

COD. No. 083447222

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



"EFECTO INMUNOMODULADOR DEL GOSIPOL SOBRE LA
RESPUESTA INMUNE CELULAR EN GERBILES CON
ESPOROTRICOSIS EXPERIMENTAL"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A :

VERONICA LOPEZ GONZALEZ
GUADALAJARA, JALISCO OCTUBRE 1993



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente
 Número
 Sección

C. VERONICA LOPEZ GONZALEZ
 P R E S E N T E . -

Manifetamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado el tema de Tesis "EFECTO INMUNOMODULADOR DEL GOSIPOL SOBRE LA RESPUESTA INMUNE CELULAR EN GERBILES CON ESPOROTRICOSIS EXPERIMENTAL " para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aceptada como Director de dicha Tesis el M.en C. Rodolfo Ramos Zepeda.

A T E N T A M E N T E
 " PIENSA Y TRABAJA "
 Guadalajara, Jal., 26 de Julio de 1993.
 EL DIRECTOR



FACULTAD DE
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

DR. EULUCIO PIMIENTA BARRIOS

EL SECRETARIO

M. EN C. MA. GEORGINA GUZMAN GODINEZ

c.c.p.- M. en C. Rodolfo Ramos Zepeda; Director de tesis.- pte.
 c.c.p.- El expediente del alumno.

EPB>MGGG>Cglr.

Agradesco a mis
padres por su apoyo
y paciencia.

Mi mas sincero agradecimiento al
M. en C. Rodolfo Ramos Zepeda por su
apoyo incondicional en la realización
de mi trabajo de tesis.

Gracias;

A mis compañeras de laboratorio y amigos;
M. en C. Piedad Gómez, Biol. Georgina Hernandez,
Ing. Fernando Villegrán, Q.F.B. Martha Barba,
Dr. Carlos Andrade, Biol. Patricia Calderón, y
a todos aquellos que de una u otra forma
hicieron posible la culminación de mi Tesis.

Para conocer el futuro es necesario conocer tanto el presente como el pasado, en todos sus detalles. Hoy es lo que es porque ayer fue lo que fue. Y si hoy es como ayer, mañana será como hoy. Si quieres que mañana sea diferente, debes hacer que hoy sea diferente.

"EFECTO INMUNOMODULADOR DEL GOSIPOL SOBRE LA

RESPUESTA INMUNE CELULAR EN GERBILES CON

ESPOROTRICOISIS EXPERIMENTAL"

INDICE

	PAG.
INTRODUCCION.....	2
ANTECEDENTES.....	4
JUSTIFICACION.....	16
HIPOTESIS.....	17
OBJETIVOS GENERALES.....	17
OBJETIVOS PARTICULARES.....	17
MATERIAL Y METODO.....	19
RESULTADOS.....	23
DISCUSION.....	25
CONCLUSION.....	27
BIBLIOGRAFIA.....	28

INTRODUCCION

El gossipol es un compuesto fenolico de color amarillo, extraido de la semilla del algod6n. Este compuesto fue descubierto en China.(3) Embaricamentamente se utiliz6 como anticonceptivo masculino. (25)

El gossipol tiene aplicaciones como antiparasitario pues inhibe el crecimiento de Trypanosoma brucei, Plasmodium falciparum, y Entamoeba histolitica. (3,26) Adem6s se le ha encontrado efecto antitumoral.(26) El gossipol tiene efectos en la actividad de diversas enzimas de la cadena de transferencia gluc6nica, incluyendo lactatodeshidrogenasa, NAD deshidratasa, succinyl-CoA sintetasa, acenilato colesoma y actividad de la ATPasa. A nivel de membrana, tiene efectos en las propiedades electroquimicas de la membrana lipidica. (15,17,25,30)

Por otra parte, el estudio de sustancias moduladoras de la respuesta inmune ha llamado la atenci6n de numerosos investigadores, tanto a nivel de estimulaci6n como de inhibici6n de los mecanismos de protecci6n. Entre las sustancias empleadas como inmunomoduladores se encuentran:

levamisol, lipopolisacárido, PPD, interferinas,
vincristina, ciclofosfáside, posipol, etc. (1.8)

Para determinar el estado inmunológico celular in vivo del organismo utilizamos las reacciones de hipersensibilidad retardada a dinitrofluorobenceno que consiste en una respuesta secundaria al estímulo antigénico, que de acuerdo con la clasificación de Coombs y Sell corresponde a la hipersensibilidad de tipo IV la cual está mediada por linfocitos T. (2.6) Esta hipersensibilidad puede también ser inducida con diversas sustancias químicas, entre otras el dinitroclorobenceno. (3)

