GRANADA, JULIO DE 1988

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

"CIRROSIS HEPATICA ALCOHOLICA: INMUNIDAD Y CINC"

MEMORIA QUE PRESENTA D. ANTONIO DIEZ RUIZ PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

Curso de 19 87 a 19 88 Folio 30 Fa Número 61

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Antonio Roberto Díez Ruiz, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente tema, que libremente había elegido: "Cirrosis Hepática Alcohólica. Inmunidad y Circ"

Terminada la lectura y contestadas la objecciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este le calificó de Apto 'Cum laude'

Granada 14 de Julio de 19 88

EL PRESIDENTE,

Fdo:

El Secretario del Tribunal,

Fdo.: Rosario Ruiz

EL VOCAL,

Fdo: José Rico Jules

EL VOCAL,

Fdo.:

EL VOCAL,

Fdo.: Mariano Valdés

FIRMA DEL GRADUANDO,

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Facultad de Medicina

UNIVERSIDAD DE GRANADA

PROF. BLAS GIL EXTREMERA, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE ESTA UNIVERSIDAD,

CERTIFICA:

Que DON ANTONIO A. DIEZ RUIZ, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado y concluido el trabajo de Investigación de la Tesis Doctoral: "CIRROSIS HEPATICA ALCOHOLICA: INMUNIDAD Y CINC".

El que suscribe ha dirigido y revisado la presente Tesis Doctoral y queda conforme para su presentación y aprobación por el tribunal correspondiente.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, expido y firmo la presente certificación en Granada a veinticuatro de Junio de mil novecientos ochenta y ocho.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA · FACULTAD DE MEDICINA ·

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Granada,

Dr. D. FRANCISCO GUTIERREZ GEA, JEFE DE SECCION DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRANADA,

CERTIFICA:

Que DON ANTONIO A. DIEZ RUIZ, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado y concluido el trabajo de Investigación de la Tesis Doctoral: "CIRROSIS HEPATICA ALCOHOLICA: INMUNIDAD Y CINC".

El que suscribe ha dirigido y revisado la presente Tesis Doctoral y queda conforme para su presentación y aprobación por el Tribunal correspondiente.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, expido y firmo la presente certificación en Granada a veinticuatro de Junio de mil novecientos ochenta y ocho.

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Fisiología y Bioquímica

COLABORACIONES

Han colaborado en la realización de la presente Tesis Doctoral:

* Dña. Mª Dolores Rodrigo Moreno. Profesora Ayudante de la Cátedra de Medicina Legal. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.

* D. Carlos Muñoz Ruiz. Médico Residente de Inmunología. Departamento de Fisiología. Hospital Universitario de Granada.

* Servicio de Farmacia del Hospital Universitario de Granada.

* D. Juan de Dios Luna Del Castillo. Profesor Titular del Departamento de Bioestadística. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.

* Dña. Antonia Maldonado Martín. . Profesora Ayudante del Departamento de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad de Granada

* D. Antonio Coronel Escribano. Jefe de Sección del Banco de Sangre del Hospital Universitario de Granada.

* D. Ambrosio Molina Illescas. Oficial de 1ª de los Servicios Técnicos de la Universidad de Granada.

PUBLICACIONES ORIGINADAS A PARTIR DE ESTA TESIS

* PUBLICACIONES EN REVISTAS

Diez Ruiz A., Gil Extremera B., Gutierrez Gea F., Muñoz Ruiz, C. Serum immunoglobulins and T cell subpopulations in alcoholic cirrhosis after oral zinc therapy. Gastroentérologie Clinique et Biologique. Aceptado para su publicación el 13 de Abril de 1988.

* COMUNICACIONES A CONGRESOS

Diez Ruiz y cols. Inmunidad celular y humoral en los pacientes con cirrosis hepática alcohólica y su relación con el cinc sérico. XIVª Reunión Ordinaria de la Sociedad Andaluza de Patologia Digestiva. Huelva, 1983.

Diez Ruiz y cols. Hipergammaglobulinemia y subpoblaciones de células T en pacientes con cirrosis hepática alcohólica tras la administración de cinc oral. XXXª Reunión Nacional Extraordinaria de la Sociedad Española de Patologia Digestiva. Granada, 1986.

AGRADECIMIENTOS

A Don Arsacio Peña y en dos sentidos. En primer lugar por confiar en mí para formar parte del equipo humano de Médica II y hacer posible el desarrollo de mi carrera profesional. En segundo lugar por lo que representa para muchas generaciones de médicos que hemos identificado en él al Maestro capaz de aunar la experiencia humana, el estudio constante y la investigación clínica. Los que hemos tenido la suerte de convivir y aprender con él no lo olvidaremos nunca.

Mi gratitud al Profesor Rico Irles por el contínuo estímulo a mi persona y hacia este trabajo.

A Blas Gil Extremera, amigo por encima de todo e impulsor de esta tesis. Su capacidad de trabajo, el interés personal y su segura ayuda han sido claves en el desarrollo del estudio.

Al Dr. Gutierrez Gea, por la confianza que significó admitir un Internista en el Laboratorio de Inmunologia, por su acertada supervisión del estudio y la colaboración que continua y que producirá nuevos frutos.

A mis amigos Mª Angeles Martinez, Jose Mª Bermudez , Jose Luis Aguilar , Jose Antonio Soto , Antonio Ramos y Nicasio Marín que me han animado continuamente

y realizado el trabajo clínico que me correspondía cuando lo he necesitado.

A todo el personal de Enfermería de Médica II y al personal del laboratorio de Inmunología.

A todos los pacientes y especialmente a aquellos que aceptaron el protocolo terapéutico del cinc y sin cuya colaboración no se hubiera podido realizar el trabajo.

Finalmente , a todas las personas que de forma directa ó indirecta han tenido relación con la realización de esta Tesis.

A mis padres

A María y las niñas

INDICE

INDICE

Página

INTRODUCCION

I) LA RESPUESTA INMUNE 1

I-A) Los Linfocitos 4

I-B) El sistema Monocito-Macrófago 21

I-C) Las Inmunoglobulinas 23

I-D) El Complemento 28

I-E) El Complejo Mayor de Histocompatibilidad 29

II) ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN LAS HEPATOPATIAS ALCOHOLICAS 30

II-A) Alteraciones especificas de la inmunidad celular y humoral 31

II-B) Alteraciones inespecificas de la inmunidad humoral 32

II-C) Alteraciones inespecificas de la inmunidad celular 35

III) EL CINC

III-A) Metabolismo del cinc 43

III-B) El cinc en la patología clínica 45

III-C) El cinc y el hígado alcohólico 48

III-D) El cinc y la inmunidad 51

III-E) El cinc utilizado con fines terapéuticos 57

OBJETIVOS 59

MATERIAL Y METODOS

Grupos de Pacientes y Controles 60

Métodos:

A) Criterios de selección de los pacientes 63

B) Metodología Clínica 64

C) Métodos de Laboratorio 65

D) Método estadístico 68

Clasificación de los pacientes según el grado de afectación hepática 70

RESULTADOS 74

Tablas 83

ANALISIS ESTADISTICO 94

Tablas 97

FIGURAS 114

DISCUSION 130

CONCLUSIONES 147

BIBLIOGRAFIA 149

INTRODUCCION

I) LA RESPUESTA INMUNE

La respuesta inmune representa una cadena de acontecimientos perfectamente regulados, iniciados por la introducción de una sustancia antigénica en un individuo inmunocompetente. Esta respuesta inicial implica la síntesis de moléculas de anticuerpos específicos contra el antígeno introducido y la expansión y diferenciación de linfocitos con una serie de funciones efectoras como la hipersensibilidad retardada y la citotoxicidad celular específica. Además, los individuos sensibilizados frente a un antígeno adquieren generalmente un estado de "memoria inmunológica" que les permite reaccionar más precozmente y con mayor intensidad ante un segundo estímulo con el mismo antígeno (136).

El organismo tiene la capacidad de reconocer un elevado número de antígenos diferentes, frente a los cuales desarrolla una respuesta esencialmente idéntica. Esta propiedad se basa en la existencia de una gran diversidad de linfocitos divididos en clonas, cada una de las cuales reacciona con un grupo de antígenos semejantes estructuralmente.

La existencia de los procesos de respuesta inmune exige la presencia de controles reguladores muy perfectos que modulen la expansión y diferenciación celular en niveles eficaces (57).

El sistema inmune está formado por una serie de células y tejidos, fundamentalmente el bazo, ganglios linfáticos, placas de Peyer, el conjunto de los linfocitos circulantes en la sangre y linfa y los elementos linfoides centrales: timo y médula ósea.

El tejido linfoide puede estar difuso ó agrupado en órganos que, a excepción del timo, están formados por folículos linfoides.

Los infiltrados linfoides difusos existen en todo el tejido conjuntivo (dermis, corion de las mucosas) en forma de manguito perivascular en la adventicia de los vasos. En los órganos linfoides foliculares se distinguen dos tipos de folículos: a) Folículos primarios, constituidos solo por pequeños linfocitos maduros. son los únicos que existen en el recién nacido; b) Los folículos secundarios , que representan una corona linfocitaria periférica que engloba un centro germinativo claro formado por células reticulares y linfoblastos.

El ganglio está poblado por tejido linfoide y constituido por un entramado conjuntivo, la cápsula y fibras reticulares; la cortical con los folículos linfoides y una masa interfolicular formada por pequeños linfocitos; la médula que contiene senos medulares y cordones linfoides; los vasos linfáticos y sanguíneos.

El linfocito es la célula básica de la respuesta inmune. Considerado hasta hace tres décadas como una célula inerte circulante, numerosos estudios han resaltado su decisiva importancia en los mecanismos de vigilancia inmunológica. Se origina en la médula ósea a partir de la célula madre (stem cell) y se diferencia en dos poblaciones celulares: Linfocitos T y linfocitos B. Los linfocitos T pasan una importante parte de su desarrollo en el timo, son las células reguladoras por excelencia y tienen funciones efectoras como la citotoxicidad celular específica. Los linfocitos B son los precursores de las células plasmáticas, productoras de anticuerpos y madurar en las estructuras burso-dependientes (médula ósea en el hombre). Los dos tipos de linfocitos se dividen a su vez en subpoblaciones funcionalmente distintas que mas adelante describiremos (42).

Otros tipos celulares implicados en la respuesta inmunitaria son el sistema monocito-macrófago con misiones de presentación antigénica, produccion de factores activadores de linfocitos y mediación de la fagocitosis; las células citotóxicas naturales (natural killer) , que intervienen en algunos tipos de citotoxicidad inespecífica; las células K (killer) responsables de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y las células epiteliales especializadas del timo (136).

A) LINFOCITOS

El linfocito es una célula de nucleo denso nucleolada, con citoplasma poco abundante y que contiene escasos organoides. En su superficie existen inmunoglobulinas, especialmente en las células B.

Los linfocitos circulan en la sangre y linfa. Los que nacen en los folículos tienen sobre todo una función local (células B segregantes de anticuerpos). Los linfocitos que parten de los ganglios no nacen necesariamente en ellos, ya que existe una recirculación . Ciertos linfocitos abandonan la sangre periférica llegando a los ganglios. La recirculación es protagonizada especialmente por las células T.

SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS

Los linfocitos T ó células T derivan del timo, único órgano linfoide primario en el mamífero. Las células que habrán de desarrollarse en el timo aparecen durante la vida embrionaria en hígado y médula ósea fetales y se conocen como células madre ó stem cells. Estas células, por un mecanismo hasta ahora desconocido, se programan para la migración y diferenciación posterior en el timo. En este órgano desarrollan y completan un proceso de maduración que termina en la elaboración de linfocitos T funcionalmente competentes .

Durante su estancia en el timo van desarrollando antígenos de superficie que varian en algunos casos según su estadio madurativo y que se han podido estudiar gracias a la técnica de los anticuerpos monoclonales. De igual forma, adquieren marcadores comunes a todos los timocitos, como el TL y otros que definen subpoblaciones de células T (132). Finalmente, también adquieren la capacidad de reconocer antígenos propios relacionados con el complejo mayor de histocompatibilidad (22,124).

En este desarrollo intervienen hormonas tímicas (timosina y timopoyetina) secretadas por las células reticulares y epiteliales de la glándula tímica.

Después de salir del timo, las células T emigran a ganglios linfáticos, amígdalas y bazo, recirculando también por la sangre y los ganglios linfáticos.

Los linfocitos T maduros pueden ser identificados por su propiedad de formar rosetas espontáneas con eritrocitos de carnero, debido a que poseen un receptor para algunos componentes superficiales de estos. También presentan receptores de membrana para la fracción Fc de las inmunoglobulinas y reaccionan con antisueros específicos obtenidos en modelos animales previamente inyectados con linfocitos T (26,121).

A pesar de su aparente uniformidad morfológica, los linfocitos timodependientes ó celulas T, presentan un gran número de funciones diferentes reguladoras y efectoras que mas adelante describimos.

Los linfocitos B son los precursores de las células plasmáticas productoras de anticuerpos y se encuentran en todos los tejidos linfoides. Las subpoblaciones funcionales de estos pueden clasificarse en base a las diferentes clases de moléculas de inmunoglobulinas que sintetizan. Las células B precursoras de estas células formadoras de anticuerpos se denominan Bμ, Bγ, Bα y Bε según que sintetizen posteriormente IgM, IgG, IgA e IgE. Otra subpoblación de linfocitos B es la constituida por células B de memoria que son las que desarrollan respuestas secundarias rápidas en una subsiguiente presentación del antígeno (136).

El desarrollo reciente de los anticuerpos monoclonales ha permitido identificar mejor los receptores que presentan los linfocitos T y B según su estadio madurativo y funcional, por lo que describiremos a continuación los fundamentos de esta técnica , su aportación al estudio del sistema inmunitario y las poblaciones celulares implicadas en él.

LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES Y SU APORTACION AL ESTUDIO DEL SISTEMA INMUNITARIO

La obtención por Köhler y Milstein de una célula híbrida entre una célula de mieloma que producía inmunoglobulina sin ninguna actividad de anticuerpo conocida, pero que era capaz de crecer permanentemente en cultivo y otra célula con capacidad

para producir un anticuerpo bien definido, pero con una duración de vida limitada dió lugar a una linea celular que podía ser sometida a las técnicas habituales del cultivo de tejidos y que podía sintetizar anticuerpos (78). Mediante detección y purificación de los clonos activos se obtuvieron células de mieloma híbridas capaces de segregar anticuerpos homogéneos de especificidad definida y afinidad constante.

La experiencia obtenida hasta ahora indica que el procedimiento es válido en general y que cualquier anticuerpo que un animal pueda producir puede también ser preparado como anticuerpo monoclonal mediante líneas de mieloma híbridos (37).

El mayor interés de esta técnica deriva de dos puntos fundamentales: En primer lugar, el anticuerpo monoclonal producido por un clono aislado es una sustancia química bien definida y no una mezcla heterogénea que cambia con cada animal inmunizado. En segundo lugar, se pueden preparar anticuerpos puros a partir de antígenos no purificados.

POBLACIONES CELULARES DEFINIDAS POR ANTICUERPOS MONOCLONALES

Desde que se se describió la técnica de anticuerpos monoclonales, distintos grupos de investigadores han logrado producir anticuerpos monoclonales dirigidos contra determinantes

antigénicos de linfocitos T, B, timocitos, granulocitos, monocitos, plaquetas y células precursoras de las distintas estirpes celulares (147). Algunos de ellos los exponemos a continuación.

Anticuerpos monoclonales dirigidos contra determinantes antigénicos de Timocitos y células T periféricas.

OKT 10 .- Se describió inicialmente que este anticuerpo monoclonal identificaba un determinante antigénico que estaba presente en casi la totalidad de los timocitos y no era expresado por ninguna otra célula periférica. Posteriormente se precisó que ese determinante antigénico se encontraba en la membrana celular de una población de la médula ósea (16%) que incluia protimocitos, células precursoras de células B, mieloblastos y quizás otras células precursoras especulándose que este marcador puede ser de utilidad en la identificación de la stem cell humana (122).

OKT 9 .- La estructura identificada por este anticuerpo monoclonal es el receptor de la transferrina y se expresa en células de muy diverso origen, pero que tienen un elevado metabolismo ó experimentan una rápida proliferación , entre las que se encuentran timocitos fetales, células de los centros germinales, células T estimuladas con diversos antígenos, líneas tumorales , etc.

OKT 6 .- Este anticuerpo monoclonal identifica el 70% de los timocitos, la mayoría de los cuales se encuentran en la corteza del timo. No está expresado en linfocitos T periféricos ni en timocitos maduros, que son los localizados en la médula del timo (122).

OKT 11 .- Con este se identifica una estructura expresada en timocitos y en células T periféricas, pero no en linfocitos B ó células de estirpe monocitaria. Bloquea específicamente la formación de rosetas con eritrocitos de carnero por parte de los linfocitos T por lo que puede ser que identifique el receptor de los eritrocitos de carnero.

CKT 3 .- Este anticuerpo monoclonal reacciona con una estructura expresada en el 95% de los linfocitos periféricos, en la práctica totalidad de los timocitos medulares y en unos pocos timocitos corticales. No está presente en linfocitos B, ni monocitos , ni células null, ni células de estirpe mieloide. La estructura identificada por este anticuerpo monoclonal parece ser de vital importancia en la funcionalidad de los linfocitos T , ya que , además de tener capacidad mitogénica, es capaz de inhibir la proliferación de estos linfocitos frente a aloantígenos, antígenos solubles y mitógenos, lo que ha hecho pensar que el antígeno T3 puede estar relacionado con una estructura de reconocimiento de los linfocitos T. También puede inhibir fenómenos de citotoxicidad y la producción de inmunoglobulinas por los linfocitos cuando estos son estimulados inespecíficamente (31)

OKT 4 y OKT 8 .- Estos anticuerpos monoclonales reconocen dos estructuras independientes que son expresadas simultaneamente en la membrana de los linfocitos corticales. Los timocitos medulares y los linfocitos T periféricos , que son reconocidos por el monoclonal OKT 3, expresan únicamente una de las estructuras identificadas por estos anticuerpos y son por tanto OKT 4 positivos ú OKT 8 positivos.

Estos anticuerpos son de gran importancia ya que identifican dos tipos de subpoblaciones linfocitarias funcionalmente distintas. Las células OKT 4 positivas constituyen el 65% de las células T periféricas y, a pesar de ser un grupo heterogéneo, funcionan globalmente como células cooperadoras ó inductoras (helper) . Su presencia es necesaria para la producción de inmunoglobulinas por parte de los linfocitos B, para la generación de fenómenos de supresión y potenciaciación de fenómenos de citotoxicidad. En los dos últimos casos las células efectoras son linfocitos OKT 8 positivas (42).

La población identificada por el anticuerpo monoclonal OKT 8 está constituida por células efectoras de los fenómenos de citotoxicidad específica y de los de supresión (97). Constituyen aproximadamente el 35% de las células T periféricas.

La relación OKT 4 / OKT 8 (índice helper/supressor) es un parámetro muy util para la evaluación de las poblaciones linfocitarias más importantes que intervienen en la respuesta inmunitaria, ya que refleja un balance cuyo equilibrio es necesario para el correcto funcionamiento del

sistema inmune. Entre otras, este índice se encuentra aumentado en enfermedades autoinmunes del tipo de la anemia hemolítica, artritis reumatoide, miastenia gravis, nefropatias con depósito de inmunocomplejos y hepatitis crónica activa seronegativa (13, 32).

En enfermedades en que existe una depresión inmunitaria suele haber un descenso del índice helper/supressor. Las mas importantes de estas son las infecciones por virus de la hepatitis B ó citomegalovirus y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, en el cual la inversión del cociente normal OKT 4 / OKT 8 es uno de los criterios diagnósticos (79).

Anticuerpos monoclonales dirigidos contra determinantes antigénicos únicamente expresados en los linfocitos B.

B 1.- Este anticuerpo monoclonal está dirigido contra un antígeno de superficie cuya expresión está limitada a los linfocitos B. Este antígeno no es ni el receptor Fc ni el del complemento C3, así como tampoco está relacionado con el antígeno Ia-like. Este antígeno parece expresarse en la célula precursora B aún antes de la aparición de inmunoglobulinas citoplasmáticas, y quizas de forma concomitante con la reorganización de los genes de las inmunoglobulinas.

Anticuerpos monoclonales dirigidos frente a determinantes antigénicos expresados en los monocitos y no en las células B.

OKM 1.- Este es un anticuerpo monoclonal dirigido contra un determinante antigénico expresado en los monocitos de sangre periférica y por los granulocitos. Este mismo determinante está expresado por un bajo porcentaje de células con receptores para los hematies de carnero (linfocitos T) y por un alto porcentaje de células sin inmunoglobulinas de superficie y sin marcadores de linfocitos T, y que por tanto quedan clasificadas como células nulas (null).

Anti Mono 1 y Mono 2.- Estos anticuerpos monoclonales están dirigidos frente a dos antígenos diferentes, Mono 1 y Mono 2, expresados por linfocitos periféricos. el antígeno Mono 1 se expresa también en granulocitos maduros y en células null. Por el contrario, el antígeno Mono 2 solo está expresado en monocitos periféricos, siendo quizás un antígeno que se adquiere tardiamente en la diferenciación monocito-granulocitaria.

HETEROGENEIDAD FUNCIONAL DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Los linfocitos T, como hemos descrito, desarrollan un importante número de funciones. En principio se creía que todas estas funciones eran realizadas por una célula T pluripotencial. En la actualidad se ha reconocido que existen diversos tipos de células T que desempeñan funciones diferentes y que presentan, además, fenotipos antigénicos distintos (122).

En base a las diferencias de la expresión de las moléculas CD4 (T4) y CD8 (T8), las células T de sangre periférica pueden dividirse de manera general en dos poblaciones. El 65% de las células T en sangre periférica es T4 positiva, el 35% restante es T8 positiva. Ambas son T1, T3 y T11 positivas.

La población T4 positiva contiene las células efectoras para la hipersensibilidad tardía, células T que ayudan a que las B se conviertan en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas, células T que ayudan al desarrollo de las celulas efectoras citotóxicas y células T que pueden inducir la generación de células supresoras activas. Pero los efectos reguladores de estas células no se limitan a las células linfoides, ya que producen sustancias facilitadoras del desarrollo de precursores eritroides "in vitro" y es probable que la misma subpoblación linfocitaria sea importante en la hematopoyesis (25). Igualmente se ha demostrado que producen una variedad

de factores incluyendo un activador de los osteoclastos y otros factores solubles que inducen la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno.

La población T8 positiva incluye células T efectoras citotóxicas y células supresoras activas que pueden inhibir las reacciones de hipersensibilidad tardía y la producción de inmunoglobulinas.

A su vez, las dos principales poblaciones de células T pueden fraccionarse en subpoblaciones que difieren en la presencia de otras moléculas de superficie celular y en sus características funcionales. Sin duda, cuanto más anticuerpos monoclonales se desarrollen, más se avanzará en la división funcional y fenotípica de las células T (57).

Activación de la célula T

La activación de la célula T por un antígeno requiere que esta reconozca no solo a los determinantes inherentes al antígeno, sino también los correspondientes a los productos del propio Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Por lo general, las celulas T4+ reconocen el antígeno junto con las moléculas de la clase II y las T8+ el antígeno junto con las moléculas de la clase I. También son necesarias las células accesorias (macrófagos, células dendríticas, células de Kupffer y de Langerhans, células T y B activadas y, en algunos casos, las

endoteliales) que ,primero, procesan y presentan el antígeno y los productos del CMH en forma adecuada para que puedan ser reconocidos por el receptor de la célula T y , segundo, sintetizan y secretan materiales solubles necesarios para que prosiga la activación completa de la célula T. Una de estas sustancias es la interleucina 1 (IL-1), con actividad mitógena. Otra es la interleucina 2 (IL-2), necesaria para que proliferen las clonas específicas de células T activadas que reaccionan con los antígenos (136).

Función efectora de la célula T

El número de células T que se activan frente a un determinante antigénico es muy pequeño. Por tanto es necesario un mecanismo para que estas células mejoren su efectividad. Esto se lleva a cabo por medio de las linfocinas que son moléculas solubles que actuan de forma inespecífica sobre otras poblaciones de células mononucleares (123). Dos de las funciones efectoras de las células T más importantes son la hipersensibilidad tardía y la citotoxicidad.

La hipersensibilidad tardía es fundamental en la defensa del organismo contra virus, hongos, micobacterias y otros microorganismos que se replican dentro de la célula. La activación de la célula T específica conduce a la secreción de linfocinas como el factor inhibidor de la migración que hace que los macrófagos se acumulen alrededor de la célula T activada en vez de migrar al azar. Otras linfocinas,

como el factor de activación de los macrófagos, mejoran la actividad citolítica de los macrófagos acumulados. Las células efectoras para reacciones de hipersensibilidad retardada son T4+ y pueden ser moduladas en sentido negativo por células T8+ con misión supresora.

La respuesta frente a antígenos extraños trasplantados (aloantígenos) necesita la intervención de células T4+ activadas que reconocen al antígeno como extraño y la generación de células efectoras citotóxicas entre la población de células T8+, que requieren de la presencia de interleucina 2 secretada por células T4+. Las células T citotóxicas intervienen también de forma decisiva en la defensa del huesped contra virus. La población T8+ citotóxica para un virus específico necesita reconocer al virus junto a las moléculas de la clase I de la célula infectada (15).

