

# Mecanismos de daño neutrófilo-oxígeno en la lesión de isquemia y reperfusión.

## Manipulaciones farmacológicas

LUIS HORACIO TOLEDO-PEREYRA\*

*Este trabajo estudia la lesión de isquemia/reperfusión (I/R) en relación a la producción de radicales libres, a través de neutrófilos activados. Es bien conocido que cambios fisiopatológicos y bioquímicos, participan directamente en la lesión tisular producida por la interacción leucocito/oxígeno. Manipulaciones farmacológicas orientadas a eliminar el efecto dañino de los radicales libres ocupan un lugar muy significativo en el manejo de la lesión de I/R. Compuestos como alopurinol, adenosina, naloxona, corticosteroides, metilurea y otros, han demostrado un efecto protector durante la lesión de I/R. Aunque no se conoce el mecanismo de acción exacto de estos compuestos, es posible que su efecto como aceptadores de radicales libres, producidos seguramente por los neutrófilos activados, sea el factor protector más importante. El mejor entendimiento del fenómeno de I/R, permitirá proteger el órgano lesionado en forma más completa.*

**CLAVES:** Isquemia, lesión de reperfusión, interacción leucocito/oxígeno, alopurinol, adenosina, naloxona, corticosteroides.

### SUMMARY

*This work studies the ischemic/reperfusion injury (I/R) in relationship to the production of free radicals from activated neutrophils. It is well known, that biochemical and physiopathological alterations participate in the tissue lesion produced by the interaction oxygen/leukocyte. Pharmacological manipulations, oriented to eliminate the harmful effect of the free radicals, remain as the most significant event in the management of the I/R injury. Compounds such as allopurinol, adenosine, naloxone, corticosteroids, methylurea, and others, have demonstrated a protective effect during the I/R injury. Although, the mechanism of action of these compounds is unknown, it is possible that the free radical scavenging effect, could be the most important protective mechanism. The better understanding of the I/R injury would allow for a better protection of the damaged organ.*

**KEY WORDS:** Ischemia, Reperfusion injury, oxygen/leukocyte interaction, allopurinol, adenosine, naloxone, corticosteroids.

Trabajo de ingreso presentado en sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, el 31 de octubre de 1990.

\* Académico numerario. Departamento de Investigación y Trasplantes, Borgess Medical Center, Kalamazoo, Mich., U.S.A.

## Introducción

Nuestro estudio de la lesión de isquemia y reperfusión (I/R) se inició en 1973 en los laboratorios de la Universidad de Minnesota, cuando por primera vez observamos el efecto de sustancias inhibidoras de la reacción xantino-oxidasa en la protección de riñones de perro sometidos a isquemia caliente y trasplante subsecuente.<sup>1</sup>

La lesión de I/R representa un fenómeno biológico-patológico complejo cuya comprensión requiere del conocimiento profundo de las alteraciones bioquímicas y fisiopatológicas del órgano lesionado. Esto permite manipulaciones terapéuticas apropiadas para el manejo de la lesión.

Estudios previos han confirmado las alteraciones fisiopatológicas que ocurren durante la lesión de isquemia y reperfusión.<sup>1-12</sup> Además mediante el uso de alopurinol y otras sustancias aceptadores de radicales libres, como la catalasa, la superóxido-dismutasa y la naloxona, entre muchas, se ha modificado el daño por I/R.<sup>1-12</sup>

A los cambios circulatorios que por definición ocurren en la lesión de I/R, se añaden otras alteraciones producidas por ciertos componentes de la sangre, como los leucocitos polimorfonucleares (PMNs) que intensifican el grado de lesión tisular. Durante la primera etapa de la lesión de reperfusión la migración e infiltración de PMNs y de neutrófilos ocupan un papel muy importante (fig. 1). En el pasado no se había indicado directamente que la lesión de I/R estuviera asociada a los neutrófilos; recientemente se ha acumulado evidencia suficiente para explicar la relación causal de los neutrófilos con la lesión de I/R.<sup>13</sup> Así los estudios iniciales,

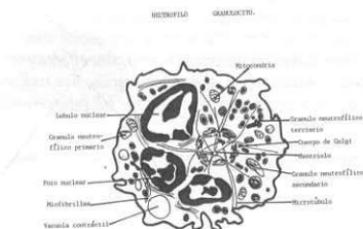


Figura 1. Concepción artística de las características morfológicas del neutrófilo. Nótese los tres tipos de gránulos y el detalle de la mitocondria y aparato de Golgi

aunque a través de un mecanismo diferente, adquieran mayor importancia para entender y manejar la lesión de I/R.

Este trabajo estudia por un lado los mecanismos de acción de los neutrófilos y la producción de radicales libres de oxígeno en la lesión de I/R y por otro plantea el uso del alopurinol, naloxona, adenosina y otras sustancias de importancia similar para reducir el daño tisular.

## Neutrófilos y lesión tisular

Al empezar la lesión de I/R los neutrófilos sufren alteraciones funcionales y bioquímicas capaces de producir daño tisular. La presencia de neutrófilos en áreas sometidas al daño de I/R es el mecanismo de daño celular primario más importante.<sup>13-16</sup> (figs. 2,3) Como respuesta al fenómeno de I/R los PMNs se activan por mediadores quimiotácticos o por complejos antígeno anticuerpo (Ag-Ac) a receptores específicos en la membrana celular<sup>13-16</sup> (fig. 4).

