

9 302827
2ej



UNIVERSIDAD MOTOLINIA, A. C.

ESCUELA DE QUIMICA
Con estudios incorporados a la UNAM

COMPORTAMIENTO DE E. histolytica EN HUESPEDES

TRATADOS CON TRIPTOFANO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

ANA LUISA PEREZ BARCENA

MEXICO, D. F.

1991



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	PAGINA
CAPITULO I	
INTRODUCCION	1
CAPITULO II	
ANTECEDENTES	4
2.1. SEROTONINA	6
CAPITULO III	
PARTE EXPERIMENTAL	
3.1. DIAGRAMA EXPERIMENTAL	8
3.2. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO	10
3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO	10
3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO	11
3.2.3. REACTIVOS	12
3.2.4. EQUIPO	12
3.2.5. PREPARACION DE REACTIVOS	13
3.3. METODOLOGIA	14
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSION	
4.1. RESULTADOS	16
4.2. DISCUSION	33
CAPITULO V	
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFIA	36

INTRODUCCION

La evolución de cualquier infección es determinada por la interacción entre el huésped y el parásito. En esta relación recíproca, los factores del huésped son tan importantes como los del parásito. Los factores del huésped que han demostrado una posible explicación a la evolución variable de la infección con E.histolytica son: nutrición, influencia hormonal, - tal como lo demostraron Stuver y Hannaway (11,20) al reportar que infecciones latentes de amibiasis se convertían en amibiasis hepática después del -- tratamiento con corticoesteroides, y finalmente inmunidad mediada, celular y humoralmente (17).

Algunos investigadores han pensado que las diferentes manifestaciones de la amibiasis no pueden ser explicadas únicamente sobre las bases de la virulencia del parásito. Los factores del huésped ampliamente estudiados han sido principalmente relacionados con la inmunidad por anticuerpos -- producidos por el huésped ante una infección amibiana, pero no proporcionan un efecto protector ante una exposición al parásito (14).

En la década pasada existió un elevado interés en relacionar la inmunidad celular ante infecciones por E.histolytica. Se encontró que la función fagocítica de los neutrófilos estaba deprimida en casos de absceso hepático amibiano para lo cual se daban tres posibles explicaciones como son: - efectos tóxicos de E.histolytica sobre los polimorfonucleares, diseminación hematogena (10,12) y finalmente situación de stress (18,19).

Investigadores como Wessenberg (21), demostraron que el stress por calor y especialmente combinado con el ejercicio físico, así como la radiación solar predisponían a la invasión tisular en aquellos portadores de -

E.histolytica; sin embargo los mecanismos involucrados en este aumento en la patogenicidad permanecen aún no definidos, aunque pudieran estar relacionados con una disminución en la inmunidad celular mediada por hormonas adrenocorticales (2).

El porqué una cepa no invasora se vuelve o transforma en invasora es aún un enigma no completamente resuelto, para lo cual como se menciona anteriormente se han involucrado múltiples mecanismos. Los conocimientos -- actuales impiden determinar en forma fehaciente el porqué pueden existir -- exacerbaciones, remisiones y algunas veces la recuperación total del enfermo sin el empleo de algún tratamiento específico, lo que sugiere que no sea un solo factor y que mas bien sea de orden multifactorial.

Ahmad y Sen demostraron que al administrar ciproheptadina (un -- antagonista de la 5-hidróxitriptamina) se reducía significativamente la virulencia de E.histolytica (1).

La 5-hidroxitriptamina se produce y almacena en mas de un 90% en las células enterocromafines de la mucosa intestinal (7), el aumento de esta sustancia produce una mayor virulencia del parásito como lo demostraron --- Ahmad y colaboradores en 1984 (3).

El objetivo de este trabajo es demostrar el efecto que tiene el triptofano (precursor de la 5-hidroxitriptamina) en la virulencia de - - - E.histolytica en huéspedes infectados con este parásito.

Las hipótesis a seguir son:

- 1.- Si la 5-hidroxitriptamina produce una mayor virulencia en el parásito, -- el triptofano precursor de esta sustancia, es probable que tenga el mismo efecto.

- 2.- La administración parenteral de triptofano, debe ocasionar una mayor virulencia del parásito en comparación con la vía oral, ya que en esta -- última el grado de absorción no siempre es uniforme, lo que puede alterar la respuesta.
- 3.- La administración de placebo no debe modificar la virulencia del parásito.

ANTECEDENTES

El triptofano, único aminoácido que posee un anillo de indol, -- es importante por su variedad de reacciones y productos metabólicos. Se encuentra entre los primeros aminoácidos esenciales en la nutrición para la sin tesis de proteínas y de varios compuestos más.

Los requerimientos de triptofano en el humano (mg/kg de peso corporal) son: lactantes (4-6 meses) de 21; niños (10-12 años) de 4 y adultos -- de 3.

La omisión de triptofano en la dieta del hombre o animales, repercute en tener un balance nitrogenado negativo, ya que la mitad o mas del triptofano requerido es excretado en la orina y en las heces. En las ratas se manifiesta en que el apetito y la hemoglobina disminuyen al igual que la albúmina y globulina sérica, con el peligro de que en los animales se lleguen a desarrollar cataratas (16).

Muchos son los productos intermediarios que se obtienen en la degradación del triptofano y cuyas dos principales vías son: 1) por oxidación a quinurenina, la cual a su vez puede ser metabolizada por tres vías para formar: ácido quinurénico, ácido antranílico y ácido nicotínico o vitamina B; estimán dose que en el organismo humano por cada 60 mg de triptofano presentes en la dieta, 1 mg es convertido a ácido nicotínico (5). En muchos animales, la conversión de triptofano a ácido nicotínico hace innecesario un aporte de la vitamina en la alimentación. En la rata, el conejo, el perro y el cerdo, el -- triptofano puede reemplazar completamente a la vitamina en la alimentación; - en el hombre y otros animales, el triptofano incrementa la excreción urinaria de los derivados del ácido nicotínico (15).

