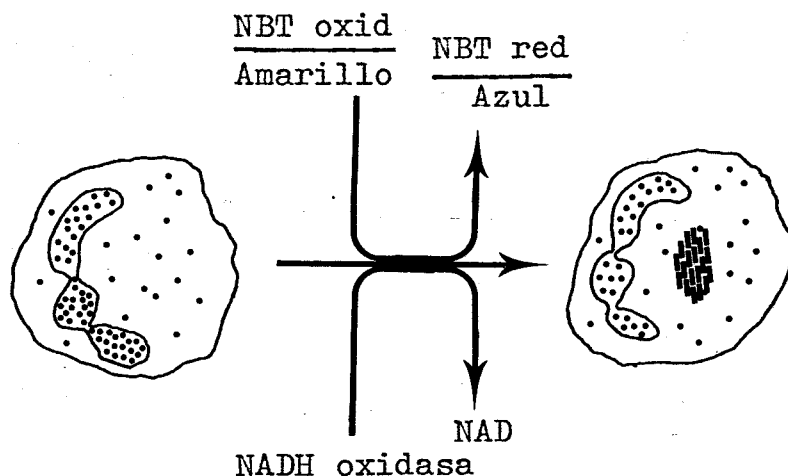


Figura nº 2: El nitroazul de tetrazolio (NBT) durante la ingestión por fagocitos normales se reduce en el fagosoma y mitocondrias a formazan (precipitado azul oscuro) en relación con el metabolismo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sirve de test para valorar la integridad de este metabolismo.



FOTO N° 1

Visión Microscopica de la Migración Espontánea

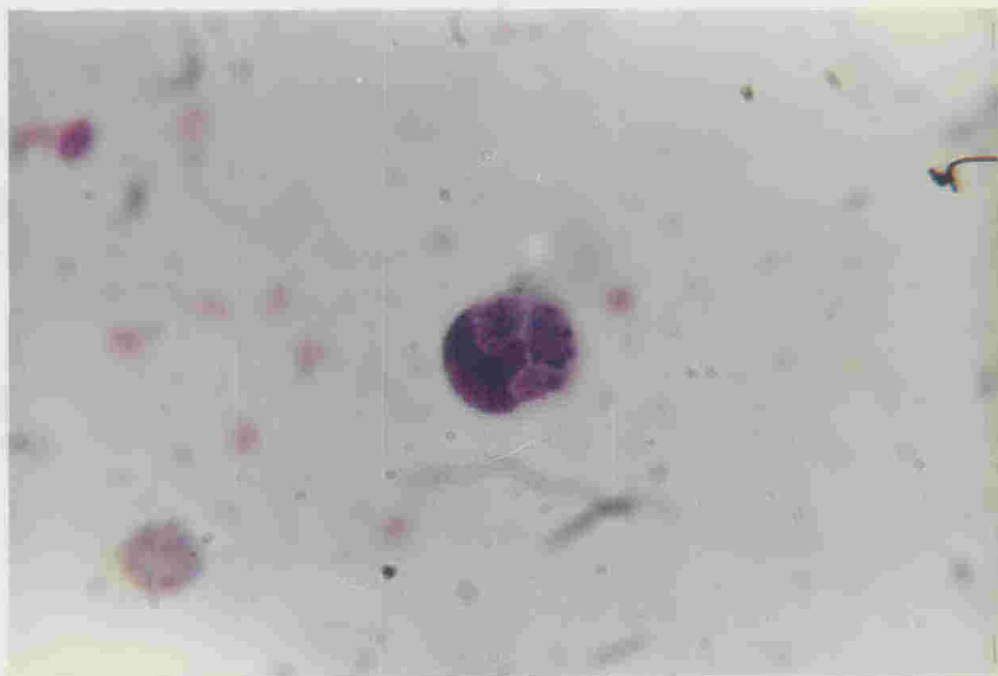


FOTO N° 2

Visión Microscopica del Indice Fagocitario

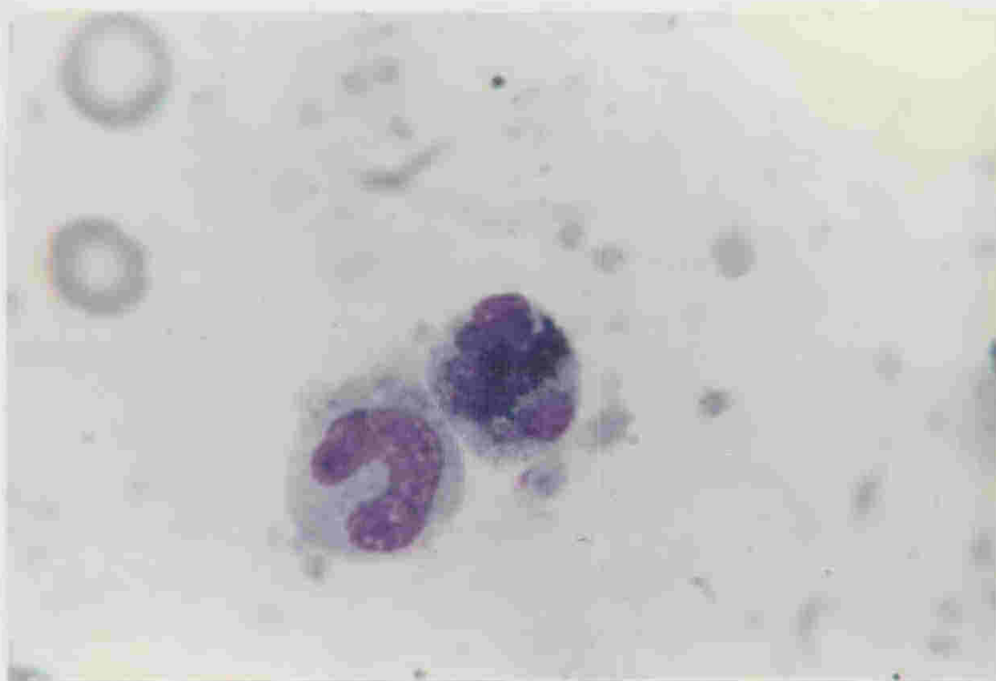


FOTO Nº 3

Visión Microscopica del Test de Reducción del  
N.B.T.

Luego se tiñe con rojo nuclear: 10 minutos en May Grunwald, se seca, se lava con agua corriente, se coloca 20 minutos en la solución de Giemsa y se seca a continuación.

Se cuentan al microscopio 100 PMN y se expresa en porcentaje el número de PMN que han reducido el N.B.T. (con precipitado azul de formazan). (Foto nº 3).

#### IV. QUIMIOTACTISMO

Para el estudio de la migración direccional y activa de los leucocitos, hemos empleado la técnica de Boyden (1962), esta técnica suministra datos cuantitativos de orden absoluto y ha permitido estudiar de manera sencilla y con resultados exactos y reproducibles algunos de los mecanismos que gobiernan la respuesta quimiotáctica y los efectos que producen sobre ésta, varias situaciones fisiológicas, patológicas e inducidas por farmacos.

Resumiendo, el método de Boyden y las técnicas que se derivan de éste, Cutler (1974), Cream ---

(1979), emplean pequeñas cámaras o celdillas especiales que están formadas por dos compartimientos superpuestos, separados entre sí por una membrana (filtro) que tiene microporos de varios diámetros. (Foto nº 4) Los leucocitos que entran en el compartimiento superior, se ven obligados a emigrar a través de la membrana de microporos, debido a los estímulos que reciben de las sustancias quimiotácticas que están contenidas en el compartimiento inferior. El diámetro de los poros de la membrana es suficientemente pequeño para que las células no caigan a través de ellos, pero al mismo tiempo, es tal que permite el paso del cuerpo celular, gracias a que éste se alarga aún hasta volverse filiforme y gracias a los movimientos amiboideos de penetración que hace en los estrechos intersticios que forma la trama de la membrana.

Después de que se introduce la suspensión leucocitaria en el compartimiento superior y la mezcla quimiotáctica en el compartimiento inferior, los leucocitos penetran profundamente en la membrana milipore, y se deja pasar un tiempo suficiente, llegan hasta la superficie inferior del filtro.



FOTO N° 4

Vista en conjunto de los elementos que  
constituyen una cámara quimiotáctica.

Las sustancias quimiotacticas utilizadas, - son de dos tipos: (1) las citotoxinas, mediadores directos del quimiotactismo, entre las que se encuentran las caseinas y los filtrados de cultivos bacterianos, y (2) los citotoxinogenos, desprovistos de acción directa sobre las células y que producirían en el suero o en el plasma la formación de citotoxinas, probablemente por activación del complemento. Entre estas segundas, se encuentran los complejos antígenos-anti---cuerpos, las endotoxinas bacterianas, y los agregados de gammaglobulina.

Diversos autores comprobaron que con el empleo de un sólo filtro, un número variable de leucocititos lo atravesaban y se desprendían de él, yendo a situarse en el compartimiento inferior con lo cual, no eran válidos para la lectura. Para obviar este inconveniente, Keller, Borel, Wilkinson, Hess y Cottier -- (1972) proponen el empleo de dos filtros, siendo el -segundo filtro de poros muy pequeños que impiden la -penetración de los leucocitos, que quedan así depositados en su cara superior, donde se puede realizar la -lectura.



Una amplia reseña crítica de los distintos procedimientos que se usan para medir la migración de las células a través de las membranas de microporos, se debe a Wilkinson (1974). Resumiendo, apenas haya transcurrido un cierto tiempo prefijado, se fija la membrana, se colorea y con un procedimiento especial, se hace que se vuelva transparente para facilitar la observación microscópica de las células que contiene.

Un método consiste en adoptar el criterio de contar en cada campo microscópico el número de células que llegan hasta la cara inferior de la membrana, en un tiempo prefijado o también las que alcanzan un plano horizontal determinado en el interior del filtro. Este plano se hace coincidir, a voluntad del observador, con uno de los infinitos planos focales que se determinan con movimientos adecuados del tornillo micrométrico, a una distancia fija de la cara superior de la membrana. Hay otro procedimiento, desarrollado por Zigmond e Hirsch (1973) que no tiene en cuenta el número de células que llegan hasta un cierto plano focal, sino que consiste en medir la distancia que recorren los leucocitos en el interior del --

filtro en un tiempo dado, es decir, se determina con el auxilio del tornillo micrométrico, la distancia -- en micrones que hay entre el plano focal de partida y aquél en el cual se encuentra la punta más avanzada - del frente de migración, proceder que también utilizan Farhoudi, Harvey y Soothill (1978).

#### Realización práctica

Se extraen 10 cc. de sangre con una jeringa de plástico que contenga 10 U i/cc de Heparina (0,02 ml de Heparina al 5% por cc. de sangre extraída).

Se hace la Fórmula Leucocitaria para conocer el número de leucocitos PMN de que se dispone.

Mezclar la sangre con Dextrano: 7 cc. de -- sangre y 3 cc. de Dextrano. Se deja sedimentar en una estufa a 37°C: 15 minutos con una inclinación de 45° y 30 minutos en posición vertical. Se retira a continuación, el sobrenadante y se centrifuga 10 minutos - a 800 r.p.m.

Si quedasen hematies en el sedimento, se ha

rá un choque hipotonico con Cloruro de Amonio, centri-  
fugando de nuevo y retirando el sobrenadante.

Resuspender a continuación el sedimento en  
una cantidad conocida de Hanks (pH = 7,3), y verifi--  
car la viabilidad.

Dependiendo del % de PMN en el hemograma y  
su viabilidad, los resuspenderemos en una solución --  
de Hanks hasta obtener una concentración de 2.000 cel/  
/mm<sup>3</sup>.

#### Factor Quimiotactico

Zimosan: Disolver 1 mg de Zimosan en lcc de  
Hanks. De esta mezcla se toman 0,9 ml añadiéndole ---  
0,1 de pool de suero o plasma fresco. Agitar e incu--  
bar en estufa durante 30 minutos.

#### Cámara de Boyden

Situar los dos filtros Millipore previamen-  
te mojados en Hanks entre los dos anillos. Cerrarlos  
con parafina.

Llenar la cámara inferior con la substancia quimiotactica mediante una jeringa (Foto nº 5) sin -- que se abombe la pared ni entren burbujas de aire. Ce rrar el orificio con parafina.

Llenar el compartimiento superior con la so lución de polinucleares y poner en cámara húmeda e in- cubar en la estufa a 37°C durante 3 horas (Foto nº6).

#### Tinción de los Filtros

Transcurridas las tres horas se pasa a la - tinción de los filtros que se realiza con los pasos - siguientes:

1. Lavar los filtros con Hanks
2. Sumergir 5 minutos en Metanol
3. Lavar con agua destilada
4. Sumergir 3 minutos en Hematoxilina
5. Lavar con agua destilada
6. Sumergir 1 minuto en una solución formada por:
  - Etanól al 95% (99 partes)
  - ClH puro (1 parte)

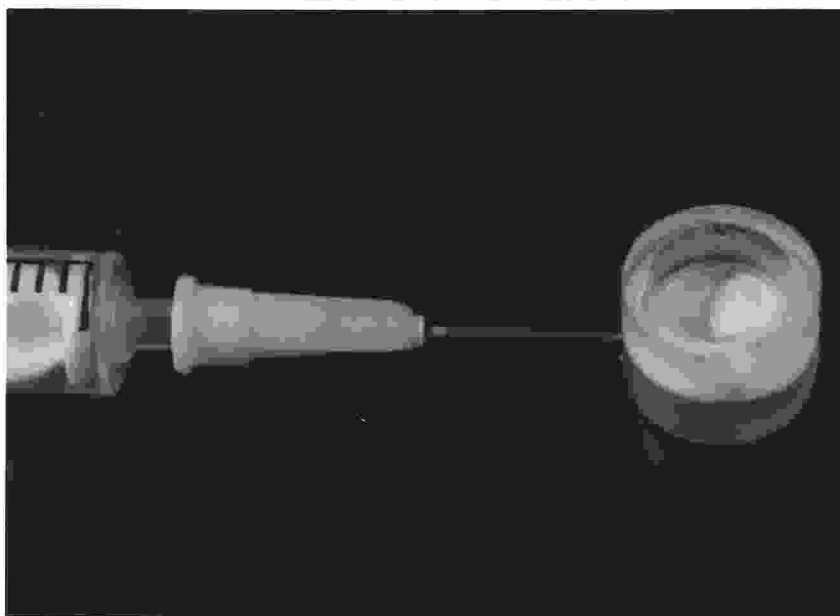


FOTO N° 5

Introducción de la mezcla quimiotáctica  
en el compartimiento inferior de la Cá-  
mara de Boyden.

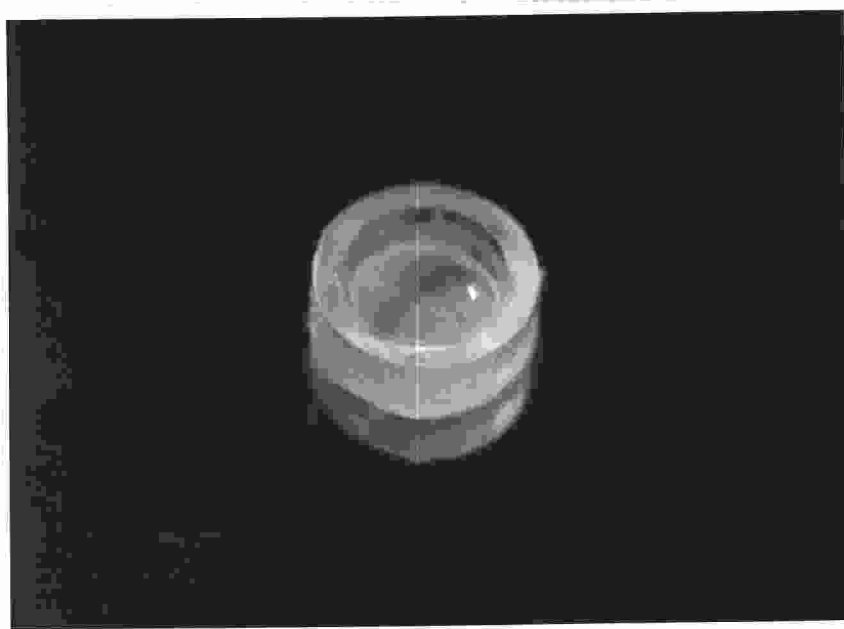


FOTO N° 6

Cámara quimiotáctica armada y soldada

7. Lavar con agua destilada
8. Sumergir dos minutos en:
  - Agua destilada 1.000 cc.
  - $\text{CO}_3\text{HNa}$  2 mg
  - $\text{SO}_4\text{Mg}$  20 mg
9. Lavar con agua destilada
10. Sumergir durante dos minutos en etanol al 70%
11. Sumergir durante dos minutos en etanol al 95%
12. Sumergir durante tres minutos en etanol puro
13. Sumergir durante dos minutos en etanol puro
14. Clarificar con Xilol

Situar el filtro, una vez clarificado, entre porta y cubre y proceder a la lectura de los leucocitos PMN, calculando con la ayuda de un sistema micrométrico la distancia recorrida por los PMN. (Fotos nos 7 y 8).

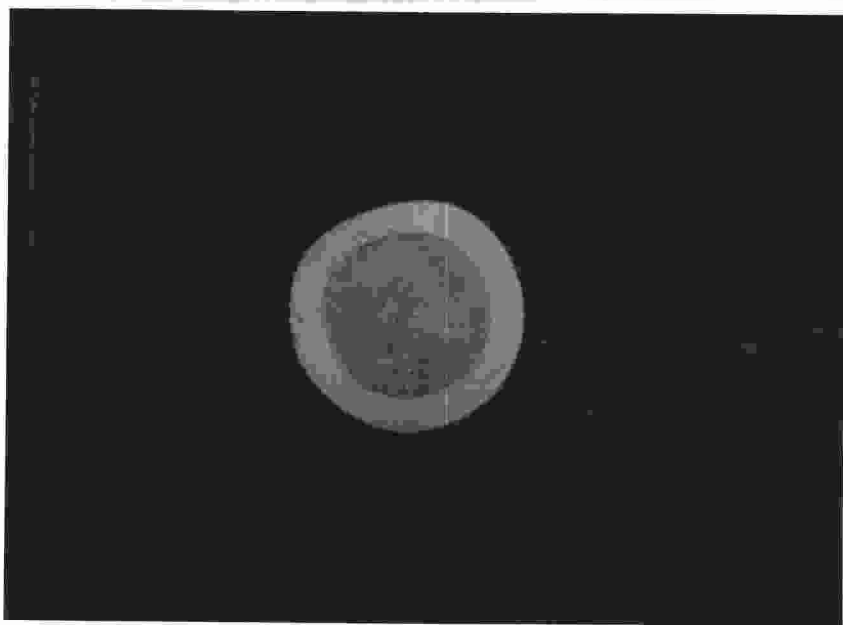


FOTO N° 7

Filtro de pequeños poros listo ya  
para la observación microscópica.