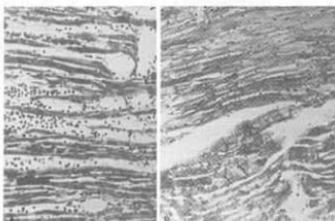


Figura 2. Obsérvese la respuesta del miocardio de perro, tratado con suero antineutrófilico o sin él. Es evidente la presencia de neutrófilos en animales no tratados (A). En cambio, el tratamiento modificó la respuesta neutrófila (B)<sup>17</sup>

Los receptores neutrófilos reaccionan con la porción Fc de la IgG o de la IgM, con complemento C5a, C3b y C3bi, con metabolitos del ácido araquidónico (leucotrina B4) o con péptidos quimiotácticos de bajo peso molecular.<sup>13,14,20</sup> Estos neutrófilos activados liberan enzimas lisosómicas capaces de producir cambios proteolíticos y daño tisular severo<sup>17</sup> (fig. 5). Además producen radicales libres de oxígeno como el peróxido de hidrógeno, el radical oxidrilo, el  $O_2^-$ , y el  $O_2^{\cdot}$ .

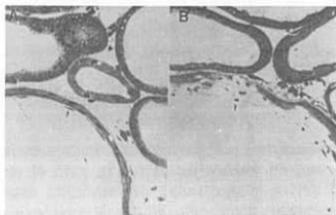


Figura 3. Se muestra un efecto muy claro en la acción de los neutrófilos en la lesión de I/R. La fotografía A muestra un riñón perfundido sin neutrófilos; en cambio, la fotografía B es indicativa de daño neurotrófico<sup>18</sup>

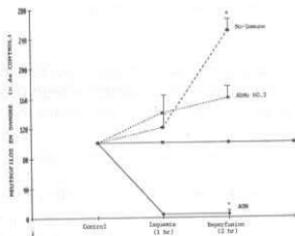


Figura 4. La respuesta de los neutrófilos en sangre periférica al tratamiento con anticuerpos monoclonales (MoAb 60.3), con suero no inmune y con anticuerpos a los neutrófilos de gato (ASN), es por sí misma demostrativa de la desaparición de estas células blancas después del tratamiento inmunológico específico<sup>20</sup>

### Producción de radicales libres por neutrófilos activados

Es evidente que los radicales libres participan en el desarrollo de las lesiones microvascular y parenquimatosa.<sup>13,14,22,23</sup> Los neutrófilos activados inician el daño tisular a través de producción radical libres; la liberación de enzimas granulares dentro del fagolisoma activa la fagocitosis por medio de la oxidasa del NADPH en la membrana celular.<sup>13,14,22,23</sup> La oxidasa del NADPH re-

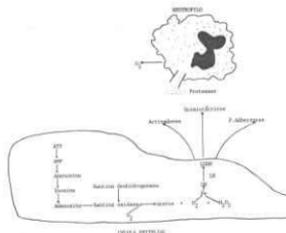
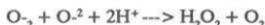


Figura 5. Concepción mecánica del papel de los neutrófilos en la lesión de I/R en el intestino.<sup>22</sup> Atención especial es dada a la xantina-oxidasa y los componentes derivados de su acción

duce el oxígeno molecular a anión superóxido.<sup>24</sup> El anión superóxido tiene dos electrones sin aparear en su orbital externo y puede funcionar como antioxidante si gana un electrón, produciendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o como un reductor si lo pierde y es oxidado a O<sub>2</sub>, que da por resultado la reacción de dismutación:



El oxígeno que utilizan las células contiene una metaloenzima, la superóxido-dismutasa (SOD), que favorece la dismutación a pH neutro.<sup>25</sup>

Se ha observado que el hierro tiene capacidad de actuar como agente *redox* para alterar la naturaleza de los metabolitos del oxígeno derivados de los leucocitos o de otras fuentes<sup>26,27</sup> (Cuadro 1). Bucher y col<sup>28</sup> reportaron que la peroxidación lipídica ocurre en presencia del ión ferroso, pero para que este proceso ocurra se requiere ión férrico. Con esto se propone que los complejos ferroso-dioxígeno-férrico inician la peroxidación lipídica y la lesión tisular.<sup>29,31</sup> En este proceso se activa el complemento que resulta de la activación de leucocitos, generación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y su conversión de OH, todo en presencia de hierro, lo que produce el daño a los tejidos.<sup>32,33</sup>

### Cambios básicos de los neutrófilos activados

En la respuesta oxidativa de los neutrófilos antes esbozados, éstos transforman oxígeno molecular en radicales de anión superóxido, de hidroxilo y posiblemente de oxígeno.<sup>34</sup> Los neutrófilos activados también utilizan

Cuadro 1

Reacciones involucradas en los metabolitos de oxígeno reactivos producidos por células fagocíticas (27)	
Reducción de oxígeno molecular:	
$O_2 - e^- \rightarrow O_2^-$	Anión superóxido
Dismutación de $O_2^-$ :	
$O_2^- - O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$	Peróxido de hidrógeno
Reacción de Haber-Weiss:	
$H_2O_2 - O_2^- \rightarrow OH^- + OH^\cdot$	Radical hidroxilo
Reacción de Fenton (Hierro catalizado):	
$H_2O_2 - Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\cdot$	Radical hidroxilo
Reacción mieloperoxidasa:	
$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \rightleftharpoons H_2O + HOCl$	Acido hipocloroso

oxígeno molecular durante la fagocitosis y transforman los ácidos grasos insaturados en compuestos biológicamente activos, tales como endoperoxidasas, prostaglandinas estables, tromboxanos, ácidos hidroxilos e hidroperóxidos y leucotrienas.<sup>23</sup>

Calcio, magnesio y potasio son necesarios para la activación neutrofilica y la descarga lisosomal de las vacuolas fagocíticas (degranulación).<sup>23</sup>

