

76
28j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"**

**INMUNDESTIMULACION INESPECIFICA EN
ANIMALES DOMESTICOS
(REVISION BIBLIOGRAFICA)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
RAFAEL SANCHEZ LOPEZ

Director de Tesis: M.V.Z. Jorge Luis Rico Pérez

Cuautitlán Iscalli, Edo. de Méx. 1988

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

	Pag.
INTRODUCCION y OBJETIVOS.....	1.
ANTECEDENTES.....	4.
SUSTANCIAS BIOLÓGICAS.....	14.
SUSTANCIAS BACTERIANAS.....	15.
SUSTANCIAS VIRALES.....	43.
SUSTANCIAS MINERALES.....	54.
OTRAS.....	61.
SUSTANCIAS QUÍMICAS.....	72.
SUSTANCIAS SINTÉTICAS.....	87.
OTROS.....	96.
CONCLUSIONES.....	108.
BIBLIOGRAFIA.....	110.

RESUMEN

Debido a la gran resistencia que los diferentes microorganismos han adquirido contra las terapias y los métodos de profilaxia comúnmente usados, se hace necesario establecer otros medios para combatirlos. Uno de estos caminos es la inmunestimulación inespecífica.

El presente trabajo trata de una manera sencilla de establecer las bases generales de la inmunestimulación inespecífica, así como de clasificar los principales productos investigados a la vez de dar una idea general de cada uno de ellos y de los trabajos de investigación que se han realizado hasta la actualidad. Por otra parte también se introducen a la consideración algunas técnicas, que aunque ancestrales es apenas en los últimos tiempos en donde han despertado un creciente interés dentro de nuestra sociedad científica y que poseen aspectos de inmunestimulación inespecífica.

Para esto se recopiló, analizó, clasificó y sistematizó, la información más relevante de las diferentes fuentes existentes. Encontrándose que aún existe un gran vacío en la investigación de la mayoría de éstos productos, por lo cual se hace necesario profundizar en el estudio y aplicaciones de los mismos.

MATERIAL Y METODOS.

El presente trabajo presenta una revisión, clasificación y sistematización de las diversas investigaciones realizadas sobre la inmunestimulación inespecífica en los animales domésticos. Para llevar a cabo esto, se hizo necesario consultar las revistas, abstracts y libros de los países en los que se han desarrollado estos trabajos, para lo cual se acudió a las diferentes hemerotecas y bibliotecas de la Ciudad de México y sus alrededores, en donde destacan la biblioteca y hemeroteca de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Ciudad Universitaria, la biblioteca y hemeroteca de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, la hemeroteca del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, la hemeroteca de la Universidad Autónoma de Chapingo, la hemeroteca del Centro de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, la hemeroteca y biblioteca de la Organización Panamericana de la Salud, así como las diversas bibliotecas y hemerotecas de la Secretaría de Salud, del Departamento del Distrito Federal y de las diferentes Embajadas acreditadas en la Ciudad de México.

Por otra parte se utilizaron los sistemas computacionales del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y de la Organización Panamericana de la Salud. Así como también se pidió información en los principales Laboratorios de la Ciudad de México como por ejemplo

Bayer, Ciba-Geigy, la Gerencia General de Biológicos y Reactivos de la Secretaría de Salud, Abbott, Tornei, Chinoín, Syntex, Pfizer, entre otros. También se solicitó información a Instituciones o Asociaciones tal como la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, al Consejo Nacional Mexicano de Homeopatía, y a la Asociación Nacional de Acupunturistas.

La información obtenida fue analizada, clasificada y sistematizada para ser vertida en el presente trabajo.

INTRODUCCION Y OBJETIVOS.

Los científicos que estudian la inmunología y la biología de la respuesta inmunitaria han estado interesados en como éstas respuestas podrían ser modificadas (Stites, *et al.*, 1982). Es por esto que se ha mantenido una investigación constante, que si bien, nos ha aportado muchos conocimientos, podría decirse que todavía se encuentra en sus inicios. Hoy en día, conocemos muchas sustancias que poseen algún efecto sobre el sistema inmunológico, y poco a poco se les ha ido investigando para conocer a la perfección los mecanismos que las rigen. Un grupo de estos productos que se encuentran en este proceso de investigación son los compuestos denominados inmunoestimulantes inespecíficos.

Los inmunoestimulantes inespecíficos ya se utilizan en la Medicina Humana con fines curativos, y por la importancia que pueden llegar a tener en la profilaxia y en la terapia de muchas enfermedades en la Medicina Veterinaria actualmente se están realizando investigaciones en diversas partes del mundo, con la finalidad de establecer las condiciones mediante las que su utilización pueda convertirse en una práctica común dentro de la producción animal (Stites *et al.*, 1982), (Chedid *et al.*, 1980), (Theilen *et al.*, 1983), (Thumann., 1980), (Sagorzewska *et al.*, 1985), (Tannaka *et al.*, 1980).

En los últimos años se han realizado diversas investigaciones para estudiar el efecto de una gran diversidad de sustancias que se asume estimulan a el sistema inmunológico. Por esto y ya que al parecer tales productos en su conjunto ofrecen una alternativa profiláctica y terapéutica en la Medicina Veterinaria se decidió efectuar una recopilación de la información más relevante y actualizada en el ámbito de la búsqueda de las sustancias inmunoestimulantes, el objetivo que ello persigue es el de sentar las bases para poder realizar una sistematización de la información hasta ahora dispersa, y por otra parte servir como apoyo para consulta en futuros trabajos de investigación.

ANTECEDENTES

Sabemos que existen sustancias que poseen marcado efecto sobre el sistema inmunológico, de tal manera que al usar un compuesto efectivo en el tratamiento de un desorden o enfermedad podemos alterar las funciones inmunes (Koller *et al.*, 1982) a estas sustancias las conocemos genéricamente con el nombre de inmunomoduladores. La inmunomodulación la podríamos definir como la regulación global de las respuestas inmunitarias (Bellanti., 1984). Dentro de esta regulación se incluye el término que en 1920 Mongenroth, Biberstein y Schtzer establecen para designar a la disminución artificial o natural de la expresión de la respuesta inmune, la inmunosupresión (o inmunodepresión), asimismo se incluye el término inmunopotenciación (también llamada inmunostimulación o paramunización) que es el incremento de la capacidad inmunitaria.

La inmunostimulación puede ser de dos tipos:

La específica, que se refiere al aumento de la respuesta de un grupo limitado de anticuerpos, y que es dirigida contra un antígeno en particular, y la inespecífica, que es el aumento de la respuesta humoral y celular, sin que implique una respuesta inmune dirigida contra algún antígeno en particular (Mayr., 1982).

Pfeiffer e Isaef nos introducen en el concepto de "resistencia inespecífica" (Mayr., 1982) lo cual nos indujo a una época de búsqueda de medios para estimular las defensas contra agentes no específicos, de esta forma, hoy en día el concepto de estimulación

inespecífica se aplica a todas las respuestas inmunitarias mientras dura la acción del producto utilizado (al que se le denomina inmuoestimulante inespecífico) (Sach., 1982). La eficacia de estos productos en la estimulación del sistema inmunológico se ha ensayado empíricamente, por lo cual su uso no se encuentra bien definido, así como sus dosis, mecanismos de acción, etc. por lo que aún nos sorprenden muchos de los resultados obtenidos en las investigaciones; sin embargo, se han podido definir una serie de sustancias con efectos de inmuoestimulación inespecífica, los que para su estudio se han clasificado de diferentes formas:

Por su fuente de extracción estos inmuoestimulantes inespecíficos los dividimos según Mayr (1982) en:

- 1.-Componentes sanguíneos.
- 2.-Extractos orgánicos
- 3.-Extractos vegetales.
- 4.-Extractos bacterianos e hidrolizados bacterianos (especialmente preparados de componentes de la pared celular).
- 5.-Extractos de hongos y toxinas.
- 6.-Sustancias hormonales.
- 7.-Venenos y contravenenos animales.

El mismo Mayr (1982) también divide a los inmuoestimulantes inespecíficos desde el punto de vista de su composición química:

- 1.-Hidratos de carbono.
- 2.-Lípidos y preparados lipídicos.
- 3.-Proteínas y productos proteínicos
- 4.-Substancias inorgánicas.
- 5.-Soluciones hipertónicas, isotónicas e hipotónicas.
- 6.-Preparaciones de Acidos Nucleicos.

Theilen y Hillis (1992) nos proponen otra forma de clasificación, en la cual las substancias quedan englobadas según su origen en tres categorías:

- 1.-Substancias biológicas.
- 2.-Substancias químicas.
- 3.-Substancias sintéticas.

Por su funcionalidad esta última clasificación es la mas cómoda en su utilización, sin embargo, para poder clasificar algunas otras formas de inmunestimulación inespecífica se le agregará un cuarto renglón denominado "otras formas de inmunestimulación inespecífica" en el cual se les englobara.

Cabe subrayar aquí un punto importante como lo es que los diferentes autores aquí citados no realizan una diferenciación entre los mecanismos de resistencia (entre los que encontramos las barreras anatómicas, la fagocitosis celular fundamental, la digestión por fagocitos y los mecanismos efectores -como el interferón entre otros-, todos los cuales son modificados por el estado nutricional, hormonal y la con-

formación genética) (Stites, *et al*, 1985) y los mecanismos inmunológicos (reacciones antígeno-anticuerpo, efectos de memoria, entre otros) sin embargo, para establecer cuales son los mecanismos inmunológicos, se debe tomar en cuenta que para que exista una respuesta inmune hay que satisfacer cuatro fundamentos (Flores C., comunicación personal):

- 1.-Son ocasionados por un estímulo antigénico.
- 2.-Son respuestas específicas respecto al antígeno que causo el estímulo.
- 3.-Tienen memoria.
- 4.-Son transferibles.

Los inmunestimulantes inespecíficos al parecer logran el aumento de la respuesta inmunitaria mediante una serie de mecanismos que recientemente se han empezado a investigar y de los cuales aun no se tiene la completa certeza de que sean los verdaderos o los únicos; los mas conocidos son los que cita Mayr (1982) en donde destacan:

- Prolongación en el tiempo de desintegración de un antígeno.
- Atracción-activación de células inmunocompetentes.
- Proliferación y diferenciación de células inmunocompetentes. (Mayr., 1982), (Theilen., 1983).
- Modulación de las vías metabólicas generales de las células inmunocompetentes (Theilen *et al* 1982).

Los inmunostimulantes pueden ser administrados por diferentes vías v.gr. locales (preferentemente orales, nasales, y sobre la membrana mucosa del tracto urogenital), como también en forma parenteral. Para la inmunostimulación inespecífica se distinguen dos procedimientos esenciales:

- 1.-La estimulación general por medio de agentes no específicos que aumentan simultáneamente el porcentaje y/o la actividad de células, responsables del mecanismo de defensa, por ejemplo: la estimulación de la fagocitosis, de la síntesis de interferón, de la proliferación de linfocitos T, o bien por el aumento de los mecanismos de la síntesis celular, sustancias solubles como linfocinas y el sistema de complemento, y los medios celulares espontáneos de citotoxicidad (Inductores del tipo I, inductores multipotentes) (Mayr., 1982).
- 2.-La estimulación sobre una actividad en particular, por ejemplo: inducción del interferón, activación de la fagocitosis, estimulación antigénica preferentemente de los linfocitos B o T. Activación de los factores de defensa humorales (Inductores tipo II, inductores unipotentes) (Mayr., 1982).

Lo esencial del inductor multipotente (tipo I) es que actúa a nivel de todas las poblaciones celulares y los mediadores, o bien, la gran mayoría estimulan a las células de memoria responsables de la formación de anticuerpos. El empleo de estos es inofensivo y es

más eficaz cuando hay un defecto o disminución en la función de la malla inmunológica. Este inductor activa a los linfocitos T cooperadores y T supresores, la diferenciación de células N (Null) y células K (Killer) y la eficiencia de la linfocina, por lo cual toma gran importancia en la regulación y estimulación en el sistema de defensa (Mayr., 1982). Actualmente conocemos diversos inductores del tipo I:

- a) Vacunas con efecto inespecífico. Ejem. vacuna vs Pockenvirus, Parainfluenza III, e infecciones Herpes, Brucela y enfermedades limitadas mediante Mycobacterias y Corynebacterias (Mayr., 1982)
- b) Combinaciones de preparados biológicos (de los componentes bacterianos) Ejem. extractos e hidrolizados de bacterias y virus con actividad inductora del interferón como lo son el Bacilo Calmette-Guérin, los Reovirus, Newcastle, Parainfluenza III, y diferentes extractos vegetales (Mayr., 1982), (Morisse., 1984).
- c) Inductores realizados a partir de diferentes Pockenvirus como el Duphamin (Mayr., 1982), (Meyer., 1981).
- d) Linfocinas multipotentes producidas mediante la estimulación inespecífica en un cultivo de tejido linforreticular (Mayr., 1982).
- e) Inductores químicos como el Levamisol. (Mayr., 1982), (Anderson., 1984), (Symcoens., 1980).

El inductor unipotente (tipo II) se activa sólo particularmente contra factores de defensa del sistema celular o del sistema humoral. En la práctica de la Medicina Humana y de la Medicina Veterinaria

esta cobrando cada vez mas importancia el uso de los inductores de este tipo, los más conocidos son:

- a) Substancias biológicas y químicas diversas que favorecen la estimulación de la actividad fagocítica, como las endotoxinas bacterianas (Mayr., 1982), (Bach., 1982), (Theilen., 1983).
- b) Substancias biológicas y químicas inductoras de interferón, como por ejemplo los virus, los polirribonucleótidos, polianiones sintéticos, etc. (Mayr., 1982), (Theilen., 1983), (Gainer., 1982).
- c) Diferentes adyuvantes con efecto especial sobre el mecanismo de defensa humoral o celular (Mayr., 1982) (como el Adyuvante Completo de Freund).
- d) Antígenos no específicos, mediadores solubles que favorecen a los linfocitos. Ejem. Linfocinas específicas. (Mayr., 1982).
- e) Estimuladores de linfocitos especiales, como lo son los mitógenos vegetales (Mayr., 1982), (Tannaka., et al. 1980).
- f) Hormonas tímicas como la timosina, timopoyetina, etc. (Mayr., 1982) (Theilen., et al. 1982).
- g) Factores activadores del sistema de complemento. (Mayr., 1982), (Theilen., et al. 1982) (como el *C. parvum* y otros microorganismos).
- h) Químicos determinados. (Mayr., 1982) (como la propenadienamina).

Es necesario destacar aquí que tanto el inductor tipo I como el inductor tipo II involucran de alguna manera a dos mecanismos importantes para realizar sus funciones.

Por esto se piensa importante establecer el comportamiento básico

de éstos mecanismos para entender su efecto inmunestimulante.

El interferón, producto descubierto en 1957 por Isaacs y Lindermann (Stites., et al., 1983) es una glicoproteína específica de especie con un peso molecular entre 20 mil y 100 mil Daltons lo destruyen las enzimas proteolíticas y es estable a los cambios extremos de pH (Bayer., 1985). La capacidad de producir interferón en los animales de sangre caliente como una posibilidad de mecanismo individual de defensa es básica para el mecanismo de defensa inespecífico, ya que además de su actividad antiviral y antiproliferativa también estimula otros mecanismos como la fagocitosis, el sistema de complemento, el tejido conjuntivo linforeticular, las células Killer y las prostaglandinas. El interferón se forma en las células animales, sin embargo esta producción no es continua, sino que debe ser inducida por sustancias que llamaremos inductores del interferón. (Bayer., 1985). La inducción del interferón se sabe que se produce en las infecciones naturales ya sea con virus (tanto virus DNA como virus RNA) como con otros microorganismos como las bacterias, las rickettsias, y los protozoos. También lo inducen algunas vacunas y otras sustancias como los extractos de ácidos nucleicos microbianos y algunas sustancias sintéticas (Mayr., 1982).

Existen dos formas de inducir la producción de interferón (interferonización), la interferonización pasiva, en la que se aplica un interferón exógeno (en un donador se produce interferón y luego éste se aplica al paciente). Y una interferonización activa, la que se pro-

duce como resultado de una infección crónica, o por uso de inductores del interferón como un tratamiento. (Mayr., 1982). Según Mayr (1982), algunas de las principales propiedades del interferón son:

- Inhibe factores específicos en un amplio espectro viral.
- Su síntesis y acción toma lugar en pocas horas, lo que hace posible contrarrestar infecciones locales e impide que éstas se generalicen.
- Su presencia en las secreciones mucosas, sangre y orina se detecta por varios días.

Por lo anterior podemos darnos cuenta de que la inducción del interferón como una forma de inmunestimulación puede llegar a ser una de las bases importantes en la profilaxis y en la terapia de diversas enfermedades.

Otro de los mecanismos de acción importantes en que se basan los inductores tipo I y II involucra al sistema de complemento, estos inductores son eficaces como inmunoreguladores de la función de dicho sistema, ya que lo activan y ello trae como resultado el poder pensar en un nuevo e interesante punto de vista en el desarrollo de nuevos medicamentos, ya que el sistema de complemento no son solo numerosos fenómenos inmunológicos independientes, sino que se toma como un mecanismo de defensa. Por ejemplo, el sistema de complemento es un mediador y reforzador de la fagocitosis (Stites., et al, 1983), mientras es quimiotáctico puede atraer granulocitos y así aumenta la

reacción de reconocimiento. (Stites., et al, 1983), (Mayr., 1982). Esto se logra porque tanto los macrófagos como los granulocitos poseen receptores para el complemento. Una activación del sistema de complemento aumenta la producción de defensas del organismo. Por ejemplo, la fracción C1 del complemento sirve para la reacción de reconocimiento y las fracciones C1r y C1s son los responsables de la reacción efectora de los granulocitos, por lo tanto, al inducir el sistema de complemento se aumentarán éstas acciones (Stites., et al, 1985), (Mayr., 1982), (Theilén., 1983).

Entre los inmunestimulantes inespecíficos, se encuentran muchos que han sido y son utilizados como "coadyuvantes" (se entiende generalmente por coadyuvante a las sustancias que se aplican con un antígeno para potencializar la respuesta inmunológica de modo que se produzca una mayor cantidad de anticuerpo utilizando una menor cantidad de antígeno (Organización Mundial de la Salud (O.M.S.), 1980). Se ha encontrado sin embargo que en algunos casos dichos coadyuvantes al aplicarlos solos han demostrado estimular la actividad de las defensas del organismo (estimulación inespecífica), por lo tanto hablaremos de las propiedades de una sustancia tanto al ser utilizada como coadyuvante como al aplicarla para lograr una estimulación inespecífica.

El efecto de las sustancias inmunestimulantes, de alguna mane-

ra, consiste en una "sensibilización" del sistema inmunocompetente para hacerlo más eficiente en el momento de requerir actuar frente a diversos gérmenes patógenos. Este "entrenamiento" es necesario en nuestro ambiente, ya que la vacunación y la quimioterapia están dirigidas generalmente contra enfermedades específicas pero generalmente por todas partes se encuentran gérmenes patógenos y gérmenes oportunistas que ya son resistentes a la terapia clásica, a los desinfectantes y a los medios de desinfección (Mayr., 1982), por lo que se hace necesario recurrir a nuevas opciones de protección contra la agresión de los agentes causantes de enfermedad en los animales; por ejemplo, parece ser, que el uso de inmunostimulantes no específicos nos abre una posibilidad como medio para el tratamiento o para la profilaxia frente a agentes patógenos bacterianos, virales, etc. lo cual sería de suma importancia en la Medicina Veterinaria, ya que diversos problemas que existen se podrían solucionar o por lo menos atenuar con el uso de estos inmunostimulantes inespecíficos.

SUBSTANCIAS BIOLÓGICAS

A continuación, se procede a exponer los aspectos más relevantes de los inmunestimulantes más estudiados hasta la fecha:

I.-Substancias biológicas.

Las sustancias biológicas, las podemos clasificar de acuerdo a su procedencia según Mayr (1982) en:

- a)Substancias bacterianas.
- b)Substancias virales.
- c)Otras sustancias biológicas.

A.- SUBSTANCIAS BACTERIANAS.

Las sustancias bacterianas son en las que los investigadores han trabajado más, tal vez por el conocimiento tan grande que de las bacterias se tiene. Los principales usos de estas sustancias son como:

- a)Extractos e hidrolizados, principalmente de la pared celular, endotoxinas y bacterias completas (Mayr.,1982).
- b)Mezclas con otras sustancias (Mayr.,1982) como el Adyuvante Completo de Freund.

El hecho de que un organismo pueda adquirir protección contra una diversidad de agentes patógenos cuando se le ha administrado inespecíficamente algún tipo de microorganismo o fracción de este, es fascinante y por lo mismo ello abre la posibilidad de profundizar en el estudio respectivo, si bien en gran cantidad de casos no se conocen las causas de que este efecto ocurra, se tiene ya conocimiento de aspectos generales de los posibles mecanismos de acción, Mayr (1982) nos indica algunos:

- 1.-Competencia entre los germen administrados y los productores de las enfermedades.
- 2.-Interferencia heterogénea de bacterias.
- 3.-Aumento de la fagocitosis.
- 4.-Inducción de la formación de interferón.
- 5.-Activación de los sistemas linfocitarios.
- 6.-Estimulación de factores humorales (Ej. Mediadores solubles, factores oncolíticos, seroinhibidores, inmunoglobulinas, agentes sinérgico-retardadores y antígenos de efectos recíprocos de infecciones mixtas.