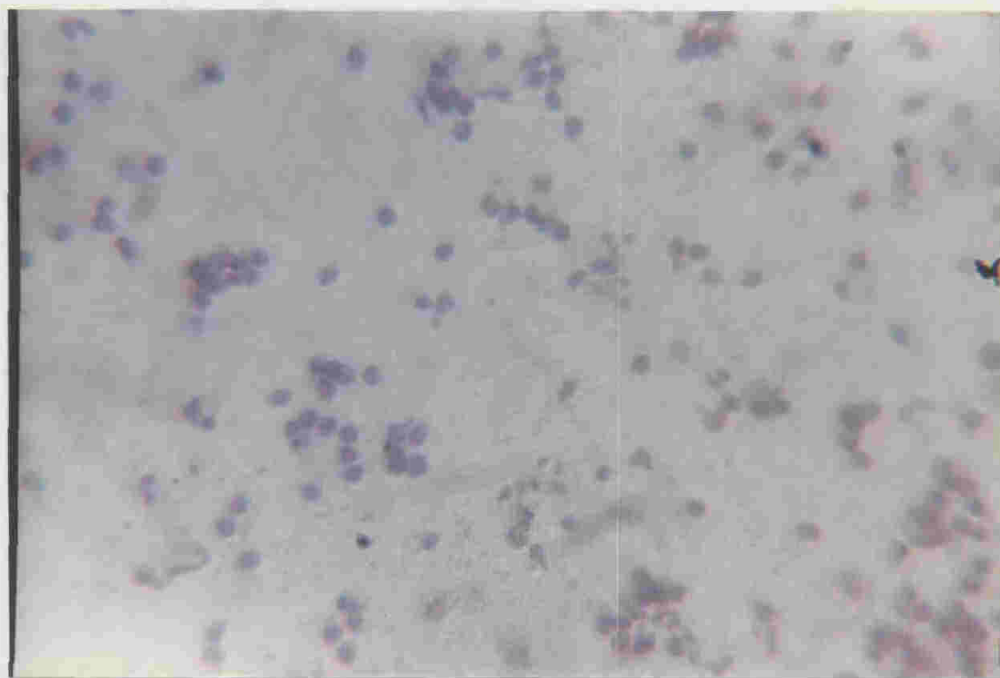


FOTO Nº 8

Visión microscópica con un objetivo x 40 del filtro miliporo, donde se observan - los leucocitos PMN que han emigrado a tra ves del filtro atraídos por la sustancia quimiotáctica.

<p>TABLA Nº 9: Se resumen los datos fundamentales de la técnica que nosotros hemos empleado, utilizando la metodología de Boyden.</p>	
<p>1. Cámara o celdilla de quimiotaxis en plástico con dos compartimientos.</p>	<p>Volna Ltd. Chicago, Illinois</p>
<p>2. Filtro (esteres mixtos de celulosa) diámetro de los poros: 3 micras y 0,22 micras.</p>	<p>Millipore Iberica, S.A. Madrid</p>
<p>3. Solución de Hanks</p>	<p>Flow Laboratories Gran Bretaña</p>
<p>4. Agente Quimiotactico</p> <p>5. Preparaciones de Leucocitos Humanos</p>	<p>Zimosan más suero fresco Dextrano Cloruro de amonio</p>
<p>6. pH de la suspensión de leucocitos</p>	<p>7,3</p>
<p>7. Duración de la incubación a 37°C</p>	<p>3 horas</p>
<p>8. Después de la incubación, el filtro es:</p>	<p>a) fijado en etanol al 95% b) coloreado con hematoxilina.</p>
<p>9. Estimación cuantitativa de la Quimiotaxis (con microscopio de luz Nikon)</p>	<p>Método de numeración: localización de la punta más avanzada del frente de desplazamiento.</p>

## V. LISOZIMA

Para la determinación cuantitativa de Lisozima en suero, hemos empleado un método de Inmuno Difusión Radial.

La determinación cuantitativa de la Lisozi-  
ma se realiza sobre agar y en placa de difusión, a la  
que se incorpora el *Micrococcus lysodeikticus*, según  
el método descrito por Osserman y Lawlor (1966). Se -  
fundamenta éste, en la relación existente entre las -  
concentraciones de Lisozima y los diámetros de los ani  
llos o zonas de transparencia provocadas en el agar -  
al lisarse las bacterias (*Micrococcus lysodeikticus*)  
suspendidas en él.

La concentración de Lisozima se determina --  
por la relación entre el logaritmo de la concentra---  
ción y el diámetro del halo (anillo de transparencia).  
Estos resultados, presentan una relación lineal al --  
ser transportados sobre papel gráfico semilogarítmico.

### Principio del Procedimiento

Las moléculas de  $L_1$ sozima se sitúan en el interior de los pocillos del gel, que contienen en suspensión células del *Micrococcus lysodeikticus*, originando los halos o anillos de transparencia.

La curva de referencia se construye sobre papel gráfico semi-logarítmico, transportando los valores de los diámetros obtenidos para los sueros de referencia sobre el eje de abscisas y el de concentraciones sobre el eje de ordenadas. Con las correspondientes proyecciones, hallaremos tres puntos (usamos tres sueros de referencia), que unidos nos deben dar una recta llamada "Curva de Referencia". Concentraciones desconocidas son determinadas por la intersección de la proyección de los diámetros con la curva de referencia.

### Equipo

#### 1. Quantiplate

Cada equipo consta de 6 placas de una mez--

pla de agarosa con el  $M_1$  *croccus lysodeikticus*. Cada placa presenta 6 pocillos exactamente iguales, con capacidad suficiente para 5  $\lambda$

## 2. Standar o Sueros de Referencia

Se suministran tres viales de concentraciones diferentes y escalonados de Lisozima 1º (alta), 2º (media), 3º (baja). Cada suero de referencia se prepara a partir de un "pool" de orina humana que es purificada, cuantificada y valorada por Kallestad en  $\mu$ gr/ml. Cada uno de estos sueros de referencia debe ser reconstituido con 0,5 ml de agua destilada. Vuelto a cerrar el vial, invertir en repetidas ocasiones hasta conseguir una adecuada dilución.

Aproximadamente las concentraciones de los sueros de referencia oscilan entre los valores siguientes:

Nº 1  $\mu$ gr/ml

74

Nº 2  $\mu$ gr/ml

15

Nº 3  $\mu$ gr/ml

3.6

### Obtención y Conservación de las Muestras

La sangre obtenida por venopunción se centrifuga a 900 r.p.m. durante 15 minutos, procurando obtener por lo menos 0,5 ml de suero libre de células y no hemolizado.

Las muestras pueden ser almacenadas durante 5 días entre 2-8°C y siempre que estén totalmente protegidas de la evaporación y de la contaminación.

### Procedimiento

1. Sacar la placa y los sueros de referencia del refrigerador y colocar el material a la temperatura ambiente durante 15 minutos. No sacar la placa de la bolsa hasta el momento de ser usada.
2. Reconstituir cada uno de los tres viales de referencia con 0,5 ml de agua destilada. Cerrar y por inversión, mezclar homogéneamente.
3. Sacar la placa de la bolsa.

4. Con una pipeta de  $5\mu\text{l}$  ( $5\lambda$ ) dispersad  $5\mu\text{l}$  ( $5\lambda$ ) del suero de referencia nº 1 en el primer pocillo,  $5\mu\text{l}$  del suero de referencia nº 2 en el segundo pocillo,  $5\mu\text{l}$  del suero de referencia nº 3 en el tercer pocillo. Así mismo se aconseja la adición en el 4º pocillo de  $5\mu\text{l}$  de suero como control y de cada muestra de pacientes en los pocillos restantes. Si el número de muestras de pacientes requiere el uso de placas adicionales, se recomienda usar el mismo número de lote, ya que la curva de referencia sería válida para los resultados obtenidos con las placas adicionales.
5. Cerrar la placa cuidadosamente y devolverla a la bolsa. Cerrando ésta, incubar a la temperatura ambiente de  $23^{\circ}\text{C}$ .
6. Después de 18 horas de incubación, a temperatura ambiente o 6 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ , medir los diámetros de los halos (zona clara) que se han originado, con una aproximación de 0,1 mm. Los diámetros de los controles de las muestras, deben ser leídos en el mismo orden y espacio de tiempo. Fluctuaciones de

tiempo o de la temperatura pueden afectar adversamente la linealidad de la gráfica obtenida.

### Resultados

En el papel gráfico semilogarítmico a doble ciclo, colocamos las concentraciones de las referencias sobre el eje de ordenadas y los diámetros correspondientes a los anillos de precipitación sobre el eje de abscisas. Trazar la curva de control, conectando con una recta, los puntos adyacentes.

Los valores medios obtenidos se sitúan en  $8,8 \pm 0,3 \mu\text{grs/ml}$ .



C) TRATAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados de cada uno de nuestros test han sido sometidos a un análisis estadístico.

1. La Media Aritmética de los Valores ( $\bar{X}$ ) y la Desviación Típica (SD) han sido determinados, gracias a un programa de cálculo de mediana.
2. Test de la "t" de Student para datos Independientes. Se usó este test para la comparación de medias de los enfermos estudiados con respecto a los individuos normales en las diversas técnicas utilizadas.

Se utilizó la fórmula siguiente:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sigma \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{N_1 S_1^2 + N_2 S_2^2}{N_1 + N_2 - 2}}$$

El nivel de significación (P) se buscó en las tablas para  $N_1 + N_2 - 2$  grados de libertad.

### 3. Coeficiente de Correlación (r)

Se utilizó el coeficiente de correlación para estudiar la existencia de relaciones entre datos biológicos de nuestros enfermos y alteraciones de la fagocitosis.

Para éllo se utilizó la siguiente fórmula:

$$r = \frac{S_{xy}}{S_x S_y}$$

$$S_{xy} = \frac{1}{n(n-1)} (n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i)$$

$$S_x = \sqrt{\frac{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}{n-1}} \quad S_y = \sqrt{\frac{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2}{n-1}}$$

La significación se buscó en las tablas con grado de libertad  $r = n - 2$ .

Se considera que la correlación es tanto más perfecta cuanto más se acerca a 1 el valor de r.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Los resultados obtenidos con las diferentes técnicas utilizadas en nuestro trabajo, se presentan a continuación en forma de tablas y figuras.

Los valores obtenidos en cada test para cada enfermo, lo expresaremos en una tabla, y en otra - la media aritmética, la desviación típica, "t" de Students y P, según los diversos grupos estudiados (control, enfermos totales, por enfermedades).

#### 1. MIGRACION ESPONTANEA

Los resultados de la Migración Espontánea - (M.E.) están expresados en mm. y están recogidos en - las Tablas nºs 10 y 11 y en la Figura nº 3

## 2. INDICE FAGOCITARIO

Los resultados del Indice Fagocitario están expresados en tantos por ciento y quedan recogidos en las Tablas nº<sup>s</sup> 12 y 13 y en la Figura nº 4.

## 3. TEST DE REDUCCION DEL N.B.T.

Los resultados de este test vienen expresados en tanto por ciento y están recogidos en las Tablas nº<sup>s</sup> 14 y 15 y en la Figura nº 5.

## 4. QUIMIOTACTISMO

El quimiotactismo se ha estudiado con la técnica de Boyden, como se promenoriza en el capítulo III y cada paciente se le investigó la función quimiotáctica en dos condiciones diferentes:

1) En la primera se empleaban los leucocitos del enfermo y se utilizaba como sustancia quimiotáctica suero normal.

2) Se realizaba otro quimiotactismo utilizando leucocitos de personas sanas y como sustancia quimiotáctica se empleaba suero del enfermo.

Mediante este doble proceder, se busca detectar más fielmente si el posible defecto encontrado es intrínseco a los leucocitos PMN de los pacientes cirróticos o depende de factores séricos presentes en estos pacientes.

Los resultados del Quimiotactismo están expresados en micras y están recogidos en las Tablas nºs 16, 17, 18 y en las Figuras nºs 6, 7, 8 y 9.

##### 5. LISOZIMA

Los resultados de esta técnica se expresan en microgr/ml y están recogidos en las Tablas nºs 19 y 20 y en la Figura nº 10.

TABLA N° 10

MIGRACION ESPONTANEA

<u>Paciente</u>	<u>M.E.(mm)</u>	<u>Paciente</u>	<u>M.E.(mm)</u>
1	0.6	17	0.6
2	2	18	0.9
3	1	19	0.6
4	1.3	20	1
5	0.8	21	0.8
6	0.9	22	0.9
7	0.7	23	0.8
8	0.6	24	1.2
9	1.1	25	0.7
10	0.8	26	0.8
11	0.4	27	1
12	0.5	28	0.6
13	0.5	29	1.1
14	1.2	30	0.9
15	1.1	31	0.6
16	0.6		

TABLA N° 11

VALORES DE LA MIGRACION ESPONTANEA EN LOS DIVERSOS --  
GRUPOS ESTUDIADOS

	$\bar{X}$	SD	t	P
Control (n=30)	1.45	0.22		
Total Enf. (n=31)	0.85	0.30	8.73	<0.001
C.H.A. (n=23)	0.81	0.32	8.45	<0.001
C.H.C. (n=5)	0.86	0.17	5.55	<0.001
H.A. (n=3)	1.16	0.12	2.18	<0.05

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

t : t - STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION



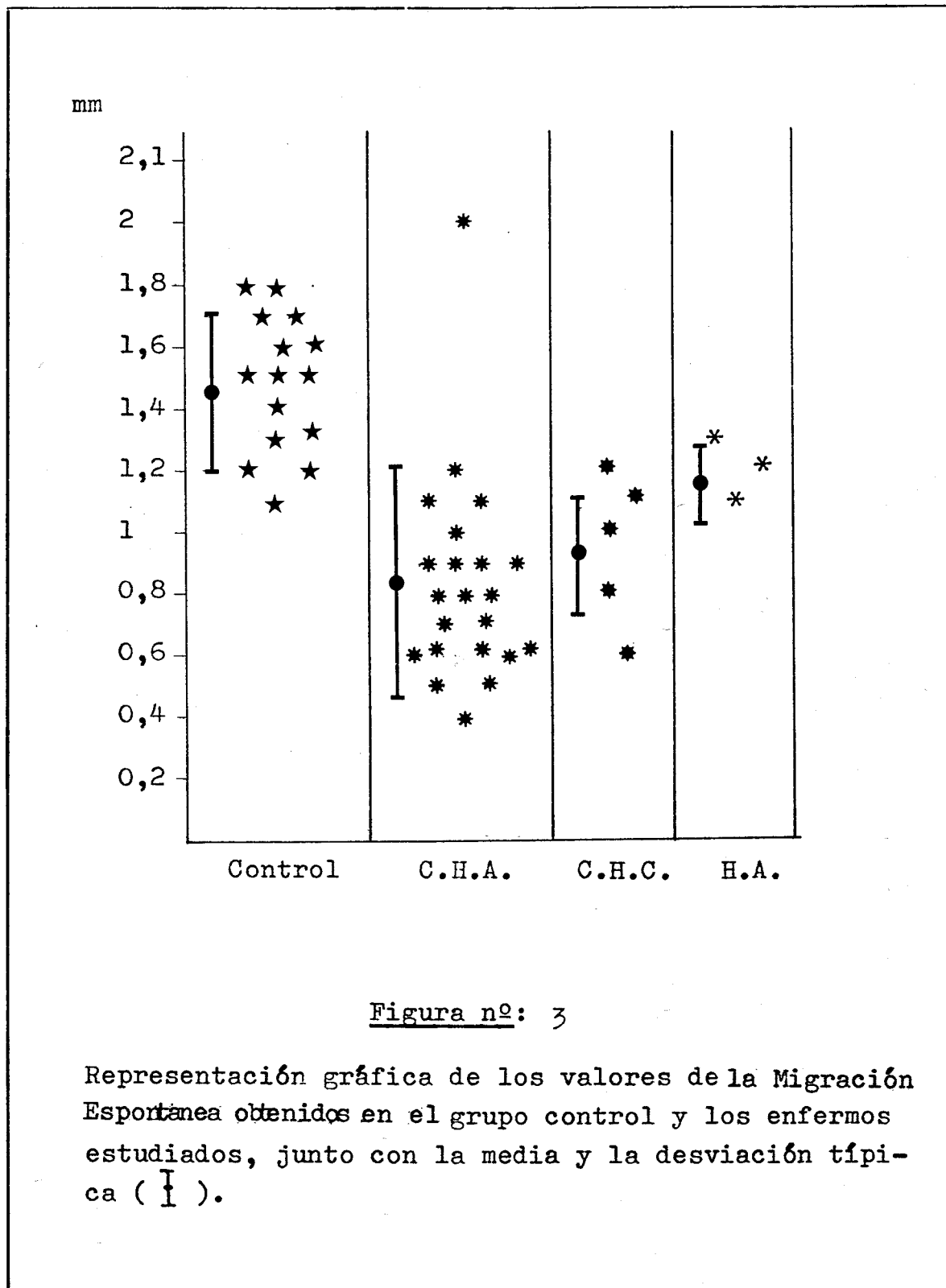


Figura nº: 3

Representación gráfica de los valores de la Migración Espontánea obtenidos en el grupo control y los enfermos estudiados, junto con la media y la desviación típica ( I ).

