

16. Watkins, W. M.: *Blood-group substances*. Science. 152: 172, 1966.
17. Watkins, W. M.: *The possible enzymic basis of the biosynthesis of blood-group substances*. Tomado de: Proc. 3rd. Int. Congress of Human Genetics. Ed. por J. F. Crow y J. V. Neel. Baltimore, Johns Hopkins Press, 1967, p. 171.

## V

ESTUDIO SOBRE LAS ENZIMAS DE ORIGEN LEUCOCITARIO<sup>1</sup>

DR. MARIO SALAZAR-MALLÉN,<sup>2, 3</sup> Q.B.P. DAVID MITRANI-LEVY<sup>3</sup>  
Y DR. SERGIO R. ULLOA-LUGO<sup>3</sup>

DEBEMOS A DE DUVE el conocimiento de un sistema enzimático intracelular ampliamente extendido en los mundos vegetal y animal y que se caracteriza por su localización en un grupo definido de partículas citoplásmicas, conocidas con el nombre de lisosomas.<sup>1</sup>

Por definición estos organelos se asocian desde el punto de vista químico a diferentes hidrolasas, pero en la actualidad se sabe que con éstas pueden existir otras sustancias no enzimáticas, que interesan en los procesos de defensa antimicrobiana y en la inflamación<sup>2</sup> y que en la tabla 1 tomada de Weissmann<sup>3</sup> resumimos. Otras particularidades del sistema enzimático del que hablamos, están en que su efecto óptimo tiene lugar en un pH ácido, comparable al del interior celular<sup>4</sup> y que la ma-

yoría de los sustratos sobre los que actúa son parte constitutiva muy importante de las células y de los espacios extracelulares.

Ocasionalmente y en relación con la composición genética si se trata de individuos de la misma especie o cuando se estudian diferentes tejidos, pueden faltar alguna o varias de las enzimas mencionadas, ocurriendo también que se les encuentre fuera del lisosoma, en el retículo endoplásmico por ejemplo<sup>5</sup> pero sin soslayar estos casos, existen otros criterios, el anatómico y el funcional, que precisan el concepto de lisosomas.

En lo anatómico y aprovechando sobre todo la técnica histoquímica que revela las fosfatasa ácidas, Novikoff<sup>6</sup> comprobó que los lisosomas son organelos susceptibles de identificación *in vivo*, pues se tiñen con el rojo neutro y con ciertos compuestos fluorescentes y los aisló mediante la sedimentación de los extractos celulares, convenientemente homogeneizados.

<sup>1</sup> Presentado en el simposio sobre "Biología y patología de las enzimas", durante la sesión ordinaria del 12 de junio de 1968.

<sup>2</sup> Académico titular.

<sup>3</sup> Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas, Dirección de Investigación en Salud Pública, Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Para los fines del presente trabajo conviene adelantar que Weissmann y col.<sup>7</sup> han obtenido lisomas a partir de polinucleares humanos, que Goldberg<sup>8</sup> los localiza en la periferia del gránulo eosinófilo, que Cohn y col.<sup>9</sup> los encuentran en los macrófagos y que Hirschhorn y col.<sup>10</sup> verificaron la actividad fosfatasa ácida de los linfocitos en la zona del aparato de Golgi.

Funcionalmente los lisomas existen bien como gránulos cuyo contenido expresa su actividad al fundir su membrana con las vacuolas endocíticas (fagosomas) o bien como vacuolas autofágicas encerradas con otros elementos citoplásmicos como son el retículo endoplásmico, las mitocondrias y las vesículas de Golgi. En el primer caso el aparato lisosómico actúa sobre los materiales ingeridos por las células: virus, microbios, metabolitos, etc., mientras que en el segundo la intervención de sus hidrolasas resulta en la autodestrucción, fenómeno observado en casos de anoxia, en el ayuno, en el riñón al ligar el uretero, bajo la influencia de ciertas hormonas etc.

Como apunta Policard<sup>11</sup> en las células en equilibrio e íntegras estructuralmente existe un aparato lisosómico inactivo, aunque funcionalmente dispuesto para la activación, y que en los leucocitos está representando por las granulaciones leucocitarias y en los espermatozoides por el acrosoma.

En el laboratorio, la activación de las hidrolasas de las células hepáticas, se logra mediante la intervención de factores mecánicos (homogeneización mecánica), congelado y descongelado, ex-

posición de los gránulos a soluciones hipotónicas y en frío a soluciones de sales de sodio y de potasio, a la toxina estreptocócica, a los detergentes, etc. bajo cuya influencia resulta la liberación, casi siempre paralela, de cuando menos tres enzimas lisosómicas que son la beta glucuronidasa, la catepsina y la fosfatasa ácida.

Una vez que el aparato lisosómico termina su intervención, los restos de la digestión intracelular se advierten como cuerpos residuales, con materiales insolubles que el microscopio descubre por su carácter lípido bajo la forma de granulaciones anormales, del tipo de las que presentan los polinucleares en la enfermedad de Chediak<sup>12</sup> o que son eliminados al exterior mediante la exoplasmosis, descrita por Zucker-Franklin y Hirsch.<sup>13</sup>

#### IMPORTANCIA DE LOS LISOSOMAS EN PATOLOGÍA

Según De Duve<sup>14</sup> es constante encontrar en los cambios regresivos y en la necrosis la persistencia o aún un aumento de actividad de los lisomas, fenómeno que independientemente de la participación de diversos mecanismos permite involucrar al aparato lisosómico en los procesos fisiológicos de destrucción tisular y de muerte celular.

