

Nº 90
2FN.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"DETERMINACION DE TOXICIDAD AGUDA DE LA CASIOPEINA EN PERROS"

T E S I S

Que para obtener el Título de MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
p r e s e n t a

EUSEBIO GOMEZ DUQUE



Asesores: Dr. Héctor Sumano López
Biól. Ma. Isabel Gracia Mora

México, D. F.

1992

TRABAJOS CON
FALTA DE CR. GEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

CONTENIDO

	<u>PAGINA</u>
I	RESUMEN
II	INTRODUCCION.....1
	CUADRO 1.....4
	CUADRO 2.....5
	CUADRO 3.....6
III	ANTECEDENTES.....8
IV	JUSTIFICACION.....9
	CUADRO 4.....11
V	HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....13
VI	MATERIAL Y REACTIVOS.....14
VII	METODOLOGIA.....16
VIII	RESULTADOS.....18
	CUADRO 5.....19
	CUADRO 6.....20
	CUADRO 7.....36
	CUADRO 8.....37
	HALLAZGOS HISTOPATOLOGICOS (FIGURAS) 38
	HALLAZGOS A LA NECROPSIA (FIGURAS)..64
	SIGNOS CLINICOS (FIGURAS).....70
	CUADRO 9.....77
	CUADRO 10.....78
IX	DISCUSION.....79
X	CONCLUSION.....82
XI	LITERATURA CITADA.....84

RESUMEN

GOMEZ DUQUE, EUSEBIO. "DETERMINACION DE TOXICIDAD AGUDA DE LA CASIOPEINA EN PERROS". (Asesorada por: Dr. Hector Sumano López y Biol. Isabel Gracia Mora).

Dado que en México se han sintetizado los compuestos originales Casiopeína I y derivados y en función que la Casiopeína I ha pasado con éxito las pruebas de cernimiento iniciales exigidas por el "Cancer Chemotherapy National Service Center", se procedió a evaluar su toxicidad aguda en perros sanos, para lo cual se utilizaron 7 perros a los que se administró la mitad de la DL50 en ratones y se evaluaron los efectos tóxicos a nivel clínico, macroscópico e histopatológico. Se encontró que si la dosis (6.43 mg/kg) se administra por vía endovenosa rápida se provoca la muerte debido a insuficiencia pulmonar causada por edema pulmonar y la consecuente hipoxia cerebral, confirmados por histopatología. Mientras que la aplicación por vía endovenosa a goteo lento de la misma dosis es tolerada sin complicaciones aparentes, aunque se observó una muy ligera toxicidad renal detectada por los aumentos en los niveles de creatinina y urea. Se concluye que la toxicidad de la Casiopeína I comparada con otros compuestos de coordinación (compuestos que en su estructura tienen un centro metálico) es relativamente baja y que la dosis letal encontrada en perros es de 6.43 mg/kg cuando la Casiopeína I es aplicada por vía endovenosa rápida. La dosis letal encontrada es equivalente a la 1/2 de la dosis máxima tolerada observada en los experimentos con ratones. Teniendo así que la Casiopeína I es un compuesto muy prometedor y de una alta importancia en la clínica para combatir el cáncer.

INTRODUCCIÓN

El cáncer o neoplasia maligna es un conjunto de enfermedades caracterizadas por la proliferación incontrolada de células que morfológica y funcionalmente son inmaduras y aberrantes, las cuales tienen capacidad para invadir los tejidos adyacentes diseminándose a distancia, dando lugar a lo que se conoce como metástasis (15).

La palabra neoplasia significa literalmente "nuevo crecimiento". La palabra cáncer se ha aplicado para describir a todos los tumores malignos.

Un aspecto importante al hablar de la neoplasia, es mencionar su diferenciación en benignos o malignos. Las neoplasias malignas tienen una velocidad de crecimiento excesivo, progresivo e ilimitado; característica que los distinguen de otros trastornos de crecimiento como serían la hipertrofia y la hiperplasia, en donde existe un límite de crecimiento.

Además la neoplasia maligna es un conglomerado anormal de células con proliferación excesiva desordenada y que persiste a pesar de haber cesado el estímulo inductor. En general las neoplasias son irreversibles e incluyen un cambio intrínseco en la célula afectada y que puede estar representada por mutaciones. Además, se sabe que el crecimiento de éstas células alteradas es autónomo, frente a los mecanismos normales de control del organismo.

Las características que diferencian un tumor benigno de un tumor maligno son las siguientes:

Un tumor benigno permanece localizado en el área donde se origina, no penetran los tejidos adyacentes (invasión) y tampoco se diseminan a sitios distantes (metastásis). Los tumores benignos morfológicamente se parecen

más al tejido de origen. Por el contrario los tumores malignos o cáncer tienen la propiedad de invadir tejidos contiguos y de producir metástasis a distancia.

Otra característica importante es que los tumores benignos por lo general poseen una pseudocápsula o tejido conectivo que marca una diferencia entre el tejido normal y el proliferante. Por el contrario los tumores malignos cuyas células liberan sustancias enzimáticas con las cuales degradan los tejidos adyacentes, lo que les permite invadir estructuras anatómicas vecinas.

Es por estas razones, que un tumor o neoplasia benigna puede ser resecado por cirugía conservadora, y a diferencia de las neoplasias malignas, el manejo terapéutico y quirúrgico tiene que ser más radical y/o consolidarse con el manejo tradicional, quimioterapia y/o radioterapia. (21).

El cáncer ha existido en todos los tiempos y no sólo afecta a la especie humana, también los vegetales y los animales padecen dicho mal.

Las causas que dan origen a este padecimiento continúan siendo desconocidas, pero existen muchos factores que sólo o combinados se consideran como posibles causantes del cáncer. Como por ejemplo, la exposición continua y prolongada a algunas sustancias químicas, traumas repetidos, la asociación con cierto tipo de virus oncogénicos la predisposición genética y el proceso de envejecimiento (2).

En México, en los años anteriores los problemas infecciosos eran la mayor amenaza sobre todo para la población infantil, hoy en día este problema ha disminuido. Actualmente el cáncer ocupa el segundo lugar en las listas de causa de muerte en la población después de las enfermedades del corazón y circulatorias (4).

Hoy una de cada cinco muertes es causada por el cáncer (18). En México aún no se genera un medicamento de aplicación universal. Esto se debe a que la investigación en ciencias básicas es escasa y la línea de farmacéuticos no es la excepción. Como muestra de la tarea que debe iniciar nuestro país, baste mencionar que algunas compañías requieren de 8 a 10 años y del análisis de más de 100,000 moléculas para generar un medicamento (22).

Se debe incidir de manera inmediata en la investigación de la quimioterapia del cáncer, tanto por el precio de los quimioterapéuticos cancerosos como por la necesidad de encontrar agentes de mayor eficacia y menor toxicidad (5). La tarea de encontrar agentes con actividad antineoplásica obedece al lugar preponderante que está ocupando el conjunto de estas enfermedades en la sociedad moderna, tanto por el aumento de los contaminantes ambientales como por el aumento en la esperanza de vida (19). En el Cuadro 1 se presenta una estadística que resalta la relevancia del cáncer.

Principales Causas de Mortalidad Humana
en el D.F.
1983

No.	Causas	Defunciones	Tasa	%
1	Enfermedades del Corazón	7129	75	14.6
2	Tumores Malignos	4382	46.1	9
3	Accidentes	4024	42.3	8.2
4	Diabetes Mellitus	3631	38.2	7.4
5	Ciertas Afecciones Originadas en el Periodo Perinatal	3563	37.5	7.3
6	Influenza y Neumonía	3245	34.1	6.6
7	Cirrosis y otras Enfermedades Crónicas del Hígado	3056	32.1	6.2
8	Enfermedad Cerebro vascular	2298	24.2	4.7
9	Enteritis y otras enfermedades diarréicas	2201	22.1	4.3
10	Bronquitis, Enfisema y Asma	1519	16	3.1
11	Anomalías Congénitas	1358	14.3	2.8
12	Nefritis, Síndrome Nefrítico y Nefrosis	1224	12.9	2.5
13	Homicidio y Lesiones Infecciosas intencionalmente por otras Personas	1212	12.7	2.5
	TODAS LAS DEMAS CAUSAS	10205	107.3	20.8
	TOTAL	18947	5.1	100

Fuente: Dirección General de Estadística S.P.P.

CUADRO 1

Existen varios tipos de terapia para el tratamiento del cáncer, el más antiguo es la cirugía, siguiéndole la radioterapia y la quimioterapia. También es frecuente el uso combinado de ellas. Recientemente se han iniciado otros tipos de tratamientos como la inmunoterapia, terapia térmica, crioterapia etc.

La cirugía consiste en la extirpación por métodos quirúrgicos. La radioterapia es el tratamiento de una neoplasia por medio de radiaciones generadas por núcleos atómicos radioactivos, que detienen o erradican las células malignas y la quimioterapia consiste en la administración de compuestos (drogas) que poseen actividad antineoplásica. En el Cuadro 2 se presenta una relación de los tumores curables por la quimioterapia en humanos, mientras que en el Cuadro 3, tenemos la relación de los tumores humanos no curables hasta el momento por la quimioterapia.

