

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



REVISION BIBLIOGRAFICA SOBRE PIROGENOS

M O N O G R A F I A

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A**

GRACIELA VAZQUEZ BARROSO

México, D. F.

1979



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.

CLAS TESIS 1979
ABO M.T. ~~3~~ 54
FECHA _____
PROG _____



JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE

PRESIDENTE: Prof. Oscar Amor Dodero

VOCAL: Prof. Etelvina Medrano Barra

SECRETARIO: Prof. Lilia Vierna García

1er SUPLENTE: Prof. Rosa Ma Ramirez Gama

2do SUPLENTE: Prof. Andrea Gabayet Martín

SUSTENTANTE: Graciela Vasquez Barroso

ASESOR: Prof. Oscar Amor Dodero

Al Señor por haberme permitido lograr ésta meta

A la memoria de mi padre

A mi madre , por ser para mí el ejemplo más admirable

A mis hermanos , Luz María , Rebeca , Ricardo y Rosalía
por su gran cariño , compañerismo y apoyo

A Fernando , por su amor y comprensión de todos estos años

A Lilita , mi pequeña hijita , por ser mi alegría .

CONTENIDO

Capítulo	Página
I.- Introduccion	3
II.- Generalidades	4
III.- Metabolismo de los Pirógenos	6
Pirógenos Exógenos	19
Pirógenos Endógenos	26
IV.- Aspectos ClinicoFisiologicos	31
Temperatura Clínica	35
Patogénesis de la Fiebre	42
V.- Aspectos Farmaceuticos	49
En Hospitales	53
En Industrias	56
VI.- Prueba Farmacopeica Internacional	62
VII.- Otras Pruebas para Pirógenos	67
VIII.- Resumen y Sugerencias	73
IX.- Bibliografía	75

I N T R O D U C C I O N

Tradicionalmente, se ha observado, a nivel hospitalario, la aparición de fiebre de origen no determinado al aplicar tratamientos parenterales debido a la presencia de pirógenos, ya sea en el equipo para venoclisis, jeringas, ó bien en el agua destilada estéril que se emplea en la industria farmacéutica para preparar inyectables, dializados, etc ; ésta situación, a despecho de ser muy común, encierra mecanismos fisiopatológicos y bioquímicos muy complejos y de gran interés ya que alteran toda la evolución de un cuadro clínico y su tratamiento.

A pesar de que los pirógenos y sus efectos son conocidos desde hace más de 100 años, no se ha propuesto una solución de valor para éste problema, por lo cual, considero adecuado realizar una revisión para conocer el estado actual de las investigaciones, sus progresos y perspectivas.

G E N E R A L I D A D E S

La definición sobre pirógenos indica que es un compuesto productor de fiebre ó piretógeno. Grupo de sustancias que además de poderse encontrar como constituyentes de muchas bacterias, son liberadas con frecuencia en el agua destilada, al ser destruidas éstas en el proceso de esterilización ; causa de reacciones febriles consecutivas a inyecciones intravenosas.

Las reacciones febriles a su vez quedan definidas como aquellas reacciones relacionadas con la presencia de pirógenos bacterianos demostrables (endotoxinas) en la sangre ó en el equipo y material empleado para tratamiento parenteral.

Existen dos tipos de pirógenos; los de origen exógeno, entre los que se encuentran principalmente las exotoxinas bacterianas y los de origen endógeno que a su vez se dividen en pirógenos bacterianos y pirógenos leucocitarios.

Los pirógenos endógenos de origen bacteriano son aquellas sustancias constitutivas en su gran mayoría de las membranas celulares de las bacterias gram negativas, que pasan a la circulación del huésped en el que éstas

bacterias estan instaladas creando un cuadro infec -
cioso (infecciones sencillas hasta bacteremias y septicemias) ; cuando la bacteria sufre lisis.

Y los pirógenos endógenos leucocitarios son aquellos que aparentemente son liberados de las células sanguíneas (leucocitos), despues de que el microorganismo es fagocitado por las células del sistema reticuloendotelial de huésped, lo cual parece indicar que de algun modo la fagocitosis es el factor desencadenante del proceso de liberación de éstos factores pirogenéticos.

El contacto directo de un ser humano con cualquiera de éstos tipos de pirógenos provoca una respuesta febril en diversos grados, ésta respuesta, en algunos casos es tan leve que incluso puede pasar desapercibida y por lo tanto, es inofensiva; pero en otros, adopta matices que van desde la anafilaxia severa hasta el shock y la muerte; éstas son consecuencias críticas que hacen de los pirógenos un campo en el que el conocimiento absoluto es deseable y trascendental para todo profesional que tenga alguna responsabilidad con respecto a la conservación de la salud del hombre y por lo tanto de su supervivencia.

METABOLISMO DE LOS PIROGENOS

La entidad primaria responsable de la reacción pirogénica en los mamíferos, son los lipopolisacáridos (LPS), constituyentes de la membrana celular de las bacterias gram negativas; en la actualidad se conoce su origen biológico, el mecanismo de su biosíntesis, y la utilización por el microorganismo que los produce.

La fisicoquímica de éstos pirógenos es bien conocida y gracias a esto, es posible predecir su comportamiento en soluciones acuosas; esta capacidad del científico para predecir su conducta, permite diseñar sistemas para disminuir la ocurrencia de éstos pirógenos en las soluciones (principalmente preparados farmacéuticos, agua para hemodialisis, inyectables, etc) y para quitarlos de soluciones ya contaminadas.

Se han requerido de muchos años de estudio para elucidar la química de los lipopolisacáridos, su relación en los microorganismos, su función biológica y se sabe ahora que se encuentran en las paredes celulares de los gram negativos.

Estas paredes celulares son rígidas, porosas, semejantes a estuches que dan protección física a las células bacterianas, que, puesto que viven libremente se hallan con frecuencia expuestas a condiciones hipotónicas que podrían provocar el hinchamiento y ruptura de la membrana celular y la consecuente lisis de la bacteria.

Además de la función de protección, la pared celular interviene en muchos otros aspectos de la fisiología bacteriana, como son la conjugación sexual a través de fimbrias que se elaboran en la pared celular ; ésta pared tiene locus específicos por los que pueden penetrar los virus y a los que también pueden unirse los bacteriosínicos , que son un grupo de agentes tóxicos que pueden inhibir los procesos metabólicos en las bacterias.

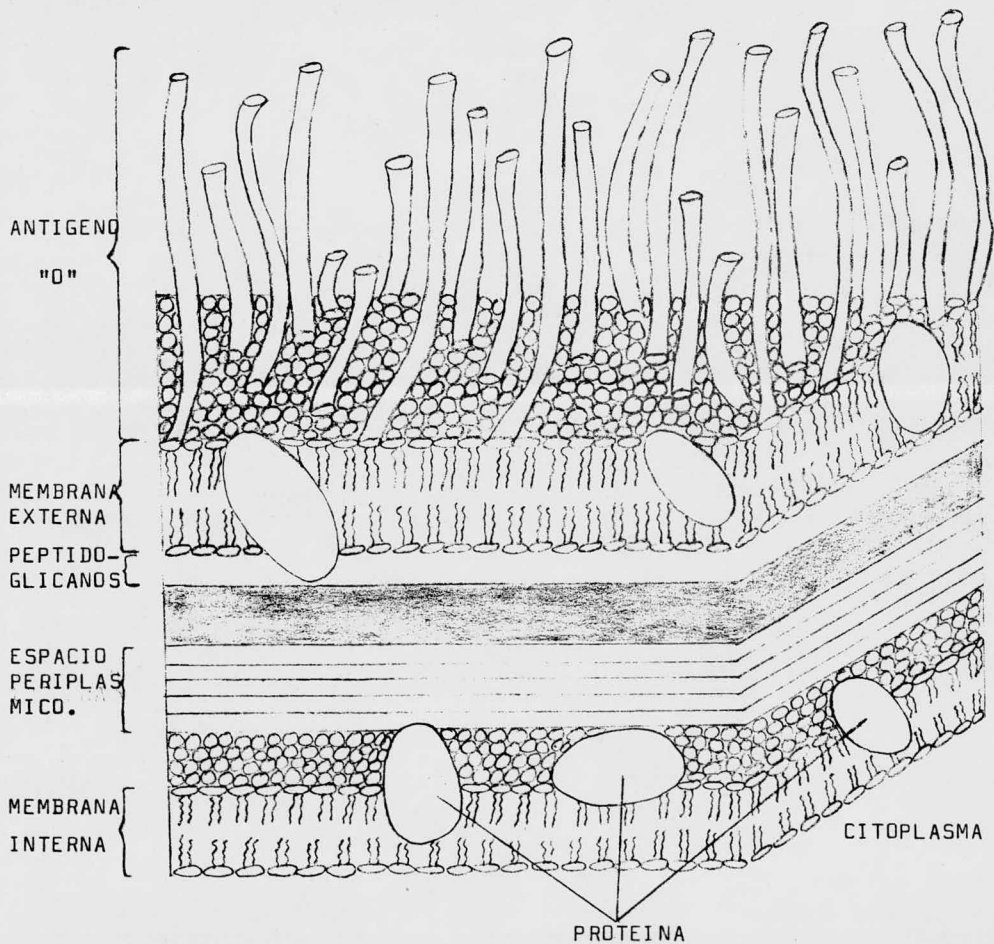
En la pared celular están contenidos también materiales que actúan como antígenos en los vertebrados , y ciertas porciones de ella pueden comunicarse al interior de la célula a través de la membrana .

Las paredes celulares de los gram negativos son ricas en lípidos, poseen tres capas específicas (10) .

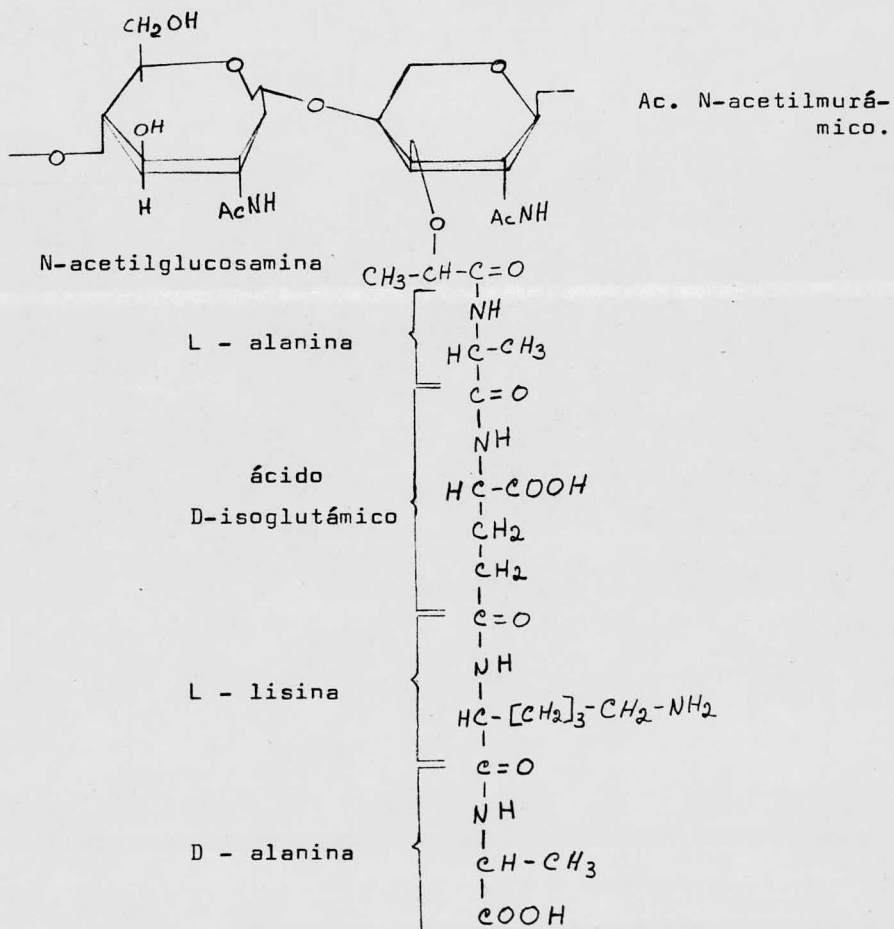
1) La membrana interna : está compuesta de lípidos y una membrana proteínica especial, ésta estructura posee un núcleo hidrofóbico y dos superficies hidrofílicas ; ésta es la primera barrera de permeabilidad de éstos organismos y exhibe una enorme capacidad para el transporte activo. Esto permite al organismo tomar y concentrar de su medio ambiente solo aquellos metabolitos que necesita -

2) La estructura media: es menos complicada , provee la fuerza mecánica de la pared celular; ésta posee un rígido armazón a modo de saco (sacculus) constituido por cadenas polisacáridicas y peptídicas unidas covalentemente éste complejo peptido-polisacárido es llamado peptidoglucano ó mureína , del latín murus que significa "pared" ; las cadenas polisacáridicas son largas , paralelas, unidas entre sí por cortas cadenas peptídicas transversales

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LAS PAREDES
CELULARES DE LOS GRAM NEGATIVOS

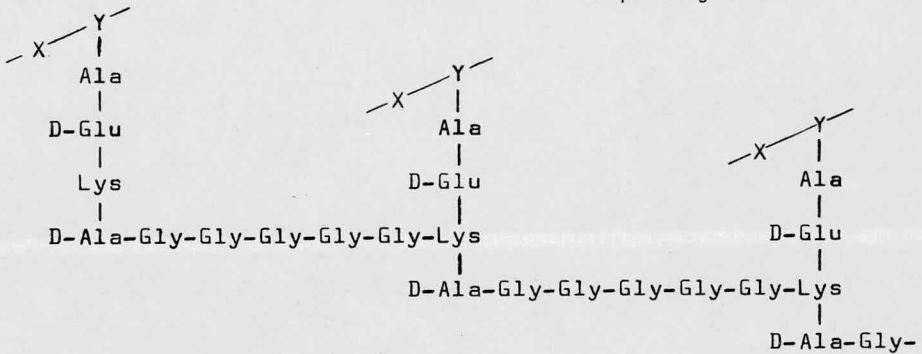


la unidad básica que se repite en las primeras , es el -
muro péptido , disacárido de la N-acetil-glucosamina unida
mediante un enlace $\beta(1-6)$ con el ácido N-acetilmurámico,-
al que se halla unido un tetrapéptido en forma de cadena -
lateral (figura).



