

U. N. A. M.

Facultad de Química

"ACCION DE DIVERSOS ESTROGENOS SOBRE
LA FAGOCITOSIS"

BLANCA AURORA ZENTELLA CANTON

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1969



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.

PRESIDENTE Prof. FRANCISCO GIRAL GONZALEZ

VOCAL Prof. JUAN JOSE MANDOKI W.

SECRETARIO Prof. ANA LUCIA VALERO IBARRA

1er. SUPLENTE Prof. MA. DEL SOCORRO SALAS T.

2do. SUPLENTE Prof. ALFREDO GARZON SERRA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

SUSTENTANTE

BLANCA AURORA ZENTELLA CANTON

ASESOR DEL TEMA

JUAN JOSE MANDOKI W.

SUPERVISOR TECNICO

NICANDRO MENDOZA P.

A MIS PADRES

CON TODA MI ADMIRACION

Y MI CARINO

A MIS HERMANOS

MIGUEL ANGEL

MARIA ELENA

NORMA

A TIA CARMITA

Y CHATY

A MIS MAESTROS

A MIS COMPAÑEROS

Y AMIGOS

C A P I T U L O S

I. INTRODUCCION

II. MATERIAL Y METODO

III. RESULTADOS

IV. DISCUSION Y CONCLUSIONES

V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

INTRODUCCION

El estudio de estimulantes del sistema reticulo endotelial (S.R.E.) es de gran interés, por la posibilidad de encontrar agentes que puedan ser utilizados en el tratamiento de infecciones (1)

Entre los estimulantes conocidos del S.R.E. los más eficaces son los estrógenos (2,3,4,5,6,7,8,). Sin embargo no se les ha usado como estimulantes de la actividad fagocitaria, por requerirse dosis muy elevadas que producen efectos estrógenicos que resultan inconvenientes.

El conocimiento de la relación que existe entre la estructura química de los estrógenos y su acción estimulante del S.R.E., podría eventualmente conducir a la obtención de algún "estrógeno" que solo sea capaz de estimular la fagocitosis sin poseer efectos estrogénicos. (9,10,11).

En la presente tesis se han investigado algunos compuestos que no habían sido estudiados anteriormente en relación a su actividad estimulante de la fagocitosis y se les ha comparado con compuestos ya conocidos. (12)

MATERIAL Y METODO

Las técnicas empleadas para el estudio del proceso fagocitario han sido numerosas (13,14,15,16,17). Varias de ellas están basadas en la velocidad de desaparición de partículas coloidales de la sangre debido a la actividad fagocitaria del sistema retículo endotelial (S.R.E.) Se han usado suspensiones coloidales de materiales inertes, tales como carbón (Biozzi 1953), fosfato de oro (Dobson y Jones 1951), oro coloidal (Vetter 1954) etc. (18,19,20).

Para poder utilizar una suspensión coloidal en el estudio de la actividad fagocitaria del S.R.E. las partículas deberán ser: atóxicas para las células, homogéneas en tamaño, dispersarse fácilmente en la sangre, no pasar a través de las paredes de capilares o glomérulos y, además, ser fáciles de cuantificar en la sangre a fin de permitir una valoración de la actividad fagocitaria.

Biozzi y colaboradores (21) obtuvieron una preparación de carbón coloidal que es estable en el torrente sanguíneo y que tiene un tamaño de partícula alrededor de 250° A. Al inyectarse esta preparación por vía intravenosa, las partículas de carbón son fagocitadas en un 90% por las células de Kupffer del hígado, cuya membrana las envuelve formando vacuolas que contendrán el ma

terial fagocitado, y en un 10% por los macrófagos del bazo.

En este estudio se usó una suspensión de carbón coloidal semejante a la empleada por Biozzi y colaboradores, la cual fué preparada a partir de 100 ml de una suspensión coloidal No.-C(11) 1431 (Günther Wagner-Werke) Hannover Alemania, que se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 minutos con el objeto de separar las partículas grandes. Se tomaron por decantación 71 ml a los que se les agregó 29 ml de agua conteniendo 1 g de gelatina Difco disuelto en ella. Se agitó dicha suspensión hasta homogeneizar. La gelatina fué adicionada para estabilizar la suspensión coloidal.