TUMORES CURABLES POR LA QUIMIOTERAPIA
(EN HUMANOS)

NIÑOS	ADULTOS
*Leucemia Agudo Linfoblástica	*Coriocarcinoma Uterino
*Tumor Wilms	*Enfermedad de Hodgkin
*Retinoblastoma	*Carcinoma de Testículo
*Enfermedad de Hodgkin	*Carcinoma de Ovario
*Rabdomiosarcoma	*Sarcoma Osteogénico
*Sarcoma de Ewing	*Rabdomiosarcoma
*Tumores Germinales	*Sarcoma de Ewing
*Linfomas	*Leucemia Aguda
*Linfoma de Burkitt	*Cáncer de Pulmón
	*Neuroepiteliomas

CUADRO 2

TUMORES NO CURABLES CON QUIMIOTERAPIA

(EN HUMANOS)

(Excelente Palliación y Calidad de Vida)

CARCINOMA DE VEJIGA	TUMORES DE CABEZA Y CUELLO
LEUCEMIAS CRÓNICAS	CARCINOMA DE ENDOMETRIO
MIELOMA MÚLTIPLE	CARCINOMA SUPRARRENAL
LINFOMAS	MEDULOBLASTOMA
CARCINOMA GÁSTRICO	CARCINOMA DE LA PRÓSTATA
CARCINOMA DE CERVIX	GLIOBLASTOMA
SARCOMAS	CARCINOMA DE MAMA
INSULINOMAS	TUMOR CARCINOIDE

CUADRO 3

La generación de metástasis hace prácticamente imposible el tratamiento de neoplasias por los métodos locales como lo son la cirugía y la radioterapia (17).

El diseño de compuestos con una determinada actividad biológica potencial no es una meta fácil. Para diseñar una droga debe conocerse el mecanismo de acción de la misma y el proceso o la causa de la enfermedad.

En el cáncer debido a que se tiene un conjunto de células en rápido crecimiento se debe atacar a la célula en las fases de replicación para evitar que ésta ocurra (12).

Con el conocimiento que se tiene hasta ahora de compuestos con actividad antineoplásica cuyo mecanismo de acción ha sido estudiado, se puede intentar diseñar compuestos que tengan dos cualidades fundamentales:

- a) que evite la replicación de la célula maligna y
- b) que sean menos tóxicos que los agentes ya conocidos.

Este último aspecto es uno de los más delicados, ya que la quimioterapia es una terapia de tipo generalizado y los agentes antineoplásicos son efectivos sobre células en replicación rápida, características que comparten varias células sanas. En los organismos se tienen células en proceso de reproducción que no son malignas y que son afectadas por dichos agentes, como las células del cabello, de las uñas y de la médula ósea.

Por lo tanto un agente con actividad anticancerígena potencial debe de ser lo menos tóxico posible. En los últimos años, éste ha sido uno de los aspectos que más ha preocupado. Así que el reto a vencer es desarrollar antineoplásicos efectivos con menor grado de toxicidad.

En la síntesis de fármacos, se requiere tener una idea del mecanismo de acción de la droga y un amplio conocimiento de las propiedades del compuesto, con actividad biológica potencial. A pesar de esto un gran número de compuestos diseñados para presentar actividad no cumplen dicho cometido.

Basta decir que de cada 15,000 compuestos sintéticos y 400 aislados de fuentes naturales, sólo una cantidad entre los 500 y 1000 compuestos pasan las pruebas de actividad anticancerígena (cifras por año informadas por el programa de cernimiento del National Cancer Institute, USA).

Los compuestos que pasan este esquema deben someterse a los pasos siguientes: estudios de toxicología y farmacología, la producción, formulación y estudio farmacéutico y al protocolo clínico en sus fases I, II, III, para lograr llegar a la práctica médica.

ANTECEDENTES.

A mediados de los años sesenta se descubre, por azar, la actividad bacteriostática de un compuesto metálico. Rosenberg realizando un experimento electrolítico con *Escherichia coli* en un medio de cultivo y utilizando un electrodo de platino, observa la falta de crecimiento de los organismos con el paso de corriente (1965). Un análisis químico del medio de reacción reveló la presencia de un compuesto de platino, el *cis*-diamino-dicloro-platino (II). Dicho compuesto había sido preparado a finales del siglo XVIII. Se comprueba su actividad antitumoral en 1969 y se llevan a cabo los estudios clínicos en 1972, es aprobado comercialmente en 1976. Este descubrimiento y la observación de la capacidad bacteriostática de algunos derivados de hierro, cobalto, y rutenio abren una nueva era en el desarrollo de compuestos antineoplásicos (1974). Los compuestos de coordinación y entre ellos los organometálicos han incrementado las filas de los compuestos con actividad antineoplásica potencial.

Los análogos del cisplatino presentan actividad citostática pero una alta toxicidad (1976).

Keller ha generado una serie de bisdicetonatos de titanio (IV) y su homólogos de circonio y hafnio (1982). Köpf-Maler ha generado derivados ciclopentadienilos de titanio, vanadio, hierro y molibdeno con promisoría actividad citostática y antineoplásica (1989).

Estudios sobre el mecanismo de acción del cisplatino proponen que es un agente alquilante e intercalante y que se enlaza directamente con el nitrógeno 7 de las guaninas de las cadenas del ADN.

JUSTIFICACIÓN

En México la necesidad de importación de quimioterapéuticos y su costo elevado, hace que el desarrollo de productos antineoplásicos adquiera prioridad. Aunado a esto, en México las causas de muerte de la población han presentado cambios que merecen ser analizados para enfocar las acciones médicas que permitan combatir con mayor eficacia aquellas enfermedades que en la actualidad ocupan los primeros lugares como causa de muerte.

Algunas características de los compuestos de coordinación ante la respuesta clínica es la posibilidad de usar cantidades menores en los tratamientos, así mismo obtener una mayor especificidad en la selectividad hacia una neoplasia determinada. Estas propuestas tendrán claras respuestas en el futuro.

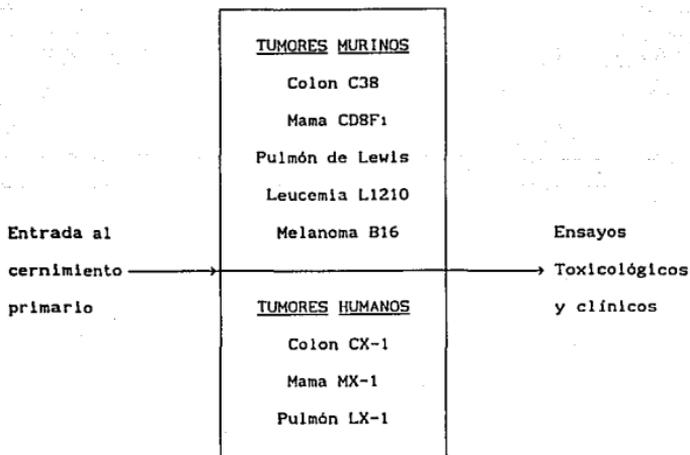
Concientes de esta situación, el grupo de investigación encabezado por la Dra. Lena Ruiz en la Facultad de Química, UNAM se planteó como objetivo la obtención de compuestos de coordinación que puedan tener actividad antineoplásica, a la fecha este grupo ha sintetizado y caracterizado alrededor de 90 complejos, algunos de estos compuestos han sido probados *in vitro* mostrando actividad citostática (8), por lo que se decidió comenzar las pruebas *in vivo* (6). Hoy en día tres de estos compuestos, Casiopeína I, II y III han sobrepasado los criterios de actividad requeridos en las pruebas *in vivo* (Cuadro 4). Se tienen ya datos de toxicidad (DL50) en ratones de la cepa exogámica CD1 por lo que, siguiendo el protocolo para la evaluación de actividad antineoplásica de nuevas drogas, se requiere ahora continuar con los experimentos en perros para obtener la dosis letal de la

Casiopeína I en estos. La experimentación en perros resulta imprescindible ya que son los resultados obtenidos en este trabajo con la Casiopeína I y los que se obtengan en la evaluación toxicológica de la Casiopeína II y III los que se tomarán como base para el comienzo de la practica anticanceígena en la clínica humana, por lo que se ha realizado la evaluación toxicológica de uno de estos compuestos, la Casiopeína I (3).

Actualmente se han incorporado a esta investigación para el desarrollo de medicamentos antineoplásicos investigadores e instituciones de reconocimiento internacional trabajando sobre estos compuestos, para adelantar en lo posible la utilización de estos fármacos en la practica médica. Entre las principales instituciones además de la Facultad de Química de la UNAM está la colaboración del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) en donde se llevan a cabo pruebas *in vitro* para evaluar el potencial mutagénico de estas nuevas drogas así como pruebas *in vivo* empleando *Drosophila melanogaster* para determinar el poder mutagénico y genotóxico de la Casiopeína y derivados. En este mismo instituto se llevan también a cabo ensayos *in vivo* empleando ratones encaminados a evaluar el poder citostático de los nuevos fármacos. En este mismo instituto se cuenta con el acceso al reactor nuclear donde se lleva a cabo el marcaje de estos fármacos con isótopos radioactivos para realizar los ensayos de farmacocinética y farmacodinamia pertinentes.

Cabe resaltar de igual manera la colaboración con el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) donde se lleva a cabo la evaluación antineoplásica *in vitro* empleando cultivos tumorales humanos y así mismo, se espera que sea este instituto el que realice el desarrollo de las fases clínicas.

PANEL PARA LA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTINEOPLÁSICA
DE NUEVOS COMPUESTOS



C38 = Carcinoma de colon

CX-1 = Adenocarcinoma de colon

CDBF₁ = Carcinoma mamario

MX-1 = Carcinoma de células del ducto

L1210 = Leucemia linfoide

LX-1 = Carcinoma de células escamosas

B16 = Melanoma melanótico

CUADRO 4

Los resultados obtenidos con la Casiopeína I (8) en el panel anterior (Cuadro 4), son muy alentadores ya que han sobre pasado con mucho los criterios de actividad requeridos mostrando aumentos en los porcentajes de sobrevida que van desde el 16 hasta el 200% dependiendo de la dosis empleada y del esquema de tratamiento (9).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

El uso de la Casiopeína I según los datos obtenidos en ratones de la cepa exogámica CD1, puede causar toxicidad aguda detectable clínica, macroscópica y/o histopatológicamente sobre el sistema nervioso central, aparato respiratorio y cardiovascular de perros sanos, esto permitirá la obtención de la dosis letal de este fármaco en perros y nos brindará información útil para su evaluación antineoplásica de acuerdo con los estándares del "Cancer Chemotherapy National Service Center".

