



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**EVALUACION DEL POTENCIAL ALERGENICO DEL EXTRACTO DE
LA CORTEZA DE Mimosa tenuiflora (TEPESCOHUIE),
EVALUADO SOBRE CELULAS INTRAPERITONEALES DE LA
RATA ALBINA Rattus norvegicus Y NEUTROFILOS
HUMANOS**

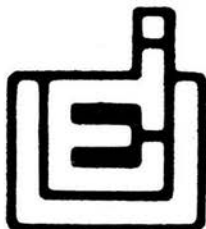
TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

JOEL RODRIGUEZ ZUÑIGA



México, D. F.

1989



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 esta 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.

Dedico esta tesis a mis padres: Juan Rodríguez García y Mercedes Zúñiga de Rodríguez por su gran apoyo, confianza y sobre todo su gran cariño.

Cuando en la vida se alcanzan objetivos que valen la pena, me llena de felicidad al saber que atrás de ellos se encuentra la esencia del porque se hacen y el poder del querer hacer, doy gracias a mis padres porque al darme la vida y ser ellos en esencia del porque se hacen las cosas comparto - con ellos esta doble felicidad.

A mis hermanos a quienes tanto quiero:

Oscar, Floricel, Janeth y a ustedes Blanca Rosa y Hortencia por ese gran apoyo que todos les debemos.

Agradezco la valiosa colaboración y asesoramiento para la realización - de este trabajo al Biol. Raul A. - Ontiveros Yamamoto.

A la Profesora Q.B.P. Antonina Oltra, por sus recomendaciones, consejos y su sencillez científica.

A todas aquellas personas que siempre confiaron en mi y obtuve su siempre - apoyo, y a quienes no menciono para - no incurrir en una falta de omisión.

I N D I C E

| | PAGINAS. |
|---|----------|
| RESUMEN | 3 |
| INTRODUCCION | 4 |
| ANTECEDENTES ETNOBOTANICOS | 4 |
| ANTECEDENTES BOTANICOS | 4 |
| ANTECEDENTES CLINICOS ACTUALES | 5 |
| Cuadro clínico de evolución anatómica-patológica de las quemaduras según su profundidad | 6 |
| Clasificación porcentual de las quemaduras por su origen | 7 |
| El fibroblasto | 8 |
| ETIOLOGIA DEL PROCESO INFLAMATORIO | 10 |
| FISIOLOGIA DEL PROCESO INFLAMATORIO | 11 |
| DINAMICA DEL PROCESO INFLAMATORIO | 12 |
| MEDIADORES BIOQUIMICOS DEL PROCESO INFLAMATORIO | 13 |
| PAPEL DEL TEJIDO CONJUNTIVO EN EL PROCESO INFLAMATORIO | 15 |
| Alérgeno | 15 |
| El proceso alérgico | 16 |
| El antígeno | 16 |
| INFLAMACION CON ORIGEN MEDICAMENTOSO | 17 |
| JUSTIFICACIONES | 21 |
| OBJETIVOS | 23 |
| OBJETIVOS PRELIMINARES | 23 |
| OBJETIVOS GENERALES | 23 |
| MATERIAL Y METODO | 24 |
| EVALUACION DEL GRADO DE TOXICIDAD AGUDA | 24 |
| EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES | 27 |
| CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS POLIMORFONUCLEARES (P.M.N.) HUMANOS | 30 |
| RESULTADOS | 34 |
| EVALUACION DEL GRADO DE TOXICIDAD AGUDA | 34 |
| EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES | 39 |
| CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS POLIMORFONUCLEARES (P.M.N.) HUMANOS | 39 |
| ANALISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES | 41 |
| EVALUACION DEL GRADO DE TOXICIDAD AGUDA | 41 |
| EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES | 41 |
| LA CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS POLIMORFONUCLEARES (P.M.N.) HUMANOS | 43 |
| APENDICE | 46 |
| BIBLIOGRAFIA | 52 |

RESUMEN

La corteza de la planta del tepescohuite (Mimosa tenuiflora) es usada tradicionalmente en el tratamiento de lesiones por quemaduras , sin embargo se ha mencionado que su uso puede traer como consecuencia efectos secundarios.

Para evaluar su efecto tóxico se ensayaron concentraciones de un extracto alcohólico del tepescohuite inyectado intraperitonealmente (i.p.) a ratas albinas, concluyéndose que sería necesario inyectar i.p. a una persona adulta aproximadamente 24.0 g de extracto para que esta perezca.

Por otra parte , se evaluó también su efecto alérgico mediados por células indiferenciadas de un modo somero, dividiéndose este objetivo en dos partes ; la primera consistió en evaluar la actividad irritante del extracto y corteza en células peritoneales de rata albina en comparación con otros fármacos de uso tópico en quemaduras, mientras que la segunda parte del objetivo se trato el de evaluar la actividad del extracto del tepescohuite y otros fármacos sobre el proceso fagocítico en neutrófilos humanos.

En ambos casos del objetivo anterior no hubo diferencias en el extracto y corteza del tepescohuite con respecto a los fármacos de prueba que se utilizan comercialmente en lesiones por quemaduras. (Excepto el fármaco Furacin que resulto ser tóxico en la primera parte del del objetivo anterior.)

INTRODUCCION

ANTECEDENTES ETNOBOTANICOS.

La utilización de la corteza del árbol *Mimosa tenuiflora* conocido como TEPESCOHUIITE, para el tratamiento de las quemaduras data de los tiempos del México prehispánico por los indios mayas ya que dicha planta es originaria de la region sur del país.

Fue referida por primera vez en el siglo XVII por el español Don Francisco Hernandez protomedico de Felipe II en su libro " Historia de las Plantas de la Nueva España " . Durante su estancia en la Nueva España, que se dio a la tarea de recopilar y codificar los conocimientos de botánica medicinal que así se pudieron conservar, a pesar de la destruccion sistemática de documentos realizados por el clero durante el tiempo de la conquista.

En su libro aparece el Tepescohuite con el nombre TETLATILIZTLI en lengua náhuatl, ya que desde entonces era ampliamente conocido en el Valle de México por los antiguos mexicas o aztecas .(1).

Tambien se utilizaban otras plantas con los mismos fines medicinales como la hierba de TLALIXAHOAL y las hojas de la planta Agave o MET y TLALYXHOAL, la raíz de TLALOMATL y la corteza de XOCHIALAHUAC, pero aparentemente sin el mismo potencial inductor de la reepitelización que el TEPESCOHUIITE.(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

ANTECEDENTES BOTANICOS.

La descripción botánica de la planta fue realizada por Martínez(9) y posteriormente por Miranda(10), que en resumen describen lo siguiente:

Mimosa tenuiflora, conocida como Tepescohuite.
De la familia de las Mimosaceas.

Arbusto o arbolito espinoso, hasta de 8 metros de alto con las hojas alternas o compuestas de seis a nueve pares de pinnas y estas de veinte a cuarenta hojuelas muy pequeñas linear oblongas, algo viscosas. Flores blancas muy pequeñas, en densas espigas bastante largas de cinco a ocho centímetros, de vainas oblongas de siete a ocho centímetros de ancho.

Es arbusto vistoso cuando se cubre de sus bellas inflorescencias blancas, pero constituye una maleza difícil de extirpar que invade las milpas y cultivos abandonados formando muy densas agrupaciones en el Valle de Cintalapa en el Estado de Chiapas y en la planicie costera de México.

ANTECEDENTES CLINICOS ACTUALES.

A pesar del gran desarrollo en las técnicas terapéuticas médicas e histopatológicas, la clasificación mundial de las quemaduras se conserva sin cambios apreciables, como puede observarse en la Tabla No. 1. En tanto que el porcentaje de quemaduras con variados orígenes etiológicos, reportadas en los diferentes hospitales tanto de España como de los U. S. A. (en el estado de Cincinnati), se aprecian en la Figura No. 1. (11).

Hoy día sabemos que una buena parte de los pacientes catalogados como grandes quemados, mueren debido a que presentan un cuadro clínico de Falla Orgánica Múltiple (F. O. M.), lo que se traduce como un desajuste de 3 o más sistemas por irritación anormal del sistema nervioso autónomo que provoca una pérdida de calor por exceso de irradiación y choque hipovolémico. (12).

Wertheim fue el primero que mencionó la presencia de eritrocitos lesionados por lo que dedujo que existía una alteración intensa de los elementos celulares de la sangre que se manifestaba entre otras cosas por la expulsión de la hemoglobina en orina, ya que al pasar por el riñón se producían 2 patologías:

- 1) Albuminuria Intensa
- 2) Nefritis Parenquimatosa.

Esto explica el escaso volumen de filtrado que muchos pacientes manifiestan durante las primeras horas posteriores al trauma epidermal. (13, 14).

Por otro lado, la neoformación y evolución del tejido cicatricial para el caso de una quemadura depende de múltiples factores entre los que se consideran: El sitio de lesión de la piel, la edad del paciente, su grupo étnico y el porcentaje de superficie quemada entre otros.

Pero en general, suceden el mismo grupo de acontecimientos histológicos en todos los grandes traumas:

- 1) Las superficies de la herida se recubren con un coágulo de fibrina que protege de la intemperie a la lesión.
- 2) El epitelio emigra sobre la dermis hasta el nivel de unión con la grasa dérmica, pero aun cuando las capas epiteliales poseen notable capacidad migratoria, no excede de tres centímetros desde el borde hasta el interior de la herida. (15, 16).
- 3) Aproximadamente en cinco días el epitelio finaliza su migración a través del coágulo de fibrina, y empieza a engrosar hacia abajo.
- 4) En un nivel mas profundo y posterior de la lesión, los fibroblastos inician la invasión de la herida a través del sustrato semisolido de fibrina.

TABLA No. 1.

CUADRO CLINICO Y DE EVOLUCION ANATOMICO - PATOLOGICA DE LAS

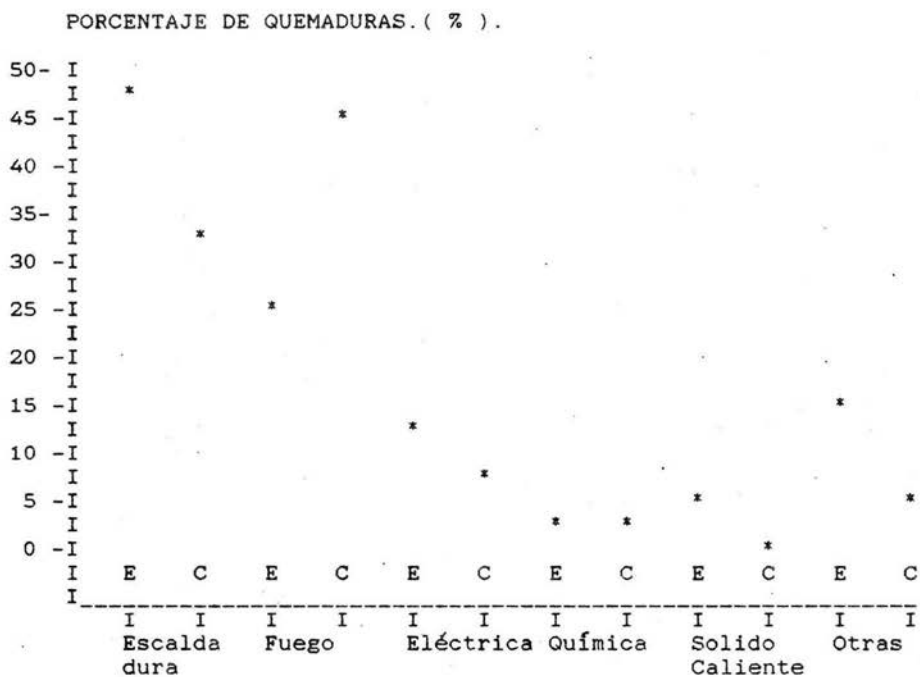
QUEMADURAS SEGUN SU PROFUNDIDAD.

| PROFUNDIDAD | ASPECTO ANATOMICO E HISTOPATOLOGICO DE LAS QUEMADURAS. | EVOLUCION. |
|----------------------------|---|-----------------------------------|
| PRIMER GRADO. | Eritema. | Solución de los 3 a los 5 días. |
| | ESPONTANEO. | AL CONTACTO. |
| | + + + + | + + + |
| SEGUNDO GRADO SUPERFICIAL. | Desprendimiento del epitelio con o sin flictena dejando al descubierto la dérmis que aparece eritematosa. | Solución de los 10 a los 15 días. |
| | ESPONTANEO. | AL CONTACTO. |
| | + + + | + + + + |
| SEGUNDO GRADO PROFUNDO. | Desprendimiento de la epidermis. La dérmis aparece algo blanquecina pero humeda. | Solución hasta los 21 días. |
| | NO ESPONTANEO. | AL CONTACTO. |
| | - - - | + + + |
| TERCER GRADO. | Destrucción de la epidermis y dérmis. La superficie aparece blanca y seca. | Solución quirúrgica. |
| | NO ESPONTANEO. | AL CONTACTO. |

TABLA No. 1. Resume las características histo-patológicas de la epidermis y la dérmis bajo diferentes grados de quemadura, así como su evolución cronométrica.

FIGURA No. 1.

CLASIFICACION PORCENTUAL DE LAS QUEMADURAS POR SU ORIGEN EN
 HOSPITALES DE ESPAÑA Y U. S. A. (CINCINATI).



ETIOLOGIA TRAUMATICA.

Figura No. 1. La gráfica representa el porcentaje de quemaduras por su origen en hospitales de España (E) y Estados Unidos (Cincinnati C).(11).

Asimismo, es durante este proceso que algunos fibroblastos inician su metamorfosis natural para ocupar nuevas puestas bajo la lesión y algunas células derivadas del sustrato de Malpighio se transforman en miofibroblastos. Los que tienen importante desempeño en el efecto de "Cordon de Monedero" por la contracción de la herida. Este es un proceso en tres fases:

- 1) Se produce una fuerza de tracción generada por una banda de células epiteliales en el borde de la herida.
- 2) Los miofibroblastos bajo el margen de la lesión (a 50 um. del borde y a 40 um. de su superficie aproximadamente) tienden a formar una banda retráctil (Teoría del "Picture Frame").
- 3) Finalmente, los miofibroblastos que han emigrado al lecho de la lesión, también traccionan los bordes hacia el centro (Teoría del "Purse String"). (15, 16, 17).

El Fibroblasto.

----- Cumple la función de sintetizar colágena que llega a su nivel máximo en 2 a 3 semanas, esta proteína que al principio se encuentra desalineada, es poco a poco orientada a partir de las líneas de stress o tensión que soporta la lesión hasta adquirir orientaciones poco dispersas, alineadas, y sumamente resistentes a la tracción. Aun cuando entre las primeras 3 semanas a dos meses de post-lesión los fibroblastos secundados por las fibrinolisinias y colagenasas que transporta la sangre de pequeños brotes capilares, ya han llevado a cabo la lesión de la herida y han eliminado ayudados por los macrófagos toda la fibrina, así como la colágena sobrante desalineada de la cicatriz. (18).

En tanto que de los dos a cuatro meses los cordones de colágena propios de la cicatriz ya están finalmente orientados, es en este momento el mejor para influenciar el aspecto cosmético de una cicatriz y cuando conviene fijarla en la posición más fisiológica posible para cada caso en particular. Aunque algunos autores no dan demasiada importancia al factor mecánico de stress para la formación de la cicatriz. (19).

