

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

EL PAPEL DE LA CELULA  
EN  
LA HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

TESIS RECEPCIONAL

KAETHE WILLMS MANNING

MEXICO D.F.

1965



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 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.

La elaboración de esta tesis se llevó a cabo en la Unidad de Patología de la Facultad de Medicina, U.N.A.M. en el Hospital General, bajo la dirección del señor doctor Ruy Pérez Tanayo.

A MI ESPOSO

A MIS PADRES

AL DR. RUY PEREZ TAMAYO

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que participaron en la elaboración de esta tesis. A los doctores Ruy Pérez Tanay, Roberto Kretschmer y Carlos Larralde quienes colaboraron en forma decisiva en todos los aspectos de su desarrollo y cuya amistad contribuyó en todo momento a un trabajo agradable.

También agradezco al Sr. José Bautista la colaboración del trabajo fotográfico que lleva esta tesis.

CONTENIDO

	pag.
I PROLOGO	1
II INTRODUCCION	2
III MATERIAL Y METODOS	12
IV RESULTADOS	17
V DISCUSION	19
VI RESUMEN	41
VII ILUSTRACIONES	42
VIII BIBLIOGRAFIA	47

## PROLOGO

La presente tesis forma parte de un amplio programa experimental que se ha llevado a cabo en la Unidad de Patología del Hospital General durante los últimos años.

Este programa incluye diversos aspectos -- en el campo de la Inmunopatología, como son el transplante de tejidos,<sup>1,2,3</sup> lesiones de homoinmunidad,<sup>4</sup> enfermedad homóloga<sup>5</sup> y una serie de estudios sobre la hipersensibilidad inmediata<sup>6</sup> y retardada.<sup>7,8,9</sup>

En años recientes el fenómeno de la Hipersensibilidad retardada ha sido motivo de una gran cantidad de publicaciones y extensas revisiones. Sería imposible abarcar todas las facetas de este fenómeno en la presente tesis y por lo tanto se hará énfasis en los fenómenos celulares, utilizando la hipersensibilidad a la tuberculina como modelo experimental. Sin embargo, no dejarán de citarse otras formas de hipersensibilidad cuando el ejemplo o la discusión lo amerite.

## INTRODUCCION

Pocas ramas de la Medicina adolecen de un estado tan caótico en su nomenclatura como la Inmunología. Afortunadamente los inmunólogos se entienden a pesar de lo inadecuado de su terminología, gracias a que los fenómenos que denominan son bien característicos. Este caos en la terminología inmunológica data desde la época de Clemens von Pirquet<sup>10</sup>, quien designó con el nombre de Alergia aquellos estados en los que el organismo reacciona de manera diferente en contra de sustancias extrañas (antígenos). Aunque la intención de von Pirquet fué usar un concepto extremadamente amplio, el resultado de su uso, sin embargo, ha sido completamente diferente y equívoco, ya que hoy se entiende por Alergia aquellas reacciones en las que el antígeno ( en este caso particular denominado alergeno) reacciona con anticuerpos "fijos" a la piel, llamados reagentes, produciendo daño tisular.<sup>11</sup> Desgraciadamente von Pirquet no definió lo que debía entenderse por Respuesta Inmunológica en general, permitiendo a la posteridad hacer de la Aler-



gia un concepto sui generis.

Atendiendo al concepto original de von Pirquet, caben dentro de la Alergia todas las manifestaciones patológicas de la respuesta inmunológica, desde las inmunodeficiencias ( agamaglobulinemias, hipogamaglobulinemias y disgamaglobulinemias) y las enfermedades autoinmunes, hasta los diversos estados de hipersensibilidad, ya que el término diferente sólo implica desviación de lo normal.

Aunque el objeto de esta tesis es contribuir al estudio del papel de la célula o células que intervienen en la hipersensibilidad retardada, es conveniente hacer una breve descripción de los tipos de hipersensibilidad que se conocen actualmente.

Una definición operante de hipersensibilidad señala que se trata de aquellos casos en los que la unión antígeno-anticuerpo redundando en daño o lesión, ya sea a nivel celular, tisular o individual. El término hipersensibilidad conduce a confusión, ya que no implica mayor intensidad de la respuesta, sino un resultado cualitativa--mente diferente de la unión antígeno-anticuerpo.

En la inmunidad la combinación antígeno-anticuerpo conduce a una eliminación más rápida y efectiva del antígeno; en la hipersensibilidad la unión antígeno-anticuerpo conduce a una lesión observable. Las diferencias son de orden cualitativo y no cuantitativo como el término parece sugerir. De hecho, la respuesta inmunológica (síntesis de anticuerpos por la introducción de un antígeno) puede ser indistinguible en ambos casos. Es el destino de los anticuerpos en su unión con el antígeno lo que determina la diferencia entre inmunidad e hipersensibilidad.

Desde hace muchos años se han reconocido dos tipos de hipersensibilidad, la inmediata y la retardada. Inicialmente se les distinguió por sus peculiaridades cronológicas, lo cual explica sus nombres. Posteriormente se han encontrado características cualitativas consistentemente diferentes que justifican la división.

#### Hipersensibilidad Inmediata

Los trabajos de Portier y Richet en 1902<sup>12</sup> señalaron que en algunas ocasiones un animal al que se había puesto en contacto con un antígeno (exposición primaria), al ser reexposto a él (exposición desencadenante) reaccionaba en cuestión de--

segundos a minutos, habitualmente en forma generalizada (pero no siempre) y muchas veces dramática al grado de morir.

A este tipo de reacción se le llamo anafilaxia. Además de la anafilaxia, la hipersensibilidad inmediata incluye otras formas de reacción como la enfermedad del suero y el fenomeno de Arthus. Se ha visto que los diversos estados de hipersensibilidad inmediata se pueden transferir a animales normales si se les inyecta el suero de animales -- sensibilizados y posteriormente se les expone a -- una dosis desencadenante del antígeno específico. -- Ahora se sabe por numerosos estudios al respecto,<sup>13</sup><sup>14</sup> que el suero de estos animales contiene gran -- cantidad de anticuerpos circulantes en forma de gamma-globulinas<sup>15,16</sup> que son las responsables de unirse al antígeno, liberando una gran cantidad de histamina y otras sustancias (heparina, bradiquina, 5-hidroxitriptamina),<sup>17,18,19</sup> que en última instancia son las responsables de la sintomatología que presentan estos animales. (ver tabla I)

#### Hipersensibilidad retardada

En otros estudios se observó, que variando la vía de introducción del antígeno (generalmente en forma subcutánea) y exponiendo al animal a una dosis desencadenante, se presentaba la respues-

ta horas o días después, en forma localizada y que rara vez determinaba la muerte del animal. A esta forma de hipersensibilidad se le ha denominado retardada. Una de sus características esenciales ha sido la imposibilidad de transferirla pasivamente mediante el suero de animales sensibilizados <sup>20</sup> y de hecho, este dato experimental sirvió como punto de partida a todos los estudios y clasificaciones ulteriores. Se ha demostrado que los diversos tipos de hipersensibilidad retardada no tienen anticuerpos circulantes en forma de gama-globulinas capaces de determinar una respuesta de tipo retardada.<sup>21</sup>

Desde los estudios de Landsteiner y Chase en 1942 <sup>22</sup>, quienes demostraron la posibilidad de transferir la hipersensibilidad retardada mediante células de tejido linfoide, linfocitos y macrófagos, se reconoce que la forma retardada (también denominada hipersensibilidad celular, bacteriana o de tipo tuberculínico), es mediada por anticuerpos celulares.<sup>21</sup> Este tipo de anticuerpo, íntimamente ligado a la célula, es el responsable de las lesiones y aunque el mecanismo de acción de los anticuerpos no está completamente dilucidado, se reconocen como indispensables para desencadenar la respuesta retardada.

El concepto actual de la hipersensibilidad retardada permite incluir otros fenómenos de índole inmunológica en las que se ha demostrado una participación importante de anticuerpos celulares, como son algunas enfermedades autoinmunes <sup>23,24,25,26</sup> y el rechazo de los homotransplantes, <sup>27</sup> aunque en éste último también tienen un papel -- los anticuerpos humorales. <sup>1,2,3,28</sup>

En la tabla I se señalan algunas de las características más importantes de la hipersensibilidad retardada, así como los distintos tipos que se conocen de ella. <sup>29</sup>

#### Transferencia pasiva de la hipersensibilidad retardada

Los primeros estudios encaminados a dilucidar la naturaleza de la hipersensibilidad celular demostraron que no era posible transferirla pasivamente mediante el suero de animales sensibilizados, aún usando grandes cantidades. Lentamente se fué estructurando un grupo importante de formas de hipersensibilidad retardada, basado en los resultados de este experimento de carácter negativo, con el cual se hacía patente una diferencia básica entre ambos tipos de hipersensibilidad, hasta que en 1942 Landsteiner y Chase <sup>22</sup> lograron transferirla a animales normales (receptores) me-

dian<sup>te</sup> células mononucleadas vivas tomadas de animales sensibilizados (donadores) con compuestos--- químicos simples (haptenos). Tres años después,--- Chase<sup>30</sup> logró transferir de la misma manera estados de hipersensibilidad a la tuberculina, demostrando así que las células transferidas le habían conferido al receptor la capacidad de reaccionar--- ante un antígeno hasta entonces desconocido.

Con estos trabajos se marca el inicio de la era moderna en el estudio de la hipersensibilidad retardada, sugiriendo que el exudado inflamato de los receptores se debía a la interacción específica de las células transferidas con el antígeno. Desde entonces también, este modelo experimental--- cuyo objeto es aislar el fenómeno de un animal sensibilizado (donador) y colocarlo en un animal normal, virgen al antígeno específico (receptor), se ha repetido infinidad de veces confirmando los hallazgos de Landsteiner y Chase, y haciendo su uso extensivo a otras formas de hipersensibilidad retardada, particularmente en el campo de la inmunidad de trasplante.<sup>31,32</sup> Los experimentos de transferencia pasiva también han permitido concluir que son las células de una población linfóide las que poseen la información necesaria para que un individuo reaccione en contra de un antígeno.<sup>33,34</sup> En --

forma tentativa se puede suponer que los elementos celulares del exudado inflamatorio de un animal -- sensibilizado, ya sea por inmunización primaria o por transferencia pasiva de células linfoides, son las células que llamamos sensibilizadas (anticuerpos celulares).