2) La segunda vía importante de degradación del triptofano es: hidroxilación a 5-hidroxitriptofano por la acción de la enzima triptofano-5-hidroxilasa, -seguida por la acción de la descarboxilasa no específica de los aminoácidos aromáticos para originar 5-hidroxitriptamina o serotonina (fig.1)

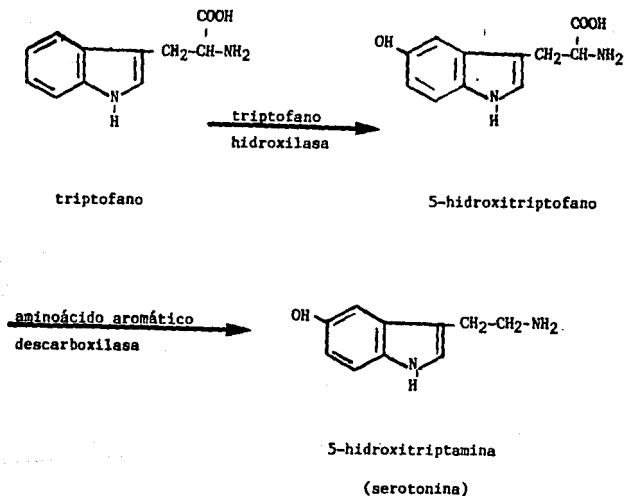


Figura 1 Catabolismo del triptofano

2.1.- SEROTONINA

En el siglo pasado, los fisiólogos dedicados a los mamíferos -- sabían que cuando la sangre coagulaba, aparecía en el suero un material vaso constrictor, llamado en ese entonces vasotonina.

En 1948, a esta sustancia, aislada de un complejo cristalino, la llamaron serotonina. Poco después Rapport (1949) dedujo que la parte activa de este complejo, era la 5-hidroxitriptamina (9).

Este compuesto llamado serotonina es la 3 - (beta-aminoetil) 5 - hidroxindol, el cual se encuentra ampliamente distribuido, tanto en el reino animal como en el vegetal; por ejemplo: en vertebrados, moluscos y artrópodos; y en frutas como: banana, nueces, cereales y granos como el maíz y el frijol.

La serotonina tiene múltiples acciones farmacológicas, entre las cuales se incluye el aumento en la actividad aferente de los quimiorreceptores, un efecto estimulante o excitatorio sobre el sistema nervioso central y acciones directas sobre el músculo liso. Estas acciones producen diferentes respuestas que afectan en particular a los sistemas cardiovascular, respiratorio y gastrointestinal.

En los mamíferos adultos, aproximadamente el 90% de la 5-hidroxí triptamina presente en el organismo (+ 10 mg) se aloja en el tracto gastrointestinal, principalmente en las células enterocromafines de la mucosa, un 8% en las plaquetas y el 2% restante en el sistema nervioso central, especialmente en la glándula pineal y el hipotálamo. Las únicas otras células de mamíferos que contienen cantidades apreciables de serotonina son las células cebadas de la piel de ratas y el ratón (8).

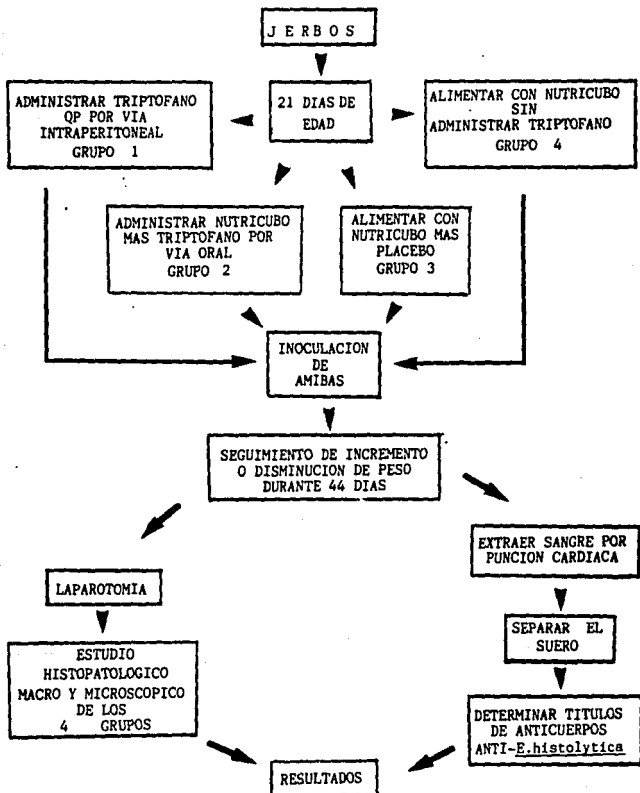
La acción de la 5-hidroxitriptamina en el tracto gastrointestinal es el de aumentar el tono y motilidad de la mayor parte del tubo digestivo, facilitando así el reflejo peristáltico (6,9).

La administración de serotonina o de su precursor 5-hidroxitriptofano, sobre todo por vía intravenosa, estimulan la motilidad del intestino; el hombre es particularmente sensible y a veces bastan dosis mínimas para -- afectar a los sistemas cardiovascular, respiratorio y gastrointestinal.

En estudios realizados en intestino, aislado de cobayos, con el objeto de analizar el efecto estimulante de la 5-hidroxitriptamina (4), se observó que la serotonina contrae el músculo longitudinal; en parte por la acción directa sobre el músculo y en parte por la excitación de las células ganglionares de la pared intestinal. En base a ello se ha postulado que fisiológicamente la 5-hidroxitriptamina se comporta como una hormona local que controla la motilidad gastrointestinal.

PARTE EXPERIMENTAL

3.1.- DIAGRAMA EXPERIMENTAL



Se utilizaron 50 jerbos de 21 días de nacidos, divididos en cuatro grupos. Al primero se le administró triptofano QP por vía intraperitoneal; al segundo nutricubo mas triptofano (polvo de frijol) por vía oral; al tercero nutricubos mas placebo (sol.salina pH 7); y al cuarto se le alimentó únicamente con nutricubos (PURINA), correspondiendo éstos dos últimos a los grupos control.

