



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"**

**EVALUACION PARCIAL DE LA FAGOCITOSIS DE
POLIMORFONUCLEARES SANGUINEOS CON TECNICA
DE NITROAZUL DE TETRAZOLIO EN PLACA,
EN MEDICOS ANESTESIOLOGOS ADSCRITOS
AL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALIDAD EN ANESTESIOLOGÍA

PRESENTA:

DR. ALBERTO MARIO RENDON GARCIA



ASESOR:

DR. MARTIN BECERRIL ANGELES



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

DR JESÚS ARENAS OSUNA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN MÉDICA



DR JUAN JOSÉ DOSTA HERRERA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO
DE ESPECIALIZACIÓN EN ANESTESIOLOGÍA

DR ALBERTO MARIO RENDÓN GARCÍA
RESIDENTE DE TERCER AÑO
DE LA ESPECIALIDAD DE ANESTESIOLOGIA

REGISTRO DE PROTOCOLO No. 2003-690-138

AGRADECIMIENTO:

POR ELLA, DE ELLA Y PARA ELLA:
ANGELA GARCÍA TRUJILLO, MI MADRE.
LA MAS GRANDE BENDICIÓN QUE DIOS ME DIO.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: SUBERTO MARIO

Rondón García

FECHA: 260204

FIRMA: 

INDICE

RESUMEN.....5

SUMMARY.....6

INTRODUCCIÓN.....7

MATERIAL Y MÉTODOS.....11

RESULTADOS.....12

DISCUSIÓN.....13

CONCLUSIONES.....14

BIBLIOGRAFÍA.....15

ANEXOS.....16

RESUMEN:

TITULO: Evaluación Parcial de la Fagocitosis de Polimorfonucleares Sanguíneos con Técnica de Nitrozul de Tetrazolio en placa, en Médicos Anestesiólogos Adscritos al Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "La Raza"

OBJETIVO: Determinar si el estallido respiratorio fagocitario se encuentra alterado en los médicos anestesiólogos adscritos del H.E.C.M.N.R.

MATERIAL Y METODOS: Se trata de un estudio observacional, prospectivo, transversal, comparativo. Se estudió un grupo de 60 pacientes: 30 médicos anestesiólogos y 30 personas sanas sin exposición a agentes anestésicos.

Los pacientes fueron citados en el laboratorio de Alergia e Inmunología. Extracción con jeringa de 5 cc de sangre venosa. Fijación en portaobjetos con parafina, adición de suero humano y de reactivo nitrozul de tetrazolio.

Lectura bajo microscopio por parte del personal de dicho departamento.

Se utilizó medidas de tendencia central y dispersión utilizando el test De xi cuadrada y el programa SPSS para windows, con $p < 0.05$ con significancia estadística.

RESULTADOS: Se dividió en dos grupos para evaluar la fase de estallido respiratorio fagocitario con prueba de nitrozul de tetrazolio en placa: Grupo I 30 anestesiólogos adscritos al Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "La Raza". Grupo II o de control, personas sanas no expuestas previamente a agentes anestésicos. Se encontró un porcentaje de actividad fagocitaria de 40 % para el Grupo I y de 53.73% para el Grupo II con p de .148

Conclusiones: La evaluación de la fase de estallido respiratorio entre el grupo de anestesiólogos y el de control no tuvo diferencia estadística significativa. $P = .148$

El resultado del grupo de anestesiólogos mostró tendencias hacia el límite normal bajo lo que da pauta a estudios posteriores sobre la posible causa y sus implicaciones clínicas.

PALABRAS CLAVE: Fagocitosis, polimorfonucleares, Nitrozul de tetrazolio, anestesiólogos.

SUMMARY

TITLE:PARTIAL EVALUATION OF THE PHAGOCYTOSIS OF BLOOD POLYMORPHONUCLEARS WITH NITROBLUE OF TETRAZOLIUM TECHIQUE OF ANESTHESIOLOGIST FROM H.E.C.M.N.R.

OBJETIVE:TO DETERMINATE IF RESPIRATORY BURST IS ALTERED IN THE ANESTHESIOLOGIST FROM H.E.C.M.N.R.