Función reguladora de las células T

Además de su función efectora, las células T intervienen en la modulación de la actividad inmunológica. Junto a la regulación que las células T8+ ejercen sobre las células efectoras, las poblaciones de células T regulan el desarrollo de las células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas. Las células T4+ ayudan a las células B a diferenciarse en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas, mientras que las células T8+ inhiben

la diferenciación. Esta interacción puede ser de forma directa entre células T y B ó mediante la secreción de moléculas solubles reguladoras por parte de la célula T (57).

Célula B. Evolución fenotípica y funcional

Las células B se desarrollan de una célula madre pluripotencial que puede generar todos los tipos de células hemopoyéticas. Pero, en una etapa temprana del desarrollo, divergen de los otros elementos sanguíneos y de las células T.

Las células precursoras B ó células pre-B se forman en el hígado fetal y en la médula ósea. Carecen de productos de inmunoglobulina, pero pueden mostrar otros antígenos de superficie detectables mediante anticuerpos monoclonales. Estas células se dividen y forman linfoblastos con cadenas pesadas μ y sin cadenas ligeras. También muestran moléculas HLA-DR en su superficie y pueden tener receptores para el fragmento C3b del complemento.

Los linfocitos B presentan inmunoglobulinas como proteínas integrales en la superficie de la membrana. Adquieren rápidamente receptores para el virus de Epstein-Barr, C3b, C3d y la región Fc de moléculas IgG. Cuando las células B son activadas pueden diferenciarse en células plasmáticas que segregan altas concentraciones de inmunoglobulinas ó dividirse y despues regresar a un estado de reposo

como linfocitos pequeños B, que son los llamados linfocitos B de memoria, capaces de transformarse rápidamente en células plasmáticas cuando hay una segunda exposición al mismo antígeno (42).

Las células plasmáticas representan el estado de diferenciación terminal para la producción y secreción de grandes cantidades de inmunoglobulinas hacia el que se desarrollan todas las células B.

La formación de células pre-B y posteriormente de células B no requiere estimulación antigénica . Pero para la activación de las células B son esenciales los antígenos y otros mitógenos, células T que reconocen los determinantes HLA-DR y la mediación de sustancias como el factor de crecimiento de la célula B (FCCB) y los factores de diferenciación de la célula B (FDCB). Sobre estos mecanismos pueden actuar influencias hormonales que modifiquen la intensidad de la respuesta (136).

CITOTOXICIDAD ESPONTANEA Y CITOTOXICIDAD CELULAR DEPENDIENTE DE ANTICUERPOS

Las células asesinas naturales ó "natural killer" (NK) son una subpoblación de linfocitos con capacidad para reconocer y destruir gran variedad de células tumorales. Está constituida por los llamados linfocitos granulosos grandes, por su mayor tamaño y los característicos gránulos eosinófilos en su citoplasma. Estas células tienen la capacidad de reconocer y lisar gran variedad de células diana, tumorales, algunas de embrión y médula ósea normal y timo y gran variedad de microorganismos. Asimismo, al infectarse por virus los fibroblastos y otras células se tornan muy sensibles a las células asesinas naturales, que participan en la resistencia natural contra infecciones por ciertos virus (en especial del herpes), hongos (criptococos) y parásitos (142).

Se ha propuesto la hipótesis de que las células citotóxicas naturales representan un mecanismo de defensa inespecífico frente a la génesis de tumores y está confirmada la relación entre la resistencia al crecimiento de ciertas líneas tumorales en modelos animales y la actividad NK , así como con el desarrollo de metástasis (54).

Presentan, además, funciones inmunorreguladoras pues sintetizan interferón gamma, interferón alfa, IL-2, IL-1, factor estimulante de colonias, factor de crecimiento de células B y linfotoxina .

El anticuerpo monoclonal HNK-1 reconoce un determinante presente en estas células (1).

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) representa la destrucción de células diana recubiertas de anticuerpos por parte de linfocitos previamente no inmunizados frente a las células diana. Si estas células son nucleadas, la actividad CCDA está mediada por un tipo celular especializado denominado célula A ó K (killer), que se ha demostrado que es mediada por células granulosas grandes. Se trata de un potente mecanismo en la eliminación de algunos microorganismos y también participa en la destrucción de tumores y otras células extrañas. La CCDA suele consistir en uniones de inmunoglobulinas clase G a las células blanco, seguidas de la unión de ciertos tipos de células efectoras por receptores de superficie celular para la porción Fc de IgG (57).

B) EL SISTEMA MONOCITO-MACROFAGO

Un tercer tipo de células, además de los linfocitos B y linfocitos T, lo constituye la estirpe de células del sistema mónocito-macrófago.

Estas células juegan un papel decisivo en la promoción de la respuesta inmunitaria. Así son necesarias para la proliferación de las células T antígeno-inducidas, en la generación de células colaboradoras y en el desarrollo de la respuesta anticuerpo-dependiente. Los mecanismos por los cuales se producen estas interacciones son al menos dos: En primer lugar, los macrófagos tienen la misión de fijar el antígeno y presentárselo a los linfocitos T. Esta fijación se puede producir de forma inespecífica ó específica mediante la fijación de complejos antígeno-anticuerpo a los receptores de membrana de los macrófagos. El antígeno fijado es presentado a los linfocitos T que lo reconocen y a los antígenos de histocompatibilidad del macrófago.

La segunda función importante desempeñada por estas células en la activación de los linfocitos consiste en la producción de un factor, la interleuquina 1, que potencia la respuesta de los linfocitos T y B.

Además de lo referido, los macrófagos tienen la capacidad de destruir microorganismos y células tumorales, siendo esta mayor cuando se encuentran activados por una inmunización previa (136).

El anticuerpo monoclonal anti-MO2 reconoce específicamente a los monocitos periféricos, mientras que el OKM 1 está dirigido contra un determinante antigénico expresado en los monocitos de sangre periférica y los granulocitos.

C) LAS INMUNOGLOBULINAS

Las inmunoglobulinas son proteínas pertenecientes a la familia de las gammaglobulinas, que poseen la capacidad de unirse específicamente a los antígenos y simultáneamente a otras moléculas y células, iniciando así una serie de reacciones biológicas que constituyen la inmunidad humoral. Las inmunoglobulinas son sintetizadas por los linfocitos B, que en su fase de máxima actividad adoptan la morfología de células plasmáticas. Además de su presencia en el suero y en ciertas secreciones las inmunoglobulinas son importantes componentes de la superficie de la membrana de los linfocitos B, donde actuan como receptores antigénicos (57).

Las moléculas de inmunoglobulinas están organizadas con gran especialización regional de sus funciones. La denominada región variable se encarga del reconocimiento del antígeno, mientras que la región constante es la encargada de iniciar la respuesta inflamatoria. Además, cada una de estas regiones estructurales específicas está sometida a un control genético independiente, permitiendo así la mutación individual y la selección evolutiva de cada una de las partes de la molécula, que desempeñará así sus funciones adaptándose a la variabilidad de los antígenos que puedan presentarse.

A la estructura de las regiones constantes se le denomina isotipo. Las diferencias dentro de cada isotipo, resultado del polimorfismo genético, se

denominan alotipo. Las regiones variables diferentes son denominadas idiotipos. Los determinantes idiotípicos se expresan en la superficie de los linfocitos T y B.

ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LAS DIVERSAS INMUNOGLOBULINAS

La inmunoglobulina G (IgG) es el anticuerpo mas abundante en el suero, constituyendo alrededor del 75% de todas las inmunoglobulinas séricas. Con el término IgG se designa a un grupo de cuatro subclases distintas de inmunoglobulinas, denominadas respectivamente IgG 1, IgG 2, IgG 3 e IgG 4, diferenciándose unas de otras por la estructura de la secuencia de aminoácidos en las zonas de unión. La IgG 1 constituye aproximadamente el 70% del total de IgG y su estructura es prototipo del resto de las inmunoglobulinas.

La molécula presenta forma de Y, estando constituida por cuatro cadenas polipeptídicas, iguales dos a dos. Se denominan cadenas ligeras a dos de ellas que tienen un peso molecular de unos 22.000 daltons cada una y las otras se llaman pesadas porque su peso molecular no es nunca inferior a 55.000 daltons. Las cadenas ligeras pueden ser de dos tipos: Kappa ó Lambda y son iguales en todas las clases de inmunoglobulinas. Las cadenas pesadas son características para cada clase y subclase de

inmunoglobulinas. Las cadenas ligeras y pesadas están unidas entre sí por puentes disulfuro (136).

En la estructura de Y de la molécula, la porción situada debajo de la unión de los dos brazos se conoce como región Fc y está compuesta por la mayor parte de las regiones constantes de las cadenas pesadas. En esta región Fc y en distintos sitios se produce la fijación del complemento. Las otras regiones, tras la digestión con papaina, se denominan Fab y en ellas se encuentra la región variable de la molécula, donde se reconoce y fija el antígeno.

Las moléculas de IgG son bacteriolíticas en presencia de complemento, son mediadoras de la opsonización fijándose a los receptores Fc de las células fagocíticas y neutralizan diversas toxinas. La fijación de las inmunoglobulinas a los receptores Fc también es responsable de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos ya que los macrófagos portan sobre su superficie receptores que enlazan IgG1 e IgG3 y sus fragmentos Fc. El enlace pasivo de anticuerpos por tales receptores Fc es el responsable de que los macrófagos puedan funcionar ya como citotóxicos (42).

La IgG es la única clase de inmunoglobulina que puede atravesar la placenta en el ser humano y es la responsable de la protección del recién nacido durante los primeros meses de su vida.

La estructura básica de cuatro cadenas de aminoácidos es común para todas las inmunoglobulinas, pero las pertenecientes a otras clases tienen

variaciones estructurales y también funcionales. Así la molécula de IgM está compuesta por cinco unidades semejantes cada una de ellas a la molécula de IgG, formando pentámeros y se encuentran en la membrana de los linfocitos B. Las IgM son bacteriolíticas en presencia de complemento y también tienen un gran poder aglutinador, formando inmunocomplejos circulantes y, generalmente, los anticuerpos IgM aparecen en la respuesta inmunitaria primaria. Es también la inmunoglobulina fijadora del complemento más eficiente ya que basta una sola molécula para iniciar la cascada del complemento. Esta inmunoglobulina constituye aproximadamente el 10% del total de las inmunoglobulinas normales.

La inmunoglobulina A contiene dos subclases de inmunoglobulina, IgA1 e IgA2. Es la mas abundante en las secreciones externas, sintetizada por las células plasmáticas localizadas en las células epiteliales. Se encuentra en el suero en forma de dímeros (en pequeña proporción) ó monómeros y constituye alrededor del 15% de las inmunoglobulinas séricas. La IgA secretoria se compone de dos unidades básicas de cuatro cadenas y una molécula de componente secretorio y de cadena J. La IgA secretoria proporciona el mecanismo de defensa primaria contra la infección local debido a su abundancia en la saliva, las lágrimas, la mucosa nasal, las secreciones bronquiales, las secreciones de intestino delgado y bilis, las secreciones vaginales y el líquido prostático. Su abundancia en estas secreciones ha hecho que hoy se piense que su función puede ser no tanto la destrucción de antígenos cuanto la de impedir el acceso de estos al sistema inmunitario general (36, 57).

La IgD constituye menos del 0,2% de las inmunoglobulinas séricas y, junto a la IgM se encuentra en la superficie del linfocito B y se ha sugerido que puede estar involucrada en la diferenciación de estas células.

La IgE es la inmunoglobulina más escasa del suero y la que menos persiste en él. Se fija a las células cebadas y basófilos y actua liberando de estos sustancias vasoactivas que intervienen en la hipersensibilidad inmediata (136).

D) EL COMPLEMENTO

Se denomina complemento a un grupo de 18 proteinas que se encuentran en el suero normal en forma de precursores inactivos que se activan, sin aumentar, en la inflamación inducida inmunológicamente. Al activarse adquieren propiedades como la capacidad de incrementar la permeabilidad vascular, atraer leucocitos y estimular la fagocitosis, inmovilizar células en el lugar de la inflamación y alterar la función de la membrana celular, dando lugar a la destrucción osmótica de la célula.

En el curso de algunos procesos patológicos como es el lupus eritematoso, diversos tipos de glomerulonefritis, infección por el virus de la hepatitis B ó algunas anemias inmunohemolíticas, se produce un consumo de los factores del complemento y por tanto un descenso del nivel sérico de estos.

Los componentes del complemento se representan por la letra C seguida del número que corresponde al orden de su descubrimiento y al de su participación en la secuencia de activación. Además hay otras proteinas implicadas en este sistema que se denominan por letras mayúsculas como la properdina, P, ó el factor D.

Existen dos vias de activación del complemento que se diferencian fundamentalmente en que la via alternativa se activa por factores no inmunológicos tales como polisacáridos bacterianos ó de otro origen (57).

E) EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

La función integradora y de control de la respuesta inmune reside en un grupo de genes que constituyen el llamado Complejo Mayor de Histocompatibilidad. Este grupo de genes se encuentra en los seres humanos en el cromosoma 6 y se diferencian tres clases ó tipos de genes que codifican los antígenos de histocompatibilidad de clase I (en los loci A, B y C) y se cree que juegan un papel importante en el rechazo de órganos. Estos genes codifican productos genéticos constituidos por glicoproteinas. Son moléculas que actuan como marcadores en la superficie de las células, señalando a las células T citotóxicas las células infectadas por virus, células neoplásicas y órganos trasplantados para su destrucción.

Los antígenos de histocompatibilidad de la Clase II también son glicoproteinas y están controlados por la región ó loci D del complejo mayor de histocompatibilidad. Son los genes de la respuesta inmune y su función es el control de las respuestas T y B, el control de las interacciones entre células T y macrófagos y de la función inductora/supresora de las células T.

Los genes y productos de la Clase III determinan la estructura y niveles de los componentes del complemento, tanto de la via clásica como de la alternativa.

II) ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN LAS HEPATOPATIAS ALCOHOLICAS

La progresión del daño hepático en los pacientes portadores de Cirrosis Hepática Alcohólica (CHA) a pesar del cese de la ingestión del tóxico ha sugerido un importante papel para la inmunidad celular y humoral alterada en la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica crónica (162).

Aunque es indudable la capacidad del alcohol y sus metabolitos para producir alteraciones en los hepatocitos de forma directa (90), es asimismo evidente que en algunos sujetos con elevadas y continuadas ingestas de alcohol no se produce lesión hepática, mientras que otros individuos desarrollan cirrosis con cantidades menores ó a pesar del cese de la ingestión alcohólica. Estos hechos han tenido varios intentos de explicación, entre ellos la predisposición genética y las variaciones en la dieta. Pero hoy se piensa que deben existir otras causas, como son las inmunológicas al igual que sucede en otras hepatopatias que se pueden cronificar como es el caso de la hepatitis producida por el virus de la hepatitis B (93).

Por otra parte, la predisposición a las infecciones constituye una constante amenaza para los pacientes con CHA. Las más frecuentes son las neumonias, peritonitis por infección del líquido ascítico, septicemia, erisipelas, tuberculosis y pielonefritis (133). Esta mayor susceptibilidad para las infecciones, así como las alteraciones específicas del tejido hepático se han relacionado con una afectación importante de la inmunidad específica del órgano e inespecífica de estos enfermos, que tratamos a continuación.

A) ALTERACIONES ESPECIFICAS DE LA INMUNIDAD CELULAR Y HUMORAL

Además de las alteraciones generales inespecíficas de la inmunidad celular y humoral, existen una serie de hallazgos sobre la inmunidad contra determinados antígenos relacionados con el hígado y que tienen importancia patogenética en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica.

La hialina alcohólica, proteina que se acumula en los hepatocitos dañados por el tóxico, aparece como antígeno en el suero de los enfermos al inicio de la hepatitis alcohólica (71). La respuesta humoral aparece en forma de anticuerpos circulantes frente a este antígeno, que son detectables mediante fijación del complemento y hemaglutinación. La respuesta inmune celular se realiza mediante la presencia de abundantes linfocitos liberadores de linfoquinas que favorecen la

inflamación y la síntesis del colágeno, lo que, junto a factores citotóxicos dañaría directamente a los hepatocitos (161).

También los linfocitos de enfermos con hepatopatía alcohólica están sensibilizados frente al acetaldehido, metabolito del etanol, lo que podría dar lugar a otra respuesta celular inflamatoria (162).

En hepatitis alcohólicas se han encontrado anticuerpos frente a antígenos asociados a la membrana, concretamente frente al LSP (liver specific protein) y al LM-Ag. (liver membrane antigen) que también se han hallado en hepatitis víricas agudas y hepatitis crónicas (51).

La linfocitotoxicidad observada en los enfermos con hepatitis alcohólica se ha comprobado que está dirigida contra la hialina alcohólica y el antígeno LSP (69). Por lo tanto, existen evidencias de fenómenos autoinmunes dirigidos contra el hepatocito que intervienen en el desarrollo de la hepatopatía alcohólica.

B) ALTERACIONES INESPECIFICAS DE LA INMUNIDAD HUMORAL

La hipergammaglobulinemia policlonal que se observa en las demás hepatopatías crónicas se diferencia de la encontrada en la cirrosis alcohólica en que en esta aumentan desproporcionadamente la IgG e IgA (138). Las causas de este aumento son discutidas

aún. Por un lado, el hígado lesionado tiene menos capacidad para el aclaramiento antigénico . En efecto, a través de la circulación portal llegan al hígado un importante número de antígenos extraños al organismo, tanto alimentarios como bacterianos. En hígados sanos, las células de Kupffer actuan fagocitando estos antígenos y evitando que lleguen a la circulación linfática, con el aumento que esto supondría en la tasa de producción de anticuerpos (144).

Además del fallo en la función de las células de Kupffer, la existencia de shunts portosistémicos también se ha sugerido que podría ser responsable de la llegada antigénica a los linfáticos y la elevación secundaria de inmunoglobulinas. Pero la ausencia de hipergammaglobulinemia en pacientes con oclusión extrahepática de la vena porta que presentan estos shunts demuestra que, por sí sola, la comunicación sanguínea portosistémica no da lugar a un aumento en la producción de gammaglobulinas (151).

Por otra parte, el aumento de los niveles de IgA en alcohólicos sin cirrosis hepática sugiere a algunos autores que el etanol "per se" puede provocar alteraciones en la membrana de la pared intestinal que darian lugar al paso de antígenos a la lámina propia y linfáticos mesentéricos que contienen células B productoras de IgA en su mayoria (140).

En los últimos años, las investigaciones sobre las causas del aumento en la producción de inmunoglobulinas por parte de las células B en los pacientes con CHA se han centrado en la disfunción de

los mecanismos inmunitarios reguladores de esta síntesis (72,162).

La disminución de la actividad de los linfocitos T supresores en estos pacientes, tanto in vitro como in vivo, se relaciona con el aumento en la síntesis de inmunoglobulinas, como ha demostrado Pan Bo Rong y colaboradores, que encuentran una fuerte relación inversa entre la síntesis de IgG e IgA y la actividad supresora celular medida en la misma población de células (108).

Los anticuerpos circulantes antimitocondriales, anti-músculo liso y antinucleares son infrecuentes y a títulos bajos en la enfermedad hepática alcohólica crónica según algunos autores (53), aunque más recientes trabajos señalan un aumento significativo de anticuerpos antinucleares y anti-músculo liso en pacientes con CHA respecto a individuos normales ó que solo presentaban esteatosis hepática. Los anticuerpos antimitocondriales, sin embargo, no se encontraban elevados (51). De todas formas, su inespecificidad y la ausencia de citotoxicidad mediada por ellos hace que se consideren fenómenos acompañantes de la enfermedad, sin importancia patogénica.

Algunos autores han encontrado anticuerpos anti-DNA nativo, que generalmente se asocian a enfermedades autoinmunes, en el 75% de los pacientes con CHA. Sin embargo, su presencia también se dá en la hepatitis vírica aguda, lo que puede significar que se trata de una respuesta fisiológica a la liberación de DNA por los hepatocitos dañados (84).

Se ha demostrado la presencia de inmunocomplejos circulantes conteniendo IgA en pacientes con hepatitis alcohólica y cirrosis hepática activa, aunque no en las cirrosis hepáticas inactivas. Pero a causa de que la deposición sinusoidal de IgA ocurre en todas las formas de enfermedad alcohólica del hígado, esta puede ser inespecífica (162).

Tanto la hipergammaglobulinemia como la presencia de anticuerpos e inmunocomplejos circulantes se relacionan con el resto de las alteraciones de la inmunidad que acontecen en la cirrosis hepática alcohólica.

C) ALTERACIONES INESPECIFICAS DE LA INMUNIDAD CELULAR

Las modificaciones en la inmunidad mediada por células se pueden estudiar por técnicas "in vitro" e "in vivo". Los pacientes con enfermedad hepática alcohólica tienen una reactividad disminuida a la inyección de antígenos comunes por vía intradérmica (tests cutáneos con Candidina. Tuberculina, Estreptoquinasa-estreptodornasa y DNCB). Esta reactividad mejora con la curación clínica e histológica (11).

En enfermos con importante daño hepático, la afectación de la inmunidad retardada puede ocurrir también como consecuencia de la malnutrición (135).

Las pruebas realizadas in vitro que exploran la inmunidad celular también se encuentran alteradas. Así, la transformación linfocitaria en respuesta a mitógenos como la fitohemaglutinina se encuentra disminuida en los pacientes con enfermedad hepática avanzada, incluyendo en estas a la hepatitis alcohólica y la cirrosis (160). Sin embargo, estos mismos linfocitos de pacientes con CHA, cuando son aislados responden normalmente a la fitohemaglutinina y, por el contrario, los linfocitos de sujetos normales, en presencia de suero procedente de enfermos cirróticos, tienen una respuesta disminuida en el test de PHA (64). Estos hallazgos sugieren la existencia de un factor sérico y/o linfocitario que modificaría la respuesta mitógena normal.

En los pacientes con CHA existe un descenso significativo de los linfocitos totales (124,133). Esta disminución es tanto porcentual como total y los valores más bajos se encuentran en las cirrosis hepáticas activas (117).

Además de esta disminución de los linfocitos, también se han descrito alteraciones de las subpoblaciones linfocitarias. El hallazgo más constante es la disminución del número de linfocitos timodependientes circulantes. Los linfocitos B pueden encontrarse disminuidos ó en número normal (124).

Así, Berenyi, Lang y Smith, entre otros autores, emcuentran en sus trabajos una disminución de los linfocitos circulantes totales y el número de linfocitos T formadores de rosetas en los pacientes con cirrosis hepática alcohólica (12,83,133).

Thomas , mediante la técnica de rosetas observa una disminución de células T , un aumento en la concentración de células nulas y concentraciones normales de receptores Fc (B y K) en la sangre periférica de pacientes con enfermedad hepatocelular crónica (139).

Entre nosotros, Pons Romero halla una disminución porcentual y total de linfocitos T en los pacientes con CHA y obtiene los valores más bajos en las cirrosis hepáticas activas (117).

En un estudio de 64 pacientes con cirrosis hepática, Solis Herruzo y cols. encuentran un descenso significativo de linfocitos totales, linfocitos T y linfocitos B, siendo más importante el descenso de linfocitos T en la cirrosis hepática de etiologia etílica (139).

En un trabajo publicado en nuestro pais, E. Carpintero y colaboradores encuentran una disminución del número de rosetas E en los pacientes con respecto a los controles, aunque un porcentaje similar de linfocitos identificados por el anticuerpo OKT3. De igual modo encuentra una relación OKT4/OKT8 significativamente superior en los pacientes con CHA que en los controles. La discrepancia entre el porcentaje de rosetas y el de linfocitos OKT3 sugiere a los autores que debe haber un factor sérico que interfiera con la formación de rosetas (23).

Algunos autores , como Uribarrena (145) no han podido confirmar estos hallazgos en la cirrosis

hepática , aunque sí en la hepatitis alcohólica, donde hallan un descenso de las rosetas E (linfocitos T).

Más recientemente, los estudios se han centrado sobre las subpoblaciones de linfocitos T: cooperadora y supresora , el balance de estas, sus funciones y su relación con la producción de inmunoglobulinas por parte de los linfocitos B. También se ha investigado sobre otras células implicadas en la inmunidad, como son las células K ó los monocitos y diversos tests que exploran la inmunidad celular.

En este sentido, Morizane encuentra una disminución de la población de linfocitos T y de la transformación linfoblástica en los pacientes con cirrosis hepática, además de una actividad "natural killer" también descendida. Estos hallazgos sugieren a los autores una relación con el frecuente desarrollo de hepatocarcinomas que presentan los sujetos portadores de CHA (98).

Autores como Thomas comunican el hallazgo de un índice normal helper/supressor en la CHA (141) y Kakumu encuentra funciones normales tanto cooperadora como supresora, pero con un número muy limitado de casos (6 pacientes) (69).

Kawanishi estudia la función supresora mediante la estimulación por concanavalina A en pacientes con cirrosis alcohólica activa e inactiva, encontrando que, mientras en la enfermedad inactiva no hay diferencias entre la actividad supresora de estos y la de los controles, en la enfermedad grave y activa

existe una caida en la actividad supresora de los enfermos (72).

De igual modo, Echevarria y cols. describen una significativa pérdida de la actividad supresora en pacientes con cirrosis hepática activa frente a diferencias no significativas en cirrosis inactivas y en sujetos alcohólicos sin enfermedad hepática (41).

Alexander y cols. estudian tanto la función supresora como el recuento de las subpoblaciones linfocitarias en 75 pacientes con diversas hepatopatiás y encuentran que, en la hepatopatía alcohólica, a una disminución de las células supresoras acompaña una disminución de la función supresora de estos pacientes, mientras que no ocurrre lo mismo en otras hepatopatías (2).

