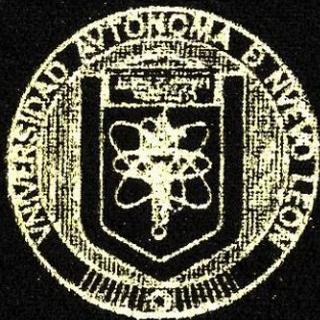


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA



DAÑO NEUMONICO INDUCIDO POR LA  
REACCION DE ARTHUS EN EL CONEJO

ASESOR: M.V.Z. M.C. RAFAEL RAMIREZ ROMERO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

LUIS EDGAR RODRIGUEZ TOVAR

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1988

T

SF834

R6

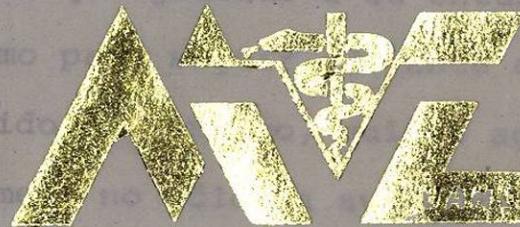
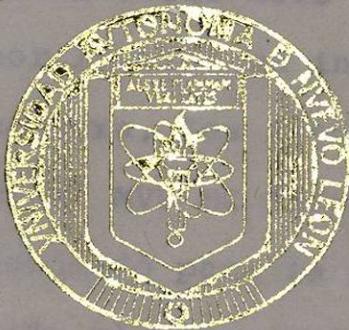
c.1



1080074989

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIAGNÓSTICO NEUMÓNICO INDUCIDO POR LA REACCIÓN DE ARTHUS EN EL CONEJO

ASESOR: M.V.Z. M.C. RAFAEL RAMÍREZ ROMERO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

LUIS EDGAR RODRÍGUEZ TOVAR

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1988



(1988)

T  
SF 831  
R6



(74989)



## DEDICATORIA

Este trabajo lo quiero dedicar con mucho cariño y respeto a mis padres José Luis Rodríguez Villarreal y Cruz Prisciliana Tovar de Rodríguez quienes se esforzaron en hacer de su hijo un hombre de bien, creo no haberles defraudado; a mis -- hermanos Jorge Luis y Omaira Yuride que gracias a su entusiasmo por la vida me infundieron ánimo para seguir adelante con mi carrera, les estoy muy agradecido. Asimismo, quiero agradecer al MVZ MC Rafael Ramírez Romero no sólo la ayuda y apoyo brindado para la realización del presente trabajo, sino -- también el haber orientado mis inquietudes en Medicina Veterinaria, de igual manera deseo agradecer a mi escuela, la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme formado -- como profesionista dentro del área médica.

Un reconocimiento muy especial a aquellas personas que -- participaron en la elaboración de este trabajo y sin cuya ayuda no hubiera sido posible su realización; al MVZ Francisco Santoyo por su excelente trabajo en el material fotográfico; a la Srta. Ana María del Refugio por la reproducción del material escrito, a la Srta. Patricia Elizondo que contribuyó con el mecanografiado del original de este trabajo, y a todas aquellas que directa o indirectamente estuvieron involucradas en su desarrollo. A todos muchas gracias.

## I N D I C E

	Página
AGRADECIMIENTO.....	I
INDICE.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS.....	III
LISTA DE CUADROS.....	IV
LISTA DE FIGURAS.....	V
LISTA DE TABLAS.....	VI
I.- INTRODUCCION Y OBJETIVO.....	1
II.- REVISION DE LITERATURA.....	3
Descripción del Fenómeno de Arthus.....	3
Analogía y Diferencia con otros fenómenos de - hipersensibilidad.....	4
Patogenia y lesiones del fenómeno de Arthus...	9
Mecanismos de defensa del Aparato Respiratorio	17
Presentación natural de fenómenos de hipersen- sibilidad.....	20
Inducción de la RA y otros fenómenos similares en animales de experimentación.....	21
III.- MATERIAL Y METODOS.....	25
Animales para estudio.....	25
Características del inóculo.....	26
Procedimiento de Inmunización.....	27
Sacrificio.....	31
Toma de Muestras.....	31

## I N D I C E

	Página
AGRADECIMIENTO.....	I
INDICE.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS.....	III
LISTA DE CUADROS.....	IV
LISTA DE FIGURAS.....	V
LISTA DE TABLAS.....	VI
I.- INTRODUCCION Y OBJETIVO.....	1
II.- REVISION DE LITERATURA.....	3
Descripción del Fenómeno de Arthus.....	3
Analogía y Diferencia con otros fenómenos de - hipersensibilidad.....	4
Patogenia y lesiones del fenómeno de Arthus...	9
Mecanismos de defensa del Aparato Respiratorio	17
Presentación natural de fenómenos de hipersen- sibilidad.....	20
Inducción de la RA y otros fenómenos similares en animales de experimentación.....	21
III.- MATERIAL Y METODOS.....	25
Animales para estudio.....	25
Características del inóculo.....	26
Procedimiento de Inmunización.....	27
Sacrificio.....	31
Toma de Muestras.....	31

	Histopatología.....	32
IV.-	RESULTADOS.....	34
V.-	DISCUSION.....	46
VI.-	CONCLUSIONES.....	55
VII.-	RESUMEN.....	56
VIII.-	BIBLIOGRAFIA.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ASB o BSA: Albumina sérica bovina
- Ac: Anticuerpo
- Ag: Antígeno
- C5 des arg: C5 a del cual se ha eliminado la  
arginina C terminal por acción -  
de carboxipeptidasas plasmáticas  
y tisulares
- cms: Centímetros
- ET: Endotraqueal
- ETs: Endotraqueales
- IgE: Inmunoglobulina E
- IgG: Inmunoglobulina G
- IgM: Inmunoglobulina M
- IM: Intramuscular
- lt: Litro
- MA: Macrófago Alveolar
- MAa: Macrófago Alveolar Activo
- mg: Miligramo
- ml: Mililitro
- PMN: Célula polimorfonuclear
- PMNs: Células polimorfonucleares
- RA: Reacción de Arthus
- rpm: Revoluciones por minuto
- U.I.: Unidades internacionales

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1.- Mecanismos de Defensa Respiratorios.....	18
2.- Lesiones de Probable Asociación con la RA....	36
3.- Lesiones Básicas y Lesiones de Origen Incier- to.....	37
4.- Lesiones Relacionadas con la RA en la piel...	45

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1.- Patogenia de la Hipersensibilidad Mediada por Complejos Inmunes.....	13
2.- El Mecanismo de la Hipersensibilidad Mediada por Complejos Inmunes.....	14
3.- Competencia Inmunológica en las Distintas Porciones del Tracto Respiratorio.....	19
4.- Pulmón de un animal Sacrificado a las 4 horas de haber recibido el inóculo de desafío.....	39
5.- Pulmón de un Conejo que murió antes de recibir el inóculo de desafío.....	40
6.- Detalle de la infiltración por PMNs (heterófilos) en parenquima.....	41
7.- Pulmón de un animal sacrificado a las 36 horas de haber recibido el inóculo de desafío..	43

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1.- Clasificación de los Fenómenos de Inmunidad Patógenos.....	5
2.- Distribución de los animales por grupos y - procedimientos de inmunización para el ensa- yo cutáneo.....	28
3.- Distribución de los animales por grupos y - procedimientos de inmunización para el ensa- yo pulmonar.....	30.1

## I.- INTRODUCCION

Las neumonías representan actualmente un elevado porcentaje de los padecimientos que más afectan a los animales domésticos tanto en México como en otros países (30). Lamentablemente, los estudios llevados a cabo para comprender la inmunopatogénesis de la respuesta pulmonar son aún escasos y muchos de los conceptos actuales dependen de la información obtenida en la década pasada (25). Al hablar de neumonías, es lógico suponer que en las reacciones inflamatorias del pulmón entren en juego mecanismos inmunopatológicos que frecuentemente traen como consecuencia el daño tisular hacia este órgano (25). Resulta evidente, pues, comprender la delicada relación existente entre las reacciones protectoras (inmunidad) y aquellas que ocasionan un daño exagerado (hipersensibilidad) (55). En relación a las reacciones de hipersensibilidad en el pulmón, se ha sugerido el papel que los complejos inmunes (reacción de Arthus) desempeñan en ciertos padecimientos pulmonares, tales como la alveolitis alérgica extrínseca y la fiebre de embarque -recientemente sugerida- en el ganado bovino (34, 52), así como el "pulmón del granjero" en el hombre (55).

La reacción de Arthus se caracteriza por ser un fenómeno inflamatorio agudo cuyo origen es de carácter inmunológico y que pertenece a uno de los mecanismos de lesión tisular producida por reacciones inmunes, la Hipersensibilidad III (20,52).

Los actores principales de esta reacción son: anticuerpo pre cipitante y fijador del complemento, antígeno soluble, comple mento y neutrófilos que, junto con la participación de media dores farmacológicos, ocasionan un daño intenso al tejido (52, 55).

Con lo visto anteriormente, se ha considerado relevante el plantear un modelo experimental para la inducción de un da ño tisular compatible con la reacción de Arthus en el pulmón del conejo, utilizando un suero hiperinmune como antígeno así como la descripción de las lesiones macroscópicas y microscó picas provocadas, comparándolas con la lesión cutánea clásica. Este modelo permitirá apreciaciones histopatológicas posterior es sobre sus analogías con los padecimientos neumónicos que ocurren naturalmente en animales domésticos.

## II.- REVISION DE LITERATURA

### Descripción original del fenómeno de Arthus

Hacia 1903 Maurice Arthus y Maurice Breton describieron a una lesión cutánea como una Seroanafilaxia. Estos investigadores observaron que el suero equino inyectado dentro de la piel de conejos inducía una leve reacción inflamatoria local. Sin embargo, las inyecciones subsecuentes desarrollaban una violenta respuesta inflamatoria, con calor, enrojecimiento, tumefacción y hemorragia. Tan intensa era la reacción que frecuentemente los vasos mostraban trombosis y como resultado, la piel, privada de su suministro sanguíneo sufría necrosis y ulceración. Este fenómeno se ha denominado reacción de Arthus activa directa o clásica (2, 23). Arthus supuso que la reacción que observó fue producida no por la acción directa de "precipitados del plasma" (anticuerpos) en los tejidos, sino más bien a una interacción entre el anticuerpo (Ac) y el antígeno (Ag) inyectado (suero equino). Posteriormente esto fue confirmado por otros investigadores como Nicolle en 1907 (32) y Opie en 1924 (35). Este mismo fenómeno se puede inducir fácilmente en la piel de conejos mediante inyecciones subcutáneas semanales de otros Ag, como la albumina sérica bovina (ASB) (15, 20, 53).

## Analogía y diferencia con otros fenómenos de hipersensibilidad

La reacción de Arthus (RA) pertenece a una de las formas de respuesta inflamatoria de origen inmunitario conocidas como reacciones de hipersensibilidad, clasificadas en cuatro tipos básicos según lo propuesto por Gell y Coombs (52). Tres de ellas pertenecen a la reacción inmediata y están determinadas por Ac y, la última, llamada también retardada o tardía, está determinada por células, tal como se muestra en la tabla I.

Cabe mencionar que Sell propone un sistema de clasificación utilizando seis mecanismos inmunopatológicos, los mismos 4 usados por Gell y Coombs y los otros 2 basados en reacciones de neutralización y formación de granulomas. Conviene aclarar que la neutralización es una subdivisión de la reacción del tipo II, en donde un Ac actúa con un Ag, en este caso sería inactivando la acción de moléculas biológicamente activas o bloqueando ciertos receptores en la superficie celular. Las reacciones granulomatosas han sido consideradas como una forma crónica de la reacción del tipo IV (44, 22).

