



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

LA METAHEMOGLOBINA EN RATONES NORMALES Y
PARASITADOS CON PLASMODIUM BERGHEI YOELII ANTE
DIFERENTES DOSIS DE DARAPRIM Y 2 DERIVADOS
DE LA 6-METOXI 8-AMINO QUINOLINA

T E S I S

QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

FLORENTINA V. VELASCO SANCHEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

PRESIDENTE: DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ
VOCAL: PAULA COPPOLA VDA.DE RIVAS
SECRETARIO: RAMON GUEVARA ESTRADA
1er.SUPLENTE: DEA CORONADO PERDOMO
2do.SUPLENTE: ALFREDO GARZON SERRA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:
LABORATORIO DE PARASITOLOGIA DE LA FACULTAD DE
QUIMICA DE LA U.N.A.M.

SUSTENTANTE: FLORENTINA V. VELASCO SANCHEZ
ASESOR DEL TEMA: DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ

A MIS PADRES
CON CARIÑO, ADMIRACION y RESPETO

A MIS HERMANOS:
FERNANDA Y PEPE

A GERARDO

CON MI AGRADECIMIENTO AL
PROF. DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ
POR SU VALIOSA Y ACERTADA DIRECCION
PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

I N D I C E

	Página
I.- INTRODUCCION	2
II.- MATERIAL Y METODOS	15
III.- RESULTADOS (GRAFICAS)	26
IV.- DISCUSION	34
V.- CONCLUSIONES	45
VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	47

Desde hace unos 35 años, se han venido haciendo experiencias sobre los parásitos hemáticos del género Plasmodium en distintos animales de laboratorio que fueran receptivos, ya que las cepas suelen ser específicas para cada huésped y su estudio es muy interesante, pues, gracias a las inoculaciones experimentales, se han podido adquirir importantísimos conocimientos.

Debido a la similitud que presentan los plasmodios humanos con Plasmodium berghei, Plasmodium berghei vinckei y Plasmodium berghei yoelii, la mayoría de los trabajos modernos de investigación de presuntos medicamentos antipalúdicos se lleva a cabo con ellos preferentemente.

Aprovechando la oportunidad de que en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Química se iba a llevar a efecto la investigación de la posible acción antipalúdica de dos nuevos productos sintéticos en ratones blancos infectados experimentalmente con Plasmodium berghei yoelii, nos pareció de interés estudiar en estos animales las variaciones de la relación hemoglobina-metahemoglobina, que pudieran manifestarse durante la prueba con diferentes dosis, teniendo en cuenta que la metahemoglobina suele tomarse como índice, entre otros, de toxicidad. Al mismo tiempo analizamos también en este trabajo otras variaciones hematológicas que pudieran ayudar a la interpretación de resultados.

I N T R O D U C C I O N

Aunque el eritrocito maduro no tiene núcleo, no es un cuerpo inerte; de hecho, es un transportador químico muy eficaz del comburente básico (oxígeno) y uno de los principales productos finales de la combustión (dióxido de carbono). La membrana de la célula presenta una semipermeabilidad dinámica y mantiene dentro del eritrocito una concentración elevada de potasio, no permitiendo entrar al sodio; en cambio no ofrece obstáculos al paso de iones hidrógeno, cloruro y bicarbonato en ambos sentidos, en función del gradiente iónico. El elemento más importante del eritrocito es la hemoglobina que es una hemoproteína.

La parte proteínica se llama globina; es incolora y está constituida por cuatro cadenas peptídicas formando asas complicadas. En la molécula de hemoglobina, el grupo heme está rodeado por dos pares de cadenas polipeptídicas. Las cadenas peptídicas adoptan una disposición helicoidal, lo que da a la molécula una estructura esférica. Se unen a las cadenas peptídicas cuatro grupos ferroporfirínicos (heme). El enlace entre heme y cadena peptídica se debe a la histidina, cuyo grupo imidazol desempeña un papel fundamental en la amortiguación iónica.

El heme es una porfirina de hierro, o sea, un compuesto cíclico formado por cuatro anillos pirrólicos enlazados por puentes $\equiv\text{CH}$, y unidos al hierro por los átomos de nitrógeno. La hemoglobina resultante es aproximadamente esférica, y tiene un peso molecular de 68 000.

Las funciones de la hemoglobina son las siguientes:

a).-Transporte del oxígeno de los pulmones a los tejidos, y del bióxido de carbono de los tejidos a los pulmones.

b).-Participación en la regulación acidobásica, eliminando bióxido de carbono en los pulmones y amortiguando los cambios de pH por acción de los grupos histidinaimidazol de la hemoglobina (Lynch et al., 1972).

En la oxidación de hemoglobina a metahemoglobina, el hierro del heme pasa del estado ferroso (Fe^{++}) a férrico (Fe^{+++}).

Diversos compuestos químicos que se emplean en la industria, o como agentes terapéuticos, oxidan de preferencia a la hemoglobina, y si están en cantidades suficientes, superan los mecanismos reductores normales.

La rapidez de producción de metahemoglobina depende del metabolismo del compuesto químico causal dentro del organismo y de su excreción.

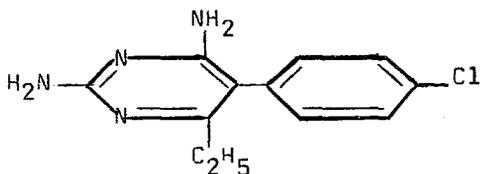
En las determinaciones, cuando se sospecha de metahemoglobinemia, conviene más usar como anticoagulante el oxalato seco que la heparina, porque el oxalato eleva el pH de la sangre y favorece la conversión de la metahemoglobina neutra a metahemoglobina alcalina; al centrifugar la sangre se separa un plasma pardo en caso de que haya metahemoglobina o metahemalbúmina, dando en el examen espectroscópico una banda en la región de 620 a 630 m μ .

Si agregamos a 2 ml de plasma 2 gotas de solución de cianuro de potasio al 5%, en caso de que haya metahemalbúmina la banda se mantiene fija, mientras que si el pigmento es metahemoglo-

bina desaparece, y el color de la muestra cambia de pardo (o negro) a rojo obscuro.

Como principales agentes físicos capaces de transformar la oxihemoglobina en metahemoglobina están las radiaciones beta (Wintrobe, 1969).

Entre los agentes tóxicos productores de metahemoglobina figuran la anilina, fenacetina, acetanilida, las sulfonamidas, nitroglicerina, diversos nitritos, nitratos, cloratos, quinonas, aminobencenos y algunos antipalúdicos; de éstos últimos, el Daraprim es bien conocido. Sintetizado por Hitchings en 1945; es un derivado de la 2-4 diamino pirimidina. De fórmula: 2,4-diamino-5-p-clorofenil-6-etilpirimidina.



Ha recibido también los nombres de Pirimetamina, Malocid y 4753 R.P.

El hecho de emplearse como antipalúdico partió de su gran semejanza con las pirimidinas y con la Paludrina (Falco et al., 1949). Su importancia radica, sobre todo, en su acción profiláctica, ejerce también una acción muy marcada sobre los gametocitos y les impide llegar a su madurez en el mosquito (Sandoval, 1957).

Este producto, se caracteriza porque impide la maduración de los eritrocitos y bloquea el importante proceso hematopoyético

(Meyer et al., 1949), mostrando, además, un franco efecto antagónico sobre los ácidos fólico y folínico (Sandoval, 1957).

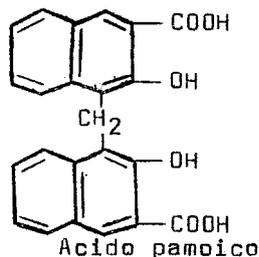
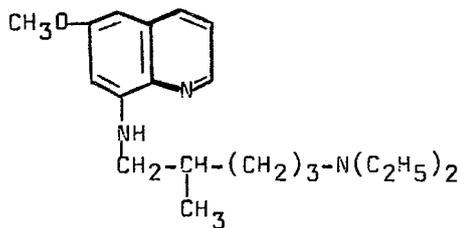
Díaz Pardo (1955) en un estudio realizado acerca de la acción del Daraprim sobre ratas blancas infectadas con P. berquei, encontró que la anemia y metahemoglobinemia observada en ellas al administrarles el medicamento en dosis curativas y tóxicas, eran debidas, al parecer, a la acción conjunta de los parásitos y del medicamento.

Por nuestra parte, hemos estudiado también la metahemoglobinemia en ratones tratados con diferentes dosis de dos derivados de la 6-metoxi 8-amino quinolina, a los que en esta exposición designamos abreviadamente como: "Pamoato I" y "Pamoato II". Fueron sintetizados por la Q. Yeta Sh. de Govezensky en el Laboratorio de Farmacia Química de la División de Estudios Superiores en la Facultad de Química, U.N.A.M., que dirige el Dr. Francisco Giral.

Estos "Pamoatos" son productos nuevos con las siguientes fórmulas.

"Pamoato I"

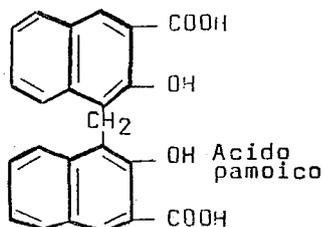
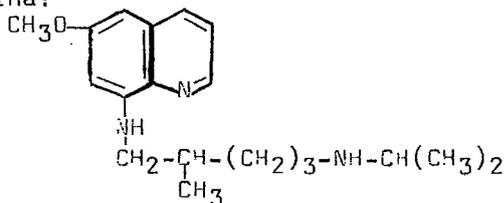
Pamoato de 8(5 dietilamino, 2 metilpentil)amino 6-metoxi quinolina:



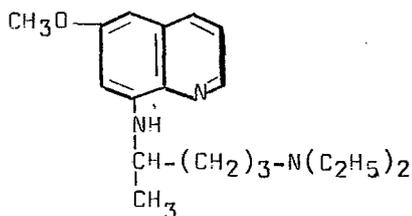
"Pamoato II"

Pamoato de 8(5 isopropilamino, 2 metilpentil)amino 6-metoxi

quinolina:



Tomamos como referencia para apreciar la posible acción de estos dos productos a la Pamaquina, que tiene una configuración química semejante: 8-(4-dietilamino-1-metilbutil)amino-6metoxi quinolina:



La Pamaquina, que se reveló como buen esquizonticida y además, cosa inesperada, resultó un excelente gameticida, inició la era de los antipalúdicos sintéticos. La Pamaquina produce regularmente metahemoglobinemia que, si alcanza un grado suficiente (del 5 al 10% de la hemoglobina total) se acompaña de cianosis (Sandoval, 1957).