Dentro de las bacterias que se han utilizado ya sea enteras en forma de extractos o hidrolizados o usando sus endotoxinas para la producción de inmunestimulación inespecífica tenemos a: Corynebacterium, Bordetella, Brucella, y Mycobacterium entre otros, los cuales han demostrado ser a su vez fuertes adyuvantes e inmunostimulantes mayores. (Bach., 1982).

Propionibacterium.

(Corynebacterium)

En base a sus características, los llamados Corinebacteriums, han sido reclasificados como Propionibacteriums (O.M.S.,1980). Pero por costumbre, la mayoría de los autores citados les sigue llamando Corinebacteriums.

Estos bacilos Gram positivos, no poseen esporas, flagelos o cápsula. Sus dimensiones varían de 2 a 4 micras de longitud y entre 0.5 a una micra de diámetro. Se agrupan en empalizada y tienen los extremos abultados en forma de maza (Davis., et al. 1980).

Diversas cepas han mostrado una extraordinaria capacidad de estimulación del tejido linforreticular. Varios de estos microorganismos, en particular el Corynebacterium parvum, y el Corynebacterium rubrum son potentes adyuvantes. En contraste el Corynebacterium diphtheriae es inactivo. Las corinebacterias son especialmente útiles como adyuvantes en la producción de anticuerpos, aunque su acción sobre la reacción de hipersensibilidad retardada es menos obvia. Sin embargo, estos microorganismos aumentan la resistencia a las infecciones bacterianas y principalmente la resistencia a tumores (O.M.S. 1982), (Stites., et al. 1983).

Segun informes de la Organización Mundial de la Salud (1980), estas bacterias se pueden emplear como adyuvante de las tres maneras siguientes:

- 1.- Pueden agregarse a la emulsión de agua en aceite mineral.

2.-La inyección intravenosa de una gran dosis (por ejemplo.350 microgramos de bacterias en peso seco) en solución salina (suero fisiológico).

3.-Inyección en dosis bajas de las bacterias (Ejem. 5 microgramos) en combinación con células tumorales irradiadas o en la vecindad de una neoplasia en crecimiento.

De las diferentes corinebacterias, el Corynebacterium parvum es el que mayor importancia ha tenido como inmunestimulante.

Corynebacterium parvum

Este organismo puede utilizarse de dos formas: vivo o muerto. El Corynebacterium parvum vivo, inyectado por vía intravenosa, provoca hiperplasia linfoide generalizada y estimula el sistema reticulohistiocitario ((O.M.S.,1982), (Chedid.,1980). Esta última actividad podría explicar la actividad adyuvante aún cuando no exista correlación absoluta entre la intensidad de estimulación del sistema reticulohistiocitario y el efecto adyuvante de diferentes cepas de esta corinebacteria (Bach., 1982). Las células T no son necesarias para la acción del adyuvante, puesto que dicha acción puede desarrollarse faltando dichas células (Stites., et al.1983). Por otra parte, el uso de éste mi-

croorganismo puede estimular la producción de anticuerpos contra antígenos timo-dependientes (O.M.S.,1980). Incluso, cuando se inyectan por vía intravenosa en dosis altas, inhiben algunas funciones de las células T, tales como la respuesta a la fitohemoaglutinina o la reacción linfocitaria mixta, pero en este caso, quizá lo hacen también por intermedio de una acción sobre los macrófagos (Bach.,1982).

La solución de Corynebacterium parvum muerto, es capaz de potenciar una serie de actividades de los macrófagos del sistema reticuloendotelial y de los linfocitos. Chedid (1980) propone dos formas en las que el C. parvum puede activar a los macrófagos: en la primera, la mureína (que es un glicopéptido de la pared celular y es estable a tratamientos con formalina y calor) (Stites., et al.1983) toma parte importante y que se produce por contacto directo entre el C. rylenebacterium parvum y la pared celular del macrófago. Se sabe que las preparaciones de pared celular del Corynebacterium parvum contienen diversos péptidoglicanos y carbohidratos que son necesarios para la activación de los macrófagos (esto se logra mediante los receptores de membrana que poseen los macrófagos para estas sustancias) (Stites., et al.1983) sin embargo, el mecanismo de esta activación no es perfectamente conocido. La otra teoría que expresa Chedid (1980) es la que plantea que el Corynebacterium parvum es capaz de activar el sistema de complemento por la vía alterna. Además, se cree que este microorganismo separa la fracción C3 en dos fragmentos, uno corto (C3a) y otro largo (C3b) siendo este último capaz de activar a los macrófagos directamente al mismo tiempo, estos macrófagos activados son capa-

ces de producir la subfracción C3b (Stites., et al. 1983) por lo cual se establece una cadena cíclica, y además estos macrófagos producen proteasas que son capaces de dividir a la fracción C3 en las mismas subfracciones C3a y C3b asegurando por otro lado el establecimiento de la cadena cíclica. Estos macrófagos activados, poseen actividad citotóxica y citoestática para diversos gérmenes (Chedid., 1980), (Theilen., et al. 1982). El mecanismo de la actividad citoestática es aún desconocido, aunque se plantea que el macrófago secreta un factor soluble que produce esta actividad (Theilen., et al. 1982), (Stites., et al. 1983). Por lo que respecta a la actividad citotóxica, Chedid (1980) plantea que al ser activados los macrófagos por medio de la subfracción C3b del sistema de complemento, estos producen la secreción de sustancias citotóxicas. Como por ejemplo la destrucción de células blanco mediante la exocitosis de enzimas lisosómicas.

El Corynebacterium parvum puede estimular la inmunidad específica de células T en tumores, mediante la reacción cruzada de determinantes antigénicos entre el Corynebacterium y el tumor (Chedid., 1980) (Theilen., et al. 1982) no es citotóxico para las células *in vitro*, aunque en tratamientos ha aumentado la producción de células K y células T supresoras (Theilen., et al. 1982). Sorprendentemente, la inyección intravenosa de Corynebacterium parvum produce un decremento de la actividad de las células NK (Natural Killer) durante los primeros tres días después de la administración del microorganismo. Para explicar

esto debemos referir que se cree que el medio de que se vale el Corynebacterium parvum para que el organismo produzca células NK es la inducción de la producción de interferón por los macrófagos previamente activados por el mismo Corynebacterium (Chedid.,1980) o que estos macrófagos, son células accesorias para la producción de interferón por las células B del Bazo (Chedid.,1980). Esto produce la reducción de las células NK, ya que sabemos que el interferón posee un efecto linfotóxico (Chedid.,1980) (Stites., et al.1983). Sin embargo se ha observado que después de los primeros tres días, la actividad de las células NK aumenta en alto grado y permanece constante hasta siete días después de la administración del Corynebacterium parvum. (Chedid.,1980). Esto nos hace pensar que existen todavía muchos mecanismos desconocidos para nosotros.

Geresi (1980) trabajando con diversas corinebacterias, en el sistema tumoral de ratones no isogénico reporta lo siguiente:

- 1.-El efecto inmunoestimulante de las corinebacterias depende de la dosis que se administre. Por ejemplo, el C. parvum, C. acnes y el C. granulorum tuvieron alto efecto antitumoral cuando se aplicó en dosis bajas, en cambio, el C. lymphophilum necesitó altas dosis para presentar el mismo efecto en tanto que el C. avium mostró la misma actividad aún con diferentes dosis.
- 2.-Los ratones a los que se les aplicaron éstas corinebacterias tuvieron una media de vida más alta que la de los ratones del

grupo control.

3.-En los ratones a los que se les aplicaron éstas corinebacterias hubo un mayor porcentaje de sobrevivientes al tumor.

En pacientes humanos, con cáncer ovárico, Lichtenstein (1984) combina su tratamiento quimioterápico con C. parvum intraperitoneal, obteniendo un aumento en la función citotóxica de las células K en 6 de los 9 pacientes que se utilizaron en el experimento. Estos trabajos nos marcan el efecto antitumoral que pueden llegar a tener las corinebacterias.

En animales sanos, se ha observado que el uso de estos microorganismos ha incrementado la resistencia de los animales a infecciones bacterianas, virales y las causadas por protozoos. Por ejemplo, después de un tratamiento con C. parvum en ratones, se encontró aumentado el número de macrófagos, así como el de las células progenitoras de granulocitos en la médula, por otra parte, también aumentó el número de monocitos en la sangre periférica, y los granulocitos, linfocitos y los macrófagos tisulares (Chedid., 1980). Resultados parecidos se obtuvieron al usar C. cne en novillos, en los que se observó un aumento en la fagocitosis, en la actividad enzimática de los granulocitos, en la transformación linfocítica y en la actividad de esterasa (Gos., et al. 1984). Por otro lado, Manickam (1983) indica que el utilizar C.

parvum es útil para estimular la resistencia contra la Theileria annulata, y que en vacas a las que se les administra este microorganismo hay un decremento de neutrófilos, pero se incrementan los monocitos (algo no observado en otras especies).

Es necesario aclarar que no todos los resultados han sido homogéneos en el sentido de apoyar el efecto inmunestimulador de las corinebacterias, según las investigaciones realizadas por Al-Izzi (1982) en vacas, después de inyectarlas con C. parvum cepa CN6134 no se produce un aumento significativo en la formación de colonias precursoras de macrófagos en la médula ósea, y en la sangre periférica de las vacas, los granulocitos no aumentan significativamente. Sin embargo, hay un aumento de peso en el bazo y en los ganglios linfoides (por infiltración y proliferación local de leucocitos mononucleares) e histológicamente hay aumento de macrófagos en hígado, pulmón, bazo, y nódulos linfoides, hay hiperplasia en el timo y en la corteza de los nódulos linfoides, lo cual nos habla de que el C. parvum es capaz de aumentar el número de macrófagos y linfocitos.

Otros estudios confirman esta capacidad, ya que nos muestran que la resistencia a las infecciones se ven aumentada con el uso del C. parvum y que aun en ratones semiesplecnetomizados éste es muy efectivo ya que aumenta el crecimiento del bazo protegiendo al mismo tiempo contra diversas infecciones (Cooney, 1984).

En cuanto a su utilidad, el C. parvum ha demostrado tener efectos beneficios en diversas enfermedades contra algunas bacterias como la

Encyrtelothrix rhusiopathiae (Kulcsar., et al. 1984), contra la presencia de Pasteurella hemolitica en los pulmones (Al-Izzi., et al. 1982), Y en algunas enfermedades como la babesiosis respecto a esta última se ha observado un aumento en la resistencia de las vacas a la enfermedad, con disminución relativa de la parasitemia (Corrier., et al. 1984)

Mycobacterium bovis

El Mycobacterium bovis es un bacilo Gram positivo, inmóvil, anaerobio o microaerofílico, que presenta un aspecto típico de bacilo, delgado, ligeramente incurvado o curvado, tiene una longitud de 2 a 4 micras y una anchura de 0,2 a 0,5 micras. Los bacilos pueden ser de anchura uniforme, pero en ocasiones presentan un aspecto "acordonado". Las diferentes cepas de éste microorganismo difieren en su tendencia a crecer como células discretas o como largos agregados trenzados como "cuerdas de serpentinás" (Davis., et al. 1980).

Como inmunestimulante, el M. bovis es muy activo, podría decirse que es el inmunestimulante inespecífico más utilizado en la medicina humana (según la O.M.S., 1980), favorece la producción de anticuerpos y aumenta el número de células esplénicas productoras de anticuerpos;

también aumenta la hipersensibilidad retardada a los antígenos en forma de partículas y aún cuando estos sean antígenos solubles en ratón acelera el rechazo a aloinjertos de piel y a los tumores transplantados, como también inhibe la carcinogénesis (O.M.S., 1980). Este microorganismo puede actuar de manera sinérgica o antagónica con los diferentes fármacos (Chedid., 1980).

Uno de los micobacteriums que se ha utilizado más para producir inmunestimulación es el Bacilo Calmette-Guérin (B.C.G.) del cual se sabe que presenta dos tipos de efectos distintos: favorece el rechazo inmunológico de tumores y aumenta la resistencia a infecciones (inmunestimulación inespecífica) (O.M.S., 1980). La primera, depende del efecto potenciador que las micobacterias ejercen sobre la respuesta inmunitaria en general. La segunda, consiste en provocar la hiperplasia y la hiperactividad del sistema reticuloendotelial, se ha observado que el B.C.G. estimula la activación de los macrófagos mediante un mecanismo parecido al que utiliza el *E. parvum* sobre el sistema de complemento (Chedid., 1980) (ver pag. 18). Esto se ha observado no sólo en animales a los que se les ha inyectado B.C.G. sino también en humanos que han sido expuestos deliberada o inadvertidamente al microorganismo. (O.M.S., 1980). El primer efecto marcado aumenta la capacidad del hospedero para llevar a cabo un ataque dirigido específicamente contra las células tumorales o del antígeno; el segundo, contribuye a la expresión final de la resistencia, creando un sistema más eficaz de eli-

minación de detritus. Este último efecto parece ser decisivo para favorecer la inmunidad antitumoral, así como para aumentar la resistencia a enfermedades infecciosas de corta duración (Webster., et al. 1985) (Snider., et al. 1982).

La mejor manera de estimular la inmunidad celular es empleando un cultivo fresco de B.C.G. que contenga en gran medida bacilos vivos; el modo de preparar y preservar las suspensiones bacterianas y la elección de las cepas influye en el efecto del B.C.G., por otra parte, se ha visto que al utilizar bacilos muertos, se produce un aumento en el número de anticuerpos circulantes (O.M.S., 1980). Para evitar cualquier riesgo al emplear cepas de bacilos vivos (aún atenuados), se han reemplazado estos por sus fracciones subcelulares, es decir, extractos e hidrolizados, los que han mostrado tener gran utilidad, como lo demuestra Schwartzman (1984) al tratar el sarcoide equino con el esqueleto de la pared celular del B.C.G. aunado al Disicolato de Trehalosa, con excelentes resultados, ya que obtuvo la regresión de los tumores de menos de 5 cm. de diámetro en 18 de los 19 casos tratados. Harris (1933) también trata el carcinoma canino mamario con extracto de la pared celular del B.C.G. por más de cuatro años (utilizando 50 casos para el experimento) obteniendo en la observación clínica una reducción en el grosor del volumen del tumor en 65% de los casos tratados. Al usar B.C.G. existe además una respuesta inflamatoria con destrucción parcial o total de los elementos adenocarcinomatogénicos. No se observan cambios en los parámetros bioquímicos o hematológicos,

sin embargo, estudios serológicos muestran respuestas de anticuerpos específicos al B.C.G. e interferón tipo II (O.M.S., 1980) (Chedid., 1980) Al momento de la destrucción máxima de las células tumorales, hay altas concentraciones de interferón y anticuerpos contra B.C.G. (O.M.S., 1980) se tuvo además un mayor número de animales que sobreviven libres de tumores en el grupo de animales tratados en comparación con el grupo control.

Winters (1992) experimentó con la pared celular del B.C.G. en la producción de interferón, utilizando para su experimento 55 perros, obteniendo los siguientes resultados:

- En perros sanos, la inyección de B.C.G. aumenta los títulos de interferón (en 80% de los casos) además de que aumentan los niveles de anticuerpos contra el bacilo.
- En perros con tumores se incrementan los títulos de interferón (en 70% de los casos) y existen también altos niveles de anticuerpos contra B.C.G.

Sin embargo, al poner en contacto a estos animales con virus como el de la estomatitis vesicular, distemper canino, influenza A, o rabia, no hay un aumento en los títulos de anticuerpos contra estos virus, en aquellos animales a los que se les aplicó previamente el B.C.G.

Charley (1989) nos indica que al administrar el micobacterium se produce una acumulación de macrófagos en los espacios alveolares en el cerdo, y sugiere que la acumulación celular esta relacionada con el influjo de monocitos sanguíneos y no con la multiplicación celular.

El B.C.G. ha encontrado una gran aplicación en el tratamiento

de tumores (Jeglum., 1985), ya que se estimula una reacción local como lo demuestra Webster (1935) al tratar el sarcoide equino de parpado y cuello con B.C.G. dicho autor, obtuvo en dos meses la regresión de los tumores infiltrados, no así el de los tumores de cuello que no fueron infiltrados con el microorganismo. Sin embargo, Guirlinger (1933) nos indica que la aplicación previa de B.C.G. en gatos a los que posteriormente se les aplicó virus de la leucemia felina no tiene efecto en la incidencia de la enfermedad o en la viremia, pero sin embargo, el grado de inmunosupresión, juzgado mediante la prueba de transformación de linfocitos, fue menos severa en el grupo tratado con B.C.G. que en el grupo control (gatos con prueba ELISA positivo a la enfermedad).

Por otra parte, el B.C.G. ha demostrado ser útil para aumentar los niveles de protección contra algunas enfermedades como la fiebre del valle de Rift y la linfadenitis caseosa en las ovejas (Barakat., et al. 1981).

Otras Micobacterias.

Se han investigado otras micobacterias, sin embargo, esto ha sido de manera aislada, como el trabajo realizado por Mishra (1982) al aplicar Mycobacterium phoi en ratón, obteniendo un aumento en la resistencia de este a la Salmonella enteritidis, asimismo Arnault (1981) compara el grado efectividad del M. grass confrontandola con otros inmunestimulantes como lo son Chlamydia psittaci (Lammert., 1982) y la Coxiella brunatii obteniendo con los tres inmunestimulantes aumentos en los títulos serológicos.

Genero Bordetella

La Bordetella pertussis es la que se ha investigado más, se trata de un bacilo Gram negativo, de tamaño pequeño, inmóvil, en caso de ser virulento, forma cápsula y presenta tendencia a adoptar un aspecto pleomorfo, especialmente en cultivos viejos (Davis., et al. 1980).

Quando se aplican antígenos unidos a células muertas de cultivos de B. pertussis lisos o de fase I, se aumenta la producción de anticuerpos y se intensifica y prolonga la memoria de las células del sistema inmunológico. Las células inactivadas o los componentes de las bacterias tienen importantes efectos para la síntesis de Ig E. Esto es de especial interés para los estudios de investigación sobre hipersensibilidad e inmunidad de las infecciones parasitarias (O.M.S., 1980).

La B. pertussis estimula a los macrófagos y estos liberan moléculas que funcionan como "inductores" de la producción de Ig E. Estos "inductores" actúan sobre los linfocitos T cooperadores, los cuales producen una linfocina que actúa como factor potenciador de la actividad de la Ig E. (O.M.S., 1980) (Chedid., 1980).

La B. pertussis contiene un factor promotor de la linfocitosis y se supone que esta substancia puede también llevar a la formación de factores potenciadores de Ig E, causando la glicosilación de una proteína pequeña, la que es liberada por las células T cooperadoras y que potencializa la formación de Ig E en respuesta a la estimulación an-

igénica concurrente.

Se sabe que la inhibición de la respuesta de Ig E ocurre después de la inyección del Adyuvante Completo de Freund, (Theilen., et al., 1982). En la presencia de este adyuvante los macrófagos liberan inductores de factores asociados a Ig E. De cualquier manera, en estas circunstancias los linfocitos (probablemente del tipo de células T supresoras) liberan un factor inhibidor de la glicosilación que modula la liberación de factores asociados a Ig E. Este factor supresivo de Ig E es también disponible para inhibir la formación de Ig E.

Una proteína formada por células T cooperadoras es un factor Ig E supresivo en la forma no glicosilada y un factor potenciador de Ig E cuando está glicosilado (Theilen., et al., 1982).

Se ha reportado que la E. pertussis produce un marcado desplazamiento de linfocitos desde las zonas T y B de los tejidos linfoides a la circulación, al impedir el paso normal de los linfocitos através de las venulas postcapilares endoteliales altas (Theilen., et al., 1983) por otro lado, la actividad de los lipopolisacáridos extraídos de E. pertussis es semejante a la de otros lipopolisacáridos (aunque tienen menor efecto adyuvante que los de E. coli) (O.M.S., 1980) (ver Lipopolisacáridos).

Genero Bacillus.

Son bastones grandes, Gram positivos, que forman esporas y crecen óptimamente en condiciones aerobias, son hemolíticos (excepto B. anthracis y móviles (misma excepción) (Davis., et al. 1980).

La utilización de este género como inmunestimulante se ha orientado sobre todo a las especies B. natto y B. subtilis. El B. natto cepa BN (aislada de frijol de soya fermentado) comunmente conocida como "Natto" en el Japón, y que esta cercanamente desarrollada antigénicamente con el B. subtilis se proporciona a los animales domésticos como una excelente fuente de nutrientes, también como un agente para controlar la diarrea de los cerdos y además como agente para incrementar la resistencia a agentes patógenos comunes (Inooka., et al. 1983). Se sabe que esto ya empieza a ser una práctica común, por lo que es importante establecer los mecanismos que lo rigen. Por ahora, se conocen ciertos efectos como son:

Desde el punto de vista de sus efectos contra la diarrea, se ha sugerido que el B. natto inhibe el crecimiento de coliformes e incrementa el número de lactobacilos en el tracto gastrointestinal, además se cree que aumenta algunas funciones inmunológicas puesto que el desarrollo de los órganos linfoides en el tracto intestinal es mayor al administrar el bacilo en la dieta.