A los animales de los cuatro grupos, inocular 1.5×10^5 trofozoitos de E.histolytica por vía oral, hacer un seguimiento del incremento de peso durante 44 días, al cabo de los cuales sacrificarlos por punción cardíaca, maniobra que además permite la obtención de una muestra sanguínea.

Laparotomizar a todos los animales con el objeto de disecar el colon y realizar un estudio histopatológico, tanto macro como microscópico.

Con la sangre extraída. proceder a determinar el título de anticuerpos anti-E.histolytica.

Analizar los resultados obtenidos por medio de tablas, gráficas y pruebas estadísticas.

3.2.- MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

3.2.1.- MATERIAL BIOLÓGICO

Las cepas de E.histolytica utilizadas, se aislaron de heces de primates parasitados procedentes del Zoológico de Chapultepec. Se utilizaron cinco cepas a las que se les nombró como Primate Mexicano (PM) y con los números 6, 7, 8, 9 y 10. La presencia del parásito en las heces se determinó por el método coproparasitoscópico de Faust, el cultivo de trofozoitos se hizo en el medio monoaxénico de Robinson:

Siembra: Al frasco que contiene el agar salino adicionar cuatro gotas de solución de eritromicina, 5 mg de almidón, 2 ml de medio "BR" y aproximadamente 50 mg de materia fecal. Incubar - 24 horas a 37° C.

Cultivo: Al frasco que contiene la siembra, eliminar el sobrenadante con una pipeta Pasteur, adicionar dos gotas de eritromicina, 5 mg de almidón, dos gotas de peptona al 20%, 1.5 ml de ftalato de potasio y 1.5 ml de medio de cultivo "BRS", dejar cultivar durante 24 horas a 37° C.

Subcultivo: Con precaución, del fondo del frasco que contiene el cultivo, tomar con una pipeta Pasteur una gota, y colocarla en un portaobjetos, adicionar una gota de lugol, colocar un cubreobjetos y realizar la observación microscópica del crecimiento del cultivo, las amibas viables se observan teñidas por el lugol. Los siguientes subcultivos se preparan de la forma - descrita anteriormente, dejándolo incubar 48 horas a 37° C.

Los 50 jerbos utilizados se obtuvieron del bioterio del Hospital Infantil de México "Federico Gómez", con una edad de 21 días y con un peso promedio de 25 gramos.

3.2.2.- MATERIAL DE LABORATORIO

Frascos con tapón de rosca de 2.5 ml

Tubos de ensaye de 13 x 100 mm

Pipetas Pasteur

Pipetas de 2, 5 y 10 ml

Vaso de precipitados de 100 ml

Matraz Erlenmeyer de 1000 ml

Matraz aforado de 100, 500 y 1000 ml

Embudo de plástico

Frascos con tapón de rosca de 100 y 200 ml

Frascos ámbar esmerilados

Tubos cónicos de plástico

Portaobjetos

Cubreobjetos

Gradilla de metal

Cajas de Petri

Tela de asbesto

Tripie

Asa de platino

Espátula de metal

Mechero de Bunsen

3.2.3.- REACTIVOS

Agar Bacteriológico	grado analítico	(Bioxon)
Eritromicina en polvo	QP	(Bigoux)
Almidón de arroz	QP	(Sigma Chemical Com.)
Peptona de carne	grado analítico	(Bioxon)
Ftalato de potasio	QP	(Baker Analyzed)
Cloruro de sodio	grado analítico	(Pctos.Quim.Monterrey)
Ac.Cítrico monohidratado	QP	(Baker Analyzed)
Fosf.monobásico de potasio	QP	(Baker Analyzed)
Fosf.dibásico de potasio	QP	(Baker Analyzed)
Sulfato de amonio	grado analítico	(Baker Analyzed)
Sulfato de magnesio $7 \cdot H_2O$	QP	(Baker Analyzed)
Acido láctico	grado analítico	(Baker Analyzed)
Suero Bovino		(Rastro Ferrería)
Yodo	QP	(Técnica Química)
Yoduro de potasio	QP	(Técnica Química)
Hidróxido de sodio	QP	(Técnica Química)
Azul de Bromotimol	grado analítico	(Pctos.Quim.Monterrey)
Zulfato de zinc	grado analítico	(Pctos.Quim.Monterrey)
Triptofano	QP	(Sigma Chemical Com.)

3.2.4.- EQUIPO

Balanza analítica	(Bosh)
Potenciómetro	(Corning Mod. 3)
Congelador	(Revco Freezer Ultra)

Centrifuga Refrigerada

(Souvall FT 6000 B Du Pont)

Microscopio

(Zeizz)

Estufa

(Med-tronic)

3.2.5.- PREPARACION DE REACTIVOS

Agar Salino: Distribuir el agar al 1.5% en NaCl 0.7% en frascos de vidrio con tapón de rosca en alicuotas de 2.5 ml cada uno, esterilizar a 15 lb durante 15 min. y dejar enfriar en forma inclinada.

Solución de eritromicina: Preparar una solución de eritromicina a una concentración de 5 mg/ml, utilizando agua estéril para su preparación. Colocar en frascos de vidrio con tapón de rosca en alicuotas de 2.5 ml, conservar en refrigeración hasta su uso.

Bactopeptona: Preparar una solución de peptona al 20%, esterilizar a 15 lb por 15 min., colocar en frascos de vidrio en alicuotas de 2.5 ml.

Solución de NaOH al 40%: Pesar 200 gr de NaOH y disolver en 500 ml de agua destilada estéril.

Solución de Azul de Bromotimol al 0.04%: Pesar 0.04 gr de azul de bromotimol y disolver en una pequeña cantidad de alcohol, llevando a un volumen de 100 ml con agua destilada estéril.