Aunque la RA es una forma de hipersensibilidad inmediata, difiere del tipo anafiláctico en algunos aspectos importantes: 1) las infiltraciones de neutrófilos son más típicas en la RA, mientras que los eosinófilos son más característicos de la anafilaxia; 2) la anafilaxia ocurre en pocos minutos, en tan

**TABLA I.-** Clasificación de los fenómenos de inmunidad patógenos

TIPO	AGENTE INMUNE	MEDIADORES	CELULA EFECTORA	MECANISMO PATOLOGICO	EJEMPLOS
I	IgE	Histamina SRL - A FQE - A	Células Cebadas y Basófilos	Broncoconstricción Edema Shock	Anafilaxia Local Choque Anafiláctico
II	IgG, IgM	C'	MNL	Lisis Celular Fagocitosis ADCC (CCDA)	Anemia Hemolítica Trombocitopenia Penfigo
III	IgG, IgM	C'	PMN	Infiltración por PMN Liberación de Enzimas Lisosomales	Fenómeno de Arthus Enfermedad del Suero
IV	Linfocitos T	Linfocinas	MNL	Inflamación crónica (Granulomatosa)	Reacción retardada Dermatitis alérgica por contacto

Ig: Inmunoglobulina; SRL- A: Substancia de Reacción Lenta de la Anafilaxia; FQE-A: Factor Quimio-  
táctico para Eosinófilos de la Anafilaxia; MNL = Mononuclear; PMN = Polimorfonuclear; C': Comple-  
mento (Fuente: Hurvitz, 1982)

to que la RA sucede en unas horas; 3) las dosis de choque de Ag en la RA requieren cantidades en miligramos, mientras que en la anafilaxia es en cantidades mínimas (microgramos); 4) los Ac reagínicos (IgE) no se asocian con la RA, ya que en ésta son de la clase IgG y, 5) las respuestas de tipo I son bloqueadas por antihistamínicos mientras que las del tipo III no (34).

Ahora bien, la reacción citotóxica o de tipo II se caracteriza por la interacción de un Ac, IgG o IgM, con un determinante antigénico de una membrana celular, con un Ag libre o con un hapteno, el cual ha sido absorbido en la membrana celular. La destrucción de la célula blanco se lleva a cabo a través del complemento (lisis celular) o mediante la actividad de ciertas células citotóxicas como los eosinófilos, linfocitos, macrófagos, células K o asesinas y neutrófilos, en la llamada citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) (52). Sin embargo, existen autores que consideran a la citotoxicidad mediada por células K como otra forma de hipersensibilidad (5).

La RA se asemeja a la reacción citotóxica en que existe una fijación de Ac y participación del complemento. Asimismo, puede existir una acumulación de neutrófilos con la subsiguiente liberación de enzimas lisosomales, sólo que en este caso la diferencia radica en que el mismo Ag es o forma parte del tejido blanco (20, 22, 26, 44, 52).

Pasando a la hipersensibilidad del tipo IV, tardía o de tipo celular, se le puede definir como una manifestación clínica y morfológica de la inmunidad mediada por células. Es producida por la acción de linfocitos T modificados de forma específica que actúan sobre un Ag, gracias a receptores superficiales. Esta unión linfocito T - Ag, ocasiona la liberación de factores solubles, también denominados sustancias mediadoras o linfocinas. Dichas linfocinas poseen diversas actividades biológicas, ya que atraen a las llamadas células efectoras inespecíficas, tales como los macrófagos y ciertos granulocitos (basófilos y células cebadas) al sitio de la reacción y las activan para que cumplan con sus funciones. La respuesta se caracteriza histológicamente por una infiltración perivascular de linfocitos y monocitos en el lugar donde se ha localizado el Ag. El daño al tejido obedece a 2 causas: por la acción específica de aquellas células involucradas en la reacción sobre las estructuras tisulares a las que se ha unido el Ag y, por los trastornos vasculares, debida a la liberación de "factores cutáneos reactivos", y de enzimas lisosomales de los macrófagos (22, 26, 52, 53).

En relación con las hipersensibilidades de tipo inmediato, ya sea del fenómeno de Arthus o de la anafilaxia local, con respecto a la hipersensibilidad IV, las diferencias más sobresalientes radican en: 1) el mecanismo patogénico; 2) imagen histológica, donde en el tipo IV se observan infiltrados por mononucleares - linfocitos, monocitos y macrófagos -

alrededor de los vasos pequeños; 3) en la reacción tardía pueden existir infiltrados por neutrófilos, pero no en la cantidad observada en la RA; 4) en la reacción tardía no existe la necrosis fibrinoide característica de la RA; 5) en la -- reacción del tipo IV no participan Ac humorales ni es trans--ferible a través del suero, sino a través de células (linfocitos T sensibilizados); 6) el tiempo necesario para que surja la lesión es mucho mayor en la reacción de tipo IV (24 a 48 - horas) (20, 26, 34, 52, 53).

Como se vió, el daño tisular mediado por la respuesta inmune toma 2 aspectos importantes: aquellos mecanismos mediados por Ac - reacciones de tipo I, II y III - y aquellos mediados por linfocitos específicamente sensibilizados (reac--ción de tipo IV). Ahora bien, la eficiencia y especificidad de las reacciones inmunitarias van a depender de la habilidad del Ac, de los linfocitos T o de ambos para reconocer estructuras antigénicas (20, 22, 44).

Para concluir, hasta aquí se han visto brevemente algunos aspectos básicos entre las similitudes y diferencias de la RA con respecto a otras hipersensibilidades, pero hay que tomar en cuenta que al activarse una de ellas es posible que pueda originar la puesta en marcha de una más o de las otras. Como algunos ejemplos cabe citar que cuando se agrega el fenómeno de Arthus a la reacción de tipo IV, es común observar histológicamente necrosis hemorrágica y una infiltración por poli--

morfonucleares neutrófilos (PMNs) (20, 26). Así mismo, en el caso del pulmón del granjero existen ciertas características de índole anafiláctico (44, 52), y se ha visto que la reacción de tipo I puede favorecer la presentación de una RA (20, 33).

### Patogenia y lesiones del fenómeno de Arthus

La RA difiere de la enfermedad del suero tanto en la sintomatología como en las lesiones resultantes, por el hecho de depender decisivamente de la relación cuantitativa entre el Ag y los Ac. Si hay un exceso de éstos, se forman complejos precipitantes en el sitio de la inyección del Ag (in situ), desarrollándose una RA (53, 55). Por el contrario, si el exceso corresponde al Ag, en cuantía escasa o media, se originan complejos solubles que circulan con la sangre y que posteriormente quedan atrapados de manera pasiva en aquellos órganos con vasculatura especializada como el corazón, el riñón, la membrana sinovial, el plexo coroideo del cerebro, etc. Esto origina la enfermedad del suero (12, 23, 31, 34, 53, 55) Existen múltiples factores que influyen en la formación y subsecuente depósito de complejos apropiados para activar la reacción de tipo III. Entre éstos se incluye el tamaño del complejo, la afinidad o avidéz de varios Ac para la formación de complejos inmunes, cantidad del Ag, respuesta cinética del Ac, factores genéticos y período de tiempo de exposición al

Ag (22).

El mecanismo patogénico de la RA se inicia al presentarse la reacción entre un Ag soluble con un Ac precipitante y fijador del complemento, principalmente IgG, en donde es obligada la participación del sistema del complemento (20, 52, 53). -- Una vez activado dicho sistema, los factores anafilácticos C3a y C5a (anafilotoxinas) junto con el factor C2b (cinina), aumentan la permeabilidad vascular. Posteriormente, esta reacción permite que penetren los complejos Ag - Ac (complejos inmunes) a través de la pared de los vasos sanguíneos, permitiendo la extravasación del plasma y la diapédesis de leucocitos del torrente circulatorio. Además, los factores complementarios -- C3a, C5a y C567, con actividad quimiotáctica, atraen a los neutrófilos hacia el sitio de la reacción, originando, de esta manera, una intensa inflamación. Por último, en algunas especies animales los neutrófilos tienen un receptor para la fracción C3 del complemento, a través del cual se adhieren firmemente a los complejos inmunes que contienen este componente, -- esta unión es llamada adherencia inmunitaria de C3. Este enlace es muy potente y hay muchas zonas disponibles para adherencia al neutrófilo. Esta unión, por tanto, es el resultado final de la quimiotaxia una vez que la célula ha alcanzado el -- complejo inmune que a su vez está generando el factor quimiotáctico a través del propio complemento y suele ir seguida de la fagocitosis de los complejos inmunes que allí se han precipitado. Mientras tanto, los PMNs comienzan a liberar hacia el

tejido adyacente grandes cantidades de enzimas lisosómicas -- que agravan mucho más la inflamación y, el tejido de esta manera dañado, termina necrosándose (20, 52, 53). La forma en que estas enzimas son liberadas al tejido es mediante varios fenómenos, siendo el más evidente la muerte celular, pero es probable que existan otros mecanismos que revisten mayor importancia (52). Por ejemplo, cuando los neutrófilos atacan complejos inmunes fijados sobre formaciones que no pueden ser fagocitadas, como una membrana basal, un espacio articular o una pared alveolar, liberan el contenido de sus lisosomas directamente al medio ambiente (47, 52). Por otra parte, los neutrófilos pueden liberar el contenido de sus lisosomas dentro del fagosoma, pero antes de que hayan quedado encerrados los complejos inmunes, es decir, ocurre lo que se ha denominado regurgitación durante la ingestión. De esta manera se liberan las enzimas hacia los tejidos vecinos (47, 52). Existe otro mecanismo, denominado suicidio lisosomal, el cual ocurre cuando el neutrófilo ha ingerido muchos microorganismos y por alguna razón no puede digerirlos. Cuando esto sucede, es posible que el fagolisosoma pueda romperse dentro del citoplasma celular, liberando así sus potentes enzimas que pueden matar al neutrófilo. Al morir éste, las enzimas contenidas en su citoplasma se escapan hacia el medio ambiente por lisis o por ruptura de la membrana celular (47).

Otro fenómeno íntimamente asociado o ligado con la interacción Ag - Ac es la agregación de plaquetas, ya que estos e

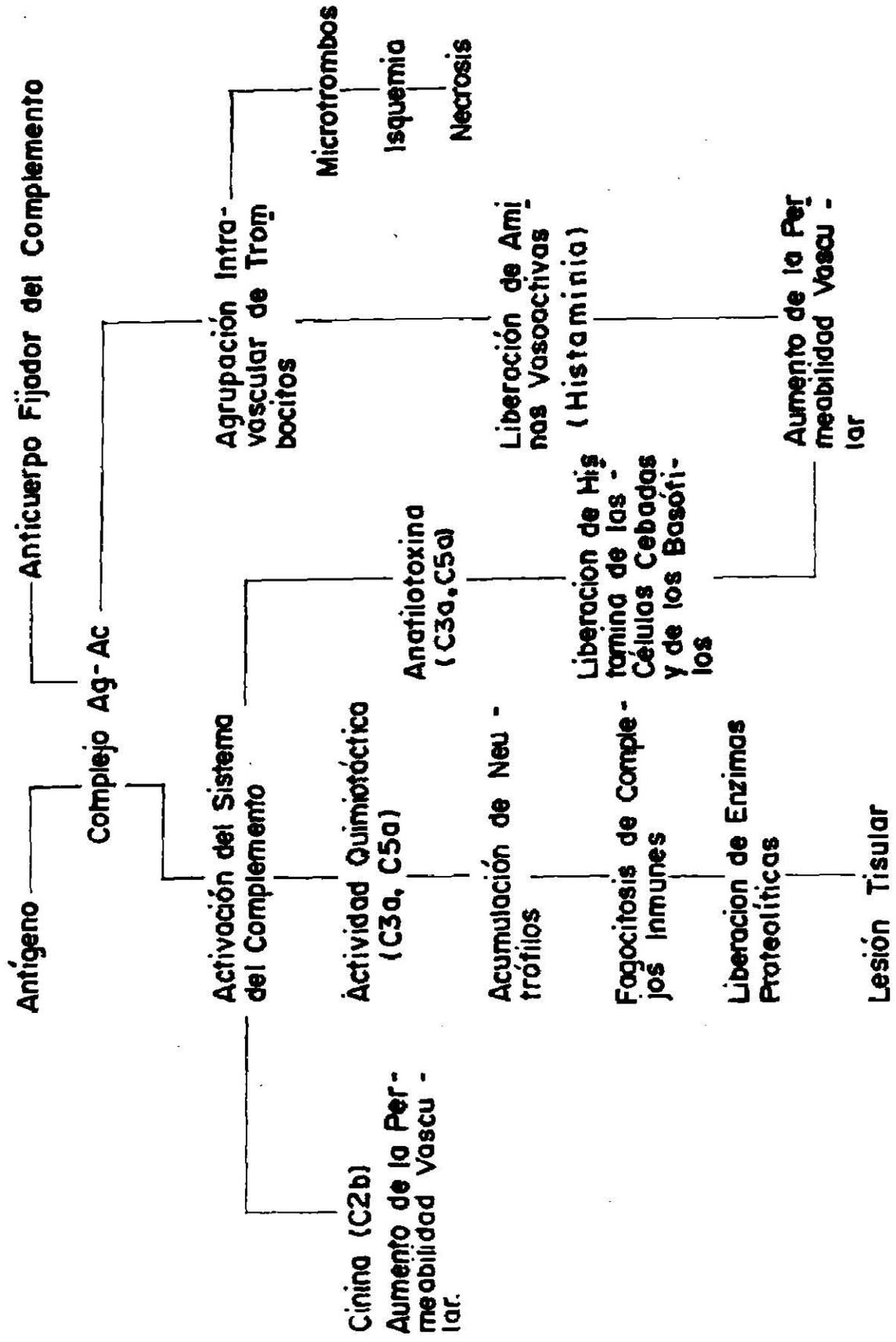
lementos poseen receptores para la fracción C3 del complemento, aunque en el hombre, en los rumiantes y en el cerdo no pueda - comprobarse que las plaquetas reaccionen con C3. En tal caso, reaccionarán con los complejos inmunes adheriéndose a la fracción Fc de las inmunoglobulinas (20). De cualquier manera, -- esto ocasiona que las plaquetas liberen aminas vasoactivas - - (histamina) que favorecen o aumentan la permeabilidad vascular. Por otro lado, se originan microtrombos en los capilares con - la subsiguiente isquemia y necrosis tisular (53, 56). La Figura 1 muestra la patogenia de la hipersensibilidad del tipo III.