La transferencia pasiva de reacciones mediadas por anticuerpos celulares siempre se lleva a cabo en forma básica semejante, tomando células linfoides de un animal sensibilizado e inyectándolas por diversas vías a un individuo de la misma especie que no haya tenido contacto con el antígeno específico y a su vez, haciéndole una prueba cutánea con dicho antígeno al receptor, algunas horas o días después. Se emplean distintos antígenos para crear estados de hipersensibilidad retardada, pero actualmente los más utilizados son los bacterianos, en particular el BCG y diversos compuestos químicos como la Oxazolona, dinitrofluorobenceno, ácido pícrico para crear dermatitis por contacto; también se usa la hipersensibilidad celular a algunas proteínas conjugadas.<sup>35</sup>

Las células linfoides transferidas se obtienen de diversos sitios del organismo, de la sangre<sup>36</sup>, conducto torácico<sup>37</sup>, exudado peritoneal<sup>38</sup>, bazo y ganglios linfáticos<sup>39</sup>. La población celu--

lar varía con el método utilizado, pero en general se obtienen macrófagos y linfocitos en distintas proporciones. La extirpación de ganglios linfáticos probablemente sea la forma más sencilla de obtener células linfoides. Se han utilizado tres vías de transferencia: la intraperitoneal, la intravenosa y la subcutánea. En la tres formas se inyectan células sensibilizadas al receptor y al mismo tiempo o algunas horas después se le hace una prueba cutánea con el antígeno.

El trabajo experimental de esta tesis ha tenido el propósito de buscar un método práctico y con un buen porcentaje de respuestas positivas a la transferencia pasiva. Las transferencias de células por vía intraperitoneal e intravenosa son las más utilizadas, pero ambas tienen desventajas técnicas importantes. Se requiere un gran número de células para obtener resultados satisfactorios, de manera que un donador solamente sirve para dos o tres transferencias. Además, el alto número de células en un volumen relativamente pequeño, frecuentemente causa la muerte de los receptores por embolia pulmonar múltiple. El porcentaje de transferencias positivas (receptores que responden con una reacción inflamatoria específica al ser probados con el antígeno) con ambos métodos oscila en-



tre 60-70% (máximo), y es necesario hacer un gran número de experimentos para obtener cifras estadísticamente significativas. Algunos autores<sup>40,41</sup> han utilizado la transferencia subcutánea de las células del donador, administrando el antígeno -- por distintas vías, ya sea intravenosa o en el sitio en el que se depositan las células sensibilizadas. Desde el punto de vista técnico, este método es mucho más rápido y sencillo que el primero, con la ventaja adicional, de requerir pocas células en cada transferencia, de manera que un donador puede servir para transferir células a 10 ó 12 receptores, permitiendo aumentar considerablemente el número de animales.

En la parte experimental de esta tesis se usó la sensibilización con bacilo tuberculoso, la transferencia pasiva local (subcutánea) y la tuberculina administrada por vía intravenosa y local. La utilización de este modelo experimental ha permitido comparar los resultados con numerosos estudios en los cuales el bacilo tuberculoso se utiliza como antígeno. A continuación se hace una descripción del diseño experimental, técnica y material utilizado.

## MATERIAL Y METODOS

Se desarrollaron dos variantes de la técnica de transferencia local de células sensibilizadas, todos los pasos excepto la vía de administración del antígeno se realizaron de la misma manera en ambas formas experimentales.

En todos los experimentos se utilizaron cobayos blancos de 300-500gr. de peso. Los animales se dividieron en tres grupos: donadores sensibilizados (A), donadores normales (B), y receptores normales (C). Los tres grupos se mantuvieron en jaulas separadas, alimentados con alfalfa.

### Donadores sensibilizados (grupo A):

Los animales recibieron una dosis única de 1.2 - 1.8mg de bacilo tuberculoso humano liofilizado, suspendido en adyuvante de Freund (85% Nujol + 15% Lanolina). La suspensión se preparó utilizando partes iguales de suspensión bacilar (en solución salina 0.85%), adyuvante de Freund y solución salina 0.85% y agitando hasta obtener una mezcla homogénea. El antígeno se inyectó de acuerdo con la técnica de Najarian y Feldman<sup>42</sup>, en 8 fracciones por animal, una fracción (aproximadamente 0.2cc) en cada una de las patas y las restantes en la nuca. Tres semanas después se hizo una prueba tuberculínica (0.1cc Purified Tubercu

lin, Statens Serum Institut, Copenhagen) en la oreja derecha; como control se inyectó 0.1cc de solución -- salina 0.85% en la oreja izquierda. Las lecturas se hicieron a las 24 horas, tomando como positivas aquellas reacciones que presentaran induración y enrojecimiento mayores de 0.5cm de diámetro. (ver fig. III)-- El 100% de las reacciones tuberculínicas fueron positivas a las 24 horas, todos los controles fueron negativos. En algunos donadores se hizo una prueba tuberculínica (0.1cc) en la piel, observándose reacciones mayores de 1.2cm a las 24 horas. La mayoría de estos donadores se utilizaron 4-5 semanas después de la sensibilización.

Donadores normales (grupo B):

Se utilizaron cobayos normales sin tratamiento, negativos a la prueba tuberculínica.

Receptores (grupo C):

En este grupo se utilizaron cobayos blancos, procurando que las orejas no estuvieran pigmentadas para asegurar condiciones óptimas en la lectura de las reacciones.

Esquema experimental:

En la figura no. I está representado el esquema general del experimento. Se hicieron 12 experimentos en total, en cada uno de los cuales se utilizó: un donador A (sensibilizado), de uno a dos donadores-

B (normales) y de 6-12 receptores (C). Se hicieron --  
dos variaciones de este diseño experimental que se --  
describen a continuación.

Experimento I: se sacrificaron los donadores por exce-  
so de anestesia (éter sulfúrico) y en condiciones de  
asepsia se extirparon los ganglios linfáticos inguina-  
les, axilares y cervicales. En algunos donadores nor-  
males fué necesario extirpar los ganglios mesentéri-  
cos para obtener material suficiente.

Los ganglios de ambos donadores se mantuvieron  
separados en cajas de Petri con solución de Hanks (pH  
7.4) a temperatura ambiente. Toda manipulación de los  
ganglios se hizo con material estéril, en una cámara-  
cerrada, esterilizada por acción de la luz ultraviole-  
ta media hora antes de uso.

De cada grupo de ganglios se preparó una sus-  
pensión celular de la siguiente manera: en un mortero  
chico se colocan los ganglios desprovistos de su cápsu-  
la y grasa, cortados en pequeños pedazos. Con la --  
punta de una tijera se hace una papilla, que se di-  
suelve en 1.0cc de solución de Hanks. Esta mezcla se  
pasa por un tubo de malla fina, exprimiendo las célv-  
las con el émbolo de una jeringa adaptada al diámetro  
de la malla. La suspensión se recoge en una caja de--  
Petri y se aspira en una jeringa con aguja gruesa. -  
Se diluye con solución de Hanks para obtener de 2-3cc.

de volumen final. Las suspensiones se colocan en un tubo de vidrio con tapón de rosca.

Con el objeto de conocer el número de células vivas que hay en cada suspensión, se contaron -- las células en un hemocitómetro, utilizando una técnica modificada de Hanks <sup>43</sup> para contar células viables. El método y los cálculos son los mismos utilizados para contar glóbulos blancos en sangre. Como diluyente se usa una solución de eosina Y al 1% en Hanks. Con este método las células vivas no toman el colorante y se ven redondas y birrefringentes. En estos experimentos el número de células vivas varió entre 25,000 y 100,000 células viables por  $\text{mm}^3$ . El número de células se ajusta con solución de Hanks, para tener cantidades similares en ambas suspensiones. En la tabla II se señala el número de células que se utilizó en cada experimento.

#### Transferencia:

La inyección de las células y la administración del antígeno en los receptores (C) se hicieron bajo anestesia general con éter sulfúrico. En la oreja derecha de cada uno de los receptores se inyectaron de 0.1 - 0.2 cc de suspensión de células del donador A; el mismo receptor recibió 0.1 - 0.2cc de células del donador B en la oreja izquierda, cuya reacción sirvió como control.

El antígeno se inyectó inmediatamente después inyectando 0.5cc de tuberculina a través de la vena--femoral. (500 UT) Los receptores se regresaron a su--jaula y se observaron las orejas a las 6, 12 y 24 ho--ras después de la transferencia. Se consideraron posi--tivas aquellas reacciones que tuvieran induración y --enrojecimiento mayores de 0.5cm de diámetro.

Experimento II: esta variación experimental incluye--los experimentos IX - XII señalados en la tabla II. --En este grupo se inyectó el antígeno (tuberculina ---0.1 cc, 100UT) en ambas orejas del receptor 6 horas--antes de la transferencia celular, con el objeto de--ver si el depósito local del antígeno aumenta el núme--ro de transferencias positivas con las células del do--nador A. Los demás pasos, así como las lecturas, se --desarrollaron de la misma manera que en los experimen--tos del grupo I.

#### Estudio histológico

En la mayoría de los experimentos se cortaron las orejas de los receptores a las 24 horas de la ---transferencia y se fijaron en formol al 10%. Se hicie--ron cortes de parafina teñidos con hematoxilina-eosi--na.

