

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



EFECTO INMUNODEPRESOR DEL DIMETIL-SULFOXIDO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

EMILIO ANGEL MEZA ORTIZ

GUADALAJARA, JAL.,

1985

DEDICATORIAS

Con el eterno amor a mis padres,
les agradezco el haberme formado
y educado hasta mi realización
como ser humano.

En un lugar muy especial y, en
el que fundamento el éxito de
mi carrera y de mi vida como -
profesionista y como hombre,
está mi esposa Graciela, y mis
dos hijos Omar I. y Emilio I.

Mi más sincero reconocimiento
a todos mis maestros de ésta
facultad por su enseñanza sin
límites en todos los ámbitos
de mi carrera.

Agradezco infinitamente a los
Dres. Héctor Gómez Estrada y
Adrian Daneri, por su vital coo
peración para la realización de
este trabajo.

C O N T E N I D O

CONTENIDO

RESUMEN	-----	1
INTRODUCCION Y OBJETIVOS	-----	2
MATERIAL	-----	3
METODOLOGIA:		
PLAN GENERAL	-----	4
TITULACION DE ANTICUERPOS ANTI-EC	-----	5
RESULTADOS	-----	6
DISCUSION	-----	7
CONCLUSION	-----	10
REFERENCIAS	-----	11

R E S U M E N

RESUMEN

El objetivo de éste trabajo fué investigar el efecto inmunodepresor del Dimetil-Sulfóxido (DMSO) en ratas.

Se formaron dos grupos de 15 ratas Sprague-Dawley cada uno, y se inmunizaron con tres dosis semanales por vía intraperitoneal de 1 ml de una suspensión de eritrocitos de carnero (EC) al 10%. A un grupo se le administró durante el período de inmunización por 26 días, 300 mg por Kg de peso de DMSO por vía intraperitoneal y, luego se efectuó la prueba de aglutinación en tubo para verificar el título de anticuerpos anti-EC que fueron de; 192 ± 503 ($P < 0.01$). (Los títulos se expresaron como recíprocas de los valores promedio y sus desviaciones estandar).

Los resultados demostraron que el Dimetil-Sulfóxido tuvo un efecto-inmunodepresor de la síntesis de anticuerpos en éste sistema.

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

En inmunología se requiere frecuentemente atenuar la respuesta inmune del organismo. Por ello, considero que la investigación para descubrir nuevos agentes inmunodepresores debe continuar.

Hace algunos años se informó que el Dimetil-Sulfóxido (DMSO), en dosis sub-letales, causaba reducción del título de los anticuerpos anti-depresor, en la Miastenia Gravis experimental en ratas.

El objetivo de ésta comunicación fué investigar el efecto inmunodepresor del Dimetil-Sulfóxido.

Este trabajo demostró que el Dimetil-Sulfóxido deprimió la respuesta inmune.

M A T E R I A L

M A T E R I A L

RATAS. Se utilizaron 30 ratas machos Sprague-Dawley de dos meses y medio de edad, con 275 gramos de peso promedio, alojadas en grupos de 5 ratas cada grupo, en jaulas de polipropileno con cama de aserrín esterilizado, además de les proporcionó alimento comercial para roedores (Anderson-Clayton , México) y agua esterilizada para consumo voluntario, en habitaciones a $22^{\circ}\text{C} \pm 20^{\circ}\text{C}$ y con ciclos de iluminación de 12 horas con lámparas de espectro solar (Vita-Lite, México).

M E T O D O L O G I A

M E T O D O L O G I A :

PLAN GENERAL.

En el experimento se inyectó DMSO a las ratas durante el período de inmunización con los eritrocitos de carnero (EC), y el título de anticuerpos formados al término de la inmunización, se comparó con el grupo testigo que no recibió DMSO.

En un ensayo preliminar se observó que la dosis letal media del DMSO para las ratas Sprague-Dawley fué 3800 mgs por Kg al día. Al cabo de diez días de la última inmunización, se tomaron muestras de sangre de ambos grupos, (experimental y testigos), para la titulación de los anticuerpos anti-EC.

GRUPO 1 .- Se inyectaron 15 ratas con una dosis diaria de 1 ml de DMSO por rata, equivalente a 300 mgs por Kg de peso, por vía intraperitoneal durante 26 días consecutivos; al 2, 10 y 18 días se les inmunizó con 1 ml de una suspensión de EC al 10% en NaCl 0.15M por la misma vía.

GRUPO 2 .- A otras 15 ratas no se les aplicó DMSO, éstas sólo fueron inmunizadas con EC los días 2, 10 y 18 como el grupo anterior.

Todas las ratas fueron sacrificadas por descerebración el día __ 26, su sangre se obtuvo por punción cardíaca y el suero se separó __ inmediatamente por centrifugación a 1000 G por 10 minutos para la titulación de anticuerpos anti-EC de cada rata.

TITULACION DE ANTICUERPOS ANTI-EC.