Con lo visto anteriormente, se puede asumir que la secuencia de eventos patogénicos en la RA son: 1) inmunización con un Ag soluble que induce la aparición de Ac precipitantes en - la circulación; 2) inyección intradérmica del Ag, que ocasiona la formación de complejos inmunes que activan la serie de fenómenos relacionados con el complemento; 3) un factor quimiotáctico dependiente del complemento atrae neutrófilos que fagocitan el precipitado y, 4) los neutrófilos liberan enzimas lisosómicas que ocasionan daño tisular sobre la pared del vaso - sanguíneo (vasculitis), con necrosis isquémica del tejido irrigado (8, 12, 20, 26). La figura 2 ilustra lo anterior.

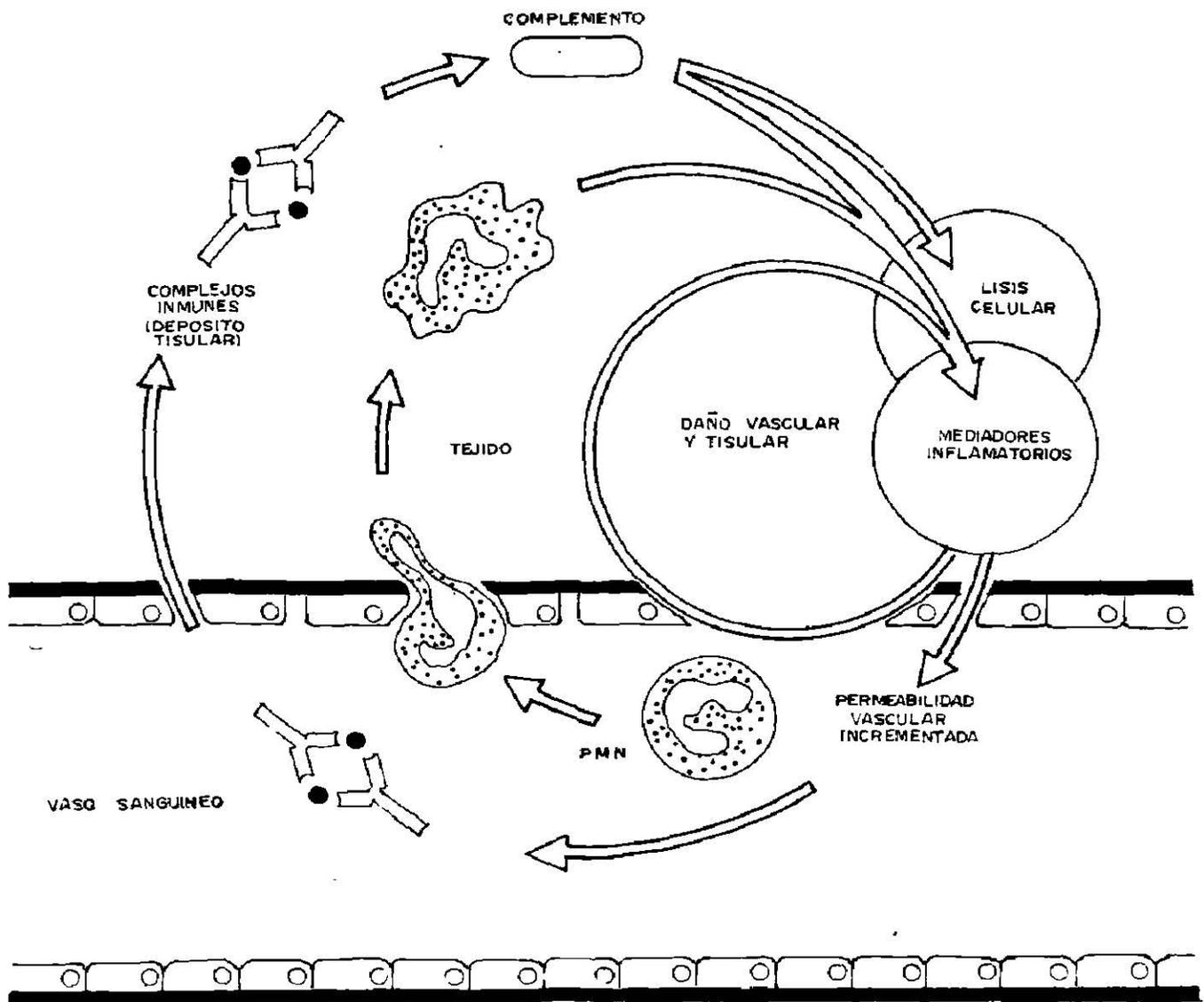
Cambios macroscópicos.- Se observan en las lesiones cutáneas de los conejos con RA activa e inician primeramente -- con un área pálida redonda, debido a la compresión de los vasos sanguíneos por la inyección del Ag. En el transcurso de

**FIGURA 1.-** Patogenia de la hipersensibilidad medida por complejos inmunes.

(Fuente: Kitt Theodor; 1985)



**FIGURA 2—** El mecanismo de la hipersensibilidad mediada por complejos inmunes.



Cuando un antígeno y un anticuerpo se depositan en un tejido, pueden activar el complemento. Los mediadores inflamatorios producidos incrementan la permeabilidad vascular, aumentando la atracción y depósito de células polimorfonucleares. Ello causa daño vascular y tisular. El complemento también causa daño directo.

(Fuente: Staines, N., 1985)

algunos minutos la hiperemia rodea el área pálida y eventualmente toda la lesión se torna hiperémica. Estos cambios son transitorios. Subsecuentemente se desarrolla edema y eritema difuso (56), que abarca un área de 2 cm. en la piel (8); aparentemente inicia en 1 o 2 horas, prolongándose hasta 20 a 24 horas como máximo y disminuye en intensidad poco después (56). Sin embargo, algunos autores señalan que la duración del eritema y de la tumefacción edematosa alcanza su máxima intensidad entre 3 y 8 horas cediendo poco a poco (53). La hemorragia aparece en 2 a 3 horas y algunas veces, cuando la reacción es intensa, el centro aparece pálido (12 a 24 horas) lo que anuncia la instalación de isquemia (26), que es seguida por necrosis en 48 a 72 horas (8, 56).

Cambios microscópicos.- Es evidente el dominio de un cuadro histopatológico inflamatorio, pero no es posible señalar con exactitud dónde empiezan o terminan las distintas etapas que lo integran. El fenómeno aparentemente inicia con constricción arteriolar y detención del flujo sanguíneo (26), que ocasiona la acumulación y adhesión de los neutrófilos en el endotelio vascular. Posteriormente, estos leucocitos migran a través de la pared del vaso hacia el espacio intersticial, esto también se acompaña de la salida del plasma y de los eritrocitos. La característica más notable de esta lesión es la de una inflamación con una gran acumulación de neutrófilos, predominantemente en la pared de capilares, vénulas y espacio perivascular (53). Mientras esto sucede, comienza

una agregación plaquetaria en la luz vascular con la formación de trombosis hialina (20, 26, 35, 53). Sin embargo, aunque la agregación de leucocitos y la formación de trombos no son específicas de la RA, esta característica es bastante común. La otra única condición o situación en la cual estos cambios ocurren en forma bastante similar es en la reacción local de Schwartzman, pero hay que señalar que ésta no es una reacción inmunológica, en sentido estricto, sino una alteración de los factores que participan en la coagulación intravascular (44, 51, 56).

En la Ra, las paredes vasculares muestran necrosis fibrinoide y lucen eosinófilas. Las estructuras de la musculatura lisa vascular aparecen borradas, reconociéndose restos celulares y fibrina. Posteriormente, en el transcurso de unas 8 horas, se observa una infiltración gradual de células mononucleares, tales como linfocitos y macrófagos, así como células endoteliales y fibroblastos (20, 52) y, al cabo de 24 horas o más, dependiendo de la cantidad de Ag inoculado (52), predominan los elementos mononucleares y los eosinófilos (20, 34). Después de 3 a 6 días se aprecian células plasmáticas, que forman islotes linfoides en el espacio perivascular (20).

En concreto, las lesiones al microscopio se caracterizan por: 1) acumulación de material eosinófilo en la pared y lumen vascular; 2) separación de las fibras de colágena por el exudado serofibrinoso; 3) infiltración de células inflamatorias, mayormente neutrófilos; 4) congestión vascular, hemo--

rragia, trombosis y necrosis (56).

Lo anterior podría dividirse en dos principales procesos: un estado temprano, caracterizado por estasis capilar y venular, agregación de eritrocitos en vénulas y contracción arteriolar, el cual es reversible y, un estado tardío, caracterizado por la adherencia de leucocitos al endotelio, trombos y hemorragia. Dicho estado es irreversible (41).

#### Mecanismos de defensa del Aparato Respiratorio

Teniendo en consideración el importante papel que el pulmón desempeña en el intercambio gaseoso y de los grandes volúmenes de aire requeridos para ello, es lógico suponer la gran cantidad de agentes patógenos a los que se encuentran expuestas las diferentes estructuras tanto de la porción superior como de la porción inferior del sistema respiratorio (16, 57). Por ello, es menester la presencia de un complejo mecanismo de defensa que proteja y conserve la integridad del tejido pulmonar (27, 43, 54, 55, 59). El cuadro 1 esquematiza los mecanismos de defensa respiratorios.

Aunque estos mecanismos están íntimamente correlacionados, difieren en competencia inmunológica en las distintas porciones del tracto respiratorio (57). La figura 3 ilustra lo anterior. Sin embargo, a pesar de la existencia de una am

**CUADRO Nº 1.- Mecanismos de defensa del aparato respiratorio.**

**I.- MECANISMOS INESPECIFICOS**

**A) Remoción:**

- remoción nasal
- remoción traqueobronquial
- remoción alveolar

**B) Secreciones:**

- capa traqueobronquial (moco)
- capa alveolar (surfactante)
- lisozima
- interferon
- complemento

**C) Defensas Celulares**

- no fagocíticas : epitelio traqueobronquial
- fagocíticas : fagocitos sanguíneos (neutrófilos, monocitos, fagocitos tisulares (macrófagos alveolares).