Sobre el particular y en lo que no se llega todavía a un acuerdo, está la cuestión de decidir si los lisomas actúan solamente una vez iniciados los fenómenos regresivos, o si su activación podría iniciarlos, actuando como una especie de "instrumento suicida".

Veamos a continuación, siquiera someramente, el comportamiento del aparato lisosómico en los casos mejor conocidos, dejando que futuras investigaciones nos dejen saber en definitiva el papel de tan interesantes organelos en el funcionamiento normal y patológico de las células y de los tejidos.

#### LOS LISOSOMAS Y LA FAGOCITOSIS

De acuerdo con las antiguas ideas de Metchnikoff, de Fiessinger<sup>15</sup> y las posteriores de Robineaux y Frederic,<sup>16</sup> Hirsch<sup>17</sup> y Cohn y col.<sup>18 a 20</sup> encontraron que la fagocitosis de las bacterias resulta en la desgranulación de los polinucleares y en la liberación intracelular de las enzimas del citoplasma. El fenómeno ocurre comparablemente si se trata de los macrófagos, pero éstos elementos, mucho más viables que los granulocitos, han permitido que los estudios verifiquen la relación cierta entre la pinocitosis, la formación de gránulos y la síntesis protéicas, que en éste caso es de hidrolasas.

#### LOS LISOSOMAS Y LA DEFENSA ANTIMICROBIANA

Mediante el empleo de bacterias doblemente marcadas con fósforo y con carbono radioactivo, Cohn<sup>18</sup> ha comprobado el efecto de las hidrolasas intracelulares sobre los componentes proteicos, nucleoproteicos y lípidos de algunas especies microbianas y Zeya y Spitznagel<sup>22</sup> continuando los trabajos de Cohn y Hirsch<sup>23</sup> han aislado de los lisosomas de los polinucleares del cobayo una proteína rica en arginina, identi-

cable con la fagocitina de los últimos, capaz de unirse con moléculas ácidas como son la heparina, el RNA y el DNA y que tiene un efecto microbicida para los gérmenes Gram positivos y negativos y para *Candida albicans*.

En otro aspecto, se sabe que algunas toxinas microbianas como son la estreptolisina oxígenoestable y la alfaestafilotoxina, provocan la ruptura de los lisosomas y solubilizan sus enzimas, fenómenos cuyas consecuencias pueden ser de carácter defensivo o hacer de eslabón en los supuestos procesos de autoinmunidad que acompañan a ciertas estreptococcias.<sup>24-25</sup>

Recordamos, por último, que de acuerdo con los trabajos de Allison y Malucci,<sup>26</sup> algunos virus despiertan la actividad lisosómica dando como resultado bien la inactivación viral o bien un efecto adverso citopático sobre la estructura celular.

#### LOS LISOSOMAS Y LA RESPUESTA FRENTE A OTROS TIPOS DE AGRESIÓN

En los casos de choque, sea éste traumático, hemorrágico o por endotoxinas y según Janoff y col.<sup>27</sup> Bitensky y col., Dumond y Weisman<sup>29</sup> y Reich y col.<sup>30</sup> existe, como en la isquemia y en la anoxia, una activación de los lisosomas, cuyas hidrolasas penetran a través de los linfáticos a la circulación general, dando lugar a la agresión tisular a distancia y a la ruptura de la homeostasis.

Pero el efecto lisosómico puede observarse también localizadamente, como ocurre en el caso de la involución uterina post-partum en la rata la cual se

acompaña de una invasión del tejido por macrófagos ricos en hidrolasas; en la inflamación, en la que de acuerdo con Janoff y Schaffer<sup>31</sup> el factor mediador de la liberación de las sustancias flogógenas contenidas en las células cebadas es un producto de los lisosomas, organelos que participan, en fin, en el fenómeno de Schwartzman, pues las granulaciones leucocitarias tienen actividad preparante del mismo.<sup>32</sup>

Tiene interés, por último, saber que Hollander y col.<sup>33</sup> explican la inflamación articular en la artritis reumatoide, argumentando que en estos casos se acumularían en el tejido sinovial formando complejos, el factor reumatoide y la gamma globulina agregada, mismos que al ser fagocitados por los polinucleares darían lugar a la formación de células "RA" y que despertarían la actividad de las hidrolasas de los lisosomas y con ello, el daño articular.

Ya hemos hablado de las relaciones entre la endocitosis y el paso de los virus, las bacterias y de otras sustancias heterólogas al fagolisosoma, lugar en el cual y de acuerdo con los estudios de Uhr y Weissmann<sup>34</sup> los fagos pierden su infectividad y aumentan su poder antigénico, suceso que podemos relacionar con lo comprobado químicamente por Fishman y col.<sup>35</sup> y verificado microscópicamente por Schonberg<sup>36</sup> sobre el papel mediador de los macrófagos en la preparación de las moléculas portadoras de la información antigénica antes de su captación por parte de las células anticuerpoformadoras.