La base 6-metoxi 8-amino quinolina es la sustancia que se hace reaccionar con las distintas cadenas laterales, los productos intermediarios son compuestos que llevan electrones capaces de actuar como oxidantes (Emerson et al., 1941 y 1949).

El descubrimiento del Plasmodium berghei fue realizado por Vincke y Lips (1948) señalando ellos mismos que el vector natural de dicho parásito es Anopheles durenii, puesto que en la región de Keiberg (Congo Belga), al estudiar los Anopheles encontraron que aproximadamente el 7% presentaba esporozoítos en sus glándulas salivales. Por medio de reacciones de precipitación vieron que la sangre contenida en el estómago de los mosquitos procedía de roedores y, tras pacientes observaciones, lograron hallar los parásitos en dos de la especie Tamnomys surdaster surdaster.

Vincke y Lips (1948) inocularon Plasmodium berghei a partir de Tamnomys a otros roedores, entre ellos a ratones blancos, mediante inyecciones de sangre, y éstos contrajeron la infección; muriendo de los once a quince días con una parasitemia intensísima, anemia extraordinariamente grave e hipertrofia de hígado y bazo. El contenido gástrico de mosquitos inoculados era, así mismo, infeccioso para los ratones.

De ésta manera fue hallado Plasmodium berghei e iniciados los primeros estudios sobre su biología.

Vincke y Van den Bulcke (1949) hallaron en ratas blancas infectadas con esta especie una mortalidad del 50% de los casos y que las supervivientes resistían a nuevas tentativas de infección durante un período de tres meses.

Son dos las teorías acerca de las experiencias en que las ratas sobrepasan la infección; Raffaele y Baldi (1950) dicen que

la rata debe haber cumplido de dos a tres meses, mientras que las ratas recién nacidas se comportan como el ratón, sin embargo, para Galliard y Lapiere (1951) el resultado de la inoculación depende ante todo del peso de las ratas, siendo menor la mortalidad cuando mayor es éste.

En ambas experiencias, los autores afirmaron que el ratón blanco sucumbe a la infección en un 100% de los casos, siendo este roedor el más sensible a este plasmodio, puesto que muere entre el cuarto y séptimo días. El ratón gris resultó tan sensible como el blanco, según Raffaele y Baldi (1950).

Queda en pie, después de considerar los estudios de los autores citados, que, siendo los animales receptivos por excelencia el ratón y la rata blancos, resultan excepcionalmente propios para el trabajo experimental con antipalúdicos por tratarse de animales de fácil y económico sostenimiento, de manejo sencillo y asequibles (Aparicio Garrido y Ramos Moritán, 1952).

Ramakrishnan y Prakash (1950), en otra experiencia, encontraron resistencia natural a la infección en 20 a 50% de los ratones.

En un intento de sistematización de las técnicas de inoculación para mantener las cepas, Schneider y Montezin (1950), tras repetidos ensayos, llegaron a la conclusión de que el procedimiento óptimo es la inyección intraperitoneal, puesto que apareció la parasitemia en un tiempo que variaba entre dos y doce días, con un tiempo de incubación (en más del 75% de los casos) de dos

a tres días, pudiendo calificarse de excepcionales las incubaciones más largas de seis días. En todos los casos, obtuvieron infecciones crecientes y mortales para el ratón.

La subespecie Plasmodium berghei yoelii fue encontrada en Maboké, lugar situado en la República Centroafricana y descubierta por Landau y Killick-Kendrick en 1966 (Landau, 1965; Landau y Chabaud, 1965) en unos roedores de la especie Tamnomys rutilans, frecuentemente parasitados en esa región, según lo indica Peters (1963).

Las diferentes fases de Plasmodium berghei berghei y Plasmodium berghei yoelii en sangre periférica no parecen ser morfológicamente diferenciables según Landau y Killick-Kendrick (1966), y la separación de estas dos subespecies está basada principalmente en la esporogonia y el primer esquizonte exoeritrocítico (criptozofo).

La diferencia en el ciclo esporogónico radica en el diámetro medio del oociste maduro: mientras que en Plasmodium berghei berghei tiene como diámetro 40 micras (Rodhain et al., 1955; Yoeli y Most, 1960), Plasmodium berghei yoelii crece hasta 80 micras.

Como segunda diferencia para separar estas dos subespecies, la temperatura óptima para la esporogonia es de 19-21° para Plasmodium berghei berghei (Vanderberg y Yoeli, 1966) y de 24-26° para Plasmodium berghei yoelii.

Por lo que respecta a la esquizogonia, haciendo la compara -

ción del diámetro medio de los esquizontes primarios exoeritrocíticos encontrados en ratas a las 50 horas, es de 37.3 micras para Plasmodium berghei yoelii y de 26.4 micras para Plasmodium berghei berghei (Landau y Killick-Kendrick, 1966).

La morfología de Plasmodium berghei berghei en fase de trofozoito en la sangre periférica, según Vincke y Lips (1948), se presenta como un corpúsculo basófilo en forma anular, vacuolado y con núcleo fuertemente eosinófilo (teñido con Giemsa), y cuando la parasitemia es muy avanzada, invade macrocitos basófilos, es frecuente encontrar 2 ó más parásitos invadiendo la misma célula.

El esquizonte joven (Yoeli, 1965) es de forma oval o redonda, sus porciones nucleares dirigidas en sentido opuesto hacia los polos y puede producir de 8 hasta 24 merozoítos, algunos formando una roseta característica.

El pigmento es muy fino, de color ambar dorado, y está agrupado en el centro o en un extremo del esquizonte.

Los gametocitos son discoideos y vacuolados, el macrogametocito ocupa todo el eritrocito, destacando el núcleo, siempre central y rodeado por un halo claro que corresponde a la vacuola (Yoeli, 1965). El microgametocito se tiñe de color rosa pálido, con un núcleo grande y difuso.

La observación microscópica de la sangre de un ratón parasitado por P. berghei deja advertir inmediatamente dos signos destacadísimos: la disminución notable de la cantidad de eritrocitos

y la aparición de abundantes macrocitos policromatófilos en los que se aloja el parásito (Baldi, 1950).

La urgencia con que los órganos hematopoyéticos han de dar salida a nuevos eritrocitos hace que, en poco tiempo, la mayoría de los circulantes sean macrocitos basófilos, muchos de ellos con sustancia gránulofilamentosa.

Corradetti y Verolini (1951), vieron que los gametocitos evolucionan siempre en hematíes maduros, seguramente por necesitar hemoglobina madura para su sustento; los esquizontes, en cambio, prefieren los no maduros. En una infección grave sólo el 11% de los elementos maduros contienen parásitos y están parasitados la totalidad de los inmaduros, que son prácticamente las únicas formas presentes a la muerte del animal.

Aparicio Garrido y Ramos Moritán (1952) vieron que la cifra normal de hematíes, que se estima en 11 a 12 millones por mmc, decae hasta tres, dos e incluso un millón de eritrocitos en un breve espacio de tiempo.

En los animales normales los reticulocitos alcanzan cifras de un 10 a un 15% y la policromatofilia es también fenómeno que con relativa frecuencia se encuentra en condiciones fisiológicas.

La hemoglobina, que de modo normal oscila entre 110 y 120%, desciende menos intensamente.

En la serie blanca los autores citados estimaron como valor normal de 9 a 11 mil leucocitos por mmc, observando una leucocitosis que asciende hasta 50 000 en un 60% de los ratones, entre

50 000 y 100 000 en un 30% y superior a esta cifra en el 10% restante.

Con respecto al efecto de Plasmodium berghei sobre el huésped, Vincke y Van den Bulcke (1949) observaron esplenomegalia y anemia, así como focos de leucocitos en el hígado y áreas de necrosis, tanto en hígado como en bazo.

El parásito en su metabolismo proteico necesita para la síntesis de sus proteínas propias gran cantidad de hemoglobina que, como lo hacen notar Morrison y Jeskey (1948), es destruida aproximadamente en un 75%. Ahora bien, el parásito posee enzimas capaces de separar la hemoglobina en dos fracciones: la hematina y la globina.

La hematina, que se deposita como pigmento del parásito, según lo demostraron Ghosh y Nath (1934), posee su átomo de hierro en forma oxidada. Suponemos que el parásito en su metabolismo transforma parte de la hemoglobina en metahemoglobina.

La fracción globina es hidrolizada por las enzimas del parásito a aminoácidos, los cuales posteriormente servirán para la síntesis de sus propias proteínas (Moulder y Evans, 1946; Morrison y Jeskey, 1948).

El parásito, al destruir grandes cantidades de hemoglobina, causa al huésped una anemia.

Además, es posible que el producto administrado como antipalúdico se transforme en el organismo en un metabolito, que Goodwin (1952) y Greenberg et al., (1952) suponen que tiene característi-

cas oxidantes, y posiblemente, por esta propiedad, actúa sobre la hemoglobina transformándola en metahemoglobina, la cual es responsable de la cianosis y la anoxia anémica que sufren los animales en experimentación, ya que la metahemoglobina es un compuesto no útil para el transporte de oxígeno a los tejidos como lo explicaron al hablar del Daraprim.