De la suspensión así obtenida, se tomó un ml y se hizo una determinación gravimétrica de sólidos. Un ml contiene aproximadamente 130 mg/ml de sólidos, de los cuales 10 mg corresponden a la gelatina y 120 mg al carbón coloidal. El pH óptimo debería ser de 7.35 a 7.4.

Se guardó esta suspensión en refrigeración hasta el momento en que fué usada. Se calentó a baño maría, con agitación constante, a fin de licuar la gelatina y luego se hizo una dilución con solución salina isotónica (v/v 1:2).

Se emplearon ratones albinos, machos, adultos, pertenecientes a la colonia del departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, de la cepa de origen CF₁, con un peso corporal comprendido entre 16 y 32 g. Estos animales se marcaron, pesaron y distribuyeron en grupos de modo que hubiese uniformidad en pesos.

En la tabla siguiente se ilustra con un ejemplo ficticio, la forma en que se distribuyeron los animales tomando en consideración su peso corporal. El ratón marcado con el No. 1 es el de mayor peso, disminuyendo de peso de acuerdo con su número, siendo el No. 16 el de menor peso.

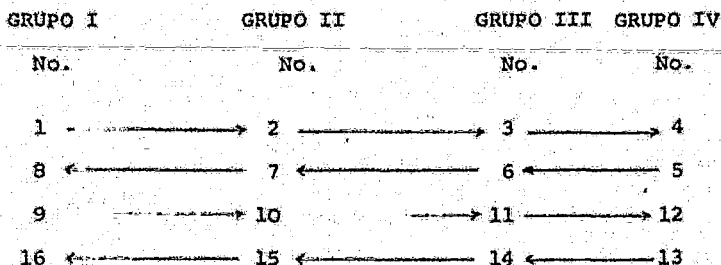


Figura 1

Los estrógenos estudiados y su procedencia fueron los siguientes:

estradiol	Syntex, S.A.
1 metil estradiol	Syntex, S.A.
2 metil estradiol	Syntex, S.A.
2 metoxi estradiol	Preparado por el Dr. J. Vega - Noverola.
diethylstilbestrol	E. Merck. Darmstadt
hexestrol	Nutritional Biochemicals, Corporation
dipropionato de diethylstilbestrol	Preparado por el Dr. F. Sanchez Viasca.
dipropionato de prometestrol	Reed & Carnrick
metalenestril	Labs. Searle, S.A.*

* Se agradece al Dr. Miramontes el generoso obsequio de este producto.

Los estrógenos anteriores se administraron en forma de solución oleosa (en aceite de maíz) mediante inyecciones subcutáneas. El volumen inyectado por día a cada ratón fué de 1 ml/100 g de peso. Se administraron inyecciones diarias durante 3 ó 4 días. Los ratones se pesaron diariamente para ajustar la dosis de acuerdo con el peso de ese día y veinticuatro horas después de la última inyección se determinó la actividad fagocitaria de cada ratón.

Antes de iniciar dicha determinación se pesaron nuevamente todos los ratones y se anotaron los pesos de cada uno para saber la dosis de carbón coloidal que le correspondía a cada ratón.

La técnica empleada para medir la actividad fagocitaria fué la siguiente:

Se tomó al ratón por la cola y se envolvió el cuerpo en una gasa de tamaño apropiado, procediendo a la toma de una muestra de sangre. Esta muestra se obtuvo de cada ratón y sirvió para ajustar el fotocolorímetro en cero de absorbancia, después de diluir la muestra (blanco). Para esto se le practicó al ratón una incisión pequeña en la cola con navaja (figura 2) tomando de allí la sangre con un tubo capilar de 20 microlitros de capacidad (de los usados para biometría hemática), limpio y heparinizado previamente con una solución de heparina diluida 1-3 v/v. Este capilar va acompañado de una cuba de plástico (UNOPE-TTE) Becton Dickinson No. 2705 (figura 3) cuyo contenido (solución salina) se sustituye por 4 ml de agua destilada para diluir

y hemolizar la sangre.