Para esclarecer el efecto anterior, Inooka (1983), realizó un experimento con pollos de engorda; agrego B. natto al alimento, y

obtuvo un aumento en la proliferación de anticuerpos inespecíficos, por lo que al parecer, se aumenta la resistencia a las enfermedades comunes. Lo anterior se obtuvo cuando el E. rattu se adicionó durante por lo menos 15 días o más, se sugiere además, que su lugar de efecto es el ciego aunque los mecanismos de acción no se han podido aclarar aún.

Otra especie utilizada en la inmunestimulación es el E. subtilis Acktum (1983) lo utiliza como "BKS" que es un infiltrado celular preparado a partir del E. subtilis. El lo inyectó intramuscularmente en vacas, obteniendo lo siguiente: De 223 vacas a las que se le administró el BKS (y que padecían enteritis y/o pneumonia) paralelamente con la terapia clásica, 106 se recuperaron más rápidamente.

Estos resultados nos inducen a pensar que la adición de estos microorganismos puede llegar a ser muy importante como terapia o profilaxia contra diferentes enfermedades, sin embargo es necesaria una mayor investigación.

Escherichia coli

Es un bacilo Gram negativo, aerobio y anaerobio facultativo (Davis, 1990). De esta bacteria se ha trabajado muy particularmente con los lipopolisacáridos de su pared bacteriana (LPS) (ver lipopolisacá-

ridos) que son poderosos inmunógenos (Theilen., et al., 1982) ya que desencadenan una producción precoz de anticuerpos de la clase Ig M (y en algunas especies respuestas posteriores de Ig G) las cuales están dirigidas contra los componentes de los propios LPS (O.M.S., 1980..

Los LPS de la E. coli actúan como un antígeno celular T independiente, esto es poco usual, sin embargo ya que estos antígenos son grandes, altamente polimerizados con copias repetidas de grupos determinados y pueden estimular a las células B directamente, sin la necesidad de utilizar a las células T cooperadoras, además, la aplicación de LPS de E. coli produce hiperplasia en las zonas B del Sazo, por lo que se cree que estimula la formación de células B (Theilen., et al., 1982).

La región del lípido A del LPS presenta una fuerte actividad mitogénica de los linfocitos B y es esta una de las formas de actividad de las sustancias adyuvantes, por lo cual si se administran bajas cantidades de LPS de E. coli con algún otro antígeno, la producción de anticuerpos contra estos será mayor, por lo anterior los LPS de E. coli pueden ser considerados como un adyuvante (Theilen., et al., 1982).

Streptococcus

Son cocos Gram positivos, que se agrupan en cadenas (Davis., et al 1980). Su utilización se ha basado en las reacciones locales que se

producen con su aplicación ya que son poderosos inmunógenos.

Couto (1985) realiza un experimento en el cual se administró una solución de S. zorepidermicus a yeguas que padecían endometritis, así como a yeguas sanas, obteniendo con este tratamiento una reacción menos severa de endometritis en los animales afectados y una menor morbilidad en los animales sanos, en el plano inmunológico, hay un aumento en los niveles de anticuerpos específicos en los animales enfermos, y en los sanos hay un aumento de inmunoglobulinas en forma inespecífica, por lo que se establece que se puede utilizar el tratamiento con este microorganismo como alternativa en yeguas con infecciones uterinas crónicas difíciles, o bien como profiláctico.

Opdebeeck (1984) usa células muertas del Streptococcus galactidus y del Staphylococcus aureus y un alfa toxide estafilococal mas un adyuvante, para inyectarlos en el ganglio linfático inguinal de 6 vacas lactantes, el autor expresa que en dicho trabajo la leche presenta inmunoglobulinas de la clase Ig G durante más de 23 semanas, lo que nos habla de la capacidad de éstas bacterias en cuanto a la estimulación de aspectos inmunológicos, sin embargo, los mecanismos involucrados deben estudiarse, ya que por ahora son todavía desconocidos.

Candida albicans.

Este microorganismo ha demostrado su actividad adyuvante en la inducción de anticuerpos circulantes contra antígenos T independientes, actúa como un mitógeno para las células del bazo además de que

induce la actividad de los macrófagos en general y aumenta la generación de la citotoxicidad mediada por células (in vitro). (O.M.S., 1980) (Marconi., et al., 1983).

Al utilizarlo como inmunoestimulante, conserva estas propiedades, inclusive se encontró que también tiene actividad antitumoral y sinergiza el efecto antilinfoma si se utiliza paralelamente con la quimioterapia (Theilen., 1983)

Los mecanismos involucrados al utilizar esta bacteria como inmunoestimulante no se conocen bien, pero se correlacionan a reacciones secundarias T dependientes contra antígenos asociados a Candida albicans. (O.M.S., 1980), (Theilen., et al., 1982).

Bifidobacterium termophilum.

Este microorganismo se ha utilizado en cerdos. Namioka (1992) estudio el efecto del peptidoglicano del B. termophilum en cerdos entre el momento del parto y los cinco días de nacidos administrando aquel por vía subcutánea. Como resultado del trabajo encontró un aumento inespecífico de Ig A en la lámina propia del intestino delgado y los niveles de Ig G en sangre aumentaron considerablemente. Además, los cerdos tratados con este microorganismo presentaron menor cantidad de Escherichia coli en el intestino delgado en comparación con el grupo control y tuvieron además menor incidencia de diarreas y mayores títulos en la prueba de hemoaglutinación.

Salmonella.

Lantier (1931) reporta que la administración por vía subcutánea de Salmonella abortus ovis en ratones produce un aumento en la proliferación de macrófagos, obteniéndose además una mayor protección contra las infecciones producidas por Eimeria falciformis. Por otra parte, Roberts (1952) indica que al aplicar S. anatum por vía subcutánea en caballos se produce un aumento en la producción de macrófagos.

Genero Coxiella

Kazar (1984) reporta que la administración de este género aumenta la resistencia no específica contra ciertas bacterias, rickettsias y virus así como contra ciertas endotoxinas bacterianas y la toxina de la rickettsia Typhi. Las coxielas producen una hepatomegalia y una esplenomegalia persistente; sin embargo su efecto inmunestimulante depende tanto de su dosis como del tiempo de administración, así como de la fase celular en que se encuentre (fase I, II, o III).

Genero Streptomyces

Este género se ha utilizado solo o conjuntamente con otros géneros, tal es el caso del experimento realizado por Wang (1985) al combinarlo con Achromobacter y utilizarlo contra la diarrea porcina,

en este estudio se utilizaron dos inmunestimulantes el FR 41563 (derivado de Streptomyces olivaceus *sp. nova*) y el DL 714 (células bacteriales muertas del Achromobacter *sp.*). Los resultados indicaron una menor incidencia de diarrea en el grupo tratado con esta mezcla de microorganismos, además de que la severidad de la diarrea fue significativamente menor que las del grupo control (al que se le dió el tratamiento clásico). La cuenta de E. coli en diferentes partes del tracto gastrointestinal fué menor que las encontradas en los animales del grupo control y los títulos de hemaglutinación fueron mayores en los animales del grupo tratado. Por otro lado, los títulos de anticuerpos indican que la respuesta inmune se ve favorecida, esto es muy sugestivo de que el FR 41563 y el DL 714 pueden ser de gran utilidad en el tratamiento de la diarrea porcina.

Otra sustancia utilizada dentro de este género es el Bestatin, que es obtenido apartir de cultivos de S. olivoreticuli. Se trata de una sustancia con actividad de inhibidor de ciertas enzimas y con efecto inhibidor de la aminopeptidasa B y la leucina aminopeptidasa. El Bestatin puede unirse a los macrófagos y a los linfocitos e inhibir también algunas reacciones hidrolíticas. La activación de macrófagos en presencia de Bestatin estimula la mitogénesis de células T y aumenta la respuesta de hipersensibilidad retardada. (Theilen., 1983) Este producto se ha utilizado con cierto éxito en cerdos en el tratamiento de diarreas, sin embargo se siguen investigando los mecanismos involucrados (Theilen., 1983)

Genero Achromobacter.

Se ha logrado producir a partir del Achromobacter stenocephalis un producto denominado DOMON-L el cual ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de la neumonía, la diarrea y la influenza en el ganado, y en la gastroenteritis transmisible del cerdo, así como en la diarrea por E. coli también en el cerdo (Theilen., 1983). La droga actúa por una estimulación no específica de anticuerpos que habían sido neutralizados por efecto de los agentes productores de la enfermedad y parece que no tiene efectos adversos (Chang., 1985).

Generos mezclados.

La mezcla de diferentes microorganismos se ha utilizado para aumentar los niveles de anticuerpos, tal es el caso de la mezcla conocida como Zoodin B que es un inmunestimulante no específico usado en vacas, el cual se prepara a partir de una mezcla de las bacterias siguientes: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus agalactiae, Salmonella typhimurium, Pseudomonas aureusigna y Corynebacterium pyogenes. También existe otro producto denominado Zoodin P, que es una preparación similar y se utiliza en cerdos, dicho producto se prepara a partir de las mismas bacterias, con la excepción del S. agalactiae, y al que además se le agrega Salmonella cholerae suis y Erysipelothrix (Hoisie., et al. 1980). El efecto de protección de és-

tos productos se ha estudiado de una manera irregular, sin embargo se sabe que en ratón protege contra la infección de Klebsiella pneumo-
niae, que su efecto comienza a las 24 horas de haberse aplicado y que su efecto dura por 8 días. Efectos similares se han observado en vacas y cerdos, en los que además aumenta el peso del bazo y del hígado (Hoisie., et al., 1980), (Mayr., 1982).

Adyuvante Completo de Freund.

Es el Adyuvante Completo de Freund (ACF) sin lugar a dudas el producto más conocido entre todas éstas mezclas de microorganismos. El ACF se utiliza frecuentemente en el laboratorio para obtener concentraciones altas de anticuerpos activos contra antígenos proteínicos (o tipo dependientes), los cuales se administran a los animales.

El ACF es una mezcla de diversas micobacterias o nocardias adicionadas a las emulsiones simples de agua en aceite (Adyuvante Incompleto de Freund). Entre las micobacterias que son eficaces en estas mezclas están M. tuberculosis, M. avium, M. phlei, M. goodii, M. kansasii, y nocardias como N. asteroides, N. brasiliensis, y N. rhodochronus. Además de otros microorganismos como Corynebacterium rubrum, etc. (O.M.S., 1980) (Herbert., 1981). Los siguientes mecanismos celulares podrían explicar los efectos principales del ACF. (O.M.S., 1980), (Bach., et al., 1982), (Veit., et al., 1984):

- 1.-Un efecto de depósito del antígeno en la emulsión de agua en

aceite.

- 2.-Una activación general de los macrófagos por aumento específico de la actividad de las células T y por efecto directo del aceite y del componente bacteriano.
- 3.-Retención de poblaciones de células T en los ganglios linfáticos regionales del lugar de la inyección del ACF.
- 4.-Interferencia con la segregación normal de linfocitos B hacia los centros germinales, actuando contra la homeostasis normal de la formación de anticuerpos.
- 5.-Desviación de la respuesta específica a un antígeno desde la provocación de tolerancia hacia la síntesis de anticuerpos.

Además, al utilizar el ACF como inmunoestimulante inespecífico, esto es, sin agregarle ningún antígeno, se producen algunos otros efectos muy interesantes. El ACF favorece la síntesis de inmunoglobulinas sobre todo de la clase Ig G más que de la clase Ig M en la mayoría de las especies (Bach., et al. 1982). Se han realizado estudios en los que se ha encontrado que ratones inmunizados con una combinación de antígenos tipo dependientes, como seroalbumina humana y *B. pertussis*, producen más Ig G1 e Ig G2 que Ig G2a. Por otra parte, cobayos inmunizados con ACF producen más anticuerpos de la clase Ig G2 que de la clase Ig G1 (Bach., et al. 1982) mientras que en los mismos animales estimulados con el adyuvante Incompleto de Freund se producen casi úni-

casamente anticuerpos de la clase Ig G1 (O.M.S.,1980).

Harada (1985) reporta que dos aplicaciones de ACF y una proteína conjugada con cefalotina o cefmetazol emulsificado fueron muy efectivas tanto en la producción de Ig E como De Ig G.

Por otra parte el ACF estimula las actividades de los macrófagos y al mismo tiempo la proliferación de los linfocitos T (Bach.,et al. 1982),se cree que el mecanismo productor de ésta estimulación se realiza sobre el sistema de complemento y que es similar al que produce al administrar el Corynebacterium parvum. (Bach.,et al.1982) (Ver C. parvum).

Veit (1984) administra 35 días antes de la exposición del aerosol de Serratia marcescens el ACF a 11 vacasobteniendo con esto un aumento en el número de macrófagos pulmonares en un 30.9% disminuyendo el porcentaje de retención (proporción de bacterias) retenidas en el pulmón) y hay un aumento en la actividad fagocítica de los macrófagos.

Rico (1982) evalúa varios inmunostimulantes utilizando lechones recién nacidos,determinando su efecto sobre los patrones de enfermedad de los lechones durante la lactancia.Al parecer,el tratamiento que mostró mayor efectividad sobre la disminución de estas enfermedades es el ACF.

Es preciso agregar que bajo ciertas condiciones el ACF puede llegar a disminuir una reacción inmunológica en vez de intensificarla. Así,puede producirse una enérgica inmunosupresión cuando se adminis-

tra un segundo inmunógeno tras la inyección previa de un antígeno diferente en ACF. Esto puede tener por consecuencia prácticamente la eliminación de las respuestas de anticuerpos y de hipersensibilidad retardada al segundo antígeno y se forma un granuloma persistente, a menudo necrótico en el lugar de la inyección (O.H.S., 1980), (Bach., et al. 1982).

B.- SUBSTANCIAS VIRALES.

Entre los virus que más se han utilizado para producir inmunestimulación inespecífica tenemos a los siguientes:

Poxvirus

Son los virus de mayor tamaño que se conocen, son altamente complejos, tienen forma de tabique, son virus DNA de cadena doble, de multiplicación intracitoplasmática (Davis *et al.* 1980).

Dentro de éste género, se ha utilizado para estudio como inmunostimulantes el subgénero Avipoxvirus, que es el responsable de la producción de las enfermedades en las aves conocidas como "viruelas" y el subgénero Orf, responsable de enfermedades como la Estomatitis Papular Escvina, la Pseudoviruela Bovina, y el Ectima Contagioso (Jubb, *et al.* 1983).

Existen dos productos de los que hablaremos indistintamente y que poseen características y mecanismos de acción muy semejantes, ellos son el PIND-AVI, y el DUPHAMUN (Mayr., 1982).

Estos productos consisten en poxvirus atenuados por un alto número de pases y que por lo mismo carecen de la capacidad de reproducirse (lo cual era considerado una de las mayores desventajas de los

inductores biológicos ya que llegaban a producir pirogenicidad y toxicidad), son utilizados en animales de sangre caliente con el propósito de favorecer los mecanismos de defensa (Theilen., et al., 1981). Esto consiste en un incremento en la resistencia no específica, por lo que provoca en el individuo mejoras de las defensas contra un variado grupo de infecciones y antígenos (Mayr., 1980).

Los mecanismos de acción de estas sustancias hasta ahora conocidos son:

- Aumento de la fagocitosis, aumenta la micro y macrofagocitosis al incrementar los mediadores (Kraiss., et al., 1984)
- Potenciación de la interacción de factores humorales (opsoninas, properdina, y sistema de complemento). Los factores humorales opsonizantes parecen tener cuantitativamente mas importancia para la estimulación del rendimiento de la fagocitosis, éstos son activados extraordinariamente en especial por PIND-AVI (Meyer., et al., 1981).
- Activación de linfocitos T (favoreciendo la reactividad de su membrana y de sus interacciones, así como del metabolismo celular) por lo que aumentan los índices de proliferación y según las pruebas de Hechler (1981) (en linfocitos periféricos del caballo) se considera al PIND-AVI como específico para favorecer las células T.
- Aumento en la producción de interferón (Mayr., et al., 1980)
- Produce la reactivación de las linfocinas (Theilen., 1983) y hay

un incremento en la síntesis de proteínas (Jablonski.,1983). Por lo anterior parece ser que la sustancia se comporta como un agente inespecífico de protección contra modelos de infección viral y bacteriana (Hell.,et al.1984)

Estas sustancias se encuentran actualmente en investigación, la cual está orientada a determinar su posible uso práctico en la profilaxis y en la terapéutica de diversas enfermedades. Thein (1980) investigó en 475 caballos el PIND-AVI en diferentes situaciones:

- 1.-Para profilaxis de emergencia tras la presentación de una enfermedad virosica o bacteriana.
- 2.-Para profilaxis en potros sanos recién nacidos y en potros destetados, así como para evitar reacciones postvacunales y del estrés del transporte.
- 3.-Para terapéutica en caballos de carrera con debilidades en el rendimiento (infecciones subclínicas y caballos con diversas enfermedades).

Como resultados obtuvo:

En el primer caso se contrarrestó la infección manifiesta clínicamente, en un alto porcentaje de los casos, sin embargo, los animales seguían eliminando el virus.

En el segundo caso, a los potros lactantes se les cortaba las infecciones bacterianas dentro de las primeras semanas de vida, sin embargo al segundo o tercer mes de vida aparecían las enfermedades habituales, las que eran contrarrestadas al aplicar nuevamente PIND-AVI.

Los potros destetados no presentaron las infecciones mixtas habituales de la edad después del tratamiento, y se evitaron las enfermedades por estrés.

En el tercer caso, se contrarrestaron las afecciones subclínicas, lo mismo en los caballos con enfermedades en vías respiratorias superiores o inferiores (siempre y cuando no fueran agudas).

El hecho de que en los potros de 2-3 meses se requiera volver a aplicar la substancia nos induce a pensar que éstas no presentan efectos de memoria (Thein., 1983).

Hell (1984) comunica que la administración intratraqueal de DIPHANUN en caballos produce protección contra las enfermedades respiratorias de origen viral (enfermedad primaria) aunque no tiene efecto cuando se ha establecido una enfermedad secundaria.

Mayr (1980) realizó experimentos durante 6 años en diversas especies animales obteniendo los siguientes resultados:

-En perros, logra reducir del 80% al 20% la mortalidad entre los cachorros producida por enfermedades típicas como las producidas por Coronavirus y Parvovirus y aún mas, logra reducir ésta mortalidad al 3% si el PIND-AVI se administra a las perras en su última semana de gestación.

- Esto lo confirma Blunden (1983) al utilizar PIND-AVI en 475 cachorros y tener sólo un 5% de mortalidad.
- En potros (de 8 granjas distintas) reduce del 70-90% al 7% la mortalidad ante enfermedades respiratorias.
 - En bovinos, utilizó 152 becerras de 1 a 4 semanas de edad reduciendo del 37 al 12.5% la incidencia de las enfermedades respiratorias.
 - En cerditos recién nacidos se presentó una disminución de las enfermedades típicas (por ejemplo las pneumonías) del 8.5 al 4.4% y aumentaron a la vez sus ganancias de peso en 19.5g más en promedio que el grupo control al momento del destete.

Schneiderei (1981) y Henschelchen (1982) trabajaron con PIND-AVI en el puerperio y la concepción subsecuente en vacas, obteniendo el primero una más rápida involucion uterina postparto así como un inicio del ciclo siguiente de los ovarios en menor tiempo. En dicho estudio, Henschelchen agrega que la actividad fagocítica aumenta considerablemente.

Otros estudios sobre el PIND-AVI han sido en cuanto a su efectividad contra la infestación de garrapatas del género Rhipicephalus eversti eversti en ovinos, y aunque el mecanismo autor de esto no se ha identificado plenamente, se ha observado que inhibe por completo la replesión de éstas, sin inducir síntomas paralíticos, sin embargo no existe memoria, (lo que reafirma lo reportado por Thein., 1933) por lo que a las 8 semanas las ovejas al ser reinfestadas, siguen los

curzos de replesion similarmente a lo que ocurre con las ovejas tes- tigo (Kraiss., et al., 1984).

En la terapia contra tumores, también se ha encontrado en éstas sustancias indicios de un útil uso, ya que en ratón, aumenta 50% o más la resistencia de éste a los tumores, por otra parte disminuye el crecimiento de dichos tumores en un muy alto porcentaje (Erfle., et al., 1993).

Los resultados anteriores nos inducen a pensar que posiblemente éstas sustancias pueden extenderse ampliamente en la Medicina Veterinaria ya que hasta el momento los resultados son alentadores.

PIND-ORF

Esta sustancia es también un Poxvirus pero del subgénero Orf (se trata de virus inactivados mediante alto número de pasos. Posee características semejantes al PIND-AVI y al DUPHAMUN, como por ejemplo en cuanto a sus mecanismos de acción (ver PIND-AVI).

Como dato adicional mencionaremos que ésta sustancia ha sido utilizada en cerdos de engorda, logrando manifestarse en aumento en la ganancia de peso, una menor mortalidad y el acortamiento en el periodo de engorda sin causar ningún efecto secundario (Braun., 1982).