Los neutrófilos son los mediadores primarios de la lesión de I/R en la microvasculatura.<sup>35-37</sup> La invasión de los neutrófilos se lleva a cabo a través de dos mecanismos: 1) la exacerbación de la lesión isquémica a nivel de la microvasculatura y 2) la liberación de sustancias citotóxicas al endotelio o al parenquima celular.<sup>19</sup> Los neutrófilos se adhieren al endotelio microvascular para migrar luego hacia los sitios de inflamación, lo que puede ser un factor crítico en la patogénesis de la lesión vascular asociada a la infiltración neutrofilica.<sup>19</sup>

Al activarse los neutrófilos se libera una gran cantidad de toxinas no oxidativas como proteasas, proteínas catiónicas y colagenasas, las cuales son capaces de dañar uno o más de los componentes microvasculares.<sup>19</sup>

Los radicales libres producidos por la xantino-oxidasa generan factores quimiotácticos después de metabolizar el ácido araquidónico.<sup>15,16</sup> Además de esta vía de producción de radicales libres, existe la ruta de la mieloperoxidasa.<sup>38</sup> Cuando se secuestran neutrófilos en un órgano, se libera un gran número de agentes vasoactivos

y citotóxicos que lo destruyen. Este efecto produce cambios en la permeabilidad capilar, pérdida de arquitectura e histopatología normales y alteraciones de la resistencia vascular del órgano.

### Protección farmacológica

#### Alopurinol

Toledo-Pereyra y col<sup>1</sup> fueron los primeros en incluir alopurinol en medios de perfusión para el manejo global del trasplante renal, promoviendo usar esta sustancia para proteger los riñones sometidos a isquemia antes del trasplante. No se conocía el mecanismo de acción, suponía que el aumento de hipoxantina y xantina proporcionaba una fuente de bases púricas que a su vez aumentaban la formación de ATP.<sup>1</sup> Se pensaba que la protección durante la isquemia ocurría a través de la producción y mantenimiento de compuestos de alta energía.

En estudios recientes se ha observado que el alopurinol actúa principalmente aceptando radicales hidroxilo.<sup>19</sup> Esta acción indujo a usar compuestos similares que permitieran bloquear la reacción neutrófilo-oxígeno.<sup>20</sup>

Durante la isquemia se rompe el ATP, decae a inosina y posteriormente a hipoxantina. Bajo condiciones anaeróbicas, la xantino-deshidrogenasa convierte a xantino-oxidasa y ésta forma xantina,  $O_2$ ,  $H_2O_2$  y  $OH^\cdot$ . El alopurinol, como inhibidor de la xantino-oxidasa, bloquea esta reacción. La superóxido-dismutasa (SOD) en cambio cataliza la reacción del radical superóxido a HO y catalasa y el radical hidroxilo es convertido a agua.<sup>2,3,5,7,39</sup> Tanto el alopurinol con la SOD evitan la infiltración neutrofilica inducida por la lesión de I/R.<sup>20</sup> Estas observaciones sugieren que la xantino-oxidasa deriva de los metabolitos de oxígeno reactivo, juega un papel importante en la infiltración neutrofilica inducida por la lesión de I/R.<sup>20</sup>

Se ha observado efecto protector del alopurinol en el choque hipovolémico pues disminuye la traslocación bacteriana,<sup>40</sup> reduce la vasoconstricción compensatoria, sobre todo la del lecho espláncico y los riñones<sup>41,42</sup> e inhibe el incremento de radicales libres de oxígeno, después de la reperfusión.<sup>43</sup> A nivel de riñones, intestino delgado y páncreas se ha demostrado efecto benéfico durante la isquemia caliente.<sup>1,44</sup>

Hau y col<sup>5</sup> intentaron prolongar la tolerancia del pulmón durante la isquemia caliente por medio de alopurinol. Bajo estas condiciones el efecto protector fue mínimo.<sup>5</sup>

Toledo-Pereyra y col<sup>6</sup> en un intento de preservar el hígado para trasplante, observaron que a dosis pequeñas el alopurinol no prolonga la sobrevida del órgano isquémico. Sin embargo, combinándolo con isoprotrenol y heparina, administrados previo a la isquemia, mejoraron la función hepática y la sobrevida. Otros órganos, como el corazón, han mostrado una respuesta positiva del alopurinol bajo condiciones de isquemia.<sup>38</sup>

#### Adenosina

La adenosina ha modificado la respuesta biológica de la lesión inflamatoria celular.<sup>45-47</sup> Los efectos de la adenosina son variables en el caso de los neutrófilos. La adenosina y sus análogos, químicamente estables, deprimen la quimioluminiscencia y la respuesta del o al ser estimulados con péptidos quimiotácticos o productos complementarios.<sup>45-47</sup> Esto sugiere que la adenosina no requiere receptores inmediatos o la conversión metabólica de la adenosina a inosina o a S-adenosil homocisteína.<sup>45,48</sup>

La adenosina no parece suprimir la respuesta o de neutrófilos estimulados con éster forbol<sup>45</sup> o complejos inmunes.<sup>49</sup> Los efectos de la adenosina en los neutrófilos es selectiva y depende del agonista y su respuesta funcional.<sup>45</sup> El mecanismo por el cual los receptores de adenosina inhiben la liberación de  $O_2^-$  o  $H_2O_2$  como respuesta a su solubilidad, todavía no se conoce.<sup>50,52</sup>

Cronstein y col<sup>53,54</sup> recientemente demostraron que la adenosina y sus análogos inhiben el  $O_2^-$  generado por los neutrófilos. La adenosina y sus análogos afectan la función de los neutrófilos, vía interacción con una adenosina A2 que es un receptor en su superficie.<sup>47</sup> La 2-cloroadenosina es un potente receptor agonista de la adenosina que inhibe la liberación de  $H_2O_2$  por los neutrófilos, esto es más efectivo cuando la fagocitosis es inhibida o no se presenta.<sup>49</sup>

