



**VALORACIÓN DE LOS EFECTOS CICATRIZANTES,
DE LA MEZCLA DE ÁCIDOS GRASOS DENOMINADA
VSP-1 (VIRUSIN), EN RATAS.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

De la

Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

Por

FERNANDO TOVAR SOTO

Asesor:
MVZ David Paez Esquiliano

México, D.F. 2002



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

A través de la historia del hombre lo más penoso ha sido la miseria y la ignorancia, por lo que los médicos veterinarios zootecnistas desempeñamos una profesión que durante muchos años se considero tradicionalista ya que las áreas donde trabajamos eran la clínica, la nutrición, la zootecnia y la reproducción, estas áreas estaban enfocadas a la mayor producción de alimentos de origen animal representados por las especies domésticas más utilizadas en nuestro país. Hoy en el mundo actual es necesario comprender que las posibilidades para los médicos veterinarios son muy amplias, por lo que es necesario fomentar más la formación de especialistas en áreas nuevas como son médicos al cuidado de especies salvajes, ya sea en los zoológicos o en las reservas ecológicas naturales, especialistas en la producción de peces o especies marinas que por sus características brinden mejores rendimientos en la producción de alimentos, médicos sanitaristas para el cuidado de los rastros municipales, más médicos en el área de investigación, ya sea probando nuevos fármacos o incorporando nuevas especies a la producción animal, asesores técnicos para la explotación de reservas ecológicas al turismo, médicos administradores de empresas o de grupos ganaderos y de productores de alimentos, médicos preparados para dar cátedras en las escuelas en diferentes niveles, médicos investigadores y productores de sueros antialacranicos y anticrotáticos en las diferentes regiones del país, médicos genetistas que contribuyan a la creación de nuevas razas más productivas, médicos especializados en el manejo de aparatos que significan la tecnología moderna

En fin, la gama aún puede ser más amplia como nosotros la imaginemos, por lo que para los médicos veterinarios sobre todo los jóvenes estudiantes de las diferentes escuelas de medicina veterinaria en el país, deben tener una visión más amplia y una preparación más adecuada además de la incorporación de nuevas materias a los programas de estudio para que estos profesionistas sean más reconocidos y más respetados por su trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros por haberme transmitido los conocimientos y la mentalidad positivas indispensable para triunfar en la vida.

A mis asesores MVZ. David Páez Esquiliano, MVZ. Luis Ocampo Camberos, MVZ. Héctor Sumano López, por confiar siempre en mi persona y convencerme de lograr este objetivo, indispensable para mi realización profesional.

A la Fundación HPGIAP representada por el Ing. Héctor Penagos González, por haberme proporcionado las facilidades para realizar este trabajo y proporcionarme el componente VIRUSIN, que fue necesario para realizar el trabajo experimental, y por la buena voluntad para poner a la disposición y someter a prueba un nuevo producto, que seguramente tendrá buenos resultados en la medicina veterinaria y de humanos en un mediano plazo.

Para la QFB Ruth Barra, Directora del área de investigación de la Fundación HPGIAP por sus finas atenciones y por el buen trato e interés por seguir experimentando con sus productos

DEDICATORIA

A mis padres que me dieron el ser, especialmente a mi madre María de Pilar y a mi esposa Hilda Oralia, quienes me brindaron el apoyo moral necesario para poder llegar a la meta.

A mis hermanos, Alejandro, José María, Agustín, Ma. del Rocío y Héctor Manuel, con quienes he compartido infinidad de experiencias y puntos de vista.

A mis hijos Fernando, Héctor Raúl y Mario Alberto, a quienes brindo este trabajo para que continúen por el camino de la universidad y de la ciencia.

A mis compañeros y amigos con quienes compartí momentos muy felices e inolvidables que siempre recordaré con agrado y satisfacción.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1.
INTRODUCCIÓN.....	2
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	9
DISCUSIÓN.....	10
LITERATURA.....	11
FIGURAS.....	13
CUADROS.....	14
GRAFICAS.....	24

RESUMEN

Tovar Soto Fernando. VALORACIÓN DE LOS EFECTOS CICATRIZANTES, DE LA MEZCLA DE ACIDOS GRASOS DENOMINADA VSP-1 (VIRUSIN), EN RATAS. (Bajo la dirección del MVZ David Paez Esquiliano)

En esta investigación, se valoró un producto prototipo novedoso de uso tópico con acción cicatrizante, para ser usado posteriormente, en los procesos de reconstrucción intra y extrahospitalaria.

El uso por vía tópica de la solución alcalina de ácidos grasos denominada VSP-1 (VIRUSIN), mostró en esta investigación, una formación de una mejor y más resistente cicatrización en las heridas inducidas en el lomo de las ratas.

En esta investigación, se utilizaron 60 ratas de la raza Wistar, con un peso promedio de 250 g c/u, las que se dividieron en 6 grupos de 10 animales cada uno, a su vez estos 6 grupos se dividieron en dos lotes de 30 animales c/u denominados lote V de VSP-1 (VIRUSIN) y lote T de Testigos. De estos dos lotes cada uno se integró en 6 grupos de 10 animales cada uno, denominados V1, V2, V3, y T1, T2, T3.

Estos animales fueron manejados bajo las normas internacionales de los bioterios, se les anestesió con éter y se les rasuró una zona de 2 cm² aproximadamente, en el lomo donde se les practicó un corte con bisturí de una longitud de 1.5 cm y ½ cm de profundidad, que solo afectó piel. A los grupos V1, V2, V3, se les administró 1 ml de VSP-01 (Virusin), por vía tópica en la herida cada 6 horas y en el caso de los grupos T1, T2, T3, se les administró por la misma vía tópica en la herida 1 ml de solución salina fisiológica cada 6 horas, los grupos V1 y T1 se sacrificaron 24 horas después de haberse hecho la incisión, los grupos V2 y T2 se sacrificaron 48 horas después de haberse hecho la incisión, a los grupos V3 y T3 fueron sacrificados 72 horas después de haberse hecho la incisión. De los animales sacrificados se les retiró la piel de la zona en donde se produjo la herida en un cuadro de 7 cm², el cual fue sometido inmediatamente a las fuerzas del tensiometro para valorar la fuerza de cohesión hasta romper la herida. Estos resultados fueron obtenidos por medio de un análisis de varianza de dos caminos en el

que se contrasto a los dos grupos, demostrándose que existe un limite de confiabilidad menor de $\alpha = 0.05$ mayor en los animales tratados lo que demuestra estadísticamente el efecto del medicamento denominado VSP-1 (Virusin), mostrando una mejor y más resistente cicatrización. Se comparo el tiempo contra el medicamento, el tiempo contra la solución salina y el tiempo contra el tiempo; resultando estadísticamente significativo a favor del medicamento probado, cuando se contrasto el tiempo contra este medicamento principalmente en el grupo de las 72 horas.