Spinozzi estudia 10 pacientes con cirrosis hepática alcohólica, en los que observa una elevación significativa de las subpoblaciones linfocitarias identificadas por los anticuerpos monoclonales OKT3 y OKT4 respecto a los controles, una disminución de los OKT8 y elevación del índice OKT4/OKT8 (134).

En el hígado también han sido estudiadas las subpoblaciones linfocitarias. Husby, en biopsias hepáticas de 27 pacientes con hepatitis crónica activa y cirrosis biliar primaria encontró un aumento de las subpoblaciones OKT8 en el tejido hepático dañado (65). Pape obtiene los mismos resultados en biopsias hepáticas de enfermos con hepatitis crónica HBV+ y cirrosis biliar primaria (109).

Otro aspecto de la inmunidad de estos enfermos estudiado en varios trabajos ha sido la relación entre la hipergammaglobulinemia policlonal que presentan y la inmunoregulación mediada por células T.

Holdstock y cols. determinan la cantidad de inmunoglobulina producida por los linfocitos periféricos de pacientes cirróticos con y sin hipergammaglobulinemia y se encuentran con que producen una cantidad significativamente mayor de inmunoglobulinas que los controles. Por otra parte, para estudiar la importancia de la estimulación de las células B en la hipergammaglobulinemia de los cirróticos, expusieron células mononucleares normales a sueros de enfermos con CHA y sujetos normales, encontrando que las células expuestas a suero de cirróticos producían una cantidad significativamente mayor de IgG que las expuestas al suero control. Por tanto concluyen que existe una estimulación sérica, no específica, para la producción de inmunoglobulinas por las células B del cirrótico (63).

El mismo Holdstock, en otro trabajo, llega a la conclusión de que en los cirróticos las células supresoras juegan un importante papel en la inmunidad deprimida y que el suero de estos pacientes tiene efecto inhibitorio en la estimulación de la proliferación de los linfocitos con PHA (62).

En modelos celulares, Wilkins demuestra la supresión de la producción de inmunoglobulinas por las células B mediante las células T supresoras: La línea JR-2 de células linfoblastoides B transformadas por el virus de Epstein-Barr, que segregan espontáneamente

I_gG es suprimida por el factor supresor T-SF que es producido por células T inducidas por concanavalina A de forma dosis-dependiente (155).

Son varios los trabajos que insisten sobre la existencia de un factor sérico en los cirróticos, capaz de inhibir la respuesta de los linfocitos a diversos estímulos. Así Hsu comprueba que, mientras los linfocitos aislados de pacientes con CHA responden normalmente a la estimulación con fitohemaglutinina, el suero de estos pacientes contiene un factor que hace disminuir esta respuesta tanto en los cirróticos como en sujetos sanos (64). Este mismo autor encuentra una correlación negativa entre la estimulación con PHA y los niveles de inmunoglobulinas. Osea, que a mayores cifras de inmunoglobulinas , mayor es el efecto inhibitorio de este suero sobre la estimulación con PHA de los linfocitos. Los linfocitos aislados de los pacientes con CHA se comportan normalmente en ausencia de su suero.

Young demuestra, además, que el suero tiene un efecto inhibitorio verdadero que no depende de la ausencia de sustancias nutrientes del cultivo y que este efecto aumenta cuanto mayor es el daño hepático (158). Sin embargo, este factor no afecta a la formación de rosetas por parte de los linfocitos T .

La sustancia inhibitoria en cuestión parece ser una proteina con un peso molecular de aproximadamente 65.000 daltons y con movilidad electroforética entre las alfa y las betaglobulinas. Si se separa mediante cromatografia con columna de celulosa DEAE se obtienen

dos componentes que corresponden a la alfa 1 globulina y alfa 2 globulina respectivamente (102).

III) EL CINC

A) METABOLISMO DEL CINC

El cinc constituye un oligoelemento esencial en la biología humana, estando presente en la totalidad de los fluidos y células del organismo (125) . El cinc se ingiere a través de los alimentos, fundamentalmente de las proteínas de origen animal. Las necesidades diarias en el adulto normal oscilan entre 10 y 20 mg (56).

La absorción del cinc ocurre, probablemente, por transporte activo, en el duodeno e intestino delgado proximal, no siendo necesarias las secreciones pancreáticas para su adecuada absorción en el hombre. En general, la ingesta de preparados de cinc con los alimentos hace que se absorba menos que cuando se toma en ayunas.

El cinc es transportado en plasma , en su mayor parte, por la albúmina, una tercera parte por la macroglobulina alfa 2 y, en una cantidad poco importante, por la transferrina.

Los valores normales de cinc plasmático para el adulto oscilan entre 76 y 125 microgramos por 100 ml., con una media de 96 mcgrs.%. Algunos autores encuentran niveles variables en relación con la edad y el sexo, siendo estas afirmaciones controvertidas (60, 61, 76, 111).

Del cinc total en sangre, el 75-80% se encuentra en los eritrocitos, el 12-22% en plasma y un 3% en los leucocitos (19). Se encuentra distribuido por todo el organismo, encontrándose en altas concentraciones en retina, hígado, riñón, músculo, plexos coroideos, próstata, pulmón, bazo y cerebro.

Las funciones de este metal son múltiples, entrando a formar parte, como catalizador, del enzima lácticodeshidrogenasa. Tiene una alta afinidad por los grupos sulfidrilo, que son determinantes importantes de la estructura de las proteinas y de la actividad de metaloenzimas como la anhidrasa carbónica, carboxipeptidasas A y B, fosfatasa alcalina y alcohol-deshidrogenasa, siendo constituyente de 24 metaloenzimas en la especie humana. Pero el papel más importante del cinc en los procesos bioquímicos es su implicación en el metabolismo de los polinucleótidos para la síntesis de los ácidos ribonucléicos y desoxirribonucléicos (56). Se ha demostrado que la RNA polimerasa es una enzima dependiente del cinc. La actividad de la RNApolimerasa está disminuida en los tejidos deficientes en este metal, sugiriendo que el catabolismo del RNA puede estar regulado por el cinc. Por otra parte , existe la evidencia de su importante papel en el funcionalismo de varias células inmuno-competentes, como veremos mas adelante.

En condiciones normales existe un equilibrio entre la cantidad de cinc que se absorbe en el intestino procedente de la dieta, la cual suele contener de 10 a 15 mgrs. diariamente, y la eliminación del mismo a través de las heces y la orina. Se elimina principalmente por las heces, aproximadamente unos 10 mgrs. al día, mientras que en la orina se encuentran solo unos 0.4 a 0.5 mgrs./día (89, 148). Se excreta en cantidades importantes en el jugo pancreático y, en menor proporción, en jugo duodenal y bilis.

La eliminación urinaria de cinc es relativamente constante, aunque puede aumentar en determinadas enfermedades.

B) EL CINC EN LA PATOLOGIA CLINICA

Uno de los aspectos más estudiados en relación con el cinc es el de sus niveles plasmáticos en diversas entidades clínicas y su importancia terapéutica en algunas de estas enfermedades.

En la arteriosclerosis, Fernandez y cols. (45) encuentran concentraciones de cinc en plasma cuatro veces superiores al grupo control. Bustamante y cols. hallan una correlación significativa entre los niveles de cinc y triglicéridos en plasma y sugieren que en la génesis de la arteriosclerosis pudiera jugar un cierto papel el cinc, favoreciendo su desarrollo (20).

Existe una relación entre cinc e insulina en el páncreas y se sabe que el cinc se encuentra abundantemente en los islotes de Langerhans formando complejos cinc-insulina y estabilizando la molécula. Respecto a los valores de cinc sérico en diabéticos, los resultados son contradictorios, aunque predominan los autores que encuentran un aumento significativo del metal en sangre. Además se observa una hipercincuria en el paciente diabético cuya causa es desconocida. (35, 115).

En las neoplasias existen , asimismo, datos contradictorios, si bién en la mayoría de los trabajos se encuentra un descenso de los niveles plasmáticos de cinc, que se relaciona con lo avanzado de la enfermedad.

Los estudios experimentales y clínicos han venido señalando en los últimos años la importancia del cinc en el proceso de curación de las heridas y quemaduras. Lo que no está aclarado es si el efecto beneficioso se debe a la sustancia "per se" ó solo se produce en los casos de déficit de cinc .

En experimentación animal se ha comprobado el aumento de la incidencia de malformaciones congénitas en relación estrecha con el déficit de cinc. Por otra parte, Halsted y cols. (61) describen un déficit de cinc en niños iranies con retraso del crecimiento. El mismo autor encuentra niveles bajos en el Síndrome de Down.

El cinc iónico parece muy importante para el funcionamiento de la sinovial y en la sinovitis de la

artritis reumatoide se ha observado un descenso local del mismo. Se ha constatado, además, que el cinc sérico estaba también significativamente bajo en estos enfermos (128).

En la acrodermatitis enteropática, enfermedad infrecuente heredada con caracter autosómico recesivo y caracterizada por dermatitis, diarrea, alteraciones del SNC y de la inmunidad, Fernandez y cols. han encontrado valores descendidos de cincemia (45), al igual que Gordon (56) y Brenton (17). La enfermedad mejora cuando se trata con suplementos de cinc (59, 100, 103).

También en la anorexia nerviosa se ha descrito un déficit de cinc y la mejoria de la enfermedad tras la administración de suplementos de este metal(9).

En las enfermedades hepáticas, la cirrosis alcohólica entre ellas, se han establecido diversas alteraciones que trataremos en capítulo aparte dada su importancia para el presente trabajo. De igual modo describiremos la relación del cinc con el sistema inmunocompetente.

C) EL CINC Y EL HIGADO ALCOHOLICO

La relación entre la deficiencia de cinc y las enfermedades hepáticas fué puesta de relieve por primera vez por Vallee en 1956, al demostrar la presencia de este metal en los enzimas alcohol-deshidrogenasa y glutámico-deshidrogenasa y que era indispensable para la actividad de dichos enzimas. De esta forma, el cinc estaba implicado en la oxidación del etanol y en el deteriorado metabolismo amoniacal en las enfermedades hepáticas (147). Posteriormente, muchos autores han recogido la deficiencia de cinc en pacientes con CHA, incluso con manifestaciones clínicas propias como dermatitis descamativa, alopecia localizada y erosiones en los talones de los pies (154).

Otro hecho ampliamente documentado en la literatura médica es la deficiencia de cinc que presentan los niños afectos de cirrosis infantil en la India (14).

Vallee y cols. constataron que los paciente con CHA tenian niveles séricos bajos de cinc y una concentración disminuida del mismo en tejido hepático, así como una excrección urinaria de cinc aumentada. Estos hallazgos se vieron confirmados mas tarde por otros autores (70, 75). Ademas, Kiilerich y cols. han comprobado que el déficit intrahepático de cinc es independiente de la relativa disminución porcentual de hepatocitos que ocurre en la cirrosis debido a la proliferación de tejido conjuntivo (75).

Mills y cols. también han comprobado una concentración hepática de cinc y de la enzima alcoholdeshidrogenasa (metaloenzima que contiene cinc) disminuidas y, sin embargo, una absorción y contenido total de cinc aumentados en el organismo de los pacientes cirróticos (96).

Otros autores refieren una absorcion normal e incluso aumentada del metal en los enfermos de CHA, mostrando tambien un aumento del contenido esquelético de cinc (27).

Valberg, sin embargo, encuentra una malabsorción de cinc en los pacientes con cirrosis alcohólica que, junto a la eliminación de cantidades anormalmente grandes de cinc en la orina e ingesta inadecuada, considera responsable de la deficiencia de cinc plasmático e intrahepático que se encuentra en estos enfermos (146).

En animales de experimentación se ha comprobado que la ingesta de etanol disminuye la absorción de cinc por el ileon terminal, que es el sitio de mayor absorción en circunstancias normales (8).

Keeling demuestra, mediante la inyección intravenosa de cinc y posterior toma biópsica de hígado y muestras de sangre, que la extracción hepatointestinal de cinc está disminuida en los enfermos con CHA (74).

Scholmerich (127) ha encontrado que los pacientes que tienen practicada una derivación portocava ó aquellos que tienen hipertensión portal

(equivalente a una derivación espontánea) tienen niveles de cinc, vitamina A y proteina portadora de retinol inferiores a los de los cirróticos sin shunt ni hipertensión portal.

De igual modo piensa Mills (96), que sugiere una derivación del cinc hacia otros tejidos donde se almacenaria, a pesar de estar disminuido en tejido hepático y suero.

La medición del cinc intraleucocitario se considera una de las mejores técnicas para revelar el contenido orgánico del metal. En este sentido, Keeling ha demostrado en los pacientes con hepatopatia alcohólica una reducción del contenido de cinc en estas células (73), lo que es un dato importante para nuestro estudio y que contribuye a explicar el déficit inmunitario presente en la cirrosis hepática alcohólica.

D) EL CINC Y LA INMUNIDAD

El cinc es constituyente fundamental de muchos metaloenzimas, siendo los más importantes la DNA polimerasa, RNA polimerasa y Timidín-quinasa, imprescindibles en el metabolismo y crecimiento celular (77). Cualquier factor que inhiba la actividad de estos enzimas contribuirá a suprimir una respuesta inmune vigorosa que depende de una rápida proliferación de los linfocitos inmunocompetentes. Además el cinc es importante en la estabilización de macromoléculas que son componentes de varias membranas biológicas. Así, la alteración de la membrana celular, sitio de iniciación y localización de la respuesta inmune, puede afectar negativamente a esta función (33, 110). Por tanto es lógico que una alteración en el metabolismo del cinc se asocie con inmunodeficiencia en un significativo número de entidades clínicas.

En experimentación animal se ha demostrado que la deficiencia de cinc ocasiona una intensa disminución en el tamaño y función del timo, además de una pérdida de la función inductora de las células T. Estos defectos podían ser rápida y totalmente corregidos por la administración de cinc (48).

En estudios realizados en ganglios linfáticos de ratones deficientes en cinc también se ha encontrado depleción celular y atrofia localizada preferentemente en las áreas dependientes de las

células T. Los mismos autores hallan concentraciones bajas de hormona tímica (66).

Otros trabajos han demostrado que la deficiencia de cinc en ratones interfiere con la capacidad de producir anticuerpos contra los hematíes de carnero, probablemente debido a una anomalía en el desarrollo de los linfocitos T inductores (47,87).

Fernandes y cols. han confirmado estos hallazgos y demostrado también que en estos animales con deficiencia de cinc existe una depresión de la función "natural-killer", de la función "killer" de las células T , de la función "T-helper" ó inductora y de la proporción y número total de los linfocitos T esplénicos (44).

Chandra, posteriormente, obtiene resultados no totalmente acordes con el trabajo de Fernandes, pues mientras confirma un descenso de tamaño y peso del timo en ratones deprivados de cinc, una disminución de la capacidad de formación de anticuerpos en el bazo y de la respuesta citotóxica "in vivo", la actividad "natural-killer" se halla aumentada en su estudio (30).

Fraker hace una nueva aportación al estudio de la inmunidad en relación con el cinc al comprobar que los ratones deficientes en cinc presentan una pobre respuesta al test cutáneo con Dinitrofluorobenceno (DNFB) rápidamente recuperada con la repleción de cinc (49).

Abordando otros aspectos de la inmunidad, se han realizado estudios demostrativos de que, en animales portadores de patología autoinmune, la deficiencia selectiva de cinc en la dieta disminuye la incidencia y gravedad de las manifestaciones de su enfermedad. Además, la respuesta inmunitaria y la supervivencia de estos ratones mejoró significativamente frente a los controles con dieta normal, que morian víctimas de la enfermedad autoinmune (10).

Pero la relación del cinc con el sistema inmune se pone aún más de relieve en un trabajo realizado en animales de experimentación portadores de carcinoma en que se demuestra que los ratones tratados con cinc presentan una menor incidencia de metástasis pulmonares que los no tratados(68).

Zanzonico y colaboradores han encontrado que la proliferación de células B no se afecta por la falta de cinc en el medio de cultivo (extraido de él mediante tratamiento con EDTA) mientras que la de células T queda sustancialmente inhibida y se recupera si se añade cinc al medio, indicando la necesidad del metal para el crecimiento y función de las células T (159).

Mas recientemente se han realizado nuevos estudios confirmando que la adición de cinc en concentraciones adecuadas al medio de cultivo estimula la producción "in vitro" de anticuerpos frente a diversos antígenos por parte de las células inmunocompetentes (92).

La deficiencia de cinc asociada a malnutrición calóricoproteica y descenso de la respuesta inmune ha sido comprobada en varios trabajos, afectando el déficit de cinc de forma fundamental a la inmunidad mediada por células (29, 52). Y se ha demostrado fehacientemente que la inmunodeficiencia por déficit aislado de cinc es un hecho, independientemente de la influencia negativa que, sobre la respuesta inmunitaria tiene la malnutrición en general (87,30).

En la patología humana encontramos una serie de entidades clínicas que unen al trastorno principal una alteración inmunitaria debida a la deficiencia de cinc que las acompaña. La primera enfermedad que puso de relieve la importancia del cinc como elemento esencial para la economía del organismo humano fue la denominada Acrodermatitis enteropática. Esta afección infantil, genéticamente trasmitida de forma autosomica recesiva, se caracteriza por un transtorno en la incorporación del cinc al organismo que da lugar al complejo sintomático antes descrito de malfunción intestinal, dermatitis, alteraciones del sistema nervioso central e inmunodeficiencia celular. Todas las manifestaciones patológicas desaparecen con la administración de cinc y los tests de inmunidad celular se normalizan (100, 103, 59).

En los pacientes sometidos a nutrición parenteral durante largos periodos de tiempo también se ha descrito deficiencia de cinc asociada a un descenso de la inmunidad celular. Pekarek y colaboradores comunicaron el caso de una paciente joven descerebrada con deficiencia de cinc secundaria a nutrición parenteral prolongada, en la que existía

una pobre respuesta al test cutáneo con Dinitroclorobenceno y en el test de transformación linfoblástica. La administración de cinc restauró a la normalidad estas pruebas (112).

Mas tarde, Allen describe dos casos de deficiencia de cinc también secundaria a nutrición parenteral de larga duración en los que apareció acrodermatitis y baja respuesta linfocitaria a estimulación con fitohemaglutinina. La administración intravenosa de cinc dió como resultado una curación completa de las manifestaciones dermatológicas y normalización de las pruebas inmunitarias (3).

En pacientes sometidos a hemodiálisis por insuficiencia renal crónica, que presentan depresión de la inmunidad celular con disminución de linfocitos T totales, linfocitos B y linfocitos T citotóxicos se observa, después de administrarles suplementos orales de cinc, un aumento de los linfocitos T "helper" y T totales, así como un aumento de la respuesta a los antígenos cutáneos (7, 106).

En la leucemia linfoblástica aguda se ha descrito el efecto inmunoestimulante del cinc por algunos autores, aunque esto no ha sido confirmado en posteriores trabajos (150, 58).

Recientes trabajos relacionan también la anergia encontrada en pacientes pediátricos de enfermedad de Hodgkin con un déficit de cinc asociado (24).

Tanto en la inmunodeficiencia combinada severa como en colagenosis con depresión de la inmunidad celular se han observado concentraciones bajas de cinc plasmático (104).

De igual forma en pacientes con varios síndromes de inmunodeficiencia , otros autores han confirmado la correlación entre niveles plasmáticos de cinc bajos y mala respuesta linfocitaria a la estimulación con fitohemaglutinina y concanavalina A (28).

Los ancianos presentan un déficit marginal de cinc. Por este motivo , Duchateau y colaboradores suministraron suplementos orales de cinc a un grupo de estos observando una mejoría de la respuesta linfocitaria a la estimulación con PHA , aumento del número de linfocitos circulantes y mayor respuesta a los antígenos cutáneos PPD, estreptoquinasa-estreptodornasa y candidina. También existía un aumento de la producción de anticuerpos IgG frente a la vacuna tetánica (85, 40).

En nuestro país de forma simultánea con nuestro estudio, Solís Herruzo y colaboradores han estudiado el efecto de los suplementos orales de cinc sobre los linfocitos totales y linfocitos T en pacientes con cirrosis hepática, no encontrando modificaciones antes y después del tratamiento con cinc (130).

E) EL CINC UTILIZADO CON FINES TERAPEUTICOS

Además de lo anteriormente expuesto sobre la administración de suplementos de cinc con el fin de restaurar su déficit ó como inmunorestaurador, el cinc ha sido empleado con diversos fines en varias entidades clínicas.

Por su acción en el balance cobre/cinc ha sido empleado como terapia alternativa a la penicilamina en la enfermedad de Wilson con buenos resultados (18). Sin embargo no ha sido eficaz en el tratamiento de la cirrosis biliar primaria, probablemente porque en esta enfermedad, aunque también existe acumulación de cobre , no es este el mecanismo patogenético responsable (105)

En la cirrosis alcohólica, Weissmann y cols. (153) han observado una elevación de la protrombina plasmática y un descenso de la bilirubina, así como una mejoría en la función del gusto después del tratamiento con sulfato de cinc por vía oral.

Reding (120) lo ha empleado en el tratamiento de la encefalopatía hepática en un estudio controlado, obteniendo una mejoría evidente en el grupo con suplemento de cinc frente al grupo placebo, explicando este hecho porque la normalización de niveles séricos de cinc facilitaría la conversión de grupos amonio a urea.

Finalmente, Labadie y cols. han empleado recientemente el sulfato de cinc con el fin de mejorar la inmunidad celular en los pacientes con cirrosis hepática alcohólica (81), obteniendo un aumento en la respuesta a los tests de inmunidad retardada con antígenos cutáneos , como habiamos descrito nosotros en un trabajo previo (38).

OBJETIVOS

MATERIAL

Y

METODOS

GRUPOS DE PACIENTES Y CONTROLES

A) PACIENTES

La presente investigación se ha realizado en los siguientes grupos (figura 1):

GRUPO I

Constituido por todos los enfermos a los que se realizó el estudio inmunológico basal. Lo forman 42 pacientes de edades comprendidas entre 40 y 65 años, edad media de 55; 36 varones y 6 hembras. Todos los pacientes han permanecido ingresados ó sido atendidos ambulatoriamente en el Servicio de Medicina Interna II del Hospital Universitario de Granada. La totalidad del grupo era portador de Cirrosis Hepática Alcohólica con hipertensión portal y de grados de insuficiencia hepática clasificados según los estadios A, B y C de Child modificada (Tablas 1, 2 y 3). El diagnóstico fué establecido por los parámetros clínicos y analíticos en todos ellos e histopatológicos en 21 casos. Se les realizó determinación de inmunoglobulinas en sangre , subpoblaciones linfocitarias y cinc sérico basal

GRUPO II

Constituido por 20 enfermos del grupo anterior que recibieron suplementos orales de cinc y se sometieron a nuevas determinaciones inmunológicas y de cinc en sangre una vez completado el tratamiento (Tabla 2).

GRUPO III

Grupo de pacientes que no recibieron cinc pero que fueron sometidos a nuevo estudio inmunológico a los 30 dias del primero. Constituido por 10 enfermos del grupo I a los que se realizó nueva determinación de parámetros inmunológicos a los 30 dias para descartar otra influencias distintas al cinc sobre los resultados obtenidos en el grupo II (Tabla 3).

B) CONTROLES

GRUPO CONTROL PARA LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Formado por 20 sujetos sanos, 14 varones y 6 hembras, de edades comprendidas entre 40 y 61 años, media de 52, donantes de sangre del Hospital Universitario de Granada a los que se realizó determinación de subpoblaciones linfocitarias.

GRUPO CONTROL DEL CINC SERICO

Constituido por 30 voluntarios sanos, 23 varones y 7 hembras, de edades comprendidas entre 42 y 63 años, media de 52 a los que se realizó determinación de cinc sérico

Dado que la determinación de Inmunoglobulinas séricas es una técnica ampliamente realizada y con valores límite bién definidos, no se consideró necesario para nuestro estudio la existencia de un grupo control para este parámetro.

METODOS

A) CRITERIOS DE SELECCION DE LOS PACIENTES

Para la inclusión de los pacientes en el presente trabajo se han observado los siguientes criterios:

1) Todos los pacientes habian sido diagnósticados por parámetros clínicos, analíticos y, en algunos casos, histopatológicos de cirrosis hepática de origen etílico.

2) Se distribuyeron en los grupos A, B y C de la clasificación por estadios de la CHA propuesta por Child y modificada por Pugh y colaboradores (119), cuyos criterios se encuentran reflejados en el cuadro A.

3) En el momento del estudio no presentaban sangrado digestivo, descompensación hidrópica ni manifestaciones de encefalopatía hepática. Asimismo, tampoco presentaban otros procesos intercurrentes ni recibian medicación que pudiera afectar a sus parámetros inmunológicos.

4) En todos los enfermos incluidos en el protocolo terapéutico del cinc se obtuvo consentimiento informado por escrito .

B) METODOLOGIA CLINICA

En condiciones basales, se obtuvieron muestras de sangre venosa periférica para determinación de cinc sérico, inmunoglobulinas y subpoblaciones linfocitarias en los pacientes del grupo I.

Los enfermos del grupo II recibieron, junto a la medicación convencional para el control de su enfermedad hepática, suplementos orales de sulfato de cinc en forma de cápsulas de 250 mgrs. de sustancia cada 12 horas durante 30 dias.

El preparado de cinc se realizó en el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario de Granada.

Durante el citado periodo de estudio se registró periódicamente la incidencia de efectos secundarios atribuibles a la ingestión del preparado de cinc.

