

188
20je.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ADMINISTRACION DE CASIOPEINA® I POR VIA INTRAPERITONEAL. ESTUDIO ANATOMO-HISTOLOGICO EN RATONES

Tesis presentada ante la División de Estudios Profesionales
de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México

Para la obtención del título de

Médico Veterinario Zootecnista

Por

MABEL CECILIA TINOCO MENDEZ

ASESORES: MVZ EUGENIA CANDANOSA ARANDA

BIOL. MA. ISABEL GRACIA MORA

DRA. LENA RUIZ AZUARA



MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DEDICATORIA

*A mis padres, y en especial a mi madre Lucila que, con mucho cariño me ha llevado por este camino tan difícil para salir adelante.
Gracias por todo tu amor y comprensión. Este trabajo también es tuyo.*

A mi hermana Nayely por su paciencia y cariño.

*A mi abuelo Carlos que siempre ha sido como un padre para mí,
y a mi abuela Martha que aunque ya no esté con nosotros,
se que compartirle la misma alegría que yo.*

*A Jorge por su cariño y confianza, por creer en mí y
enseñarme a luchar por la vida. Este trabajo también es para él.*

A toda mi familia: mis tíos y primos.

*A Isabel, por su bella amistad que me ha brindado y
por los duros tiempos que pasamos al realizar este trabajo.*

*A mis amigos, por los buenos tiempos.
Lo que siempre podrás contar con ellos.*

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

*Dra. Lena Ruiz, Bisl. Isabel Gracia y MVZ Eugenia Candanosa,
por su apoyo, enseñanza, paciencia y amistad.*

*A la Dra. Graciela Tapia, por su valiosa ayuda para
la realización de este trabajo.*

*A todo el Depto. de Química Inorgánica y Nuclear de
la Facultad de Química.*

Al Depto. de Patología de la F. M. V. y L.

*A los animales, por que gracias a ellos he podido formarme
en esta bella profesión.*

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. ANTECEDENTES.....	7
IV. HIPÓTESIS.....	15
V. OBJETIVO.....	15
VI. MATERIAL Y METODOS.....	16
- Animales.....	16
- Diseño experimental.....	16
- Metodología estadística.....	18
VII. RESULTADOS.....	20
VIII. DISCUSIÓN.....	23
IX. LITERATURA CITADA.....	27
X. CUADROS.....	33
XI. FIGURAS.....	54
XII. ANEXO ESTADÍSTICO.....	64

I. RESUMEN

Tinoco Méndez Mabel Cecilia. **ADMINISTRACIÓN DE CASIOPEÍNA[®] I POR VÍA INTRAPERITONEAL. ESTUDIO ANATOMO-HISTOLÓGICO EN RATONES.** (Bajo la asesoría de MVZ Eugenia Candanosa Aranda, Biól. Ma. Isabel Gracia Mora y Dra. Lena Ruiz Azuara).

En la Facultad de Química de la UNAM se ha diseñado y sintetizado un nuevo grupo de compuestos de coordinación con centro metálico de cobre con efecto antineoplásico llamados Casiopeínas[®]. A partir de la visión de la Dra. Ruiz acerca de la posibilidad de que estos compuestos mostraran eficacia clínica y con el fin de determinar los posibles daños histológicos causados por estos compuestos, se realizó el estudio anatómo-histológico al administrar casiopeína[®] I vía intraperitoneal a 32 ratones de la cepa NIH de 10 semanas de edad en 4 dosis de 8, 12, 16 y 20 mg/kg, sacrificándose en diferentes tiempos: 45, 90 min., 3, 6, 12, 24, 48 y 72 hrs. Por medio de la toma de muestras de diferentes órganos y tejidos se llevó a cabo el estudio macro y microscópico de cada ratón así como de 4 ratones control. Los principales hallazgos encontrados macro y microscópicamente fueron de tipo vascular debido a que en su mayoría se presentan hemorragias, congestión y edema (ascitis e hidrotórax) en diferentes órganos, así como inflamación supurativa en serosas de intestino delgado, hígado, peritoneo, grasa mesentérica, periuterina y peripaneocrática. En el análisis estadístico se obtuvieron como lesiones significativas ($p \leq 0.102$) únicamente: congestión en pulmón, aumento de megacariocitos en bazo, degeneración hidrópica y necrosis de cápsula en hígado. De acuerdo a los hallazgos encontrados durante este estudio, podemos concluir que la casiopeína[®] I administrada intraperitonealmente produce en forma general trastornos a nivel circulatorio, siendo la lesión más evidente congestión en un grado moderado afectando principalmente pulmón, riñón, bazo e hígado. Debido a que la magnitud de esta lesión es moderada se cree que estos cambios serán reversibles, una vez suspendida la aplicación del compuesto.

II. INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevos compuestos con actividad anticancerígena es un esfuerzo justificado dada la importancia de este grupo de enfermedades en el mundo entero, en nuestro país, este problema cobra una mayor relevancia debida a la situación de la industria farmacéutica, ya que la quimioterapia anticancerígena es toda de importación acrecentando aún mas los costos de esta. Vale la pena señalar que en la UNAM se está llevando a cabo un esfuerzo encaminado a tratar de producir una quimioterapia nacional con la creación "de novo" de un grupo de quimioterapéuticos que reciben el nombre de CASIOPEÍNAS®.

En los países desarrollados las principales amenazas contra la vida son las enfermedades cardiacas, cáncer y arteroesclerosis, que atacan más duramente de los 50 años en adelante en humanos. Estas enfermedades crónicas son casi desconocidas en los países en desarrollo. Indudablemente parte de la explicación es que la gente en las naciones nuevas muere demasiado joven para sufrir enfermedades degenerativas de la vejez. No obstante, hay características del modo de vida urbano e industrial que favorecen dichas enfermedades (23).

Durante las décadas recientes, cuatro enfermedades han alcanzado los primeros lugares como graves problemas de salud en las zonas más desarrolladas del mundo: la arteroesclerosis, el cáncer, la artritis y la combinación de bronquitis y enfisema. Sabemos el modo en que estas enfermedades aniquilan, pero cómo se originan y cómo se curan, sigue siendo uno de los problemas más urgentes con los que se enfrenta la medicina moderna.

Como es evidente, las enfermedades crónico-degenerativas van a seguir persistiendo en la vida del ser humano ya que se ha progresado poco en el tratamiento de tales enfermedades, pero se espera que a través de conocimientos más avanzados, el hombre será capaz de cambiar la situación en que se encuentran estas enfermedades tan graves de nuestro tiempo (23).

Se ha comentado que la incidencia de cáncer presenta una alarmante tendencia a ocupar los primeros lugares de morbilidad y mortalidad en el mundo y, estadísticamente, es la segunda enfermedad mortal de América, especialmente en las personas mayores de 40 años (23).

Esta enfermedad ha existido durante toda la vida del ser humano y de los animales, incluso ha sido descrita en pinturas o escritos de civilizaciones muy antiguas, y también se han hallado lesiones neoplásicas en huesos de dinosaurios. Se ha informado su existencia en prácticamente todos los vertebrados y algunos invertebrados, plantas e insectos (35).

El cáncer es un problema global y no, como a veces se piensa, limitado a las naciones industriales. Hay estimados, 5.9 millones de nuevos casos anualmente en todo el mundo (24). Es por esto que es una de las causas más importantes de muerte.

El cáncer se presenta cuando una célula pierde los mecanismos para regular su crecimiento, continuando así su proliferación y propagación en forma incontrolable, para finalmente destruir al organismo (12, 40).

Existen diferentes factores que originan la formación de cáncer, siendo principalmente de carácter ambiental. La evidencia más directa para la carcinogenicidad de factores ambientales es un incremento en la incidencia de cáncer en animales expuestos a esos factores (24, 37). Esta exposición nos muestra que diferentes factores no relacionados o semejantes pueden causar cáncer. Estos factores pueden ser virus, radiación ionizante y ultravioleta y una gran variedad de agentes químicos, así como la presencia de productos de oncogenes. Se ha visto que estos factores pueden llegar a causar daño al ADN de las células al producir cambios en su estructura, por lo tanto no va a existir una respuesta a las señales de control de su crecimiento.

En medicina veterinaria han destacado por su frecuencia (Cuadro 1) los siguientes tumores (20):

ESPECIE	ELEVADA	MODERADA
PERRO	Tumor de células basales	Tumor del cuerpo aórtico
	Adenocarcinoma	Hemangioma cutáneo
	Linfoma	Carcinoma hepático
	Leucemia	Lipoma cutáneo
	Mastocitoma	Osteosarcoma
	Melanoma	Tumor venéreo transmisible
	Adenoma perianal	
	Sarcomas cutáneos	
	Tumores testiculares	
	(tumor de células de Sertoli)	
GATO	Linfoma	Carcinoma cutáneo
	Leucemia	Carcinoma oral
	Tumor de células basales	Osteosarcoma
	Adenocarcinoma	