El aspecto económico es una necesidad en medicina veterinaria debido a que siempre se busca obtener el mayor margen de ganancia por lo que los fármacos muy costosos siempre serán soslayados, sin embargo es necesario indicar que el costo de este producto saliendo al mercado podría ser muy inferior a los fármacos establecidos, debido a su origen natural.

INTRODUCCIÓN

Las heridas son lesiones corporales causadas por interrupciones de las relaciones anatómicas normales, o pérdida de tejidos como resultados de una cirugía o lesión física, con interrupción de la continuidad normal de las estructuras, pudiendo ser cerradas o abiertas como las que comunican directamente con la atmósfera. Estos daños que se pueden ocasionar en cualquier parte de la economía de un organismo vivo, pueden ser precedidas por procesos inflamatorios crónicos o agudos generados por invasión de patógenos o traumatismos que rompan la homeostasis ^(1,2,3,4)

La función de sanar heridas, es práctica común en los campos de la medicina actual, por lo que siempre se buscará la mejor forma para realizarla.

Aparentemente la tarea de inducir o facilitar la cicatrización puede ser tan simple como el de evitar infecciones, sin embargo en Medicina Veterinaria, es de vital importancia que la cicatrización no cause una substitución de tejidos, porque esto podría acabar con la función del órgano como en el caso de la ubre o del útero de las diferentes especies.

Es importante hacer notar que el tratamiento de las heridas en Medicina Veterinaria, presenta una complicación mayor, debido a las características de los animales como son sus hábitos, lo que complica el cuidado y tratamiento de las heridas, por lo que se requiere de fármacos o productos con una gran persistencia y gran capacidad de acción. La cicatrización es el proceso por el cual, la parte lesionada queda restituida en una medida similar hasta antes de la lesión.

Ya desde Galeno, se admite que el proceso de cicatrización de las heridas se efectúa de dos maneras: por primera intención o reunión inmediata y por segunda intención o por granulación. Estos dos procesos generalmente involucran tres fases que son: 1. - eliminación de productos que causen inflamación, 2. - reparación que se logra a partir de la proliferación del tejido fibroso que es el fabricante de la cicatriz, cabe hacer mención, que la mejor cicatrización se basa en la regeneración, 3. - la regeneración que es el proceso por el cual los tejidos muertos son substituidos por otros tejidos idénticos con las mismas funciones que el anterior. (2, 3, 1, 5)

En respuesta a una herida o lesión, las células basales de la epidermis en el área de la herida, quedan separadas de la membrana basal. Acto seguido estas células crecen y emigran por la herida a manera de capa hasta que se juntan con las provenientes del otro extremo de la herida. Una vez realizado este encuentro, se interrumpe su migración por contacto, cuando una célula de la epidermis entra en contacto con las otras migrantes en todos sus lados. Parece ser que esto suele ocurrir entre células semejantes, cabe hacer mención que en el caso de células cancerosas, estas no se ajustan a estos mismos patrones de manera que pueden invadir otros tipos de tejidos con muy pocas restricciones.

Posterior a esta migración, las células migrantes se dividen para así formar nuevos estratos con lo que se engruesa la nueva epidermis formando la cicatriz.

En el caso de heridas internas o daños profundos, el proceso de reparación es más complicado dado que el primer paso es el proceso de inflamación que es una respuesta normal a la presencia de bacterias, material extraño o simplemente a tejido muerto. Durante la fase de inflamación se puede formar un coagulo que une

los bordes y se inicia un proceso de migración de células epiteliales, la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos por los procesos de la inflamación, permite que lleguen a la zona afectada plaquetas, neutrófilos, y monocitos principalmente para llevar a cabo la fagocitosis. Posterior a esto las células mesenquimatosas, se transforman en fibroblastos lo que inicia la síntesis de tejido cicatrizal con fibras de colágeno y polisacáridos proteicos en esta fase el tejido formado se le denomina de granulación. Esta fase es muy peligrosa en Medicina Veterinaria, principalmente para los animales que su objetivo zootécnico es la producción como es el caso de las vacas lecheras cuando la glándula mamaria es afectada.^(1, 4, 5, 6)

Son escasos los fármacos con efectos cicatrizantes específicos, ya que la mayoría de estos se valoran con base a su función como antisépticos o antimicrobianos, presenta una razón dado que la mayoría de las veces la deficiente cicatrización se debe a procesos infecciosos de la zona afectada.

Existe en el mercado una gran variedad de productos que van desde la Medicina naturista hasta los productos sintéticos, que pueden ser aplicados generalmente por vía tópica en las heridas, estos productos se presentan como soluciones, ungüentos, polvos, etc.^(7, 8, 9, 10**)

ELEMENTOS NATURALES. También se han utilizado otros productos, como el azúcar y la miel el propóleo, la siempreviva, fibrinolisisina etc., su mecanismo de acción se basa en absorber fluido de los tejidos y crear un ambiente bajo en contenido de agua, lo cual ocasiona que las bacterias sean eliminadas más fácilmente por las defensas del organismo, son comúnmente usados en forma de ,emplastes, soluciones o pomadas ^(7, 8, 9, 10)

FÁRMACOS TÓPICOS. Con algunas excepciones estos no penetran en los tejidos, por lo tanto solo son útiles para reducir el número de bacteria en la superficie de la herida, aunque esto presenta algunas desventajas como es el usar concentraciones que serían muy tóxicas si se administrasen en forma sistémica. De los fármacos más usados tenemos: Tetraciclinas como la oxitetraciclina, nitrofuranos como la furazolidona, aminoglucósidos como la neomicina y los corticosteroides como antiinflamatorios tópicos. (11, 12, 13,14)

AGENTES HIDROFÍLICOS: Estos productos hacen que los fluidos del organismo difundan sobre la superficie de la herida, esto disminuye la viscosidad del exudado y lo absorben, ayudando así a limpiar la herida. Uno de los agentes más utilizados, es un polímero del dextran, el cual se expende en forma de gránulos que se aplican en capas sobre la herida y se cubren con un vendaje oclusivo, cuando las capas se saturan se deben retirar e irrigar la herida con solución salina fisiológica, se debe de repetir la aplicación del producto cuantas veces sea necesario. (10, 11)

AGENTES FÍSICOS: Otros de los elementos utilizados en la cicatrización son los campos magnéticos y la acupuntura, los que incluso suelen combinarse con los anteriores^(12, 13)