La estructura básica de la mureína es un retículo formado por cadenas polisacáridicas unidas con muchos enlaces transversales, las cadenas laterales tetrapeptídicas de cada unidad de disacárido están unidas transversalmente a las cadenas adyacentes mediante un pentapéptido de glicocola. (figura)

Peptidoglucano



Cada cadena de mureína posee una longitud de 12 unidades de disacáridos aproximadamente, la red está cerrada por todos lados y su estructura covalente, completamente continua puede ser tensa ó laxa alrededor de la bacteria.

La destrucción de ésta matriz de peptidoglicanos por lisozimas ó enzimas autolíticas origina en el organismo

un shock osmótico ; al romperse el esqueleto de mureína, - el material suele permanecer ligado a la célula gram ne - gativa que recibe entonces el nombre de esferoplasto .

3) La membrana esterna : posee una estructura similar a la membrana interna y constituye la segunda barrera de - permeabilidad de la célula.

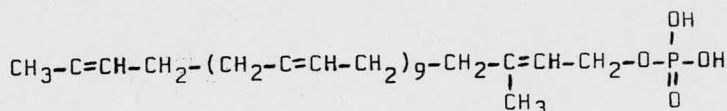
El mecanismo de la biosíntesis de éstos polímeros - de extraordinaria complejidad de la pared celular ha atraí - do a numerosos investigadores, a trabajar en ello, y ellos han logrado notables adelantos en el conocimiento de éstos procesos naturales, como son saber: que la pared celular - se forma fuera de la célula por la acción de las enzimas - de la membrana celular , ésto sugiere que las relaciones - espaciales y la topografía de la membrana deben ser alta - mente específicas para la construcción biosintética.

El peptidoglucano ó mureína de la pared celular se - sintetiza en tres fases principales (49).

1a. Etapa: síntesis del N-acetil-muramil-pentapéptido a partir de sus precursores ; éstas reacciones son efectua - das en el interior de la célula ; los precursores son : - N-acetil glucosamina ; el fosfoenol piruvato y los amino - ácidos L - alanina ; D - alanina ; ácido D - glutámico y - L - lisina (en algunas especies ácido diaminopimelico) .

La cadena lateral del pentapéptido se forma por adi - ciones sucesivas de éstos aminoácidos al grupo carboxilo de la porción del ácido pirúvico para formar N-acetil - mu

2a. Etapa: El N-acetil-muramil-pentapéptido ya formado , se transfiere enzimáticamente del UDP a un "lipido intermediario" de la membrana ; el undecaprenil-fosfato , cuya molécula está formada por un terpenoide lineal de 55 carbonos integrado por once unidades de isopreno y cuyo hidroxilo terminal está esterificado por fosfato inorgánico (formula).



El extremo no polar está fijo a la membrana celular y el extremo polar es el que lleva la unidad monosacarida sirviendo como acarreador de los azúcares para la construcción de la pared celular , al N-acetil-muramil-pentapéptido unido al undecaprenil-fosfato se une una unidad de N-acetil-glucosamina, y la unidad disacárida así formada se transfiere entonces enzimáticamente al extremo en crecimiento del polímero de peptidoglucano.

3a. Etapa : En ésta última fase, se forman las cadenas cortas peptídicas que sirven de enlaces transversales por adiciones sucesivas de restos de aminoácidos a la lisina del extremo de la cadena lateral pentapéptida del N-acetil-muramil-pentapéptido ; el enlace transversal se establece por una reacción de transpeptidación en que el resto de glicina NH₂ - terminal del enlace cruzado, desplaza a la D-alanina COOH - terminal del extremo de la cadena lateral pentapéptida antes mencionada que pertenece -

ce al polímero de mureína adyacente.

En los organismos gram negativos, el armazón de mureína está rodeado de una cubierta blanda y elástica, consistente en un polímero de lipopolisacáridos.

Esta membrana es muy similar a la membrana plasmática externa, en ella se absorben las moléculas proteicas aunque es probable que no funcione como transporte activo.

Entre los peptidoglicanos y la membrana plasmática interna existe un espacio llamado "espacio periplásmico", que contiene enzimas hidrolíticas; la membrana externa es la principal barrera para el escape de las proteínas periplásmicas.

Para un mejor conocimiento de la composición química y propiedades de los lipopolisacáridos bacterianos, se han realizado estudios exhaustivos sobre la naturaleza de los pirógenos y sobre las superficies de las células bacterianas.

En salmonella por ejemplo; los lipopolisacáridos están dispuestos en tres secciones diferentes con propiedades únicas; la primera sección llamada lípido A, está compuesta de unidades del disacárido glucosamina unidas entre sí por puentes de pirofosfato conteniendo cinco ácidos grasos hidrofóbicos unidos, la combinación que se forma es la causa de que la molécula de lipopolisacárido tenga propiedades análogas a los fosfolípidos.

La siguiente región de los lipopolisacáridos es llamada núcleo y se compone de tres residuos de un ácido-azúcar de 8 carbonos , 2 azúcares heptosas , 3 azúcares comunes y un pentasacárido.

El núcleo sirve de puente entre la porción lipídica - A y la cadena o-específica de la molécula de lipopolisacáridos.

Las diversas cadenas o-específicas se forman de secuencias repetidas de azúcares ordinarios como manosa , ramosa , y galactosa en diversas combinaciones.

En algunos organismos como las enterobacterias , las cadenas o-específicas contienen grupos de 3, 6-dideoxi hexosa ; los dos tipos de azúcares contribuyen a una mayor especificidad por tener determinantes de grupo definidos.

La estructura del núcleo es idéntica ó similar en todas las salmonellas , pero diferentes en otro género , la especificidad serológica de los lipopolisacáridos está dada por las cadenas o-específicas.

En general en todos los bacilos entericos es empleado como componente polisacárido antigénico , el antígeno térmico O.

Los lipopolisacáridos por contener tanto regiones hidrofóbicas como hidrofílicas , tienen propiedades de

surfactantes y pueden existir en diferentes agregados con determinadas estructuras por la composición de su medio ambiente líquido.

Respecto a las propiedades fisicoquímicas de los lipopolisacáridos en solución, éstas se han estudiado empleando el método de velocidad de sedimentación para determinar parámetros hidrodinámicos.

En presencia de iones calcio y magnesio, los lipopolisacáridos en solución forman acúmulos con un diametro del orden de $0.1 \mu\text{m}$ y si éstos cationes covalentes son removidos de la solución (por ejemplo, precipitandolos como quelatos con EDTA); los lipopolisacáridos se contraen y forman una pequeña micela.

Los detergentes, como el desoxicolato de sodio, provocan que los lipopolisacáridos se separen en subunidades, éstas, tienen forma de vara, peso molecular de aproximadamente 20 000 daltons, un diametro de 8 a 12 Å y largo de 200 a 700 Å; éstas subunidades son capaces de atravesar un filtro de membrana con tamaño de poro de un peso molecular nominal límite (nmwl) de 1 000 000.

Este tipo de filtros moleculares proveen de una técnica muy aceptada y empleada en la industria y en la investigación para remover pirógenos de las soluciones; éstas técnicas de filtración, son baratas, dan un gran rendimiento de producto y no contaminan las soluciones que

están siendo preparadas.

Gracias a ésto , los productos farmaceuticos pueden ser fabricados a un costo aceptable.

Con respecto a los pirógenos leucocitarios y su bioquímica ; se tienen conocimientos no muy extensos , pero las investigaciones continúan incansables y los reportes indican que éste tipo de pirógenos producidos por ciertas células humanas , aparentemente contienen enlaces peptídicos esenciales , ya que la pirogenicidad es destruída por enzimas como la pepsina ó la tripsina (inactivación) , se cree que pueden estar presentes pequeñas cantidades de carbohidratos y lípidos.

El mayor producto pirogénico de la sangre ó exudados celulares tiene un peso molecular entre 10 000 y 20 000 ; éstas moléculas pierden rápidamente su pirogenicidad cuando son sometidas a condiciones desfavorables como por ejemplo a pH alcalinos ó a temperaturas de 56° C. ó mayores .

La estabilidad de la molécula se afirma en presencia de agentes reductores sulfhidrúlicos , ésto sugiere que los grupos sulfhidrilo libres son esenciales para que la molécula funcione como pirógeno.

Los pirógenos endógenos leucocitarios tienen un punto isoelectrico cercano a pH de 7 ; aunque se ha propuesto que pueden ser miembros del grupo de proteínas básicas

presentes en los lisosomas de los leucocitos polimorfonucleares.

Los trabajos de Cooper y Cranston, realizados en 1971, (23, 24) mostraron que los pirógenos leucocitarios pueden precipitarse con sulfato de amonio y posteriormente ser recuperados; son destruidos rápidamente por precipitación con ácido tricloroacético ó acetona y a valores de pH bajo 6.5.

Estos investigadores han hecho intentos para purificar éstos pirógenos por medio de eluciones seriadas con soluciones buffer de diferentes molaridades en columnas de DEAE; el mejor resultado a la fecha ha sido la obtención de una fracción pirogénica conteniendo 4.75 g de proteína que produce una respuesta febril de 1^o C de aumento en la temperatura corporal.

PIROGENOS EXOGENOS

Este grupo está formado por las exotoxinas bacterianas, que son venenos químicos secretados por las bacterias patógenas, principalmente, las gram positivas, (las gram negativas rara vez producen exotoxinas); ejercen acción toxica con independencia del motivo productor de las mismas, sus efectos se manifiestan despues de un periodo de incubación; desde el punto de vista químico, son proteínas solubles, filtrables, difusibles, lábiles al calor (se destruyen facilmente a 60°C), y a las enzimas digestivas, letales para los animales por inoculación parenteral y antigénicas, lo cual significa que son capaces de inducir la producción de un título elevado de antitoxina; sus pesos moleculares fluctúan entre 10 000 y 900 000, y son de baja pirogenicidad.

Todas estas exotoxinas por almacenamiento prolongado acción del calor, el formol y la formalina, se transforman en una entidad química capaz de conservar su antigenicidad, pero atóxica; ésta nueva substancia así obtenida, se llama toxóide y se emplea para estimular la producción de antitoxinas (que son anticuerpos que neutralizan ó floculan al antígeno; en éste caso el toxóide), al ser inyectada en conejos ó cobayos, para ésto es importante la estandarización de la cantidad antigénica de el toxóide.

De éste modo se obtiene un título alto de anticuerpos específicos en el suero del animal de laboratorio , éste suero se emplea en el tratamiento de las afecciones humanas para disminuir la peligrosidad del padecimiento ya que el anticuerpo que se encuentra en el suero del animal de laboratorio (suero hiperinmune heterólogo) , bloquea la acción fisiopatológica del antígeno , en éste caso representado por las exotoxinas bacterianas , mientras se da tiempo al organismo infectado del huésped a que produzca por sí mismo cantidades suficientes de anticuerpo por medio de su sistema enzimático , para controlar a su invasor y en un momento dado, remitir la enfermedad .

Este tipo de reacciones entre toxina y antitoxina pertenecen a las reacciones serológicas antígeno-anticuerpo de floculación que son similares a las reacciones de precipitación y muestran una zona de equivalencia muy bien definida , la reacción es inhibida tanto por exceso de antígeno como de anticuerpo (fenómeno de zona) formándose en ambos casos complejos insolubles.

A la fecha ha sido posible aislar a 3 importantes representantes de éste grupo de pirógenos exógenos ; la toxina difterica , la tetanica y la botulínica (70) .