Al finalizar el periodo de 30 dias de tratamiento con cinc, se repitieron determinaciones de cinc sérico, inmunoglobulinas y subpoblaciones linfocitarias.

En los pacientes del grupo III se volvieron a determinar los mismos parámetros inmunológicos y de cinc a los 30 dias de realizados los primeros.

C) METODOS DE LABORATORIO

1) Determinación del cinc plasmático

Se toman 5 ml. de sangre venosa en tubo de plástico de un solo uso. Se deja en reposo durante 30 minutos hasta que se forma el coágulo. Después, la muestra se centrifuga a 5000 revoluciones/minuto en una centrífuga ORTO durante 5 minutos. A continuación se separa el suero sobrenadante y se depositan 0,5 ml. del mismo en un tubo de centrífuga, se le adicionan 2 ml. de agua desionizada y se mezclan con la ayuda de un agitador mecánico. La lectura ulterior se lleva a cabo mediante un espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN-ELMER, modelo 560. La lectura se multiplica por 5 , obteniendo de este modo la cifra de cinc sérico en microgramos por mililitro.

Esta técnica se ha realizado en el Departamento de Medicina Legal de la Facultad de Medicina de Granada.

2) Determinación de inmunoglobulinas séricas

La determinación de inmunoglobulinas séricas se llevó a cabo mediante inmunonefelometria en un aparato Auto ICS de Beckman. El principio de funcionamiento de este analizador es que los anticuerpos específicos, cuando entran en contacto con las proteinas del suero

humano correspondientes, van a formar inmunocomplejos. Este método mide la cinética de formación de estos inmunocomplejos. El ICS mide la velocidad de incremento de la luz dispersada, por las partículas suspendidas en solución que se han formado como resultado de los complejos obtenidos en esta reacción antígeno-anticuerpo. El microcomputador del analizador convierte la señal dada en unidades de concentración.

Para realizar la técnica se depositan 5 ml. de sangre venosa en un tubo de plástico, se deja coagular y, posteriormente, se centrifuga a 2.000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, extrayéndose el suero. De cada muestra de suero se vierten 100 µl en las cubetas del autoanalizador ICS Beckman que realiza la medición.

3) Determinación de subpoblaciones linfocitarias

Las subpoblaciones linfocitarias se determinaron por anticuerpos monoclonales anti células T humanas OKT3, OKT4 y OKT8 de los laboratorios Ortho Pharmaceutical Co. en un ensayo citotóxico complemento-dependiente. Para realizar la técnica se pusieron 10 µl de anticuerpo monoclonal (1 µl de proteina) y 80 µl de células (2.5×10^6 /ml.) en tubos de plástico de fondo en U, de 75 x 11 mm. y se incubaron a 37º C. durante 5 minutos. Se añadieron 10 µl de suero de ratón y se volvió a incubar a 37º C. durante 45 minutos. Se añadieron 100 µl de solución al 2% de azul tripan y, 10 minutos mas tarde se contaron el número de células muertas y vivas en un

hemocitómetro "Neubauer". Todos los contajes se realizaron por triplicado y, al menos, se contaron 300 células.

Tanto esta técnica como la determinación de Inmunoglobulinas se llevaron a cabo en el Departamento de Fisiologia, Sección de Inmunologia de la Facultad de Medicina de Granada.

D) METODO ESTADISTICO

Las cifras de inmunoglobulinas obtenidas de forma basal en los pacientes cirróticos se comparó con las cifras normales de estas en sujetos sanos.

La comparación entre los resultados de las determinaciones de Cinc sérico, OKT3, OKT4, OKT8 y H/S en los pacientes cirróticos con respecto a los grupos control se realizó mediante la técnica de la T de Student para muestras independientes si las varianzas resultaron iguales ó T de Student con la corrección de Welch si las varianzas resultaron distintas. En ambos casos se empleó la penalización de Bonferroni por el volumen grande de comparaciones realizadas.

Para la comparación de los parámetros inmunológicos basales con los obtenidos tras la administración de sulfato de cinc a el grupo II se utilizó la T de Student para muestras apareadas. La significancia se obtuvo también en base a las cantidades teóricas proporcionadas por la T de Bonferroni.

Para el estudio de la influencia del grado de afectación hepática según la clasificación de Child en los niveles de cinc sérico, IgG, IgA, IgM y las cifras de OKT3, OKT4, OKT11 y H/S se realizaron análisis de la varianza de una vía para cada una de las variables realizando la transformación por el logaritmo cuando las varianzas poblacionales no eran iguales. Si estas dieron significativas se realizaron las comparaciones

por parejas entre grupos con el esquema de Newman-Keuls y usando la T penalizada de Bonferroni.

Para estudiar si el incremento de las cifras de cinc sérico se encontraba relacionado con los incrementos positivos ó negativos de las otras variables se calculó (previa nube de puntos) el coeficiente de correlación r de Pearson, viéndose si era ó no distinto de cero.

TABLA 1

CLASIFICACION DE LOS PACIENTES SEGUN EL GRADO DE AFECTACION HEPATICA

GRUPO I (12 pacientes)

Paciente	Encefalopatía	Ascitis	Bilirrubina	Albúmina	Protrombina	Grado
M. R. R.	1	1	1	2	1	A
J. T. A.	2	2	3	3	1	C
M. S. R.	1	2	1	1	1	A
M. D. O.	3	3	1	3	2	C
M. M. G.	1	3	1	2	1	B
J. V. T.	1	2	2	1	1	B
J. C. P.	2	1	1	1	2	B
L. G. O.	1	1	1	1	1	A
J. L. S.	3	2	1	1	1	B
J. M. R.	3	2	1	2	1	B
A. M. CH.	2	3	3	3	3	C
A. M. L.	1	2	1	1	1	A

TABLA 2

CLASIFICACION DE LOS PACIENTES SEGUN EL GRADO DE AFECTACION HEPATICA

GRUPO II

Paciente	Encefalopatía	Ascitis	Bilirrubina	Albúmina	Protrombina	Grado
F. G. T.	2	2	2	2	1	B
A. Y. B.	1	2	1	2	1	B
A. L. L.	2	3	3	3	2	C
V. M. C.	1	3	3	1	1	B
D. R. R.	2	3	3	2	2	C
N. R. Q.	3	3	2	1	1	C
J. R. M.	1	3	3	3	2	C
A. F. I.	1	1	1	1	1	A
J. L. G.	2	3	2	2	2	C
M. M. Q.	2	2	3	1	3	C
J. A. R.	1	3	1	2	1	B
F. H. R.	3	1	3	1	3	C
J. M. E.	1	3	3	2	2	C
J. V. F.	1	2	1	2	2	B
F. S. L.	2	3	3	3	1	C
J. T. M.	2	3	1	3	1	C
A. C. H.	2	1	1	2	2	B
A. M. G.	3	2	1	1	2	B
J. F. C.	1	3	2	2	1	B
J. P. S.	1	1	1	2	1	A

TABLA 3

CLASIFICACION DE LOS PACIENTES SEGUN EL GRADO DE AFECTACION HEPATICA

GRUPO III

Paciente	Encefalopatia	Ascitis	Bilirrubina	Albúmina	Protrombina	Grado
A. G. L.	1	2	1	2	1	B
D. Z. G.	3	2	1	1	2	B
A. G. G.	3	1	1	2	1	B
J. M. H.	3	3	2	3	3	C
F. M. J.	2	3	1	2	1	B
J. R. M.	2	3	2	3	2	C
A. L. N.	3	3	2	3	3	C
M. G. M.	2	1	1	3	1	B
J. G. V.	1	3	1	2	1	B
C. F. O.	2	2	2	2	1	B

RESULTADOS

(I) DETERMINACION DE CINC

RESULTADOS EN EL GRUPO CONTROL

En este grupo, constituido por 30 voluntarios sanos, se han obtenido valores plasmáticos de cinc dentro de la normalidad y que aparecen recogidos en la tabla 4 . El valor medio de cincemia ha sido de 101.50±15.03 gammas/dl., con valores límite entre 75 y 135. No se han observado diferencias significativas entre los varones y las hembras de este grupo.

RESULTADOS EN EL GRUPO I

Los valores obtenidos en este grupo, constituido por los 42 pacientes cirróticos se reflejan en las determinaciones basales de las tablas 5, 6 y 7 . El valor medio de cinc sérico ha sido de 81.30±24.76 gammas/dl., valores límite entre 35 y 150 gammas/dl.

RESULTADOS EN EL GRUPO II

En este grupo, constituido por los 20 pacientes que recibieron el cinc se obtuvieron unas cifras basales (tabla 6) con valor medio de 75±21.70 gammas/dl. y valores límite entre 35 y 110 gammas/dl. Después de los suplementos orales de cinc, las cifras séricas de este aparecen igualmente en la tabla 6 . El valor medio es de 112±42.46 gammas/dl., con valores límite comprendidos entre 55 y 225 gammas/dl.

RESULTADOS EN EL GRUPO III

En el grupo constituido por 10 pacientes a los que se repitieron las determinaciones a los 30 dias sin haber tomado el cinc, se obtuvieron los valores que aparecen en la tabla 7 . Los valores medios fueron de 95.5±26.5 gammas/dl. para la determinación basal , rango entre 55 y 150. A los 30 dias de 89.5±33 gammas/dl., rango entre 35 y 130.

(II) DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINAS SERICAS

RESULTADOS EN EL GRUPO I

Las cifras basales de inmunoglobulinas séricas se encuentran reflejadas en las tablas 8, 9 y 10.

En este grupo los valores de IgG estuvieron comprendidos entre 560 y 7980 mg./dl. con valor medio de 2405.66±1243.48 mg./dl.

La IgA estuvo comprendida entre 117 y 2760 mg./dl., media de 852.11±500.19 mg./dl.

Los valores de IgM se encontraban entre 36 y 1420 mg./dl., con media de 264.33±230.79 mg./dl.

RESULTADOS EN EL GRUPO II

Las cifras basales obtenidas en este grupo de 20 pacientes se encuentran en la tabla 9.

El valor medio de la IgG fué de 2831.57±1569.15 mg./dl., valores límites entre 560 y 7980 mg./dl.

El valor medio de la IgA fué de 960.55±604.48 mg/dl., con valores límite de 117 y 2760 mg./dl.

La IgM tuvo un valor medio de 222.92±160.92 mg./dl., valores límite entre 36 y 812 mg./dl.

Las cifras de inmunoglobulinas obtenidas tras la administración del cinc se encuentran reflejadas en la tabla 9.

El valor medio de IgG fué de 2159.70±1217.32 mg./dl., con cifras límite de 644 y 6510 mg./dl.

La IgA dió un valor medio de 767.85±521.18 mg./dl., valores límite de 118 y 2410 mg./dl.

El valor medio de IgM fué de 170.96±107.52 mg./dl., valores límite entre 54 y 554 mg./dl.

RESULTADOS EN EL GRUPO III

Las cifras basales se encuentran en la tabla 10 y los valores medios fueron de 2254±932 para la IgG, con valores límite entre 1120 y 3670 mg/dl.

La IgA dió unos valores de 868±437, rango entre 297 y 1740 mg/dl.

La IgM dió una media de 391±363, límites de 113 y 1420 mg/dl.

A los 30 dias, los valores obtenidos se encuentran en la tabla 10 y las cifras medias eran de 2382±864 para la IgG, límites entre 1040 y 3820 mg/dl.

La IgA dió una media de 863±323, límites entre 337 y 1360 mg/dl.

Para la IgM las cifras fueron de 295±171, rango entre 78 y 574 mg/dl.

(III) DETERMINACION DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS E INDICE INDUCTOR/SUPRESOR

RESULTADOS EN EL GRUPO CONTROL

En los 20 pacientes que constituian el grupo control de anticuerpos monoclonales se obtuvieron los siguientes valores, expresados en porcentaje, de subpoblaciones linfocitarias (tabla 11).

El valor medio de células OKT3+ fué de 52.20±9.14, con valores límite de 36 y 69.

El valor medio de células OKT4+ fué de 35.70±8.05, con valores límite entre 21 y 56.

Las células OKT8+ dieron un valor medio de 21.50±7.71, valores límite de 9 y 40.

El valor medio del índice OKT4+/OKT8+ ó índice helper/supressor fué de 1.90±0.94 con valores límite entre 0.8 y 4.4.

RESULTADOS EN EL GRUPO I

En los 42 pacientes cirróticos que constituian este grupo se obtuvieron los resultados que se

reflejan en las determinaciones basales de las tablas 12, 13 y 14 expresados en porcentaje.

El valor medio de células OKT3+ fué de 61.38±15.07, con valores límite entre 6 y 89.

El valor medio de células OKT4+ fué de 40.47±14.34, con valores límite de 6 y 67.

Las células OKT8+ dieron un valor medio de 26.16±9.58, con valores límite entre 8 y 45.

El valor medio del índice OKT4+/OKT8+ fué de 1.73±0.98, con valores límite entre 0.6 y 4.46

RESULTADOS EN EL GRUPO II

En los 20 pacientes que formaban este grupo se obtuvieron valores basales de subpoblaciones linfocitarias que aparecen en la tabla 13 expresados en porcentaje de células .

El valor medio de OKT3+ fué de 64.20±15, con valores límite de 32 y 89.

Las células OKT4+ dieron un valor medio de 38.30±14.48, con valores límite de 15 y 58.

Las células OKT8+ dieron un valor medio de 28.25±8.13, valores límite entre 14 y 45.

El índice helper/supressor dió un valor medio de 1.35±0.43, valores límite de 0.8 y 2.18.

Tras la administración de cinc, los valores obtenidos también aparecen reflejados en la Tabla 13.

Las células OKT3+ dieron un valor medio de 65.15±13.86, valores límite de 42 y 86.

El valor medio de OKT4+ fué de 43.85±14.52, con valores límite de 24 y 73.

Las células OKT8+ dieron un valor medio de 23.62±10.79, valores límite de 9 y 46.

El valor medio del índice helper/supressor fué de 2.17±1.10, valores límite de 0.6 y 5.6.

RESULTADOS EN EL GRUPO III

En este grupo , los resultados obtenidos se hallan en la tabla 14 .

Para las determinaciones basales los valores medios de OKT3+ fueron de 52.3±18.14, con valores límite entre 6 y 72.

El valor medio de células OKT4+, expresado en porcentaje fué de 39.2±16, rango entre 6 y 58.

El valor medio de OKT8+ fué de 20.5±10.48 valores límite de 8 y 40.

El índice H/S dió unas cifras medias de 2.31±1.46, límites entre 0.6 y 4.46.

A los 30 dias , los resultados obtenidos aparecen también en la tabla 14 .

El valor medio de OKT3+ fué de 52.1±17.4, con límites de 12 y 72.

Para el OKT4+ el valor medio fué de 37.6±13.15 valores límite entre 7 y 53.

El valor medio para OKT8+ fué de 24.4±10.69 con valores límite entre 8 y 48.

El índice OKT4+/OKT8+ ó índice helper/suppresor dió una media de 1.60±0.59.

TABLA 4

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CINC SERICO EN EL GRUPO CONTROL

Control	Cinc basal	Control	Cinc basal
1)	110	16)	115
2)	80	17)	105
3)	85	18)	135
4)	90	19)	100
5)	95	20)	135
6)	75	21)	105
7)	90	22)	110
8)	95	23)	110
9)	80	24)	100
10)	100	25)	90
11)	95	26)	115
12)	100	27)	95
13)	110	28)	125
14)	100	29)	110
15)	110	30)	80

TABLA 5

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CINC SERICO EN 12 PACIENTES DEL GRUPO I

Paciente	Cinc basal
M. R. R.	70
J. T. A.	80
M. S. R.	110
M. D. O.	55
M. M. G.	125
J. V. T.	45
J. C. P.	85
L. G. O.	100
J. L. S.	70
J. M. R.	75
A. M. Ch.	55
A. M. L.	100

TABLA 6

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CINC SERICO BASAL Y TRAS SO4HZn EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II

Paciente	Cinc basal	Cinc tras SO4HZn
F. G. T.	100	160
A. Y. B.	60	150
A. L. L.	85	55
V. M. C.	105	110
D. R. R.	55	105
M. R. Q.	55	100
J. R. M.	45	80
A. F. I.	85	130
J. L. G.	35	90
M. M. Q.	90	100
J. A. R.	90	125
F. H. R.	70	100
J. M. E.	7o	60
J. V. F.	105	150
F. S. L.	75	60
J. T. M.	80	155
A. C. H.	55	120
A. M. G.	110	225
J. F. C.	50	55
J. P. S.	80	110

TABLA 7

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CINC SERICO BASAL Y A LOS 30 DIAS EN LOS PACIENTES DEL GRUPO III

Paciente	Basal	Tras 30 dias
A. G. L.	150	55
D. Z. G.	85	130
A. G. G.	115	95
J. M. H.	45	35
F. M. J.	80	45
J. R. M.	90	100
A. L. N.	110	100
M. G. M.	75	125
J. G. V.	85	110
C. F. O.	110	100

TABLA 8

RESULTADOS DE LA DETERMINACION BASAL DE INMUNOGLOBULINAS SERICAS EN 12 PACIENTES DEL GRUPO I

Paciente	IgG	IgA	IgM
M. R. R.	2660	582	431
J. T. A.	1770	660	50
M. S. R.	1080	415	127
M. D. O.	2590	1150	201
M. M. G.	1806	775	357
J. V. T.	2190	565	295
J. C. P.	1850	422	147
L. G. O.	2410	943	267
J. L. S.	891	250	42,5
J. M. R.	2280	872	264
A. M. Ch.	2780	969	312
A. M. L.	971	295	240

TABLA 9

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINAS SERICAS BASALES Y TRAS LA ADMINISTRACION DE CINC ORAL EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II

	Basal			Tras cinc oral		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
F. G. T.	1850	849	187	1840	670	127
A. Y. B.	2290	547	240	1830	461	221
A. L. L.	7980	728	812	6510	703	554
V. M. C.	3270	910	348	1770	509	139
D. R. R.	4310	1030	46	2720	728	111
M. R. Q.	3710	1370	195	1870	776	104
J. R. M.	2130	1190	302	1780	1010	192
A. F. I.	1770	123	73,5	1650	118	54,3
J. L. G.	2710	2760	226	2540	2410	128
M. M. Q.	3030	1250	277	2500	958	274
J. A. R.	1760	439	118	1070	347	124
F. H. R.	1640	1320	226	1220	1160	224
J. M. E.	2040	893	254	1820	752	189
J. V. F.	2270	334	185	1960	285	186
F. S. L.	2920	1420	148	1860	1010	93
J. T. M.	560	117	36	644	125	54
A. C. H.	3270	1120	266	2880	880	215
A. M. G.	4300	1290	194	3570	849	134
J. F. C.	1990	251	152	1660	206	108
J. P. S.	1330	1270	173	1500	1400	188

TABLA 10

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINAS SERICAS BASALES Y A LOS 30 DIAS EN LOS PACIENTES DEL GRUPO III

	Basal			Tras 30 dias		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
A. G. L.	1460	661	402	1840	662	480
D. Z. G.	2210	605	441	2300	755	574
A. G. G.	1120	399	113	1040	337	78,5
J. M. H.	3290	1740	1420	3640	1360	109
F. M. J.	3570	1210	425	3820	1180	380
J. R. M.	3670	1310	237	2700	1100	271
A. L. N.	1980	680	390	1890	818	445
M. G. M.	2150	844	188	2420	1110	283
J. G. V.	1520	734	173	1610	832	102
C. F. O	1570	297	121	2560	480	228

TABLA 11

SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS E INDICE H/S EN CONTROLES

Controles	OKT3	OKT4	OKT8	H/S
F. P. R.	45	35	26	1.34
M. U. C.	43,5	40	13	3.07
J. C. T.	39	27	15	1.8
A. L. M.	63	36	24	1.5
E. C. R.	43,5	34	26	1.3
H. C. C.	36	34	11	3.1
A. M. Z.	53	45	30	1.5
C. C. M.	47	40	9	4.4
F. A. A.	69	56	20	2.8
L. T. M.	52	21	20	1.05
P. A. R.	56	30	23	1.3
B. M. L.	44	28	18	1.55
J. C. R.	45	34	22	1.54
P. P. L.	52	24	22	1.09
J. M. T.	56	32	40	0.8
F. T. V.	60	43	18	2.38
R. G. M.	67	37	35	1.05
M. H. T.	58	34	19	1.78
T. R. B.	59	39	25	1.56
J. A. B.	56	45	14	3.21

TABLA 12

SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS E INDICE H/S EN 12 PACIENTES DEL GRUPO I

Pacientes	OKT3	OKT4	OKT8	H/S
M. R. R.	78	67	35	1.9
J. T. A.	65	44	40	1.1
M. S. R.	50	39	22	1.7
M. D. O.	75	53	43	1.23
M. M. G.	61	43	15	2.8
J. V. T.	67	60	16	3.75
J. C. P.	67	39	25	1.56
L. G. O.	75	63	31	2.03
J. L. S.	66	32	32	1
J. M. R.	48	29	29	1
A. M. Ch.	56	40	11	3.6
A. M. L.	63	33	30	1.1

TABLA 13

SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS E INDICE H/S BASALES Y TRAS CINC EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II

Paciente	Basal				Tras cinc oral			
	OKT3	OKT4	OKT8	H/S	OKT3	OKT4	OKT8	H/S
F. G. T.	70	52	45	1.15	43	28	12	2.3
A. Y. B.	70	32	28	1.14	83	73	46	1.58
A. L. L.	58	46	31	1.48	76	70	42	1.67
V. M. C.	65	57	30	1.86	75	38	25	1.52
D. R. R.	59	24	20	1.2	61	53	21	2.5
M. R. Q.	64	43	40	1.08	60	32	11	2.9
J. R. M.	89	58	27	2.14	80	44	25	1.76
A. F. I.	63	43	28	1.53	42	38	21	1.8
J. L. G.	78	56	32	1.75	49	43	16	2.68
M. M. Q.	65	40	35	1.1	46	33	14	2.35
J. A. R.	61	46	26	1.76	70	51	20	2.55
F. H. R.	58	18	14	1.28	70	62	18	3.4
J. M. E.	33	15	17	0.88	53	51	9	5.6
J. V. F.	77	44	34	1.29	67	22	20	1.1
F. S. L.	32	21	18	1.16	57	36	18	2
J. T. M.	62	32	39	0.8	86	33	29.5	1.1
A. C. H.	81	48	22	2.18	85	52	16	3.25
A. M. G.	85	52	30	1.72	66	58	32	1.81
J. F. C.	69	23	29	0.79	74	36	37	0.97
J. P. S.	45	16	20	0.8	60	24	40	0.6

TABLA 14

SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS E INDICE H/S BASALES Y A LOS 30 DIAS EN LOS PACIENTES DEL GRUPO III

Paciente	Basal				Tras 30 dias			
	OKT3	OKT4	OKT8	H/S	OKT3	OKT4	OKT8	H/S
A. G. L.	48	31	8	3.8	53	42	30	1.4
D. Z. G.	72	57	28	2.03	59	37	22	1.68
A. G. G.	54	48	12	4	58	43	15	2.8
J. M. H.	55	58	13	4.46	65	53	48	1.1
F. M. J.	52	52	15	3.46	72	51	23	2.21
J. R. M.	59	43	26	1.65	48	39	32	1.21
A. L. N.	48	34	30	1.13	60	43	21	2.04
M. G. M.	69	37	40	0.92	34	27	23	1.17
J. G. V.	6	6	10	0.6	12	7	8	0.87
C. F. O.	60	26	23	1.1	60	34	22	1.54

ANALISIS ESTADISTICO

ANALISIS ESTADISTICO

I) ESTUDIO BASAL

1) EL CINC

Cuando comparamos las cifras de cinc sérico de los controles con las de los 42 pacientes cirróticos (tabla 15) observamos unos niveles más bajos en los pacientes con cirrosis hepática, con diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.01$.

Al comparar las cifras de cinc sérico de los pacientes clasificados según los grupos de Child, encontramos que existen unas cifras de cinc significativamente más bajas en el grupo C que en el A y el B , con una $p < 0.05$ (tabla 21).

2) INMUNOGLOBULINAS SERICAS

Los niveles de inmunoglobulinas séricas en los 42 pacientes cirróticos (grupo I) han estado por encima de la normalidad en el 85.7% para el caso de la IgG, en el mismo porcentaje para la IgA y solamente en el 19% para la IgM.

Cuando hemos comparado las cifras de Inmunoglobulinas en los distintos grupos de afectación hepática, encontramos que la IgA se encuentra significativamente más elevada en el grupo C que en el A y el B (tabla 24), mientras que no existen estas diferencias en el caso de la IgG e IgM.

3) SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

El porcentaje de células OKT3+ de nuestro grupo de pacientes cirróticos era significativamente superior al de los controles ($p < 0.01$) según se refleja en la tabla 16.

En el caso de las subpoblaciones OKT4+, OKT8+ y el índice H/S no había diferencias significativas entre pacientes y controles (tablas 17, 18 y 19).

No existían diferencias significativas en los porcentajes de células OKT3+, OKT4+, OKT8+ e índice H/S entre los grupos de afectación hepática de Child (tablas 25, 26 , 27 y 28).

Estudiamos si existía correlación entre los niveles basales de cinc sérico y los de inmunoglobulinas, subpoblaciones linfocitarias e índice H/S. Las cifras de cinc sérico se encuentran relacionadas con las de IgA de forma significativa ($p < 0.01$), mientras que no existe correlación entre los demás parámetros y el cinc (tabla 20).