#### Naloxona

Nuestros laboratorios fueron los primeros en establecer un efecto protector de la naloxona en riñones sometidos a isquemia y subsecuentemente trasplantados.<sup>10</sup>

Se ha demostrado que la naloxona actúa aceptando radicales libres producidos por neutrófilos;<sup>54,56</sup> la sustancia parece actuar como aceptador de oxígeno intracelularmente en los neutrófilos.<sup>57</sup> En la isquemia mesentérica aguda experimental mejora el flujo regional,<sup>59</sup> y protege al animal de el efecto dañino de la isquemia intestinal severa,<sup>11,58</sup> Gutiérrez Vega y col<sup>11</sup> muestra-

ron ese efecto sobre todo si se administra antes de la isquemia intestinal. Durante el choque hemorrágico causa aumento de la presión sanguínea, elevación de la resistencia periférica y eficacia de la contracción ventricular izquierda.<sup>60,61</sup> A nivel renal tiene efecto vasodilatador protege la bomba iónica de sus células y mejora el potencial transmembrana disminuyendo la permeabilidad de la misma.<sup>62</sup>

#### Metilurea

La metilurea es aceptador de radicales libres e inhibidor de la xantino-oxidasa. En el plasma humano su vida media es 24 a 36 horas. En ratas se ha utilizado para prevenir daño posterior a la reperfusión a dosis de 500 mg/kg cada 12 horas. Con la metilurea disminuye la presión arterial durante la reperfusión *in vitro* del pulmón,<sup>63,64,66</sup> efecto relacionado con disminución de la peroxidación lípida, de la permeabilidad endotelial y del endotelio celular.<sup>63,64,66</sup> esto es producto de la disminución de radicales libres inducidos por la lesión. Los radicales libres incrementan los niveles de tromboxano,<sup>67,68</sup> y algunos autores han sugerido que se debe al metabolismo que libera ácido araquidónico por los radicales libres de oxígeno que dañan la membrana celular.

#### Corticosteroides

Su modo de acción en la lesión de I/R, no se ha establecido pero se piensa que estabilizan la membrana subcelular y celular, producen aumento del gasto cardíaco, disminución de la resistencia periférica, incremento de la tensión de oxígeno en ratas endotóxicas, lo que sugiere mejoría de la microcirculación y aceptación de radicales libres.<sup>69,71</sup>

#### Conclusiones

Hasta cierto punto, la lesión de I/R es producto de la presencia de radicales de oxígeno liberados por neutrófilos activados. El daño subsecuente a la reperfusión está directamente relacionado con la severidad de la isquemia. El usar fármacos como alopurinol, adenosina, naloxona y otras modifican la lesión por I/R. El efecto protector de estas sustancias posiblemente radica en que son aceptadores de radicales libres, al factor lesional, probablemente más importante.

