

COMPENDIOS DE TESIS

A continuación se presentan los compendios de las tesis que han sido premiadas con reconocimientos varios, por cuerpos representativos de distintos sectores de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, como un estímulo a la labor investiga-

tiva. Los resúmenes de algunos de estos trabajos ya han sido publicados en números anteriores de esta Revista Científica, por lo que en esta oportunidad, sólo se publican los que aún no han sido divulgados.

EPIDEMIOLOGIA DE ADENOVIRUS RESPIRATORIOS EN NIÑOS PRE-ESCOLARES EN GUATEMALA

CALVO SAMAYOA, M. M. Y CRUZ LOPEZ, J. R.

Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC y División de Nutrición y Salud, INCAP

INTRODUCCION

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) en infantes son una importante causa de mortalidad y morbilidad, y absorben una gran cantidad de los recursos destinados a la salud. Las secuelas de IRA son serias ya que pueden producir una obstrucción crónica de las vías respiratorias (1).

Existen muy pocos datos sobre la extensión del problema de IRA en los países en vías de desarrollo. Mata, evaluó la incidencia de IRA en una comunidad rural (2) y Cruz realizó la investigación etiológica de IRA en una población urbano-marginal de la Ciudad de Guatemala (3).

El presente estudio tiene la finalidad de brindar información completa sobre el papel que juegan los adenovirus (AV) como agentes etiológicos de IRA dentro de la comunidad guatemalteca, seleccionando un grupo de niños menores de cinco años. Los AV más frecuentemente aislados en esta población son los tipos 1,2,3,5,6 y 7, se estima que el 50% de las infecciones por este virus son asintomáticas y aunque esté presente el virus puede que no manifieste sintomatología. La infección por AV es autolimitada, aunque los virus pueden permanecer en el hospedero en forma latente (4).

Se pretende dejar sentadas las bases sobre el conocimiento de la epidemiología de los AV respiratorios en la comunidad urbano - marginal seleccionada, identificando los serotipos de los AV aislados mediante técnicas diagnósticas virológicas confiables.

Se considera que el 7% de los aislamientos virales en casos de IRA en la población infantil son debidos a AV, y que de estos casos los virus más frecuentemente encontrados son los tipos 1,2,3,5,6 y 7, exceptuando el tipo 4 que es común en la población adulta únicamente.

MATERIALES Y METODOS

Muestra: pacientes del Centro de Salud, Colonia El Limón, Zona 18, estudiados por el INCAP.

Preparación de Cultivos Celulares:

Las líneas celulares se manejaron convencionalmente para preparar tubos para el aislamiento viral (5).

Toma y Manejo de Muestras:

Los aspirados nasofaríngeos fueron tomados y recolectados según las normas de la Organización Mundial de la Salud (6).

Aislamiento Viral:

Se inocularon en las líneas celulares los aspirados nasofaríngeos según los métodos descritos (7).

Inmunofluorescencia Directa:

Los aislamientos positivos a AV, diagnosticados presuntivamente por el efecto citopático (7), se sometieron a confirmación por la técnica de inmunofluorescencia directa (8).

Neutralización Viral:

La neutralización con antisueros específicos fue el método de referencia para la identificación del serotipo de los virus. Esta prueba se describe ampliamente en la literatura (7,9).

RESULTADOS Y DISCUSION

Se estudiaron los casos de IRA de etiología viral en niños menores de cinco años de un área sub-urbana de la capital. Los resultados observados en 515 aspirados nasofaríngeos fueron: 140 casos negativos al aislamiento viral (27%), 344 casos positivos al aislamiento viral de diversos virus respiratorios (66%), 6 casos positivos al aislamiento de AV en combinación con otro patógeno viral (1%), 25 casos positivos al aislamiento de AV (6%) (3).



Fig. No. 1 Se observa que los meses de mayor frecuencia de

aislamiento viral fueron de mayo a agosto. Entre los meses de noviembre a mayo (los más fríos y secos del año), se encontró el mayor aislamiento de AV.

