

Débil respuesta inflamatoria en un modelo para inducir la reacción de Arthus en el pulmón del cerdo[^]

Rafael Ramírez Romero*
Juan José Núñez Leos*
Alicia Magdalena Nevárez Garza*

Recientemente se describió un modelo de la reacción de Arthus en el pulmón del conejo, con la intención de establecer las probables relaciones en la patogenia de este fenómeno experimental con lo que naturalmente ocurre en las neumonías de animales domésticos.¹¹ Dicho modelo fue posteriormente continuado, demostrándose que ante un desafío endotraqueal (ET) con *Pasteurella multocida*, los conejos sensibilizados previamente con una bacteria comercial presentaban un daño pulmonar más severo y constante, en comparación con los no inmunizados.¹² La discusión de estos resultados se realizó en especial sobre pasteurelosis neumónica del ganado, ya que las evidencias de la intervención de mecanismos de hipersensibilidad son más numerosas para esta especie. No obstante, los mecanismos de hipersensibilidad también podrían presentarse en las neumonías del cerdo.

Este trabajo tuvo como objetivo inducir la reacción de Arthus en el pulmón del cerdo, para después comparar las lesiones inducidas con los cambios histológicos referidos en las principales neumonías exudativas de esta especie, en particular la pasteurelosis neumónica y la pleuroneumonía contagiosa.

Se utilizaron 10 cerdos híbridos con peso aproximado de 10 kg al inicio del experimento; todos ellos fueron examinados clínicamente para descartar cualquier padecimiento pulmonar previo. Los animales se mantuvieron en corrales con dimensiones adecuadas, donde se les suministró agua y alimento comercial medicado** *ad libitum*. Los animales se dividieron en tres grupos con tres cerdos cada uno; un cerdo sirvió como testigo. En el Cuadro 1 se presenta la distribución de los grupos, los procedimientos de inmunización y de desafío.

En los tres grupos, todos los animales fueron inmunizados con ovoalbúmina*** (OA) en dos ocasiones. El inmunógeno se administró por vía subcutánea (sc) los días 0 y 14. La dosis inoculada fue de 4, 16 y 40 mg de OA para los grupos A, B y C respectivamente, contenida en un volumen de 2 ml. La OA se diluyó en 1 ml de solución salina fisiológica (SSF), a la cual se le añadió 1 ml de hidróxido de aluminio[†] al 1% como coadyuvante.

Para efectuar el desafío ET se duplicaron las dosis del antígeno empleadas en la inmunización, éstas fueron de 8, 32 y 80 mg para los grupos A, B y C respectivamente. Lo anterior se realizó tranquilizando a los animales con Azaperona[‡] a una dosificación según las recomendaciones. El resto del procedimiento se llevó a cabo conforme se refirió previamente en otros estudios relacionados.^{11, 12}

Cuadro 1
DISTRIBUCION DE LOS GRUPOS DE ACUERDO CON LOS PROCEDIMIENTOS DE INMUNIZACION Y DESAFIO

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
1a Inmunización vía SC (día 0)	4 mg OA	16 mg OA	40 mg OA
2a Inmunización vía SC (día 14)	4 mg OA	16 mg OA	40 mg OA
Desafío vía ET (día 28)	8 mg OA	32 mg OA	80 mg OA

El sacrificio se realizó a las 12 horas posdesafío, según se señala en trabajos previos y conforme a los procedimientos referidos.^{11, 12} Se abrió la cavidad torácica y se extrajeron los pulmones, registrándose los cambios macroscópicos. Cada lóbulo se fijó por separado en formalina al 10% amortiguada y se realizó el procedimiento histológico convencional y la tinción de HyE.¹

*** Ovalbumin Grade III (chicken egg). Sigma Chemical Company

† Hidróxido de Aluminio. Merck-México, S.A.

‡ Stresnil. Chinoin. Productos Farmacéuticos, S.A. de C.V.