Solución de Ftalato de Potasio: Pesar 204 gr de Ftalato de potasio, disolver con 100 ml de NaOH al 40%, ajustar el pH a 6.3 y llevar a un volumen de 2000 ml, esterilizar a 15 lb durante 15 min. La solución de trabajo se utiliza llevando a cabo una solución 1:10 con agua destilada estéril.

Medio de cultivo "R": Preparar una solución concentrada de la siguiente manera: 125 gr de NaCl; 50 gr de ácido cítrico monohidratado; 12.5 gr de fosfato dibásico, 25 gr de sulfato de amonio; 1.25 gr de sulfato de magnesio heptahidratado y 100 ml de ácido láctico. Disolver todo para llevar a un volumen de 2500 ml con agua destilada. De esta solución tomar 100 ml a los que se les adiciona 7.5 ml de NaOH al 40% y 2.5 ml de azul de bromotimol al 0.04%, ajustar el pH a 7.3 y aforar a 1000 ml de agua destilada. Esterilizar a 15 lb por 15 min.

Solución de peptona al 10%: Este es el medio de cultivo que se utiliza para hacer crecer la cepa "B" de E.coli.

Medio de cultivo "BR": A 100 ml de medio de cultivo "R", agregar una gota del cultivo de la cepa de E.coli e incubar durante 48 horas a 37° C.

Medio de cultivo "BRS": Utilizar "BR" y adicionar el mismo volumen de suero bovino filtrado e inactivado a 56° C durante 30 min.

Solución Yodurada: Mezclar 1 gr de yodo con 2 gr de yoduro de potasio, disolver en 300 ml de agua destilada.

3.3.- METODOLOGIA

Mediante números aleatorios los 50 jerbos se dividieron en grupos de tres animales para formar los grupos experimentales y de dos animales para formar los grupos controles.

Al primer grupo experimental además de alimentarlo con nutricubo, se le administró por vía intraperitoneal una dosis (200 mg/kg de peso corporal) de triptofano al 1º y 20º día.

Al segundo grupo experimental se le alimentó además de nutricubo con una solución de frijol (10gr/100ml ó 100%) por medio de sonda gástrica, la cantidad de 1 ml diario, durante 44 días.

Al tercer grupo (control del primer grupo) además de alimentar a los animales con nutricubo se les inyectó placebo (solución salina pH 7.0) por vía intraperitoneal.

En el cuarto grupo (control del segundo grupo), a todos los animales se les alimentó exclusivamente con nutricubos (alimento base).

A los cuatro grupos se les inoculó, por vía gástrica, 1.5×10^5 trofozoitos de E.histolytica, utilizando como vehículo un volumen igual de solución salina 0.9% pH 7.0.

Todos los animales fueron pesados cada tercer día hasta su sacrificio para registrar el aumento o disminución de su peso.

El día de su sacrificio a cada animal se le extrajo 2 ml de sangre por punción cardiaca para obtener el suero correspondiente. En éste se procedió a determinar el título de anticuerpos anti-E.histolytica, por hemaglutinación pasiva. Se utilizó como antígeno un homogeinado proteico (2mg/ml) de las diferentes cepas de E.histolytica.

Cada animal fue laparotomizado para diseccionar el colon. Sobre este órgano se hizo el estudio histopatológico tanto macro como microscópico, el cual se realizó en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Los resultados se muestran en el siguiente capítulo. Las pruebas estadísticas utilizadas en el presente estudio fueron, comparación de medias con la prueba "t" de Student para el peso corporal y comparación de proporciones en el caso de anticuerpos contra E.histolytica.

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1.- RESULTADOS

La evolución de acuerdo al peso en los jerbos inyectados con -- triptofano, así como su grupo control se muestran en la tabla 1. En ella se puede observar que la ganancia en peso fue similar en los dos grupos hasta -- el día 12º, a partir de entonces, los jerbos con triptofano tuvieron un in-- cremento mucho menor comparado con el grupo placebo. Al final del estudio en el día 44º hubo una diferencia de 18 gr a favor del grupo control, lo que -- fue muy significativo con un valor de $p= 0.01$.

En la tabla 2 se muestra la evolución de acuerdo al peso de los jerbos alimentados con frijol así como su grupo control que recibió nutricubos. Nuevamente se observó que el grupo control tuvo una ganancia de peso -- mucho mayor, y que al final del estudio fue de 14 gr, siendo la diferencia -- estadísticamente significativa con un valor de $p= 0.01$.

La diferencia de acuerdo al peso ganado en los 4 grupos durante el tiempo en que se llevó a cabo el estudio se puede observar claramente en las gráficas 1 y 2, en donde se resalta que ambos grupos problema se encuentran muy por debajo de los grupos control.

La determinación de anticuerpos contra E.histolytica en los 4 -- grupos se puede observar en la gráficas 3 y 4. Llama la atención que el 100% de los jerbos que recibieron triptofano tuvieron títulos igual o mayores a -- 1:1024, en cambio en el grupo que recibió placebo, el 60% mostró títulos de 1:16 y el resto de 1:8, lo cual estadísticamente es significativo. con una -- $p= 0.05$.

En el grupo que recibió frijol se encontró que el 50% tuvo títulos de 1:128; en cambio en el grupo de nutricubos, el 57% se encontró con --

valores de 1:8 y en el 43% restante de 1:16, lo que dió un valor estadístico de $p=0.05$.

Finalizaron el estudio 34 jerbos, los cuales se sacrificaron.

Hallazgos histopatológicos

En el grupo de jerbos inyectados con triptofano se encontró que a nivel de colon, todos tuvieron ulceraciones de la mucosa con necrosis y -hemorragia, además en aquellos casos que tuvieron títulos de anticuerpos — contra E.histolytica iguales o mayores a 1:1024, existían ulceraciones que abarcaban también la submucosa, además con infiltración de polimorfos y — mononucleares que llegaba hasta la capa muscular. En todos se encontraron — trofozoitos de E.histolytica, (tabla 3).

En el grupo que recibió frijol se encontró desflecación, hiperplasia linfoide, cambios inflamatorios de leve a moderado y algo de material necrótico. En todos se observaron trofozoitos de E.histolytica, (tabla 4).