II) ESTUDIO TRAS EL APORTE DE CINC

1) EL CINC

Tras la administración de sulfato de cinc a los pacientes del grupo II se obtiene una elevación significativa ($p < 0.01$) de los niveles de cinc sérico respecto a las cifras basales (tabla 29).

2) INMUNOGLOBULINAS SERICAS

En el grupo II se observa una elevación significativa de las inmunoglobulinas respecto a las cifras basales, con una $p < 0.01$ para IgG e IgA y $p = 0.05$ para la IgM (tabla 29).

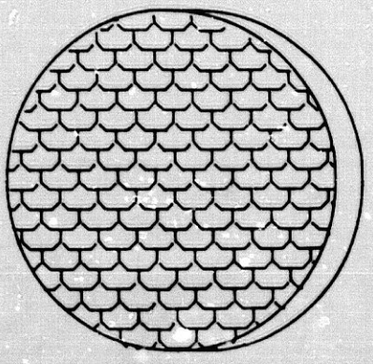
3) SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

La subpoblación de linfocitos totales, OKT3+, no se modificó tras la administración de sulfato de cinc. El porcentaje de células OKT4+ subió y el de células OKT8+ descendió, ambas sin significación estadística.

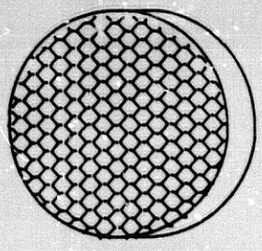
El índice inductor/supresor sí aumentó de forma significativa ($p < 0.05$) respecto a las cifras basales (tabla 29).

FIGURAS

CONTROLES



CONTROL CINC (30)



CONTROL OKT (20)

PACIENTES

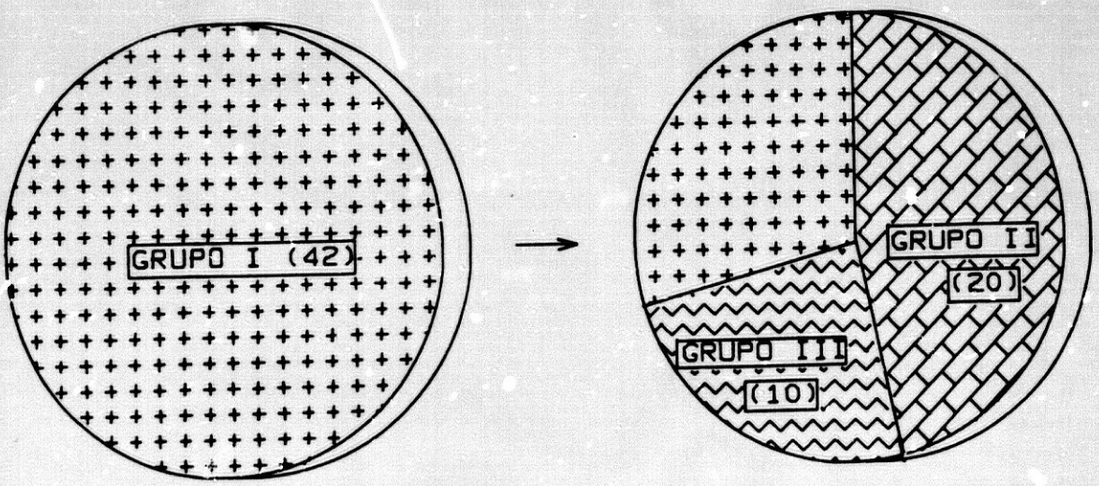


FIGURA 1.- GRUPOS DE CONTROLES Y PACIENTES

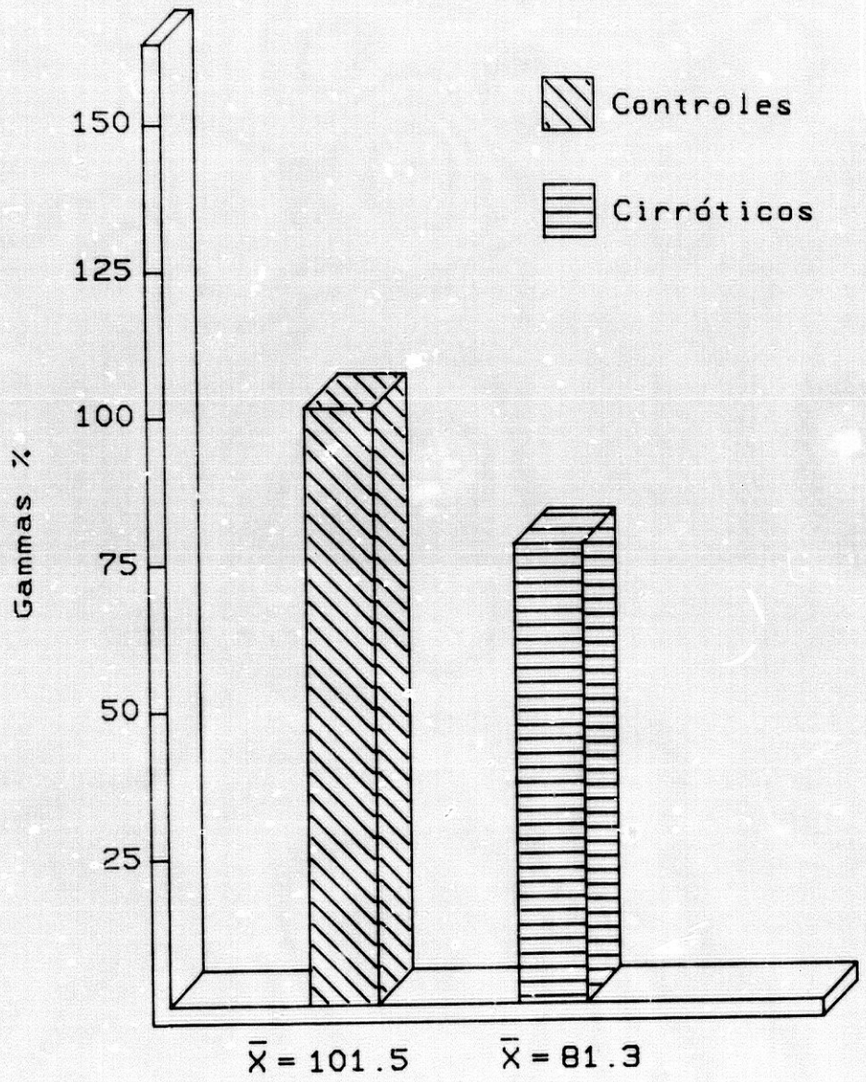


FIGURA 2.- CINC SERICO BASAL DE LOS PACIENTES CIRROTICOS COMPARADO CON CONTROLES.

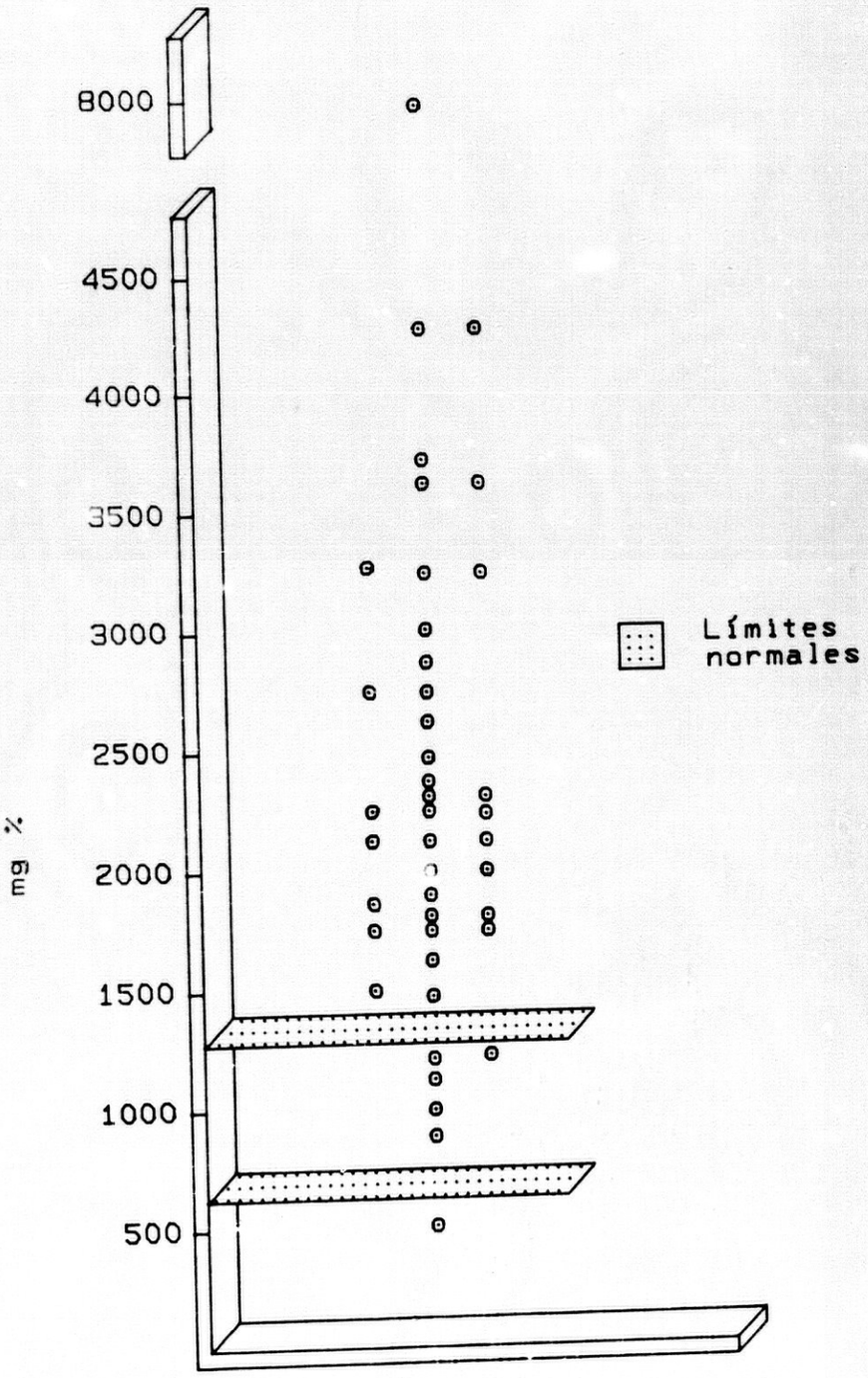


FIGURA 3 .- NIVELES SERICOS DE IgG EN LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA.

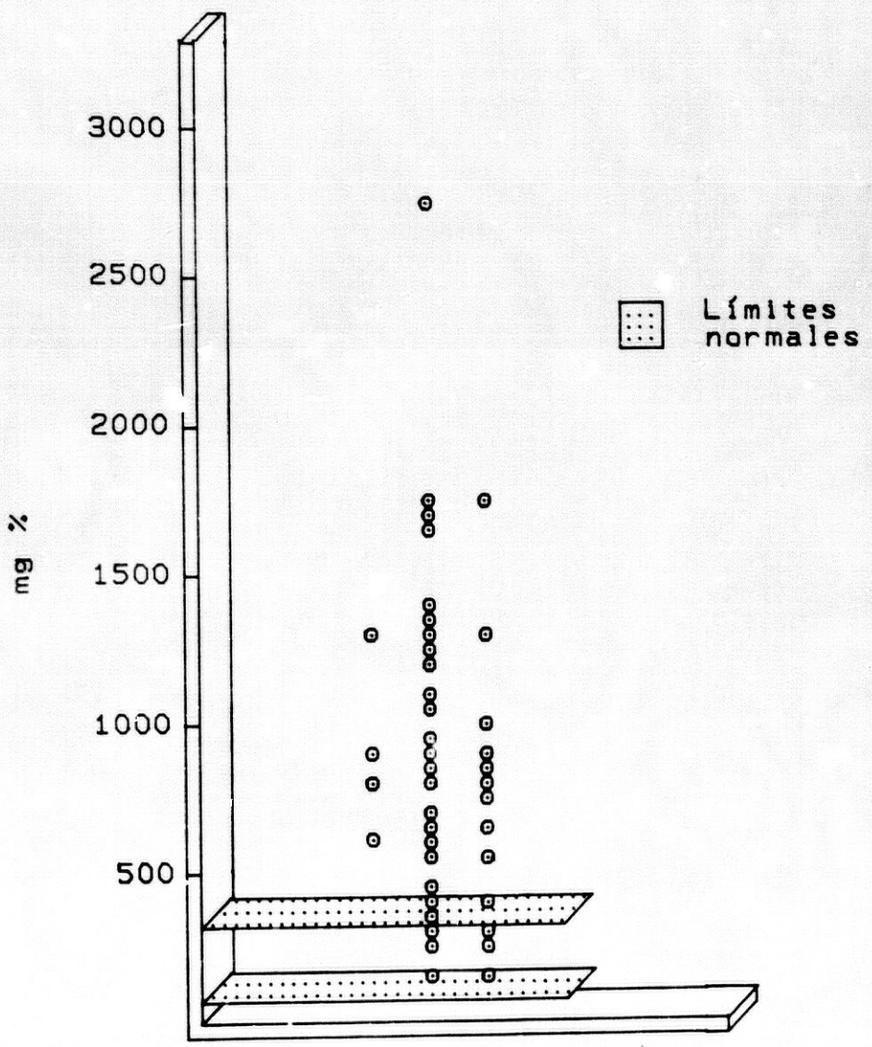


FIGURA 4 .- NIVELES SERICOS DE IgA EN LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA.

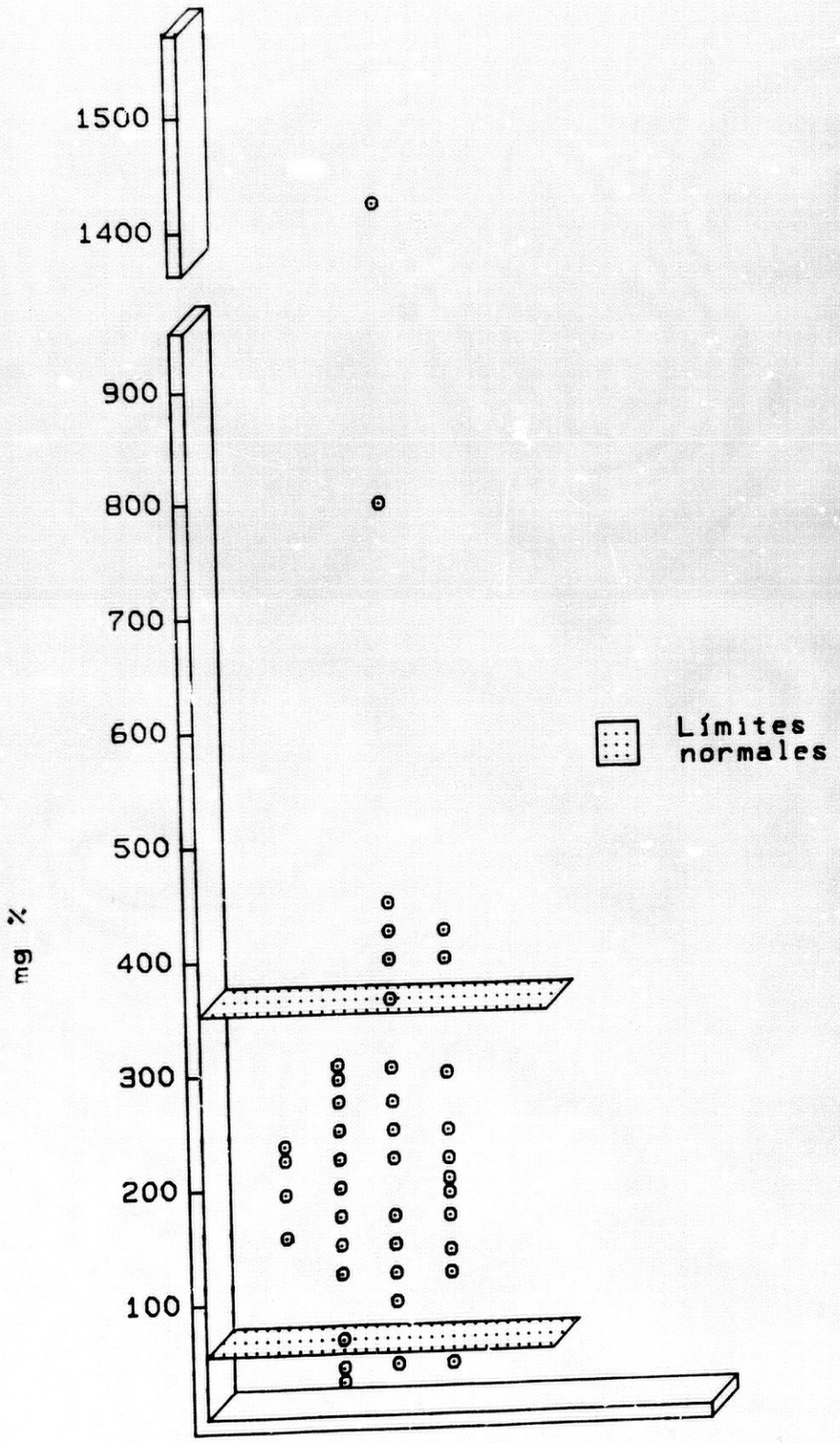


FIGURA 5 .- NIVELES SERICOS DE IgM EN LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA.

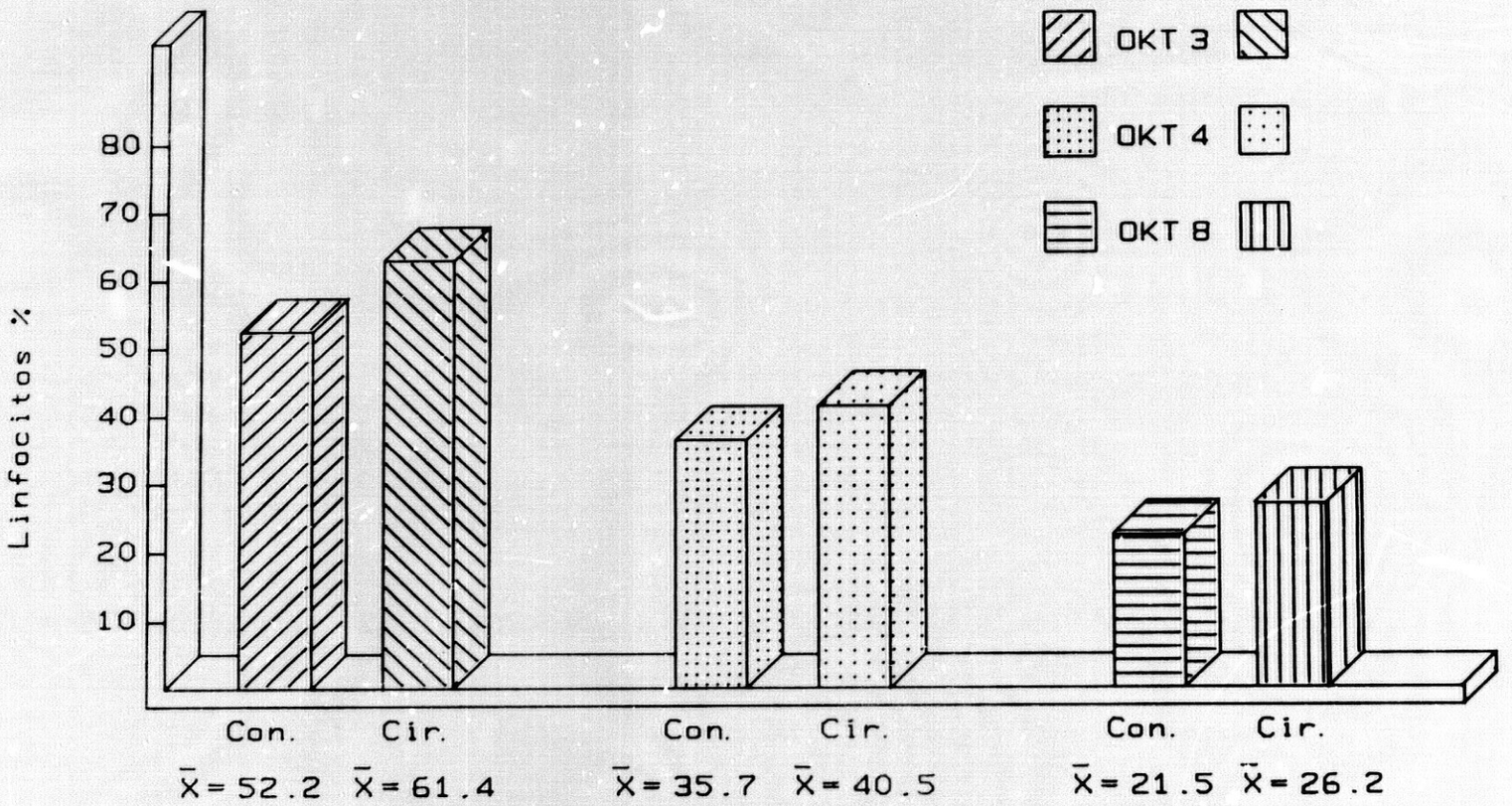


FIGURA 6 .- PORCENTAJE DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN PACIENTES CIRROTICOS COMPARADO CON CONTROLES.

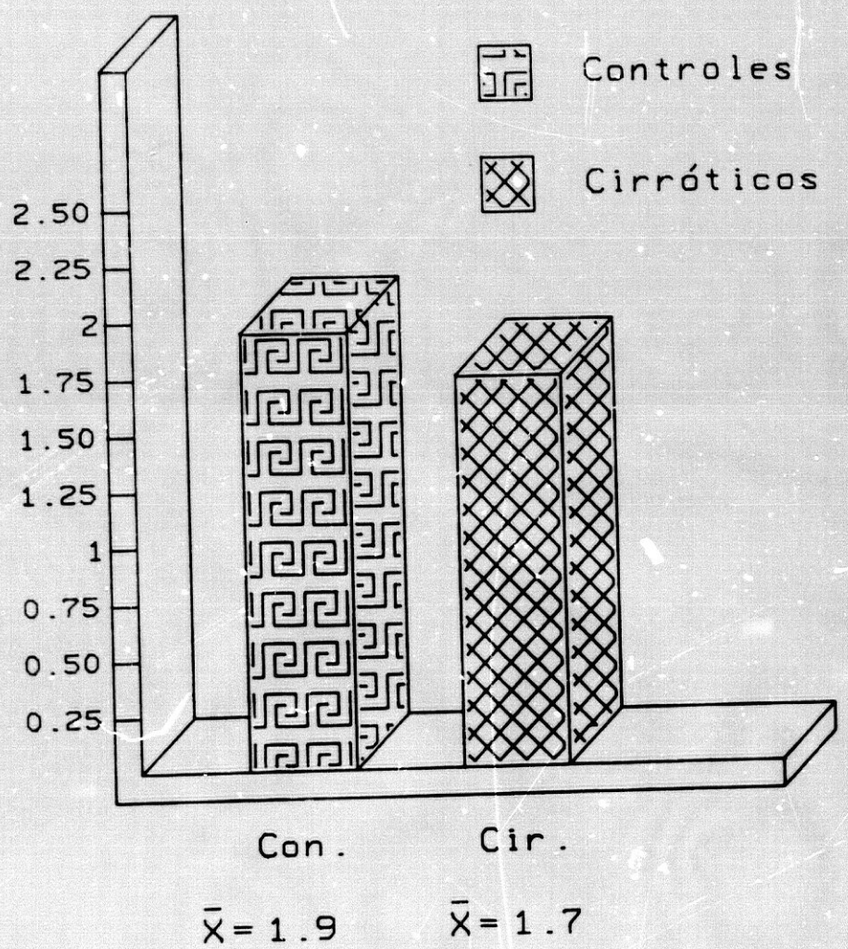


FIGURA 7.- INDICE OKT4/OKT8 DE LOS PACIENTES CIRROTICOS COMPARADO CON CONTROLES.