Se obtuvieron los EC de __ un solo carnero sangrado el mismo día de las pruebas y se lavaron __ 3 veces. Los EC se resuspendieron al 2% en la misma solución. Con los sueros de cada una de las ratas se hicieron diluciones seriadas al __ doble en NaCl 0.15M en volúmenes de 0.5 ml en tubos de ensaye de __ 10 X 70 mm. A cada uno de los tubos se les agregó 0.1 ml de la suspensión de EC, se mezclaron y los tubos se incubaron a 37°C por treinta minutos en baño de agua.

En seguida, los tubos se centrifugaron a 500 G durante 5 minutos y la aglutinación se observó por agitación suave del contenido de los tubos. Se consideró como título la máxima dilución a la que los eritrocitos no se disociaban por la agitación. Los títulos se expresaron por su valor recíproco.

R E S U L T A D O S

R E S U L T A D O S .

Los resultados de la titulación de los anticuerpos anti-EC en las ratas tratadas con DMSO y testigos aparecen en la tabla 1. En ella puede verse que las ratas del grupo 1 fueron tratadas con DMSO durante el período de inmunización, desarrollaron un título promedio de anticuerpos anti-EC de 192 ± 112 , mientras que los -- testigos del grupo 2, que no recibieron DMSO dieron títulos promedio de 699 ± 503 . La comparación estadística de los títulos de anticuerpos - entre éstos dos grupos se efectuó mediante la prueba de T de Student - para experimentos apareados con curva de distribución normal, dando un valor de $P < 0.01$.

Durante los períodos de observación de cada experimento, las ratas se observaron con buena salud. El estudio post-mortem no reveló anomalías macroscópicas tisulares, ni en el peritoneo de las ratas tratadas con DMSO.

TITULOS DE ANTICUERPOS ANTI-EC

GRUPO 1
DMSO

- 1.- 128/8
- 2.- 256/9
- 3.- 128/8
- 4.- 512/10
- 5.- 128/8
- 6.- 128/8
- 7.- 64/7
- 8.- 128/8
- 9.- 256/9
- 10.- 128/8
- 11.- 128/8
- 12.- 256/9
- 13.- 256/9

GRUPO 2
TESTIGO

- 1.- 256/9
- 2.- 512/10
- 3.- 256/9
- 4.- 256/9
- 5.- 512/10
- 6.- 512/10
- 7.- 1024/11
- 8.- 1024/11
- 9.- 1024/11
- 10.- 1024/11
- 11.- 2048/12
- 12.- 128/8
- 13.- 512/10

$$\sum X^2 \quad 643072/921$$

$$9650176/1335$$

$$\sum X \quad 2496/109$$

$$9088/131$$

$$n \quad 13/13$$

$$13/13$$

$$\bar{X} \quad 192/8.38$$

$$699/10.07$$

$$s \quad 112/0.737$$

$$503/1.07$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\frac{\sqrt{s_1^2(n_1-1) + s_2^2(n_2-1)}}{n_1 + n_2} \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} =$$

$$\frac{699 - 192}{\frac{\sqrt{503^2(13-1) + 112^2(13-1)}}{13 + 13} \sqrt{\frac{1}{13} + \frac{1}{13}}} =$$

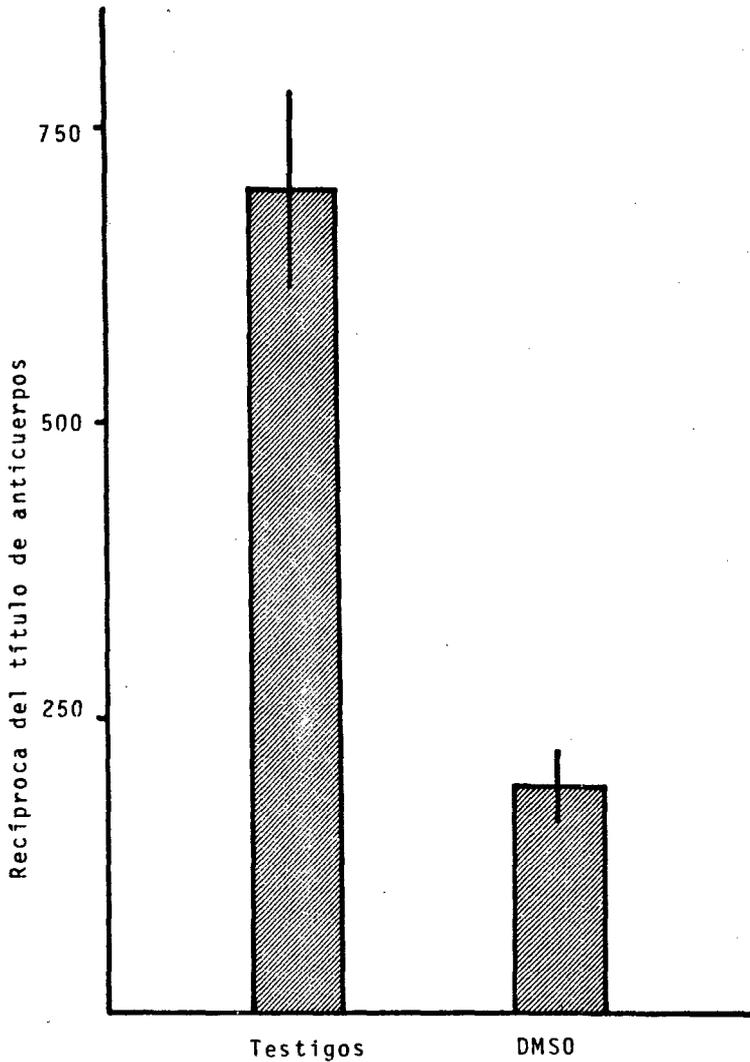
$$\frac{-507}{\sqrt{132776.5}} \quad \sqrt{0.1538}$$

