

11262  
8  
2 ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CARACTERIZACION DE UN MODELO DE  
FIEBRE POR INYECCION DE SOBRENADANTES  
DE MONOCITOS EN LA RATA WISTAR

T E S I S

PRESENTA

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

NIELS AGUSTIN HANSEN WACHER RODARTE

ASESOR: DR ALBERTO LIFSHITZ GUINZBERG

COASESOR: DR ARMANDO ISIBASI ARAUJO

MEXICO D.F. AGOSTO DE 1990

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.

# INDICE

	página
INTRODUCCION.....	1
Termorregulación.....	2
Papel del sistema nervioso periférico.....	5
Papel del sistema nervioso central.....	8
Trastornos de la termorregulación.....	12
La fiebre.....	14
Interleucina-1.....	17
Efecto de la IL-1 en el sistema nervioso central....	20
Primeras observaciones.....	24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
HIPOTESIS .....	28
OBJETIVOS.....	29
MATERIAL Y METODO.....	29
Diseño.....	29
Caracterización de las variables	30
Animales de experimentación....	32
Precisión del Teletermómetro....	32
Producción de un sobrenadante de monocitos de ratón.....	34
Ensayo de timocitos de ratón....	34
Cromatografía de gases para medir	

ácido $\beta$ -OH-mirístico.....	35
Análisis estadístico.....	37
RESULTADOS.....	37
Ensayo de timocitos de ratón....	37
Inyección de sobrenadantes.....	38
Efecto de la temperatura	
ambiente.....	38
DISCUSION .....	40
CONCLUSIONES .....	46
CUADROS, TABLAS Y GRAFICAS	
Cuadro 1.....	47
Cuadro 2 .....	48
Gráfica 1.....	49
Gráfica 2 .....	50
Gráfica 3 .....	51
Gráfica 4 .....	52
Gráfica 5 .....	53
Tabla 1 .....	54
Tabla 2 .....	55
Gráfica 6 .....	56
Tabla 3 .....	57
Tabla 4 .....	58
Tabla 5 .....	59
Gráfica 7 .....	60
Gráfica 8 .....	61
Gráfica 9 .....	62
ANEXO 1 .....	63
BIBLIOGRAFIA .....	68

## INTRODUCCION

Los animales son inseparables de su medio ambiente y continuamente intercambian energía, no solo dentro de su propio organismo, sino también entre los diferentes individuos y con su medio ambiente (1).

Esta energía proviene, a fin de cuentas, de la oxidación del carbono y del hidrógeno, que es una reacción en la que se genera calor. Por esta razón la temperatura de cualquier ser metabólicamente activo tiende a ser superior a la de su medio ambiente. De esta manera, la temperatura del animal refleja el balance que existe entre el calor que genera su metabolismo y el que pierde hacia el medio ambiente.

Como la temperatura ejerce un profundo efecto en la velocidad de todas las reacciones químicas y físicas, el medio ambiente también ejerce control en el metabolismo de los animales.

Nuestro planeta contiene ambientes con temperaturas que van desde  $-60^{\circ}\text{C}$  hasta  $60^{\circ}\text{C}$  y en todos ellos hay seres vivos. El intervalo de temperatura en el que son posibles los procesos bioquímicos que dan lugar a la vida comienza unos  $2^{\circ}\text{K}$  por debajo del punto de congelación del agua y termina  $50^{\circ}\text{K}$  arriba de éste mismo. Existen algunas excepciones a esta regla, que representan extraordinarios ejemplos de adaptación. La ley de Van't Hoff puede explicar este fenómeno, ya que la velocidad de una reacción depende de la

temperatura a la que se lleva a cabo y se puede explicar con una curva de crecimiento exponencial que tiene al cambio de temperatura en las ordenadas y a la velocidad de reacción en las abscisas (1,2).

Existen en general 2 tipos de animales: los llamados poiquilotermos ( que pudieran llamarse también heterotermos) que no generan suficiente calor para contrarrestar los cambios de la temperatura del ambiente y los homeotermos ( que también podrían llamarse endotermos) que si tienen la capacidad de generar el calor suficiente para mantener constante la temperatura de su organismo, a pesar de que existan grandes variaciones en la temperatura ambiente. Este último consiguió liberarse de la necesidad de adaptar su medio interno al medio externo y pudo emigrar a la tierra firme. Son los seres vivos mas avanzados en la evolución porque adquirieron libertad de movimiento, aunque esto les significa y un enorme esfuerzo y gasto de energía para mantener su medio interno en condiciones constantes, a pesar de grandes variaciones en las condiciones del medio ambiente (2,3).

#### TERMORREGULACION

Tan importante resulta el mantenimiento de la homeostasis térmica que algunos animales gastan 80% de su energía en el mantenimiento de una temperatura corporal constante, de manera que usan la mayor parte de su gasto metabólico en la búsqueda de alimento. Algunos de ellos prefieren *hiber-*

nar para disminuir el costo metabólico de esta actividad en los meses fríos (1).

El desarrollo de la endotermia resultó un paso gigantesco en la evolución ya que significó un aumento de casi 10 veces en la tasa metabólica basal de los organismos vivos. Posiblemente este aumento se debió inicialmente a los patrones de comportamiento que ya existían en los ectotérmicos. Aparentemente el primer cambio fué el de la respuesta metabólica al frío, seguido del desarrollo de los mecanismos de disipación rápida de calor (respuestas vasomotoras, cambios conductuales e inclusive sociales) en la medida en la que un animal avanza en la escala filogenética, predominan estos últimos mecanismos, de manera que en los mamíferos, domina la pérdida de calor en la regulación de la temperatura (1-3).

Esta regulación es posible gracias a un exquisito mecanismo en el que intervienen de manera preponderante los sistemas nervioso y endócrino y los aparatos cardiovascular y respiratorio, que proveen mecanismos de regulación a corto y largo plazo. Todos ellos en su conjunto reflejan lo que quizá pueda ser el mejor paradigma de integración fisiológica para la regulación de la homeostasis.

La fórmula general que explica el balance de temperatura en los organismos vivos, puede representarse con la siguiente ecuación:

$$M = E + C_v + C_d + R + S$$

En donde:

M : tasa metabólica

E : Evaporación

Cv : Convección

Cd : Conducción

R : Radiación

S = Calor acumulado previamente

Con excepción de la evaporación, todas pueden ser tanto fuentes de ingreso de calor, como mecanismos para perderlo (2-4).

En términos generales, los mecanismos de adaptación rápida a los cambios de temperatura operan en el lado derecho de esta ecuación y están gobernados por los aparatos cardiovascular y respiratorio; en tanto que los mecanismos de adaptación a largo plazo generalmente se llevan a cabo en el lado izquierdo y los gobierna el sistema endócrino. Todos ellos, a su vez, están regulados por el sistema nervioso.

Aún así, existe la posibilidad de hacer ajustes finos a largo plazo en los mecanismos que operan en el lado derecho, y a corto plazo en los que operan en el lado izquierdo.

Como mencionamos previamente, todo este mecanismo está finamente regulado por el sistema nervioso, que para este fin se puede dividir conceptualmente en 2 regiones:(4)

El sistema Nervioso Periférico: que se encarga de proporcionar información acerca del estado metabólico del organismo y del estado de la temperatura del ambiente y del propio organismo, y transporta las instrucciones para ejecutar los ajustes necesarios para regular la temperatura.

El Sistema Nervioso Central: que se encarga de procesar e integrar la información recibida y de ordenar los ajustes que sean necesarios para mantener la homeostasis, a través de las funciones de los diferentes aparatos y sistemas involucrados.

## Papel del Sistema Nervioso Periférico

La estimulación térmica de la piel evoca sensaciones de temperatura en el humano y participa en las respuestas autonómicas que se llevan a cabo para lograr la endotermia en los mamíferos y en los pájaros. Las usan las especies submamíferas para efectuar cambios conductuales que modifican a la temperatura corporal (5). Estas sensaciones se generan en elementos (receptores) que son capaces de transducir información acerca del estado estable y de los cambios transitorios de la temperatura en la piel. El estudio de estos receptores está complicado por la naturaleza misma del estímulo que los excita: en los receptores para el frío es la pérdida de energía y tanto para los receptores del frío como para los del calor, un intercambio de energía con los tejidos circundantes. Con frecuencia resulta difícil demostrar que una estructura es termosensible porque muchas neuronas mues-

tran cambios en la frecuencia de disparo con la estimulación térmica y esto representa un artefacto de manipulación(5-7).

Para que una estructura sea considerada como termorreceptor debe cumplir con 2 condiciones: debe mostrar cambios en la frecuencia de disparo o despolarización ante los cambios de temperatura y estos cambios deben ser específicos - no deben asociarse con una capacidad para funcionar como mecanorreceptor- (5,8).

Existen por lo menos 2 tipos de receptores: los especializados en el frío y los especializados para el calor. En los primeros se han observado brotes de descargas de despolarización en respuesta a la disminución de la temperatura y son máximos cuando se llega a 20°C. En tanto que los especializados para el calor aumentan la frecuencia de descarga en la medida en la que aumenta la temperatura ambiente, con un máximo alrededor de los 41-47 °C. en donde se observa una disminución de la frecuencia de descarga, que en ocasiones es brusca. Todos estos cambios guardan una estrecha relación con la magnitud del cambio de temperatura ( al parecer esta es lineal) y con la rapidez con que ocurrió este cambio ( y ésta última parece ser exponencial).

Existen otra clase de estructuras que son fundamentalmente receptores para estímulos mecánicos y responden con algunos cambios transitorios de la temperatura, inclusive, a la temperatura de estado estable. Algunas observaciones psicofisiológicas (la ilusión de Weber - los objetos fríos

evocan la sensación de ser mas pesados que los calientes -), indican que la estimulación mecánica pudiera estar integrada con la estimulación térmica; sin embargo, la magnitud de la respuesta y sobre todo, la magnitud del estímulo que requieren para activarse, hacen suponer que este mecanismo no opera mas que en situaciones de máxima estimulación. Algunas de éstas fueron los corpusculos de Krause y de Ruffini, que en un principio se pensó que eran los receptores para el frío y el calor; observaciones posteriores demostraron que sólo algunas fibras desmielinizadas de terminación libre cumplían con los criterios de termosensibilidad mencionados previamente. Estas terminaciones tienen arborizaciones que se proyectan hasta la lámina propia del epitelio, son muy eficientes para la termosensibilidad y no muestran características de mecanorreceptor (5,8-10).

Aún no se demuestra cual es el mecanismo íntimo para la transducción de la temperatura, pero por lo menos para los receptores del frío parece estar relacionado con una elevada razón de su área de superficie/volumen, acoplada con el funcionamiento de una bomba de Na/K ATPasa extraordinariamente sensible a la temperatura, en sus terminaciones libres. De esta manera, una disminución de la temperatura en los tejidos circundantes disminuye la actividad de la bomba y despolariza la terminal, lo que da lugar a las corrientes de descarga del receptor (11,12).

En apoyo de esta hipótesis, están las observaciones que

se hicieron con la Oabaína, que puede suprimir la actividad de la bomba de  $Ka/K$  ATPasa, al mismo tiempo que insensibiliza a estos receptores para una disminución de la temperatura que de otra manera los activaría (13).

Otros fármacos, también afectan la capacidad de transducción de la temperatura de éstos receptores: el mentol y los agonistas simpatomiméticos pueden aumentar la sensibilidad de los receptores del frío, mientras que el  $CO_2$  y los anticolinérgicos aumentan la sensibilidad de los receptores del calor. No está claro a la fecha, cuál es la importancia de estos agentes en el conocimiento de los mecanismos de transducción de la temperatura (14-16).

Todos los impulsos que se generan en éstos receptores viajan a través de fibras nerviosas hacia su primer relevo, que es la zona marginal del cuerno posterior de la médula espinal. Existe una separación funcional de los impulsos que viajan en el nervio periférico: Los impulsos que se generan en los receptores para el frío viajan preferentemente en fibras mielinizadas de la categoría A $\delta$ ; mientras que los que se generan en los receptores del calor viajan preferentemente en fibras de categoría C (5,17,18).

## El Papel del Sistema Nervioso Central

Desde el siglo pasado, las observaciones empíricas de los anatomistas sugerían que la integración de la regulación de la temperatura residía en el Sistema Nervioso Central, por la observación de enfermos que sufrían trastornos de la ter-

morregulación en los que se demostraba durante la autopsia una lesión del cerebro. Los estudios comenzaron cuando Claude Bernard demostró que los animales generaban su propia temperatura corporal y culminó a fines del siglo pasado cuando se informó la presencia de un centro "termorregulador" en el hipotálamo (4,19).

En realidad este sistema es aún mas complejo y participan:

El primer relevo de las sensaciones térmicas que se describieron en la sección anterior ( el área marginal del cuerno posterior de la substancia gris de la médula espinal -substancia gelatinosa-), algunos núcleos de la médula, mesencéfalo, los núcleos del trigémino, el área preóptica del hipotálamo, el tálamo y aún la corteza cerebral. Algunos expertos han opinado que en la medida en que se profundice en el estudio de la termorregulación, el sistema se hará todavía mas complejo (4,19,20).

Hace mas de 50 años que se sabe que el enfriar o calentar la región preóptica/hipotalámica anterior (PO/HA), evoca respuestas de conservación o pérdida de calor corporal, que pueden manifestarse como calosfríos, cambios en el flujo sanguíneo de la piel, jadeo o diaforesis y cambios de conducta apropiados, como cambiar de un ambiente frío a caliente o viceversa.

A pesar de las dificultades técnicas inherentes al estudio de los procesos de regulación en el Sistema Nervioso

Central, existen algunas observaciones que permiten emitir conclusiones:

Virtualmente todos los vertebrados muestran sensibilidad de la porción rostral del tallo cerebral a la estimulación térmica; algunos de ellos responden solo con cambios conductuales, otros lo hacen además, con cambios autonómicos que modifican la temperatura corporal (21,22). El control de este último mecanismo puede variar en las diferentes especies; en general, mientras mas evolucionado está el individuo, mas probable será que conserve ambas respuestas en una zona restringida del PO/HA. La consistencia de las observaciones es sorprendente, aún con diferentes técnicas y en diferentes especies. Se ha informado que el área PO/HA contiene un 10% de neuronas sensibles al frío, 30% de neuronas sensibles al calor y 60% de neuronas insensibles a la estimulación térmica. Los estudios en rebanadas de tejidos han mostrado que las neuronas sensibles al frío se localizan en la porción central del área preóptica medial, en tanto que las neuronas sensibles al calor están localizadas en las porciones medial y lateral. Es importante considerar que entre las neuronas insensibles a la temperatura, están aquellas destinadas para regular los cambios de la osmolaridad y la concentración de glucosa del plasma, algunas que intervienen en la regulación de la respuesta sexual y son sensibles a los esteroides. Existe evidencia de una clara interrelación en la regulación de estos sistemas (20,23-25).

Además de las diferencias que se han observado en el

sustrato anatómico y funcional, se han demostrado diferencias en el nivel molecular: las neuronas sensibles al frío ( que podemos llamar receptores centrales para el frío) funcionan sobre todo en una vía colinérgica, con relevos hacia una vía dopaminérgica que controla el tono vasomotor periférico (vasoconstricción) que disminuye la transferencia de calor desde el organismo hacia el ambiente y con otra vía adrenérgica (norepinefrina), que aumenta la producción de calor en el organismo (26).

También tiene un relevo a través de ácido  $\gamma$ -amino-butírico, que inhibe las respuestas de la vía del calor.

Las neuronas sensibles al calor funcionan a través de una vía serotoninérgica (5 hidroxitriptamina) hacia un relevo adrenérgico (norepinefrina) que controla la sudoración ( aumenta la pérdida de calor por evaporación -ver cuadro 1-) (27).