Figura 2

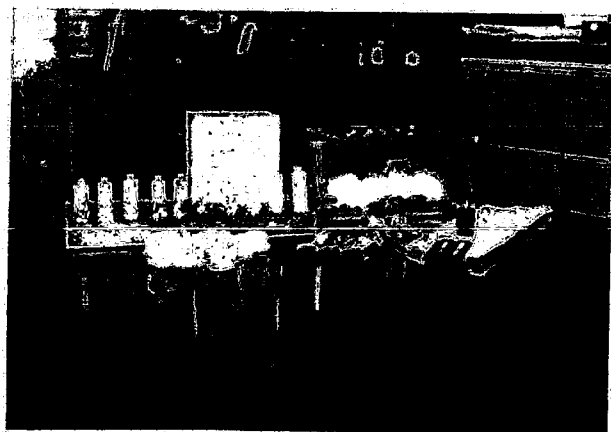


Figura 3. Material utilizado

Se desenvolvió al ratón y apoyado sobre una rejilla de alambre (figura 4), se le fijó la cabeza tomándola de su parte posterior (figura 5).

Se inyectó la dosis de carbón coloidal en el plexo retroorbitario con una jeringa de tuberculina, marca Becton Dickinson, de material plástico semi-transparente, tipo desechable, con aguja hipodérmica bisel regular No. 22 x 32 (figura 6)

La dosis de carbón coloidal fué:

$$\text{DOSIS} = \frac{\text{Peso del ratón en gramos} \times 1 \text{ ml}}{100 \text{ g}}$$

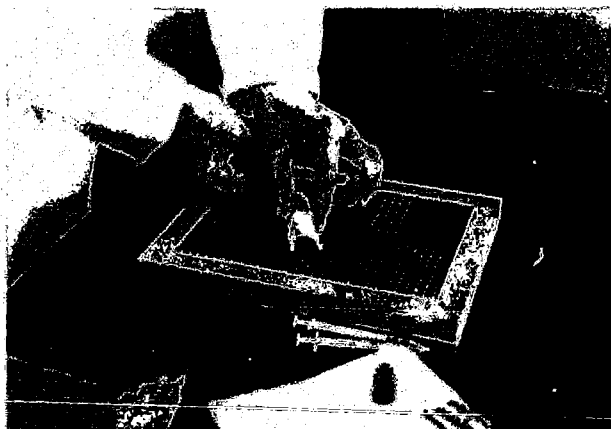


Figura 4



Figura 5

Fijación del ratón para
la inyección.



Figura 6

Al terminar la aplicación se accionó un cronómetro para tomar la muestra de sangre tres minutos después de haber inyectado la tinta china. El ratón permaneció en una jaula pequeña de alambre hasta poco tiempo antes de tomarse la segunda muestra de sangre, que se hizo igual a la toma del blanco, sólo que la incisión en la cola del ratón se efectuó en una vena diferente a la empleada para el blanco, con objeto de impedir la formación de coágulos.

A la muestra obtenida se le determinó la absorbancia en el fotolorímetro usando una lámpara de tungsteno y un filtro verde (490 mμ) después de ajustar el aparato en cero de absorbancia con el blanco tomado anteriormente.

Esta técnica se empleó con cada uno de los ratones del experimento siguiendo para ello el mismo orden utilizado al dis-

tribuir los ratones en grupos (Ver figura 1).

Como los experimentos deben ser ciegos, lo ideal es trabajar en equipo constituido por cuatro personas cuyas funciones serán: la primera, sacar los ratones de las jaulas en el orden ya indicado y hacer las anotaciones correspondientes en la libreta. La segunda, envolver al ratón y practicarle la incisión en la cola para la toma del blanco, accionar el cronómetro y posteriormente hacer la incisión para la toma de la segunda muestra. La tercera persona, tomar el blanco y la muestra con los capilares e inyectar al ratón en el plexo retroorbitario y, la cuarta, leer en el fotocolorímetro y anotar los resultados.

Para saber si el tratamiento modificó la dispersión de los valores que traducen la actividad fagocitaria (absorbancias) se llevó a cabo la prueba de F comparando las varianzas del grupo tratado y el grupo testigo. Cuando estas varianzas resultaron homogéneas se utilizó la prueba de t de Student-Fisher (22) para la comparación estadística de los promedios. Cuando resultaron las varianzas heterogéneas se empleó la modificación de Cochran (23) de la prueba de t para comparar los promedios.