ANTECEDENTES

El sistema inmunológico de los animales tiene como elemento esencial para el sobrevivencia sin él, la muerte por infecciones resulta inevitable. Las células y moléculas de ese sistema defensivo se mantienen en continuo crecimiento ante los organismos infecciosos y reconocen una variedad ilimitada de células y/o sustancias extrañas. El punto fundamental del desencadenamiento de una respuesta inmunitaria es el reconocimiento de marcadores que distinguen lo propio de lo no propio. (31)

En los procesos de defensa participa una serie de células que provienen de una célula pluripotencial (o célula basal) que se multiplica continuamente en la médula ósea. (32) Estas células son polimorfonucleares (PMN), macrófagos y linfocitos que colonizarán órganos linfoides, primarios y secundarios. (11)

En los órganos linfoides primarios médula ósea, timo se diferencian y maduran las poblaciones de linfocitos T y B (LT y LB). El bazo, ganglio linfático, amígdala, nódulo de Peyer y ducto torácico constituyen los órganos linfoides secundarios, contienen acúmulos de linfocitos maduros y células del sistema mononuclear-fagocítico. Son las células

Donde entra en contacto los linfocitos con los antígenos (Ag), iniciándose la respuesta inmune (11).

El sistema inmunitario se divide desde el punto de vista funcional en dos clases: el innato (inespecífico) y el adaptativo (específico). La inmunidad innata actúa como una primera línea de defensa frente a los agentes infecciosos, y la mayoría de los agentes patógenos pueden controlarse antes de que produzcan una infección declarada por medio de factores solubles tales como lisozimas, complemento o interferón, células NK y fagocitos. La efectividad del sistema inmunitario adaptativo se basa en las especificidades de los anticuerpos y linfocitos T. Cada linfocito solo reconoce un antígeno determinado dado que el conjunto del sistema inmunitario puede reconocer de forma específica miles de antígenos discriminando entre lo propio y no propio, reaccionando contra las moléculas no propias (antígenos - (Ag)). Tras un contacto primario con el Ag existen respuestas débiles adaptativas (específicas) y no adaptativas (inespecíficas) pero si el mismo Ag persiste o es encontrado una segunda vez, se produce una respuesta específica para este Ag mucho mas intensa. Las características de una respuesta inmunitaria adaptativa son, la especificidad y la memoria. (12)

El sistema linfóide desempeña además otras funciones:

a) Facilitar la recirculación de los linfocitos inmunocompetentes para que las diferentes clonas y poblaciones se encuentren disponibles en cualquier momento y lugar del organismo. b) Transportar los Ag a los órganos linfoides secundarios donde quedan depositados para facilitar su interacción con los linfocitos. c) Transportar los linfocitos efectoros y los anticuerpos resultantes de la respuesta iniciada en los órganos linfoides, al lugar donde han de destruir o neutralizar aquellos Ag que han sido la causa de la respuesta.(11)

La respuesta inmune difiere en forma notoria cuando tiene lugar frente a un microorganismo o un Ag que ingresa por primera vez al organismo (respuesta primaria), de la que ocurre cuando ese Ag entra por segunda ocasión (respuesta secundaria). Durante el primer contacto, el sistema inmune guardará en su memoria la información del Ag y en una exposición posterior generará una respuesta más rápida y eficiente contra él.(33)

Cuando un Ag traspasa las barreras de defensa naturales, piel o mucosa, es interceptado por los PMN y/o

macrófagos. Los PMN mueren durante esta etapa de defensa, mientras que los macrófagos procesan el Ag y lo presentan a los LT y LB, rehacen su arsenal enzimático y regulan la respuesta inmune.(33)

La presentación del Ag T dependientes por los macrófagos, es necesaria para que los linfocitos T cooperadores puedan interaccionar con él mediante sus receptores y actuar en colaboración con los LB y se continúe la respuesta inmune. Los Ag que penetran en el organismo y pasan a la circulación sanguínea son atrapados por células del sistema mononuclear fagocítico en el hígado, bazo, y ganglios linfáticos, y es en estos últimos en los que interaccionan con los linfocitos.(11)

Los linfocitos son las células efectoras de los mecanismos de defensa específicos, humoral por la producción de anticuerpos (Ac) por los LB; y LT efectoras de la respuesta inmune celular, que reciben la influencia del timo, el cual está considerado como el órgano central del sistema linfoide.(33)

La respuesta de los LT es a través de contactos celulares directos o por medio de la liberación de linfocinas (interleucinas) una vez que los linfocitos han sido activados y dependiendo de la subpoblación de LT que se trate. Existen LT cooperadores/inductores y LT supresores/citotóxicos, los cuales han sido clasificados de acuerdo a su función y por medio de marcadores de superficie con anticuerpos monoclonales. Así los LT cooperadores/inductores se identifican como CD4 y los LT supresores/citotóxicos como CD8.(15)