TABLA Nº 12

INDICE FAGOCITARIO

<u>Paciente</u>	<u>Indice Fag.(%)</u>	<u>Paciente</u>	<u>Indice Fag.(%)</u>
1	4.1	17	4.6
2	6.2	18	4
3	4.7	19	4.7
4	4.6	20	5.1
5	5.3	21	4.9
6	3.5	22	4.8
7	5.9	23	5.7
8	4.3	24	5.3
9	4.9	25	5.6
10	4.6	26	3.9
11	3.8	27	6.8
12	4.0	28	3.9
13	4.6	29	4.5
14	5	30	5
15	5.7	31	5.3
16	5		

TABLA N° 13VALORES DEL INDICE FAGOCITARIO EN LOS DIVERSOS GRUPOS ESTUDIADOS

	$\bar{X}$	SD	t	P
Control (n=30)	4.88	0.47		
Total Enf. (n=31)	4.84	0.73	0.74	NS
C.H.A. (n=23)	4.71	0.66	1.07	NS
C.H.C. (n=5)	5.04	0.62	0.65	NS
H.A. (n=3)	5.56	0.91	2.07	< 0.05

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

NS : NO SIGNIFICATIVO

t : t - STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

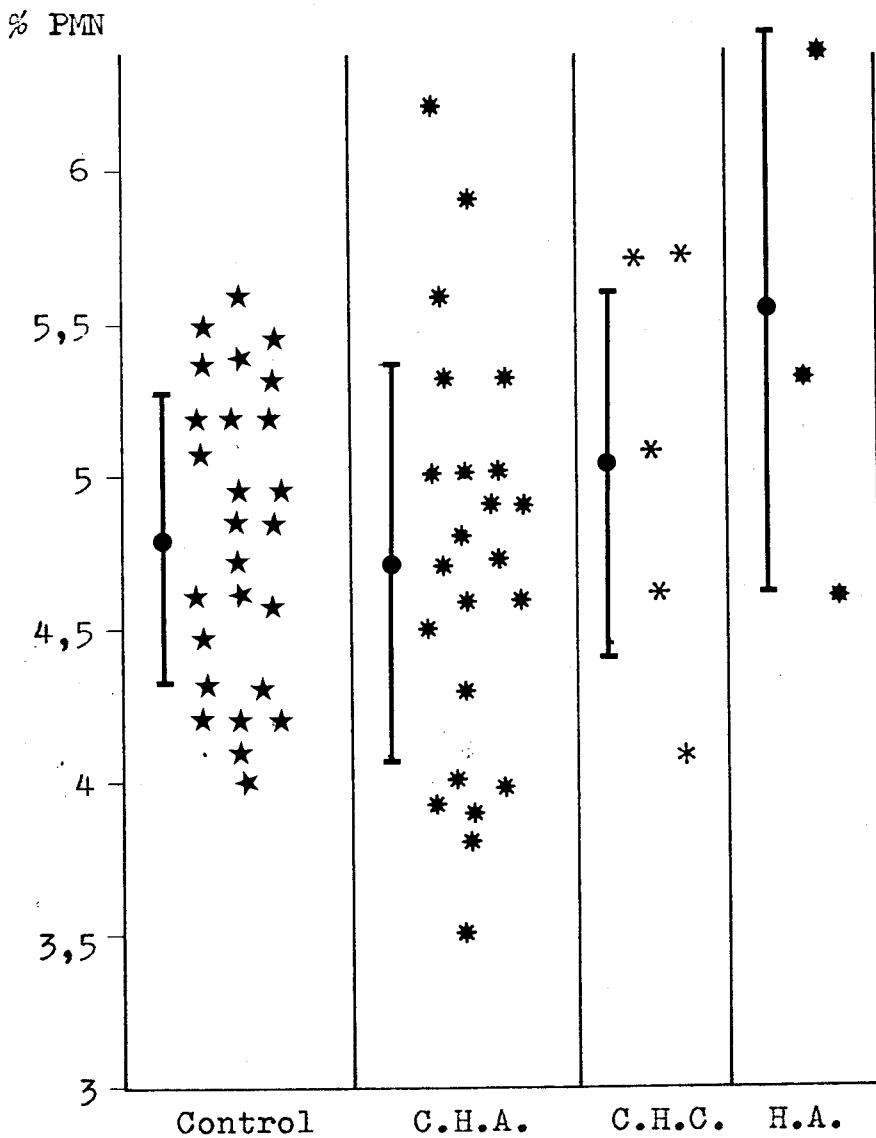


Figura nº: 4

Representación gráfica de los valores del Índice Fa  
gocitario en el grupo control y en los enfermos es-  
tudiados, junto con la media y la desviación típica.  
(  $\bar{x}$  ).

TABLA Nº 14

N. B. T.

<u>Paciente</u>	<u>N.B.T. (%)</u>	<u>Paciente</u>	<u>N.B.T. (%)</u>
11	7	22	7
12	15	23	5
13	11	24	19
14	4	25	8
15	10	26	9
16	12	27	17
17	18	28	8
18	5	29	6
19	9	30	3
20	6	31	7
21	4		

TABLA N° 15VALORES DEL TEST DEL N.B.T. EN LOS DIVERSOS GRUPOS ESTUDIADOS

	$\bar{X}$	SD	t	P
Control (n=30)	7.23	3.47		
Total Enf. (n=21)	9.04	4.65	1.55	NS
C.H.A. (n=16)	8.31	3.93	0.94	NS
C.H.C. (n=3)	7.00	2.16	0.10	NS
H.A. (n=2)	18.00	1.00	4.2	<0.001

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

NS : NO SIGNIFICATIVO

t : t - STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

% PMN

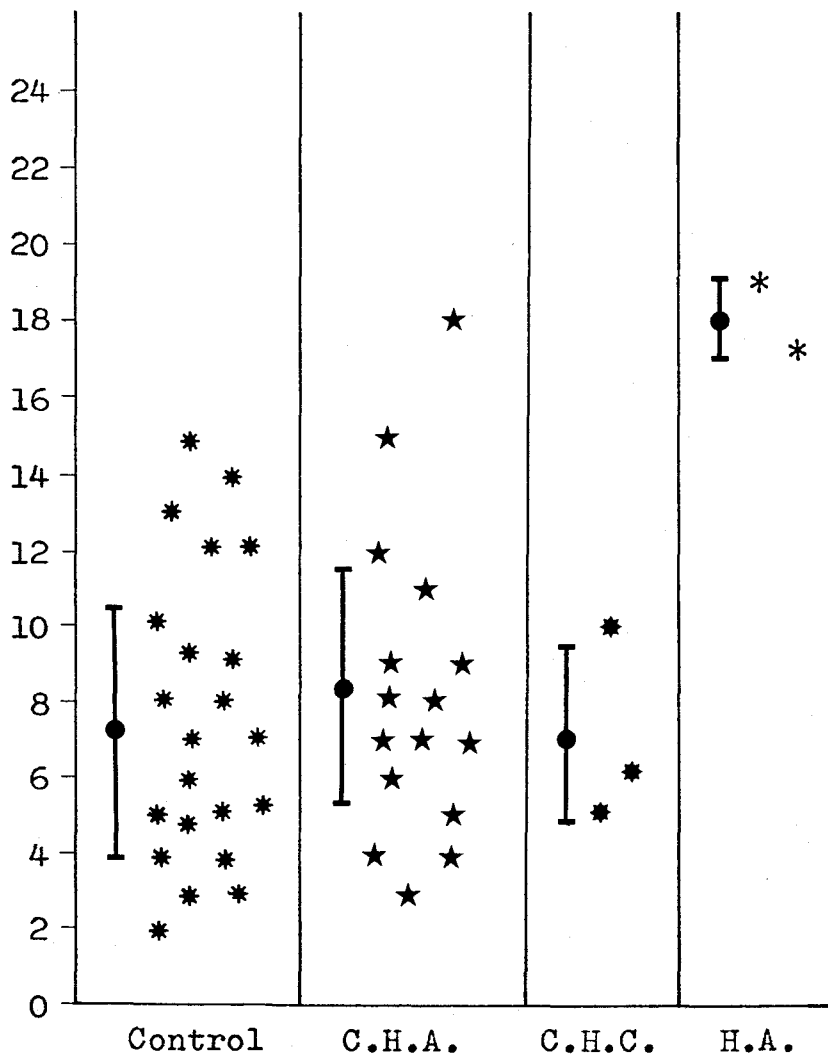


Figura nº: 5

Representación gráfica de los valores del test de Reducción del N.B.T. del grupo control y los enfermos estudiados, junto con la media y la desviación típica (  $\bar{x}$  ).

TABLA Nº 16

QUIMIOTACTISMO

Paciente	Quimiotactismo		Quimiotactismo	
	PMNE	S.N.	PMNN	S.E.
1		56		75
2		84		97
3		76		91
4		108		103
5		98		61
6		92		50
7		64		56
8		54		82
9		80		86
10		65		41
11		65		51
12		39		76
13		68		49
14		74		78
15		81		72
16		58		32
17		67		31



Paciente	Quimiotactismo		Quimiotactismo	
	PMNE	S.N.	PMNN	S.E.
18		76		60
19		79		94
20		74		45
21		86		78
22		79		101
23		75		97
24		70		98
25		69		42
26		74		50
27		71		104
28		64		33
29		85		99
30		83		106
31		71		48

PMNN : POLIMORFONUCLEARES DE SUJETOS NORMALES

S.E. : SUERO DEL ENFERMO

PMNE : POLINUCLEARES DE LOS ENFERMOS

S.N. : SUERO DE SUJETOS NORMALES

TABLA N° 17VALORES DEL QUIMIOTACTISMO EN LOS DIVERSOS GRUPOS ESTUDIADOS CUANDO SE EMPLEO SUERO NORMAL (S.N.)

	$\bar{X}$	SD	t	P
Control (n=32)	97.32	14.14		
Total Enf. (n=31)	73.70	13.14	6.81	<0.001
C.H.A. (n=23)	73.26	12.69	6.45	<0.001
C.H.C. (n=5)	70.20	8.74	4.06	<0.001
H.A. (n=3)	82.66	17.90	1.63	NS

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

NS : NO SIGNIFICATIVO

t : t - STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

TABLA Nº 18

VALORES DEL QUIMIOTACTISMO EN LOS DIVERSOS GRUPOS ESTUDIADOS CUANDO SE EMPLEO SUERO DEL ENFERMO (S.E.)

	$\bar{X}$	SD	t	P
Control (n=32)	97.32	14.14		
Total Enf. (n=31)	70.51	24.25	5.33	<0.001
C.H.A. (n=23)	67.43	23.62	5.74	<0.001
C.H.C. (n=5)	66.00	20.70	4.17	<0.001
H.A. (n=3)	83.00	28.90	1.45	NS

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

NS : NO SIGNIFICATIVO

t : t - STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

micras

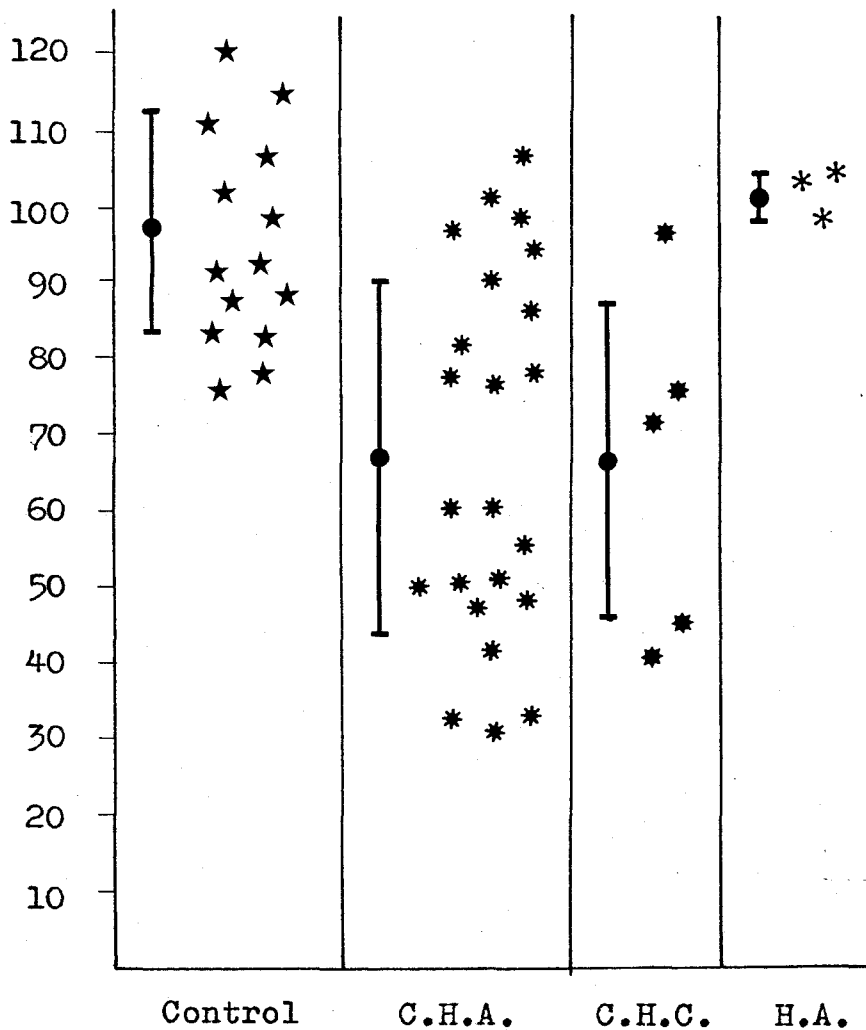


Figura nº: 6

Representación gráfica de los valores del Quimiotacismo en el grupo control y en los enfermos cuando se empleó Suero del Enfermo, junto a la media y la desviación típica (  $\bar{x}$  ).

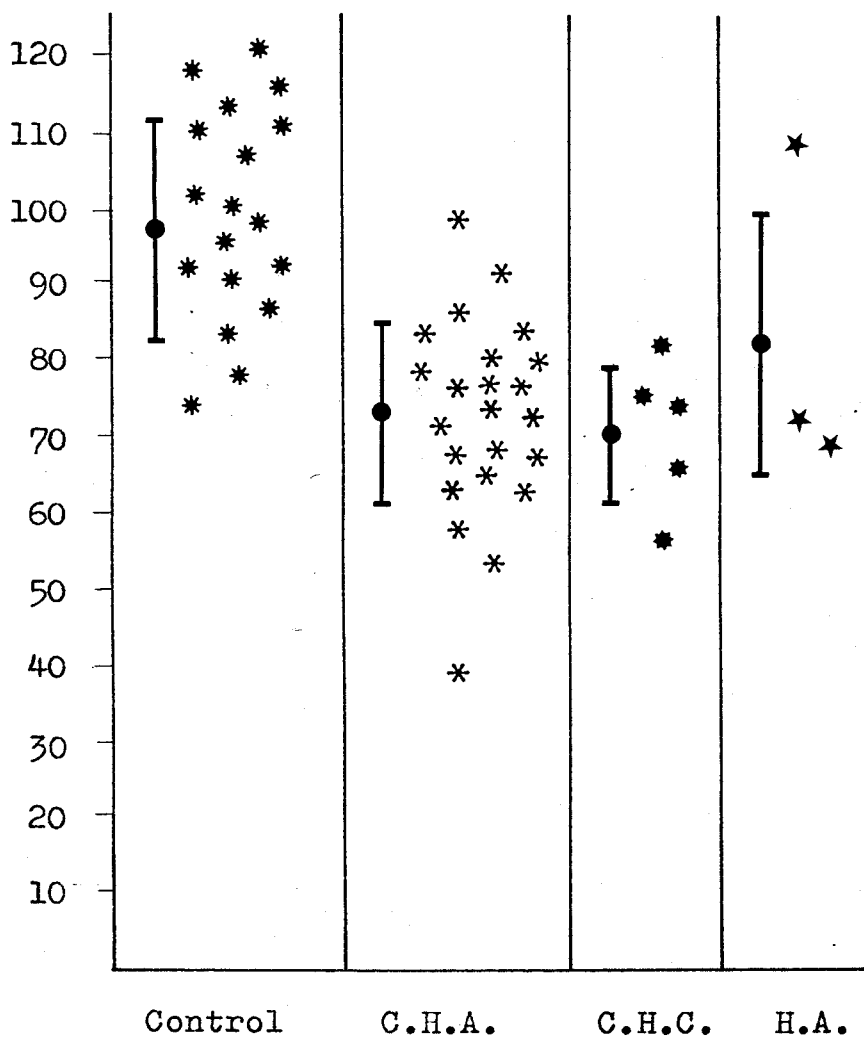


Figura nº: 7

Valores del Quimiotactismo en el grupo control y en los enfermos empleando Suero Normal, junto a la media y la desviación típica (  $\bar{x}$  ).



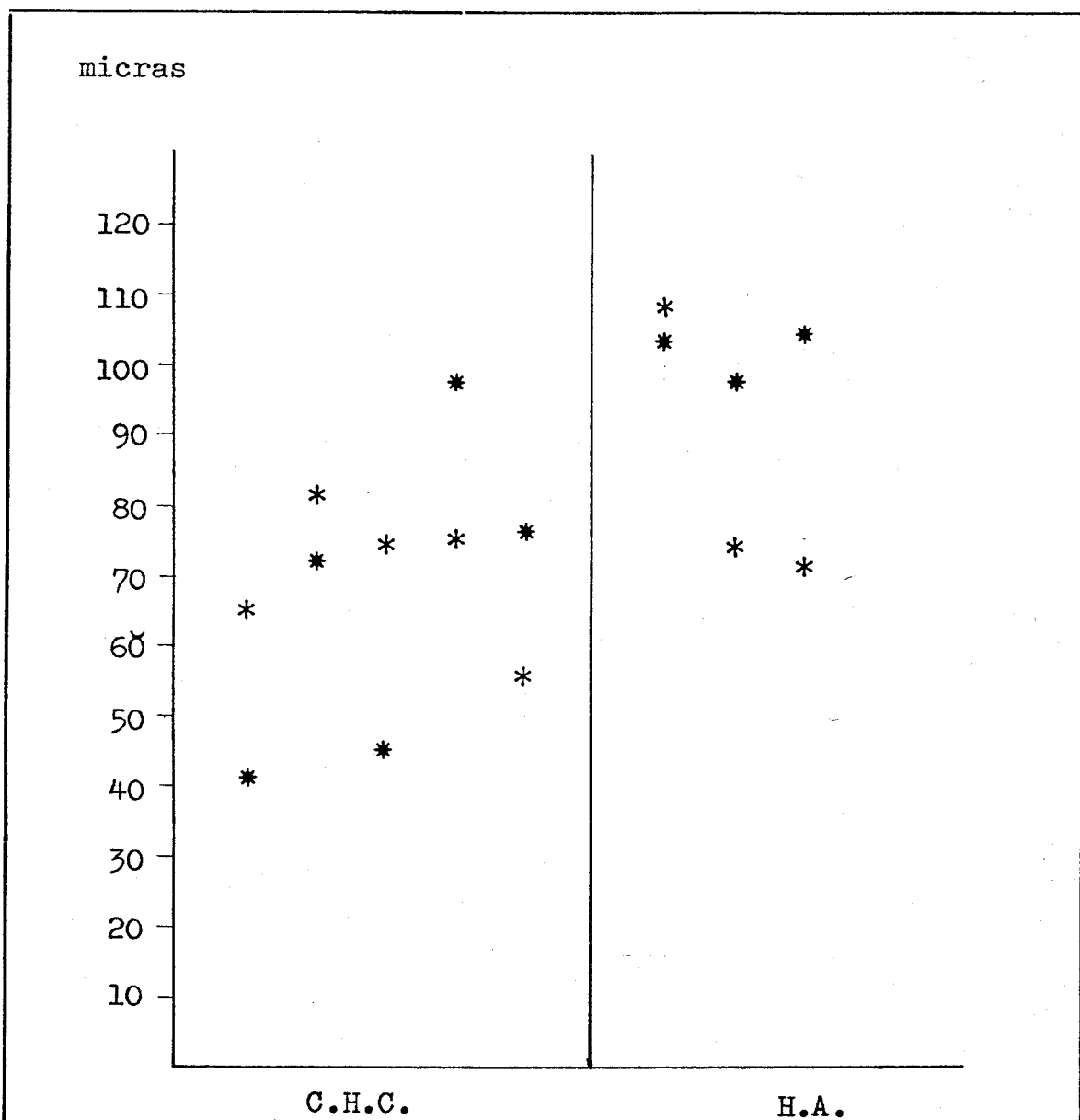


Figura nº: 9

Representación gráfica de los valores del Quimiotactismo obtenidos en la C.H.C. y H.A.