## RESULTADOS

En la tabla II se describen los resultados de ambos grupos experimentales. Los mejores resultados se obtuvieron con la transferencia local de las células y la administración intravenosa del antígeno. Con éste método, el 85% de las transferencias con células del donador sensibilizado mostraron una reacción mayor de 0.5cm a las 24 horas. Aunque este resultado per se es muy alentador, se observó que la transferencia local de células linfoides normales también es capaz de dar una respuesta inflamatoria que en muchas ocasiones era indistinguible de la anterior; de 27 receptores utilizados en el experimento I, 6 animales presentaron reacciones con las células normales, o sea un 22% de lecturas positivas a las 24 horas. En la fig. II se observan dos curvas que representan el número de lecturas positivas a las 6, 12 y 24 horas con células sensibilizadas y células normales. Seis horas después de la transferencia la reacción era sensiblemente igual con ambos tipos celulares, y éste se interpretó como una respuesta inflamatoria inespecífica al trauma de la inyección. A las 12 horas disminuye notablemente la reacción producida por células linfoides normales, siendo parecida a la reacción de las 24 horas. Aunque la diferencia es estadísticamente significativa a las 24-

horas, este resultado permite concluir que el 25% de la reacción con las células sensibilizadas se debe a un efecto inespecífico, es decir, que no se debe a la interacción de las células sensibilizadas con la tuberculina, indicando que la sólo presencia de las células linfoides es capaz de desencadenar una respuesta inflamatoria. La naturaleza de esta respuesta se desconoce, pero se discutirán algunos aspectos de ella más adelante.

Los experimentos VI y VII no se tomaron en cuenta para la valoración de los resultados, ya que en el experimento VI se utilizaron muy pocas células con el fin de buscar el número mínimo de células capaces de dar una reacción. En el experimento VII se consideró que ambos tipos celulares se comportaron de manera muy parecida, dando respuestas positivas en ambas orejas.

El aspecto histológico de las orejas no permitió hacer un mejor diagnóstico diferencial entre las reacciones con células normales y sensibilizadas. En general, el exudado inflamatorio era discreto, -- predominantemente mononuclear, pero con células polimorfonucleares en las reacciones por células normales. Las islas perivenulares que se consideran típicas de las respuestas de hipersensibilidad retardada, eran escasas. ( ver figs. V y VI ) Aunque el depósi



to de las células en forma subcutánea permite una observación histológica adecuada de las células transferidas, no permitió hacer diagnósticos de especificidad de la respuesta.

### DISCUSION

La identidad y el origen de las células que participan en el exudado inflamatorio de las respuestas retardadas son problemas alrededor de los cuales gira actualmente la investigación en este campo. Se consideró pertinente enfocar la discusión desde un punto de vista general, discutiendo los resultados en relación con otros datos experimentales recientes.

#### Cuadro macro y microscópico de la respuesta local a la tuberculina

La manera más sencilla de determinar una respuesta de tipo retardado en un organismo es introduciendo una pequeña cantidad del antígeno en la piel, ya sea en forma intradérmica o por contacto. A las 24 - 48 horas aparece un área bien delimitada de eritema e induración, y cuando la reacción es de mayor intensidad, puede haber una zona central de necrosis con algo de hemorragia. Clínica y experimentalmente es posible provocar esta reacción en cualquier región vascularizada (y de manera muy especial en la córnea<sup>44</sup> en donde se encuentre el antígeno<sup>45</sup>. El tamaño de la

reacción depende del grado de hipersensibilidad que presente el organismo; en la mayoría de los estudios se considera positiva toda aquella reacción con diámetro mayor de 1.2cm en la piel.

Inicialmente hubo algo de controversia acerca de la naturaleza de la respuesta retardada, pero la mayoría de los autores están de acuerdo en reconocerla como una respuesta inflamatoria. Desde los estudios de Dienes y Mallory<sup>46</sup>, se sabe que esta reacción inflamatoria es de naturaleza específica. Estos autores observaron que aún en las respuestas de menor intensidad, el infiltrado celular desde las primeras horas era predominantemente mononuclear. En las primeras cuatro a seis horas se encuentran acúmulos de linfocitos en los vasos y más tarde hay células mononucleares formando islas perivasculares de varias células de espesor. Este segundo aspecto parece ser el más típico de las reacciones, aunque no se pueda considerar como diagnóstico, ya que en otros órganos como el cerebro se han observado características morfológicas que ponen en duda la especificidad de las islas perivasculares<sup>47</sup>. El infiltrado mononuclear es tan extenso, que en algunas formas de hipersensibilidad retardada como la dermatitis por contacto en el conejo, casi nunca se observan polimorfonucleares<sup>48</sup>. Las lesiones antiguas por hipersensibilidad retardada, particu

Se observaron lesiones epidérmicas y dérmicas. Las -- primeras se encontraron en escasa cantidad, algo más frecuente en las reacciones con células sensibiliza-- das, con infiltrado de células polimorfo y mononuclea-- res, licuefacción de las capas basales de la epider-- mis. En la fig. IV se observa un aspecto de esto. -- El infiltrado de la dermis fué muy parecido en las-- transferencias con células sensibilizadas y células -- normales. Hay acúmulos de células polomorfo y mono-- nucleares, con mayor número de éstas en las reaccio-- nes por células sensibilizadas, pero esto es una apre-- ciación personal. En ambas reacciones se observan es-- casas islas perivasculares de células mononucleares, que son más frecuentes en el exudado inflamatorio por transferencia de células sensibilizadas.

Se observaron también alteraciones vasculares, como trombosis vascular reciente y pequeños trombos de células polimorfonucleares. En general hubo poco edema. Este modelo experimental no permite distinguir en-- tre las células transferidas y las células que provie-- nen del receptor. Se han diseñado algunos experimen-- tos, inyectando células marcadas con timidina radio-- activa, para poder determinar esto.

Es importante recordar que la transferencia pa-- siva local inyectando el antígeno por vía intravenosa, es un fenómeno inverso al que se hace en la transferen

nar en contra de los tejidos del huésped, aunque la reacción es de menor intensidad y aparece algún tiempo después, indicando que las células tienen que pasar algún tiempo en el receptor antes de poder reaccionar. Los autores sugieren que las diferencias en este tipo de experimento sean de orden cuantitativo y no cualitativo. Es muy probable que en la transferencia local de células ocurran otros fenómenos independientemente de la reacción que se presente entre el antígeno y las células sensibilizadas. La transferencia de células homólogas a un receptor de constitución genética distinta indudablemente es capaz de despertar una reacción inmunológica en el receptor, en contra de los antígenos de histocompatibilidad de las células transferidas. Por otra parte, la célula del tejido linfoide (linfocito, macrófago, célula pironinofílica) es capaz de actuar en contra de los antígenos de histocompatibilidad del receptor, siempre y cuando se trate de células linfoides normales. Esto podría explicar porqué en algunos de los controles de los presentes experimentos se observan reacciones inflamatorias indistinguibles macro y microscópicamente de los exudados inflamatorios por transferencia de células sensibilizadas.

Diferencias genéticas también podrían explicar la negatividad en algunas transferencias con células sensibilizadas. Se ha demostrado sin lugar a duda, que

en la transferencia pasiva de la hipersensibilidad retardada ( y de otros fenómenos inmunológicos) intervienen de manera importante las células del receptor. Si las diferencias genéticas son demasiado grandes y aceptamos que lo que ocurre en la transferencia pasiva es un traspaso de información, diferencias en la constitución genética de receptor/donador impedirían este traspaso de información.

Por último debe señalarse que la oreja del cobayo parece ser un sitio hiperreactivo. La sola presión de los dedos, limpieza con alcohol, etc. -- provoca un enrojecimiento de ella. Se ha planeado inyectar las células en la piel del costado de los receptores, para evitar hasta donde sea posible estas reacciones inespecíficas.

#### Identidad de las células en el exudado inflamatorio por hipersensibilidad retardada

Así como en otras formas de inmunidad celular<sup>33,53</sup>, la idea de que el linfocito participa de manera importante y hasta decisiva en las reacciones de tipo retardado no es nueva, y existen muchos datos experimentales que apoyan esta hipótesis.<sup>54</sup>

La presencia de células mononucleares en todos y cada uno de los tipos de hipersensibilidad retardada con pocas o ningunas células de otro tipo, demuestra que la participación de células mono-

nucleares no es casual; otros tipos de exudado inflamatorio, traumáticos, por infecciones agudas, etc., se caracterizan por tener un infiltrado de abundantes leucocitos polinucleares, con una gran cantidad de exudado líquido y por ser de relativamente corta duración. Los cambios vasculares, aumento de permeabilidad vascular, diapedésis y edema, son discretos en la inflamación por hipersensibilidad retardada y de hecho, algunos autores como Waksman<sup>55</sup> consideran que estos cambios son secundarios a la aparición de las células mononucleares en el sitio donde se encuentra el antígeno.

En aquellos individuos o animales en los que se ha demostrado una deficiencia de tejido linfoide, ya sea por enfermedad o inducida, se ha visto que la respuesta inmunológica (en general) a diversos antígenos está deprimida o ausente.<sup>56,57</sup> Hay estudios que señalan el timo (en el hombre y en los mamíferos) y la bursa de Fabricio (en las aves) como los órganos encargados de la población y maduración del tejido linfoide.<sup>58,59,60</sup>

En animales timectomizados al nacer, se ha observado que la respuesta inmunológica a diversos antígenos, así como las respuestas retardadas se encuentran deprimidas y se ha sugerido que esto se deba a una deficiencia de linfocitos en el tejido linfoide periférico. Un estudio reciente de Isakovic y col.<sup>62</sup>

parece indicar que el timo es el órgano encargado de proporcionar linfocitos inmunocompetentes<sup>61</sup> capaces de dar respuestas de tipo retardado (rechazo de homo transplantes, reacciones tuberculínicas, etc.); los estudios de Papermaster y Good<sup>60</sup> también sugieren un mecanismo de este tipo en las aves. En el hombre y en los mamíferos no se ha podido relacionar la falta de timo con depresiones específicas de la respuesta humoral; sin embargo, hay algunas hipótesis que sugieren el tejido linfóide intestinal como el responsable de proporcionar estos elementos<sup>60</sup>. En las aves se ha visto que la bursa de Fabricio libera células capaces de dar respuestas de tipo humoral. En animales bursotomizados la respuesta humoral a diversos antígenos está deprimida o ausente y no se encuentran gama-globulinas específicas en la sangre de estos animales.