La toxina difterica producida por el Corynebacterium diphteriae , bacilo gram positivo , inmóvil , no esporulado , es un germen que por lo general permanece circuncrito a la región superior del tracto respiratorio - - -

del huesped, lugar donde elabora su toxina, la cual es--
absorbida por la mucosa dando lugar a la destrucción del
epitelio, el cual al necrosarse y quedar cubierto de fi-
brina, leucocitos y eritrocitos exudados, forma sobre -
las amígdalas, faringe y laringe la llamada "seudomem -
brana", que por estar infiltrada de capilares produce -
severas hemorragias al intentar removerla; la toxina ac-
tiva produce degeneración parenquimatosa, infiltración -
grasa y necrosis tanto en miocardio, hígado, riñones y -
suprarrenales, además de lesiones al tejido nervioso -
dando lugar a parálisis del velo palatino, músculos -
oculares ó de las extremidades.

En el tetanos, las esporas de Clostridium tetani -
que están ampliamente difundidas en los suelos, heces -
de los caballos y otros animales, se depositan en los -
tejidos a través de heridas contaminadas y aunque el -
microorganismo no es invasivo y la infección permanece -
estrictamente localizada, el tejido necrótico al cual es
frecuente que se asocien infecciones piógenas favorece -
el desarrollo de las formas vegetativas productoras de -
la toxina, la cual es la causa de la enfermedad, gracias
al medio anaerobio que proporciona la lesión; la toxina
se absorbe y llega hasta la médula espinal donde actúa -

sobre el tejido nervioso central aumentando la exitabilidad refleja y sobre los nervios perifericos provocando los espasmos musculares caracteristicos de la enfermedad (contracciones tónicas convulsivas de los musculos voluntarios) probablemente por acumulación de acetilcolina en las terminaciones nerviosas motoras.

El receptor de la toxina en el sistema nervioso central parece ser un gangliósido hidrosoluble que en los tejidos forma complejos insolubles con los cerebrosidos y las esfingomielinas.

Desafortunadamente, las medidas de control son impracticables, debido a la amplia distribución de las formas esporuladas y su prolongada supervivencia.

La toxina botulinica producida por el germen anaerobio Clostridium botulinum es la única exotoxina que no es destruída por la enzimas digestivas, por lo cual es de efectos letales al ingerirse; se desnaturaliza por calentamiento a 100°C durante 10 minutos; produce el llamado envenenamiento alimenticio ó botulismo, intoxicación resultante de la ingestión de alimentos contaminados, por lo general enlatados ó almacenados en anaerobio

robiosis (conservas) ;

La toxina al ingerirse, es absorbida por el tracto intestinal y conducida al sistema nervioso central donde actúa probablemente bloqueando la producción de acetilcolina en las uniones neuromusculares; la dosis mortal para el hombre, aunque en realidad se desconoce, está ubicada en menos de $1\mu\text{g}$.

La acción de la toxina es diversa, provocando perturbaciones visuales, dificultad para tragar y hablar y parálisis bulbar progresiva, la muerte se presenta por parálisis respiratoria ó paro cardíaco.

De entre los microorganismos anaerobios que producen exotoxinas peligrosas, deben tenerse en cuenta a 3 especies de Clostridios , además de CL. botulinum y el CL. tetani ; las que comunmente producen la gangrena gaseosa; éstas son: Clostridium perfringens; Clostridium novyi y Clostridium septicum. Las exotoxinas producidas por ellos son solubles y específicas, todas tienen propiedades altamente necrotizantes, hemolíticas y letales, entre éstas exotoxinas se encuentran:

Toxina alfa: que por ser una lecitinasa ataca a la lecitina desdoblándola en fosfocolina y un diglicerol

do ; como la lecitina es un importante constituyente de las membranas celulares , su desnaturalización provoca que éstas se desintegren , lo que es de efectos fatales para la sobrevivencia de la célula ; la acción letal de ésta enzima es directamente proporcional a la velocidad de descomposición de la lecitina.

Toxina Theta : aunque no es una lecitinasa , tiene efectos similares .

Hialuronidasa : ésta exotoxina ataca al tejido conjuntivo que tiene como componente importante intercelular al ácido hialurónico ; la destrucción de éste tejido favorece la diseminación de los microorganismos infectantes , las hialuronidasas son también antigénicas .

Esta enzima es factible de aislamiento y purificación y se emplea en la medicina para facilitar la diseminación y la absorción de líquidos inyectados en los tejidos .

Estos Clostridios producen también ADN-asas , y colagenasas ; éstas últimas atacan a la colágena del tejido subcutáneo y músculo , abriendo camino a la infección ; la necrosis del tejido , por proveer de un medio anaerobio favorece la germinación y desarrollo de las esporas instaladas en la lesión ; los organismos fermentan los carbohidratos tisulares de lo que resulta la producción de gas , éste distiende los tejidos e interfiere la irrigación sanguínea , éstas condiciones favorecidas por los

efectos de las exotoxinas extienden la necrosis del tejido y por lo tanto se extiende la infección, éste círculo vicioso es difícil de romper y llega a ocasionar anemia hemolítica, toxemia severa y la muerte.

Al igual que en el tetanos, el control de las fuentes contaminantes es prácticamente imposible debido a la amplia distribución de los organismos y sus esporas en el medio ambiente.

Con respecto a las infecciones piógenas provocadas por cocos gram positivos como el estreptococo y el estafilococo; éstos son organismos que también producen exotoxinas, lo que les permite causar enfermedad gracias a su capacidad de multiplicarse y diseminarse ampliamente por los tejidos.

PIROGENOS ENDOGENOS

Se reconocen en general a dos tipos de pirógenos --
endógenos : los bacterianos ó endotóxicas bacterianas que
 son substancias asociadas intimamente a las bacterias gram
negativas y los pirógenos leucocitarios provenientes de -
exudados leucocíticos estériles ó sus extractos , los primeros
parecen inducir la formación de los segundos .

Desde el punto de vista biológico , los pirógenos en-
dógenos no bacterianos ó leucocitarios se comportan de ma-
 nera similar a los exudados inflamatorios estériles ; son
proteínas de peso molecular bajo (alrededor de 20 000) , -
no dializables , estables a pH ácido , resistentes a la -
acción de la tripsina , la ribonucleasa y otras enzimas -
su estructura bioquímica se desconoce , pero hay pruebas -
de que aparece en las células en forma de un precursor -
inactivo.

Este tipo de pirógenos son llamados endógenos por -
que son liberados de las células del huésped al sufrir -
éstas una estimulación , de éste modo queda establecido -
 el porqué muchos agentes producen fiebre indirectamente -
 liberando a la circulación pirógenos endógenos leucocita-
rios , los cuales parecen actuar directamente sobre el -
hipotálamo.

Las células sanguíneas de las cuales ha sido demos -
 trado que derivan éstos pirógenos , son principalmente , -

granulocitos como los leucocitos polimorfonucleares , -
 de los que deriva el llamado factor granulocítico , éste -
 factor humoral fué reportado por Benson en 1877 (57) y -
 actualmente se piensa que es la principal molécula mensa -
 jera en una amplia gama de fiebres experimentales así -
 como humanas ; ésta teoría se avala en el hecho de que -
 granulocitos derivados de exudados agudos estériles libe -
 ran así grandes cantidades de pirógenos "in vitro" , al -
 ser lavados y suspendidos en solución salina isotónica.

Estos extractos leucocitarios son termolábiles , tie -
 nen un periodo de latencia ó incubación corto al ser inyec -
 tados en animales de laboratorio , no producen leucopenia
 significativa en ellos ; las inyecciones repetitivas de -
 extractos leucocitarios en un receptor normal no provoca -
 en éste ningun tipo de tolerancia , el receptor sigue -
 siendo inmunologicamente capaz de responder a las endo -
 toxinas leucocitarias y bacterianas.

Por otra parte existen hallazgos que indican que las
 células mononucleares , principalmente los macrófagos -
 y monocitos , tambien liberan pirógenos , aunque la ci -
 netica del proceso difiere de la de los granulocitos (15).

Para éste tipo de estudios se emplean generalmente -
 sangre de pacientes con agranulocitosis , ciertas discra -
 cias sanguineas , leucemia monocítica aguda ó mielomonocí -
 tica , se emplean también preparaciones hechas de sangres

normales empleadas para pacientes con leucemia monocítica aguda , ya que éstos preparados contienen principalmente los componentes sanguíneos formes mononucleares sobre los cuales se efectúan los estudios ; de éstos se concluye que tanto las células mononucleares de sujetos normales como leucemicos pueden producir pirógenos al ser debidamente estimuladas , ya que los resultados que se obtienen con ambos tipos de células son similares .

Los autores Bodel y Atkins (1) , han empleado en sus ensayos para éstas mismas demostraciones , las células mononucleares cosechadas de pulmón , nódulos linfáticos y bazo ; la comprobación de que realmente las células mononucleares producen también pirógenos endógenos , es esclarece por primera vez , la aparición de fiebre en enfermedades en las que los granulocitos no parecen estar implicados de manera importante en la patogénesis de la lesión ; aunque deja la incógnita de si los pirógenos tisulares no pueden venir de macrófagos tisulares más bien que de células parenquimatosas.

Respecto a los pirógenos endógenos bacterianos , son las llamadas endotoxinas , substancias constitutivas las más de las veces del cuerpo vivo de la bacteria , en especial de la membrana celular de la mayoría de las bacterias gram negativas y que no es posible separar de ellas por otro medio que el de la lisis ó desintegración .

Estas endotoxinas bacterianas son liberadas a la --
circulación del huésped cuando la bacteria es atacada y
destruida por los mecanismos de defenza naturales del -
organismo infectado, ó bien por lisis espontanea.

Químicamente las endotoxinas son complejos protef -
nico-lípido-polisacárido y en algunos casos solo lipopo-
lisacáridos de peso molecular entre 100 000 y 900 000 , -
no son antigenicos, ni lábiles al calor y a las enzimas
digestivas.

Después de ser introducidas al organismo, las endo-
toxinas bacterianas son absorbidas por los leucocitos y
posteriormente eliminadas por el sistema reticuloendote-
lial; los efectos toxicos de las endotoxinas se ven redu-
cidos por los esteroides adrenales que posiblemente alte-
ran la permeabilidad de la membrana.

Las endotoxinas bacterianas producen una variada -
gama de efectos fisiopatológicos, entre los que se en -
cuentran:

La Pirogenicidad: Es la capacidad de la endotoxinas
bacterianas de producir fiebre, queda bien cimentada en-
ensayos en los cuales se inyectan intravenosamente micro
gramos de ellas en animales, observandose fiebre y leucó
citosis marcada en una primera fase y después se pre -

senta una segunda fase mayor y más prolongada de elevación térmica debida probablemente a la liberación de pirogenos endógenos leucocitarios a la circulación , causada por la acción de la endotoxina.

La aplicación repetida de endotoxina a un mismo receptor , causa que éste se vuelva tolerante "refractario" y entonces sus respuestas a las endotoxinas provenientes de cualquier microorganismo , estarán minimizadas ; no desarrollarán fiebre , ni leucopenia.

La aparición de ésta tolerancia ha sido atribuída a que la velocidad de eliminación de la endotoxina circulante por medio del sistema reticuloendotelial aumenta, ó bien a que ésta endotoxina circulante es rápidamente neutralizada por anticuerpos específicos ó tambien a "descensibilización" a nivel de las células reactivas.

El suero de sujetos humanos ó animales tolerantes confiere tolerancia parcial a receptores normales de una forma pasiva.

Cuando la endotoxina bacteriana invade un organismo en grandes dosis , puede producir un choque letal caracterizado clínicamente por sensación de debilidad , letargo , hipotensión , choque irreversible y muerte (43) .

ASPECTOS CLINICOFISIOLÓGICOS

La fisiopatología de la fiebre involucra de manera importante a los pirógenos endógenos circulantes ; existe una relación directa entre el aumento de la concentración plasmática de los pirógenos endógenos y el aumento de la fiebre , ésto ha quedado demostrado en muchos modelos experimentales como son :

La producción en el laboratorio de infecciones bacterianas agudas por la inyección intravenosa de diversos agentes en conejos sanos ; éstos agentes incluyen bacterias gram negativas , y gram positivas , como estafilococo albus , neumococos etc. y

La inyección de antígenos bacterianos ; por ejemplo tuberculina en conejos sensibilizados.

En los animales existe un gran número de activadores de la respuesta pirogénica que van desde la administración intravenosa y consecuente fagocitosis de bacterias y sus productos , hongos y posiblemente virus hasta estímulos inmunológicos como reacciones de hipersensibilidad inmediata y retardada a antígenos de origen microbiano y no microbiano (13) .

Se puede pensar que los diferentes tipos de fiebre corresponden a un determinado tipo de estímulo , así ; por ejemplo , las bacteremias ó endotoxemias producen fiebres altas y rápidas , debido a la pronta activación

de los granulocitos sanguineos por fagocitosis , que en breve producen pirógenos ; en cambio las fiebres moderadas , pero prolongadas , se asocian más bien a la activación de las células mononucleares de tejidos como pulmón , nódulos linfáticos y bazo , y se observan con frecuencia en enfermedades como linfomas malignos , tuberculosis y agranulocitosis .