RESULTADOS

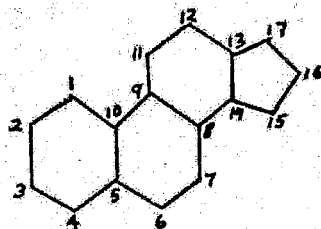
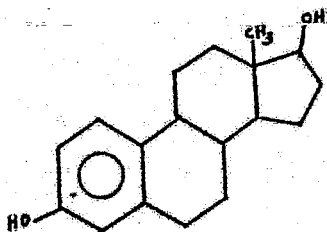


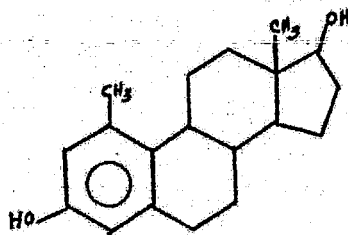
Figura 7. Esqueleto del
ciclopentanofenantreno

A. Derivados del estradiol.

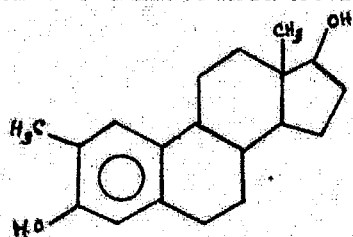
Se estudiaron derivados del estradiol con sustituyentes en el anillo A en las posiciones 1 y 2 (ver figura 7).



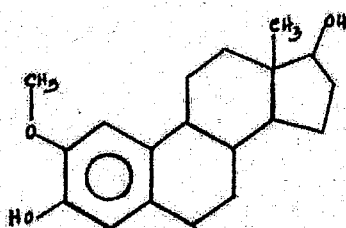
estradiol



1 metil estradiol



2 metil estradiol



2 metoxi estradiol

El tratamiento con 1 metil estradiol produjo un aumento significativo en la actividad fagocitaria (disminución de la absorbancia en 56%, $P < 0.01$) semejante en magnitud al aumento producido en la actividad fagocitaria por el estradiol (disminución en la absorbancia de 60%, $P < 0.001$) y no modificó la dispersión de las absorbancias observadas ($F=4.3$, $P > 0.05$). Vea se tabla I.

El 2 metil estradiol también estimuló la actividad fagocitaria (disminución de la absorbancia en 40%, $P < 0.01$). Sin embargo la estimulación producida por este último fué menor a la originada por el estradiol (disminución en absorbancia 60%) y el 1 metil estradiol (disminución en absorbancia de 56%). El 2 metil estradiol tampoco produjo variaciones en la dispersión de los valores de las absorbancias ($F=6.31$, $P > 0.05$). Vease Tabla I.

TABLA I

Grupo	Tratamiento	Dosis	Peso Promedio en g $\pm$ error tipo	n	Absorbancia Promedio $\times 100 \pm$ error tipo	Grupo con el que se compara	Disminución en por ciento	P
I	aceite de maíz	10 ml/Kg/día	24.2 $\pm$ 0.96	5	39.26 $\pm$ 1.6	--	--	--
II	estradiol	100 mg/Kg/día	24 $\pm$ 0.89	5	15.86 $\pm$ 2.79	I	60	< 0.001
III	1 metil estradiol	100 mg/Kg/día	23.5 $\pm$ 1.40	4	17.37 $\pm$ 3.72	I	56	< 0.01
IV	2 metil estradiol	100 mg/Kg/día 3 días	24.6 $\pm$ 1.47	5	23.68 $\pm$ 4.03	I	40	< 0.01

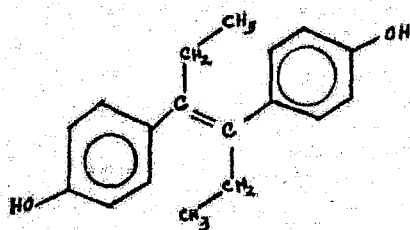
T A B L A I I

Grupo	Trata- miento	Dosis	Peso Promedio en Gs. ± error Tipo	n	Absorbancia promedio = X100 ± error Tipo	Grupo con el que se compa- ra	Disminu- cion en por cien to	P
I	aceite de maíz	10 ml/Kg/día 3 días	19.21 ± 1.60	5	23.0 ± 3.94	--	--	--
II	estradiol	100 mg/Kg/día 3 días	18.40 ± 1.50	5	7.04 ± 2.18	I	70	<0.02
III	2 metoxi estradiol	100 mg/Kg/día 3 días	20 ± 1.09	5	8.02 ± 2.27	I	65	<0.02