Recibido para su publicación el 11 de mayo de 1992

[^] Trabajo parcialmente financiado por la DGICSA, SEP, convenio: 90-07-0201/901592.

* Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Lázaro Cárdenas 4600. Unidad Mederos. 64930, Monterrey, Nuevo León.

** Ganador Purina, S.A. de C.V.

Los cambios observados, se registraron conforme al patrón de lesiones pulmonares asociadas a la reacción de Arthus en el pulmón del conejo.¹¹ Los cambios se compararon con las descripciones patológicas de las neumonías más importantes del cerdo; se consideraron exclusivamente las de tipo exudativo y en particular la pasteurelosis y neumónica y la pleuroneumonía contagiosa.^{2,4,5,9}

Descripción de los aspectos macro y microscópicos

Los cambios macroscópicos que se reconocieron fueron congestión pulmonar en el grupo A. Para los grupos B y C los cambios fueron edema interlobulillar, congestión pulmonar y discretas áreas de enfisema. No se registraron cambios para el animal testigo.

Las lesiones histopatológicas para los animales del grupo A fueron zonas de leve engrosamiento de septos alveolares, con edema intersticial y escasa infiltración por polimorfonucleares (PMN). Asimismo, hubo zonas de discreta atelectasia y enfisema adyacente (Figuras 1 y 2).

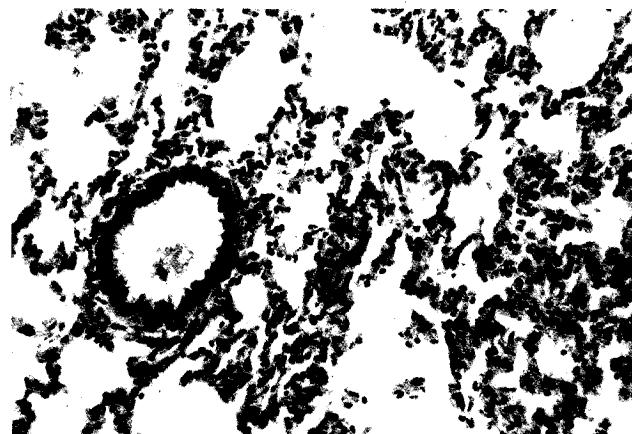


Figura 1. Pulmón. Grupo A. Se aprecia un leve engrosamiento de los septos alveolares, además de atelectasia y enfisema alveolar. El exudado en el bronquiolo es infimo. H&E, 120X



Figura 2. Pulmón. Grupo A. Con mayor aumento se advierte la celularidad en los septos alveolares, compuesta por un infiltrado mixto en el que se identifican algunos PMN; asimismo hay edema intersticial. H&E, 400X

En los animales incluidos en el grupo B las lesiones fueron: Numerosas zonas de marcado engrosamiento de septos alveolares por infiltración de PMN, mononucleares, edema y algunas hemorragias tanto en septos como en alveolos. También hubo varias zonas con discreto edema alveolar y perivasculares. En algunos bronquiolos se observó moco y *detritus*. Asimismo, en algunos casos se apreció moderada atelectasia y enfisema alveolar y la pavimentación de leucocitos en pequeños vasos sanguíneos (Figuras 3 y 4).



Figura 3. Pulmón. Grupo B. Se reconoce engrosamiento de los septos alveolares, así como atelectasia y enfisema. En la luz de los alveolos se aprecia edema, lo mismo que eritrocitos y algunas células inflamatorias. Una vena de mediano calibre muestra aglomeración leucocitaria. H&E, 120X