Dentro de los elementos naturales, se encuentra el VSP-01 (VIRUSIN), que es una solución prototipo cuya base son los ácidos grasos mono y poli insaturados en un medio alcalino; el efecto de estos ácidos, está reportado sobre las proteínas cinasas, las que estimulan la formación de fibroblastos y la síntesis de

prostaglandinas, también se ha reportado su efecto en la piel de ratas a las que se les ha privado de estos ácidos en la dieta, cabe hacer mención que la mezcla de estos ácidos no ha sido valorada como tal en los procesos de la cicatrización (15, 16, 17, 18)

El efecto reforzado de varios ácidos grasos de subclases diferentes del tipo de los monoinsaturados como el ácido oleico, y otros poliinsaturados como el linoleico y el linolénico en un medio alcalino, se han usado por vía percutánea para facilitar el efecto del piroxicán, propiciando un aumento en los procesos de cicatrización al funcionar como vehículo. (34,35)

El mundo de los ácidos grasos se relaciona con una gran cantidad de substancias orgánicas que contienen en su molécula los elementos básicos como son: C, H y O y se caracterizan por ser solubles en solventes como el alcohol, éter, cloroformo, benceno, acetona etc., Los lípidos pueden ser divididos en simples lípidos los que no contienen ácidos grasos saturados y lípidos complejos que contienen ésteres Fig. 1 Pág.7

Los triglicéridos están considerados como los verdaderos ácidos grasos y representan la más alta fuente de energía acumulada en los animales y los organismos vegetales, los triglicéridos representan los compuestos de más alta energía en la dieta con un promedio de 2.25 veces más que otros constituyentes de la dieta. Los triglicéridos deben su nombre a una molécula de glicerol y tres moléculas de alcohol hidratado.

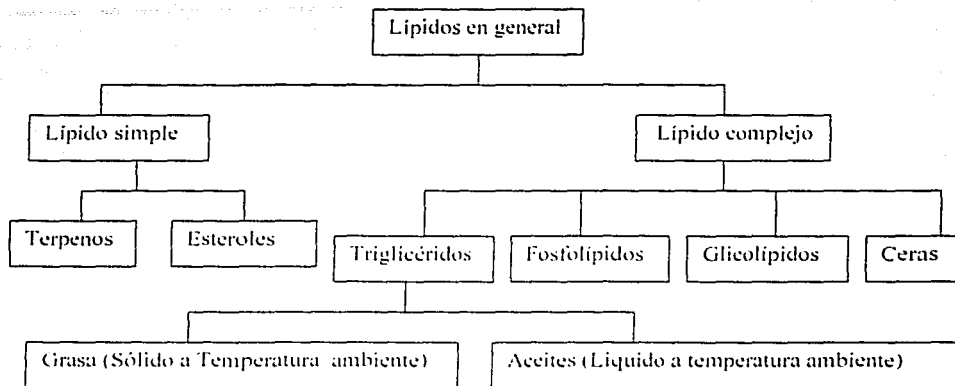


Fig. 1 Clasificación de los lípidos con base en su complejidad.

Los ácidos grasos han mostrado sus bondades como cicatrizantes, pueden mejorar el sistema de defensa de antioxidantes o como reconstituyentes celulares en diferentes estudios, como en los que se indican como inhibidores de la inflamación y el daño en la colitis ulcerativa inducida en ratas en donde se estudiaron los ácidos grasos mono y poliinsaturados administrados en la dieta, a pesar de que aún no esta clara la forma de actuar de estos ácidos. ^(37,38)

Las funciones de los ácidos grasos esenciales, en los mamíferos; han constituido un misterio, solo hasta la actualidad, se ha descubierto que son precursores de algunas prostaglandinas, están involucrados en la función de varias enzimas para el anabolismo y el catabolismo de las grasas, e incluso el ácido linoleico y el linolénico, son usados para aplicación tópica de medicamentos como el piroxican, e incluso se han reportado como preventivos contra el cáncer. ^(26,27)

La estructura química de los ácidos grasos mono y poliinsaturados se indica en el cuadro 1 pagina 7, en donde se muestra como va alargándose la cadena en los ácidos más complejos.

Ácido graso	Clasificación	Estructura Química
1. Mirístico.-	C14:0	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{12}\text{-COOH}$
2. Miristoleico		
3. Miristolénico		
4. Palmítico.-	C16:0	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH}$
5. Oleico.-	C18:1n-g	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-COOH}$
6. Linoleico.-	C18:3n-3	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{24}\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$
7. Linolénico.-	C18:3n-3	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$
8. Araquidónico	C20H40O2	$\text{CH}_3\text{(CH}_2\text{)}_{18}\text{COOH}$

Cuadro 1 .- Fórmula Química de los ácidos grasos

La formula del VSP-01¹ (Virusin) es la siguiente:

1. ácido mirístico.....	0.0261
2. ácido miristoléico.....	0.2701
3. ácido miristolénico.....	0.0355
4. ácido palmítico.....	0.4771
5. ácido oleico.....	50.3034
6. ácido linoleico.....	36.5040
7. ácido linolénico.....	2.8391
8. ácido araquidónico.....	2.2745
9. vehiculo cbp.....	100.00 ml

1.- **Ácido mirístico**, miristoléico y miristolénico. Están considerados como los elementos que más promueven el colesterol de baja densidad en el plasma, sin embargo presenta otros efectos importantes en las células como son el de incrementar la cantidad de proteína en las células eucarióticas y virales, originando un efecto de acilación a través de una enzima denominada miristolil-CoA y la miristolil transferasa, siendo esta acción un efecto importante en la regulación celular, presentando diferentes efectos o funciones biológicas^(32.).

2.- Ácido palmítico. Se obtiene de diferentes elementos principalmente del aceite de coco, su DL_{50} en ratones es de 57 ± 3.4 mg/Kg., se utiliza en cremas y linimentos.^(38,39)

3.- Ácido oleico.- También se le denomina ácido 9-Octadecanóico. Es un producto que se obtiene de la hidrólisis de diferentes grasas y aceites principalmente el de oliva y del germen de trigo, se presenta en una forma líquida a temperatura ambiente, es de color amarillo moreno el cual depende de su pureza, tiene un olor a manteca y se hace más moreno cuando se oxida. Cuando está químicamente puro, es incoloro, inodoro e insípido, insoluble en agua y soluble en alcohol, éter, cloroformo, benceno y miscible en los aceites esenciales.^(31,33)

4.- El ácido Linoleico, es un ácido poliinsaturado que en forma líquida, presenta un color a paja descolorida, su fórmula es la $(C_{18}H_{32}O_2)$ y pertenece a la serie omega-6, que en unión de otro ácido graso denominado gama-linolénico, o gamolenico, son generadores de prostaglandinas en los mamíferos,. El ácido Linoleico, es un ácido graso esencial que los mamíferos no pueden producir por lo que se debe de obtener en la dieta.