## Referencias

- Toledo-Pereyra LH and Najarian JS. Effective treatment of severely damaged kidneys prior to transplantation. I. Preliminary results. *Transplantation* 1973; 16: 79.
- Bergren CT, Castillo M and Toledo-Pereyra LH. Allopurinol, catalase and superoxide dismutase in ischemic open bowel injury. *Surg Res Comm (en prensa)*.
- Toledo-Pereyra LH, Cederna J, Choudry S. Oxygen free radicals allopurinol and xanthine oxidase pathway during liver ischemia. *Surg Res Comm* 1989; 5: 297.
- Cederna J, Bandlien K, Toledo-Pereyra LH, Bergren C, MacKenzie G and Gutierrez-Vega R. Effect of allopurinol and or catalase on hemorrhagic shock and their potential application to multiple organ harvesting. *Transplant Proc* 1990; 22 (2): 444.
- Hau T, Toledo-Pereyra LH, Simmons RL and Najarian JS. The effect of adenosine and allopurinol on the tolerance of the collapsed lung to warm ischemia. *Surgery* 1978; 83 (4): 406.
- Toledo-Pereyra LH. The role of allopurinol and oxygen free radical scavengers in liver preservation" in: *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*. Basic Life Sciences. Edited by Michel G. Simic, Karen A. Taylor, John F. Ward and Clemens von Sonntag 1988; 49: 1047.
- Castillo M, Toledo-Pereyra LH, Shapiro E, Guerra E, Prough D and Frantz P. Protective effect of allopurinol, catalase or superoxide dismutase in the ischemic rat liver. *Transplant Proc* 22 (2): 490, 1990.
- Friedl HP, Guerra EE, Cramer T, Giachero D, Toledo-Pereyra LH and Thi GO. Histamine and xanthine oxidase in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc* 22 (2): 513, 1990.
- Toledo-Pereyra LH, Frantz P, Prough D, Alvarez H, Hilchenbach G, Cramer T and Gutiérrez-Vega R. Better renal function with naloxone treatment following hemorrhage and brain death. *Transplant Proc* 22 (2): 462, 1990.
- Toledo-Pereyra LH, Alvarez AH, Gutiérrez-Vega R et al. Effect of naloxone in dogs subject to hemorrhagic shock, brain death and kidney transplantation. *Transplante, en prensa*.
- Gutiérrez-Vega R and Toledo-Pereyra LH. Acute mesenteric small bowel ischemia in the rat. I. Protective effect of naloxone. *Transplantation* 1990; 49 (4): 830.
- Gutiérrez-Vega R and Toledo-Pereyra LH. Acute mesenteric small bowel ischemia in the rat. II. Role of fluid administration in naloxone treated animals. *Transplante, en prensa*.
- Fantone JC and Ward PA: «Inflammation» in: *Pathology*. Rubin Emanuel and Farber John L., editor. J. B. Lippincott Company, Philadelphia. 1988: 34-64.
- Robbins SL, Cotran RS and Kumar V. Inflammation and repairs. in *Pathologic Basis of Disease*. 3a. ed. Ed. W. B. Saunders Company. 1984: 40-64.
- Pérez HD, Weksler BB, Goldstein IA. Generation of a chemotactic lipid from arachidonic acid by exposure to a superoxide generating system. *Inflammation*. 1980; 4: 313.
- Petrone WF, English DK, Wong K, McCord JM. Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980; 77: 1159.
- Romson JL, Bruce GH, BS et al. Reduction of extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*, 1983; 67 (5): 1016.
- Linas SL, Shanley PF, Whittenburg D, Berger E and Repine JE. Neutrophils accentuate ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat kidneys. *Am J Physiol* 1988; 255: F728-F735.
- Moorhouse CP, Grootveld M, Halliwell B, Quintan GJ and Gutteridge JMC. Allopurinol and oxipurinol are hydroxyl radical scavengers. *Fe Exp Biol* 213 (1): 23-28.
- Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM and Granger DN. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol* 1987; 253: H699-H703.
- Ward PA, Hugli TE and Chenoweth DE. Complement and chemotaxis. IN: *Chemical Messengers of the Inflammatory Process* J Chouck editor. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. 1979: 153-178.
- Zimmerman BJ, Grisham MB and Granger DN. Mechanism of oxidant-mediated microvascular injury following reperfusion of the ischemic intestine. In: *Oxygen Radicals in Biology and Medicine Basic Life Sciences*. Edited by Michael G. Simic, Karen A. Taylor, John F. Ward and Clemens von Sonntag. 1987; Vol. 49.
- Beatty PG, Led Better JA, Martin PJ, Price TH and Hansen JA. Definition of a common leukocyte cell surface antigen associated with diverse cell-mediated immune functions. *J Immunol* 1983; 131: 2913.
- Weissman G, Smolen JE and Korchak HM. Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *Seminars in medicine of Beth Israel Hospital* 1980; 303 (1): 27.
- Badwey JA and Karnovsky ML. Active oxygen species and the functions of phagocytic leukocytes. *Ann Rev Biochem* 1988; 49: 695.
- Fridovich I. *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 147.
- Fantone JC and Ward PA. A review: Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Path* 1982; 107: 395.
- Bucher JR, Tien M and SD. The requirement for ferric iron in the initiation of lipid peroxidation by chelated ferrous iron. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 11: 777.
- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in posts ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159.
- Babbs CF. Role of iron ions in the genesis of reperfusion injury following successful cardiopulmonary resuscitation: Preliminary data and a biochemical hypothesis. *Ann Emerg Med* 1985; 14: 777.
- Slater TF. *Free radical mechanisms in tissue injury*. London: Pion Limited; 1972.
- Fogel BJ von Doenhoff AE Jr, Cooper NR and Fife EH. Complemente in acute experimental malaria. I. Total hemolytic activity. *Mil. Med.* 1969; 131: 1173.
- Chapman WE and Ward PA. The complement profile in babesiosis. *J Immunol* 1976; 117: 935.
- Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *N Eng J Med* 1978; 298: 659-68, 721-5.
- Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork AA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016.
- Schmid-Schonbein GW and Engler RL. Granulocytes as active participants in acute myocardial ischemia and infarction. *Am J Cardiovasc Pathol* 1987; 1: 15.
- Smith SM, Holm-Ruttili L, Pery MA, Grisham MB et al. Role of neutrophils in hemorrhagic shock-induced gastric mucosal injury in the rat. *Gastroenterology, en prensa*.
- Grisham MB and McCord JM. Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In. Ed. Taylor AE, Matalon S, Ward P eds. *Physiology of oxygen radicals*. Bethesda, Md: American Physiological Society. 1986: 1.
- England MD, Nicholas MS, Calvarocchi MD et al. Influence of antioxidants (Mannitol and Allopurinol) on oxygen free radical generation during and after cardiopulmonary bypass.

Circulation. 1986; 74: III-134.