Por lo general de seis meses a un año, la cicatriz adelgasa y se torna pálida. Pero si tiende a enrojecerse e inflamarse esta es descrita como cicatriz hipertrófica; y si en un año continua en esa tendencia e incluso tiende a invadir el resto del tejido a su alrededor se le llama cicatriz queloide (del griego "kelos," "como garra"; aludiendo a su parecido a un zarpa). Aun cuando no existe verdaderamente diferenciación clínica o histopatológica entre estas.

Se sabe que la cicatriz hipertrófica se debe a un imbalance localizado entre biosíntesis y degradación de colágena, la cual no es muy distinta de la piel clínicamente sana. Esta contiene aproximadamente la misma cantidad porcentual de colágena por el total de proteína.

Por lo que mas bien la rigidez del tejido hipertrófico es debido a la falta de Fases I y II de la curva de distensión y a la tracción que presentan los tejidos, mas que a un cambio en su resistencia o contenido de agua, pues el tejido Hipertrófico contiene mas agua que la piel normal. Y lo que determina absolutamente su rigidez es el sentido de orientación de sus fibras de colágena, que no estan dispersas sino alineadas en cordones paralelos. (20).

La colágena cuya información genética se encuentra entre el cromosoma 7 y el 17 es una larga cadena de 1000 aminoácidos aproximadamente, de estos la mayor parte son prolina, hidroxiprolina y glicina; su síntesis requiere de enzimas proteolíticas, iones férricos, oxígeno molecular, alfacetoglutarato y ácido ascórbico. Por lo cual desde su síntesis como procolagena hasta la molécula de colágena ya terminada, su metabolismo y distribución pueden ser alterados por cualquier deficit nutricional como el escorbuto, o por substancias como los esteroides que limitan su síntesis en el fibroblasto. (16, 21, 22).

Por otro lado, la cicatrización hipertrófica, típica de quemaduras y cierre de heridas de segunda intención es dependiente de estímulos hormonales anormalmente alterados en el organismo, y probablemente hasta de estímulos por inmunoglobulinas, aunque hay nuevos hallazgos que se contraponen a esto último en algunas observaciones. (23).

Pero en algo se coincide a ciencia cierta, la herida manejada con terapia exicional temprana y pronto recubrimiento, produce menor cantidad de endotoxinas y de componente sérico inmunosupresor, ademas de ser mas seguro el manejo y mejor el aspecto cosmético al final del proceso. (24, 25, 26, 27, 28).

En estudios realizados con trazadores radiactivos de timidina tritiada(H +3), en moléculas de agua, se encontró que la absorción promedio de la piel humana intacta o clínicament^e sana se encontraba alrededor de 8.5 ml/m²/hora. En tanto que durante la fase de choque traumático por quemadura, se sabe desde hace mucho tiempo que la permeabilidad disminuye en un rango de mas de 100 veces, durante los primeros 3 a 7 dias post-quemadura y que los eventos que se suceden se relacionan directamente con la plasmorragia, vasodilatación, aumento de la irradiación térmica, descenso de la absorción glomerular y una menor capacidad para la retención de líquidos, y por lo tanto una disminución en el peso corporal. Es por ello que se justifica el uso de soluciones salinas amortiguadoras, coloides y soluciones glucosadas por vía intravenosa. (29, 30).

ETIOLOGIA DEL PROCESO INFLAMATORIO.

Son muy numerosos los agentes que estimulan la respuesta del proceso inflamatorio, por lo que se esquematizan a continuación:

a.- Agentes Físicos.

Traumatismos por golpes o contusiones.

Heridas expuestas por cirugía o por objetos de tipo punzocortante.

Frío por criopatias o por congelación.

Quemaduras por calor o electricidad.

b.- Agentes Químicos.

Fenoles, sustancias metalóidicas y
ALGUNOS FARMACOS

c.- Radiaciones.

Ultravioleta, o ionizantes.

d.- Microorganismos.

Bacterias, virus, hongos, protozoos,
levaduras y parásitos.

e.- Reacciones inmunológicas.

Antígenos e Inmunocomplejos. (32).

FISIOLOGIA DEL PROCESO INFLAMATORIO.

La inflamación o proceso inflamatorio, constituye una respuesta universal de los tejidos vivos frente a muy diversos agentes traumáticos y es una condición patológica de muy alta frecuencia.

El proceso inflamatorio es una respuesta reaccional de tipo defensivo que trata de impedir la extensión y consecuencias del agente agresor, pero que comporta en si mismo efectos patológicos que conviene tratar oportunamente.

A pesar del enorme avance en el estudio morfológico, citológico, estructural, bioquímico, inmunológico y farmacológico, el conocimiento íntimo de los mecanismos del proceso inflamatorio aun esta por ser elucidado. (31).

La Inflamación.

----- El proceso inflamatorio reúne una secuencia estereotipada de mecanismos puestos en marcha por la lesión o trauma. Esta se encuentra constituida como una reacción biológica compleja cuya finalidad es la eliminación del agente causal y la reparación tisular.

Para el caso particular de una quemadura se considera como el proceso de cicatrización; el tipo clínico puede ser variable en atención a los 3 fenómenos señalados.

a.- Inflamación aguda.

----- El proceso inflamatorio de instauración rápida, es caracterizado por una reacción vascular propia en que presenta fenómenos de: vasodilatación, diapedesis y exudación plasmática.

b.- Inflamación subaguda.

----- Es un grado intermedio de cierta ambigüedad entre la inflamación crónica y aguda.

c.- Inflamación crónica.

----- Generalmente es la evolución de la inflamación aguda al no haberse eliminado al agente inflamatorio, su característica es la persistencia con sintomatología poco activa o apagada. Este fenómeno se continúa con una fase de fibrosis de la zona de lesión. (32).

FISIOLOGIA CELULAR DEL PROCESO INFLAMATORIO.

----- La reacción inflamatoria queda definida por los síntomas siguientes: calor, tumoración, rubor y dolor. En tanto que la dinámica de la inflamación relaciona la participación de los siguientes elementos celulares:

1.- Leucocitos polimorfonucleares.

----- Son los leucocitos sanguíneos las células encargadas de la defensa primaria, por su función fagocitaria y es el elemento característico de la inflamación aguda.

El Leucocito.

----- Fagocita al elemento extraño como bacterias, restos celulares, elementos orgánicos o inorgánicos. Y luego la partícula es hidrolizada en su interior por las enzimas lisosomales hasta que lo anaboliza o lo cataboliza según sea el caso.

Los eosinófilos participan también en este proceso, pero su presencia está ligada a los problemas de hipersensibilidad o parasitología.

2.- Linfocitos.

----- Su presencia es característica de los procesos crónicos, su papel está relacionado con la secreción de Inmunoglobulinas.

Los linfocitos B presentan actividad inmunosecretora y se encuentran en la zona ganglionar, en tanto que los linfocitos T, presentan función de tipo citotóxica y se encuentran en la zona preganglionar.

3.- Células Plasmáticas.

----- Son básicamente productoras de Inmunoglobulinas.

4.- Macrófagos.

----- Son células de tipo fagocitarias, conocidas como neumocitos circulantes o histiocitos fijos. Estas forman el Sistema Mononuclear Fagocítico. (31, 33).

DINAMICA DEL PROCESO INFLAMATORIO.

Inflamación Aguda.

----- Aparece de la ingurgitación vascular por cambios en el flujo sanguíneo responsable de la sintomatología clásica: calor, hinchazón, rubor y dolor. A continuación se presenta un aumento de la sensibilidad provocada por la exudación de fluido hacia el espacio extracelular, seguido de la migración celular, mediado por substancias de tipo quimiotáctico. La intensidad con que se producen algunos de estos fenómenos determinaran el tipo inflamatorio clínico: seroso, fibrinoso, catarral, supurado, etcétera.

Inflamación Subaguda.

----- Se considera como el estado intermedio dinámico del proceso inflamatorio entre la fase de respuesta aguda y crónica.

Inflamación Crónica.

----- Además de su celularidad característica, la inflamación crónica se caracteriza por la presencia de tejido de granulación que es donde toma asiento el proceso regenerativo. Este tipo inflamatorio eventualmente y dependiendo de las condiciones podría dar origen a una respuesta de tipo granulomatosa. (33).

MEDIADORES BIOQUIMICOS DEL PROCESO INFLAMATORIO.

Cierto tipo de sustancias de tipo endógeno son liberadas durante el proceso inflamatorio, y su papel consiste en desencadenar un sistema sinérgico de estimulación, de acuerdo a un patrón básico de pasos bioquímicos, los cuales una vez que se han presentado se llevan a cabo en forma independiente del estímulo. Su función se conoce solo parcialmente.

Entre los mas estudiados se encuentran los siguientes:

1.- AMINAS VASOMOTORAS.

a.- Histamina:

Es muy abundante en los tejidos, esta dispuesta en forma de granulos en las células secretoras denominadas células cebadas. Actúa una vez liberada, y su actividad es de tipo vasodilatadora o dilatadora capilar, además actúa a nivel de las terminales sensitivas produciendo dolor.

b.- Cinco Hidroxi-Triptamina(5 H.T.) o Serotonina:

Se encuentra ampliamente difundida en los tejidos, tiene una función menos conocida en el Proceso Inflamatorio; se cree que estimula las terminales nerviosas provocando respuesta dolorosa. (34).

2.- ENZIMAS PROTEOLITICAS.

Concretamente se trata de la calicreina que forma la bradiquinina y otras quininas, las cuales actuan como intensos vasodilatadores.

3.- POLIPEPTIDOS.

EL sistema de las Quininas conformado por bradiquinina, kalidina y metil-lisil-bradiquinina, las cuales actuan como vasodilatadores potentes, debido a que aumentan la permeabilidad capilar y provocan el dolor.

4.- SISTEMA DE COMPLEMENTO.

Su función en el proceso inflamatorio es importante bien actuando directamente o bien por la vía de la properdina que origina la liberación de sustancias como C 3, C 5, C 3 a y los C 5 a denominados anafilotoxinas; las cuales aumentan la permeabilidad capilar, liberan histamina, probablemente prostaglandinas y estimulan el quimiotactismo linfocitario.

5.- ENZIMAS LISOSOMIALES.

Estas enzimas atacan las membranas basales y filamentos proteínicos desdoblando el colágeno, la elastina y la fibrina.

6.- PROSTAGLANDINAS.

Son hidroxiácidos grasos insaturados(P. G.), con un anillo ciclo-pentánico; según la naturaleza de este anillo se identifican cuatro grandes grupos: 1) P. G. E, 2) P. G. F., 3) P. G. A. y 4) P. G. I.

Se conocen 16 tipos de P. G. diferentes, las cuales en su papel en el proceso inflamatorio es variado, a continuación se mencionan algunas de estas funciones:

- 1) Inducción del dolor por estímulo de las terminaciones propioceptivas desnudas.
- 2) Agentes pirogénicos.
- 3) Vasodilatadores.
- 4) Aumentadores de la permeabilidad capilar.
- 5) Aumentadores de la síntesis de colágeno.

Muchos de los antiinflamatorios como la aspirina actúan inhibiendo la biosíntesis de las P. G., al bloquear la ciclooxigenasa e impedir la biotransformación del ácido araquidónico precursor de las mismas.(34).

7.- LINFOCINAS.

Son factores secretados por los linfocitos T, se conocen varios tipos como los siguientes:

- 1) Factor de Migración de Macrófagos(M. M. F.), que induce la transformación linfocitaria.
- 2) Factor Aglutinante de Macrófagos(M. A. F).
- 3) Linfotoxina.
- 4) Linfólítico para los fibroblastos.(33).

PAPEL DEL TEJIDO CONJUNTIVO EN EL PROCESO INFLAMATORIO.

El tejido conjuntivo es el responsable del proceso inflamatorio, que es una reacción defensiva celular y vascular contra agentes extraños. Este mecanismo de defensa depende de las células y de los elementos intercelulares del tejido conjuntivo. Este tejido contiene células fagocitarias y células productoras de anticuerpos, además una sustancia amorfa de consistencia viscosa que representa una barrera física a la penetración de microorganismos.

En la inflamación ocurre una elevación del flujo sanguíneo, que consecuentemente aumenta la permeabilidad en los capilares y facilita la difusión de macromoléculas, como consecuencia en parte a la liberación de Histamina por las células cebadas, por lo que se forma asimismo un edema en el área afectada. (35).

También en la inflamación ocurre el fenómeno de diapedesis, que es el paso de células (neutrófilos y macrófagos básicamente), a través de los capilares mediante movimientos ameboides. Las células que se acumulan en esta área inflamada fagocitan detritos celulares o protéticos así como fibras alteradas por la inflamación. (36).

EL ALERGENO.

Se le denomina alérgeno a una sustancia que induce un aumento en la sensibilidad del estado inmunológico, por lo general se presenta a concentraciones bajas. Sin embargo, cuando el agente alérgico se mantiene por largos periodos de tiempo en contacto con el sistema inmune, este puede sufrir cambios químicos, lo cual implica una maduración y es entonces cuando se dice que el agente alérgico se ha transformado en un agente antigénico o en un antígeno.

Para que un agente extraño al organismo, pueda ser considerado como un agente alérgico potencialmente inductor de una respuesta Antigénica, debe de presentar las siguientes características:

- a) Peso molecular alto o medianamente alto.
- b) Componente muy polar.
- c) Presentar grupos sulfhidrilos.
- d) Inducir un aumento en la sensibilidad a concentraciones muy pequeñas. (39).

EL PROCESO ALERGICO.

De acuerdo a lo anterior, la alergia es una patologia inmunitaria del estado original o una reactividad alterada del individuo, debido a agentes extraños llamados alérgenos. Lo cual implica que no todas las reacciones inmunológicas ocurren en soluciones que contienen antígenos y anticuerpos.

Muchos individuos padecen de alergia contra grános de polen, leche, huevos, medicamentos o ciertas sustancias en el alimento, los líquidos corporales de estos individuos sensibilizados no contienen cantidades substanciales de anticuerpos o Inmunoglobulinas del tipo E (IgE) dirigidas contra los materiales sensibilizados llamados alérgenos. (37, 38).

Culquier antígeno que estimula la producción de anticuerpos de la clase IgE (estado de maduración del alérgeno) se le llama alérgeno. Los anticuerpos de esta clase comprenden solo el 0.004% del total de inmunoglobulinas séricas. Pero se ligan con gran afinidad a las células cebadas a través de un sitio de la región Fc (región constante del anticuerpo), que al combinarse con el alérgeno, las células cebadas liberan una serie de mediadores farmacológicos responsables de la ronchas y de las reacciones de brotes urticariales sobre la piel.

Sin embargo, dentro de las enfermedades provocadas por los alérgenos, la mas común es la llamada Anafilaxia o reacción de Tipo I, aunque es necesario considerar que los inmunólogos Gell y Coombs han clasificado este tipo de patologías en 4 tipos distintos. (38).

EL ANTIGENO.

Un antígeno es cualquier sustancia extraña que ha logrado madurar el sistema inmune hasta tener su anticuerpo correspondiente, es decir iniciar un proceso biológico complejo que implica en particular la proliferación de células linfoides y que determina la síntesis por estas últimas de moléculas de reconocimiento (anticuerpos o receptores celulares) que tienen la propiedad de combinarse específicamente in vivo o in vitro, con el antígeno inductor. (39, 40).

Por lo que algunas de las características físico-químicas de un antígeno serian las siguientes:

a) Exogenicidad.

El sistema inmunológico en alguna forma discrimina entre lo " propio " y "no propio ", de manera que solo moléculas que son extrañas a la circulación del animal resultan normalmente inmunógenas.

b) Tamaño molecular.