El ácido de Linoleico es un ácido graso muy importante, sobre todo para el crecimiento y desarrollo de animales jóvenes. Los ácidos grasos ayudan a mantener la salud de las membranas celulares, mejoran el uso de los nutrientes, y actúan en el metabolismo celular. Ellos también proporcionan los elementos que ayudan en el control de la presión sanguínea, la coagulación de sangre, el control de la inflamación, el control de la temperatura del cuerpo dentro de otras funciones.

El ácido Linoleico, se encuentra en el aceite de pescado, en la carne, la leche, y otros productos lácteos, también se encuentra en las semillas que producen aceite de varios vegetales como el girasol el aceite de primula y el aceite del azafrán.

El ácido del Linoleico, comercialmente se usa en la fabricación de la margarina, en los alimentos de los animales y emulsionando a los agentes como jabones, y drogas en la industria farmacéutica.

Usos. El ácido Linoleico está reportado como un elemento anticancerígeno principalmente el isómero CIS-9 y el TRANS-11. Los estudios en torno de este ácido indican que es útil en casos de cáncer de pecho, próstata, estómago, colorectal, de pulmón y en los cánceres superficiales, retardando el crecimiento de células cancerosas.

También se reporta beneficios del ácido Linoleico en casos de esclerosis múltiple en la que existe un proceso de desmielinización. Se cree que el ácido Linoleico es útil porque la mielina se compone de lecitina que es de hecho derivado del ácido Linoleico.

En el caso de los epitelios, el ácido Linoleico mantiene la piel lisa e hidratada, también se reporta efecto en la reparación de heridas en la piel y las uñas en el cuidado superficial

Otros usos. En la investigación animal se sugiere que el suplementar con ácido Linoleico, puede limitar las reacciones alérgicas y puede mejorar la tolerancia a la glucosa. También se usa como un suplemento nutritivo para las enfermedades respiratorias alérgica, circulatorias, artritis, y problemas inflamatorios. También se considera un antioxidante potente que puede ayudar a reducir la formación de placas en las arterias previniendo enfermedades cardíacas. (28,29,30,32)

El efecto antibacteriano de la solución prototipo VSP-01, fue valorado previamente in Vitro en el Depto. de Fisiología y Farmacología de la FMVZ, sin que arrojara ningún dato sobre algún efecto bactericida, por lo que es factible que no se esté comportando como un antibiótico ni como un antiséptico. (MVZ. DPE 19).

La mezcla de ácidos denominada VSP-01, se compone de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados, los que presentan una gran variedad de efectos dentro de los que se manifiestan los siguientes:

Se ha calculado que el 75% de la piel esta constituida por colágeno, lo que le confiere a la piel su elasticidad y cohesión, dado que las fibras de glicosaminoglicano se encuentran alineadas en paquetes, estos representan en potencia valores tensiométricos. Si se jala la piel en diferentes puntos se sabe que a diferencia de que el arreglo lineal de la piel normal, la cicatriz presenta un entrecruzamiento que ofrece mejor resistencia a la tensión, por lo que la técnica de tensiometría de la piel cicatrizada, es un método confiable para estimar la densidad del colágeno y su arreglo en el proceso de reconstrucción, del tejido cicatrizal⁽¹⁴⁾

5.- Ácido Linolénico.- Este ácido ha mostrado una excelente capacidad para acelerar la recuperación de las lesiones hematopoyéticas inducidas por las radiaciones y algunas quimioterapias, parece ser que se presenta por un estímulo en él baso⁽³⁵⁾

6.- Ácido Araquidónico: Este ácido está reportado con un efecto de necrosis en tumores cancerosos, parece ser que por interacción con la Interleukina-1 y el factor-alfa, inducidos por kinasas⁽³⁶⁾.

Es de suponer que si en lo particular el efecto reportado de los ácidos graso mono y poliinsaturados es tan variado, en caso del VSP-1 (VIRUSIN), que es una mezcla de estos ácidos en un medio alcalino, sus efectos podrían sumarse, sin embargo, cabe mencionar que en este caso sólo se valoró su efecto cicatrizante, quedando para otros estudios algunos otros de sus efectos reportados.

OBJETIVO

Valorar un producto prototipo en su acción cicatrizante, como una posibilidad de que resulte más versátil en la clínica, para ser usado en los procesos de reconstrucción intra y extrahospitalaria.

HIPOTESIS

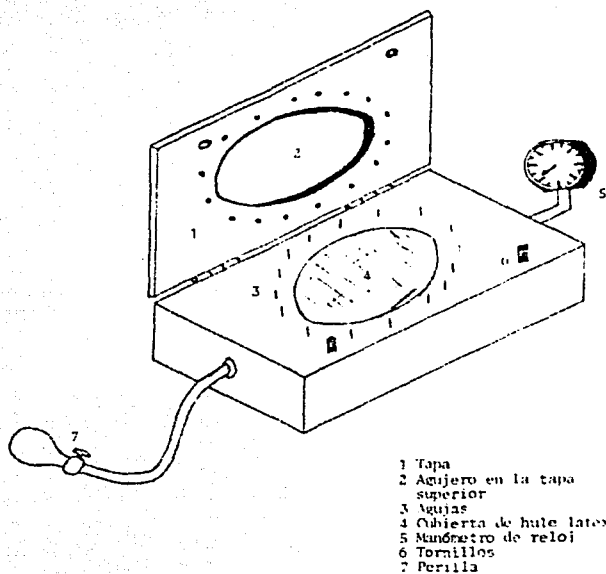
El uso por vía tópica de la mezcla de ácidos grasos denominada **VSP-1 (VIRUSIN)**, producirá una mejor y más resistente cicatriz en las heridas inducidas en el lomo de las ratas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 60 ratas de la raza Wistar, con un peso promedio de 250 g, alojadas con los métodos convencionales de los bioterios, divididas en 6 grupos de 10 animales cada uno, a su vez estos 6 grupos, se dividirán en dos lotes de 10 animales c/u denominados lote V de VSP-1 (VIRUSIN) y lote T de Testigos. De estos dos lotes cada uno se integró en 3 grupos de 10 animales cada uno, denominados V1, V2, V3, y T1, T2, T3, a las que se les anestesió con éter, posteriormente se les rasuró una zona de 2 cm², aproximadamente, en el lomo en donde se les practicó un corte con bisturí de una longitud de 1.5 cm y ½ cm de profundidad, que solo afectó piel.