40. Deitch E, Bridges W, Baker J et al. Surgery 1988; 104: 191.
41. Prasad K, Kalra J and Buchko G. Angiology 1988; 39: 1005.
42. Horton JW and Borman KR. Surg Gyn Obs 1987; 165: 293.
43. McCord JM. N Engl J Med. 1985; 312: 159.
44. Toledo-Pereyra LH, Northrup WF, Humphrey EW et al. Maintenance of lung viability for transplantation after long periods of hypothermic perfusion. J Surg Res 1975; 18: 99.
45. Cronstein BN, Kramer SB, Weissman G, Hirschhorn R. Adenosine: A physiologica Modulator of superoxide anion generation by human neutrophils. J Exp Med. 1983; 158: 1160.
46. Roberts PA, Morgan BP and Cambell AK. 2-chloroadenosine inhibits complement induced reactive oxygen metabolite production and recovery of human polymorphonuclear leukocytes attacked by complement. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1985; 126: 692.
47. Roberts PA, Newby AC, Hallett MB and Cambell AK. Inhibition by adenosine of reactive oxygen metabolite production by human polymorphonuclear leukocytes. Biochem J 1985; 227: 669.
48. Cronstein BN, Kramer SB, Weissmann G and Hirschhorn R. Adenosine deaminase is not required for the generation of superoxide anion. Clin. Immunol. Immunopathol. 1984; 30: 495.
49. Cronstein BN, Kubersky SM, Weissmann G and Hirschhorn R. Release of superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) from neutrophils by immune complexes cannot be inhibited by engagement of adenosine receptors (abstr). Clin. Res. 1985; 33: 337.
50. McPhail LC, Clayton CC and Syderman R. Science 1984; 224: 662.
51. Fujita I, Irita K, Takeshige K and Minakami S. Biochem Biophys Res Commun 1984; 120: 318.
52. Dewald B, Payne TG and Baggiolini M. Biochem. Biophys. Res. Commun 1984; 125: 367.
53. Cronstein BN, Kramer SB, Weissmann G and Hirschhorn R. J Exp Med. 1983; 158: 1160.
54. Cronstein BN, Kubersky SM, Weissmann G and Hirschhorn R. Clin Res. 1985; 33: 337 A.
55. Simpkins CO, Ives N and Johnson TE. Naloxone inhibits superoxide release from human neutrophils. Life Sci. 1985; 37: 1381.
56. Prough D, Toledo-Pereyra LH, Frantzis P, Finkelstein I and Hilchenbach G. Improved glomerular filtration rate following administration of naloxone during brain death and hemorrhagic shock (abstract). Suki W and Toledo-Pereyra LH, eds. Proceedings of the eight annual meeting of the North American Society of Dialysis and Transplantation 1988: 10.
57. Simpkins CO et al. Inhibitions by naloxone of neutrophil superoxide release: A potentially useful anti-inflammatory effect. Circulatory Shock 1986; 20: 181.
58. Bonous GS. Acute necrosis of the intestinal mucosa. Gastroenterology. 1982; 82: 1457.
59. Granger DN, Holwarth ME and Parks DA. Ischemia reperfusion injury: Role of oxygen-derived free radicals. Physiol. Scand. 1986; 548: 47.
60. Faden AI and Holaday JW. Opiate antagonists: A role in the treatment of hypovolemic shock. Science. 1979; 205: 317.
61. Cronenwett JL, Bayer-Neff BS, Grekin RJ and Sheagren JN. The role of endorphins and vasopressin in canine endotoxine shock. J Surg Res. 1986; 41: 609.
62. McKay JS, Linaker BD and Turnberg LA. Influence of opiates on ion transport across rabbit ileal mucosa. Gastroenterology. 1981; 80: 279.
63. Lynch MJ, Grum CM, Gallaher KP et al. Xanthineoxidase

inhibitions attenuates ischemic-reperfusion lung injury. J Surg Res. 1988; 44: 538.

64. Paul DE, Keagy BA, Kron EJ and Wilcox BR. Improved lung preservation using a dimethylthiourea flush. J Surg Res 1989; 46: 333.
65. Kennedy T, Rao N, Hopkins C et al. Reperfusion injury occurs in the lung by free radical mechanisms. Chest 1988; 93 (suppl): 1495.
66. Lynch MJ, Grum CM, Gallaher KP et al. Xanthine-oxidase inhibition attenuated ischemic-reperfusion lung injury. J Surg Res 1988; 44: 538.
67. Kauffman RP, Klausner JM, Anner H et al. Inhibition of thromboxane synthesis by free radical scavengers. J Trauma 1988; 28: 458.
68. Tate RM, Morris HG, Schoeder WR and Repine JE. Oxygen metabolites stimulate thromboxane production and vasoconstriction in isolated saline-perfused rabbit lungs. J Clin Invest 1984; 74: 608.
69. Lillehei RC, Longbeam JK, Bloch JH and Manax WG. The nature of irreversible shock: experimental and clinical observations. Ann Surg 1964; 160: 682.
70. Altura BM and Altura BM. Peripheral vascular actions of glucocorticoids and their relationship to protection in circulatory shock. J Pharmacol Exp Ther 1974; 190: 300.
71. Casey JP, Short BL and Rink RD. The effect of methylprednisolone on hepatic oxygen supply and plasma lactate and glucose in endotemia. Circ Shock 1979; 6: 245.

## COMENTARIO

### RUBEN ARGÜERO\*

La vida surgió espontáneamente en la tierra hace aproximadamente 3500 millones de años a partir de compuestos reducidos simples en una atmósfera primitiva con características reductoras, aunque a últimas fechas se ha manejado el concepto de que las moléculas primigenias de la vida pueden ser parte del universo mismo. Con la aparición de células capaces de llevar a cabo el proceso de la fotosíntesis (algas cianofíceas o azul-verdosas), hace aproximadamente 2600 millones de años comenzó a acumularse lentamente el oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) en la atmósfera. Sólo hasta entonces (hace aproximadamente 1300 ma) se pudieron desarrollar los organismos aeróbicos, capaces de utilizar oxígeno para extraer mayor cantidad de energía de los nutrimentos, que se oxidan en el ciclo de Krebs después de haber sido transformados en acetil-coenzima A.

Los procesos metabólicos de la respiración y de la fosforilación oxidativa facilitaron un grave avance evolutivo que facilitó la multiplicación y la diversificación de los eucariotes monocelulares y pluricelulares. Por esta razón, es difícil aceptar que el oxígeno pueda ser, a

\* Académico titular.

su vez, una molécula tóxica con efectos deletéreos sobre diversos sistemas biológicos.

Como evidencia de la toxicidad del oxígeno, además de la clínicamente conocida, se observan los síndromes de isquemia/perfusión (infarto del miocardio, choque circulatorio, trasplantes de órganos), el daño tisular se extiende y agrava precisamente durante la reperfusión. Estos datos han llevado a la conclusión de que la toxicidad del oxígeno y de sus derivados desempeña un papel primordial en las lesiones tisulares y celulares producidas en una gran variedad de procesos patofisiológicos.

A pesar de que el oxígeno es indispensable para la vida aeróbica, tiene características tóxicas, y en los procesos metabólicos sólo se puede utilizar si los organismos cuentan con una batería de moléculas que los protejan de los derivados del oxígeno llamados radical anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y singlete de  $O_2$ .