M A T E R I A L
Y
M E T O D O S

La cepa de Plasmodium berghei yoelii nos fue cedida del Departamento de Parasitología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N., por el Prof. F. Zerón. En dicha institución se ha conservado, produciendo una parasitemia elevada, por medio de pases de sangre entre ratones, desde 1969 en que fue enviada por el Dr. P.C.C. Garnham, de la London School of Hygiene and Tropical Medicine de la Universidad de Londres.

Los animales experimentales fueron ratones blancos de una cepa homocigótica, que nos proporcionaron en el Instituto Nacional de Higiene por el Prof. Jordi Juliá.

Los ratones eran adultos jóvenes, machos y hembras, con un peso individual que varió entre 25 y 35 gramos.

Tanto al Prof. Zerón como al Prof. Juliá agradecemos su valiosa ayuda en la realización de este trabajo.

Tomando en cuenta los estudios hechos por Schneider y Montezin (1950) para obtener el procedimiento óptimo de inoculación, utilizamos el que ellos consideraron el mejor, que es la inyección intraperitoneal.

Antes de empezar el experimento utilizamos por separado inóculos diferentes (1 000 000 y 1 000 eritrocitos parasitados) de dicha cepa a 2 lotes de 4 ratones cada uno, con el objeto de saber la cantidad de parásitos necesaria para obtener patencia de la parasitemia en dos días.

Para efectuar la inoculación se determinó el número de eritrocitos por mmc de sangre con la pipeta de Thoma adecuada y la cá-

mara de Neubauer, y el número de eritrocitos parasitados en 500 por medio de una extensión teñida por Giemsa, la sangre se diluyó en solución salina isotónica al 0.85% para obtener la concentración adecuada.

Ejemplo de cálculos:

Eritrocitos por mmc de sangre= 5 310 000

Eritrocitos parasitados en 500= 167

500 eritrocitos _____ 167 eritrocitos parasitados

5 310 000 eritrocitos/mmc _____ X

X= 1 773 540 eritrocitos parasitados/mmc

1 773 540 eritrocitos parasitados _____ 1 mmc

1 000 000 eritrocitos parasitados _____ X

X= 0.563 mmc

Se pusieron 0.563 mmc de sangre en solución salina isotónica, c.b.p. 500 ml .

1 000 000 eritrocitos parasitados _____ 500 ml

1 000 eritrocitos parasitados _____ X

X= 0.5 ml de dilución en solución salina isotónica

Después de esta prueba se concluye que lo más conveniente es inocular 1 000 eritrocitos parasitados.

Los productos que en este estudio se administraron como anti-palúdicos fueron:

Daraprim

Pamoato I

Pamoato II

El Daraprim se nos proporcionó en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Química, U.N.A.M., por el Prof. Dionisio Peláez; este medicamento antipalúdico procede del lote 31248 de los Laboratorios Burroughs Wellcome.

Para su administración se disolvió en 2 gotas de ácido láctico de 85% de concentración, calentando ligeramente a 37° hasta su disolución y añadimos luego la cantidad de agua destilada necesaria para obtener la concentración deseada en cada caso.

La dosis mínima activa del Daraprim es de 0.25 mg/Kg (Schneider, Montezin y Dupoux, 1954). Las dosis administradas cada día se expresan en mg/Kg de peso-ratón.

Ejemplo de cálculos:

Dosis mínima activa del Daraprim = 0.25 mg/Kg

Peso de cada lote (de 5 ratones cada uno) para Daraprim = 140 g

$$1\ 000\ g \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad 0.25\ mg$$

$$140\ g \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad X$$

$$X = 0.035\ mg\ dosis\ mínima\ activa\ para\ cada\ lote$$

Posteriormente se hace la relación con el peso de cada uno de los 5 ratones, para saber la cantidad de disolución que hay que administrar para que contenga los mg necesarios para cada ratón.

Los cálculos se hacen de la misma manera para las siguientes dosis de los demás lotes de Daraprim solamente que tomando en cuenta el aumento que se haga a la dosis mínima activa, en cada caso.

El Pamoato I y el Pamoato II nos fueron cedidos para su estudio del Laboratorio de Farmacia Química de la Facultad de Química, U.N.A.M., por la Q. Yeta Sh. de Govezensky, a quien agradecemos su cooperación para llevar a efecto esta prueba.

Los Pamoatos se utilizaron siempre en forma de sales puras; siendo estos productos insolubles tanto en solventes orgánicos como inorgánicos, tuvimos que administrarlos en suspensión con agua destilada. Para determinar las dosis se tomó como referencia la dosis mínima activa de la Plasmoguina o Pamaquina que tiene fórmula semejante a ellos; tomando en cuenta el peso molecular de cada uno de los Pamoatos, así como la base activa de éstos. Las dosis diarias se expresan en mg/Kg de peso-ratón.

Ejemplo de cálculos:

La dosis mínima activa de la Pamaquina es 3.25 mg/Kg (Schneider, Decourt y Montezín, 1949).

Peso de cada lote (de 5 ratones cada uno) para Pamoato I= 150 g

Pamoato I

Fórmula condensada $C_{43}H_{47}O_7N_3$ peso molecular 717 g

Base activa, fórmula condensada $C_{20}H_{31}ON_3$ peso molecular 329 g

$$717 \text{ g/Kg} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad 329 \text{ g/Kg}$$

$$1 \text{ g/Kg} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad X$$

$$X = 0.45 \text{ g/Kg de base activa}$$

Transformando la base activa a mg/Kg y relacionándola con la dosis mínima activa de la Pamaquina tenemos 138 mg/Kg de base activa de Pamoato I.

$$1\ 000\ \text{g} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad 138\ \text{mg}$$

$$150\ \text{g} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad X$$

X= 20.7 mg dosis mínima de base activa de Pamoato I, para cada lote.

Peso de cada lote (de 5 ratones cada uno) para Pamoato II= 140 g
Pamoato II

Fórmula condensada $\text{C}_{43}\text{H}_{45}\text{O}_7\text{N}_3$ peso molecular 703 g

Base activa, fórmula condensada $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{ON}_3$ peso molecular 315 g

$$703\ \text{g/Kg} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad 315\ \text{g/Kg}$$

$$1\ \text{g/Kg} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad X$$

X= 0.44 g/Kg de base activa

Transformando la base activa a mg/Kg y relacionando con la dosis mínima activa de la Pamaquina tenemos 135 mg/Kg de base activa de Pamoato II.

$$1\ 000\ \text{g} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad 135\ \text{mg}$$

$$140\ \text{g} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad X$$

X= 18.9 mg dosis mínima de base activa de Pamoato II, para cada lote.

Tanto para Pamoato I como para Pamoato II se hace la relación con el peso de cada uno de los ratones, para conocer la cantidad de suspensión que hay que administrar para que contenga los mg necesarios para cada ratón.

Los cálculos se hacen de la misma manera para las siguientes dosis de los demás lotes del Pamoato I y del Pamoato II solamente que tomando en cuenta el aumento que se haga a la dosis mínima

ma de base activa, en cada caso.

La administración de los medicamentos se inició siempre al segundo día de la inoculación, cuando ya se había comprobado la presencia de parásitos en sangre, dándolos en una sola dosis diaria, durante cinco días consecutivos, por vía oral y mediante una jeringa de tuberculina a la cual se adaptó una aguja # 20, con el extremo redondeado y ligeramente curvada.

El orden seguido para la dosificación de cada uno de los productos cuando se administraron y si fueron infectados los ratones o no, se explica en el cuadro a continuación, considerando que como ya se dijo cada lote consta de 5 ratones, con excepción del lote I y II que se tomaron en cuenta 4 y 16 ratones respectivamente.

Las dosis diaria y total están dadas para Daraprim en dosis activa y para Pamoato I y Pamoato II en base activa.

N° de lote	Inoculación eritrocitos parasitados	Producto administrado	Dosis diaria mg/Kg peso-ratón	Dosis total mg/Kg peso-ratón en 5 días
I	1 000 000			
II	1 000			
III	1 000	Daraprim	0.25	1.25
IV	1 000	Daraprim	0.37	1.85
V	1 000	Daraprim	0.50	2.50
VI	1 000	Daraprim	0.75	3.75
VII	1 000	Daraprim	1.00	5.00
VIII		Daraprim	1.25	6.25
IX	1 000	Pamoato I	138.0	690.0
X	1 000	Pamoato I	207.0	1 035.0
XI	1 000	Pamoato I	276.0	1 380.0
XII	1 000	Pamoato I	690.0	3 450.0
XIII		Pamoato I	690.0	3 450.0
XIV	1 000	Pamoato II	135.0	675.0
XV	1 000	Pamoato II	202.0	1 010.0
XVI	1 000	Pamoato II	270.0	1 350.0
XVII	1 000	Pamoato II	675.0	3 375.0
XVIII		Pamoato II	675.0	3 375.0

A cada uno de los ratones a partir del día de la inoculación se les determinó por las mañanas el peso, y extrayéndoles sangre de la cola se hicieron dosificaciones diarias de:

- a).-Hemoglobina
- b).-Metahemoglobina
- c).-Eritrocitos
- d).-Leucocitos
- e).-Cuenta diferencial de leucocitos
- f).-Eritrocitos parasitados

HEMOGLOBINA: Se determinó por el método fotocolorimétrico de Sheard y Sandford y Peters y Van Slyke. Se hizo una modificación a este método que consistió en tomar solamente la cuarta parte de la muestra y del reactivo. Este método está basado en el color rojizo de la oxihemoglobina, el cual se produce después del tratamiento de la sangre con carbonato sódico, este color obtenido sigue la ley de Lambert o de Beer, que relaciona la cantidad de luz absorbida con la concentración del componente coloreado.

