

COMPORTAMIENTO FUNCIONAL DEL POLIMORFONUCLEAR EN PACIENTES CON HEPATOPATIA ALCOHOLICA CRONICA

José Jesús Villegas B.*, Mauricio Goihman Yahr**, María Helena Gómez,
Blanca San Martín**, José Pereira**, Ana Ocanto**, José F. Oletta** y
Herman Wuani-Ettedgui*

* Servicio de Medicina Interna II, Hospital Vargas, Caracas. ** Sección de Inmunología I, Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Palabras Claves: adherencia, activación metabólica, digestión in vitro, paracoccidioides brasiliensis, polimorfonuclear, quimiotaxis.

RESUMEN

Las funciones de los leucocitos polimorfonucleares (PMNs) fueron estudiadas en diez pacientes con enfermedad hepática alcohólica crónica (E.H.A.C.). Los valores fueron comparados con aquellos obtenidos de los polimorfonucleares de once individuos sanos.

Se encontraron diferencias significativas en: la activación inducida con endotoxina (estimada para la reducción in-vitro del Nitroazul de Tetrazolio (NBT) ($0,001 < P < 0,01$), la quimiotaxis estimada con endotoxina ($0,02 < P < 0,05$), la adherencia in-vitro ($0,001 \leq P < 0,01$) y la digestión in-vitro de *Paracoccidioides brasiliensis* a las 2 y media horas de incubación ($0,001 < P < 0,01$).

Estos resultados muestran la existencia de defectos parciales en muchas de las funciones de los polimorfonucleares en nuestros pacientes con E.H.A.C.

INTRODUCCION

El alcoholismo es la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica en aquellos países en los que el consumo de bebidas alcohólicas alcanza tasas elevadas entre la población general. Así mismo existe una relación directa entre la cantidad de alcohol consumido y la existencia de enfermedad hepática crónica (22, 23).

Las complicaciones médicas derivadas del alcoholismo crónico son muy numerosas: cardiovasculares, gastrointestinales, de los sistemas nerviosos central y periférico y hematológicas entre otras.

Recibido 02-10-87

Aceptado 11-04-88

A comienzos de este siglo, Welch, Osler y otros autores (26) observaron que los alcohólicos tenían una labilidad grandemente incrementada a infecciones, particularmente neumonías y una mortalidad elevada cuando ésta se presentaba.

Probablemente muchos factores son responsables de la disminución de la resistencia a la infección del paciente alcohólico. Diversos desórdenes se implican en esos hechos, dentro de los cuales cabe mencionar un deterioro en las funciones de los leucocitos, principalmente una disfunción granulocitaria.

En tal sentido, De Meo y col. (5) encontraron una quimiotaxis defectuosa y Wozniak y col. (37) hallaron una adherencia leucocitaria anormal en individuos alcohólicos crónicos. Estos hechos nos han llevado a investigar el comportamiento del granulocito (PMN) en una forma integral, y no parcialmente como se había efectuado hasta ahora. Empleamos técnicas para medir: adherencia, estiramiento, movimiento al azar, quimiotaxis, fagocitosis y digestión de dos clases de hongos (*C. albicans* y *P. brasiliensis*) (12, 13, 15, 16) en un grupo de pacientes afectados de enfermedad hepática alcohólica crónica.

MATERIALES Y METODOS

A). GRUPOS DE ESTUDIO.

Se analizaron diez pacientes que se encontraban hospitalizados por varios días en los diferentes servicios de Medicina Interna del Hospital Vargas de Caracas por descompensación de su enfermedad hepática crónica. Sus síntomas principales de consulta lo constituyeron la ictericia y el aumento de volumen abdominal. Todos con una larga historia de consumo diario de alcohol y signos clínicos, bioquímicos y radioisotópicos de enfermedad hepática avanzada. En cuatro pacientes se estableció el diagnóstico histopatológico de cirrosis hepática micronodular o de Laennec en período tardío (no hubo grasa, fibrosis avanzada) (Tabla I). El estudio de la coagulación alterado contraindicó las restantes biopsias hepáticas.

El grupo control estuvo formado por once sujetos sanos, siete hombres y cuatro mujeres con edades comprendidas entre los 24 y 44 años.

B). PRUEBAS DE LABORATORIO GENERAL.

Hematología:

Se determinó con el contador hematológico de Coulter de siete parámetros (leucocitos, G. rojos, Hb., Hto., v.c.m., c.h.c.m.). La determinación de los niveles de folato sérico se hizo mediante el ensayo microbiológico con *Lactobacillus casei* NC1B8010 (Hoffbrand, Leucombe y Malloy, 1966); (V.N. 5-20 ug/ml).

TABLA I

CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES
CON HEPATOPATIA ALCOHOLICA CRONICA (H.A.C.)