$$\frac{-507}{364.385} \times 0.3922$$

$$\frac{-507}{142.92} = -3.547$$

→ P < 0.01

GRAFICA I



Resultados de los títulos de anticuerpos anti-eritrocitos de chivo en el grupo de ratas testigo y de las que fueron tratadas con Dimetilsulfóxido (DMSO) durante la inmunización. Las barras representan el promedio de los títulos y la línea vertical el error estándar.

DISCUSSION

DISCUSION

Los estudios mostraron que la administración del DMSO durante la inmunización con EC a ratas Sprague-Dawley, se asoció a una disminución significativa de los títulos de anticuerpos anti-EC que produjeron las ratas.

Los resultados están de acuerdo con los otros de varios autores¹, quienes han informado que el DMSO causó una disminución de los títulos de anticuerpos de la acetilcolina en la Miastenia Gravis experimental en ratas.

Sin embargo, dichos autores utilizaron dosis de 4 500 a 5 000 mgs de DMSO por Kg por día, que corresponden al 50 y 90% respectivamente de la dosis letal media del DMSO en las ratas. Por eso no podía saberse si ese efecto fuera debido a toxicidad ó efecto inmunosupresor del DMSO. Pero utilizandose dosis de 1 ml por rata por vía intraperitoneal durante dos semanas, comenzando un mes después de la inmunización con AChR a raíz de 50 mg por rata por vía intradérmica se demostró que el DMSO sí causó la baja de títulos de anticuerpos anti-AChR.

En⁵ otros estudios realizados con DMSO como en el tratamiento de células con leucemia por citotoxicidad natural, se llegó a la conclu --

sión de que la susceptibilidad desarrollada por el DMSO puede ser debida al reconocimiento por macrófagos esplénicos. Así mismo en el estudio⁴ del DMSO para influir en el curso experimental de la Artritis Inf. realizada en conejos durante 3 meses, utilizando dosis de 1 gr por Kg de peso 5 veces a la semana por vía tónica e intra-articular en articulaciones femoro-tibio-rotulianas con DMSO al 80% no respondió favorablemente a la terapia.

La dosis de DMSO que se utilizó en éste trabajo con ratas Sprague Dawley fué de 300 miligramos por kilo de peso por día vía intraperitoneal. Esta dosis fué bien tolerada por las ratas y no causó peritonitis química. La administración por 26 días no afectó la salud de las ratas, no tuvo efectos anatomopatológicos indeseables, ni causó alteraciones histológicas en los órganos linfoides. El DMSO tuvo efecto -- inmunodepresor sin manifestaciones de toxicidad en las ratas.

El DMSO es un compuesto con efectos muy diversos en el organismo. Actúa como analgésico, anti-inflamatorio, radio protector, estabiliza los lisosomas, inhibe la síntesis de algunas prostaglandinas y causa - mejoría de algunos pacientes con artritis y esclerodermia, inhibe la - síntesis de anticuerpos anti-receptor en la Miastenia Gravis experimental en ratas. Sin embargo el efecto inmunodepresor del Dimetil-Sulfóxido sobre la síntesis de anticuerpos no había sido estudiada específicamente.

C O N C L U S I O N

CONCLUSION

En ésta comunicación, informo que el Dimetil-Sulfóxido tuvo efecto inmunodepresor en la síntesis de los anticuerpos anti-EC. Se desconoce si el DMSO tendrá un efecto similar hacia otros antígenos, en otras especies ya sea domésticas ó exóticas y cuál sea su acción.

R E F E R E N C I A S

R E F E R E N C I A S

- 1.- Drachman DB, Peastrank A ; Dimethyl-sulfoxide reduces anti-receptor antibody titer in experimental Myasthenia Gravis. Nature 1980; - 288, 733.
- 2.- Rosenbaum EE, Herschler R J. Jacob S W ; Dimethyl-Sulfoxide -- in musculoskeletal disorders. JAMA 1975 ; 192, 309.
- 3.- Jiménez R A H , Willkens R 1 ; Dimethyl-Sulfoxide perspective of its use in rheumatic diseases. J. Lab. Clin. Med. 1982; 100, 489.
- 4.- Bennett-R-M, Kappes, J. Kessler-Set-al.; Dimethyl-Sulfoxide does not suppress an experimental model of arthritis in rabbits. J. -Rheumatol; 1983, 10/4 (533-538).
- 5.- Cox-W-I, Specter-S, Friedman - H. ; Susceptibility of Friend -- Eritroleukemia cells to Natural Cytotoxicity after " in vitro" with DMSO. Proc-Soc-Exp-Biol-Med, 169/3 (337-342).