Reactivo:

Carbonato sódico al 0.1%

El resultado se da en gramos por ciento (Navarro Blaya, 1963).

METAHEMOGLOBINA: Se determinó por el método fotocolorimétrico de Evelyn y Malloy, y también en este caso se modificó la técnica al tomar la cuarta parte de la muestra y del reactivo. El fun-

damento del método es la combinación de la hemoglobina y la metahemoglobina con el cianuro potásico, produciendo cianmetahemoglobina, de color rojo naranja, apto para la determinación fotocolorimétrica.

Reactivo:

Cianuro potásico al 5%

El resultado se expresa en gramos por ciento (Navarro Blaya, 1963).

Se hizo el cuanteo microscópico de leucocitos y eritrocitos, empleando las pipetas de Thoma y la cámara de Neubauer en la forma usual.

Para los eritrocitos se empleó la pipeta correspondiente; se hizo la dilución 1:200 v/v de sangre en solución de Hayem (Helman et al., 1972) y se obtuvo la cifra por mmc de sangre.

Solución de Hayem:

Cloruro de sodio	1.0 g
Sulfato de sodio.10 H ₂ O	5.0 g
Cloruro mercúrico	0.5 g
Agua destilada c.b.p.	200.0 ml

Para los leucocitos se utilizó la pipeta apropiada; se hizo la dilución 1:20 v/v de sangre en solución de Türk (Helman et al., 1972) y el resultado se obtuvo como leucocitos/mmc de sangre.

Solución de Türk:

Acido acético 3 a 5 ml
Agua destilada c.b.p. 100 ml

La cuenta diferencial de leucocitos, así como la evolución de la parasitemia, se determinaron en extensiones de sangre fijadas con alcohol metílico absoluto y teñidas con colorante de Giemsa (2 gotas de la solución concentrada de Giemsa por ml de agua corriente de la red, que es ligeramente alcalina) durante 60 minutos, para ser estudiadas después al microscopio con objetivo de inmersión y ocular 10 X. La cuenta diferencial se expresa en por ciento y los eritrocitos parasitados por 1 000 células rojas.

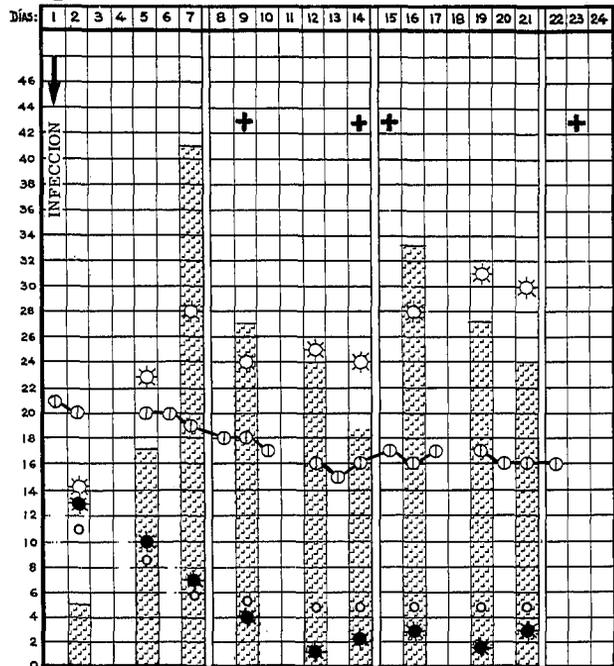
Los resultados obtenidos de cada ratón se graficaron en papel milimétrico, posteriormente se hicieron los promedios de los ratones de cada lote para que los resultados fueran más representativos y se graficaron, utilizando el sistema de líneas continuas y barras.

RESULTADOS
(GRAFICAS)

INFECCION EXPERIMENTAL DE RATONES BLANCOS CON PLASMODIUM BERGHEI YOELII, UTILIZANDO
DOS INOCULOS DIFERENTES

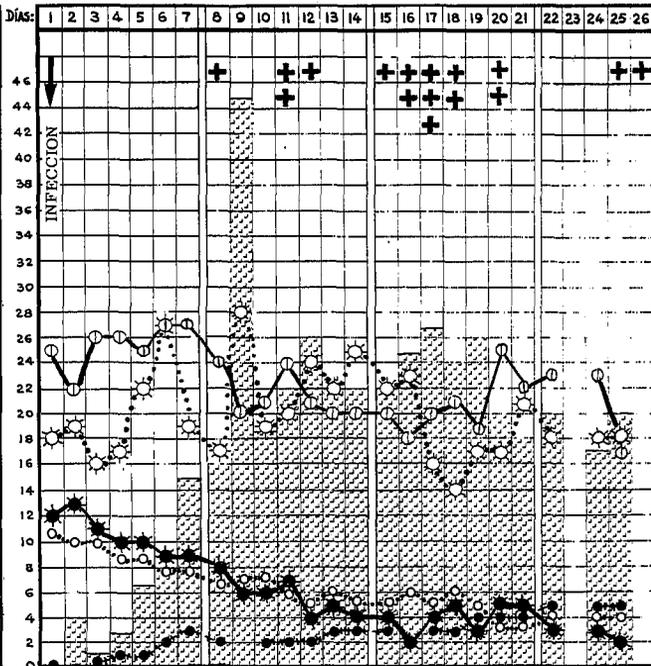
1A

CUATRO RATONES INOCULADOS CON 1 000 000
DE ERITROCITOS PARASITADOS C/U



DIECISEIS RATONES INOCULADOS CON 1000
ERITROCITOS PARASITADOS C/U

1B



Eritrocitos parasitados %
 Eritrocitos en millones por mmc
 Hemoglobina en gramos por mmc

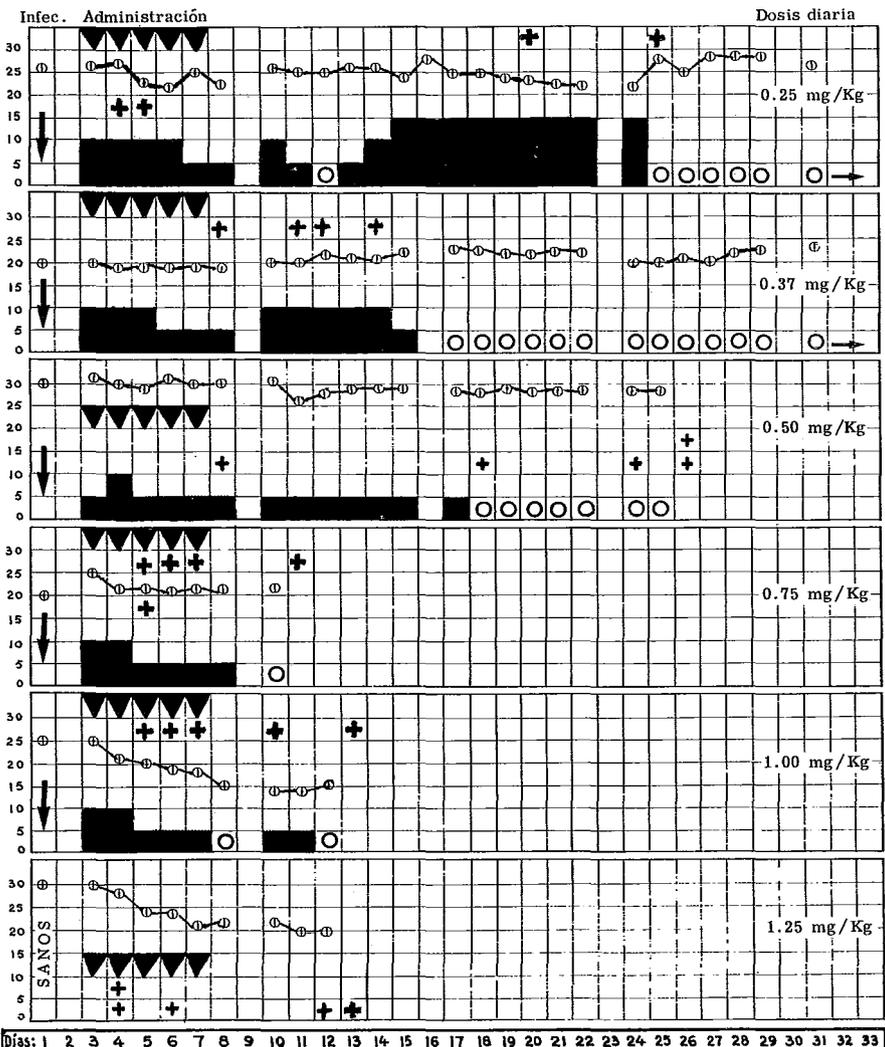
Peso en gramos
 Leucocitos en miles por mmc
 Metahemoglobina en gramos %

+ Muerte de un ratón

DARAPRIM

2

RESULTADOS OBTENIDOS (EN PROMEDIOS) AL ADMINISTRAR "DARAPRIM" DURANTE CINCO DIAS CONSECUTIVOS . EN LAS DOSIS DIARIAS QUE SE INDICAN, A CINCO LOTES DE RATONES BLANCOS (5 ANIMALES EN CADA UNO) INFECTADOS CON *Plasmodium berghei yoelii*. Y A OTRO LOTE DE 5 RATONES SANOS