Los niños con IRA debido a AV estudiados se distribuyen por edad desde los primeros días de nacido hasta los 59 meses. No se encontró diferencia significativa por la prueba CHI cuadrada ($\alpha=0.05$) entre los grupos etáreos estudiados.

En lo que respecta al sexo de estos niños se encontró que ambos sexos tenían igual probabilidad de ser afectados por el AV, ya que se encontraron 48% de estos casos en niños y 52% de casos en niñas, lo que estadísticamente no difiere. (CHI cuadrada, $\alpha=0.05$).

La frecuencia de aislamiento de AV respiratorios en niños de edad preescolar es de un 7% de los casos de IRA de etiología viral reportados. Según la propuesta de la OPS (en 1985), la población mundial se encontraba afectada por AV respiratorios en esta proporción y mediante el análisis de proporciones binomiales se encuentra con un 95% de certeza que esto corresponde también a la comunidad guatemalteca. Los serotipos encontrados se distribuyen en un 61.3% de AV 2, un 9.68% de AV6, un 6.45% de AV5, el 3.23% de AV 7 y 3.23% de AV9, no se obtuvo aislamiento de AV4 u otro serotipo mayor.

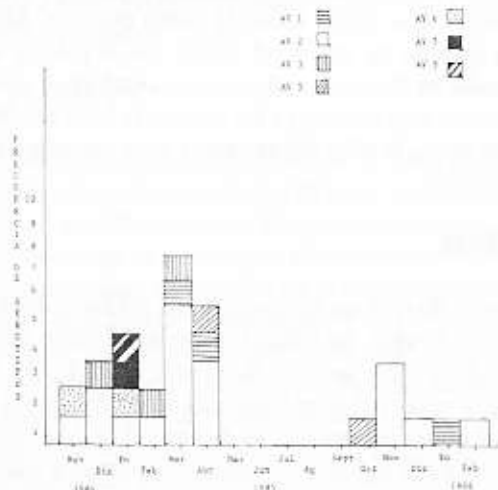


Fig. No. 2: Se observa la distribución de los serotipos de AV a lo largo del período de estudio.

Las infecciones respiratorias agudas de los niños incluidos en el estudio se clasificaron en tres categorías, leves, moderadas y severas. Se demostró que el 74% de los episodios por AV correspondían a la categoría leve, un 22% a la moderada y un 3.4% a la severa. El AV 2 fue el que se aisló de la mayoría de casos IRA incluidos.

La metodología utilizada para el aislamiento de los virus es altamente delicada, tanto en el manejo de las células como en el aislamiento de los virus. Los aislamientos sospechosos de AV por efecto citopático se sometieron a la confirmación por inmunofluorescencia directa con antisuero contra el hexón del grupo AV, lo que le confiere alta especificidad.

Para establecer el tipo de AV, es necesario realizar la prueba

de neutralización viral. Para esta prueba es necesario conocer el título del virus, con 100 dosis infecciosas, que sea capaz de causar efecto citopático en el 50% de los cultivos celulares inoculados. Luego se somete a la prueba de neutralización empleando antisueros tipo específicos dirigidos contra la fibra del AV.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. En una población de niños de edad pre-escolar de un área urbano-marginal de Guatemala, la frecuencia de infección respiratoria aguda por AV respiratorios es del 7%, valor lo cual concuerda con lo reportado por la OPS.
2. El AV tipo 2 es el más comúnmente aislado en la población infantil con IRA.
3. El AV4 no se aisló en el estudio.
4. La época fría y seca del año es la de mayor aislamiento de AV.
5. Los aislamientos de AV son independientes de sexo del infante afectado.
6. Los casos de IRA leve son los más comúnmente encontrados.
7. Se recomienda emplear el cultivo de aspirados nasofaríngeos como el mejor método diagnóstico para los episodios de IRA.
8. Debido a que los AV están distribuidos mundialmente y son relativamente estables en su fase libre, en la transmisión puede influir el contacto persona-persona y mecanismos indirectos como la contaminación del agua, se recomienda orientar las medidas de control y profilácticas hacia estos mecanismos.
9. Es importante tomar medidas profilácticas adecuadas para contribuir a la disminución de las afecciones respiratorias, que consumen gran cantidad de recursos destinados a la salud y son causa importante de mortalidad y morbilidad en la población infantil.