La obtención de pirógenos provenientes de leucocitos polimorfonucleares (granulocitos) , y células mononucleares (macrofagos y monocitos) ; "in vitro" ha sido posible al hacer interaccionar los agentes activadores antes mencionados con suero normal , extractos salinos de granulocitos , suspensiones de hígado de conejo (células de Kupffer) , homogenados de tejidos normales de conejo como corazón , músculo esquelético etc (pirógenos tisulares provenientes de macrófagos fijos a tejidos) etc a 37° C .

En base a todo lo anterior , se infiere , que solo las células con alguna actividad fagocítica son capaces de producción pirogénica ; por lo que los linfocitos que darían excluidos ; en realidad , no hay prueba alguna de que éstos tambien liberen pirógenos endógenos y respecto a su capacidad fagocítica , los datos son conflictivos ; pero es reconocido sin embargo que juegan un papel de cierta relevancia en las fiebres asociadas con estados de hipersensibilidad retardada pura (tisular) .

Suspensiones de linfocitos sensibilizados a proteí -
nas heterólogas al ser incubadas "in vitro" con sus anti -
genos liberan sustancias no pirogénicas al sobrenadante ;
pero que sirven para activar a los leucocitos de sangre --
normal para que a su vez estos produzcan pirógenos ; és -
tas sustancias tienen cierto parecido con otros produc -
tos linfocíticos solubles llamados "linfocinas" entre las
que se encuentran , además de otras a las linfotoxinas y -
al MIF ó factor de inhibición de macrófagos , el hecho -
de que existan éstos activadores endógenos puede explicar
en parte la existencia de fiebre en estados no asociados -
con infección u otro activador exógeno.

Suspensiones relativamente puras de linfocitos no -
liberan pirógenos "in vitro" aún al ser enfrentados a di -
versos estímulos ; y pacientes con leucemia linfocítica -
crónica tienen respuestas febriles minimizadas a las en -
dotoxinas, cuando para que ésto ocurra en animales ó hu -
manos normales , es necesario tratarlos con mostaza de -
nitrógeno para producir granulocitopenia ; por lo cual se
piensa que los linfocitos no aportan en realidad ningún -
pirógeno endógeno para la producción de la fiebre.

Respecto a las fiebres de hipersensibilidad ; éstas -
han sido estudiadas en conejos sensibilizados a proteí -
nas heterólogas como albúmina serica humana ó bovina y -
se han logrado descubrir dos clases de pirógenos ; unos -
de aparición inmediata , solubles , que son complejos an -

tígeno-anticuerpo y otros que aparecen en la circulación posteriormente y cuyas propiedades corresponden a los -
pirógenos endógenos clásicos.

TEMPERATURA CLINICA

Desde el siglo XVIII en que el Dr. James Currie , físico inglés , introdujo la termometría clínica en la práctica médica , ésta se ha convertido en un valioso auxiliar del diagnóstico , debido a su objetividad y simplicidad.

Los trastornos en la regulación de la temperatura corporal ó fiebre (síndrome complejo integrado por hipertermia , taquicardia , taquipnea , estado saburral , quebrantamiento e intranquilidad) (31) , acompañan casi siempre a las enfermedades orgánicas generalizadas.

Ya que en estado de salud , la temperatura corporal en el hombre se mantiene dentro de límites muy estrechos , la determinación de la misma ayuda a valorar la gravedad , curso y duración de una enfermedad ; frecuentemente , las aberraciones clínicas de la temperatura se revelan como el único signo ó cuando menos como el más importante en las enfermedades de etiología desconocida.

El análisis de la problemática que presenta el desarrollo histórico de la termometría clínica , hasta llegar a ser tal y como la conocemos ahora y que es paralelo al proceso evolutivo de la ciencia médica , vino a consolidar a la termometría clínica en uno de los pilares básicos en torno al cual se conformaría la historia de la medicina.

te a un medio ambiente frío (éste mecanismo se dispara a un umbral de temperatura menor a $33 - 35^{\circ} \text{C}$; $91.4 - 95^{\circ} \text{F}$) ocurre una inhibición periférica del sudor , debido a que los termorreceptores de la piel envían impulsos al cerebro para que ésto ocurra ; por otra parte , como el calor central se mantiene , el mecanismo normal de los sensores calóricos hipotalámicos actúa también enviando impulsos hacia la periferia para provocar la excitación de las glándulas sudoríparas ; el resultado es que la respuesta de sudoración queda parcial ó totalmente paralizada ; el sitio anatomico donde ambos impulsos se encuentran y tiene lugar la inhibición es aún desconocido.

El efecto anihomeostático es intenso , se pierde el 10 % del calor metabólico basal en respuesta a un decremento de 0.05°C de la temperatura común sobre el pull neuronal total de la piel ; fisiologicamente ésto significa la prevención de una sudoración inútil que mojaría una piel ya fría.

Los progresos en la investigación en termorregulación permite ahora la descripción de éstos sistemas de excitación e inhibición ; antiguamente la inhibición periférica de la sudoración se malinterpretaba como el requisito de los impulsos calóricos de la piel para la acción de las glándulas sudoríparas , retrazando el conocimiento del mecanismo central como básico.

4) La Excitación de la Producción de Calor Metabólico por los Receptores de Frío en la Piel : La exposición

medir la temperatura central humana . La "termometría -
timpanica" (7) .

En ésta línea de investigación , el principio fué -
brillante y promisorio . En 1885 , se descubre el centro -
del calor localizandolo en el hipotálamo anterior , indis-
pensable para la termorregulación en medio ambiente ca -
luroso ; en 1910 , se descubre un segundo centro en la -
proción posterior del hipotálamo necesario para la termo -
rregulación en medio ambiente frío .

A partir de éstos dos grandes descubrimientos y por -
medio de analisis y ensayos exhaustivos se han llegado a -
elucidar con claridad las bases del funcionamiento de los
mecanismos homeostáticos de la temperatura.

Se llegó a la conclusión de que existen 5 mecanismos
principales por medio de los cuales actúa la termorregu -
lación humana (8) .

1) La Exitación del Sudor por el Centro de Recepción
de Calor : Benzinger en sus investigaciones encontró que -
el calor perdido por la sudoración ocurría con fluctua -
ciones espontaneas de intensidad ; la relación entre és -
tas fluctuaciones y la temperatura de la piel es peculiar
e inesperada ya que la teoría clasica atribuye la res -
puesta del sudor a la fuerza de los impulsos calurosos -
en los receptores de la piel , y sin embargo , en los -
experimentos realizados , los resultados indican que la -
sudoración coincidía invariablemente con la temperatura -

mínima y no con la máxima , de éstos resultados se concluye que la piel juega un papel pasivo.

2) Vasodilatación Provocada por la Recepción Calórica Central : Este segundo mecanismo es un soporte vital para el primero ; se descubrió que existe un flujo sanguíneo entre el corazón y la piel , el cual incrementa por sí mismo la pérdida de calor corporal al llevar éste calor desde el corazón a la piel donde se pierde por evaporación del sudor ; ésta relación se describe en términos de conductancia (C) que es una función lineal cercana a la temperatura timpánica ; ésta relación fué medida por gradiente calorimétrico y expresada por la equivalencia :

$$C = \frac{Q}{T_1 - T_s}$$

Donde Q - es el total del flujo calorico de la piel hacia el medio ambiente .

T_1 - es la temperatura del interior del cuerpo , y

T_s - es la temperatura de la superficie corporal (piel).

Cuando el calor central aumenta , el flujo sanguíneo del corazón hacia la piel puede aumentar entre 5 y 35 unidades de conductancia , lo que equivale a un flujo sanguíneo periférico de tres toneladas por día.

3) La Inhibición de la Sudoración Termorregulatoria por Receptores del Frio en la Piel : Cuando un organismo cuya temperatura central es normal , se expone súbitamen

te a un medio ambiente frío (éste mecanismo se dispara a un umbral de temperatura menor a $33 - 35^{\circ} \text{C}$; $91.4 - 95^{\circ} \text{F}$) ocurre una inhibición periférica del sudor , debido a que los termorreceptores de la piel envían impulsos al cerebro para que ésto ocurra ; por otra parte , como el calor central se mantiene , el mecanismo normal de los sensores calóricos hipotalámicos actúa también enviando impulsos hacia la periferia para provocar la excitación de las glandulas sudoríparas ; el resultado es que la respuesta de sudoración queda parcial ó totalmente paralizada ; el sitio anatomico donde ambos impulsos se encuentran y tiene lugar la inhibición es aún desconocido.

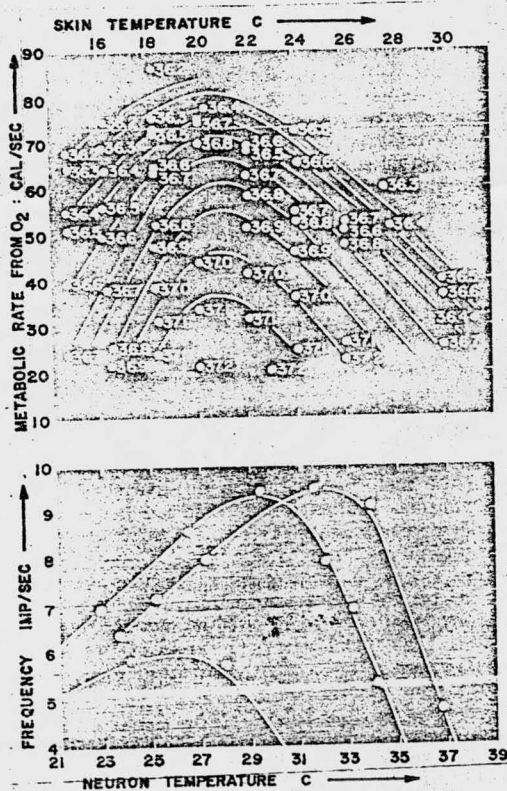
El efecto anihomeostático es intenso , se pierde el 10 % del calor metabolico basal en respuesta a un decremento de 0.05°C de la temperatura común sobre el pulso neuronal total de la piel ; fisiologicamente ésto significa la prevención de una sudoración inútil que mojaría una piel ya fría.

Los progresos en la investigación en termorregulación permite ahora la descripción de éstos sistemas de excitación e inhibición ; antiguamente la inhibición periférica de la sudoración se malinterpretaba como el requisito de los impulsos calóricos de la piel para la acción de las glandulas sudoríparas , retrazando el conocimiento del mecanismo central como básico.

4) La Excitación de la Producción de Calor Metabolico por los Receptores de Frio en la Piel : La exposición

repentina a un medio ambiente frío excita la respuesta metabólica induciendo que estalle el consumo de oxígeno produciéndose una descarga de acciones potenciales ; por el contrario el calentamiento súbito , inhibe éste mecanismo.

Para iniciar su procesamiento , éste mecanismo solo requiere que la temperatura del pull neuronal de la piel sufra un decremento de solo 0.5°C con respecto al punto normal . (figura)



5) La Inhibición de la producción de Calor Central -
Termorregulatoria : Para cada temperatura central hay un -
curso en forma de cúpula con una intensidad maxima de con-
sumo de oxígeno a 20° C (68° F) ; la temperatura de la piel
refleja su propio nivel particular , a 20° C de tempera -
tura de la piel , la respuesta metabolica es maxima ; a -
temperaturas de la piel cercanas a 33° C , la relación -
metabólica es normal , 20 calorías por segundo ; a una -
temperatura timpánica cercana a 37° C , no hay respuesta
metabolica .

Estos mecanismos dan suficientes explicaciones cuan--
titativas de el asombroso fenómeno de la homeostásis tér -
mica central en el hombre.

PATOGENESIS DE LA FIEBRE

Desde tiempo inmemorial , las alteraciones en la regulación de la temperatura ó fiebre , se asocian invariablemente al estado de enfermedad , y aunque su patogénesis ha permanecido obscura , se sabe que el control sobre ésta regulación lo efectúan los centros nerviosos cerebrales situados principalmente en el hipotálamo anterior y posterior , por medio de la particularmente significativa acción antagonista entre la 5-hidroxitriptamina y la norepinefrina.

A través del tiempo se han elaborado infinidad de teorías acerca de los trastornos térmicos ; en la actualidad , se ha hablado de que las glandulas endócrinas tienen un papel central en la patogénesis de la fiebre (36) , debido al descubrimiento de anormalidades en el metabolismo de la etiocolanona (producto primario de excreción de los esteroides como cortisol , aldosterona , etc , que a su paso por el hígado son inactivados por reducción a sus tetrahydroderivados , como conjugados del ácido glucurónico) en pacientes con fiebres periodicas, aunque no existen pruebas concluyentes acerca de esto ; (18-29 , 37).

Algunos datos experimentales sugieren que las prostaglandinas , en particular la E_1 y E_2 de la serie E tienen potente acción pirogénica ; esto se explica en parte al notar que el empleo de antipiréticos como el áci -

de acetilsalicílico ó indometacina , hacen descender los valores basales de las prostaglandinas de la serie E , además de inhibir la síntesis de todas las prostaglandinas en general (53) ; por otra parte , los salicilatos alteran la respuesta del hipotálamo que ha sido inyectado con pirógenos provocando la disminución del punto fijo alrededor del cual se mantiene usualmente la temperatura corporal , (y cuyo ascenso a un nivel superior es la causa de la fiebre) y la consecuente activación de los mecanismos de pérdida del calor , las bases bioquímicas de ésta acción aún no son claras ; pero la respuesta a los salicilatos (27 , 50) es clínicamente evidente cuando al administrar aspirina a un paciente febril , se produce vasodilatación y sudoración , y posteriormente , cuando el efecto del medicamento desaparece pocas horas después sigue el escalofrío , resultado de la reelevación del punto fijo (presumiblemente por pirógenos endógenos leucocitarios circulantes) .