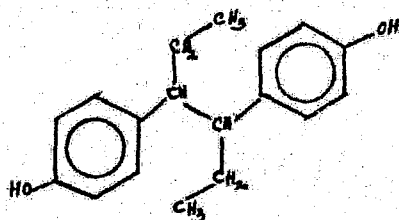
El 2 metoxi estradiol mostró un aumento en la estimulación de la actividad fagocitaria (disminución de la absorbancia en 65%, $P < 0.02$) semejante en magnitud al producido por el estradiol (disminución en absorbancia del 70%, $P < 0.02$). Esta sustancia no modificó la dispersión en los valores de las absorbancias ($F=3.02$ $P > 0.05$). Ver tabla II.

B. Derivados del estilbeno.

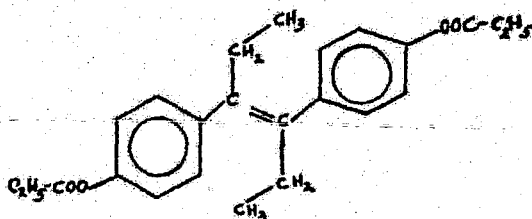
Fueron estudiadas sustancias con efecto estrogénico -- derivadas del estilbeno. (24)



diethylstilbestrol



hexestrol



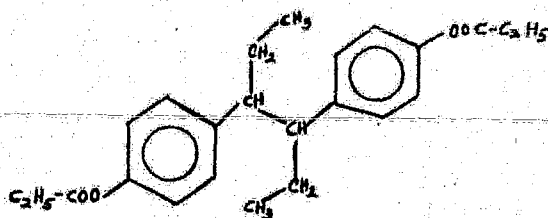
dipropionato de
diethylstilbestrol

T A B L A I I I

Grupo	Tratamiento	Dosis	Peso promedio en gs. ± error -- Tipo	n	Absorbancia promedio - X100 ± error Tipo	Grupo con el que se Compara	Disminución en porcentaje	P
I	aceite de maíz	10 ml/Kg/día 3 días	26.15 1.49	13	29.90 ± 2.53	--	--	--
II	dietilstilbestrol	100 mg/Kg/día 3 días	25.7 ± 1.55	13	10.12 ± 1.51	I	67	<0.001
III	hexestrol	100 mg/Kg/día 3 días	25.7 ± 1.46	14	7.18 ± 1.19	I	76	<0.001

T A B L A I V

Grupo	Tratamiento	Dosis	Peso promedio en gs. $\pm$ error tipo	n	Absorbancia promedio $\times 100 \pm$ error tipo	Grupo con el que se compara	Disminución en por ciento	P
I	aceite de maíz	10 ml/Kg/día 3 días	26.26 $\pm$ 0.67	19	38.51 $\pm$ 3.09	---	---	---
II	dipropionato de dietil--stilbetrol	142 mg/Kg/día 3 días	25.95 $\pm$ 1.07	20	8.94 $\pm$ 0.7	I	77	<0.001
III	Dipropionato de -promestrol	153 mg/Kg/día 3 días	25.05 $\pm$ 0.66	20	13.32 $\pm$ 1.57	I	65	<0.001



dipropionato de
prometestrol

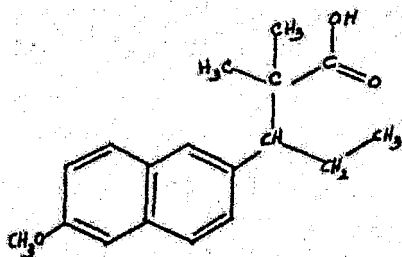
En el grupo de animales tratados con hexestrol, se observó un aumento en la actividad fagocitaria significativo (disminución en absorbancia de 76%, $P < 0.001$) semejante en magnitud al observado en los animales tratados con dietilstilbestrol (disminución en absorbancia de 67%, $P < 0.001$). Tanto el dietilstilbestrol $F = 2.82$, $P < 0.05$, como el hexestrol ($F = 4.22$, $P < 0.05$) modificaron significativamente la dispersión de los valores de las absorbancias, resultando las varianzas de ambos valores menores que la del grupo control.