MATERIAL AND METHODS:Observational, prospective, comparative, transversal study. We studied a group of 60 patients: 30 anesthiologist and 30 healthy volunteers without exposition to inhalated agents. Patients were cited at immunology —allergy laboratory . 5 cc of a sample of venous blood. Preparation of laminille. Lecture under microscope. It was use measures of control tendency an disperssion with Chi squared and the program SPSS Windows with a $p < 0.05$ with stadistical significance.

RESULTS: It was divided in two groups to evaluate tha phase of respiratory burst phagocitariam with the technique of Nitroazul of Tetrazolium.

Group I 30 Anesthiologist of HECMR. Group II, control healthy volunteers without exposition to inhalated agents. It was founded a percentage of phagocitarian activity of 40% for group I and 53.73% for group II with a value of $p 0.148$

CONCLUSIONS: The evaluation of the respiratory burst between anesthiologists and control group doesn't have a stadistical difference significative $p 0.148$.

The anesthiologists group showed a tendency to ward the normal low value, and it gieve us the need of further studies about origin and clinical implications.

Key words: phagocytosis, pholimorphonuclear, nitroblue of tetrazolium, anesthiologist.

INTRODUCCIÓN

Desde la década de los 70's se han realizado estudios acerca de las alteraciones sistémicas que sufren los anesthesiólogos a raíz de la exposición a agentes anestésicos, principalmente los agentes volátiles, sin embargo hoy en día estos estudios han tomado importancia a nivel inmunológico ya que se han descubierto alteraciones principalmente en las células polimorfonucleares (PMN). Este estudio fué encaminado a indagar sobre si la exposición a agentes anestésicos afecta el proceso fagocitario de los PMN en una de las etapas más importantes de la fagocitosis como lo es la de respiración o estallido respiratorio.(11)

Para evaluar una de las etapas del proceso fagocitario, es necesario conocer cuáles son las células encargadas de este y cuáles son las entidades en que se ve alterado.

En la actualidad el sistema reticuloendotelial (RES) se considera un conjunto de células con diferente origen y morfología a las que une una propiedad en común: la fagocitosis. Existen dos subdivisiones principales dentro de él: el sistema fagocítico mononuclear y los fagocitos granulocitos. Las células mononucleares son las más activas.(2)

Sistema Fagocítico Mononuclear.-Consta de los monocitos sanguíneos y de los macrófagos libres y fijos.

Fagocitos Granulocitos:

--*Neutrófilos:*

Representan 60-65% de los 5000 a 10 000 leucocitos circulantes presentes por mililitro de sangre, miden de 11 a 14 micrómetros de diámetro mas o menos el doble de los eritrocitos.(1)(2)

--*Eosinófilos:*

También conocidos como leucocitos acidófilos, tienen mucha afinidad por la eosina. Representan el 3 % de los leucocitos circulantes lo que significa de 70 a 450 por mililitro. Miden de 10 a 15 micrómetros de diámetro. Los gránulos de eosinófilos contienen muchas enzimas inclusive fosfatasa ácida, peroxidasa, histamina, aminopeptidasa, ribonucleasa, desoxirribonucleasa y proteinazas.

Eosinófilos:

También conocidos como leucocitos acidófilos, tienen mucha afinidad por la eosina. Representan el 3 % de los leucocitos circulantes lo que significa de 70 a 450 por mililitro. Miden de 10 a 15 micrómetros de diámetro. Los gránulos de eosinófilos contienen muchas enzimas inclusive fosfatasa ácida, peroxidasa, histamina, aminopeptidasa, ribonucleasa, desoxirribonucleasa y proteinazas.

Poseen poca movilidad ameboidea y son fagocíticos aunque menos activos que los neutrófilos. La desgranulación y el metabolismo oxidativo están asociados con la fagocitosis aunque dichos fenómenos son menos citocidas que en los neutrófilos.(9)

--*Basófilos:*

Miden de 14 a 18 micrómetros de diámetro, reciben ese nombre por que sus gránulos son afines a los colorantes básicos. Constituyen el 1 % de los leucocitos circulantes, 40 a 50 de ellos por mililitro de sangre.