**II.- MECANISMOS ESPECIFICOS**  
(INMUNOLOGICOS)

**A) Mecanismos dependientes de linfocitos B.**

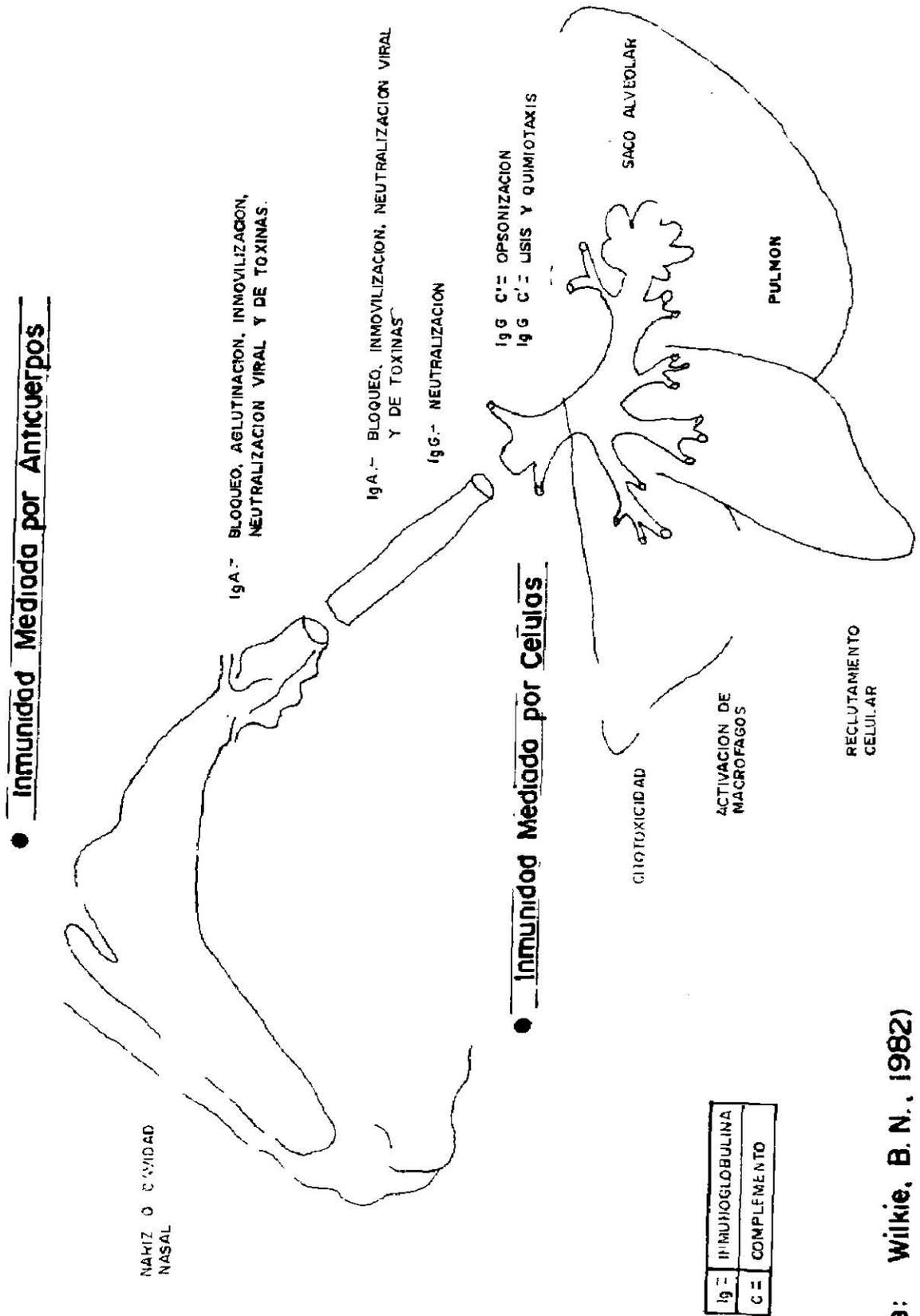
- inmonoglobulinas séricas
- inmonoglobulinas secretadas

**B) Mecanismos dependientes de linfocitos T.**

- mediados por linfocitos
- citotoxicidad celular directa

(Fuente: Trigo I.; F. J. 1987)

**FIGURA 3.-** Competencia inmunológica en las distintas porciones del sistema respiratorio.



(Fuente: Wilkie, B. N., 1982)

plia variedad de mecanismos de defensa pulmonar, algunos microorganismos logran sortear estos efectos mediante elementos que le permiten eludir la respuesta inmune (20, 30, 50, 54).

Es importante señalar que para algunos autores aún es dudo el papel que desempeña el aparato respiratorio al considerarlo como un sistema inmunitario independiente o si sólo refleja lo que está ocurriendo a un nivel sistémico (59). No obstante y en base a lo descrito con anterioridad, debe destacarse la increíble capacidad inmunológica que el pulmón posee, y que efectivamente, puede responder por sí sólo ante un Ag o puede participar junto con otros órganos conjuntamente (25). Sin embargo, en algunas circunstancias las reacciones protectoras pueden excederse en su función defensiva y dar lugar a un daño mucho más severo que el propio agente causal (44, 47), ya que si bien los mecanismos inmunológicos que operan en ambas reacciones -inmunidad e hipersensibilidad- son similares, la diferencia estriba en la magnitud o intensidad de la res-puesta inflamatoria, aunado a la acción de mediadores farmacológicos, que inducen más daño al tejido (55).

Presentación natural de fenómenos de Hipersensibilidad en el pulmón en el hombre y en los animales domésticos.

La presentación de padecimientos pulmonares relacionados con hipersensibilidad recibe el nombre de alveolitis alérgica

extrínseca, término más correcto, en vista de afectar frecuentemente las vías respiratorias pequeñas. Se le puede definir como síndrome clínico causado por una gran variedad de sustancias orgánicas aspiradas, principalmente productos de hongos y proteínas, y se caracteriza por la presencia de Ac precipitantes específicos, formación de granulomas y un defecto ventilatorio restrictivo (55). Entre los ejemplos más conocidos y que han sido mencionados con anterioridad, está el "pulmón del granjero" y la alveolitis alérgica extrínseca en bovinos.

No es intención en este trabajo el hacer un listado de los agentes causales que producen la alveolitis alérgica extrínseca, ya que existen excelentes revisiones referentes al tema y con una documentación más completa (34, 52, 55), pero se puede mencionar que la mayoría de estos padecimientos se encuentran relacionados con la inhalación de material vegetal contaminado con hongos, o con la inhalación de proteína aviar heteróloga y de mamífero.

Inducción de la RA y otros fenómenos similares en animales de experimentación.

La RA es reproducible en varias especies, como el cobayo, la rata, el ratón y el hombre, pero en el conejo se consigue con mayor facilidad, quizá por la gran cantidad de Ac precipitante que este animal sintetiza en respuesta a un estímulo an

tigénico (26). Muchos tejidos han sido empleados para demostrar y estudiar la RA. Por ejemplo, aparte de la piel, se ha estudiado en el cerebro, ojo, corazón y pericardio, riñón, hígado, estómago, testículo, mesenterio, peritoneo, ganglio linfático y en el pulmón (8, 26).

Existen cinco distintos modelos de este fenómeno según las variaciones en las técnicas de inducción y demostración, basados en reacciones cutáneas: 1) activa clásica, en donde la sensibilización es por inyecciones múltiples de Ag por vía subcutánea y se le demuestra por prueba cutánea; 2) activa modificada, cuando la sensibilización es por vía parenteral con inyecciones múltiples del Ag y la demostración es por prueba cutánea; 3) pasiva directa, en donde la sensibilización es por la transferencia pasiva de Ac a un receptor normal y la demostración es por prueba cutánea; 4) pasiva invertida o reversa, en la cual, se sensibiliza localmente un área limitada de la piel por la inyección subcutánea del Ac a un receptor normal, demostrándose por la inyección intravenosa del Ag y, 5) pasiva local, la cual ocurre cuando se sensibiliza y demuestra simultáneamente al inyectar en un mismo sitio y tiempo, el Ag y el Ac (complejos inmunes preformados), en un receptor normal (8, 26, 52). Todas estas técnicas tienen una similitud con la RA clásica por el hecho de presentar los mismos componentes o elementos involucrados, los cuales son: acumulación de Ag - Ac, complemento del huésped y neutrófilos, así como de presentar las lesiones esenciales, que

consisten en daño vascular de la lámina elástica arterial y depósito de material fibrinoide en las paredes arteriales en el sitio de la inoculación (8). Las conclusiones que se han obtenido de estos distintos modelos experimentales han sido extrapoladas al concepto general de la RA activa (26).

En relación al pulmón, existen varios modelos experimentales en animales que han tratado de explicar por analogía el mecanismo patogénico que ocurre en algunos padecimientos pulmonares, en los cuales están involucrados mecanismos inmunopatológicos (39), tanto en el humano como en los animales domésticos. Uno de los ejemplos más clásicos y que ocurre en forma natural es el de la neumonitis por hipersensibilidad o enfermedad pulmonar de los granjeros, que ocurre tras la inhalación de esporas del actinomiceto termófilo Microsporydia faeni. En los bovinos este mismo padecimiento recibe el nombre de alveolitis alérgica extrínseca (34, 37). Se conocen tres formas clínicas de este padecimiento en humanos: 1) aguda, ocurre después de una sola exposición masiva al Ag. Puede ser fatal; 2) subaguda, se observa con dosis bajas y repetidas del Ag. La lesión es reversible y, 3) crónica, es similar a la anterior, pero el daño pulmonar evoluciona hacia una fibrosis irreversible y enfisema (34).

En lo que concierne a la inducción de la RA activa en el pulmón, se puede mencionar que sólo al inicio de estos modelos experimentales se mostró cierto interés en reproducirlo -

para su estudio y comprensión (6, 13, 24, 35, 40).

Los trabajos que le sucedieron fueron dirigidos hacia el estudio de aspectos cuantificables, de las propiedades biológicas, bioquímicas y fisicoquímicas de los componentes involucrados en el daño pulmonar. Estas apreciaciones estaban basadas a través de trabajos experimentales que inducían daño pulmonar utilizando la modalidad pasiva invertida (24), la pasiva (19), a través del uso de complejos inmunes preformados -- (45), así como de la administración de dosis repetidas de Ag para inducir la enfermedad del suero crónica (3, 58). No obstante, como en el caso de las modalidades de la RA activa en la piel, permanece la duda de que las variaciones en los ensayos pulmonares correspondan con la RA original (56).

### III.- MATERIAL Y METODOS

#### Animales para el estudio

Se utilizaron conejos mestizos (Nueva Zelanda/California) de unas 8 a 10 semanas y con un peso aproximado de 800 - gramos. Estos animales fueron obtenidos del criadero de conejos instalado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UANL), se mantuvieron en jaulas apropiadas para el caso y su distribución en las mismas fue al azar. Se les proporcionó alimento comercial y agua ad libitum, además de fruta y verdura fresca como complemento. Todos los animales, antes del inicio del experimento, fueron sometidos a un tratamiento profiláctico que consistió de sulfas (1 gr/lt) y de tilosina (75 mg/lt) en el agua de bebida por un período de 7 días con el fin de controlar una serie de padecimientos de carácter -- neumónico y entérico que se habían presentado en algunos animales.

Los animales destinados al ensayo de la lesión cutánea - fueron 13 en total, divididos en 5 grupos con 1, 2, 2, 4 y 4 individuos cada uno respectivamente. Cada grupo representaba el tiempo de su sacrificio después de la aplicación del último inóculo, esto es, a las 4, 8, 12, 24 y 36 horas.

Los conejos sometidos al ensayo del daño pulmonar se dividieron en 7 grupos integrados por 4 individuos cada uno, --

representando el tiempo de sacrificio de los mismos, una -- vez administrado el último inóculo. Estos tiempos corres-- pondieron a los 30 y 60 minutos, y a las 4, 8, 12, 24 y 36 horas. En todos estos grupos se determinó el grado de le-- sión tanto macroscópica como microscópicamente.

### Características del Inóculo

El incóculo utilizado consistió en inmunoglobulinas an-- titénicas equinas modificadas por digestión enzimática y -- térmica. Dicho producto se adquirió en un negocio del ramo y la presentación del mismo es como sigue: inmunoglobuli-- nas (5000 U.I.); cloruro de sodio (5 mg/ml) utilizado como isotonzante; fenol (4 mg/ml) como conservador y agua inyec-- table (5 ml).

Este producto se mantuvo en refrigeración a 4 grados - centígrados durante el período de tiempo que duró el experi-- mento.