Los LT CD4 interaccionan con los LB para estimular la producción de Ac. Los LT CD8 disminuyen o suprimen la respuesta humoral, reconocen y destruyen tumores y/o aloinjertos en ausencia de Ac.(33)

La inmunidad mediada por células se manifiesta también in vivo en reacciones de hipersensibilidad retardada que consisten en una respuesta secundaria a un estímulo antigénico con el que previamente fue inmunizado algún individuo o animal. Los Ags como candidina, coccidina, esporotricina, histolicina, PPD (derivado proteico

purificado de *M. tuberculosis*) y veridasa entre otros; administrados por vía intradérmica, son capaces de inducir esta respuesta, que de acuerdo con la clasificación de Coombs y Gell corresponde a la hipersensibilidad de tipo IV en la que participan los linfocitos de estirpe T.(8)

Los tipos de hipersensibilidad descritos por Gell y Coombs son:

I.- Inmediata, participan anticuerpos IgE y tarda de 4 a 5 hrs en presentarse la reacción. II.- Citotóxica, mediada por anticuerpos IgG e IgM y tarda de 5 a 12 hrs en presentarse la reacción. III.- Complejos inmunes, participan IgG e IgM y tarda de 12 a 24 hrs en presentar reacción. IV.- Hipersensibilidad retardada (HR), participan LT y tarda de 24 a 72 hrs en presentarse la reacción. Esta última es la que nos interesa, se manifiesta como una reacción cutánea que involucra al fenómeno inflamatorio con la participación de LT. La reacción se considera positiva si después de 24 a 72 horas se presenta eritema e induración circundando el sitio de inoculación del Ag, con un diámetro mínimo de 5mm.(2,8)

La hipersensibilidad de tipo IV puede ser inducida además con diversas sustancias químicas, con las que se inmuniza a un individuo o animal, de manera que provocan en ocasión de un segundo contacto una reacción de HR.(8) Entre las más usuales se tienen el dinitrofluorobenceno y el dinitroclobenceno. Estas sustancias, irritantes por sí mismas, se introducen por vía percutánea.(6)

Este tipo de inmunización es útil para valorar la capacidad de respuesta de los LT en virtud de que difícilmente un individuo o animal pudiera haber estado en contacto con ellas, por lo que es necesario inducir la hipersensibilidad por medio de dosis inmunizantes y días después de la inmunización se aplica la dosis reveladora que siempre será menor que la inmunizante. Esto permitirá observar si el individuo es capaz de responder al Ag con el cual fue inmunizado.(6,8)

Los procesos de inmunidad celular en contra de los patógenos son importantes en la defensa del individuo contra bacterias, hongos y protozoarios que tienen una pared

celular constituida por quitina, mananas y otras sustancias que las hacen resistentes a la acción de los Ac.(8)

Las células efectoras de la respuesta inmune se ven involucradas en el desarrollo de diversas infecciones, incluyendo las micosis. Entre éstas la esporotricosis cuyo agente causal Sporotrix schenckii, es un hongo ampliamente distribuido en la naturaleza, en suelos, vegetales y animales. Como en todas las infecciones, en esta micosis, la relación huésped-parásito incluye los mecanismos de defensa del huésped.(27)

Sporotrix schenckii es el agente causal de la esporotricosis la cual es una infección crónica y puede curarse espontáneamente, vive en estado saprófito, tiene un ciclo dimórfico, que consiste en una fase micelial (vida libre) y una fase levaduriforme (parásita).(12,13,22) Jalisco y Michoacán están consideradas como zonas endémicas de esta enfermedad.(23)

El hongo existe distribuido ampliamente en la naturaleza, se ha aislado de suelos, maderas y plantas. Los vectores principales de transmisión son las espigas, la paja y en general todos aquellos objetos contaminados con tierra. Ocasionalmente la enfermedad se transmite de mordeduras de animales o picaduras de insectos. El método adecuado para la identificación del hongo en el laboratorio, es por medio de cultivos. Crece en los medios habituales, principalmente en Sabouraud. (20,22)

La inmunomodulación puede modificar de manera positiva o negativa el curso espontáneo de las reacciones inmunitarias. La estimulación de la inmunidad es posible a diversos niveles. En algunos casos de carencia inmunitaria, esto implica la reposición de los elementos deficientes mediante el injerto de células de médula ósea o de timo, o la inyección de extracto de timo. También pueden emplearse productos biológicos que son los mediadores normales de las reacciones inmunitarias como los anticuerpos, gammaglobulinas para la inmunidad humoral, Factor de transferencia para restaurar la inmunidad celular. En trabajos previos se ha utilizado un derivado del gospol(batriden) como inmunomodulador pero en la actualidad existen pocos estudios al respecto. (1)