FAGOCITOSIS:

Descubierta por Metchnikoff en 1882 por la observación en larvas de estrella de mar las cuales contenían células muy móviles que englobaban a las partículas de carmín lo que hizo sospechar de inmediato que también devoraban y digerían otros tipos de partículas como los microbios.(1)

Metchnikoff llevó sus estudios a animales superiores y descubrió que la fagocitosis es un mecanismo natural eficaz de defensa de los organismos.

Proceso fagocítico.- La ingestión y digestión de células vivas por los fagocitos ocurre en varias fases independientes: quimiotaxia o atracción, fijación u opsonización, englobamiento muerte intracelular y digestión.(1)

Quimiotaxia. El primer aspecto de la fagocitosis es el mecanismo de contacto entre la célula fagocítica y la víctima (célula o partícula), se piensa que las bacterias y los tejidos lesionados liberan quimioatrayentes para los fagocitos, estas sustancias se llaman quimiotaxinas o leucotaxinas.

Fijación y opsonización. No siempre basta con el contacto entre la célula fagocítica y su víctima para el englobamiento de esta última; algunas probables presas escapan. La fagocitosis es un fenómeno superficial que se dificulta en el medio líquido.

Englobamiento. Al parecer el citoplasma del fagocito fluye por completo en torno a la célula englobada y se fusiona consigo mismo en el otro lado, la víctima queda dentro de esta vesícula fagocítica o fagosoma, el cual está rodeado por una cubierta de membrana celular volteada al revés. El fagosoma se desplaza hacia el centro donde ocurre el contacto con los gránulos lisosómicos del citoplasma.

Muerte intracelular:

FASE DE ESTALLIDO RESPIRATORIO

Es en la etapa de muerte intracelular, a través de las reacciones dependientes de oxígeno, donde se presenta el llamado ESTALLIDO RESPIRATORIO que no es otra cosa, más que la producción de agentes oxidantes con poder citocida como se explica a continuación:

Reacciones dependientes de oxígeno.-El fagocito en reposo utiliza la glucólisis anaerobia como principal fuente de energía; Durante la fagocitosis y después de ella la célula comienza a consumir oxígeno y aumenta hasta 1000 veces la velocidad en el consumo. Asociada con esta vía está la enzima nicotinamida-adeninucleótido oxidasa NADPH, esta enzima puede estar físicamente asociada con receptores de quimioatrayentes, complejos inmunes, lecitinas y adyuvantes que estimulan la vía oxidativa del metabolismo de oxígeno en los fagocitos. La NADPH reduce el oxígeno normal O₂ a superóxido O₂

que es poco tóxico en sí aunque se convierte fácilmente en reactivos más mortales. La enzima superóxido dismutasa ataca al radical del superóxido y por incorporación de hidrogeniones forma peróxido de hidrógeno H₂O₂ y oxígeno libre O₂.(8)

Cuando el oxígeno singlete retorna a su estado normal hay emisión de luz. Esta quimioluminiscencia se detecta mediante el uso de cintilómetros durante la fagocitosis.

Digestión intracelular.-Los antígenos no viables del interior de los fagocitos se digieren con facilidad dentro de los fagosomas. Los viables se digieren después de su muerte por exposición a formas tóxicas de oxígeno y a las vías independientes de este. Los lisosomas contienen una variedad de enzimas hidrolíticas que digieren el contenido fagolisosómico hasta reducirlo a partículas irreconocibles. (1)

Las explicaciones dadas a el efecto deletéreo sobre la actividad microbicida de los PMN en el personal expuesto a gases anestésicos son diversas siendo una de las más importantes la inhibición en la respuesta a la quimioluminiscencia de PMN humanos después de la exposición al halotano, enflurano e isoflurano teniendo en cuenta que la luminiscencia está íntimamente ligada a la vía oxidativa microbicida de los PMN. Al parecer el efecto del halogenado sobre la actividad microbicida de PMN inmiscuye la inhibición de elementos oxidativos que se liberan durante el proceso fagocitario.