OBJETIVOS

Realizar las pruebas de toxicidad aguda en perros, estipuladas por el "Cancer Chemotherapy National Service Center" para la obtención de la dosis letal. Así como determinar los signos clínicos, el daño macroscópico e histopatológico que causa la Casiopeína I en órganos clave como son: encéfalo, corazón, pulmón, hígado, bazo y riñón.

MATERIAL Y REACTIVOS

9	PERROS	CASIOPEINA I
50	Kgs DE ALIMENTO PURINA	ETANOL AL 98%
4	JAULAS (2 x 4 m)	FORMOL AL 10%
15	JERINGAS	AGUA BIDESTILADA
2	VENOCLISIS	TINCIÓN DE HEMATOXILINA
10	PUNZOCATS	Y EOSINA
20	VACUTAINER SIN EDTA	ALCOHOL
20	VACUTAINER CON EDTA	PARAFINA
40	AGUJAS PARA VACUTAINER	RESINA
10	CATETERES	DRONTAL PLUS
2	SUTURAS DEXÓN DE 000	LOPATOL
20	LAMINILLAS	ASUNTOL
10	PORTA OBJETOS	
10	CUBRE OBJETOS	
10	PARES DE GUANTES	
6	CUBRE BOCAS	
2	BATAS	
4	BATAS DESECHABLES	
12	MATRACES CON AFORO DE 100 ml	
5	PIPETAS DE 5 ml	
1	PIPETA AUTOMÁTICA	
1	PORTA AGUJAS	
2	TIJERAS	
2	PINZAS DE DISECCIÓN	

- 1 CUCHILLO
- 1 SEGUETA
- 2 CUERDAS DE 2 m
- 2 BOZALES
- 10 FRASCOS CON TAPA DE 350 ml
- 1 CINTA ADHESIVA
- 25 GASAS
- 1 MICROSCÓPIO ÓPTICO
- 1 FOTOMICROSCÓPIO
- 1 HISTOQUINETE
- 1 MICROTOMO
- 1 JARRA PARA PARAFINA
- 1 BAÑO DE FLOTACIÓN
- 1 PLATINA
- 1 TREN DE TINCIÓN
- 1 MECHERO
- 1 ESTUFA O MUFLA
- 12 CÁPSULAS PARA TEJIDOS
- 1 REJILLA PARA PARAFINA
- 1 BALANZA ELECTRÓNICA
- 1 BALANZA MECÁNICA
- 1 CÁMARA FOTOGRÁFICA
- 6 ROLLOS PARA FOTOS A COLOR
- 1 REFRIGERADOR
- 1 MESA DE DISECCIÓN

METODOLOGÍA

Las pruebas de toxicidad aguda, están encaminadas para la selección de dosificación en estudios subsecuentes de dosis repetidas.

a) Los experimentos piloto se llevaron a cabo en ratones exogámicos de la cepa CD1 para determinar si la droga tenía efectos tóxicos agudos o tardíos.

b) Si el compuesto demostró toxicidad aguda la dosis letal (DL) se determinó en 7 perros criollos machos entre la edad de 2 a 4 años. Previamente los perros fueron desparasitados, esperándose 30 días antes de aplicar la droga para determinar que los perros estuvieran clínicamente sanos. La Casiopeína I se administró aproximadamente a 1/2 de la dosis máxima tolerada observada en los experimentos con ratones (12.86 mg/kg). Si no habían síntomas severos de toxicidad, la dosis se repetía cada 30 minutos hasta que se presentará agonía o ocurriera la muerte. Los signos de toxicidad se detectaron básicamente por efectos de la droga sobre el sistema nervioso central, aparato respiratorio y aparato cardiovascular.

c) Para observar si el compuesto mostraba toxicidad tardía se administró la mitad de la dosis máxima tolerada a dos perros. Al primero no se le dió más tratamiento pero se observó cuidadosamente por el resto del día. El segundo perro se inyectó nuevamente con la misma dosis a intervalos de cada hora por un total de 4 inyecciones. Si el perro uno y dos morían, se inyectaría un tercer perro con la mitad de la dosis dada al perro uno. Si el perro tres sobrevivía por un periodo de observación de 2 a 3 días, la dosis dada al perro uno es considerada la dosis letal.

Si el perro tres moría la dosis se disminuiría progresivamente hasta que un animal sobreviviera. La dosis letal (DL) es la dosis más baja que causa la muerte.

d) La respuesta toxicológica de dos perros se determinó siguiendo la administración de la mitad de la dosis letal (DL/2). Los animales sobrevivientes fueron observados por 25 días, a los cuales se les tomaron pruebas de función hepática y renal así como pruebas hematológicas. A los animales que murieron se les realizó necropsia tomándose muestras de los siguientes tejidos en los cuales se realizaron pruebas histopatológicas; encéfalo, corazón, pulmón, hígado, bazo y riñón.

La Casiopeína I no es soluble en agua, pero sí es soluble en etanol por lo que se utilizó como vehículo para disolverla. Se le agregó a cada 77.16 mg de Casiopeína I (dosis correspondiente a un perro de 12 Kg) 3 mililitros de etanol para disolverla y una vez logrado esto se aforó a 100 ml con agua bidestilada, la disolución así obtenida se aplicó por vía endovenosa a los perros según su peso.

RESULTADOS

En total se utilizaron 7 perros criollos, machos enteros, con un peso promedio de 10.9 kg y edades entre los 2 y 4 años, más dos perros de reserva. En los cuales se determinó que no hubiera carga parasitaria y que estuvieran clínicamente sanos, realizando las pruebas de química sanguínea en donde se determinó urea, creatinina y TGP y pruebas de biometría hemática en donde se determinaron leucocitos, hemoglobina y hematocrito. Los resultados de estos análisis se muestran en el cuadro 5.

En el cuadro 6 se presenta una relación de los procedimientos llevados a cabo así como de las observaciones clínicas hechas.

De los 7 perros utilizados los primeros 5 perros murieron a consecuencia de la forma en que se administró la Casiopeína I. En ellos se llevó a cabo necropsia con los hallazgos resumidos en el cuadro 7. Posteriormente se procedió a analizar los órganos clave (encéfalo, corazón, pulmón, hígado, bazo y riñón) y el resumen de los hallazgos histopatológicos encontrados se presentan en el cuadro 8. En las figuras 1, 1A, 1B, 1C, 2, 2A, 2B, 2C, 3, 3A, 4, 4A, 4B, 5, 6 y 6A se presentan los hallazgos histopatológicos más relevantes en encéfalo, corazón, pulmón, hígado, bazo y riñón respectivamente. En ellas se muestran de forma general los daños más relevantes que se describirán a continuación.

ANALISIS SANGUINEOS

No. DE PERRO	UREA	CREATININA	TGP	HT	LEUCOCITOS	Hb
1	19	1.2	35	56	12000	17
2	42	1.1	13	49	11100	19
3	38	1	27	42	16300	12
4	20	0.6	24	53	7000	13
5	33	0.8	41	38	9000	13
6	26	1.1	15	38	8600	15
7	23	0.7	49	45	6500	12.5
8	39	0.9	23	40	17000	12
9	29	1.1	27	51	7500	14

HT = Hematocrito

TGP = Transaminasa glutamicopirúvica

Hb = Hemoglobina

VALORES NORMALES

HT 37.55 %

Hb 12-18 %

CUADRO 5

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
1	7.1	59.2 ml 45.6 mg/kg	59.2 ml 45.6 mg/kg	3	16:00	Cateterización, midriasis, posición decúbito lateral.
					16:08	Convulsiones ligeras con cabeza hacia atrás y miembros rígidos.
					16:10	ligero pataleo, defecó.
					16:20	Recuperación lenta, caminó, ataxia, más alerta, pupilas normales, decúbito ventral, aumento de frecuencias.

EtOH= Etanol.

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
16:30	Administración de segunda dosis, aumento de frecuencias, TLLC 4 seg, midriasis, mirada fija y brillante.	1:20 hrs.	Se inyectó c/1/2 h por dos ocasiones por vía <u>en</u> <u>dovenosa</u> rápida. Taquipnea repentina.
17:05	Convulsiones, decúbito lateral con miembros rígidos y cabeza hacia atrás, ligero pataleo, disnea, taquipnea repentina.		
17:15	Espasmos, arrojó líquido serosanguinolento por nariz, lengua cianótica, chillidos leves.		
17:20	Muerte.		

TLLC= Tiempo de llenado capilar.

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
2.	13	108.3 ml 83.6 (mg/kg)	108.3 ml 83.6 (mg/kg)	3	13:00	Cateterización, tremor muscular ligero, midriasis, letargia, aumento de frecuencias.
					13:30	Más alerta, frecuencias normales, posición esternal, camión.

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
14:00	Segunda inyección, aumento de frecuencias, taquípnea repentina, depresión, letargia.	1.37 hrs	Se inyectó c/hr por dos ocasiones por vía endovenosa rápida.
14:10	Posición decúbito lateral, contracción de glándulas anales, disnea.		
14:20	Mirada brillante y fija, intentos de vómito, estertores húmedos, aumento de -- frecuencias, midriasis, chillidos muy ligeros, TLLC 4 seg, lengua ligeramente cianótica, debilidad y letargia, relajación de esfínteres, orinó y defecó.		
14:30	Disnea, respiración abdominal, aumento de la temperatura, pataleo, cabeza hacia atrás y miembros estirados.		
14:35	Vómito, espasmos bronquiales, arrojó líquido serosanguinolento por nariz.		
14:37	Muerte.		