1-10

11-100

101 - 1000

Número de eritrocitos parasitados por mil

Sin parásitos ○

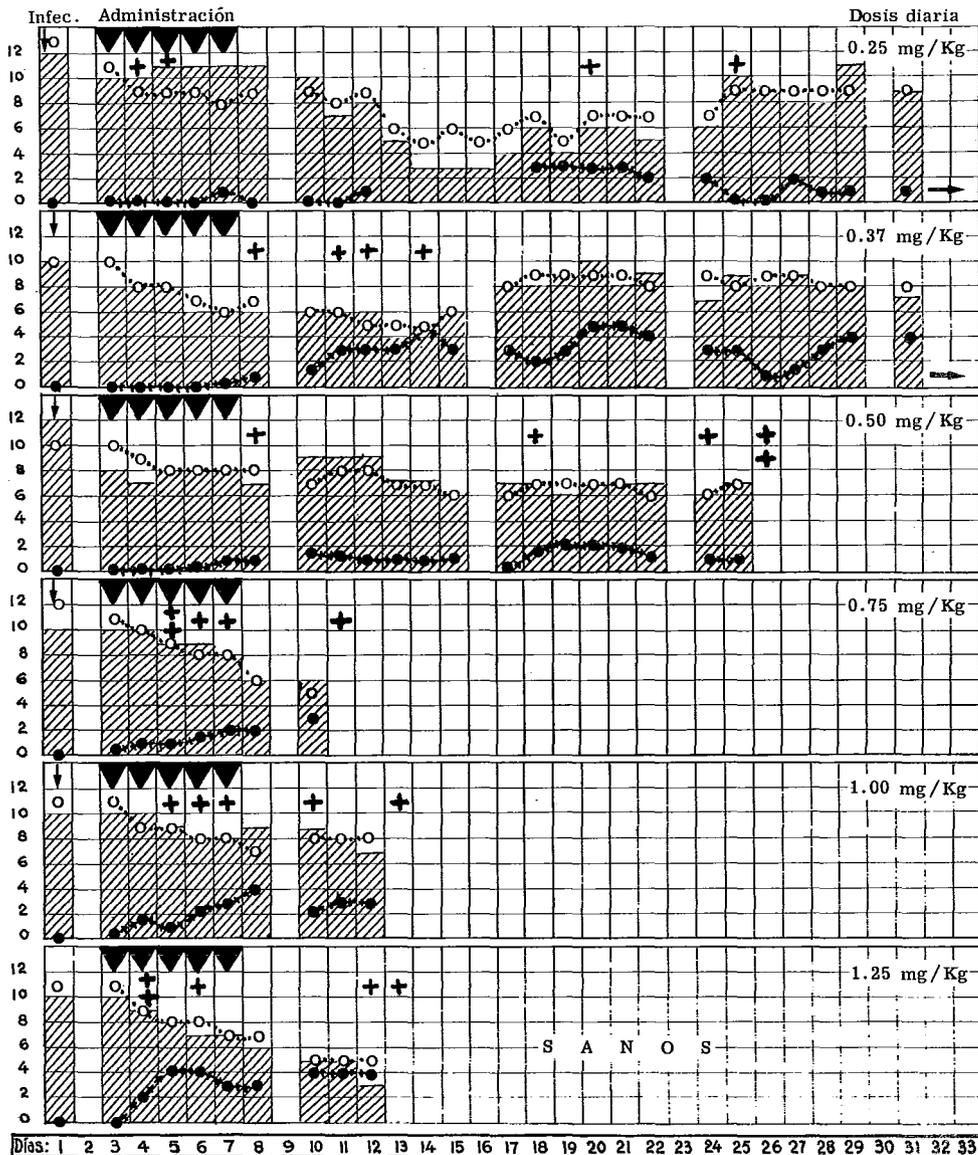
Peso en g —○—○—

Muerte de un ratón +

DARAPRIM

2A

VARIACION (EN PROMEDIOS) DEL NUMERO DE ERITROCITOS POR mmc, HEMOGLOBINA EN g% Y METAHEMOGLOBINA EN g%, EN LOS MISMOS LOTES DE RATONES DE LA GRAFICA 2

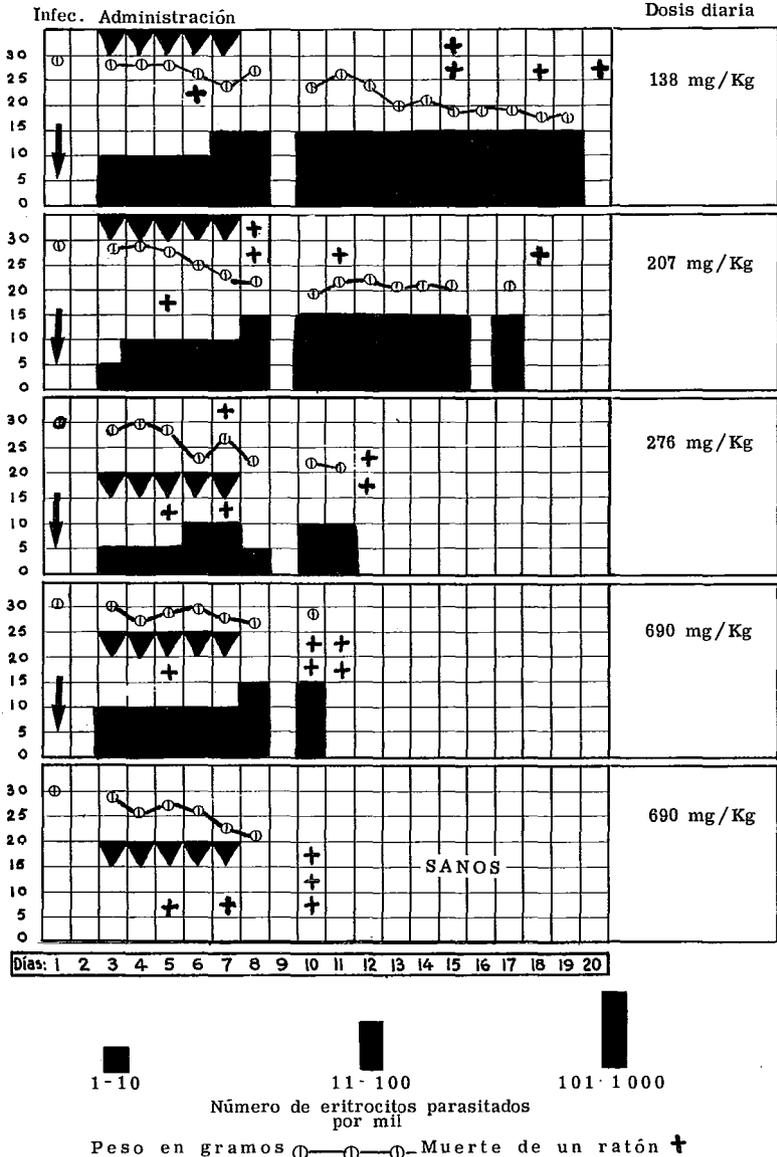


Eritrocitos en millones por mmc  Hemoglobina en gramos % ○●○●○●○●○●
 Muerte de un ratón  Metahemoglobina en g % +●+●+●+●+●+●

PAMOATO I

3

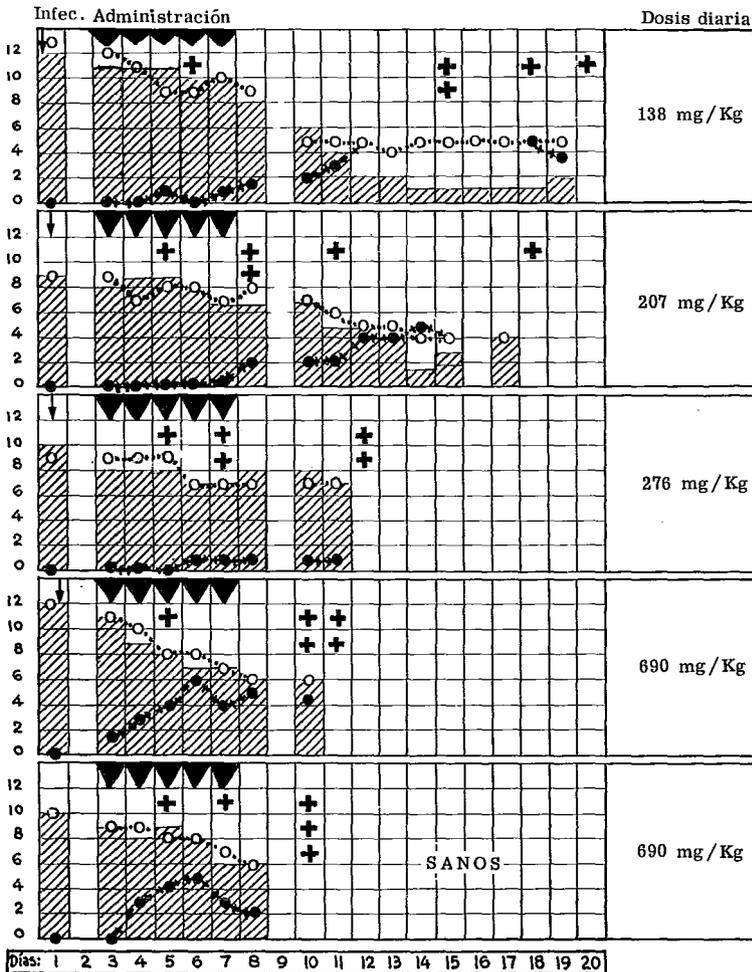
RESULTADOS OBTENIDOS (EN PROMEDIOS) AL ADMINISTRAR "PAMOATO I" DURANTE CINCO DIAS CONSECUTIVOS , EN LAS DOSIS DIARIAS QUE SE INDICAN, A CINCO LOTES DE RATONES BLANCOS (5 ANIMALES EN CADA UNO) INFECTADOS CON *Plasmodium berghei yoelii*, Y A OTRO LOTE DE 5 RATONES SANOS



PAMOATO I

3A

VARIACION (EN PROMEDIOS) DEL NUMERO DE ERITROCITOS POR mmc,
HEMOGLOBINA EN g% Y METAHEMOGLOBINA EN g%, EN LOS MISMOS
LOTES DE RATONES DE LA GRAFICA 3