Al estudiarse la actividad fagocitaria en ratones tratados con dipropionato de dietilstilbestrol y con dipropionato de prometestrol, se encontró que ambos compuestos aumentan la fagocitosis aunque el efecto del dipropionato de dietilstilbestrol (disminución en absorbancia de 77%, $P < 0.001$) es un poco mayor que el del dipropionato de prometestrol (disminución en absorbancia 65%, $P < 0.001$).

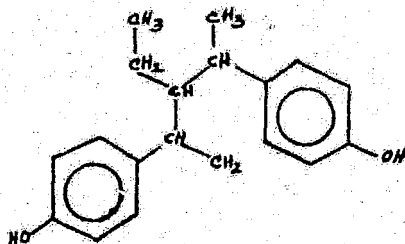
La dispersión de los valores de las absorbancias fué menor que la del grupo control tanto en el grupo tratado con dipropionato de dietilstilbestrol ($F=16.56$, $P < 0.05$) como en aquel que recibió dipropionato de prometestrol ($F = 3.28$, $P < 0.05$) Véase tabla IV.

C. Otros compuestos

Se probaron también las siguientes sustancias sintéticas con efecto estrogénico.



metalenestril



bencestrol

El tratamiento con metalenestril dió como resultado un aumento significativo en la actividad fagocitaria (disminución en la absorbancia de 82%, $P < 0.001$) semejante en intensidad al producido por el estradiol (disminución de la absorbancia de 81% $P < 0.001$). La dispersión de los valores de las absorbancias fué significativamente menor que la del grupo control en los grupos tratados con estradiol ($F=18.14$, $P < 0.05$) y metalenestril-

TABLA V

Grupo	Tratamiento	Dosis	Peso promedio en gs. ± error - tipo	n	Absorbancia promedio X100 ± error tipo	Grupo con el que se compara	Disminución en por --- ciento	P
I	aceite de maíz	10 ml/Kg/día 4 días	28.2 ± 0.52	8	22.31 ± 2.31	---	---	---
II	estradiol	100 mg/Kg/día 4 días	25.5 ± 0.75	6	4.1 ± 0.57	I	82	<0.001
III	metalenestril	100 mg/Kg/día 4 días	25.5 ± 0.71	10	4.3 ± 0.86	I	81	<0.001

T A B L A VI

Grupo	Tratamiento	Dosis	Peso promedio en gs. $\pm$ error tipo	n	Absorbancia promedio $\times 100 \pm$ error tipo	Grupo con el que se compara	Disminución en por ciento	P
I	aceite de maíz	10 ml/Kg/día 3 días	30.3 $\pm$ 0.70	10	32.2 $\pm$ 2.5	--	--	--
II	estradiol	100 mg/Kg/- día 3 días	29.35 $\pm$ 0.65	10	11.19 $\pm$ 1.15	I	66	<0.001
III	bencestrol	100 mg/Kg/- día 3 días	29.8 $\pm$ 0.71	10	8.76 $\pm$ 1.14	I	73	<0.001

($F=4.89$, $P < 0.05$). Ver tabla V.

El bencestrol produjo una estimulación sobre la actividad fagocitaria (disminución en absorbancia 73%, $P < 0.001$), similar a la del estradiol (disminución en absorbancia de 66%, ----- $P < 0.001$); en ambos casos el aumento en la actividad fagocitaria fué muy significativo ($P < 0.001$) y la dispersión en las absorbancias: estradiol ($F=4.71$, $P < 0.05$) y bencentrol ($F=4.77$, $P < 0.05$) resultó menor que la del grupo control tratado solo con aceite de maíz. Ver tabla VI.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Entre los diversos estimulantes del S.R.E. los que mayor efecto producen son los estrógenos, tanto naturales como sintéticos (25,26,27).