Las moléculas extremadamente pequeñas como los aminoácidos y los monosacáridos no son inmunógenos y generalmente, por lo que es aceptado como necesario cierto tamaño mínimo molecular.

c) Complejidad química.

Una molécula debe de poseer cierto grado de complejidad química para que sea potencialmente inmunógeno y consecuentemente antigénico. Las ramificaciones de la cadena principal se ha visto que potencian la facultad inmunógena

d) Constitución genética del animal.

La capacidad para responder a un antígeno particular varia con la composición genética o del género zoológico, por lo que las macromoléculas pueden ser inmunógenas solo para algunas especies

e) Vía de administración.

La potencialidad de que un antígeno induzca alguna respuesta inmunitaria, depende directamente de la dosis y forma de administración así como del tiempo de exposición. (41, 42).

INFLAMACION CON ORIGEN MEDICAMENTOSO.

Es sabido desde hace mucho tiempo, que las alteraciones por enfermedades dermatológicas, o por la utilización de un nuevo medicamento a nivel tópico, implican en la gran mayoría de los casos un conjunto de alteraciones bioquímicas o histopatológicas, que se relacionan directamente con su naturaleza química, su concentración y el tiempo de administración como ya se ha mencionado.

Sin embargo, en el caso específico de las lesiones traumáticas de origen medicamentoso se ha encontrado que eventualmente se produce una deficiente o nula destrucción de granulomas por parte de los factores humorales; esto se debe a que tanto los Leucocitos Polimorfonucleares (P. M. N.), como los Mononucleares o Macrófagos (M. N.), son susceptibles de ser alterados a diferentes niveles. Por lo que la capacidad fagocítica natural del macrófago eventualmente lo lleva a almacenar una cantidad considerable de drogas en su citoplasma, las cuales obviamente no son anabolizables, ni exocitadas a nivel intersticial.

Aunque quizá también se pueda deber, a la diferencia en la vida media de los P. M. N. que es muy breve, en comparación con los macrófagos que es muy prolongada. Histológicamente a este tipo de patología, se le conoce como Infiltrado Inflamatorio Agudo y es muy común su aparición por la utilización de drogas con

actividad biológica sobre muy variadas enfermedades como es el caso de la Tuberculosis y Lepra entre otras muchas enfermedades.(41).

Una analogía de la inmuno-deficiencia con origen dermico, podría ser el caso de la enfermedad conocida como lepra en su variedad lepromatosa, que se ha descrito que los fagocitos mononucleares son menos eficientes que los de individuos sanos en su capacidad para fagocitar a la bacteria Mycobacterium leprae.

En tanto que los fagocitos P. M. N., no parecen ser menos eficientes o defectuosos en sus funciones globales fagocíticas cuando se comparan contra los P. M. N. de personas sanas.

Sin embargo, algunos estudios han demostrado que una importante proporción de los pacientes con disfunción dérmica presentan un efecto generalizado deprimido en su actividad o rendimiento endocítico, relacionado con su efectividad enzimática algunas veces, y otras no parece corresponder a un defecto intrínseco de las células fagocíticas; sino más bien parecería ser el resultado de la presencia de factores en el suero de los pacientes.(42).

Esto ha dado lugar, a que se realicen estudios paralelos de apoyo sobre la capacidad endocítica para evidenciar los cambios metabólicos oxidativos(cuantificados por medio de las pruebas de Nitrozul de Tetrazolio(Nitro-Blue-Tetrazolium o N. B. T. y del Anion Super-Oxido), por alta ingesta de fármacos, por la enfermedad misma o por desordenes relacionados con la hemostasis del individuo como es el caso de los grandes quemados.(43).

Estos datos sugieren que al comparar los valores de titulación de los P.M.N. de personas clínicamente sanas contra los de pacientes considerados clínicamente patológicos, los valores de Km o de Kmax de los diferentes sistemas enzimáticos de leucocitos con la disfunción dérmica, deberían de evidenciar algunas alteraciones en los niveles y actividades de sus enzimas hidrolíticas, entre las que se encuentran las fosfatasa ácida y alcalina, la B - galactosidasa, la B - glucoronidasa y una lipasa ácida no específica.(44, 45).

Para el caso especial de las enfermedades de Tuberculosis y Lepra las actividades enzimáticas no representaron una diferencia estadística significativa consistente relacionada con el uso de medicamentos en dosis farmacológicamente altas. Otras actividades enzimáticas analizadas y que tampoco indicaron deficiencias en los fagocitos de pacientes lepromatosos, correspondieron a la desoxirribonucleasa ácida, la ribonucleasa ácida y la mieloperoxidasa.(41).

En tanto, que algunos estudios informan sobre la presencia de factores disueltos en el suero de pacientes dermatológicos que inhiben o bloquean, la respuesta quimiotáctica de los fagocitos o de factores séricos que bloquean la capacidad de adherencia de los leucocitos P.M.N. y de factores que interfieren con el proceso fagocítico normal.(42, 46).

Asimismo, en el caso de las personas con tuberculosis se ha descrito una situación similar en que los estudios de quimiotaxis muestran la presencia de algunos factores solubles presentes en el suero de pacientes con tuberculosis pulmonar avanzada.

Obviamente estos pacientes, se encuentran bajo medicación prolongada y por ello se les ha detectado una disminución significativa en la actividad quimiotáctica de los monocitos y P. M. N..(49).

En tanto que otros autores han encontrado, que la adherencia de los P.M.N. y mononucleares se encuentra incrementada de un modo no explicable en el caso de la tuberculosis pulmonar en un estado activo y avanzado.(48).

Asimismo existen diferentes estudios, que evalúan la capacidad endocítica de los leucocitos P. M. N. y macrófagos (M. N.), de pacientes con tuberculosis pulmonar avanzada. Aunque hay investigadores que reportan un incremento o disminución de la capacidad endocítica en distintas fases del tratamiento medicamentoso.(49).

Otros han encontrado normal la capacidad endocítica de los P.M.N. tanto de pacientes con tratamiento farmacológico, como de pacientes con la enfermedad bastante avanzada y sin el tratamiento de medicamentos.(50, 51).

En cuanto a la capacidad para mostrar los cambios respiratorios inducidos por fagocitosis(ensayo de NBT), los leucocitos P.M.N. de los pacientes con tuberculosis pulmonar avanzada bajo tratamiento no mostraron deficiencias metabólicas intrínsecas con respecto a esta actividad; incluso algunos autores refieren que encontraron un aumento significativo desde el punto de vista estadístico. (44, 50, 51).

Sin embargo, si consideramos un resumen de la aportación de los diferentes autores nos encontramos con que la alteración más frecuente es la depresión de la actividad fagocítica en pacientes con la enfermedad activa y con tratamiento de quimioterapia crónica. Informes de estas evaluaciones adicionales incluyen la capacidad opsonizante, que se ha encontrado disminuida en el suero de pacientes.(52).

Otras evaluaciones, que no corresponden al proceso fagocítico propiamente dicho, pero que son componentes íntimos de este son:

1.- La cuantificación de los niveles de complemento, que se han observado como normales(51, 52).

2.- La presencia de complejos inmunes solubles que en la tuberculosis activa se han encontrado en niveles incrementados, observándose que hay una disminución de los niveles cuando la enfermedad es inactiva.(52).

Las alteraciones en general, de las células con función fagocítica se encuentran influenciadas por una gran cantidad de medicamentos. Esta idea se debe a que no se ha demostrado la presencia de factores séricos, de origen epidemiológico, simplemente porque no se han aislado y caracterizado. A esto se debe, a que algunos autores han planteado la posibilidad de que los defectos encontrados pudieran no tener relación directa con la enfermedad a curar, sino con el medicamento. (53).

Algunos grupos han encontrado, que las drogas antituberculosas deprimen la mayoría de las funciones inmunes celulares. Otros investigadores han informado que las drogas con actividad biológica antileprosa alteran la actividad lisosomal de las células fagocíticas.(54, 55).

Existen asimismo informes en cuanto a la reversibilidad de las alteraciones en el proceso fagocítico cuando los pacientes se encuentran en diferentes fases del tratamiento. El Levamisol por ejemplo; Que se ha estudiado in vitro y se ha visto que es un estimulante de la fagocitosis en los pacientes con función Granulocítica Subnormal incrementan su actividad in vivo e in vitro, cuando están bajo el efecto de Clofazimida(B 663, Lampren) que es una droga típica antimicobacteriana.(56, 57).

En un estudio in vitro, la leucotaxis disminuida de los fagocitos de pacientes con tuberculosis pulmonar mejoró hasta corregirse en los pacientes con quimioterapia o cuando las células de los pacientes fueron tratadas con Ascorbato de Sodio y Calcio, Levamisol, Metoprolol y Propanolol.

Sin embargo, al inicio de la época de 1960 se tuvo un auge de medicamentos relacionados con la antibioterapia como Rifampicina, Estreptomina que se unieron al arsenal médico, pero que no han sido objeto de un estudio de screening de sus implicaciones inmunológicas.(53).

JUSTIFICACIONES

Debido a que el numero de personas que sufren quemaduras se ha ido incrementando en la mayoría de los países industrializados y en vías de desarrollo, por la acumulación demográfica en las grandes urbes y por el incremento incontrolado en la tasa de natalidad surge por tanto la necesidad de investigar nuevos sistemas terapéuticos que no solo mejoren el aspecto estético, sino que reduzcan el efecto del trauma en la capacidad motora muchas veces irreversibles y la lenta recuperación del individuo a la vida productiva, evitando así el desembolso de las instituciones gubernamentales de asistencia médica pública.

En los servicios medicos del Departamento del Distrito Federal, en la capital de la República las lesiones por quemaduras ocupan el lugar No.12. Además de que se tiene la estadística de que el porcentaje de invalidos registrados a causa de las quemaduras es del 0.3% en nuestro país. Si se considera que el censo poblacional realizado en 1970 era de 48 millones de habitantes, y el de 1980 de cerca de 60 millones, la cifra de personas inválidas o por lo menos disminuidas en su actividad motora para la década de los 90's (según algunos autores) se tornaria alarmante y posiblemente declararia ineficaz al Estado para darles una buena oportunidad ante la vida.(58).

Teniendo en cuenta que el número de personas que sufren este trauma, solamente en los Estados Unidos de Norteamérica es una de cada 10 personas que ingresan a un centro hospitalario y de estos son entre 200,000 y 300,000 las que requieren de una convalecencia prolongada, y el número que de estas mueren es de 10,000 a 12,000 personas durante el año de 1980, el interes por la busqueda de nuevas terapias se hace necesaria.(datos de la O.M.S.) . Este número se cree que es mayor en los países que no tienen la infraestructura hospitalaria, por lo que la mayor parte de la población se ve en la necesidad de acudir a centros de asistencia pública, en que sus terapias se basan en el conocimiento de plantas curativas como es la corteza M.tenuiflora que ha sido un punto de controversia entre la sociedad médica, debido a que no se han presentado pruebas definitivas de su potencial regenerativo epitelial y que existe el antecedente, de los doctores Mc. Lure Lam y Romance durante el simposio realizado en 1944 en la ciudad de Detroit en los Estados Unidos, en que el ácido tánico que esta presente en la corteza de Mimosa tenuiflora es tóxico para el uso humano pues provoca una lesión hepática que puede llevar al paciente a la muerte. Esta histopatología , se conoce con el nombre de necrosis centrolobulillar.(59).

La mencionada patología se ha relacionado en la mayoría de los casos reportados , con un cuadro complejo de antecedentes que van desde el uso de medicamentos varios,(anticonceptivos

por ejemplo) hasta la exposición aguda a "cielo abierto" de lesiones quirúrgicas además se ha encontrado que la lesión es reversible y sin consecuencias posteriores en personas sanas.

Por otro lado, ningún grupo de investigación, hasta el momento, ha presentado pruebas de la presencia del compuesto en la corteza, dicho compuesto en caso de existir en la planta, sería potencialmente inductor de un estímulo alérgico, por lo que además de estimular una respuesta inmunitaria por parte del organismo provocaría, asimismo, cambios fisiopatológicos. Estos cambios se manifestarían a nivel de una disminución en las cuentas blancas y rojas, cambios de pH y presencia de catabolitos en cantidades alteradas en orina como son : presencia de cuerpos cetónicos , proteínas, bilirrubinas y hemoglobina. (24, 25, 26).

En el México prehispánico se utilizaba ya la corteza de tepescohuite para el tratamiento tópico de quemaduras y es hasta estos últimos tiempos, y debido a la gran publicidad del producto que se ha extendido su uso, sin ningún tipo de control sanitario. Sin embargo, pese a su viejo conocimiento, en la actualidad es totalmente desconocido su mecanismo de acción y por lo tanto las alteraciones patológicas que pudiera provocar.

Para atribuir a su estudio , en este trabajo se evaluó la respuesta inmunológica depresiva indiferenciada o no mediada por células productoras de anticuerpos de un modo somero.

En consecuencia los objetivos inmediatos específicos de la investigación son los siguientes:

O B J E T I V O S

OBJETIVOS PRELIMINARES

- 1) Estandarización de un método de cuantificación del Índice de Migración de células activadas fagocíticas, (exclusivamente macrófagos intraperitoneales) de ratas albinas Rattus norwengicus, Cepa Wistar Lewis inoculadas por la vía intraperitoneal (i.p.) con una sustancia control, en forma aguda en condiciones in vivo.
- 2) Determinación de la viabilidad de los macrófagos intraperitoneales de la rata albina Rattus norwengicus despues de haber sido inoculada con fármacos de prueba y control

OBJETIVOS GENERALES

- 1) Cuantificar el grado de toxicidad aguda de un extracto activo de la corteza del Tepescohuite (Mimosa tenuiflora) administrado por la vía parenteral intraperitoneal a ratas albinas (Rattus norwengicus) machos. Inoculada una sola vez. La valorización se realizara por la obtención de la Dosis Letal media (L.D.50) para 14 dias, según el método propuesto por Litchfield y Wilcoxon.
- 2) Comparación del porcentaje de migración de macrófagos intraperitoneales, estimulados con el extracto de la corteza de Mimosa tenuiflora con respecto a otros medicamentos,
- 3) Comparacion del índice fagocítico en células fagocíticas humanas (Neutrofilos), en condiciones in vitro, en contacto con el extracto de la corteza M. tenuiflora y otros fármacos de uso tópico.

M A T E R I A L Y M E T O D O

1) EVALUACION DEL GRADO DE TOXICIDAD AGUDA.

La Metodología de Litchfield y Wilcoxon.

Uno de los tópicos primarios que es importante considerar en el uso de un nuevo medicamento es la exploración de su potencialidad tóxica, para ello ya existe una metodología estandarizada propuesta por Litchfield y Wilcoxon. Esta metodología varía de acuerdo al modo de uso del fármaco siendo este de uso agudo, subagudo o crónico. Como nuestro objetivo es el uso agudo del medicamento, nos avocaremos a la explicación de sus particularidades. (60).

La Toxicidad aguda contempla la inoculación de una droga pura o de un extracto crudo por una sola vía, en una sola ocasión, a una concentración única. Se utiliza para ello, organismos de la misma especie como: ratones albinos (Mus musculus), ratas pintas o albinas (Rattus norwengicus), conejos (Dryctolagus cuniculus) e incluso perros (Canis familiaris) y gatos (Felis catus, L.), selectivamente homogéneos. (60, 61, 62, 63).

Dicha homogeneidad tiene por objeto delimitar las variaciones no controladas inherentes al genotipo de cada organismo. Los factores que se consideran como delimitadores de variabilidad son los siguientes: sexo, edad, madurez sexual, tamaño y peso corporal, estado fisiológico (estro, hibernación, ciclo sueño-vigilia, etcétera), estado nutricional (anemia, niveles de glucosa en sangre, grupos cetónicos, pH, bilirrubina en orina), y finalmente, el estado anímico. (64).