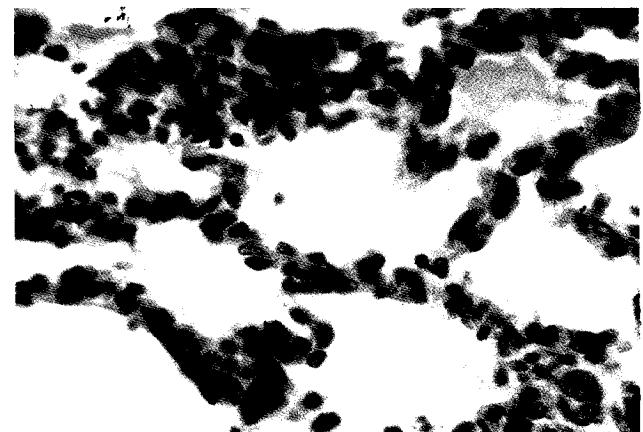


Figura 4. Pulmón. Grupo B. Con mayor aumento se observa edema intersticial y patente infiltración mixta de células inflamatorias en donde pueden reconocerse algunos PMN. Los capilares se muestran obliterados por leucocitos. También hay edema alveolar. H&E, 400X

Para los animales del grupo C, las lesiones fueron un difuso engrosamiento alveolar con escasa infiltración de PMN y edema, congestión y discretas hemorragias en intersticio. En algunas áreas era evidente la presencia de PMN y *detritus* en la luz de los alveolos. También se observó la pavimentación de leucocitos en vasos sanguíneos de pequeño y mediano calibre (Figuras 5 y 6). No se apreciaron lesiones en el animal testigo.

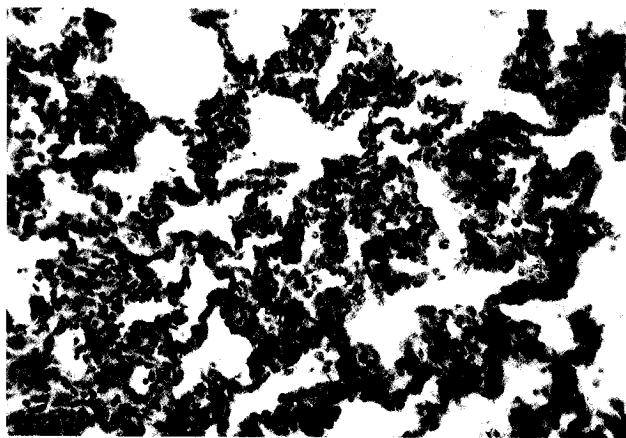


Figura 5. Pulmón. Grupo C. Se reconoce un evidente engrosamiento de los septos alveolares y atelectasia. Resulta notoria también la aglomeración de leucocitos en los capilares del intersticio. Hay escasas células inflamatorias, sobre todo PMN, y macrófagos en la luz de algunos alveolos, H&E, 120X

Las neumonías constituyen la forma de lesión más importante en el aparato respiratorio de animales domésticos.¹⁴ Se propone que la respuesta inflamatoria genera en el pulmón un daño más grave que la propia etiología inicial.¹⁴ Al respecto, se ha demostrado que la formación de complejos inmunes en el pulmón es intensamente flogística.^{3,6,17}

Recientemente se ha desarrollado un modelo de lesión pulmonar en el conejo, generado por un fenómeno de tipo Arthus, con la intención de comparar estas lesiones con las que ocurren naturalmente en neumonías de animales domésticos.¹¹ En otro trabajo se demostró que los conejos hiperinmunizados contra *Pasteurella multocida* resultaban con un daño pulmonar más severo que los no inmunizados.¹² En ambos trabajos la discusión se ha orientado más hacia la pasteurelosis neumónica del ganado, ya que en este caso las evidencias de la participación de mecanismos de hipersensibilidad son más numerosas.¹² Sin embargo, los mecanismos de hipersensibilidad también podrían ocurrir en el cerdo durante el desarrollo de las lesiones de la pleuroneumonía contagiosa. En efecto, en algunos casos, la vacunación contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* exacerbaba los signos clínicos y las lesiones de la enfermedad, de manera similar a lo que acontece en la pasteurelosis del bovino.¹⁰