Interesa también en relación con lo dicho, recordar la hipótesis de Allison

y Malucci<sup>37</sup> quienes tomando en cuenta el poder enzimático de las hidrolasas de los lisosomas, sostienen que los parásitos intracelulares, las toxinas microbianas y las radiaciones de corta longitud de onda, al activar los organelos que nos ocupan, hacen actuar sus enzimas sobre los componentes celulares o intersticiales y despiertan su capacidad como autoantígenos.

Diremos, terminando este capítulo, que las hidrolasas lisosómicas participan también en la anafilaxia local, ya que la fagocitosis de los complejos antígeno anticuerpo resulta en su liberación, que la leucopenia experimental impide el fenómeno de Arthus y que éste se produce mediante la inyección subcutánea de gránulos de los polinucleares.

#### LOS LISOSOMAS Y LA DIVISIÓN CELULAR

Se sabe que los procesos regenerativos se acompañan de importante actividad lisosómica y que la fitohemaglutinina, que es un poderoso estímulo del crecimiento y de la mitosis linfocitarias, produce un aumento de los granulos citoplásmicos ricos en fosfatasa ácida, fenómeno al cual sigue la síntesis de DNA y la división de la célula.<sup>38</sup> Lo que se discute es si en este caso las hidrolasas actúan proporcionando los materiales nutritivos<sup>39</sup> o si estimulan la mitosis rompiendo la pared nuclear.<sup>40</sup>

#### LOS LISOSOMAS Y LAS ENFERMEDADES

Pese al carácter ubicuo de los lisosomas, debemos convenir en que en el estado actual de nuestros conocimientos

tos su importancia patológica sólo tras-  
cendiendo al campo de la Patología Gene-  
ral, pues únicamente tratándose de unas  
cuantas enfermedades, como son la gli-  
cogenosis grupo II (enfermedad de  
Pompe), la enfermedad de Gaucher, en  
ciertos padecimientos musculares y ner-  
viosos (leucodistrofia metacromática) y  
en el síndrome de agotamiento de po-  
tasio, se ha hablado de un trastorno  
fundamental del aparato lisosómico.

En el síndrome de Chediak que  
White<sup>41</sup> considera una enfermedad liso-  
sómica, se observan en las granulacio-  
nes gigantes estigmas regresivos (figu-  
ras de mielina,<sup>42</sup> y señales de una ma-  
yor permeabilidad de su membrana, lo  
cual tendría como consecuencia la auto-  
inactivación enzimática y una menor  
protección en caso de invasión viral o  
microbiana.<sup>41</sup>

Recientemente, sin embargo, Carbo-  
ne<sup>43</sup> recordando los experimentos de  
Epstein y col. sobre la aspergilosis expe-  
rimental en el ratón, hacen ver la posi-  
bilidad de que en el caso de esta infec-  
ción en el hombre, la germinación de  
las esporas se produzca cuando la re-  
acción celular y enzimática en el pul-  
món esté inhibida, suceso que acontece,  
por ejemplo, en los tratamientos pro-  
longados con cortisona.

#### LOS LISOSOMAS Y LA CARCINOGENESIS

Allison<sup>44</sup> ha lanzado la hipótesis de  
que en la carcinogénesis participe una  
actividad lisosómica alterada, de acuer-  
do con las etapas siguientes:

Primera: absorción del factor carci-  
nógeno.

Segunda: su localización lisosómica.

TABLA I  
LAS SUSTANCIAS QUE SE  
ENCUESTRAN EN LOS  
LISOSOMAS

| <i>Enzimas:</i>   | <i>Otras:</i>                    |
|-------------------|----------------------------------|
| Fosfatasa ácida   | Fagocitina                       |
| Ribonucleasa      | Flogógena                        |
| Deoxiribonucleasa | Activadora del plasmí-<br>nógeno |
| Betaglucuronidasa | Factor de permeabi-<br>lidad     |
| Catepsina         |                                  |
| Hialuronidasa     |                                  |
| Colagenasa        |                                  |
| Lisozima          |                                  |

(Weissmann, 1965, abreviada)

Tercera: liberación de hidrolasas v  
en particular de RNasa y DNasa, y

Cuarta: efecto enzimático sobre el  
material nuclear y cambio de compor-  
tamiento del genoma, con multiplicación  
celular anormal.

Las ideas de Allison se apoyan en el  
conocimiento de que otros factores can-  
cerígenos como son las radiaciones pe-  
netrantes y algunos virus, son labilizan-  
tes de los lisosomas y también en virtud  
de que los hidrocarburos cancerígenos  
se localizan en los lisosomas y que algu-  
nos de sus metabolitos liberan las hidro-  
lasas y producen fenómenos de necrosis.

#### FARMACOLOGÍA DE LOS LISOSOMAS

Los lisosomas son susceptibles de es-  
tabilización y de labilización, mediante  
la influencia de factores físicos, quími-  
cos y biológicos, pero para los fines de  
la presente revisión, importa conocer  
su comportamiento "in vivo" y es por  
ello que, siguiendo a Weissmann<sup>45</sup>, a  
Allison<sup>46</sup> y a Dingle,<sup>47</sup> resumimos en la  
tabla 2, los conocimientos sobre este  
particular.