Con todo lo anterior se puede concluir que existe una región del hipotálamo que funciona a manera de termostato donde a través de estructuras especializadas, se pueden detectar rápidamente los cambios de la temperatura ambiente y corporal, para hacer los ajustes necesarios con los mecanismos de conservación y disipación del calor; de manera que el organismo mantiene su temperatura en forma estable.

## TRASTORNOS DE LA TERMORREGULACION

Con alguna frecuencia fallan estos mecanismos de regulación y el organismo se ve afectado. Cuando la lesión es local suceden la quemadura por calor o por frío (frostbite de los sajones), cuando la lesión es sistémica se llaman Hipotermia o Hipertermia (2,3); ambas pueden causar la muerte y esta está relacionada con la parálisis de las reacciones químicas y físicas que dan lugar a la vida.

En general existe mas resistencia a la hipotermia, ya que en la medida en la que va disminuyendo la intensidad de las reacciones químicas o físicas, también disminuyen los requerimientos metabólicos de las células, por esta razón, se han registrado sobrevividas sorprendentes a la hipotermia prolongada, sobretodo en los niños (28). En el caso de los trastornos de la regulación de la temperatura corporal, ésta tiende a seguir los cambios de la temperatura ambiente como sucede a los heterotérmicos, o bién, el organismo sigue acumulando o perdiendo temperatura a pesar del daño que esto pueda ocasionarle. Esto último se debe a que existe un desequilibrio en el mecanismo central que gobierna la regulación de la temperatura o sus efectores -los mecanismos de generación o pérdida de calor que se describieron previamente-. Las enfermedades que dan lugar a estos trastornos son innumerables, pero las mas frecuentes son (2,29,30):

Las lesiones del Sistema Nervioso Central, en especial

las que afectan al hipotálamo (infecciones, granulomas, neoplasia, trauma, etc).

Las intoxicaciones por medicamentos que afectan a los mecanismos de termorregulación (intoxicación por anticolinérgicos -rojo como la remolacha, seco como un palo, loco como una cabra [\*], algunos antidepresivos -los bloqueadores ganglionares- los anestésicos generales intravenosos o inhalados, sedantes e hipnóticos e inclusive, el ácido acetilsalicílico).

Inmadurez o senilidad del Sistema Nervioso Central.

Algunos ejemplos dramáticos resultan de una reacción idiosincrática hacia algunos medicamentos como los anestésicos generales o los neurolépticos ( los síndromes de Hipertermia Maligna y el Neuroléptico Maligno) (34).

El primero resulta de una incapacidad para detener la producción muscular de calor y esta sobrepasa a los mecanismos de disipación, los enfermos fallecen a causa de esta hipertermia. El único medicamento que ha resultado de alguna utilidad es el Dantrolene, que es un bloqueador de la entrada de calcio.

[\*] Este es el aforismo que se usaba en la edad media para identificar la intoxicación por belladona, un anticolinérgico

## LA FIEBRE

A diferencia de los trastornos que se mencionaron previamente, durante la fiebre no hay un trastorno de la termorregulación. Esto último, es la piedra angular de la diferencia de la fiebre con los trastornos de la termorregulación (HIPERTERMIA o HIPOTERMIA).

La patogenia de la fiebre se ha estudiado en forma intensiva, sobre todo en los últimos 20 años. A raíz de las observaciones de Blight, Cooper Veale y otros, en 1974, se pudo caracterizar a la fiebre como: "*... El resultado de una tendencia anormal de los mecanismos de producción y disipación del calor, probablemente por sustancias que normalmente no participan en los circuitos de la termorregulación, pero que modulan sus funciones y las de sus neurotransmisores*"(32). Esto último resulta la definición operacional de la fiebre en la actualidad. Resulta claro que en esta definición no está incluido el término de trastorno de la regulación de la temperatura y tampoco dice que se requiera elevación de la temperatura. La evidencia que permitió hacer esas aseveraciones en ese momento continúa siendo vigente y es la siguiente:

1.- El sujeto con fiebre conserva la capacidad de regular su temperatura corporal; esto es, puede aumentar la producción de calor cuando se le coloca en un ambiente frío y puede poner en funcionamiento sus mecanismos de disipación de calor

cuando se le coloca e un ambiente caluroso (33,34).

2.- Algunas sustancias son capaces de regresar a la normalidad la temperatura corporal del sujeto con fiebre, pero no tienen efecto en la temperatura del individuo sin fiebre. Estas sustancias se llaman Antipiréticos (35,36).

3.- Cuando se administran sustancias relacionadas con los mecanismos de termorregulación, en dosis farmacológicas, puede cambiar la temperatura del sujeto. Estos cambios ocurren por igual en el sujeto normal que en el sujeto con fiebre y no corresponden con la respuesta esperada para la temperatura ambiente (32).

La patogenia de la fiebre fué motivo de investigación a través de la historia de la medicina, los egipcios la relacionaban con el movimiento de los líquidos en el organismo y los griegos con la "*Diskrasia*", una combinación inadecuada de lo caliente con lo frío. Durante la edad media prevalecieron las ideas de galeno, los humores y así hasta el siglo pasado, en el que quedó muy claro que la fiebre se debía a algún proceso morboso del mismo organismo (3). Los últimos 20 años del siglo pasado y los primeros 40 de este siglo se dedicaron al estudio de las fiebre por inyección que se podían producir con caldos de cultivo de diferentes bacterias. Fué Menkin quién finalmente demostró que la sustancia responsable de causar la fiebre en estos caldos de cultivo, era una molécula de la pared de las bacterias gram

negativas, que se componía de lípidos y polisacáridos (37). El conocimiento de la fiebre en enfermedades no infecciosas llevó finalmente a la observación de Bennet en 1953, que demostró que se podía inducir fiebre en animales de experimentación con un sobrenadante de leucocitos libre de bacterias y endotoxina (38). A esta sustancia se le llamó L.E.M. (Mediador Endógeno de los Leucocitos); después se demostró que se podían reproducir todos los trastornos que acompañan a la fiebre y se le llamó Pirógeno Endógeno, para diferenciarlo de las sustancias extrañas al organismo que producían fiebre, como el lipopolisacárido de las bacterias gram negativas o los ácidos teicóicos de las bacterias gram positivas (39). Hacia 1977, Charles Dinarello demostró que este mediador era un péptido y logró la purificación parcial (40); la purificación hasta la homogeneidad, la identificación del gene responsable de su síntesis y su clonación se lograron hasta 1983 (41) y con esto fué posible producirlo en grandes cantidades. En los años siguientes se demostró que este pirógeno endógeno era la misma substancia responsable de una gran cantidad de efectos que se habían descrito previamente y para los que había recibido diversos nombres: L.A.F. (Factor Activador de Linfocitos), Catabolina, Factor Activador de Osteoclastos, Factor de Células Mononucleares, Hemopoyetina 1 y otros (42-44).

En virtud de la gran cantidad de nombres que recibían estos y otros factores que producen las células del sistema inmune, un taller internacional de expertos acordó que llevaría el nombre de Interleucina-1 (IL-1)(42).

También se ha demostrado que otras sustancias pueden actuar como pirógenos endógenos, estas son: el Factor de Necrosis Tumoral (T.N.F.) o Caquectina y el Interferón  $\alpha$ .

Otros mediadores solubles de la respuesta inmune también causan fiebre pero de manera inconsistente, sólo en algunas especies o por aumento en la síntesis de alguno de los que ya se mencionaron (45,46).

## Interleucina - 1

A la fecha se conoce mucha información acerca de esta hormona. Se han encontrado 2 moléculas estructuralmente distintas pero relacionadas (solo comparten 26% de homología en los aminoácidos que las conforman) y se les denomina IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (47-49). Cada una está codificada por un gene diferente y ambos genes se encuentran en el brazo largo del cromosoma 2 (50). Cada gene contiene 7 exones, La IL-1 $\beta$  es mas abundante y esto se refleja en la cantidad de mRNA de IL-1 $\beta$  que se encuentra en la célula (51).

No son proteínas constitutivas, debe estimularse a la célula para que las produzca. A pesar de que se les puede estimular con un sinúmero de compuestos, sólo existe evidencia de 2 mecanismos diferentes de estimulación, a uno de ellos lo ejemplifica la endotoxina (LPS) y al otro los esteroides de forbol, que son estimuladores potentes de la entrada de calcio a la célula (52).

El cDNA que codifica para la IL-1 de ambas especies tiene aproximadamente 1560 pares de bases que codifican para una molécula precursora (Pro-IL-1) de 269 aminoácidos, con masa molecular relativa (Mr) de 30.7 Kilodaltons (Kd) y que puede modificarse en la transcripción o a nivel postranscripcional ( y en esto podrían tener un papel preponderante los glucocorticoides), para dar lugar a la molécula activa que tiene una Mr de 17 Kd. Se conocen fragmentos mas pequeños que retienen su actividad biológica (el mas pequeño tiene una Mr de 6 Kd) pero aún se desconoce cuál será el significado biológico de estos compuestos (50,52-58).

Ambas formas de IL-1 están configuradas en forma de cadena  $\beta$  plegada entrelazada. Cabe mencionar que no se ha encontrado una región "señal" de secuencia hidrofóbica que indique que la célula la secrete activamente (50,52).

En ambos genes se encuentra una región que se ha llamado C-D y que se encuentra en el exón 6 y que es donde se encuentra la porción de máxima homología entre ambas moléculas y es, aparentemente, donde se encuentra la región de reconocimiento del receptor (57) (sorprendentemente, a pesar de que se encuentran codificadas por genes diferentes, actúan a través del mismo receptor).

La porción de la molécula que contiene la información para la actividad biológica reside en el extremo carboxilo terminal (58).

Virtualmente cualquier célula nucleada puede producir la IL-1 y es de especial interés que las células del endotelio son muy eficientes para esta función (59). La producción de mRNA para IL-1 comienza casi de inmediato, alcanza el máximo a las 2 horas y disminuye gradualmente hasta un mínimo 6 horas después del estímulo y así se mantiene hasta las 24 horas (60).

Se pueden observar fenómenos de desensibilización y potenciación dependiendo del protocolo de estimulación que se use. De esta manera existen siempre diversas poblaciones de monocitos, algunos de ellos podrán responder al estímulo y otros no. Se sabe que el paso de monocito a macrófago maduro se asocia con una pérdida de la capacidad para sintetizar esta hormona (61-63).

Se ha propuesto que la forma IL-1 $\alpha$  está ligada a la membrana celular y que la forma IL-1 $\beta$  es la que se libera a los líquidos corporales -propuesta que no se acepta universalmente-. Esto podría explicar que la molécula tiene funciones autócrinas y parácrinas que no se asocian con manifestaciones sistémicas (64).

Ambas moléculas actúan a través de un receptor que está situado en la membrana plasmática, existen 2 clases de receptores: los de alta y los de baja afinidad. Cuando se les une la IL-1 son internalizados rápidamente y después se unen con estructuras del núcleo (65,66).

El mecanismo de acción parece involucrar cambios en la permeabilidad de la membrana plasmática al calcio y secundariamente, cambios en el flujo de sodio y potasio (67).

Existe también lo que se ha llamado una red de citocinas, donde la IL-1 es capaz de estimular la síntesis de más IL-1 en la misma célula o en células vecinas, modulando su propia producción (68).

## Efecto de la IL-1 en el Sistema Nervioso Central

Durante años fue difícil demostrar que la IL-1 era la responsable de la fiebre, porque no se sabía como podía penetrar una sustancia con una Mr tan alta (17 Kd) al Sistema Nervioso Central. Esta controversia se resolvió con 2 observaciones (69-72):

1.- Existe una región del SNC donde las sustancias de alto peso molecular como la IL-1 pueden pasar la barrera hematoencefálica. Este es el Organismo Vasculoso de la Lámina Terminalis (OVLT) que está en la porción más anterior del tercer ventrículo, inmediatamente por arriba de la región preóptica (PO/HA) donde se regula la temperatura corporal, que contiene fenestraciones en el endotelio, que hacen posible este paso.

2.- No parece ser indispensable el paso de la IL-1 al

cerebro para que se observe su efecto, ya que las células endoteliales de esta región tienen la capacidad de producir IL-1 en respuesta a la estimulación ( aún a la estimulación con IL-1). También pueden producir prostaglandinas ( en especial la serie E2) a partir del ácido araquidónico, que son a fin de cuentas, las que median el efecto de la IL-1 en el hipotálamo.

3.- Se ha demostrado que las células del SNC pueden sintetizar IL-1 en respuesta a un estímulo nocivo.

4.- La endotoxina no puede pasar la barrera hematoencefálica porque es una molécula muy grande (Mr 2000 Kd), de manera que, deberá usar cualquiera de los mecanismos propuestos anteriormente para lograr su efecto y con respecto de las observaciones 2 y 3 es interesante anotar que cuando se hace una inyección intraventricular de endotoxina, el efecto es mas intenso y ocurre mas rápidamente que cuando se inyecta intravenosamente (73).

Otra observación interesante fué que la fiebre, por lo menos en el adulto, siempre tiene una meseta: sólo extraordinariamente sobrepasa los 41°C (74). Esto sorprendió durante mucho tiempo a los fisiólogos. Las observaciones de Cooper, Veale y Kasting resolvieron parcialmente esta interrogante cuando observaron que en el embarazo, la hembra de término, no respondía con fiebre a una inyección de endotoxina que normalmente causaba fiebre en animales no

embarazadas (75-77).

Una búsqueda sistemática resultó en el hallazgo de una elevación de la concentración sérica de la hormona anti-diurética (HAD) en ese mismo momento fisiológico. Observaciones posteriores lograron demostrar que esta hormona tiene efecto modulador de los pirógenos en el cerebro y se le llamó antipirético endógeno, también se demostró que la concentración de HAD aumenta en el Líquido Cefalorraquídeo durante la fiebre y que este aumento está relacionado con el aumento de la temperatura corporal. La administración intraventricular de esta hormona puede suprimir la respuesta de la fiebre sin afectar la termorregulación del animal de experimentación (78-80). Pronto y también por una búsqueda sistemática de péptidos con efecto en los mecanismos reguladores de la temperatura en el Sistema Nervioso Central, demostraron que otros neuropéptidos tenían este efecto, en especial, la Hormona Estimulante de los Melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) y la adrenocorticotropina (ACTH). Para esta última se ha demostrado un circuito de retroalimentación negativa, donde los efectores del circuito hipotálamo-hipófisis-glándula suprarrenal (los corticoesteroides) pueden modular la síntesis de IL-1 (81-85). Es interesante mencionar que también se ha demostrado un efecto antiinflamatorio y regulador del efecto de la IL-1 en los tejidos periféricos para la  $\alpha$ -MSH. Hace mucho tiempo que se conoce el efecto antiinflamatorio y antipirético de los corticosteroides (86,87).

También se ha observado que la fiebre y la respuesta de fase aguda, tanto como la temperatura corporal normal, tienen un ritmo circadiano, donde el máximo de temperatura se observa por las noches y el mínimo durante las mañanas; de manera análoga pero contraria al ciclo circadiano de la secreción del cortisol (88).

Con lo anterior podemos concluir que la fiebre es un fenómeno complejo que está caracterizado por un cambio de la temperatura corporal, que se asocia con cambios en los mecanismos que normalmente regulan a la temperatura, pero que está mediada por sustancias que normalmente no intervienen en esta regulación.