Se puede aumentar la intensidad de una respuesta inmunitaria sin modificar de manera durable el sistema inmunitario. Esta estimulación puede ser específica del antígeno, es decir aplicarse únicamente a un antígeno dado, como ocurre en el caso de los adyuvantes, que estimulan la respuesta a antígenos a los cuales se incorporan. La estimulación puede ser inespecífica del antígeno, y entonces el tratamiento tiene efecto sobre todas las repuestas inducidas durante la fase de actividad del producto empleado. Esos productos se clasifican bajo el nombre de inmunoestimulantes. La inmunosupresión puede ser inespecífica, en cuyo caso se aplica simultáneamente a todas las respuestas inmunitarias mientras dura la acción del producto utilizado. Este tipo de inmunosupresión se logra mediante destrucción de células linfoides, por irradiación o por inyección de algunos productos químicos.(2)

La inmunosupresión se encuentra en la mayoría de las infecciones de parásitos como bacterias y virus.(19)

Las enfermedades que implican una deficiencia inmunitaria justificaban un tratamiento inmunoestimulante, y

17

aquellas asociadas a una hiperinmunidad debían someterse a un tratamiento inmunosupresor. La producción anormal de anticuerpos, depende de mecanismos reguladores sutiles y variados, amplificadores y supresores. El rechazo de los injertos, y más generalmente la inmunidad celular, también hacen intervenir múltiples agentes efectores (células T, K, NY, macrófagos, etc.) y reguladores. (2)

Por otra parte, el estudio de sustancias moduladoras de la respuesta inmune ha llamado la atención de numerosos investigadores. (1) Tanto a nivel de estimulación como de inhibición de los mecanismos de protección. Entre las sustancias empleadas como inmunomoduladores se encuentran el levamisol, lipopolisacárido, PPI, interleucinas, vincristina, ciclofosfáida, etc. El gospol también se le consideran efectos sobre las células efectoras de la respuesta inmune y fagocíticas pero en la actualidad existen pocos estudios al respecto. (1,6)

El gospol es un polialcohol (1,1', 6,6', 7,7' hexahidroxii 5,5', diisopropil 3,3' -dimetil (2,2'-binaftaleno) -3,8' -dicar-boxialdehído), con peso molecular de 518. Compuesto fenólico de color amarillo, extraído de

la semilla del algodón.(3,28) Este compuesto fue descubierto en China. Empíricamente se utilizó como anticonceptivo masculino.(25)

Gran número de derivados del gossipol y sus analogos han sido sintetizados y sus efectos en la fertilidad son probados en animales de laboratorio. (4,5)

El gossipol tiene aplicaciones como antiparasitario pues inhibe el crecimiento de Trypanosoma brucei, Plasmodium falciparum, y Entamoeba histolytica.(3,28). El gossipol tiene efectos en la actividad de diversas enzimas de la cadena de transferencia electrónica, incluyendo lactatodeshidrogenasa X, NAD isocitrato deshidrogenasa, succinyl-CoA sintetasa, adenilato ciclasa y actividad de la ATPasa. A nivel de membrana tiene efectos en las propiedades electroquímicas de la membrana lipídica.(26,15,17,30) Es importante añadir que el gossipol es considerado como agente antitumoral.(35) Lo anterior daría pie a estudios posteriores para encontrar como y a que nivel es que actúa el gossipol.

JUSTIFICACION

El empleo del gosipol como antiparasitario, antiviral y como inmunomodulador se encuentra en estudio. Sin embargo se desconoce el efecto que esta sustancia pueda tener en infecciones por hongos, en particular en esporotricosis experimental.

HIPOTESIS

La administración del gosipol en gérbiles con esporotricosis experimental disminuye la respuesta inmune celular y modifica el curso de la enfermedad.

OBJETIVOS GENERALES

Conocer el efecto inmunomodulador del gosipol sobre la hipersensibilidad retardada, y su acción en la esporotricosis experimental.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar la respuesta inmune celular a DNFB en gérbiles infectados experimentalmente con B.hanckii tratados con gosipol.
2. Observar la evolución clínica de la esporotricosis experimental.