Tomado de: Veterinary Cancer Medicine. Theilen, G. H. and Madewell, B. R. (1987)
Anatomía Patológica General Veterinaria. Thomson, R.G. (1984)

CUADRO 1

Actualmente, se cuenta con una vasta información sobre las causas y los diferentes tipos de cáncer, donde se originan, su comportamiento y su pronóstico, pero desafortunadamente se sabe muy poco sobre su tratamiento, el cual sería un factor predominante para aumentar la vida de cualquier ser vivo. Es por esto que se le debe dar una mayor importancia al desarrollo de nuevos fármacos antineoplásicos con mayor especificidad y efectividad, así como de menor toxicidad.

TRATAMIENTOS ANTINEOPLÁSICOS.

Durante muchos años el tratamiento del cáncer se ha basado en tres formalidades que son: el tratamiento quirúrgico, radioterapia y quimioterapia. En la actualidad se han

descubierto y se están utilizando otras formas que son la inmunoterapia, la hipertermia, la hipotermia, la hormonoterapia (14, 17, 22), así como otros que se encuentran en fase experimental como la terapia génica, la utilización de fotosensibilizadores, terapia de radiosensibilizadores y radioprotectores, la radioterapia con partículas densamente ionizantes y la radioterapia intraoperatoria (5).

La inmunoterapia consiste en utilizar al sistema inmune o a sus componentes para controlar o destruir a las células cancerígenas a través de su estimulación con la utilización de diferentes agentes inmunoterapéuticos. Estos agentes pueden ser de origen biológico (bacterias, interferón, factor de transferencia, antígenos de células malignas, etc.) o sintético (levamisol, imexol, azimexon, etc.). El levamisol produce daño indirecto a las células neoplásicas al estimular la fagocitosis, la transformación de linfoblastos y acelerar las reacciones de hipersensibilidad. Por otro lado, el imexol y azimexon que pertenecen a la clase de compuestos llamados 2-cinaraciridinas, actúan estimulando ciertos componentes del sistema inmune (5).

La hipertermia se basa en aumentar la temperatura de todo el cuerpo o solamente de ciertas regiones que presentan crecimiento tumoral. Existe evidencia de que la parte interna de un tumor presenta un pH bajo, poca disponibilidad de nutrientes y de oxígeno, por lo tanto su inactivación es más rápida cuando existe un aumento de la temperatura. Por otra parte, se ha visto que el calor acentúa los efectos de radiación y de muchos agentes quimioterapéuticos por medio de diferentes mecanismos.

Los fotosensibilizadores, radioprotectores y la radioterapia intraoperatoria se utilizan en forma conjunta con la radiación para potencializar su efecto sobre las células tumorales.

Todos los nuevos tratamientos dependen de pruebas terapéuticas para investigar sus eficacias en el humano, por lo tanto el método científico debe ser aplicado cautelosamente en el diseño de dichas pruebas, y debe permitir una mayor evaluación de nuevos tratamientos.

Por otra parte, la cirugía es el tratamiento más antiguo contra el cáncer y hasta hace poco tiempo era la única modalidad para curar esta enfermedad. En la actualidad esta forma

de tratamiento es útil solamente cuando el tumor es sólido y se encuentra localizado en su sitio anatómico de origen, por el contrario, cuando se presenta metástasis, se debe recurrir a otros tipos de tratamiento como lo son la radioterapia o la quimioterapia, o la combinación de ambos, logrando buenos resultados (5).

El tratamiento de una neoplasia maligna con radioterapia se basa en detener o erradicar a las células malignas por medio de radiaciones que son producidas a partir de núcleos atómicos radioactivos, pero su utilidad disminuye cuando las células neoplásicas se diseminan a otros sitios del organismo y establecen nuevos focos de crecimiento (metástasis) (12).

El tratamiento antineoplásico en medicina veterinaria no se utiliza de manera semejante, dado que el único recurso del que el clínico veterinario hecha mano es la cirugía y sólo en ocasiones especiales la quimioterapia. No obstante la combinación de ambos tratamientos se ha incrementado.

Aunado a esto, los esquemas de tratamiento y dosificación en el uso humano y veterinario en ocasiones difieren, ya que se ha visto que las respuestas de toxicidad en el humano regularmente no son tan agresivas en los animales al utilizar compuestos químicos, y que incluso se pueden emplear dosis menores obteniéndose un resultado favorable. (14, 21)

Debido a que, al igual que en medicina humana, existen ciertos tipos de tumores en los animales que no son curables por medio de los tratamientos comunes, recientemente se han empleado nuevas formas de tratamiento a nivel veterinario como lo es la hipertermia, y que al combinarlo con la radioterapia resulta en una técnica útil para el manejo de ciertos tumores malignos (22, 39).