Además de las alteraciones en la fagocitosis por la exposición prolongada a gases anestésicos existen entidades que también alteran dicho proceso como:

- Diabetes Mellitus
- Intoxicación aguda alcohólica
- Enfermedad Granulomatosa
- Quimio y radioterapia
- Terapia esteroidea y con cloroquina
- ETC...(10)

Existen diversas pruebas para evaluar el proceso fagocitario como la medición de luminiscencia a través de cintilómetro sin embargo es una prueba sofisticada y que resulta de alto costo económico además de no contar con los insumos necesarios en este hospital.

La prueba de REDUCCIÓN DEL NITROAZUL DE TETRAZOLIO (NBT) en placa nos permite valorar la fase respiratoria o de estallido. La cadena respiratoria de los PMN es una vía altamente especializada. Los últimos productos de esta vía son: Superóxido, peróxido de nitrógeno y ácido hipocloroso. La enzima responsable del inicio de esta vía metabólica es la NADPH oxidasa, la cual se encuentra inactiva en la membrana del neutrófilo y es activada segundos o minutos después que se inicia la fagocitosis.

La detección de anomalías en esta fase se puede realizar con la prueba de reducción de NBT. El NBT es de color amarillo pálido y durante la fagocitosis es reducido y precipitado en el citoplasma como gránulos de formazan de color azul.

La técnica se puede realizar en portaobjetos como prueba de escrutinio y en caso de obtener un resultado alterado, confirmar con la técnica en tubo.

Resultados esperados en la prueba de NBT (NITROAZUL DE TETRAZOLIO EN PLACA)

Valor normal	> 20% de reducción
Ptes con enfermedad granulomatosa crónica	0 %
Algunos pacientes con enfermedad granulomatosa crónica	< 5 % y con una reducción ténue
Madres portadoras	8-15 %
Leucocitos muy estimulados	> 50 %

RESULTADOS

Previa aceptación por El Comité de Ética e Investigación del Hospital de Especialidades del C.M.N. "La Raza" y obtención de carta de Consentimiento Informado por escrito de los pacientes se estudiaron en el laboratorio de alergia e inmunología 60 pacientes: 30 anesthesiólogos adscritos a este hospital (50 %) Grupo I y 30 personas sanas sin exposición previa a agentes anestésicos (50 %) Grupo II.

La distribución de edad fue de 53.73 años para el grupo I \pm 8.4 años y para el grupo II 42.73 años \pm 7.02 años con valor de p .156. n.s. TABLA 1 Y GRAFICA 2

La distribución por sexo fué de Grupo I 12 mujeres (40 %) 18 hombres (60%), Grupo II 15 mujeres (50 %) y 15 hombres (50 %) con p .290 n.s.TABLA 2 Y GRAFICA 1

Al comparar el porcentaje de actividad fagocitaria a través de la reducción denitroazul de tetrazolio: Grupo 40 % y Grupo II 53.73 % con una p de .140 n.s.TABLA 2 GRAFICA 3

El tiempo de ejercicios como anesthesiólogos por lo tanto tiempo de exposición a agentes anestésicos en el grupo I fue de 11.87 años con SD de \pm 8.7 años con valora de p .758 n.s. TABLA 1 Y GRAFICA 4

MATERIALES Y METODOS:

Previo aceptación por el Comité Local de Ética e Investigación del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "La Raza" y obtención de carta de Consentimiento Informado por escrito por parte de los pacientes, se realizó un estudio observacional, prospectivo, comparativo y transversal.

Se estudió a 60 pacientes: 30 médicos anestesiólogos adscritos al H.E.C.M.N.R. y 30 personas sanas sin exposición previa a agentes anestésicos, se les realizó la prueba de nitroazul de tetrazolio en placa la cual es una evaluación de la fase de estallido respiratorio fagocitario. Esto se realizó en el mes de Septiembre a Octubre del año 2003. Se excluyeron pacientes con enfermedad del sistema inmunitario, menores de edad, que recibieran terapia que alterara la función de polimorfonucleares como cloroquina, esteroides quimio o radioterapia y a pacientes que no aceptaran formar parte del estudio.