Este cambio ocurre a consecuencia del efecto de una(s) sustancia(s) que producen las células del sistema Monocito-Macrófago que causan un aumento de la síntesis de prostaglandinas (principalmente de la serie E2) en el hipotálamo y que puede suprimirse con la administración de un antipirético. La característica principal de este cambio de temperatura es que se conservan los mecanismos normales de termorregulación, de manera que el sujeto conserva la capacidad de responder en forma adecuada a los cambios de la temperatura ambiente, sólo que en un nuevo punto fijo de regulación ( un nuevo punto fijo para el "termostato" hipotalámico - ver cuadro 2-).

## PRIMERAS OBSERVACIONES

Al inicio de la maestría en Ciencias Médicas habíamos propuesto un protocolo de estudio donde pretendíamos investigar la causa de algunas alteraciones de la función tubular proximal del riñón durante la fiebre. Esto requería de un modelo experimental. En el curso de la estandarización de las técnicas encontramos que resultaba poco práctico trabajar con conejos ( que son el modelo ideal) porque no disponíamos de espacio suficiente en el bioterio; su manutención y la dosis de IL-1 que requeríamos resultaban muy costosas.

Iniciamos los experimentos con ratas de la cepa Wistar, adultos, machos con peso entre 250 y 450 gramos.

La respuesta que observamos usando dosis de endotoxina ( LPS de *Salmonella typhi* 9,12,V:1:d) inyectada en la vena de la cola, en las dosis que comunmente se mencionaban en la literatura mundial (90-94), producía una respuesta que se caracterizaba por una disminución de la temperatura del animal. Modificamos las condiciones del bioterio hasta obtener las mismas que se habían usado en estos modelos de fiebre en ratas. Como no encontramos aumento de la temperatura, decidimos trabajar con sobrenadantes de monocitos estimulados con LPS; de manera que sólo observaríamos la fiebre producida por el pirógeno endógeno. La respuesta fué igual, en todos los casos observabamos una disminución de la temperatura en forma reproducible y predecible. El cambio

dependía de la magnitud de la dosis administrada y podíamos observar respuestas que reproducían a las del choque endotóxico (con trastornos de la coagulación, disminución progresiva de la temperatura corporal y finalmente la muerte) con dosis masivas de LPS, mientras que con el sobrenadante observábamos respuestas transitorias, con una magnitud que dependía de la dosis. Con 0.5 mL/Kg, observamos una disminución pequeña y no significativa de la temperatura (esta dosis es 4 veces menor que la informada como necesaria para producir fiebre en la rata) (ver gráficas 1 y 2). Hicimos una cromatografía de gases para cuantificar la concentración de ácido  $\beta$ -hidroxi-mirístico ( $\beta$ -OH-M) que pudieran contener como reflejo de la concentración de LPS que estuviera aún presente en el sobrenadante de monocitos (gráficas 3 y 4). Este estudio nos demostró que aún había trazas de LPS en nuestros sobrenadantes. Por esta razón, a partir de ese momento usamos sobrenadantes de macrófagos de ratón de la línea P 388 D1 (American Type Tissue Culture Collection)(95), estimulados con Forbol-Miristato-Acetato (PMA) en concentración de 1 ng/mL (96), al que se le adicionaba una cantidad suficiente (3  $\mu$ g/mL) de Polimixina B, un antibiótico que funciona como detergente atrapando al  $\beta$ -OH-M (97). También hicimos un ensayo de coestimulación de timocitos de ratón, que es el bioensayo que se usa con mas frecuencia para demostrar actividad de IL-1 (98-100). En este ensayo demostramos que nuestros sobrenadantes tenían actividad de IL-1, que debía producir fiebre en el animal de experimentación; las dosis que usábamos son las que se han informado en la literatura mun-

dial como suficientes para producir fiebre con sobrenadantes de monocitos. Como aún observábamos esta respuesta decidimos proponer el siguiente protocolo de estudio, ya que observamos que la temperatura de estos animales no descendía hasta igualarse con la del medio ambiente y a diferencia del efecto de la endotoxina, la respuesta era transitoria y los animales no morían. Había un descenso que alcanzaba el máximo 60 minutos después de la inyección del sobrenadante o 90 minutos después de la inyección de LPS. En ese momento alcanzaba una meseta y se mantenía así por espacio de 3 a 5 horas, para regresar nuevamente a una temperatura similar a la del comienzo del experimento ( gráfica 5). Estas observaciones y la revisión de la literatura (101-103) nos hicieron sospechar que esta forma de respuesta constituye la "fiebre" de este tipo de ratas. Previamente se había dicho que esta forma de respuesta a un pirógeno representa una falla de los mecanismos de termorregulación, la respuesta a una dosis extraordinaria del pirógeno o el resultado de activar un termostato hipotalámico inmaduro o senil (104-106). Para este efecto planteamos el protocolo con el siguiente:

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿LA RESPUESTA QUE OBSERVAMOS EN LA TEMPERATURA DE LA RATA WISTAR ADULTA CON LA INYECCION DE UN SOBRENADANTE DE MACROFAGOS DE RATON, EQUIVALE A LA FIEBRE?

A) ¿ Este cambio está mediado por un pirógeno endógeno?

B) ¿ Este cambio puede suprimirse con antipiréticos?

C) ¿ A pesar del cambio en la temperatura corporal, el animal conserva la capacidad para responder adecuadamente a los cambios de la temperatura ambiente?.

## HIPOTESIS

LA RESPUESTA QUE OBSERVAMOS EN LA TEMPERATURA DE LA RATA WISTAR ADULTA CON LA INYECCION DE UN SOBRENADANTE DE MACROFAGOS DE RATON, EQUIVALE A LA FIEBRE

A) Este cambio está mediado por un pirógeno endógeno.

B) Puede suprimirse con un antipirético.

C) A pesar de los cambios que se observan en la temperatura, el animal conserva la capacidad de responder adecuadamente a los cambios de la temperatura ambiente.

## OBJETIVOS

DEMOSTRAR QUE LOS CAMBIOS QUE SE OBSERVAN EN LA TEMPERATURA CORPORAL DE LA RATA WISTAR ADULTA CON LA INYECCION DE UN SOBRENADANTE DE MACROFAGOS DE RATON, EQUIVALEN A LA FIEBRE.

A) Demostrar que estos cambios están mediados por un pirógeno endógeno.

B) Demostrar que estos cambios pueden suprimirse con la inyección de un antipirético.

C) Demostrar que a pesar de estos cambios, el animal conserva la capacidad de responder adecuadamente a los cambios de la temperatura ambiente.

# MATERIAL Y METODOS

## DISEÑO DE LA INVESTIGACION

Se usó un diseño en bloques no balanceado, con la intención de demostrar diferencias entre el grupo 2 y el resto de los tratamientos y entre los grupos 5 y 6 .

## CARACTERIZACION DE LAS VARIABLES:

Según la metodología:

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- 1.- testigos.
- 2.- sobrenadante activado de macrófagos de ratón.
- 3.- mismo sobrenadante, inactivado por calor.
- 4.- antipirexis.
- 5.- hipertermia.
- 6.- hipertermia + inyección de sobrenadante activado.

VARIABLE DEPENDIENTE: Cambio de temperatura (°C).

Como existen variaciones en la temperatura de cada animal usamos a cada sujeto como su propio testigo. Los contrastes se hicieron con la diferencia de temperatura que cada sujeto tenía con respecto de su propia medición en el tiempo 0.

## ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

En todos los experimentos usamos ratas Wistar (30 animales), machos de 250 a 450 gramos de peso. Se les mantenía en condiciones habituales de bioterio con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas y temperatura constante de 20±2 °C. Alimentación a base de cubos estandar de "Purina" y libre acceso al agua. La noche previa al experimento se les retiraba el alimento y se dejaba libre acceso al agua. Por la mañana se separaba un animal, se le colocaba en una jaula de contención (ver tabla 1) con una sonda rectal (10 cm por dentro del recto) que se fijaba con tela adhesiva a la cola. Esta sonda tenía un termistor conectado a un teletermómetro (Yellow Springs Instruments modelo 53 000) y a partir de ese momento se registraba la temperatura cada 15 minutos. El animal tardaba un promedio de 1.5 horas en mantener una temperatura estable ( 3 lecturas consecutivas con una diferencia no mayor de 0.3 °C entre cada una de ellas). A este momento se le llamó tiempo 0 y fué el momento en el que se aplicaron las maniobras experimentales.

Una vez aplicada la maniobra se continuó el registro de la temperatura cada 15 minutos hasta el término del experimento. Todos los animales sobrevivieron por lo menos 24 horas.

En el tiempo 0 aplicamos las siguientes maniobras:

Al primer grupo se le inyectó 1 mL/Kg de medio de cultivo D.E.M. esteril y se les llamó testigos.

El segundo grupo recibió una inyección de 1 mL/Kg de un sobrenadante activado de monocitos. Este fué el grupo de "fiebre".

Un tercer grupo recibió una inyección del mismo sobrenadante que había sido tratado previamente con calor (60°C durante 1 hora en baño maría). Este tratamiento es suficiente para destruir la IL-1 pero no la endotoxina o el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) que requieren 150°C y 75°C durante 1 hora respectivamente.

Un cuarto grupo recibió una inyección de piroxicam de 3 mg/Kg intraperitoneal en el momento de colocarla en la jaula de contención y en el tiempo 0 recibió la inyección de sobrenadante activado. Este fué el grupo de "Antipirenesis".

Un quinto grupo recibió una inyección de medio de cultivo D.E.M sin activar y se les sometió a un aumento de la temperatura ambiente hasta 40°C, con un calentador doméstico de calor radiante. Este fué el grupo de "Hipertermia".

El sexto grupo consistió de 5 ratas que fueron sometidas a la misma maniobra anterior (hipertermia) y que además recibieron el tiempo 0 (1 mL/Kg).

Todos los animales estaban acostumbrados a la manipulación y permanecieron tranquilos durante el experimento. En general se observó un aumento de la temperatura en los 15 a 30 minutos siguientes a la manipulación, que regresaba a la línea de base 30 a 45 minutos después, sólo por efecto de la manipulación.

#### PRECISION DEL TELETERMOMETRO

El termómetro que se usó tiene una escala en grados centígrados completos y la aguja se mueve con cambios tan pequeños como 0.01 °C. Para estimar la precisión de los registros, 6 observadores hicieron una medición en forma independiente y a ciegas de la estimación de los demás, en un lapso de 5 minutos ( por que la temperatura del animal cambia rápidamente). Se obtuvieron mediciones con un coeficiente de variabilidad de 0.03% (ver tabla 2).

#### PRODUCCION DE UN SOBRENADANTE DE MONOCITOS DE RATON.

Se usó la técnica descrita previamente por Gearing et al (98-100). En breve: se cultivaron células de la línea P-388-D1 que es una línea de macrófagos de ratón que originalmente se desarrollaron de un linfoma. Se cultivaron en cajas de policarbonato ( NUNC, Copenhagen, Dinamarca) con capacidad de 500 mL.

Cuando se alcanzaba una buena densidad de cultivo se separaban por tripsinización ( una dilución 1:10 de una solución stock de tripsina -Sigma Chemicals, St Louis MO.-), en solución salina esteril (NaCl 0.9N), se agitan con suavidad durante 10-15 minutos y cuando se observa en despegamiento de las células se detiene la reacción con 5 mL de suero bovino fetal, se centrifugan (1000 rpm durante 10 minutos a 4°C). Se lavan 3 veces con solución de Hanks y se cuentan en cámara de Neubauer. Se ajustan hasta una concentración de  $1.5 \times 10^6$  células/mL y se colocan en cajas de cultivo de fondo plano con medio D.E.M. adicionado con 80 mg/L de gentamicina, 1 000 000 us/L penicilina sódica cristalina, 10% suero fetal bovino (volumen/volumen). Se activaron con PMA 1 ng/mL disuelto en medio D.E.M. Se cultivaron 24 horas en estufa a 37°C, con CO<sub>2</sub> 5%. Al término de este periodo se recolectó el sobrenadante, se centrifugó (1000 rpm 10 minutos a 4°C) para eliminar las células. Se separó en alícuotas de 1 mL cada una y se congeló a -70°C para uso posterior.

El día del experimento se extraía el recipiente con el sobrenadante y se descongelaba rápidamente a temperatura ambiente en el momento de la inyección. Para los animales del grupo 3 se descongeló 2 horas antes y se sometió a un tratamiento con calor, con un baño maría a 60°C durante una hora, se dejó enfriar y posteriormente se les inyectó.

En todos los casos se usó material esteril y libre de pirógenos.

## ENSAYO DE TIMOCITOS DE RATON

Se usó la técnica de Gearing (98-100). En breve:

En condiciones estériles, se sacrifican ratones (cepa NIH) de 3-5 semanas de edad. Se extrae el timo por disección roma después de abrir la caja torácica con unas tijeras. Se lava 3 veces con solución de Hanks, se hogeniza en un tamizador estéril y se lavan las células nuevamente en 3 ocasiones con solución de Hanks. En el primer lavado se agrega solución de cloruro de amonio para romper los eritrocitos que aún pudieran contaminar a estas células. Se cuentan en cámara de Neubauer y se ajustan para obtener una solución con 200 000 células por cada 100  $\mu$ L. Se colocan en cajas de cultivo de 96 pozos de fondo redondo, con medio D.E.M. adicionado con 80 mg/L de gentamicina y 1 000 000 us/L de penicilina sódica cristalina y 10% de suero fetal bovino. A estas células se les adiciona Concanavalina A (ConA)-un mitógeno inespecífico- en una dosis que previamente se había demostrado que era subóptima para estimular a estas células (5 $\mu$ g/mL - gráfica 6-), sobrenadante de monocitos estimulados con PMA en diferentes concentraciones (10,20 y 40%) y la combinación de ambos (ConA y sobrenadante).

Se colocan en placas de cultivo con 200 000 células por pozo adicionadas con Polimixina B (3  $\mu$ g/mL) y se adiciona medio de cultivo DEM. También se dejan células suspendidas en medio de cultivo sin estimular, como testigos de viabilidad (para detalles del protocolo ver tabla 3).

Se cultivan durante 48 horas en estufa a 37°C y con 5% CO<sub>2</sub>. Después de este tiempo se pulsan con 1 µCi de 3H-timidina. 24 horas después se cosechan en filtros de papel de fibra de vidrio y se leen en un lector beta (Beckman modelo LS-5601, Berkley, California) en cuentas por minuto. La demostración de la actividad de IL-1 reside en la observación de un efecto superior con la combinación del sobrenadante y la ConA que con cualquiera de los 2 en forma aislada. El contraste se hace con un índice de estimulación (IE) donde: IE = cuentas por minuto del problema - cuentas por minuto del testigo/ cuentas por minuto del testigo.

#### CROMATOGRAFIA DE GASES PARA MEDIR β-OH-M

Esta cromatografía requiere de 2 pasos previos: Se usan liofilizados de LPS de *Salmonella typhi* 9,12,Vi:d que se obtuvieron con el método de fenol-agua de Westphal. Se someten a una reacción de metilación con metanol absoluto (100 µL para cada 5 mg de LPS) a la que se agregan 100µL de ácido sulfúrico concentrado, se coloca la muestra en una ampollita se sella y se calienta a reflujo por 2 a 3 horas.

Terminada esta reacción se extraen los ácidos grasos con 2 mL de eter de petróleo y 2 mL de agua, se desecha la fase acuosa y se repite la operación 2 ocasiones mas. Se deseca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se afora a 25 mL con eter de petróleo.