Las lesiones referidas para la reacción de Arthus en el pulmón del conejo son: edema alveolar y macrófagos activados en la luz de los alveolos; posteriormente, infiltración de PMN en septos alveolares, lo mismo que perivascularmente y en lámina media de los vasos sanguíneos. Además, áreas de severa hemorragia, necrosis y consolidación con la participación infiltrativa preponderante de PMN.¹¹ En este experimento, dichos cambios se observaron sólo discretamente, a manera de neumonía intersticial, sobre todo en los animales de los grupos B y C, considerándose como una presentación leve del fenómeno de Arthus. Al respecto, se menciona que la infiltración de PMN en los septos alveolares es uno de los cambios histológicos mayormente reconocidos

durante la respuesta inflamatoria pulmonar dependiente de complejos inmunes, ya sea que éstos se formen *in situ* o que se instilen preformados.^{3,6,17,18,19}

Se debe mencionar que las lesiones vasculares tampoco fueron relevantes en el presente experimento; sin embargo, se apreció una marcada tendencia de los leucocitos a adherirse e inclusive aglomerarse sobre el endotelio de pequeños vasos sanguíneos. Una observación similar se describió en el caso de la reacción de Arthus inducida en el pulmón del conejo.¹¹ Al parecer, la tendencia de los leucocitos a adherirse se debe a la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales inducidas por el efecto de citocinas, particularmente factor de necrosis tumoral, cuya fuente principal son los macrófagos alveolares.¹⁸ Tal mecanismo, demuestra ser muy importante en el desarrollo del daño alveolar dependiente de complejos inmunes en los que interviene la IgG.^{16,17} Al mismo tiempo, un mecanismo independiente favorece el secuestro de PMN en el lecho capilar del pulmón: Su rigidez debida a modificaciones del citoesqueleto, la cual es inducida por fragmentos activos del quinto componente (C5) del complemento, ya sea que éste se administre por vía aerógena o en la arteria pulmonar.⁷ Como se sabe, la activación del complemento es un evento implicado en la patogénesis del daño pulmonar mediado por complejos inmunes.^{3,6,14,17} También debe considerarse que la fracción C5a ejerce una poderosa influencia quimiotáctica sobre los PMN.^{3,6,14,17}

La pasteurelosis neumónica en el cerdo es causada por *P. multocida* y se caracteriza por severa neumonía exudativa de tipo bronconeumonía con distribución craneoventral y en algunas ocasiones pleuritis fibrinopurulenta;^{2,4,5} las lesiones descritas en casos naturales no guardan relación con lo apreciado en este experimento.

Por otra parte, la neumonía causada por *A. pleuropneumoniae* se caracteriza por severa neumonía exudativa de tipo intersticial con exudación de fibrina, además de zonas de hemorragia y necrosis, debida a daño vascular

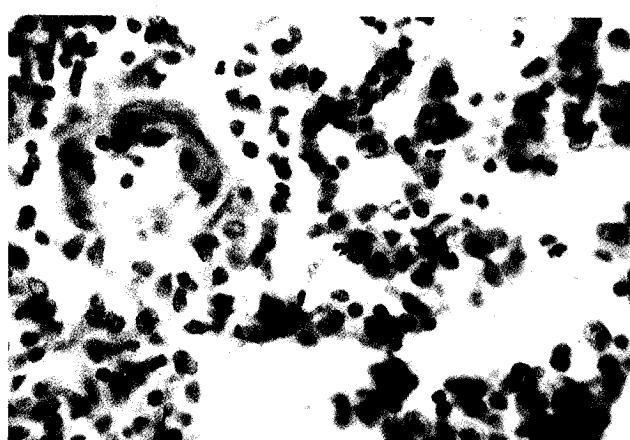


Figura 6. Pulmón. Grupo C. Se muestra una zona de incipiente consolidación con pérdida de la arquitectura alveolar y numerosos PMN infiltrando en intersticio; asimismo, se presenta un pequeño vaso sanguíneo con edema adyacente. H&E, 400X