Se comprobó en el presente estudio la marcada estimulación en la fagocitosis que produce el estradiol. La sustitución del átomo de hidrógeno unido al C_1 por un grupo metilo (Ver fig. 7) en el 1 metil estradiol, y del átomo de hidrógeno unido al C_2 (Ver fig. 7) como en el caso del 2 metil estradiol y el 2 metoxiestradiol no produjo variaciones significativas en la actividad fagocitaria que resultó semejante a la del estradiol (Ver Tabla I y II).

Entre los estrógenos (no esteroides, sintéticos) que se probaron como estimulantes de la actividad fagocitaria se encuentran los derivados del estilbeno. En ellos se observó que el tipo de ligadura entre el $C\alpha$ y el $C\beta$ de la cadena central (saturada o insaturada) no afecta significativamente la respuesta estimulante.

La esterificación de los OH fenólicos en el dipropionato de dietilstilbestrol no afectó apreciablemente la actividad fagocitaria. (Ver tabla IV).

La sustitución en el hexestrol de un hidrógeno por un metilo en las posiciones orto con relación al OH fenólico de ambos anillos tampoco interfirió con la capacidad de estimular la actividad fagocitaria como se observa en el prometestrol (Ver tabla IV).

Otro estrógeno sintético no esteroide estudiado fué el metalenestril (Vallestril, Novestrine) que es un derivado del ácido allenólico. Este estrógeno fué reportado por Biozzi y cols. (28), con poca actividad estimulante del S.R.E. En este trabajo se comparó en el mismo experimento con el estradiol y se observó que el metalenestril tiene una actividad estimulante tan grande como la del estradiol. Esta divergencia en resultados puede deberse a que ellos no utilizaron un estrógeno con actividad conocida en el mismo experimento.

El bencestrol (estrógeno sintético) presentó también actividad estimulante de la fagocitosis. Ver tabla VI.

Los estrógenos disminuyeron la dispersión de las absorbancias en relación con las de los grupos controles, pero solo cuando los grupos fueron numerosos estas diferencias resultaron significativas.

B I B L I O G R A F I A

1. Nicol T., Mc. Kelvie P., Druce C.G.
Phagocytic activity of the reticulo endothelial system.
Nature 190, 418 - 419, 1961
2. Nicol T., Bilbey D.L.J., Charles, L.M., Cordingley
J.L. y Vernon-Roberts B.
Oestrogen: The natural stimulant of body defence.
J. Endocrin, 30, 277-291
Great Britain 1964.
3. Nicol T., Vernon-Roberts B. y Quantock, D.C.
The influence of various hormones on the reticuloendothelial
system: endocrine control of body defence.
J. Endocrin, 33, 365-383
Great Britain 1965.
4. Heller J.H., Meier R.M., Zucker R. y Mast G.N.
The effect of natural and sinthetic estrogens on reticulo en-
dothelial system function.
Endocrinology 61, 235-241. 1957
5. Nicol T., Druce C., Ware C.C.
Effect of some aromatic hidroxy compounds on the phagocity -

activity of the reticulo endothelial system.

Nature, 187, 422-423. 1960.

6. Grampa Giuseppe

Reticulo endothelial system stimulation by estrogens and thorium dioxide retention in rat liver.

En: The reticulo endothelial system and atherosclerosis.

Vol. I, 214 - 219.

ED: Di Iuzio N.R. y Paoletti R.

Plenum Press.

New York 1967.

7. Nicol T., Helmy I.D.

Influence of oestrogenic hormones on the reticulo endothelial system in the guinea pig.

Nature 167, 199 - 200. 1951

8. Dougherty F.T.

Hormones and the R.E.S.

J. of the reticulo endothelial society 4, No. 4, 229. 1967.

9. Nicol T., Quantock D.C. y Vernon-Roberts B.

The effects of steroid hormones on local and general reticulo endothelial activity: relation of steroid - structure to function.

EN: The reticulo endothelial system and atherosclerosis

Vol. I, 221-241

Ed: Di Luzio N.R. y Paoletti R.

Plenum Press.

New York 1967.

10. Nicol T., Vernon Roberts y Quantock D.C.

The effect of various anti-oestrogenic compounds on the reticulo endothelial system and reproductive tract in the ova--rectomized mouse.