MATERIAL Y METODO

Se emplearon 6 grupos de 20 gerbiles de Mongolia de 3 a 4 meses de edad, machos con un peso de 60 +/- 2g. Los animales se mantuvieron alojados en jaulas de policarbonato en cuartos con temperatura controlada a 23 +/- 2 C, con ciclos de 12 hrs de luz fluorescente de espectro solar (VITA-LITE) y se alimentaron con purina para roedores y agua para consumo voluntario. Los gerbiles se dividieron en grupos de 10 animales cada uno y se trabajaron de la siguiente manera:

GRUPO A.- Gerbiles sanos+gerbipol

GRUPO B.- Gerbiles con esporotricosis+gerbipol

Grupo C.- Gerbiles con esporotricosis+ Na2CO3 -Sol.Salina

GRUPO D.- Gerbiles sanos+ Na2CO3 -Sol.Salina

Grupo E.- Gerbiles con esporotricosis

GRUPO F.- Gerbiles sanos

OBTENCION DE LEVADURAS de Sporotrix schenckii.

A partir de una cepa de S. schenckii aislada de un caso de esporotricosis cutánea, se obtuvo la fase levaduriforme mediante subcultivos en medio base de agar sangre y

resiembrera posterior en medio líquido de caldo-cerebro-corezón (CC) incubado a 37 grados C. Luego de 24 hrs se centrifugó el cultivo de levaduras a 1500 rpm durante 10 minutos y se lavaron tres veces con 2 ml de solución salina al 0.87% (SS). Se contaron en la cámara de Neubauer.

INDUCCION DE ESPOROTRICOSIS.

Los gérmenes de los grupos 1-3 se inocularon en el cojinete Plantar con 6x10 a la 6 levaduras de S. shenckii suspendidas en 0.05 ml de SS.

PREPARACION DE LA SOLUCION DEL GOSIPOL.

En 10 ml de Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) 0.01 N. se disolvieron 10 mg de gosipol.

ADMINISTRACION DE GOSIPOL.

A los gérmenes de los grupos 3 y 4 se les administraron 4 mg de gosipol X kg de peso por vía intraperitoneal. A partir de la solución concentrada se tomaron los mg correspondientes al peso del gerbil (60+/-2g) y se llevaron a un volumen de 0.5 ml con SS para aplicarse a cada gerbil.

Los gérbiles de los grupos 2-5 recibieron 0.5% ml de carbonato de sodio-SS a los grupos 3 y 4 no se les inyectó ninguna solución.

VALORACION DE LA RESPUESTA INMUNE DELIXIA.

La inmunidad celular se valoró en los gérbiles de los seis grupos 1-6 por medio de la reacción de hipersensibilidad retardada a DNFB. Para ello se resuro el abdomen de los gérbiles en un área de 3X3 cm, se indujo la sensibilización con 0.02 ml de solución al 0.5% de DNFB disuelto en acetona y aceite de oliva en proporción 4:1. A las 24 hrs se aplicó una segunda dosis sensibilizante. Al quinto día de iniciada la sensibilización se aplicó en la parte externa de la oreja derecha de cada gérbil la dosis reveladora que consistió en 0.01 ml de DNFB al 0.5% en el mismo vehículo. Antes de aplicar la dosis reveladora se midió el grosor del pabellón auricular con un micrómetro de precisión graduado en décimas de mm. (EDVMP S.A. MEX) para obtener la medida basal. Luego de 48 hrs de aplicada la dosis reveladora se midieron los pabellones auriculares en los que se aplicó la dosis reveladora. Los resultados, en décimas de mm, fueron consignados en cada grupo de animales.

Análisis estadístico. Los valores se analizaron por grupo y se practicó el Análisis de varianza y la prueba de Chi cuadrada para determinar si las diferencias observadas tenían significancia estadística. (32)

DIAGRAMA DE FLUJO

GERBIL LEU

DIA 0

SANDE
(GPOS A,D,F)

ESPERCITA Dosis
(GPOS B,C,E)
(6×10^6 levaduras)

DIA 3

(GPOS A,B,C,D,E,F)

1a dosis sensibilizante
(0.02ml DNFB al 0.05%)

(GPOS B,C)

1a dosis gossipol
(4mg/kg gerbil)

DIA 4

(GPOS A,B,C,D,E,F)

2a dosis sensibilizante
(0.02ml DNFB al 0.05%)

DIA 5

(GPOS B,C)

2a dosis gossipol
(4mg/Kg gerbil)

DIA 7

(GPOS B,C)

3er dosis gossipol
(4mg/Kg gerbil)

DIA 8

(GPOS A,B,C,D,E,F)

1er medición de pabellón auricular
(medida basal)

Dosis reveladora única
(0.01ml de DNFB al 0.02%)

DIA 9

(GPOS A,B,C,D,E,F)

2a medición del pabellón auricular
(24 hrs)

DIA 10

(GPOS A,B,C,D,E,F)

3er medición del pabellón auricular
(48 hrs)

RESULTADOS

En la Gráfica se muestran los resultados de la respuesta a DNFB. Puede observarse que los grupos de gérbiles tratados con gosisol, tanto sanos (Grupo A) como con esporotricosis (Grupo B); mostraron disminución estadísticamente significativa ($p < 0.050$) de su respuesta de hipersensibilidad a DNFB, en relación con sus grupos testigos correspondientes (D, F y C, E) respectivamente. Además al comparar los resultados de los grupos A vs B se observó que el grupo A mostró menor respuesta a DNFB que el grupo B ($p < 0.010$).