Eritrocitos en millones por mmc

Hemoglobina en gramos %

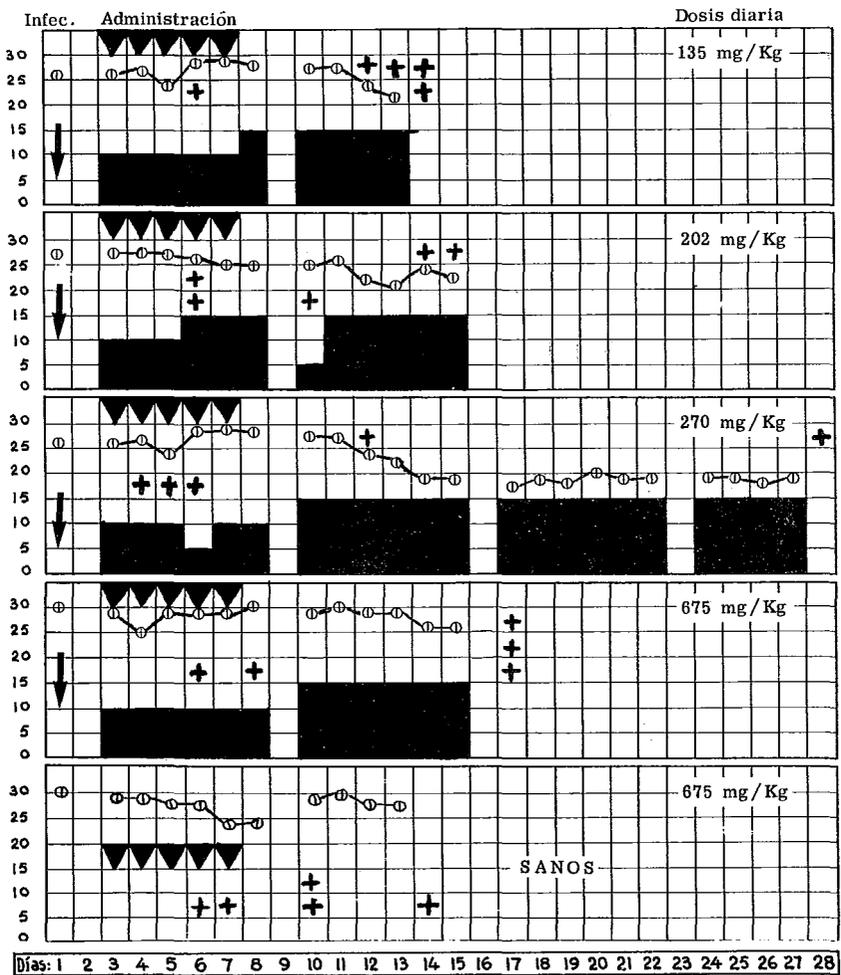
Metahemoglobina en g %

Muerte de un ratón

PAMOATO II

4

RESULTADOS OBTENIDOS (EN PROMEDIOS) AL ADMINISTRAR " PAMOATO II " DURANTE CINCO DIAS CONSECUTIVOS . EN LAS DOSIS DIARIAS QUE SE INDI- CAN, A CINCO LOTES DE RATONES BLANCOS (5 ANIMALES EN CADA UNO) INFECTADOS CON *Plasmodium berghei yoelii*, Y A OTRO LOTE DE 5 RATONES SANOS

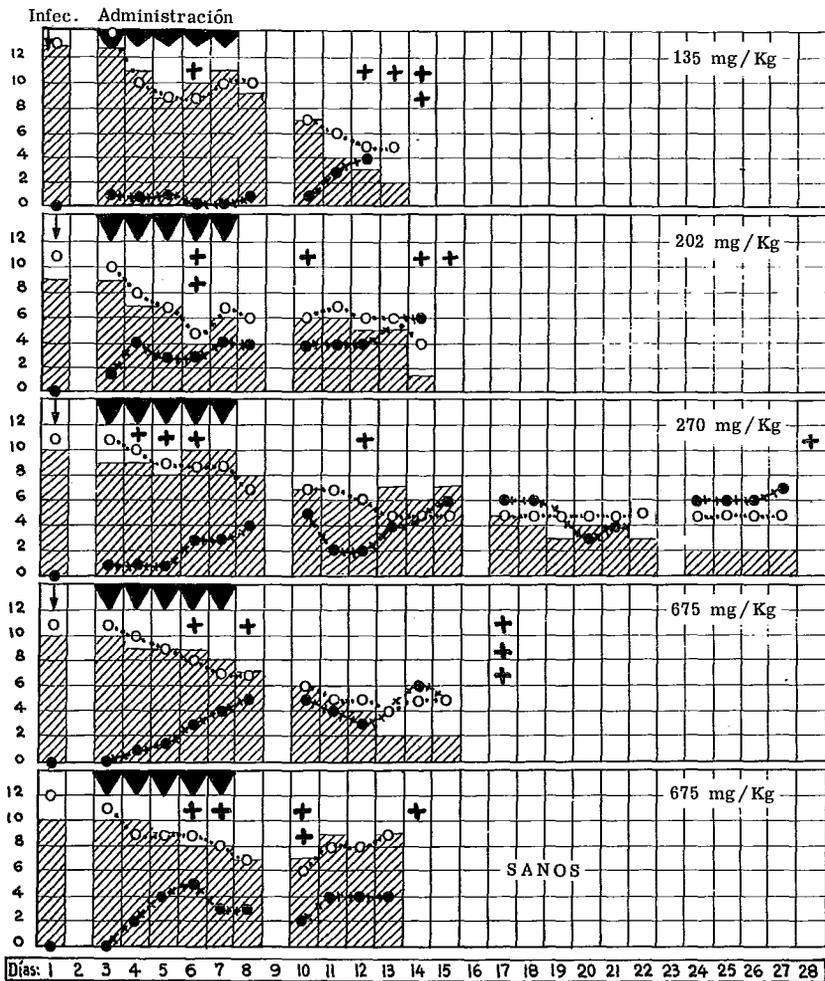


1 - 10
 11 - 100
 101 - 1000
 Número de eritrocitos parasitados por mil
 Peso en gramos \bigcirc — \bigcirc — \bigcirc Muerte de un ratón +

PAMOATO II

4A

VARIACION (EN PROMEDIOS) DEL NUMERO DE ERITROCITOS POR mmc,
HEMOGLOBINA EN g % Y METAHEMOGLOBINA EN g %, EN LOS MISMOS
LOTES DE RATONES DE LA GRAFICA 4



Eritrocitos en millones por mmc  ... o...o... Hemoglobina en gramos %
Muerte de un ratón + ++ ●+●++ Metahemoglobina en g %

D I S C U S I O N

Infección de ratones con P.berghei.

Las gráficas 1A y 1B muestran los siguientes datos promedio: cifra de eritrocitos parasitados en %, número de leucocitos por mmc, peso en g, número de eritrocitos por mmc, hemoglobina en g% y metahemoglobina en g%, en dos lotes de ratones blancos con diferentes inóculos (1 000 000 y 1 000 eritrocitos parasitados por Plasmodium berghei yoelii).

Patencia de la infección.

Por lo que respecta al porciento de eritrocitos parasitados, en ambos casos la patencia de infección se presentó al siguiente día de la inoculación, pero se pensó que para el trabajo que íbamos a efectuar lo más conveniente era inocular 1 000 eritrocitos parasitados, ya que la evolución de la parasitemia fué más lenta en los primeros días, lo que era preferible para el estudio del efecto de los productos presuntos antipalúdicos, que siempre se administraron al segundo día de la inoculación.

Comparando estas gráficas, se aprecia en la gráfica 1A que al siguiente día de la inoculación hay un 5.1% de eritrocitos parasitados, alcanzando su número máximo al 7° día con 41.9%, el cual va descendiendo en los siguientes, llegando a 18.6% al 14° día; al 15° ya habían muerto tres ratones, apareciendo al día siguiente una recrudescencia en el único ratón vivo, en el que aumentaron los eritrocitos parasitados hasta 33.5%, aunque posteriormente volvieron a descender, muriendo el ratón en el 23° día, seguramente con parasitemia patente, aunque no pudimos determinarla por

haber muerto el animal durante la noche anterior.

En la gráfica 1B, al siguiente día de la inoculación hay un 3.6% de eritrocitos parasitados, alcanzando la cifra máxima al 9° día con 45.4%; posteriormente descendieron y se observa una recrudescencia en el 17° día; del 15° al 20° día es donde se produjo el mayor número de muertes; el número de eritrocitos parasitados disminuyó aún más, muriendo en el 26° día el último ratón con 22.0% de eritrocitos parasitados.

Leucocitos.

Hubo aumentos que guardan relación con el número de parásitos. Hay que hacer notar que en el 2° y 1° día de la experiencia, en las gráficas 1A y 1B, respectivamente; se registraron valores muy altos, entre 14 000 y 18 000 leucocitos por mmc, siendo las cifras normales de 9 a 11 000.

En la gráfica 1A se aprecia que los leucocitos aumentaron hasta 31 200 por mmc en el 19° día y en la gráfica 1B hasta 28 000 al 9° día, indicando estos datos una clara respuesta del huésped frente al parásito.

Peso.

En ambas gráficas sólo se aprecian ligeras variaciones en el peso de los animales, posiblemente por ser adultos jóvenes que aún estaban creciendo; sin embargo, es perceptible un descenso concorde con la evolución de la enfermedad. En los de la gráfica 1A, el 1° día el peso promedio era de 21.2 g, siendo en el 13° día cuando se observó el peso menor con 15.1 g, cifra obtenida antes de

presentarse la recrudescencia; en los últimos días varió entre 16 y 17 g.

En la gráfica 1B el peso promedio fué de 24.6 g, aumentando a 27 g al 7° día, o sea dos días antes de que los eritrocitos parasitados alcanzaran su cifra máxima, y descendió hasta 16.9 g el último día.