Pacientes	Edad	Sexo	Motivo Cons.	Hab. Alc/Tab.	Nutrición	H. Portal	Defunción
01 (C.V)	47 a	M	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	+
02 (M.D)	35 a	M	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	
03 (V.P)	53 a	M	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	+
04 (S.R)	64 a	M	Coma	+++ / +++	Deficiente	SI	
05 (G.P)	65 a	M	A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	
06 (R.G)	55 a	M	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	
07 (M.M)	62 a	M	Abs. escrot.	+++ / +++	Deficiente	SI	
08 (A.F)	67 a	F	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	
09 (G.R)	51 a	M	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	
10 (R.Y)	31 a	M	I + A.V.A.	+++ / +++	Deficiente	SI	+

H. Portal: HIPERTENSION PORTAL

I + A.V.A.: Ictericia y aumento de volumen abdominal.

+++ / +++: HABITOS ACENTUADOS (1 litro o más de bebida alcohólica diaria y más de 1 caja de cigarrillos/día).

Pruebas hepáticas:

Transaminasas: (SGOT/SGPT) según el método modificado por Reitman-Frankel (1957). Valores normales: 40 UI y 45 UI respectivamente.

Bilirrubina: según Malloy y Evelyn (1937). V.N.: 0-1,2 mg/l.

Fosfatasa alcalina: mediante la hidrólisis del monofosfato de timolftaleína (Shinowara y col. 1942). V.N.: 4-13 UI.

Proteínas totales y fraccionadas: mediante el método de Biuret. V.N.: P. total: 6-8 g/l. Albúmina: 3,5-4,9 g/l. Globulina: 2,5-3,1 g/l.

Colesterol sérico: se determinó por el método de Vincent (V.N.: 150-250 mg%).

Antígeno de superficie de la hepatitis viral B (HBsAg): se determinó por el radioinmunoensayo de los Laboratorios Abbott (las pruebas de laboratorio general se hicieron en el Hospital Vargas, Caracas. Los métodos empleados y los valores normales son los usuales en ese laboratorio).

C. PRUEBAS ADICIONALES.

El complemento hemolítico total (CH₅₀) se determinó mediante el método de la hemólisis de glóbulos rojos de carnero empleando la ecuación de Von Krogh. Los principios y detalles fundamentales de la técnica están resumidos en el libro de Campbell y col. (3).

Tuberculina (P.P.D.): se aplicó a los pacientes a una concentración de 2 T.U. x 0,1 cc.

Gammagrama hepatoesplénico: practicado en Dina Cámara 4, con dosis de 2,5 mc de Tc⁹⁹

Ecosonograma abdominal: con equipo Siemens, transductor de 3,5 MHz, de tiempo real.

Biopsia hepática: se practicó en dos casos, según el método de Menghini; en otros dos, se obtuvo por material de autopsia. El estudio de coagulación alterado contra-indicó las restantes biopsias.

D). ESTUDIO MICROBIOLÓGICO.

Se realizaron hemocultivos para gérmenes aerobios y anaerobios; coloración de Gram y cultivo de los lugares donde se sospechase la presencia de algún foco infeccioso (estudios hechos en el Laboratorio de Microbiología, Hospital Vargas).

E). ANALISIS DEL LIQUIDO ASCITICO:

Se obtuvo muestra del líquido de la cavidad abdominal (mediante punción en el cuadrante inferior izquierdo), en ocho pacientes con ascitis libre. Se hizo ésto con miras a investigar la presencia de peritonitis bacteriana espontánea (p.b.e.) (4, 27, 28). El análisis fué físico, citoquímico, microbiológico, además del recuento celular diferencial. Simultáneamente, una muestra del líquido ascítico se procesó en una centrífuga. Las células se colorearon por el método de Wright-Giemsa y el de Beacom para peroxidasa (14).

F). ESTUDIO DEL FUNCIONAMIENTO DE LOS POLIMORFONUCLEARES (PMNs) EN SANGRE PERIFERICA:

Los pacientes fueron incluídos en el protocolo de la Unidad de Estudio del Funcionamiento de las Células Fagocitarias (CONICIT). Se hizo especial énfasis en descartar enfermedades adicionales, así como el uso de medicamentos que pudieran variar los resultados. Se extrajo sangre por venipuntura con equipo "scalp-19". En las pruebas que requerían suero, empleamos el autólogo.

A continuación sigue una breve reseña de las pruebas efectuadas, de su interpretación y de la técnica empleada.

La reducción in vitro del Nitroazul de Tetrazolio (NBT), se estudió mediante la técnica de Matula y Paterson, como fuera publicado por Goihman y col. (8). Se determinó el porcentaje de neutrófilos que presentaban en su citoplasma un precipi-

tado visible, azul oscuro, de formazán. Ello se determinó después de incubar sangre fresca heparinizada con NBT (en solución salina) en presencia y ausencia de endotoxina de *E. coli*. Esta prueba permite estimar la actividad/oxidorreductora basal de los polinucleares y la activación de la misma después del estímulo con endotoxina.

La presencia y actividad de la peroxidasa se determinó de acuerdo a la técnica de Beacom, tal como está descrita por Gohman y col. (10, 14). La intensidad de la reacción histoquímica (presencia de gránulos oscuros en preparaciones microscópicas) se cuantificó de acuerdo a una escala arbitraria de 0 a 3 según lo descrito (10, 14). Los monocitos circulantes poseen la enzima, no así los macrófagos tisulares estables. De ese modo, en el caso de macrófagos provenientes de exudados o líquidos biológicos puede tenerse una idea de la proporción de células recién llegadas de la circulación si se determina la proporción de macrófagos peroxidasa-positivos.