## Procedimiento de Inmunización

Ensayo cutáneo.- Los animales que representaban el grupo "a" fueron inmunizados con 1000 U.I. de antitoxina tetánica contenidas en un volumen de 1 ml., realizándose 2 aplicaciones por vía intramuscular (IM) en cada uno de los miembros posteriores. El último inóculo se administró con la ayuda de una jeringa para tuberculina por vía subcutánea (SC), previa depilación y antisepsia con yodo en uno de los costados del animal. Para los grupos "b", "c" y "d" se utilizó un manejo similar. En el grupo "b" se utilizaron 500 U.I. de antitoxina tetánica, colocadas en un volumen de 0.5 ml., realizándose 2 aplicaciones IM y una última por vía SC. Para el grupo "c" se aplicaron tres inóculos por vía SC repetidos de 1000 U.I. de antitoxina tetánica incluídas en un volumen de 1 ml cada uno. En el caso de los conejos del grupo "d" se utilizaron 2000 U.I. de antitoxina tetánica, contenidas en un volumen de ml., realizándose 3 aplicaciones por vía IM y una última aplicación por vía SC. El período de inoculación entre las inmunizaciones fue de 7 días en todos los casos. La tabla 2 muestra la distribución de los animales por grupos y los procedimientos de inmunización para el ensayo cutáneo.

Ensayo pulmonar.- Los animales también fueron divididos por grupos de acuerdo a la técnica de inoculación. Los conejos del grupo "a" recibieron 1000 U.I. de antitoxina tetánica, contenidas en un volumen de 1 ml., aplicándose 2 inoculaciones

**TABLA 2**

Distribución de los animales por grupos y procedimientos de inmunización para el ensayo de la Reacción de Arthus Activa en Piel.

<u>4 horas</u>	<u>8 horas</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>	<u>36 horas</u>
470-1 a	470-2 a	470-3 a	470-4 a	429-1 a
	470-5 c	470-6 c	470-7 c	429-2 a
			465-13 d	429-3 a
			465-14 b	429-4 a

a 1000 UI antitoxina tetánica por inoculación. 2 aplicaciones IM, 1 aplicación SC.

b 500 UI antitoxina tetánica por inoculación. 2 aplicaciones IM, 1 aplicación SC.

c 1000 UI antitoxina tetánica por inoculación. 3 aplicaciones SC.

d 2000 UI antitoxina tetánica por inoculación. 3 aplicaciones IM, 1 aplicación SC.

por vía IM en cada uno de los miembros posteriores y luego el inóculo de desafío se colocó por vía endotraqueal (ET). Al igual que en el ensayo cutáneo, el período de tiempo entre las inmunizaciones fue de 7 días. Para la realización de la inoculación ET, los conejos fueron tranquilizados con xilazina (3 mg/kg) y posteriormente anestesiados por disociación con ketamina (50 mg/kg), ambos por vía IM., según lo recomendado por otros autores (7, 17), hasta alcanzarse un estado de anestesia quirúrgica para luego ser colocados en posición de decúbito dorsal. El área de la región ventral del cuello fue depilada y subsecuentemente desinfectada con yodo. Después de esto, se realizó una incisión con un bisturí en la línea media inferior del cuello, inmediatamente detrás del cartílago tiroides, de aproximadamente 2 a 3 cms. de longitud, abarcando todos los planos anatómicos hasta exponer la tráquea con la ayuda de unas pinzas de disección. Una vez que se le ha visualizado y por medio de una jeringa de 3 ml con su respectiva aguja, se procedió a colocar el inóculo entre el 2do. y el 3er. anillo traqueal, teniendo cuidado de no presionar demasiado a la tráquea y sin depositar con mucha presión el biológico para evitar el reflejo de la tos. Inmediato a esto, los animales fueron incorporados para asegurarse de que el inóculo alcanzaba el tracto respiratorio inferior. Posteriormente, en posición de decúbito dorsal de nuevo, se realizó la sutura de la herida quirúrgica utilizando hilo de seda para afrontar únicamente la piel y luego se desinfectó con yodo. Para los grupos "b", "c" y "d" se procedió con un manejo simi

lar. En los conejos del grupo "b" fueron utilizados 500 U.I. de antitoxina tetánica, incluidas en un volumen de 0.5 ml., - en cuyo caso se aplicaron 2 inoculaciones IM y una ET. En el caso de los animales del grupo "c", se colocaron 3 inoculaciones ETs repetidas utilizando 1000 U.I. de antitoxina tetánica contenidas en un volumen de 1 ml. cada una y en los animales del grupo "d" se emplearon 2000 U.I. de antitoxina tetánica contenidas en un volumen de 2 ml., realizándose 2 inoculaciones por vía IM y una última de desafío por vía ET. La tabla 3 muestra la distribución de los animales por grupos y -- los procedimientos de inmunización para el ensayo pulmonar. También se incluyeron en este modelo los pulmones de 4 animales como testigos y que habían recibido el tratamiento profiláctico pero que no fueron inmunizados. Dos de ellos no recibieron ningún inóculo y los otros 2 fueron inoculados por vía ET con 1 ml. del vehículo de la antitoxina tetánica, o sea, - con 5 mg. de cloruro de sodio y 4 mg. de fenol contenidos en 1 ml. Para la obtención del vehículo, el biológico fue centrifugado en un tubo de ensayo de 9 x 75 mm. a 4500 r.p.m. -- por 5 minutos. Esto se realizó por duplicado con el fin de - evitar pérdidas accidentales del inóculo. Después de ésto, - se tomó el sobrenadante con una jeringa para tuberculina, teniendo cuidado de no tomar el sedimento para posteriormente - ser inoculados en la tráquea siguiendo la misma técnica descrita anteriormente. El sacrificio de los testigos fue a las 12 horas.

TABLA 3

Distribución de los animales por grupos y procedimientos de inmunización para el ensayo de la reacción de Arthus Activa en Pulmón.

<u>30 min.</u>	<u>60 min.</u>	<u>4 horas</u>	<u>8 horas</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>	<u>36 horas</u>
497-1 a	497-5 a	465-1 c <sup>+</sup>	465-4 c	465-7 c	465-10 c	429-10 a
497-2 a	497-6 a	465-2 a	465-5 a	465-8 a	465-11 d	429-11 a
497-3 a	497-7 a	465-3 b	465-6 b	465-9 b	465-12 b	429-12 a
497-4 a	497-8 a	465-15 d	465-16 d	465-17 d	465-18 d	429-14 a

a 1000 UI antitoxina tetánica por inoculación. 2 aplicaciones IM, 1 aplicación ET.

b 500 UI antitoxina tetánica por inoculación. 2 aplicaciones IM, 1 aplicación ET.

c 1000 UI antitoxina tetánica por inoculación. 3 aplicaciones ET.

d 2000 UI antitoxina tetánica por inoculación. 3 aplicaciones IM, 1 aplicación ET.

+ Murió antes del último inóculo.

## Sacrificio

Para el procedimiento de sacrificio en ambos ensayos, - cutáneo y pulmonar, los animales fueron sometidos a una sobredosis de anestésico, utilizando pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Durante el plano de anestesia profunda fueron desangrados por sección de los vasos sanguíneos axilares.

## Toma de muestras

Una vez sacrificados, los animales fueron colocados en - decúbito dorsal. Para extraer los pulmones, la piel de la región torácica fue incidida y separada con un bisturí. El tórax se abrió cortando las uniones costocentrales con unas tijeras Mayo. Los pulmones fueron extraídos seccionándolos en su unión dorsal con un bisturí a la vez que se hacía tracción de la tráquea con unas pinzas de disección. Durante este procedimiento se registraron los cambios macroscópicos basados - en ciertos cambios morfológicos como congestión, edema, enfi-sema y consolidación. Posteriormente, los pulmones y la trá-quea extraídos fueron depositados en frascos con solución formalina bufferada al 10% para su fijación durante 48 horas. - Cada frasco fue debidamente identificado. Una vez fijados -- los pulmones, la tráquea y los bronquios extrapulmonares fue-ron eliminados. Para su posterior proceso histológico de ru-tina (1), es decir, incluidos en parafina, seccionados a 5 micras y teñidos con hematoxilina y eosina (H&E), se realizaron

cortes sagitales de cada uno de los pulmones, abarcando el lóbulo craneal, intermedio y caudal en el pulmón derecho y el lóbulo craneal y caudal en el pulmón izquierdo. Cada uno de los pulmones fueron montados e identificados en distintas laminillas. Un procedimiento similar se realizó en los animales testigos.

En el ensayo cutáneo, los conejos fueron colocados en décubito lateral. Para la extracción del tejido cutáneo, se -- procedió a realizar una incisión de unos 3 cms. de longitud -- con un bisturí sobre el costado que fue utilizado para el desafío, abarcando hasta la grasa subcutánea. Con unas pinzas de disección se realizó cierta tracción mientras se iba seccionando el resto de la piel hasta obtener un trozo de unos 9 cms. cuadrados aproximadamente el cual fue también colocado para su fijación en frascos -debidamente identificados- con -- una solución formalina bufferada al 10% durante 48 horas. -- Una vez fijada la piel, se realizaron cortes transversales de manera que abarcara todos los estratos de la misma. Después de ésto, se realizó la técnica histológica de rutina mediante la tinción de H & E.

### Histopatología

Todas las muestras pulmonares observadas al microscopio de luz se dividieron de acuerdo a una nomenclatura realizada en base a las lesiones observadas. Las lesiones se dividie-

ron en tres partes: lesiones básicas, lesiones de probable -- asociación con la RA y lesiones de origen incierto.

Para la observación microscópica del tejido cutáneo, las lesiones se dividieron de acuerdo a lo siguiente: congestión, edema, infiltración por PMN, hialinización de pared vascular, hemorragia y necrosis.

#### IV.- RESULTADOS

A pesar de que el tratamiento profiláctico disminuyó en gran medida las lesiones neumónicas, lo cual pudo comprobarse tanto en la apreciación macroscópica como microscópica de 2 conejos utilizados como testigos pos-tratamiento pero que no recibieron inóculo ET, se pudieron apreciar algunas lesiones que se tuvieron que considerar o incluir dentro de un parámetro de cambios básicos, ya que podrían encontrarse en aquellos animales destinados al ensayo de la lesión pulmonar. Dichas lesiones fueron: atelectasia, engrosamiento de septos alveolares, enfisema e hiperplasia linfoide peribronquial y peribronquiolar.

Para los 2 animales del grupo testigo que recibieron el vehículo de la antitoxina tetánica la apreciación macroscópica fue normal. Microscópicamente, además de encontrarse las lesiones básicas antes descritas, fueron observadas áreas muy limitadas, a manera de "parches", de infiltración por células polimorfonucleares (PMNs) localizadas en septos alveolares -- así como adyacentes a bronquios y bronquiolos. De igual manera, se apreció una discreta cantidad de macrófagos alveolares activos (MAa). También pudo observarse una hiperplasia del epitelio bronquial y bronquiolar, la cual fue agrupada junto con otros cambios de índole proliferativo dentro del grupo de lesiones de origen incierto. Dichas lesiones fueron vistas en aquellos animales sometidos al ensayo del daño pulmonar.

Brevemente se describirán las lesiones - en forma global - más sobresalientes en los grupos de animales sacrificados de diferentes intervalos de tiempo, haciendo énfasis en aquellas relacionadas con la RA. El cuadro 2 representa lo anterior. Las demás lesiones, básicas e inciertas, aunque también estuvieron presentes en mayor o menor grado, quedan expuestas en el cuadro 3. (El tiempo corresponde con el período de sacrificio a partir del último inóculo).

30 minutos. El aspecto macroscópico mostró discreta congestión, preferentemente en el pulmón izquierdo, enfisema y distensión pulmonar. Microscópicamente, extensas áreas de un edema intensamente eosinófilo. Discreta cantidad de PMNs en septos alveolares y numerosos MAa, con citoplasma muy acidófilo, y discretas zonas de necrosis así como hemorragia en luz alveolar.