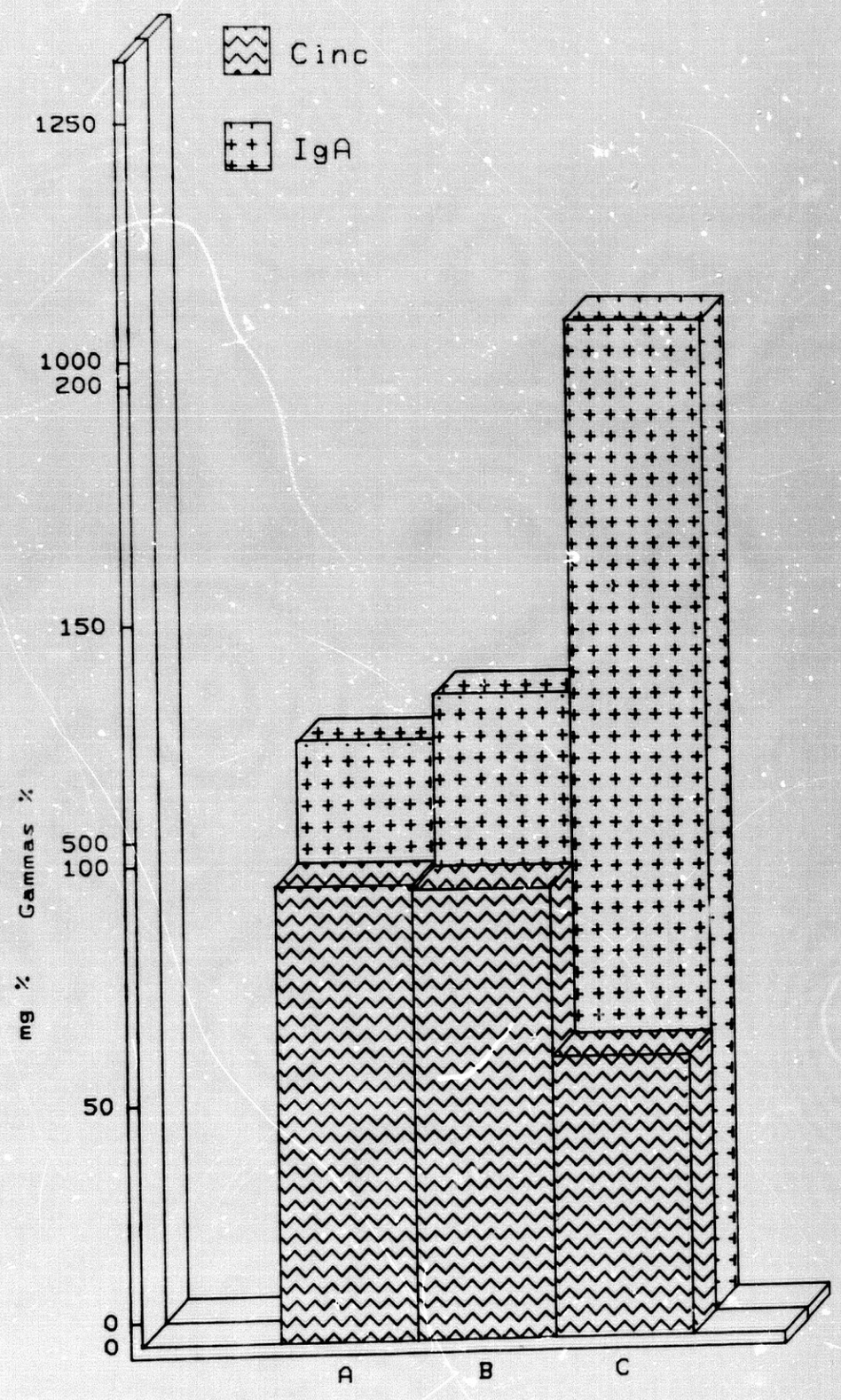


FIGURA 8A.- CINC E IgA SERICOS EN LOS GRUPOS DE CHILD.

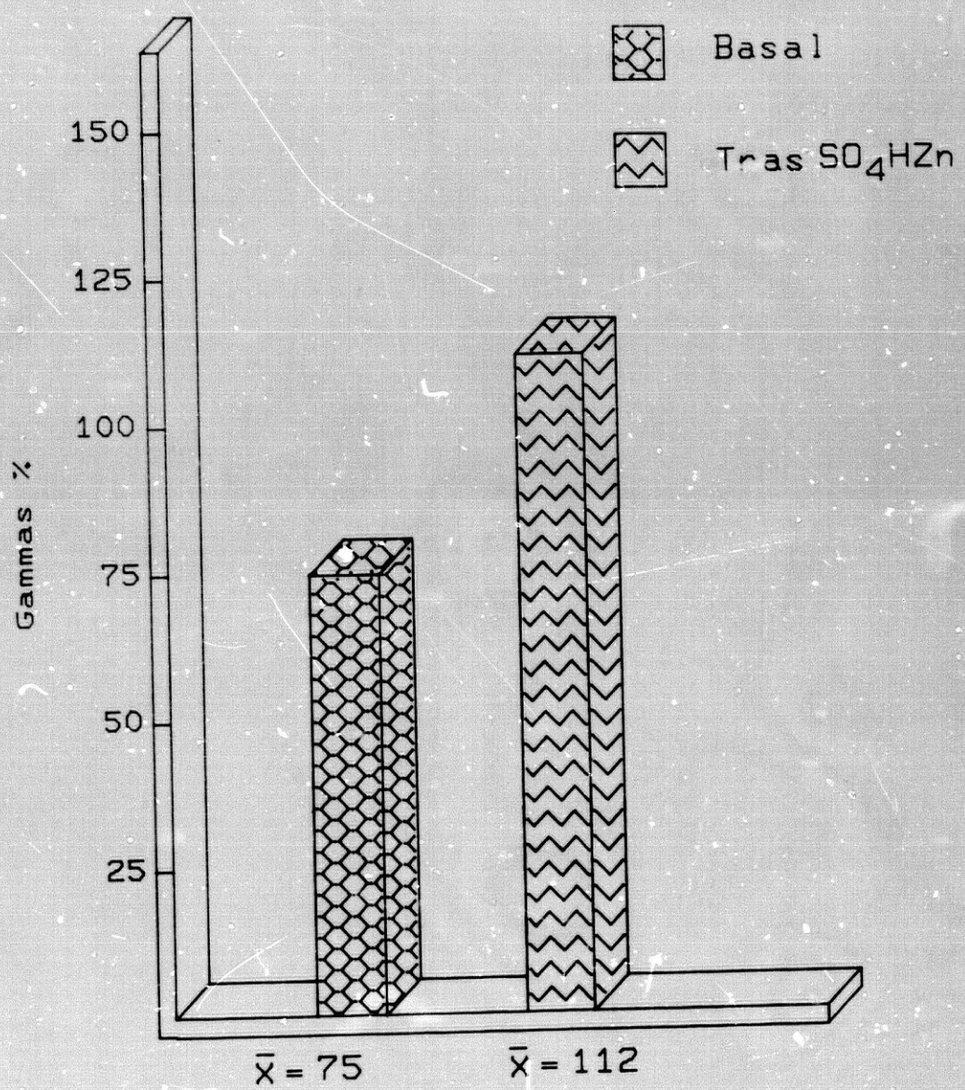


FIGURA 9.- CINC SERICO BASAL Y TRAS SO_4HZn EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II.

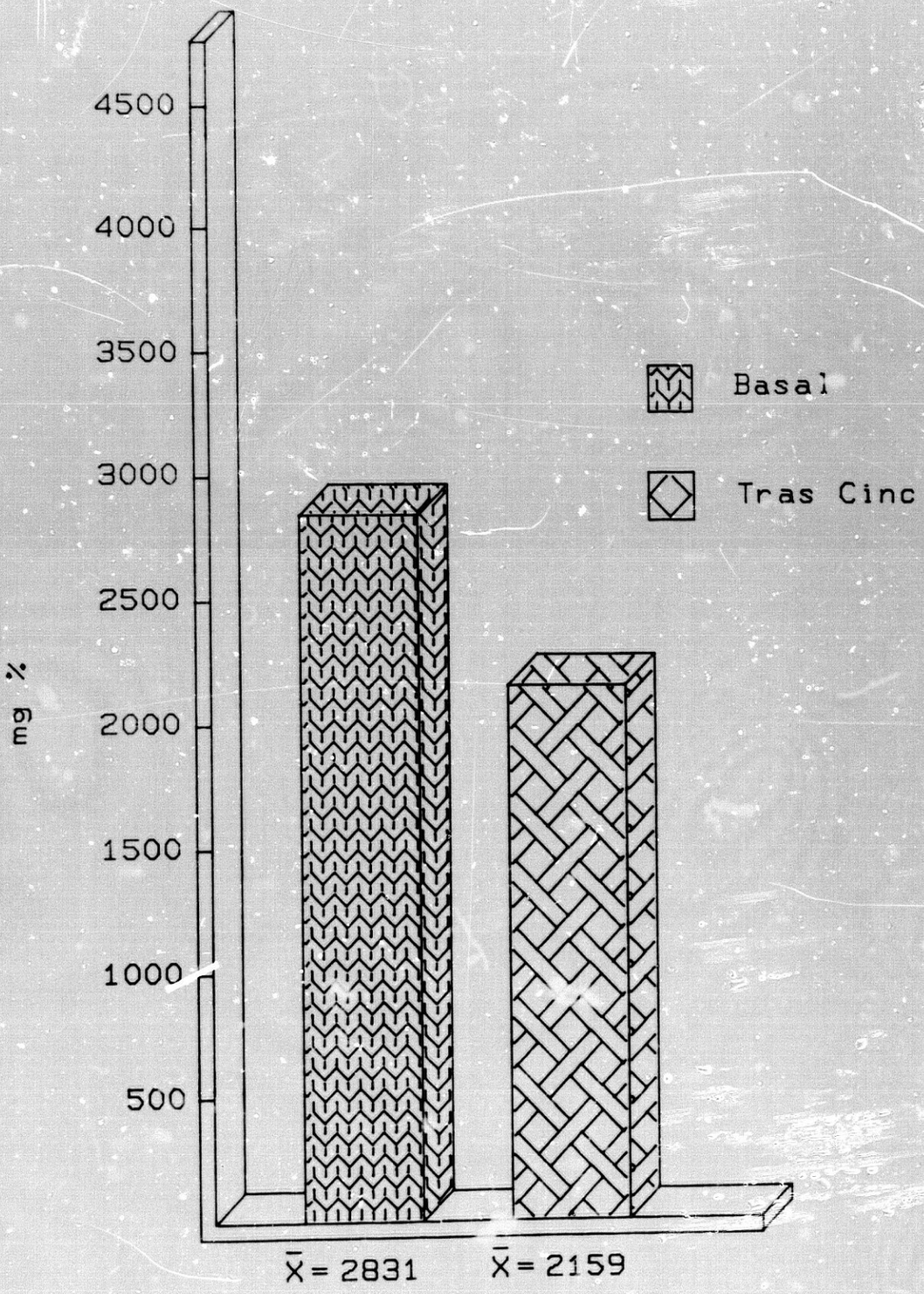


FIGURA 10.- IgG SERICA BASAL Y TRAS CINC EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II.

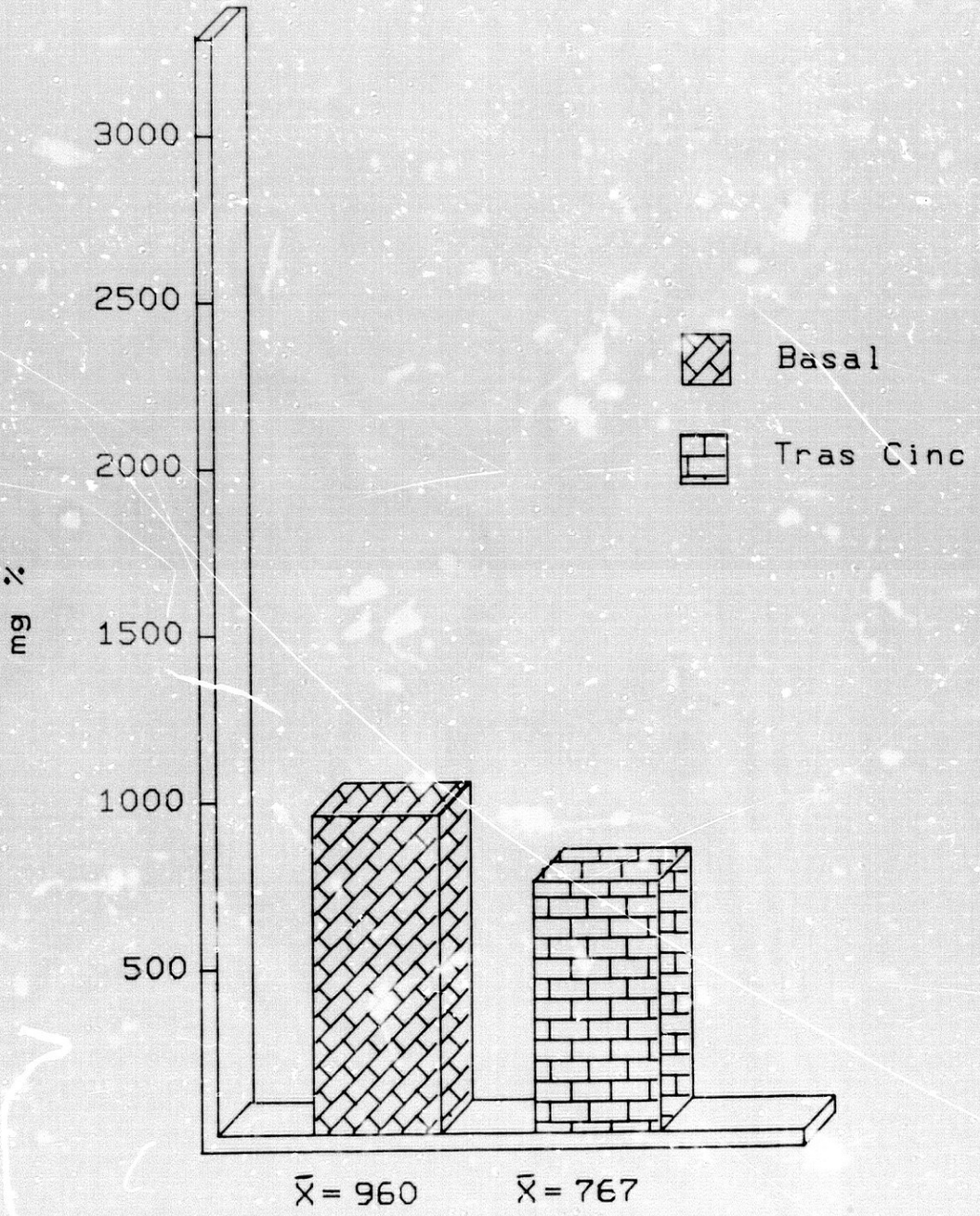


FIGURA 11.- IgA SERICA BASAL Y TRAS CINC EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II.

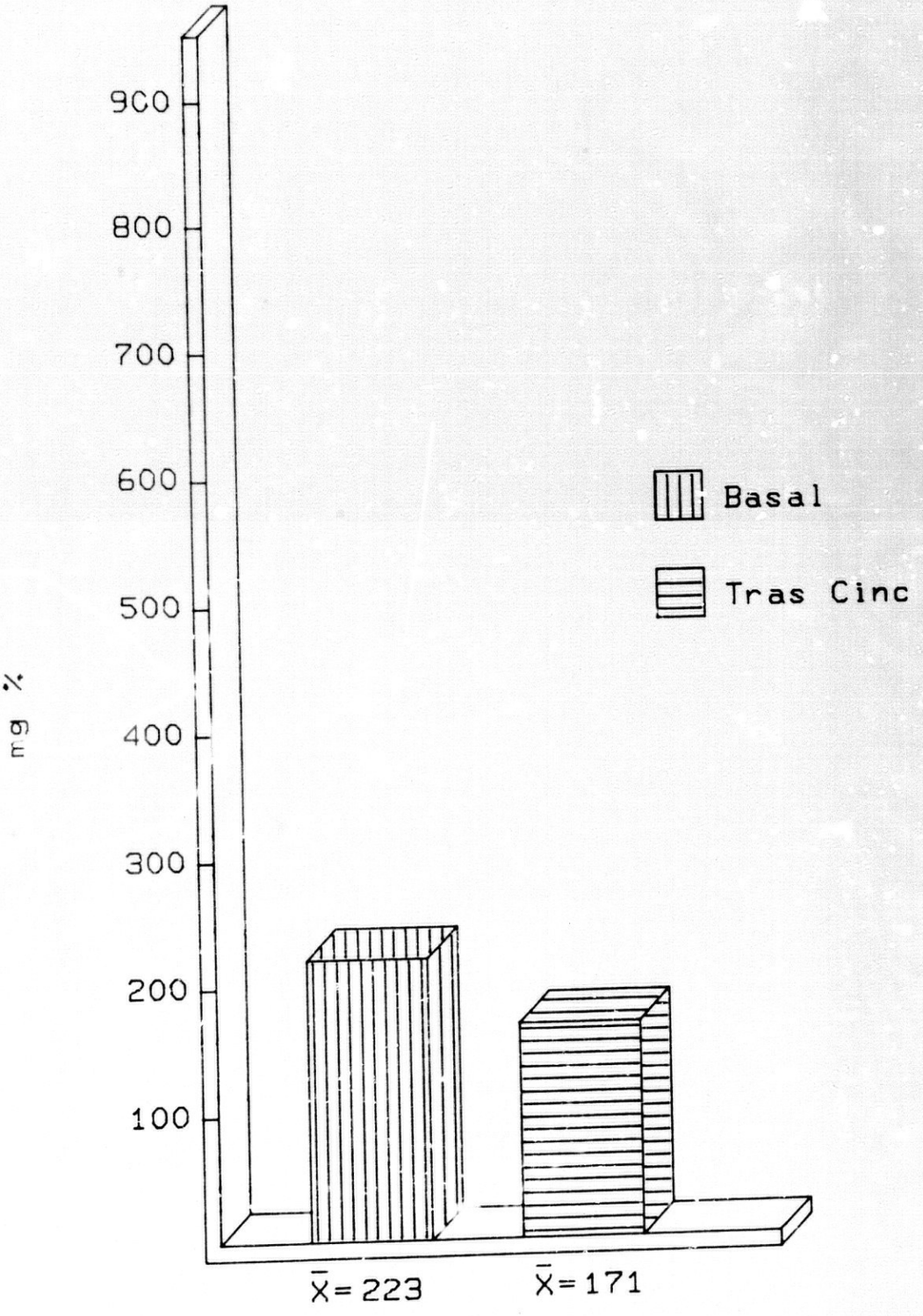


FIGURA 12.- IgM SERICA BASAL Y TRAS CINC EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II.

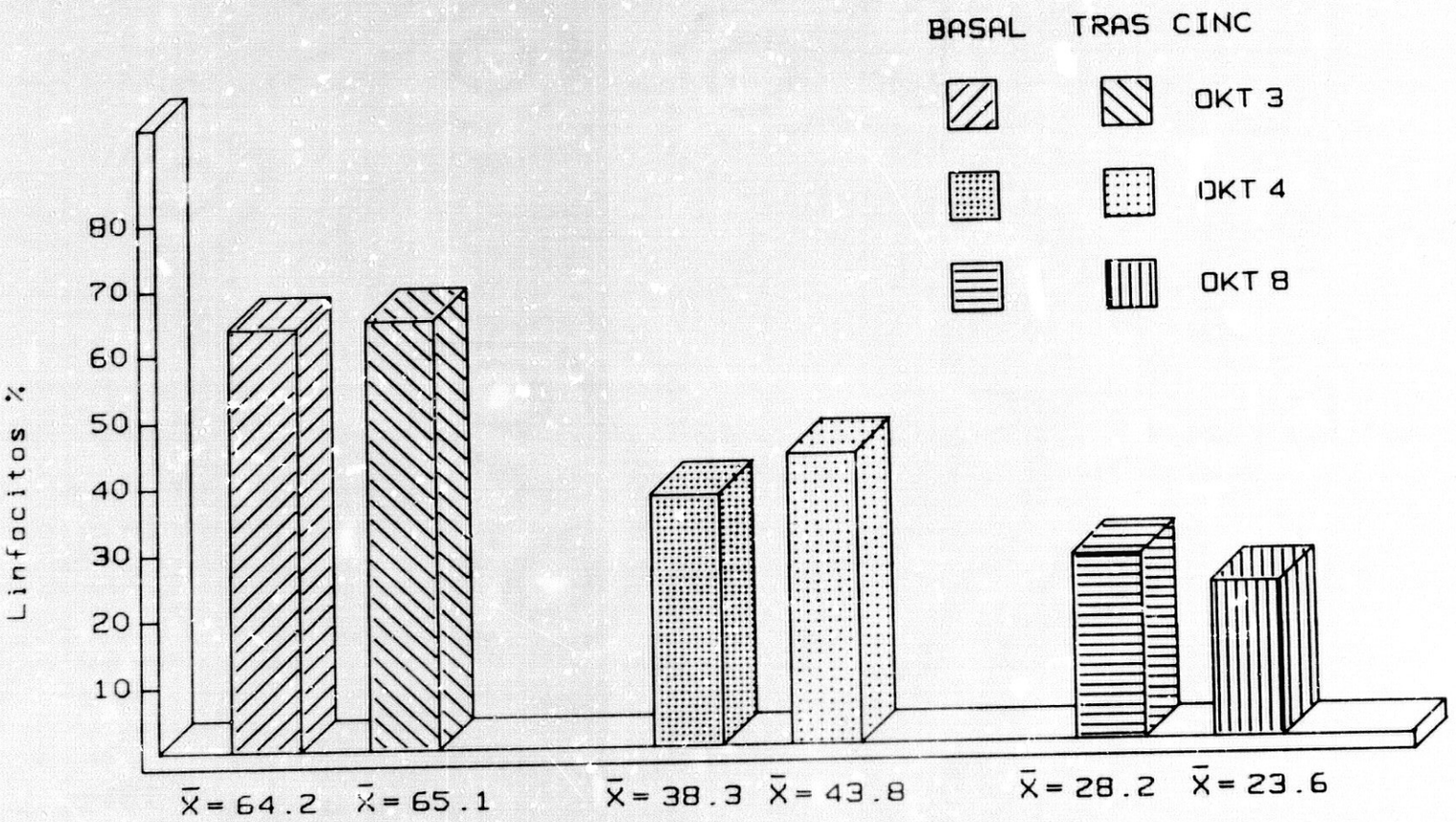


FIGURA 13.- PORCENTAJE DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS BASALES Y TRAS CINC EN EL GRUPO 2 DE PACIENTES CIRROTICOS.

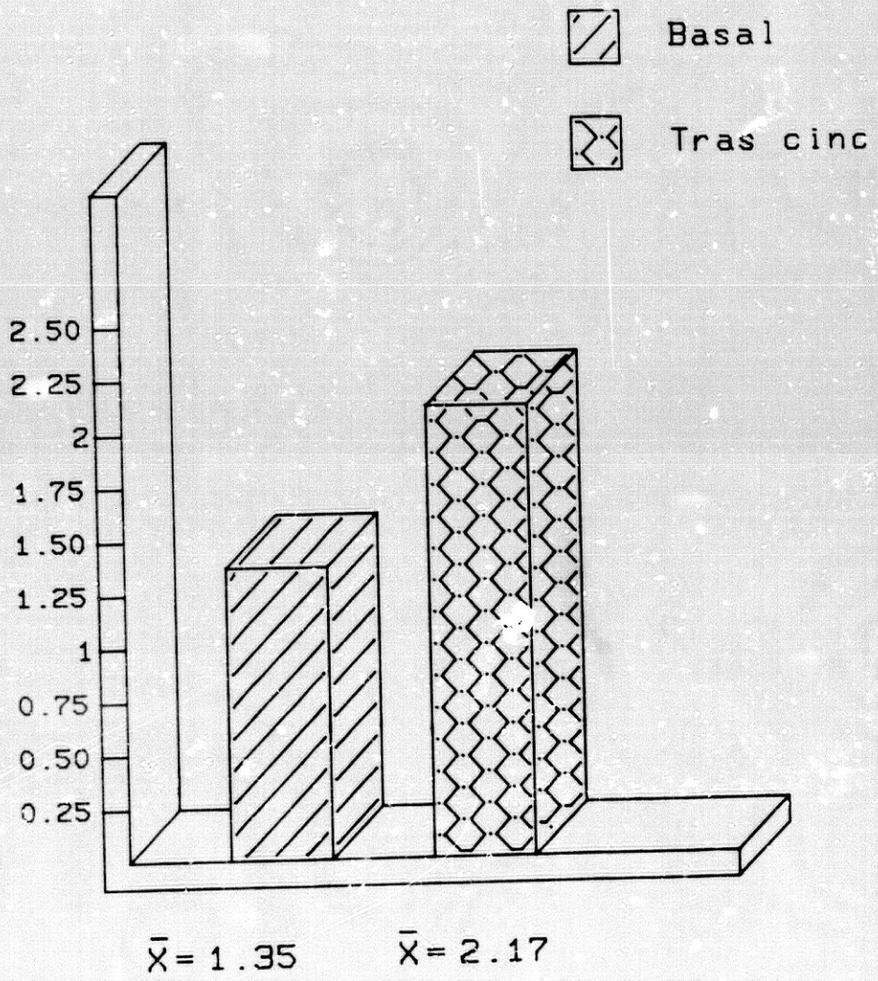


FIGURA 14.- INDICE OKT4 / OKT8 BASAL Y TRAS CINC EN LOS PACIENTES DEL GRUPO II.

DISCUSION

I) ESTUDIO BASAL

1) EL CINC

Los resultados de nuestro estudio muestran, en el grupo control, unos niveles de cinc sérico dentro de la normalidad. No hubo diferencias significativas entre los varones y las hembras de este grupo, tal y como se ha demostrado en trabajos anteriores en diferentes poblaciones sanas (35, 61). En efecto, estos estudios indican que los factores de sexo, grupo étnico, localización geográfica y hábitos alimenticios no desempeñan un papel importante sobre la cincemia en la población sana. La edad tampoco influye en los niveles plasmáticos de cinc (85), siendo además nuestros grupos de estudio de edades comparables y entre 40 y 65 años .

En el grupo I, constituido por la totalidad de los pacientes con CHA, los niveles séricos basales de

cinc son significativamente mas bajos que en el grupo control. Además, este descenso es mas evidente cuanto mayor es el grado de afectación hepática, relacionándose de forma significativa los niveles más bajos de cinc con los estadios B y C de la clasificación clínico-biológica de Child para la insuficiencia hepática .

La relación entre enfermedad hepática y niveles séricos bajos de cinc fué descrita por primera vez por Vallee en 1956 (147, 148) demostrando concentraciones bajas de cinc en sangre e hígado de enfermos con cirrosis alcohólica. En su trabajo, este autor encuentra que las cifras de cinc mas bajas corresponden a los pacientes con un grado mas avanzado de afectación hepática, tal como sucede en nuestros pacientes.