La fagocitosis de partículas de látex se estudió mediante el método publicado (10, 14), excepto que la dilución de la suspensión "madre" de látex (Bacto-látex Difco, 0,81 u D) fué de 1/400 y no de 1/60. En este método se cuentan las partículas de látex presentes en el citoplasma de los neutrófilos después de 1 hora de incubación. El empleo de preparaciones coloreadas y de óptica de contraste de fases permite obviar (al menos en parte) la posibilidad de contar partículas adheridas a la superficie del fagocito pero no incorporadas a su citoplasma. Los resultados se expresan como "índice fagocitario"; esto es, el número promedio de partículas por célula tras contar un número de ellas no menor de 100.

La fagocitosis y la digestión de *Candida albicans* se estimaron mediante el método de Lehrer, tal como está descrito (21). La primera se estimó después de una incubación de 1 hora y la segunda luego de 2 1/2 horas. El conteo se hizo en preparaciones teñidas por el método de Giemsa, tal como está publicado. Las candidas digeridas muestran un protoplasma vacuolado y vagamente rosado que contrasta con el aspecto sólido y el color morado oscuro de las candidas intactas. Para determinar la proporción de levaduras digeridas se contaron al menos 200 de éstas por preparación. En cuanto a la fagocitosis de hongos es oportuno señalar que la interacción hongos: fagocitos, se hace en proporciones y cantidades preestablecidas; de tal modo que hay un índice fagocitario teórico del cual pueden apartarse los valores experimentales. En el caso de la *C. albicans* este índice es de 1,0.

La quimiotaxis se efectuó en cámaras de Boyden y empleamos filtros Nuclepore (Nuclepore Chemotaxis Membranes) con un diámetro poral de 3 micras. La técnica se basa en la propiedad de los leucocitos de reptar a través de los poros (que son en realidad túneles) y emerger por el lado del filtro opuesto al de la interacción inicial leucocitos: filtro.

La técnica empleada fué fundamentalmente la expuesta por Altman y col. (1) y Ward y Maderazo (36) con algunas modificaciones resumidas por Gohman y col. (14).

Las suspensiones de neutrófilos fueron estimuladas por una preparación la cual contenía suero del paciente en solución amortiguada veronal-gelatina. El factor quimiotáctico fue generado mediante la incubación con endotoxina. Las preparaciones de control contenían solamente la solución amortiguadora y los leucocitos. Estas últimas preparaciones permiten estudiar la capacidad de movimiento al azar. Concluido el proceso los filtros coloreados se examinaron al microscopio mediante el uso de un cuadrículado ocular y se determinó el número de neutrófilos presentes en una faja ecuatorial (con un número determinado de cuadrillos), en la cara del filtro opuesta a la de la posición inicial de los leucocitos. Los resultados se expresan como "neutrófilos por cuadrillo").

La digestión y la fagocitosis de *Paracoccidioides brasiliensis* se estimaron mediante el método de Gohman y col. (9). Los hongos se obtuvieron a partir de cultivos en medio líquido a 34,5°C (fase levaduriforme). Las suspensiones se hacen unicelulares, por eliminación de acúmulos, mediante el ultrasonido, tal como ha sido descrito (11).

El método de evaluación de la digestión y fagocitosis fue modificado ligeramente de lo publicado con anterioridad (14), ya que se usó una sola proporción de fagocitos por hongo (5:1) y se emplearon los aislados Pb-9 y 6688 y no Pb-8506. La técnica se basa en la determinación de la proporción de *P. brasiliensis* digeridos. Ello se efectúa mediante la observación de preparaciones coloreadas por una variante del método de Papanicolaou y microscopía de contraste de fases. Los hongos digeridos presentan un protoplasma borroso o vacío ópticamente. Ello contrasta con el aspecto "lleno" y bien coloreado de los hongos inalterados.

La fagocitosis se estimó en preparaciones analizadas después de una hora de incubación y la digestión, en preparaciones incubadas por 1 y por 2 1/2 horas respectivamente.

El estiramiento o "spread" se estudió mediante una variante del método de Teritto y Cline (32) inicialmente diseñado para monocitos. El método usado (15) consiste en esencia en la incubación de neutrófilos de la sangre periférica en tubos de Leighton sobre laminillas de vidrio a 37°C. Después de la incubación (10 minutos y 2 horas respectivamente), se extrae la laminilla y los leucocitos lavados se fijan en glutaraldehído amortiguado con cacodilato. Esta fijación permite una excelente conservación del tamaño y la forma celular. Se determina entonces el diámetro mayor de los leucocitos (en micras) mediante la ayuda de una escala micrométrica ocular. Se cuentan por lo menos 50 células por preparación.