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE FERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
3	18.5	154.2 ml 118.95 (mg/kg)	-----	3	13:15	Cateterización y administración, ligero tremor muscular, midriasis, letargia, adormecimiento, aumento de frecuencias, taquipnea repentina.
					13:30	Más alerta, ligera midriasis, tranquilo.
					15:00	Aumento de frecuencias, taquipnea repentina, postración, mirada fija y midriasis.
					15:17	Caminó, vomitó en 3 ocasiones, cedió la midriasis.
					15:38	Espasmos abdominales, flatulencia.
					16:20	Defecó; (café-amarillento - pastoso).
					16:30	Más alerta y animado, caminó.
					18:00	Disminuyó el ánimo, mirada <u>fi</u>

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
3	18.5	154.2 ml 118.95 (mg/kg)	-----	3	18:00	ja y brillante, depresión, taquipnea repentina, disnea.
					18:15	Prostración en decúbito esternal, debilidad, midriasis, -- arrojó líquido serosanguinolento por nariz, disnea, cianosis de lengua y conjuntiva, TLC 4 seg.
					18:22	Muerte.

Continúa perro 3

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
-----	-----	5.07 hrs.	Se inyectó por una ocasión observándolo por el resto del día. La inyección fué por vía endovenosa rápida.

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
4	5.7	47.5 ml 36.65 (mg/kg)	47.5 ml 36.65 (mg/kg)	3	12:38	Cateterización, aumento de <u>f</u> recuencias, midriasis, TLLC 2 <u>se</u> gundos, orinó, ataxia.
					13:30	Disnea, TLLC 3 seg, mucosas <u>pá</u> lidas, aumento de frecuencias, taquipnea repentina.

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
13:48	Espasmos viscerales, relajación de esfínteres, defecó, ligeros chillidos, posición decúbito lateral, rigidez muscular, cabeza hacia atrás.	1.21 hrs	Se inyectó c/h por vía endovenosa rápida por dos ocasiones. Taquipnea repentina.
13:55	TLLC 4 seg, midriasis, cianosis de lengua y esclerótica, aumento de frecuencia cardíaca y taquipnea repentina, disnea, arrojó líquido serosanguinolento por nariz.		
13:59	Muerte.		

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
5	12.5	104.16 80.37 (mg/kg)	----- -----	3	13:15	Cateterización.
					13:20	Aumento de frecuencias, muy inquieto y agresivo, midriasis, TLLC 2 seg.
					13:57	Frecuencias aumentadas, taquipnea repentina, TLLC 3 segundos, disnea, depresión, defecó y orinó, quejidos constantes muy leves.
					14:15	Taquipnea repentina, midriasis, mirada fija y brillante, depresión, letargia, posición decúbito esternal.
					14:30	Ligera cianosis de lengua y esclerótica, disnea y depresión.
					15:00	Letargia, ligera midriasis, chillidos leves.
					15:30	Espasmos gastrointestinales, flatulencia, intentos de vómito

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
5	12.5	104.16	-----	3	15:30	to, defecó café pastoso.
					15:59	Cianosis de lengua y esclerótica, aumento de frecuencias, disnea, depresión, letargia, posición decúbito esternal.
					16:13	Arrojó poco líquido serosanguinolento por nariz, espasmos bronquiales.
					16:16	Muerte.

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
---	-----	3.01 hrs	Se inyectó por vía endovenosa rápida por una sola ocasión, observándose el resto del día.

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
6	9.4	78.33 ml 60.44 (mg/kg)	----- -----	3	15:50	Cateterización, muy tranquilo y dócil.
					16:15	Muy tranquilo, poco adormecimiento, frecuencias normales.
					17:15	Constantes normales, muy ligera depresión y midriasis, respiración normal.
					18:15	Tranquilo, ligera midriasis, frecuencias normales.
					18:58	Terminó el goteo, el perro se vió animado, orinó y defecó, estuvo jugueteando, ladrando y corriendo.

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
-----	-----	No murió	Dosis única a goteo lento por vía endovenosa. El goteo duró 3.08 hrs., aplicándose a razón de 25.43 ml/h o bien 0.423 ml/minuto. Se observó por 25 días sin que presentara alteraciones aparentes.

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

No. DE PERRO	PESO (Kg)	1a. DOSIS	2a. DOSIS	EtOH/DOSIS (ml)	Hr.	1a. INYECCIÓN
7	10.1	-----	-----	3/100 ml de agua bides-tilada.	19:15	Cateterización, muy tranquilo y dócil.
					19:20	Frecuencias normales, ligera midriasis y ligero adormecimiento.
					19:25	Alerta, alegre, corrió, ladró, orinó y defecó. Aparentemente normal.

Continúa.....

PROCEDIMIENTOS Y OBSERVACIONES CLÍNICAS

CUADRO 6

Hr.	2a. INYECCIÓN	TIEMPO DE MUERTE	OBSERVACIONES
-----	-----	No murió	Se inyectó solamente el vehículo; 3 ml de etanol diluido en 100 ml de agua bidestilada por vía endovenosa rápida a una dosis de 84.16 ml, según su peso. Observándose por 25 días junto con el perro 6 sin que presentaran alteración alguna. Los signos clínicos observados pueden compararse con los del perro No. 6.

HALLAZGOS MACROSCOPICOS A LA NECROPSIA.

PERRO	MUCOSAS	T.S.C.*	ENCEFALO	PULMONES	CORAZON	HIGADO	T.G.I.+	BAZO	RIÑONES
1	Ligera cianosis	Ligera congestión	Muy congestionado	Hemorragias, congestión, edema, líquido espumoso en bronquios y traquea.	Ligera congestión	Hemorragias y congestión	SCPA	SCPA	Congestión
2	Cianosis	Muy congestionado	Congestión	Hemorragias, congestión, edema, líquido espumoso en bronquios y traquea.	Ligera congestión	Hemorragias y congestión	SCPA	SCPA	Congestión
3	Cianosis	Muy congestionado	Muy congestionado	Hemorragias, congestión, edema, líquido espumoso en bronquios y traquea.	Ligera congestión	Hemorragias y congestión	SCPA	SCPA	Congestión
4	Cianosis	Congestión	Muy congestionado	Hemorragias, congestión, edema, líquido espumoso en bronquios y traquea.	Ligera congestión	Hemorragias y congestión	SCPA	SCPA	Congestión
5	Cianosis	Congestión	Muy congestionado	Hemorragias, congestión, edema, líquido espumoso en bronquios y traquea.	Muy congestionado	Hemorragias y congestión	SCPA	SCPA	Congestión
6	NO MURIO, SIN EMBARGO SE OBSERVO QUE LAS MUCOSAS ESTABAN NORMALES								
7	NO MURIO, SIN EMBARGO SE OBSERVO QUE LAS MUCOSAS ESTABAN NORMALES								

* TSC = Tejido subcutáneo

+ TGI = Tracto gastrointestinal

SCPA = Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 7

DIAGNOSTICOS MORFOLOGICOS

PERRO	ENCEFALO	CORAZON	PULMONES	HIGADO	BAZO	RINONES
1	Espongiosis en sustancia gris moderada difusa (FIGURA 1), satelitosis (FIGURA 1A) y hemorragias en el espacio perivascular (FIGURA 1B)	Infiltración grasa multifocal moderada ** (FIGURA 2A) y cambios degenerativos multifocales discretos (FIGURA 2B)	Edema alveolar grave difuso FIGURA 3A	Cambio hepatodegenerativo discreto y difuso FIGURA 4	*Atrofia de los centros germinativos moderada difusa FIGURA 5	Túbulo nefrosis moderada difusa FIGURA 6
2	Espongiosis en sustancia gris, moderada difusa FIGURA 1	Hemorragia en miocardio multifocal moderada FIGURA 2	Edema pulmonar grave difuso FIGURA 3A	Hemorragia hepática moderada difusa FIGURA 4A	*Atrofia de los centros germinativos moderada difusa FIGURA 5	Túbulo nefrosis moderada difusa FIGURA 6
3	Espongiosis en sustancia gris moderada difusa (FIGURA 1) y satelitosis (FIGURA 1A)	Hemorragia en miocardio multifocal moderada FIGURA 2	Edema pulmonar grave difuso FIGURA 3A	Hemorragia hepática moderada difusa FIGURA 4A	SCHA	Túbulo nefrosis moderada difusa FIGURA 6
4	Espongiosis multifocal moderada difusa FIGURA 1	Congestión en miocardio moderada difusa FIGURA 2C	Congestión interseptal y edema pulmonar moderado difuso FIGURA 3	Cambio hepatodegenerativo moderado difuso y desorden hepatocelular moderado difuso FIGURA 4B	*Atrofia de los centros germinativos moderada difusa FIGURA 5	Congestión peritubular renal grave difusa FIGURA 6A
5	Espongiosis moderada difusa en corteza cerebral (FIGURA 1) y congestión moderada difusa en zona molecular de cerebelo FIGURA 1C	Congestión en miocardio multifocal discreto (FIGURA 2C), e infiltración grasa multifocal discreta ** (FIGURA 2A)	Edema pulmonar moderado difuso, FIGURA 3	Cambio hepatodegenerativo moderado difuso y desorden hepatocelular moderado difuso FIGURA 4B	*Atrofia de los centros germinativos moderada difusa, FIGURA 5	SCHA
6	NO MURIO					
7	NO MURIO					

*Posiblemente independiente del uso de la Casiopeína

**Posible movilización de grasa por el fármaco

SCHA = Sin cambios histopatológicos aparentes

CUADRO 8

HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

ENCEFALO



FIGURAS 1 y 1B. 10,937X. Espongiosis en sustancia gris, moderada difusa y hemorragias en el espacio perivascular.