TABLA 2

FARMACOLOGÍA DEL APARATO  
LISOSOMICO*in vivo*

| <i>Labilización:</i> | <i>Estabilización:</i> |
|----------------------|------------------------|
| Vitamina "A"         | Corticoides            |
| Endotoxinas          | Cloroquina             |
| Estreptolisina "S"   | Factores séricos       |
| Complejos Ag/Ab      | Tolerancia inducida    |
| Virus                |                        |
| Endocitosis          |                        |
| Isquemia             |                        |
| Anoxia               |                        |
| Radiaciones          |                        |

(Weissmann, 1965, abreviado)

Véase cómo resultan estabilizantes de los lisosomas, los corticoides, los antimaláricos de síntesis (cloroquina) y la tolerancia producida con las endotoxinas; siendo labilizantes las radiaciones de corta longitud de onda, la anoxia, el choque, las infecciones (bacterianas o virales), la reabsorción tisular, la reacción antígeno/anticuerpo, la inanición, ciertos momentos de la vida celular (como son la endocitosis y la profase) y el contacto con la vitamina A.

El estudio de estos organelos resulta, entonces, muy interesante desde el punto de vista patológico, motivo por el cual decidimos investigar el contenido de los leucocitos de la sangre de tres hidrolasas lisosómicas: la fosfatasa ácida, betaglucuronidasa y catepsina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron determinaciones de cantidades de enzima en muestras de sangre de 202 individuos, siendo 31 de ellos sanos y el resto con diferentes tipos de padecimientos:

1. Padecimientos reumáticos: 39 con artritis reumatoide, con distintos grados de actividad; 33 con osteoartritis; 8 con artralgiás con foco de infección y antiestreptolisina en el suero superior a 1 000 U. Todd/ml.; 5 con artropatía gotosa; 4 con fiebre reumática.

2. Padecimientos infecciosos: 22 con tuberculosis pulmonar; 7 con lepra lepromatosa (uno de ellos en reacción).

3. Padecimientos parasitarios: 7 con oncocercosis.

4. Hemopatías (incluyendo linfomas); 11 con leucemia granulocítica crónica; 4 con leucemia aguda; 2 con paragranuloma de Hodgkin; 1 con granuloma de Hodgkin; 1 con linfoma de Hodgkin; 1 con reticulosarcoma; 1 con púrpura disproteinémica.

5. Padecimientos congénitos: 11 con síndrome de Down (mongolismo); 1 con "antimongolismo"; 1 con síndrome de Chediak.

6. Padecimientos de la colágena: 4 con lupus eritematoso diseminado; 2 con dermatomiositis.

7. Otros padecimientos: 5 con cirrosis hepática; 1 con nefrosis.

La sangre venosa se obtuvo en ayunas, heparinizada. Se preparó el plasma rico en leucocitos mediante centrifugación a 800 r.p.m. y se hizo el lavado de las células con solución salina a un pH de 7.4.

Como buscamos resultados comparables de la actividad enzimática para un número fijo de elementos celulares, procedimos a la cuenta de células nucleadas, ajustando su contenido a unas 5 000 a 6 000 por milímetro cúbico.

En una primera fase de nuestro estudio en la que abarcamos una serie de 16 individuos sanos y 63 enfermos, hicimos las determinaciones de enzimas siguiendo los métodos siguientes:

1. Fosfatasa ácida según Babson,<sup>48</sup> determinando la cantidad de fósforo inorgánico libre, en presencia de glicerofosfato.

2. Betaglucuronidasa mediante el método de Talalay,<sup>49</sup> siguiendo la variante de Kerr y Levy<sup>50</sup> a un pH de 4.8 e incubando 30 minutos.

3. Catepsina con el procedimiento de Anson, modificado por Gianetto<sup>51</sup> sin utilizar sacarosa.

Posteriormente y atendiendo las recomendaciones de la literatura y en toda nuestra segunda serie de muestras, utilizamos para determinar la fosfatasa ácida, el método de Bessey y Lowry,<sup>52</sup> más sensible, e hicimos la lectura para el caso de la betaglucuronidasa después de incubar durante 24 horas.

Nuestros resultados no son, pues, comparables en su totalidad, sino en relación con la serie correspondiente y los expresamos en unidades en relación con el tiempo de incubación y por millón de células.

## RESULTADOS

El poder enzimático que encontramos en los sujetos sanos dista mucho de ser constante. Advirtiéndose una mayor uniformidad tratándose de los valores para la fosfatasa ácida, en las muestras pertenecientes a la segunda serie: 0.75 (D.E. 0.41) para el primer grupo y 4.15 (D.E. 1.0) para el segundo.

Las variaciones en el caso de la beta-glucuronidasa fueron también considerables 4.25 U (D.E. 2.31) y 160.5 U (D.E. 52), respectivamente, para las series N° 1 y N° 2.