La adherencia de los neutrófilos se estimó mediante el método de MacGregor y col. (27) tal como ha sido descrito por Sedgwick y col. (31), empleando sangre heparinizada, la cual se hace pasar a través de pequeñas columnas de vidrio cargadas con fibras de nylon (Leuko-Pak). La adherencia se expresó como el porcentaje de neutrófilos retenidos en la columna.

Las pruebas de funcionamiento leucocitario, señaladas arriba, permiten evaluar diversos aspectos de las varias propiedades de los polimorfonucleares. Esto es, movimiento al azar, quimiotaxis (movimiento de acuerdo a un gradiente químico), adherencia, estiramiento, fagocitosis de partículas inertes y fagocitosis de dos hongos diferentes, actividad oxido-reductora basal y activación metabólica, poder letal y capacidad de digestión.

Por otro lado pudimos procesar algunos líquidos ascíticos del grupo de pacientes en estudio. La citología se estudió mediante preparaciones obtenidas con ayuda de una citocentrífuga. Las células fueron coloreadas por los métodos de Wright-Giemsa, Beacom para peroxidasa y Papanicolaou modificado.

RESULTADOS

A). Las características generales de los pacientes pueden observarse en la Tabla I.

B). HEMATOLOGIA.

Las cifras de hemoglobina y hematocrito se situaron entre 9.61 g% y 31 % respectivamente. Esta anemia fué atribuida a pérdidas agudas o crónicas de sangre por el tubo gastrointestinal. Por otro lado, unas cifras de folato sérico promedio de 4,7 mg/ml y un volumen corpuscular medio (V.C.M.) igual o mayor a $100 \mu^3$, indica un componente megaloblástico en esa anemia.

Los leucocitos se encontraban dentro de los límites normales, excepto en un caso, el cual se presentó con una reacción leucemoide. Todos los pacientes tenían neutrofilia.

C). PRUEBAS HEPATICAS.

La hiperbilirrubinemia se presentó con ambas fracciones elevadas, predominando la fracción directa con una media aritmética de 4,18 mg% sobre 2,7 mg% de la bilirrubina indirecta.

Las transaminasas glutámico oxalacética y glutámico pirúvica (SGOT/SGPT) estuvieron elevadas, con cifras promedio de 174,5 UI y 56,2 UI respectivamente.

La fosfatasa alcalina estuvo elevada con cifras medias de 26,6 UI.

Los valores totales de las proteínas estaban dentro de los límites normales. No obstante, se encontró una hipoalbuminemia con hipergammaglobulinemia y por ende, una inversión del índice A/G.

El antígeno de superficie para la hepatitis viral (HbsAg) resultó negativo en todos los casos.

D). ESTUDIO BACTERIOLOGICO.

Cuatro pacientes presentaron infecciones respiratorias (neumonía y bronconeumonía) intrahospitalaria. Un quinto paciente ingresó con un absceso del escroto, los cultivos mostraron la presencia de gérmenes Gram negativos (*Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*) para las infecciones del tracto respiratorio y genital, respectivamente (ver Tabla II).

TABLA II

INFECCIONES EN LOS PACIENTES CON HAC Y LA AUSENCIA DE
CORRELACION CON LOS NIVELES DE CH50

Pacientes	Infección(es)	Germen	CH50(Uch50/ml)
01	Bronconeumonía	K. pneumoniae	31,25
	Infección urinaria		
02	Laringotraqueitis-Neumonía	S/C	57,60
05	Absceso cuello	S/C	85,71
06	Absceso de Escroto/Neumonía	E. coli	75,00
08	Neumonía	S/C	67,41

S/C: Sin crecimiento.

E). ANALISIS DEL LIQUIDO ASCITICO.

Todos los líquidos ascíticos obtenidos fueron trasudados, color ámbar y de reacción alcalina. Las coloraciones de Gram y Ziehl-Neelsen no mostraron la presencia de ningún germen, tampoco se observó la presencia de microorganismos en los diferentes medios de cultivo. En vista de estos hallazgos, no encontramos la presencia de peritonitis bacteriana espontánea (p.b.e.) (4, 19, 28) (ver Tabla III).

TABLA III

LIQUIDO ASCITICO EN LOS PACIENTES CON HEPATOPATIA ALCOHOLICA
CRONICA (HAC)

Color	Rivalta	Gram	Cultivo	Recuento celular x mm ³	Recuento diferen. % (PMN/Mononocl.)
Citrino	Negativo	N.S.O.*	S/C**	376 ^a (100-860) ^b	17.0/78.38 (0.88) / (32.98)

a). Media aritmética (Promedio).

b). Cifras entre paréntesis indican valores extremos.

*N.S.O. = No se observaron gérmenes.

**S.C. = Sin crecimiento.

Los exámenes citológicos hechos al líquido fueron informados como "inflamatorio Grado I".

Las células obtenidas mediante citocentrifugación mostraron un notorio predominio de la serie monocítica-macrofágica. Una apreciable proporción de ellas fue peroxidasa-positiva. Esto sugiere una llegada reciente de estos elementos celulares a la cavidad abdominal (ver Tabla IV).