AGRADECIMIENTOS

Al INCAP, por haber aportado los recursos materiales y financieros para esta investigación.

REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la Salud, Infecciones respiratorias agudas en niños. USA: OPS publicación científica No. 493, 1985. VII+123 p. (p. 52-54, 25-30).
2. Mata LJ, The children of Santa María Cauqué: a Prospective Field Study of Health and Growth. Massachusetts: The MIT Press., 1978. XVII+394 p.
3. Cruz JR Etiología de las Infecciones Respiratorias Agudas en niños del Area Urbano Marginal de Guatemala. Datos no publicados.
4. Evans AS, Viral Infections of Humans Epidemiology and Control. 1976 Plenum Publ Corp. USA XXXI + 584

- p. (p.53-59).
5. **Whitaker AM**, Tissue and Cell Culture. USA: Williams & Wilkins Co. 1972. VIII+119 p. (p.73-90).
 6. **Madeley CR**. Guide to the Collection and Transport of Virological Specimens. Switzerland: World Health Organization, 1977. 40 p. (p.9-16, 20-21).
 7. **Grist MR, et al**. Diagnostic Methods in Clinical Virology. 3er. ed. USA: Blackwell Scientific Publication, 1979. X+255 p. (. 181 - 193).
 8. **Gardner PS, McQuillin J**. Rapid Virus Diagnosis: Application of Immunofluorescence. London: Butler & Tanner LTD, 1974. X+255 p. (p. 181-193).
 9. **Hierholzer JC, Bingham P**. VERO Microculture for Adenovirus Neutralización Test. J. Clin Microbio 1978; 7:499-506. □

ESTUDIO FARMACOLÓGICO DEL *Croton draco* (Sangre de Drago), COMO CICATRIZANTE DE ULCERA GÁSTRICA

PADILLA MORALES, E. L. Y BATRES DE JIMENEZ, B.

Departamento de Farmacología y Fisiología, Escuela de Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC

Sumario - Se analizó experimentalmente el efecto cicatrizante de una solución acuosa al 40% de la savia del *Croton draco* (sangre de drago) sobre úlcera gástrica aguda, inducida con la administración oral de fenilbutazona en 192 ratas albinas.

Una vez inducidas las úlceras, se distribuyeron las ratas en tres grupos similares, administrándoles en cada uno: 1. agua (placebo), 2. cimetidina (fármaco de referencia) y 3. solución acuosa de sangre de drago al 40%. Después de sacrificar secuencialmente (c/12 horas) ratas de cada grupo, se comparó macro y microscópicamente la mucosa de los estómagos. A través de las pruebas de Kruskal Wallis y su método de comparaciones múltiples, (alfa menor = 0.0003 y alfa mayor = 0.3125) y método de Freedman (alfa = 0.05), se demostró comparando entre sí los índices de ulceración y el análisis histológico de los estómagos de cada grupo, el efecto cicatrizante de la solución en estudio; efecto que fue más rápido y efectivo que el conseguido con el fármaco de referencia y este a su vez sobre el grupo tratado con placebo. Adicionalmente se investigó la toxicidad aguda de la solución analizada, encontrando que aún en dosis nueve veces mayor a la recomendada, carece de toxicidad en los animales de experimentación.

INTRODUCCION

En algunas regiones de Guatemala se utiliza ancestralmente sobre bases empíricas, la savia del *Croton draco* (Sangre de Drago) en el tratamiento de la enfermedad péptica. Ante la carencia de reportes bibliográficos al respecto en la actualidad, se consideró importante determinar científicamente la acción que se le atribuye a esa planta en la terapia de dicha enfermedad.