Además se muestra que en los grupos que no recibieron gosisol. Esporotricosis + Na2CO3 + Sol. Salina (Grupo C); Sano + Na2CO3 + Sol. Salina (Grupo D); Esporotricosis (Grupo E); y Sano (Grupo F); presentaron reacción de hipersensibilidad retardada a DNFB medida por el grosor del pabellón auricular lo que significa que los animales respondieron a la sensibilización con DNFB de manera normal y no mostraron entre si diferencias significativas.

En la Tabla se muestra el análisis estadístico de los resultados de las pruebas de hipersensibilidad retardada a DNFB en gérbiles tratados con gosipol.

TABLA

GRUPOS n/20	BASAL	24 hrs	48 hrs
Sano+Gosipol A	\bar{x} 0.55 \mp 0.05	\bar{x} 0.67 \mp 0.07	\bar{x} 0.70 \mp 0.08
Esporotricosis + Gosipol B	\bar{x} 0.57 \mp 0.06	\bar{x} 0.79 \mp 0.12	\bar{x} 0.73 \mp 0.10
Esporotricosis+ Na CO + Sol. Salina. C	\bar{x} 0.55 \mp 0.02	\bar{x} 1.05 \mp 0.03	\bar{x} 0.92 \mp 0.14
Sano + Na CO + Sol. Salina. D	\bar{x} 0.58 \mp 0.06	\bar{x} 1.03 \mp 0.30	\bar{x} 0.95 \mp 0.07
Esporotricosis E	\bar{x} 0.55 \mp 0.01	\bar{x} 1.05 \mp 0.03	\bar{x} 0.94 \mp 0.16
Sano F	\bar{x} 0.59 \mp 0.07	\bar{x} 1.06 \mp 0.40	\bar{x} 0.97 \mp 0.06

Análisis estadístico:

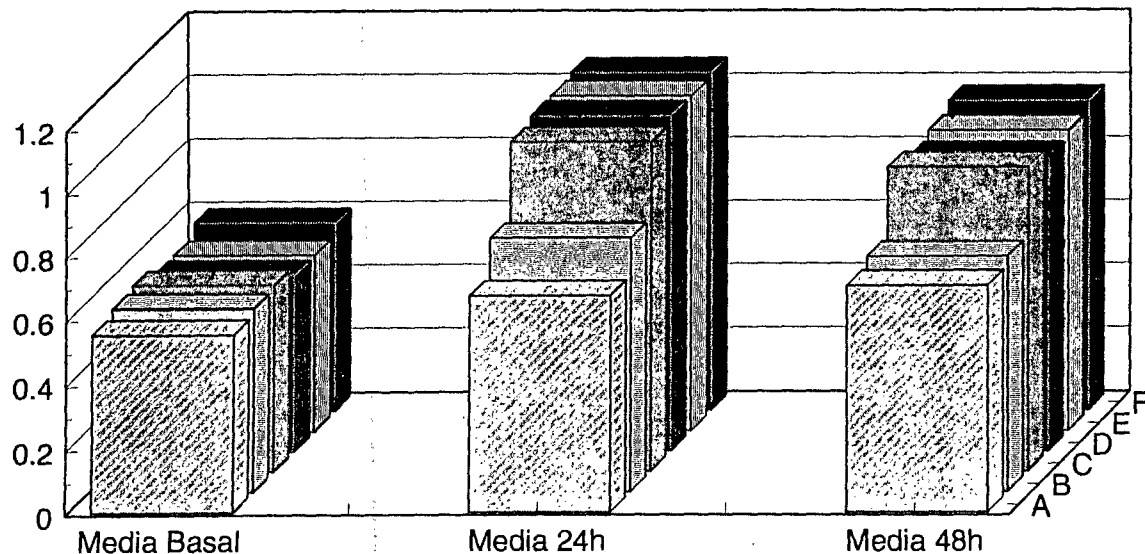
A vs D F p < 0.005

B vs C E p < 0.001

A vs E p < 0.010

Prueba de Hipersensibilidad Retardada a Dinitrofluorobenceno

Décimas de mm.