Las observaciones en pacientes febriles indican que la fiebre se presenta debido a la elevación del punto fijo , y cuando ésto ha sucedido , la pérdida y ganancia de calor son finamente balanceadas a éste nuevo nivel , como ocurre con el punto fijo en la salud , por ejemplo: la respuesta febril a endotoxinas en los perros no ocurre cuando el hipotálamo ha sido calentado durante el periodo latente anterior a la aparición de la fiebre ; se ha postulado que cuando el aumento de la temperatura debido a

a la elevación del punto fijo se provoca localmente , la -
respuesta sistémica se aborta.

Desde el punto de vista inmunológico , la respuesta -
pirogénica ha sido extensamente estudiada ; se han reali -
zado diversos experimentos para corroborar la interven -
ción de factores de éste tipo en la producción de fiebre -
y los investigadores se encontraron con que en el orga -
nismo humano suceden fenómenos como la tolerancia y su -
antítesis , la hipersensibilidad a los activadores que -
inducen la formación de pirógenos leucocitarios , en es -
pecial las endotoxinas bacterianas.

La relación de la tolerancia a los pirógenos en las -
condiciones clínicas actuales , no está bien definida , -
pero los reportes sugieren que los patrones observados -
de fiebre pueden indicar un cambio en el balance entre -
la acción de los activadores microbianos , las células -
involucradas en la liberación de pirógenos endógenos y la
variación en el estado inmunológico del huesped.

En estados de hipersensibilidad (65) , parece proba -
ble que la fiebre es mediada al igual que en las infec -
ciones , por pirógenos endógenos circulantes liberados -
por leucocitos activados de la sangre ó el sistema reti -
culoendotelial .

En un modelo designado para investigar la causa de -
las fiebres en hipersensibilidad causada por penicilina -

se encontró que la fiebre puede ser inducida en conejos -
sensibles a la penicilina por compuestos que contenían -
la estructura penciloíl y que las células sanguíneas de -
éstos conejos sensibilizados (2) liberan pirógenos endó -
genos "in vitro" solo cuando se incuban con la molécula -
de penciloíl en presencia de suero sensibilizado.

Estos resultados sugieren que la interacción de los -
complejos (ag-ac) antígeno-anticuerpo con los leucocitos -
sanguíneos pueden llevar a la liberación de pirógenos en -
ésta forma de hipersensibilidad.

Las reacciones antígeno-anticuerpo inducen fiebre -
clínica y experimental en varios animales , de modo re -
tardado y a veces inmediatamente.

Las leucoaglutininas y los anticuerpos de las célu -
las Rh +, han sido implicadas en ciertas fiebres resul -
tantes de transfusiones incompatibles . Este tipo de -
reacciones se asocian con leucopenias transitorias y con -
incompatibilidad de células rojas ; el principio de la -
fiebre se correlaciona con la lisis inmunológica de los -
eritrocitos , la cual presumiblemente libera complejos -
ag-ac . que activan a los leucocitos del huésped para que
éstos produzcan pirógenos endógenos.

Aunque los pirógenos endógenos actúan claramente -
sobre el hipotálamo para producir fiebre , también puede -
actuar en sitios periféricos , quizá como un inductor de -

inflamación . Es por ésta razón que la respuesta infla -
matoria definida se asocia con la patogénesis de la fiebre
(26) , en realidad , parece ser una fuente probable de pi -
rógénos endógenos.

En varios modelos estudiados en animales , como la pe -
ritonitis inducida por glicógeno ; la inflamación produci -
da resulta en células capaces de liberar pirógénos y las -
células de flúidos inflamatorios de pacientes humanos -
también producen pirógénos.

En apoyo a ésta teoría de que la inflamación induce -
fiebre de algún modo ; se han realizado estudios en pa -
cientes con diversas enfermedades febriles no infeccio -
sas , como la gota aguda , crisis de células falciformes ,
porfiria aguda intermitente , infartos miocárdicos ó pul -
monares y ciertas enfermedades de la colágena , también a -
sociadas con la respuesta inflamatoria.

La observación de que la fiebre puede producirse en -
el hombre por inyecciones del esteroide etiocolanlona ; -
un metabolito de los androgenos , sugiere que éste o otro
esteroide semejante pirogénico formado naturalmente en el
organismo puede ser responsable de ciertas fiebres de orí -
gen desconocido.

Una variedad de esteroides , incluyendo a los compues -
tos C-19 y C-21 y también a ciertos ácidos biliares , son -
pirogénicos "in vivo" , y liberan pirógénos endógenos -
cuando se incuban "in vitro" con leucocitos sanguíneos hu -
manos.

Otros esteroides como los corticosteroides y estrógenos tienen propiedades antipiréticas "in vivo" y suprimen la liberación de pirógenos endógenos "in vitro" (32).

Estas observaciones sugieren que éstos esteroides pueden regular también como inducir fiebre, pero la evidencia está aún necesitando de estados específicos eslabonados de la alteración del metabolismo de los esteroides con la fiebre clínica.

La fiebre es un signo común en pacientes con tumores (11), y aunque se desconoce su etiología, se relaciona con sitios de inflamación de tejido destruido, otra explicación es que los pirógenos endógenos sean liberados de células estimuladas por factores autoinmunes inducidos por las células malignas; ó bien que las células neoplásicas puedan producir pirógenos por sí mismas.

En lesiones cerebrales, la hipertermia aparece como resultado de un mal funcionamiento del centro termorregulador hipotalámico, lo cual causa que los mecanismos inductores de fiebre sean sostenidos más allá de los límites de la temperatura corporal ordinariamente fija en otras enfermedades cerca de los 40° C, la elevación de la temperatura, progresa de éste modo a niveles fatales.

La causa de que la hipertermia "maligna" ocurra en ciertos procesos anestésicos, aunque en realidad se desconoce, también parece ser debido al fracaso de la función del centro termorregulatorio cerebral.

Bajo anestesia , la temperatura se desvía ampliamente de los límites normales , debido a que las defensas autóno más del organismo están seriamente deterioradas por el estado de inconciencia.

La hiperpirexia fulminante en anestesia , lleva a la muerte por producción excesiva de calor y consumo de oxígeno.

ASPECTOS FARMACEUTICOS

Tanto en la industria farmaceutica así como a nivel de hospitales , el número de productos para administración parenteral que se preparan , está en aumento constante , muchos de éstos productos , tienden a ser pirogénicos debido a que en el transcurso de su procesamiento fueron expuestos alguna vez a contaminación bacteriana ; la fuente de ésta contaminación puede encontrarse en la materia prima (como son solutos y solventes) ó bien en el equipo y aparatos que no están libres de pirógenos debido a una limpieza incorrecta ; incluso , el producto final estéril , libre de pirógenos , logrado con muchas precauciones , puede volverse pirogénico en el momento de ser envasado , si no se tiene cuidado de que las botellas, tapones de hule , etc , estén tambien libres de pirógenos.

La esterilización por calor del producto final como es recomendada oficialmente en las farmacopeas , no es suficiente para destruir a todos los pirógenos presentes en una solución contaminada , ya que algunos de ellos han demostrado ser termoestables.

Debido a estos problemas , se ha establecido que la mayoría de los productos farmaceuticos para administración parenteral deben ser sometidos a una prueba ó serie de pruebas para asegurar su apirogenicidad , lo que es esencial para la protección de los pacientes , ya que el efec-

to adverso de una reacción pirogénica , pelidroso para -
 cualquiera , sería desastroso en ciertos pacientes con -
 enfermedades críticas , ó en recuperación de cirugía ma -
 yor ó con circulación extracorporea.

Por todo lo anterior , es clara la necesidad de una -
 técnica rápida y eficaz para detectar pirógenos que pueda -
 efectuarse con facilidad sobre lotes escogidos represen -
 tativos de la producción.

Las pruebas farmacopéicas para pirógenos efectuadas -
 en conejos , son pruebas límite satisfactorias , gracias -
 a que los conejos , son más sensitivos a los pirógenos -
que los humanos .

Estas pruebas se describen en la British Pharmacopoeia
 (1968) ; la United States Pharmacopoeia (1955) y la In -
 ternational Pharmacopoeia (1955).

Este bioensayo , a pesar de ser la prueba oficial -
está sometida a una serie de variantes impredecibles ; lo
 que ha provocado que la investigación en éste campo de la
industria farmaceutica se ocupe de buscar una prueba más -
adecuada para los fines requeridos ; ésta otra prueba -
 llamada "lisado de amebocitos de limulus" (LAL) ha sido -
considerada específica para detectar la presencia de en -
dotoxinas bacterianas , en flúidos biológicos y comercia -
les.

Ambas pruebas son recomendables , pero presentan pro-
 blemas de diversas índoles y magnitudes , lo cual hace pe-
 nosa su aplicación general ; por lo tanto debe darse -

prioridad a ciertos productos ; Charlton en 1965 sugirió una clasificación de éstos en base a una contaminación pirogénica más probable (56) , en dos grandes grupos:

1) Alto Riesgo

- a) productos de administración en grandes volúmenes como flúidos de infusión.
- b) productos que son un buen medio para el crecimiento microbiano ó que contienen sustancias que pueden ser pirogénicas por sí mismas.

2) Bajo Riesgo

- a) productos de administración en volúmenes pequeños .
- b) productos que contienen sustancias inhibitorias del crecimiento bacteriano ó que son inhibitorias de sí mismas formando así un medio inadecuado para el crecimiento bacteriano.

Las pruebas deben efectuarse preferentemente sobre los productos del primer grupo ; en éste quedan incluidas inyecciones intravenosas , como la dextrosa ; ó bien gluconato de calcio , heparina , soluciones de clorhidrato de sodio.

Las inyecciones subcutaneas e intramusculares no causan reacciones febriles pronunciadas a pesar de tener un fuerte contenido pirogénico , gracias a su volumen pequeño y a la vía de acceso al organismo que es indirecta ; a veces causan pequeñas molestias a pesar de estar libres

de pirógenos , pero ésto puede deberse tambien a la natu -
raleza irritante de la substancia por sí misma , como el
sulfuro en aceite , ó bien a la pirogenicidad propia de -
compuestos como son : ciertos esteroides , dextranas nati -
vas , tetrahydro-naftilamina , 2,4-dinitrofenol , liser -
gida , metil celulosa , kaolín , 5-hidroxi-triptofano , y
pentaclorofeno.

Otros productos estériles como gotas y ungentos para
los ojos , que no se administran al sistema circulatorio ,
no producen efectos pirogénicos.

Ciertos productos farmaceuticos como los medicamentos
que son inestables en solución , presentan problemas es -
peciales cuando se trata de probarlos para pirogenicidad.

Las pruebas para pirógenos durante la manufactura de
cada substancia sirven para establecer el mejor proceso -
de preparación de la misma.

El hecho de producir un material apirogénico por me -
dio de una técnica efectiva a bajo costo , con buen ren -
dimiento y calidad , presenta un reto a la profesión far -
maceutica.

E N H O S P I T A L E S

A nivel hospitalario , donde las facilidades de prueba son limitadas , las pruebas farmacopéicas son a veces impracticables como rutina , por ésta razón deben elegirse ciertos productos solamente ; el método para hacer la elección , varía ; pueden hacerse pruebas de diferentes tipos :

- a) Pruebas al azar del producto final usando la técnica en conejos.
- b) Pruebas para descartar (tamiz) usando filtros de membrana millipore.