Asimismo, durante el desarrollo experimental se mantienen a los organismos bajo condiciones controladas ambientales de luz, temperatura y humedad relativa, con acceso al agua y alimento ad libitum. (65, 66).

Por otro lado, se acepta en general, que un producto con actividad neurofarmacológica aceptable tendrá un efecto evidente antes de las 72 horas de haberse inoculado, máxime si es dosificado a concentraciones farmacológicas altas. De este modo se obtiene una relación entre la concentración del fármaco y el Índice de Mortandad (I. M.) que provoca a un tiempo determinado de su inoculación, a esta relación se le denomina Dosis Letal (L. D.). (63).

El modelo gráfico.

----- El empleo de las concentraciones 100, 310, 1000 y 3100 mg/Kg de organismo facilita la exploración del Índice de Morbilidad (I. Mo.) e/o Índice de Mortandad (I. M.) en un amplio rango, y por lo tanto su graficación. Las curvas que se obtienen son de tipo Logístico por lo general, donde los parámetros que se grafican son los siguientes: Para la variable independiente, son las diferentes concentraciones del farmaco, en tanto que la variable dependiente corresponde a los valores del I. Mo. o I. M. en unidades porcentuales.

El graficado se realiza en papel milimétrico y posteriormente logarítmico, para discriminar mejor el segmento de la recta. Los valores de L.D. se interpolan directamente del gráfico, o se hace uso de una regresión de recta por el método de mínimos cuadrados, de las coordenadas que describen mejor la recta por un coeficiente de determinación r^2 mas cercano a 1.0 (61, 67).

El modelo experimental.

----- El experimento se realizó en un cuarto cerrado y aislado (10 x 7 m.), bajo condiciones medioambientales controladas de luz blanca por medio de cuatro lámparas de neón de 40 watts, de 1.20 metros cada una. Esta intensidad lumínica correspondió a 38 candelas/pie², la cual se midió con un Fotómetro (marca: Weston Instruments., U. S. A., modelo: 756). Se mantuvieron ciclos de luz-obscuridad de 12/12 horas respectivamente, de acuerdo a lo propuesto por Hafez, por medio de un reloj electrónico. El encendido de la luz se produjo a las 7:00 A. M. y el apagado a las 7:00 P. M. respectivamente. Se controló además, la Temperatura Ambiental, por medio del cierre o abertura del sistema de aire acondicionado y de extracción de vapores, esta osciló en 23.00 (+/-) 1.00 oC (Desviación Estandar). En tanto que la humedad relativa se midió con un Higrometro resultando en 45.00 (+/-) 5.0%. (56, 61).

Por otro lado, para este ensayo se escogieron selectivamente 80 ratas de un lote de organismos adultos, todos ellos machos. Consecuentemente se dividió al grupo en ocho lotes iguales, de diez organismos cada uno, estos lotes correspondieron a las concentraciones siguientes; 0, 100, 177, 316, 562, 1000, 1778, y 3162mg/Kg de peso corporal para la vía de inoculación intraperitoneal, se escogió esta vía de inoculación por ser la mas idonea para la siguiente fase experimental, además de que se considera como una vía mas tóxica que la tóxica.

Las inoculaciones se realizaron a las 12:00 horas. los organismos fueron observados cada 12:00 horas durante 14 días en el estudio de Toxicidad Aguda.

Los animales.

----- Se utilizaron ratas albinas (Rattus norwengicus) cepa Wistar 'Lewis' machos maduros sexualmente, de quince semanas de edad, en condiciones gonadales normales de intercelo, con un peso promedio de 350.00 (+/-) 50.00 g. Los organismos fueron comprados de Bioterios México y reproducidos bajo condiciones controladas, en el Bioterio General de la E. N. E. P. Iztacala, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La corteza.

----- Fué obtenida de diferentes árboles de Tepescohuite, de una edad promedio de 7-10 años (comunicación personal de agricultores) en el valle de Cintalapa, Chiapas, México. La corteza es extraída mediante cortes longitudinales a lo largo del árbol, por medio de objetos punzocortantes.

La transportación de la corteza se realizó en bolsas de plástico contenidas en cajas de cartón, por vía terrestre.

La Fracción Activa.

----- Se realizó en el laboratorio de L. I. P. R. O. N. A. T. (Laboratorio de Investigaciones de Productos Naturales) de la E. N. E. P. I. (Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala). La Fracción Activa se obtuvo por reflujo en un Rotavapor comercial en alcohol etílico absoluto a 40 °C durante 40 minutos y posteriormente se llevo a sequedad a temperatura ambiente. El tratamiento por tanto unicamente elimina en forma parcial almidón y celulosa.

Presentación farmacéutica.

----- En solución acuosa, se presenta de un color caoba con una densidad de 1.0972 g/ml.

Datos físico-químicos.

----- Se presenta como un polvo de color rojizo, el cual es altamente soluble en agua destilada caliente (hasta en un 700.00 %), pero insoluble en solventes no polares como aceites minerales.

Es fuertemente higroscópico, sin que llegue a cambiar su estado sólido granuloso, no forma fases de sólido-líquido (estado de gel o sol) en cantidades apreciables.

Presenta un pH de 5.0 en solución acuosa del 15.00 al 20.00 % de concentración .

Su naturaleza química estructural es muy estable y sin cambios en su potencial biológico cuando es esterilizado por autoclave o calor humedo a 125 Grados Centígrados durante 25 minutos, o por horno de microondas de U.V. o I.R., o simplemente con calor seco por medio de una estufa eléctrica durante el mismo tiempo. (67).

2) EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES

El modelo gráfico.

----- La variable independiente, representa los diferentes intervalos de tiempo a 0, 2, 4 y 8 horas de inoculación del fármaco a una concentración constante de 100 mg/Kg de peso corporal, en tanto que la variable dependiente corresponde a los valores del Porcentaje de Migración de macrófagos intraperitoneales.

Los fármacos utilizados en este ensayo fueron los siguientes;

- 1.- Solución fisiológica isotónica salina de Cloruro de Sodio (NaCl), a una concentración del 0.85 %.(Becker)
- 2.- Plata metálica en aerosol(Argostop *, Biochemie S. A.).
- 3.- Nitrofurazona 0.2 g/100 g(Furacín *, Norwich Pharmacal).
- 4.- Acexamato de sodio 5g/100 g(Recoveron*, Armstrong).
- 5.- Extracto de corteza de Mimosa tenuiflora (Tepescohuite). (P.I.P.R.O.N.A.T.)
- 6.- Corteza de M. tenuiflora. (Natural).
- 7.- Corteza de Pinus moctezumae(Natural).

Para todos los fármacos se utilizó el mismo criterio de dilución, para el caso de los fármacos de uso comercial (Argostop, Furacín y Recoveron) se tomaron en cuenta las concentraciones de sus principios activos. El vehículo de dilución fué agua desionizada.

Las observaciones se realizaron para cada medicamento a un tiempo de inoculación de 2, 4 y 8 horas, en tanto que la concentración inoculada en forma aguda fue de a 100 mg/1.00 Kg de peso corporal para todos los casos, diluidos en 40 ml de agua desionizada mientras que la esterilización de los fármacos fué la referida por Freeman.(68).

- 1.- El proceso de extacción celular.

----- Se recupera 2.0 ml de líquido inoculado, por punción intraperitoneal, por lo que a cada organismo se le recuperaron 6.0 ml en total; de los dos mililitros recuperados uno se empleo para evaluar la viabilidad mientras que el otro fué para la cuantificación de células emigrantes.

2.- Viabilidad celular.

----- Como ensayo preliminar a este objetivo (Evaluación de la migración de macrófagos intraperitoneales), se determinó en una primera instancia la viabilidad de las células que emigraban a la cavidad peritoneal, esto se hizo de la siguiente manera:

a) De un mililitro de líquido intraperitoneal, se centrifugó en un tubo siliconizado a 1200 revoluciones por minuto. (r.p.m).

b) El paquete celular se resuspendió en 5 ml. de azul de tripano al 0.2% en PBS. (Solucion Balanceada de Fosfatos).

c) La suspensión obtenida se incubó a 35 grados centígrados durante 15 minutos.

d) Se procedió a hacer el conteo en una camara de Neubauer. Se les consideró células vivas a las que presentaban refringencia al observarseles en el microscopio (40 X) mientras que aquellas que no cumplieran con esta norma conformaban a la población de células no viables.

3.- Cuantificación de células emigrantes.

----- a) De un mililitro de líquido intraperitoneal se centrifugó en tubos siliconizados a 1200 r.p.m. durante 3 minutos, posteriormente se resuspendió el paquete celular con solución Hanks.

b) La cuantificación celular, se realizó utilizando la pipeta de Toma para la cuantificación de glóbulos blancos, usando como diluyente el colorante vital de Turk(1:10) y posteriormente se cuantificó en la camara de Neubauer.

Modelo experimental.

----- Para el modelo experimental se usaron las mismas condiciones que en la metodología de Toxicidad Aguda ya descrita. Se utilizaron 175 ratas de un lote de organismos adultos machos, las cuales se dividieron en 7 lotes de 25 organismos cada uno, que correspondieron a los organismos control y de prueba respectivamente.

Polvo de la corteza de M. tenuiflora.

----- Una vez en el laboratorio, se procedió a cortar la corteza en segmentos pequeños de 5 X 5 cm² aproximadamente, los cuales se molieron en seco en una licuadora (marca: Licuadoras Industriales), de tres velocidades, con base de metal de acero inoxidable, con capacidad de 10 litros. Se molió a una velocidad progresiva de 15 minutos por velocidad, para 500 gramos de corteza. El polvo obtenido se tamizó en una cerridora eléctrica de fabricación casera, con un tamiz de malla de Nylon (marca: Mont-Inox) del numero 150.

El polvo obtenido se esterilizó por el método convencional descrito por Freeman, depositando el polvo en matraces Erlenmeyer de 125 ml con tapones de algodón forrados con tela de gasa, y dejándolos en el autoclave (marca: HESA, modelo: 300) a 1.5 atm y/o 120 grados centígrados durante 20 minutos. (60).

3) CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS POLIMONUCLEARES

(P. M. N.) HUMANOS.

Modelo gráfico.

----- La variable independiente representa el número de levaduras fagocitadas por los neutrofilos, en tanto que la variable dependiente corresponde a los promedios del total de neutrofilos que fagocitaron cierta cantidad de levaduras.

La población total fue de 1000 neutrofilos por campo óptico de la preparación o muestra.

Modelo experimental.

----- Las condiciones de experimentación fueron las mismas que en los metodos anteriores.

Los humanos para los bioensayos de células P.M.N. circulantes.

----- Se utilizaron solamente hombres clínicamente sanos y maduros sexualmente, de 20 a 25 años con un peso promedio de 60.0 +/-5.0 Kg (Desviación Estándart).

SOLUCIONES UTILIZADAS.

1.- Solución Salina Isotónica.

----- cloruro de sodio al 0.85 %.

2.- Solución Salina Balanceada.(B.S.S., Earle).

----- Se disolvió 0.89 g de B. S. S.en agua bidestilada y antes de aforar a 100.00 ml de solución se ajustó el pH a un color canela adicionando poco a poco bicarbonato de sodio solido. Si no se usa inmediatamente la solución, se esteriliza por filtración en membrana Millipore de 0.45 um y mantiene en refrigeración.

3.- Líquido Turk.

----- Se disolvió 1.00 g de cristal violeta en ácido acético, al 1.00 % en agua bidestilada y antes de usar este colorante se diluyó 1:10.00 con agua destilada.

4.- Solución de Nitroazul de Tetrazolio(N. B. T.).

----- Se disolvió 0.10 g de N. B. T.(Tipo III, Sigma), en 70.00 +/- 10.00 ml. de agua bidestilada, despues adicionar disolviendo 0.85 g. de cloruro de sodio y aforar a un volumen de 100.00 ml. Esterilizar por filtración en membrana de Millipore de 0.45 um y almacenar en refrigeración.

5.- Safranina al 0.50 %.

----- Pesar 0.5 g de Safranina(Sigma), y disolverla en 100.00 ml de agua destilada.

Lavado de cubreobjetos.

----- Son desengrasados con Acido sulfúrico y lavados con agua bidestilada.

MATERIAL BIOLÓGICO.

1.- Suspensión de levaduras.

- 1) Resuspender en 250.00 ml de solución salina 20.00 g. de levaduras de pan (Sacharomyces panis), dejar sedimentar las partes gruesas para coleccionar el sobrenadante rico en levaduras finas.
- 2) Centrifugar el sobrenadante a 1900 r.p.m./10 minutos y lavar el sedimento 3 veces con solución salina bajo las mismas condiciones de centrifugación.
- 3) Resuspender el botón de levaduras resultante en 100 ml de solución salina y esterilizar esta suspensión a 15 lb/15 minutos o 121 grados centígrados/15 minutos.

Almacenar la suspensión en refrigeración, en alicuotas de 2.0 ml.

2.- Oponización de levaduras.

- 1) Tomar en condiciones de esterilidad 0.25 ml de la suspensión de levaduras y centrifugarla a 800 r.p.m./ 3 minutos, lavar el botón resultante 3 veces con 0.5 ml de B. S. S. centrifugando cada vez a 800 r.p.m.
- 2) Resuspender el botón resultante en 1.0 ml de suero humano fresco e incubar a 37.0 grados centígrados, durante 30 minutos en un baño María, centrifugar a 800 r.p.m. para desechar el suero y finalmente resuspender en B.S.S. para formar una suspensión de 100×10^6 levaduras/ml.

3.- Obtención de leucocitos P.M.N. de sangre desfibrinada.

- 1) Obtener 16.0 ml de sangre venosa depositar la muestra en un tubo de rosca de 20 X 180 mm conteniendo de 10 a 12 perlas de vidrio esterilizadas por calor.
- 2) Agitar el tubo suavemente evitando la formación de espuma hasta una completa desfibrinación.
- 3) Depositar 1.0 ml de sangre desfibrinada sobre la superficie de 3 - 4 cubreobjetos y mantenerlos durante 30 minutos a 37 Grados Centígrados, en un ambiente humedo y en atmosfera parcial de anhídrido carbónico(95.00 % de CO₂).

- 4) Tomar los cubreobjetos por uno de sus bordes con una pinza de extremos planos y con la ayuda de una pipeta Pasteur y solución de B. S. S. eliminar las células no adheridas al vidrio y los eritrocitos.
- 5) Introducir inmediatamente los cubreobjetos con P. M. N. a las cajas de Petri de 10 X 33 mm, conteniendo las drogas a probar en 2.0 ml de B. S. S..

Cada droga se estudió con la sangre de 6 individuos, y en cada ensayo se probaron las concentraciones de: 20, 40 y 60 ug. Se seleccionaron estas concentraciones pues la bibliografía menciona que estas son las concentraciones endógenas de los fármacos en un tiempo agudo por lo general.

Para las drogas de nitrofurazona, sales de plata y extracto activo del tepescohuite se utilizó como disolvente agua bidestilada. Sin embargo, para el caso del acexamato de sodio (Recoveron) se usó dimetil formamida (D. M. F.) ya que es insoluble en agua. Cabe señalar que este último disolvente no afecta la viabilidad celular a una concentración de 60 microgramos/60 microlitros de D. M. F./1.0 ml. de cultivo.(50).

Las drogas a utilizar ya preparadas fueron esterilizadas en autoclave de modo convencional.

Cuantificación del Índice Fagocítico.