A= Sano + Gosipol

B= Esporo+Gosipol

C=Esporo + No_2CO_3 +Sol.Salina

D= Sano + No_2CO_3 + Sol. Salina

E= Esporo

F= Sano

DISCUSION

Para el establecimiento de algunas micosis como candidiasis, histoplasmosis(10), etc se considera necesaria la existencia de una disminución en los mecanismos de defensa del huésped. Sin embargo al emplear modelos experimentales dicha deficiencia no está presente antes de la inducción de la enfermedad, por lo que las alteraciones que pudieran encontrarse en los mecanismos de protección se atribuirían a la micosis experimental.

En el presente estudio aunque se observó disminución de la respuesta inmune celular (14,26) en los gérbiles con esporotricosis (Grupos C y E) a través de la prueba de hipersensibilidad retardada a DNFB, ésta no fue estadísticamente significativa en relación con los gérbiles sanos que no recibieron gosispol (Grupos D y F). En cambio al administrar gosispol tanto en animales sanos como enfermos de esporotricosis se observó disminución significativa de la respuesta al DNFB. Podría esperarse que el gosispol más la esporotricosis tuvieran un efecto sinérgico disminuyendo aún más la respuesta inmune celular, pero no ocurrió así. Sino que el tratamiento con gosispol a los animales sanos, les indujo una disminución mayor de su respuesta a DNFB que

a los gérbiles con esporotricosis. Ello sugiere una discreta activación en los gérbiles con esporotricosis debido a que se ha informado que en algunos casos de esporotricosis puede ocurrir un incremento en la actividad de los linfocitos T, que son los efectores de la respuesta inmune celular. (27)

No se tiene conocimiento de la forma en que actúa el gosispol para inducir la disminución de la respuesta inmune celular, aunque se tienen datos sobre su acción sobre la cadena respiratoria de diferentes células por inhibición de enzimas(21) como lactato deshidrogenasa X, NAD-isocitrato-deshidrogenasa, succinil CoA-sintetasa y ATPasa. (3,25,28,30) Es probable que a este nivel o al de la superficie celular de los linfocitos T efectores actúe el gosispol. Sin embargo esto requiere de otros estudios orientados a conocer su modo de acción.

Por otro lado sería de interés inducir la esporotricosis una vez que la respuesta inmune de los gérbiles hubiera sido deprimida por el gosispol, con el propósito de saber si el efecto depresor propicia cambios en el establecimiento de esta micosis.

CONCLUSION

La administración del gósipol disminuye la respuesta inmune celular en gérbiles sanos y con esporotricosis experimental.

BIBLIOGRAFI4

1. Amanov N; Sarib F Yu; Microbial Ecology, of the Urine and its modulation induced by immunodepressants. Usarov Ya A. Div. Microbiol. Virol. Immunol., Tashk. Med. Inst., Tashkent, USSR. Antibiot Khimioter 34(6). 453-457. 1987.

2. Bach, J. F. Immunologia. Limusa. pag 13,14,66,332-333,851-852.

11. Blanco, A. On the functional significance of LDH-X. Johns Hopkins Med. J., 146;231-235. 1980.

3. Blanco, A., Aoki, A., Montamat, E. E., and Rovai, L. E. Effect of Gossypol upon Motility and Ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. Protocol. 1983 by the Society of protozoologists, 30(4). pp. 648-654, 1983.

4. Blanco, A., Burgos, C., Gerez de Burgos, N.M. & Montamat, E. E. Properties of testicular lactate dehydrogenase isoenzyme, Biochem. J., 153:165-172. 1976.

5. Burgos, C., Coronel, C. E., Gerez de Burgos, N. M., Rovai, L. E. & Blanco, A. Studies in vitro on shuttle systems of mouse spermatozoa. Biochem. J., 208: 413-417. 1983.

6. Catalona, W. J., Taylor, P. T., and Chretien, P. B. Quantitative Dinitrochlorobenzene Contact Sensitization in a normal population. Clin. exp. Immunol. 325-333, 1972.

7. Cunningham, K. M., Bolmer, G.S. y Rhoades, E.R. Phagocytosis and Intracellular Fate of Sporothrix schenckii. J. Infect. Dis. 140: 815-817, 1979.

8. Daniel PS; John DS; Hugh HF; Vivian JW; Inmunologia Básica y Clínica; Ed El manual moderno, S.A. de C.V.; 295-298. 1983.

9. Godal, T.; Myklestad, E.; Samuel, P., y Myrskog, B.: Characterization of the cellular immune effect in lepromatous leprosy: A specific lack of circulation mycobacterium leprae reactive lymphocytes. Clin. Exp. Immunol. 9: 821-831, 1967.