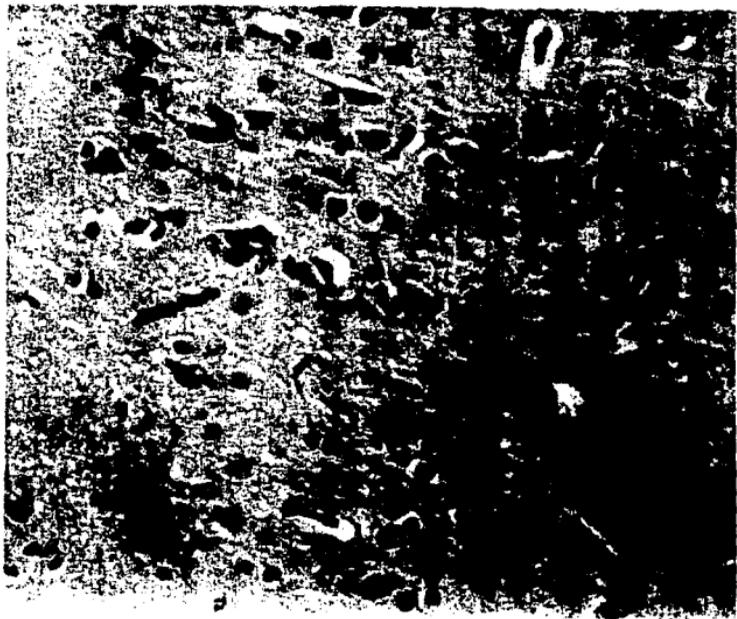


FIGURA 1A. 10,937X. Satelitosis.

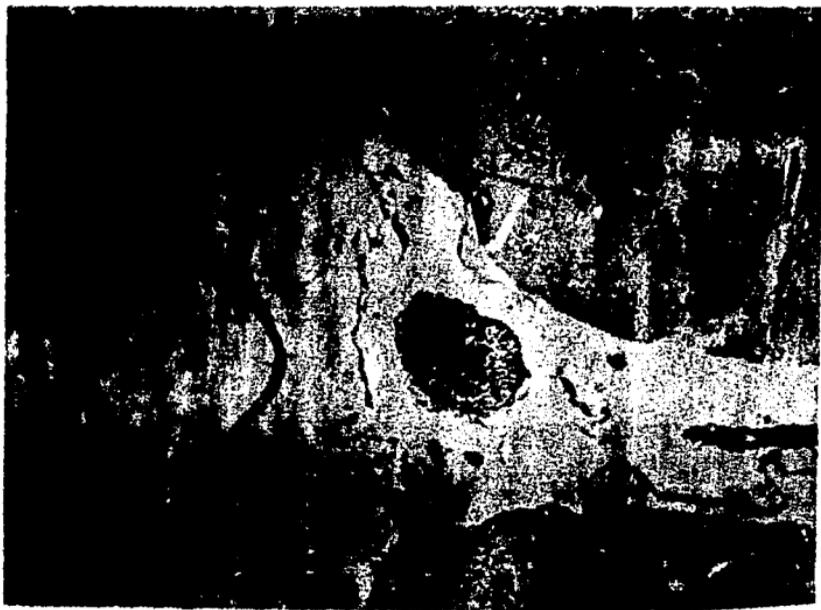


FIGURA 1C. 4,375X. Congestión moderada difusa
en zona moléculas de cerebello.

MIOCARDIO

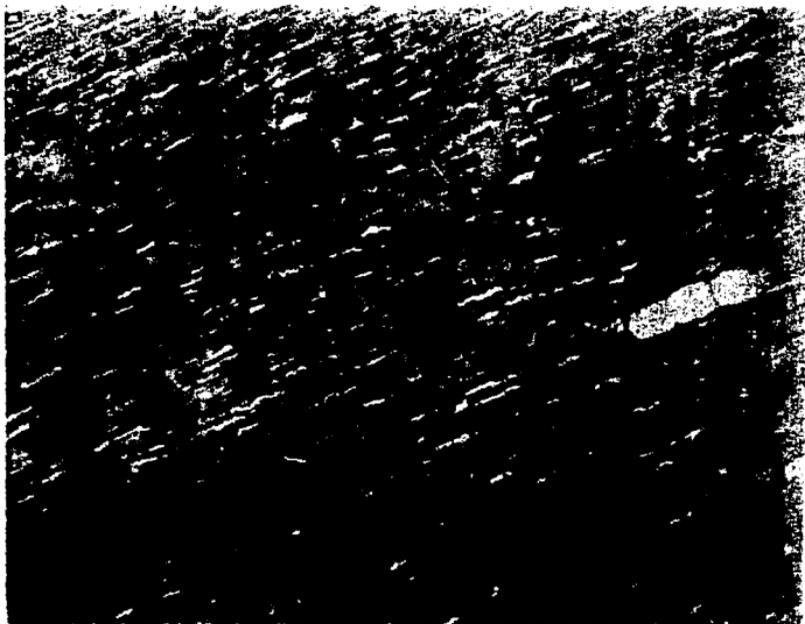


FIGURA 2. 4,375X. Hemorragia en miocardio multifocal moderada.

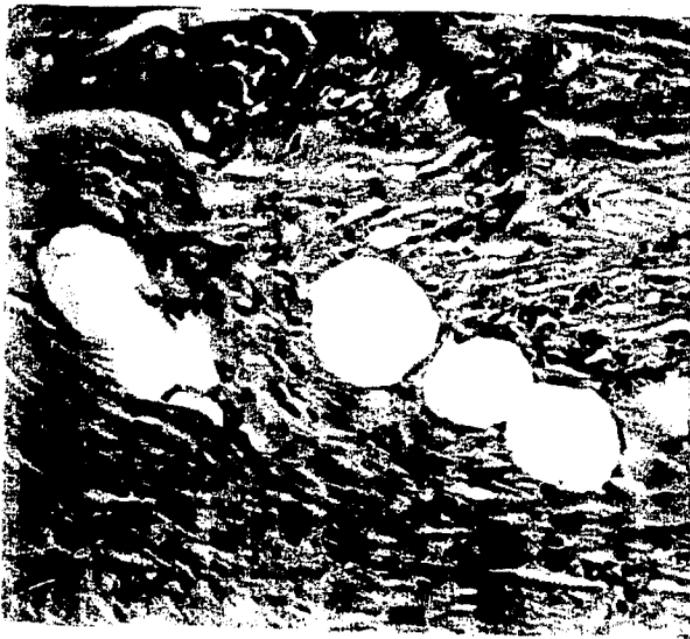


FIGURA 2A. 10,937X. Infiltración grasa multifocal moderada.

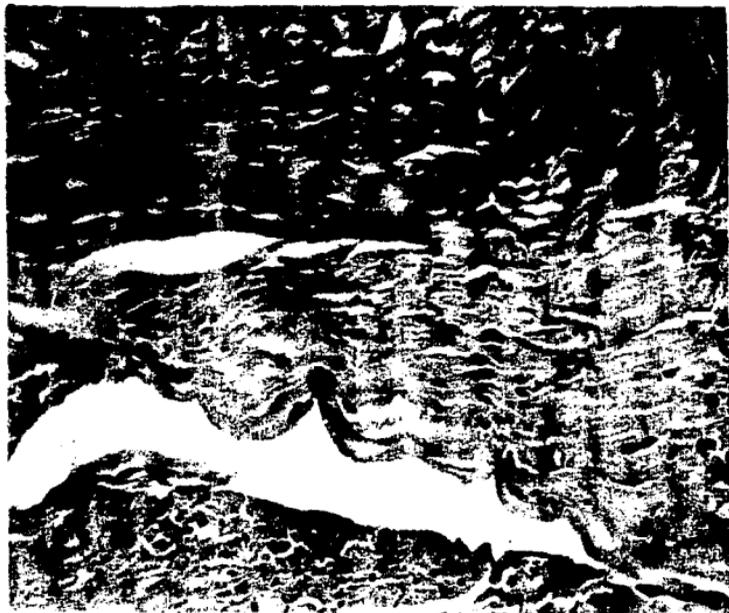


FIGURA 2B. 4,375X Cambios degenerativos multifocales discretos.

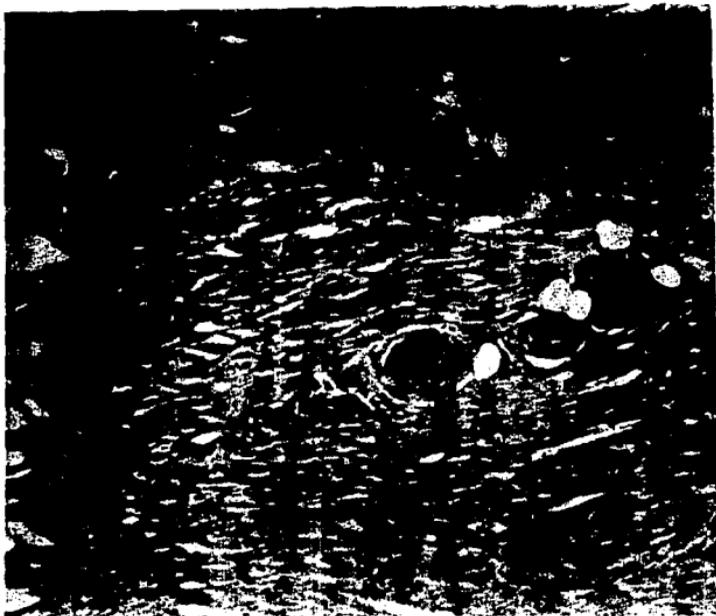


FIGURA 2C. 4,375X. Congestión en miocardio.

PULMON



FIGURA 3. 10,937X. Edema pulmonar moderado difuso y congestión interseptal.



FIGURA 3A. 10,937X. Edema pulmonar grave difuso.