----- Para evaluar el efecto de los fármacos en el proceso fagocítico(capacidad endocítica y reducción del N. B. T.), se incubaron los leucocitos P. M. N. obtenidos de sangre defibrinada con los diferentes fármacos durante 60 min. a 37.00 oC y una atmósfera rica en bióxido de carbono(CO₂).

- 1) Después de la incubación se retiró el sobrenadante y se adicionaron 2.0 ml. de B. S. S. 0.5 ml. de N. B. T. al 0.10 % y 10 X 10⁶ levaduras opsonizadas.
- 2) Se incubaron los cultivos celulares por 30 min. bajo las mismas condiciones anteriores.
- 3) Se eliminaron por lavados todas las levaduras no ingeridas.
- 4) Las preparaciones se tiñeron con la solución de Safranina al 0.5 % durante 10 min.
- 5) Las preparaciones se pegaron con resina sintética y se observaron los fenómenos de ingestión y reducción de N. B. T..

Evaluación de Actividad Endocítica.

A) Para evaluar los porcentajes de endocitosis y reducción del N.B.T. el tamaño de la población de células consideradas fue ajustado a 1000 células por campo.

El porcentaje de endocitosis se evaluó, observando al microscopio óptico de luz con un aumento de 40 X el número de células que fagocitan levaduras, así como las que no fagocitan, sin importar el número de levaduras ingeridas.

B) Otra evaluación a realizar será el porcentaje parcial de endocitosis, observando al microscopio óptico de luz con un aumento de 40 X el número de células que ingieren levaduras y de estas se determinará el porcentaje de células que endocitaron 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o más levaduras.

El porcentaje de reducción del N. B. T. se evaluó, considerando únicamente el número de células que ingieren levaduras y en base a este se determinó el porcentaje de células conteniendo cuando menos 1 levadura de color azul; Sin que importe la intensidad de la coloración. El N. B. T. actúa como indicador ya que en su forma reducida es un compuesto insoluble de color azul ditroformazan.

R E S U L T A D O S

1) EVALUACION DEL GRADO DE TOXICIDAD AGUDA.

El Modelo Matematico.

----- La regresión y ajuste de los datos se realizó por medio del programa "Linear Regresion"(STI-08) de Texas Instruments para la calculadora programable lectora de tarjetas magneticas SR-52.

Los datos obtenidos se analizaron por el método de Litchfield y Wilcoxon (60), usando el método de inferencia estadística de estandarización para productos farmacológicos Probit descrito por Finney. (67).

Los valores de LD 50 obtenidos fueron de 400 mg/Kg para las ratas machos, teniendo un intervalo de confianza de 347 a 460 mg/Kg, para un nivel de significancia (alfa) de 0.05. Siendo estadísticamente significativa la diferencia encontrada entre las ratas control inoculadas solamente con agua desionizada y a las que se les dosificó el extracto de la corteza de Mimosa tenuiflora. Los datos del análisis de Probit se resumen en la Figura No. 2, en esta se observa una gráfica de tipo logístico.

La barra horizontal representa el intervalo de confianza para el valor de L. D. 50 promedio anteriormente descrito.

TABLA No.2

TOXICIDAD AGUDA

Via intraperitoneal.

Los resultados discretos del Indice de mortandad(I. M.) fueron los siguientes:

| CONCENTRACION DE PRINCIPIO ACTIVO mg/Kg de organismo | INDICE DE MORTANDAD MACHOS (%) |
|---|-------------------------------------|
| 0 | 0 |
| 100 | 5 |
| 125 | 10 |
| 177 | 10 |
| 250 | 20 |
| 316 | 30 |
| 500 | 55 |
| 562 | 70 |
| 750 | 100 |
| 1000 | 100 |

FIGURA No. 2

 TOXICIDAD AGUDA
 VIA INTRAPERITONEAL (I.P.).

Indice de Mortandad
 (I.M. %)

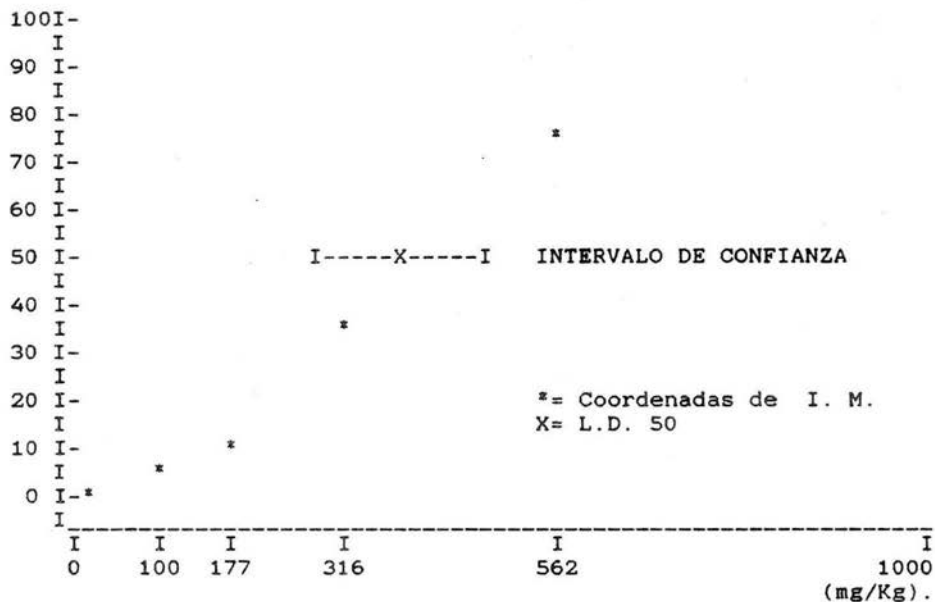


Figura No. 2. Las curvas logísticas indican el porcentaje de organismos muertos a las distintas concentraciones de principio activo inoculado por via intraperitoneal. Cada concentración correspondió a 10 organismos.

El valor de L.D. 50 se representó con la letra "X" y correspondió a 400 mg/Kg. con un intervalo de confianza de 347.00 a 460.00 mg/Kg.

El tiempo total de muestreo fué de 46 horas, correspondiente al cuarto día .

 TABLA No. 3

ANALISIS ESTADISTICO DE LAS CURVAS DE DOSES EFECTO

 LITCHFIELD Y WILDUNON (1948)

RATAS ALBINAS WISTAR LEWIS
 VIA INTRAPERITONEAL
 MACHOS

| DOSE mg/Kg | ALIVE/ TESTED % | OBSERVED ALIVE | EXPECTED ALIVE | OBSERVED MINUS EXPECTED | C2(nomograph # 1) Contribution to (x ²). |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|--|
| 250 | 4/20 | 20 | 11.0 | 9.0 | 0.0800 |
| 316 | 6/20 | 30 | 27.0 | 3.0 | 0.0045 |
| 500 | 11/20 | 55 | 70.0 | 15.0 | 0.1050 |
| 562 | 14/20 | 70 | 80.0 | 10.0 | 0.0600 |
| 750 | 20/20 | 100 * 98.4 | 95.0 | 3.4 | 0.0240 |

Total animals= 100
 Number of Doses, K= 5
 X^2 from table 2= 7.82
 Animal/Dose= 100/5= 20

TOTAL= 0.2735
 $X^2= 0.2735 \times 20= 5.47$
 Degrees of Freedom, n= K-2= 3

L.D. 84 mg/Kg= 600
 L.D. 50 mg/Kg= 400
 L.D. 16 mg/Kg= 270
 N @= 3 x 20= 60

5.47 is less than 7.82, there-
 fore the data are not signifi-
 cantly heterogeneous.

$$S = \frac{LD\ 84/LD\ 50 + LD\ 50/LD\ 16}{2}$$

$$S = \frac{600 / 400 + 400 / 270}{2}$$

$$S = 1.4907 \quad (1.4907)^{0.3576} = 1.1500$$

$$FED\ 50 = (5)2.77/SQR[N\ @] = 2.77/SQR[60] = 0.3576$$

L.D. 50 x FED 50= 400 x 1.15= 460.0000

L.D. 50 / FED 50= 400 / 1.15= 347.8260

L.D. 50 and 19 / 20 confidence limits:

| | |
|---|---|
| i | i |
| i | i |
| i | i |
| i | i |

2.-EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES

Las figura No.3 representa los valores ya graficados de la migración de células peritoneales de la rata albina, a diferentes tiempos (2,4 y 8 hrs) despues de habérseles inyectado i.p. los diferentes fármacos de prueba, mientras que la tabla No. 2 muestra la viabilidad celular en cada uno de los tiempos de muestreo

3.- CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS

POLIMORFONUCLEARES (P.M.N.) HUMANOS

Figuras 6-7 . La actividad de los diversos fármacos a diferentes concentraciones, (20, 40 y 60 mg) sobre el proceso fagocítico

TABLA No. 4

 Visibilidad celular en porcentaje

| hrs. | Farmacos | | | | | | |
|--------|----------|------|------|-------|---------------|------------|------------|
| | S.F. | ARG. | REC. | FUR.* | E.A.DE TEPES. | C.DE TEPES | C. DE FINO |
| 2 hrs. | 95 | 85 | 95 | - | 95 | 85 | 90 |
| 4 hrs. | 98 | 80 | 95 | - | 97 | 80 | 90 |
| 8 hrs. | 80 | 80 | 80 | - | 89 | 79 | 75 |

 Promedios en porcentaje de las células viables obtenidos con los diversos fármacos en diferentes tiempos. (ver Material y Metodo)

* En la tabla no aparecen los valores de viabilidad para el Furacin, pues todas las ratas inoculadas murieron antes de las dos horas. No se cuantificaron los macrófagos de un organismo muerto por no ser ya de interés farmacológico e inmunológico.

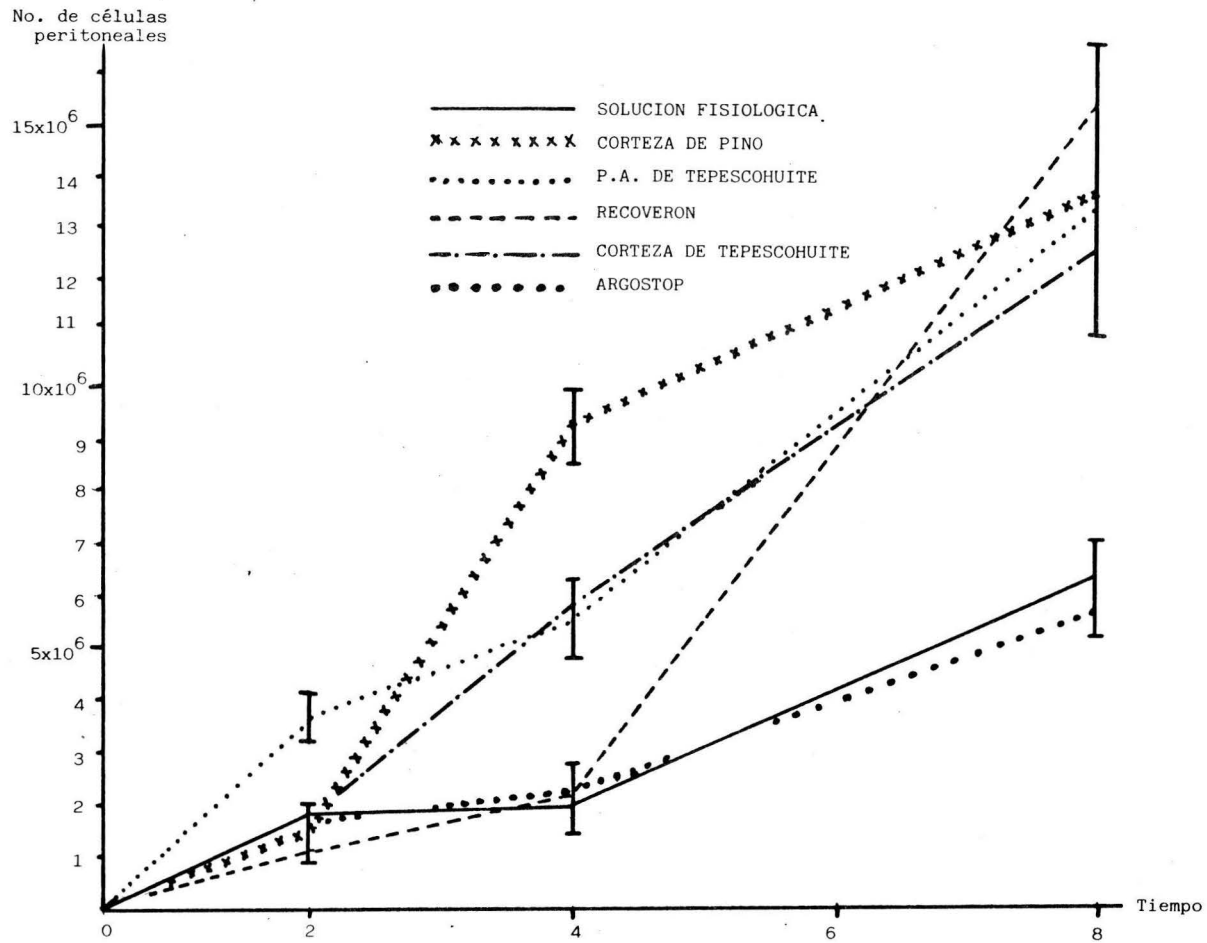


Figura No. 3. El incremento de células peritoneales. ESTIMULADAS CON DIFERENTES FARMACOS.