60 minutos. Macroscópicamente 2 animales mostraron consolidación de la porción dorsal del lóbulo apical, uno en el pulmón derecho (497-5a) y el otro en el izquierdo (497-8a). Al microscopio, de nuevo la gran cantidad de edema, marcada infiltración de PMNs en septos alveolares y adyacentes a vasos sanguíneos, así como en la adventicia, muscular, mucosa e incluso cartílago bronquial y bronquiolar. En muchas zonas están desgranulándose. Escasa cantidad de MAa y discretas áreas necróticas. En un conejo (497-8a) se observó un exudado formado por restos de PMNs, MA y epitelio descamado en luz

**CUADRO N° 2.-** Relación de lesiones pulmonares y su frecuencia por grupos, incluyendo animal - les testigo.

**LESIONES DE PROBABLE ASOCIACION CON RA**

	30 min.	60 min.	4 horas	8 horas	12 horas	24 horas	36 horas	TSV	TCV
Infiltración por PMN en Septos Alveolares	4/4	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4	3/4	0/2	2/2
Infiltración por PMN en Adventicia Vasular	0/4	4/4	3/4	4/4	4/4	3/4	2/4	0/2	0/2
Infiltración por PMN en Media Vasular	0/4	1/4	2/4	1/4	2/4	4/4	3/4	0/2	0/2
Infiltración por PMN en Intima Vasular	0/4	1/4	0/4	1/4	1/4	1/4	1/4	0/2	0/2
Trombosis	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/2	0/2
Hemorragia	2/4	3/4	4/4	2/4	4/4	2/4	2/4	0/2	0/2
Edema	4/4	4/4	3/4	3/4	4/4	4/4	2/4	0/2	0/2
Hialinización de Media de Arterias	0/4	0/4	0/4	1/4	2/4	2/4	2/4	0/2	0/2
Necrosis en Parenquima	4/4	4/4	3/4	3/4	4/4	3/4	3/4	0/2	2/2
Infiltración por PMN adyacente a bronquios y bronquiolos	0/4	4/4	3/4	3/4	4/4	4/4	3/4	0/2	1/2
Infiltración por PMN en submucosa de bronquios	0/4	2/4	2/4	0/4	2/4	0/4	2/4	0/2	0/2
Infiltración por PMN en mucosa de bronquios y bronquiolos	0/4	2/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	0/2	0/2

**CUADRO N° 3.-** Relación de lesiones pulmonares y su frecuencia por grupos, incluyendo animales testigo.

**LESIONES BASICAS**      30 min.   60 min.   4 horas   8 horas   12 horas   24 horas   36 horas   TSV TCV

Atelectasia	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	2/2	2/2
Engrosamiento de Sep- tos Alveolares	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	2/2	2/2
Emfisema	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	2/2	2/2
Hiperplasia Linfoide - Peribronquial y Peribron- quiolar.	4/4	4/4	3/4	3/4	4/4	4/4	4/4	0/2	2/2

**LESIONES DE ORIGEN INCIERTO**

Proliferación de Intima Vascular	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	2/4	3/4	0/2	0/2
Proliferación de Neumo- citos con Epitelializa- ción	4/4	4/4	2/4	4/4	3/4	4/4	3/4	0/2	0/2
Sincitios	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4	0/4	0/4	0/2	0/2
Hiperplasia de Epite- lio Bronquial y Bron- quiolar	4/4	4/4	3/4	3/4	3/4	4/4	3/4	0/2	2/2

TSV Testigo sin vehículo      TCV Testigo con vehículo

bronquial.

4 horas. En la necropsia se apreció una discreta congestión, enfisema y distensión pulmonar. Histológicamente hubo hialinización en la media de algunas arteriolas. Presencia de PMNs alrededor de vasos sanguíneos, bronquios y bronquiolos así como en las áreas consolidadas. Discreta cantidad de MAa, así como edema y hemorragia. La imagen microscópica de un animal que falleció súbitamente 32 horas antes de recibir su último inóculo (465-1c) reveló una severa infiltración por PMNs en toda la estructura bronquial al grado de producirle necrosis y una marcada hiperplasia epitelial. La figura 4 -- muestra algunos cambios mencionados anteriormente para este grupo y la figura 5 corresponde al animal que murió.

8 horas. El aspecto macroscópico de uno de los animales mostró hemorragia petequiales y equimóticas subpleurales (465-4c), en otro se apreció hidrotórax (465-5a). La congestión se mantuvo y algunos conejos presentaron estertores. Al microscopio, notoria proliferación del endotelio vascular al grado de obliterar la luz así como numerosos PMNs subendoteliales, algunos de desgranulación. La figura 6 ilustra a estas células participando en el evento inflamatorio. La necrosis se -- presentó con mayor severidad. La proliferación alveolar llegó al grado de formar sincitios.

12 horas. Macroscópicamente, consolidación de la porción



**FIGURA 4.** PULMON DE UN ANIMAL SACRIFICADO A LAS 4 HORAS DE HABER RECIBIDO EL INOCULO DE DESAFIO. ASPECTO HIALINO EN LA MEDIA DE ESTA ARTERIOLA. Y ALGUNOS PMNs INFILTRANDOLA. TANTO LOS NUCLEOS DE LA INTIMA COMO DE LA MEDIA VASCULAR APARECEN PICNOTICOS (H E, 400x).



**FIGURA 5.\_** PULMON DE UN CONEJO QUE MURIO -  
ANTES DE RECIBIR EL INOCULO DE DESAFIO. PREVIAMENTE  
HABIA RECIBIDO DOS INMUNIZACIONES ETs DE ANTITOXINA  
TETANICA. INTENSA INFILTRACION POR CELULAS INFLAMA-  
TORIAS PMNs Y LINFOCITOS (H E, 1000 x).



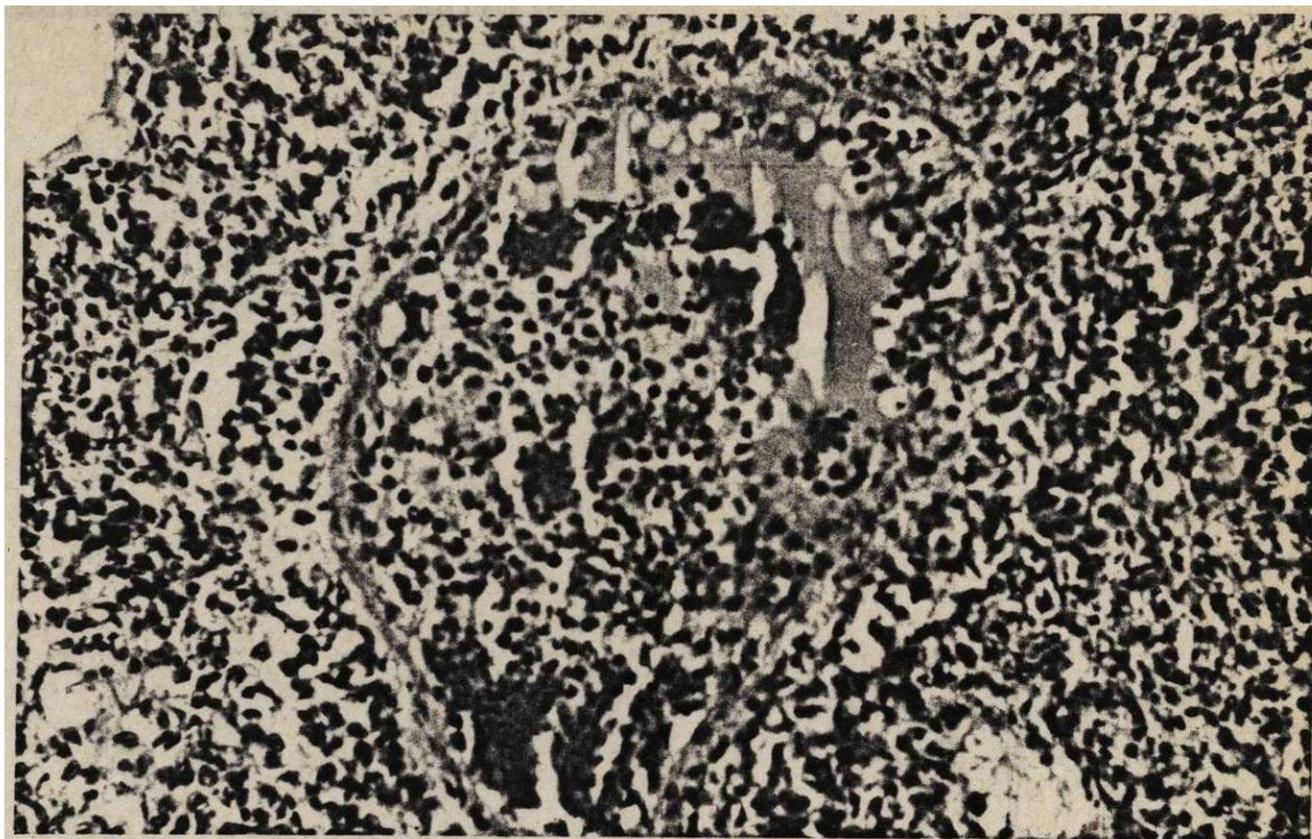
**FIGURA 6.-** DETALLE DE LA INFILTRACION POR PMNs (HETEROFILOS) EN EL PARENQUIMA PULMONAR. ES OBVIA LA INTENSA DESGRANULACION (H E, 1000x).

dorsal del pulmón derecho (465-7c). Además, algunos animales presentaron estertores. Histológicamente, marcada infiltración por PMNs localizados subendotelialmente. La severidad de las lesiones es mucho mayor que el grupo anterior.

24 horas. Durante la necropsia fue notoria la consolidación de la parte dorsal del pulmón derecho en un conejo (465-12b). Microscópicamente no difiere del grupo anterior.

36 horas. No hubo cambios significativos macroscópicamente, salvo la congestión. La imagen histológica mostró la formación de trombosis hialina en uno de los animales (469-11a) La Figura 7 ilustra este cambio. Las zonas de necrosis se apreciaron con menor intensidad.

R.A. en la piel. El aspecto macroscópico mostró en la mayoría de los animales un eritema difuso que podía evolucionar hasta hemorragia y necrosis en algunos de los mismos. La imagen histológica mostró: a las 4 horas, una evidente congestión y edema, así como una discreta marginación perivascular de PMNs; a las 8 horas, los cambios morfológicos fueron muy similares pero con una mayor intensidad en lo referente a la infiltración por PMNs. Asimismo, pudo observarse una hialinización en la media de algunos vasos sanguíneos así como trombosis. A partir de las 12 horas, los cambios fueron muy semejantes a lo anteriormente descrito, además de reconocerse un discreto infiltrado por células mononucleares, manteniéndose



**FIGURA 7.-** PULMON DE UN ANIMAL SACRIFICADO A LAS 36 HORAS DE HABER RECIBIDO EL INOCULO DE DE SAFIO. PEQUEÑA VENA CON INFILTRACION ADYACENTE ASI COMO EN LA INTIMA POR PMNs. EN SU LUZ SE APRECIA UN TROMBO HIALINO PARCIALMENTE CONSTITUIDO (H E, 160 x).

se de manera similar en las 36 horas. El cuadro 4 muestra --  
los cambios más importantes relacionados con la R.A. en los -  
distintos grupos de animales.

**LESIONES RELACIONADAS CON LA RA EN LA PIEL**

	<b>4 horas</b>	<b>8 horas</b>	<b>12 horas</b>	<b>24 horas</b>	<b>36 horas</b>
<b>Congestión</b>	1/1	2/2	2/2	4/4	4/4
<b>Marginación de PMNs</b>	1/1	1/2	1/2	2/4	1/4
<b>Edema</b>	1/1	2/2	2/2	4/4	3/4
<b>Infiltración por PMNs:</b>					
<b>A) Pared Vascular</b>	0/1	1/2	1/2	2/4	2/4
<b>B) Perivascular</b>	1/1	2/2	2/2	4/4	3/4
<b>C) Tejido Conectivo</b>	1/1	2/2	2/2	4/4	4/4
<b>Hemorragia</b>	0/1	2/2	2/2	3/4	3/4
<b>Trombosis</b>	0/1	2/2	1/2	3/4	3/4
<b>Necrosis</b>	0/1	2/2	2/2	4/4	4/4

## V.- DISCUSION

Es indudable que el daño inflamatorio pulmonar sea una de las formas más comunes de enfermedad en todas las especies domésticas, ya que la localización anatómica del pulmón lo sitúa entre uno de los órganos más expuestos al medio ambiente (47), y a pesar de esto, los estudios llevados a cabo para -- comprender los mecanismos inmunopatológicos involucrados en este órgano son aún escasos (25), a diferencia de la extensa información que se tiene sobre la inmunopatología renal (48). Sin embargo, cada vez es mayor la sugerencia de la participación inmunológica en el daño tisular al pulmón (55). En este sentido, se han sugerido varios padecimientos pulmonares. Por ejemplo, en la patogenia de la pasteurelisis neumónica se ha descrito una participación de complejos inmunes (34, 52) y recientemente se ha sugerido la participación antibacteriana de la IgE hacia Pasteurella (14).

Una de las maneras de estudiar con más facilidad a los - mecanismos inmunológicos involucrados en el daño pulmonar ha sido mediante el empleo de animales experimentales, tales como cuyes, ratas, ratones o conejos. Algunos son más susceptitibles que otros para presentar un determinado tipo de respues-ta inmune (19).