HIGADO

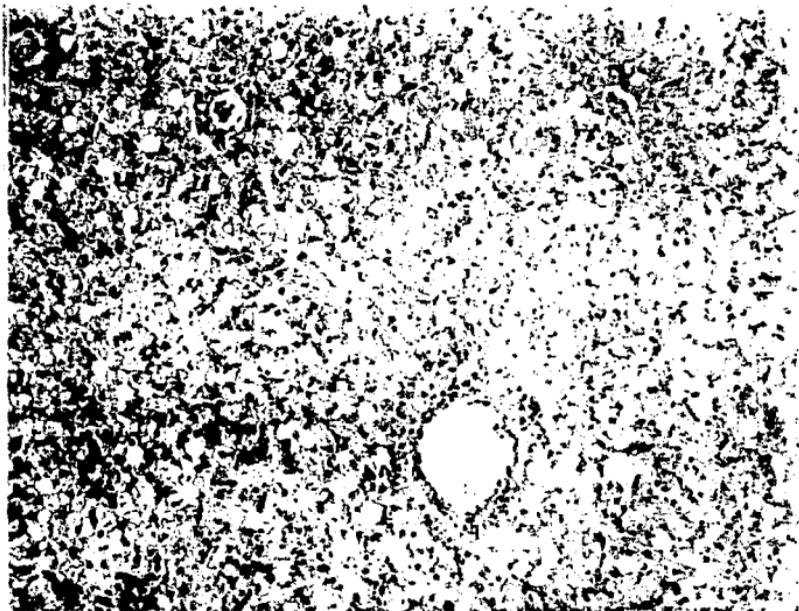


FIGURA 4. 4,375X. Cambio hepatodegenerativo discreto y difuso e infiltración grasa multifocal moderada.



FIGURA 4A. 4,375X. Hemorragia hepática moderada difusa.



FIGURA 4B. 4,375X. Cambio hepatodegenerativo moderado difuso y desorden hepatocelular moderado difuso.

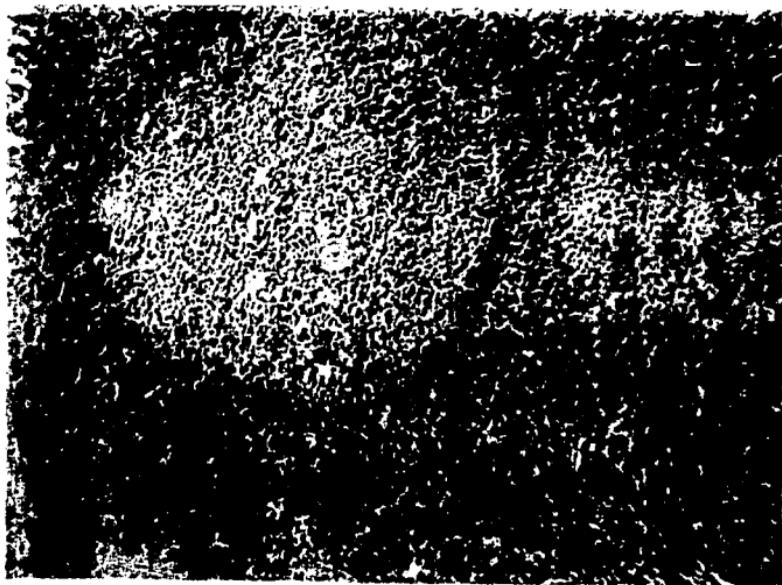


FIGURA 5. 4,375X. Atrofia de los centros germinativos moderada difusa.
(posiblemente independiente del uso de la Casiopeína I).

RIÑON



FIGURA 6. 10,937X. Túbulo nefrosis moderada
difusa.

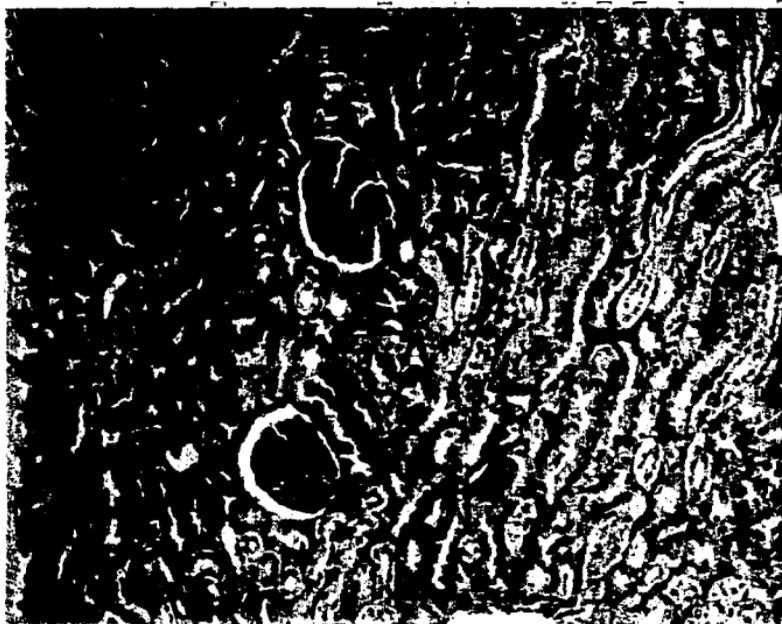


FIGURA 6A. 4,375X. Congestión peritúbular renal grave difusa.

PERRO 1.

Sección de cerebro medio; observándose áreas de espongiolisis en corteza cerebral (sustancia gris) y discretos focos de hemorragias en el espacio perivascular y en algunas zonas se observó áreas de satelitosis (por el estado de hipoxia cerebral).

Dx morfológico: Espongiolisis en sustancia gris moderada difusa, satelitosis y hemorragias en el espacio perivascular.

Figura 1, 1A y 1B.

Sección de miocardio; apreciándose el depósito de tejido adiposo entre las fibras musculares y algunas de estas presentan discretos cambios degenerativos.

Dx morfológico: Cambios degenerativos multifocales discretos, e infiltración grasa multifocal moderada.

Figura 2A y 2B.

Sección de pulmón: observándose abundante edema y fibrina alveolar y bronquial. Así como presencia de macrófagos alveolares que contienen en su citoplasma un pigmento de color cafe ocre y apreciándose un foco de fibroplasia septal, (tejido conectivo de granulacion), y focos de hemorragias.

Dx morfológico: Edema alveolar grave difuso.

Figura 3A

Sección de hígado: Apareciéndose discretos focos degenerativos compatibles con (hidrópica) centrolobulillar y periportal, además de discretos focos de infiltración linfocitaria.

Dx morfológico: Cambio hepatodegenerativo discreto y difuso

Figura 4.

Sección de bazo: Apareciéndose atrofia de los centros germinativos con algunos focos de linfonecrosis así como la presencia de abundantes megacariocitos en pulpa roja.

Dx morfológico: Atrofia de los centros germinativos moderada difusa. (posiblemente independiente del uso de la Casiopeína I).

Figura 5.

Sección de riñón: Apareciéndose cambios degenerativos en la mayoría de las células de los tubulos renales.

Dx morfológico: túbulo nefrosis moderada difusa.

Figura 6.

PERRO 2

Sección de cerebro medio: Observándose zonas de espongirosis en corteza cerebral (sustancia gris) y satellitosis.

Dx morfológico: Espongirosis en sustancia gris moderada difusa.

Figura 1.

Sección de miocardio: Apreciándose discretos focos de hemorragia entre las fibras musculares.

Dx morfológico: Hemorragias en miocardio multifocal moderada.

Figura 2.

Sección de pulmón: Observándose edema alveolar y bronquiolar y focos de hemorragias en arteriolas pulmonares.

Dx morfológico: Edema pulmonar grave difuso.

Figura 3A.

Sección de hígado: Observándose focos de hemorragia debajo de la cápsula de Glisson y en la zona centrolobulillar.

Dx morfológico: Hemorragia hepática moderada difusa. Figura 4A.

Sección de bazo: Apreciándose atrofia de los centros germinativos además de abundantes megacariocitos en la pulpa blanca.

Dx morfológico: Atrofia de los centros germinativos moderada difusa. (posiblemente independiente al uso de la Casiopeína I).

Figura 5.

Sección de riñón: Apreciándose cambios degenerativos en la mayoría de las células de los tubulos renales, y presencia de material morado compatible con el calcio.

Dx morfológico: Tubulo nefrosis moderada difusa.

Figura 6.

PERRO 3

Sección de cerebro medio: Apreciándose zonas de espongirosis en sustancia gris (por el estado de hipoxia cerebral) además de satellitosis (oligodendrocitos rodeando a la neurona).

Dx morfológico: Espongirosis en sustancia gris moderada difusa y satellitosis.

Figura 1 y 1A.

Sección de miocardio: Apreciándose discretos focos de hemorragia entre las fibras musculares.

Dx morfológico: Hemorragias en miocardio multifocal moderada.

Figura 2.

Sección de pulmón: Observándose edema alveolar grave y focos de hemorragia interseptal y en algunas arteriolas pulmonares.

Dx morfológico: Edema pulmonar grave difuso.

Figura 3A.

Sección de hígado: Observándose focos de hemorragia debajo de la cápsula de Glisson y en la zona centro lobulillar.

Dx morfológico: Hemorragia hepática moderada difusa.

Figura 4A.

Sección de bazo: Sin cambios histopatológicos aparentes (SCHA).

Sección de riñón: Apreciándose cambios degenerativos en las células del epitelio renal y presencia de pigmento hemático (hemosiderina) y congestión peritubular. Por lo que el fármaco se elimina por riñón.

Dx morfológico: tubulo nefrosis moderada difusa.

Figura 6.

PERRO 4

Sección de cerebelo: Apreciándose cambio hialino de la zona molecular de la cresta y valle sugestivo a degeneración; y en la sustancia blanca se observó un foco de espongiolisis además de congestión en la zona molecular.

Dx morfológico: Espongiolisis multifocal moderada difusa.

Figura 1.

Sección de miocardio: Apreciándose congestión entre las fibras musculares moderada difusa.

Dx morfológico: Congestión en miocardio moderada difusa.

Figura 2C.