que inclusive provoca trombosis.^{2,5,9} Las lesiones que aquí se indujeron tampoco se parecen a las descriptas en casos naturales de pleuroneumonía contagiosa del cerdo. Sin embargo, algunos mecanismos patogénicos relacionados con la activación del complemento (activación no inmunológica sino provocada por endotoxina), pudieran estar involucrados en el desarrollo de lesiones durante la infección por *A. pleuropneumoniae*.⁸ Al respecto, se ha demostrado que los fragmentos C5 activados del complemento son lo suficientemente flogísticos como para provocar inflamación pulmonar, incluyendo daño vascular y depósito de fibrina, ya sea que se activen en los alveolos o se activen sistémicamente.^{3,6,14,15,17}

Con anterioridad se había propuesto la participación de una reacción de Shwartzman generalizada, para explicar el severo daño vascular en casos sobreagudos y agudos de pleuroneumonía contagiosa del cerdo.^{8,9} Más recientemente, se ha descrito la provocación de la reacción local de Shwartzman en el pulmón del conejo, empleando lipopolisacárido de *P. multocida*. Las características histológicas en este modelo son una extensa consolidación con necrosis y hemorragia, además de trombosis y daño vascular.¹³ Dichas lesiones resultan más graves que las inducidas mediante una reacción de Arthus.¹³ Con base en lo anterior, se sugiere que la reacción de Shwartzman pudiera participar de manera relevante en el desarrollo de las lesiones neumónicas por bacterias gram negativas en animales domésticos, incluyéndose las lesiones causadas por *A. pleuropneumoniae*,¹³ lo cual debe considerarse.

Se concluye que las lesiones provocadas por un fenómeno tendiente a inducir la reacción de Arthus activa en el pulmón del cerdo, resultan leves como para compararse con las neumonías exudativas de mayor importancia en esta especie.

Abstract

Induced Arthus reaction in the rabbit lung has been proposed as a mechanism of tisular damage that could occur in some important pneumonias of domestic animals. The objective of this experiment was to provoke an Arthus reaction in the lung of pigs in order to compare the lesions induced with those natural presentations in the main exudative pneumonias of swine. Ten animals, mixed breed, weighting 10 kg, were used for this purpose; nine out of them were included in three experimental groups, while one served as the control. The pigs included in the groups received ovalbumin with hidroxide aluminium as adjuvant by subcutaneous route. The control received a saline solution. Group A received 4 mg, group B, 16 mg, and group C, 32 mg of ovalbumin twice, 14 days apart. The animals were challenged at day 28 by endotracheal route employing 8, 32 and 80 mg of ovalbumin, respectively. The control animal received a saline solution endotracheally. All of them were sacrificed 12 hours after challenge. *Post mortem* examination showed congestion and mild lung edema in several animals

included in groups B and C. Microscopically, all animals in the experimental groups showed an interstitial pneumonia characterized by mild alveolar edema with moderate polymorphonuclear interstitium infiltration. There was no consolidation nor evident polymorphonuclear exudation. Lesions were more obvious in animals belonging to groups B and C. The control did not show any changes. Although compatible with an Arthus reaction in the lung, these lesions resulted mild in comparison with those reported in the rabbit. These results do not support the hypothesis that an Arthus reaction related mechanism, could have the main role during the naturally occurring exudative pneumonias of swine.