Esta mezcla se deseca y se somete a una reacción de acetilación con 200  $\mu$ L de anhídrido acético y 200  $\mu$ L de piridina, se coloca en una ampolleta se sella y se calienta a reflujo durante 4 horas a 100°C. Al producto resultante se le extraen los lípidos con una mezcla de cloroformo y agua (2 mL de cada uno) y se ajusta a 5 mL con cloroformo. Con esta mezcla se hacen inyecciones en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer (modelo El15, Norwalk, Connecticut) con una columna c-16 con nitrógeno como vehículo. Se grafican los cromatogramas y se comparan con los que se obtienen de una mezcla de ácidos grasos acetilados y metilados, con LPS solo y con un liofilizado del sobrenadante de monocitos (sólo y con  $\beta$ -OH-M com estandar interno). La concentración de este ácido se obtiene extrapolando del área bajo la curva del pico representativo del  $\beta$ -OH-M (gráficas 3 y 4).

## ANALISIS ESTADISTICO DE LA INFORMACION

Como la temperatura de cada animal es muy variable, se tomó como temperatura basal a la que se obtuvo en el momento de la inyección. Se midió la diferencia de temperatura en los registros siguientes y esta fue la que se comparó en los diferentes tratamientos como  $\Delta$  T.C.

Las variables que se midieron a través de los diferentes

experimentos se expresan en una escala dimensional y se usó un diseño en bloques no balanceado. Las variables se ajustan a una distribución normal y se usó un Análisis de Varianza paramétrico de 2 vías ( prueba F) por que las muestras en el tiempo son relacionadas. Las pruebas posttest se hicieron con la prueba "t" de student para muestras relacionadas o independientes según fuera el caso (107) con ayuda de una hoja de cálculo electrónica ( Lotus 123, Lotus Development Corp.). Los resultados se expresan como promedios  $\pm$  desviación estándar de las  $\Delta T$  en cada grupo de estudio ( ver apéndice 1 y tablas 4 y 5).

## RESULTADOS

### ENSAYO DE TIMOCITOS DE RATON

Se observó efecto de coestimulación que se demostró con un Índice de estimulación 6 a 7 veces con respecto del testigo cuando ensayamos a la ConA y el sobrenadante juntos, en tanto que el sobrenadante y la ConA sólo alcanzaron 1 y 0 respectivamente. Esto demuestra que los sobrenadantes tienen actividad de Factor Activador de Linfocitos (LAF o IL-1) (ver gráfica 7).

### EFECTO DE LA INYECCION DE LAS SUBSTANCIAS DE PRUEBA

Observamos diferencias estadísticamente significativas para las columnas (tiempo), los renglones (tratamientos) y

hubo una interacción significativa entre estos 2 términos en la prueba F (  $p < 0.001$  en los 3 casos) (ver anexo 1).

Testigos.- Se observó una disminución de la temperatura conforme pasó el tiempo. Esta disminución fué en promedio de  $0.16$  ( $\pm 0.1$ ) $^{\circ}\text{C}$  y no fué estadísticamente significativa.

Inyección de sobrenadante activado "fiebre".- Se observó una disminución significativa de la temperatura corporal. Fué significativa a los 15 minutos y en forma constante y máxima a partir de los 60 minutos ( $p = 0.0018$  vs 1,  $p = 0.005$  vs 3,  $p = 0.009$  vs 4). A partir de este momento se mantuvo constante con un promedio de  $-1.4$  ( $\pm 0.56$ ) $^{\circ}\text{C}$  y con diferencias significativas con respecto de los grupos 1,3 y 4 hasta los 90 minutos.

Inyección del sobrenadante inactivado por calor.- En este caso se observó una disminución promedio de  $-0.4$  ( $\pm 0.16$ ) $^{\circ}\text{C}$  que no fué diferente del testigo ni de su propia medición basal. Fué significativamente diferente del grupo de "fiebre" a partir del minuto 15 y esta diferencia persistió durante todo el experimento.

Inyección del sobrenadante después de la inyección del antipirético.- En este caso se observó una disminución de la temperatura de  $-0.3$  ( $\pm 0.39$ ) $^{\circ}\text{C}$ , ésta no fué estadísticamente significativa con respecto de su basal pero si del grupo inyectado con el sobrenadante activado ("fiebre") ( $p = 0.009$ ,

$p = 0.004$ ,  $p = 0.015$  a los 60, 75 y 90 minutos respectivamente). A pesar de que se observó que claramente disminuía la temperatura en los animales, este efecto fué solamente de un tercio de la magnitud del que se observó sin antipirético y no fué diferente del testigo ni del grupo inyectado con el sobrenadante inactivado por calor.

Efecto del cambio de la temperatura ambiente: Efecto del aumento de la temperatura ambiente(40°C).- En este caso los animales elevaron su temperatura corporal en 1.4 ( $\pm 0.46$ )°C, esta fué significativamente diferente de su basal ( $p = 0.03$ ,  $p = 0.015$ ,  $p = 0.004$ ,  $p = 0.0039$  a los 30,45,60,75 y 90 minutos respectivamente).

Inyección de un sobrenadante de monocitos.- Estas ratas mantuvieron su temperatura corporal 1.4 °C por debajo de la de las ratas sometidas a hipertermia y que no recibieron el sobrenadante activado; con una diferencia de sólo 0.2( $\pm 0.87$ )°C con respecto de su basal (no fué diferente del cambio de temperatura en los testigos) y con una diferencia significativa de los animales sometidos a hipertermia y sin la inyección del sobrenadante ( $p = 0.013$ ,  $p = 0.003$ ,  $p = 0.012$ ,  $p = 0.025$ ,  $p = 0.023$  a los 30,45,60,75 y 90 minutos respectivamente).

Ver gráficas 8 y 9 y las tablas 4 y 5.

Hubo diferencias en la línea de base entre los grupos 3y

4 sólo a los -45 minutos ( $p = 0.049$ ) y entre los grupos 2 y 4 a los -30 minutos ( $p = 0.044$ ) y 2 y 3 a los -30 minutos ( $p = 0.024$ ). Estas diferencias no fueron consistentes, los grupos se habían igualado al minuto -15 y por supuesto al tiempo 0.

## DISCUSION

Con frecuencia se observa una disminución de la temperatura en el sujeto infectado (108,109). Esta observación no parece haber motivado gran interés, considerando que no se ha abordado el tema con estudios experimentales. Se le ha relacionado con un peor pronóstico y hasta la fecha se le ha considerado un trastorno de la termorregulación y no una manifestación propia del pirógeno como a la fiebre.

Estudios previos sugerían que esta manifestación de la infección se debía al efecto del pirógeno en un hipotálamo inmaduro e incapaz de regular sus respuestas y también se dijo que se trataba de una respuesta exagerada del centro termorregulador a una dosis extraordinaria del pirógeno. La observación de este fenómeno en los ancianos atrajo explicaciones similares - que se debía a una disfunción del hipotálamo por la senectud- (110-112).

Nuestros resultados demuestran que esta respuesta puede observarse en el animal adulto, no necesariamente anciano y

que puede observarse la desaparición del efecto del sobrenadante con las dosis menores sin pasar por un periodo de fiebre con elevación e la temperatura. Esto significa que no se trata de una dosis extraordinaria del pirógeno; si no que es su efecto habitual en estas ratas. No hicimos mediciones de la presión arterial, de manera que no podríamos diferenciarlo del estado de shock séptico; sin embargo, todos los animales sobrevivieron a los experimentos y días después parecían gozar de buena salud, de manera que en el peor de los casos sólo se trataría de un efecto transitorio. Por otro lado, en el shock séptico se pueden observar por igual aumento y disminución de la temperatura, esta última se ha adjudicado a la hipotensión arterial e hipoperfusión tisular resultantes y en estas ratas medimos la temperatura central. Una observación detallada de la curva del efecto de este sobrenadante en la temperatura de las ratas nos permite reconocer que tiene un patrón bifásico idéntico al que se ha obtenido con la inyección de productos recombinantes, con un pico "temprano" a los 15 minutos y otro mas tardío y duradero a los 60 minutos, pero en dirección opuesta ( a la manera de una imagen en espejo del fenómeno) (113).

La demostración de que el efecto puede suprimirse con las maniobras que comunmente destruyen al pirógeno endógeno y no a la endotoxina, fundamenta la noción de que lo que observamos es en efecto acción de un pirógeno endógeno ( presumiblemente un péptido) tal como se ha hecho previamente. Una demostración mas rigurosa podría lograrse con el uso de un

anticuerpo específico, pero este recurso no lo tenemos y no ha sido necesario usar esta demostración en comunicaciones previas. Por otro lado, también pudimos demostrar que se puede bloquear su efecto con medicamentos que actúan como antipiréticos; esto es, modifican la temperatura de un sujeto que está bajo el efecto de un pirógeno y no la de un sujeto normal. Esta última observación brinda mayor apoyo a nuestra hipótesis.

Es importante recalcar que estas ratas mantuvieron una temperatura corporal estable una vez que alcanzaron el efecto máximo de la inyección y no observamos una caída estrepitosa de la temperatura como cabría esperar de un trastorno de la termorregulación y como sucedió también cuando inyectamos una dosis de LPS que causó shock endotóxico con trastornos de la coagulación y la muerte del animal. Tampoco observamos que el animal siguiera a la temperatura ambiente como sucede en otros trastornos de la termorregulación ya que en los experimentos de hipertermia los animales que se inyectaron con el sobrenadante mantuvieron una diferencia de temperatura similar a la que se observó entre los testigos y los animales inyectados con sobrenadante en condiciones de temperatura ambiente normal. Esto sugiere que de alguna manera cambió el punto fijo de la regulación hipotalámica de la temperatura y que este cambio se mantuvo estable a pesar de que manipulamos la temperatura ambiente. Los experimentos con antipiréticos sugieren que este cambio requiere de un paso intermedio que está mediado por la síntesis de prostaglandinas de la misma

manera que ocurre durante la fiebre con elevación de la temperatura.

No podemos llamar a este cambio una "Hipotermia". Este término denota una disfunción de los mecanismos reguladores de la temperatura que se manifiestan como una temperatura corporal por debajo de lo normal; nuestros experimentos demuestran que el cambio que observamos es un cambio regulado y que el animal conserva la capacidad de responder de una manera adecuada a los cambios de la temperatura ambiente pero con un punto de regulación diferente, que está situado en promedio 1.4°C por debajo del sujeto testigo.

No tenemos una explicación adecuada para la ocurrencia del fenómeno que observamos. No sabemos por que en estas ratas observamos disminución y no aumento de la temperatura. Este fenómeno ya se había observado e inclusive existe una caracterización parcial previa a la comunicación de Dinarello en 1977 (113-116) en las que inclusive, aplicaron algunas maniobras similares a las nuestras. Parece ser que el descubrimiento de compuestos altamente purificados desvió la atención de los investigadores hacia otros fenómenos.

Las comunicaciones que tratan de modelos de fiebre en la rata son de muy diversa naturaleza y se pueden observar diferentes patrones de respuesta; por esta razón, la disminución de la temperatura como respuesta "febril" podría adjudicarse a una respuesta idiosincrática de esta cepa de ratas. De

hecho, en un inicio, esta era la única respuesta que se obtenía al intentar producir fiebre en la rata y por esto se le consideró un mal modelo para el estudio de la fiebre. Sin embargo existen modelos de aumento de la temperatura con inyección de endotoxina de *E.coli* y se caracterizan por una disminución inicial de la temperatura que dura 30 minutos y está seguido por una elevación que alcanza su máximo a las 3 horas y dura hasta 6 horas. En nuestros experimentos el efecto duró hasta 6 horas y nunca hubo aumento tardío de la temperatura (gráfica 5). En los protocolos que usan rIL-1 se obtiene una curva de temperatura muy similar a la que se obtiene en el ser humano (101-103) y cuando se inyectaron sobrenadantes de monocitos parcialmente purificados por ultrafiltración, observaron un patrón de respuesta caracterizado por elevación de la temperatura de forma bifásica, casi una imagen en espejo de lo que observamos en nuestros experimentos.

Podría pensarse que nuestros sobrenadantes crudos contienen alguna sustancia que actúa en forma similar a la IL-1 pero en sentido opuesto. Nuestros experimentos no están diseñados para dar respuesta a esta pregunta, pero es una buena posibilidad, como lo es también, que las condiciones del bioterio no fueran las óptimas. Sin embargo nuestros animales se mantuvieron en las mismas condiciones que informan en la literatura (101-103) con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas y temperatura constante, que lo hace menos probable, aunque deberemos tenerlo en cuenta.

El hecho de que se haya demostrado que puede obtenerse elevación de la temperatura en la rata aún con la inyección de LPS hace suponer que no se trata de idiosincracia, sino de algún factor que nosotros no hemos detectado. En el pasado se dijo que esta disminución de la temperatura correspondía con una hipotermia, es decir, con un trastorno de la termorregulación inducido por el pirógeno. Nuestros experimentos demuestran que en este modelo no se puede decir que se trata de una hipotermia sino de un cambio regulado de la temperatura y que aunque la dirección del cambio es contraria a la que conocemos para la fiebre, se ajusta a los criterios que definen operativamente la fisiopatología de la fiebre. Por esta razón concluimos que el fenómeno es otra manifestación de la fiebre y que podrá usarse en otros protocolos que investiguen el efecto de los pirógenos en el organismo, inclusive, descartando el efecto del aumento de la temperatura.

El hallazgo de algunas diferencias entre los grupos en las mediciones basales no invalida su comparabilidad, éstas fueron aisladas y pequeñas y sólo esporádicas. Hubo un efecto en las ratas que recibieron la inyección del sobrenadante después de la inyección del antipirético, fué de poca magnitud y por esto no lo detectaron las pruebas estadísticas, solo fué diferente de los testigos en los minutos 15 y 60. Posiblemente esta diferencia se haría evidente con una muestra mayor, pero para efectos de este protocolo, puede decirse que puede abolirse el efecto de la inyec-

## CONCLUSIONES

LA RESPUESTA EN LA TEMPERATURA CORPORAL QUE OBSERVAMOS  
CON LA INYECCION DE UN SOBRENADANTE DE MONOCITOS DE RATON EN  
LA RATA WISTAR, EQUIVALE FUNCIONALMENTE A LA FIEBRE.

Está mediada por un pirógeno endógeno

Puede suprimirse con antipiréticos

El animal conserva la capacidad de  
termorregular, aún con cambios  
extremos de la temperatura ambiente

ción del sobrenadante activado con el tratamiento con antipiréticos.

Resaltamos la necesidad de investigar la causa de esta diferencia con la fiebre que comunmente conocemos, pero pensamos que avanzamos un paso cuando demostramos que por lo menos en algunos casos (como sucedió en este modelo) la disminución de la temperatura puede ser una expresión de la fiebre y no un trastorno de la regulación de la temperatura. Los cambios que observamos son en todo análogos aunque en dirección opuesta a la temperatura de la fiebre que estamos acostumbrados a ver. Esto último, no necesariamente será aplicable en modelos diferentes del de la rata Wistar. Pero aquel que repita la observación, podrá aplicar métodos similares para conocer si está frente a un fenómeno de trastorno de la termorregulación o una manifestación poco común de la fiebre.