En el caso de la catepsina ocurre lo mismo, y todavía más, utilizando el mismo procedimiento los valores promedio resultaron importantemente diferentes en las dos series lo cual, podemos decir, se debe a que las obtenidas en cada grupo de experimentos cambian en función de la preparación en cada vez del sustrato. Los promedios en nuestras series fueron para esta enzima de 27.7 U (D.E. 9.0) y 13.95 (D.E. 6.0), respectivamente, para las series primera y segunda.

En los casos patológicos y según puede verse en las tablas 3, 4 y 5, se encontró un muy franco aumento de la actividad enzimática en las enfermedades reumáticas (Tabla 3) y, sobre todo, en la artritis reumatoide activa, con valores promedio máximos para las tres enzimas: como sigue: fosfatasa ácida 8.54 U (el doble); betaglucuronidasa 258.7 U (poco menos del doble) y catepsina 41.2 U (el triple), siendo los promedios más bajos, pero aún elevados en comparación con los normales, en caso de inactividad: 7.8 U, 196.0 U y 25.6 U, respectivamente.

Los valores promedio resultaron también uniformemente elevados tratándose de la gota, con un máximo de 380.5 U en el caso de la betaglucuronidasa y la misma tendencia se advirtió en los ejemplos de algias por foco de infección estreptocócico: cifras promedio de 9.3 U, 237.6 U y 29.6 U, respectiva-

TABLA 3  
HIDROLASAS LEUCOCITARIAS EN PADECIMIENTOS REUMATICOS  
(SERIE 2)

|                               | Núm. | Fosfatasa*    | $\beta$ Glucuronidasa* | Catepsina*       |
|-------------------------------|------|---------------|------------------------|------------------|
| Sanos                         | 15   | 4.15 d.e. 1.0 | 160.5 d.e. 52          | 13.95 d.e. 6.0   |
| A. reumatoide activa (III-IV) | 10   | 8.54          | 1.9 258.7              | 26.4 41.20 11.4  |
| A. reumatoide                 | 29   | 7.8           | 4.0 196.0              | 121.0 25.60 15.2 |
| Artralgias strep.             | 3    | 9.3           | — 237.6                | — 29.6           |
| F. reumática                  | 4    | 12.6          | — 275.6                | — 35.0           |
| A. gotosa                     | 5    | 6.3           | — 300.0                | — 18.8           |
| Osteoartritis                 | 33   | 5.9 d.e. 2.7  | 179.5 d.e. 105         | 20.8 d.e. 11.0   |

\* En unidades y por millón de células (promedios).  
d.e. = desviación estándar.

mente para la fosfatasa, la betaglucuronidasa y la catepsina, mientras que la elevación fue más discreta en la osteoartritis (5.9 U; 179.5 U y 20.8 U).

En los padecimientos infecciosos y parasitarios tomando como tipo la tuberculosis, la lepra y la oncocercosis (Tabla 4), se presentaron algunos cambios de interés con aumento del título de la catepsina en la primera (valor promedio normal 27.7 U y promedio en los enfermos de 82.5 U).

En los leprosos (variedad lepromatosa todos) los niveles enzimáticos arrojaron valores promedio dentro de lo normal, pero en un enfermo con reacción leprosa acompañada de fenómenos inflamatorios importantes, los valores

para todas las enzimas tendieron al aumento, llegando el de la betaglucuronidasa al triple (normal 4.25 U, en el enfermo 11.6 U). En los oncocercosis, en fin, las cifras promedio para la fosfatasa ácida y para la catepsina resultaron elevadas, siendo de 1.37 U (más del doble), para la primera y de 46.2 U (el triple) para la segunda, sin que hubiera cambios de la betaglucuronidasa.

En los 4 casos de enfermedad de Hodgkin (2 de paragranuloma, 1 de granuloma y el último de linfoma) los promedios resultaron bajos, sobre todo tratándose de la betaglucuronidasa, cuya actividad no se encontró en el granuloma y en el linfoma (Tabla 4).

TABLA 4  
HIDROLASA LEUCOCITARIA EN DIVERSOS PADECIMIENTOS  
(SERIE 1)

|                | Núm. | Fosfatasa*    | $\beta$ Glucuronidasa* | Catepsina*    |
|----------------|------|---------------|------------------------|---------------|
| Sanos          | 16   | 0.75 d.e. 0.4 | 4.25 d.e. 2.31         | 27.7 d.e. 9.0 |
| TBC pulmonar   | 22   | 0.99 0.09     | 7.20 0.40              | 82.5 5.5      |
| R. leprosa     | 1    | 0.82          | 11.60                  | 30.1          |
| Oncocercosis   | 7    | 1.37          | 6.7                    | 46.2          |
| Leucemia aguda | 4    | 0.65          | 3.77                   | 8.2           |
| Enf. Hodgkin   | 4    | 0.62          | 0.97                   | 7.87          |

\* En unidades y por millón de células (promedios).