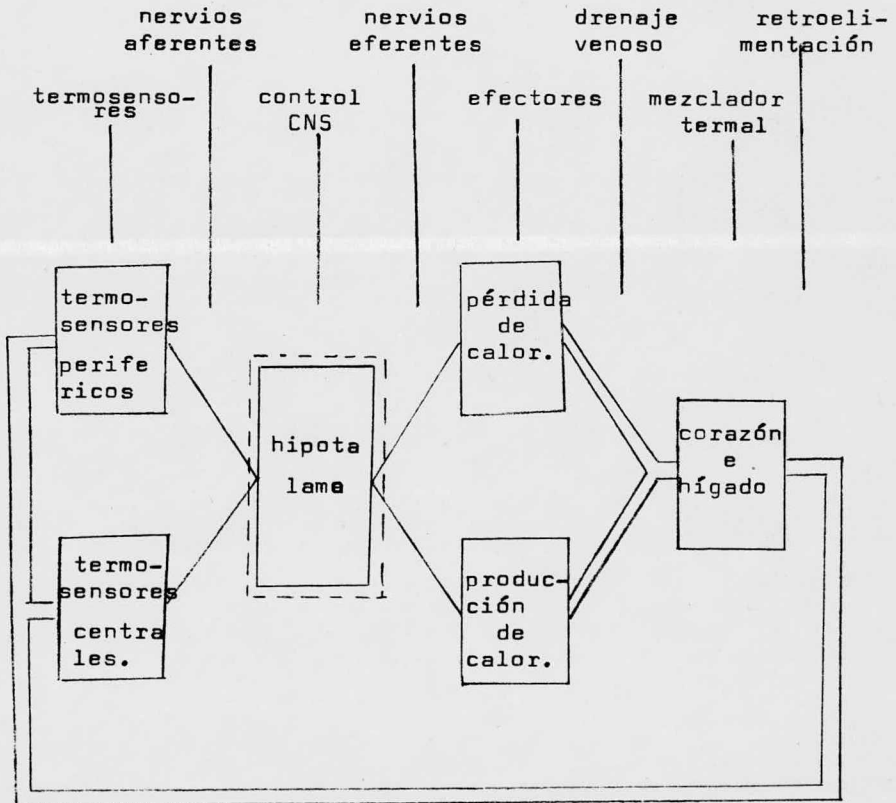
Y posteriormente , a los productos sospechosos de contaminación bacteriana practicarles el examen para pirógenos farmacopéico.

Es imprescindible ejercer un control sobre los medicamentos , cualquiera que sea la vía elegida.

Por otra parte , a nivel hospitalario , las desviaciones patológicas de la temperatura , son muchas veces debidas a condiciones idiopáticas ; ésto es : muchas sustancias a diversas dosis , producen sintomas de toxicidad que incluyen un aumento ó falla en la temperatura ; la termorregulación , depende de la integridad de la región cerebral del hipotálamo anterior en el cerebro , en la cual la información es alimetada vía nervios aferentes , desde los

termosensores centrales y perifericos , y desde la cual -
se ejerce un control apropiado sobre los efectores termo -
regulatorios (figura siguiente).

DIAGRAMA DE LAS RELACIONES ENTRE LOS TERMOSENSORES
Y LOS EFECTORES TERMORREGULATORIOS



----- barrera sanguínea cerebral
CNS sistema nervioso central

En la figura puede apreciarse que el mantenimiento de un centro particular de temperatura depende del balance entre la producción y la pérdida de calor, lo que constituye un proceso fisicoquímico puro, la producción de calor resulta de la oxidación a nivel celular, la pérdida de calor está relacionada con el flujo sanguíneo periférico

Entre las sustancias de uso hospitalario que producen efectos sobre la temperatura corporal están :

Las drogas simpatomiméticas que inducen vasoconstricción periférica como las anfetaminas ; los anestésicos y también la adrenalina y noradrenalina, la morfina y la reserpina, la ergotamina, los barbitúricos, incluyendo a el exobarbital y el pentobarbital, la clorpromazina, el sulfato de atropina y los inhibidores de la colinesterasa, causan también un colapso en la termorregulación, así como la oxotremorina que tiene un efecto colinérgico tanto central como periférico : la hidrocortisona tiene también la capacidad de prevenir el efecto pirogénico de las toxinas bacterianas.

E N I N D U S T R I A S

Aunque todo parece indicar que las bacterias y las proteínas usualmente no penetran las membranas de diálisis; se han observado en la práctica clínica reacciones pirogénicas al aplicar hemodiálisis, consecuentemente, se deduce que el agua estaba contaminada.

Industrialmente, la producción y distribución de agua destilada estéril libre de pirógenos de alta calidad para uso hospitalario y farmacéutico, es un importante problema; ya que deben producirse cantidades suficientes de agua de alta pureza química con grado de "agua purísima esterilizada" a bajo costo (por ejemplo \$ 1.37 dolares por 1000 litros); para lograrlo se han empleado los siguientes métodos:

1) Purificación a través de Resinas de Intercambio Ionico:

Estas resinas tienen la desventaja de ser grandes reservorios bacterianos y micóticos; este crecimiento de microorganismos, es inhibido parcialmente por el uso de agua caliente (50° C) pero extremadamente difícil de suprimir; además las resinas se vuelven menos efectivas con el uso y requieren regeneración a intervalos regulares, lo que trae serias complicaciones ya que a veces los productos usados para la regeneración no son removidos apropiadamente.

Este método es a menudo seguido de filtración a través de filtros de carbón de hulla y/o de asbesto para remover totalmente a los pirógenos .

2) Electrodíálisis :

Muestra las mismas desventajas que las resinas de intercambio iónico , ya que no remueven partículas ni moléculas que sean grandes ó que estén descargadas ; también se emplea en combinación con filtración .

3) Purificación a través de Membranas (Osmosis Reversa) :

Es un mejor método ya que purifica volúmenes considerables de agua , y cuando se usa apropiadamente , parece cumplir los requisitos prácticos de producción ; sin embargo , tiene el inconveniente de no poder mantener la esterilidad del sistema por mucho tiempo , si no es usado continuamente ; aquí no es posible emplear agua caliente como bactericida , ya que la preparación se vuelve menos efectiva con el aumento de la temperatura ; esto también sucede con el uso ; las membranas se vuelven menos efectivas progresivamente y deben ser cambiadas a intervalos regulares.

4) Destilación :

Teóricamente debería ser el método ideal pero a gran escala no es económicamente factible.

5) Radiación Ionizante:

La esterilización usando radiación ionizante - en dosis farmacópicas adecuadas para destruir los pirógenos ha sido profusamente empleada ; algunos tipos de agua , se requiere una dosis de 5×10^6 - radianes , para que ésta agua pase la prueba de la British Pharmacopoeia y cuando se emplea la prueba LAL ó pyrexal , la dosis requerida fué de 25×10^6 radianes . En éste método hay también la posibilidad de que los radioisótopos puedan ejercer una acción febril.

Estos productos esterilizados por éste último método, - presentan problemas especiales cuando se les aplica la prueba farmacopéica ya que la radioactividad puede intervenir con el resultado ; por ésto se hace necesario el almacenaje de los productos antes de efectuar una prueba, para pirógenos para permitir el descenso de la radioactividad , - por ejemplo , la British Pharmacopoeia , establece ciertas especificaciones de almacenamiento del Au^{198} como oro coloidal con una radioactividad inicial de 10 microcuries.

Las inyecciones radioactivas para diagnostico usual -- mente contiene menos de 100 microcuries de radioactividad, por lo cual empacarlas antes de la prueba es innecesario.

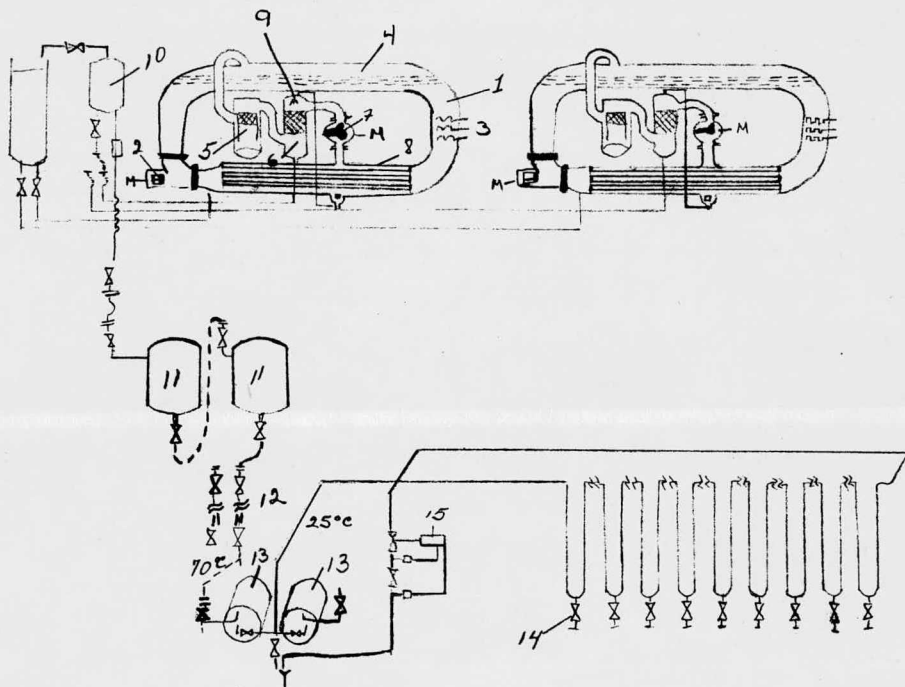
Es posible que en un futuro proximo , se empleen las resinas de intercambio iónico combinadas con resinas macro-

reticulares como filtro , para producción en gran escala.

Los requerimientos generales para una planta industrial productora de agua esteril son :

- 1) El sistema de producción de agua debe tener una fuente de alimentación de agua en cantidades abundantes ; estar construído para una rápida reparación ó reemplazo en caso de avería y tener un nivel de consumo bajo de poder y mantenimiento.
- 2) El sistema de distribución de agua debe estar diseñado para trabajar bajo estrictas condiciones de esterilidad , y ser factible de esterilizar en caso de contaminación ; situación que nunca debería ocurrir .
- 3) La producción de agua debe ser libre de solutos , gérmenes (incluyendo virus y por supuesto pirógenos) .
- 4) Asegurar un suministro contínuo de agua estéril libre de pirógenos , independientemente de la frecuencia con la cual se requiere para su venta ó uso particular de la planta.

DIAGRAMA EXPERIMENTAL DE UNA PLANTA
PRODUCTORA DE AGUA



- 1) Sección de agua salobre
- 2) Bomba
- 3) Calentador
- 4) Parte alta de la sección 1
- 5) Ciclón
- 6) Deaerador

- 7) Compresor
- 8) Intercambiador de calor
- 9) Aire removido del destilado
- 10) Recipiente para contención
- 11) Tanques de depósito
- 12) Tubería
- 13) Tanques refrigerantes
- 14) 9 Estaciones ó yacimientos
- 15) Válvula de regulación del flujo

El equipo de destilación está constituido por los tanques de depósito (11) , tubería (12) y los tanques refrigerantes (13) , cada uno de éstos elementos se encuentra por duplicado , para que uno pueda ser fácilmente substituído por otro ó bien pueden ser usados simultaneamente .

El agua es continuamente llevada a la sección de agua salobre , se usa un exceso del 10% de agua para contrarrestar la concentración y sedimentación de solutos en la salmuera , la cual se hace bombear y se calienta a 103° C , y saturada de vapor de agua se acumula en la sección 4 , el vapor se lo lleva el ciclón , que también remueve partículas y gotas de condensación , y a través de el deaerador se retira el aire , del destilado , entonces se comprime y se condensa en el intercambiador de calor para su almacenaje y posterior destilación.

PRUEBA FARMACOPEICA INTERNACIONAL

El bioensayo en conejos , es la prueba farmacopeica oficialmente reconocida y prescrita para la regulación de la manufactura de soluciones de administración parenteral por la organización Mundial de la Salud (OMS) el Acta de Gran Bretaña de Substancias Terapeuticas ; La Administración de Drogas y Alimentos y el Instituto Nacional de la Salud (NIH) USA, además de muchas farmacopeas.

Los conejos se han empleado con preferencia , basándose en sus características físicas ; su temperatura corporal bajo las condiciones de la prueba es relativamente invariable , lo que no ocurre con otros pequeños animales de laboratorio ; su tamaño es ideal para su manejo y para la administración intravenosa de la dosis de prueba en la vena de la oreja ; además pueden ser entrenados para permanecer quietos durante varias horas , sentados en la silla y para aceptar la inyección de solución salina como control y la inserción del termómetro.

Para seleccionar un lote de conejos adecuado para su empleo en la prueba , es necesario uniformar las condiciones de éstos bajo un criterio previo ; por ejemplo : acordar emplear solamente los conejos blancos de Nueva Zelanda que pesen entre 1.8 y 2.5 kg del Instituto Nacional de la Salud .

Durante la prueba , deben mantenerse condiciones -
uniformes de temperatura e iluminación y debe haber un mí- -
nimo de ruido , manipulación y movimiento ; Tambien es re- -
conocida la influencia del estress en la supresión de la -
respuesta a un pirógeno (hipotérmia emocional) y por lo -
tanto la prueba debe llevarse a cabo en un medio ambiente -
invariable con un mínimo de estimulación externa.

Despues de someter a los animales a una intensa ob -
servación y estudio , se seleccionan solo aquellos que ha- -
yan mostrado que su temperatura corporal no aumenta despues -
de la administración intravenosa de solución salina libre -
de pirógenos ; aquellos cuya temperatura aumente por encima -
de cierto límite , son excluidos por completo ; además se -
establece que aquellos que hayan recibido un pirógeno po- -
tencialmente antigénico en alguna época ; deben descartar -
se para evitar que al ser probados de nuevo con otra subs- -
tancia , puedan dar reacciones cruzadas inmunologicamente -
con el primero .