## CONCLUSIONES

## ANEXO 1

### ANALISIS ESTADISTICO DE LA INFORMACION

Para el analisis de los datos usamos una prueba paramétrica de 2 vías de analisis de varianza (prueba F). En esta prueba se analizan las varianzas totales, entre grupos y dentro de los grupos, buscando la razón de varianzas entre grupos y dentro de cada grupo (la variabilidad observada con los diferentes tratamientos entre la variabilidad "biológica". Se descompone en 3 términos: diferencias entre columnas (tiempo), diferencias entre renglones (tratamiento experimental) y un término de interacción (columna por renglón). Deben cumplirse por lo menos 2 supuestos: que los datos sigan una distribución por lo menos aproximadamente normal y que las varianzas sean homogéneas. Una vez que se terminó el análisis se expresan los resultados en una tabla ANOVA, en donde se observan: las sumas de cuadrados de cada fuente de variabilidad (SC), los grados de libertad para cada término, el cuadrado medio o varianza (CM), la razón F ( que es aproximadamente el cuadrado del mismo valor en la distribución de "t") y la probabilidad asociada de la observación de esa razón de varianzas de acuerdo con la distribución F, tal como se muestra a continuación:

TABLA ANOVA

Fuente de variabilidad	SC	GL	CM	F	P
TOTAL	54.85	199			
INTRA	21.47	96	0.22		
SC Renglón	48.29	5	9.65	43.15	<0.001
SC Columna	30.39	4	7.59	33.94	<0.001
SC R x C	-23.83	20	1.19	5.32	<0.001

Interpretación: Existen diferencias significativas entre las columnas (en el tiempo), entre los diferentes renglones (los tratamientos experimentales) y una interacción significativa (hay un grupo que muestra cambios mayores en el tiempo).

El siguiente paso consiste en buscar en que momentos y entre que grupos de tratamiento hay diferencias. Las hipótesis estadísticas de este trabajo indican que habrá diferencias del grupo 2 ("fiebre") con los demás, y que entre estos no habrá diferencias. Para este caso hicimos pruebas "t" de student para muestras relacionadas (las diferencias en el tiempo) y pruebas "t" de student para muestras independientes (para buscar diferencias en los diferentes grupos de tratamiento).

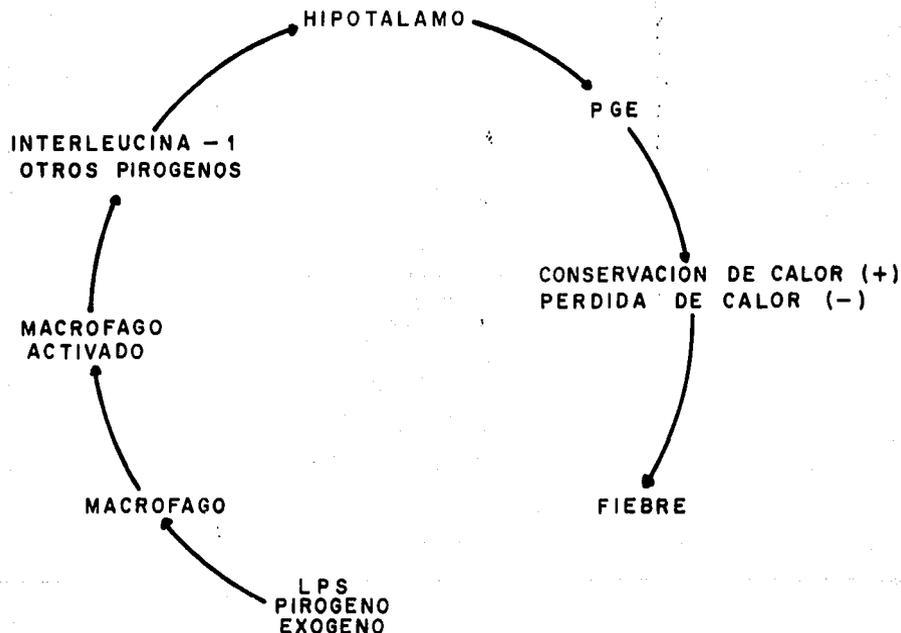
El cuadro A-1 muestra los valores de "t" y la probabilidad asociada conforme  $H_0$  de los contrastes en cada momento, con respecto del tiempo y el cuadro A-2 muestra los valores

de "t" y la probabilidad asociada con  $H_0$  de los contrastes entre los diferentes grupos experimentales en cada uno de los tiempos.

Interpretación: Existen diferencias en el grupo de fiebre en el minuto 15 y a partir del minuto 45 en adelante (distribución bimodal). En los demás tratamientos no hay diferencias en el tiempo con respecto de la medición en el tiempo 0. Existen diferencias del grupo de hipertermia (5) a partir del minuto 15 y hasta el final del experimento y no hay diferencias en el grupo de hipertermia mas sobrenadante ("fiebre"). Algunas mediciones en los tiempos -45 y -30 mostraron diferencias. Son inconsistentes y desaparecen en el minuto -15 (ver discusión).

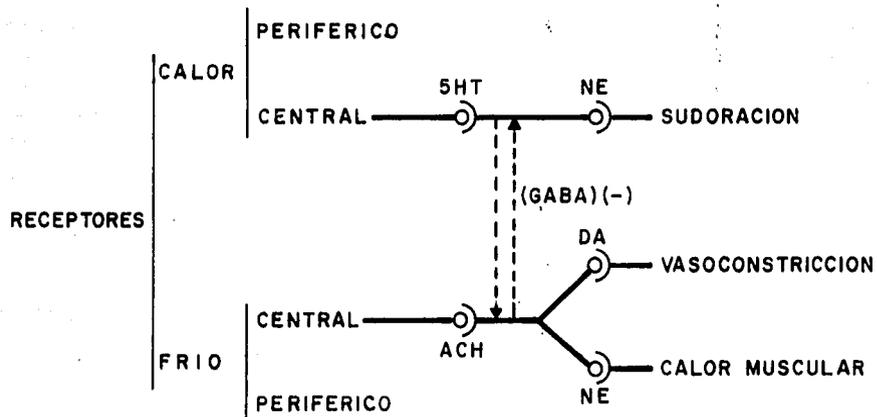
A partir del minuto 15 existen diferencias entre el grupo de "fiebre" y el de antipiresis (2,4) con los testigos, pero sólo se mantiene la diferencia del grupo 2 con los demás. Para los grupos 5 y 5 se observan diferencias claras a partir del minuto 30.

CUADRO 2  
PATOGENIA DE LA FIEBRE



ESQUEMA DE LA PATOGENIA DE LA FIEBRE.- SE EJEMPLIFICAN LOS PASOS MAS IMPORTANTES EN LA PRODUCCION DE LA FIEBRE. MODIFICADO DE DINARELLO (34).

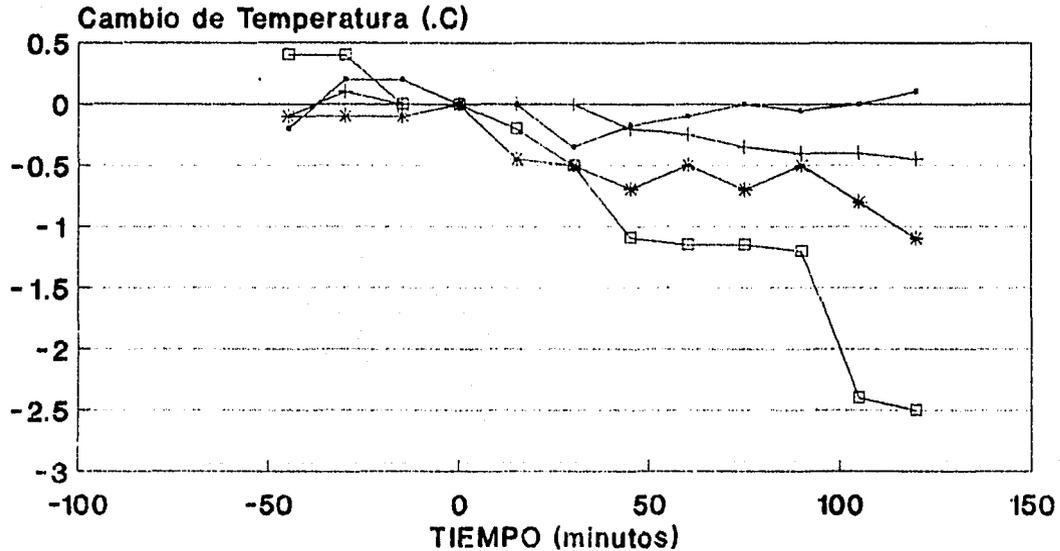
**CUADRO 1**  
**ESQUEMA DE LAS NEURONAS TERMOSENSIBLES Y**  
**SUS NEUROTRANSMISORES**



GABA = AC. GAMA AMINOBUTIRICO  
 5HT = HIDROXITRIPTAMINA

ACH = ACETILCOLINA  
 DA = DOPAMINA  
 NE = NOREPINEFRINA

# GRAFICA 1.- EFECTO DE LA INYECCION DE LPS EN LA TEMPERATURA DE LA RATA



— sol salina 1 mL/kg

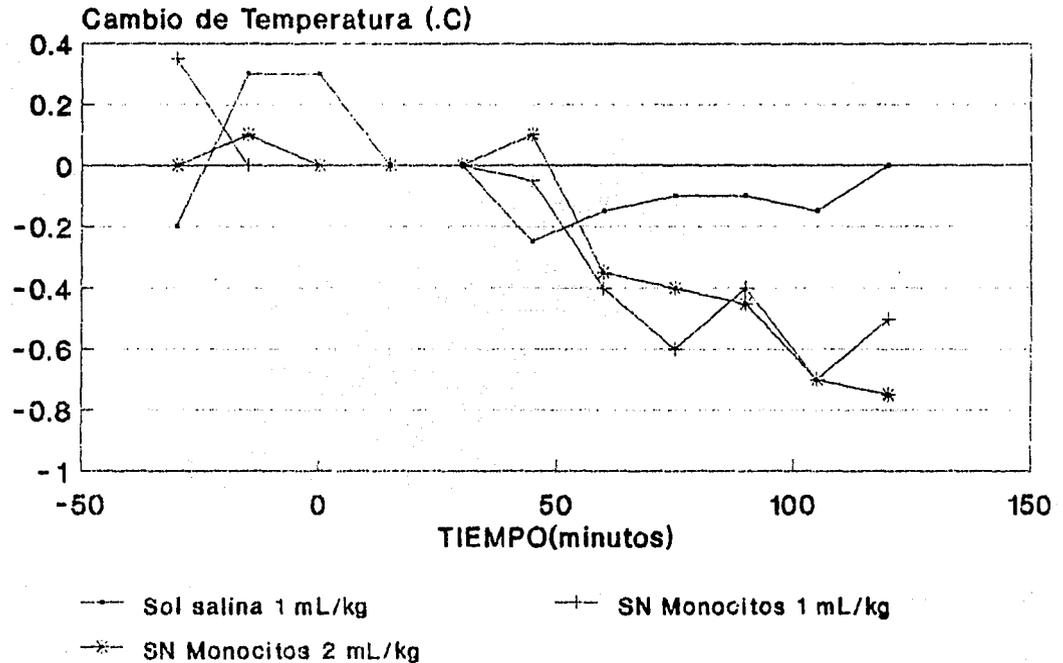
—+ LPS 0.5 ug/mL

—\* LPS 2 ug/mL

—□ LPS 25 ug/mL

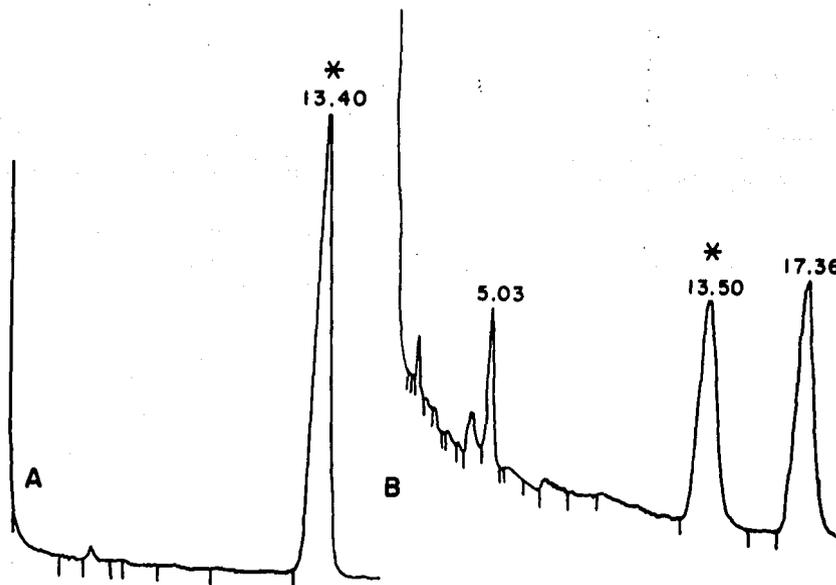
Ratas Wistar

## GRAFICA 2.- EFECTO DE LA INYECCION DE SN MONOCITOS EN LA TEMPERATURA DE LA RATA



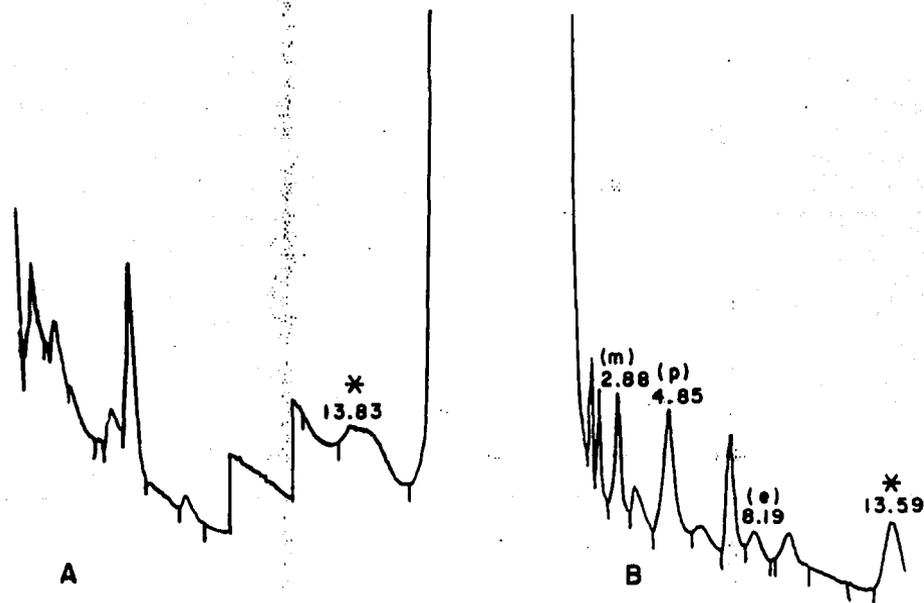
Ratas Wistar

GRAFICA 3.- CROMATOGRAFIA DE GASES ACIDO  $\beta$ -OH-MIRISTICO



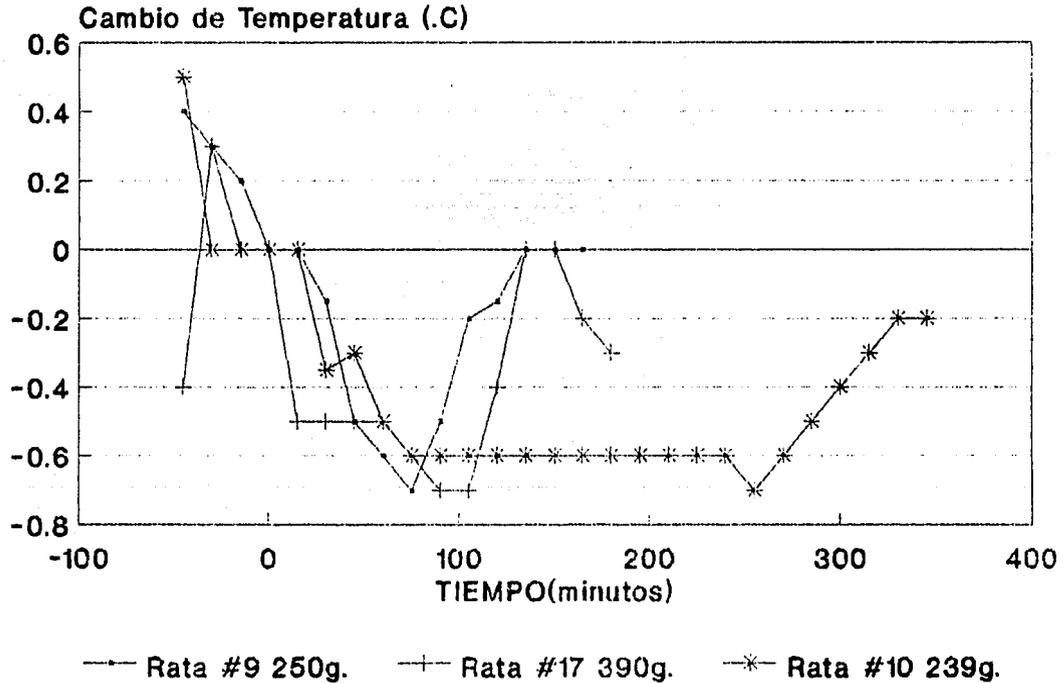
SE MUESTRAN LOS CROMATOGRAMAS DEL ACIDO  $\beta$ -OH-MIRISTICO (A) Y DEL SOBRENADANTE DE MONOCITOS CON 3-OH-M (B) Y SUS PICOS REPRESENTATIVOS (\*).