TABLA 5  
HIDROLASAS LEUCOCITARIAS EN GRUPO MIXTO DE CASOS  
(SERIE 2)

|                     | Núm. | Fosfatasa*    | $\beta$ Glucoronidasa* | Catepsina*   |
|---------------------|------|---------------|------------------------|--------------|
| Sanos               | 15   | 4.15 d.e. 1.0 | 160.5 d.e. 52          | 13.95 d.e. 6 |
| Síndrome de Down    | 11   | 7.6 1.8       | 189.0 26.6             | 17.20 3.5    |
| Antimongolismo      | 1    | 9.2           | 200.0                  | 24.8         |
| S. Chediak          | 4    | 6.8           | 167.0                  | 48.4         |
| Lupus sistematizado | 4    | 6.8           | 198.8                  | 14.4         |

\* En unidades y por millón de células (promedios).

En el síndrome de Chediak verificamos un interesante aumento de la catepsina (48.4 U en comparación del valor normal para la serie 2 de 13.9 U), con valores normales para las otras dos enzimas. No observamos cambios significativos de los valores enzimáticos en el síndrome de Down (tendencia al aumento) ni en un caso de antimongolismo (Tabla 5).

En las enfermedades de la colágena (lupus sistematizado, dermatomiositis), en los casos de cirrosis hepática y en el de nefrosis, las cifras enzimáticas resultaron dentro de lo normal, debiendo asentarse que el número de muestras examinado fue muy corto.

#### COMENTARIO

A la luz de los datos obtenidos podemos concluir que el poder enzimático de los lisosomas leucocitarios refleja con su aumento las alteraciones tisulares que se acompañan de destrucción, fenómeno notable sobre todo en los procesos reumáticos y, muy significativamente, en el grupo de algias con proceso estreptocócico, observación que invita a recordar el importante efecto labilizante que los productos del estreptococo

humano tienen sobre el aparato lisosómico.

En la tuberculosis, tanto como en los reumatismos, existe el componente de la destrucción tisular que es parte del proceso inmune y en la lepra lepromatosa sin reacción, cuya evolución es tórpida, las cifras de enzimas se conservaron dentro de los límites aceptados, no siendo así en caso de reacción leprosa, misma que se caracteriza por intensa reacción inflamatoria, a su vez relacionable por la influencia de otro factor labilizante del aparato lisosómico y que es la presencia de complejos antígeno anticuerpo en la circulación.<sup>53</sup>

Queremos comentar como caso especial el de la oncocercosis, pues aquí se conjugan factores de agresión como es el de la presencia de microfilarias en la dermis con fenómenos de destrucción local, resultantes verosíblemente de la digestión extracorpórea por parte del parásito,<sup>54</sup> la leucocitosis característica de las etapas de destrucción del parásito y la respuesta inmune, atestiguada por la constante y elevada eosinofilia.

En las hemopatías la tendencia a valores enzimáticos bajos y a disociación de las cifras de los mismos llegando en unos cuantos a la falta de betaglucuro-

nidasa, puntualiza el defecto celular y la inmadurez de los elementos circulantes, sugiriendo que en función de la última ocurra el fenómeno de aparición enzimática en etapas, quedando la última atestiguada por la síntesis de la betaglucuronidasa.

En las enfermedades con anomalías de los cromosomas 21-22 (mongolismo y antimongolismo) faltó el aumento o la disminución respectivamente, de las hidrolasas leucocitarias, el que de haberse verificado hubiera constituido un argumento en favor de la presencia de los genes participantes en la síntesis de las enzimas de las que estamos hablando, en el material genético defectuoso.

En el síndrome de Chediak verificamos un aumento de la cifra de la catepsina de casi el triple (48.4 U), con cifras dentro de lo normal para las restantes, dato que nos hace pensar que en estos casos en los que se conoce el déficit de la defensa antimicrobiana, el factor involucrado, de estar en los leucocitos circulantes, consista no en una disminución del poder enzimático, sino más bien en una falla en la movilización de las hidrolasas.

Ni en las enfermedades de la colágena (lupus sistematizado, dermatomiositis), en la cirrosis hepática y en la nefrosis, no encontramos valores enzimáticos significativamente anormales, fenómeno que tratándose de las primeras, en las que existe un indudable componente de autodestrucción, nos invita a pensar en la influencia del tratamiento con corticoides, factor estabilizante de aparato lisosómico. Pero nos apresuramos a advertir que en todos estos

ejemplos lo procedente será llevar al cabo nuevos estudios, que abarquen mayor número de casos y comprendan con el diagnóstico, datos en relación con la evolución clínica y con el tratamiento.

### CONCLUSIONES

1. Se hizo la determinación de la fosfatasa ácida, de la betaglucuronidasa y de la catepsina leucocitarias en 31 muestras de sangre de individuos sanos y en 171 con diversos padecimientos.

2. Se encontró aumento de los valores enzimáticos en los padecimientos reumáticos y, sobre todo, en la artritis reumatoide activa, en la gota y en las algias con foco de infección estreptocócica.

3. En la tuberculosis pulmonar y en la oncocercosis observamos valores altos; no así en la lepra lepromatosa, salvo en el caso de un paciente con reacción leprosa.

4. En las hemopatías (leucemias agudas, crónicas granulocíticas y en la enfermedad de Hodgkin), los valores fueron más bien bajos, dándose cuatro casos con disociación del poder enzimático, pues no se encontró actividad betaglucuronidasa, cuando la había para fosfatasa ácida y la catepsina.

5. En la enfermedad de Down y en un caso de "antimongolismo" los valores enzimáticos variaron dentro de límites compatibles con lo normal.