Se sabe también, que la administración de sueros antilinfocíticos en animales previamente sensibilizados, deprime la respuesta retardada, así como otras formas de respuesta inmunológica. Esto último parece sugerir que son las células linfoides circulantes las responsables de iniciar la reacción.  
63, 64, 65

La transferencia pasiva de diversos estados de hipersensibilidad retardada mediante células linfoides, ya sea macrófagos o linfocitos, ha permitido estable

cer que estos tipos celulares son esenciales para iniciar las reacciones, aún cuando se desconozca por el momento cuál de las células del exudado inflamatorio realmente es la responsable de desencadenar la reacción. La transferencia pasiva de hipersensibilidad tuberculínica mediante linfocitos puros obtenidos del conducto torácico, ha limitado aún más el campo de las posibilidades, y actualmente la mayoría de los estudios señalan al linfocito como la célula responsable de la respuesta inmunológica secundaria.<sup>66</sup>

Billingham, Brent y Medawar<sup>67</sup> demostraron -- por primera vez que la inyección de células linfoides normales era capaz de destruir homoinjertos de piel -- en animales tolerantes incapaces de rechazar este injerto. Este tipo de transferencia ha sido definitivo -- para demostrar que en el animal tolerante la deficiencia está a nivel del tejido linfoide. Estudios -- posteriores también han demostrado que es posible abolir tolerancia mediante linfocitos del conducto torácico<sup>37</sup>, sugiriendo que el linfocito es la célula -- responsable de iniciar el rechazo de un homotransplante de piel. Gowans<sup>68</sup> ha demostrado que el linfocito -- es capaz de producir esplenomegalia, enfermedad homóloga y otros tipos de respuesta inmunológica del tipo injerto vs. huésped en animales cuya respuesta inmunológica es inmadura.



Diversos estudios in vitro también han señalado al linfocito como la célula responsable de iniciar la respuesta inmunológica. Rosenau y Moon<sup>69,70</sup> demostraron que la incubación de fibroblastos de la cepa L con células esplénicas obtenidas de animales hiperinmunes destruía los fibroblastos, lisando también las células del bazo. La muerte de los fibroblastos era precedida de un acúmulo de linfocitos alrededor de ellos. La adición de cortisona al medio de cultivo disminuía significativamente el número de fibroblastos destruidos, pero no impedía la aglutinación de linfocitos alrededor de ellos. La demostración de Govaerts<sup>71</sup> y Wilson<sup>72</sup> que los linfocitos del conducto torácico son capaces de ejercer un efecto citotóxico in vitro, también es muy sugestiva. Govaerts observó que las células linfoides del conducto torácico de perros que habían rechazado homoinjertos renales destruían estas células renales en cultivo de tejido con el suero hiperinmune. En los estudios de Wilson se obtuvieron resultados similares, pero no fué necesario agregar el suero inmune, los linfocitos tenían efecto citotóxico por sí solos, con la particularidad de que en este sistema los linfocitos quedaban intactos al final del periodo de incubación.

Los estudios de Weaver y col.<sup>73</sup> muestran que las células mononucleares inmunizadas en contra de ho

noinjertos, son capaces de destruir macrófagos que--  
contienen el antígeno específico.

Aunque en el caso particular de la hipersensi-  
bilidad retardada a la tuberculina no se han podido -  
demostrar mecanismos similares, la presencia de celu--  
las linfoides en el exudado inflamatorio, así como la  
posibilidad de transferir los diversos estados de hi-  
persensibilidad retardada mediante linfocitos obte--  
nid<sup>os</sup> de diversos sitios<sup>37,74</sup> ha permitido concluir--  
que la inmunidad celular y la hipersensibilidad retar-  
dada son dos funciones de índole inmunológica que re-  
presentan diferentes aspectos de un mecanismo básico  
muy similar.<sup>34</sup>

#### Origen de las células del exudado inflamatorio por hi- persensibilidad retardada

Hasta ahora se desconoce la manera cómo las -  
células sensibilizadas transferidas confieren al re--  
ceptor la capacidad de reaccionar en contra de un an-  
tígeno específico. Trabajos recientes de Kosunen y --  
col.<sup>53</sup> sugieren que en un animal sensibilizado la --  
gran mayoría de las células del exudado inflamatorio--  
son de origen hematógeno. El uso de células marcadas--  
con timidina radiactiva les permitió identificar las  
células de un animal sensibilizado, observando una --  
elevada proporción de células marcadas en el exudado -

inflamatorio por la inyección del antígeno específico. Estudios similares<sup>75</sup> utilizando células sensibilizadas marcadas de la misma manera y transferidas a receptores normales han mostrado sin lugar a duda que las células que aparecen en el foco inflamatorio son de origen hematógeno. Los resultados de estos trabajos sugieren que son las células sensibilizadas las que salen de los vasos en el sitio preciso de inyección del antígeno para reaccionar con él. Sin embargo, otros investigadores como Najarian y Feldman<sup>76</sup>, Hamilton y Chase,<sup>77</sup> Kay y Rieck<sup>78</sup>, Turk<sup>75</sup> y el mismo Kosunen<sup>53</sup>, han observado que la llegada de células marcadas con H<sub>3</sub>-Timidina (transferidas de un animal sensibilizado) al foco inflamatorio de receptores normales parece ser inespecífica. Kosunen señaló que la proporción de células marcadas en estas reacciones era de 5-10% y en las reacciones inflamatorias por otro agente (no antigénico) se observa la misma proporción de células marcadas, aunque la evolución de la respuesta es distinta. McCluskey y col.<sup>79</sup> han demostrado en receptores saturados con H<sub>3</sub>-Timidina que reciben células sensibilizadas no marcadas, que el 68-91% de las células del exudado inflamatorio son marcadas, o sea, provienen del receptor. Ambos estudios indican que la célula sensibilizada es atraída al sitio del antígeno en forma inespecífica. La presencia de células sensibiliza-

das en lesiones inflamatorias inespecíficas no altera el desarrollo de éstas, que siguen siendo de corta duración, sin reacción macroscópica a las 24 horas y con infiltrado predominantemente polimorfonuclear. -- Este señala que la presencia del antígeno específico es el factor responsable de que las células sensibilizadas se comporten de manera muy especial.

Función de las células en el exudado inflamatorio por hipersensibilidad retardada

La inyección del antígeno específico en animales sensibilizados redonda en daño tisular. Este daño se manifiesta por una reacción inflamatoria específica cuya causa aún es oscura. Hace algunos años Rich y Lewis<sup>80</sup>, estudiando el efecto del antígeno sobre células sensibilizadas in vitro, habían propuesto que el antígeno destruye al linfocito sensibilizado y que esta citolisis era la causa del proceso inflamatorio. Sin embargo, no se ha podido demostrar un mecanismo--similar in vivo, independientemente de que las cantidades de antígeno utilizadas por Rich y Lewis eran --verdaderamente formidables, y ésto podría explicar --la gran mortalidad que se obtuvo en el sistema in vitro. Willoughby y col.<sup>81,82,83</sup> han propuesto otro mecanismo, que las células sensibilizadas en unión con el antígeno liberan una substancia capaz de aumentar la permeabilidad vascular, explicando así la respues-

ta inflamatoria en la hipersensibilidad retardada. -  
Aparentemente, este factor también se encuentra en -  
células linfoides normales, aunque en cantidades mu-  
cho menores. Aún no se ha encontrado una explicación  
satisfactoria para este fenómeno. En los presentes -  
experimentos se hizo un intento de estudiar el fenó-  
meno de permeabilidad vascular en la transferencia lo-  
cal, (utilizando azul de Evans para observar el pas-  
de líquido) pero los resultados fueron inconstantes.

Waksman <sup>54,66</sup> ha ofrecido otra explicación pa-  
ra el mecanismo de daño tisular en la hipersensibili-  
dad retardada, señalando que el antígeno puede fijar-  
se a los tejidos y que la acción de las células sensi-  
bilizadas ( que no se lisan en este caso) sobre el-  
antígeno/tejido es la responsable de las lesiones. --  
Ninguna de estas hipótesis han podido ser comprobadas  
hasta ahora.

#### Papel de la célula sensibilizada en el exudado infla- matorio

Una vez que se encuentra la célula sensibili-  
zada en el sitio de depósito del antígeno puede ac---  
tuar de dos maneras: proliferando para crear una po-  
blación de células capaces de eliminar el antígeno,-  
ó informando a las demás células del exudado para--  
que éstas actúen como si estuvieran sensibilizadas.

Hay algunos estudios que apoyan la proliferación local de las células que participan en las respuestas de tipo retardado. Desde las investigaciones de Laporte<sup>84</sup> se han observado mitosis en las células mononucleares perivasculares. Otros autores han pensado que son las células de origen hematógeno que llegan a proliferar en estos sitios<sup>53</sup>, y se ha visto que linfocitos in vitro son capaces de transformarse en células grandes, de citoplasma pálido, que se tiñen con pironina y que se han encontrado profusamente en los ganglios alrededor de un homoinjerto en vías de rechazo<sup>85,86</sup> (células pironinofílicas). Esta transformación celular ha sido observada in vitro por McKinney y col.<sup>87</sup> quienes marcaron linfocitos con timidina radiactiva y mostraron que estos linfocitos se dividen y que las células hijas contienen timidina. La mayoría de los estudios en este sentido se han realizado en la investigación de las células que intervienen en el rechazo de los homoinjertos<sup>33,39</sup> y el concepto actual es que el linfocito pequeño se transforma primero en célula pironinofílica, después se divide por mitosis y que es el antígeno el responsable de inducir estos cambios<sup>88,89,90</sup>. En los estudios sobre hipersensibilidad retardada se ha observado que las células provenientes de la circulación (probablemente linfocitos medianos) se transforman en células histio-

cíticas, pero la posible relación entre estas dos formas celulares se desconoce por el momento. Los trabajos de Turk y Stone<sup>91</sup> parecen indicar que la célula pironinofílica también participa de manera importante en las dermatitis por contacto. Utilizando cobayos sensibilizados a la Oxazolona, encontraron una gran cantidad de estas células en el ganglio linfático que drenaba la región de la piel sensibilizada. Estas células alcanzaron su máxima proporción 4 días después del contacto primario con el antígeno, tiempo que correspondía a las primeras horas en las que era posible transferir pasivamente la hipersensibilidad a receptores de la misma especie, así como obtener una respuesta inflamatoria en el donador. Los mismos autores, utilizando animales marcados con timidina radioactiva, sugieren que la célula pironinofílica se transforma en linfocito pequeño, ya que el metotrexate permite la formación de células pironinofílicas, pero no de linfocitos pequeños. El cuadro histológico del presente trabajo no permite suponer que la proliferación local haya sido un factor importante en la transferencia local, o que haya influido en el desarrollo de la reacción; sin embargo esto puede estar condicionado por el tipo de transferencia.