TABLA IV

**CITOLOGIA DEL LIQUIDO ASCITICO OBTENIDA POR CITOCENTRIFUGACION
COLORACION PARA PEROXIDASA**

Neut.	Basof.	Eosinof.	Linfo.	Mono/Mac.	Perox/Pos.	Perox/Neg.
11,0 ^a	0	0	7,4	81,6	57,0 ^c	43,0 ^d
(0-39) ^b	—	—	(0-28)	(60-99)	(35-86)	(14-65)

a = Promedio.

b = Cifras entre paréntesis indican valores extremos.

c = Porcentaje de macrófagos-monocitos peroxidasa-positivos.

d = Porcentaje de macrófagos-monocitos peroxidasa-negativos.

F). EXAMENES ADICIONALES.

El complemento hemolítico total (CH₅₀) se halló con valores dentro de límites normales. Sin embargo, un caso mostró hipocomplementemia y otro hipercomplementemia.

La prueba de la tuberculina (P.P.D.), leída a las 48 horas, no mostró induración alguna en cuatro casos y entre 2-10 mm de induración en los restantes pacientes.

El gammagrama hepatoesplénico mostró la presencia de un daño hepático parenquimatoso difuso, sugestivo de cirrosis y esplenomegalia, con mayor captación del material radioactivo.

El ecosonograma abdominal mostró un ecopatrón homogéneo del hígado con aumento de tamaño del mismo.

El estudio histopatológico de cuatro casos reveló cirrosis hepática alcohólica o de Laennec en período tardío, con fibrosis avanzada.

La Tabla V resume los datos de los estudios principales del presente trabajo. La evaluación de los resultados requiere en muchos de ellos de prueba de significancia estadística, la cual se hizo mediante la prueba de "t" para muestras pequeñas. Del análisis de los resultados se desprende que los leucocitos polimorfonucleares (PMNs) de los pacientes con H.A.C. eran capaces de fagocitar a las partículas de látex, a la

Candida albicans y a los *Paracoccidioides* de modo esencialmente comparable a los leucocitos de las personas normales, dentro de los límites de las pruebas efectuadas.

TABLA V

COMPARACION ENTRE EL FUNCIONAMIENTO DE NEUTROFILOS DE SANGRE PERIFERICA DE PERSONAS NORMALES Y PACIENTES CON HEPATOPATIA ALCOHOLICA CRONICA^a

	NORMALES n = 11	HEPATOPATIA ALCOHOLICA CRONICA n = 10
NBT/Sal (%)	30,40	19,30
NBT/Endo (%)	<u>70,10^s</u>	<u>39,80^s</u>
Peroxidasa	2,60	2,45
I.F. látex	1,60	2,17
I.F. <i>Candida</i>	1,15	1,14
I.F. Pb-9	0,27	0,22
I.F. 6688	0,22	0,22
Q. Tax. endo.	<u>10,39^s</u>	<u>5,07^s</u>
Mov. azar ^c	0,72	0,44
E/C ^b	16,49	21,15
Dig. Pb-9 1 h. (%)	52,40	44,20
Dig. 6688 1 h. (%)	43,50	38,20
Dig. Pb-9 2 1/2 h. (%)	<u>65,30^s</u>	<u>50,0^s</u>
Dig. 6688 2 1/2 h. (%)	<u>54,20^s</u>	<u>43,30^s</u>
Dig. <i>Candida</i> (%)	18,50	15,20
Spread 10'	11,65	13,28
Spread 2 h.	19,98	18,40
Adherencia (%)	<u>35,40^s</u>	<u>10,98^s</u>

a = Las cifras son promedios aritméticos de los valores obtenidos.

b = Relación entre quimiotaxis y migración al azar.

c = Migración leucocitaria al azar.

s = Las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas.

I.F.: Índice fagocítico.

Dig.: Digestión.

Además, la digestión de *C. albicans*, la capacidad de estiramiento ("spread") in vitro y la presencia de mieloperoxidasa también eran similares entre los dos grupos estudiados. En cambio, existían diferencias aparentes en la activación basal, la activación por endotoxina, la quimiotaxis, el movimiento al azar y la digestión del *P. brasiliensis*. El grupo con H.A.C., mostró una menor capacidad que el grupo control en estas pruebas.

El análisis estadístico mostró que las diferencias entre los dos grupos eran significativos en las siguientes pruebas:

- 1) Activación (reducción del NBT) en presencia de endotoxina ($0,001 < P < 0,01$).
- 2) Quimiotaxis ($0,02 < P < 0,05$).
- 3) Adherencia ($0,001 < P < 0,01$).
- 4) Digestión de *P. brasiliensis* (Pb-9 y 6688) sólo a las 2 1/2 horas de incubación ($0,001 < P < 0,01$).

El estudio de casos individuales mostró una notable variación entre ellos. Ello explica el porqué de la ausencia de significancia estadística en algunas pruebas, aún cuando existiese una diferencia considerable entre los promedios comparados.