Al utilizarlo en aves a las que se les privó de comida y agua en forma simultánea se encontró que previno de alguna manera la disminución en los leucocitos y linfocitos si se desafiaban con algún virus

bajo estas condiciones, y ocasionó elevación en los niveles de interferón. Cuando se utilizó en condiciones normales de alimentación e ingesta de agua, se encontró que se aumentaba la fagocitosis y se reducía la mortalidad frente a enfermedades virales y no ocasionaba ningún efecto secundario, por lo anterior, se ha recomendado administrarlo a las aves antes de transportar, exhibir, cuarentenar e introducir animales (Richter., 1983).

Utilizando esta substancia en el tratamiento de tumores se encontró que la administración de PIND-ORF reduce por lo menos en un 31% la presencia de dichos tumores en ratón, asimismo se reporta un aumento en el Período de latencia tumoral, sin causar efectos secundarios (Muller-Brunecker, et al. 1984).

Zangarín (1982) comparó los niveles de protección obtenidos con el PIND-ORF contra los niveles de protección humoral obtenidos con otro inmunostimulante (Preparación H-P) encontrando que con los dos se presenta un efecto importante en cuanto factores humorales, a la producción de linfocitos, etc. de tal manera que aumenta el rango de protección a diversas enfermedades.

Herpesvirus.

Son virus DNA de cadena doble, de un diámetro de 100 a 110 nm. son virus icosaédricos (Davis., et al. 1980).

Se ha trabajado preferencialmente con el virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (RIB) cepa IPV (productor de la vulvovaginitis pustular infecciosa) (Jubb, et al. 1983). El virus que se ha utilizado, consiste en una cepa avirulenta (por alto número de pases en cultivo de células bovinas) IPV nombrada preparación H-P, (Thumann., 1980).

Se ha mencionado que las propiedades del H-P son debidas a que el virus IPV que se utiliza posee gran uniformidad genética y material capaz de inducir interferón. Por lo que produce una interferonización activa. Al utilizar esta substancia, se imita la actividad que producirían los virus, pero se tienen las siguientes ventajas:

- Estimula altos niveles de interferón.
- Tiene acción profiláctica y terapéutica local (en las membranas mucosas)
- No es patógeno, por lo que es bien tolerada.
- Es efectivo en recién nacidos (no hay efectos secundarios).
- Puede aplicarse en infecciones existentes, inclusive se puede administrar con otras vacunas específicas
- No activa infecciones inaparentes (subclínicas), ni produce inmunosupresión, además de que estimula la fagocitosis y activa el sistema leucopoyético.

Esta substancia se ha recomendado administrarla por vía intranasal, ya que su presentación más usual es en aerosol, por lo tanto se ha

utilizado como profiláctico en enfermedades de tipo respiratorio. Se ha demostrado que tiene efecto sobre el Complejo de la Enfermedad Respiratoria en bovinos, es decir sobre virus como RIB, DVE, Reovirus, Rotavirus, Coronavirus, Rinovirus, Parvovirus, y Enterovirus, también sobre bacterias como Pasteurella y hongos como Candida y también sobre Mycoplasmas y Chlamydiae.

Rodder (1980) utilizó el producto en un lote de aproximadamente 1000 bovinos, obteniendo buenos resultados contra enfermedades como la PI 3 (Parainfluenza 3) o la DVE (Diarrea Viral Bovina) ya que del ganado tratado, un 89.2% se reestableció después de haber estado afectado por dichas enfermedades.

Morisse (1984) utilizó el producto por vía intranasal en terneros, y realizó observaciones sobre la cinética de los anticuerpos contra algunos virus que contaminan frecuentemente (RIB, PI 3, Adenovirus 2, etc.). Como resultado observó que el número de terneros que requerían tratamiento se reduce significativamente ($P < 0.001$) a los 35 días después de administrar el producto, además la ganancia media de destete es ligeramente superior. Al comparar con lotes control se observa que la producción de interferón por las células de la mucosa de las vías respiratorias empieza algunas horas después de la administración del producto, para tener su producción máxima entre el segundo y el séptimo día después de la administración del producto, y declinar progresivamente del octavo al onceavo día.

Por otro lado Zangerle (1992) señala que el producto ocasiona altos niveles de protección al ser administrado después de una vacunación.

Al parecer no hay acuerdo aún sobre el momento en que se debe utilizar el producto, ya que por ejemplo Thumann (1980) indica que según su experimento (realizado en ganado de engorda) se debe administrar sólo después de que los primeros animales muestren signos clínicos de la enfermedad ya que al administrarlo antes no tiene un efecto adecuado.

Mezclas.

El uso de virus inactivados, mezclados con otras sustancias, inmunostimulantes es una práctica que se vuelve cada día más común, tal es el caso de la sustancia denominada como POLI-IF que es una emulsión que contiene al virus de Newcastle inactivado, endotoxina de Escherichia coli, y Adyuvante Incompleto de Freund. Esta sustancia induce altos niveles de interferón en la sangre periférica, aumentando la circulación de leucocitos y modificando la fórmula leucocitaria. (Galassi, et al. 1984). Cabe señalar que se produce un pequeño granuloma en el sitio de la inyección y ocasionalmente un aumento transitorio en la temperatura y aún llega a producir anorexia. En cambio su efecto benéfico es importante ya que al utilizar POLI-IF en animales

recién nacidos se manifiesta en la reducción de pérdidas por infecciones neonatales (Galassi., et al. 1983).

El uso del POLI-IF en el tratamiento de cerdos produce una reducción de animales que presentan diarrea del 68% al 17% y la mortalidad del 27% al 7% (esto aplicando una sola dosis). Por otra parte, si se utiliza dosis doble con diez días de intervalo entre cada una se disminuye la presencia de varias enfermedades (Diarrea, Poliarteritis, Bronconeumonía, Edemas, etc) (Galassi., et al. 1983). También se reporta una morbilidad a éstas enfermedades del 41% en el grupo control y del 6% en el grupo tratado, y con respecto a la mortalidad hay en el grupo control un 9% y en el grupo al que se le administró el tratamiento un 1% (Galassi., et al. 1983).

C.- OTRAS SUSTANCIAS.

Polisacáridos de hongos.

Investigadores japoneses han estudiado la actividad antitumoral de varios polisacáridos obtenidos de los hongos. (O.M.S.1980). Se ha descubierto que el Lentinan, un (1-3)beta-D-glucano (polímero de la glucosa cuyo peso molecular es de aproximadamente 10 000 y que es extraído del Lentinus edodes (Bach., et al.1982), inhibe el crecimiento del sarcoma 180 en ratones normales, pero no en los timectomizados. La posibilidad de que dichos polisacáridos refuerzan la acción de los linfocitos T en la inmunidad antitumoral se ha extendido a una potenciación de la función auxiliar de dichos linfocitos. Aunque no se han identificado totalmente los mecanismos involucrados se sabe que el Lentinan estimula la producción de grandes cantidades de proteína sérica. Se ha encontrado que aún en dosis relativamente grandes no es tóxico para el ratón (O.M.S.,1980).

EXTRACTOS PARASITARIOS

Sabemos que las infecciones parasitarias (en particular aquellas producidas por helmintos o por protozoarios) cursan con una inmunodepresión muy marcada, sin embargo, se ha observado que algunas de estas infecciones también provocan un tremendo aumento en los niveles de inmunoglobulinas, por ejemplo las producidas por Toxoplasma gondii.

Por esta razón, se han realizado pruebas utilizando extractos parasitarios para intentar establecer los mecanismos que producen lo anterior. De hecho, se ha observado que al utilizar diferentes extractos parasitarios en ratones se produce una proliferación de linfocitos durante las primeras tres semanas, para reducirse a un nivel insignificante de la cuarta a la séptima semana después de su administración. Al mismo tiempo, se detecta una gran producción de anticuerpos (Chedid., 1980). Por otra parte, hay un incremento en la producción de inmunoglobulinas de la clase Ig G e Ig M (en particular, los extractos producidos a partir de helmintos incrementan también las Ig E) (Chedid., 1980) y al parecer estas inmunoglobulinas no son específicas contra los antígenos parasitarios. Se ha observado que la administración de algunos extractos parasitarios como el producido a partir del Toxoplasma gondii pueden prevenir la proliferación de diversas bacterias (Chedid., 1980), asimismo, hay algunos extractos (como el de Trichinella spiralis o el de Trypanosoma gambiense que son capaces de producir un incremento de la producción de anticuerpos. En sí, estos resultados invitan a investigar acerca de los mecanismos que rigen tales fenómenos, pues casi todos son aún desconocidos.

LIPOPOLISACARIDOS

Los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias Gram negativas poseen una gran variedad de efectos sobre el sistema inmunológico. Los LPS son moléculas complejas que constan de tres regiones: la O-polisacarida, el núcleo polisacárido (o endotoxina), y una región denominada lípido A (Chedid., 1980) son moléculas grandes, altamente polimerizadas con copias repetidas de grupos determinados (Theillen., 1983).

Se ha observado que al administrar los LPS se aumenta la producción de linfocitos B, debido a que hay un incremento en la síntesis del Acido Desoxiribonucleico (ADN) de las células del Bazo, diversos experimentos han demostrado que éste incremento del ADN es inducido por la región lípido A del LPS (Chedid., 1980) (Theillen., 1983) sin embargo, existe no sólo un aumento en la producción de linfocitos sino que los LPS también producen la diferenciación de los linfocitos B ya que estas células poseen en su membrana los llamados receptores de mitógenos que son activados por los LPS (Chedid., 1980) más aún, se ha observado que los LPS también inducen la producción de inmunoglobulinas del tipo Ig G, Ig D, e Ig M por las células B, así lo demuestra Chedid (1980) al administrar LPS de *Salmonella typhimurium*, encontrando que se produce un aumento de la producción de Ig G e Ig M inespecíficas. Por otra parte, el uso de los LPS también puede producir inmunosupresión bajo ciertas circunstancias, como lo es el de administrarlos pocos días antes de la inyección de un antígeno. Experimentalmente se ha observado que las células B obtenidas previamente

de ratones tratados con LPS suprimen las respuestas de los anticuerpos, así como que el Sazo de éstos ratones contiene alta población de células T supresoras. Staruch (1983) encontró en sus experimentos que los LPS estimulan la actividad de los macrófagos, y estos producen interleucina 1 la cual va a estimular la proliferación de las células B. Por otra parte, Vogele encontró que los LPS son capaces de estimular directamente la actividad de las células T, produciendo estas grandes cantidades de interleucina 2.

Esta variedad de efectos inducen a realizar mayores investigaciones para poder determinar con exactitud los mecanismos involucrados.

HORMONAS TÍMICAS y sus analogos.

El Timo ejerce todas sus funciones o parte de estas por intermedio de sus hormonas, de ésta forma, el usar sus extractos como inmunostimulantes parece prometedor (Bach., et al. 1982). Es por esto que los investigadores han enfocado sus estudios a establecer los mecanismos involucrados, e incluso se han podido sintetizar algunas de éstas substancias artificialmente. Una de ellas es la timósina, que es la hormona tímica más característica (Chedid., 1980). La preparación más conocida de ésta hormona es la denominada timosina fracción 5, que está compuesta por un grupo de polipéptidos ácidos con un peso molecular que fluctúa entre los 1 000 y 15 000 Daltons (Ungar-Waron., et al. 1984) y que es preparada a partir del timo de bovino mediante la técnica descrita por Hooper (Chedid., 1980). La timosina fracción 5 consta

de tres regiones: La alfa, que consiste de polipéptidos cuyos puntos isoeléctricos están por debajo del 5; la región beta, con puntos isoeléctricos entre 5.0 y 7.0; y la gama, con puntos isoeléctricos mayores que 7 (Chedid., 1980).

Existen algunas sustancias que se han desarrollado a partir de la timosina fracción 5 como lo son: la timosina alfa 1, la timosina alfa 5, la timosina alfa 7, el polipéptido beta 1, la timosina beta 3 la timosina beta 4, y además se han producido análogos sintéticos de algunas de estas (Chedid., 1980). Todas estas sustancias poseen actividad semejante a la timosina fracción 5 (con excepción del polipéptido beta 1, que no ha mostrado ninguna actividad). Al administrar estas sustancias se ha observado que se produce un efecto inmunestimulante, por ejemplo: la timosina fracción 5 induce la proliferación y diferenciación de las células T, y aumenta sus funciones inmunológicas. La timosina alfa 5 activa la conversión de células T a células T cooperadoras (Chedid., 1980) (Ungar-waron., et al. 1984) (Smogorzewska., et al. 1985), la timosina alfa 7 produce que las células T inmaduras se conviertan en células T supresoras (Chedid., 1980) y las timosinas beta 3 y beta 4 activan la conversión de células de la médula a pro-timocitos. Además, la timosina fracción 5 aumenta los niveles de inmunoglobulinas del tipo Ig M e Ig G (Chedid., 1980). Por otra parte, al utilizar los análogos sintéticos de estas sustancias se produce un mayor efecto inmunestimulante.

OTRAS HORMONAS TIICAS

Dentro de las hormonas tíasicas (o sus análogos sintéticos) que se ha observado, poseen un efecto inmunestimulante, encontramos las siguientes:

-Factor tímico humoral: Este factor activo, se ha producido a partir del timo de ovinos, bovinos y conejos, es un polipéptido estable al calor con un pH de 5.7 a 5.9 y un peso molecular de los 3 000 Daltons. Se sabe que su molécula consta de 31 aminoácidos, sin embargo, su estructura primaria no ha sido delineada aún. Este factor tímico humoral ha demostrado incrementar la actividad citotóxica de los linfocitos. Sin embargo, muchos de sus mecanismos no son conocidos (Chedid., 1980)

-Factor tímico sérico: Este factor producido a partir del suero de ratones y cerdos normales, en un principio fue nombrado factor tímico circulante, más recientemente al determinar su secuencia de aminoácidos fue rebautizado como factor tímico sérico. Este factor es estable a temperaturas de 37 C y es relativamente resistente a pH ácidos, se ha podido producir sintéticamente y ha conservado sus propiedades inmunestimulantes entre las que destacan su capacidad de aumentar la

inducción y mitogenesis de las células T. (Chedid., 1980).

-Timopoyetina: La timopoyetina es una sustancia producida a partir del timo de diversos animales, posee un peso molecular de 5 562 Daltons y un pH de 5.3, su secuencia de aminoácidos ha sido delineada, encontrando en ella 49 aminoácidos. Al administrar esta sustancia se induce la diferenciación de células medulares a células T (Chedid., 1980).

Se han producido análogos sintéticos, tanto reproduciendo totalmente la molécula de la timopoyetina como de sus derivados, tales como: el tridecapéptido de timopoyetina, el cual posee solamente el 3% de la actividad linfoproliferativa de la timopoyetina (Chedid., 1980); el pentapéptido de timopoyetina, que induce o bloquea el sistema supresor según sea su dosis o la frecuencia de su uso (Lau., et al. 1981). Rico (1981) (datos sin publicar) probó el efecto del pentapéptido de timopoyetina en corderos Pelibuey y Black-Belly, encontrando en su experimento que no hubo ningún efecto benéfico en el uso de ésta sustancia sobre la presentación de diarreas, pneumonías así como tampoco hubo una disminución en la mortalidad o un aumento en la ganancia de peso de los animales.

-Timoestimulina: Esta sustancia trabaja de una mejor manera en animales cuya respuesta se encuentra deprimida o comprometida por procesos patológicos. La timoestimulina restaura la respuesta de anticuerpos, siempre y cuando se cuente con el tiempo óptimo necesario para que trabaje, ya que sus mejores resultados son en la última fase

del daño celular (Klein., et al. 1984). Pandolfi (1983) señala que la reducción de infecciones es significativa con este producto si se sigue el tratamiento bajo condiciones adecuadas.

Nikitenko (1984) realizó estudios administrando extracto tímico preparado por el método de V.P. Filatov (1983) vía subcutánea en 20 becerros de 2 meses de edad, con una segunda dosis a las dos semanas así como en 46 lechones inyectándolos a los 2, 3, y 15 días de edad y con una segunda dosis a los 7 días después del destete. El autor reporta que se tiene un incremento en la actividad lisosomal, un mayor número de linfocitos T y una mayor concentración de proteína sanguínea y hemoglobulina a los 2 y 3 meses de edad en los animales tratados.

INHUNOESTIMULANTES DIVERSOS.

VITAMINA A.

Otras formas de inmunestimulación con agentes biológicos las podemos observar en el uso de algunas sustancias como la vitamina A que ha mostrado ser capaz de aumentar la transformación linfocítica en el bazo, además de restaurar a la normalidad la inmunidad celular y humoral en animales tratados previamente con algunas drogas inmunosupresivas (Nuwayri., et al. 1985).

GLUCANO.

El glucano de las levaduras (en especial el del *Saccharomyces cerevisiae*), componente beta-1-3-poliglicosado de la pared celular, posee la propiedad de estimular el sistema reticuloendotelial así como el incrementar la inmunidad humoral y celular. Aunque todavía no se conocen perfectamente sus mecanismos de acción estudios recientes, sugieren que también puede potenciar la inmunidad antitumoral (Stites., et al. 1982).

LISOLECITINA.

La lisolecitina (2-lisofosfatidilcolina) es una sustancia que se encuentra presente en cantidades muy pequeñas como un fosfolípido menor en el plasma y en las membranas celulares (Chedid., 1980). Es una sustancia citotóxica si se administra en una gran cantidad, sin embargo, en pequeñas dosis, no solo no presenta ningún efecto citotóxico, sino que además se estimula el sistema inmunocompetente, estimulando las actividades de las células especializadas en la fagocitosis. Los mecanismos involucrados no son del todo conocidos, sin embargo se cree que una fosfolipasa (fosfolipasa A) juega un papel importante (Chedid., 1980). Como la lisolecitina es rápidamente metabolizada por dos enzimas (una fosfolipasa y la lisolecitina-aciltransferasa) se ha producido su análogo sintético, que no es metabolizado por estas enzimas y que conserva su actividad inmunestimulante.

De cualquier forma, la aplicación principal de la lisolecitina es debida a sus efectos contra las neoplasias, ya que induce la formación de macrófagos que poseen una mayor capacidad tumoricida debido

a que aumenta la activación de diversas enzimas y a que inhibe la producción de la 3-en-fosfatidilcolina producida por las células tumorales y que producen daño celular.

FACTOR CUERDA.

El término "factor cuerda" sirve para designar a los glicolípidos producidos por diversas bacterias (como Mycobacterium, Nocardia, Corynebacterium, Arthrobacterium, Brevibacterium). Químicamente son 6,6'-diésteres de alfa-alfa-D-trehalosa, por lo que se han podido producir análogos sintéticos. (Stites., et al. 1983)

Las más típicas preparaciones del factor cuerda se producen a partir del Mycobacterium bovis de una cepa atenuada de B.C.G., de Mycobacterium phlei y de Mycobacterium smegmatis. (Chedid., 1980)

El factor cuerda está constituido por dos partes: la primera es una serie de ácidos grasos denominados ácidos micólicos; la segunda es una serie de azúcares como la D-glucosa y sus derivados.

La toxicidad del factor cuerda ha sido uno de los mayores problemas que se han encontrado, sin embargo, algunos estudios han demostrado que la toxicidad de esta sustancia depende de la concentración en el aceite que se usa para diluirlo. (Chedid., 1980). Por otro lado, se ha observado que sus análogos sintéticos poseen la misma actividad inmunoestimulante y poseen las ventajas de que son menos tóxicos y de que no producen la reacción granulomatosa característica que se produce al usar el factor cuerda puro (Chedid., 1980).

Se ha demostrado que al administrar el factor cuerda (o sus análogos) se produce un incremento en la producción de anticuerpos, además, hay un incremento en la producción y actividad de linfocitos y macrófagos, se piensa que el mecanismo responsable de esto está ligado a los receptores de membrana que poseen las células mencionadas, y que reaccionan con el factor cuerda. Otra de las propiedades del factor señalado es que produce un aumento en la quimiotaxis de los macrófagos, se cree que esto lo realiza al estimular, ya sea al fibrinógeno, o a algunos constituyentes del plasma para producir un factor quimiotáctico.

El factor cuerda ha demostrado aumentar la inmunoresistencia no específica contra diversas infecciones bacterianas (por ejemplo contra *Salmonella typhi*, *S. typhisurium*, *Listeria monocytogenes* y *Klebsiella pneumoniae*), a parásitos (como *Schistosoma mansoni* y *Rebeisia microti*) (Chedid., 1980) y ha tenido una muy importante actividad contra tumores (por ejemplo, al combinarlo con el Murami1 Dipéptido, ha producido la completa regresión del Hepatocarcinoma en los conejos) (Chedid., 1980).

SUBSTANCIAS QUIMICAS

II.-Substancias químicas.

Existe toda una gran diversidad de substancias químicas en la naturaleza, sin embargo muy pocas de estas han sido investigadas en cuanto a su capacidad de producir inmunestimulación inespecífica. Las siguientes son algunas de las substancias que se ha demostrado que tienen esta capacidad.

LEVAMISOL.

El levamisol es una de las substancias químicas a la que se le han efectuado importante número de pruebas para establecer las bases de su efecto inmunestimulante.

Este isomero levógiro del tetramisol que es un polvo microcristalino, inodoro, con peso molecular de 240.75 Daltons, muy soluble en agua y muy sensible a cambios de temperatura, fue introducido en la Medicina Veterinaria en 1966 como agente antiparasitario (Goodman., 1980) (Syncens., 1980). Sin embargo ha demostrado que posee dos tipos de actividad clínica ya que si bien actúa como antihelmíntico y se ha

utilizado extensivamente de esta forma, también posee efectos como modulador de la respuesta inmune (P.Galtier., et al. 1983). (Ortiz., 1983).