Sección de pulmón: Apreciándose congestión interseptal e hilos de fibrina en la luz alveolar así como posibles zonas de enfisema y antracosis.

Dx morfológico: Congestión interseptal y edema pulmonar moderado difuso.

Figura 3.

Sección de hígado; Observándose desorden hepatocelular y cambios degenerativos en la mayoría de las células hepáticas sugestivos a degeneración hidrópica.

Dx morfológico: Cambios hepatodegenerativos moderado difuso y desorden hepatocelular moderado difuso.

Figura 4B.

Sección de bazo: Apreciándose atrofia de los centros germinativos.

Dx morfológico: Atrofia de los centros germinativos moderada difusa. (aparentemente no tiene que ver con la administración del fármaco).

Figura 5.

Sección de riñón: Apreciándose congestión peritubular renal.

Dx morfológico: Congestión peritubular renal grave difusa.

Figura 6A.

PERRO 5.

Sección de cerebro medio: Apreciándose zonas de espongiosis en corteza cerebral.

Dx morfológico: Espongiosis moderada difusa en corteza cerebral.

Figura 1.

Sección de cerebelo: Apreciándose congestión en la zona molécula.

Dx morfológico: Congestión en zona molécula moderada difusa.

Figura 1C.

Sección de miocardio: Apreciándose infiltración grasa y congestión entre las fibras musculares.

Dx morfológico: Congestión en miocardio multifocal discreto e infiltración grasa multifocal discreta. (posiblemente la casiopelna movilice la grasa).

Figura 2A y 2C.

Sección de pulmón: Apreciándose edema pulmonar moderado con hilos de fibrina en la luz alveolar y en algunas zonas probablemente enfisema y presencia de antracosis.

Dx morfológico: Edema pulmonar moderado difuso.

Figura 3.

Sección de hígado: Apreciándose cambios degenerativos en la mayoría de las células hepáticas grave difuso así como desorden celular.

Dx morfológico: Cambio hepatodegenerativo moderado difuso y desorden hepatocelular moderado difuso.

Figura 4B.

Sección de Bazo: Apreciándose atrofia de los centros germinativos.

Dx morfológico: atrofia de los centros germinativos moderada difusa. (posiblemente no se debe al uso del fármaco).

Figura 5.

Sección de riñón: Sin cambios histopatológicos aparentes (SCHA).

En las figuras A, B, C, D, E y F se presentan algunos de los hallazgos a la necropsia típicos. En los 5 perros que murieron destaca la presencia de líquido serosanguinolento arrojado por nariz poco antes de morir, líquido espumoso sero sanguinolento en traquea, bronquios, bronquiolos y parenquima pulmonar (edema pulmonar), congestión y hemorragias en pulmones en diferentes grados y congestión encefálica.

Como signos clínicos pudimos observar en los perros que fallecieron: midriasis, mirada fija y brillante, cianosis de lengua y esclerótica en diferentes grados, disnea, espasmos bronquiales, taquipnea repentina, vómito o intentos de vómito, ansiedad, ataxia, convulsiones en diferentes grados y depresión. En las figuras I, II, III, IV, V y VI se presentan los signos clínicos más relevantes.

De los perros sobrevivientes a la prueba (el 6 y 7), se tomaron muestras sanguíneas, presentándose pruebas de funcionamiento renal y hepático (Cuadro 9) y biometrías hemáticas (Cuadro 10).

En la figura VII se puede observar el perro número 6 tres días después de la aplicación de la Casiopeína I.

Por los resultados histopatológicos encontrados principalmente en hígado y miocardio y por la estructura propia de la Casiopeína I que es liposoluble se encontró que esta droga es capaz de movillar el tejido adiposo del organismo. En cerebro se encontró satellitosis observándose oligodendrocitos rodeando a la neurona y espongirosis en sustancia gris por el estado de hipoxia cerebral. En riñón por la túbulo nefrosis que causó la droga en los animales que murieron, se pudo determinar que la principal vía

de eliminación de la Casiopeína I es la renal; además que induce micción de orina frecuente. También se pudo determinar por los signos clínicos de toxicidad en los animales que murieron, que la Casiopeína I produce efectos sobre el tracto gastro intestinal (TGI) detectados por hipermotilidad intestinal, flatulencia, relajación de esfínteres, deyecciones y vómito. Sin embargo a pesar de esto la causa inmediata de muerte en los 5 perros que fallecieron fue una insuficiencia respiratoria causada por el edema pulmonar lo cual provocó una deficiente oxigenación cerebral y tisular, como se puede observar claramente con los signos clínicos y hallazgos macroscópicos e histopatológicos anteriormente descritos con detalle.

HALLAZGOS A LA NECROPSIA



FIGURA A. Ojos brillosos y cristalinos, líquido serosanguíolento arrojado por nariz.

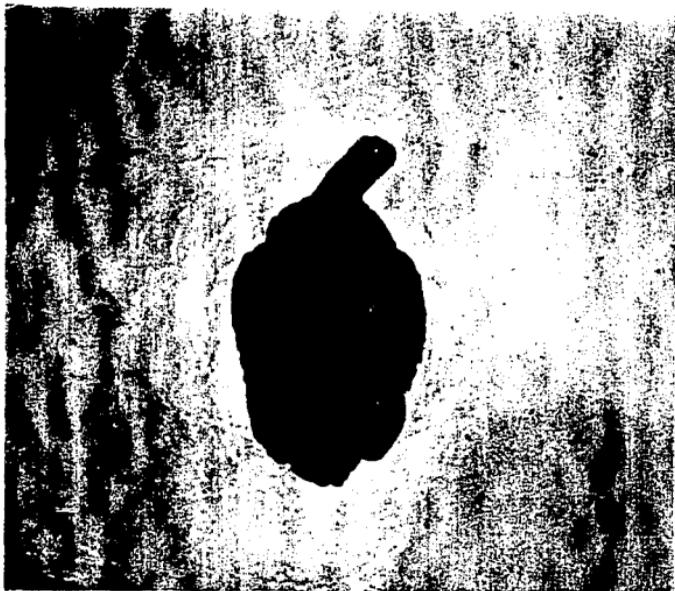


FIGURA B. Congestión encefálica.



FIGURA C. Congestión, hemorragia y edema pulmonar.



FIGURA D. Congestión, hemorragias, edema pulmonar y congestión cardiaca.



**FIGURA E. Congestión y hemorragia hepática
y congestión renal.**

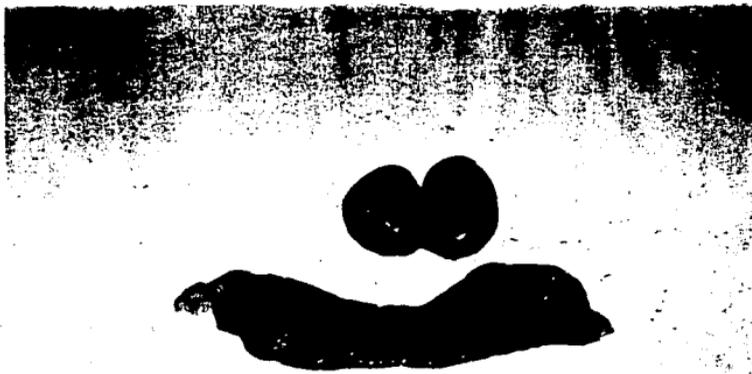


FIGURA F. Congestión renal. Bazo sin cambios
patológicos aparentes (SCPA).

SIGNOS CLINICOS



FIGURA I. Midriasis, mirada fija y brillante,
ansiedad, disnea.



**FIGURA II. Cianosis de lengua y conjuntiva,
debilidad.**



FIGURA III. Posición decúbito lateral, pataleo.



FIGURA IV. Vômito, líquido serosanguinolento
arrojado por nariz poco antes de morir.



FIGURA V. Líquido serosanguinolento arrojado
por nariz poco antes de morir.



FIGURA VI. Cabeza hacia atrás y miembros rígidos. (posición característica de hipoxia cerebral).



FIGURA VII. Perro No. 6, tres días después de la administración de la Casiopeína I por vía endovenosa a goteo lento.

QUÍMICAS SANGUÍNEAS

QUÍMICA SANGUÍNEA:

PERRO 6.

Creatinina: 2.0mg/dl

Valores normales: 0.5 a 1.5mg/dl

Urea: 100mg/dl

Valores normales: 20 a 43mg/dl

PERRO 7.

Creatinina: 0.9mg/dl

Urea: 47mg/dl

CUADRO 9

BIOMETRÍAS HEMÁTICAS

ESTUDIO CITOHEMATOLOGICO:			
	PERRO 6	PERRO 7	VALORES NORMALES
VELOCIDAD DE SEDIMENTACION			
GLOBULAR (WINTROBE)	4	4	mm a la hora
HEMATOCRITO	43	44	% 37-55
HEMOGLOBINA	14.2	14.5	G% 12-18
ERITROCITOS	6,591,000	6,742,000	$\times\text{mm}^3$ 5.5-8.5mill.
VOLUMEN GLOBULAR MEDIO	65	65	U3 60-77
HEMOGLOBINA GLOBULAR MEDIA	21.5	21.5	pg 19-24
PLAQUETAS	288,000	290,000	$\times\text{mm}^3$ 200mil-700mil
ANORMALIDADES ERITROCITICAS N O S E O B S E R V A R O N			
LEUCOCITOS	12,900	10,700	$\times\text{mm}^3$ 6,000-18,000
NEUTROFILOS SEGMENTADOS	45	66	% 60-75
NEUTROFILOS EN BANDA	0	0	% 0-3
LINFOCITOS	32	22	% 12-30
MONOCITOS	7	1	% 2-12
EOSINOFILOS	16	11	% 2-10
BASOFILOS	0	0	% RAROS

CUADRO 10

DISCUSIÓN

El protocolo del "Cancer Chemotherapy National Service Center" especifica que como dosis inicial se utilice la 1/2 DL50 obtenida en ratones de la cepa exogámica CD1 que en éste caso fue establecida por la Biól. Gracia (8) en 12.86 mg/kg, por lo que en perros es 6.43 mg/kg. De acuerdo con las instrucciones del panel mencionado no se detalla la velocidad de administración que en este caso pudiera resultar clave para evaluar la toxicidad del medicamento. Ya que en el perro 6 la infusión de una misma dosis con venoclisis a goteo lento por el lapso de 2 horas 30 minutos, dió como resultado efectos tóxicos muy reducidos, caracterizados por, depresión, adormecimiento y ligera midriasis; signos clínicos que pueden compararse con los observados en el perro número 7 al cual solamente se le inyectó el vehículo (etanol).