DISCUSION

Los pacientes con hepatopatía alcohólica crónica (H.A.C.) son más propensos a las infecciones en general, particularmente a las neumonías, que la población general (22, 26). Cuatro de nuestros pacientes presentaron esta complicación. Es conocido el trastorno en la inmunoregulación celular y humoral que presentan estos pacientes (7, 24, 33) así como en el sistema fagocítico (PMN/macrófago) (17, 18, 19, 25, 29, 33).

No encontramos ningún caso que desarrollara peritonitis bacteriana espontánea (19, 28).

Pickrell en 1938 (30), efectuó experimentos pioneros, hallando que la intoxicación alcohólica severa en conejos, disminuyó marcadamente el número de neutrófilos movilizados hacia los sitios de inflamación provocados por la inyección de neumococos por vía intradérmica, intratecal e intrapleural. Por otro lado, Hallengren y col. (17) encontraron que el alcohol interfiere directamente con la capacidad de adherencia del polimorfonuclear. Nosotros encontramos una adherencia disminuída no atribuible directamente a esta causa.

Verdiell y col. (35) hallaron un aumento de la reducción del NBT en los neutrófilos de pacientes con cirrosis hepática, en este sentido encontramos una disminución en la reducción del NBT en presencia de endotoxina. Campbell y col. (2) encontraron que la locomoción, la fagocitosis y la actividad bactericida estaban disminuídas en la H.A.C. y en la hepatitis crónica activa. Nuestro grupo de estudio tenía PMNs que fagocitaron bien el látex, *C. albicans* y *P. brasiliensis*, no obstante, la digestión de este último a las 2 1/2 horas fué baja.

De Meo y col. (5) y Van Epps y col. (33, 34) encontraron que los enfermos con H.A.C. tenían PMNs con una disminución de su capacidad quimiotáctica. Esta dismi-

nución se atribuyó a la presencia de un inhibidor sérico. En diversos estudios realizados (2, 5, 6, 7, 19, 22, 29, 33) se desprende que el suero de pacientes afectados de hepatopatías crónicas contienen factores inhibitorios e inactivadores capaces de dificultar la normal movilización de los fagocitos, así como otras facetas del funcionamiento de esas células. Youinou y col. (38) en un grupo de pacientes con malnutrición proteico-calórica y deficiencia de folato, hallaron una alteración en la fagocitosis y poder bactericida de los PMNs, acentuada en el subgrupo con valores de folato por debajo de lo normal. El grupo de enfermos que estudiamos tenían esas características y sus fagocitos un comportamiento similar.

En conclusión, los resultados indican que hubo una disminución significativa de varias funciones importantes en los neutrófilos del grupo en estudio, pertinentes a su potencial actividad antimicrobiana, tales como: quimiotaxis, adherencia y activación metabólica y digestión de *P. brasiliensis* a las 2 1/2 horas.

No se trató de una deficiencia absoluta como la que se observa en síndromes clínicos definidos, tal como la enfermedad granulomatosa crónica de la infancia (18, 20, 21). Del diseño mismo de las pruebas no puede determinarse si se trataba de algún defecto intrínseco del fagocito, de un efecto del anterior consumo del etanol sobre él, o de la presencia de factores séricos circulantes inhibitorios o inactivadores, o una combinación de ellos. No obstante, cabe mencionar que la disminución de los niveles séricos de CH₅₀ no fué un hallazgo frecuente y que no hubo correlación aparente entre esos valores y la quimiotaxis leucocitaria.

No se establecieron diferencias significativas entre los pacientes infectados y no infectados del grupo con H.A.C. en relación a las pruebas de funcionalismo del fagocito. El estudio de casos individuales, mostró una notable variación entre ellos y sería de gran interés relacionar la magnitud del daño hepático con los niveles de alteración del funcionamiento del PMN para cada caso individual. Es necesario que el médico relacionado con este tipo de paciente tenga presente las alteraciones del sistema inmunitario y del funcionamiento anormal del granulocito que presentan dichos enfermos. En tal sentido, pudieran considerarse como personas inmunocomprometidas (26, 29).

Agradecimiento

El trabajo realizado en la Sección de Inmunología I del Instituto de Biomedicina, está subvencionado en parte por fondos del CONICIT, Fundación Polar y fondos especiales del Congreso de la República de Venezuela al Dr. Mauricio Goihman Yahr.

Nuestros resultados han sido presentados parcialmente en las XII Jornadas de Hematología y Transfusión (Caracas, Julio 1985) y en un Poster (Cartel) del IV Simposio Internacional de Psoriasis, Stanford 1986.

Este trabajo forma parte de la Tesis de Grado para obtener el título de especialista en Medicina Interna del Dr. José J. Villegas B.