METODOLOGÍA: A los grupos V1, V2, V3, se les administró 1 ml de VSP-01 (Virusin)*, por vía tópica en la herida cada 6 horas y en el caso de los grupos T1, T2, T3, se les administró por la misma vía tópica en la herida 1 ml de solución salina fisiológica cada 6 horas, los animales se sacrificaron 24 horas después de que se les practico la incisión a los de los grupos V1 y T1, 48 horas después de la misma a los grupos V2 y T2, y 72 horas después de practicada la incisión a los

grupos V3 y T3. De los animales sacrificados se retiró la piel de la zona en donde se produjo la herida en un cuadro de 7 cm². , el cual fue sometido inmediatamente a las fuerzas del tensiómetro (FIGURA 1) para valorar la fuerza de cohesión hasta romper la herida. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de doble entrada, donde las variables independientes fueron tratamiento y tiempo, utilizándose un limite de confiabilidad de $\alpha = 0.05$



* VSP-1 Virusin propiedad del Ingeniero Héctor Penagos G. De Fundación HPGIAP

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS

Se observaron diferencias estadísticas significativas cuando se uso un límite de confiabilidad de $\alpha = 0.05$ a favor del tratamiento con VSP-1 (Virusin) de (P = .0496) y también a favor de las 24 y 72 horas del tratamiento (P = 0.00059); sin embargo, la interacción tratamiento tiempo, no fue estadísticamente significativa (P = .277)

RESUMEN DE LAS MEDIDAS OBTENIDAS EN EL TENSINOMETRO DE LOS 6 GRUPOS

24 h		48 h		72 h	
T1-24	V1-24	T2-48	V2-48	T3-72	V3-72
180	200	180	200	190	220
190	180	100	220	140	190
100	180	200	110	180	210
150	180	160	150	160	200
200	160	140	200	180	190
170	205	120	120	200	200
110	150	160	190	210	160
130	180	190	120	220	210
140	200	130	150	190	190
120	170	170	100	190	230

CUADRO 1

T = TESTIGOS
V = TRATADOS

**DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS CICATRIZANTES EN TEJIDO CUTÁNEO
EN RATAS DE LA VSP1 EN 24 HORAS**

Grupo T1 Testigo (24 h)					
Numero	Peso (gr)	Sexo	Incisión	Sacrificio	T1-24
1		M	25/08/98	26/08/98	180
2		M	25/08/98	26/08/98	190
3		M	25/08/98	26/08/98	100
4		M	25/08/98	26/08/98	150
5		M	25/08/98	26/08/98	200
6	240	H	26/08/98	27/08/98	170
7	255	H	26/08/98	27/08/98	110
8	240	H	26/08/98	27/08/98	130
9	250	H	26/08/98	27/08/98	140
10	275	H	26/08/98	27/08/98	120

Grupo V1 Experimental					
Número	Peso (gr)	Sexo	Incisión	Sacrificio	FT V1-24
1	155	H	27/08/98	28/08/98	200
2	105	H	27/08/98	28/08/98	180
3	237.5	H	31/08/98	01/09/98	180
4	177	H	31/08/98	01/09/98	180
5	286	H	01/09/98	02/09/98	160
6	320	H	02/09/98	03/09/98	205
7	272.5	H	02/09/98	03/09/98	150
8	317	M	03/09/98	04/09/98	180
9	296	M	03/09/98	04/09/98	200
10	221.5	H	03/09/98	04/09/98	170

**DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS CICATRIZANTES EN TEJIDO CUTANEO
EN RATAS DE LA VSP1 EN 48 HORAS**

Grupo T2 Testigo (48 h)					
Número	Peso (gr.)	Sexo	Incisión	Sacrificio	T2-48
1	436	M	08/09/98	10/09/98	180
2	415	M	08/09/98	10/09/98	100
3	370	M	08/09/98	10/09/98	200
4	389	M	08/09/98	10/09/98	160
5	300	H	08/09/98	10/09/98	140
6	290	H	09/09/98	11/09/98	120
7	233.5	H	09/09/98	11/09/98	160
8	281.5	H	09/09/98	11/09/98	190
9	257.9	H	09/09/98	11/09/98	130
10	285.5	H	09/09/98	11/09/98	170

Grupo V2 Experimental (48 h)

Número	Peso (gr.)	Sexo	Incisión	Sacrificio	FT V2-48
1	341.5	H	17/09/98	19/09/98	200
2	353	H	17/09/98	19/09/98	220
3	314	H	17/09/98	19/09/98	110
4	218	H	17/09/98	19/09/98	150
5	338	H	17/09/98	19/09/98	200
6	322	H	17/09/98	19/09/98	120
7	445	H	17/09/98	19/09/98	190
8	316	H	17/09/98	19/09/98	120
9	417	H	17/09/98	19/09/98	150
10	398	H	21/09/98	23/09/98	100

Grupo T3 Testigo (72 h)

Número	Peso (gr.)	Sexo	Incisión	Sacrificio	T3-72
1	257.00	H	21/09/98	24/09/98	190
2	306.00	H	21/09/98	24/09/98	140
3	399.00	H	21/09/98	24/09/98	180
4	277.00	H	22/09/98	25/09/98	160
5	263.00	H	22/09/98	25/09/98	180
6	305.00	H	25/09/98	28/09/98	200
7	338.00	H	25/09/98	28/09/98	210
8	321.00	H	25/09/98	28/09/98	220
9	240.00	H	25/09/98	28/09/98	190
10	314.00	H	25/09/98	28/09/98	190

Grupo V3 Experimental (72 h)

Número	Peso (gr.)	Sexo	Incisión	Sacrificio	V3-72
1	240.50	H	05/10/98	08/10/98	220
2	293.00	H	05/10/98	08/10/98	190
3	275.20	H	05/10/98	08/10/98	210
4	253.00	H	05/10/98	08/10/98	200
5	292.50	H	05/10/98	08/10/98	190
6	260.00	H	05/10/98	08/10/98	200
7	250.00	H	05/10/98	08/10/98	160
8	255.00	H	05/10/98	08/10/98	210
9	327.00	H	05/10/98	08/10/98	190
10	370.00	H	05/10/98	08/10/98	230

**MEDIAS, MODAS, MINIMOS, MAXIMOS, DESVIACION ESTANDAR Y
VARIANZA EN LOS GRUPOS**

	<i>T1-24</i>		<i>V1-24</i>
Media	149	Media	180.5
Error tipico	11	Error tipico	5.60009921
Mediana	145	Mediana	180
Moda	#N/A	Moda	180
Desviación estándar	34.7850543	Desviación estándar	17.7090686
Varianza de la muestra	1210	Varianza de la muestra	313.611111
Curtosis	-1.41282959	Curtosis	-0.5587825
Coficiente de asimetría	0.1045381	Coficiente de asimetría	-0.2153196
Rango	100	Rango	55
Mínimo	100	Mínimo	150
Máximo	200	Máximo	205
Suma	1490	Suma	1805
Cuenta	10	Cuenta	10
Mayor (1)	200	Mayor (1)	205
Menor(1)	100	Menor(1)	150
Nivel de Confianza (95.0%)	24.8837478	Nivel de Confianza (95.0%)	12.6683142
Limite Inferior	124.116252	Limite Inferior	167.831686
Limite Superior	173.883748	Limite Superior	193.168314