GRAFICA 4.- CROMATOGRAFIA DE GASES ACIDO  $\beta$ -OH-MIRISTICO



SE MUESTRA LOS CROMATOGRAFAS DEL SOBRENADANTE DE MONOCITOS (A) Y DE LA ENDOTOXINA (B) EN DONDE SE OBSERVAN LOS PICOS REPRESENTATIVOS DE  $\beta$ -OH-M (\*) Y DE LOS ACIDOS MIRISTICO (m) PALMITICO (p) Y ESTEARICO (e).

# GRAFICA 5.- EFECTO DE LA INYECCION DE SN MONOCITOS EN LA TEMPERATURA RATAS WISTAR



Ratas Wistar

TABLA 2.- PRECISION DEL TELETERMOMETRO

## OBSERVADOR TEMPERATURA

OBSERVADOR	TEMPERATURA
1	38.6
2	38.5
3	38.5
4	38.5
5	38.6
6	38.3

PROMEDIO	38.5
D.E.	0.1095
C.V.	0.0028

TABLA 2.- Se muestran los resultados de los observadores independientes en la temperatura de una rata, con un termometro Y.S.I mod 53 000. D.E.= desviacion estandar, C.V.= coeficiente de variabilidad

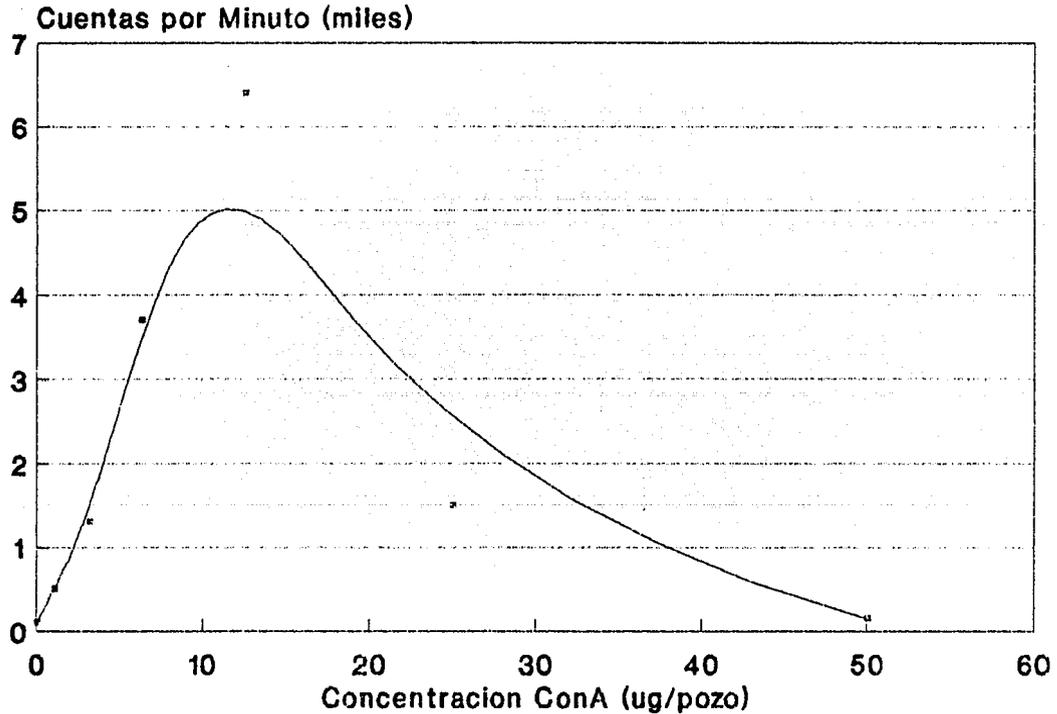
TAULA 3. - PROTOCOLO DEL ENSAYO

DE TIMOCITOS DE RATÓN

GRUPO	CPM	I. E.	GRUPO	CPM	I. E.	GRUPO	CPM	I. E.
Testigo	831	0	ConA 5µg	1030	-0.98	ConA 10µg	475	0
S. N. A. 10%	505	0	S. N. A. 20%	553	0	S. N. A. 40%	550	0
S. N. B. 10%	1221	0.45	S. N. B. 20%	1298	0.56	S. N. B. 40%	1096	0.31
S. N. C. 10%	2170	1.51	S. N. C. 20%	948	0.14	S. N. C. 40%	1221	0.46
SNA+ConA	6341	6.63	SNA+ConA	6221	6.48	SNA+ConA	6530	6.85
SNB+ConA	4700	4.65	SNB+ConA	5491	5.6	SNB+ConA	5081	6.1
SNC+ConA	3016	2.62	SNC+ConA	5438	5.54	SNC+ConA	4860	4.84

TAULA 3. - Protocolo del Ensayo de Coestimulación de Timocitos de ratón: SNA = Sobrenadante A, estimulado con 0.3 µg/mL de LPS. SNB = Sobrenadante B, estimulado con 3.3 µg/mL de LPS. SNC = Sobrenadante C, estimulado con 33.3 µg/mL de LPS. ConA = Concanavalina A. CPM = cuentas por minuto, I. E. = Índice de Estimulación.

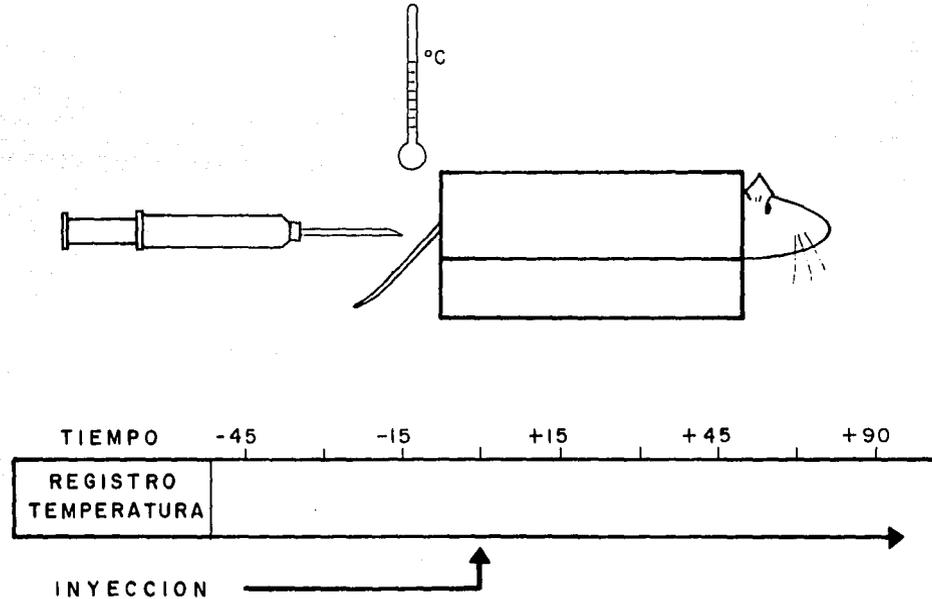
## GRAFICA 6.- ESTIMULACION DE TIMOCITOS DE RATON CON CONCANAVALINA A (Con A)



Ratones N.I.H. 3-5 semanas de edad

TABLA 1

# MANIOBRAS EXPERIMENTALES



SE MUESTRAN LAS DIFERENTES MANIOBRAS EXPERIMENTALES QUE SE LLEVARON A CABO EN LOS EXPERIMENTOS.

TAELA 3. - CAMBIO DE TEMPERATURA EN RATAS INYECTADAS  
CON UN SOBRENADANTE DE MONOCITOS DE RATON

GRUPO	#	TIEMPO(minutos)									
		-45	-30	-15	0	15	30	45	60	75	90
TESTIGO	1	0.5	0.5	0.4	0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	2	0	-0.1	0.0	0	0	0	0.3	0.3	0.2	
	3	0	0	-0.1	0	0	0.1	-0.1	0	0.2	-0.1
	4	0.2	0.2	0.2	0	0.3	0.2	0	-0.1	-0.1	0.1
	5	-0.2	0.4	0.4	0	0	-0.6	-0.3	0	-0.1	-0.2
FROM		0.1	0.2	0.18	0	0.1	-0.02	-0.04	0.05	0.1	0.04
D. E		0.236	0.228	0.203	0	0.126	0.299	0.162	0.145	0.167	0.162
"FIEBRE"	1	1.2	0.2	0.2	0	-0.4	-1	-0.9	-1	-1	-1
	2	0.1	0.1	0.1	0	-1	-1.5	-2	-2.5	-2.5	-2.5
	3	-0.5	-0.6	-0.7	0	-0.5	-1	-1.2	-1.2	-1.2	-1.2
	4	-0.2	-0.2	-0.2	0	-0.3	0	-1	-1	-1.3	-1.3
	5	1.1	0.2	0.1	0	-0.1	-0.2	-0.9	-0.9	-1	-1
FROM		0.34	-0.06	-0.1	0	-0.46	-0.74	-1.2	-1.32	-1.4	-1.4
D. E		0.688	0.307	0.328	0	0.300	0.557	0.414	0.597	0.562	0.562
S. N INAC- TIVADO	1	-0.3	0.1	0.0	0	-0.1	-0.3	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
	2	0.4	0.2	0.0	0	0	-0.1	-0.2	-0.4	-0.5	-0.4
	3	0.1	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0.1	-0.1	0.1	0.1
	4	0.1	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0	0.1	-0.1	-0.1
	5	0.3	0.2	0.1	0	0	0	-0.1	-0.1	-0.2	-0.2
FROM		0.12	0.14	0.06	0	0.02	-0.04	-0.06	-0.12	-0.16	-0.14
D. E		0.24	0.048	0.048	0	0.074	0.149	0.101	0.16	0.195	0.162
ANTI- PIRETICO	1	0.5	0.3	0.1	0	0	-0.1	-0.1	-0.2	-0.3	-0.2
	2	0.3	0.2	0.2	0	-0.2	-0.4	-0.5	-0.5	-0.4	-0.5
	3	0.3	0.2	0.2	0	-0.2	-0.2	-0.7	0	0	-0.2
	4	0.5	0.5	0.6	0	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-1
	5	0.5	0.5	0.0	0	0	0.2	0.2	0	0.2	0.2
FROM		0.42	0.34	0.22	0	-0.18	-0.2	-0.32	-0.24	-0.2	-0.34
D. E		0.097	0.135	0.203	0	0.183	0.244	0.324	0.224	0.260	0.397

TAELA 3. - Se muestran los cambios de temperatura ( $\Delta T$ )

en grados centigrados, con respecto de la basal ( $T=0$ ).

FROM = Promedio, D. E = Desviación Estándar.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTEC

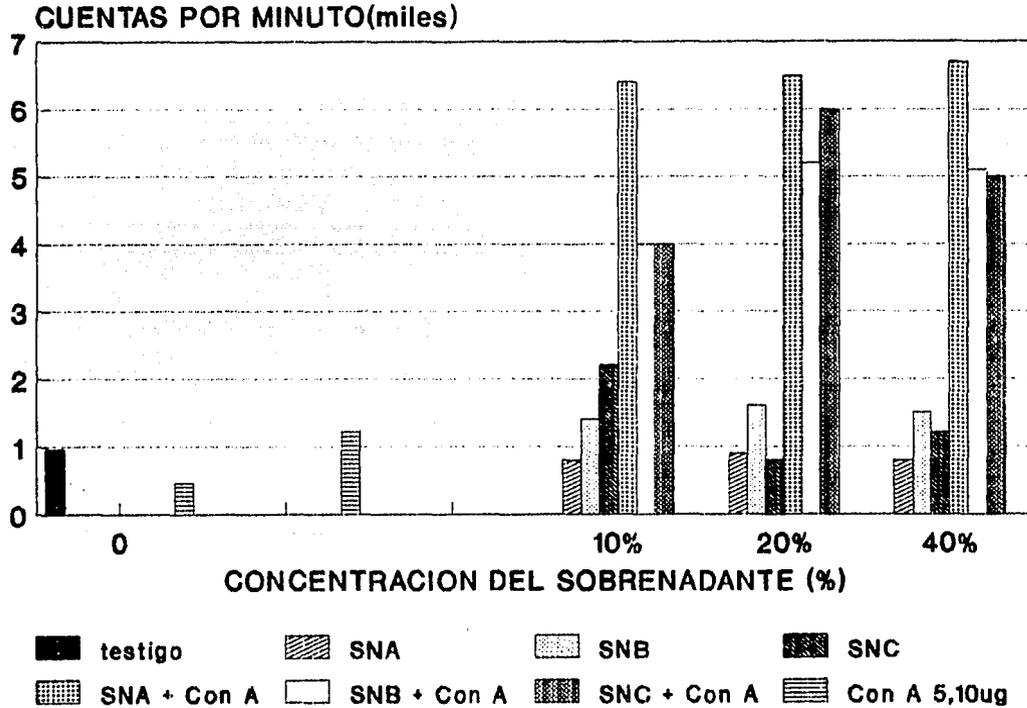
TAELA 4. -CAMBIO DE TEMPERATURA EN RATAS INYECTADAS  
CON UN SCREENADANTE DE MINUCITOS DE RAYON

GRUPO	#	TIEMPO(minutos)									
		-45	-30	-15	0	15	30	45	60	75	90
HIPER-	1	-0.8	-0.4	-0.3	0	0	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6
TERMIA	2	0.2	0.2	0.1	0	0.8	1	1.9	1.4	1.2	1.3
	3	0.2	0.1	0.1	0	0.4	0.9	1.2	1.3	1.4	1.4
	4	-0.2	0	0	0	0	0	0.5	1	1.5	1.7
	5	0.2	0	0	0	0.9	1.4	1.9	2	2	2
FROM		-0.08	-0.02	-0.02	0	0.42	0.76	1.22	1.26	1.34	1.4
D.E		0.391	0.203	0.146	0	0.381	0.475	0.604	0.453	0.454	0.469
HIPER-	1	-0.1	0	0	0	0.2	0.2	0.1	0	-0.1	-0.1
TERMIA	2	0	0	0	0	0.5	0.2	0.2	0.4	0.2	0.2
+	3	-1	-0.5	0.4	0	0.4	0.3	-0.5	-0.6	-1	-1.2
SOBRE-	4	-0.6	0.1	0.1	0	-0.2	0	-0.2	-0.2	-0.3	-0.3
NADANTE	5	-1	-0.5	0	0	-0.1	0	1	2	1.5	1.5

TAELA 4. - Se muestran los cambios de temperatura ( $\Delta T$ )  
en grados centígrados, con respecto de la basal ( $T=0$ ).