ABSTRACT

Functional behavior of the polymorphonuclear leukocyte in patients with chronic alcoholic liver disease. Villegas J.J. (Servicio de Medicina Interna II. Hospital Vargas. Caracas), Goihman-Yahr M., Gómez M.H., San Martín B., Pereira J., Ocanto A., Oletta J.F., Wuani-Ettedgui H. *Invest Clín* 29(1): 11-26, 1988.— Polymorphonuclear leukocyte functions were studied in ten patients with chronic alcoholic liver disease (C.A.L.D.). Values were compared with those obtained from PMNs of eleven normal individuals. Significant lowering was found in endotoxin-induced NBT reduction ($0,001 < P < 0,01$), endotoxin induced chemotaxis ($0,02 < P < 0,05$), in vitro adherence, and in vitro digestion of *Paracoccidioides brasiliensis* at 2 1/2 hours of incubation ($0,001 < P < 0,01$ for the last two tests). There results show the existence of partial defects in several PMN functions in our C.A.L.D. patients.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1— ALTMAN L.C., BOETCHER D.A., GOODWIN, Jr. R.H.: Use of chemotactic chambers and nuclepore polycarbonate filters in the study of Leukocyte chemotaxis. In: *Leukocyte Chemotaxis* Nuclepore Corporation, Pleasanton, California, 1976.
- 2— CAMPBELL A.C., DRONFIELD M.W., TOGHILL P.J., REEVES W.G.: Neutrophil function in chronic liver disease. *Clin Exp Immunol* 45: 81-89, 1981.
- 3— CAMPBELL D.H., GARVEY J.S., CREMER N.E., SUSSDORF D.H.: *Methods in Immunology*, p. 172-184. W.A. Benjamin, Inc., New York, 1964.
- 4— CORREIA J.P., CONN O.H.: Spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: Endemic or epidemic?. *Med Clin North Am* 59: 963-983, 1975.
- 5— DE MEO A.N., ANDERSON B.R.: Defective chemotaxis associated with a serum inhibitor in cirrhotic patients. *New Engl J Med* 286: 735-740, 1972.
- 6— FELIU E., GOUGEROT M.A., HAKIM J., CRAMER E., AUCLAIR A., RUEFF B., BOIVIN P.: Blood polymorphonuclear leukocyte function in patients with alcoholic cirrhosis. *Eur J Clin Invest* 7: 571-577, 1977.
- 7— FELIU E., CARDELLACH F., JOU J.M., VIVES-CORRONS J.L., ROZMAN C.: Aspectos funcionales de los fagocitos en el alcoholismo y en la insuficiencia hepática. *Sangre* 27: 643-657, 1982.
- 8— GOIHMAN-YAHR M., RODRIGUEZ-OCCHOA G., ARANZAZU N., CONVIT J.: Polymorphonuclear activation in leprosy. I. Spontaneous and endotoxin-stimulated reduction of nitroblue tetrazolium: Effects of serum and plasma on endotoxin-induced activation. *Clin Exp Immunol* 20: 257-264, 1975.

- 9- GOIHMAN-YAHR M., ESSENFELD-YAHR E., ALBORNOZ M.C., YARZABAL L., GOMEZ M.H., SAN MARTIN B., OCANTO A., CONVIT J.: New method for estimating digestion of *Paracoccidioides brasiliensis* by phagocytic cells in vitro. J Clin Microbiol 10: 365-370, 1979.
- 10- GOIHMAN-YAHR M., ESSENFELD-YAHR E., ALBORNOZ M.C., YARZABAL L., GOMEZ M.H., SAN MARTIN B., OCANTO A., GIL F., CONVIT J.: Defect on in vitro digestive ability of polymorphonuclear leukocytes in paracoccidioidomycosis. Infect Immun 28: 557-566, 1980.
- 11- GOIHMAN-YAHR M., PINE L., ALBORNOZ M.C., YARZABAL L., GOMEZ M.H., SAN MARTIN B., OCANTO A., MOLINA T., CONVIT J.: Studies on plating efficiency and estimation of viability of suspensions of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast cells. Mycopathologia 71: 73-83, 1980.
- 12- GOIHMAN-YAHR M., GOMEZ M.H., SAN MARTIN B., ROMAN A., PEREIRA J., ROTHENBERG A.: Novísimo método para estimar la viabilidad del *Paracoccidioides brasiliensis* y la interacción hongo-célula fagocitaria in vitro. Acta Cient Venez 33: (Supl. 1) 318, 1982.
- 13- GOIHMAN-YAHR M.: Los polimorfonucleares en Dermatología. En: Inmunología Clínica 83. pp 201-212. Bianco N.E., Torrigiani G., eds. Imprenta Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1983.
- 14- GOIHMAN-YAHR M., SAN MARTIN B., OCANTO A., GOMEZ M.H., PEREIRA J., MOLINA T.: Técnicas para la exploración del funcionamiento de las células fagocitarias. En: Manual de Métodos en Inmunodiagnóstico. pp 271-301. Contreras C.E., Feo F.E., Ramírez R., Blanca I., eds. Fondo Editorial Acta Cient Venez, Caracas, 1985.
- 15- GOIHMAN-YAHR M., ROTHENBERG A., AVILA-MILLAN E., ROSQUETE R., ALBORNOZ M.C., KANSKI A., PEREIRA J., GOMEZ M.H., DE ROMAN A., SAN MARTIN B.: Las células fagocitarias. Su funcionamiento en las enfermedades granulomatosas producidas por agentes vivos. El modelo de la paracoccidioidomicosis. Cienc Tecnol Venez 2: 193-198, 1985.
- 16- GOLDSTEIN I.M.: Granulocitos. En: Inmunología Básica y Clínica. Cuarta Edición. pp 123-127. Stites D.P., Stobo J.D., Fudenberg H.H., Wells J.W., eds. Editorial El Manual Moderno, México, D.F., 1983.
- 17- HALLENGREN B., FORSGREN A.: Effect of alcohol on chemotaxis, adherence and phagocytosis of human polymorphonuclear leucocytes. Acta Med Scand 204: 43-48, 1978.
- 18- KLEBANOFF S.J., CLARK R.A.: The neutrophil: Function and clinical disorders, pp 534-536 and 641-709. North Holland Publishing Co., Amsterdam, New York, Oxford, 1978.