6. En un caso de síndrome de Chediak encontramos un aumento del título de la catepsina, con valores normales para las otras dos enzimas.

En vista de los resultados obtenidos,

concluimos que la actividad hidrolásica de los leucocitos expresa con su aumento la destrucción de los tejidos y al disminuir, la inmadurez funcional de las células sanguíneas.

## REFERENCIAS

1. De Duve, C.: *Lysosomes, new group of cytoplasmic particles*. En: Subcellular particles: A symposium held during the meeting of the Society of General Physiologists at the Marine Biological Laboratory Woodhole, Mass. T. Hayashi, New York, Ronald, 1959, p. 128.
2. Zeya, H. I. y Spitznagel, J. K.: *Antibacterial and enzymatic basic proteins from leucocytes lysosomes: Separation and identification*. Science 142: 1085, 1963.
3. Weissman, G.: *Medical progress: Lysosomes*. New Eng. J. of Med. 273: 1084, 1965.
4. Rous, P.: *The relative reaction within living mammalian tissues. I. General features of vital staining with litmus*. J. Exp. Med. 41: 379, 1925.
5. Fishman, W. H., Goldman, S. S. y De Lellis, R.: *Dual localization of betagluconidase in endoplasmic reticulum and in lysosomes*. Nature 213: 457, 1967.
6. Novikoff, A. B.: *Lysosomes*. Ed. De Reuck, A. V. S. y Cameron, M. P. Boston, Little Brown and Co, 1963.
7. Weissmann, G.: Cit. por Thomas: *International symposium on injury, inflammation and immunity*. Baltimore. Williams & Wilkins. 1964, p. 449.
8. Goldberg, A. F.: *Acid phosphatase in leukocytes of normals patients with toxic infections states, infectious mononucleosis, eosinophilic and auer bodies*. Fed. Proc. 21: 74, 1962.
9. Cohn, Z. A., Fedorko, E. M., Hirsch, G. J.: *The in vitro differentiation of mononuclear phagocytes*. J. Exp. Med. 123: 757, 1966.
10. Hirschhorn, R., Kaplan, J. M., Goldberg, A. F., Hirschhorn, K. y Weissmann, G.: *Acid phosphatase-rich granules in human lymphocytes induced by phytohemagglutinin*. Science 147: 55, 1965.
11. Policard, A.: *Le probleme des lysosomes*. Rev. Frand. d'Hematol. 5: 663, 1965.
12. Bessis, M., Bernard, J. y Seligmann, M.: *Etude cytologique d'un cas de maladie de Chediak*. Nouv. Rev. Franc. Hematol. 1: 422, 1961.
13. Zucker-Franklin, D., Hirsch, J. G.: *Electron microscope studies on the degeneration of rabbit peritoneal leukocytes during phagocytosis*. J. Exper. Med. 120: 569, 1964.
14. De Duve, C.: *Lysosomes and cell injury*. En: International symposium on injury, inflammation and immunity. Ed. L. Thomas y cols. Baltimore, Williams & Wilkins, 1964, p. 283.
15. Fiessinger, N.: *Les ferments des leucocytes en physiologie, pathologie et therapeutique generales*. Paris, Masson et Cie. Ed., 1923.
16. Robineaux, J. y Frederic, J.: *Contribution à l'etude des granulations neutrophiles des poly-nucleaires par la microcinematographie en contraste de phase*. Compt. Rend. Soc. Biol. 149: 486, 1955.
17. Hirsch, J. G.: *Cinemicrophotographic observations on granule lysis in polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis*. J. Exp. Med. 116: 827, 1962.
18. Cohn, Z.A. y Wiener, E.: *Particulate hydrolases of macrophages I Comparative enzymology isolations and properties*. J. Exp. Med. 118: 991, 1963.
19. Cohn, Z. A. y Benson, B.: *The in vitro differentiation of mononuclear phagocytes II. The influence of serum on granule formation, hydrolase production and pinocytosis*. J. Exp. Med. 121: 835, 1965.
20. Cohn, Z.A. Fedorko, M.E., Hirsch J. G.: *The invitro differentiation of mononuclear phagocytes. V. The formation of macrophage lysosomes*. J. Exp. Med. 123: 757, 1966.
21. Cohn, Z. A.: *The fate of bacteria within phagocytic cells*. J. Exp. Med. 117: 27, 1963.
22. Zeya, H. I. y Spitznagel, J. K.: *Antibacterial and enzymatic basic proteins from leucocytes lysosomes: Separation and identification*. Science 142: 1085, 1963.
23. Cohn, Z. A. y Hirsch, G. J.: *The isolation and properties of the specific cytoplasmic granules of rabbit polymorphonuclear leukocytes*. J. Exp. Med. 112: 983, 1960.
24. Keiser, H., Weissmann, G. y Bernheimer, A. W.: *Studies on lysosomes. IV. Solubilization of enzymes during mitochondrial swelling and disruption of lysosomes by streptolysin S and other*