En los dos grupos control (solución fisiológica y nutricubos) — únicamente se apreció hiperplasia linfoide de ligera a moderada. En ninguno de ellos se encontró trofozoitos de E.histolytica, (tablas 5 y 6).

TABLA 1 PESO EN GRAMOS, POSTERIOR
 A LA INOCULACION DE CEPAS
 DE E.histolytica
 DEL GRUPO 1 Y 3

TIEMPO (días)	JERBOS INYECTADOS CON TRIPTOFANO(n=10)	JERBOS INYECTADOS CON PLACEBO (n=5)
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
** 1	25.5 \pm 0.9	25.2 \pm 0.7
4	29.8 \pm 1.0	28.6 \pm 0.9
8	32.3 \pm 1.1	31.6 \pm 0.9
12	24.7 \pm 0.5	34.3 \pm 1.2
16	35.9 \pm 0.6	37.6 \pm 1.3
20	37.3 \pm 0.6	40.8 \pm 1.3
24	38.1 \pm 1.0	43.8 \pm 1.1
28	39.1 \pm 0.9	46.9 \pm 1.4
32	39.4 \pm 0.6	50.1 \pm 1.5
36	39.5 \pm 0.7	52.8 \pm 1.8
40	40.3 \pm 0.9	55.8 \pm 1.8
44	41.1 \pm 0.8	59.5 \pm 1.5

** = día de inoculación de cepas de E.histolytica

\bar{x} = media aritmética

s = desviación standard

TABLA 2 PESO EN GRAMOS, POSTERIOR
A LA INOCULACION DE CEPAS
DE E.histolytica
DEL GRUPO 1 Y 4

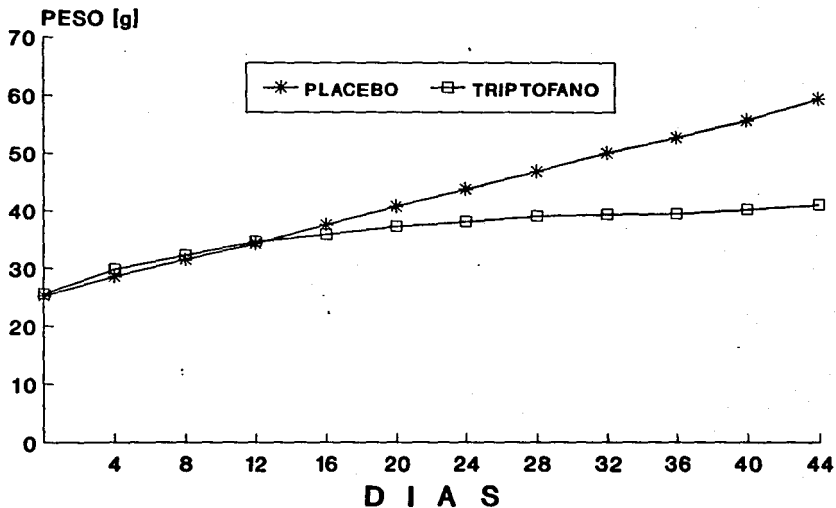
TIEMPO (días)	JERBOS ALIMENTADOS CON FRIJOL (n=12)	JERBOS ALIMENTADOS CON NUTRICUBOS (n=7)
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
** 1	25.5 \pm 1.0	25.3 \pm 1.3
4	29.8 \pm 1.7	28.4 \pm 1.3
8	33.2 \pm 2.3	31.3 \pm 1.0
12	34.9 \pm 2.3	35.1 \pm 1.0
16	37.5 \pm 2.8	38.7 \pm 1.1
20	38.7 \pm 2.3	41.5 \pm 1.3
24	40.5 \pm 2.3	44.5 \pm 1.4
28	42.5 \pm 2.7	47.9 \pm 1.3
32	43.1 \pm 2.7	51.2 \pm 1.5
36	44.5 \pm 2.3	54.7 \pm 1.6
40	46.0 \pm 1.9	58.1 \pm 1.0
44	47.3 \pm 2.3	61.4 \pm 1.5