En lo referente a los efectos inmunológicos del levamisol, se ha demostrado el compuesto restaura la respuesta inmunológica cuando ésta se encuentra deprimida o comprometida por factores patológicos o ambientales (A.Ortiz., 1983) y según Roth (1984) tiene poco o ningún efecto en células normales.

En los fagocitos la actividad del levamisol se ejerce sobre diferentes funciones celulares, incrementa la fagocitosis de polimorfonucleares o macrófagos (Sarkozy., 1980). aumentando también la hidrofília de éstos, así como el número de lisosomas y con esto la vacuolización citoplasmática (Sycoens., 1980).

El levamisol aumenta la quimioquinesis y la quimiotaxis (Stein., et al. 1983) y según los experimentos de Jayappa (1982) también aumenta la respuesta quimiotáctica y actividad receptora de la membrana para las inmunoglobulinas de la clase Ig G, para la fracción C3 del sistema de complemento, así como la adherencia de los anticuerpos.

El levamisol modula las funciones linfocitarias (Sakata., et al. 1984) aumentando la producción de mediadores solubles (Factor de Inhibición de la Migración Linfocitaria y Factor de Activación de los

Macrófagos), induce la proliferación de células T (Weese., et al. 1984) la formación de rosetas E y aumenta la actividad de los linfocitos supresores y de cooperadores (Anderson., 1984). También se menciona que aumenta la citotoxicidad de los linfocitos (al igual que la de los macrófagos) y la actividad lisosomal y peroxisomal de éstos así como la fitohemoaglutinación de los linfocitos en la sangre periférica (Confer., et al. 1981).

Las células B no son afectadas directamente por el levamisol, sino más bien, por un efecto secundario a la estimulación de las células T o de los macrófagos. Sin embargo, aumenta la producción de ácido nucleico y la síntesis de proteínas en los linfocitos (Symoens., 1980). El Levamisol induce a la producción de Interferón en leucocitos normales, aumentando a la vez su quimiotaxis (Stein., et al.) y por otra parte aumenta in vitro la producción de GMPc, y disminuye la producción de AMPc (Symoens., 1980).

El nivel bioquímico de exposición al levamisol está relacionado con un aumento en el ciclo intracelular del Guanosin Monofosfato que puede afectar la tubulina o los microtubulos; de este modo, se afectan algunas funciones del Leucocito tales como la motilidad y la secreción (Anderson., 1984).

Todas las anteriores son funciones de células maduras del mecanismo inmune, y la hipótesis desarrollada por Mery (1978) respecto a que el Levamisol se comporta como una droga antienergética mediante la estimulación de la maduración de las células de defensa de la

sangre nos ofrece una ayuda para explicar la actividad del Levamisol.

In vivo, el Levamisol puede obrar como un intermediario de la producción de un factor sérico que posee propiedades idénticas a aquellas de la Hormona tímica (Timopoyetina) que es responsable de la activación de los linfocitos T y los granulocitos (Espinasse., 1980) y se sugiere que ocupa el receptor correspondiente a dicha hormona en los leucocitos efectoras (Anderson.,1984).Lo anterior explica algunos trabajos como los de Kaneene (1981) quien encontró que en ganado infectado con A.abortus o al que se le aplicó la Cepa 19 previamente a la administración de Levamisol se encontraba una potencialización de la blastogénesis.

Las evidencias parecen mostrar que el Levamisol promueve una expansión o maduración de precursores de células T y convierte a las células de defensa (macrófagos y neutrófilos) en células efectoras funcionales.

Para desarrollar el efecto inmunestimulante,por parte del Levamisol se utiliza una posología diferente a aquella utilizada para su efecto antihelmíntico en las especies domésticas, es decir se usan 2 a 3 mg/Kg de peso vivo lo cual es aproximadamente la mitad de la dosis antihelmíntica (Grymer.,1982).Lo anterior es importante de tomar en consideración ya que utilizar dosis mayores nos provocaría una inmunosupresión del sistema inmunológico (Espinasse.,1980).

Una dosis única de levamisol permite obtener una respuesta del sistema inmunitario que tarda en aparecer por lo menos 48 hrs,por lo

tanto su efecto parecería ser adecuado solo si se administra 48hrs antes de la entrada de la bacteria al organismo (Anderson.,1984) por lo que los tratamientos intermitentes son mas eficaces que las administraciones continuas.

Roth (1984) señala que el Levamisol no es efectivo en preveer o regenerar los efectos supresivos de los glucocorticoides sobre la blastogénesis de linfocitos, o en la función de los neutrófilos. Por lo cual indica que si se administra éste al ganado bajo condiciones de estrés o bajo tratamiento con glucocorticoides, no prevendrá el incremento de la suceptibilidad a infecciones que se asocien con esta condición.

Irwin (1980) utilizó Levamisol para estudiar su efecto sobre una posible reducción de la morbilidad asociada a la Fiebre de Embarque,. Para su experimento utilizó 1474 animales a los que dividió en 3 grupos y a los que administró:

- Fosfato de levamisol (PD) (vía subcutánea).
- Clorhidrato de Levamisol (bolos orales).
- Tiabendazol (2-(4-tiazolil)-bencimidazol) (pasta oral).

Dicho autor encontró que el ganado tratado con fosfato de levamisol por vía subcutánea presentaba significativamente menor morbilidad asociada con la Fiebre de Embarque que el ganado tratado con clorhidrato de levamisol o Tiabendazol. Esta reducción de la morbilidad sólo se observó durante los primeros 8 días posteriores al trata-

miento. Los resultados anteriores sugerían que había dos distintas subpoblaciones, de animales una que responde al tratamiento y otra que no lo hace, lo cual pudiera estar relacionado con la susceptibilidad individual, la ruta de administración, o con el hecho de que el Levamisol no presentase efecto cuando es administrado en la fase de incubación de la Fiebre de Embarque o bien que el tratamiento en relación con la exposición natural o el estado del Sistema Inmuno Competente no fué apropiado. Sin embargo, se pudo demostrar que el ganado que había tenido menor tiempo de traslado (por lo tanto menor estrés) era en el que se había presentado un mayor efecto por parte del Levamisol, ya que presentó menor morbilidad.

El Levamisol ha sido estudiado por su efecto inmunoestimulante en diversas enfermedades. Steinbach (1987) usó este producto en vacas, y encontró efectos inmunoestimulantes, puesto que hubo aumento en la resistencia a la infección por Salmonella dublin desde el segundo día de tratamiento. Mitchell (1981) por su parte encontró que al aplicar Levamisol a vacas, estas aumentaban su resistencia a la Faciola hepática.

Pakhov (1985) señala que 29 de 35 vacas con Bronconeumonía Cattarral se recobraron con el tratamiento usual al que se le agregó además el levamisol, y que en contraste, en el grupo control (sin Levamisol) a los 15 días tuvieron una recalda 9 vacas y una murió.

Camacho (1982) administró levamisol en becerras Holstein, a las

que previamente se habían vacunado con Cepa 19 de *Brucella abortus*. Y encontró que se indujo una respuesta humoral más rápida, y con anticuerpos que alcanzan niveles superiores que los que se pueden alcanzar al utilizar solamente la cepa 19, lo cual nos muestra su efecto inmunoestimulante.

Las investigaciones sobre el efecto inmunoestimulante del Levamisol en aves no son muy consistentes, ya que, mientras Confer (1981) indica que el tratamiento con dicha sustancia estimula la fitohemaglutinación en gallinas normales así como en aquellas inoculadas con el virus de Marek. Ortiz (1983) reporta que aunque aumenta la respuesta de los linfocitos, no se produce una mayor resistencia a la enfermedad señalada.

Olah (1981) utilizó el levamisol en las aves y encontró que se aumenta el número de basófilos, y que sin embargo, no hay cambio en los fagocitos mononucleares.

Aguilar (1985) administró levamisol en pollo de engorda 48 hrs después de haberlos vacunado contra la Enfermedad de Gumboro, encontrando que no se produjo una potenciación de la respuesta inmune.

Rico et al. (1983) utilizaron el levamisol en cerdos durante la lactancia, encontrando que el levamisol no disminuye ni la morbilidad ni la mortalidad de estos animales a las enfermedades típicas del período de lactancia. Sin embargo, Pérez, et al (1987) aplicó levamisol en lechones neonatos encontrando que se produce un aumento en las gammaglobulinas séricas circulantes, como también que existe una disminu-

ción en la morbilidad y mortalidad de los lechones aunado a una mayor ganancia de peso durante la lactancia.

Como ya se indicó, el levamisol actúa de una mejor forma en las células inunodeprimidas, por lo que no es raro observar que en casos de neoplasias se utilice conjuntamente con la quimioterapia (Theilen., et al. 1982). Aparentemente, hay un aumento en la capacidad de respuesta del sistema inmune después de los efectos inmunosupresivos de la quimioterapia y además, como una de las propiedades del levamisol es la de reducir el grado de metástasis del tumor, se puede utilizar con éxito en una terapia mezclada. (Weese., et al. 1984).

POLIANIONES.

Entre los polianiones se encuentran los ácidos nucleicos de cadena doble, los cuales tienen un efecto coadyuvante que acorta el período de provocación e intensifica la reacción inmunogena humoral. Lo anterior hace interesante el uso de dichas sustancias ya que pueden tener diversas aplicaciones clínicas (Theilen., et al. 1983).

Es importante destacar aquí que para que estos efectos se produzcan, es necesario que estos productos posean una doble cadena, ya que los de cadena simple muestran una insignificante o nula actividad esto debido tal vez a su rápida destrucción por la acción de una nucleasa plasmática (Chedid., 1980).

Se ha demostrado que cuando se administra un antígeno en dosis

subóptimas con ciertos polianiones como el Sulfato de Dextrán, el POLI I:C (Acido Polinosínico-Policitidílico) y el POLI A:U (Acido Poliadenínico-Poliuridílico) se intensifica el efecto de numerosos antígenos Timo-dependientes (aunque no el de los Timo-independientes). También se ha demostrado que los polianiones aumentan In vivo el número de células de memoria (O.H.S.,1980) (Chedid.,1980). Su actividad como adyuvante depende del tamaño molecular del esqueleto del polímero y de la naturaleza química de los grupos aniónicos, tales como el Sulfato, Carboxilato, y Fosfato.

Cuando son administrados solos, los polianiones suelen provocar la mitosis de los linfocitos B, así mismo ocasionan un incremento en el número de linfocitos en las zonas T del Bazo.

El blanco primario de algunos de estos (y se cree que de todos) polianiones (como el POLI A:U) son las células T (Gainer.,1982), con un efecto en la membrana celular, relacionado a cambios en el metabolismo de los Acido-Nucléicos. Esto se cree que se produce mediante receptores de membrana, específicos a la conformación de la doble cadena de los polianiones (Chedid.,1980).

Se ha observado que los polianiones son capaces de activar tanto a los linfocitos T cooperadores como a los linfocitos T supresores, sin embargo la activación de los linfocitos T cooperadores es la primera que producen siendo la activación de los linfocitos T supresores relegada a condiciones especiales como las descritas por Chedid

(1980). Los polianiones producen un aumento en la mitogénesis de las células T, y de igual manera inducen a dichas células a producir linfocinas más rápidamente (Chedid., 1980), y al mismo tiempo aumentan las células T citotóxicas (O.M.S., 1980). También inducen la liberación de factores solubles de las células T, lo que incrementa la respuesta de formación de plaquetas (Gainer., 1982). Por otra parte, los polianiones inducen la formación y potencializan la actividad de las células NK (Natural Killer). Con respecto a las células B los polianiones incrementan su proliferación y actividad, mediante un efecto mitogénico.

Los polianiones aumentan de manera variable la producción y el tiempo de vida de diversas clases de inmunoglobulinas, tales como la Ig G e Ig E, estimulan la producción de interferón (Chedid., 1980), (Gainer., 1982) e inhiben algunos de los factores del sistema de Complemento, como el C1q. Asimismo, aumentan la síntesis y secreción de proteínas en las células de los acinos pancreáticos e igualmente han demostrado poseer un efecto de maduración de los macrófagos, aumentando su actividad citotóxica (estimulan la producción de H₂O₂ y la oxidación de la glucosa (Chedid., 1980).

Un efecto especial reportado por Bick y Moller (1984) fué la activación policional de linfocitos T citotóxicos en ausencia de antígeno. Después de 12 hrs de cultivo con POLI A:U los linfocitos destruyeron a las células blanco. El mecanismo por el cual actúan parece ser através de un estado tardío disparador de linfocitos ci-

totóxicos, todo parece indicar que el proceso no requiere síntesis de DNA y/o Expansión Clonal. Estas sustancias han demostrado poseer los mismos efectos inmunoestimulantes al aplicarlos por cualquier vía, sin embargo, se debe observar su dosificación, ya que pueden producir una toxicidad aguda (Chedid., 1980).

Dinitroclorobenceno.

(D.N.C.B)

Este es un producto químico sensibilizante que estimula el incremento en los niveles celulares localmente, asimismo, la Reacción de Hipersensibilidad Tardía.

El Dinitroclorobenceno se ha utilizado ampliamente y con éxito considerable en el tratamiento de neoplasias de piel y tejido subcutáneo en humanos. (Chedid., 1980) (Theilen., et al. 1982).

En perros se ha utilizado en el tratamiento del carcinoma de células escamosas inducido por los rayos solares con éxito considerable (Theilen., et al. 1982).

OTROS:

Existen algunas otras sustancias que se han investigado por su efecto de inmunoestimulación inespecífica, entre los que más destacan se señalan a continuación:

ATRAZINA y PROMETRYNA

La Atrazina y la Prometryna son herbicidas muy usados en el control de las plagas vegetales Giurguea (1981) lo suministró diariamente durante un período de 60 días a 130 ratones de 30 días de edad, al día número 60 del experimento aplicó el antígeno (E. coli). Posteriormente se incrementó la cantidad de herbicida administrada hasta que los ratones murieron, lo que sucedió a los 7, 14 y 21 días después de aplicado el antígeno. Se tuvo un grupo control al que no se le suministró herbicida (pero sí antígeno). Después de lo anterior se determinó el número de leucocitos y se obtuvo lo siguiente: el grupo tratado con herbicida presentó un conteo mayor de leucocitos, títulos más altos de anticuerpos inespecíficos en el suero y concentración de gammaglobulinas más alta que la de los ratones del grupo control. Como un aspecto interesante de comentar, está el hecho de que los ratones del grupo que murieron a los 21 días, presentaron a los 14 días de inyectado el antígeno una leucocitopenia, para inmediatamente después regresar a la normalidad.

PROPENADIENAMINA.

Woodard, et al. (1983) estudiaron el efecto inmunoestimulante de la Propienadenamina (N,N-dioctadecyl-N',N'bis(2-hydroxy ethyl)) la cual suministraron a vacas por vía intramuscular, previa inocu-

lacion con E.coli. En dicho estudio se observó un incremento en la actividad bactericida de los neutrófilos contra la E.coli durante 3 días después de la administración del producto en su dosis más baja . Se pudo observar que este efecto requirió la presencia de anticuerpos, pero no del Sistema de Complemento, y que el aumento de la actividad bactericida fue debida a los neutrófilos y no a los factores séricos. Sin embargo la actividad bactericida disminuyó después del período de pruebas, inclusive, dentro de los tres días no todos los animales conservaron tan alto su poder bactericida. No se encontró correlación entre los títulos de aglutininas de anticuerpos y el nivel de inhibición de crecimiento; además, los títulos de anticuerpos permanecieron constantes. Es decir, el efecto del producto se centraliza sobre los neutrófilos.

VARIOS:

Algunas drogas de diversa composición química han mostrado tener un efecto inmunoestimulante tal es el caso del Bendazol que es un vasodilatador y espasmolítico que al aplicarlo en aerosol a los pollos de engorda les provoca un aumento en la actividad lisosomal (Khlopina., 1965). Otras drogas que aumentan la actividad bactericida de los fagocitos, ampliando la actividad fungicida de los macrófagos son el Prodigiosan y el Propanolol (Medvedev., 1964) y a su vez, producen un decremento en la capacidad fungicida de los neutrófilos

con respecto a los dermatofitos. La Colchicina es otra sustancia que evita la generacion de células supresoras antígeno específicas y esto parece actuar como un mecanismo de actividad adyuvante. La actividad de las células T supresoras es bloqueada, y se permite el funcionamiento de las células T cooperadoras. Otras drogas que bloquean las células T supresoras son la Ciclofosfamida, el Indometacin, los Corticosteroides sin embargo la Colchicina es en ese sentido la más importante debido a que las otras poseen un limitado rango entre la actividad inmunoestimulante y la toxicidad (Theilen., et al. 1983).

CASEINA.

La caseina es una de las proteínas contenidas en la leche, ha sido estudiada por su efecto inmunoestimulante, ya sea al administrarla por vía subcutánea (sóla o combinada con yodo) o al administrarla en el suero de leche. Se sabe que la caseina es efectiva en procesos agudos, subagudos y crónicos de origen infeccioso y no infeccioso, como por ejemplo en enfermedades cutáneas, diversos tipos de granulomas (como el actinomicoma de la lengua, laringe y faringe, y la botriomicosis de la piel (Chedid., 1980). Sin embargo no se conocen aún todos los mecanismos involucrados, mas se sabe que estimula de una manera notable la producción de macrófagos mediante la estimulación de la producción de colonias precursoras de macrófagos (O.M.S., 1980) y de los mediadores involucrados (Chedid., 1980). Recientes estudios nos marcan que potencializa algunos factores humorales como el sistema de opsoninas y el sistema de Complemento (Bach., et al. 1982) y ademas induce la proliferación de linfocitos T.

SUBSTANCIAS MINERALES

Algunas sustancias minerales han demostrado poseer efectos inmunostimulantes, entre las más utilizadas encontramos:

Aluminio.

Los antígenos precipitados con alúmina durante su preparación, son liberados lentamente del lugar de aplicación (Herbert., 1981). De la misma manera la aplicación de antígenos precipitados con dicha sustancia se refleja en el hecho de que en el ganglio linfático se desarrollen plasmocitos productores de anticuerpos en mayor número y durante más tiempo comparativamente con la aplicación de la misma dosis en solución simple (a base de antígenos no precipitados con alúmina). La mayor estimulación de los plasmocitos obedece probablemente a que los macrófagos engloban la sal de aluminio portadora del antígeno y así se obtiene un efecto inmunógeno mayor que con la misma cantidad de antígeno soluble. También se observa una considerable dispersión de los macrófagos que contienen alúmina hacia los ganglios linfáticos regionales (O.M.S., 1980).

Al administrar el aluminio solo, en su forma de Hidróxido de Aluminio, se ha observado también que se estimula la respuesta inmune. Mannhalter (1925) indica que incrementa la inducción de las células T en la primera fase de la respuesta. También es eficaz para pro-

mover la síntesis de inmunoglobulinas de la clase Ig E. (en conejos y roedores) (O.M.S., 1980). Taylor (1980) concuerda con esto, ya que en su experimento al utilizar gel de Hidróxido de Aluminio en ratones, encontró que aumenta por lo menos 16 veces la producción de anticuerpos Ig E en comparación con los animales a los que no se les administró el gel.

Otras formas de utilizar el Aluminio es como Fosfatos y como Oxido de Aluminio, se ha encontrado que las concentraciones de anticuerpos contra los antígenos cuando se utilizan éstos adyuvantes son altas, aunque de corta duración (O.M.S., 1980).

Adyuvante Incompleto de Freund.

El Adyuvante Incompleto de Freund (AIF) (también llamado Coadyuvante Incompleto de Freund) es una emulsión de agua en aceite mineral de baja densidad, empleando como emulsionante Arlacel A (forma impura del Ester de manitol y Acido Oléico) (O.M.S., 1980) (Herbert., 1981).

Aunque su uso más extendido es como coadyuvante, en la actualidad se ha empezado a investigar su potencial como inmunoestimulante al inocularse solo.

Los coadyuvantes en emulsión de agua en aceite parecen actuar de tres maneras: (O.M.S., 1980), Bach., et al. 1982).

- 1.- En el lugar de la inyección se forma un depósito que libera lentamente el antígeno emulsionado.

2.-La emulsión sirve para transportar el antígeno a múltiples focos de todo el sistema linfático.

Al administrar el AIF solo (sin antígeno), se pueden observar propiedades inmunestimulantes muy importantes. Una inflamación diseminada involucra la proliferación de células reticuloendoteliales, si se le agrega una inyección de fracciones oleosas (no antigenicas) como el adyuvante, se causa hipertrofia e hiperplasia de las células capaces de formar anticuerpos y así se preparan para funcionar más efectivamente contra la enfermedad (O.M.S., 1980). Cueninck (1981) investiga la influencia del AIF, en la secreción de inmunoglobulinas en el calostro y la leche, dicho autor aplicó en el nódulo linfode pre-escapular el AIF a vacas en el momento del parto. La finalidad del estudio fué la de examinar el posible efecto del adyuvante, así como diferenciar si existe una estimulación para la síntesis de inmunoglobulinas o si hay transporte transepitelial de las mismas. Se encontró que el conteo de anticuerpos en suero sanguíneo y de leche aumentó después de la segunda inyección de AIF en el grupo tratado, comparativamente con el grupo control.