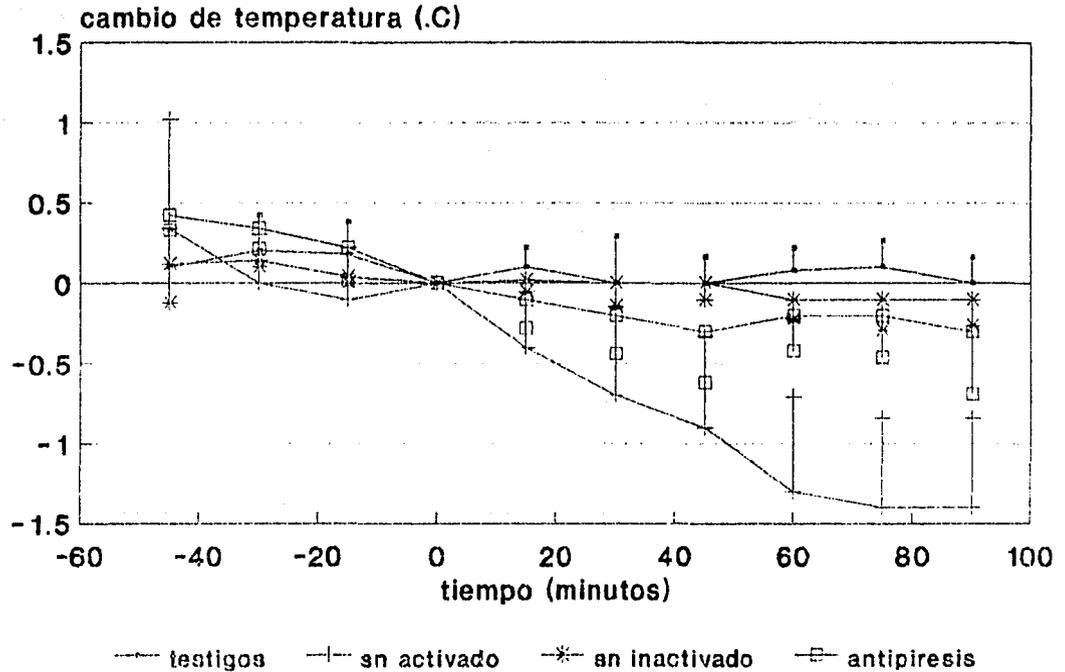
FROM : Promedio, D.E. = Desviación Estándar.

# GRAFICA 7.- ENSAYO DE TIMOCITOS DE RATON



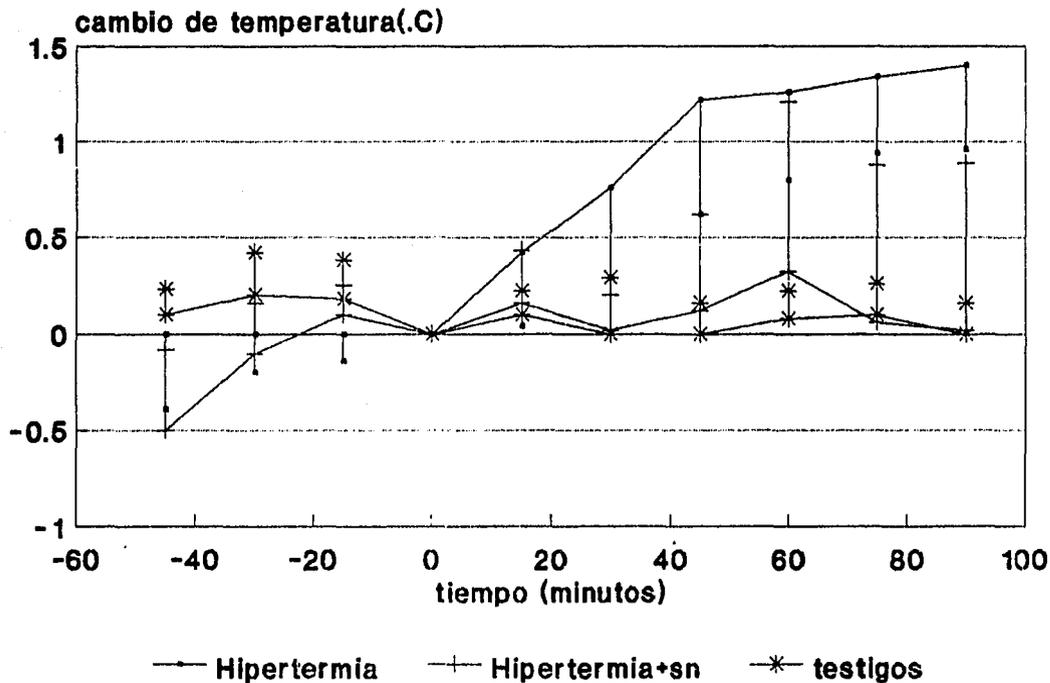
Ratones N.I.H. 3-5 semanas de edad

## GRAFICA 8.-INYECCION DE UN SOBRENADANTE DE MONOCITOS EN LA RATA WISTAR



se muestran promedios y d.s. n=5

## GRAFICA 9.- EFECTO DE LA HIPERTERMIA Y UN SN MONOCITOS RATA WISTAR



se muestran promedios y d.e.n=5

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Richards S:"TEMPERATURE REGULATION" Wykeham publications, Londres 1973 pp 7-62
- 2.- Weiner J"HUMAN ECOLOGY" en Harrison G, Weiner J, Tanner J, Bernicot N, Reynolds B"HUMAN BIOLOGY" Oxford Univ. Press 2a. ed. 1977, pp 424-54.
- 3.- Lifshitz A:"FISICA DE LA FIEBRE : DIFERENCIAS ENTRE CALOR Y TEMPERATURA" en Lifshitz A, Laredo F: "FIEBRE" Instituto Syntex, Mexico 1989.
- 4.- Yousef M"EFFECTS OF CLIMATIC STRESSES ON THERMOREGULATORY PROCESSES IN MAN" Experientia 1987;47:14-9.
- 5.- Heath J" THERMOREGULATION IN VERTEBRATES" Annu Rev Phys 1986;48:625-38.
- 6.- Spray D:"CUTANEOUS TEMPERATURE RECEPTORS" Annu Rev Phys 1986; 48:625-38.
- 7.- Henzell H, Strom L, Zotterman Y:"ELECTROPHYSIOLOGICAL MEASUREMENTS OF DEPTH OF THERMORECEPTORS" J Neurophys 1951;14:423-9.
- 8.- Henzel H, Wurster R:"STATIC PROPERTIES OF COLD RECEPTORS IN NASAL AREA OF CATS" J Neurophys 1970;33:271-5.
- 9.- Iggo A, Iggo B:"CUTANEOUS THERMORECEPTORS IN PRIMATES AND SUBPRIMATES";J Phys 1969;200:408-30.
- 10.- Henzel H, Zotterman Y:"THE RESPONSE OF MECHANORECEPTORS TO THERMAL STIMULATION" J Physiol 1951;115:16-24.
- 11.- Spray D:"METABOLIC DEPENDANCE OF FROG COLD RECEPTOR SENSITIVITY" J Neurophys 1974;72:354-9.
- 12.- Pierau F, Torrey P, Carpenter D:"MAMALIAN COLD

RECEPTOR AFFERENTS:ROLE OF AN ELECTROGENIC SODIUM PUMP IN  
SENSORY TRANSDUCTION" Brain Res 1974;73:156-60.

13.- Pierau F, Torrey P, Carpenter D:"EFFECT OF OABAIN  
AND POTASIMUM FREE SOLUTION ON MAMALIAN THERMOSENSITIVE  
AFFERENTS IN VITRO" Pflugers Arch 1975;359:349-56.

14.- Doat E, Skouby A, Zotterman Y:"THE EFFECT OF COLIN-  
ERGIC SUBSTANCES ON THE DISCHARGES FROM THERMAL RECEPTORS"  
Acta Physiol Scand 1953;28:101-14.

15.- Hensel H, Zotterman Y:"THE EFFECT OF MENTHOL ON THE  
THERMORECEPTORS" Acta Physiol Scand 1951;24:27-34.

16.- Spray D, Galansky S:"EFFECTS OF COLINERGIC AGONISTS  
AND ANTAGONISTS ON FROG COLD RECEPTOR ACTIVITIES" Com Biochem  
Physiol 1975;50:97-103.

17.- Hensel H:"FUNCTIONAL AND STRUCTURAL BASIS OF THER-  
MORECEPTION" Brain Res 1975;43:105-18.

18.- Dykes R:"CODING OF STEADY AND TRANSIENT TEMPERATURES  
BY CUTANECUS "COLD" FIBERS SERVING THE HAND OF MONKEYS" Br  
Res 1975;98:485-500.

19.- Atkins B, Bodel P:"CLINICAL FEVER: IT'S HISTORY,  
MANIFESTATIONS AND PATHOGENESIS" Fed Proc 1979; 38: 57-63.

20.- Boulant J, Dean J:" TEMPERATURE RECEPTORS IN THE  
CENTRAL NERVOUS SYSTEM" Annu Rev Phys 1986;48:639-54.

21.- Jell R, Swetman P:" PROSTAGLANDIN SENSITIVE NEURONES  
IN CAT HYPOTHALAMUS: RELATION TO THERMOREGULATION AND TO  
BIOGENIC AMINES" Can J Physiol Pharmacol 1977;55:560-7.

22.- Cranston W:" CENTRAL MECHANISMS OF FEVER" Fed Proc  
1979;38:49-51.

23.- Azzaroni A, Cevolani D, Ferrari G, Parmeggiani P:

" THERMOSENSITIVE NEURONES DURING SLEEP IN CATS" J Physiol  
1985;369:60p.

24.- Baldino F, Geller H:"ELECTROPHYSIOLOGICAL ANALYSIS  
OF NEURONAL THERMOSENSITIVITY IN RAT PREOPTIC AND HYPOTALAMIC  
TISSUE CULTURES" J Physiol 1982;327:173-84.

25.- Gordon C:"INTEGRATION AND CENTRAL PROCESSING IN  
TEMPERATURE REGULATION" Annu Rev Phys 1986;48:595-612.

26.- Blight J:"CENTRAL NEUROLOGY OF HOMEOTHERMY AND  
FEVER" en Lipton J:"FEVER" Raven Press New York 1980 pp 81.

27.- Lipton J, Clarck W:" NEUROTRANSMITERS IN TEMPERATURE  
CONTROL" Annu Rev Phys 1986;48: 613-23.

28.- Atkins E, Stitt J:"FEVER" en Blacklow R "MACBRIDE'S  
SIGNS AND SIMPTOMS" J B Lippincott Co. Philadelphia 1983 6a.  
ed pp 441-6.

29.- Cabanac M, Brinel H:"THE PATOLOGY OF HUMAN TEMPER-  
ATURE REGULATION" Experientia 1987;47:19-27.

30.- Petersdorf R:"DISTURBANCES OF HEATH REGULATION" en  
Petersdorf R, Adams V, Braunwald E, Isselbacher K, Martin J,  
Wilson J:"HARRISON'S PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE" MacGraw  
Hill International Tokyo 1983 10a. ed pp 50-7.

31.- Britt B:"ETIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY OF MALIGNANT  
HYPERTERMIA" Fed Proc 1979;38:44-8.

32.- Wacher N, Lifshitz A : "PATOGENIA DE LA FIEBRE" en  
Lifshitz A, Laredo F:"FIEBRE" Instituto Syntex, México D.F.  
1989.

33.- Stitt J:"FEVER VERSUS HYPERTERMIA" Fed Proc  
1979;38:39-43.

34.- Dinarello C, Cannon J, Wolff F:"NEW CONCEPTS IN THE

PATHOGENESIS OF FEVER" Rev Infect Dis 1988;10:168-89.

35.- Vane J:"INHIBITION OF PROSTAGLANDINE SYNTHESIS AS A MECHANISM OF ACTION FOR ASPIRIN-LIKE DRUGS" Nature New Biol 1971;231:232-5.

36.- Lifshitz A, Pérez Muñoz A, García Vigil J:"CONSIDERACIONES SOBRE LA ANTIPIRESIS" Rev Med IMSS (Mex) 1985;23:353-60.

37.- Cooper K:"THE NEUROBIOLOGY OF FEVER, THOUGHTS ON RECENT DEVELOPMENTS" Annu Rev Neurosci 1987;10:297-34.

38.- Bennet I, Beeson P:"STUDIES ON THE PATHOGENESIS OF FEVER: THE EFFECTS OF INJECTION OF EXTRACTS AND SUSPENSIONS OF UNINFECTED RABBIT TISSUES UPON BODY TEMPERATURE OF NORMAL RABBITS" J Exp Med 1953;96:477-92.

39.- Nordlund J, Root R, Wolff S:"STUDIES ON THE ORIGIN OF THE HUMAN LEUKOCYTIC PYROGEN" J Exp Med 1970;131:727-43.

40.- Dinarello C, Renfer L, Wolff S:" HUMAN LEUKOCYTIC PYROGEN : PURIFICATION AND DEVELOPMENT OF A RADIOIMMUNOASSAY" Proc Natl Acad Sci USA 1977;74:4624-7.

41.- Lomedico P, Gubler C, Hellman M, et al,:"CLONING AND EXPRESSION OF THE MURINE INTERLEUKIN-1 cDNA IN *ESCHERICHIA COLI*" Nature 1984;312:458-62.

42.- Aarden L, Brunner T, DiSabato G, et al:" REVISED NOMENCLATURE FOR ANTIGEN NON-SPECIFIC T CELL PROLIFERATION AND HELPER FACTORS"(letter) J Immunol 1979;123:2928-9.

43.- Dinarello C:"INTERLEUKIN-1" Rev Infect Dis 1984;6:51-95.

44.- Dinarello C, Cannon J, Mier J et al:"MULTIPLE BIOLOGICAL ACTIVITIES OF HUMAN RECOMBINANT INTERLEUKIN-1" J

Clin. Invest 1986;77:1734-9.

45.- Dinarello C, Cannon J, Wolff S, et al:"TUMOR NECROSIS FACTOR (CACHECTIN) IS AN ENDOGENOUS PYROGEN AND INDUCES PRODUCTION OF INTERLEUKIN-1" J Exp Med 1986;163:433-50.

46.- Dinarello C, Bernheim H, Duff G:"MECHANISMS OF FEVER INDUCED BY RECOMBINANT HUMAN INTERFERON" J Clin Invest 1984;74:906-13.

47.- Perdiz P:"INTERLEUCINA-1" en Lifshitz A, Laredo F:"FIEBRE" Instituto Syntex, México D.F. 1989pp 71-82.

48.- Sklatvala J, Sarsfield S, Townsend Y:" FIG INTERLEUKIN-1 PURIFICATION OF TWO IMMUNOLOGICALY DIFFERENT LEUKOCYTE PROTEINS THAT CAUSE CARTILAGE RESORPTION, LIMPHOCTE ACTIVATION AND FEVER" J Exp Med 1985;162:1208-22.

49.- Auron P, Webb A, Rossenwasser L, et al:"STUDIES ON THE MOLECULAR NATURE OF HUMAN INTERLEUKIN-1" J Immunol 1987;138:3403-7.

50.- Clark B, Collins K, Webb A, Auron P:" GENOMIC SEQUENCE FOR PROINTERLEUKIN-1 $\beta$  POSIBLE EVOLUTION FROM A REVERSE TRANSCRIBED PROINTERLEUKIN-1 $\alpha$  GENE" Nucl Acids Res 1986;14:7897-914.