Aunque estudios recientes parecen indicar que la transformación celular es importante para la respuesta

ta inmunológica de tipo humoral, este mecanismo no parece operar en otras formas de respuesta, como la celular.<sup>92</sup>

Ninguno de los estudios anteriores ha logrado explicar la presencia de células del receptor en el exudado inflamatorio por transferencia pasiva de células sensibilizadas. Esto deja abierta la segunda hipótesis mencionada arriba, que la célula transfiere información inmunológica a las células del receptor, permitiendo que éstas actúen como si hubieran recibido una sensibilización primaria. Este concepto ha encontrado gran apoyo actualmente y hay numerosos estudios que sugieren un mecanismo de este tipo.

Uno de los estudios más reveladores en este sentido ha sido el de David y col.<sup>93</sup>, quienes demostraron que la presencia de muy pocas células sensibilizadas es suficiente para que una población de células linfoides normales se comporte como si estuvieran sensibilizadas; en este caso no hay migración de esta población celular frente al antígeno específico, fenómeno que sí se presenta en poblaciones de células linfoides normales. Este estudio in vitro ha hecho pensar, que en el sistema de David y col. hay una rápida transferencia de información, permitiendo que las células normales actúen como si estuvieran sensibilizadas. Esta transferencia de información como ha sugerido Jerne<sup>94</sup>,



sería una manera de explicar la formación de una gran población celular sensibilizada en muy corto tiempo.-

La naturaleza de la información que transfieren las células se desconoce aún, pero hay estudios que sugieren que el RNA de las células linfáticas --- (macrófagos y linfocitos) tiene un papel importante.

Hace algunos años, Lawrence<sup>95,96,97</sup> logró --- transferir la hipersensibilidad retardada a la tuberculina y a otros compuestos en el hombre, utilizando fracciones subcelulares de leucocitos de un donador sensibilizado. Recientemente Baram y Mosco<sup>98,99</sup> pudieron obtener datos más exactos acerca de la naturaleza de este factor de transferencia ( término acuñado por Lawrence), analizándolo desde un punto de vista bioquímico. Concluyeron que se trataba de un factor no dializable, resistente al tratamiento con enzimas que destruyen el RNA y DNA, que no contiene partículas de antígeno demostrable por la técnica que ellos utilizan y que probablemente se trate de una fracción proteica del tamaño de la albúmina. El factor aislado -- por ellos es muy estable y logra transferir la hipersensibilidad retardada durante mucho tiempo.

Los estudios encaminados a aislar un factor similar en animales han fracasado hasta ahora. Recientemente, Tsuji y col.<sup>100</sup> extrajeron un factor similar (no dializable y resistente al tratamiento con RNAasa y DNAasa) de conejos sensibilizados a la tuberculina,

que habían recibido una inmunización secundaria a BCG. Este factor es capaz de transferir la hipersensibilidad retardada en conejos normales en un poco menos del 50% de los animales, siendo de corta duración y bastante inestable. Los autores han sugerido la posibilidad de que exista un inhibidor de este factor y que la segunda dosis masiva del antígeno sea necesaria para--- que las células liberen este "factor de transferencia". Este primer estudio parece indicar que existe un factor de transferencia en animales, de composición básica parecida a la humana. Feldman y Najarian<sup>101</sup> pudieron transferir la inmunidad de transplante con el sobrenadante de células sensibilizadas destruidas por ultrasonido. Sin embargo, un estudio más detenido ha mostrado que el material del sobrenadante es del tipo de las gama-globulinas y ya se sabe que en el rechazo del homotransplante intervienen anticuerpos humorales,<sup>1,2</sup> de manera que por el momento no se puede tomar este material activo como un factor de transferencia en el sentido de Lawrence.

Existen además una serie de estudios in vitro que hacen pensar que las células sensibilizadas contienen información inmunológica que transfieren a otras células.

Fishman logró extraer el RNA de macrófagos -- puestos en contacto con el antígeno del bacteriófago

T<sub>2</sub> y lo ha colocado en medios que contenían linfocitos normales, que rápidamente incorporan este RNA -- marcado y que posteriormente son capaces de producir una inmunización pasiva ( en forma de anticuerpos circulantes) en receptores radiados.<sup>102,103</sup> A raíz de -- estos experimentos Fishman propuso que los macrófagos eran los responsables de asimilar el antígeno y que in vivo transfirieran su información a linfocitos para que éstos den una respuesta inmunológica. Un estudio similar es el de Mannick y Egdahl<sup>104</sup>, quienes utilizaron el RNA de linfocitos inmunizados en contra de un trasplante de piel y lo incubaron con -- linfocitos normales, observaron que tanto los linfocitos normales ( que habían tomado el RNA inmune), -- como los linfocitos sensibilizados, desencadenaban -- la llamada reacción de transferencia al ser inyectados en la piel del donador.

Es útil recordar que este tipo de experimentos son artificiales, ya que se desconoce si normalmente el RNA pasa de una célula a otra y tampoco se puede excluir la posibilidad de que el RNA lleve partículas del antígeno en su molécula, siendo solamente un vehículo para este material. Los trabajos recientes de Askonas y Rhodes<sup>105</sup> señalaron que sí había pequeñas cantidades de antígeno en el RNA de macrófagos que habían estado en contacto con hemocianina --

marcada in vivo. El aspecto más interesante de este trabajo ha sido que el RNA con partículas del antígeno ( RNA inmunogénico) posee una antigenicidad --- mucho mayor que el RNA de macrófagos incubados con el antígeno in vitro o del antígeno sólo. Esto parece sugerir que la función de los macrófagos in vivo consiste en asimilar el antígeno o transformarlo para hacerlo más antigénico. Aunque este trabajo no proporciona información acerca de la posible relación funcional entre macrófagos y linfocitos en la respuesta inmunológica, los estudios de Aronson<sup>106</sup> y Schoenberg<sup>107</sup> en cultivo de tejido indican que puede haber transferencia de material intracelular a través de puentes de citoplasma entre ambos tipos celulares.

Basado en éstos y otros estudios realizados en virus y bacterias, Smithies<sup>108</sup> ha adelantado la hipótesis del "virus del anticuerpo". Este virus se encontraría en el citoplasma de las células sensibilizadas en forma de partículas de RNA rodeadas de una capa protéica especial y serían las responsables de transferir información de tipo inmunológico al tener un contacto secundario con el antígeno. Si las células sensibilizadas son capaces de almacenar este RNA específico, un segundo contacto con el antígeno en un medio adecuado le permitiría multiplicarse--

rápidamente dentro de la célula, caer fuera de ellas y penetrar el citoplasma de muchas otras células linfoides, explicando así una respuesta más rápida e intensa en este contacto secundario.

### RESUMEN

Se ha logrado la transferencia pasiva local de la hipersensibilidad retardada a la tuberculina--- mediante células linfoides obtenidas de cobayos sensibilizados con bacilo tuberculoso humano. Los resultados sugieren un método eficaz para obtener transferencias positivas, aunque cuantitativamente todavía no -- parece ser mejor que la transferencia pasiva por vía intravenosa. Se discuten algunos posibles mecanismos para explicar estos resultados, en función de ellos se han diseñado nuevos experimentos. Los datos más recientes obtenidos en el mismo laboratorio indican que la transferencia local de las células linfoides bajo la piel del cobayo, observando las reacciones a las 24 y 48 horas, da resultados más alentadores, con -- disminución en el número de respuestas positivas -- con células linfoides normales.

Se discuten algunos de los aspectos más recientes en el campo experimental de la hipersensibilidad retardada, con especial énfasis en el origen, identidad y funciones de las células que aparecen en el exudado inflamatorio de estas respuestas.

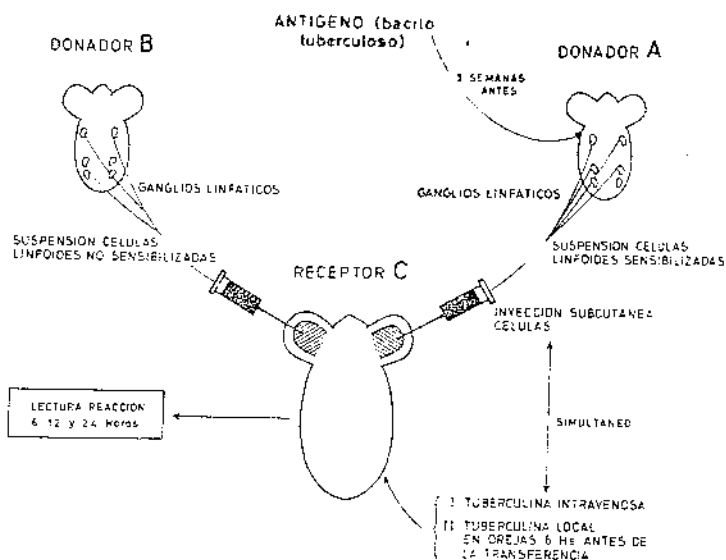
TABLA I

Diferencias entre la Hipersensibilidad Inmediata y la Retardada

Hipersensibilidad inmediata	Hipersensibilidad retardada
Aparece inmediatamente	Requiere tiempo para manifestarse
Anticuerpo circulante demostrable	No se demuestra anticuerpo circulante.
Afecta músculo liso, colágena y vasos	No está limitada a ningún tipo especial de tejido
Requiere antígeno completo	Antígeno + tejido + microorganismo
La vía de administración no influye	Casi siempre a través de la piel
Transferible pasivamente con suero	Transferible pasivamente con células
Histamina demostrable en la circulación ( no en el fenómeno de Arthus)	No se demuestra histamina
Tipos: fenómeno de Arthus, choque anafiláctico, reacciones cutáneas evanescentes,	Tipos: bacteriana, dermatitis por contacto, hipersensibilidad a drogas.