En cuanto al transporte transepitelial de inmunoglobulinas no hubo diferencia entre el grupo control y el tratado.

En 1984 Cueninck realiza un estudio parecido, al anterior en el que sensibiliza con albumina de huevo vacas gestantes, y les administra AIF al cuarto día de la lactación. Los títulos de anticuerpos con-

tra la albúmina de huevo en el suero sanguíneo aumentaron y se prolongó la secreción de anticuerpos específicos en la leche.

Nabuurs (1982) utilizó el AIF para prevenir la enfermedad del edema post-destete al administrarlo intraperitonealmente en más de 7000 cerditos. Sus resultados indican que existe un efecto favorable en cuanto a la disminución en las tasas de mortalidad (reduciéndose éstas del 10 al 3%). En dicho estudio también se señala una disminución en el uso de antibióticos requeridos para tratar a los animales afectados de diarrea.

Selenio.

El Selenio es uno de los pocos metales que en general potencia la respuesta inmune en lugar de suprimirla, en sí, la deficiencia de Selenio nos produce inmunosupresión, lo cual es un dato práctico importante, ya que algunos pastos son deficientes en éste mineral.

El Selenio aumenta la respuesta inmune y tiene un papel en la respuesta inflamatoria, su participación se asocia con la actividad de la enzima glutatión peroxidasa y la actividad microcidal en neutrófilos y macrófagos peritoneales y alveolares. (Koller., et al 1982).

En cabras se ha reportado que el deterioro en la migración de los Polimorfonucleares (PMN) se asocia con la deficiencia de Selenio, además dichos PMN muestran una disminución en la producción de un

potente factor neutrofílico quimiotáctico cuando se sometieron a estudios de estimulación *in vitro* con calcio y al comparar con los PMN de las cabras control (Koller., *et al.* 1982).

La deficiencia de Selenio también puede verse reflejada en una disminución de la producción de factores fisiológicos que regulan la respuesta de migración de los PMN. Por ejemplo el Factor de Inhibición de migración de los Leucocitos (MIF) el cual producen los linfocitos en respuesta a la activación por mitógenos o antígenos específicos. Este factor inhibe la migración de los PMN por acción directa sobre las células y mediante la liberación de otros inhibidores quimiotácticos, e influencia la acumulación de PMN en reacciones de hipersensibilidad retardada. Para demostrar lo anterior, Aziz (1985) utilizó cabras a las que suministró niveles deficientes de Selenio y niveles normales. Encontró que una deficiencia moderada de Selenio reduce la producción del Factor Inhibidor de Migración de los Linfocitos, sin embargo, se pudo determinar que la producción y blastogénesis de los linfocitos no se afectaba por lo que se deduce que estos parecen responder selectivamente a la deficiencia del mineral.

Estudios *in vitro* demuestran que la deficiencia de Selenio juega un papel muy importante en la migración de los PMN, ya que se inhibe la producción del factor inhibidor (el que modula *in vivo* la migración de los linfocitos) (O.M.S., 1980).

Por todo lo anterior es recomendable vigilar que exista un aporte suficiente de Selenio en la dieta de los animales, sin embargo la

administración de este mineral debe estar estrictamente programada, ya que una sobredosis también nos puede acarrear problemas (Koller., et al. 1982).

La administración de selenio como adyuvante o inmunestimulante también ha demostrado ser favorable, por ejemplo aplicándolo después de una vacunación, sin embargo, parece ser que los estudios hechos se han enfocado más hacia aspectos inmunológicos relacionados con la deficiencia de dicho mineral.

Zinc.

El Zinc es un elemento importante para el buen funcionamiento del sistema inmunológico, se ha observado que bajos niveles de éste mineral en el organismo lo afectan. Flynn (1985) nos indica que niveles normales de Zinc, Cobre y Magnesio, son necesarios para una buena proliferación de los linfocitos T.

Una forma común de utilizar este mineral es como Sulfato de Zinc. Katitch (1985) lo utiliza de ésta manera para elevar los niveles de anticuerpos en animales afectados con "gabarro", encontrando en sus experimentos que administrando el Sulfato de Zinc cuatro horas después de una vacuna polivalente contra el microorganismo causante de dicha afección es el momento más favorable para lograr la producción de anticuerpos. El autor menciona que los títulos contra el

Bacteroides necrophorus se incrementaron en un 233% después de una segunda aplicación de Zinc (se administraron cuatro inyecciones, una diaria después de vacunar a los animales), contra el Corynebacterium pilosum en un 400% y contra el Clostridium perfringens en un 65%, lo que nos habla del efecto inmunestimulante del mineral.

SUBSTANCIAS SINTETICAS

III.- Substancias Sinteticas

Los innocestimulantes sintéticos son las substancias mas noveozas que se han utilizado, la mayoría de éstas reproducen los efectos de las substancias hormonales del organismo, encontrando que sus efectos son mayores y más específicos, por lo que poseen una mayor actividad innocestimulante. Si bien, es cierto que algunas substancias se encuentran de manera normal en el organismo, también es cierto que se hace más práctico en ocasiones el producirlo artificialmente que extraerlos.

Algunos de éstos son por ejemplo aquellos que reproducen los efectos de las substancias del timo tales como :Tuftsina, timosina, timopoyetina, timoestimulina, etc. (Ver hormonas tímicas y sus análogos).

TUFTSINA.

La Tuftsina es un tetrapéptido base (Tirosinil-Lisínil-Prolínil-Arginínal) el cual se deriva de la región Fc de la innooglobulina de la clase Ig G (Teudent., *et al.* 1983) y es capaz de potencializar la respuesta de los anticuerpos frente a antígenos T dependientes, asimismo estimula la actividad fagocítica y bactericida de los leucocitos polimorfonucleares y de los macrófagos (Theilen., *et al.* 1982).

Se ha observado que la tuftsina aumenta la respuesta linfoproliferativa, mediante un mecanismo que involucra a los macrófagos (Che-

did.,1980).Este mecanismo no se encuentra bien definido,pero se cree que la exacerbación de las actividades de los macrófagos por la tuftsina hace que se secreten factores linfoproliferativos(Stites.,et al 1983).La tuftsina aumenta la actividad de los macrófagos,estimulando en gran medida la fagocitosis (se cree que esto es debido a la secuencia de los aminoácidos de la tuftsina)(Chedid.,1980).

La acción de la tuftsina se media por un receptor específico, localizado en la superficie de las células anteriormente mencionadas (Muecke.,1984). Y parece que esta acción es controlada mediante las propiedades estero-específicas del tetrapéptido,determinadas por la secuencia de sus aminoácidos (Chedid.,1980).Su acción es potencialmente mayor cuando se realiza en presencia de dos aminoácidos Prolina y Arginina) de los cuales parece que es dependiente (Student.,et al.1983).

Parece ser que el nivel bioquímico al que actua la Tuftsina es sobre el metabolismo celular,involucrandonse en la distribución de Calcio ++,así como con los nucleótidos cíclicos tales como el AMPc y el GMPc.También se ha reportado el efecto de la tuftsina a nivel de los procesos Red-ox de la célula y sobre la vía de la Hexosa-monofosfato(o vía de las pentosas) (Muecke.,1984).

La actividad de este tetrapéptido es mayor que la de muchos otros inmunestimulantes,ya que no induce la inmunosupresión,y su toxicidad es muy baja.Por lo que funciona bien contra enfermedades del tracto respiratorio,como las producidas por Neumococos (Chu.,et al.

1985) y también contra las enfermedades del tracto gastrointestinal. (Muecke.,1984).

Además, en pruebas iniciales dentro del tratamiento de neoplasias ha trabajado muy bien (Theilen., *et al.* 1982). Sin embargo, por ser una sustancia cuyo conocimiento es reciente, se hace necesario una investigación más detallada de sus efectos lo cual se justifica decididamente ya que esta sustancia junto con otras, quizá sean la base para una nueva profilaxis y terapia.

Otras sustancias inmunoestimulantes, de origen sintético son:

AZINEXON

El Azinexon (N°2,3N,A119) es un adyuvante sintético capaz de aumentar la Reacción de Hipersensibilidad Retardada y la formación de anticuerpos, así como la circulación de linfocitos T. Potencializa la respuesta a antígenos T dependientes y T independientes y se supone que activa a los macrófagos para ser citoestáticos a células tumorales (Theilen., *et al.* 1982). Además, reduce los efectos inmunosupresivos de drogas o factores físicos como la Ciclofosfamida y la irradiación respectivamente. La utilización de esta sustancia como inmunoestimulante debe hacerse cuidadosamente, por ejemplo en cuanto al tiempo de administración, ya que pueden producirse efectos inmunosupresores (Andrade., *et al.* 1986).

MURAMIL DIPEPTIDO.

El Muramil Dipéptido (MDP) es una sustancia sintética (N-Acetil-muramil-L-Alanil-D-Isoglutamina) de la cual se ha reportado que se trata de la estructura mínima esencial que duplica la actividad del extracto microbacterial del Adyuvante Completo de Freund para aumentar la respuesta inmune.

El MDP ha demostrado ser eficaz al administrarse por cualquier vía y debido a que este glicopéptido sintético es activo cuando se administra en un medio acuoso, se logra eliminar el efecto indeseable de formación del granuloma característico de la aplicación de una emulsión de aceite en el agua (Chedid.,1980) (Theilen.,1983).

Se han reportado algunos problemas de pirogenicidad por parte del producto, sin embargo, se ha concluido después de diversas investigaciones que la pirogenicidad y el corto estado de leucopenia subsiguiente a ésta, se encuentran en un perfecto estado de correlación con respecto a la acción inmunoestimulante que produce el MDP (Chedid.,1980). Pero para eliminar posibles problemas, se han realizado pequeñas modificaciones a la estructura de la molécula, con lo que se elimina esta situación. Así se ha podido conocer la estructura del MDP y se han producido sustancias análogas, productos sintéticos que poseen características parecidas a las del MDP. (Chedid.,1980).

Se cree que el MDP produce diversos efectos sobre el sistema inmunológico, uno de los más importantes es el que se piensa que ejerce sobre las células T, ya que parece que el producto altera el equili-

brio entre el linfocito T cooperador y el linfocito T supresor, resultando en un aumento en el efecto del linfocito T cooperador. También se ha observado el posible efecto del MDP sobre otro tipo de células, ya que parece incrementar la respuesta inmune a antígenos T independientes (Chedid., 1980).

Otros estudios indican la posibilidad de que los linfocitos B sean el blanco de la actividad del MDP, y que el MDP puede activar directamente a los macrófagos (mediante receptores de membrana) los que al activarse producen diversos factores solubles, algunos de estos, son pirógenos endógenos que producen aumento de temperatura. Otro de estos factores produce la mitogénesis de los timocitos y probablemente se trate del factor activador de los linfocitos. Al mismo tiempo, el MDP induce a los macrófagos a producir un mediador que activa la proliferación de los fibroblastos inactivos. Sin embargo, el MDP no ha mostrado tener efecto sobre los niveles de inmunoglobulinas si no se aplica conjuntamente con un antígeno, mas al administrarlo con uno de estos, aumentan los niveles de inmunoglobulinas de la clase Ig G. (Chedid., 1980).

Estudios en ratón, indican que el MDP puede aumentar la producción de anticuerpos mostrando algunas clases de restricción, ya que la Ig G1 es favorecida de manera particular. Sin embargo, cuando el producto fue utilizado conjuntamente con ACF o gel de Aluminio las subclases de inmunoglobulinas Ig G1, Ig G2, e Ig G2b fueron todas estimuladas. Esta capacidad del Muramil Dipéptido para restringir la estimu-

lación de subclases de Ig G puede ser de valor clínico. (Chedid., 1980) (Theilen., 1983) (Stites., et al. 1983).

ISOPRINOSINE.

El Isoprinosine es una droga sintética, a la que se le ha estudiado su efecto inmunoestimulante. Tsang (1982) utilizó este producto junto con Concavalina A en Hamsters y ratones a los que se les había inducido Osteosarcoma Humano. La finalidad era observar el efecto de la substancia sobre la proliferación de linfocitos, la respuesta quimiotáctica de los monocitos y la citotoxicidad de las células K. en los animales a los que se les administró el producto. El Osteosarcoma Humano se indujo en los fetos días antes del parto.

In vitro, el Isoprinosine (mas Concavalina A) se reflejó en incremento de la proliferación de los linfocitos en la sangre periférica de Hamsters normales en 23.4-48.9% y en sangre de animales con el tumor en 58.1-107.4% por arriba del grupo control (al que solo se le había administrado Concavalina A).

In vivo (por aplicación intraperitoneal) se incrementó la proliferación de los linfocitos en sangre periférica en ratones normales y con Osteosarcoma en un 50-55% al día 1, 3, y 5 de inyectados. La res-

puesta quimiotáctica de los monocitos en animales con Osteosarcoma se aumentó en un 59.1-97.4% al día 1,3,y 5 de inyectados y la citotoxicidad de las células K se aumentó a los días 1,3,y 5 en un 31.7-83.6% en ratones normales y en 54.6-134% en ratones con Osteosarcoma.

De acuerdo con los resultados anteriores se cree que el Isopri-nosine pueda producir un aumento generalizado de la función inmune, tanto en animales sanos, como en aquellos en que se encuentre deprimido su sistema inmunocompetente, ya que se sabe que algunas enfermedades (en especial algunas ocasionadas por ciertos virus) causan inmunosupresión, por lo que estos inmunostimulantes pueden ofrecernos una posibilidad terapéutica en tales casos (Darlath, *et al.* 1984).

INOSIPLEX.

El Inosiplex, complejo de la sal del ácido p-acetamidobenzoico N,N-dimetilamino-2-propanol:inosal (proporción molar 3:1) ha demostrado aumentar *in vitro* la función de las células T y la actividad de los macrófagos. Esto incluye la aparición de marcadores de células T y la amplificación de la respuesta linfocítica a los mitógenos. Al parecer esta propiedad se debe a la síntesis de un factor mitogénico cooperador mediado por linfocitos tratados con Inosiplex. *In vivo*, también incrementa la formación de anticuerpos, las funciones de las células T y la actividad de los macrófagos: (Stites, *et al.* 1982).

También se ha observado que restaura de la inmunosupresión a las

células T en los enfermos cancerosos después de la radioterapia, potencia la actividad antiviral y antitumoral del interferón y retarda la aparición temprana de autoinmunidad y el desarrollo temprano de tumores en ratones cepa NZB/NZW tratados con interferón (Stites, et al. 1962).

**OTRAS FORMAS DE INMUNESTIMULACION
INESPECIFICA.**

IV.- OTRAS FORMAS DE INMUNOESTIMULACION INESPECIFICA.

Otras formas de producir inmuoestimulación inespecífica, provienen de ciencias muy antiguas, que la "medicina científica" de occidente desechó por mucho tiempo por considerarlas poco serias y científicas. Sin embargo, en los últimos años dada su importancia se ha empezado a investigar "científicamente" sus verdaderos alcances. Se ha podido observar que éstas formas de medicina son un camino diferente que nos pueden llevar a nuestro objetivo final, que es la salud.

Debido a sus características y a que ha mostrado efectos positivos, la difusión de estas ciencias en el mundo occidental ha sido rápida, sin embargo, de su cuidadoso estudio podremos determinar en que procesos éstas ciencias nos podrán brindar una verdadera ayuda, ya sea utilizandolas solas, o uniéndolas a otras terapias.

ACUPUNTURA.

La acupuntura es una ciencia ancestral nacida en el Valle del Rio Amarillo en China (Zendejas., et al. 1981) aproximadamente en el año 400 A.C. (Hwang. 1981). La acupuntura consiste en la introducción de agujas en puntos determinados diseminados en el cuerpo, y posee reglas, indicaciones, contraindicaciones y limitaciones emanadas de la filosofía Taoista (ya que de las concepciones de esta filosofía se

desarrolló la acupuntura) (Sumano, et al. 1981). La acupuntura se eclipsa con la fundación de la República China y es hasta el advenimiento de la República Popular China cuando resurge y toma importancia en el mundo occidental (Zendejas, et al. 1981).

Apartir de la acupuntura se han desarrollado otras técnicas que utilizan los mismos puntos de estimulación en el cuerpo. Klide (1981) nos divide estas técnicas de la siguiente manera:

1.-Moxibustión:

- a) Cauterización. En la cual se aplican agujas calientes en los puntos requeridos.
- b) Método de la avena en vinagre. Se mezcla avena y vinagre en una bolsa, ésta se calienta a 40°C y se coloca en el punto elegido manteniendo este punto a la misma temperatura por lo menos durante una hora.
- c) Método del vinagre líquido. Se calienta el vinagre a 40°C y con él se dan baños a el animal siguiendo ordenes establecidos según sea el punto a estimular.
- d) Método de las ventosas. Se colocan ventosas en los puntos deseados.
- e) Moxa moxibustión. Se utilizan agujas producidas de la madera del árbol de moxa.

2.-Electroacupuntura. Se usa electricidad para estimular un punto específico.

3.-Electroestimulación. Se usa electricidad para estimular más de un punto a la vez.

- 4.-Método por luz infrarroja o por rayos laser.Se utilizan estos tipos de luz para estimular el punto deseado.
- 5.-Método por magnetismo.Varios tipos de energía electromagnética se usan, el más común es la luz ultravioleta.
- 6.-Método por ultrasonido.Se utiliza un aparato de ultrasonido para estimular el punto deseado.
- 7.-Masaje (acupresión o digitopresión).Se utiliza la presión digital
- 8.-Algunas variantes de la acupuntura como la acupuntura congelante,etc.

Es importante puntualizar que la acupuntura no es una panacea, y que en China sólo constituye una parte de la Medicina Veterinaria, ya que sólo en situaciones muy específicas se usa como única alternativa, que hay situaciones en que no se usa y otras en las que se combina con Herbolaria, Medicina Alopática, Medicina Homeopática, Cirugía, etc. (Zendejas, *et al.* 1981). El redescubrimiento de la acupuntura por el mundo occidental es uno de los eventos significantes de la medicina en los últimos diez años (Clifford., 1981).

Con el uso de la acupuntura se ha observado efectos positivos en diversas enfermedades, por lo que se han logrado establecer nuevas terapias, esto ha hecho que se investiguen los mecanismos responsables, sin embargo muchos de ellos son aún desconocidos (Clifford., 1981).

En el sistema inmunitario, la acupuntura ha demostrado tener gran inferencia, ya que además de que existen puntos específicos para producir inmunestimulación, al utilizarla para el tratamiento de enfermedades específicas, paralelamente se estimula al sistema inmunológico.

En humanos, al utilizar la acupuntura como tratamiento en el asma bronquial, se estimulan diferentes índices inmunológicos, aumenta la actividad de los macrófagos, así como la transformación de linfocitos T a linfocitos T cooperadores, al mismo tiempo, incrementa la producción de inmunoglobulinas de las clases Ig A, Ig G, Ig M, Ig E y activa el sistema de complemento por medio de la fracción C3 (Conghe., 1980).

Otro estudio realizado por un grupo de investigadores del hospital de Guangmen (1980) recopilado en las memorias de la reunión de acupunturistas de Norteamérica de 1981, nos indica que al utilizar a la acupuntura como anestesia para realizar la histerectomía abdominal se están estimulando al mismo tiempo los niveles de inmunoglobulinas de la clase Ig G.

La utilización de la acupuntura como anestesia es cada día mayor, al realizar el ligado de trompas, Aijung (1980) utilizó este método, encontrando que en 50 pacientes, los niveles de leucocitos aumentaron en relación al grupo control. Además, la actividad de la fosfatasa alcalina de los neutrófilos aumentó durante la operación y a su vez, disminuyó ligeramente el contenido de glucógeno de los neutrófilos durante ésta.

Este tipo de observaciones, han llevado a los científicos a rea-

lizar estudios más detallados sobre la influencia que sobre el sistema inmunitario posee la acupuntura. Así el doctor Roberto Gonzalez (clínica privada, comunicación personal) (1987) nos indica que la acupuntura aumenta la producción de linfocitos T y B, a la vez que activa su distribución en la sangre periférica, esto ya lo establecía Lin (1980), al indicar que en diversos experimentos se había observado que al utilizar la acupuntura, los niveles de linfocitos T y B aumentaban, pero que sin embargo, existen algunos puntos que producen el bloqueo de la producción de linfocitos y algunos más, que nos llegan a producir inmunosupresión.

La acupuntura tiene un efecto estimulador sobre los neutrófilos (Jinzhang., *et al.* 1980) y sobre los leucocitos, ya que produce un aumento de éstos en la sangre (Gonzalez., 1987) así como un aumento en la función fagocítica de éstos (Lin., 1980). En si, la acupuntura estimula la función fagocítica del sistema reticuloendotelial, y también estimula al sistema de opsoninas (Gonzalez., 1987). De la misma forma, animales irradiados con rayos X que presentan leucopenia, recobran de una manera más rápida sus valores normales al someterlos a un tratamiento acupuntural (Lin., 1980).