Ya se ha hablado de la disponibilidad del conejo, por sobre otras especies, para la realización de este tipo de expe-

rimentos (19, 26, 40). Fue el mismo Arthus quien en su clásico trabajo utilizó conejos inmunizados con suero equino (2). Posteriormente, los trabajos que le sucedieron para estudiar la participación de los complejos inmunes en la inmunopatogénesis pulmonar han utilizado en su mayoría a este animal (3, 6, 13, 35, 46). En base a estos datos se ha fundamentado, para su realización, el presente modelo experimental.

El conejo brinda la ventaja de permitir el uso de grandes volúmenes de inóculo, lo cual en otras especies hubiera sido fatal (30). Una de las incomodidades encontradas fue el uso de hasta el doble de la dosis recomendada del anestésico (17), con el fin de lograr un plano de anestesia quirúrgica adecuado para efectuar las maniobras de la inoculación ET. Este mismo inconveniente ha sido encontrado por otros autores (7). El empleo de la vía ET ha sido duramente criticado, ya que no se le considera una ruta fisiológica, pues evade algunos mecanismos de defensa, lo que da como resultado una distribución más heterogénea en el pulmón (29). Sin embargo muchos investigadores han utilizado esta vía (29, 45, 46), mientras que otros han utilizado vías más criticables. Incluso recientemente se ha informado de desafíos transtorácicos para inducir neumonías (36), lo que elimina totalmente la vía natural de la infección.

Las ventajas de la inoculación ET son la de permitir la rápida liberación de grandes volúmenes de inóculo, la dosis -

puede ser controlada y no requiere de un equipo caro y complicado (29). Además de esto, la visualización directa del procedimiento brinda la seguridad de que el inóculo fue debidamente colocado.

En lo concerniente al inóculo, la solución salina isotónica es el vehículo más comúnmente utilizado en inoculaciones ET, incluso en el trabajo aquí descrito; sin embargo se ha visto que este medio por sí sólo, es capaz de inducir alteraciones en el espacio broncoalveolar (29). Por esto, los estudios posteriores deberán tomar en cuenta los posibles cambios morfológicos debidos a este vehículo o considerar el uso de un vehículo más apropiado aplicado por aerosol. Las lesiones adjudicadas al vehículo pudieron ser apreciadas en dos animales testigos a manera de discretas áreas de infiltración por PMNs en septos alveolares así como una mínima necrosis. Estas lesiones distan mucho de aquellas comparables con la RA, por lo tanto, no constituyeron un problema con aquellos animales sometidos al ensayo pulmonar. Es probable que un verdadero problema lo hubieran constituido aquellas lesiones consideradas dentro del parámetro de lesiones básicas, si no se hubieran controlado mediante el tratamiento profiláctico. Cabe mencionar que casos de neumonitis espontánea han sido encontrados por otros investigadores, apreciándose incluso granulomas (39).

Las lesiones observadas en el pulmón y que fueron asociada

das con la RA, se derivan del estudio comparativo llevado a cabo en la piel de otros animales utilizados para ese propósito. Ahora bien, el pulmón reveló un daño más severo que la piel; no obstante la patogénesis del daño tisular en ambos tejidos es semejante, lo cual concuerda con las observaciones llevadas a cabo por Sher zer en 1978 (45). El daño pulmonar encontrado correspondió con: intenso edema alveolar, numerosos MAa entre los 30 y 60 minutos, gran cantidad de PMNs infiltrando septos alveolares, vasos sanguíneos, bronquios y bronquiolos, hialinización de la media arteriolar, trombosis, hemorragia y necrosis. Estas lesiones no fueron observadas en aquellos animales utilizados como testigos post-tratamiento no inoculados por vía ET y sólo de manera discreta en los testigos que recibieron el vehículo de la antitoxina tetánica por vía ET. En base a esto, las lesiones provocadas corresponden con toda seguridad con una RA activa.

Conviene mencionar que la vasculitis y la trombosis en el pulmón fue observada en muy pocos animales, a diferencia de la piel, donde fue más evidente; sin embargo coincide con un ensayo pulmonar descrito por Hensley en 1974 (19).

Como ya ha sido demostrado en trabajos previos sobre este tema (11, 24, 39, 45, 46), el neutrófilo ha sido la célula que más participación ha tenido a lo largo del presente ensayo y presumiblemente se encuentra participando en la producción del daño tisular, ya que su presentación en las zonas que

infiltra, además de la presentación del interesante fenómeno de desgranulación, que Slauson ha denominado fagocitosis frustrada (47), así como la necrosis adyacente, claramente así lo indican. La presencia de PMNs subendoteliales pudiera ser -- una clara evidencia de la fagocitosis de complejos inmunes, -- pues el depósito de los mismos es principalmente a nivel subendotelial (3).

La participación del sistema del complemento es necesaria para la producción de daño tisular, tal como ha sido demostrado por Johnson en 1974 (24) y que en el presente modelo no pudo determinarse, pero es muy probable que la gran afluencia de PMNs haya sido debida en su mayoría a la liberación de quimiotácticos producidos por el complemento, como lo son los factores C3a y C5a. Para demostrar esto, Desai et al en 1979 (11) llevaron a cabo un trabajo para estudiar la respuesta -- del tejido respiratorio ante el efecto de varios agentes quimiotácticos y demostraron que el factor C5 y/o sus fragmentos (C5 des arg) eran capaces de inducir una respuesta inflamatoria caracterizada por una gran afluencia de neutrófilos, la cual fue proporcional a la dosis del factor quimiotáctico y -- al tiempo de inoculación. Incluso, recientemente se ha sugerido la participación del MA en la RA, ya que son capaces de secretar un factor quimiotáctico específico para neutrófilos (20), además de secretar los factores C3 y C5 del complemento (30).

Esta interacción MA - PMN pudo haber ocurrido en el presente trabajo, ya que durante los primeros 30 minutos la cantidad de MA sobrepasó a la de los PMNs cediendo poco a poco e invertir el orden a partir de los 60 minutos. Además, el MA puede fagocitar complejos inmunes e iniciar toda la secuencia inflamatoria (20).

Resulta interesante hacer notar la importancia del neutrófilo como elemento imprescindible en la patogenia del daño pulmonar, tal como recientemente lo han sugerido algunos investigadores (28, 49).

En apoyo al papel que estos elementos desempeñan en el daño pulmonar, se ha demostrado de manera experimental que la depleción del complemento, del neutrófilo o la inactivación del factor C5 del complemento, inhibe o disminuye en gran medida la respuesta inflamatoria del pulmón (25).

Ahora bien, para aquellos cambios morfológicos enmarcados dentro del parámetro de lesiones de índole proliferativas como hiperplasia del epitelio bronquial y bronquiolar así como de una marcada epitelialización, la cual llegó al grado de formar sincitios, fueron observados en aquellos animales sometidos al ensayo pulmonar aunque también se apreciaron en los conejos que recibieron el vehículo del inóculo, por lo tanto, su estimación no fue posible. Estudios posteriores permitirán aclarar esta duda. Sin embargo, se ha observado una prolife-

ración epitelial en bronquios de cuyes utilizados para la inducción experimental de neumonitis por hipersensibilidad (39). La notable proliferación del endotelio vascular fue apreciada únicamente en los animales destinados al ensayo pulmonar, por lo que se puede atribuir con el estado de hipersensibilidad inducido, lo cual concuerda con lo descrito por Cochrane en 1973 (9), quién observó una proliferación de células endoteliales en conejos utilizados para la inducción de la enfermedad del suero aguda. De igual manera, se ha observado una proliferación endotelial durante el estado de hipersensibilidad tardía cutánea, en la cual los macrófagos activados son capaces de inducir una proliferación del endotelio vascular (38). En este sentido, un estado inmunitario semejante al antes descrito pudo haber participado en el presente ensayo, ya que fue posible observar la participación de células mononucleares, presumiblemente linfocitos T, en algunos animales sometidos al ensayo ET repetido; sin embargo, serán necesarios estudios posteriores para confirmar su intervención en la RA. No obstante, se ha observado que conejos inmunizados por vía ET con ASB desarrollan una RA y una reacción de tipo IV durante la prueba cutánea (42), lo cual coincide con lo descrito por Harris en 1976 (18).

Las lesiones provocadas en el presente ensayo pulmonar son evidente y comparablemente mucho más severas que las observadas por Hensley en 1974 (19), Johnson en 1974 (24) y Sherzer en 1978 (45, 46). Sin embargo, son similares a las

descritas por Richerson en 1971 y 1972 (39, 40).

La evidencia de encontrar una intensa actividad en los eventos inflamatorios llevados a cabo en este experimento, -- permite apreciar la gran versatilidad que el pulmón posee para responder ante un estímulo antigénico, al grado de provocar un daño mucho más severo que el propio agente causal que, como en este caso, carece absolutamente de poder patógeno y nada tiene que ver en la participación natural en algún proceso infeccioso, por lo tanto, el estado inflamatorio aquí provocado está mediado por un fenómeno de hipersensibilidad.

Esta lesión más o menos simple, a veces puede confundirse por procesos sobreañadidos de diferentes patogenias, tal es el caso de la presentación de una lesión de hipersensibilidad tardía en animales que han sido sensibilizados a la RA. -- Asimismo, estudios llevados a cabo en conejos para inducir un estado de anafilaxia, demostraron la presencia de un estado inmunopatológico denominado shock de agregado, el cual corresponde típicamente con una RA (4).

Las lesiones provocadas en el modelo aquí descrito son más intensas a partir de las 8 y 12 horas permaneciendo sin cambios hasta las 36 horas, lo cual concuerda con lo descrito por Johnson en 1974 (24). La dosis y vía de administración del inóculo fueron suficientemente adecuados para producir -- una respuesta inflamatoria severa tanto en la piel como en el

pulmón, aunque tanto en uno como en otro sitio la diferencia histopatológica radica más en la forma cuantitativa que cualitativa. Sin embargo, las evidencias indican que el pulmón es capaz de responder de una manera más agresiva que la piel.

## VI.- CONCLUSIONES

Basado en los resultados obtenidos de apreciación histopatológica se puede concluir que:

- 1.- La dosis y vía de administración del inóculo fueron suficientemente adecuados para producir una respuesta inflamatoria severa tanto en la piel como en el pulmón.
- 2.- Tanto en la piel como en el pulmón la diferencia histopatológica radica más en la forma cuantitativa que cualitativa.
- 3.- Las evidencias indican que el pulmón es capaz de responder de una manera más agresiva que la piel.

## VII.- RESUMEN

Un fenómeno de daño tisular semejante a la reacción de - Arthus activa fue provocado en el pulmón del conejo, empleando como antígeno antitoxina tetánica de origen equino. Para este propósito se emplearon 28 animales repartidos en 7 grupos que correspondieron al tiempo de sacrificio después del - último inóculo, teniéndose 30 y 60 minutos y 4, 8, 12, 24 y - 36 horas. Los animales fueron desafiados por vía endotraqueal con una dosis del biológico semejante a las dos o tres anteriores que se habían empleado para su inmunización, ya sea por vía intramuscular o también endotraqueal. El intervalo entre las inoculaciones fue de siete días. Además también se realizaron desafíos cutáneos en un ensayo colateral con otros animales, para comparar los cambios en ambos sitios. En terminos generales las lesiones cutáneas y pulmonares fueron semejantes, si bien en el pulmón se reconocieron más temprano y con mayor intensidad. Así se observó un severo edema alveolar y la presencia de numerosos macrófagos activos de 30 a 60 minutos, de 4 a 8 horas se reconoció además la participación de polimorfonucleares en íntima de arterias y arteriolas y, de 24 a 36 horas los cambios se mantuvieron; sin embargo la vasculitis real y la trombosis evidente fueron excepcionales. Cambios proliferativos tales como: hiperplasia epitelial en alveolos, bronquios y bronquiolos, así como del endotelio en la íntima de arterias y arteriolas, también se registraron en los pulmones de estos animales.