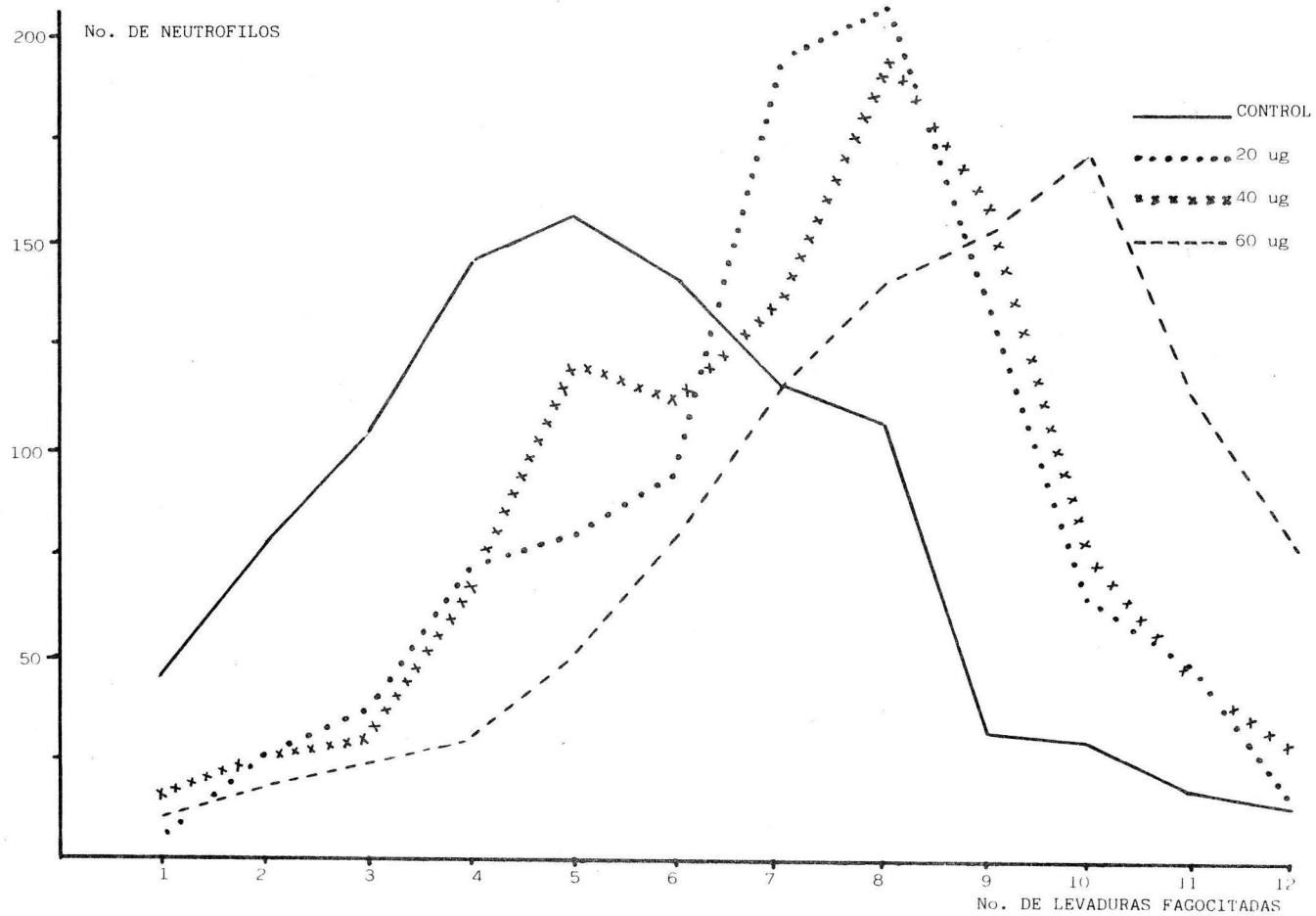


Figura No. 4 La actividad del FURACIN (NITROFORAZONA) sobre el proceso fagocítico a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 ug)

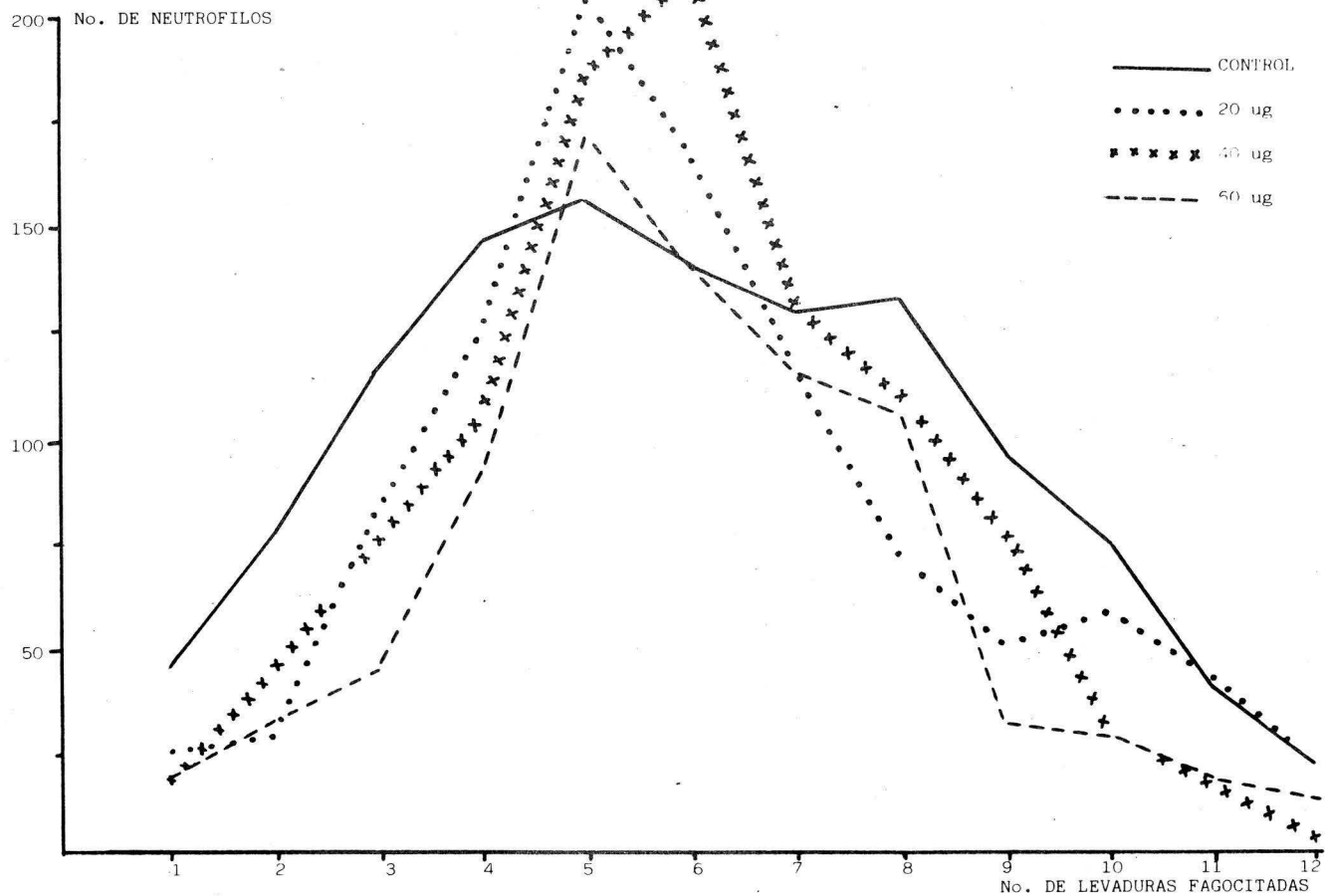


Figura No. 5 La actividad del ARGOSTOP (SALES DE PLATA) sobre el proceso fagocítico a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 ug)

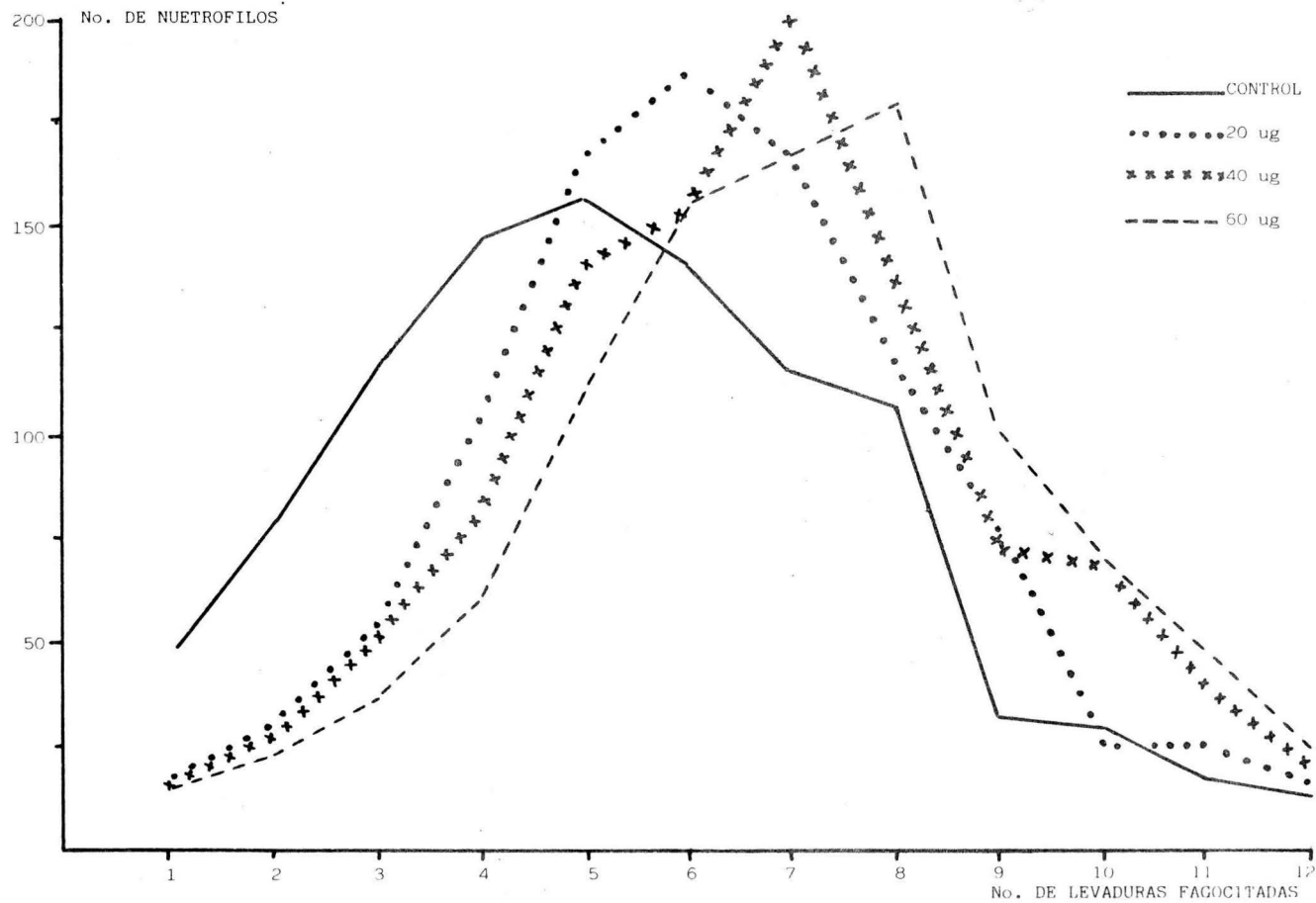


Figura No. 6 La actividad del RECOVERON (ACEXAMATO DE SODIO) sobre el proceso fagocítico a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 ug)

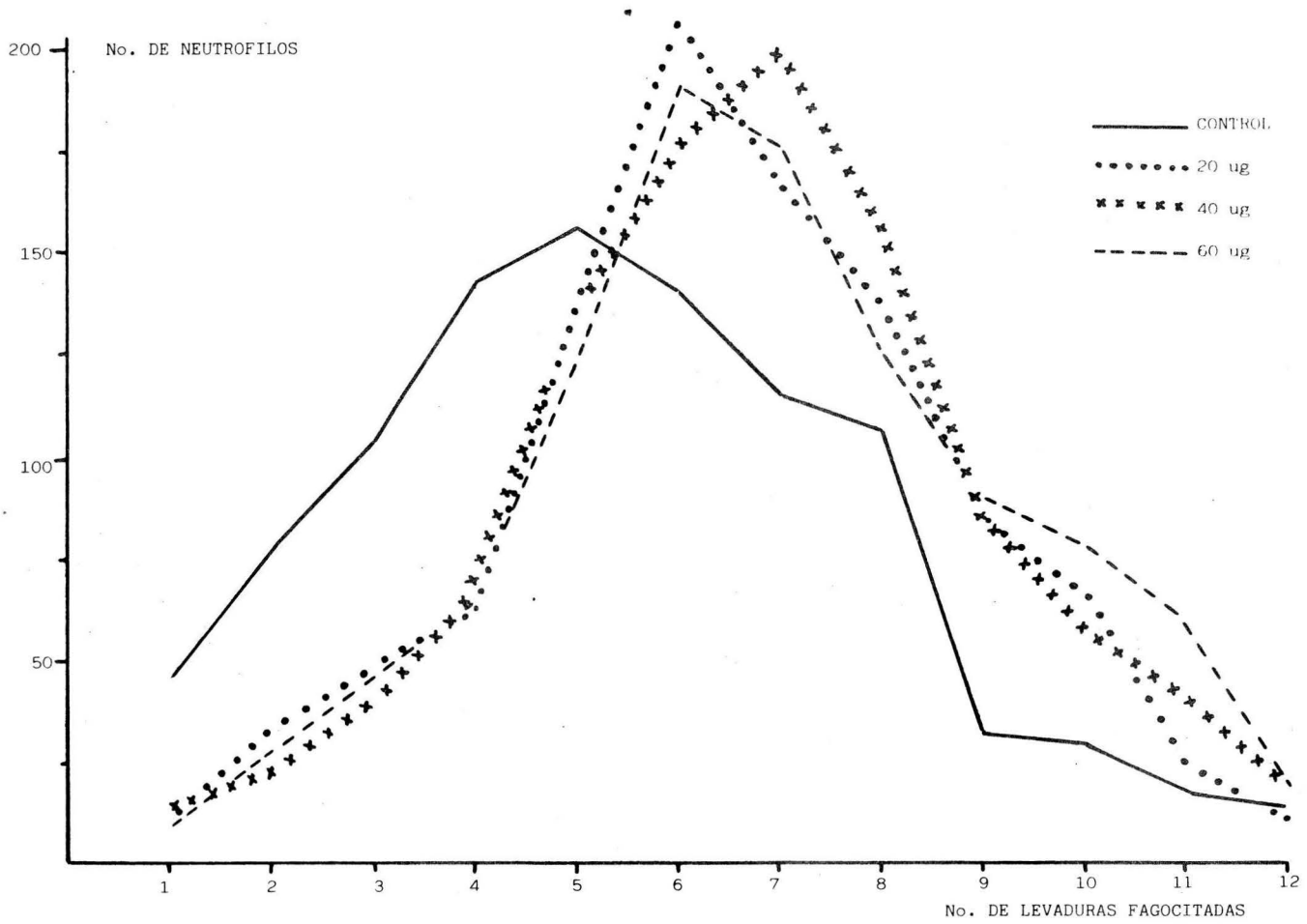


Figura No. 7 La actividad del TEPESCOHUIE (EXTRACTO ALCOHOLICO) sobre el proceso fagocítico a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 ug)

ANALISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

1) EVALUACION DEL DEL GRADO DE TOXICIDAD

Los resultados de la prueba de dosis letal (LD 50) demuestran que la inoculación aguda del extracto activo de tepescohuite se encuentra en un rango de baja toxicidad. Sería necesario concentraciones de 24.0 g por la vía intraperitoneal a un humano de 60.0 Kg y una latencia de 14 días para tener una probabilidad del 50 % para que ocurra su deceso, si se consideren las mismas condiciones metabólicas entre el animal experimentado y un humano normal.

2) EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES

Estandarización del metodo migración y viabilidad celular.

Los ensayos previos a este objetivo mostraron que la técnica original fue aceptable, ya que se acopla a las necesidades de este objetivo, así también como un método sencillo que cumple los condicionamientos de material y espacio del laboratorio en el que se realizó el experimento.

En consecuencia se llegan a las siguientes conclusiones:

a) Al utilizar los principios activos de los diversos fármacos estos estimulan la migración de macrófagos al peritoneo

b) En estas mismas condiciones, la viabilidad celular no es afectada estadísticamente (prueba "t" student) para ningún tratamiento en los diferentes tiempos a los cuales se hicieron las mediciones. (tabla No. 4)

Una vez establecidos estos criterios se procede al ANALISIS DE RESULTADOS.

En la figura No. 3 se observan poblaciones con diferencias estadísticamente significativas en los tiempos 2, 4 y 8 hrs., estas poblaciones son las siguientes ; 2 poblaciones en 2 hrs., 3 en 4 hrs. y en las 8 hrs con 2 poblaciones.

En el tiempo 2 hrs. se estiman dos poblaciones de datos; correspondiendo la primera población a casi todos los fármacos experimentados excepto el extracto activo del Tepescohuite que es el que conforma a la segunda población y el Furacín en el cual el 100 % de los organismos murieron antes de dos hrs. de haberseles inoculado. La densidad promedio de células para la primera población es aproximadamente 1.500.000 cel./ml. mientras que para la segunda población es de 3.662.500 cel./ml..