- hemolytic agents.* J. Cell. Biol. 22: 101, 1964.
25. Bernheimer, A. W. y Schwartz, L. L.: *Lysosomal disruption by bacterial toxins.* J. Bact. 87: 1100, 1964.
  26. Allison, A. C. y Maluci, L.: *Histochemical studies of lysosomes and lysosomal enzymes in virus-infected cell cultures.* J. Exp. Med. 121: 463, 1965.
  27. Janoff, A., Weissmann, G., Zweifach, B. W. y Thomas, L.: *Pathogenesis of experimental shock. IV. Studies of lysosomes in normal and tolerant animals subjected to lethal trauma and endotoxemia.* J. Exp. Med. 116: 451, 1962.
  28. Bitensky, L., Chayer, J., Cunningham, I. v Fine, J.: *Behaviour of lysosomes in haemorrhagic shock.* Nature (London) 199: 493, 1963.
  29. Dumont, A. E. y Weissmann, G.: *Lymphatic transport of beta-glucuronidase during haemorrhagic shock.* Nature (London) 201: 1231, 1964.
  30. Reich, T., Brecknell, M. D. y Reynolds, B. M.: *Plasma cathepsin like acid proteinase activity during hemorrhagic shock.* J. Surg. Res. 5: 116, 1965.
  31. Janoff, A., Schaefer, S.: *Mediators of acute inflammation in leucocyte lysosomes.* J. B. C. 213: 144, 1967.
  32. Thomas, L.: *Possible role of leucocyte granules in Schwartzman and Arthus reactions.* Proc. Soc. Exper. Biol. & Meod. 115: 235, 1964.
  34. Uhr, J. W. y Weissmann, G.: *Intracellular distribution and degradation of bacteriophage in mammalian tissues.* J. Immunol. 94: 544, 1965.
  35. Fishman, M., Hammerstrom, R. A. y Bond, V. P.: *In vitro transfer macrophage RNA to lymph node cells.* Nature (London). 198: 549, 1963.
  36. Schonberg, M. D., Mumaw, V. R., Moore, R. D., Weisberger, A. S.: *Cytoplasmic interaction between macrophages and lymphocytic cells in antibody synthesis.* Science 143: 964, 1964.
  37. Allison, A. C. y Mallucci, L.: *Lysosomes in dividing cells, with special reference to lymphocytes.* Lancet 2: 1371, 1964.
  38. Hirschhorn, R., Kaplan, J. M. Goldberg, A. F., Hirschhorn, K. y Weissmann, G.: *Acid phosphatase-rich granules in human lymphocytes induced by phytohemagglutinin.* Science. 147: 55, 1965.
  39. Hirschhorn, K. y Hirschhorn, R.: *Role of lysosomes in the lymphocyte response.* Lancet. 1: 1046, 1965.
  40. Dumonde, D. C.: *Lysosomes in immunological phenomena.* Proc. Roy. Soc. of Med. 59: 873, 1966.
  41. White, J. G.: *The Chediak syndrome a possible lysosomal disease.* Blood. 28: 143, 1966.
  42. Bessis, M. Bernard, J. y Seligman M.: *Etude cytologique d'un cas de maladie de Chediak.* Nouv. Rev. Franc. de Hematol. 1: 422, 1961.
  43. Carbone, P.P.: *Lysosomes, cortisone and aspergillus.* Ann. of Int. Med. 68: 708, 1968.
  44. Allison, A. C.: *The role of lysosomes in pathology. Introduction.* Proc. Roy. Soc. of Med. 59: 867, 1966.
  45. Weissmann, G.: *Medical progress: Lysosomes. Lysosomes and disease.* New Engl. J. Med. 273: 1143, 1965.
  46. Allison, A. C.: *The role of lysosomes in pathology. The possible role of lysosomes in carcinogenesis.* Proc. Roy. Soc. Med. 59: 871, 1966.
  47. Dingle, J.T.: *The role of lysosomes in pathology. The effect of sugars on the synthesis and release of lysosomes enzymes.* Proc. Roy. Soc. Med. 59: 871, 1966.
  48. Babson, L.A. y Read, P.A.: *A new assay for prostatic acid phosphatase in serum.* Amer. J. Clin. Path. 32: 1, 1959.
  49. Talalay, P., Fishman, W.H. y Huggins, C.: *Cit. por Gianetto, R. y De Duve C. (51).*
  50. Kerr, L.M. y Levvy, G.A.: *Biochem. J. 48: 209, 1951. Cit. por Gianetto y De Duve, 51.*
  51. Gianetto, R., y De Duve, C.: *Tissue fractionation studies. 4. Comparative study of the binding of acid phosphatase, B-glucuronidase and cathepsine by rat-liver particles.* Biochem. J. 59: 435, 1955.
  52. Lessey, A.A., Lowry, A.H. y Brock, M.J.: *A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic milliliters of serum.* J. Biol. Chem. 164: 321, 1946.
  53. Salazar Mallén, M., y Estrada Parra, S.: *Estudios inmunológicos en la lepra humana.* Sal. Púb. Méx. 7:, 1965.
  54. Salazar Mallén, M., Chávez Z.A., Calderón M. S., Ortiz y Ortiz L., Arias, F.T. y González, B.D.: *Mecanismo del choque terapéutico.* Sal. Púb. Méx. 6: 1055, 1962.