A pesar de todas éstas restricciones , la prueba no es -
con mucho una garantía de libertad de pirógenos , es solo -
una comprobación contra contaminación gruesa ; no es un -
ensayo cuantitativo , en términos de que no es posible es- -
pecificar oficialmente el "nivel de sensibilidad" de los -
animales de prueba ; algunos laboratorios , establecen sus -
propios parámetros a éste respecto , haciendo la "prueba de -
sensibilidad" para sus propias pruebas , pero es inevitable

que muchas veces no sea posible controlar y someter las -
impredecibles diferencias de sensibilidad de cada animal -
de prueba ; ya que ésta varía con el grado de "tolerancia"
ó inmunidad a los diferentes pirógenos , que puede ser -
farmacológica ó inmunológica además de implicar la diversa
naturaleza del fenómeno y el grado con el cual cada conejo
está involucrado .

El grado de correspondencia de un animal para un piró-
geno dado está influenciado entre otras cosas por : su ex -
posición previa a ésta y otras moléculas pirogénicas ; ésta
condicion del animal es totalmente desconocida ya que el -
conejo está expuesto a muchos pirógenos por medio de di -
versos factores como son la ingestión , inhalación ó inyec-
ciones de sustancias desconocidas a lo largo de su vida.

La prueba oficial confía enteramente en la absoluta -
sensibilidad ó insensibilidad de los conejos usados para -
los pirógenos que pueden ser contaminantes en las prepa -
raciones a probar , sin tomar en cuenta la heterogenicidad
de las moléculas pirogenicas bacterianas en la naturale -
za , ni la variabilidad intrínseca de cada animal.

El valor del bioensayo comparativo depende de la su -
posición de que la substancia que se está probando sigue -
un camino idéntico al que usa el estandar en el grado en -
que puede considerarse como una dilución del mismo.

Todas éstas implicaciones han sido reconocidas y descritas en la literatura y forman el fondo común para la formulación de pruebas oficiales.

Respecto a las dosis dadas a los animales , éstas están especificadas para cada substancia ; aunque parece ser que las bases sobre las cuales se deciden éstas , son un poco arbitrarias , ciertamente están influenciadas por las observaciones de Dare (5) sobre las cantidades relativas de una dosis de una preparación de un extracto crudo de Proteús vulgaris ; el cual da una incidencia de respuesta positiva en conejos comparable a la incidencia de las reacciones pirogénicas en voluntarios humanos.

En ciertas ocasiones , la dosis específica para la prueba puede ser restringida por la toxicidad de la droga por sí misma ; después de dar la dosis , se mantiene al animal bajo observación , la temperatura se toma a intervalos de 30 minutos , durante 3 horas ; previamente se ha establecido una línea base de control de temperatura ; y el criterio para aprobar ó rechazar una substancia , se aplica conforme a ésta ; debe desecharse cualquier substancia que provoque en los conejos de prueba un alza de temperatura por encima ésta línea base ; el área bajo la curva de temperatura , no es usada como parámetro.

Todas éstas debilidades de la prueba son responsables del fracaso de los intentos hechos por introducir la prueba a la práctica general y hacer aplicable el bioensayo

comparativo en términos de una referencia común de material ó estandar .

Es necesario llamar la atención sobre éste punto , sobre el cual fundamenta la "International Reference Preparation of Pirogens" establecida por la OMS que sugiere que : ya que es imposible usar una escala absoluta para cuantificar pirógenos , lo más que puede hacerse es delimitar con algún detalle las condiciones de la prueba .

OTRAS PRUEBAS PARA PIROGENOS

En vista de que la prueba oficial para determinar pirógenos , realizada en conejos , plantea serios problemas e inconvenientes ; se ha investigado sobre una nueva técnica , desarrollada "in vitro" con el mismo fin.

La prueba se llama "lisado de Amebocitos de Limulus" (LAL) y está basada en la coagulación de las células sanguíneas amebocíticas del cangrejo "Limulus Polyphemus" ; éstas células se obtienen por sangrado del cuerpo de la herradura del animal y se lisan con buffer de NaCl al 0.85% ó bien puede emplearse el lisado de amebocitos liofilizado-comercial pyrogen ex By K Mallenckrocht.

Esta prueba posee en gran potencial como instrumento de control de calidad en el campo de las drogas parenterales , su especificidad ha sido evaluada probando con ella compuestos como son : plasma , sangre completa , compuestos vasoactivos como la serotonina , histamina , epinefrina norepinefrina , bradiquinina además de calcio ; bacterias gram positivas en cultivos en la fase log como Diplococcus pneumoniae , Staphylococcus aureus y Streptococcus hemolyticus ; estreptolisina , estreptoquinasa , estreptodornasa y la exotoxina de Clostridium tetani ; dando todos ellos una reacción negativa ; por ésta razón la prueba ha sido considerada como específica para detectar endotoxinas bacterianas aún en cantidades diminutas.

En 1956 , Frederick Bang (51) notó que cuando un can - grejo del género "Limulus polyphemus" (el Limulus es un - artrópodo grande, que puede alcanzar una longitud de 60 cm. y que está cubierto de un exoesqueleto típico en forma de - herradura . posee tambien ojos simples y compuestos , ab - domen no segmenta - do y una larga cola puntiaguda, vive en - las aguas superficiales de las costas y se alimenta de o - tras formas marinas pequeñas ; éste artrópodo pertenece a - la clase "merostomata" , subphylum "chelicerata" , genero - "limulus" .) sufría una infección bacteriana , moría rapi - damente debido a una coagulación intravascular más bien que por la infección sistémica ; el mecanismo consiste en que - las células sanguíneas (amebocitos) , se agregan hasta - formar una red sobre la cual se deposita la proteina en gel - éste coagulo resulta de la acción de las endotoxinas bacte - rianas sobre las proteínas coagulables en la célula ame - bocítica ; la acumulación y lisis de éstas puede ser un in - dicador sensible de la presencia de endotoxinas .

La técnica específica que debe realizarse la combina - ción de cantidades equivalentes de LAL y la solución que - se va a probar , incubarlas juntas a 37° C y checar la - muestra por evidencia de proteina en gel ; usualmente el - punto final positivo está indicado por la formación de un - coagulo firme de gel que permanece adherido al fondo del - tubo cuando éste se invierte 180° .

La sensibilidad de la prueba ha sido aumentada me -- diante el empleo de técnicas para la estimación de grados -

de viscosidad ó granulaci3n basadas en la absorci3n ó dispersi3n de la luz .

Es necesario correr controles positivo y negativo con cada prueba para descartar la posibilidad de falsas positivas por inhibici3n de la reacci3n de coagulaci3n en la muestra problema ; los controles negativos consisten en soluciones de composici3n qu3mica id3ntica a la muestra problema ; pero que han mostrado no tener endotoxina proteica precipitable ; 3stas soluciones son aceptables si la densidad 3ptica de su prote3na precipitable es menor de 0.200 Å .

Los controles positivos deben incluir tres concentraciones de endotoxina estandar ; puede usarse la endotoxina purificada de Klebsiella corrientemente usada por el Bureau of Biologics of the Food and Drug Administration (FDA) ; ó bien endotoxina estandar de E . coli preparada en la misma soluci3n que se emplea para el control negativo ; las concentraciones son 200 pg/ml ; 50 pg/ml ; y 12 pg/ml ; 3stas se usan para trazar una curva estandar de referencia en t3rminos de densidad 3ptica ; sobre la cual se leen las muestras problema.

Las endotoxinas estandar de E. coli es proporcionada por los laboratorios Difco Michigan , con la clave 055:B5 - 3stos mismos laboratorios pueden proporcionar diversas endotoxinas con fines de prueba como son : la endotoxina de E. coli 0111:B4 (lote No. 567890) y la endotoxina estandar de salmonella typhosa 0901 (lote No. 573881) .

Los pasos principales del protocolo de prueba se describen a continuación:

- 1) Combinar 0.1 ml de lisado con 0.1 ml de la muestra problema en un tubo de vidrio estéril , libre de pirógenos de 10 x 75 mm . , cubrirlo con una lamini-
lla de aluminio , e incubarlo en baño de agua pre-
viamente ajustado a 37° C por espacio de una hora.
- 2) Centrifugar a aproximadamente 1375 x g en una cen-
trífuga clínica por 10 minutos .
- 3) Con cuidado remover el sobrenadante del precipitado
proteico en el tubo por medio de un aspirador de -
valvula .
- 4) Efectuar una determinación colorimétrica de la pro-
teína precipitada usando la modificación de Dyama
y Eagle del ensayo proteínico de Lowry .
- 5) Tomar la lectura de la densidad óptica a 660 nano-
metros (nm) con un espectrofotómetro,

Para adoptar ésta nueva técnica , es necesario demos-
trar primero qué es por lo menos tan sensible ó más que la
oficial en conejos ; se han realizado estudios comparativos
que reportan que ésta prueba del lisado es de 5 a 10 veces
más sensible que la prueba oficial ; además de poseer o -
tras ventajas sobre aquella , como son : el requerir de un

tiempo márgen de una hora ; el requerir también de un vo -
lumen de solución de prueba relativamente pequeño (0.1 ml)
en comparación con los 10-ml de solución por kg de peso -
corporal que se inyectan a un conejo etc .

El lisado es además una 'prueba tan sensible que es ca -
paz de detectar cantidades tan pequeñas como 1 ng/ml de -
endotoxina purificada de Klebsiella del FDA.

A pesar de todas éstas características ; ésta prueba -
tampoco puede considerarse como completamente confiable ; -
ésto se debe a que se tienen reportes indicando que existe
una variedad grande de compuestos que dan una reacción po -
sitiva de LAL sin ser pirógenos (35) ; entre éstos se en -
cuentran , polinucleótidos y proteínas como la trombina , y
tromboplastina , que son activadores del sistema de coagu -
lación sanguínea de los mamíferos ; el ácido poliriboinosin
-poliribocitidílico poli(I).poli(c) en concentración de -
0.1 µg/ml , el ácido poliriboadénil.poliribouridílico -
poli(a).poli(u) ; la ribonucleasa pancreatica bovina a una
concentración mínima de 6.4 unidades kunitz/ml.

Estos resultados los dieron compuestos extraídos con -
un volumen igual de cloroformo durante una hora en un vi -
brador ; cuando se emplea material no extraído , la prueba
LAL es 50 veces más sensible que la prueba para pirógenos
en conejos.

Por otra parte se estableció también que no todos los
compuestos pirogénicos son positivos en la prueba LAL . En

apoyo a ésta conclusión , están los resultados de las pruebas con dextranas y leucocitos humanos pirogénicos , dos - compuestos que siendo previamente reportados como pirogénicos en conejos , dan negativa la prueba LAL .

De acuerdo a éstos reportes , es básico tomar en cuenta ésta carencia de especificidad de la reacción cuando se trata de interpretar resultados positivos en las pruebas de gelificación del lisado de amebocitos de limulus de soluciones desconocidas .

RESUMEN Y SUGERENCIAS

Desde tiempo inmemorial, la fiebre ha sido el signo axial universalmente asociado a estados infecciosos y a enfermedad generalizada; el estudio de la problemática que ha presentado, reviste una gran importancia, ya que la fiebre fue uno de los signos clínicos decisivos en torno al cual se conformaría toda una era de terapéutica aplicada que se vino a consolidar con los nuevos conocimientos adquiridos a través del uso racional y adecuado de nuevas técnicas desarrolladas en el transcurso de la historia de la investigación en diversos campos de la medicina, la fisiología, la biología y la bioquímica; y que apoyados en diversos factores como son: el descubrimiento de los pirógenos, su origen y biología, y la capacidad actual del hombre para conocer con exactitud el estado de su organismo, incluyendo los cambios térmicos que ocurren en él; coadyuvan a presentar una visión clara que explica el acelerado proceso evolutivo sufrido por la ciencia y que refleja el desarrollo de la humanidad misma.

En un principio, las evidencias eran inconcluyentes, de tal suerte que los conceptos clave solo se integraron parcialmente, y éstos eran muchas veces incongruentes con la eviden-

cia clínica; éstas y otras observaciones retrospectivas, destacan las dificultades enfrentadas, que sin embargo derivaron directamente en la adquisición de una mayor experiencia y sólidos conocimientos.