Suero Normal ( \* ).

Suero del Enfermo ( \* ).

TABLA N° 19

LISOZIMA

<u>Paciente</u>	<u>Iisozima (<math>\mu</math>gr/ml)</u>	<u>Paciente</u>	<u>Lisozima (<math>\mu</math>gr/ml)</u>
1	5.8	17	5.8
2	10	18	5.8
3	8.4	19	6.8
4	9	20	9
5	5	21	5.8
6	4.5	22	8.4
7	6.8	23	5
8	5.4	24	8.4
9	10	25	6.2
10	10	26	5
11	5	27	8.4
12	25	28	10
13	4.6	29	7.8
14	5.8	30	4.6
15	4.3	31	7
16	5.2		



TABLA Nº 20VALORES DE LISOZIMA EN LOS DIVERSOS GRUPOS ESTUDIADOS

	$\bar{X}$	SD	t	P
Control (n=25)	8.52	4.48		
Total Enf. (n=31)	7.30	3.57	1.11	NS
C.H.A. (n=23)	7.16	4.11	1.07	NS
C.H.C. (n=5)	6.82	2.26	0.80	NS
H.A. (n=3)	8.60	0.28	0.22	NS

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

t : t - STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

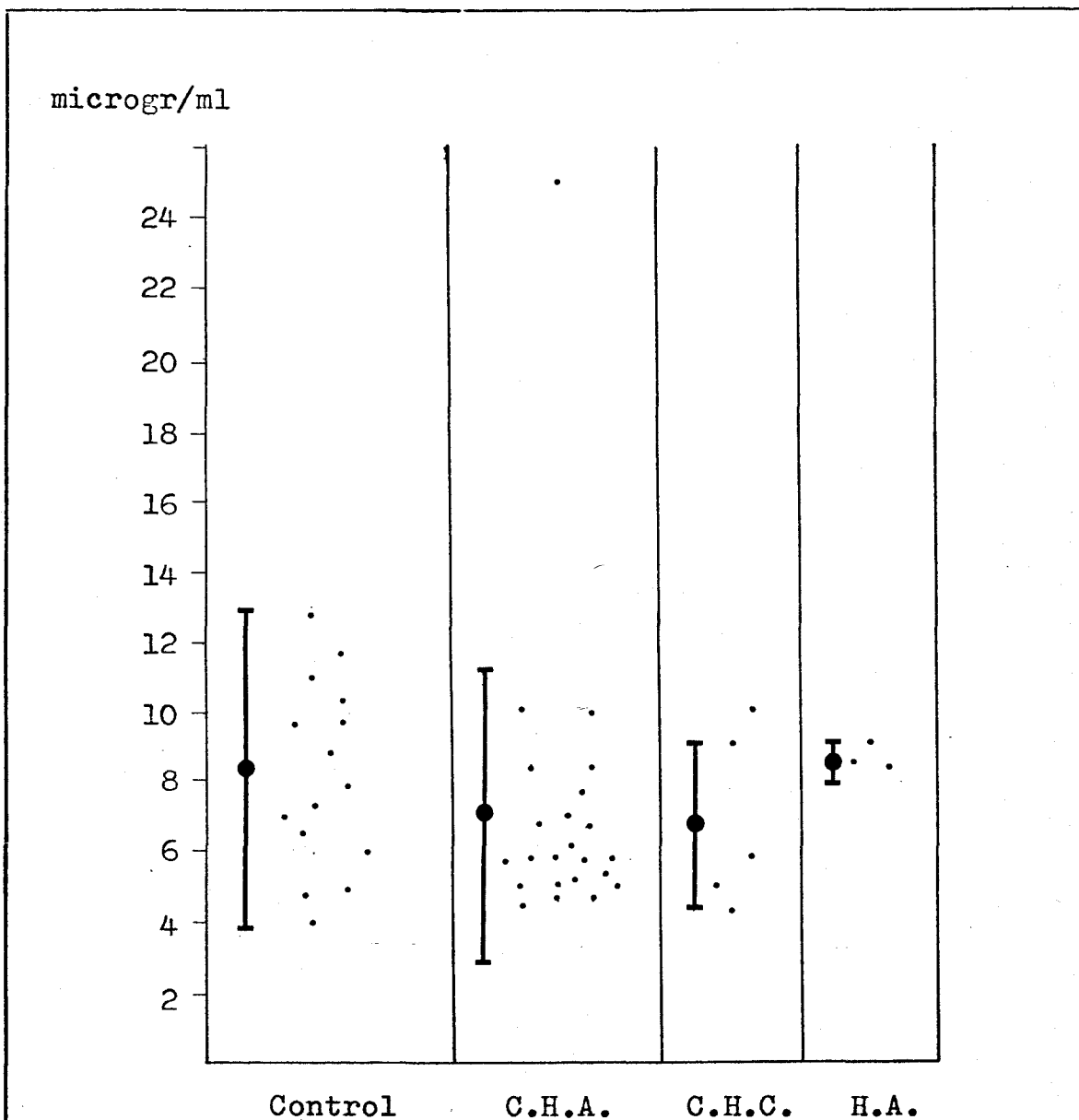


Figura nº: 10

Representación gráfica de los valores del Lisozima en el grupo control y en los enfermos, junto a la media y la desviación típica (  $\bar{x}$  ).

CAPITULO V

DISCUSION Y COMENTARIOS

En este Capítulo, comentaremos los resultados de la inmunidad inespecífica hallados en nuestros enfermos y los compararemos a los datos encontrados en la literatura.

En segundo lugar, correlacionaremos en los enfermos cirróticos, los datos clínico-biológicos con las alteraciones de la fagocitosis demostradas por nosotros.

## I. DISCUSION DE NUESTROS RESULTADOS

### 1. Migración Espontánea (M.E.)

Los resultados de la Migración Espontánea -

en los enfermos estudiados muestran una disminución - muy significativa al compararle con los testigos ---- (t = 8.73,  $p < 0.001$ , Tabla nº 11).

Al desglosar los pacientes por enfermedades vemos como los enfermos cirróticos, tanto los alcohólicos, como los no alcohólicos, tienen una disminu---- ción de la motilidad al azar altamente significativa (C.H.A.: t = 8.45,  $p < 0.001$ ; C.H.C.: t = 5.55,  $p < 0.001$ ).

Solo hemos encontrado un caso, el paciente nº 2, portador de una cirrosis hepática alcohólica, - que no mostraba una disminución de la migración espon-- tánea, sino que al contrario el resultado obtenido -- (M.E. = 2 mm), estaba muy por encima de la media de - nuestros controles normales ( $1.45 \pm 0.22$ ). En el mo-- mento del estudio , este paciente tenía una neumonía extensa que puede explicar este resultado encontrado superior a lo normal.

En los pacientes con hepatitis aguda, obte-- nemos una disminución de la Migración Espontánea ----

( $t = 2.18$ ,  $p < 0.05$ ) con un nivel de significación mucho menor que en los enfermos cirróticos.

Hughes y col. (1974) estudiaron la motilidad al azar en un grupo de pacientes cirróticos, encontrando en todos ellos una evidente disminución de la misma, resultados que concuerdan en esencial con los nuestros.

## 2. Indice Fagocitario

Los resultados obtenidos en los enfermos estudiados, no muestran ninguna modificación de la capacidad de endocitosis al compararlo con el grupo control ( $t = 0.24$ ,  $p = NS$ , Tabla nº 13).

Al desglosar los resultados por enfermedades, solo los pacientes con Hepatitis Aguda, muestran un aumento del índice fagocitario no muy significativo ( $t = 2.07$ ,  $p < 0.05$ ), que puede explicarse por la estimulación producida por complejos antígeno-anticuerpos.

Así mismo, nos parece interesante recalcar que esta técnica, aunque mide globalmente la fagocitosis, pone fundamentalmente de manifiesto las alteraciones a nivel de la opsonización.

Los resultados encontrados por otros autores en la cirrosis coinciden esencialmente con los nuestros. Mientras que DeMeo y col. (1972) no encuentran diferencia significativa en la capacidad de ingestión de los granulocitos, Feliu y col. (1979), estudiando 20 enfermos, encuentran que la mayoría son normales, dos tienen una endocitosis defectuosa y cuatro la tienen aumentada.

### 3. N.B.T.

Los resultados obtenidos mediante el test - histoquímico de reducción espontánea del N.B.T. en el conjunto de enfermos, no muestran diferencias con el grupo control ( $t = 1.55$ ,  $p = NS$ , Tabla nº 15).

En el análisis estadístico, no existe diferencia en los enfermos cirróticos con el grupo con---

trol, si bien estaba aumentado en el enfermo nº 12 -- (NBT = 15%) y nº 17 (NBT = 18%).

Este aumento del N.B.T. en estos pacientes puede explicarse por el hecho de que uno de ellos, el nº 12, presentaba clínica de Hepatoma injertado sobre la Cirrosis Hepática, con AlfaFeto Proteína positiva, y el otro, el nº 17, tenía una neumonía en el momento en que se exploró el N.B.T.

Feliu y col. (1979), encuentran en tres de los 23 enfermos cirróticos estudiados, por ellos, un defecto de la capacidad de reducción del NBT estimulado, por lo que piensa que pueda existir una altera--ción del metabolismo leucocitario en estos enfermos. Si bien las alteraciones encontradas por Feliu y col. (1979) se producen en un porcentaje pequeño de enfermos, las discrepancias con nuestros resultados pueden explicarse por las diferentes técnicas empleadas, ---pués si bien el test de reducción no estimulado es -- una buena técnica para detectar el aumento del metabolismo leucocitario, las alteraciones por deficit tie--nen que ser muy severas, para ponerse de manifiesto.



En los enfermos con Hepatitis Aguda, encontramos un aumento muy significativo del test de reducción espontáneo de N.B.T. con respecto al grupo control ( $t = 4.24$ ,  $p < 0.001$ , Tabla nº 15). Aunque el grupo estudiado por nosotros es muy pequeño y con escaso valor estadístico, los resultados de la literatura --coinciden con los nuestros. Hellum y Solberg (1973) observaron reducción espontánea del N.B.T. en pacientes con hepatitis viral y más recientemente Vierucci y --col. (1977) ha obtenido los mismos resultados.

#### 4. Quimiotactismo

Los resultados del quimiotactismo de los enfermos estudiados por nosotros, muestra una disminu--ción muy significativa, tanto cuando los leucocitos - PMN del enfermo se estudiaron en presencia de suero - normal ( $t = 6.81$ ,  $p < 0.001$ , Tabla nº 17 ) como cuando se estudiaron leucocitos PMN de testigos con suero de los pacientes ( $t = 5.33$ ,  $p < 0.001$ , Tabla nº 18).

El análisis de los resultados en los enfermos cirróticos nos muestra que en 14 de los 28 pacien

tes, es decir el 50%, presentaban un inhibidor sérico del quimiotactismo, puesto que el suero de estos enfermos era capaz de inhibir la migración dirigida de los leucocitos PMN de testigos.

En los enfermos con cirrosis alcohólica presentaban un inhibidor los pacientes nºs 5, 6, 7, 11, 13, 16, 17, 18, 25, 26, 28 y 31, es decir, el 52% de los pacientes con cirrosis alcohólica estudiados. Entre los pacientes con cirrosis criptogenética presentaban inhibidor los pacientes nºs 10 y 20, es decir - el 40%.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por otros autores. Así, DeMeo y col. (1972), - Van Epps y col. (1975), Maderazo y col. (1975), Fernández-Huertas y col. (1978) y Feliu y col. (1979), - encuentran en los pacientes cirróticos estudiados por ellos, alteraciones del quimiotactismo dependientes - de factores inhibidores de origen sérico entre un 45% a un 70% de sus casos.

Además de la disminución del quimiotactismo

atribuible a la existencia de un inhibidor sérico, hemos contrado en los pacientes cirróticos una motilidad dirigida intrínseca anormal, puesto que los leucocitos PMN del enfermo en presencia de suero normal, no experimentaban un quimiotactismo normal. De los 20 cirróticos estudiados se presentaba esta anomalía en el 48%: en las cirrosis alcohólicas en los pacientes n<sup>os</sup> 7, 8, 11, 12, 13, 16, 17, 25, 28 y 31 y en las cirrosis criptogénicas en los pacientes n<sup>os</sup> 1 y 10.

Los estudios sobre fagocitosis en enfermos cirróticos se iniciaron en 1972, año en el que DeMeo y col. describieron la alteración del quimiotactismo ligada a la presencia de un inhibidor sérico, y posteriormente las investigaciones se han realizado casi exclusivamente sobre ~~este~~ inhibidor y los trabajos dedicados al estudio de las alteraciones intrínsecas de la motilidad son escasos y realizados en pequeño número de enfermos. Así, DeMeo y col. (1972) en cuatro de los enfermos cirróticos estudiados por ellos, el suero normal corrige la anormalidad del quimiotactismo. Fernández-Huertas lo estudia en tres enfermos, en dos de ellos está alterado y en el otro enfermo está par-

cialmente corregido.

Por otra parte, es lógico pensar que si los enfermos cirróticos tienen una movilidad espontánea alterada, hecho demostrado por nosotros y por Hughes y col. (1974) el quimiotactismo pueda estar disminuido por una alteración a nivel celular.

En las Hepatitis agudas Antígeno Australia positivo estudiadas por nosotros, no existe diferencia significativa con respecto al grupo control. Si bien el análisis de los resultados nos permite afirmar que el test de la motilidad intrínseca dirigida de los leucocitos PMN está alterada en dos enfermos (casos nºs 24 y 27) mientras que en el otro enfermo es normal. Magliulo y col. (1975) demostraron que los leucocitos de pacientes con hepatitis B responden al estímulo quimiotáctico menos que los leucocitos normales.

En las Hepatitis agudas no encontramos ningún caso con inhibidores del quimiotactismo, lo que también fue constatado por Maderazo y col. (1975).

## 5. Lisozima

Los resultados del Lisozima sérico en los enfermos estudiados por nosotros, no muestran diferencias significativas respecto al grupo control ( $t=1.11$ ,  $p = NS$ , Tabla nº 20. Todos los resultados se encuentran dentro de las cifras normales, salvo el enfermo nº 12, en que encontramos una cifra muy por encima de los valores normales: 25 microgr/ml. Este paciente -- presentaba una cirrosis hepática alcohólica descompensada, con ascitis, coma hepático y destacaba en los datos biológicos una AlfaFeto Proteína positiva, sin que existiera diagnóstico previo de Hepatoma, que por otro lado, nosotros no pudimos comprobar dada la evolución desfavorable que tuvo.

Fierer y col. (1979) determinaron los niveles de Lisozima sérico a un grupo de pacientes cirróticos encontrando cifras normales en la mayoría de -- ellos y sólo discretas elevaciones en un pequeño número.

Si bien se han publicado diversos trabajos

sobre el Lisozima en diversos estados patológicos --- (Falchuk y col. 1975 ; Pascual y col. 1973 ; Hansen, 1979), pocas publicaciones existen sobre el Lisozima y las hepatopatias.

El Lisozima se encuentra fundamentalmente - en los granulocitos y en los monocitos y macrofagos - tisulares, y los niveles séricos de Lisozima pueden - reflejar la actividad o pool de los fagocitos mononu- cleares, especialmente en los procesos granulomatosos.

Los valores obtenidos por nosotros, norma-- les en todos los casos, salvo en un paciente, coinci- den en lo esencial con los de Fierer y col. (1979) y nos indican que el Lisozima no está implicado en la - tendencia que tienen los pacientes con hepatopatias a padecer infecciones.

II. ALTERACION DE LA MOTILIDAD CELULAR EN -  
ENFERMOS CIRROTICOS Y CORRELACIONES CLINICO-BIOLÓGICAS.

1. Según Etiología

Las primeras descripciones referentes a la presencia de un inhibidor sérico en enfermos cirróticos, fueron hechas en cirrosis alcohólica, aunque posteriormente se describieron en cirrosis criptogenética.

Hemos estudiado la frecuencia de alteraciones de la motilidad de los leucocitos PMN en la población de enfermos con cirrosis alcohólica y en cirrosis criptogenética (Tabla nº 21). No encontramos diferencia significativa en la Migración Espontánea ---- (t = 0.32, p = NS, Tabla nº 22) en las alteraciones del quimiotactismo de tipo celular (t = 0.49, p = NS, Tabla nº 23) ni en la frecuencia de inhibidores ---- (t = 0.1, P = NS, Tabla nº 24).

Podemos sacar como conclusión, en este aspecto, que no hemos encontrado diferencias entre las

TABLA Nº 21FRECUENCIA DE ALTERACIONES DE LA MOTILIDAD CELULAR EN ENFERMOS CON C.H.A. Y C.H.C.

	C.H.A. (n= 23)	C.H.C. (n= 5)
Disminución M.E.	22	5
Grupo con Inhibidor	12	2
Grupo sin Inhibidor	11	3
Disminución Quimiotact. con PMN del enfermo	14	3
Quimiotactismo normal con PMN del enfermo	9	2



TABLA N° 22

COMPARACION DE LOS RESULTADOS DE LA M.E. EN C.H.A. y  
C.H.C.

	$\bar{X}$	SD	t	P
C.H.A. (n = 23)	0.81	0.32		
			0.32	NS
C.H.C. (n = 5)	0.86	0.12		

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

t : t-STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

NS : NO SIGNIFICATIVO

TABLA Nº 23

COMPARACION DE LOS RESULTADOS DEL QUIMIOTACTISMO EN  
PRESENCIA DE SUERO NORMAL EN ENFERMOS CON C.H.A. Y  
C.H.C.

	$\bar{X}$	SD	t	P
C.H.A. (n=23)	73.26	12.69		
			0.49	NS
C.H.C. (n=5)	70.20	8.74		

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

t : t-STUDENT

NS : NO SIGNIFICATIVO

TABLA Nº 24

COMPARACION DE LOS RESULTADOS DEL QUIMIOTACTISMO EN  
PRESENCIA DE SUERO DE LOS ENFERMOS EN C.H.A. y C.H.C.

	$\bar{X}$	SD	t	P
C.H.A. (n=23)	67.43	23.62		
			0.12	NS
C.H.C. (n=5)	66.00	20.70		

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

t : t-STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

NS : NO SIGNIFICATIVO

alteraciones de la motilidad celular y los tipos de - cirrosis alcohólica o no alcohólica, si bien el número de cirrosis criptogénica es pequeño. Resultados similares han sido descritos por Fernández-Huertas y col. (1978) y Feliu y col. (1979).

## 2. Inmunoglobulinas

Todos nuestros pacientes tienen cifras elevadas de inmunoglobulinas, con un valor medio del 29% de las proteínas totales. Los valores más elevados correspondieron a la IgA, preferentemente en los pacientes alcohólicos. Los valores medios de la inmunoglobulinas en nuestros pacientes fueron los siguientes:

IgG : 1.720 mg %  $\pm$  445

IgM : 153 mg %  $\pm$  78.6

IgA : 716.71  $\pm$  336.80

El inhibidor sérico del quimiotactismo descrito en enfermos cirróticos está constituido, como - demostró Van Epps y col. (1975), por al menos tres inhibidores, separados mediante ultracentrifugación en

gradiente de sucrosa 3S, 6.8 S y 10.7 S; estos dos -- últimos inhibidores tienen una movilidad electroforética, tamaño y características en la cromatografía de intercambio iónico compatible con la IgA.