T2-48		V2-48	
Media	155	Media	156
Error típico	10.1379376	Error típico	13.759845
Mediana	160	Mediana	150
Moda	160	Moda	200
Desviación estándar	32.0589734	Desviación estándar	43.5124503
Varianza de la muestra	1027.77778	Varianza de la muestra	1893.33333
Curtosis	-0.7986643	Curtosis	-1.7039827
Coefficiente de Asimetría	-0.31614035	Coefficiente de Asimetría	0.1772198
Rango	100	Rango	120
Mínimo	100	Mínimo	100
Máximo	200	Máximo	220
Suma	1550	Suma	1560
Cuenta	10	Cuenta	10
Mayor (1)	200	Mayor (1)	220
Menor(1)	100	Menor(1)	100
Nivel de Confianza (95,0%)	22.9336255	Nivel de Confianza (95,0%)	31.1269556
Límite Inferior	132.066374	Límite Inferior	124.873044
Límite Superior	177.933626	Límite Superior	187.126956

T3-72	V3-72	
Media	186	Media 200
Error típico	7.33333333	Error típico 6.14636297
Mediana	190	Mediana 200
Moda	190	Moda 190
Desviación estándar	23.1900362	Desviación estándar 19.4365063
Varianza de la muestra	537.777778	Varianza de la muestra 377.777778
Curtosis	0.67497585	Curtosis 1.13556599
Coficiente de asimetría	-0.66019377	Coficiente de asimetría -0.56745855
Rango	80	Rango 70
Mínimo	140	Mínimo 160
Máximo	220	Máximo 230
Suma	1860	Suma 2000
Cuenta	10	Cuenta 10
Mayor (1)	220	Mayor (1) 230
Menor(1)	140	Menor(1) 160
Nivel de Confianza (95.0%)	16.5891652	Nivel de Confianza (95.0%) 13.9040496
Límite Inferior	169.410835	Límite Inferior 186.09595
Límite Superior	202.589165	Límite Superior 213.90405

	T24	V24	T48	V48	T72	V72
Limite Inferior	124.116252	167.831686	132.06637	124.873044	169.41083	186.09595
Limite Superior	173.883748	193.168314	177.93362	187.126956	202.58916	213.90405

RESUMEN	24 h	48 h	72 h	Total
<i>T</i>				
Cuenta	10	10	10	30
Suma	1490	1550	1860	4900
Promedio	149	155	186	163.333333
Varianza	12101027.77778	537.77777		1133.33333

<i>V</i>				
Cuenta	10	10	10	30
Suma	1805	1560	2000	5365
Promedio	180.5	156	200	178.833333
Varianza	313.61111	1893.33333	377.77777	1137.38506

<i>Total</i>				
Cuenta	20	20		20
Suma	3295	3110		3860
Promedio	164.75	155.5		193
Varianza	982.82894	1383.94737		485.263158

	T24	V24	T48	V48	T72	V72
Limite Inferior	124.116252	167.83168	132.066374	124.87304	169.410835	186.09595
Limite Superior	173.883748	193.16831	177.933626	187.12695	202.589165	213.90405

RESUMEN	24 h	48 h	72 h	Total
---------	------	------	------	-------

<i>T</i>				
Cuenta	10	10	10	30
Suma	1490	1550	1860	4900
Promedio	149	155	186	163.333333
Varianza	1210	1027.777778	537.777777	1133.333333

<i>V</i>				
Cuenta	10	10	10	30
Suma	1805	1560	2000	5365
Promedio	180.5	156	200	178.833333
Varianza	313.611111	1893.333333	377.777777	1137.38506

<i>Total</i>				
Cuenta	20	20		20
Suma	3295	3110		3860
Promedio	164.75	155.5		193
Varianza	982.82894	1383.94737		485.263158

**RESULTADO FINAL DEL ANALISIS ESTADISTICO EN DONDE SE MUESTRA
QUE LA DIFERENCIA OBTENIDA SE DEBE AL TRATAMIENTO**

LIMITE DE CONFIABILIDAD DE $\alpha = 0.05$

<i>Origen De las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor critico para F</i>
Tratamiento	3603.75	1	3603.75	4.03383945	0.04960845	4.019540256
Tiempo	15265.83333	2	7632.916667	8.54386692	0.000597277	3.16824611
Tx						
X						
Tiempo	2342.5	2	1171.25	1.31103280	0.277982452	3.16824611
Dentro del grupo	48242.5	54	893.3796296			
Total	69454.58333	59				

CUDRO 2

ANALISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Sum</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
24 h	20	3295	164.75	982.8289474
48 h	20	3110	155.5	1383.947368
72 h	20	3860	193	485.2631579

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T1-24	10	1490	149	1210
V1-24	10	1805	180.5	313.6111111
T2-48	10	1550	155	1027.777778
V2-48	10	1560	156	1893.333333
T3-72	10	1860	186	537.7777778
V3-72	10	2000	200	377.7777778

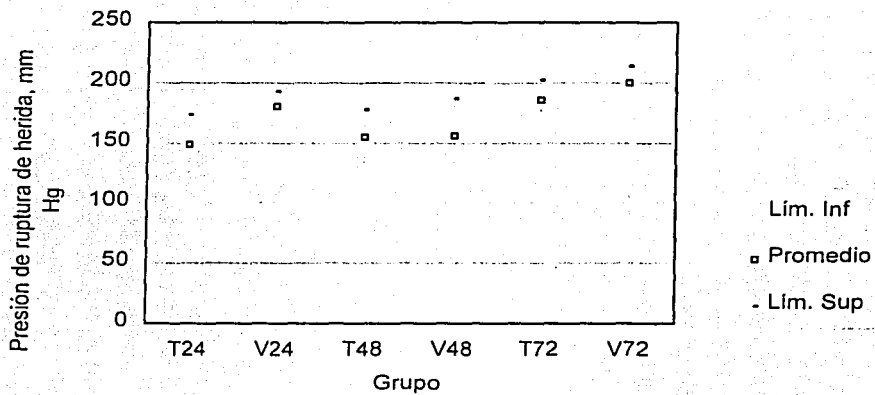
Origen de las Variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilida	Valor crítico para F
Entre grupos	21212.0833	5	4242.416667	4.74872778	0.001144366	2.38606645
Dentro de los grupos	48242.5	54	893.3796296			
Total	69454.5833	59				