Fueron citados en el laboratorio de Alergia e Inmunología donde se les extrajo con jeringa 5 cc de sangre venosa, con la cual, como se explicó en la introducción, se realizaron los preparados en portaobjetos adicionándoles el reactivo de nitroazul de tetrazolio. La lectura de resultados fue realizada por una sola persona de dicho departamento. Se anotaron los resultados en una bitácora.

Una vez obtenidos los resultados fueron comparados los grupos con medidas de dispersión y tendencia central utilizando el test de Xi cuadrada y el programa SPSS versión 10 para Windows.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio se determinó si había alteración en la fase de estallido respiratorio del proceso fagocitario en polimorfonucleares en 60 pacientes: 30 (50 %) médicos anestesiólogos adscritos al H.E.C.M.N.R. y 30 (50 %) personas sanas sin exposición previa a agentes anestésicos.

Stanley y cols en 1976 demostró como en pacientes sometidos a anestesia general bajo el uso de halotano, al tomar muestras sanguíneas en 3 tiempos periooperatorios,

la quimiotaxis de polimorfonucleares se encontraba disminuída hasta en 36 %.(7)

Welch y colaboradores en 1981 y 1984 preparó cultivos de H influenzae y K pneumoniae que al ponerlos en contacto con polimorfonucleares y concentraciones de gases anestésicos como iso fluorano, halotano y óxido nitroso la capacidad quimiotáctica y el poder microbicida de las células inmunitarias se veía mermada.(4) (5)

Péric y cols en 1991 estudió a los médicos anestesiólogos cuantificando fórmula roja y células de respuesta inmune encontrando disminución en todas las líneas celulares estudiadas.(6)

Thyter y col en el año 2002 concluyó que la exposición crónica a agentes volátiles anestésicos puede inhibir la apoptosis de neutrófilos lo cual puede tener implicaciones para la adecuación de la respuesta ante la inflamación o infección.(3)

En nuestro estudio al evaluar la fase de estallido respiratorio a través de la prueba de nitroazul de tetrazolio en placa entre el grupo de anestesiólogos y el grupo control no se encontró diferencia estadísticamente significativa en los resultados.

CONCLUSIONES

No hubo diferencia estadísticamente significativa en la evaluación de la actividad fagocitaria. El grupo de anesestesiólogos mostró tendencia al límite normal bajo lo que da pauta a estudios posteriores sobre la posible causa y sus implicaciones clínicas.

BIBLIOGRAFÍA UTILIZADA:

1. Rich R. *Clinical Immunology: principles and practice*. Edit Mosby. Cuarta edición. pp:22.1-22.13, 2001
2. Barret V. *Bases de la Inmunología*. edit. Mc Graw-Hill. Segunda edición. pp:86-108, 1993
3. Thyter R et al. Effects of Chronic Occupational exposure to Anesthetic Gases on the Rate of Neutrophil Aposptosis Among Anaesthetits. *European Journal of Anesthesiology* 19:604-608, 2002
4. William D et al. Halothane Reversibly Inhibits Human Neutrophil Bacteriall Killig. *Anesthesiology* 55:650-654, 1981
5. William D et al. Effects of Enflurane, Isoflurane, and Nitrous Oxide on Microbicidal Activity of Human Polimorphonuclear Leucocytes. *Anesthesiology* 61: 188-192, 1984
6. Peric M et al. Immunological Disturbances in Anaesthetic Personnel Chronically Exposed to High Occupational Concentrations of Nitrous Oxide and Halothane. *Anaesthesia* 46:531-537, 1991.
7. Theodore H et al. Neutrophyl Chemotaxis During and After General Anesthesia and Operation. *Anesthesia and Analgesia* 55: 668-673, 1976.
8. Guyton A. *Tratado de Fisiología Médica*. Edit. Interamericana. Décima edic. pp: 24-27, 2000
9. Junqueira et al: *Histología Básica*. Edit Salvat. Tercera Edic. pp38-40. 1987
10. Robbins C. *Patología Estructural y funcional*. Edit Interamericana .Sexta edic. pp50-52, 2000
11. Miller R et al. *Anestesia*. Edit Harcourt Brace. Cuarta edición. Pp2197-2100. 1998
12. Guirguis SS et al: Health Effects Associated with Exposure to Anesthetic Gases in Ontario Hospital Personnel. *British Journal Anesthesia* 47:490-497 1990