- 19- KLINE M.M., MC CALLUM R.W., GUTH P.H.: The clinical value of ascitic fluid culture and leukocyte count studies in alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology* 70: 408-412, 1976.
- 20- LEHRER R.I., CLINE M.J.: Leukocyte myeloperoxidase deficiency and disseminated candidiasis. The role of myeloperoxidase in resistance to *Candida* infection. *J Clin Invest* 48: 1488-1491, 1969.
- 21- LEHRER R.I.: Measurement of candidacidal activity of specific leukocytes types in mixed cell populations. I. Normal, myeloperoxidase-deficient and chronic granulomatous disease neutrophils. *Infect Immun* 2: 42-47, 1970.
- 22- LELBACH W.K.: Epidemiology of alcoholic liver disease. In: *Progress in Liver Diseases*, Vol. V. pp 494-511. Popper H., Schaffner F., eds. Grune and Stratton New York, 1976.
- 23- LELBACH W.K.: Cirrhosis in the alcoholic and its relation to the volume of alcohol abuse. *Ann NY Acad Sci* 252: 85-105, 1975.
- 24- LIEBER C.S.: Medical disorders of alcoholism. Pathogenesis and treatment. In: *Major Problems in Internal Medicine*. Vol. XXII, pp 259-361. Smith Jr. L.H. ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1982.
- 25- LIU Y.K.: Leukopenia in alcoholics. *Am J Med* 54: 605-610, 1973.
- 26- LYONS H.A., SALTZMAN A.: Diseases of the respiratory tract in alcoholics. In: *The Biology of Alcoholism: Clinical Pathology*, Vol. III. pp 403-434. Kissin B., Begleiter H., eds. Plenum Press, New York, 1974.
- 27- MAC GREGOR R.R., SPAGNUOLO P.J., LENTNEK A.L.: Inhibition of granulocyte adherence by ethanol, prednisone and aspirin. *New Engl J Med* 291: 642-646, 1974.
- 28- MC CUE J.D.: Spontaneous bacterial peritonitis. *Hosp Pract* 16 (8): 117-127, 1981.
- 29- MC FARLAND E., LIBRE E.P.: Abnormal leukocyte response in alcoholism. *Ann Int Med* 59: 865-877, 1963.
- 30- PICKRELL K.L.: The effect of alcohol intoxication and ether anesthesia on resistance to pneumococcal infection. *Bull Johns Hopkins Hosp* 63: 238-260, 1938.
- 31- SEDGWICK J.B., BERGSTRESSER P.R., HURD E.R.: Increased granulocyte adherence in psoriasis and psoriatic arthritis. *J Inv Dermatol* 74: 81-84, 1980.
- 32- TERRITO M.C., CLINE M.J.: Monocyte function in man. *J Immunol* 118: 187-192, 1977.

- 33- VAN EPPS D.E., STRICKLAND R.G., WILLIAMS R.C.: Inhibition of leukocyte chemotaxis in alcoholic liver disease. *Am J Med* 59: 200-207, 1975.
 - 34- VAN EPPS D.E., WILLIAMS R.C.: Suppression of leukocyte chemotaxis by human IgA myeloma components. *J Exp Med* 144: 1227-1242, 1976.
 - 35- VERDIELL J., BUENDIA E., PUJOL-MOIX M.N., FERNANDEZ-NOGUES N.F.: La prueba del Nitroazul de Tetrazolio en los enfermos cirróticos. *Medicina Clínica* 62: 91-96, 1974.
 - 36- WARD P.A., MADERAZO E.G.: Leukocyte chemotaxis, In: *Manual of Clinical Immunology*. pp 261-266. Rose N.R. and Friedman H., eds. Am Soc Microbiol, Washington, 1980.
 - 37- WOZNIAK K.J., SILVERMAN E.M.: Granulocyte adherence in chronic alcoholism. *Am J Clin Pathol* 71: 269-272, 1979.
 - 38- YOUINOU P.Y., GARRE M.A., MENEZ J.F., BOLES J.M., MORIN J.F., PENNEC Y., MIOSSEC P.J., MORIN P.P. LE MENN G.: Déficit de ácido fólico y disfunción de los neutrófilos. *Am J Med* 73: 652-657, 1982. (Ed. Español: 16: 25-28, 1982).
-