Para el efecto se indujo artificialmente úlcera gástrica con fenilbutazona a 192 ratas albinas, las cuales fueron posteriormente separadas en tres grupos iguales, a los cuales se les administró agua como placebo, cimetidina y sangre de drago respectivamente.

Las ratas fueron sacrificadas secuencialmente en intervalos de 12 horas a partir de iniciados los medicamentos; haciéndose un estudio microscópico (análisis histológico), macroscópico (índices de ulceración) y un análisis comparativo entre sí para

determinar su significancia estadística a partir de las pruebas de Kruskal Wallis y su Método de Comparaciones Múltiples, el Método de Freedman y el Método de Percentiles (Caja de Tukey).

Se evidenció un proceso de cicatrización macro y microscópico más rápido y efectivo de la úlcera gástrica en el grupo tratado con la solución acuosa de Sangre de Drago en comparación con los otros grupos (cimetidina y placebo) y a su vez de este fármaco cimetidina sobre el grupo placebo. Además se hizo un análisis de toxicidad aguda (DL50) de la solución investigada, en 30 ratones albinos, demostrándose que, aún en dosis nueve veces mayores a las utilizadas en el estudio (1000 mg/kg de peso), la solución es inocua para los animales de experimentación.

MÉTODOS

Después de realizar la clasificación botánica del *C. drago* (Sangre de Drago), se extrajo la savia de dicho árbol, proveniente de la finca Sacoyou, San Pedro Carchá, Alta Verapaz (Cobán), con la cual se preparó una solución acuosa al 40%. Previo al inicio del estudio se determinó la dosis letal de la solución (DL50) según el método de Spearman y Karber (1,2) en 30 ratones albinos y posteriormente se procedió a analizar las propiedades cicatrizantes de la solución sobre la mucosa gástrica ulcerada de 192 ratas albinas.

El total de ratas sanas y con pesos oscilando entre 200 y 250 gr, fue sometido a dieta hídrica durante 18 horas, posterior a lo cual se indujo úlcera gástrica a través de la administración oral de 200 mg/kg de peso de fenilbutazona (Butazolidina, marca registrada) en dosis única. Seis horas después de la administración, se inició un análisis comparativo entre tres grupos de ratas en la siguiente forma:

- Grupo I:** 60 ratas pertenecientes al grupo control, a quienes se administró por vía oral agua como placebo después de la inducción de las úlceras.
- Grupo II:** 60 ratas a las que se les administró el fármaco de referencia cimetidina (Tagamet, marca reg-

istrada) dosis de 20 mg/kg de peso.

Grupo III: 60 ratas del grupo de estudio, en quienes se utilizó la solución acuosa del *C. draco* al 40% en dosis de 1000 mg/kg de peso.

En los tres grupos se sacrificaron 10 ratas a intervalos de 12 horas a partir de 12 horas de iniciada la administración del placebo, cimetidina, y la planta en estudio en cada grupo, a fin de realizar el ensayo farmacológico que se dividió en dos fases:

Fase I Evaluación de la acción sobre la úlcera gástrica; aspecto macroscópico, índices de ulceración (1,3,4).

Fase II Análisis histológico de la mucosa gástrica; aspecto microscópico del tejido con tinciones de Hematoxilina - Eosina (HE) y ácido peryódico de Schiff (PAS) (5,6,7,8).

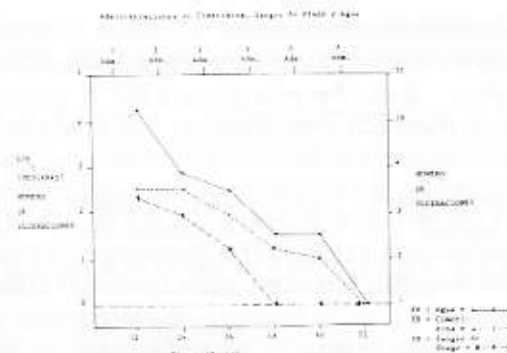
Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente a través del método de Kruskal Wallis (comparación de distribuciones de poblaciones); Método de Comparaciones Múltiples con alfa menor = 0.0003 y alfa mayor = 0.3125 (9,10,11); Prueba de Freedman (diseños aleatorios de bloques) y Método de Comparaciones Múltiples con alfa = 0.05 (9,10) y el Método de Percentiles (Caja de Tukey).