J. Endocrin. 34, 377 - 386. 1966.

11. Nicol T., Bilbey D.L.J.

Effect of certain cytostatic and fungistatic steroids on activity of the reticulo endothelial system.

Nature 198, 492, 1963.

12. Nicol T., Bilbey D.L.J., Druce G.

Response of the R.E.S. to stimulation with oestrogens.

Nature 192 , 978 -980. 1961

13. Di Luzio N.R., y Riggi S.J.

The development of lipid emulsion for the measurement of reticulo endothelial system function.

Journal of the reticulo-endothelial society 1, 136. 1964.

14. Stuart A.E.

Techniques for the study of phagocytes.

Hand Book of experimental immunology, 1034-1053

Blackwell Scientific Publications

Oxford, England 1967.

15. Benacerraf B., Biozzi G., Halpern B.N., Stiffel C. y Mouton D.
Phagocytosis of heat denatured serum albumin labelled with I^{131} and its use as a means of investigating liver blood -- flow.

Brit. J. Exp. Path. 38, 35. 1957

16. Biozzi G., Benacerraf B., Halpern B.N., Stiffel C. y Hille--
mand B.

Exploration of the phagocytic function of the reticulo endo--
thelial system with heat denatured serum albumin labelled --
with I^{131} and application to liver blood flow in normal man -
and in some pathologic conditions.

J. Lab. Clin. Med. 51, 230. 1958.

17. Bolis L., Kassel R.W.I., Pette G.

The action of some natural substances on the reticulo endo--
thelial system.

En: The reticulo endothelial system and atherosclerosis

Vol. I. 197 - 202

Ed: Di Luzio N.R. y Paoletti R.

Plenum Press. New York 1967

18. Benacerraf B.

Functions of the Kupffer cells.

EN: The liver morphology, biochemistry, physiology.

ED: Roviller Ch.

Vol. II, Cap. 13

Academic Press. New York, London. 1964

19. Heller H.J.

Physiology stimulation and inhibition of the phagocytic function of the reticulo endothelial system.

EN: Physiopathology of the R.E.S.

A. Symposium, 43-51

ED: Halpern B.N.

Blackwell Scientific Publications

Oxford, England 1957.

20. Gabrieli E.R., Pyzikiewicz F., y Mlodozieniec.

Comments on the India ink clearance as a reticulo endothelial test.

J. of the reticulo endothelial society 4, No. 2-3, 223, 1967

21. Stuart A.E.

Techniques for the study of phagocytes.

Hand Book of experimental immunology 1045

Blackwell Scientific Publications

Oxford, England. 1967

22. Bennett, C.A. y Flanklin N.L.

Statistical Analysis in Chemistry and the chemical industry.

105-107

John Wiley and Sons. Inc.

New York 1954

23. Cochran W.G.

Biometrika 36, 290. 1949

En: Snedecor G.N. y Cochran W.G.

Statistical Methods

6ta. Ed. 114-119

Iowa State University Press.

Ames, Iowa, U.S.A. 1957.

24. Nicol T., Bilbey D.L.J. y Druce C.G.

Effect of tri-p-anisylchloroethylene, dienoestrol and stilboestrol diphosphate.

Nature 190, 419 - 420. 1961

25. Nicol T., Bilbey D.L.J.

The effect of various steroids on the phagocity activity of the reticulo endothelial system.

EN: Reticulo endothelial structure and function.

301 - 320

ED: J.H. Heller

Ronald Press

New York 1960.

26. Nicol T., Vernon-Roberts B., y Quantock D.C.

The effects of oestrogen: androgen interaction of the reticulo endothelial system and reproduction tract.

J. Endocrin. 34, 163-178. 1966.

27. Di Carlo J.F., Beach L.V., Haynes J.L., Silver J.N. y Steinmetz G.B.

Effect of hypophysectomy upon phagocytosis in the mouse.

Endocrinology 73, 170,173. 1963.

28. Bizio G., Halpern B.N., Bilbey D., Stiffel C., Benacerraf B. y Mouton D.

Oestrogenes et fonction phagocytaire du systeme réticulo-en-
dothélial (S.R.E.)

Société de biologie 1326-1331

Paris, 1957.