Es muy posible que aparezcan los inhibidores del quimiotactismo simultáneamente con los niveles -- elevados de IgA, así Van Epps y Williams (1976) describieron un efecto supresor de la quimiotaxis leucocitaria en los mielomas IgA y Davis y col. (1977) describieron un inhibidor del quimiotactismo ligado a -- una crioglobulina formada por una mezcla IgM-IgA.

Nosotros hemos comparado los niveles de IgA en el grupo de pacientes con inhibidor del quimiotactismo y aquellos sin inhibidos, encontrando niveles -- de IgA superiores en el grupo con inhibidor sérico -- del quimiotactismo, con una diferencia significativa ( $t = 1.95$ ,  $p < 0.05$ , Tabla nº 25).

En este primer grupo con inhibidor destacan las cifras de IgA muy elevadas de los pacientes siguientes:

TABLA N° 25

COMPARACION DE LAS CIFRAS DE IgA EN LOS PACIENTES CIRROTICOS CON O SIN INHIBIDOR DEL QUIMIOTACTISMO

	$\bar{X}$	SD	t	P
GRUPO CON INHIB. (n = 14)	837	363		
			1.95	< 0.05
GRUPO SIN INHIB. (n = 14)	596	256		

$\bar{X}$  : MEDIA ARITMETICA DE LOS VALORES

SD : DESVIACION TIPICA

t : t-STUDENT

P : NIVEL DE SIGNIFICACION

nº 7 = 1.176; nº 16 = 1.080; nº 18 = 1.300; nº 20 = 965; nº 28 = 1.710.

En la Figura nº 11 se representan los valores de IgA y su relación con la presencia de inhibidores del quimiotactismo.

Vemos que no existe, por tanto, correlación entre la disminución del quimiotactismo producida por la presencia de un inhibidor sérico y el aumento de la IgA.

En conclusión, hemos constatado que en los enfermos con inhibidores del quimiotactismo tienen -- una cifra más elevada de IgA, aunque ésta no está en estrecha relación con el inhibidor.

### 3. Complemento

Se han descrito niveles bajos del Complemento en pacientes cirróticos, y dado el importante papel que juega el Complemento en la generación de factores quimiotacticos, hemos investigado si el defecto

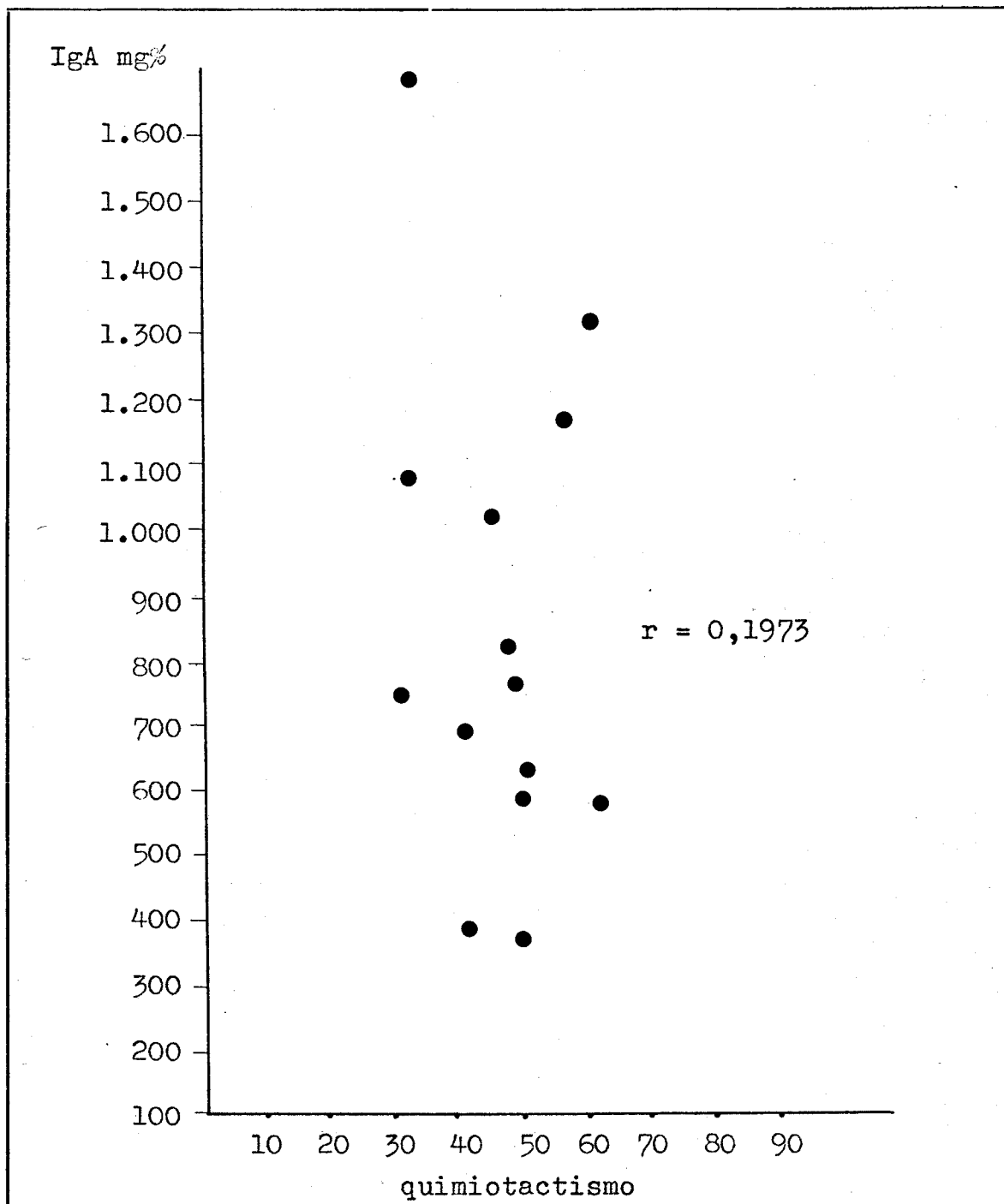


Figura nº 11 Correlación entre los niveles de IgA y la presencia de Inhibidores del Quimiotactismo en pacientes cirróticos.



del quimiotactismo en los pacientes cirróticos, podía ser debido a los niveles disminuidos del Complemento - que presentan estos pacientes.

Nosotros hemos obtenido un valor medio para C3 de 108.87 mg%  $\pm$  51.48 y para C4 de 20.45 mg%  $\pm$  10.35, y en los pacientes cirróticos hemos encontrado que el 17.3% y el 69.5% tienen cifras disminuidas de C3 y C4 respectivamente. En conjunto, nuestros resultados son más elevados que los señalados por otros autores.

En el grupo de pacientes con inhibidor del quimiotactismo, los resultados eran los siguientes:

$$C3 = 106.5 \text{ mg\% } \pm 44$$

$$C4 = 17.15 \text{ mg\% } \pm 8.5$$

En las Figuras nos 2, 3, 4 y 5 se relacionan - las cifras de Complemento (C3 y C4) con la presencia de alteraciones intrínsecas de la motilidad de los -- PMN y de la presencia de un inhibidor sérico del quimiotactismo.

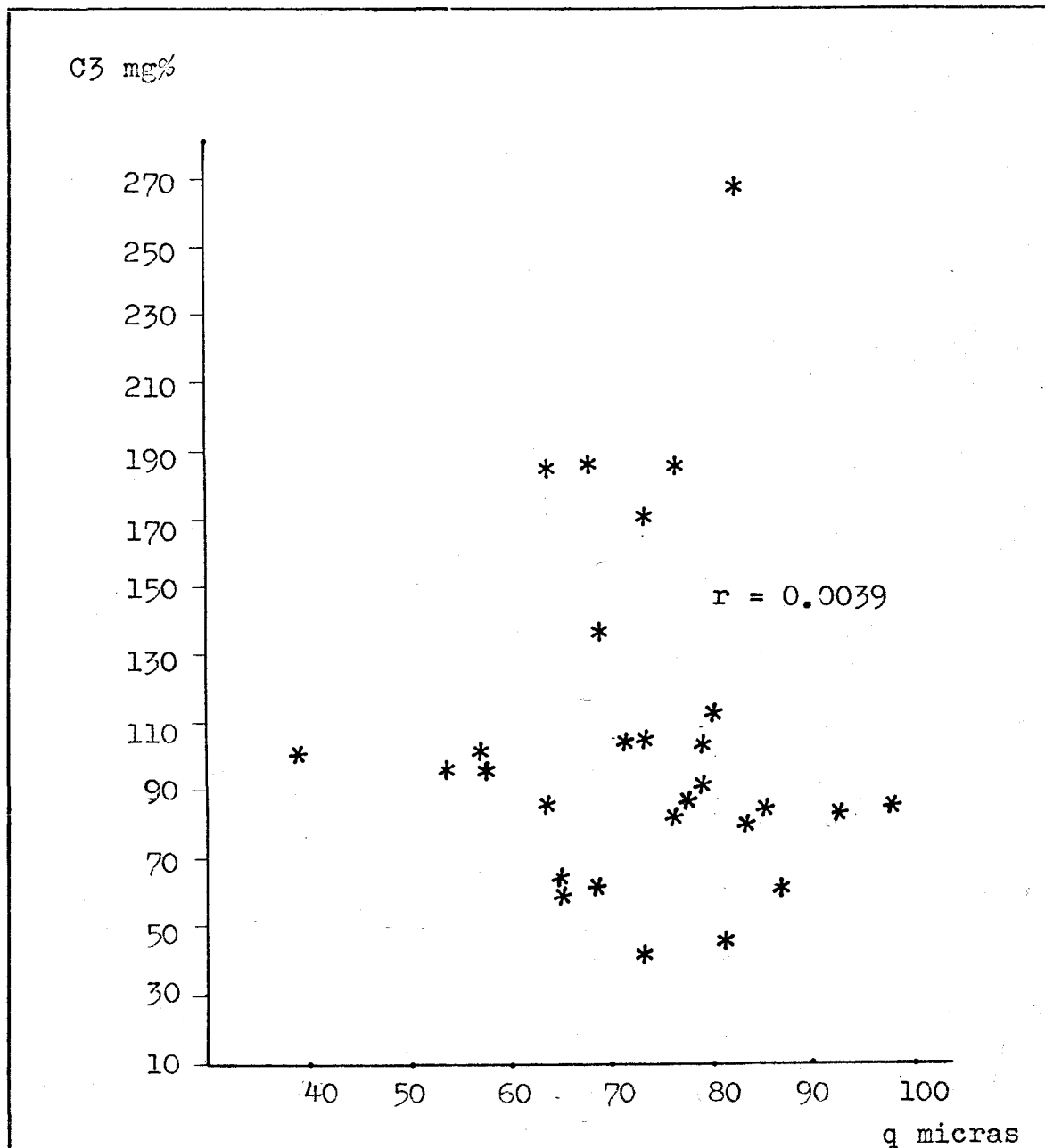


Figura nº 12 Correlación entre niveles de C3 y el Quimiotactismo en los pacientes cirróticos cuando se empleó Suero Normal.

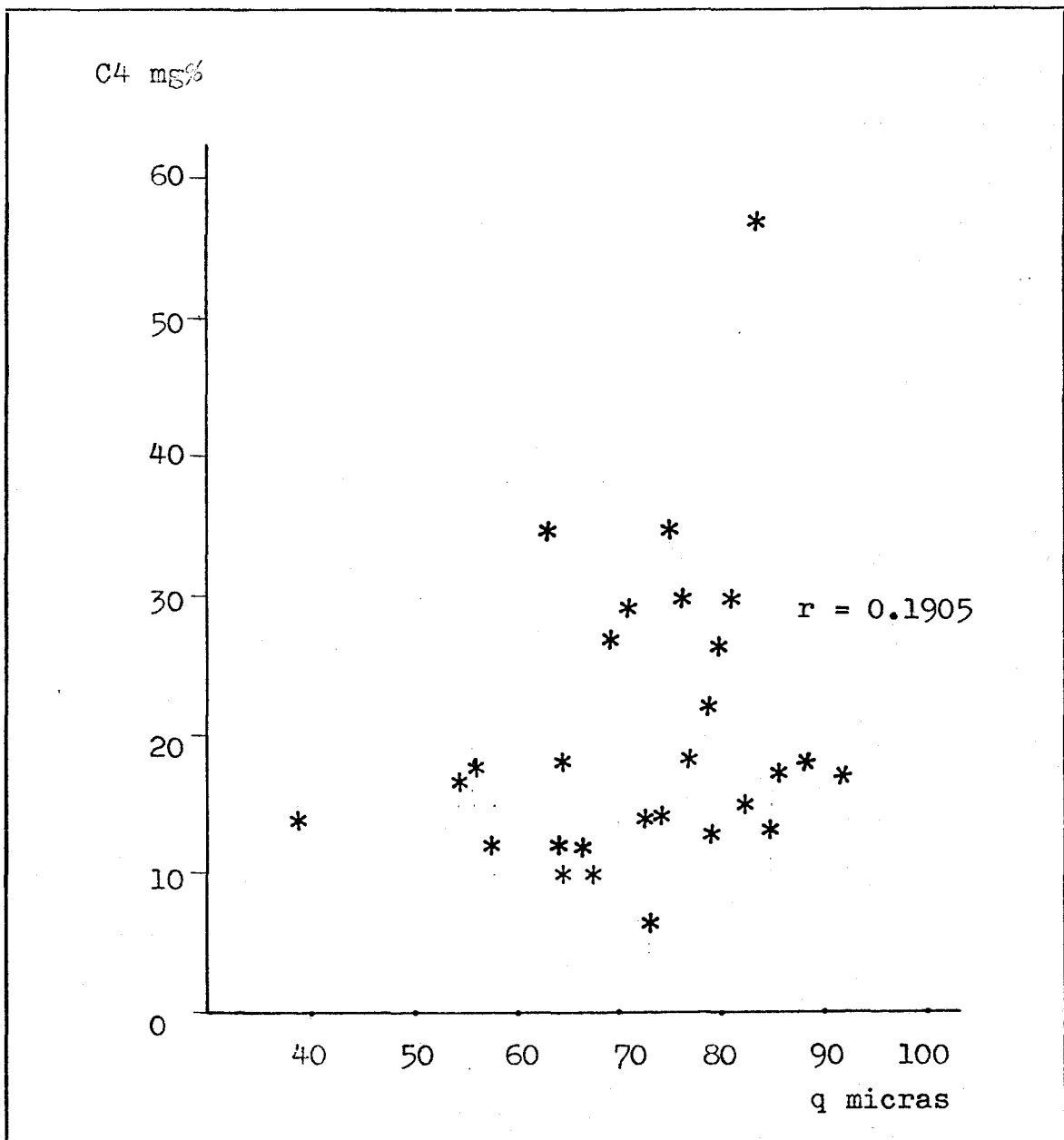


Figura nº 13 Correlación entre los niveles de C4 y el Quimiotactismo en los pacientes cirróticos cuando se empleó Suero Normal.

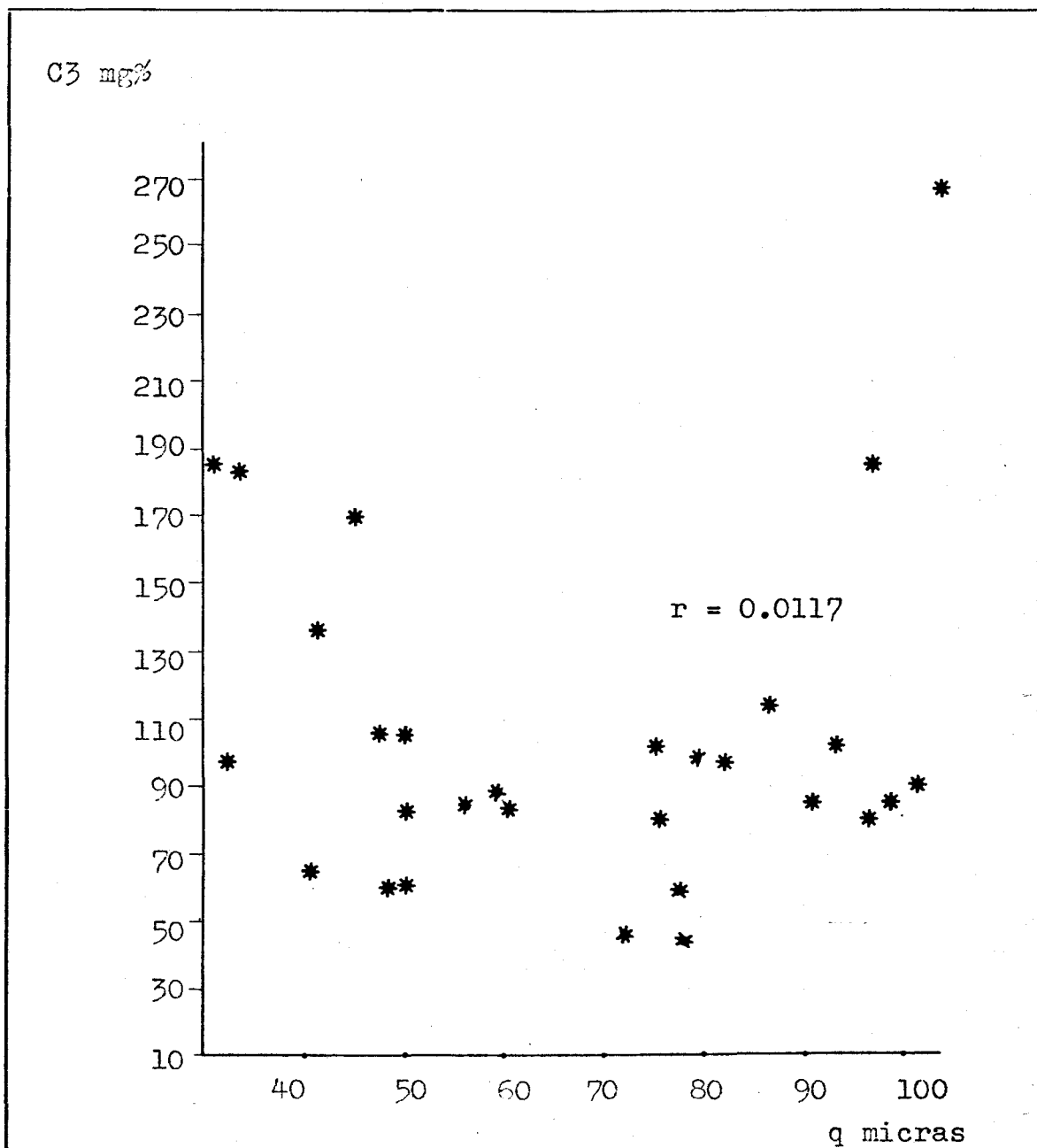


Figura nº 14 Correlación entre los niveles de C3 y el Quimiotactismo en los pacientes cirróticos cuando se empleó Suero del Enfermo.