La utilización de compuestos químicos como terapéuticos en el cáncer ha presentado resultados alentadores, debido a que estos tipos de compuestos pueden influir todos los sitios de una enfermedad metastásica (19, 25).

III. ANTECEDENTES

QUIMIOTERAPIA.

En 1898, Paul Ehrlich descubrió el primer agente alquilante (arsfenamina) que sería aplicado en el tratamiento de neoplasias en humanos, 50 años después de ser descubierto (27).

La búsqueda de nuevos fármacos que presenten un efecto positivo en el tratamiento anticancerígeno ha llevado al desarrollo de una amplia variedad de compuestos.

Una clase de compuestos que han llamado la atención son aquellos que presentan base de metal, los cuales incluyen mercurio, arsénico, oro y platino. Incluso ciertos tipos de cáncer se comenzaron a considerar curables por la vía de la quimioterapia a partir de la incorporación de estos compuestos a la terapia del cáncer (3).

A pesar de que varios compuestos con diferente base metálica han demostrado actividad citostática, aquellos a base de platino han tenido buenos resultados (24).

En 1965, el Dr. Barnett Rosenberg, un biofísico, se encontraba investigando el efecto de la corriente eléctrica en la motilidad de la bacteria y notó que la motilidad no sólo cesó, sino que la bacteria formó cadenas filamentosas. Después de varios estudios se estableció que el agente responsable de la inhibición del crecimiento fue el *cis*-diamino-dicloroplatino II (DDP) (24). Para 1969, en estudios siguientes se estableció la actividad antitumoral del cisplatino en modelos tumorales animales experimentales. Para 1972 el cisplatino fue sometido por el National Cancer Institute a pruebas clínicas. No fue hasta 1983 que el DDP se convirtió en uno de los compuestos anticancerígenos más utilizados (26).

El cisplatino es un compuesto con centro metálico que ha sido utilizado en gran forma, pero se ha reportado su toxicidad a diferentes niveles, lo cual nos hace llegar a la búsqueda de nuevos compuestos que sean menos tóxicos, e incluso de menor costo.

Los efectos tóxicos del cisplatino incluyen nefrotoxicidad (siendo la mayor limitante para dosificar), náusea y vómito, mielosupresión, inmunosupresión y ototoxicidad. A nivel histológico se ha observado que produce adelgazamiento de la cápsula de Glisson del hígado así como necrosis de los túbulos contorneados proximales en riñón.

A nivel circulatorio también se produce toxicidad, ya que este compuesto produce una deficiencia de magnesio. Debido a que el magnesio es un elemento importante para el mantenimiento de el tono del músculo liso vascular, la alteración en sus niveles puede tener un marcado efecto en la vasculatura (24).

A nivel de médula ósea este compuesto induce toxicidad hematológica: leucocitos, plaquetas y eritrocitos, los cuales se recuperan después de finalizar el tratamiento.

Este efecto está relacionado con la dosis y programa de tratamiento utilizado. Por otra parte, la presencia de anemia se puede explicar con el propósito para el que se dirigió este compuesto, que es afectar a las células en división.

En sistema nervioso si el tratamiento es continuo se puede presentar ataxia, alteraciones al caminar y pérdida de la habilidad manual. Estos signos son causados por la pérdida de la propiosepción.

A nivel periférico se han visto signos que son el resultado de una desmielinización del tracto nervioso, lo cual puede ser otra limitante de dosis-toxicidad.

En un estudio ultraestructural realizado en ratas con análogos del cisplatino, los cuales se administraron intraperitonealmente en diferentes dosis, produjeron hepatotoxicidad significativa. En el riñón se observaron lesiones a nivel de túbulos contorneados proximales y distales. En el bazo no se observó ningún cambio con excepción de la mitocondria la cual presentaba degeneración por la presencia de cuerpos lamelares (26).

QUIMIOTERAPIA ANTICANCERÍGENA EN MEDICINA VETERINARIA.