Por lo tanto el mejor tiempo para determinar cuantitativa y cualitativamente la migración de macrófagos estimulados por los principios activos de los farmacos estudiados es 8 hrs. después de la inoculación.

El Argostop estimula la migración de macrófagos en la misma intensidad que la solución fisiológica; la solución fisiológica por ser una sustancia inerte (NaCl al 0.85 % solo permite el equilibrio osmótico celular) en comparación con los demas fármacos y por lo tanto su capacidad irritante a la cavidad peritoneal es casi nula, la estimulación en este caso es mas mecanica (puncion y manejo del animal) que en la solución en si.

El extracto activo del Tepescohuite (M. tenuiflora) estimula la migración de los macrófagos en la misma proporción que los fármacos; Recoveron, corteza de pino y corteza de tepescohuite en un tiempo de 8 hrs. despues de la inoculación a una concentración de 100 mg/Kg de peso corporal del animal via intraperitoneal.

El fármaco Furacín (Nitrofurazona) a esta misma concentración y condiciones es tóxico para los organismos en comparación de los demas fármacos, ya que aquellos mueren en un 100 % antes de las 2 hrs. después de la inoculación.

Ela Argostop no tiene actividad sobre la estimulación de los macrófagos peritoneales, pues la densidad de células en cada tiempo es igual al de la solución fisiológica y en comparación con los demas fármacos de prueba.

3) CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS
POLIMORFONUCLEARES(P. M. N.) HUMANOS.

Al analizar el polígono de frecuencias (prueba de " F " con un valor de significancia de 0.05) realizado para el control demostró ser una curva de distribución normal con sus valores medios (5 levaduras endocitadas por 155 neutrofilos) cargada una unidad de levadura hacia la izquierda. (68).

Los datos obtenidos de la tasa endocítica por otro lado, son confiables ya que el número de neutrofilos estimulados se asemeja al reportado por otros autores. (50).

FURACIN

El análisis de sus curvas se realizó por separado debido a que se ensayaron 3 concentraciones que fueron 20, 40 y 60 ug respectivamente.

Se encontró que el número de neutrofilos activados se incrementó para todas las dosis encontrándose una diferencia significativa para la prueba de "t" Student (alfa= 0.05), pero unicamente en los casos que endocitaron mas de 7 levaduras (para las concentraciones de 20 y 40 ug) y mas de 8 levaduras para la concentraciones de 60 ug.

Los picos máximos de endocitosis correspondieron a: 210 neutrofilos activados (N.A) con 8 levaduras, 195 neutrofilos N.A / 8 levaduras y 170 N.A./9 levaduras para las concentraciones de 20, 40 y 60 ug respectivamente.

Esto demuestra que el aumento de la concentración endógena de fármaco estimula un incremento en el número de levaduras endocitadas, pero en cambio deprime el número de neutrofilos activados. Sin embargo, para ninguna de estas concentraciones se encuentra una inmunodepresión del potencial endocítico. En general las poblaciones fueron semejantes en sus concentraciones de 20 y 40 ug y diferentes con respecto a 60 ug.

ARGOSTOP

Se presento un incremento similar tanto en la tasa endocítica como en el número de neutrofilos activados siendo las crestas obtenidas las siguientes: 205 N. A. / 5 levaduras, 210 N. A. / 6 levaduras y 170 N.A./ 5 levaduras, para las concentraciones de 20, 40 y 60 ug respectivamente.

Sin embargo, para la endocitosis de mas de 7 levaduras unicamente la concentración de 60 microgramos fue estadísticamente significativa en diferencia para los valores de 8 y 9 levaduras endocitadas.

Lo que nos evidencia que los puntos máximos obtenidos aunque incrementan a la sensibilidad endocítica no son consistentes mas que para un solo punto, por lo que esta diferencia es mas relacionada al azar o error experimental.

RECOVERON

Al analizar las curvas dosis de N.A./endocitosis estos presentaron que la activación máxima se encuentra en 185 N.A./ 6 levaduras, 200 N.A./ 7 levaduras y 180 N.A. / 8 levaduras para las concentraciones de 20, 40 y 60 ug respectivamente.

Sin embargo, el numero de neutrofilos activados disminuyó con un número mayor de levaduras endocitadas para todos los casos. Ademas no existió una diferencia significativa estadística entre 20 y 40 ug para mas de 8 levaduras endocitadas y si existio para 8 y 9 con respecto a las concentraciones de 60 microgramos en que se presentó un incremento en el número de N.A. de cerca del 50.0 % .

1.- FRACCION ACTIVA DE Mimosa tenuiflora(TEPESCOHUITE).

El análisis de los puntos obtenidos para la estimulación con el extracto de la corteza, evidencio la presencia de una máxima estimulación, tanto en número de neutrofilos activados, como en numero de levaduras endocitadas desde 6 hasta 12, con respecto al control. Asi mismo los promedios de activación de neutrofilos correspondieron a 210 N.A./ 6 levaduras, 200 N.A./ 7 levaduras y 190 N.A./ 6 levaduras para las mismas concentraciones

En conclusión al comparar las diferentes tasas endocíticas con respecto a la activación de los neutrofilos se observa:

a) Que los diferentes farmacos ensayados no inducen la inmunodepresión, muy al contrario, estimulan a los neutrofilos para que se activen y endociten un mayor numero de levaduras con respecto a los controles.

b) El Argostop (Sales de plata) se presenta como el medicamento de menor potencial activante.

c) El Furacin (nitrofurazona), la corteza del Tepesocuhuite(extracto activo) y el Recoveron (acexamato de sodio) fueron los medicamentos que presentaron de mayor a menor potencial activador.

d) En todos los medicamentos se presento una fuerte tendencia inmunodepresora para la endocitosis de menor de 5 levaduras (estos valores caen en la media del control).

e) Del analisis de Distribución Normal, Distribución Binomial y de Poisson, se encontro que aunque todos los medicamentos inducen la activación endocítica a valores mayores de la media control, la deprimen a valores menores. Por lo a que al sumar y comparar las areas bajo la curva de sus respectivas concentraciones, se encuentra que en todos los casos se llega a los limites de Distribución Normal de la muestra control. Es decir el que mas deprime neutrofilos a valores menores a la media induce una mayor activacion a valores mayores de la media. (69).

f) Estos medicamentos no ejercen ningún tipo importante de acción inmunodepresora tanto en activación de neutrofilos como en endocitosis de levaduras.

g) Asi mismo al comparar los puntos máximos de activación de cada medicamento con respecto a las concentraciones, se observó que todos activan el número de neutrofilos, pero no el aumento en el numero de levaduras endocitadas salvo el Furacin.

Una representación esquemática de esto se resume en la siguiente tabla.

TABLA No. 5

FARMACOS (Neutrofilos Activados(N. A.)/levaduras.

| [] en ug | EXTRACTO ACT. TEPESCOHUIITE | FURACIN | ARGOSTOP | RECOVERON | CONTROL |
|-----------|--------------------------------|-------------|-----------|-----------|---------|
| 20 | 210/6 | 210/8 | 205/5 | 185/6 | 155/5 |
| 40 | 200/7 | 195/8 | 210/6 | 200/7 | 190/6 |
| 60 | 190/6 | 170/9 | 170/5 | 180/8 | 115/7 |
| \bar{X} | 200/6,33 | 191.66/8.33 | 195/5.33 | 188.33/7 | 105/8 |
| Sn-1 | 10/0.5733 | 20.20/0.577 | 21.7/0.57 | 10.40/1 | 30/9 |

A P E N D I C E

EVALUACION DE LA MIGRACION DE MACROFAGOS INTRAPERITONEALES

Las tablas 6-11 muestran la Media y Desviación Estándar de los datos obtenidos a partir de seis muestreos de células fagocíticas que emigraron a la cavidad peritoneal, estimuladas con diversos fármacos y cuantificadas a diferentes tiempos despues de la inoculación via intraperitoneal.

TABLA No. 6

| | | Solución Fisiológica(NaCl al 0.85%) | |
|-----------------------|-----------|-------------------------------------|------------------------------|
| Fármaco administrado: | | | |
| 2 HORAS | \bar{X} | 1787500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 217466.47 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| | | | |
| 4 HORAS | \bar{X} | 1957500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 535622.69 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| | | | |
| 8 HORAS | \bar{X} | 6212500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 473242.36 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |

TABLA No. 7

| | | Argostop (Sales de Plata) | |
|-----------------------|-----------|-----------------------------|------------------------------|
| Fármaco administrado: | | | |
| 2 HORAS | \bar{X} | 1675750 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 331389.37 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| | | | |
| 4 HORAS | \bar{X} | 2377500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 415260.96 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| | | | |
| 8 HORAS | \bar{X} | 5638250 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 499685.48 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |

TABLA No. 8

| | | Recoveron (Acexamato de Sodio) | |
|-----------------------------|-----------|----------------------------------|------------------------------|
| Fármaco administrado: ----- | | | |
| 2 HORAS | \bar{X} | 1075000 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 155456.31 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| ----- | | | |
| 4 HORAS | \bar{X} | 2287500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 436606.22 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| ----- | | | |
| 8 HORAS | \bar{X} | 15267500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 1251222.73 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |

TABLA No. 9

| | | Extracto activo de Tepescohuite | |
|-----------------------------|-----------|---------------------------------|------------------------------|
| Fármaco administrado: ----- | | | |
| 2 HORAS | \bar{X} | 3662500 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 485412.19 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| ----- | | | |
| 4 HORAS | \bar{X} | 5495000 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 665407.14 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| ----- | | | |
| 8 HORAS | \bar{X} | 13225000 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 340342.94 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |

TABLA No. 10

| | | Corteza de Tepescohuite | |
|-----------------------------|-----------|-------------------------|------------------------------|
| Fármaco administrado: ----- | | | |
| 2 HORAS | \bar{X} | 1775000 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 210158.67 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| ----- | | | |
| 4 HORAS | \bar{X} | 5730000 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 557314.99 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| ----- | | | |
| 8 HORAS | \bar{X} | 12521250 | CELULAS DE MACROFAGOS |
| | +/- | 1593347.21 | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |

TABLA No 11

| Fármaco administrado: | | Corteza de Pino (P. moctezumae) | |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| 0 | | | |
| 2 HORAS | \bar{X} 1562250 +/- 418808.13 | CELULAS DE MACROFAGOS | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| 4 HORAS | \bar{X} 9230500 +/- 651378.79 | CELULAS DE MACROFAGOS | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |
| 8 HORAS | \bar{X} 13225000 +/- 1029024.61 | CELULAS DE MACROFAGOS | DESVIACION ESTANDAR MUESTRAL |

LA CUANTIFICACION DE LA FAGOCITOSIS EN NEUTROFILOS
POLIMORFONUCLEARES (P.M.N.) HUMANOS

Las Tablas 12-14 . Representan los valores estadísticos de una población de 6 individuos sanos, que se les muestreo el fenómeno fagocítico en Neutrofilos (P.M.N.) de sangre periférica en presencia de diversos fármacos a diferentes concentraciones in vitro.

Los valores que a continuación se muestran son los valores de la Media y Desviación Estándar Muestral.

TABLA No. 12

[20 ug]

| Nº.de lev/fag. | Control | Argostop | Furacin | Recoveron | P.A.de Tepes |
|-------------------|---------|----------|---------|-----------|--------------|
| 1 \bar{X} | 45.166 | 25.333 | 6.880 | 17.500 | 10.666 |
| S+/- | 26.309 | 11.570 | 1.249 | 18.844 | 13.002 |
| 2 \bar{X} | 77.000 | 29.166 | 26.100 | 30.500 | 33.333 |
| S+/- | 52.873 | 15.625 | 9.261 | 16.269 | 17.431 |
| 3 \bar{X} | 114.166 | 83.000 | 37.500 | 53.200 | 48.633 |
| S+/- | 34.429 | 40.373 | 21.851 | 22.265 | 19.508 |
| 4 \bar{X} | 148.500 | 124.166 | 72.666 | 113.666 | 62.000 |
| S+/- | 44.332 | 45.988 | 25.057 | 42.325 | 32.966 |
| 5 \bar{X} | 158.166 | 206.660 | 81.166 | 163.000 | 135.333 |
| S+/- | 54.386 | 31.181 | 24.927 | 32.619 | 52.423 |
| 6 \bar{X} | 141.500 | 167.506 | 96.833 | 186.166 | 207.166 |
| S+/- | 46.935 | 55.294 | 31.390 | 29.761 | 30.649 |
| 7 \bar{X} | 144.665 | 116.833 | 198.666 | 166.330 | 166.666 |
| S+/- | 22.268 | 52.235 | 60.503 | 36.554 | 51.043 |
| 8 \bar{X} | 107.500 | 72.166 | 209.166 | 115.166 | 136.666 |
| S+/- | 38.919 | 17.359 | 48.622 | 34.913 | 36.805 |
| 9 \bar{X} | 32.500 | 49.000 | 138.166 | 76.166 | 83.633 |
| S+/- | 34.984 | 13.549 | 35.050 | 39.122 | 31.390 |
| 10 \bar{X} | 29.333 | 58.666 | 65.333 | 25.633 | 65.000 |
| S+/- | 35.545 | 36.919 | 32.806 | 19.559 | 31.868 |
| 11 \bar{X} | 80.000 | 42.666 | 50.666 | 25.666 | 24.632 |
| S+/- | 26.343 | 37.446 | 35.769 | 22.527 | 23.970 |
| 12 \bar{X} | 33.330 | 22.833 | 16.666 | 16.633 | 20.333 |
| S+/- | 21.602 | 40.597 | 19.815 | 16.309 | 31.557 |

TABLA No. 13

[40 ug]

| No.de lev/fag. | Control. | Argostop | Furacin | Recoveron | P.A.de Tepes |
|-------------------|----------|----------|---------|-----------|--------------|
| 1 \bar{X} | 45.166 | 18.166 | 17.166 | 15.000 | 13.633 |
| S+/- | 26.309 | 15.523 | 19.083 | 20.736 | 15.288 |
| 2 \bar{X} | 77.000 | 45.633 | 26.666 | 27.333 | 22.000 |
| S+/- | 52.873 | 16.733 | 13.422 | 16.705 | 19.390 |
| 3 \bar{X} | 114.166 | 76.333 | 30.666 | 50.000 | 39.633 |
| S+/- | 34.429 | 28.288 | 17.580 | 18.514 | 24.202 |
| 4 \bar{X} | 148.500 | 106.833 | 67.666 | 80.633 | 66.500 |
| S+/- | 44.332 | 19.301 | 18.554 | 19.198 | 29.364 |
| 5 \bar{X} | 158.166 | 186.833 | 122.000 | 140.833 | 136.000 |
| S+/- | 54.386 | 21.747 | 29.660 | 54.127 | 36.425 |
| 6 \bar{X} | 141.500 | 210.166 | 112.500 | 153.833 | 176.666 |
| S+/- | 46.935 | 15.904 | 15.083 | 42.757 | 39.332 |
| 7 \bar{X} | 114.665 | 129.333 | 137.335 | 199.000 | 199.166 |
| S+/- | 22.268 | 36.214 | 22.641 | 21.679 | 28.230 |
| 8 \bar{X} | 107.500 | 99.633 | 196.633 | 133.333 | 156.833 |
| S+/- | 38.919 | 25.786 | 14.009 | 41.793 | 52.651 |
| 9 \bar{X} | 32.500 | 76.500 | 160.833 | 72.633 | 83.333 |
| S+/- | 34.984 | 30.336 | 14.009 | 20.173 | 33.212 |
| 10 \bar{X} | 29.333 | 29.500 | 76.686 | 68.166 | 57.633 |
| S+/- | 35.545 | 25.563 | 31.466 | 30.889 | 23.068 |
| 11 \bar{X} | 80.000 | 17.500 | 47.333 | 39.166 | 41.333 |
| S+/- | 26.343 | 19.937 | 28.133 | 42.001 | 33.025 |
| 12 \bar{X} | 33.333 | 5.000 | 31.500 | 19.500 | 18.333 |
| S+/- | 21.602 | 12.247 | 23.682 | 31.072 | 22.141 |