( Pérez-Tamayo, R.: Principios de Patología, Prensa Médica Mexicana, 2a. Ed., 1965 )

FIGURA I



Esquema experimental. Explicación en texto.

FIGURA II

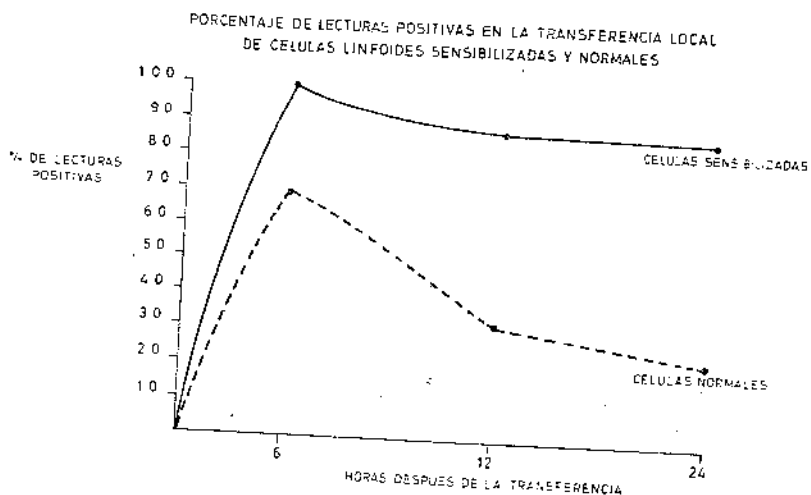


Figura que respresenta el número de lecturas positivas obtenidas en el esquema experimental I.

TABLA II

Experimentos Grupo I	Número Animales	Número células sensibi- lizadas	Unidades Tuberculina por vía I.V.	Número de respuestas positivas a las		
				6 horas	12 horas	24 horas
I	1	$3.6 \times 10^6$	100	1	1	1
II	3	$5.9 \times 10^6$	100	3	2	2
III	5	$6.4 \times 10^6$	200	5	4	4
IV	5	$12.0 \times 10^6$	500	5	5	5
V	4	$10.2 \times 10^6$	500	4	4	4
VI #	7	$2.1 \times 10^6$	500	2	2	2
VII #	8	$7.2 \times 10^6$	500	8	8	8
VIII	9	$9.9. \times 10^6$	500	9	7	7
Porcentaje de respuestas positivas				100%	85%	85%

Experimentos Grupo II			Tuberculina local			
IX	6	$6.0 \times 10^6$	100	5	5	5
X	11	$6.0 \times 10^6$	100	0	7	2
XI	10	$4.7 \times 10^6$	100	7	7	6
XII	10	$5.6 \times 10^6$	100	1	5	3

# Experimentos no incluidos en la tabulación



TABLA II (cont.)

Experimentos grupo I	Número Animales	Número células normales	Unidades tuberculina por vía I.V.	Número de respuestas positivas a las		
				6 horas	12 horas	24 horas
I	1	$3.6 \times 10^6$	100	0	0	0
II	3	$3.5 \times 10^6$	100	2	1	1
III	5	$7.8 \times 10^6$	200	4	3	1
IV	5	$4.5 \times 10^6$	500	0	0	0
V	4	$9.1 \times 10^6$	500	3	3	1
VI #	7	$2.2 \times 10^6$	500	0	0	0
VII #	8	$9.2 \times 10^6$	500	8	8	8
VIII	9	$8.8 \times 10^6$	50	9	2	2

Porcentaje de respuestas positivas                      69%                      33%                      22%

Experimento grupo II	Número Animales	Número células normales	Tuberculina local	Número de respuestas positivas a las		
				6 horas	12 horas	24 horas
IX	6	$5.3 \times 10^6$	100	0	0	0
X	11	$6.0 \times 10^6$	100	2	3	1
XI	10	$5.0 \times 10^6$	100	1	0	0
XII	10	$5.6 \times 10^6$	100	0	1	3

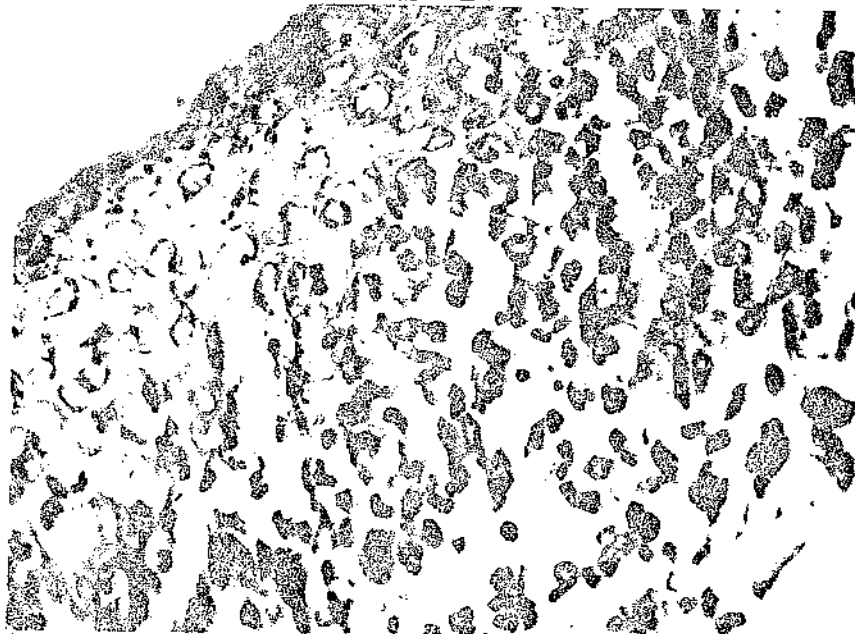
# Experimentos no incluidos en la tabulación

FIGURA III



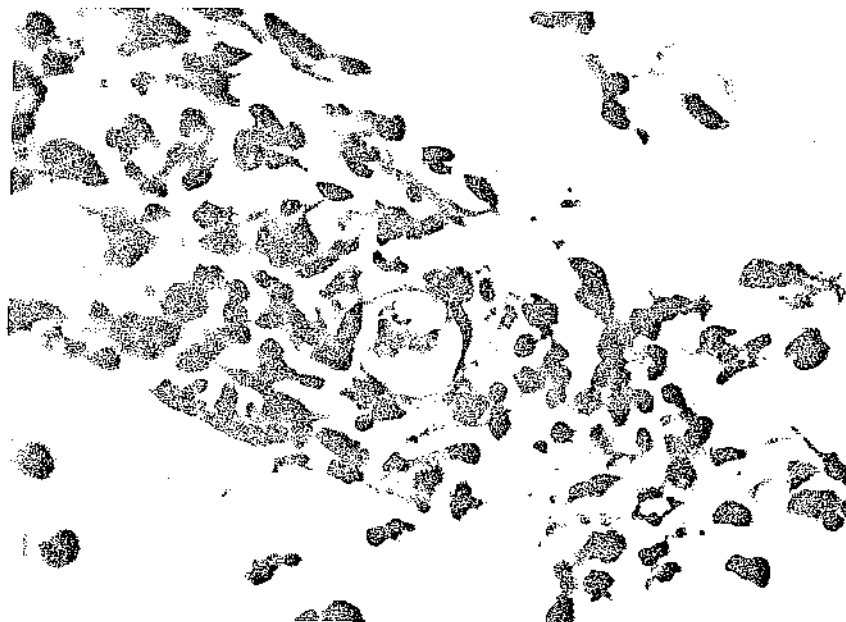
Reacción a la tuberculina en la oreja derecha de un cobayo sensibilizado con bacilo tuberculoso humano liofilizado 3 semanas antes. Nótese el borramiento del patrón vascular, mientras que la oreja izq. es perfectamente normal, después de 0.1cc de solución salina 0.85%.

FIGURA IV



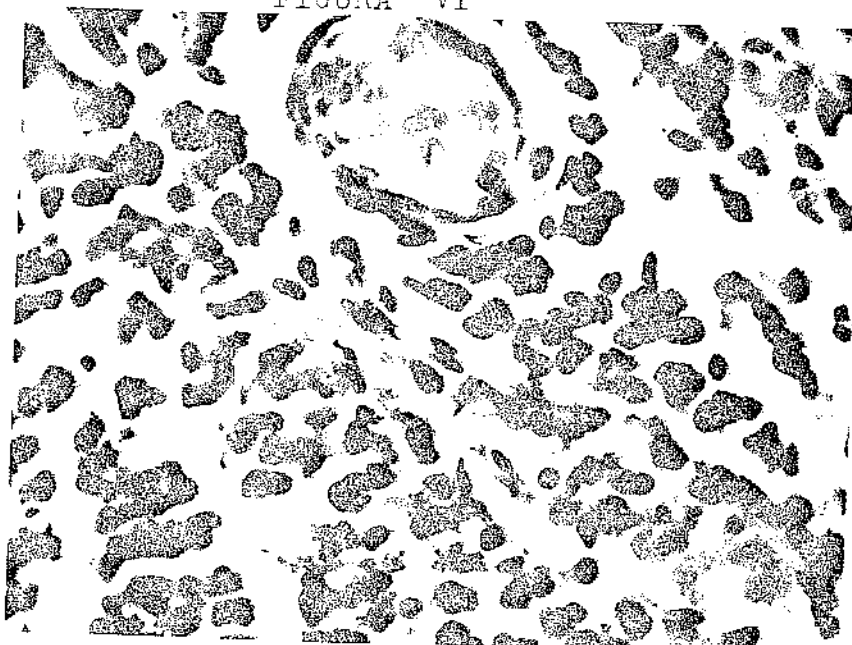
Epidermis de una reacción inflamatoria por transferencia local de células sensibilizadas con administración intravenosa del antígeno. Corte tomado a las 24 horas, teñido con hematoxilina eosina (100x)