Los resultados de nuestro estudio coinciden, asimismo, con los obtenidos por Kallai en 1971 (70) y Killerich en 1980 (75), entre otros. El primero determina también la excreción urinaria de cinc, que está sujeta a amplias oscilaciones y el segundo demuestra, además, que existe una disminución del cinc intrahepático, aunque no hay correlación directa entre los niveles séricos y hepáticos de cinc en cada paciente.

En nuestro país, Solís Herruzo encuentra resultados similares a los de nuestro trabajo en pacientes con cirrosis de diferentes etiologías, relacionándose la cincemia con el grado de afectación hepática y el estado nutricional del enfermo (130, 131).

La relación significativa que encontramos entre los niveles séricos de cinc y los grados de insuficiencia hepática de Child coincide también con el trabajo recientemente publicado por Ortuño y cols. Estos autores encuentran asimismo que la cincemia se relaciona con el pronóstico a corto plazo pero no con la etiologia de la cirrosis ni con el estado nutritivo del paciente. De igual forma, encuentran que el cinc urinario está relacionado con el grado de afectación hepática (107).

El origen de la hipocincemia que presentan los pacientes con hepatopatía crónica es, probablemente, multifactorial. Sin embargo, existen una serie de mecanismos que han sido invocados con más frecuencia: Los factores nutritivos, con dietas deficitarias en proteinas de origen animal y como parte del tratamiento de su encefalopatía; La ingesta de alcohol, que reduce la absorción intestinal del cinc; La insuficiencia pancreática; Los transtornos en la absorción intestinal del cinc en hepatópatas; La disminución en la capacidad hepática, mediada por la metalotioneina, para retener el cinc que le llega a través de la circulación portal: Las anastómosis portosistémicas que evitan el contacto de gran cantidad de sangre con el hepatocito... Además, el cinc que no es retenido por el hígado pasa a la circulación sistémica donde, debido a la hipoalbuminemia de estos enfermos, se une a proteinas de bajo peso molecular y es eliminado por la orina al pasar aquellas el filtro renal. Por último, el tratamiento diurético incrementa también la pérdida renal del cinc (118).

Keeling y cols. han demostrado también un déficit intraleucocitario de cinc (73), lo cual contribuye a aclarar la influencia de este elemento en la inmunidad y los resultados de nuestro trabajo que comentamos mas adelante.

A la vista de nuestros hallazgos sobre la cincemia en pacientes con patología hepática y de las aportaciones anteriores en este campo, parece demostrada una estrecha relación entre cinc e insuficiencia hepática. Más aún, la evolución del funcionalismo hepático guarda relación con los niveles de cinc y con la situación inmunitaria, según se recoge en las páginas siguientes, encontrándonos con nuevos elementos en el complejo mosaico de la patogenia de ciertas afecciones hepáticas, que probablemente ulteriores investigaciones puedan esclarecer.

2) INMUNOGLOBULINAS SERICAS

Las cifras de inmnoglobulinas séricas en el estudio basal de los 42 cirróticos (grupo I) han estado por encima de los valores normales en lo que a la IgA e IgG se refiere, alcanzando en algunos casos niveles que se suelen observar solamente en pacientes con gammapatías monoclonales.

La hipergammaglobulinemia es más marcada cuanto mayor es la afectación hepática. En nuestro estudio alcanza significación estadística esta afirmación

cuando analizamos los niveles de IgA en los diferentes estadios de Child. Esta inmunoglobulina es, por otra parte, la más claramente elevada en los enfermos.

Estos resultados confirman de nuevo el hallazgo, descrito por Franklin por vez primera en 1951, de un aumento de las gammaglobulinas en pacientes con hepatopatía crónica. Posteriormente el hecho ha sido confirmado por numerosos autores en determinaciones cuantitativas de inmunoglobulinas (50, 51, 43) y hoy se acepta como un parámetro diagnóstico más de las hepatopatías crónicas avanzadas.

Sobre el origen de esta hipergammaglobulinemia se han propuesto diversas explicaciones. Así las alteraciones producidas por el alcohol en la permeabilidad de la pared intestinal, la disminución de la capacidad de aclaramiento antigénico por parte de la células de Kupffer del hígado lesionado y la existencia de shunts portosistémicos podrían ser responsables de la arribada antigénica a los linfáticos y la hiperproducción secundaria de gammaglobulinas (16, 43).

Más recientemente, se explica este hecho por una alteracion de los mecanismos reguladores de la producción de inmunoglobulinas por parte de las células B (108). Estos mecanismos reguladores son fundamentalmente las subpoblaciones inductora y supresora de células T y los mediadores producidos por estas.

En este sentido, Tomino y cols. (143), han demostrado que los niveles aumentados de

inmunoglobulinas en el suero de pacientes con CHA están en relación con la disminución de la capacidad de las células T supresoras naturales ó inducidas por Concanavalina-A para suprimir la producción de inmunoglobulinas por parte de las células B. Pan Bo Rong y cols. (108) confirman, en estudios in vitro, que existe una fuerte correlación inversa entre la síntesis in vitro de IgG e IgA y la actividad supresora medida en la misma población celular.

Pero, otros autores (126) han comprobado una baja respuesta de las células B de estos pacientes a la estimulación con factor T inductor, sugiriendo que la alteración en la regulación de la síntesis de inmunoglobulinas afecta tanto a las células T inductoras como a las supresoras.

El aumento de inmunoglobulinas séricas se encuentra en todas las hepatopatías crónicas, independientemente de su etiología. Sin embargo numerosos autores (156, 139, 21) han descrito una elevación más marcada de la IgA en las hepatopatías de origen alcohólico. Mientras, Wegener, en un reciente trabajo no encuentra relación de la IgA con la etiología alcohólica ó no de la hepatopatía y sí con su grado de afectación hepática (152).

En nuestro estudio de pacientes con cirrosis alcohólica, la IgA ha resultado ser la inmunoglobulina más claramente elevada y que se ha relacionado con el grado de insuficiencia hepática de forma significativa. La inmunoglobulina IgG que también estaba elevada, no presentó esta relación en los enfermos estudiados. Estos resultados confirman los

obtenidos recientemente por Calmus que muestran un aumento de la concentración sérica de IgA en un grupo de 22 pacientes con CHA que se correlaciona significativamente con el grado de insuficiencia hepatocelular medida por la clasificación de Child (21) , en tanto que no encuentra relación con la IgG e IgM. Este mismo autor sugiere que el aumento de la IgA se podria deber a una disminución en el catabolismo de la IgA polimérica. En efecto, en el suero de pacientes con cirrosis hepática , del 25 al 45% de la IgA está representada por la forma polimérica o secretoria, mientras que, en individuos sanos, esta forma representa menos del 8%. La forma polimérica posee gran afinidad por los hepatocitos y una alteración del catabolismo hepatocitario de esta inmunoglobulina podria ser responsable de su elevación sérica.

3) SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Las principales células en el sistema inmune son los linfocitos T y B y monocitos. En el presente estudio hemos investigado la subpoblación de linfocitos T totales, linfocitos T inductores y T supresores y si existía correlación entre los porcentajes de estas y el grado de insuficiencia hepática de nuestros enfermos.

En el grupo de 20 controles para la determinación de subpoblaciones linfocitarias por anticuerpos monoclonales obtuvimos unas medias de porcentajes dentro de la normalidad, aunque hay que destacar la existencia de valores bajos en algunos sujetos y la necesidad de grupo control porque esta técnica presenta variaciones según la metodología y sobre todo según la edad.

En las subpoblaciones linfocitarias de los pacientes con CHA encontramos un aumento estadísticamente significativo de linfocitos T totales, identificados por el anticuerpo monoclonal OKT 3, con respecto al grupo control. No existen diferencias significativas respecto a los controles en los linfocitos inductores (OKT 4), ni en los supresores/citotóxicos (OKT 8) ni en el cociente entre las poblaciones inductoras y supresoras (cociente OKT4/OKT8).

En cuanto a la determinación de linfocitos T totales en los pacientes con hepatopatía alcohólica son uniformes los resultados de los diferentes autores en el sentido de encontrarlos disminuidos cuando se utiliza la técnica de EAC rosetas (12, 83, 129, 145).

Sin embargo los resultados son dispares cuando se utiliza la técnica de anticuerpos monoclonales para el estudio de los linfocitos T totales. De esta forma, Pelleter (113) y Jovanovic (67) los encuentran disminuidos. Este último autor llama la atención sobre el hecho, también observado por nosotros, de que la suma de linfocitos OKT 4 y OKT 8 excede el total de los linfocitos T identificado por OKT 3. Este hallazgo puede deberse a presencia de células T que son portadoras de ambos marcadores T4 y T8 ó a células T4 y T8 que no tienen el marcador T3. Esta alteración se encuentra en relación con un daño hepático importante, ha sido descrita también en hepatitis crónica activa, cirrosis biliar primaria y miastenia gravis y se atribuye a una salida anormal de timocitos inmaduros al torrente sanguíneo (13).

Carpintero (23) no encuentra diferencias en el porcentaje de linfocitos T de pacientes con cirrosis alcohólica respecto a los controles y Spinozzi encuentra, como nosotros, que existe un aumento del porcentaje de linfocitos T totales identificados por el OKT 3 respecto al grupo control (134). Incluso algunos autores, como Carpintero, emplean las dos técnicas (rosetas EAC y anticuerpos monoclonales) y encuentra resultados divergentes: disminución de linfocitos identificados con la técnica de rosetas y niveles normales cuando emplea anticuerpos

monoclonales, lo cual sugiere que existen en el suero de estos pacientes factores séricos que interfieren con la formación de las rosetas.

La subpoblación de células T inductoras, identificada por el anticuerpo monoclonal OKT 4 se encontraba aumentada en el grupo de los pacientes cirróticos con respecto a los controles sin llegar a alcanzar significación estadística. Estos resultados coinciden con los de Jovanovic que no encuentra diferencias con los controles en un grupo de 30 pacientes conformado por hepatitis alcohólica y cirrosis hepáticas (67). Spinozzi (134) encuentra esta subpoblación elevada, al igual que Mc Keever en 22 pacientes con CHA (91).

En nuestro estudio, la subpoblación de células T supresoras/citotóxicas, identificada por el anticuerpo monoclonal OKT 8 presenta un aumento sin significación estadística respecto a los controles. En este hecho también coincidimos con lo encontrado por Jovanovic en su estudio, pero la mayoría de autores describen un descenso de esta subpoblación (91, 113, 116, 134).

Con respecto al cociente OKT 4/OKT 8 tampoco encontramos diferencias significativas frente al grupo control. Estos resultados coinciden con los del mencionado trabajo de Jovanovic y el de Thomas en pacientes con hepatitis alcohólica y cirrosis hepática de la misma etiología (141). Otros autores encuentran un cociente OKT 4/OKT 8 aumentado en este tipo de pacientes (23, 67, 91, 135).

Analizamos también si había correlación entre las cifras de cinc de los pacientes con CHA y las otras variables estudiadas y encontramos que no existe con respecto a IgG, IgM y subpoblaciones linfocitarias pero sí hay correlación inversa, y es significativa estadísticamente, entre las cifras basales de cinc y las de inmunoglobulina A. En efecto, en los pacientes cirróticos estudiados, las cifras basales de cinc más bajas se correlacionan con mayores elevaciones de IgA. Este hecho no ha sido descrito anteriormente. Su explicación puede buscarse en el conocimiento de que son necesarios niveles normales de cinc para un correcto funcionamiento de la inmunidad celular y que esta es la que regula la producción de inmunoglobulinas por las células B. De esta forma, déficits más acusados del cinc provocarían mayores alteraciones en el funcionamiento de las células T y por tanto de la producción de inmunoglobulinas. Por otra parte, y como hemos expuesto previamente, en nuestros enfermos tanto el descenso del cinc sérico como la elevación de IgA eran más marcados conforme avanzaba el grado de insuficiencia hepática, lo que sugiere fuertemente que ambos hechos están relacionados entre sí y con el grado de afección hepática.

II) ESTUDIO TRAS LA ADMINISTRACION DE CINC ORAL Y A LOS 30 DIAS

Los suplementos orales de cinc como terapéutica en la clínica humana y, en concreto, en patología hepática, han sido muy poco empleados hasta la fecha. Es este un aspecto de especial interés en el presente estudio. Por una parte, sus efectos sobre los niveles de inmunoglobulinas y el balance inmunitario no habían sido descritos previamente y por otro su buena tolerancia despiertan unas perspectivas terapéuticas sumamente atractivas. Nuestro trabajo no cierra una investigación, sino que, como era de esperar, abre numerosas incógnitas y plantea retos a solucionar en nuevas investigaciones.

1) EL CINC

En el grupo II, constituido por 20 pacientes cirróticos, administramos sulfato de cinc, 250 mgrs. dos veces al dia durante 30 dias. La forma de administración en cápsulas se escogió por su mayor comodidad en un trabajo a medio plazo. Tan solo dos pacientes refirieron náuseas y vómitos ocasionales a pesar de ser advertidos previamente sobre esta posibilidad y ser interrogados todos ellos sobre el particular.

A los 30 dias la tasa sérica de cinc se habia elevado de forma significativa sobre los valores basales y se encontraba en niveles ligeramente superiores a los del grupo control.

En el grupo III, que formaban 10 pacientes a los que no se administró cinc, los niveles séricos no se modificaron respecto de los basales.

El cinc ha sido empleado anteriormente en diversas entidades clínicas, unas veces como tratamiento empírico, otras para restaurar su déficit (118), otras como inmunorestaurador (40, 94) y otras por su papel en el balance plasmático con el cobre (18). En las hepatopatías alcohólicas, el aporte de cinc ha ido encaminado a restaurar unos niveles orgánicos disminuidos.

Vallee, en sus primeros trabajos sugería que una dieta equilibrada, conteniendo 15 mgrs. de cinc mejoraría clínicamente a los pacientes y restauraría unos niveles normales. Esta afirmación está en contraposición con la práctica y con el resultado de nuestro trabajo, en que una dieta hospitalaria equilibrada no fué capaz de normalizar la cincemia de los enfermos del grupo no tratado.

Con dosis de 500 mgrs./dia de sulfato de cinc durante treinta dias, Solís Herruzo obtiene una normalización de la tasa plasmática del metal en 17 pacientes con CHA. La dosis y el tiempo utilizado coinciden con los de nuestro estudio, mostrándose igualmente eficaces en el propósito de conseguir niveles séricos normales de cinc. Recientemente ha

sido empleado por otros autores en dosis de 200 mgrs./dia durante 60 dias, con idénticos buenos resultados (81), por lo que parece establecido que una dosis total de 15 gramos en uno ó dos meses es adecuada para restablecer niveles normales de cinc en pacientes con CHA.

2) INMUNOGLOBULINAS SERICAS

Después de 30 dias de tratamiento con cinc a los 20 pacientes del grupo II se produce una disminución significativa de las inmunoglobulinas IgG e IgA y en el límite de significancia para la IgM respecto a las cifras basales que presentaba este grupo. Este hallazgo, quizás el de más relevancia en nuestro estudio, no ha sido previamente descrito. En efecto, los escascs trabajos en que se ha suministrado aporte oral de cinc a los pacientes con CHA han estudiado parámetros clínicos, bioquímicos ó ciertos aspectos de la inmunidad celular, pero no han relacionado el cinc con la hipergammaglobulinemia de estos enfermos. Cuando se ha administrado cinc en diversas entidades clínicas y modelos experimentales en que se encontraba asociado un déficit del metal a alteraciones inmunitarias, estas han sido totalmente reversibles (118).

La explicación de nuestros resultados tenemos que hacerla a la luz de anteriores investigaciones que demuestran que la hipergammaglobulinemia de los pacientes con CHA se relaciona con una disfunción de

los mecanismos reguladores de las células T, tanto en su función inductora como supresora (62, 108).

Por otra parte, la evaluación del papel del cinc en el desarrollo y función de las poblaciones de diferentes células linfoides sugiere fuertemente que este metal ejerce un efecto preponderante sobre los linfocitos T. Además, en los pacientes cirróticos, hay una disminución del cinc intraleucocitario, con el deterioro que esto supone en las reacciones enzimáticas, la estabilización de membranas celulares y el metabolismo del DNA (73).

Por tanto, es lógico pensar que la reposición de niveles adecuados de cinc en los enfermos con CHA contribuye a normalizar la función reguladora de las células T y, en consecuencia, a conducir a niveles más próximos a la normalidad la tasa de inmunoglobulinas séricas en estos pacientes.

Como era lógico esperar, en los diez pacientes que no se realizó el suplemento de cinc no hubo modificaciones significativas en la determinación de inmunoglobulinas a los 30 dias.

3) SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Tras la administración de cinc, no se modifica significativamente el porcentaje de linfocitos T totales (OKT 3), la subpoblación inductora/auxiliadora (OKT 4) sube y la supresora/citotóxica (OKT 8) baja,

ambas sin significación estadística. El cociente OKT4/OKT8 sí se eleva significativamente respecto a los valores iniciales.

En principio, podemos suponer que este hecho traduce una mejoria en el balance inmunitario. Sin embargo, en nuestros pacientes cirróticos , aunque existía un descenso del índice OKT4/OKT8 respecto a los controles, este no alcanzaba significación estadística, por lo que no podemos asumir que los pacientes con CHA tengan entre sus alteraciones inmunitarias un índice inductor/supresor bajo y que la administración de cinc lo eleve. En este mismo sentido, los datos más frecuentemente encontrados en trabajos previos hablan de una elevación de este índice en los pacientes con CHA (91,135), por lo que nuestro resultado, a falta de confirmación en otros trabajos, creemos que puede ser debido a una modificación en las subpoblaciones reguladoras que no halla alcanzado significación estadística pero que ha tenido influencia sobre la normalización de las alteraciones inmunitarias traducida en un descenso de la hipergammaglobulinemia de estos pacientes.

Estudiamos, finalmente, si existia correlación entre el incremento de cinc sérico en estos pacientes tras su aporte oral y las modificaciones observadas en los otros parámetros. No existe correlación significativa entre el incremento de cinc y los de IgG, IgA, subpoblaciones linfocitarias e índice H/S. Curiosamente, la única relación que alcanza significación estadística es la disminución de las cifras de IgM conforme ascienden las de cinc en cada

paciente, no presentándola la IgA que es la más elevada y la que presentaba relación con el cinc en su determinación basal.

En los pacientes del grupo III, a los que no se administró cinc, no hubo modificación de las subpoblaciones linfocitarias ni del índice H/S a los 30 dias de la primera determinación, descartando así otras influencias sobre los resultados obtenidos en el grupo II.

CONCLUSIONES

5ª) Los niveles de IgA en los pacientes cirróticos se correlacionan significativamente con las cifras de cinc sérico, de forma que a niveles mas altos de IgA corresponden niveles mas bajos de cinc sérico.

6ª) Tras la administración de suplementos orales de cinc a pacientes con CHA hemos encontrado una elevación significativa del cinc sérico, descenso de las cifras de gammaglobulinas y elevación del índice inductor/supresor respecto a los valores basales.

7ª) No hemos hallado modificación significativa en el porcentaje de subpoblaciones linfocitarias tras la administración de cinc.

8ª) El incremento de las cifras de cinc sérico observado en nuestros pacientes tras la administración de suplementos orales de cinc se relacionó significativamente con el descenso de las cifras de inmunoglobulina M.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1) Abo, T. and Balch, C.M. A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). J. Immunol., 127, 1024-1029, 1981.

2) Alexander, G. J. M., Nouri-Aria, K. T., Eddleston, A. L. W. F. and Williams, R. Contrasting relations between suppressor-cell function and suppressor-cell number in chronic liver disease. Lancet 1, 1291-1293, 1983.

3) Allen, J.I., Kay, N.E. and McClain C.J. Severe zinc deficiency in humans: Association with a reversible T lymphocyte disfunction. Ann. Intern. Med. , 95, 154-157, 1981.

4) Allen, J. I., Korchick, W., Kay, N. E. and McClain, C. J. Zinc and T-lymphocyte function in hemodialysis patients. Am. J. Clin. Nutr., 36, 410-415, 1982.

5) Anttinen, H., Ryhänen, L., Puistola, U., Arranto, A. and Oikarinen, A. Decrease in liver collagen accumulation in carbon tetrachloride-injured and

normal growing rats upon administration of zinc. Gastroenterology, 86, 532-539, 1984.

6) Antonaci, S., Jirillo, E., Gallitelli, M. et al. Impairment of T immunoregulatory activities in the induction of antibody specific response in aged humans. Mech. Ageing Dev., 30, 251-259. 1985.

7) Antoniou L.D., Shalhoub, R.J. and Schechter, G.P. The effect of zinc on cellular immunity in chronic uremia. Am. J. Clin. Nutr., 34, 1912-1917, 1981.

8) Antonson, D. L. and Vanderhoof, J. A. Effect of crhonic ethanol ingestion on zinc absorption in rat small intestine. Dig. Dis. Sci. , 28, 604-608, 1983.

9) Bakan, R. Anorexia and zinc. Lancet2, 874, 1984.

10) Beach, R.S., Gershwin, M.E. and Hurley, L.S. Nutritional factors and autoimmunity. III. Zinc deprivation versus restricted food intake in MRL/1 mice. The distinction between interacting dietary influences. J. Immunol., 126, 2686-2692, 1982.

11) Berenyi, M. R., Straus, B., Cruz, D. In vitro and in vivo studies of cellular immunity in alcoholic cirrhosis. Am J Dig Dis, 19, 199-205, 1974.

12) Berenyi, M. R., Straus, B. and Avila, L. T rosettes in alcoholic cirrhosis of the liver. JAMA, 232, 44-46, 1975.

13) Berrih, S. et al. Evaluation of T cell subsets in myastenia gravis using anti-T cell monoclonal antibodies. Clin. Exp. Immunol., 45, 1-9, 1981.

14) Bhardwaj, S., Miglani, N., Gupta, B. D. and Jain A. Hepatic zinc levels in Indian childhood cirrhosis. Indian J. Med. Res., 71, 278-281, 1980.

15) Billing, R. J., Safani, M. and Peterson, P. Isolation and characterisation of human cell aloantigens. J. Inmunol., 117, 1589-1593, 1976.

16) Björkholm, M. Immunological and hematological abnormalities in chronic alcoholism. Acta Med. Scand., 207, 197-200, 1980.

17) Brenton, D.P., Jackson, M.J. and Young, A. Two pregnancies in a patient with acrodermatitis enterophatica treated with zinc sulphate. Lancet 2, 500-502, 1981.

18) Brewer, G. J., Hill, G. M., Prasad, A. S., Cossack, Z. T. and Rabbani, P. Oral zinc therapy for Wilson's disease. Ann. Intern. Med., 99, 314-320, 1983.

19) Bustamante Bustamante, J., Martin Mateo, M.C. El comportamiento del metabolismo del cinc, LDH y ph sanguíneo en enfermos neoplásicos. Rev. Clin. Esp., 129, 43-46, 1973.

20) Bustamante Bustamante, J., Martin Mateo, M.C., Bustamante, R. y San Segundo, D. Estudio del efecto sobre el metabolismo de las grasas, cobre y cinc

plasmático de la D-L carnitina en hemodiálisis. Rev. Clin. Esp., 168, 41-43, 1983.

21) Calmus, Y., Poupon, R., Barbare, J. C. et al. Fonction hépatique et signification de l'augmentation de la concentration sérique des IgA au cours de la cirrhose alcoolique. Gastroenterol. Clin. Biol., 9, 614-616, 1985.

22) Cantor, H. and Weissman, J. Development and function of subpopulations of thymocytes and T lymphocytes. Prog. Allergy., 2011-2019, 1976.

23) Carpintero, E., Rodriguez de Lope, C., San Miguel, G., Echevarria, S. y Pons Romero, F. Linfocitos T, T inductores y T supresores en la cirrosis alcohólica. Gastroenterol. Hepatol., 7, 266, 1984.

24) Cavdar, A. O., Babacan, E., Gozdaglosu, S. et al. Zinc and anergy in pediatric Hodgkin's disease in Turkey. Cancer, 59,305-309, 1987.

25) Cline, M. J., Golde, D. W. Cellular interactions in hematopoiesis. Nature., 277, 177-181, 1979.

26) Cohen, S., Pick, E., Oppenheim, J.J. Biology of the lymphokines., New York, Academic Press, 1979.

27) Crofton, R. W., Gvozdanovic, S., Gvozdanovic, D. et al. Hepatic and skeletal distribution of Zn65 in cirrhosis. Gut, 22, A885, 1981.

28) Cunningham-Rundles, C., Cunningham-Rundles S., Iwata T. et al. Zinc deficiency, depressed thymic

hormones and T lymphocyte disfunction in patients with hypogammaglobulinemia. Clin. Immunol. Immunopathol., 21, 387-396, 1981.

29) Chandra, R.K. Immunocompetence in undernutrition. J. Pediatr., 81, 1194-2000, 1972.

30) Chandra, R.K. and Au, B. Single nutrient deficiency and cell-mediated immune responses. I. Zinc. Am. J. Clin. Nutr., 33, 736-738, 1980.

31) Chang, T. W., Kung, P. C., Cingrass, S. P. and Goldstein, G. Does OKT 3 monoclonal antibody react with an antigenrecognition structure of human T cell ?. Proc. Natl. Acad. Sci., 78, 1805-1808, 1981.

32) Chatenoud, L. et al. Deficiency of supressor/citotoxic T cells in idiophatic membranous glomerulonephritis. Immunol. Let., 2, 167-172, 1980.

33) Chvapil. M. Effect of zinc on cells and biomembranes. Med. Clin. North Am., 60, 799-812, 1976.