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de la toxicidad aguda de la savia de la planta evidenció que aún a dosis de 9 g/kg de peso, la solución acuosa del *C. draco* al 40% carece de toxicidad en ratones albinos. Dicha dosis excede la terapéutica planteada y demuestra que ésta última es inocua si se utiliza en la forma descrita.

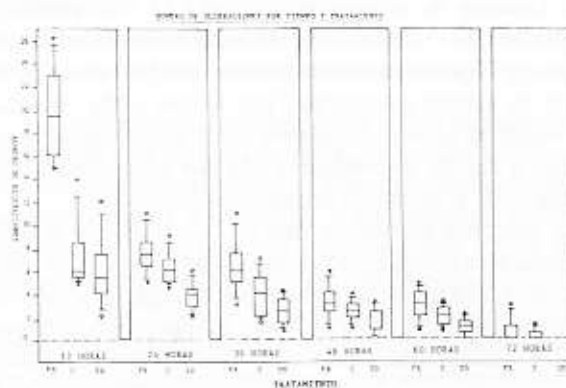
En relación al aspecto macroscópico, se comparó el comportamiento de los tres grupos descritos, analizando la evolución de las ulceraciones inducidas con fenilbutazona.

Independientemente del grupo analizado, a las 72 horas de inducidas las úlceras, se observó una cicatrización espontánea, situación que puede atribuirse a la acelerada renovación celular epitelial que normalmente ocurre en este tipo de tejidos (6). Sin embargo, hubo diferencias en la velocidad de cicatrización entre los tres grupos, cicatrización lenta, generalmente después de 48 horas de inducida la úlcera en el grupo control. En el grupo tratado con cimetidina y el tratado con sangre de drago las úlceras cicatrizaron más rápidamente, siendo notorio el efecto a partir de las 12 horas; en este último grupo se llegó a la normalización macroscópica de la mucosa a las 48 horas de inducidas las úlceras, hecho que ocurrió en los otros grupos hasta las 72 horas post-inducción ulcerosa (Gráfica No. 1)



Gráfica No. 1: Compara el comportamiento observado en los estómagos analizados, según el número de ulceraciones inducidas; tomando como variables la mediana del número de aplicaciones o administración de los fármacos y el tiempo transcurrido en horas desde la inducción de las úlceras hasta la normalización de la mucosa gástrica de las ratas.

Analizando los índices de ulceración encontrados en los tres grupos, es evidente que la solución extraída (Sangre de Drago al 40%) fue más efectiva para promover la cicatrización macroscópica en comparación con el fármaco de referencia y con el grupo control (Gráfica No. 2).



Gráfica No. 2: Compara la distribución de los tres grupos (FB, C, SD), observando una diferencia significativa entre el grupo control y los grupos tratados de las 12 a las 60 horas.

En los cortes histológicos y el análisis microscópico, se observaron notables diferencias entre los tres grupos:

1. En el grupo control se notó persistencia de los hallazgos inflamatorios, hemorragia y necrosis de la mucosa aún a las 48-60 horas de inducida la úlcera, momento a partir del cual se evidenció el inicio del proceso de reepitelización.
2. Grupo de fármaco de referencia: inicialmente los mismos hallazgos inflamatorios, pero el proceso de reepitelización y metaplasia epitelial ocurrió a partir de las 24-48 horas de inducida la úlcera.
3. Grupo de estudio con idénticos hallazgos inflamatorios iniciales, pero la respuesta de reparación tisular a la necrosis (vacuolización y mitosis celular) ocurrió a partir de las 12 horas de inducida la úlcera, siendo evidente la hipertrofia del epitelio mucíparo y curación histológica a