Análisis de varianza de un factor

Varianza
1133.33333
1137.38505

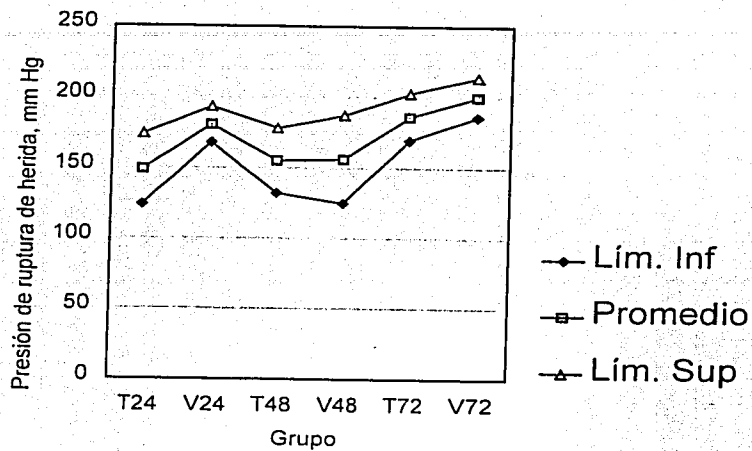
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio
Grupos			
Testigo	30	4900	163.3333333
Experimental	30	5365	178.8333333

Promedio de los cuadrado	F	Probabilida	Valor crítico para F
3603.75	3.17410561	0.080049794	4.006864174
1135.359195			



Intervalos de confianza del 95% para promedios.
(valoración del Virusin Vsp-1)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Intervalos de confianza del 95% para promedios.
(Valoración del Virusin Vsp-1)

ESTA TESIS NO SALI
DE LA BIBLIOTECA

DISCUSIÓN

Se ha reportado que el uso de los ácidos grasos mono y poliinsaturados cumplen una gran cantidad de funciones tanto en el aspecto farmacológico, fisiológico como en el aspecto físico ó mecánico, un ejemplo de esto, es el caso de las cremas, aceites o linimentos para uso tópico que están enriquecidas con estos ácidos, sin embargo su uso en el aspecto fisiológico, es el que más ha estado cobrando fuerza como se muestra en la gran cantidad de reportes científicos que existen en donde se ha comprobado una enorme cantidad de funciones aún no plenamente conocidas, incluso se ha planteado la posibilidad de estudiar si el enriquecimiento de la dieta de los vegetarianos con ácido linoléico que pertenece al grupo de los n-3, el cual es capaz de producir cambios en el perfil tisular, en la concentración plasmática de tromboxano, aumentando la agregabilidad plaquetaria estimulando así los factores hemostáticos etc.,

Aspectos que no fueron valorados en el presente trabajo y que representan datos muy importantes son los efectos posteriores a la reconstrucción de la piel en las ratas en la que se muestra un restitución muy superior en cuanto a calidad de tejido de cicatrización en comparación con las ratas no tratadas, lo que está reportado como un efecto del ácido linoleico el cual ha sido valorado en problemas de piel escamosa, picante o áspera demostrando que con solo una cucharada de ácido linoleico agregada a la comida del los perros, la piel se mantiene lisa y húmeda mejorando la calidad del pelo del animal tratado.

En el cuidado de la lesión, un ejemplo se presenta en el proceso inflamatorio el cual es una compleja reacción de defensa del organismo ante la acción de diferentes agentes nocivos de procedencia mecánica, física, química o bacteriana

que pueden afectar una herida, está comprobado los efectos del ácido araquidonico al bloquear la ciclooxygenasa, efecto que conduce a la disminución del proceso inflamatorio así como a la disminución de la génesis del dolor, parece ser que en este caso el efecto se debe a una acción del ácido araquidonico en la que funciona como un segundo mensajero intracelular que estimula a la proteína kinasa, unido a estos efectos deberá de considerarse el efecto del ácido linoleico el que dentro de algunos de sus propiedades presenta la de incrementar la síntesis de prostaglandinas elementos necesarios para restituir la función del órgano o tejido.

Otro efecto menos visible pero más peligroso en las heridas, es la producción de radicales libres de oxígeno que están involucrados en las lesiones y los que en un momento dado pueden desencadenar incluso el síndrome de la reperfusión, está perfectamente comprobado el efecto del ácido linoleico, oleico, mirístico y araquidonico como elementos antioxidantes por lo que se evita el estallido respiratorio con los RALDO(Radicales Libres de Oxígeno), factor en el que se ha comprobado la destrucción celular y el aumento en el daño infringido o la lesión.

Cabe hacer mención que en la clínica veterinaria, el disponer de medicamentos que nos permitan facilitar nuestra labor como médicos, siempre será de gran ayuda y si a esto le aumentamos la facilidad de su uso así como su conservación este producto puede ser muy interesante en su uso en la clínica veterinaria.

Por lo antes descrito, está perfectamente aceptado que los ácidos grasos mono y poliinsaturados, están íntimamente ligados al metabolismo celular, en donde se les ha involucrado con una enorme cantidad de efectos que van desde el

mejoramiento en los procesos de cicatrización, por un proceso aún no bien definido, hasta la inhibición del crecimiento de las células cancerosas.

Falta una gran cantidad de información en torno a estos elementos que será importante obtener como en este caso en el que se demostró su efecto cicatrizante plenamente, es natural que una respuesta genere otra pregunta la que sería ¿Cómo es que están cumpliendo esta mezcla de ácidos grasos su efecto cicatrizante?. ¿Cuál de los ácidos es el que más estimula la cicatrización?

Será necesario seguir otros procesos de investigación para poder contestar esta pregunta así como otras que surgirán, sin embargo otras preguntas menos técnicas pero más prácticas como es el conocer los costos del producto VSP-1 (Virusin) y su comparación con los otros medicamentos similares que se encuentran en el mercado pueden ser contestadas fácilmente.

Cabe mencionar que este producto prototipo es de origen vegetal por lo que su costo deberá de resultar económico.

LITERATURA CITADA.

1. McGraw-Hill, Diccionario Enciclopédico de las ciencias médicas MCMLXXIX
McGraw-Hill. Inc., U. S. A.
2. Alexander, H. Alfonso. Técnica Quirúrgica en Animales y Temas de
Terapéutica Quirúrgica, Ed. Interamericana Mc. Graw-Hill , 6ta. Ed. 1989
3. García C. A., Pérez y Pérez Felix. Patología Quirúrgica General. Ed.
Científica Médica. Octava Edición. 1982
4. Gerard S. Tortora Principios de anatomía y fisiología. , Editorial Harla
México 1984.
5. Jones Carlyle, Hunt Duncan Ronald. Patología Veterinaria. Vol. 1. Ed.
Hemisferio Sur. 1984.
6. Kelly W. R., Diagnóstico Clínico Veterinario, Ed. Continental, 3era Ed.
1980.
7. Chapa Alvarez Raúl J., Mendiola González José F. Tratamiento tópico, con
compuestos de fibrinolisisina y desoxirribonucleasa, de heridas no suturables.
8. Quintana Díaz Juan C. Alonso Rodríguez Olga, Díaz Velázquez Mirtha. ,
López Minina Milaig. Empleo de la tintura de propóleos al 5 % en la cura
DE HERIDAS SÉPTICAS FACIALES. Rev. Cubana Estomatol 1997; 34(1):
25-27.
9. Domínguez Suárez Amalia, Acosta Ulloa Lissette, Cuello Diana. Efecto
cicatrizante de extracto fluido de hojas de siempreviva. REV CUBANA
PLANT MED 2001; (1): 16-18.