10. Gómez A.M.: Role of L3T4+T_H in host defense against Histoplasma capsulatum. Infect. Immun. 56: 685-691, 1988.

11. E. Gómez de la Concha, J.E. Viñuela, J. Gil Herrera. Bases celulares de la respuesta inmune. 9-32.

12. González. Ochoa, A.: Gaceta Médica Mexicana. 95: 463-474 1965.

13. Harvey McBehhe, A.: Two mycoses. first described at Johns Hopkins. Hopkins Med. J. 135, 1974.

14. Hiroshi, H., y Sasai, Y.: A peculiar case of sporotrichosis. Dermatologica. 160: 37-40, 1980.

15. Hobart M. J. y Mc Connell, I. T and E Lymphocytes. Blackwell Sc. Pub. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne: 98-119, 1980.

16. Ivan Koltz., Jonathan Broctott, David Nais. Immunologia. 2ª edición. Salvat. pag.9-10. 1951.

17. Kenyon J A; Hollander C; Benz C E. The effect of gossypol and 6-aminonicotinamide on tumor cell metabolism a phosphorus- 31 magnetic resonance spectroscopy study. Cancer Res. Inst. Univ. Calif., San Francisco, Calif. 94143. Biochem Biophys Res Commun 164 (2). 947-954. 1989.

18. Kirkpatrick, Ch.; Chandler, J. W., y Schinke, R. N.: Chronic Mucocutaneous nonilliasis with impaired delayed hypersensitivity. Clin. Exp. Immunol. 6: 375-378, 1970.

19. Larralde, C., Willms, K., Ortiz-Ortiz, L., and Sela, M. Molecules, cells, and Parasites in immunology. Academic press. 182-184. 1988.

20. Lavallo, F.: Aspectos Clínicos, inmunológicos y epidemiológicos de la esporotricosis. Memorias, IV Congreso Mexicano de Dermatología. 5-18; 1967.

21. Lee, C. & Mailing, H.V. Selective inhibition of sperm specific lactate dehydrogenase X by an antifertility agent: gossypol. Fed. Proc., 40:718. 1981.

22. Mackinnon, J.E.; Conti-diaz, J.A.; Gexuela, E.; Civile E., y Daluz, S.: Isolation of *Sporothrix schenckii* from nature and consideration on its pathogenicity and ecology. Sabouradia. 7:30-45; 1968.

23. Mayorga, R.; Cáceres, A.; Toriello, C; Gutierrez, G.; Alvarez, D.; Ramirez, M. E., y Mariat, F.: Investigación de una zona endémica de esporotricosis en la región de la Laguna de Ayanza, Guatemala. Bo 1 Sanit. Panam. 87:20-34, 1979.

24. Mc Murray, D.: Cell-mediated immunity in energetic patient with pulmonary tuberculosis. Am. Rev. Resp. Dis. 119: 827-831, 1978.

25. National Coordinating Group on Male Fertility. A new male contraceptive drug-cotton phenol (Gossypol). Chin. Med. J. (Engl. Ed.), 4:417-428. 1978.

26. Fluffe, J. F.; Silva, J.; Fehety, R.; Reinhalter E., y Browne R.: Cell-mediated immune responses in sporotrichosis: *C. Infect. Dis.* 139:152-157, 1970.
27. Ramos R., Ramos R., Ramos M., González B., González A. Evaluación de la respuesta inmune en la esporotricosis experimental por el cuantec de linfocitos T y B. *Med. Cit. I. L. A.* Vol XVIII; 16-22; 1990.
28. Rikihisa, Y., Lin, Y. C., Garber, F. L., and Gu, Y. *Taenia taeniiformis*: Inactivation of metacystodes by gossypol in vitro. *Experimental Parasitology*, 71, 135-145, 1990.
29. Shenck, B. R.: On a refractory subcutaneous abscesses by a fungus possibly related to the *Sporotrichum*. *Pul' Hosp Klin Hosp.* 9:286, 1988.
30. Strom-hansen T; Cornett O; Jaroszewski J.W. Interaction of gossypol with aminoacids and peptides as a model of enzyme inhibition. *Dep. Org. Chem., Royal Dan. Sch. Pharmacy, Universitetsparken 2, DK-2100. Copenhagen, Den.* *Int. J. Pept Protein Res* 34(4). 306-310. 1990.
31. Tonegawa S. Moléculas del sistema inmunario, *Investigación y Ciencia.* 111: 90-99, 1985.

32. Wayne W.D. Biostatisticae; Ed Linusa; 189-191, 625
1989.

33. William R. M.; Immunologia, 4-83; 1988.

34. Willard R J. Medical Mycology, The Pathogenic Fungi and
the Pathogenic Actinomycetes. Ed. W B Saunders Co.
Philadelphia, USA p 248, 1974.

35. Wu, Y.; Chik, D.; and Knazer, R.; An in Vitro and in
Vivo Study of antitumor Effects of Gossypol on human SK-10
Adrenocortical Carcinoma; Cancer Research. 49:3754-3758,
1989.