Eritrocitos.

Con ambos inóculos se presenta una notable anemia de tipo oligocitémico hipocrómico; con el inóculo de un millón de eritrocitos parasitados, los eritrocitos variaron de 11 400 000 hasta 1 500 000 por mmc al 12° día, y al infectar los ratones con mil eritrocitos parasitados, el descenso fué de 12 800 000 hasta 1 800 000 eritrocitos por mmc en el 25° día.

Hemoglobina.

Disminuye paralelamente al número de eritrocitos. Esto puede ser debido al elevado número de parásitos existentes en los ratones y a que éstos se sangraron diariamente para obtener los datos hematológicos y parasitarios correspondientes a la experiencia que llevamos a cabo.

En ambos casos la hemoglobina descendió de 11 a 4.7 y 4.0 g%.

Metahemoglobina.

Sólo obtuvimos estos datos en los ratones inoculados con 1 000 eritrocitos parasitados, observando una metahemoglobinemia que, en los últimos días, alcanzó cifras hasta de 4.9 g%.

DARAPRIM

Las gráficas 2 y 2A corresponden a los datos obtenidos cuando se administró Daraprim a diferentes dosis.

Cuando fué administrada la dosis mínima activa, 0.25 mg/Kg, se observó que los parásitos descendieron un día antes de concluir la administración del medicamento, muriendo dos ratones en los primeros días, probablemente por algún accidente durante la administración. Al 10° día volvieron a aumentar los parásitos, desapareciendo al 12° día. Posteriormente se recrudeció la parasitemia, originando la muerte de dos ratones más, y sólo llegó a sobrevivir un ratón, sin patencia de parásitos desde el 25° día de su infección.

Acerca de las variaciones hematológicas es manifiesta la ane- del 13° al 24° día, concomitante con la presencia de elevado número de parásitos.

Los eritrocitos se abatieron de 12 500 000 hasta 3 000 000 por mmc e igualmente la hemoglobina disminuyó de 13.4 a 5.2 g%.

Del 18° al 21° día se observó metahemoglobinemia que llegó hasta 3.5 g%; después se mantuvo ligeramente aumentada.

Pudimos comprobar que las variaciones hemáticas regresaron a la normalidad en el animal sobreviviente.

Aunque la dosis de 0.25 mg/Kg es considerada por Schneider, Montezín y Dupoux (1954) como la mínima activa para P.berghei, en nuestro caso, trabajando con P.berghei yoelii, mostró muy escasa actividad, en primer lugar por haber sobrevivido sin parásitos un sólo ratón de los cinco tratados y porque los cuatro restantes murieron,

alcanzando en dos de ellos al menos una patencia de infección de 20 a 25 días con elevado número de parásitos.

Con la dosis de 0.37 mg/Kg, disminuyó el número de parásitos cuando faltaban dos días para terminar de dar el medicamento; en estos primeros días murió un ratón. Al 10° día se presentó una ligera recrudescencia donde murieron tres ratones, y, a partir del 17° día los parásitos desaparecieron en un ratón superviviente a la infección, mucho antes que en el caso del aparentemente curado con la dosis de 0.25 mg/Kg.

Con el aumento de la dosis de Daraprim se observó que los parásitos no alcanzaron cifras tan elevadas como en el lote anterior y que la patencia de infección fué mucho más corta (15 días); sin embargo, la efectividad del producto fué muy escasa.

La anemia duró menos tiempo que en los ratones del lote anterior y fué menos intensa, aunque descendieron los eritrocitos de 9 600 000 hasta 4 500 000 por mmc, del mismo modo que la hemoglobina se abatió de 10.0 hasta 4.7 g%.

En este caso la metahemoglobina estuvo más aumentada que en el lote anterior, alcanzando hasta 5.5 g%; aunque, cuando se registró esta cifra ya no había parásitos, y hay que tomar en cuenta que, si bien la parasitemia fué moderada y continua hasta el 15° día, la dosis administrada fué ligeramente mayor de la dosis mínima activa y ésta pudo ser la causa.

Al administrar 0.50 mg/Kg, el nivel de parásitos fué siempre mucho menor que en los lotes precedentes, desapareciendo su patencia

en el 18° día, cuando sólo había muerto un ratón (en el 8° día) y los cuatro ratones restantes murieron cuando ya no tenían parásitos. Esto parece indicar que el medicamento es tóxico, aunque bastante efectivo en la dosis administrada, puesto que sólo se produjo una ligera anemia, los eritrocitos descendieron de 12 000 000 hasta 5 700 000 por mmc, la hemoglobina de 10.0 bajó a 6.2 g% y no hubo gran aumento de metahemoglobina (la cifra máxima obtenida fué de 2.3 g%).

En las dosis de 0.75 mg/Kg y 1.00 mg/Kg, los parásitos disminuyeron a partir del segundo día de tratamiento y llegaron a desaparecer en dos ratones, pero todos murieron entre el 5° y 13° día, registrándose el mayor número de muertes en los tres últimos días de administración del medicamento. A estas dosis el Daraprim parece ser muy tóxico. Las cifras de eritrocitos y de hemoglobina disminuyeron, sin llegar a observarse grandes descensos, ya que los ratones murieron pronto.

La metahemoglobina aumentó a 3.3 y 4.0 g%.

Cuando se administró 1.25 mg/Kg, (dosis quintuple de la mínima activa) a ratones sin inocular, pudo comprobarse la elevada toxicidad del medicamento, puesto que todos los ratones murieron presentando una severa anemia (los eritrocitos descendieron de 10 000 000 hasta 3 500 000 por mmc), la hemoglobina descendió paralelamente de 11.0 a 4.7 g% y la metahemoglobinemia alcanzó cifras de 4.0 g% desde el 3° día de administración del Daraprim.

PAMOATO I

Las gráficas 3 y 3A corresponden a la experimentación con este producto en diferentes dosis.

Al administrar 138 mg/Kg (presunta mínima activa calculada) el número de parásitos se mantuvo más o menos constante hasta el cuarto día de tratamiento, muriendo un ratón en los primeros días, probablemente por accidente.

A partir del último día de administrar el Pamoato I aumentaron considerablemente los parásitos, sin llegar en ningún momento a desaparecer y muriendo los cuatro ratones restantes con parasitemia elevada entre los días 15° y 20°.

Debido a la gran cantidad de parásitos, y quizás también en parte a cierta toxicidad del medicamento, se presentó una anemia muy notable, el número de eritrocitos descendió de 12 000 000 hasta 1 000 000 por mmc y la hemoglobina de 13.4 bajó a 4.0 g%, con una metahemoglobinemia que alcanzó la cifra máxima de 4.9 g% al 18° día.

Con una dosis mayor (207 mg/Kg), los resultados fueron prácticamente iguales.

Al dar 276 mg/Kg, apareció una probable acción antiparasitaria, pues los parásitos sólo aumentaron a partir del cuarto día de administrar el producto y nunca llegaron a cifras superiores a 100 los eritrocitos parasitados por 1 000; pero, durante este tiempo murieron tres ratones. Sin embargo, para el día 12° habían muerto todos los animales inoculados, cuyo peso en promedio fué siempre en

descenso, igual que la hemoglobina, al mismo tiempo que la metahemoglobina aumentaba en ellos, en forma similar a los del lote anterior, sin sobrepasar la cifra de 1.4 g%, que se mantuvo desde el 6° día hasta la muerte de todos.

Los resultados de este lote parecen indicar mayor toxicidad del producto en la dosis empleada.

Con la dosis de 690 mg/Kg, se hicieron dos lotes, uno inoculado y el otro con ratones sanos.

Todos los ratones murieron en diez u once días, tanto en el lote parasitado como en el sin parasitar.

El número de eritrocitos descendió continuamente hasta 6 000 000 por mmc y la hemoglobina hasta 6.2 g%. Por lo que hace a la metahemoglobinemia, en el 6° día, en ambos casos, se obtuvo la cifra máxima, en el primero con 6.1 g% y en el segundo con 4.7 g%.

Indudablemente la dosis de 690 mg/Kg, (cinco veces mayor que la que se había calculado como mínima activa probable), fué tóxica en exceso e inactiva para eliminar los parásitos de la sangre.

PAMOATO II

Las gráficas 4 y 4A muestran los resultados de su administración en diferentes dosis.

Con las dosis de 135 y 202 mg/Kg, durante la administración del producto también murieron ratones al día siguiente de concluir o antes de terminar de dar todas las dosis y los parásitos aumentaron considerablemente. Todos los animales presentaron una parasitemia elevada al morir y se produjo en ellos una anemia severa y

progresiva (hasta 1 000 000 de eritrocitos por mmc).

La hemoglobina disminuyó de 15.6 a 4.7 g% y la metahemoglobinemia en el primer lote empezó a elevarse a partir del 11° día hasta alcanzar una cifra máxima de 4.3 g% en el 12°, mientras que en el lote con dosis de 202 mg/Kg la elevación de metahemoglobina fué notoria desde el día 4°, sin descender apreciablemente después.

Las dosis de 270 y de 675 mg/Kg dieron resultados muy semejantes, con la excepción de que un ratón del primero de estos lotes sobrevivió hasta el día 28°.

Todos los animales inoculados y tratados murieron con parasitemia elevada y las alteraciones en el número de eritrocitos, hemoglobina y metahemoglobina fueron similares o más acusadas que en los lotes anteriores.

Con ambas dosis se apreció al principio de la experiencia que se mantuvo el número de parásitos, (quizás, esto sea debido a que el Pamoato II tiene configuración química semejante a la Pamaquina, siendo este producto buen esquizonticida y por eso se presente esta débil acción), elevándose el número de parásitos posteriormente.

En los cinco ratones sanos que se trataron con 675 mg/Kg pudo comprobarse la toxicidad del producto, pues los parámetros considerados en ellos se modificaron casi del mismo modo que en los ratones infectados del lote anterior.