10. Cañizares Gruperá María Elena, Corral Novo Juan Mariano, De La Torre Rufo José Elías. Recomendaciones para el uso del adhesivo histico Tisuacryl. Rev. Cubana Med Milit 2000; 29(1): 57-60.
11. Klare S. Markley. Fatty acids. Their chemistry propieties, production and uses. 2da. Edic. Part 4. 1967. 4-5, 2562-2567.
12. Pacheco Leal Daniel., BIOQUIMICA ESTRUCTURAL APLICADA A LA MEDICINA., Edd. IPN., México D.F. 1996
13. Baeza, S.I.F.: Acción Farmacológica antiséptica y queratoplástica de la planta micropulverizada en aplicaciones tópicas. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Zoot. UNAM México, D.F. (1979)
14. Aretaga, R.D.: Determinación de la densidad de colágena en tejido cicatrizal electroestimulado en ratas. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Y Zoot. UNAM México, D.F. 1979.
15. Dwight, M.H.: "Calculation of dosage regimene of antimicrobial drugs for surgica prophylaxis" S J.A.V.M.A. 185: 1083-1087 (1984).
16. Gunsosn, D.E. : "Collagen in normal and abnormal tissues." Equine Vet. J 11:97-101 (1979).
17. KRISEK, T.J., Davis, J.H And Kiehn, C.V.L.: "Topical therapy of Burne: Experimental Evaluation." Plast. And Reconstr. Slurg. 39:248-255 (1967).
18. Rowley, B.A., Mackenna, J.M. And Chase, G.R.: "The influence of electrical current on an infecting microorganism in wounds." Ann. NY. Acad. Sci. 328:543-551 (1974)

19. Reporte del MVZ. David Páez Esquiliano del programa "Escuelas Prácticas de Verano" de Fundación UNAM el año de 1997 y que fue entregado a Fundación HPGIAP, propietarios de la fórmula VSP-1.
20. Ruiz, M.A.: Comparación de los efectos cicatrizantes de los campos eléctricos, el tepezcohuite (*Mimosa tehuiniflora*), la zábila (*Aloes vera*) y la nitrofurazona, en quemaduras de tercer grado. Tesis de licenciatura, Fac. de Med. Vet. Y Zoot. UNAM México, D.F. (1979).
21. Sumano, L.H. y Casaubon, T.: "Evaluation of the electroacupuncture effects on wound healing." Int. Conf. Vet. Acupuncture. ILCVA 87 Beijing, China (1987)
22. Sumano Lopez H., Ocampo Camberos L., Auro de Ocampo A., Evaluación comparativa de la mezcla de propoleo zabila con cicatrizantes comerciales., Vet. Mex. 20: 1989.
23. Barberán J., Gomis M., Sánchez B., et al. Fluoroquinolonas en las infecciones de los pies de los diabéticos. Rev Esp Quimioterapia. 1996;9(3):190-4. 15- TORTORA, G. S. Principios de Anatomía y Fisiología. Ed. Harla. México 1984
24. Watkins, J.P., Auer, J.A., Morgan, S.J. and Gay, S.: "Healing of surgically created defects in the equine superficial digital flexor tendon: effects of pulsing electromagnetic field therapy on collagen type transformation and tissue morphology". Am. J. Vet. Res. 46: 2097-2103 (1985).
25. S. Santoyo., P. Ygartua., Effect of skin pretreatment with fatty acids on percutaneous absorption and skin retention of piroxicam after its topical application. European journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 50(2000) 245-250

26. Leonard A. Sauer, Robert T. Dauchy, David E. Blask. Polyunsaturated fatty acids, melatonin, and cancer prevention. *Biochemical Pharmacology* 61 (2001) 1455-1462.
27. *Gale Encyclopedia of Alternative Medicine*. Gale Group, 2001
28. Dox, Ida G., B. John Melloni, and Gilbert M. Eisner. The Harper Collins Illustrated Medical Dictionary. New York: HarperPerennial, 1993.
29. Herbel, Barbara K., Michelle K. McGuire, Mark A. McGuire, and Terry D. Shultz. "Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans." *American Journal of Clinical Nutrition* 67 (1998): 332-7.
30. Van Egmond, Andreas W.A., Michael R. Kosorok, Rebecca Koscik, Anita Laxova, and Philip M. Farrell. "Effect of linoleic acid intake on growth of infants with cystic fibrosis." *American Journal of Clinical Nutrition* 63 (1996): 746-52.
31. THE INDEX MERK . MERK & CO., ELEVEN EITION Inc. RAHWAY, N. Y. U.S.A. 1989
32. - Vincent Rioux, Philippe Lemarchal, and Philippe Legrand.
33. Las heridas y su tratamiento. Hartmann. 1999(Aún no está anotada, se encuentra en biblioHartman
34. S. Santoyo*, P. Ygartua Centro Galénico, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, Pamplona, España., *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50 (2000) 245±250

35. Hiroko Hisha, Haruki Yamada, Masumi H. Sakurai, Hiroaki Kiyohara, Yongan Li, Cheng-ze Yu, Norito Takemoto, Hideki Kawamura, Katsunori Yamaura, Seiichi Shinohara, Yasuhiro Komatsu, Masaki Aburada, and Susumu Ikehara Isolation and Identification of Hematopoietic Stem Cell-Stimulating Substances From Kampo (Japanese Herbal) Medicine, *Juzen-Taiho-To Blood*, Vol. 90 No. 3 (August 1), 1997: pp. 1022-103
36. MT Rizzo and C Carlo-Stella; Arachidonic acid mediates interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha- induced activation of the c-jun amino-terminal kinases in stromal cells; Bone Marrow Transplantation Laboratory, Methodist Cancer Center, Methodist Hospital, Indianapolis, IN 46202, USA.
37. Natalia Nieto; Maria Isabel Torres; Antonio Rios; Angel Gil; Dietary polyunsaturated fatty acids improve histological and biochemical alterations in rats with experimental ulcerative colitis, *The Journal of Nutrition*; Bethesda: Jan 2002; Vol 132(1), 11-19