Es importante hacer énfasis en que la metodología propuesta contempla un mínimo de pruebas experimentales de toxicidad aguda necesarias para trasladar el uso del medicamento a un siguiente nivel más clínico, quizá en tumores espontaneos en animales o incluso en el hombre. Se ha sugerido (10) que el aumentar el número de sujetos en un análisis de toxicidad aguda no ofrece información adicional a la obtenida en este ensayo con tan sólo 7 perros. En otras palabras el protocolo del "Cancer Chemotherapy National Service Center" pretende encontrar un equilibrio entre el servicio que nos pueden brindar perros experimentales y el conflicto ético de disponer de vidas animales.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Son múltiples los ejemplos en los que la toxicidad en una especie no aplica cuando se extrapola los datos a otra. Por ejemplo el acetaminofen (analgésico no narcótico) tiene una toxicidad en el hombre calculada en 1/50,000 con el uso crónico (7), mientras que en gatos una sola dosis produce necrosis hepática (14). La anemia aplásica irreversible que produce el cloranfenicol en humanos susceptibles (20) no se presenta en los animales aun después de dos años de dosificación (20).

De tal suerte , el beneficio obtenido con este ensayo se puede resumir a que el medicamento es de baja toxicidad cuando se administra por vía endovenosa lenta y parece ser que no presenta toxicidad tardía, ya que han pasado más de 25 días y los perros 6 y 7 no han mostrado cambios clínicos palpables. Esto no pudo haberse adelantado con los ratones ya que los ratones con la Casiopeína I y Cisplatino tuvieron una toxicidad similar, aunque el Cisplatino mostró ser un poco más tóxico y además presentó toxicidad tardía (16).

También es importante hacer énfasis en que sólo se utilizarón 7 perros en función en que los estudios en ratones (8) han demostrado que no existe toxicidad tardía de la Casiopeína, punto a éste parece concordar con el estado del perro 6.

Epidemiología; En México existe una incidencia del 9.0% de cáncer, ocupando el segundo lugar dentro de las principales causas de mortalidad humana después de las enfermedades del corazón, las cuales tienen una incidencia del 14.6% (13).

Si se considera que la Casiopeína I ha mostrado actividad *in vitro* e *in vivo* contra las líneas tumorales mieloma X63, Leucemia S178y, melanoma B16, sarcoma S180, leucemia linfocítica L1210 (1,11), es factible asumir que este fármaco puede tener una aplicación futura en tumores espontáneos siempre y cuando se lleven a cabo ensayos para determinar su farmacocinética, su toxicidad en casos clínicos a mediano y largo plazo y su eficacia comparativa con otros agentes antineoplásicos.

Vale la pena comentar en perspectiva las expectativas de estas sustancias para el tratamiento de enfermedades neoplásicas. Se calculan que se generan anualmente un promedio de 10,000 moléculas para investigación farmacológica de las cuales sólo tres ingresan al mercado en un promedio de 8 años de estudio con un dispendio astronómico de animales de laboratorio y recursos económicos y humanos.

La Casiopeína y derivados cuentan con un promedio de 80 moléculas y el cernimiento para validar su eficacia y toxicidad ha avanzado en tres de ellas. Por lo tanto es extremadamente afortunado que un medicamento antineoplásico potencial como la Casiopeína I, haya mostrado tan baja toxicidad; o visto de otra manera la Casiopeína I es tolerable cuando se administra por vía endovenosa lenta. Por lo tanto, es factible concluir que este ensayo ofrece a la comunidad biomédica un medicamento prometedor a un costo biológico y ético bajo.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la dosis letal de la Casiopeína I en perros es de 6.43 mg/kg, la cual equivale a la 1/2 de la dosis máxima tolerada, observada en los experimentos con ratones (12.86 mg/kg).

Se descubrió que esta dosis es letal para el paciente, sólo si la Casiopeína I se administra por vía endovenosa rápida provocando muerte en cuestión de horas, debido al daño tisular que produce la droga, lo cual permite un incremento en la permeabilidad del suero sanguíneo hacia el parenquima pulmonar, provocando de esta forma edema pulmonar y salida de líquido serosanguinolento hacia las vías respiratorias altas y la consecuente muerte por insuficiencia respiratoria e hipoxia cerebral.

Sin embargo, se encontró que la misma dosis (6.43 mg/kg) aplicada también por vía endovenosa pero a goteo lento, es tolerada por el paciente, presentando escasos signos de toxicidad comparados con los del perro No. 7 al cual solamente se le administró el vehículo etanol a razón de 3 ml/100 ml de agua bidestilada. Demostrando así, que en este caso, la vía y forma de aplicación, frecuencia y velocidad de administración resulta clave para evaluar la toxicidad del medicamento.

En los análisis sanguíneos del perro No. 6 se obtuvo un ligero aumento en los valores de creatinina y urea, sin embargo estos resultados no son indicativos de un daño renal severo provocado por la Casiopeína I, ya que de la misma forma podemos obtener un aumento de estas sustancias por una deshidratación.

Por lo que se demuestra que la Casiopeína I es un anticancerígeno muy prometedor ya que aplicado por la vía y forma correcta (vía endovenosa a goteo lento) a la dosis indicada y con una frecuencia de aplicación controlada y moderada, disminuye la toxicidad hasta el punto en que es perfectamente tolerable por el individuo sin complicaciones aparentes, superando ventajosamente a otros compuestos de coordinación en cuanto a toxicidad y eficacia.

BIBLIOGRAFIA

1.- Bush Harris. *Preclinical Methodology for the Selection of Anticancer Agents; Methods in Cancer Research*, Vol 1 Chapter VII, Academic Press, 1967.

2.- Cerotti P.A.. *Research on Carcinogenesis and Anticarcinogenesis*. Intern. Cancer News (5), 10-12. 1987.

3.- Dirección General de Invenciones, Marcas y Desarrollo Tecnológico. (SECOFI) Registros Número 18801-120579 y 18802-120580. U.S.A Patent Number 5-107,005. (1992), C.E.E. (en tramite); Japón (en tramite).

4.- Freid F. *Some Milestones in the Development in Cancer Chemotherapy*. en: Pratt W. et al. *The anticancer Drugs*. Oxford University Press. New York. Pp. 12-19. 1979.

5.- Garth Powis., Miles P. Hacker. *The toxicity of Anticancer Drugs*; Pergamon Press; 1991.

6.- Geran, Greenberg, Macdonald and Abbott. *Protocols for in vivo Screening Systems*. National Cancer Institute.

7.- Gilman, A. and Goodman, L. *Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Ed. Interamericana, quinta edición, México. 1980.

8.- Gracia-Mora I., Ruíz Ramirez L., et al. *The Antitumor Activity of Several Transmition Metal Complex*; Journal of Inorganic Blochemistry; an Interdisciplinary Journal. Vol 43; 2-3, 1991. Oxford United Kingdom, ed. ELSEVIER. Pag 615.

9.- Gracia-Mora I; Ruíz-Ramirez L, et al. Trabajo 26. *Antineoplastic Effect of Several Transmition Metal Complexes*; Fourth Chemical Congress of North America, 25-30, August 1991, N.Y.

10.- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. US Department of Health and Human Services. NIH Publication No. 85-23. Revised 1985. Prepared by the Comitee on Care and Use of Laboratory Animals Resources Comission on Life Sciences.

11.- Helmut Siegel. *Metals Ions in Biological Systems*; Vol. II; Merceel Dekker, Inc.;U.S.A. 1980.

12.- Huges M. *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*. 1980.

13.- *Methods of Development of New Anticancer Drugs*; National Cancer Institute Monograph; Pags. 147-156; U.S.A. 1982.

14.- Ocampo, C.L.; Sumano, L.H.; *Farmacología Veterinaria*. Ed. Mc Graw-Hill, México. 1987.

15.- Pratt W. and Ruddon R.W.. *The Cancer Problem en: The Anticancer Drugs*. Oxford University Press. New York. Pp. 3-11. 1979.

16.- Prestayco, Crooke and Carter. *Cisplatin: Current Status and New Developments*; Academic Press; U.K. 1980.

17.- Rahman A, Roh J.K, Wolpert-De Filippes M.K., Goldin A., Venditti J.M. and Woolley P.V. *Therapeutic and Pharmacological Studies of Tetrachloro (d,1-trans),2-diaminocyclohexane Platinum (IV) Tetraplatin, a New Platinum Analogue*. Cancer Research 48,1745-1752, April 1, (1988).

18.- Rosenberg B, Van Camp L, Truska J.G. and Mansour V.H. *Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumor Agents*. Nature 22(26),385-386 1969.

19.- Santas E., Rodríguez J. *El Cáncer*; Segunda edición; Prensa Científica; España. 1986.

20.- Sumano L.H.: *Farmacología Clínica en Bovinos*. División del Sistema de Universidad Abierta, México. 1990.

21.- Tannock Ian F. and Hill Richard P. *The Basic Science of Oncology*. Pergamon Press. 1987.

22.- Vicent T. Devita Jr., Samuel Hellman, Steven A. Rosenberg. *Principal e Practice of Oncology*; Lippincott; U.S.A. 1982.