En todos los ratones infectados se observó una leucocitosis progresiva con neutropenia y monocitosis, abundando las células jóvenes, linfoblastos y células reticuloendoteliales.

La anemia y metahemoglobinemia que observamos en estos casos son debidas, al parecer, a la acción conjunta o por separado de los parásitos y de los medicamentos.

El parásito, al destruir grandes cantidades de hemoglobina, causa al huésped una anemia, a más de que en su metabolismo transforma parte de la hemoglobina en metahemoglobina.

Por parte del medicamento, además de la anemia causada, es posible que se transforme en el organismo en un metabolito, según indicaron Goodwin (1952) y Greenberg et al., (1952) cuando se refirieron al Daraprim, el cual actúa como oxidante, transformando la hemoglobina en metahemoglobina.

CONCLUSIONES

La cepa de Plasmodium berghei yoelii fué sumamente virulenta para los ratones que infectamos y siempre la patencia de estos parásitos pudo ser observada en extensiones de sangre al segundo día de la infección, que fué progresiva y alcanzó elevadas cifras de eritrocitos parasitados.

Cuando administramos 0.25 mg/Kg de Daraprim (dosis mínima activa para P.berghei) en el caso de P.berghei yoelii mostró escasa actividad.

Sin embargo, a la dosis 0.50 mg/Kg se observó que el producto fué efectivo aunque produjo toxicidad.

Con dosis mayores de este medicamento se pudo comprobar que resultó muy tóxico.

Con 276 mg/Kg de Pamoato I, obtuvimos aparentemente una pequeña acción en contra de los parásitos, manteniéndolos sin elevación en los primeros días, aunque después las cifras de eritrocitos parasitados aumentaron, pero no alcanzaron cifras muy elevadas, y se apreció también toxicidad.

Con dosis menores y mayores a ésta, fué inactivo y muy tóxico.

Con Pamoato II en las dosis de 270 y 675 mg/Kg, pensamos en los primeros días que este producto pudiera tener acción esquizonticida, ya que mantenía el número de parásitos, pero posteriormente se elevaron.

En todas las dosis administradas se comprobó la toxicidad del Pamoato II.

REFERENCIAS
BIBLIOGRAFICAS

APARICIO GARRIDO, J. y C. RAMOS MORITAN

1952. El Plasmodium berghei Vincke y Lips, 1948, La Medicina Colonial, XIX, (5), 425-438.

BALDI, A.

1950. Sul quadro anemico nell'infezione de Plasmodium berghei Vincke e Lips. Riv. di Malaristol., XXIX, 349.

CORRADETTI, A. y F. VEROLINI

1951. Relazioni tra Plasmodium berghei e cellule de lla serie rossa durante l'attaco primario nel ratto albino. Rend. Ist. Sup. di San., XIV, 384.

DE LA JARA, F.

1955. Acción del Daraprim y la Primaquina asociados, sobre infecciones experimentales con P. gallinaceum. Acta. Zool. Mex., I, (5), 1.

DIAZ PARDO, J. A.

1955. Determinación de metahemoglobina en ratas normales y parasitadas empleando dosis tóxicas de medicamentos. (Tesis profesional. Esc. Nac. de Ciencias Biológicas, I.P.N., México, D.F.; 32 págs.).

EMERSON, C. P., T. H. HAN y W. B. CASTLE

1941. J. Lab. Clin. Med., 20, 451. (Citado en González Estopier, 1966).

1949. En Potthoff, c.p., The preservation of the formed elements of the blood; 114, Amer. Natl. Red. Cross.
(Citado en González Estopier, 1966).

FALCO, E.A., G.H. HITCHINGS, P.B. RUSSELL y H. VANDERWERFF
1949. Nature, CLXIV; 107. (Citado en Díaz Pardo, 1955).

GALLIARD, H. y J. LAPIERRE
1951. Infection á Plasmodium berghei chez le rat blanc.
Bull. de la Soc. de Path. Exot., XLIV; 185.

GHOSH, B.M. y M.C. NATH
1934. Records Malaria Survey India, IV; 321. (Citado en Díaz Pardo, 1955).

GONZALEZ ESTOPIER, J.
1966. Investigación de la posible acción terapéutica de dos derivados de la 6-metoxi-8-amino-quinolina sobre ratones blancos infectados con Plasmodium berghei. (Tesis profesional. Esc. Nac. de Ciencias Biológicas, I.P.N., México, D.F., 40 págs.).

GOODWIN, L.G.
1952. Tr. R. S. Trop. Med. & Hyg., XLVI; 485. (Citado en Díaz Pardo, 1955).

GREENBERG, J., E.S. JOSEPHSON y D.J. TAYLOR
1952. Fed. Proc., XI; 351. (Citado en Díaz Pardo, 1955).

HELMAN, LINDBERG et al.

1972. Medical technology and board examination review.
7a. edición. Vol. I. A. Berckley Scientific Publica-
tion.

LANDAU, I.

1965. Description de Plasmodium chabaud n. sp. parasite
de rongeurs africains. C. R. Acad. Sc. Paris, 260,
(Groupe 12); 3758-3761.

LANDAU, I. y A. CHABAUD

1965. Infection naturelle par deux Plasmodium rongeur
Thamnomys rutilans en République Centreafricaine.
C. R. Acad. Sc. Paris, 261, (Groupe 12); 230-232.

LANDAU, I. y R. KILLICK-KENDRICK

1966. Rodent Plasmodia of the République Centreafricaine.
The sporogony and tissue stages of Plasmodium cha-
baud and P. berghei yoelii. Tran. R. Soc. Trop. Med.
Hyg., 60, (5); 633-648.

LYNCH, M. J., S. S. RAPHAEL et al.

1972. Métodos de laboratorio. 2a. edición. 1522 págs. Edi-
torial Interamericana. México.

MEYER, L. M., D. R. NORTON, A. CASCESE, J. RUTSKY, A. SAWITSKY y C. BOCK

1949. Am. J. Med. Sc., CCXVIII; 197. (Citado en Díaz Pardo,
1955).

MORRISON, D.B. y H.A. JESKEY

1948. J. Nat. Malar. Soc., VII; 259. (Citado en Díaz Pardo, 1955).

MOULDER, J.W. y E.A. EVANS Jr.

1946. J. Biol. Chem., CLXIV; 145. (Citado en Díaz Pardo, 1955).

NAVARRO, B.S.

1963. Técnicas fotocolorimétricas. 2a. edición. 351-354 págs. Editorial Martínez de Murguía. Madrid.

PETERS, F.

1963. Cahiers de la Maboké, 1; p. 63. (Citado en Tovar González, 1971).

RAFFAELE, G. y A. BALDI

1950. Sulla morfologia e sulla trasmissione de P. berghei Vincke e Lips. Riv. di Malar. e Trop., XXIX; 341.

RAMAKRISHNAN, S.P. y S. PRAKASH

1950. Studies on Plasmodium berghei n. sp. Vincke and Lips, 1948. II Morphology, periodicity and pathogenicity in blood induced infections in mice, rat and garden squirrels. Ind. J. Malar. Trop., IV; 369-375.

RODHAIN, I., M. WANSON y I.H. VINCKE

1955. Ann. Soc. Bel. Méd. Trop., 35; 203. (Citado en Tovar González, 1971).

SANDDOVAL, A.M.

1957. Quimioterapia del paludismo. Medicina, XXXVII, (775);
289-308.

SCHNEIDER, J., P. DECOURT y G. MONTEZIN

1949. Sur l'utilisation d'un nouveau plasmodium (P. berghei)
pour l'étude et la recherche de médicaments anti-
paludiques. Bull. Soc. Path. Exot., XLII; 449-452.

SCHNEIDER, J. y G. MONTEZIN

1950. Technique d'utilisation au Laboratoire de la nou-
velle souche de Pl. berghei pour l'étude et la re-
cherche de médicaments antipaludiques. Bull. Soc.
Path. Exot., XLIII; 144.

SCHNEIDER, J., G. MONTEZIN y R. DUPOUX

1954. Bull. Soc. Path. Exot., XLVII; 791. (Citado en De la
Jara, 1955).

TOVAR GONZALEZ, M.P.

1971. Alteraciones hemáticas observadas en ratones blan-
cos inoculados experimentalmente con Plasmodium
berghei yoelii. (Tesis profesional. Facultad de Qui-
mica, U.N.A.M., México, D.F.; 40 págs.).

VANDERBERG, J.P. y M. YOELI

1966. Effects of temperature on sporogonic development
of Plasmodium berghei. J. Parasitology, 52, (3); 559-
564.

VINCKE, I.H. y M.LIPS

1948. Un nouveau Plasmodium d'un rongeur sauvage du Congo, Plasmodium berghei n. sp. Ann. Soc. Bel. Med. Trop., 28; 94-104.

VINCKE, I.H. y M.A.VAN den BULCKE

1949. Reaction de Rattus rattus vis-à-vis du Plasmodium berghei Vincke et Lips. Ann. Soc. Bel. Med. Trop., 4; 537.

WINTROBE, M.M.

1969. Hematología clínica. 3a. edición. 976 págs. Editorial Inter-médica. Buenos Aires.

YOELI, M.

1965. Studies on Plasmodium berghei in nature and under experimental conditions. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 59; 255-271.

YOELI, M. y H.MOST

1960. The biology of a newly isolated species Plasmodium berghei in a rodent host and in experimental mosquito vectors. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 54, (6); 549-555.

Esta Tesis se Imprimió en Noviembre de 1973
empleando el sistema de reproducción Xerox-Offset,
en los Talleres de Impresos Offsali-G, S. A., Av.
Colonia del Valle No. 531 (Esq. Adolfo Prieto),
Tel. 523-21-05 Oficinas Mier y Pesado 349-A
Tel. 523-03-33 México 12, D. F.