** = día de inoculación de cepas de E.histolytica

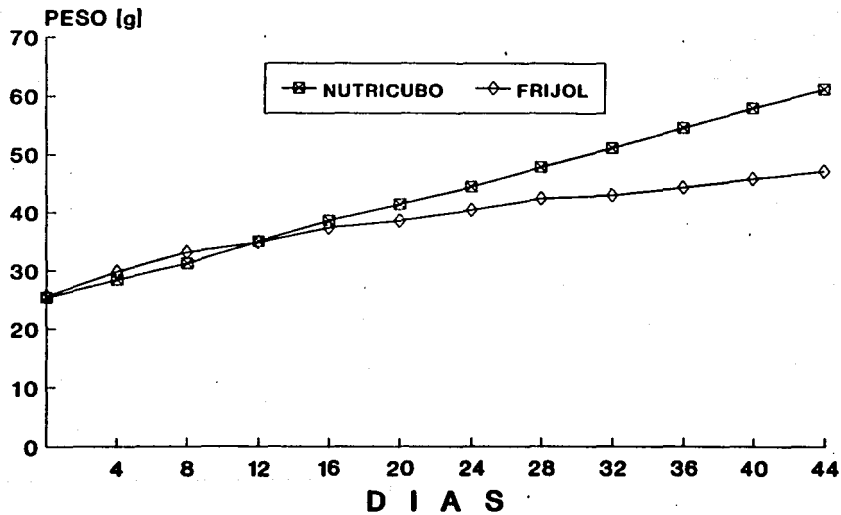
\bar{x} = media aritmética

s = desviación standard

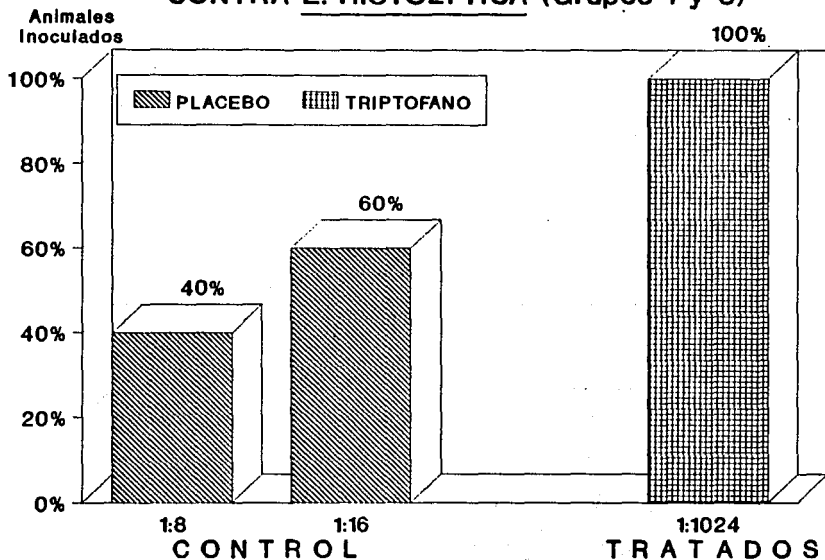
GRAFICA No. 1
EVOLUCION DEL PESO
(GRUPOS 1 Y 3)



GRAFICA No. 2
EVOLUCION DEL PESO
(GRUPOS 2 Y 4)



GRAFICA No. 3
TITULOS DE ANTICUERPOS
CONTRA E. HISTOLYTICA (Grupos 1 y 3)



GRAFICA No. 4
TITULOS DE ANTICUERPOS
CONTRA E. HISTOLYTICA (Grupos 2 y 4)

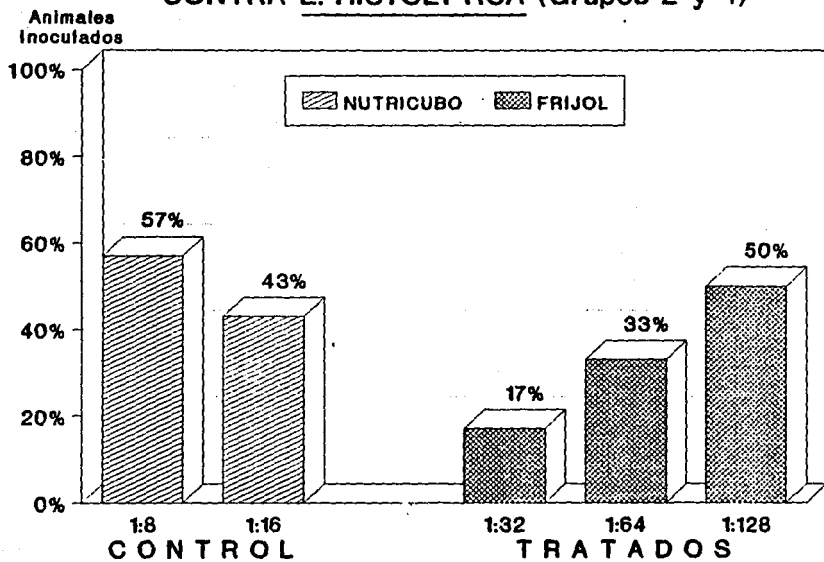


TABLA 3

TITULOS DE ANTICUERPOS SERICOS Y ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS DEL COLON
 EN JERBOS INYECTADOS CON TRIPTOFANO DESPUES DE INOCULADAS LAS
 CEPAS DE E.histolytica

n	CEPA	TITULOS DE ANTICUERPOS	JERBOS CON AMIBAS	ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS
2	PM-6	1 : 1024	2/2	Ulceración que llega hasta la submucosa, necrosis, congestión intensa, hemorragia, infiltrado de PMN y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-7	1 : 2048	2/2	Ulceraciones hasta la submucosa, necrosis intensa, hemorragia, infiltrado de PMN y MN hasta capa muscular, trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-8	1 : 1024	2/2	Ulceración en la superficie de la mucosa con necrosis hemorrágica, congestión intensa de la pared intestinal y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-9	1 : 1048	2/2	Ulceraciones hasta la submucosa, intensa necrosis y hemorragia, infiltrado de PMN y MN hasta capa muscular, trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-10	1 : 1024	2/2	Ulceración con necrosis hemorrágica en la superficie de la mucosa, congestión de la pared intestinal y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>

PM = cepa (E.histolytica) de Primate Mexicano, aislada del Zoológico de Chapultepec

n = número de animales

PMN = polimorfonucleares

MN = mononucleares

TABLA 4

TITULO DE ANTICUERPOS SERICOS Y ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS DEL COLON
 EN JERBOS ALIMENTADOS CON FRIJOL DESPUES DE INOCULADAS LAS
 CEPAS DE E.histolytica

n	CEPA	TITULOS DE ANTICUERPOS	JERBOS CON AMIBAS	ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS
3	PM-6	1 : 128	3/3	Hiperplasia linfoide, desflección en borde de cepillo, cambios inflamatorios leves y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
3	PM-7	1 : 128	3/3	Acentuada hiperplasia linfoide, material inflamatorio y necrótico, desflección y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-8	1 : 64	2/2	Moderada hiperplasia linfoide, descamación, leve necrosis en la luz intestinal y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-9	1 : 32	2/2	Moderada hiperplasia linfoide, cambios inflamatorios leves y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>
2	PM-10	1 : 64	2/2	Desflección moderada hiperplasia linfoide con material necrótico y trofozoitos de <u>E.histolytica</u>

PM = cepa (E.histolytica) de Primate Mexicano, aislada del Zoológico de Chapultepec

n = número de animales inoculados

TABLA 5

TITULO DE ANTICUERPOS SERICOS Y ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS DEL COLON
 EN JERBOS INYECTADOS CON PLACEBO DESPUES DE INOCULADAS LAS
 CEPAS DE E.histolytica

n	CEPA	TITULOS DE ANTICUERPOS	JERBOS CON AMIBAS	ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS
1	PM-6	1 : 16	1/1	Moderada hiperplasia linfoide
1	PM-7	1 : 16	1/1	Moderada hiperplasia linfoide
1	PM-8	1 : 8	1/1	Moderada hiperplasia linfoide
1	PM-9	1 : 16	1/1	Moderada hiperplasia linfoide
1	PM-10	1 : 8	1/1	Ligera hiperplasia linfoide