Cuando este equilibrio se rompe y los sistemas productores de radicales derivados de oxígeno sobrepasan la capacidad neutralizadora de los sistemas de defensa sobreviene la enfermedad, local y generalizada. Las enzimas superóxido-dismutasa, catalasa y peroxidasa son las defensas intracelulares principales. Los radicales oxígeno tienen la capacidad de destruir bacterias, lisar células, iniciar la peroxidación de los lípidos de las membranas, inactivar enzimas y atacar a los ácidos nucleicos y pueden ser mediadores importantes del daño producido en tejidos y órganos en situaciones patológicas que involucran la inflamación y la isquemia.

El doctor Toledo Pereyra ha incursionado en este campo fascinante y ha profundizado su investigación aun nivel de mayor importancia; de esto tenemos una excelente muestra en el trabajo de ingreso a esta centenaria corporación. En él muestra, aunque en forma sintética, la lesión de isquemia/reperfusión en relación con la producción de radicales libres a través de neutrófilos activados.

La curiosidad por el fascinante fenómeno de isquemia reperfusión surgió en el doctor Toledo Pereyra en 1973 conforme estudió las alteraciones fisiopatológicas que ocurren durante la lesión isquemia reperfusión y modificó el daño a través no sólo del alopurinol, sino de otras sustancias aceptadoras de radicales libres, como la catalasa, la superoxidodisomutasa y la naloxona entre muchas otras. Demostró el papel causal de los neutrófilos y la lesión isquemia reperfusión. Así mismo, y como lo analiza en forma muy clara en este trabajo, estudió los mecanismos inherentes del efecto de los neutrófilos y la producción de radicales libres de oxígeno

en la lesión isquemia reperfusión, planteando medidas farmacológicas apropiadas para disminuir daño tisular.

Cabe señalar que Toledo Pereyra y colaboradores fueron los primeros en incluir el alopurinol en medios de perfusión para el trasplante renal, fenómeno que al combinarlo con isotretinol y heparina mejoraron la función hepática en la sobrevivencia de otros órganos como el corazón. El autor también fue pionero en establecer el efecto protector de la naloxona en los riñones sometidos a isquemia y subsecuentemente trasplantados. Otros estudios resaltan la calidad del investigador Toledo Pereyra y la seriedad con que se le conoce; es evidente que durante más de cinco lustros ha sido pionero en investigación relacionada con isquemia y otros fenómenos relativos al trasplante de órganos y tejidos. Hoy presenta un estudio excelente y completo que habla del interés y de la seriedad que guarda hacia esta nuestra centenaria corporación.

El doctor Luis Horacio Toledo Pereyra, graduado de la Universidad Nacional Autónoma de México, emigró a los Estados Unidos, forma parte de los investigadores distinguidos en ese país y goza de prestigio a nivel internacional, demostrando cómo es capaz «el hombre y la circunstancia». Estoy seguro que así como otros compatriotas, al encontrarse en un medio fértil y de alto nivel académico, son capaces de hacer. Así se observa que el doctor Toledo, dedicado, estudioso y con neuro-activada, proyecta la medicina universal a futuro imprevisto.

Entre algunas de las características curriculares del doctor Toledo Pereyra, se encuentran el haber publicado más de quinientos trabajos, cinco libros de texto, además de otros capítulos y actividades propias de un investigador en activo.

Otros rasgos que no se pueden dejar de mencionar muestran al doctor Luis Horacio Toledo Pereyra como una persona que, a mi parecer, cumple con las características del individuo obsesivo compulsivo, saca ideas para proyectos rápidamente, la mínima idea la convierte en proyecto; sale de cualquier lugar, incluso de los privados, escribiendo en un papel de rollo un artículo próximo a publicar. Es un hombre sincero, accesible, cooperador, interesado en aspectos históricos de la medicina, le gusta la lectura de tipo filosófico, a pesar de vivir en los Estados Unidos de Norteamérica, y se siente muy identificado con México en todos sus aspectos, le gusta la lectura de escritores mexicanos y se actualiza día a día en este campo. Le agrada la enseñanza, su pasión es la preservación de órganos.



#### MANUEL CARPIO A LOS 200 AÑOS DE SU NACIMIENTO

Han sido numerosos los ensayos y biografías del doctor Manuel Carpio.<sup>1</sup> En esta celebración centenaria, hacemos nuevamente una breve nota biográfica que permitirá revivir su trascendente influencia. Manuel Eulogio Carpio Hernández nació el 1º de marzo de 1791 en Cosamaloapan, Veracruz. Durante su niñez residió en Puebla, donde estudió latinidad, filosofía y teología en el Seminario Conciliar. Más tarde empezó los estudios de derecho, que abandonó pronto para dedicarse a la medicina. Como en Puebla no había universidad, y sin tener recursos para trasladarse a México o a Guadalajara, consiguió organizar con un grupo de jóvenes una academia privada de medicina, en la que los médicos les daban clases y practicaban cirugía en el Hospital de San Pedro de Puebla, donde aún como estudiante sustentó un «acto» de fisiología que llamó mucho la atención. Parece ser que por medio del protomedicato obtuvo en 1819 su título de Cirujano Latino, y que el obispo -al advertir su aprovechamiento e interés-, le concedió una pensión para que estudiase en la Universidad de México. En 1823 obtuvo su grado de Bachiller en Medicina, habiendo sido discípulo del notable doctor Luis Montaña.

En el bienio 1825-1826 Carpio fue diputado por el Estado de México, y en el bienio siguiente lo fue por el Estado de Veracruz. Por esa época redactó un vehemente manifiesto contra los yorkinos, organizados en logias masónicas con los auspicios de Poinsett, embajador de los Estados Unidos en México. Se trata de un documento difícil de localizar.