34) Dardenne, M., Savino, W., Berrith, S. and Bach, J. F. A zinc-dependent epitope on the molecule of thymulin, a thymic hormone. Proc. Natl. Acad. Sci., 82, 7035-7038, 1985.

35) Davies, I.J.T., Musa, M. and Dormandy, T.L. Measurement of plasma zinc. I. In health and disease. J. Clin. Path., 21, 359-365, 1968.

36) Delacroix, D. L., Reynaert, M., Pauwels, S. Geubel, A. P. and Vaerman, J. P. High serum levels of secretory IgA in liver disease. Dig. Dis. Sci., 27, 333-340, 1982.

37) Diamond, B. A., Yelton, D. E. and Scharff, M. D. Monoclonal antibodies. a new technology for producing serological reagents. N. Engl. J. Med., 304, 1344-1349, 1981.

38) Diez Ruiz, A., Gil Extremera, B. y Gutierrez Gea, F. Inmunidad celular y humoral en los pacientes con cirrosis hepática y su relación con el cinc sérico. Rev. de la Soc. And. de Pat. Digest., 6, 391-394, 1983.

39) Dowd, P. S., Kelleher, D. J. and Guillou, P. J. T-lymphocyte subsets and interleukin-2 production in zinc-deficient rats. Br. J. Nutr., 55, 59-69, 1986.

40) Duchateau, J., Delespesse G., Wrijens, R. and Collet H. Beneficial effects of oral zinc supplementation on tthe immune response of old people. Amer. J. Med., 70, 1001-1004, 1981.

41) Echevarria, S., Rodriguez de Lope, C., San Miguel, G., Pons Romero, F .Suppressor cell activity in alcoholic liver disease. Scand. J. Gastroenterol., 17, spp. 78, 1982.

42/ Fauci, A. S., Lane, H. C. and Volkman, D. J. Activation and regulation of human immune responses: Implications in normal and disease states. Ann. Intern. Med., 99, 61-75, 1983.

43) Feizi, T. Immunoglobulins in chronic liver disease. Gut, 9, 193-198, 1968.

44) Fernandes, G., Nair M., Onoe, K. Impairment of cell-mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice. Proc. Natl. Acad. Sci., 76, 457-461, 1979.

45) Fernandez B. de Quiros, J., Iñiguez Lobeto, C. y Carreres Quevedo, J. Importancia del cinc en la patologia clínica. Rev. Clin. Esp., 151, 87-95, 1978.

46) Fiorini, G., Monarca, A., Adelasco, L., Groce, G., Natángelo, R. and Gibelli, A. Correlation between helper/suppressor ratio and IgA levels in the peripheral blood from patients with liver diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy, 37, 180-183, 1983.

47) Fraker, P.J., Haas, S.M. and Luecke, R.W. The effect of zinc deficiency on the young adult A/J mouse. J. Nutr., 107, 1889-1895, 1977.

48) Fraker P.J., DePasquale-Jardieu P., Zwickl C.M. and Luecke R.W., Regeneration of T-cell helper function in zinc-deficient adult mice. Proc. Natl. Acad. Sci. ,75, 5660-5664, 1978.

49) Fraker, P.J., Zwickl, C.M. and Luecke, R.W. Delayed type hypersensitivity in zinc deficient adult mice: Impairment and restoration of responsivity to dinitrofluorobenzene. J. Nutr., 112, 309-313, 1982.

50) Franklin, H., Bean, W. B. and Paul, W. D. Electrophoretic studies in liver disease. J. Clin. Invest., 30, 729, 1951.

51) Gluud, C. and Tage-Jensen, U. Autoantibodies and Immunoglobulins in alcoholic steatosis and cirrhosis. Acta Med. Scand., 214, 61-66, 1983.

52) Golden, M.H.N., Golden, B.E., Harland, P.S.E.G. and Jackson, A.A. Zinc and immunocompetence in protein-energy malnutrition. Lancet1 , 1226-1228, 1978.

53) Golding, P. L., Smith, M., Williams, R. Multisystem involvement in chronic liver disease: Studies on the incidence and pathogenesis. Am. J. Med., 55, 772-782, 1973.

54) Golerik et al. Role of NK cells in the control of metastatic spread and growth of tumor cells in mice. Int. J. Cancer., 30, 107-112, 1982

55) Gonzalez Reimers, C. E., Santolaria, F. J., Jorge Hernandez, J. A. y cols. Inmunoglobulinas en la cirrosis hepática. Correlación con datos clínicos y analíticos. Rev. Clin. Esp., 167, 233-236, 1982.

56) Gordon, E.F., Gordon, R.C. and Passal, D.B. Zinc metabolism: Basic, clinical and behavioral aspects. J. Pediatr., 99, 341-349, 1970.

57) Graciano, F. M. and Bell, C. L. The normal immune response and what can go wrong. Med. Clin. North Am., 69, 439-452, 1985.

58) Guenter, T., Averdunk, R. and Ruehl, H. Zinc metabolism in normal, lectin-stimulated and leukemic lymphocytes. Immunitatsforsch., 155, 269-278, 1979.

59) Guiraldes, E., Sorensen, R., Gutierrez, C., Cofsu, P. and Gonzalez, R. Zinc sulphate for acrodermatitis enteropathica. Lancet 2, 710-711, 1975.

60) Hallbook, T. and Hedelin, H. Zinc metabolism and surgical trauma. Br. J. Surg., 64, 271, 1977.

61) Halsted, J.A. and Smith, J.C. Plasma zinc in health and disease. Lancet 1, 322-324, 1970.

62) Holdstock, G., Chastenay, B. F. and Krawitt, L. Studies on lymphocyte hiporesponsiveness in cirrhosis: The role of increased monocyte suppressor cell activity. Gastroenterology, 82, 206-212, 1982.

63) Holdstock, G., Ershler, W. B. and Krawitt, E. L. Demonstration of non-especific B-cell stimulation in patients with cirrhosis. Gut, 23, 724-728, 1982.

64) Hsu, C. C. S. and Leevy, C. M. Inhibition of Pha-stimulated lymphocyte transformation by plasma from patients with advanced alcoholic cirrhosis. Clin. Exp. Immunol., 8, 749-760, 1971.

65) Husby, G., Blomhoff, J. P., Elgio, K. and Williams, R. C. Jr. Immunohistochemical characterization of hepatic tissue lymphocyte subpopulations in liver disease. Scand. J. Gastroenterol., 17, 855-860, 1982.

66) Iwata,T., Incefy, G.S., Tanaka, T., et al. Low lewels of serum thymic factor in zinc deficient A/J ax mice. Fed. Proc., 37, 1827-1831, 1978

67) Jovanovic, R., Worner, T., Lieber, C. S. and Paronetto, F. Lymphocyte subpopulations in patients with alcoholic liver disease. Dig. Dis. Sci., 31, 125-130, 1986.

68) Kaiserlian, D.,Savino, W. and Dardenne M. Studies of the thymus in mice bearing the Lewis lung carcinoma. II. Modulation of thymic natural killer activity by thimulin (FTS-Zn) and the antimetastasic effect of zinc. Clin. Immunol. Immunopathol., 28, 192-204, 1983

69) Kakumu. S., Yata, K. and Kashio, T. Immunoregulatory T-cell function in acute and chronic liver disease. Gastroenterology, 79, 613-619, 1980.

70) Kallai, L., Keler-Bacoka, M., Stojanovski-Burbanj, A. et al. Zinkwerte in Leber und Harn bei Leberzirrhose. Schweiz. Med. Wschr., 101, 643-646, 1971.

71) Kanagasundaran,N., Kakumu, S., Chen, T., Leevy, C. M. Alcoholic hyalin antigen (AH Ag) and antibcdy (AH Ab) in alcoholic hepatitis. Gastroenterology, 73, 1368-1373, 1977.

72) Kawanishi, H., Tavassolie, H., Mc. Dermott, R. P. and Sheagren, J. N. Impaired concanavalin A-inducible suppressor T-cell activity in active alcoholic liver disease. Gastroenterology, 80, 510-517, 1981.

73) Keeling, P. W. N., Jones, R. B., Hilton, P. J. and Thompson, R. P. H. Reduced leukocyte zinc in liver disease. Gut, 21, 561-564, 1980.

74) Keeling, P. W. N., Ruse, W., Bull, J. et al. Direct measurement of the hepatointestinal extraction of zinc in cirrhosis and hepatitis. Clin. Sci., 61, 441-444, 1981.

75) Kiilerich, S., Dietrichson, O., Loud, F. B. et al. Zinc depletion in alcoholic liver diseases. Scand. J. Gastroenterol., 15, 363-367, 1980.

76) Kiilerich, S., Christensen, M.S., Naestoft, J. and Christiansen, C. Determination of zinc in serum and urine by atomic absorption spectrophotometry; relationship between serum lewels of zinc and proteins in 104 normal subjects. Clin. Chimica. Acta., 105, 231-239, 1980.

77) Kirchgessner, M., Roth, H. P., and Weigand, E. Trace Elements in Human Health and Disease : Zinc and Copper, New York, Academic Press, 189-225, 1976.

78) Kohler, G and Milstein, C. Continous culture of fused cells secreting antibody of predefined specifity. Nature, 256, 397-399, 1975.

79) Krown, S. et al. Preliminary observations of the effect of recombinat leukocyte interferon in homosexual men with Kaposi´s sarcoma. New Engl. J. Med. , 308, 1071-1076, 1983.

80) Kutteh, W. H., Prince, S. J., Philips, J. O., Spenney, J. G. and Mestecky, J. Properties of Immunoglobulin A in serum of individuals with liver diseases and in hepatic bile. Gastroenterology, 82, 184-193, 1982.

81) Labadie, H., Verneau, A., Trinchet, J.C. et Beaugrand, M. L'apport oral de zinc améliore-t-il l'immunité cellulaire des malades atteint de cirrhose alcoolique ? Gastroenterol. Clin. Biol., 10, 799-803, 1986.

82) Labadie, H., Beaugrand, M. Carence de zinc au cours de la cirrhose alcoolique. Press. Med., 15, 1849-1850, 1986.

83) Lang, J. M., Ruscher, H., Bigel, P., Mayer, S. Etudes des sous-populations lymphocytaires T periphériques dans la cirrhose éthylique. Nouv. Pres. Med., 6, 4210, 1977.

84) Lewis, E. J., Roberts, J. L. Is autoimmunity a common denominator in immune complex diseases ?. Lancet1, 178-180, 1980.

85) Lindeman, R. D., Clark, M. L., Calmore, J. P. Influence of age and sex on plasma and red-cell zinc concentration. J. Gerontol., 26, 358-363, 1971.

86) Lipsky, M. A. et al. Treatment of Wilson's disease: In D-penicillamine we trust. What about zinc ?. Hepatology, 7, 593-595, 1987.

87) Luecke, R.W., Simonel, C.E. and Fraker, P.J. The effect of restricted dietary intake on the antibody mediated response of the zinc deficient A/J mouse. J. Nutr., 108, 881-887, 1978.

88) Mahajan, S. K., Abbasi, A. A., Prasad, A. S., et al. Effect of oral zinc therapy on gonadal function in hemodialysis patients. Ann. Intern. Med., 87, 357-361, 1982.

89) McCance, R.A. and Widdonson, E.W. The absorption and excretion of zinc. Biochem. J., 36, 692-696, 1942.

90) MacGregor, R. R. Alcohol and immune defense. JAMA, 256, 1474-1479, 1986.

91) McKeever, U., O'Mahony, C., Whelan, C. A., Weir, D. G. and Feighery, C. Helper and suppressor T lymphocyte function in severe alcoholic liver disease. Clin. Exp. Immunol., 60, 39-48, 1985.

92) Malave, I., Claverie Benureau, S. y Benaim, I. R. Modulation by zinc of the in vitro antibody response to T-dependent and T-independent antigens. Immunol. Commun., 12, 397-406, 1983.

93) Martin Ceinos, E., Arranz Perez, J., Del Pozo Perez, M. A. y Velasco Alonso, R. Aspectos inmunológicos de la enfermedad hepática crónica. Rev. Esp. Enf. Ap. Digest., 65, 319-324, 1984.

94) Mathé, G. et al. From experimental to clinical attemps in inmunorestoration with bestatin and cinc.

Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 9, 241-252, 1986.

95) Milman, N., Hvid-Jacobsen, K., Hegnhoj, J. y Solvsten Sorensen, S. Absorcion de cinc en pacientes con cirrosis alcohólica compensada. Scand. J. Gastroenterol. (ed. Esp.), 2, 39-43, 1984.

96) Mills, P. R., Fell, G. S., Bessent, R. G., Nelson, L. and Rusell, R. I. Zinc status in alcoholic cirrhosis. Gut, 22, A885, 1981.

97) Morimoto, C., Reinherz, E. L., Borel, Y. and Schlossman, S. F. Direct demostration of the human supressor inducer subset by anti-T cell antibody. J. Immunol., 130, 157-161, 1983.

98) Morizane, T., Watanabe, T., Tsuchimoto, K. and Tsuchiya, M. Impaired T-cell function and decreased natural killer activity in patients with liver cirrhosis and their significance in the development of hepatocellular carcinoma. Gastroenterol. Jpn., 15, 226-232, 1980.

99) Monayahan, E.J. and Barnes, P.M. Zinc deficiency and a synthettic diet for lactose intolerance. Lancet1, 676-677, 1973.

100) Moynahan, E.J. Acrodermatitis enteropathica: A letal inherited human zinc deficiency disorder. Lancet 2, 399-400, 1974.

101) Nagel, J. E., Chrest, F. J. and Adler, W. H. Enumeration of T lymphocyte subsets by monoclonal

antibodies in young and aged humans. J. Immunol., 127, 2086-2088, 1981.

102) Nakao, M., Mizoguchi, Y., Monna, T. et al. Studies on an inhibitory factor to phytohemagglutinin-induced lymphocyte transformation found in the serum of patients with various liver diseases. Acta. Hepato-Gastroenterol., 25, 335-343, 1978.

103) Neldner, K.H. and Hambidge, K.M. Zinc therapy of acrodermatitis enteropathica. New Eng. J. Med., 292, 879-882, 1975.

104) Oleske, J.M., Bogden J.D., Garcia, R. et al. Plasma zinc and copper in primary and secondary immunodeficiency disorders. Biol. Trace Elem. Res., 5, 189-194, 1983.

105) Olsson, R. Oral zinc treatment in primary biliary cirrhosis. Acta. Med. Scand., 212, 191-192, 1982.

106) Ortiz Manchado, O., Bustamante Bustamante, J., Martin Mateo, M.C. y Saz, J.M. Suplemento oral de cinc y respuesta immunitaria en hemodiálisis. Anales de la Academia de Medicina y Cirugia de Valladolid., 21, 393-397, 1983.

107) Ortuño J. A., Garrido, G., Cubillo, P. y cols. Déficit de cinc y gravedad de la cirrosis hepática. Med. Clin., 89, 99-103, 1987.

108) Pan Bo Rong, Kalsi, J. and Hodgson H. J. F. Hyperglobulinaemia in chronic liver disease: relationships between in vitro immunoglobulin

synthesis, short lived suppressor cell activity and serum immunoglobulin levels. Clin. Exp. Immunol., 55, 546-552, 1984.

109) Pape, G. R., Rieber, E. P., Eisenburg, J. et al. Involvement of the cytotoxic-suppressor T-cell subset in liver tissue injury of patients with acute and chronic liver diseases. Gastroenterology, 85, 657-662, 1983.

110) Parker, C.W. Inmune recognition, New York, Academic Press, 331-337, 1975

111) Pecoud, B., Donzel, P. and Schilling, J.L. Effect of foodstuffs on the absorption of zinc sulphate. Clin. Pharmacol. Therap., 17, 469-474, 1975.

112) Pekarek, R.S., Sandstead H.H., Jacob, R.A. and Barcome, D.F. Abnormal cellular immune response during acquired zinc deficiency. Amer. J. Clin. Nutr., 32, 1466-1471, 1979.

113) Pelleter, G., Segond, P., Attali, P. et al. T-lymphocyte subpopulations in alcoholic liver disease. Gastroenterol. Clin. Biol., 8, 911-914, 1984.

114) Perez-Cerezal Moreno, M., Aznar Martin, A., De la Vega Vazquez, J. M., Holgado Silva, C. y Aznar Reig, A. Estado de nutrición e inmunidad celular en las cirrosis hepáticas. Press. Med. (ed. esp.), 3, 387-391, 1984

115) Pidduck, B.S.U. and Wren, M.D. Plasma zinc and copper in diabetes mellitus. Diabetes, 19, 235. 1970.

116) Pirrone, S., Tosato, F., Rossi, P. et al. T-cell subsets in peripheral blood and ascitic fluid of patients with alcoholic liver cirrhosis . Lancet 2, 518, 1983.

117) Pons Romero, F., Rodriguez de Lope, C., Sacristán, M. V., De las Heras, G., San Miguel Joglar, C. Linfocitos T en la hepatopatia alcohólica. Influencia de factores séricos. Gastroenterol. Hepatol. , 4, 280-284, 1981.

118) Prasad, A. S. The role of zic in gastrointestinal and liver disease. Clin. Gastroenterol., 12, 713-741, 1983.

119) Pugh, R. N. H., Murray-Lyon, I. M., Dawson, J. L., Pietroni, M. C. and Williams, R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. Brit. J. Surg., 60, 646-648, 1973.

120) Reding, P., Duchateau, J. and Bataille, C. Oral zinc supplementation improves hepatic encephalopathy. Lancet 2, 493-494, 1984.

121) Reinherz, E.L., Kung, P. C., Goldstein, G. and Schlossman, S. F. Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. Proc. Natl. Acad. Sci., 76, 4061-4065, 1979.

122) Reinherz, E. L. et al. Human t lymphocyte subpopulations defined by Fc receptors and monoclonal antibodies. J. Exp. Me..., 151, 969-974, 1980.

123) Reinherz, E. L., Kung, P. C., Breard, J.M., Goldstein, G. and Schlossman, S. F. T cell requirements for generation of helper factor(s) in man: analysis of the subsets involved. J. Immunol., 124, 1883-1887, 1980.

124) Reinherz, E. L. and Schlossman, S. F. The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell., 19, 821-827, 1980.

125) Riordan, J.F. Biochemistry of Zinc. Med. Clin. North. Am., 60, 661-674, 1976.

126) Rodriguez, M. A., Montano, J. D. and Williams, R. C. Immunoglobulin production by peripheral blood mononuclear cells in patients with alcoholic liver disease. Clin. Exp. Immunol., 55, 369-376, 1984.

127) Scholmerich, J., Becher, M. S., Kottgen, E. et al. The influence of portosystemic shunting on zinc and vitamin A metabolism in liver cirrhosis. Hepato-Gastroenterol., 30, 143-147, 1983.

128) Simkin, P.A. Oral zinc sulphate in reumathoid arthritis. Lancet 2, 539-542, 1976.

129) Solís Herruzo, J. A., Montalban Pallarés M. A., Muñoz Yagüe, M. T., Castellano Tortajada, G. y Morillas Sainz, J. D. Linfocitos circulantes en la cirrosis hepática. Gastroenterol. Hepatol., 5, 183-194, 1982.

130) Solís Herruzo, J.A., Castellano Tortajada, G., Morillas Sainz, J.D. y cols. Cinc sérico en los

pacientes con cirrosis hepática. Gastroenterol. Hepatol., 7, 353-361, 1984.

131) Solís Herruzo, J. A., Castellano Tortajada, G., Morillas Sainz, J. D., Montalbán Pallarés, M. A. y Muñoz Yagüe, M. T. Efecto de los suplementos orales de cinc sobre los linfocitos circulantes en la cirrosis hepática. Gastroenterol. Hepatol. 7, 123-130, 1984.

132) Smith, R. W. et al. An antigenic marker for human thymic lymphocytes. J. Immunol., 110, 884-887, 1973.

133) Smith, W. I. Jr., Van Thiel, D. H., Whiteside, T. et al. Altered immunity in male patients with alcoholic liver disease: Evidence for defective immune regulation. Alcohol. Clin Exp. Res., 4, 199-206, 1980.

134) Spinozzi, F., Gernini, I., Gerli, R. et al. Suppressor cell function in chronic liver disease . Lancet 2, 343, 1983.

135) Spinozzi, F., Gerli, R. and Rambotti, P. Alcohol and immunedefense . JAMA, 257, 316, 1987.

136) Stites, D. P., Stobo, J. D., Fudenberg, H. H. y Wells, J. V. Inmunologia Básica y Clínica, 5ª ed., México D. F., El Manual Moderno, 1985.

137) Tapazoglou, E., Prasad, A. S., Hill, G. et al. Decreased natural killer cell activity in patients with zinc deficiency with sickle cell disease. J. Lab. Clin. Med., 105, 19-22, 1985.

138) Teppo, A. M. and Maury, C. P. J. Serum prealbumin, transferrin and immunoglobulins in fatty liver, alcoholic cirrhosis and primary biliary cirrhosis. Clin. Chim. Acta, 129, 279-286, 1983.

139) Thomas, H. C., Freni, M., Sanchez-Tapias, J. et al. Peripheral blood lymphocyte populations in chronic liver disease. Clin. Exp. Immunol., 26, 222-227, 1976.

140) Thomas, H. C., Jewell, D. P. Alcoholic and drug-induced liver disease. In Clin. Gastroenterol. Immunol., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 241-255, 1979.

141) Thomas, H. C. T cell subsets in patients with acute and chronic HBV infection, primary biliary cirrhosis and alcohol induced liver disease. Int. J. Immunopharm., 3, 301-305, 1981.

142) Timonen, T., Ortaldo, J. R., and Hebermann, R.B. Characteristic of human large granular lymphocytes and relationship to natural killer and K cells. J. Exp. Med., 153, 569-574, 1981.

143) Tomino, S., Fujiwara, H., Kagimoto, T. et al. Decreased suppressor T cell activity in patients with hepatic cirrhosis (HC). Clin. Exp. Immunol., 48, 625-632, 1982.

144) Triger, D. R., Wright, R. Hyperglobulinaemia in liver disease. Lancet 1, 1494-1497, 1973.

145) Uribarrena, R., Maortua, M., Diaz de Rada, E. y cols. Subpoblaciones linfocitarias en pacientes con etilismo crónico. Rev. Clin. Esp., 156, 431-434, 1980.

146) Valberg, L. S., Flanagan, P. R., Ghent, C. N. and Chamberlain, M. J. Defect in zinc absorption in alcoholic cirrhosis. Gastroenterology, 83, 1264-1270, 1982.

147) Vallee, B. L., Wacker, W. E. C., Bartholomay, A. F. and Robin, E. D. Zinc metabolism in hepatic disfunction, I. New England J. Med., 255, 403-407, 1956.

148) Vallee, B. L., Wacker, W. E. C., Bartholomay, A. F. and Hoch, F. L. Zinc metabolism in hepatic disfunction. Ann. Intern. Med., 50, 1077-1091, 1959.

149) Viella, R. Aplicaciones clínicas de los anticuerpos monoclonales. Med. Clin., 80,509-511, 1983.

150) Wazewska-Czyzewska, E., Wesierska-Gadeska, J. and Legutko, L. Immuno-stimulatory effect of zinc in patients with acute lymphoblastic leukemia. Folia Haematol., 105, 727-732, 1978.

151) Webb, L. H. , Ross, M., Markham, R. L. et al. Immune function in patients with extrahepatic portal venous obstruction and the effect of splenectomy. Gastroenterology, 79, 99-103, 1980.

152) Wegener, M., Neuhausen, P., Börsch, G. und Ricken, D. Bedeutung der serumimmunglobuline für die

diagnose alkohol-induzierter lebererkrankungen. Dtsch. Med. Wschr., 111, 1716-1720, 1986.

153) Weismann, K., Christensen, E. and Dreyer, V. Zinc supplementation in alcoholic cirrhosis. Acta Med. Scand., 205, 361-366, 1979.

154) Weissman, K., Hoyer, H. and Christensen, E. Acquired zinc deficiency in alcoholic liver cirrhosis: Report of two cases. Acta Derm.Veneorol., 60, 447-449, 1980.

155) Wilkins, J. A., Jordan, Y., Rutherford, W. J. and Warrington, R. J. T cell factor-mediated suppression of immunoglobulin secretion by a human B lymphoblastoid cell line. J. Immunol., 131, 298-302, 1983.

156) Wilson, I. D., Onstad, G. and Williams, R. C. Serum immunoglobulin concentration in patients with alcoholic liver disease. Gastroenterology, 57, 59-67, 1969.

157) Winchurch, R. A., Togo, J. and Adler, W. H. Supplemental zinc restores antibody formation in cultures of aged spleen cells. II. Effects on mediator production. Eur. J. Immunol., 17, 127-132, 1987.

158) Young, G. P., Dudley, F. J. and Van der Weyden. Suppressive effect of alcoholic liver disease sera on lymphocyte transformation. Gut, 20, 833-839, 1979.

159) Zanzonico, P., Fernandes, G. and Good, A. The differential sensitivity of T cell and B cell

mitogenesis to in vitro zinc deficiency. Cell. Immunol., 60, 203-211, 1981.

160) Zetterman, R. K., Leevy, C. M. Immunologic reactivity and alcoholic liver disease. Bull. N. Y. Acad. Med., 51, 533-544, 1975

161) Zetterman, R. K., Luisada-Opper, A., Leevy, C. M. Cell mediated immunologic response to alcoholic hyalin. Gastroenterology, 70, 382-384, 1976

162) Zetterman, R. K. and Sorrel, M. F. Immunologic aspects of alcoholic liver disease. Gastroenterology, 81, 616-624, 1981.