PM = cepa (E.histolytica) de Primate Mexicano, aislada del Zoológico de Chapultepec

n = número de animales inoculados

TABLA 6

TITULO DE ANTICUERPOS SERICOS Y ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS DEL COLON

EN JERBOS ALIMENTADOS CON NUTRICUBOS DESPUES DE INOCULADAS LAS

CEPAS DE E.histolytica

n	CEPA	TITULOS DE ANTICUERPOS	JERBOS CON AMIBAS	ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS
2	PM-6	1 : 16	2/2	Moderada hiperplasia linfoide
2	PM-7	1 : 16	2/2	Moderada hiperplasia linfoide
1	PM-8	1 : 8	1/1	Ligera hiperplasia linfoide
1	PM-9	1 : 8	1/1	Ligera hiperplasia linfoide
1	PM-10	1 : 8	1/1	Ligera hiperplasia linfoide

PM = cepa (E.histolytica) de Primate Mexicano, aislada del Zoológico de Chapultepec

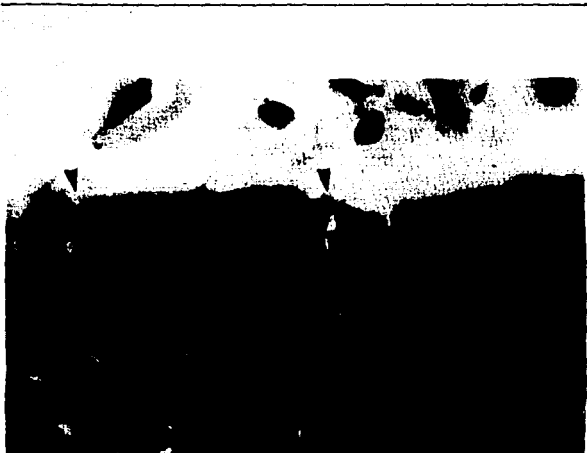
n = número de animales inoculados

Las siguientes microfotografías muestran la necrosis, desflección, in--
filtrado inflamatorio, congestión y los trofozoitos de E.histolytica de la
mucosa del colon en los jerbos tratados con triptofano intraperitonealmente.

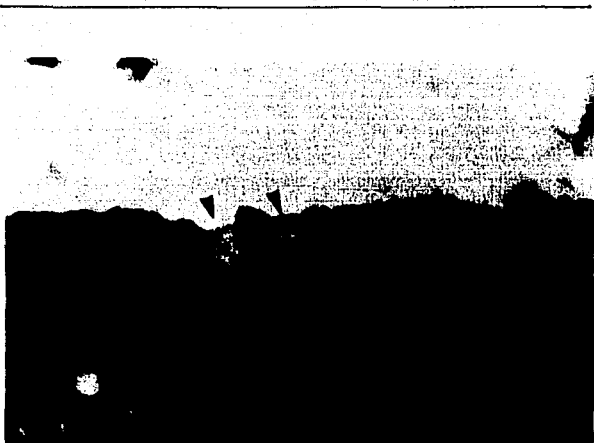
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



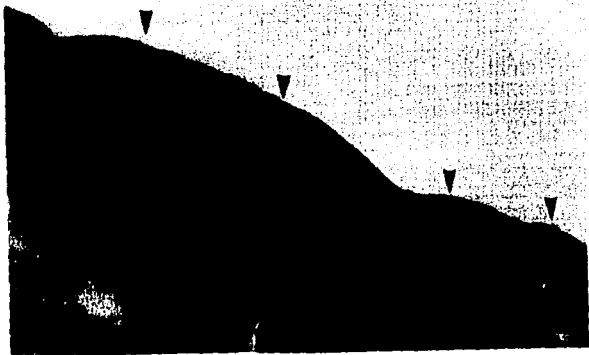
1.- Necrosis extensa de la mucosa



2.- Desflecación e infiltrado inflamatorio
con trofozitos de E.histolytica



3.- Trofozoitos de E.histolytica
introduciéndose a la mucosa



4.- Trofoziotos de E.histolytica dentro de la
mucosa intestinal

4.2.- DISCUSION

En estudios previos se ha demostrado que los niveles de 5-hidroxitriptamina aumentan tanto en ratas como en humanos bajo el efecto del stress (21). Ahmad y Sen (3) reportaron que la administración de ciproheptadina, un bloqueador de la 5-hidroxitriptamina, antagonizaba el efecto que producía el stress por calor en la virulencia de la amiba.

El triptofano es un aminoácido precursor de la 5-hidroxitriptamina esencial para la síntesis de proteínas y constituyente fundamental del frijol. Por lo tanto se escogió esta leguminosa para conocer los efectos que puede tener sobre la patogenicidad de E.histolytica.

Los resultados del presente estudio mostraron que la administración de triptofano, tanto por vía peritoneal como por vía oral, aumentaron significativamente la patogenicidad de E.histolytica. Esto se demuestra por la forma como se fue comportando el incremento del peso corporal en los grupos que recibieron este compuesto. Al compararse con sus respectivos controles al final del estudio, los jerbos que recibieron triptofano, se encontraron con pesos por debajo de los que tuvieron los grupos control.

Por otro lado la determinación de anticuerpos contra E.histolytica nuevamente mostró que los jerbos que recibieron triptofano ya sea parenteral u oral, tuvieron títulos muy elevados en comparación a sus controles, lo cual va en relación directa al grado de invasividad del parásito, ya que al invadir los tejidos y ponerse en contacto con el torrente circulatorio, trae como consecuencia que se despierte una reacción antígeno-anticuerpo y que será mas severa mientras mas daño se produzca.