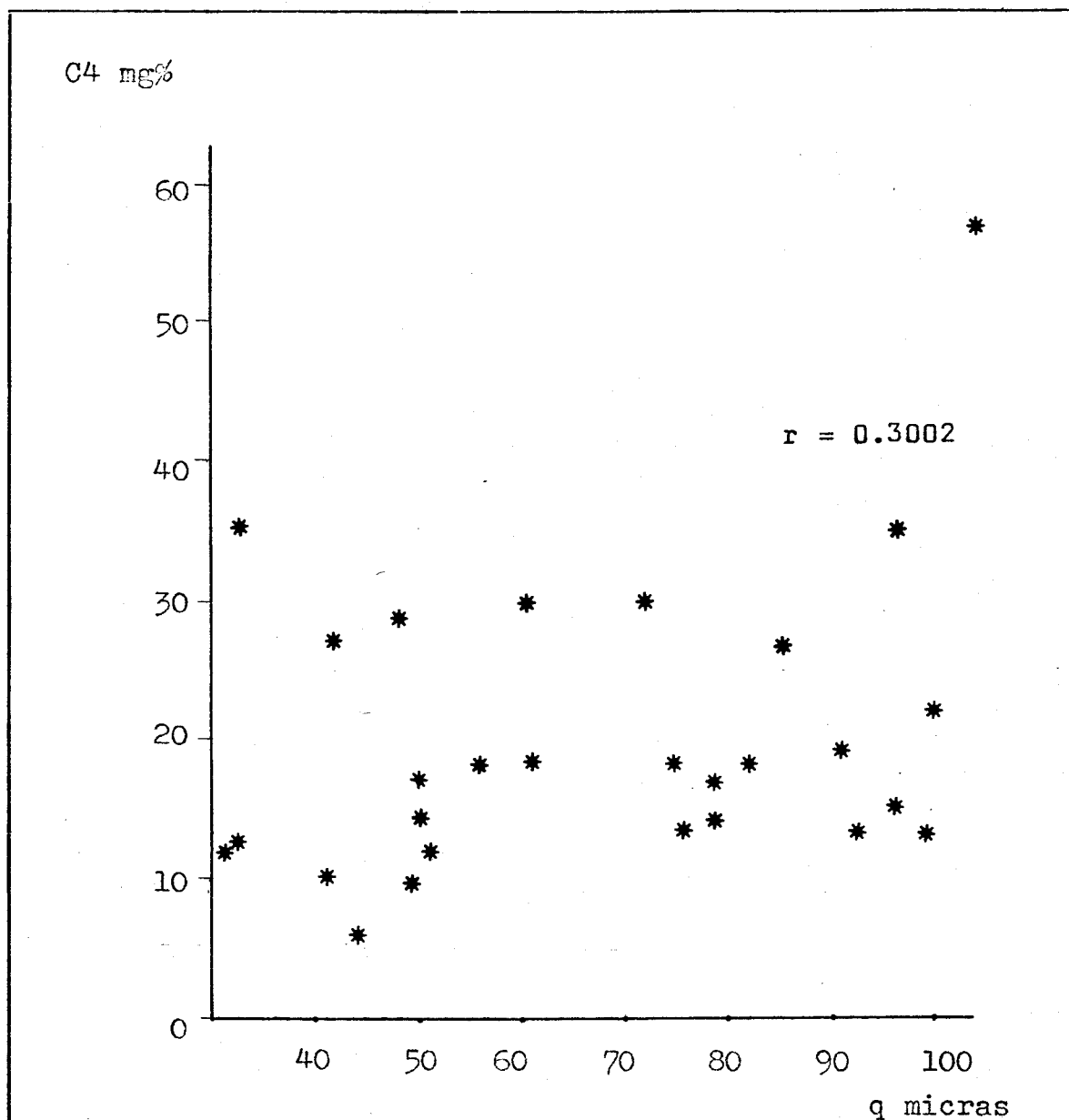


Figura nº 15 Correlación entre los niveles de C4 y el Quimiotactismo en los pacientes cirróticos cuando se empleó Suero del Enfermo.

No hemos encontrado en los pacientes estudiados, correlación entre la disminución de C3 y C4 y el grupo de cirróticos con inhibidores séricos del quimiotactismo, o con alteraciones a nivel celular por sí sola.

La disminución del Complemento no es, por tanto, una explicación adecuada al defecto de la motilidad celular observado en enfermos cirróticos. Resultados similares han sido encontrados por DeMeo y col. (1972) y Maderazo y col. (1975).

#### 4. Amoniemia

DeMeo y col. (1972) emitieron la hipótesis de que el nivel de amoniemia puede estar implicado en la aparición de inhibidores del quimiotactismo en los enfermos cirróticos. Nuestros resultados muestran una media aritmética de  $158.6 \text{ mg\%} \pm 51.4$  (valores normales: 70-170 mg%). La amoniemia estaba discretamente elevada en los enfermos nºs 5, 6, 16, 25 y 26, dentro del grupo con inhibidor del quimiotactismo.

Estos resultados y los datos de la literatura (Van Epps y col. (1975), en los que se ha descrito la aparición de inhibidores idénticos a los observados por DeMeo y col. (1972), con cifras de amoniemia normal habla en favor del escaso papel de la amoniemia en el quimiotactismo.

#### 5. Alfa-1-Antitripsina

La alfa-globulina del suero humano, contiene varios inhibidores proteasicos: alfa-1-antitripsina, alfa-1-antiquimotripsina, inter-alfa tripsina inhibidor y alfa-2-macroglobulina. La alfa-1-antitripsina es la mayor tripsina-inhibidor, pero puede tambien inhibir enzimas bacterianos, plasmina, trombina.

Berenberg y Ward (1973) aislaron de la región de la alfa-globulina del suero humano otro inactivador: el CFI. Este inhibidor actúa de una manera enzimal-like inactivando los factores quimiotacticos derivados y no derivados del complemento.

Ward y Talamo (1973) demostraron que los --

sueros deficientes en alfa-1-antitripsina son tambien deficientes en CFI. Este hecho puede guardar relación con los mecanismos responsables del desarrollo de enfisema pulmonar en pacientes con deficiencia severa - en alfa-1-antitripsina.

Tres y Muñoz (1977) estudian los inhibidores proteasicos, alfa-1-antitripsina y alfa-2-macroglobulina en hepatopatias. Encuentran cifras elevadas de alfa-1-antitripsina en la práctica totalidad de sus - pacientes estudiados, señalando que probablemente aparece un mayor incremento del inhibidor proteasico, -- cuando la agresión es importante y persistente.

Eletheriou, Heathcote, Thomas y Sherlock -- (1977) encuentran elevaciones de la alfa-1-antitripsina sérica en hepatopatias agudas y crónicas y señalan como esta proteina puede en estas condiciones modificar la respuesta inmune.

En el adulto pueden observarse casos de cirrosis asociadas con deficit parcial de alfa-1-antitripsina como señala Campra, Craig, Peters y Reinold (1973).



Maderazo y col. (1975) describen en un paciente con fibrosis hepática unos niveles disminuidos de CIF, junto a una marcada deficiencia de alfa-1-antitripsina.

En nuestros enfermos los valores medios de alfa-1-antitripsina encontrados eran de  $496 \text{ mg\%} \pm 163$ , discretamente elevado (valores normales 200-400 mg%). Se encontraron cifras francamente elevadas en los casos n<sup>os</sup> 7, 17 y 26, dentro del grupo con inhibidor -- del quimiotactismo.

No se encontró ningún caso de déficit parcial o total de alfa-1-antitripsina.

## 6. Bilirrubina

Durante la fagocitosis existe un marcado aumento de la oxidación de la glucosa por la vía del -- shunt de las hexosas monofosfato. Thong y Rencis (1977) describen una marcada inhibición de la actividad de -- este shunt durante la fagocitosis de los granulocitos al estar en presencia de bilirrubina, en un sistema --

in vitro, que sería más marcada cuando exista además hipoalbuminemia. Estos resultados no son corroborados en los trabajos de Territo y col. (1974) en pacientes cirróticos.

En nuestros enfermos, la hipoalbuminemia -- era un rasgo común, con un valor medio de 2.59 gr%  $\pm$  0.36 (valores normales: 3.5-5 gr%). El 51.6% de los - pacientes presentaban hiperbilirrubinemia con cifras que oscilan entre 2 y 16 mg%, con una media aritmética de 3.83 mg%  $\pm$  4.42.

En el grupo con inhibidor los valores eran de 3.3 mg%  $\pm$  4.

En el grupo con alteración del quimiotactismo, pero de tipo intrínseco, los valores eran de 3.6 mg%  $\pm$  4.5.

En las Figuras nºs 16 y 17 correlacionamos las cifras de bilirrubina con los valores del quimiotactismo.

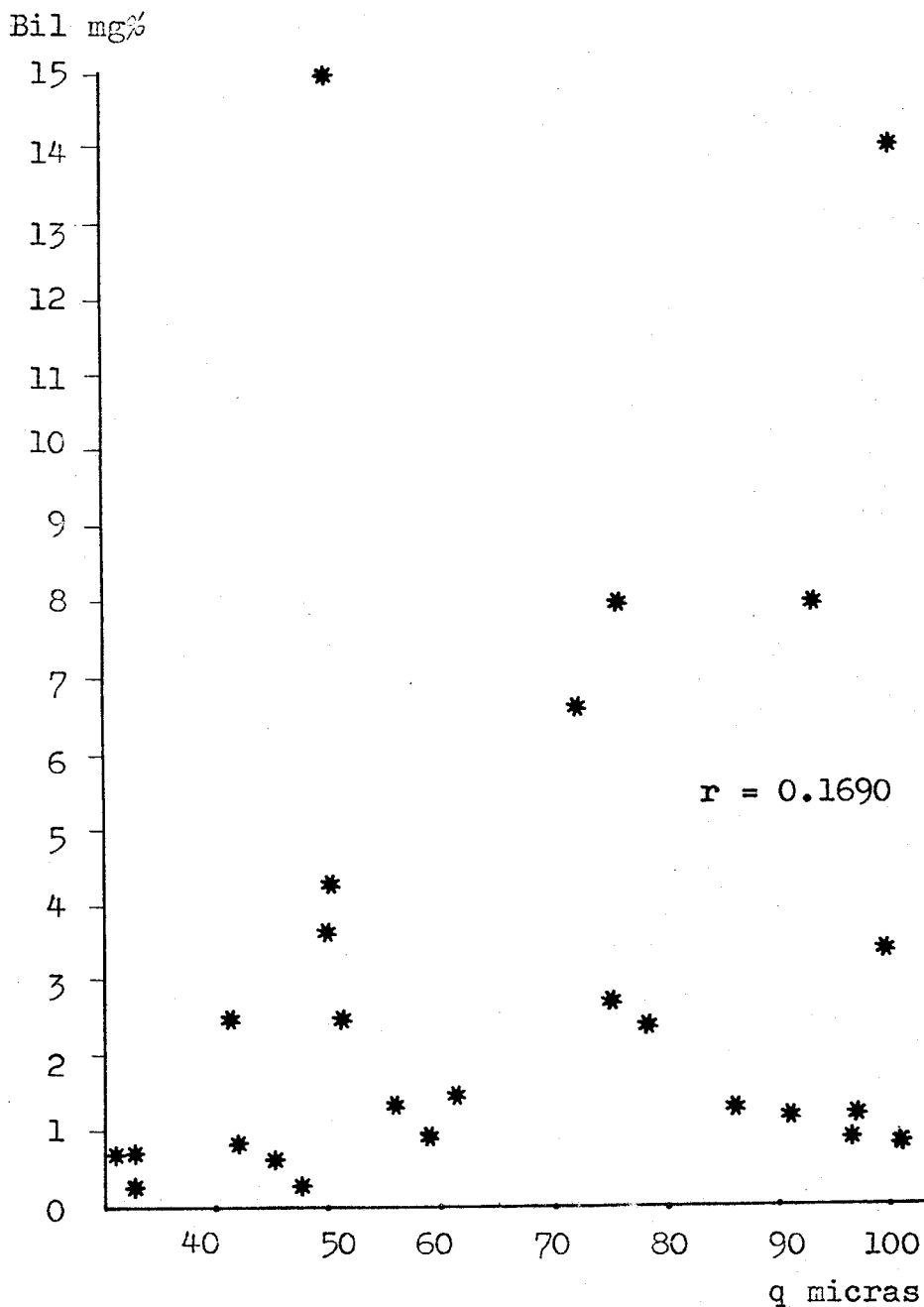


Figura nº 16 Correlación entre los niveles de Bilirru**u** bina y el Quimiotactismo en los pacien**te**s cirróticos cuando se empleó Suero **de**l Enfermo.

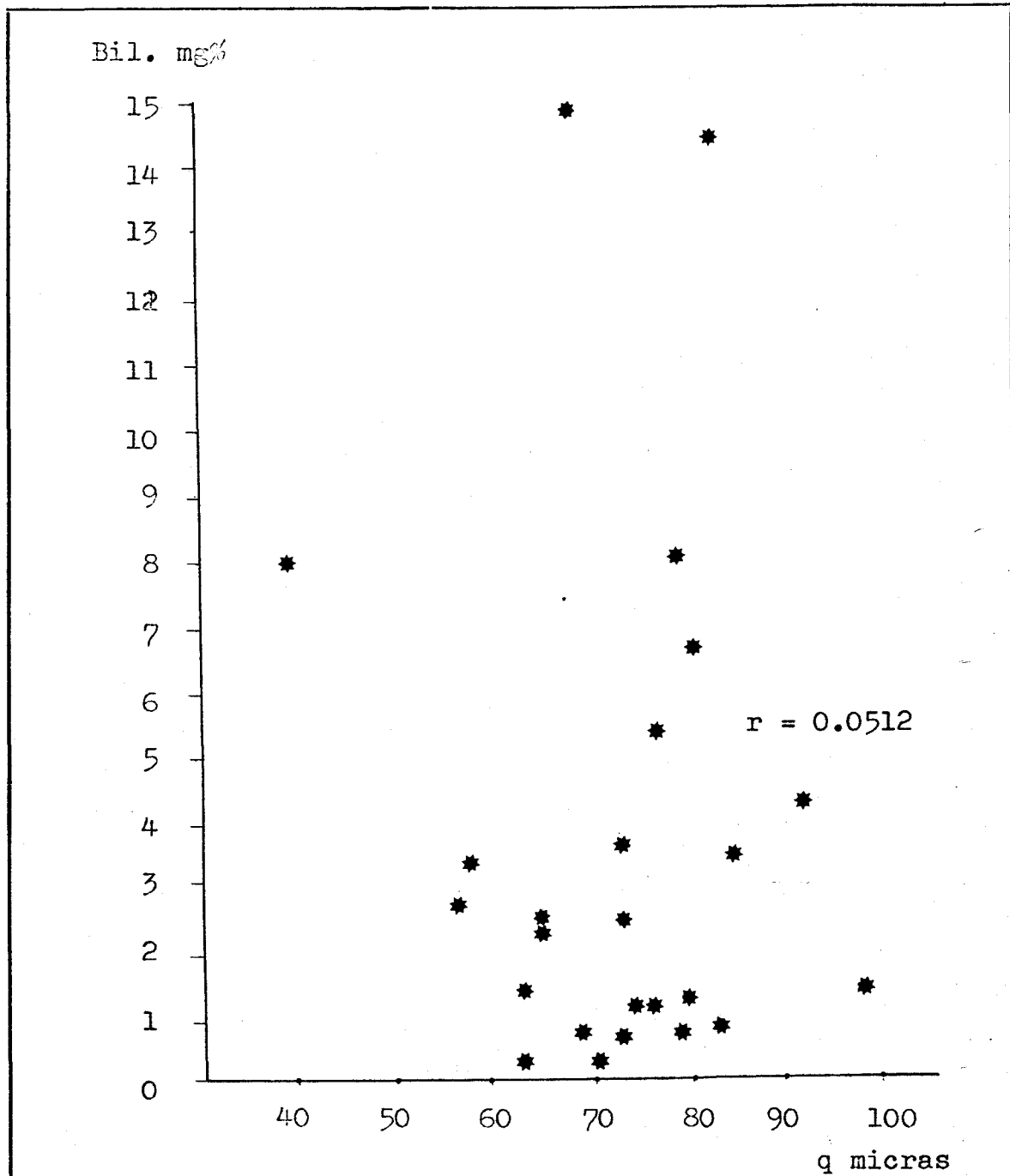


Figura nº 17 Correlación entre los niveles de Bilirrubina y el Quimiotactismo en los pacientes cirróticos cuando se empleó Suero Normal.

No hemos encontrado correlación entre las alteraciones de la fagocitosis y la bilirrubinemia, con valores de bilirrubinemia similares en los grupos con quimiotactismo normal y con quimiotactismo alterado, bien por la presencia de inhibidores o alteraciones intrínsecas de los PMN.

## 7. Lipidos

Recientes publicaciones han sugerido que el nivel de lipidos sanguíneos pueden afectar a los leucocitos y a otras funciones celulares (Norsdenstrom, Jarstrand y Wiernik, 1979). La incubación de granulocitos con acidos grasos libres saturados produce inhibición del quimiotactismo y de la capacidad bactericida (Hawley y Gordon, 1976). La hipercolesterinemia en las ratas aumenta el contenido en colesterol de la membrana de los macrofagos y disminuye la fagocitosis como señalan Dianzani, Torrielli, Canuto, García y Feo (1976). Trabajos similares fueron realizados por Perper, Oronski, Sanda y Stecher (1975) en ratas en presencia de quilomicrones circulantes.

El Colesterol de nuestros pacientes se encontraba dentro de la normalidad en todos los casos, con una media aritmética de  $213 \text{ mg\%} \pm 50$  (valores normales  $150-250 \text{ mg\%}$ ), por lo que no podemos implicarlo en las anomalías encontradas por nosotros en los enfermos cirroticos.

#### 8. Fosforo

En los pacientes alcohólicos existe tendencia a la hipofosforemia. Craddock, Yawata, Vansanten, Gilberstadt, Silvis y Jacob (1974) encontraron en pacientes con hipofosfatemia severa tras alimentación parenteral alteraciones del quimiotactismo en un 45% de casos:

En nuestros pacientes no hemos encontrado hipofosforemia en ningún caso, con valores medios de  $2.5 \text{ mg\%} \pm 0.29$ , estrictamente normales, por lo que no se puede responsabilizar de las alteraciones del quimiotactismo encontradas en nuestros pacientes.