<sup>1</sup> Manuel Carpio ha sido objeto de muchas biografías, entre las que sobresalen la del señor Bernardo Couto, publicada en octubre de 1860, con motivo de su fallecimiento. Esta biografía apareció en la segunda edición de su libro de poesías, recopiladas por José Joaquín Pesado (Carpio, Manuel. *Poesías*, México, Ed. Imp. Andrade y Escalante, 2ª ed., 1860). Treinta años después apareció en la *Revista de la Escuela de Medicina* (Couto, Bernardo. «Biografía de Don Manuel Carpio», México, Ed. La Escuela de Medicina, vol. xi, núms. 9 y 10, 1891, pp. 17-181). Posteriormente, en 1956, el doctor José Joaquín Izquierdo hizo un análisis

A finales de 1827 -año en que se publicó dicho manifiesto-, «la legislatura y gobierno de Veracruz se complicaron en la malaventurada revolución de Tulancingo». El gobierno central la reprimió y Carpio enfermó de los nervios, debiendo retirarse al estado de Puebla, donde pasó unos meses. Ya recuperado, regresó a Jalapa en 1828 para participar en las elecciones para presidente de la república. Votó a favor de Manuel Gómez Pedraza, quien al parecer ganó las elecciones, pero se suscitó entonces la revuelta de la Acordada, con la que los yorkinos -a quienes había atacado Carpio-, «se sobreimpusieron al voto público», y ello bastó a éste para terminar su carrera política.

En 1832 se graduó como doctor y un año después entró a formar parte del profesorado del Establecimiento de Ciencias Médicas fundado ese año, encargándose de la cátedra de fisiología e higiene, en la que desarrolló una importante labor al desterrar los viejos conceptos para incorporar los nuevos conocimientos fisiológicos, principalmente los inspirados en Bichat y Magendie. Gran admirador también de las ideas hipocráticas, hizo esfuerzos por desterrar las exageraciones y las malas tendencias que se habían introducido en la medicina con las teorías de Brown y las de Broussais.

Poco interesado en la práctica privada, no obstante su fama de buen observador y clínico sagaz, se dedicó a la enseñanza y a la vida académica. Conservó la cátedra hasta el día de su muerte, y fue durante varios años editor del *Periódico de la Primera Academia de Medicina de Méjico* (1851). Fue miembro de la Comisión Nacional de Estudios y Vicepresidente del Consejo Superior de Salubridad. Durante algunos años se encargó de la cátedra de historia de las ciencias médicas.

Carpio fue una persona con inquietudes literarias; desde joven tenía afición por los escritores griegos y latinos: la *Biblia* era su «libro de todos los días», del cual tradujo -por encargo de Mariano Galván, el impresor de los calendarios homónimos-, una versión del Deuteronomio y del libro de Josué.

En cuanto a su obra poética cabe destacar que sus versos fueron simples y disonantes. Carpio se asombraba de las causas y efectos naturales, del número infinito de estrellas del firmamento, de la redondez de la Tierra; era monotématico y sólo hablaba de astronomía. Tal vez sus poesías bíblicas fueron las mejores, pues con ellas hizo una narración que sirvió de enseñanza. Gozó de popularidad, acaso por las enumeraciones y descripciones detalladas que hizo en su poesía.

Con una sensibilidad científica romántica basada en el sensualismo de Condillac, afirmó el deseo de unir la poesía y la medicina, pero no alcanzó a ver que las diferencias entre ambas radican en sus protagonistas, ya que el médico es un inquieto observador que no participa en el experimento poético, siendo a la vez observador y fenómeno observado.

En sus poemas, Carpio no se refiere a la medicina. Quizás sólo cuando habla del hombre, o de la relación de los científicos con los poetas. En el primer caso el hombre era visto por el poeta Carpio, olvidando su condición de biólogo.

En el aspecto médico escribió cerca de cuarenta ensayos en los periódicos de la primera y segunda Academia de Medicina; publicó *Aforismos y Pronósticos de Hipócrates*, y tradujo el artículo «Pectiriloquios», del *Diccionario de Ciencias Médicas*, que fue añadido como apéndice a la obra anterior.

Carpio fue un «padre feliz», no se sabe de cuántos hijos. Estuvo casado con Guadalupe Berruecos, «señora llena de prendas y de amabilidad», quien murió en 1856. Tres años después el doctor Carpio fue atacado «de un mal cerebral que pronto se explicó por una especie de obliuion y por algún entorpecimiento de la inteligencia». Ya no se restableció totalmente y murió a los 69 años el 11 de febrero de 1860, dejando así la imagen que hoy recordamos.

J. S. P.

---

de «la polifacética personalidad del Doctor Carpio», en un pequeño libello publicado por la Imprenta Universitaria (Izquierdo, J. Joaquín. «Carpio y los primeros escritos del México Independiente en pro de la Reforma Médica», México, Ed. Imprenta Universitaria, UNAM, 1956). Destacan también las notas biográficas que aparecieron en 1979 y 1985 en los trabajos «Una antigua jornada académica» y «Los médicos y las artes», escritos por el doctor Juan Somolinos Palencia (Somolinos Palencia, Juan. «Una antigua jornada académica». *Reseña Histórica*. México, Academia Nacional de Medicina, núm 1, 1979, pp. 23-35 y 55-58; «Los médicos y las artes en el siglo XIX», *Gaceta Médica de México*. México, 1985, vol. 121, núms. 7, 8, 9 y 10, pp. 283-288). Asimismo, en 1986 apareció el ensayo del doctor Fernando Martínez Cortés «Carpio, Laennec y la invención del estetoscopio» (México, Facultad de Medicina, UNAM, 1986).