Finalmente los estudios histopatológicos también demostraron que aquellos animales que recibieron triptofano tuvieron lesiones en colon que -

incluso llegaron a abarcar hasta la submucosa lo que trajo por consiguiente una mayor respuesta de tipo antigénico, siendo estos grupos los que tuvieron títulos mas elevados de anticuerpos contra E.histolytica.

El stress que provocó la agresión física de una punción parenteral no ocasionó ningún cambio en la virulencia del parásito, lo cual sugiere que este tipo de stress no influye mayormente o bien que el grado de intensidad no fue el suficiente.

Respecto al número de jerbos que fallecieron a lo largo del estudio, no se les realizó ningún tipo de análisis que mostraran la causa de la muerte ya que eran desechados al instante.

Dentro de los mecanismos que pueden invocarse como responsables en aumentar la patogenicidad de E.histolytica tras la administración de tripofano, puede ser que al degradarse este aminoácido en uno de sus productos finales, la 5-hidroxitriptamina o serotonina, traiga como consecuencia una mayor invasividad del parásito.

Al extrapolar estas observaciones en humanos y sobre todo tomando en cuenta a nuestra población, se sabe que en gran parte de ella su alimentación se basa en este tipo de leguminosa y es quizás por esto que se tiene una mayor incidencia de amibiasis clínica que otros países en los cuales no se consume.

CONCLUSIONES

- 1.- Si el aumento de triptofano afecta al huésped, al parásito o ambos y si éste está causando el aumento en la patogenicidad, no queda aún dilucidado, por lo cual existe un gran campo para ser investigado.
- 2.- En portadores asintomáticos de E.histolytica se puede transformar la infección en una amibiasis clínica, bajo circunstancias que aumentan los niveles corporales de triptofano.
- 3.- El triptofano administrado por vía sistémica tiene mayor efecto en la virulencia de E.histolytica que su administración por vía oral.
- 4.- Los huéspedes en cuya alimentación existen cantidades significativas de triptofano y que además se encuentran infectados por E.histolytica es factible esperar una mayor virulencia del parásito. En vista de que no es posible cambiar los hábitos alimenticios en aquellos grupos de población que basan su alimentación en la ingesta de grandes cantidades de frijol, rico en triptofano, lo conveniente podría ser el efectuar campañas para descubrir a portadores asintomáticos y darles tratamiento y así evitar un mayor número y grado de complicaciones.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Acharya, D.P., Sen, M.R. and Sen P.C. Effect of exogenous 5-hydroxytryptamine on the pathogenicity of Entamoeba histolytica. Trans R Soc Trop - Med Hyg. Vol. 27: 718-720. Aug 1984.
- 2.- Agarwal, R.K. and Sen, P.C. Funtional status of cell mediated immunity - in amoebiasis. Indian J Med Res. Vol.75: 227-230. 1982.
- 3.- Ahmad Imtiaz, P.C. Sen. R.B. Kulkarni. MR Sen. Effect of lowering the - peripheral level of 5-hydroxytryptamine in host on the virulence of - - Entamoeba histolytica. Indian J Med Res. Vol. 79: 741-743. June 1984.
- 4.- Beltran G. Katzung. Farmacología Básica y Clínica. Ed. El Manual Moderno. 5ª edición. México, D.F. 1984.
- 5.- Bhagawan N.V. Bioquímica. Ed. Interamericana. 8ª edición. USA. 1982.
- 6.- Bowman W.C., Rand M.J. Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas. Aplicaciones clínicas. Ed. Interamericana. 2ª edición. México D.F. 1984.
- 7.- Erspamer, V. and Asero, B. Identificacion of enteramine, the specific -- hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. -- Nature. Vol. 169: 800. 1952.
- 8.- Goth Andrés. Farmacología Médica. Ed. Trillas. 11ª edición. España 1984.
- 9.- Goodman Gilman Alfred. Goodman S. Louis., W. Rall Theodore., Murad F. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. Médica Panamericana. 11ª edición. Argentina 1989.
- 10.- Grosh T.N., Sen P.C. Phagocytic funtion in amoebiasis. Indian J Med Res. Vol. 71: 207-212. Feb 1980.

- 11.- Hannawy-EL, M., Abd-Rabbo, H. Hazards of cortisone therapy in hepatic amoebiasis. J Trop Med Hyg. Vol. 81: 71-75. 1978.
- 12.- Koch, C. Bactericidal activity of human neutrophil granulocytes. Acta Pathol Microbiol Scand C. Suppl 226: 1-8. 1978.
- 13.- Krupp, I.M. Antibody response in intestinal and extraintestinal amoebiasis Am J Trop Med Hyg. Vol. 19: 57-60. 1970.
- 14.- Krupp, I.M., Jung, R.C. Immunity of amoebic infection. In: Immunology of parasitic infection. Vol. 163: 89-92. 1976.
- 15.- Murray Robert., Granner Daryl. Bioquímica de Harper. Ed. El Manual Moderno. 11ª edición. México D.F. 1988.
- 16.- Orten James M. Bioquímica Humana. Ed. Panamericana. 10ª edición. Argentina 1984.
- 17.- Ortiz-Ortiz., L. Zamacona-Ravelo, G. Sepulveda, B. and Capin, N.R. Cell mediated immunity in patients with amoebic abscess of the liver. Clin Immunol Immunopathol. Vol. 4: 127-131. 1975.
- 18.- Selye, H. Stress in health and disease. Butter-worths. London. 1976.
- 19.- Sen. M.R., Acharya, D.P. and Sen, P.C. Effect of stress on the pathogenicity of Entamoeba histolytica. Indian J Med Res. Vol. 79: 349-352. 1984.
- 20.- Stuiver, P.C. and Goud, J.L.M. Corticosteroid and liver amoebiasis. Br Med J. Vol. 2: 394-398. 1978.
- 21.- Wessenberg, H. The pathogenicity of Entamoeba histolytica is heat stress a factor. Pros Biol Med. Vol. 17: 250-254. 1974.