51.- Smith K, Lachman L, Oppenheim J, Favata M:"THE FUNCTIONAL RELATIONSHIP OF THE INTERLEUKINS" J Exp Med 1980;151:1551-6.

52.- Geary I, Lepe-Zúñiga J:"INTERLEUKIN-1: UNIQUENESSES OF ITS PRODUCTION AND SPECTRUM OF ACTIVITIES" Linphokines 1984;9:109.

53.- Bacouche O, Brown D, Lachman L:" SUBCELLULAR LOCALIZATION OF HUMAN MONOCYTE INTERLEUKIN-1: EVIDENCE FOR AN

INACTIVE PRECURSOR MOLECULE AND A POSSIBLE MECHANISM FOR IL-1  
RELEASE" J Immunol 1987;138:4249-53.

54.- Fenton M, Vermeulen M, Clark B, Webb A, Auron  
P:"HUMAN PRO-IL-1 $\beta$  GENE EXPRESION IN MONOCYTIC CELLS IS REG-  
ULATED BY TWO DISTANT PATHWAYS" J Immunol 1988;140:2267-73.

55.- Kobayashi Y, Appella E, Yamada M, Copeland T,  
Oppenheim J, Matsushima K:"PHOSPHORILATION OF INTRACELLULAR  
PRECURSORS OF HUMAN IL-1" J Immunol 1988;140:2279-87.

56.- Auron P, Webb A:"MOLECULAR BIOLOGY OF INTERLEUKIN-1"  
Lymphokines 1987;14:1214-20.

57.- Furutani Y, Notake J, Fukui T, et al:"COMPLETE  
NUCLEOTID SEQUENCE FOR THE GENE FOR INTERLEUKIN-1  $\alpha$ " Nucl  
Acids Res 1986;14:3667-79.

58.- Fenton M, Clark B, Collins K, Webb A, Rich A, Auron  
P:"TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF THE HUMAN PROINTERLEUKIN-1  $\beta$   
GENE" J Immunol 1987;138:3972-9.

59.- Libby P, Ordovas J, Auger K, Robbins A, Birinyi L,  
Dinarello C:"ENDOTOXIN AND TUMOR NECROSIS FACTOR INDUCE  
INTERLEUKIN-1 GENE EXPRESSION IN ADULT HUMAN VASCULAR  
ENDOTHELIAL CELLS" Am J Pathol 1986;124:176-85.

60.- Warner S, Savage N, Mitchel D:" CHARACTERISTICS OF  
LIPOPOLISACHARIDE INTERACTION WITH PERIPHERAL BLOOD MONO-  
CYTES" Biochem J 1985;232:379-83.

61.- Atkins E, Francis L:"SUPRESSION OF AG INDUCED  
RELEASE OF EP (IL-1) BY SPLEEN CELLS OF SPECIFICALLY DESEN-  
SITIZED DONORS EVIDENCE FOR THE ROLE FOR A SUPRESOR CELL" J  
Immunol 1985;174:2435-43.

62.- O'Brien A, Metcalf E, Rosenstreich D:"DEFECT IN

MACROPHAGE EFFECTOR FUNCTION CONFERS *SALMONELLA TYPHIMURUM* SUCEPTIBILITY ON C3H/HEJ MICE" Cell Immunol 1982;67:325-33.

63.- Cybulsky M, McComb D, Movat H:"NEUTROPHYL LEUKOCYTE EMIGRATION INDUCED BY ENDOTOXIN MEDIATOR ROLES OF INTERLEUKIN-1 AND TUMOR NECROSIS FACTOR  $\alpha$ " J Immunol 1988;140:3144-49.

64.- Kurt-Jones E, Kiely J, Unanue E:" CONDITIONS REQUIRED FOR EXPRESSION OF MEMBRANE IL-1 ON B CELLS" J Immunol 1985;135:1548-50.

65.-Dower S, Urdal D:" THE INTERLEUKIN-1 RECEPTOR" Immunol today 1987;8:46-51.

66.- Lowenthal J, McDonald H:"BINDING AND INTERNALIZATION OF INTERLEUKIN-1 BY T CELLS DIRECT EVIDENCE FOR HIGH AND LOW AFFINITY CLASSES OF INTERLEUKIN-1 RECEPTOR" J Exp Med 1985;164:1060-74.

67.- Stanton T, Maynard M, Bomszyk E:"EFFECT OF IL-1 ON INTRACELLULAR CONCENTRATION OF SODIUM,CALCIUM AND POTASSIUM IN 70 Z/3 CELLS" J Biol Chem 1986;261:5699-701.

68.- Warner S, Auger K, Libby P:"INTERLEUKIN-1 INDUCES INTERLEUKIN-1: II. INTERLEUKIN-1 INDUCES PRODUCTION OF INTERLEUKIN-1 BY ADULT HUMAN VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS IN VITRO" J Immunol 1987;139:1911-7.

69.- King K, Wood B:"STUDIES ON THE PATHOGENESIS OF FEVER: IV. THE SITE OF ACTION OF LEUCOCYTIC AND CIRCULATING ENDOGENOUS PYROGEN" J Exp Med 1956;107:291-303.

70.- Breder C, Dinarello C, Sapper S:"INTERLEUKIN-1 IMMUNOREACTIVE INERVATION OF THE HUMAN HYPOTHALAMUS" Science

1988;240:321-4.

71.-Fontana A, Weber E, Dayer J:"SYNTHESIS OF INTERLEUKIN-1/ENDOGENOUS PYROGEN IN THE BRAIN OF ENDOTOXIN-TREATED MICE: A STEP IN FEVER INDUCTION ?" J Immunol 1984;133:1696-8.

72.- Stitt J:"EVIDENCE FOR THE INVOLVEMENT OF THE ORGANUM VASCULOSUM LAMINAE TERMINALIS IN THE FEBRILE RESPONSE OF RABBITS AND RATS" J Physiol 1985;368:501-11.

73.- Kruk B, Sadowsky D:"ANTIDIURETIC ACTION OF INTRAVENOUS AND INTRACEREBRAL PYROGENS IN CONSCIOUS RABBITS" J Physiol 1978;282:429-35.

74.- Lifshitz A:"¿FIEBRE O HIPERTERMIA?" Rev Med IMSS(Mex) 1987;25:405-8.

75.- Kasting N, Veale W, Cooper E:"MODELS OF ENDOGENOUS ANTYPYRESIS" en Lipton J"FEVER" Raven Press New York 1980. ppi89.

76.- Cooper K, Kasting N, Lederis K, Veale W:"EVIDENCE SUPPORTING A ROLE FOR ENDOGENOUS VASOPRESIN IN NATURAL SUPPRESSION OF FEVER IN THE SHEEP" J Physiol 1979;295:33-45.

77.- Kasting N, Mazurek M, Martin J:"ENDOTOXIN INCREASES VASOPRESIN RELEASE INDEPENDENTLY OF KNOWN PHYSIOLOGICAL STIMULI" Am J Physiol 1985;248:E420-4.

78.- Naylor A, Gubitz G, Dinarello C, Veale W:"CENTRAL EFFECTS OF VASOPRESIN AND 1-DESAmino-2-D-ARGININE VASOPRESIN (DDAVP) ON INTERLEUKIN-1 IN THE RAT"Brain Res Bull 1987;401:173-7.

79.- Kasting N, Cooper E, Veale W:"ANTYPYRESIS FOLLOWING PERFUSION OF BRAIN SITES WITH VASOPRESIN" Experientia 1979;35:208-9.

80.- Lee T, Mora F, Myers R:"EFFECT OF INTRACEREBROVENTRICAL VASOPRESINE ON BODY TEMPERATURE AND ENDOTOXIN FEVER OF MACAQUE MONKEY" Am J Physiol 1985;248:R674-8.

81.- Cannon J, Tatro J, Reychlin S, Dinarello C:" $\alpha$ -MELANOCYTE STIMULATING HORMONE INHIBITS IMMUNOESTIMULATORY AND INFLAMMATORY ACTIONS OF INTERLEUKIN-1" J Immunol 1986;137:2232-6.

82.- Holdeman M, Khorram O, Sampson W, Lipton J:"FEVER SPECIFIC CHANGES IN CENTRAL MSH AND CRF CONCENTRATIONS" Am J Physiol 1985;248:R125-9.

83.- Besedowsky H, Del Rey A, Sorkin E, Dinarello C:"IMMUNOREGULATORY FEEDBACK BETWEEN INTERLEUKIN-1 AND GLUCOCORTICOID HORMONES" Science 1986;233:652-4.

84.- Woloski E, Smith E, Meyer W, Fuller G, Blalock J:"CORTICOTROPIN RELEASING ACTIVITY OF MONOKINES" Science 1985;230:1035-7.

85.- Del Rey A, Besedowsky H, Sorkin E, Dinarello C:"INTERLEUKIN-1 AND GLUCOCORTICOID HORMONES INTEGRATE AN IMMUNOREGULATORY FEEDBACK CIRCUIT" Ann N Y Acad Sci 1987;85-90.

86.- Sapolsky R, Rivier C, Yamamoto G, Plotsky P, Vale W:"INTERLEUKIN-1 STIMULATES THE SECRETION OF HYPOTHALAMIC CORTICOTROPIN RELEASING FACTOR" Science 1987;238:522-4.

87.- Berkenbosch F, Van Oers J, Del Rey A, Tilders F, Besedowsky H:" CORTICOTROPIN-RELEASING-FACTOR PRODUCING NEURONS IN THE RAT ACTIVATED BY INTERLEUKIN-1" Science 1987;238:524-6.

88.- Lifshitz A, Boshain N, Laredo F, et al:"¿TIENE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR UN RITMO CIRCADIANO?"

Arch Invest Med (Mex) 1987;18:309-13.

89.- Bernton E, Beach J, Hoiaday J, Smallridge R, Fein H:"RELEASE OF MULTIPLE HORMONES BY DIRECT ACTION OF INTERLEUKIN-1 ON PITUITARY CELLS" Science 1987;238:519-21.

90.- Kasting N:"CHARACTERISTICS OF BODY TEMPERATURE, VASOPRESIN, AND OXITOCIN RESPONSES TO ENDOTOXIN IN THE RAT" Can J Physiol Pharmacol 1986;64:1575-8.

91.- Beasley D, Dinarello C, Cannon J:"INTERLEUKIN-1 INDUCES NATRIURESIS IN CONSCIOUS RATS: ROLE OF RENAL PROSTAGLANDINS" Kidney Int 1988;33:1059-65.

92.- Murakami N, Ono T:"SEX RELATED DIFFERENCES IN FEVER DEVELOPMENT IN RATS" Am J Physiol 1987;252:R264-9.

93.- Morimoto A, Ono T, Watanabe B, et al "FEVER IN RATS DURING NORMAL AND DEHYDRATED CONDITIONS" J Appl Physiol 1986;61:2060-6.

94.- Tocco-Bradley G, Moldawer L, Jones C, Gerson B, Blackburn G, Elstrian B:"THE BIOLOGICAL ACTIVITY IN VIVO OF RECOMBINANT MURINE INTERLEUKIN-1 IN THE RAT" Proc Soc Exp Biol Med 1986;182:263-71.

95.- Mizel S, Mizel D:"PURIFICATION TO APARENT HOMOGENEITY OF MURINE INTERLEUKIN-1" J Immunol 1981;126:834.

96.- Schlemmer R, Rutledge B "CULTURED HUMAN VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS ACQUIRE ADHESIVEKNES FOR NEUTROPHILS AFTER STIMULATION WITH INTERLEUKIN-1, ENDOTOXIN AND TUMOR PROMOTING PHORBOL DIESTERS" J Immunol 1986;136:642-54.

97.- Duff G, Atkins E:"THE INHIBITORY EFFECT OF POLIMIXIN-B ON ENDOTOXIN-INDUCED ENDOGENOUS PYROGEN PRODUCTION" J Immunol Methods 1982;52:333-40.

98.- Glearing A, Johnstone A, Thorpe R:"PRODUCTION AND ASSAY OF THE INTERLEUKINS" J Immunol Methods 1985;83:1-22.

99.- Simon P, Laydon J, Lee J:"A MODIFIED ASSAY FOR INTERLEUKIN-1 (IL-1)" J Immunol Methods 1985;84:85-94.

100.- Otterness I, Bliven M, Eskra J, Reinke M, Hanson D:"THE PHARMACOLOGIC REGULATION OF INTERLEUKIN-1 PRODUCTION: THE ROLE OF PROSTAGLANDINS" Cell Immunol 1988;114:385-97.

101.- Feldberg W, Saxena P:"PROSTAGLANDINS, ENDOTOXIN AND LIPID A ON BODY TEMPERATURE IN RATS" J Physiol (Lond) 1975;249:601-15.

102.- Ford D, Klugman K:"BODY MASS AND SEX AS DETERMINING FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF FEVER IN RATS" J Physiol(Lond) 1980;304:43-50.

103.- Merimoto A, Watanabe T, Ono T, Sakata Y, Murakami M:"RAT ENDOGENOUS PYROGEN AND FEVER" Am J Physiol 1986;250:R776-82.

104.- Kluger M, Ringler D, Anver M:"FEVER AND SURVIVAL" Science 1980;166:166-8.

105.- Roberts N:"TEMPERATURE AND HOST DEFENSE" Microbiol Rev 1979;43:241-59.

106.- Hanson D, Murphy D, Sillicano R, Shin H:"THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE ACTIVATION OF THYMOCYTES BY INTERLEUKINS I AND II" J Immunol 1983;130:216-21.

107.- Downie N, Heath R:" METODOS ESTADISTICOS APLICADOS" Ed Harla México 1983. 5a. ed,pp215-28.

108.- Rodbard D:"REGIONAL BODY TEMPERATURE IN THE PATHOGENESIS OF DISEASE" N. Eng J Med 1981;305:808-13.

109.- Kluger M:"IS FEVER BENEFICIAL?" Yale J Biol Med

1986;59:169-74.

110.- Vaughn N, Veale W, Cooper K:"THE EFFECT OF COOLING AND SURVIVAL OF BACTERIALLY INFECTED RABBITS" Fed Proc 1980;39:1077(abstract).

111.- Mallick A, Ishizaka A, Stephens K, Hatherill J, Tazelaar H, Raffin T:"MULTIPLE ORGAN DAMAGE CAUSED BY TUMOR NECROSIS FACTOR PREVENTED BY PRIOR NEUTROPHYL DEPLETION" Chest 1989;95:1114-20.

112.- Kreger E, Craven D, McCabe W:"GRAM NEGATIVE BACTEREMIA IV: REEVALUATION OF CLINICAL FEATURES AND TREATMENT IN 612 PATIENTS" Am J Med 1980;58:344.

113.- Bone R, Fisher C, Clemmer T, et al:"SEPSIS SYNDROME A VALID CLINICAL ENTITY" Crit Care Med 1989;17:389-93.

114.- Kampschmidt R, Upchurch H:" SOME EFFECTS OF ENDO-TOXIN AND LEUKOCYTIC PYROGEN AND THE BODY TEMPERATURE OF RATS" Proc Soc Exp Biol Med 1969;134:664-7.

115.- Kampschmidt R, Pulliam L, Upchurch H:"SOURCES OF LEUKOCYTIC ENDOGENOUS MEDIATOR IN THE RAT" Proc Soc Exp Biol Med 1973;144:882-6.

116.- Borsook D, Laburn H, Mitchel D:" THE FEBRILE RESPONSES IN RABBITS AND RATS TO LEUKOCYTE PYROGENS OF DIFFERENT SPECIES" J Physiol 1978;279:113-20.