## 9. Leucocitos

El número de leucocitos polimorfonucleares modifica los test de movilidad realizados in vitro, y podía así pensarse que la disminución de la migración espontánea podría ser debida a la disminución de los leucocitos que se observa con frecuencia en los enfermos cirróticos. Los trabajos de Patten, Gallin, Clark y Kimball (1973) muestran efectivamente una disminución de la migración espontánea cuando el número absoluto de polinucleares es inferior a 1.500 por  $\text{mm}^3$ . -- Ahora bien, todos los enfermos estudiados por nosotros tienen un número absoluto de fagocitos superior a 1.500.

En nuestros pacientes cirróticos, la disminución observada de la migración espontánea no es debida por tanto a una disminución de leucocitos.

El test del quimiotactismo por la técnica de Boyden no se influencia por el número de leucocitos, puesto que nosotros ajustamos el número de granulocitos in vitro, estableciendo un número igual para

todos los casos.

## 10. Infecciones

Hemos encontrado 7 casos de procesos infecciosos en los pacientes estudiados por nosotros, lo que suponen un 25%, si excluimos de este grupo las -- Hepatitis Agudas.

Se trataba en todos los casos de procesos inflamatorios agudos pulmonares, cinco eran de tipo Neumonia Lobar y 2 de Bronco-neumonia. La evolución de estas infecciones han sido las habituales, sin encontrar nosotros especial gravedad en las mismas.

No hemos encontrado ningún caso de sepsis en el momento de ser estudiados por nosotros.

No hemos constatado ninguna infección clínica evidente de líquido ascítico, y en los casos en -- que se estudió el mismo, en cinco ocasiones, no existían datos citológicos ni bacteriológicos compatibles con infección.



La incidencia de infecciones encontradas -- por nosotros es inferior al 48% citado por Rimola --- (1978), pero supone una cifra importante a valorar, -- más aún, teniendo en cuenta que fue en estos casos el factor desencadenante de la descompensación hepática que motivó el ingreso hospitalario.

Seis de estos siete pacientes, tenían una -- Cirrosis alcohólica y uno correspondía a una criptogenética. Tres de ellos presentaban en el momento del -- estudio un Inhibidor del Quimiotactismo, con un des-- censo marcado del mismo, que como ha señalado Van --- Epps y col. (1975) puede ser un trastorno estrictamente transitorio.

La especial localización pulmonar de las infecciones guarda relación, probablemente, con la de-- presión del reflejo tusígeno que presentan los pacientes alcohólicos junto a la tendencia general a las infecciones que tienen estos pacientes.

CONCLUSIONES

El conjunto de datos aportados en nuestro -  
trabajo y el análisis promenorizado de los mismos, --  
nos permiten extraer las siguientes conclusiones:

1. La Migración Espontánea está muy disminuida en los  
pacientes cirróticos estudiados, no habiendo encon  
trado diferencias apreciables entre los pacientes con  
cirrosis alcohólica y criptogenética.

En las Hepatitis Agudas estudiadas, la dis-  
minución de la Migración Espontánea es menor que en -  
los cirróticos.

Hemos hallado una disminución significativa  
del Quimiotactismo en los pacientes cirróticos, encon

trando que el 50% de ellos, poseen un inhibidor sérico del quimiotactismo. Igualmente hemos comprobado -- que el 48% de los pacientes cirróticos presentan una disminución del quimiotactismo por alteración a nivel celular. Estas alteraciones se presentan con igual -- frecuencia en las cirrosis alcohólica y criptogenética.

2. El Índice Fagocitario no presentaba diferencias en la población de enfermos cirróticos y en los sujetos sanos, así como el test de reducción del N.B.T., indicando que las funciones metabólicas de los granulocitos están preservadas.

3. Niveles séricos de Lisozima normales han sido encontrados en todos nuestros pacientes, salvo en -- uno que se encontraba elevado, por lo que podemos decir, que el Lisozima no está implicado en la tendencia a las infecciones de los pacientes cirróticos.

4. En los pacientes que tenían alteraciones del Quimiotactismo debidas a la presencia de un Inhibidor sérico los niveles de IgA fueron superiores a los del

grupo sin inhibidor del quimiotactismo.

5. La tendencia a la hipocomplementemia de los pacientes cirróticos, no es por si sola una explicación satisfactoria del defecto del quimiotactismo observado en ellos.

6. La amoniemia, la alfa-1-antitripsina, los lipidos, la fosforemia, la bilirrubinemia no modifican, según nuestros datos, las alteraciones de la motilidad encontradas.

En resumen, anomalías funcionales de los -- leucocitos polimorfonucleares, existen frecuentemente en los pacientes cirróticos, ligadas o no a factores séricos. Estos hallazgos hay que verlos en el contacto general de las anormalidades séricas de la inflamación de los pacientes cirróticos. Su papel fisiopatológico es difícil de precisar. Asociadas a otras anomalías celulares e inmunológicas de las hepatopatias, pueden contribuir a explicar la tendencia a las infecciones de estos pacientes.

BIBLIOGRAFIA

1. Alam, A.N., Wheeler, P., Wilkinson, S.P., Poston, L., Gdindano, C., and Williams, R. 1978.

Changes in the electrolyte content of leucocytes at different clinical stages of cirrhosis.

Gut 19: 650-654.

2. Alper, C.A., Abramson, N. and Johnston, R.B., Jr 1970

Increased susceptibility to infection associated -- with abnormalities of complement-mediated functions and of the third component of complement.

N.Engl.J.Med. 282: 354-358.

3. Apert, E., Isselbacher, K.J. and Schur, P.H. 1971

The pathogenesis of arthritis associated with viral hepatitis. Complement-component studies.

N.Engl.J.Med. 285: 185-189.

4. Andersen, B.R. 1975

Host factors causing increased susceptibility to infection in patients with Laennec's cirrhosis.

Ann. NY. Acad. Sci. 252: 348-352.

5. Atkinson, J.P., Sullivan, T.J., Kelly, J.P. and Parker, C.W. 1977.

Stimulation by alcohols of cyclic AMP metabolism in human leucocytes. Possible role of cyclic AMP in -- the anti-inflammatory effects of ethanol.

J. Clin. Invest. 60: 284-294.

6. Baum, J., Mowat, A.G. and Kirk, J.A. 1971

A simplified method for the measurement of chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes from human blood.

J. Lab. Clin. Med. 77: 501-504.

7. Becker, E.L. 1972

The relationship of the chemotactic behavior of the complement derived factor C3a, C5a, C567 and a bacterial chemotactic factor their ability to activate the proesterase 1 of rabbit polymorphonuclear leukocyte.

J. Exp. Med. 135: 376-385.

8. Berenberg, J.L. and Ward, P.A. 1972

Serum inhibitors of chemotactic factors

J. Clin. Invest. 51: 9 (Abstract)



9. Berenberg, J.L. and Ward, P.A. 1973  
Chemotactic factor inactivator in normal human serum.  
J. Clin. Invest. 52: 1200-1206.
  
10. Bjorneboe, M. and Prytz, H. 1975  
Kupffer cells and cirrhosis.  
Lancet I: 45-46.
  
11. Bjorneboe, M., Prytz, H. and Orskov, F. 1972  
Antibodies to intestinal microbes in serum of patients with cirrhosis of the liver.  
Lancet I: 58-60.
  
12. Blake, C.C. 1977  
Physical and chemical properties of Lysozyme  
Ciba Found. Symp. (60): 137-185.
  
13. Blumberg, B.S., Cerstley, B.J.S., Hungerford, D.A.,  
Condon, W.T., and Sutnick, A.I. 1967  
A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukaemia and hepatitis.  
Ann. Intern. Med. 66: 924-931.

14. Boxer, L.A., Hedley-Whyte, E.T. and Stossel, T.P. 1974  
Neutrophil actin dysfunction and abnormal neutrophil behavior.  
N. Engl. J. Med. 291: 1093-1099
  
15. Boyden, S. 1962  
The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes.  
J. Exp. Med. 115: 453-466
  
16. Brandt, L. 1967  
Studies on the phagocytic activity of neutrophilic leukocytes.  
Scand, J. Haematol. Suppl. n<sup>o</sup> 2
  
17. Brayton, R.G., Stokes, P.E., Schwartz, M.S. and Louria, D.B. 1970  
Effect of alcohol and various diseases on leukocyte mobilization, phagocytosis and intracellular bacterial killing.  
N. Engl. J. Med. 282: 123-128.

18. Brozna, J.P., Senior, R.M., and Kreutzer, D.L. 1977  
Chemotactic factor inactivators of human granulocytes.  
J. Clin. Invest. 60: 1286-1288.
19. Burbige, E.J., Tarder, T., Denton, C., Harkin, D., -  
Luehrs, E. and French, S.W. 1976  
Predominantly T-cell infiltrate in the liver in alcoholic hepatitis.  
Gastroenterology, 71: 5.
20. Callard, P., Feldmann, G., Prandi, D., Belair, M.F.,  
Maudet, C., Weiss, Y., Druet, P., Benhamon, J.P., -  
and Bariety, J. 1975  
Immune complex type glomerulonephritis in cirrhosis  
of the liver.  
Am. J. Path. 80: 329-338.
21. Campra, J.L., Craig, J.R., Peters, R.L. and Reinolds,  
T.F. 1973  
Cirrhosis associated with partial deficiency of alpha -1- antitrypsin in adult.  
Ann. Inter. Med. 78: 233-236

22. Caroli, J. and Pattenørse, R. 1958  
Septicemie portocave, cirrhoses du foie et septicè-  
mie à colibacille.  
Sem. Hop. Paris 34: 472-487
  
23. Chen, T., Kanagasundaram, N. and Kakumu, S. 1976  
Hepatic lymphocyte subpopulations.  
Gastroenterology 71: 900 (Abstract).
  
24. Chomet, B. and Gach, B.M. 1967  
Lobar pneumonia and alcoholism: and analysis of ---  
thirty-seven cases.  
Am. J. Med. Sci. 253: 300-304.
  
25. Citrom, K.M. 1957  
Skin test in Sarcoidosis  
Tuberde 38: 33-41.
  
26. Clark, R.A., Frank, M.M. and Kimball, H.R. 1973  
Generation of chemotactic factors in guinea pig se-  
rum via activation of the classical and alternate -  
complement pathways.  
Clin. Immunol. Immunolpath. 1: 414-426.

27. Clark, R.A., Harmoy, B.H., Ford, G.H. and Kimball, H.R. 1972  
Chemotaxis in acute renal failure.  
J. Infect. Dis. 126: 460-463.
28. Clark, R.A. and Kimball, H.R. 1971  
Defective granulocyte chemotaxis in the Chediak-Higashi syndrome.  
J. Clin. Invest. 50: 2645-2652.
29. Clark, R.A., Kimball, H.R. and Decker, J.L. 1974  
Neutrophil chemotaxis in systemic lupus erythematosus.  
Ann. Rheum. Dis. 33: 167-172
30. Cohn, Z.A. and Hirsch, J.G. 1960  
The isolation and properties of the specific cytoplasmic granules of rabbit polymorphonuclear leucocytes.  
J. Exp. Med. 112: 983-986

31. Conn. H.O. and Fessel, J.M. 1971

Spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: variations on a theme.

Medicine (Baltimore) 50: 161-197

32. Constantopoulos, A., Najjar, V.A. and Smith, J.W. - 1962.

Tufsin deficiency: a new syndrome with defective -- phagocytosis.

J. Pediatr. 80: 564-572

33. Craddock, P.R., Yawata, Y., Vansanten, L., Gilbertstadt, S., Silvis, S. and Jacob, H.S. 1974

Acquired phagocyte dysfunction. A complication of - the hypophosphatemia of parenteral hyperalimentation.

N. Engl. J. Med. 290: 1403-1407

34. Cream, J.J. 1979

Chemotaxis in Boyden's chamber: a comparison of the double and single filter techniques.

J. Immunol. Methods. 25: 193-195

35. Crowley, J.P. and Abramson, N. 1971  
Effect of ethanol on complement-mediated chemotaxis.  
Clin. Res. 19: 415-418
36. Cutler, J.E. 1974  
A simple in vitro method for studies on chemotaxis.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 147: 471
37. Davis, A.T., Grady, P.G., Shapira, E. and Pachman,  
L.M. 1977  
PMN chemotactic inhibition associated with a cryo--  
globulin.  
J. Pediatr. 90: 225-229
38. Davis, C.S. 1971  
Diagnostic value of muramidase.  
Laboratory Medecine 5: 51-54
39. DeMeo, A.N. and Andersen, B.R. 1972  
Defective chemotaxis associated with a serum inhibii  
tor in cirrhotic patients.  
N. Engel. J. Med. 286: 735-740

40. De Prado Isla, L.H. y Artigas, L. 1973  
Comportamiento de las inmunoglobulinas IgA, IgG, IgM  
y transferrina en la enfermedad hepatica alcohólica.  
Rev. Clin. Esp. 130: 51-55
41. Dianzani, M.U., Tarrielli, M.V., Canuto, R.A, García  
R. and Feo, F. 1976  
The influence of enrichment with cholesterol on the  
phagocytic activity of rat macrophages.  
J. Pathol. 118: 193-199
42. Eletheriou, N., Heathcote, J., Thomas, H.C. and --  
Sherlock, S. 1977  
Serum alpha-fetoprotein levels in patients with acu  
te and chronic liver disease. Relation to hepatoce-  
llular regeneration and developement of primaty li-  
ver cell carcinoma.  
J. Clin. Pathol. 30: 704-708.
43. Falchuk, K.R., Perrotto, J.L. and Isselbacher, K.L.  
1975  
Serum lysozyme in Crohn's disease and ulcerative co  
litis.  
N. Engl. J. Med. 292: 395-397



44. Farhoudi, A., Harvey, B.A.M. and Soothill, J.F. 1978  
Clinicopathological finding in patients with primary and secondary defects of neutrophil mobility.  
Arch. Dis. Child. 53: 625-630.
45. Feliu, E. y Hakim, J. 1979  
Estudio del funcionalismo granulocitario en la cirrosis hepática.  
Sangre 24: 768-779
46. Fernández-Huertas, J.M., Rodes, J. y Rozman, C. 1978  
Alteración de la quimiotaxis leucocitaria en la cirrosis hepática.  
Med. Clin. (Barcelona) 71:203-205
47. Fernández-Nogues, F., Castells Rodellas, A. y Verdier, J. 1972  
La prueba de la transformación linfoblástica en la hepatitis y cirrosis.  
Med. Clin. (Barcelona) 58: 471-473

48. Fierer, J. and Finley, F. 1979  
Deficient serum bactericidal activity against Esche  
richia Coli in patients with cirrhosis of the liver.  
J. Clin. Invest. 63: 912-921
49. Fleming, A. 1922  
On a remarkable bacteriolytic element found in ti--  
ssues and secretions.  
Proc. R. Soc. 93: 306-317
50. Furukawa, C.T. and Altman, L.C. 1978  
Defective monocyte and polymorphonuclear leukocyte  
chemotaxis in atopic disease.  
J. Allergy Clin. Immunol. 61: 288-293
51. Gallin, J.I. and Kaplin, A.P. 1974  
Mononuclear cell chemotactic activity of kallikrein  
and plasminogen activator and its inhibition by C1  
inhibitor and alfa2 macroglobulin.  
J. Immunol. 113: 1928-1934

52. Gewurz, H., Page, A.P., Pickering, R.J. and Good, R. A. 1967  
Complement activity and inflammatory neutrophil exu-  
dation in man.  
Int. Arch. Allergy 32: 64
53. Gluckman, S.J. and Macgregor, R.R. 1978  
Effect of acute alcohol intoxication on granulocyte  
mobilization and kinetics.  
Blood 52: 551-559
54. Goetzl, E. and Austen, K.F. 1972  
A neutrophil-immobilizing factor derived from human  
leukocytes. I. Generation and partial characteriza-  
tion.  
J. Exp. Med. 136: 1564-1580
55. Gradjean, E.M., Nydegger, V., Widmann, J.J., Lam-  
bert, P.H. and Miescher, P.A. 1979  
Activation du complement dans diverses affections -  
hepatiques.  
Schweiz. Med. Wschr. 109: 1830-1832

56. Grob, P.J., Jemelka, H.J. and Muller, J.W. 1971  
Beta la and SH antigen in chronic hepatitis.  
Gastroenterology 61, 91.
57. Guardia, J., Pedreira, J.D., Martínez-Vázquez, J.M.,  
Bacardi, R. y Tornos, J. 1976  
Inmunopatología hepática.  
XII Congreso de la Sociedad Española de Medicina In  
terna. Acta. pág, 89-123
58. Hallengren, B. and Forsgen, A. 1978  
Effect of alcohol on chemotaxis, adherence and pha-  
gocytosis of human polymorphonuclear leucocytes.  
Acta Med. Scand. 204: 43-48
59. Hansen, N.E. 1979  
Elevated plasma lysozime in Hodgkin's disease. An -  
indicator of increased macrophage activity.  
Scand. J. Hematol. 22: 173-178
60. Hassner, A., Kletter, Y., Jedvad, M., Aronson, M.,  
and Shibolet, S. 1979  
Impaired monocyte function in liver cirrhosis.  
Lancet I: 329-330

61. Hawley, H.P. and Gordon, G.B. 1976

The effects of long chain free fatty acids on human neutrophil function and structure.

Lab. Invest. 34: 216-222

62. Hellum, K.B. and Solberg, C.O. 1973

Positive N.B.T. test in acute viral hepatitis.

Lancet I: 1181

63. Herrerías Gutiérrez, J.M. y Pérez Cano, R. 1979

Higado y Alcohol. Hepatitis Alcohólica.

Ed. Castalia. Madrid. pág. 128-129

64. Hersh, E.M. and Oppenheim, J.J. 1965

Impaired in vitro lymphocyte transformation in Hodgkin's disease.

N. Engl. J. Med. 273: 1006-1012

65. Hill, A.G.S. 1968

The role of infection in the consution of rheumatoid arthritis.

Proc. Roy. Soc. Med. 61: 971-974.

66. Hirsch, J.G. 1960  
Futher studies on preparation and properties of phagocytin.  
J. Exp. Med. 111: 323-337
67. Hughes, W., Armendariz, M. and Goldman, A. 1974  
Deficiency of an antagonist to a serum inhibitor of leukotasis in cirrhosis patients.  
Gastroenterology 66: 846 (A-192)
68. Jensen, J.A. and Esquenazi, V. 1975  
Chemotactic stimulation by cell surface immune reaction.  
Nature 236: 213
69. Kanagasundaram, N. and Leevy, C.M. 1979  
Aspectos inmunológicos de las hepatopatías  
Med. Clin. Noth. Am. (Ed. española) Vol. 3
70. Kaplan, A.P., Goetzl, B.J. and Austen, K.F. 1973  
The fibrinolytic pathway of human plasma. The generation of chemotactic activity by activation of --- plasminogen proactivation.  
J. Clin. Invest. 52: 2591-2595

71. Keller, H.V., Borel, J.F., Wilkinson, H.M.W. and Cottier, H. 1972  
Re-assessment of Boyden's technique for measuring chemotaxis.  
J. Imm. Methods 1: 165-168
72. Ketchel, M.M. and Favour, C.B. 1955  
The acceleration and inhibition of migration of human leukocytes in vitro by plasma protein fractions.  
J. Exp. Med. 101: 647-663
73. Khan, A.J., Lee, C.K., Wolff, J.A., Chang, H., Khan, P. and Evans, H. 1977  
Defects of neutrophil chemotaxis and Random migration in thalassemia major.  
Pediatrics 60: 349-355
74. Klebanoff, S.J. 1968  
Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxide antibacterial system.  
J. Bacteriol. 95: 2131-2142

75. Klebanoff, S.J. 1975

Antimicrobial mechanisms in neutrophilic polymorpho  
nuclear leucocytes.