FIGURA V



Cuadro microscópico de una reacción por transferencia local de células sensibilizadas con antígeno por vía intravenosa. Obsérvase el infiltrado perivascular de células mononucleares. Corte tomado a las 24 horas, teñido con hematoxilina-eosina ( 200x)

FIGURA VI



Cuadro microscópico de un infiltrado perivascular de células mononucleares a las 24 horas de transferencia local de células sensibilizadas, con antígeno intravenoso. Tinción hematoxilina-eosina (450 x)

BIBLIOGRAFIA

- 1) Kretschmer, R.R. y Pérez-Tamayo, R.: The role of humoral antibodies in rejection of skin homografts in rabbits. I Passive transfer of isoimmune serum to conditioned hosts. J.Exp.Med. 114:509, 1961
- 2) Kretschmer, R.R. y Pérez-Tamayo, R.: the role of humoral antibodies in rejection of skin homografts in rabbits. II Passive transfer of transplantation immunity by sensitized lymph node cells within diffusion chambers. J. Exp. Med. 116:879, 1962
- 3) Kretschmer, R.R. y Pérez-Tamayo, R.: fate of lymphoid homografts within diffusion chambers placed in sensitized hosts. Brit. J. Exp. Path. 45:1, 1964
- 4) González Mendoza, A.: Lesiones hepáticas experimentales de homoinmunidad. Tesis recepcional. U.N.A.M., 1962
- 5) Larralde, Rangel, Carlos: Mecanismo inmunológico de la enfermedad homóloga. Tesis recepcional. U.N.A.M., 1963
- 6) Salinas Madrigal, Luis: Patogenia de la inflamación granulomatosa alérgica, Tesis Recepcional, U.N.A.M., 1963
- 7) Fernández Reyes, Ernesto: Estudio del mecanismo del daño tisular en la hipersensibilidad retardada. Tesis recepcional. U.N.A.M. 1963
- 8) Cos Soto, Luis Roberto: Alteraciones de la permeabilidad vascular en la inflamación por hipersensibilidad retardada. Tesis recepcional, U.N.A.M., 1963
- 9) Sherrington, H.J.: Estudios sobre el antígeno en la respuesta inmune a los homotransplantes. Tesis recepcional, U.N.A.M., 1963
- 10) Pirquet, C.F. von: Allergy. Arch.Int.Med.7:259, 1911
- 11) Stanworth, D.R.: Reaginic antibodies. Advances in Immunology, 3:181, 1963
- 12) Richet, C.: Conférence Nobel sur l'anaphylaxie. Int Arch.Appl.Immun. 3:4, 1952

- 13) Germuth, F.G.Jr., y McKinnon, G.E.: Studies on - the biological properties of antigen-antibody complexes. I Anaphylactic shock induced by soluble antigen-antibody complexes in unsensitized normal guinea pigs. Bull. John Hopkins Hosp. 101:13, 1957
- 14) McCluskey, R.T., Benacerraf, B., Potter, J.L. y Miller, F.: The pathologic effects of intravenously administered soluble antigen-antibody complexes. I Passive serum sickness in mice. J. Exp. Med. 11:181, 1960
- 15) Smith, E.L. y Jager, B.V.: The characterization of antibodies. Ann. Rev. Microbiol. 6:207, 1952
- 16) Fahey, J.L.: Heterogeneity of Gamma-Globulins. En: Advances in Immunology, 2:42, 1962
- 17) West, G.B.: Chemical nature and possible role of mediators in allergic reactions. Int. Arch. Allergy Appl. Immun. 18:56, 1961
- 18) Ungar, G.: Biochemical mechanism of the allergic reaction. Int. Arch. Allergy, 4:258, 1953
- 19) Austen, F. y Humphrey, J.H.: In vitro studies of the mechanism of anaphylaxis. Advances in Immunology 3:3, 1963
- 20) Benacerraf, B.: Delayed hypersensitivity. En: The Inflammatory Process. Ed. B.W. Zweifach, L. Grant y R.T. McCluskey. Academic Press, New York, 1965
- 21) Cell-bound Antibodies. B. Amos y H. Koprowski, Ed. The Wistar Inst. Press., 1963
- 22) Landsteiner, K. y Chase, M.W.: Experiments on --- transfer of cutaneous sensitivity to -- simple compounds. Proc. Soc. exp. Biol 49:688, 1942
- 23) Witebsky, E. y Rose, N.R.: Autoimmunity and its relation to thyroid disease. New York State J. Med. 63:56, 1963
- 24) Stone, S.H.: Transfer of allergic encephalomyelitis by lymph node cells in inbred guinea pigs. Science, 134:619, 1961
- 25) Waksman, B.H. y Adams, R.D.: A histologic study of the early lesion in experimental encephalomyelitis in the guinea pig and rabbit. Amer. J. Path. 41:135, 1965

- 26) Goodman, H.C.: Discussion on mechanisms of tissue damage in experimental autoimmune disease. En: Mechanism of cell and tissue damage produced by immune reactions. Ed. P. Grabar y P. Miescher. Benno Schwabe & Co. Basel, 1962, p.198
- 27) Ferrian, J.H. y Brent, L.: Cell-bound antibodies in transplantation immunity. Ann.N.Y. Acad. Sci. 73:654, 1958
- 28) Algire, G.H., Weaver, J.M. y Prohn, R.T.: Studies on tissue homograft transplantation in mice using diffusion chamber methods. Ann.N.Y. Acad. Sci. 64:10, 1957
- 29) Pérez-Tamayo, R.: Principios de Patología. Prensa. Med. Mex., 2a. ed. 1965, pp.123.
- 30) Chase, M.W.: The cellular transfer of cutaneous--sensitivity to tuberculin. Proc.Soc. Biol. & Med. 49:134, 1945
- 31) Gowans, J.L., McGregor, D.D. y Gowans, D.M.: The role of the small lymphocytes in the rejection of homografts of skin. En: The Immunologically Competent Cell. Ciba Foundation Study Group no.16, Churchill London, 1963, pp 20
- 32) Gowans, J.L.: The fate of parental strain small lymphocytes in F<sub>1</sub> hybrid rats. Ann.N.Y. Acad. Sci. 99:432, 1962
- 33) Gowans, J.L. y McGregor, D.D.: The Immunological Activities of lymphocytes. En: Progress in Allergy, IX, Ed. P. Kallós y B.H. Waksman, S.Karger, Basel, 1965
- 34) Arnason, D.G. y Waksman, B.H.: Tuberculin sensitivity. Immunologic considerations. Adv. Tuberc. Res. 13:1, 1964
- 35) Chase, M.W.: Models for Hypersensitivity Studies. En: Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States, Ed. H.S. Lawrence Hoeber and Harper, New York, 1959 tabla 24
- 36) Lawrence, H.S.: The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man. Proc. Soc. Biol. & Med. 71:516, 1949
- 37) Gasner, E.M. y Gowans, J.L.: The output of lymphocytes from the thoracic duct of unanesthetized mice. Brit. J. Exp.Path. 43:424, 1962

- 38) Nelson, N.D., y North, R.J.: The fate of peritoneal macrophages after injection of antigen into guinea pigs with delayed type hypersensitivity. *Lab. Invest.* 14:89, 1965
- 39) Turk, J.L.: Some quantitative aspects of the uptake of antigen in vitro by the lymphocytes of hypersensitive guinea pigs. *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.* 17:338, 1960
- 40) Wésslen, T.: A histological study of the tuberculin reaction in animals with passively transferred hypersensitivity. *Acta Tuberc. Scand.* 26:175, 1952
- 41) Kourilsky, R. y Decroix, G.: Utilisation des cellules de l'exudat peritoneal aseptique pour le transfert local de l'allergie tuberculinique. *C.R. Soc. Biol.* 46:235, 1952
- 42) Najarian, J.S., y Feldman, J.D.: Passive transfer of tuberculin sensitivity by tritiated-thymidine labeled cells. *J. Exp. Med.* 114:779, 1961
- 43) Hanks, J.H. y Wallace, J.H.: Determination of cell viability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98:188, 1956
- 44) Schlossman, S. y Stetson, C.A.: Vascularization of the cornea during delayed hypersensitivity reactions. *J. Immunol.* 79:208, 1957
- 45) Flax, M.H.: Comunicación personal
- 46) Dienes, L y Mallory, T.B.: Influence of allergy on early development of tuberculin lesions. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 34:59, 1936
- 47) Paterson, P.Y., y Weiss, H.S.: Transfer of allergic encephalomyelitis in rats by cerebral injection of lymphoid cell. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 119:267, 1965
- 48) Gell, P.G.H.: Cytologic events in hypersensitivity reactions. En: *Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States*. Ed. H.S. Lawrence. Hoeber & Harper, 1959
- 49) Condie, R.M. & Good, R.A.: Experimental allergic encephalomyelitis: its production, prevention and pathology as studied, by light and electron microscopy. En: *The biology of Myelin*, S.A. Korey ed. Hoeber and Harper, New York, 1959