Se ha observado que las respuestas que produce la acupuntura en los diferentes cuadros o aún en pacientes con una misma enfermedad no son las mismas, sin embargo, en general se tiene una gran estimulación de la producción de inmunoglobulinas del tipo Ig M e Ig G (Yuzheng., *et al.* 1980), no produciéndose cambios considerables en los niveles de las demás. La acupuntura posee un efecto estimulante sobre el sistema

de proopendina, produciendo un pico máximo de esta substancia en la sangre a las 12 hrs posteriores a la punción (Gonzalez., 1987). Asimismo, se produce un aumento en los niveles del sistema de complemento sobre todo la fracción C3 (Lin., 1980) (Gonzalez., 1987 y por otra parte, se aumentan los niveles de aglutininas (Yuzheng., 1980).

Los mecanismos por los cuales la acupuntura estimula el sistema inmune no son bien conocidos. De cualquier forma, el Sistema Nervioso Central y el Sistema Nervioso Periférico (incluyendo el Sistema Nervioso Autónomo y el Sistema Neuroendócrino) intervienen, Lin (1980) sugiere el siguiente mecanismo:

- 1.-Las señales producidas por los puntos acupunturales son transmitidas por nervios sensoriales periféricos específicos y ascienden por el tracto espinal a los centros específicos moduladores del sistema inmunológico que se encuentra en el cerebro y especialmente en el hipotálamo. En esta región se encuentra el centro de regulación de la temperatura y el centro de regulación de las funciones autónomas. También se encuentran ahí otros centros de control neuroendócrinos, incluyendo aquellos que regulan la liberación de endorfinas y la Hormona Adrenocorticotrófica (ACTH).
- 2.-La activación de las regiones específicas del hipotálamo produce la liberación de neurotransmisores y factores neuro-humorales los cuales pueden activar las terminales locales de los

controles neuronales descendientes.

Estos factores neuro-humorales no son muy conocidos todavía, pero parece que algunos de ellos llegan a la circulación sanguínea y estimulan la producción de anticuerpos y la respuesta tisular inmune (Factor promotor de la inmunidad), otros estimulan la leucocitosis (factor leucocítico) y otros la fagocitosis (factor fagocítico).

Maoliang (1980) establece en sus investigaciones que el tratamiento de la Disentería Bacilar por medio de la acupuntura produce un aumento en los niveles de las inmunoglobulinas a partir del tercer día de realizarse el tratamiento, y de igual forma los niveles de lisozima en el suero aumentan al tercer día después del tratamiento; por otra parte, la actividad fagocítica del sistema reticuloendotelial aumenta hasta en un 63% más que el grupo control.

Guangng (1980) al tratar con la acupuntura la perforación de úlcera péptica en conejos encuentra que ésta es curada de una manera más rápida que con el tratamiento tradicional, y que además el porcentaje de neutrófilos y linfocitos en sangre es superior al del grupo control.

Existen puntos destinados especialmente a la estimulación del sistema inmunológico, se han realizado estudios utilizando estos puntos y se han obtenido resultados alentadores, tal es el caso del expe-

rimiento realizado por Jinzhang (1980) quien utilizó conejos. Dicho autor indica que a las tres horas después de la utilización de la acupuntura hay un aumento en los niveles de leucocitos en aproximadamente un 166% más con respecto a los valores normales, regresando a éstos aproximadamente a las siete horas después de la acupuntura. Asimismo, los niveles de neutrófilos son aproximadamente 50% mayores que los normales a las tres horas después de la acupuntura permaneciendo así por un período largo. Además, el proceso de formación de pseudopodos de los linfocitos aumenta aproximadamente en un 160% del valor normal, lo que indica que los linfocitos se mueven de una forma muy activa. De igual manera, el índice de transformación linfocítica aumenta hasta en un 72% a las dos horas después de la acupuntura. Esto último también es descrito por los investigadores del Colegio Médico de Henan (1980) al utilizar electroacupuntura en humanos y por Zhenya (1980).

Caiyi (1980) observa que en el ratón después de la acupuntura la actividad fagocítica de los fagocitos mononucleares se activa significativamente, incrementándose aproximadamente en un 50% por arriba de los índices normales.

Yuzheng (1980) indica que la moxibustión en conejos acelera la producción de anticuerpos, así como también aumenta los índices de aglutininas y de hemolisina y muy en especial la formación de inmunoglobulinas del tipo Ig M.

HOMEOPATIA.

Las raíces de la homeopatía se establecen en el siglo IV AC cuando Hipócrates anuncia que existen dos caminos posibles para curar: por los "contrarios" y por los "semejantes". El camino por los contrarios será seguido más tarde por Galeno, produciendo la medicina científica y contemporánea (medicina oficial) y el sistema de los semejantes será esbozado por filósofos como Santo Tomás de Aquino y Paracelso, hasta llegar a Samuel Hahnemann, el auténtico creador de la homeopatía como todo un sistema completo del arte de curar (Eizayaga., 1981).

El término "homeopatía" del griego "homoios" (semejante) y de "pathos" (dolor, sufrimiento) fue inventado por Hahnemann y figura por primera vez en su "Organon del arte de curar" de 1810 en donde establece que es un método terapéutico basado en el principio de similitud, según el cual todo medicamento es capaz de provocar en el individuo sano determinados síntomas, es capaz de curar síntomas semejantes que presentan las enfermedades naturales (Eizayaga., 1981). Es decir, la homeopatía se basa en una ley biológica natural que rige toda verdadera curación, llamada "Ley de los semejantes". Según esta ley, una enfermedad dinámica en el organismo se cura de un modo duradero por otra enfermedad dinámica más fuerte, de distinta especie (medicamentosa en este caso) que sea lo más semejante posible en sus síntomas a la enfermedad natural (Eizayaga., 1981). De este hecho irrefutable proviene el célebre aforismo hipocrático: "Similia similibus curentur", es decir, los semejantes curan los semejantes (Eizayaga.,

1981). La homeopatía utiliza diversas sustancias, las que divide según su extracción en (Eizayaga, 1981):

- 1.-Reino vegetal: De plantas enteras o de sus flores, hojas, frutos raíces o cortezas, frescas o desecadas, de sus zumos, jugos o secreciones. Pueden ser fisiológicas (sarcodes) o patológicas (nosodes).
- 2.-Reino animal: De animales enteros triturados o partes de ellos, vivos o desecados, increciones o excreciones normales (sarcodes) o patológicas (nosodes). Cuando estas sustancias se preparan de elementos obtenidos del propio enfermo se llaman autonodes. Otros tienen como base bacterias o sus toxinas o bien trozos de órganos enfermos (nosodes) o de carne putrefacta.
- 3.-Reino mineral: De elementos naturales, metales y metaloides, sales orgánicas e inorgánicas.
- 4.-Productos químicos y sintéticos.

Para poder obtener mejor eficiencia al utilizar las sustancias, se realizan diversas mezclas entre éstas, respetando un sistema jerárquico molecular (Gutmann, *et al.* 1987).

Al realizar éstas mezclas se atenúa la toxicidad de algunas sustancias logrando conservar sus características (Resch, 1987) a su vez, los diluyentes utilizados potencializan la respuesta del organismo (actúan como adyuvantes), algunos de estos diluyentes son: el monohidrato de lactosa, y las mezclas de agua con alcohol.

La homeopatía empieza a tomar una gran importancia en la Medicina Veterinaria, Westerhuis (1987) realiza una revisión en donde nos indica el uso de diversos compuestos en el tratamiento de algunas enfermedades, sin embargo, los mecanismos involucrados en estas terapias son aún investigados.

Williams (1987) realiza experimentos en donde demuestra in vitro la acción de la homeopatía (mercurio) sobre los elementos sanguíneos, obteniendo que se potencializan las actividades de éstos, in vivo observa que se incrementa la actividad de los macrófagos y de los linfocitos.

Belon (1987) investiga los efectos que la homeopatía posee sobre el sistema inmunológico, encontrando que esta potencializa las funciones inmunes, y en especial las funciones de los basófilos.

Poitervin (1986) nos indica que las funciones de los macrófagos peritoneales en ratones se incrementan al usar la homeopatía, como también se incrementa su producción.

Un aspecto importante para que se puedan producir estas reacciones es que la homeopatía tenga el tiempo adecuado para actuar (Tetau, 1987).

Eizayaga (1987) indica que con el uso de la homeopatía los valores inmunológicos en pacientes con enfermedades de origen viral que presentan inmunodeficiencia son reestablecidos a los niveles normales, y al mismo tiempo observó que se producía en especial un aumento en la producción de linfocitos T y B. Se menciona que el

que el principal efecto de la homeopatía es dinamizar la producción del Acido Desoxirribonucleico (ADN) y del Acido Ribonucleico (ARN) en las células mitogénicas y además se produce una estimulación de la producción de Interleucina 2 y en la producción de inmunoglobulinas de la clase Ig A, Ig M, Ig D, e Ig G.

CONCLUSIONES.

El desarrollo e investigación de los inmunoestimulantes inespecíficos cobra cada día mayor importancia, ya que estas sustancias pueden llegar a ofrecer una alternativa en la profilaxis y en la terapéutica de diversas enfermedades.

El presente trabajo ha tratado de dar una idea general de lo que es la inmunoestimulación inespecífica, así como el mostrar los avances que se han obtenido en los últimos años en esta área.

Podríamos decir que nos encontramos dando los primeros pasos dentro de este vasto y joven campo por lo que todavía existen dudas en muchos de los conocimientos que se tienen, razón por la cual aún es necesario realizar estudios para identificar los mecanismos que rigen a los inmunoestimulantes inespecíficos, así como para establecer en que procesos pueden realmente servir de ayuda.

En algunos casos, como con el levamisol, estas investigaciones están muy adelantadas, sin embargo, en la mayoría de las sustancias falta mucho aún por descubrir, por lo que todavía podremos encontrar sorpresas.

Por su especificidad, los inmunoestimulantes sintéticos parecen ser los menos problemáticos para su uso, ya que en su mayoría poseen pocas reacciones adversas como su baja toxicidad y su amplio rango en la posología, sin embargo por otra parte sus costos son altos, lo que no sucede con los inmunoestimulantes biológicos o químicos, aunque estos son más problemáticos en su uso.

Un punto interesante es el que proporciona la Acupuntura y la Homeopatía, ya que apesar de ser ciencias ancestrales, es apenas reciente el interés que sobre ellas han mostrado los inmunólogos.

En síntesis se puede decir que la investigación de las sustancias que producen inmunostimulación inespecífica apenas comienza, más sin embargo por lo encontrado se piensa que dichas sustancias podran tener una gran importancia en el futuro.

BIBLIOGRAFIA.

ARTICULOS.

- 1.-Acktum.N;(1983) An inducer of para-immunity prepared from Bacillus subtilis culture filtrate.Its use in supportive therapy for infectious diseases in young calves,with reference to environmental and housing conditions.Inaugural Dissertation, Tierärztliche Hochschule,Hannover.
- 2.-Aguilar.P.C;(1985) El Levamisol como inmunomodulador en la vacunación de Gumboro.Tesis de Licenciatura.F.E.S.C.(U.N.A.M.)
- 3.-Aijung.S.,Zhou.J;(1986) The observation on leukocyte counts,classification and cytochemiam of neutrophil granulocyte during tubal ligation under acupuncture anesthesia.Acupuncture Congress.196-197.
- 4.-Al-Izzi.S.A.,Maxie.M.G;(1982) Effect of Corynebacterium parvum on bone marrow macrophage colony production,peripheral blood leukocytes,and histologic changes of tissues in calves. American Journal of Veterinary Research.43:12;2244-2247.
- 5.-Al-Izzi.S.A.,Maxie.M.G.,Savan.M;(1982) The pulmonary clearance of Pasteurella haemolytica in calves given Corynebacterium parvum and infected with Parainfluenza-3 virus.Canadian Journal of Comparative Medicine.46:1;85-90.
- 6.-Anderson.J.C;(1984) Levamisol and bovine mastitis. Veterinary Record.115;3;138-140.
- 7.-Andrade-Mena.C.E.,Orbach-Arbouys.S;(1986) Different effects of aminexon on the graft-vs-host reaction.IRCS Medical Science.14;3;286-287.
- 8.-Arnault.G;(1981) Note a propos de la production des anticorps immediats apres vaccination des genisses avec le B.19.Influence de quelques facteurs intercurrents (maladie,emploi d'immunostimulants dont le levamisole,genetique de l'elevage).Bulletin Mensuel de la Societe Veterinaire Pratique de France.63;6;439-461.
- 9.-Aziz.E.S.,Klesius.P.H;(1985) The effect of selenium deficiency in goats on lymphocyte production of leukocyte migration inhibitory factor.Veterinary Immunology and Immunopathology.10; 381-390.

10. -Barakat, A.A., Saber, M.S., Emad, N., Abdel-Ghaffar, S., El-Nimr, M.M., Shobhy, K., Fathia, M., Mohsen, A.Y.A., El-Nakashly, S.; (1981) Preliminary studies on the use of BCG as an immunopotentiating agent against Rift Valley fever among sheep in Egypt. Bulletin de l'office International des Epizooties. 93: 11-12;1337-1393.
11. -Sartnicka, S., Kondracki, M.; (1984) Effect of immunostimulants on swine cellular immunity mechanisms in newborn piglets. Medycyna Weterynaryjna. 40:11;593-596.
12. -Solon, F.; (1937) Homeopathy and immunology. Volume of Proceedings. 42nd Congress of Homeopathic Medical League. 265-270.
13. -Blunden, A.S.; (1933) The "fading puppy complex": an assessment of para-immunity inducer as a means of control. Veterinary Record. 113:9;201.
14. -Braun, R.; (1932) Prophylaxe von Verlusten bei der Ferkelerzeugung, Aufzucht und Mast durch Paramunisierung mit Inducer PIND-ORF unter Praxisbedingungen. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Fakultät, Ludwig Maximilians-Universität, München.
15. -Caiyi, Z.; (1986) Preliminary studies on the effect of moxibustion on the phagocytic activity of the mononuclear phagocytes in mice. Acupuncture Congress. 514-515.
16. -Camacho, F.H.; (1982) Evaluación del efecto inmunestimulante del Levamisol en becerros vacunados con Cepa 19 de Brucella abortus. Tesis de Licenciatura. F.E.S.C. (U.N.A.M.)
17. -Chang, K.L.; (1925) The therapeutic effect of Domon-L in cattle and swine. Agri-Practice. 6:2;8-10.
18. -Charley, B., Petit, E., Leclerc, C.; (1933) Effects of intravenous injection of BCG or Freund's complete adjuvant on swine alveolar macrophages. Veterinary Immunology and Immunopathology. 4:4;459-467.
19. -Chu, D.Z.J., Hishioka, K., El-Hagin, T., Hopfer, R.L., Rossdahl, M.H.; (1955) Effects of tuftsia on postsplenectomy sepsis. Surgery. 22:6;701-706.
20. -Clifford, H.D.; (1981) Future use and research in acupuncture. Acupuntura Veterinaria. U.N.A.M. 92-102.

- 21.-Congho.T;(1936) Primary research on therapy and its principle for curing bronchial asthma by applying medicinal paste on acupuncture points in summer.Acupuncture Congress.57-53.
- 22.-Confer.A.W.,Addinger.H.K;(1981) The in vivo effect of levamisole on phytohaemagglutinin stimulation of lymphocytes in normal and Marek's disease virus inoculated chickens.Research in Veterinary Science.30:21243-245.
- 23.-Cooney.D.R.,Lewis.A.D.,Was.W.,Khan.A.R.,Karp.M.P;(1984)The effect of the immunomodulator Corynebacterium parvum on hemisplectomized mice.Journal of Peidiary Surgery.12:61810-217.
- 24.-Corrier.D.E.,Wagner.G.G;(1984) The protective effect of pretreatment with killed Corynebacterium parvum against acute babesiosis in calves.Veterinary Parasitology.13:2165-163.
- 25.-Couto.N.A.,Hughes.J.P;(1985) Intrauterine inoculation of a bacteria free filtrate of Streptococcus zooepidemicus in clinically normal and infected mares.Journal of Equine Veterinary Science.5:2181-86.
- 26.-Darlath.V.W.,Wybran.J;(1984) Therapeutic experience with the immunostimulator Inosine Pranobex.Fortschre.Medicine.102:37; 932-935.
- 27.-De Cueninck.B.J;(1981) Influence of parenteral administration of mineral oil adjuvant in parturient cattle on immunoglobulin secretion in colostrum and milk.American Journal of Veterinary Research.42:31478-480.
- 28.-De Cueninck.B.J;(1984) Mineral oil adjuvant administration in parturient cattle.American Journal of Veterinary Research.46:41667-679.
- 29.-Eizayaga.X.F;(1987) What is homeopathy able to cure.Volume of Proceedings.42nd Congress of Homeopathic Medical League.207-208.
- 30.-Egproba.N.B.,Kreinin.L.S.,Efremova.V.N.,Kaverina.K.G.,Mansurova.N.L.,Kurbatova.E.A;(1985) Study of the immunostimulating activity of the combined preparation of Klebsiella pneumoniae,Staphylococcus,Proteus,Escherichia coli antigens and some of its components,under the conditions of cross infection.Mikrobiology Epidemiology Immunobiology.2;70-74
- 31.-Erfle.V.,Strubel.L.,Luz.A.,Hehlmann.R.,Mayr.A;The influence of paramunisation,tumor cell vaccination and whole body irradiation on the growth of radiation-induced murine osteosarcoma.Zentralblatt fur Veterinarmedizin,B.30:1;36-47.

- 32.-Espinasse.J;(1980) Immunostimulation par le levamisole en clinique veterinaire.Cahier du Medecin Veterinaire.42;5-13.
- 33.-Flynn.Aj(1995) In vitro levels of copper,magnesium and zinc required for mitogen stimulated T lymphocyte proliferation. *Nutritional Research.*5;467-495.
- 34.-Gainer,J.H;(1982) Suppressor factors and their potential for immunotherapy, and chemical influences on interferons. *Journal of American Veterinary Medical Association.*121;10;1107-1110.
- 35.-Galassi.D.,Pelliccioni.A.,Galassi.F.,Amadori.M.,Urbani.G.,Semprini.P;(1983) Interferon inducers for the prophylaxis of environmentally determined infections in piglets. *Selezione Veterinaria.*24;9;1277-1287.
- 36.-Galtier,P.,Escola.L.,Alvinerie.M;(1983) Pharmacokinetics of 13M4 levamisole in pigs after oral and intramuscular administration. *American Journal of Veterinary Research.*44;4;569-537.
- 37.-Garcia.N;(1981) Estudio preliminar del uso del Levamisol en bovinos en concentraciones mayores a las comercialmente recomendadas en Mexico. Tesis de Licenciatura. F.E.S.C. (U.N.A.M.)
- 38.-Gerasi.M.,Rethy.L.,Ecsy.R.,Gelencser.F.,Padanyi.M.,Pogany.I.,Bacskai.L.,Rethy.L.A.Jr;(1980) Antitumor effect of different corynebacterial immunostimulants in non isogenic mouse-tumor-system. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae.*28;3;281-293.
- 39.-Giurgea.R.,Borsa.M.,Bucur.N;(1981) Immunologische Reaktionen bei Wistar-Ratten nach Verabreichung von Atrazin und Prometryn. *Archiv.fur Experimentelle Veterinarmedizin.*25;6;811-815.
- 40.-Gonzalez.R;(1987) Mecanismo de acción de la acupuntura. Apuntes inéditos. Clínica privada.
- 41.-Gos.Z.,Furowicz.A.J.,Hajnan.A;(1984) Effect of immunizing yearling cattle with a formalin inactivated Procionibacterium sp suspension on the formation of cell mediated immunity. *Medycyna Weterynaryjna.*40;4;206-208.
- 42.-Grymer,J.,Andersen.P.H;(1982) Clinical and blood cell findings in cows treated with levamisole. *Dansk Veterinaertidsskrift.*65;14;665-669.

- 43.-Guirlinger,P;(1983) Immunosuppression in cats caused by feline leukaemia virus, and experimental immunostimulation with BCG. Ecole Nationale Veterinaire d'Alfort.
- 44.-Guangng.H., Meilai.T., Kaizhi.W., Shihua.Li(1986) Investigation on the mechanism of acupuncture for treating perforation of peptic ulcer-animal experimentation. Acupuncture Congress. 62-63.
- 45.-Gutmann.V;(1987) Studies on molecular system organizations. Volume of Proceedings. 42nd Congress of Homeopathic Medical League. 291-299.
- 46.-Harada.M., Watanabe.A., Matsumoto.M., Takeuchi.M;(1985) Induction of Ig G, and Ig E responses to protein-conjugated and unconjugated B-lactam antibiotics in the mouse-efficacy of Freund's complete adjuvant. EXPERIENTIA. 41:12:1584-1585.
- 47.-Harris.S.C., Winters.W.D;(1983) BCG cell wall immunotherapy of canine mammary carcinoma. Federation Proceedings. 42:3:682.
- 48.-Hechler.H;(1981) Stimulation of equine peripheral lymphocytes by a paramunity inducer, a lectin and equine herpesvirus. Inaugural Dissertation, Ludwig-Maximilians Universität.
- 49.-Heli.H., Fischer.J;(1984) Untersuchung über die Wirksamkeit einer aktiven Paramunisierung bei Pferden nach intratrachealer Applikation. Praktische Tierarzt. 65:11:976-979.
- 50.-Henschelchen.O., Russe.M;(1982) Die Beeinflussung des Puerperiums beim Rind durch Stimulation der Paramunität. Praktische Tierarzt. 63:4:369-372.
- 51.-Herbert.W.J;(1981) Mineral-oil adjuvants and the immunization of laboratory animals. Appliance Immunology Methodology Appendix 311-15.
- 52.-Hoise.S., Pencea.I., Leibovici.M., Popescu.C., Thirer.O., Grigoras.E., Anton.D., Dumitrescu.A;(1980) Modifications in the anti-infectious resistance to laboratory animals treated with "Zoodin". Archivă Roumane du Patologie Experimental et Microbiologie. 32:1:11-19.
- 53.-Hua.Y;(1986) The clinical study of treatment of asthma by purulent moxibustion. Acupuncture Congress. 58-59.
- 54.-Hwang.Y-C;(1981) Introduction to Chinese Medicine. Acupuntura Veterinaria. U.N.A.M. 1-6.