TABLA No. 14

[60 ug]

| No.de lev/fag. | Control | Argostop | Furacin | Recoveron | P.A.de Tepes |
|----------------|---------|----------|---------|-----------|--------------|
| 1 \bar{X} | 45.166 | 13.333 | 10.000 | 14.500 | 8.333 |
| S+/- | 26.309 | 12.110 | 20.000 | 12.613 | 11.690 |
| 2 \bar{X} | 77.000 | 33.500 | 18.333 | 23.000 | 25.166 |
| S+/- | 52.873 | 11.895 | 17.351 | 18.110 | 16.203 |
| 3 \bar{X} | 114.166 | 46.666 | 24.666 | 37.606 | 41.166 |
| S+/- | 34.429 | 19.500 | 10.538 | 21.304 | 16.892 |
| 4 \bar{X} | 148.500 | 91.333 | 31.000 | 60.633 | 58.333 |
| S+/- | 44.332 | 27.594 | 61.967 | 34.676 | 26.867 |
| 5 \bar{X} | 158.166 | 173.000 | 50.633 | 109.833 | 122.500 |
| S+/- | 54.386 | 71.054 | 10.684 | 24.644 | 65.163 |
| 6 \bar{X} | 141.500 | 141.833 | 81.166 | 156.000 | 140.666 |
| S+/- | 46.935 | 34.184 | 14.105 | 55.483 | 23.947 |
| 7 \bar{X} | 114.665 | 129.666 | 117.000 | 167.666 | 175.333 |
| S+/- | 22.268 | 60.717 | 24.641 | 42.093 | 37.558 |
| 8 \bar{X} | 107.500 | 133.666 | 142.500 | 180.333 | 126.833 |
| S+/- | 38.919 | 54.057 | 37.845 | 75.901 | 27.556 |
| 9 \bar{X} | 32.500 | 96.166 | 154.166 | 102.666 | 89.666 |
| S+/- | 34.984 | 52.837 | 97.039 | 33.607 | 32.903 |
| 10 \bar{X} | 29.333 | 76.633 | 173.300 | 71.500 | 78.333 |
| S+/- | 35.542 | 44.183 | 27.449 | 26.726 | 25.788 |
| 11 \bar{X} | 80.000 | 40.500 | 115.006 | 48.333 | 59.666 |
| S+/- | 26.343 | 29.951 | 28.809 | 41.014 | 31.966 |
| 12 \bar{X} | 33.333 | 23.500 | 81.633 | 25.666 | 20.333 |
| S+/- | 21.602 | 40.712 | 22.435 | 37.702 | 29.412 |

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hernández F. (1942). Historia de las Plantas de la Nueva España. Imprenta de la Universidad Nacional Autónoma de México. Méx. Tomo 1, Libros 10 y 20.
- 2.- La Medicina Entre Los Indios Mexicanos Antes De La Conquista. (1910). Memorias del XVII Congreso Internacional de Americanistas México. Méx. pg. 214-224.
- 3.- del Paso y Troncoso, F. (1983). Estudios Sobre La Herbolaria de la Medicina en México. Principales Trabajos Sobre Taxonomía Botánica Nahuatl. Anales del Museo Nacional de Antropología e Historia de México. Mex. Vol.113.
- 4.- del Paso y Troncoso, F. (1983). Estudios Sobre La Herbolaria de la Medicina en México. Principales Trabajos Sobre Taxonomía Botánica Nahuatl. Anales del Museo Nacional de Antropología e Historia de México. Mex. Vol.137.
- 5.- del Paso y Troncoso, F. (1984). Estudios Sobre La Herbolaria de la Medicina en México. Principales Trabajos sobre Taxonomía Botánica Nahuatl. Anales del Museo Nacional de Antropología e Historia de México. Méx. Vol.235.
- 6.- Ortiz, M. B. (1976). Estado Actual del Conocimiento En Plantas Medicinales Mexicanas. Ed. IMEPLAN. Méx. Vol. X., pg. 27-50.
- 7.- Saenz de la Calzada, C. (1958). La Geografía Médica En México A Traves De La Historia. Ed. Politécnica. Mex.
- 8.- Diccionario Enciclopédico Hispano - Americano. Edit. W. M. Jackson Landru. Mex. Vol. 17.
- 9.- Martínez, M. C. (1969). Las Plantas Medicinales De México. Quinta Edición. Edit. Botas Mex.
- 10.- Miranda, F. (1975). La Vegetación De Chiapas. Edit. Tuxtla Gutiérrez., Chis. Segunda Edición. Mex. Vol. I y II.
- 11.- JANO. (1983). QUEMADOS. Medicina y Humanidades 10-16. Ediciones Doyma S. A. Barcelona, España. Junio. No. 572.
- 12.- Monafó, W. W., Chuntrasakakul, C., Ayvozion, V. H. (1973). Hypertonic solutions in the treatment of burns shock. Amer. J. Surg. 126:778.
- 13.- Moyer, C. A., Morgraft W. H., Monafó, W. W. (1965). Burn shock and extravascular sodium deficiency treatment with ringer solution with lactate. Arch. Sur. 90:799.

- 14.- Rosenthal, S. M., Taboer, H. (1945). Electrolyte changes and chemotherapy in experimental burn and traumatic shock and hemorrhage. Arch. Surg. 51:244.
- 15.- D. M. Davies. (1985). Scar Hipertrofic scars and Keloids, Br. Med. Jour. Vol. 290. 6 abril 1985., pp 1056 a 1058.
- 16.- Sabiston, J. C., et al. (1987). Tratado de Tecnicas Quirurgicas. Ed. Interamericana, Mex. pp. 139-190.
- 17.- Baur, P. S. et al. (1984). Epithelial mediated wound contraction in experimental Wounds, The Purse String effect. Vol. 24:8. 713-720.
- 18.- Thimoty, W. V. et al. (1983). A role for collagen phagocytosis by fibroblasts in scar remodeling: and ultrastructural stereologic study. Journal of Investigative Dermatology. Vol. 81:4, 375-378.
- 19.- Christie, R. M. D. (1983). Force required for wound closure and scar appearance, Plastic and reconstructive surgery, September. Vol. 72. No. 3, pp. 380-382.
- 20.- Dunn, M. G. et al. (1985). Mechanical analysis of Hypertrophic scar tissue: structural basis for apparent increased rigidity. Journal of Investigative Dermatology 84:1, 9-13
- 21.- Darwin, J. et al. (1979). The biosynthesis of collagen and its disorders, (first of two parts), Medical Progress. Vol 301 No.1, Jul. 5 pp.13-23.
- 22.- Darwin J. et al. The biosynthesis of collagen and its disorders (second of two parts), Medical Progress. Vol 301 No.2, Jul. 12 1979 pp.77-84.
- 23.- Plastic Surgery. (1983). June pp. 821-823.
- 24.- Sirpa, A. and Seljavaara, M. C. (1985). Altered Cell proliferation in burns. Journal of Trauma. 25:2, 101-105.
- 25.- John L. Ninnemann, et al. (1985). Definition of a burn injury induced immunosuppressive serum component. The Journal of Trauma. Feb. Vol. 25. No.2 pp. 113-117.
- 26.- Stratta, R.J. et al. (1985). Effect of surgical exicion and grafting procedures on post burn lymphocyte suppression. Journal of Trauma. 25:2, 46-52.
- 27.- Ward, H. et al. (1985). Primary closure of wound in burned tissue: experimental and clinical study. Journal of Trauma. 25:2, 125-127.
- 28.- Jay, K. M., Barlett, R. N., Danet, R. Y., Allyn, P. A. (1977). Burn Epidemiology: a basis for burn prevention. J. Trauma., 17:943-977.

- 29.- Harrison, H. N., Moncrief J. A. Duckett, J. W., Mason, A. D. (1964). The relationship between energy metabolism and water loss from vaporization in severely burned patients. *Surgery*. 56:203.
- 30.- Zawacki, B. E., Spitzer, K. W., Mason, A. D., Johns, L. A. (1970). Doses increased evaporative water loss cause hypermetabolism in burn patient?. *Ann. Surg.* 171:236.
- 31.- Bodel, P. (1970). Studies on the mechanism of endogenous pyrogen production. I. Investigation of new protein synthesis in stimulated human blood leukocytes. *Yale J. Biology. Med.*, 43:145-163.
- 32.- Bainton, D. F., Ulliyot, J. L., and Farquhar, M. G. (1971). The development of cell leukocytes in human bone marrow origin and content of azurophyl and specific granules, *J. Exp. Med.*, 134:907-934
- 33.- Crowder, J.G., Martin, R.R., and White, A. (1969). Release of histamine and lysosomal enzymes by human leukocytes during phagocytosis *J. Lab. Clin. Med.* 74: 436-444.
- 34.- Taubman, S.B., and Cogen, R.B. (1975). Cell detaching activity mediated by an enzyme(s) obtained from human leukocytes granules *Lab. Invest.*, 32: 555-560.
- 35.- Fullmer, H.M. (1965). The histochemistry of the connective tissue *Internat. Rev. Connective tissue res.*, 3:1.
- 36.- Mancini, R.E. (1980). Connective tissue and serum proteins *In. Rev. Cytol.*, 14:193.
- 37.- King, T.P. (1976). Chemical and biological properties of some atopic allergens *Adv. Immunol.* p,p.23,77.
- 38.- Becker, E.L. (1971). Nature and classification of immediate-type allergic *Adv. Immunol.* p,p.13,207.
- 39.- Goodman, J. W., Fong, S., Lewis, G. K., Kamin, R. and Ber Dalian, G. (1978). Antigen structure and Lymphocytes activation *Immunol. Rev.* p,p. 36,39.
- 40.- Cooper, M.D., Lawton, A.R. III. (1974). The development of the immunol system *Sc. Am.* 123:58
- 41.- Rojas Espinosa O., García Gonzales, J. E., Rodríguez, L.y Estrada, P. (1980). Fagocitosis en lepra. 4. Una breve revisión, con datos sobre las actividades de peroxidasa, desoxirribonucleasa con lepra lepramatosa. *Dermatología. Rev. Mex.* 24:36.
- 42.- Rojas-Espinosa, O., Aponte-Vazquez, J., Gonzáles, C. O., Estrada, P. S. y Ortiz, Y. (1979). Phagocytosis in leprosy. III. Defective adhesive and endocytic abilities of circulating leucocytes in lepromatous leprosy. *Int. J. Lepr.* 48:159.

43.- Lim, S.D., Kim, W.S. and Park, B.H.(1973). NBT response of neutrophils and monocytes in leprosy. *Int. J. Lepr.* 42: 150-158.

44.- Lim, S. D., Kim, W. S., Kim, R. A. y Park, B. H.(1973). NBT responses of neutrophils and monocytes in leprosy. *Int. J. Lepr.* 42:150.

45.- Rojas-Espinosa, O.(1978). Phagocytosis in leprosy. 2. Production of superoxide by circulating blood leukocytes from lepromatous patients. *Int. J. Lepr.* 46:337.

46.- Ward, P. A. Goralnick, S. y Bullock, W. E.(1979). Defective leukotaxis in patients with lepromatous leprosy. *J. Lab. Clin. Med.* 87:1025.

47.- Campbell, P. B.(1979). Defective leukotaxis in monocytes from patients with pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 139:409.

48.- Ellner, J. J., Spagnuolo, P. J. y Schachtes, B. Z.(1981). Augmentation of selective monocyte functions tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 144:391.

49.- Urbanitz, D., Gregoritz, E., Fechner, I. y Gross, R.(1974). Reduced phagocytosis of monocytes from patients with tuberculosis under treatment. *Klin. Wochenscher.* 52:544.

50.- Rojas-Espinosa O., Oltra, A., Chavez, Y., Aguilar, S. y Arce, P.(1987). Phagocytic activity of circulating polymorphonuclear leukocytes from patients with advanced pulmonary tuberculosis under treatment. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 29:137.

51.- Gatner, E. M. S. y Anderson, R.(1980). An in vivo assesment of cellular and humoral immune function in pulmonary tuberculosis: correction of defective neutrophil motility by ascorbate, levamisole, metoprolol, and propranolol. *Clin. Exp. Immunol.* 40:327.

52.- Johnson, N. Mcl., Mcnicol., Kapoor, A., Burton-Kee, J. E. and Mowbray, J. F.(1980). Defective yeast opsonisation of serum in tuberculosis. *Thorax.* 35:523.

53.- Gialdroni, G. y Pozzi, E.(1972). Effect of rifampicin on delayed hypersensitivity reactions. *J. Infect. Dis.* 126:542.

54.- Barranco, V. P. (1975). Inhibition of lysosomal enzymes by dapsone. *Arch. Dermatol.* 110:563.

55.- Mier, P. D. y Van der Hurk, J. J. M. A.(1975). Inhibition of lisosomal enzymes by dapsone. *Brit. J. Dermatol.* 93:471.

56.- Molin, L. y Stendahl, O.(1977). Enhancing effect of levamisole on the phagocytic activity on human neutrophil polymorphonuclear leucocytes in vitro. *Scand. J. haematol.* 19:93.

- 57.- Berghem, L., Lahnborg, G. y Schildt, B.(1977). Does clofazimide(Lampren *R) affect the macro and microphage function in man? J. Reticuloendothel. Soc. 21:171.
- 58.- Información Estadística del Sector Salud y Seguridad Social cuaderno 4 ., Instituto Nacional de Estudios Geográficos e Informatica. (1985). Mex. S.E.P. .
- 59.- Mc Lure, Lam., Romance .(1944). Congreso Detroit, U.S.A. Asociacion Nacional de Quemaduras, Mexico .
- 60.- Litchfield, J. T. Jr.; and Wilcoxon, F.(1949). Simplified Method of Evaluation Dose-Effect Experiments. J. Pharmacol. 96: 99-113.
- 61.- Loomis, T.(1976). Essentials of Toxicology. Second Edition. Lea & Fehiger. USA.
- 62.- Hafez, E. S. E:(1970). Reproduction and Breeding. Techniques for Laboratory Animals. Ed. E. S. E. Hafez. Phil. Lea. & Fehiger.
- 63.- Tallarida, R. and Jacob, L. (1979). The Dose-Response. Relation in Pharmacology. Springer-Verlag, New York. Inc. USA. pp. 137-170.
- 64.- Goodman and Gilman's.(1980). The Pharmacological Basis Of Therapeutic. Macmillan Publishing Co. Inc.
- 65.- Icook, M.(1965). The anatomy of the laboratory mouse. Ed. Academic Press. London and New York.
- 66.- Freeman, B.(1974) Burrows Textbook of Microbiology B.Saunders Company .p.p. 122-123.
- 67.- Finney , D.S. (1971). Probit Analysis. Cambridge. Univ. Press. Cambridge.
- 68.- Daniel, W.(1985). Regresion y Correlacion Simples. Bioestadística. Ed. Limusa. Sexta Reimp. Mex. pp. 243-290.
- 69.- Sokal, R. and Rohlf, J.(1979). The Dose-Response. Relation in Pharmacology. Springer-Verlag, New York, Inc. USA. pp. 137-170.