Literatura citada

1. Armed Forces Institute of Pathology: Manual of Histology Staining Methods. 3rd ed. *McGraw-Hill*, New York, 1986.
2. Dungworth, D.L.: The respiratory system. In: Pathology of Domestic Animals. 3rd ed. Vol. 2. Edited by: Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N., 492-493. *Academic Press*, San Diego, California, 1985.
3. Emancipator, S.N. and Lamm, M.E.: Pathways of tissue injury initiated by humoral immune mechanisms. *Lab. Invest.*, 54: 475 - 478 (1986).
4. Farrington, D.O.: Pneumonic pasteurellosis. In: Diseases of Swine. 6th ed. Edited by: Leman, A.D., Straw, B., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C., Scholl, E., 436-444. *Iowa State University Press*, Ames, Iowa, 1986.
5. Jones, T.C. and Hunt, R.D.: Veterinary Pathology. 5th ed. *Lea and Febiger*, Philadelphia, 1983.
6. Larsen, G.L., Parrish, D.A. and Henson, P.M.: Lung defense. The paradox of inflammation. *Chest*, 83 (Suppl.): 1-5 (1983).
7. Lien, D.C., Henson, P.M., Capen, R.L., Henson, J.E., Hanson, W.L., Wagner, W.W. and Worthen, G.S.: Neutrophil kinetics in the pulmonary microcirculation during acute inflammation. *Lab. Invest.*, 65: 145-159 (1991).
8. Liggett, A.D., Harrison, L.R. and Farrell, R.L.: Acute inflammatory effects of intratracheally instilled *Escherichia coli* endotoxin and sonicated suspension of *Haemophilus pleuropneumoniae* in swine. *Can. J. vet. Res.*, 50: 526 -531 (1986).
9. Nicolet, J.: *Haemophilus* infections. In: Diseases of Swine. 6th ed. Edited by: Leman, A.D., Straw, B., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C., Scholl, E., 426 -436. *Iowa State University Press*, Ames, Iowa, 1986.
10. Pijoan, C.: Neumonía del cerdo. En: Avances en Enfermedades del Cerdo, 1985. Editado por: Morrilla, A., Correa, P., Stephano, A., 437-451. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F., 1985.
11. Ramírez-Romero, R., Rodríguez-Tovar, L.E. y Rivas-Farías, M.: Cronología del daño tisular mediado por un fenómeno semejante a la reacción de Arthus activa en el pulmón del conejo. *Vet. Méx.*, 20: 169 -178 (1989).
12. Ramírez-Romero, R., Rosales-García, F., Rodríguez-Tovar, L.E. y Rodríguez-Garza, A.P.: Daño neumónico provocado por *Pasteurella multocida* en conejos previamente sensibilizados con una bacterina homóloga y su relación con la reacción de Arthus. *Vet. Méx.*, 21: 149 -157 (1990).
13. Ramírez-Romero, R., Sandoval-Tassinari, D. y Suárez-Semour, A.: Inducción de la reacción de Shwartzman en el pulmón de conejo empleando lipopolisacárido de *Pasteurella multocida*. *Vet. Méx.*, 22: 415 -424 (1991).
14. Slauson, D.O.: The mediation of pulmonary inflammation injury. *Adv. vet. Sci. comp. Med.*, 26: 99-153 (1982).
15. Till, G.O., Morganroth, R.K. and Ward, P.A.: Activation of C5 by cobra venom factor is required in neutrophil-mediated lung injury in the rat. *Am. J. Path.*, 129: 44-53 (1987).

16. Warren, J.S., Barton, P.A. and Jones, M.L.: Contrasting roles for tumor necrosis factor in the pathogeneses of IgA and IgG immune complex injury. *Am. J. Path.*, **138**: 581-590 (1991).
17. Warren, J.S., Johnson, K.J. and Ward, P.A.: Immunoglobulin and complement-mediated immune injury. In: *The Lung*. Vol. 2. Edited by: Crystal, R.G., West, J.B., 1939-1946. *Raven Press*, New York, 1991.
18. Warren, J.S., Yabroff, K.R., Remick, D.G., Kunkel, S.L., Chensue, S.W., Kunkel, R.G., Johnson, K.J. and Ward, P.A.: Tumor necrosis factor participates in the pathogenesis of acute immune complex alveolitis in the rat. *J. Clin. Invest.*, **84**: 1873-1882 (1989).
19. Yoshizawa, Y., Tanque, M., Yano, H., Sato, T., Ohtsuka, M., Hasegawa, S. and Kimura, Y.: Sequential changes in lung injury induced by preformed immune complexes. *Clin. Immunol. Immunopath.*, **61**: 376-386 (1991).