- 55.-Inocha,S.,Kimura,M;(1983) The effect of Bacillus natto in feed on the sheep red blood cell antibody response in chickens. Avian Diseases.22:10;1086-1089.
- 56.-Irwing,M.R.,Melendy,D.R.,Hutcheson,D.P;(1980) Reduced morbidity associated with shipping fever pneumonia in levamisole phosphate-treated feedlot cattle. Southwestern Veterinarian.33:1;45-49.
- 57.-Jablonski,H;(1985) Intermediary effects in non-specific defence mechanisms. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.92:4; 149-151.
- 58.-Jayappa,H.G.,Loken,K.I;(1982) Enhancement of the chemotactic response of bovine polymorphonuclear leukocytes by levamisole. American Journal of Veterinary Research.43:12;2138-2142.
- 59.-Jeglum,K.A;(1985) Immunomodulation of hematopoietic tumors. Veterinary Clinics of North America:Small Animal Practice.13: 4;S17-324.
- 60.-Jenaer,M;(1987) A complementary homeopathic treatment in cancerology. Volume of Proceedings.42nd Congress of Homeopathic Medical League.248-242.
- 61.-Jinzhang,C;(1986) Experimental study of effects of electro-acupuncture on cell-mediated immune response of rabbit. Acupuncture Congress.512-513.
- 62.-Kansens,J.M.B.,Okino,F.C.,Anderson,R.K.,Muscoplat,C.C.,Johnson,D. W;(1981) Levamisole potentiation of antigen specific lymphocyte blastogenic response in Brucella abortus exposed but nonresponsive cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology.2:1;75-85.
- 63.-Katitch,R.V.,Katrina,M.,Millitch,N;(1985) Role immunostimulant de sulfate de zinc sur la production des anticorps spécifiques chez les moutons vaccinés contre le piétiin avec un vaccin polyvalent. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France.38:1;39-42.
- 64.-Kazar,J.,Schramek,S;(1984) Immunomodulatory effects of Coxiella burnetii. Biologia Czechoslovakia,C.32:11;1127-1131.
- 65.-Khlopina,A.F;(1985) Effect of dibazol (bendazol INN) on immunobiological indicators in broiler chicks. Veterinarya Moscov.3:33;13-20.

- 66.-Klein,A.S.,Schrieber,R.,Shoham,J;(1984) Thymic hormonal effect on recovery from early and late CCNU induced immunosuppression.THYMUS.4:4;219-224.
- 67.-Klide,A.M.,Kung,S.H;(1981) Acupuncture Techniques and Equipment. Acupuntura Veterinaria.U.N.A.M.;103-124.
- 68.-Koller,L.D;(1982) Chemical-induced immunomodulation.Journal of American Veterinary Medical Association.181:10;1102-1106.
- 69.-Kraias,A.,Gothe,R;(1984) Zur Wirksamkeit des Paramunitatsinducers PIND-AVI auf Rhipicephalus evertsi evertsi-Infestationen der Schafe:Neue Perspektiven in der Zeckenbekämpfung und Prophylaxe von Zeckenparalysen.Zentralblatt für Veterinarmedizin,3:31:1;58-63.
- 70.-Kulcsar,A.,Padanyi,M.,Rethy,L.A.,Rethy,L.,Bacsikai,L;(1984) The influence of immuno-modulants on the development of the secondary-type antibacterial (anti-Erysipelothrix rhusiopathiae) immunity.Annales Immunologicae Hungaricae.24:171-174.
- 71.-Lammert,J.K.,Wyrick,P.B;(1982) Modulation of the host immune response as a result of Chlamydia psittaci infection.Infection and Immunity.33:2;537-545.
- 72.-Lantier,F.,Yvone,P.,Marly,J.,Pardon,P.,Kerboeuf,D;(1981) Coccidia parasitism increases resistance of mice to subcutaneous inoculation with Salmonella abortus ovis.Annales de Recherches Veterinaires.12:2;169-172.
- 73.-Lau,C.Y.,Freestone,J.A.,Goldstein,G;(1980) Effect of thymopoietin pentapeptide (TP5) on autoimmunity.The Journal of Immunology.125:4;1634-1638.
- 74.-Lichtenstein,A.,Berek,J.,Bast,R.,Spina,C.,Hacker,N.,Knapp,R.C.,Zigelboim,J;(1984) Activation of peritoneal lymphocyte cytotoxicity in patients with ovarian cancer by intraperitoneal treatment with Corynebacterium parvum.Journal of Biology Response Modification.3:4;371-379.
- 75.-Lin,J.H;(1980) Acupuncture effects on the body's defence systems. A veterinary review.The Veterinary Bulletin.50:8;633-640.
- 76.-Manickan,R.,Dhar,S.,Singh,R;(1983) Nonspecific immunization against bovine tropical theileriosis (Theileria annulata) using killed Corynebacterium parvum.Veterinary Parasitology.13:2;115-119.

- 77.-Mannhalter, J.W., Neychev, H.D., Zabinger, G.J., Ahmad, R., Eibl, M.; (1985) Modulation of the human immune response by the non-toxic and non pyrogenic adjuvant aluminium hydroxide. *Clinical Experimental Immunology*, **41**:1;143-155.
- 78.-Maoliang, G., Canruc, S., Naiying, L., Junmei, W.; (1986) Researches on treatment of acute bacillary dysentery by acupuncture. *Acupuncture Congress* 2-5.
- 79.-Marconi, P., Scaringi, L., Tissi, L., Cassone, A., Bistioni, F.; (1983) Inactivated *Candida albicans* and immunostimulation. Seminar of the Commission of the European Communities.
- 80.-Mayr, A.; (1982) Paramunität und Paramunisierung. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, **22**:5;5-23.
- 81.-Mayr-Eibrak, B.; (1980) Paramunisierung bei Neugeborenen. *Praktische Tierarzt*, **61**:9;715-716.
- 82.-Mayr, A., Brunnen, R.; (1980) Untersuchungen über die Wirksamkeit einer Paramunisierung zur Bekämpfung von Ferkelaufzuchtverlusten und der enzootischen Pneumonie der Schweine (Ferkelgrippe). *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, **22**:589-598.
- 83.-Medvedev, Y., Alekhin, E.K.; (1984) Modulation of phagocytic activity with prodigiosin and propranolol. *ANTIBIOTIKI*, **22**:11;848-851.
- 84.-Meyer, H., Mayr, A.; (1981) Untersuchungen über die Clearance und Phagozytose gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* an isoliert perfundierten Lebern von Keimfreien-Ratten nach Vorbehandlung mit dem Paramunitätsinducer "PIND-AVI". *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, **28**:46-58.
- 85.-Mishra, K., Mallic, B.; (1982) Phagocytic activity of cells in non-specific enhancement of resistance to *Salmonella enteritidis* infection in laboratory mice. *Indian Veterinary Journal* **52**:5;335-340.
- 86.-Mitchell, G., Armour, J.; (1981) Stimulation of resistance to *Fasciola hepatica* infection in sheep by a regime involving the use of the immunomodulatory compound L tetramisole (levamisole). *Research in Veterinaire Science*, **30**:3;343-348.
- 87.-Morisse, J., Delaporte, J., Gaudlitz, R., Bourgoin, J.; (1984) Evaluation Clinique de l'activité d'un inducteur d'interferon chez le veau. *Recueil du Medecine Veterinaire*, **160**:4;349-355.

- 88.-Muecke.D;(1984) Review on tuftsin.Allergeology and Immunology.30: 31127-138.
- 89.-Muller-Brunecker.G.,Erflie.V.,Mayr.A;(1984) Comparing the effect of paramunity inducers (PIND-AVI and PIND-ORF) levamisole,BCG and *C.parcvum* on growth of a radiation-induced osteosarcoma in the mouse.Tierärztliche Umschau.39:5:366-368.
- 90.-Nabburs.M.,Bokhout.B.,Heijden.P.,Van Der.J;(1982) Intraperitoneal injection of an adjuvant for the prevention of post-weaning diarrhoea and oedema disease in piglets;a field study.Preventive Veterinary Medicine.1:1:65-76.
- 91.-Namioka.S.,Kumeda.Y.,Kawano.T.,Wang.C.,Namba.Y.,Murakami.K;(1982) The influence of immunopotentiators on sucking piglets with special reference to the incidence pig scour,British Veterinary Journal.138:2:155-167.
- 92.-Nikitenko.A.,Malyzhev.V.,Zaika.L;(1984) Use of thymus homogeneate for enhancing the natural resistance of calves and piglets.Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya.9:1:31-32.
- 93.-Nuwayri-Salti.N.,Murad.T;(1985) Immunologic and immunosuppressive effects of vitamin A.PHARMACOLOGY.30:4:181-187.
- 94.-Olah.I.,Kittner.Z.,Toro.I.,Glick.B;(1981) Effect of levamisole on the phytohemagglutinin induced basophil hypersensitivity reaction in the chicken wattle.Poultry Science.60:6:1321-1324.
- 95.-Opdebeeck.J.,Norcross.N;(1984) Comparative effect of selected adjuvants on the response in the bovine mammary gland to staphylococcal and streptococcal antigens.Veterinary Immunology and Immunopathology.4:3-4:341-351.
- 96.-Ortiz.A.,Payne.L.N;(1983) Efecto del Levamisol en la respuesta de aves infectadas con virus de la enfermedad de Marek.Reunión de Investigación Pecuaria en México.548-549.
- 97.-Pakhomov.G;(1983) Immunological reactivity on calves undergoin treatment (with levamisole for acute bronchopneumonia. Veterinariya Moscow.8:49-50.
- 98.-Pandolfi.F.,Guinti.I.,Montella.F.,Vocci.M.,Schipani.A.,Urasia.G.,Aiuti.F;(1983) T-dependent immunity in aged humans.THYMUS.5:3-4:235-240.

- 99.-Perez,C.J.E.,Rojó,O.J;(1987) Efecto del Levamisol sobre los niveles de gamaglobulinas séricas en lechones neonatos y su relación con morbilidad,mortalidad e incremento de peso del nacimiento a los 22 días de edad.Tesis de Licenciatura.F.E.S.C.(U.N.A.M)
- 100.-Poltevin,B;(1987) Effect on mouse peritoneal macrophages of orally administered very high dilutions of silica.Volume of Proceedings.42nd Congress of Homeopathic Medical League.282-270.
- 101.-Resch,G;(1987) Physico-chemical understanding of highly attenuated remedies.Volume of Preceedings.42nd Congress of Homeopathic Medical League.300-305.
- 102.-Richter,R;(1983) Increasing the immune response in poultry by means of the parmmunity inducer PIND-ORF.Inagural Dissertation Ludwig-Maximilians-Universitat Munchen.
- 103.-Rico,P.J.,Abrego,G.M.,Mar.C.R.,Bautista,G.R.,Morilla,G.A;(1982) Efecto de algunos inmunomoduladores en lechones durante la lactancia.Morbilidad y cantidad de gamaglobulinas en el castro de cerda.Reunión de Investigación Pecuaria en Mexico.197-199.
- 104.-Rico,P.J.,Abrego,G.M;(1983) Estudio clínico y zotécnico del efecto de algunos inmunomoduladores en lechones durante la lactancia.Tesis de licenciatura.F.E.S.C.(U.N.A.M.)
- 105.-Roberts,M.,O'Boyle,D;(1982) Experimental Salmonella anatum infection on horses.Australian Veterinary Journal.58:6; 232-240.
- 106.-Rodder,H.,Thumann,D.,Thumann,E;(1980) Anwendung eines viralen Interferoninducers (Bayferon) zur Bekämpfung der Endo-zitischen Bronchopneumonie der Rinder unter Praxisbedingungen.Tierärztliche Umschau.1:10:1-4.
- 107.-Roth,J.,Kasberle,M;(1984) Effect of levamisole on lymphocyte-blastogenesis and neutrophil function in dexametason-treated cattle.American Journal of Veterinary Research.45:9; 1781-1784.
- 108.-Sakata,H.,Hiyama,N.,Kondo,H.,Hirakaya,Y.,Yoshida,H;(1984) Nonspecific mitogen responses of peripheral lymphocytes in levamisole-treated patients with herpetic stromal keratitis.Hiroshima Journal of Medical Science.33:4;813-817.

- 109.-Sali.G;(1983) Recomendaciones de aplicación de la terapéutica biostimulante con Yatren-Caseína en medicina veterinaria. Clínica Veterinaria S.Francesco.162-169.
- 110.-Schneidereit.M;(1981) Course of puerperium and subsequent conception in cows after paramunization with PIND-AVI post partum.Inagural Dissertation.Ludwig-Maximilians universitat,Munchen.
- 111.-Schwartzman.S.,Cantrel.J.,Ribi.E.,Ward.J;(1984) Immunotherapy of equine sarcoid with cell wall skeleton (CWS)-trehalose disicolate (TDM) biologic.Equine Practice.6: 9:18-23.
- 112.-Smogorzewska.E.,Korczyńska.M;(1985) The effect of calf thymus extract (TFX) on human T lymphocyte and neutrophil mobility and chemotactic response in vitro.THYMUS. 2:4:257-260.
- 113.-Snider.T.,Pierce.K.,Adams.L;(1982) Responce of neonatally thymectomized Holstein calves to BCG.American Journal of Veterinary Research.43:8:1363-1366.
- 114.-Staruch.M.J.,Wood.D.D;(1983) The adjuvancity of Interleukin 1 in vivo.Journal of Immunology.130:5:2191-2194.
- 115.-Stein.A.,Diez.R.,Sen.L.,Estevez.M;(1985) Chemotactic function of polymorphonuclear leukocytes from with recurrent infections:Partial correction by levamisole in vitro.Allergology and Immunopathology.13:2:127-133.
- 116.-Steinbach.G.,Bojidar.D.,Coslea.V.,Heidrich.H-D.,Heilman.P.,Muller.G.,Meyer.H;(1985) Influence of oral administration of levamisole on resistance of calves to infection.Archive Experimental Veterinaire.32:1:70-84.
- 117.-Student.W.,Slopek.S;(1983) Biological aspects of Tuftsin activity.Archive of Immunology and Therapy Experimentation. 31:4:575-578.
- 118.-Sumano.L.H;(1981) Mecanismo de acción de la Acupuntura.Acupuntura Veterinaria.U.N.A.M.125-33.
- 119.-Symoens.J;(1980) Levamisole technical Review.Jenssen Pharmaceutica.

- 120.-Taylor, W., Sheldon, D., Spicer, J.; (1981) Adjuvant and suppressive effects of Grass Conjuvac and other alginate conjugates on Ig G and Ig E antibody responses in mice. *Immunology*, **43**:41-50.
- 121.-Terziev, V., Planski, B., Encheva, Y.; (1983) Protection of calves from bronchopneumonia by means of a nonspecific substance and a nonspecific vaccine. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **20**:1; 36-39.
- 122.-Tetau, M.; (1937) Chronobiology-Therapeutic applications and value in Homeopathy. Volume of Proceedings. 42nd Congress of Homeopathic Medical League. 233-285.
- 123.-Theilen, G.H., Hills, D.; (1982) Comparative aspects of cancer immunotherapy: immunologic methods used for treatment of spontaneous cancer in animals. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **121**:10:1134-1141.
- 124.-Theilen, G.H.; (1983) Mechanisms of action of the adjuvants. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **122**:5:1201-1212
- 125.-Thein, P., Hachler, H., Mayr, A.; (1981) Vergleichende Untersuchungen zur Wirksamkeit des Paramunitätsinducers PIND-AVI, des Mitogens PHA-P und von Rhinopneumonitisvirus auf die peripheren Lymphozyten des Pferdes. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, **22**:6:432-449.
- 126.-Thein, P., Hechler, H.; (1983) In vitro und in vivo-Untersuchungen zur Wirksamkeit eines Paramunitätsinducers am Pferd. *Fortschritte der Veterinärmedizin*, **35**:15:331-339.
- 127.-Thein, P., Leistner, W., Hechler, H.; (1980) Erfahrungen mit dem Einsatz des Paramunitätsinducers PIND-AVI in der Pferdepraxis. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, **22**:6:499-512.
- 128.-Thumann, D.; (1980) Clinical, bacteriological, virological and serological studies in calves and bulls treated prophylactically and therapeutically with a paramunity inducer (MP-preparation). Inaugural Dissertation, Hannover.
- 129.-Tsang, K., Fudenberg, H.H.; (1982) Isoprinosine as an immunopotentiator in an animal model of human osteo sarcoma. *International Journal of Immunopharmacol*, **3**:4:383-390.
- 130.-Ungar-Warron, H., Gluckmann, A., Brenner, J.; (1984) Use of a synthetic antigen to predetermine the responsiveness of cattle to vaccine-induced immunity. *Vaccine*, **2**:2:136-140.

- 131.-Veit.H.P.,Farrel.R;(1984) Increased pulmonary clearance of Se-
ratia marcescens in calves given intravenous Freund's com-
plete adjuvant.Cornell Veterinary.74:269-281.
- 132.-Vogel.N.S.,Hilfiker.L.H.,Caulfield.J.H;(1983) Endotoxin-induced
T Lymphocyte proliferation.Journal of Immunology.130:4:
1774-1779.
- 133.-Wang.C.T.,Lin.C.T.,Namioka.S;(1985) Influence of FR41565 and DL
714 immunopotentiators administration against the incidence
of pig diarrhea.Chine Veterinary.2:122.
- 134.-Webster.C.,Webster.J;(1985) Treatment of equine sarcoids with
BCG.Veterinary Record.116:5:131-132.
- 135.-Weese.J.,Gilbertson.E;(1984) Prevention of rat colon cancer me-
tastases by perioperative immunostimulation.SURGERY.96:2:
420-424.
- 136.-Westerhuis.A.H;(1987) Like master like dog.Volume of Procee-
dings.42nd Congress of Homeopathic Medical League.
133-140.
- 137.-Williams.H;(1987) In vitro demonstration of homeopathic effects.
Volume of Proceedings.42nd Congress of Homeopathic Me-
dical League.335-343.
- 138.-Winters.,Harris.S;(1981) Interferon induction in healthy and
tumor-bearing dogs by cell walls of Micobacterium bovis
strain BCG.American Journal of Veterinary Research.
43:7:1232-1237.
- 139.-Woodard.L.,Jasman.R.,Farrington.D;(1983) Enhanced antibody-depend-
ent bactericidal activity of neutrophils from calves
treated with a lipid amine potentiator.American Journal
of Veterinary Research.44:
3:389-394.
- 140.-Yuzheng.Z;(1986) The influence of moxibustion on the immunity of
experimental rabbits.Acupuncture Congress.515-516.
- 141.-Zangerle.H;Comparison of immunization of veal calves with a po-
livalent Pasteurella vaccine and para-immunization with
Bayferon and PIND-ORF against respiratory diseases.
Inaugural Dissertation.Ludwing-Maximilians Universitat
Munchen.

142.-Zendejas.E.Ji(1981) Bases Chinas de la Acupuntura.Acupuntura Veterinaria.U.N.A.M.:14-24.

143.-Zhenya.Mi(1984) Experimental observations of cellular immunological function under the influence of acupuncture.Acupuncture Congress.513-514.

LIBROS.

- 1.-Sach.J.F:Inmunología.Editorial LIMUSA;México.D.F.,1980;2a Edición; Pp.851-861.
- 2,-Chedid.L;Immunostimulation;Editorial SPRINGER-VERLAG;Alemania. . 1980;Pp.1-231.
- 3.-Davis.D.B.,Dulbecco.R.,Eisen.N.H.,Ginsberg.J.H.,Wood.B.W.Jr.Mc Car-ty.M;Tratado de Microbiología.Editorial SALVAT;Barcelona Es- paña.1978;2a Edición;Pp.703-1474.
- 4.-Goodman.S.L.,Gilman.A;Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica; Editorial PANAMERICANA;México.D.F.,1982;5a Edición;Pp. 1009-1010.
- 5.-Jubb.K.V.F.,Kennedy.C.P;Domestic Animal Phatology ;ACADEMIC PRESS;New York,1985;3th Edition;Pp 226-390.
- 6.-Organización Mundial de la Salud;Coadyuvantes Inmunológicos;Méxi- co.D.F.,1980;Pp.3-30.
- 7.-Stites.D.P.,Stobo.J.D.,Fudenberg.H.H.,Wells.J.V;Inmunología Básica y Clínica.Editorial EL MANUAL MODERNO;México.D.F.,1983;4a Edición;Pp.498-503.