Aunque como se ha visto en la presente revisión, el nivel alcanzado en cuanto a técnica y resultados es altamente favorable, muchas preguntas permanecen aún sin respuesta, se desconoce entre otras cosas la estructura bioquímica de los pirógenos leucocitarios, el papel de los linfocitos en la pirogénesis, y si tienen ó no capacidad fagocítica, son también desconocidas las bases bioquímicas de la acción antipirética de los salicilatos, permanece obscuro el metabolismo de la etiocolanolona y de otros esteroides involucrados en la fisiopatología de la fiebre, etc. Todas estas incógnitas sin resolver y muchas otras más nos presentan un reto para investigar y es mi deseo que éste trabajo represente una motivación para proseguir estudiando sobre las nuevas y fascinantes áreas que se abren ante nosotros con cada pregunta planteada.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Atkins E ; Bodel P. 1972 . Fever . New Engl J Med . - 286 (1)- 27 - 34.
- 2) Atkins E ; Feldman JD ; Francis L ; Hurst E . 1972. Studies on the mechanism of fever accompanying - delayed hypersensitivity. the role of the sensitized lymphocyte . J Exp Med . 135 (5): 1113-32.
- 3) Atkins E ; Francis L . 1973 . Role of lymphocytes - in the pyrogenic response : comparison of endo - toxin with specific antigen and nonspecific mitógen, concanavalin A. J Infect Dis . 128:Suppl: - 277 - 83.
- 4) Allison ES ; Cranston WI ; Duff GW; Luff RH; Rawlins M. 1973 . The bioassay of human endogenous - pyrogen. Clin Sci Mol Med . 45 (4): 449 - 58.
- 5) Bangham DR . 1971 . The dilema of quantitation in-- the test for pyrogens in : pyrogens and fever . Giba Found Symp . 207 - 14.
- 6) Bavazzano A ; Del Bene E ; Anselmi B ; Sicuteri F ; 1968 . Kynin release by lysosomal labilization - in man . Rass Neurol Veg . 22 (1) : 56 - 62.
- 7) Benzinger M . 1969 . Tympanic thermometry in surgery and anesthesia . JAMA . 209 (8): 1207 - 11 .
- 8) Benzinger TH ; 1969. Clinical Temperature . New phi
siological basis. JAMA . 209 (8) : 1200 - 6.
- 9) Billings AA ; Post M ; Shapiro CM . 1973 . Febrile - reactions of Gaucher's disease . Ill Med J . 144 (3) : 222 - 6 passim.

- 10) Bodel P . 1974 a . Generalized perturbations in -
host physiology caused by localized tumors. Tu -
mors and fever . Ann N Y Acad Sci . 230; 6- 13.
- 11) Bodel P . 1974 b . Pyrogen released in vitro by lym
phoid tissues from patients with Hodgkin's disea
se . Yale J Biol Med . 47 (2) : 101 - 12 .
- 12) Bodel P . 1974 c . Studies on the mechanism on en -
dogenous pyrogen production. III . Human blood -
monocytes. J Exp Med . 140 (4) : 954 - 65.
- 13) Bodel P ; Atkins E . 1966 . Human leucocytes pyro -
gen producing fever in rabbits . Proc Soc Exp -
Biol Med . 121 (3) : 943 - 6 .
- 14) Bodel P ; Atkins E . 1967 . Release of endogenous -
pyrogen by human monocytes . N Engl J Med . 276-
(18) : 1002 - 8 .
- 15) Bondy PK ; Bodel P . 1971 . Mechanism of action of
pyrogenic and antipyretic steroids in vitro. Ci-
ba Found Symp : 101 - 13 .
- 16) Borison HL ; Clark WG ; 1967 . Drug action on ther-
moregulatory mechanisms . Adv Pharmacol . 5: 129
- 212 .
- 17) Bradlow HL ; Fukushima DK ; Zumoff B ; Cassouto J ;
Hellman L . 1967 . Some aspects of the dynamics
of oxidation-reduction of etiocholanolone-3-3H,-
4-14C in man . J Clin Endocrinol Metab . 27 (8):
1203 - 7 .
- 18) Cheuk SF ; Hahn HH ; Moore DM ; Krause DN ; Tomasul
PA ; 1970 . Studies on the pathogenesis of fever
XX . Suppression and regeneration of pyrogen-pro
ducing capacity of exudate granulocytes. J Exp -
Med . 132 (1) ; 127 - 33 .

- 19) Ghisholm GD ; Roy RR . 1971 . The systemic effects of malignant renal tumors , Br J Urol . 43 (6) 687 - 700 .
- 20) Cline MJ ; Melmon KL . 1966 . Plasma kinins and cortisol - a possible explanation of the anti-inflammatory action of cortisol . Science . 153 (740) 1135 - 8 .
- 21) Comty C ; Luehmann D ; Wathen R ; Shapiro F . 1974 . prescription water for chronic hemodialysis . - Trans Am Soc Artif Intern Organs . 20 A: 189- 96
- 22) Cooper KE . 1971 . Some physiological and clinical aspects of pyrogens . Ciba Found Symp . 5 - 21 .
- 23) Cranston WI ; Luff RH ; Rawlins MD . 1971 . Assay - of human endogenous pyrogen . J Physiol (Lond) . 215 (1) : 1P - 2P .
- 24) Cranston WI ; Luff RH ; Owen D ; Rawlins MD . 1973 . Studies on the pathogenesis of fever in renal - carcinoma. Clin Sci Mol Med . 45 (4): 449 - 58 .
- 25) Cranston WI ; Rawlins MD ; Luff RH ; Duff GW . 1971 . Relevance of experimental observations to pyrexia in clinical situations in pyrogens and fever Ciba Found Symp : 155 - 74 .
- 26) Cremer EJ ; Bligh J . 1969 . Body-temperature and - responses to drugs . Br Med Bull . 25 (3): 299 - 306 .
- 27) Dale DC ; Fauci AS ; Guerry D IV ; Wolff SM . 1975 . Comparison of agents producing a neutrophilic leukocytosis in man. Hydrocortisone, Prednisone, endotoxin, and etiocholanolone. J Clin Invest . 56 (4) : 808 - 13 .

- 28) Dale DC; Guerry D . 1977 . Neutrophyl releasing - activity in plasma of normal human subjets injected with etiocholanolone . Proc Soc Exp Biol Med 156 (1) : 192 - 5 .
- 29) Dawis SG . 1973 . Large seale production of sterile distilled water for hospital dialysis. Description of equipment and evaluation of the water - quality . Acta Med Scand . 193 (5) : 387 - 92 .
- 30) Diccionario Medico . Ed Salvat 2a. edici6n 1974 .
- 31) Dillard GM ; Bodel P . 1970 . Studies on steroids--fever. II. Pyrogenic and anti-pyrogenic activity in vitro of some endogenous steroids in man . J Clin Invest . 49 (12) : 2418 - 26 .
- 32) Dinarello CA ; Goldin NP ; Wolff SM . 1974 . Demonstration and characterization of two distinct human leukocytic pyrogens . J Exp Med . 139(6) : - 1369 - 81 .
- 33) Dinarello CA ; Wards SB ; Wolff SM . 1973 . Pyrogenic properties of bleomycin (NSC - 125066) . - Cancer Chemoter Rep . 57 (4) : 393 - 8 .
- 34) Elin RJ ; Wolff SM . 1973 . Nonspecificity of the Limulus amebocyte lysate test : positive reactions with polynucleotides and proteines . J Infect Dis . 128 (3) : 349 - 52 .
- 35) Feh'er T ; Halmy L . 1968 a . Steroids excretion in aetiocholanolone fever . Lancet . 1 (541): 536 .
- 36) Feh'er T ; Halmy L . 1968 b . The conjugating mechanism in a case of aetiocholanolone fever . Acta Med Acad Sci Hung . 25 (1) : 101 - 5 ,



- 37) Fox RH ; Solman AJ ; Isaacs R ; Fry AJ ; MacDonald IC . 1973 . A new method for monitoring deep body temperature from the skin surface . Clin Sci . 44 (1) : 81 - 6 .
- 38) Godwin HA ; Zimmerman TS ; Kimball HR ; Wolff SM ; Perry S . 1968 . The effect of atiocholanolone - on the entry of granulocytes into the peripheral blood . Blood . 31 (4) : 461 - 70 .
- 39) Golub S ; Groschel D ; Nowotny A ; 1968 . Factors which affects the reticuloendothelial system uptake of bacterial endotoxines . J Reticuloendothel Soc . 5 (4) : 324 - 39 .
- 40) Gombos EA ; Lee TH ; Salinas J ; Mitrovic M . 1967 . Renal response to pyrogen in normotensive and hypertensive man . Circulation . 36(4): 555 - 69
- 41) Good CM . 1977 . The biochemistry and quality control procedures of pyrogens . Bull Parent Drug Assoc . 31 (3) : 116 - 120 ; 127 - 135 .
- 42) Greisman SE ; Hornick RB . 1972 . On the demonstration of circulating human endogenous pyrogen . - Proc Soc Exp Biol Med . 139 (2) : 690 - 7 .
- 43) Harrison . Medicina Interna. La Prensa Medica Mexicana . 4a . ed . 93 - 100 .
- 44) Hensel H . 1973 . Neural processes in thermoregulation . Physiol Rev . 53 (4) : 948 - 1017 .
- 45) Hull AR . 1974 . Dialysate composition and function the effects of water content . Med Instrum . 8 - (3) : 195 - 6 .

- 46) Kappas A ; Palmer RH ; 1967 . Novel biological -
properties of steroid metabolites ; fever-produc-
tion in man . J Reticuloendothel Soc . 4(4): 213
- 6 .
- 47) Kimball RH ; Lipsett MB ; Odell WD ; Wolff SM .1968
Comparison of the effect of the pyrogens, etio-
cholanolone and bacterial endotoxin on plasma -
cortisol and growth hormone in man . J Clin En--
docrinol Metab . 28 (3) : 337 - 42 .
- 48) Kimball HR ; Melmon ML ; Wolff SM . 1972 . Endoto -
xin-induced kinin production in man . Proc Soc -
Exp Biol Med . 139 (3) : 1078 - 82 .
- 49) Lehninger . 1972 . Bioquímica . Ed : Omega .
- 50) Lomax P . 1970 . Drugs and body temperature. Int -
Rev Neurobiol . 12 : 1 - 43 .
- 51) McAuley RJ ; Ice RD ; Curtis EG . 1974 . The limu -
lus test for in vitro pyrogen detection . Am J -
Hosp Pharm . 31 (7) : 688 - 91 .
- 52) Miller M ; Moses AM . 1968 . Effect of temperature
and dexamethasone on the plasma 17-hydroxycorti-
coid and growth hormone response to pyrogen . -
J Clin Endocrinol Metab . 28 (7) : 1056 - 63 .
- 53) Milton AS ; Wendlandt S . 1971 . Effects on body -
temperature of prostaglandins of the A, E and F
series of injection into the thirth ventricle of
unanaesthetized cat and rabbits . J Physiol (Lon-
don) ; 218 - 325 .
- 54) Mo-Wah C; McFadzean AJ; 1974 . Post esplenectomy fe-
ver. Trans R Soc Trop Med Hyg . 68(6): 437 - 46.

- 55) Ogawa N . 1974 . Stimulation testes of human growth hormone secretion by insuline, lysine, vasopressin , pyrogen and glucagon . Acta Med Okayama . 28 (3) : 181 - 97 .
- 56) Palmer CH . 1971 . Pharmaceutical aspects of pyrogens in hospital and industry in : pyrogens and fever . Ciba Found Symp . 193 - 205 .
- 57) Pathogenesis of fever . 1967 . N Engl J Med . 276 - (18) : 1036 - 7 .
- 58) Perillie PE . 1967 . Studies on the changes in leukocyte alkaline phosphatase followin pyrogen stimulation in chronic granulocytic leukemia . Blood . 29 (3) : 401 - 6 .
- 59) Raiti S ; Blizzard RM ; Johanson A ; Davis WT ; Migeon CJ . 1968 . A comparison of effects of insulin and pyrogen as stimuli to growth hormone release in man . Johns Hopkins Med J . 122 (3) : 154 - 9 .
- 60) Rawlins MD ; Luff RH ; Cranston WI ; 1970 . Pyrexia in renal carcinoma . Lancet . 1 (661) : 1371 - 3 .
- 61) Richter P ; Lajos J ; Thury I . 1972 . The production of pyrogen-free immunoglobulins . Ann Immunol Hung . 16 (0) : 377 - 81 .
- 62) Root RK ; Nordlund JJ ; Wolff SM . 1970 . Factors affecting the quantitative production and assay of human leukocytic pyrogen . J Lab Clin Med . 75 (4) : 679 - 93 .

- 63) Schlutz GO ; Venulet J ; Bittar EE . 1965 a . -
Concerning the mechanisms of fever . Z Klin -
Chem Klin Biochem . 3 (4) : 133 - 6 .
- 64) Schlutz GO ; Venulet J ; Bittar EE . 1965 b . The
E. coli pyrogen test in human liver disease . -
Z Klin Chem Klin Biochem . 3 (3) : 88 - 9 .
- 65) Snell ES . 1969 . Hypersensitivity fever . Br J Clin
Pract . 23 (2) : 73 - 8 .
- 66) Snell ES . 1975 . Gram-negative bacterial endotoxi-
ne and the pathogenesis of fever . Prog Drug Res
19 : 402 - 11 .
- 67) The biological properties of etiocholanolone. Combi
ned clinical staff conference at the National -
Institutes of Health . Ann Intern Med . 67 (6) :
1268 - 95 .
- 68) Vogel JM ; Yankee RA ; Kimball HR ; Wolff SM ; Pery
S. 1967 . The effect of etiocholanolone on gra -
nulocyte kinetics . Blood . 30(4) : 474 - 84 .
- 69) Yamasaki K ; Yamashita I ; Muroji T ; Ito K ; Suwa
N . 1969 . Plasma 17-hydroxycorticosteroids res-
ponse to pyrogen: a contribution to the standar-
dization of the pyrogen test . Endocrinol Jap .
16 (3) : 391 - 7 .
- 70) Jawest . bacteriología médica . 1970 . Ed :