ANEXOS

EVALUACIÓN PARCIAL DE LA FAGOCITOSIS DE POLIMORFONUCLEARES SANGUÍNEOS CON TÉCNICA DE NITROAZUL DE TETRAZOLIO EN PLACA, EN MÉDICOS ANESTESIÓLOGOS ADSCRITOS AL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"

	Anestesiólogos	Grupo Control	Desviación estándar	P
Edad	53.73 a	42.73 a	± 7.02 a	.156
Tiempo de exposición	11.87 a	No aplica	± 8.7 a	.758

*Se considera estadísticamente significativa una $p < 0.05$

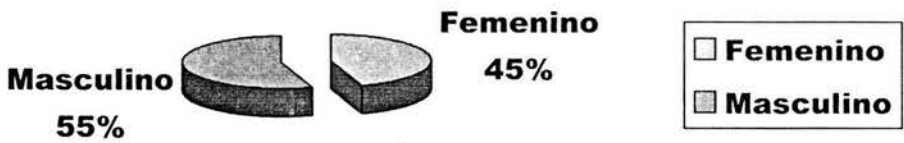
Tabla 2

	Anestesiólogos	Grupo Control	p
Mujeres	12 (40%)	15 (50%)	.302
Hombres	18 (60%)	15 (50%)	.290
Porcentaje de actividad de PMN	40%	53.73 %	.140

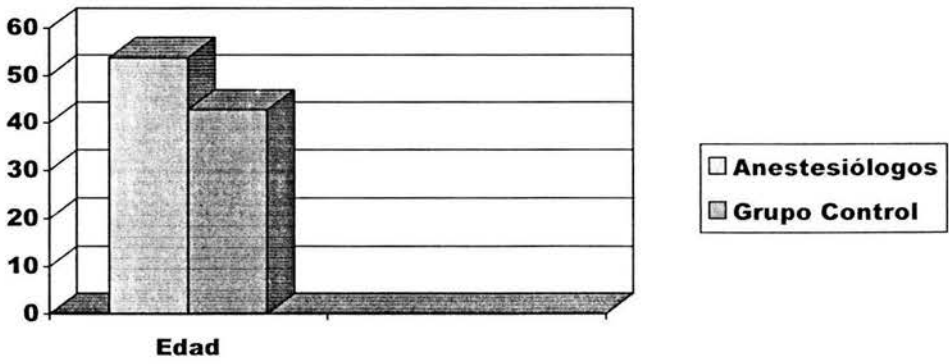
Se considera estadísticamente significativo valor de $p < 0.05$

GRAFICA 1 GRUPOS DE SEXO

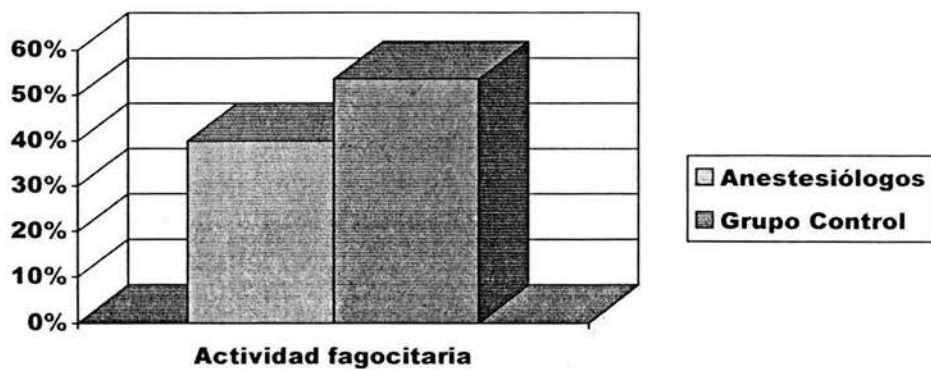
Ambos grupos



GRAFICA 2: EDAD



GRAFICA 3:PORCENTAJE DE ACTIVIDAD FAGOCITARIA



GRAFICA 4: TIEMPO DE EXPOSICIÓN A AGENTES ANESTÉSICOS (GRUPO I)