Semin. Hematol. 12: 117-142

76. Landry, M. 1977

Phagocyte function and cell-mediated immunity in --  
systemic lupus erythematosus.

Arch. Dermatol. 113: 147-154

77. MacGregor, R.R., Spagnuolo, P.J. and Lentnek, A.L.  
1974

Inhibition of granulocyte adherence by ethanol, pre  
disone, and aspirin, measured with a new assay sys-  
tem.

N. Engl. J. Med. 291: 642-646

78. MacSween, R.N.M., Galbraith, J., Thomas, M.A., Wat-  
kinson, G. and Ludlan, G.B. 1973

Phytohemagglutinin induced lymphocyte transformation  
and toxoplasma Gondii antibody studies in primary -  
biliary cirrhosis.

Clin. Exp. Immunol. 15: 35-39



79. Maderazo, E., Ward, P. and Quintilliani, R. 1975  
Defective regulation of chemotaxis in cirrhosis.  
J. Lab. Clin. Med. 85: 621-625
80. Maderazo, E., Ward, P. and Woronick, C.L. 1975  
Partial characterization of a cell-directed inhibitor  
of leukotaxis and its antagonist (abstract).  
Fifteenth Interscience Conference on Antimicrobial  
Agents and chemotherapy. Bethesda, Maryland, American  
Society for Microbiology. nº 64.
81. Maderazo, E.G., Ward, P.A., Woronick, C.L., Kubi, K.  
J. and DeGraff, A.C.Jr. 1976  
Leukotactic dysfunction in sarcoidosis.  
Ann. Intern. Med. 84: 414-419
82. Maderazo, E.G., Ward, P.A., Woronick, C.L. and Quintilliani, R. 1977  
Partial characterization of a cell-directed inhibitor  
of leukotaxis in normal serum.  
J. Lab. Clin. Med. 89: 190-193

83. Magliulo, E. and Benzi-Cepelli, R. 1975  
Impaired leukotaxis in viral Hepatitis B.  
N. Engl. J. Med. 293: 303-304
84. Metchnikoff, E. 1905  
Immunity in Infective Disease  
University Press. London, Cambridge.
85. Miller, M.E. 1971  
Chemotactic function in the human neonates: humoral  
and cellular aspects.  
Pediatr. Res. 5: 487-492
86. Miller, M.E. and Nilsson, U.R. 1970  
A familial deficiency of the phagocytosis enhancing  
activity of serum related to a dysfunction of the -  
fifth component of Complement (C5)  
N. Engl. J. Med. 282: 354-358
87. Miller, M.E., Oski, F.A. and Harris, H.B. 1971  
Lazy leukocyte syndrome  
Lancet I: 665-669

88. Modi, C.M. and Valsitis, J. 1974  
Herpesvirus encephalitis and pulmonary sarcoidosis.  
A case report with necropsy finding  
Neurology 24: 1096-1101
89. Mowat, A.G. and Baum, J. 1971  
Chemotaxis of polymorphonuclear leukocyte from pa--  
tients with diabetes mellitus.  
N. Engl. J. Med. 284: 621-627
90. Mowat, A.G. and Baum, J. 1971  
Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes from pa--  
tients with Rheumatoid Arthritis  
J. Clin. Invest. 50: 2541-2549
91. Mutchnick, M.G. and White, D.S. 1976  
A defect on thymus dependent (T) lymphocytes in al  
coholic hepatitis. Abstract.  
Gastroenterology 71: 594
92. Nordenström, J., Jarstrand, C. and Wiernik, A. 1979  
Decreased chemotactic and randoms migration of leu-  
cocytes during intralipid infusion  
Am. J. Clin. Nut. 32: 2416-2420

93. Norman, M.E. and Miller, M.E. 1973  
Spontaneous chemotaxis in patients with glomerulonephritis and the nephrotic syndrome.  
J. Pediatr. 83: 390-398
94. Osserman, E.F. and Lawlor, D.P. 1966  
Serum and urinary lysozyme (muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia  
J. Exp. Med. 124: 921-951
95. Park, B.H., Fikrig, S.M. and S.M. and Smithwick, E. M. 1968  
Infection and nitrobleu-tetrazolium reduction by -- neutrophil  
Lancet II: 532-534
96. Pascual, R.S., Gee, J.B.L. and Finch, S.D. 1973  
Usefulness of serum lysozyme measurement in diagnosis and evaluation of sarcoidosis.  
N. Engl. J. Med. 289: 1074-1076

97. Patten, E., Gallin, J., Clark, R.A. and Kimball, H. R. 1973  
Effects of cell concentration and various anticoagulants on neutrophil migration  
Blood 41: 711-719
98. Peltier, A.P. 1974  
L'opsonisation  
Nouv. Rev. Franc. Hémat. 14: 247-257
99. Pérez, H.D., Andron, R.I. and Goldstein, I.R. 1979  
Infection in patients with systemic lupus erythematosus. Association with a serum inhibitor of complement-derived chemotactic activity.  
Arthr. Rheum. 22: 1326-1333
100. Pérez, H.D., Lipton, M. and Goldstein, I.R. 1978  
A specific inhibitor of complement (C5)-derived chemotactic activity in serum from patients with Systemic Lupus Erythematosus.  
J. Clin. Invest. 62: 29-38

101. Perillie, P.E., Khan, K. and Finch, S.C. 1973  
Serum lysozyme in pulmonary tuberculosis  
Am. J. Med. Sci. 265: 297-302
102. Perper, R.J., Oronsky, A.L., Sanda, M. and Stecher,  
V.J. 1975  
In vivo chemotaxis of rat leukocytes in the presen-  
ce of circulating chylomicrones.  
Atherosclerosis 22: 257-269
103. Petz, L.D. 1971  
Variable mechanisms for low serum-complement in li-  
ver disease.  
Lancet II: 1033-1038
104. Phelps, P. and Stanislaw, D. 1969  
Polymorphonuclear leukocyte motility in vitro. Ef-  
fect of pH, temperatura, ethyl alcohol and ceffeine  
using a modified Boyden chamber technic.  
Arthr. Rheum. 12: 181-184.

105. Pickrell, K.L. 1938  
The effect of alcoholic intoxication and ether anesthesia on resistance to pneumococal infection.  
Bull. Johns Hopkins Hosp. 63: 238-260
106. Potter, B.J., Trueman, A.M. and Jones, E.A. 1973  
Serum Complement in chronic liver disease.  
Gut. 14: 451-455
107. Ratnoff, O. and Patek, A. 1942  
Intercurrent infection in 386 patients with cirrhosis.  
Medicine (Baltimore) 21: 207-268
108. Repine, J.E., Clawson, C.C., Rasp, F.L.Jr., Sarosi, G.A. and Hoidal, J.R. 1978  
Defective neutrophil locomotion in human Blastomycosis: Evidence for a serum inhibitor.  
Am. Rev. Resp. Dis. 118: 325-334
109. Rimola, A. 1978  
Infecciones en la cirrosis hepática  
Medicina 2: 113-122

110. Rosen, F.S. 1971

The Complement system and increased susceptibility to infection.

Semin. Hematol. 8: 221-224

111. Rossi, F. 1980

Etapas celulares de la Inflamación- aspectos bioquímicos de la fagocitosis.

Gazzeta Sanitaria 5-22

112. Ryan, G.B. and Majno, G. 1977

Acute Inflammation. A review

Am. J. Pathol. 86: 183-276

113. Sbarra, A.J. and Karnovsky, M.L. 1959

The biochemical bases of phagocytosis. I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes.

J. Biol. Chem. 234: 1355-1362

114. Seminars in Hematology

Vol. XII nº 2, April 1975



115. Sherlock, S. 1977  
Immunological changes in liver disease.  
Proc. R. Soc. Med. 70: 851-855
116. Simberkoff, M.S., Moldover, N.H. and Weiss, G. 1978  
Bactericidal and opsonic activity of cirrhosis ascites and non ascitic peritoneal fluid.  
J. Lab. Clin. Med. 91: 831-839
117. Simjee, A.E., Hamilton-Miller, J.M.T., Thomas, H.C. Brumfitt, W., and Sherlock, S. 1975  
Antibodies to Escherichia Coli in chronic liver disease.  
Gut 16: 871-875
118. Slavin, S., Zlotnick, A., Levit, I.S. and Eliakim, M. 1974  
Clinical Implications of monoclonal gammopathy in chronic liver diseases.  
Am. J. Dig. Dis. 19: 223-228

119. Smith, C.W., Hollers, J.C., Dupres, E., Goldman, A. S. and Lord, R.A. 1972  
A serum inhibitor of leukotaxis in a child with recu  
rrent infections.  
J. Lab. Clin. Med. 79: 878-885
120. Soriano, R.P., South, M.A. and Goldman, A.S. 1973  
Defect of neutrophil motility in a child with recu  
rrent bacterial infections and disseminated cytome-  
galovirus infection.  
J. Pediatr. 83: 951-956
121. Spagnuolo, P.J. and MacGregor, R.R. 1975  
Acute ethanol ~~eff~~ect on chemotaxis and other components  
of host defense.  
J. Lab. Clin. Med. 86: 24-31
122. Staples, P.J., Gerding, D.N., Decker, J.L. and Gor-  
don, R.S. 1974  
Incidence of infection in systemic lupus erythemato  
sus.  
Arthritis. Rheum. 17: 1-10.

123. Stossel, T.P. 1974  
Phagocytosis (First of three parts).  
N. Engl. J. Med. 290: 717-723
124. Stossel, T.P. 1974  
Pgagocytosis (Second of three parts)  
N. Engl. J. Med. 290: 774-780
125. Stossel, T.P. 1974  
Phagocytosis (Third of three parts)  
N. Engl. J. Med. 290: 833-839
126. Stossel, T.P. 1975  
Phagocytosis: recognition and ingestion  
Semin. Hematol. 12: 83-114
127. Strauss, R.R., Paul, B.B., Jacobs, A.A. and Sbarra, A.J. 1969  
The role of the phagocyte in host parasite interactions. XIX. Leucocyte glutation reductase and its involvement in phagocytic.  
Arch. Biochem. Biophys. 135: 265-271

128. Sulavik, S.B. and Quintilliani, R. 1974  
Relationship of cryptococcosis to sarcoidosis.  
Proceeding of the 6th International Conference on -  
Sarcoidosis.  
Tokyo, University of Tokyo Press. pág. 239
129. Teisberg, P. and Gjone, E. 1973  
Circulating conversion products of C3 in liver disea  
se. Evidence for in vivo activation of the Comple-  
ment system.  
Clin. Exp. Immunol. 14: 509-514
130. Territo, M.C., Davison, W.D. and Tanak, K. 1974  
A circulating activator of granulocytes in liver dis  
ease.  
Experientia 30: 302-303
131. Thomas, H.C. 1977  
The role of the liver in immunological disease.  
Proc. Roy. Soc. Med. 70: 521-525

132. Thomas, H.C., Hodgson, H., Jain, S., Potter, B. and Sherlock, S. 1976  
Immune complexes in acute and chronic liver diseases.  
Digestion 14: 34-41
133. Thomas, H.C., Holden, R., Verrier, J.J. and Peacock, D.B. 1976  
Immune response to  $\phi$  X in man. 5. Primary and secondary antibody production in primary biliary cirrhosis.  
Gut 17: 844-848.
134. Thomas, H.C., Singer, C., Folch, H., Tilney, N. and MacSween, R.N.M. 1976  
The immune response in cirrhosis rats: antigen distribution, humoral and cell-mediated immunity and splenic suppressor cell activity.  
Clin. Exp. Immunol. 26: 574-582.
135. Thompson, R.A., Carter, R., Stokes, R.P., Geddes, J. and Goodall, A. 1973  
Serum immunoglobulins, complement, component levels and autoantibodies in liver diseases.  
Clin. Exp. Immunol. 14: 335-339

136. Thong, Y.H. and Rencis, V. 1977  
Bilirrubin inhibits hexose-monophosphate shunt acti  
vity of phagocytosing neutrophils.  
Act. Pediatr. Scand. 66: 757-759
137. Till, G. and Ward, P.A. 1975  
Two distinct chemotactic factor inactivator in hu--  
man serum.  
J. Immunol. 114: 843-847
138. Torruela, M., Guardia, J. Martínez-Vázquez, J.M., -  
Bacardi, R., Tornos, J., Mari, L., Gallart, M<sup>a</sup>.T. y  
Martín, C. 1974  
Inmunoglobulinas, Autoanticuerpos y Antígeno Austra  
lia en las hepatitis crónicas.  
Rev. Clin. Esp. 134: 553-557
139. Tres, A. y Muñoz, J.R. 1977  
Inhibidores proteasicos, alfa-1-antitripsina y alfa-  
-2-macroglobulina en procesos hepáticos.  
Rev. Clin. Esp. 145: 407-409

140. Triger, D.R., Alp. M.M. and Wright, R. 1972  
Bacterial and dietary antibodies in liver diseases.  
Lancet I: 60-63
141. Van Epps, D.E., Palmer, D.L. and Williams, R.C. 1974  
Characterization of serum inhibitors of neutrophil  
chemotaxis associated with anergy.  
J. Immunol. 113: 189-200
142. Van Epps, D.E., Strickland, R.G. and Williams, R.C.  
1975  
Inhibidores de la quimiotaxis leucocitaria en la he  
patopatía alcohólica.  
Am. J. Med. (ed. esp.) 2: 64-70
143. Van Epps, D.E. and Williams, R.C. 1976  
Suppression of leukocyte chemotaxis by human IgA mye  
loma components.  
J. Exp. Med. 144: 1227-1242

144. Verdiell, J., Buendia, E., Castell Rodellas, A., Torras, M.A., Portus, T. y Fernández-Nogués, F. 1976  
La inhibición de la migración de los macrófagos ---  
(MIT) en los enfermos cirróticos.  
Med. Clin. (Barcelona) 67: 287-290
145. Vierucci, A., DeMartino, M., London, W.T. and Blumberg, B.S. 1977  
Neutrophil function in children who are carriers of  
hepatites-B surface antigen.  
Lancet I: 157-161
146. Wahl, S.M., Iverson, G.M. and Oppenheim, J.J. 1974  
Induction of guinea pig B-cell lymphokine synthesis  
by mitogenic and non-mitogenic signals to Fc, Ig and  
C3 receptors.  
J. Exp. Med. 140: 1631-1636
147. Walker, W.S., Barlet, R.C. and Kurtz, H.M. 1969  
Isolation and partial characterization of a staphylococcal leukocyte cytotoxin.  
J. Bacteriol. 97: 1005-1008



148. Ward, P.A., 1967

A plasmin-split fragment of C3 as a new chemotactic factor.

J. Exp. Med. 126: 189-192

149. Ward, P.A. 1974

Leukotaxis and leukotactic disorders.

Am. J. Pathol. 77: 520-538

150. Ward, P.A. and Berenberg, J.L. 1974

Defective regulation of inflammatory mediation in - Hodgkin's disease. Supernormal levels of chemotactic factor inactivator.

N. Engl. J. Med. 290: 76-80

151. Ward, P.A., Chapitis, J. and Conroy, M.C. 1973

Generation by bacterial proteinases of leukotactic factor from human serum and human C3 and C5

J. Immunol. 110: 1003-1009

152. Ward, P.A., Cohen, S. and Flanagan, T.D. 1972

Leukotactic factors elevated by virus-infected tissues.

J. Exp. Med. 133: 1095-1099

153. Ward, P.A. and Newman, L.J. 1969  
A neutrophil chemotactic factor from human C5.  
J. Immunol. 102: 93-99
154. Ward, P.A. and Ozols, J. 1976  
Characterization of the protease activity in the chemotactic factor inactivator.  
J. Clin. Invest. 58: 123-129
155. Ward, P.A., Remold, H.G. and David, J.R. 1970  
The production by antigen-stimulated lymphocytes of a leukotactic factor distinct from migration inhibitory factor.  
Cell. Immunol. 1: 162-174
156. Ward, P.A. and Schlegel, R.J. 1969  
Impaired leukotactic responsiveness in a child with recurrent infections.  
Lancet II: 344-347
157. Ward, P.A. and Talamo, R.C. 1973  
Deficiency of the Chemotactic Factor Inactivator in Human sera with alpha-1-antitrypsin deficiency.  
J. Clin. Invest. 52: 516-519

158. Ward, P.A. and Zvaifler, R. 1973  
Quantitative phagocytosis by neutrophils, II. Release of the C5-cleaving enzyme and inhibition of phagocytose by rheumatoid factor.  
J. Immunol. 104: 1777-1782
159. Wardlaw, A.C. 1962  
The Complement-dependent bacteriolytic activity of normal human serum.  
J. Exp. Med. 115: 1231-1235
160. Wilkinson, P.C. 1974  
Chemotaxis and Inflammation  
Churchill-Livingstone. Edinburgh-London. 1974
161. Wilkinson, P.C. 1976  
Recognition and response in mononuclear and granular phagocytes.  
Clin. Exp. Immunol. 25: 355-358

162. Wilkinson, P.C. and MacKay, I.C. 1974  
Recognition in leukocyte chemotaxis. Studies with -  
structurally modified proteins.  
Antibiot. Chemother. 19: 421-424
163. Wright, R. 1972  
The Australia Antigen in autoimmune liver disease.  
Immunology of the liver.  
Smith y Williams. Heineman. London, pág. 28
164. Zigmond, S. and Hirsch, J.G. 1973  
Leukocyte locomotion and chemotaxis: new methods for  
evaluation and demostrarion of a cell-derived chemo  
tactic factor.  
J. Exp. Med. 137: 387-410
165. Zucker, S., Hanes, D.J., Vogler, W.R. and Eanes, R.  
Z. 1970  
Plasma muramidase. A study of methods and clinical  
applications.  
J. Lab. Clin. Med. 75: 83-92

166. Zucher-Franklin, D. and Hirsch, J.G. 1964  
Electron microscopic studies on the degranulation of  
rabbit peritoneal leukocyte during pgagocytosis.  
J. Exp. Med. 120: 569-575
167. Yoshikawa, T.T. and Schwabe, A.O. 1968  
Bacterial endocarditis and cirrhosis of the liver.  
Am. J. Dig. Dis. 13: 664-668
168. Young, R.C., Corder, M.P. and Haynes, H.L. 1972  
Delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease: a stu  
dy of 103 untreated patients.  
Am. J. Med. 52: 63-72