- 50) Gell, P.G.H., y Hinde, I.F.: The histology of the tuberculin reaction and its modification by cortisone. *Brit. J. Exp.Path.* 32:516, 1951
- 51) Spector, W.G., y Willoughby, D.A.: The inflammatory response. *Bacteriol. Rev.* 27:117, 1963
- 52) Majno, G.: Comunicacion personal
- 53) Kosunen, T.J., Waksman, B.H., Flax, M.H., y Tihen, W.H.: Radiographic study of cellular mechanism in delayed hypersensitivity. I Delayed reactions to tuberculin and purified proteins in the guinea pig and rat. *Immunol.* 6:276, 1963
- 54) Gasner, B.M.: The "life history" and functions of lymphocytes. En: *The Inflammatory Process*. Ed. B.W. Zweifach, L.Grant y R.T. McCluskey, Academic Press, New York, 1965
- 55) Waksman, B.H.: The local reaction of cellular hypersensitivity. *Ann. N.Y.Acad. Sci.* 116:1045 1964
- 56) Gitlin, D., Hitzig, W.H., y Janeway, C.A.: Multiple protein deficiencies in congenital and acquired agamma-globulinemia, *J.Clin.Invest.* 35:1199, 1956
- 57) Good, R.A., Varco, R.L., Aust, J.B. y Zak, S.J.: Transplantation studies in patients with agamma-globulinemia, *Ann.N.Y.Aca.Sci.* 64:682, 1957
- 58) Miller, J.F.A.P.: Immunity and the Thymus. *Lancet*, 1:43, 1963
- 59) Osoba, D., y Miller, J.F.A.P.: The lymphoid tissues and immune responses of neonatally thymectomized mice bearing thymus tissue in millipore diffusion chambers. *J.Exp.Med.* 119:177, 1964
- 60) Papermaster, B.W., Friedman, D.I. y Good, R.A.: Relationship of the bursa of Fabricius on immunologic responsiveness and homograft immunity in the chicken. *Proc.Soc.Biol. & Med.* 110:62, 1962
- 61) The Immunologically Competent Cell. Ciba Foundation Study Group. No.16 J.A. Churchill, London Ed. GEW Wolstenholme y J.Knight, 1963



- 62) Isakovic, K., Smith, S.E. y Waksman, B. .: Immunologic tolerance in thymectomized, irradiated rats grafted with thymus from tolerant donors. *Science*, 148:1333, 1965
- 63) Woodruff, M.A. y Anderson, N.F.: The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 120:119, 1964
- 64) Monaco, A.P., Wood, M.L. y Russel, P.S.: Adult thymectomy effect on recovery from immunologic depression in mice. *Science*, 149:432, 1965
- 65) Waksman, B.H., Arbouys, S., y Arnason, B.G.: The use of specific antisera to inhibit hypersensitivity reactions of the delayed type. *J.Exp.Med.* 114:997, 1961
- 66) Gowans, J.L.: Discusión en Ciba Foundation Symposium on Biological Activity of the Leucocyte, ed. G.E.W. Welstenholme y M.C'Conner. London, Churchill, 1961
- 67) Billingham, R.E., Brent, L. y Medawar, P.B.: Quantitative studies on tissue transplantation immunity. III Actively acquired tolerance. *Philos.Trans.B* 239:357, 1956
- 68) Gowans, J.L., McGregor, D.D., Cowen, D.M. y Ford, C.E.: Initiation of immune responses by small lymphocytes, *Nature*, 196:651, 1962
- 69) Rosenau, W.: Interaction of lymphoid cell with target cells in tissue culture. En: *Cell-bound Antibodies*. Ed. B.Amos y H.Koprowski, Wistar Institute Press, 1963
- 70) Rosenau, W., y Moon, H.D.: The inhibitory effect of hydrocortisone on lysis of homologous cells by lymphocytes in vitro. *J.Immun.* 89:422, 1962
- 71) Govaerts, A.: Cellular antibodies in kidney homograft transplantation. *J.Immun.* 85:516, 1960
- 72) Wilson, D.B.: The reaction of immunologically activated lymphoid cells against homologous target tissue cells in vitro. *J.cell. comp. physiol.* 62:273, 1963

- 73) Weaver, J.M., Algire, G.H., y Prehn, R.T.: The growth of cells in vivo in diffusion chambers. II The role of cells in the destruction of homografts in mice. *J Nat. Can. Inst.* 15:1737, 1955
- 74) Erent, L., y Medawar, P.E.: Tissue transplantation: a new approach to the typing problem. *Brit. Med. J.* Aug. 3:269, 1963
- 75) Turk, J.D.: The passive transfer of delayed hypersensitivity in guinea pigs by the transfusion of isotopically labeled cells. *Immunol.* 5:478, 1962
- 76) Najarian, J.S., y Feldman, J.D.: Passive transfer of contact sensitivity by tritiated thymidine-labeled lymphoid cell. *J.Exp.Med* 117:775, 1963
- 77) Hamilton, L.D., y Chase, M.W.: Labeled cells in the transfer of delayed hypersensitivity. *Fed. Proc.* 21:40, 1962
- 78) Kay, J., y Rieke, W.D.: Tuberculin hypersensitivity with radioactive antigen and mononuclear cell. *Science*, 139:487, 1963
- 79) McCluskey, R.T., Benacerraf, B., y McCluskey, J.W.: studies on the specificity of the cellular infiltrate in delayed hypersensitivity reactions. *J.Immun.* 90:466, 1963
- 80) Rich, A.R., y Lewis, M.R.: The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies. *Bull.John Hopkins Hosp.* 50:115, 1932
- 81) Willoughby, D.A., Spector, W.G., y Boughton, B.: a lymph node permeability factor in the tuberculin reaction. *J. Path. Bacteriol.* 87:353, 1964
- 82) Willoughby, D.A., y Spector, W.G.: The lymph node permeability factor: a possible mediator of the delayed hypersensitivity reaction. *Ann.N.Y. Acad.Sci.* 116:874, 1964
- 83) Willoughby, D.A., Walter, M.N.I., y Spector, W.G.: lymph node permeability factor in the dinitrochlorobenzene skin hypersensitivity reaction in guinea pigs. *Immunol.* 8:578, 1965

- 84) Laporte, R.: Histo-cytologie des reactions locales d'hypersensibilite chez cobaye (reactions allergiques a la tuberculine et reactions anaphylactiques) Ann. Inst. Pasteur. 53:598, 1934
- 85) Bauer, J.A. Jr., y Stone, S.H.: Isologous and homologous lymphoid transplants. I The transfer of tuberculin hypersensitivity in inbred guinea pigs. J.Immun.86:177, 1961
- 86) André, J.A., Schwartz, R.S., Mitus, W.L., y Dameshek, W.: The morphologic response of the lymphoid system to homografts. I First and second set responses in normal rabbits. Blood, 19:313, 1962 II The effects of antimetabolites, Blood, 19:334, 1962
- 87) McKinney, A.A., Stohlman, F., y Beecher, G.: the kinetics of cell proliferation in cultures of human peripheral blood. Blood, 19:349, 1962
- 88) Wakeman, B.H., y Matelsty, M.: The effect of tuberculin on peritoneal exudate cells of sensitized guinea pigs in surviving cell culture. J.Immun. 81:220, 1958
- 89) Elves, M.W., Roath, S., e Israels, M.CG.: the response of lymphocytes to antigen challenge in vitro. Lancet, i:806, 1963
- 90) Marshall, W.H. y Roberts, K.B.: Tuberculin induced mitosis in peripheral blood leucocytes, Lancet i:772, 1963
- 91) Turk, J.L., y Stone, S.H.: Implications of the cellular changes in lymph nodes during the development and inhibition of delayed type hypersensitivity. En: Cell-bound Antibodies. Ed. B.Amos y H.Koprowski, Wistar Inst. Press, 1963
- 92) Globerson, A., y Auerbach, R.: Primary immune reactions in organ cultures. Science, 149: 991, 1965
- 93) David, J.R., AL-Askari, S., Lawrence, H.S. y Thomas, L.: Delayed hypersensitivity in vitro. I The specificity of inhibition of cell migration. II The effect of sensitive cells on normal cells in the presence of antigen J.Immun. 93:264, 1964

- 94) Jerna, R.K.: Immunological speculations. *Ann. Rev Microbiol.* 14:341, 1960
- 95) Lawrence, H.S.: The transfer of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes. *J. Clin Invest.* 34:219, 1955
- 96) Lawrence, H.S.: The transfer of hypersensitivity of the delayed type in man. In: *Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states.* Ed. H.S. Lawrence, Hoeber & Harper, New York, 1959
- 97) Lawrence, H.S., y Pappenheimer, A.M. Jr.: transfer of delayed hypersensitivity to diphtheria toxin in man. *J. Exp. Med.* 104:321, 1956
- 98) Baran, P., y Mosco, M.M.: Chromatography of the human tuberculin delayed type hypersensitivity transfer factor. *J. Allergy* 33: 493, 1962
- 99) Baran, P., y Mosco, M.M.: A dialysable fraction from tuberculin sensitive human white blood cells capable of inducing tuberculin delayed hypersensitivity in negative patients *Immunol.* 8:461, 1965
- 100) Tsuji, S., Oshima, S., Oshiro, M., e Izumi, T.: studies on the "transfer factor" of tuberculin hypersensitivity in animals I Observation of successful passive transfer of tuberculin hypersensitivity with fractions of either disrupted alveolar macrophages or serum of sensitized or challenged rabbits. *J. Immun.* 93:838, 1964
- 101) Feldman, J.D., y Najarian, J.S.: skin homograft destruction by antibodies derived from sensitized lymphoid cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 120:21, 1964
- 102) Fishman, M., y Adler, P.: Antibody formation initiated in vitro. II Antibody synthesis in x-irradiated recipients of diffusion chambers containing nucleic acid derived from macrophages incubated with antigen. *J. Exp. Med.* 117:595, 1963
- 103) Fishman, M.: Antibody formation in vitro. *J. Exp. Med.* 114:837, 1961

- 104) Mannick, J.A., y Egdahl, R.H.: Transformation of non-immune lymph node cells to a state of transplantation immunity by RNA. A preliminary report. Amer. J. Surg. 156: 356, 1962
- 105) Askenas, E.A., y Rhodes, J.M.: Immunogenicity of antigen containing ribonucleic acid preparations from macrophages. Nature, 205: 470, 1965
- 106) Aronson, M.: Bridge formation and cytoplasmic <sup>flow</sup> between phagocytic cells. J. Exp. Med. 118: 1063, 1963
- 107) Schoenberg, M.D., Rupp, J.C., Moore, R.D., y Weissberger, A.S.: Cytoplasmic interaction between macrophages and lymphocytic cells in antibody synthesis. Science, 143:964, 1964
- 108) Smithies, O.: Antibody induction and tolerance. Science, 149:151, 1965