## VIII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Armed Forces Institute of Pathology. Manual of Histology Staining Methods. 1968. 3rd. Ed. McGraw-Hill. New York.
- 2.- Arthus, M. 1903. Injections répétées de serum de cheval chez le lapin. C.R. Soc. Biol. 55:817. Citado por Udaka, K. The Arthus Reaction. En: Movat, H.Z. 1971. Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. p.p. 389-423.
- 3.- Brentjens, J.R., D.W. O'Connell, I.B. Pawlowski, K.C. Hsu and G.A. Andres. 1974. Experimental immune complex - disease of the lung. The pathogenesis of a laboratory - model resembling certain human interstitial lung diseases. J. Exp. Med. 140:105-125.
- 4.- Broder, I. Anaphylaxis. En: Movat, H.Z. 1971. Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. p.p. 333-388.
- 5.- Calero, J. del R. 1983. Alergia e Infecciones Respiratorias. 1a. Edición. Interamericana. Madrid, España.
- 6.- Cannon, P.R., T.E. Walsh and C.E. Marshall. 1941. Acute local anaphylactic inflammation in the lungs. Am. J. Pathol. 17:777. Citado por Richerson, H.B., F.H.F. Cheng

- and S.C. Bauserman. 1971. Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in rabbits. 104:568-575.
- 7.- Chavez O., X.L. 1978. Comparación de cuatro técnicas anestésicas en el conejo de experimentación. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Veterinaria y Zoot. UNAM. México.
- 8.- Cochrane, C.G. The Arthus and Related Reactions. En: Williams, C.A. and M.E. Chase. 1976. Methods In Immunology and Immunochemistry. Vol. V. Antigen and Antibody - - Reaction In Vivo. Academic Press. New York. p.p. 159-175.
- 9.- Cochrane, C.G. and D. Koffler. 1973. Immune complex disease in experimental animals and man. Adv. Immunol. 16: 185-264.
- 10.- Damiano, V.V., A. Cohen, A. Tsang, G. Batra and R. Petersen 1980. A morphologic study of the influx of neutrophils into dog lung alveoli after lavage with sterile saline. Am. J. Pathol. 100:349-364.
- 11.- Desai, U., D.L. Kreutzer, H. Showell, C.V. Arroyave and P.A. Ward. 1979. Acute inflammatory pulmonary reactions induced by chemotactic factors. Am. J. Pathol. 96:71-84.
- 12.- Espinoza, L. R. Assays for Circulating Immune Complexes.

En: Espinoza, L.R. and C.K. Osterland. 1983. Circulating Immune Complexes. Their Clinical Significance. Futura - Publishing Company. New York. p.p. 21-49.

- 13.- Fried, B.M. 1933. Allergic lobar pneumonia. Experimental study. J. Exp. Med. 57-111. Citado por Richerson, H. B., F.H.F. Cheng and S.C. Bauserman. 1971. Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in rabbits. Am. Rev. Resp. Dis. 104: 568-575.
- 14.- Gershwin, L.J. and K. Friebertshauser. 1987. Demonstration of Pasteurella-specific immunoglobulin E in bovine serum. Am. J. Vet. Res. 48:169-175.
- 15.- Gordon, B.L. 1975. Lo Esencial de la Inmunología. 2a. - Edición. El Manual Moderno. México, D. F. p.p. 100-109.
- 16.- Green, G.M., G.J. Jakab, R.B. Low and G.S. Davis. 1977. Defense mechanisms of the respiratory membrane. Am. Rev. Resp. Dis. 115:479-514.
- 17.- Harkness, J.E. and J.E. Wagner. 1977. The Biology and - Medicine of Rabbits and Rodents. Lea and Febiger. Philadelphia. p.p. 41-57.
- 18.- Harris, J.O., D. Bice and J.E. Salvaggio. 1976. Cellular and humoral bronchopulmonary immune response of rabbits

immunized with thermophilic actinomyces antigen. 114:29-43.

- 19.- Hensley, G. T., J.N. Fink and J.J. Barboriak. 1974. Hypersensitivity pneumonitis in the monkey. Arch. Pathol. 97: 33-38.
- 20.- Henson, P.M. Mecanismos de Lesión Tisular Producida por Reacciones Inmunitarias. En: Bellanti, J.A. 1986. Inmunología, 3a. Edición. Interamericana. México, D. F. - - p.p. 241-288.
- 21.- Hunnighake, G.W., J.I. Gallin and A.S. Fauci. 1978. Immunologic reactivity of the lung. The In Vivo and In Vitro generation of a neutrophil chemotactic factor by alveolar macrophages. Am. Rev. Resp. Dis. 117:15-23.
- 22.- Hurvitz, A.I. 1982. Mechanisms of immune injury. J. Am. Vet. Med. Ass. 181:1080-1082.
- 23.- Jan, K. 1982. Responses Dominated by B Lymphocytes. Immunology, The Science of Self - Non Self Discrimination. John Wiley & Sons. New York. p.p. 554-556.
- 24.- Johnson, K.K. and P.A. Ward. 1974. Acute immunologic pulmonary alveolitis. 54:349-357.

- 25.- Johnson, K. J. and P.A. Ward. 1979. Immunopathology of the lung. A review. Am. J. Pathol. 95:794-839.
- 26.- Larralde, C. Inmunopatología. En: Correa, P., J. Arias-Stella, R. Pérez, T. y L.M. Carbonell. 1975. Texto de Patología. 2a. Edición. La Prensa Médica Mexicana. México, D. F. p.p. 78-126.
- 27.- Lenzini, L. Cellular Expression of the Immunologic Response of the Lung. En: Ricci, M., A.S. Fauci, P. Arcangely and P. Torzuoli. 1978. Developments In Clinical Immunology. Academic Press. New York. 207-213.
- 28.- López, A., M.G. Maxie, L. Ruhnke, M. Savan and R.G. Thomson. 1986. Cellular inflammatory response in the lungs of calves exposed to bovine viral diarrhoea virus, Myco--plasma bovis and Pasteurella haemolytica. Am. J. Vet. Res. 47:1283-1286.
- 29.- López, A., S. Young, A. Sharma and M. Prior, 1987. Effect of vehicular volume on the early pulmonary injury and inflammatory response in rats inoculated intratracheally -- with silica. Am. J. Vet. Res. 48:1282-1285.
- 30.- Martínez-Burnes, J. 1984. Eventos inflamatorios en el pulmón y su correlación con la remoción bacteriana en ratones inoculados con Pasteurella haemolytica y Staphy - -

Staphylococcus aureus. Tesis de Maestría. Fac. Med. Veterinaria y Zoot. UNAM. México.

- 31.- McCuskey, R.T. and P. Vasalli. Serum Sickness (Immune Complex Disease). En: Movat, H.Z. 1971. Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. p.p. 426-457.
- 32.- Nicolle, M. 1907. Contribution à l'étude de "phenomene d'Arthus. Ann. Inst. Pasteur. 21:128. Citado por Udaka, K. The Arthus Reaction. En: Movat, H.Z. 1971. Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. p.p. 389-423.
- 33.- O'Brien, I.M. and J. Pepys. Inmediated and Non-Immediate Asthmatic Reactions. En: Ricci, M., A.S. Fauci, P. Arcan<sup>g</sup>geli and P. Torzuoli. 1978. Developments In Clinical -- Immunology. Academic Press. New York. p.p. 193-200.
- 34.- Olsen, R.G. y S. Krakowka. 1983. Inmunología e Inmunopatología de los Animales Domésticos. El Manual Moderno. México, D. F. p.p. 129-152.
- 35.- Opie, E.L. 1924. Inflammatory reaction of the immune animal to antigen (Arthus phenomenon) and its relation to antibodies. J. Immunol. 9:247. Citado por Udaka, K. -- The Arthus Reaction. En: Movat, H.Z. 1971. Inflamma--

tion, Immunity and Hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. p.p. 389-423.

- 36.- Panciera, R.J. and R.E. Corstvet. 1984. Bovine pneumonic pasteurellosis: Model for Pasteurella haemolytica - and Pasteurella multocida- induced pneumonia in cattle. Am. J. Vet. Res. 45:2532-2537.
- 37.- Pirie, H.M., et al. 1971. A bovine disease similar to - farmer's lung. Extrinsic allergic alveolitis. Vet. Rec. 88:346-351. Citado por Hensley, G.T., J.N. Fink and J.J. Barboriak. 1974 Hypersensitivity pneumonitis in the monkey. Arch. Pathol. 97:33-38.
- 38.- Polverini, P.J., R.S. Cotran and M.M. Sholley. 1977. Endothelial proliferation in the delayed hypersensitivity - reaction. An autoradiographic study. J. Immunol. 118: - 529-532.
- 39.- Richerson, H.B. 1972. Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in the guinea pig. J. Lab. Clin. Med. 79:745-757.
- 40.- Richerson, H.B., F.H.F. Cheng and S. Bauserman. 1971. -- Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in rabbits. Am. Rev. Resp. Dis. 104:568-575.

- 41.- Saito, T. 1963. Microcirculatory disturbances in local allergic. Keia. J.M. 12:9. Citado por Udaka, K. The Arthus Reaction. En: Movat, H.Z. 1971. Inflammation, Immunity and hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. p.p. 389-423.
- 42.- Salvaggio, J., P. Phanuphak, R. Stanford, D. Bice and H. Claman. 1975. Experimental production of granulomatous pneumonitis. 56:364,380.
- 43.- Sánchez-Vizcaíno, J.M. 1986. Mecanismos Inmunitarios. -- Síndrome Respiratorio Bovino. Bovis.12. Luzán 5. Madrid, España. p.p. 75-84.
- 44.- Sell, S. 1981. Inmunología, Inmunopatología e Inmunidad. 2a. Edición. Harper and Row Latinoamericana. México, D. F. p.p. 126-277; 353-355.
- 45.- Sher zer, H. and P.A. Ward. 1978. Lung and dermal vascular injury produced by preformed immune complexse. Am. - Rev. Resp. Dis. 117-551-557.
- 46.- Sherzer, H. and P.A. Ward. 1978. Lung injury produced by immune complexes of varying composition. J. Immunol. 121: 947-952.

- 47.- Slauson, D.O. 1982. The mediation of pulmonary inflammatory injury. *Ad. Vet. Sci. Comp. Med.* 26:99-153.
- 48.- Slauson, D.O. and R.M. Lewis. 1979. Comparative pathology of glomerulonephritis in animals. *Vet. Pathol.* 16:135-164.
- 49.- Slocombe, R.F., J. Malark, R. Ingersholl, F. J. Derksen and N.E. Robinson. 1985. Importance of neutrophils in -- the pathogenesis of acute pneumonic pasteurellosis in - - calves. *Am. J. Vet. Res.* 46:2253-2258.
- 50.- Staines, N., J. Brostoff and K. Kames. 1985. *Introducing Immunology.* Gower Medical Publishing. London, England. - p.p. 31-34.
- 51.- Taichman, N.S. The Local Schwartzman Reaction. En: *Movvat, H.Z.* 1971. *Inflammation, Immunity and Hypersensitivity.* 1st Ed. Harper and Row Publishers. New York. 479-525.
- 52.- Tizard, I. 1984. *Inmunología Veterinaria.* 2a. Edición. Interamericana. México, D. F. p.p. 123-138; 307-370.
- 53.- Trautwein, G. Circunstancias Específicas de la Enfermedad. En: *Kitt, T. y Leo-Clemens Shulz.* 1985. *Tratado de Anatomía Patológica General para Veterinarios y Estudiantes de Veterinaria.* Labor. Barcelona, España. p.p. 57-98.

- 54.- Trigo T., F.J. Patología del Aparato Respiratorio. En: Trigo T., F.J. 1987. Patología Sistémica Veterinaria. - Vol. I. Fac. Med. Veterinaria y Zoot. p.p. 175-296.
- 55.- Turner-Warwick, M. 1981. Inmunología del Pulmón. El Manual Moderno. México, D. F. p.p. 1-55; 172-216; 242-277; 316-362.
- 56.- Udaka, K. The Arthus Reaction. En: Movat, H.Z. 1971. Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. 1st. Ed. Harper and Row Publishers. New York. 389-423.
- 57.- Wilkie, B.N. 1982. Respiratory tract immune response to microbial pathogens. J. Am. Vet. Med. Ass. 181:1074-1079.
- 58.- Wilson, C.B. and F.J. Dixon. 1971. Quantitation of acute and chronic serum sickness in the rabbit. J. Exp. Med. 134:7s. Citado por Sherzer, H. and P.A. Ward. 1978. Lung and dermal vascular injury produced by preformed immune complexes. Am. Rev. Resp. Dis. 117:551-557.
- 59.- Woolcock, J.B. 1984. Infección Bacteriana e Inmunidad de los Animales Domésticos. Acribia. Zaragoza, España. - p.p. 169-179.