Para el cernimiento de fármacos con potencial antineoplásico (2) el Cancer Chemotherapy National Service Center del National Cancer Institute (NCI) estipula el desarrollo de pruebas para la determinación de dosis letal aguda en mamíferos superiores como el perro, el gato y el mono. Aunque este paso se contempla como esencial para que el medicamento pueda ser sometido a análisis en pruebas clínicas controladas en el humano, desde la perspectiva veterinaria resulta congruente pensar que más que una prueba de toxicidad se puede extender la intención de probarlo en animales para llevar el análisis a nivel clínico. Esta idea no es original ya que desde los inicios del cernimiento de quimioterapia experimental se ha contemplado a los tumores espontáneos en animales como un modelo viable e idóneo para la evaluación de actividad antineoplásica (6).

Existe un gran número de compuestos disponibles en la quimioterapia, pero fue a través de los efectos tóxicos que los agentes anticancerígenos recientes fueron descubiertos y la era de la quimioterapia comenzó. La toxicidad continúa teniendo una mayor influencia en la forma en que estos compuestos contra el cáncer son utilizados. Los principales cambios que produce un agente quimioterapéutico en general son, en forma aguda a nivel gastrointestinal como anorexia, vómito y diarrea, supresión de la médula ósea y del sistema inmune, así como anafilaxia y cambios en sistema urinario. De forma crónica se presentan daños principalmente a nivel cardiaco.

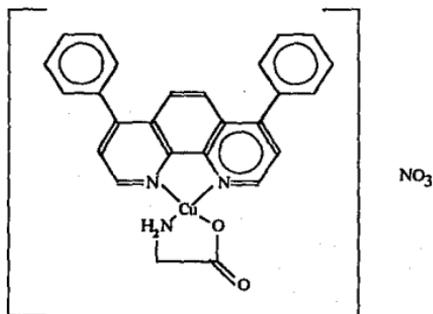
Es por esta razón que se continúa con la búsqueda de nuevos compuestos con gran potencial anticancerígeno pero que presenten una baja toxicidad para evitar efectos secundarios graves, así como de menor costo y que no presente resistencia cruzada (24).

En la Facultad de Química de la UNAM, bajo la dirección de la Dra. Lena Ruiz, se han diseñado y sintetizado un nuevo grupo de compuestos de coordinación que reciben el

nombre de casiopeínas^{®1}, las cuales han sido sometidas a múltiples pruebas (30, 33, 34) de acuerdo con las normas internacionales de evaluación de fármacos con potencial anticancerígeno (2, 6).

Es necesario señalar que el costo estimado para producir un gramo de casiopeína I[®] es menor en relación a otros como el cisplatino siendo este de \$ 124 mientras que para la casiopeína I es de \$ 28 USD siendo la más cara de las casiopeínas.

En este trabajo se llevó a cabo el estudio con casiopeína[®] I que como ya se mencionó es un compuesto de coordinación que tiene como centro metálico al cobre. Un compuesto de coordinación es una molécula que tiene metal (especie aceptora de pares electrónicos) y 1 ó varios ligantes (especie donadora de pares electrónicos). En el caso de la casiopeína[®] I (Figura 1) se muestra su fórmula estructural a continuación:



Fórmula mínima: $\text{CuC}_{26}\text{N}_4\text{O}_5$

FIGURA 1

¹Patente de la Dirección General de Invencciones, Marcas y Desarrollo Tecnológico (SECOFI) registro número 18801-120579 y 18802-120580, USA Patent number 5-107.005 (1992), CEE en trámite, Japón en trámite.

A la fecha tres de ellas denominadas casiopeína[®] I, II y III han cubierto con suficiente magnitud de actividad, las siguientes pruebas:

1.- Evaluación citostática *in vitro* sobre cultivo de linfocitos humanos sanos, con resultados comparables e incluso superiores a la mayoría de los quimioterapéuticos de uso comercial. (28)

2.- Evaluación antineoplásica *in vitro* empleando clones tumorales humanos de cáncer cérvico-uterino de pacientes del Instituto Nacional de Cancerología (INCan), obteniéndose resultados comparables a la actividad de la Mitomicina C y cisplatino (9).

3.- Evaluación citostática *in vivo* empleando el método de intercambio de cromátidas hermanas en el ratón. Este tipo de experimentos se encuentran en una fase inicial, pero los resultados que se obtengan nos darán indicio no sólo de su actividad citostática, sino también sobre su mecanismo de acción (29).

4.- Pruebas de potencial mutagénico *in vitro*. Estas pruebas hasta el momento han mostrado una baja actividad mutagénica, y cabe mencionar que algunas de las drogas han mostrado una marcada actividad bactericida (9).

5.- Pruebas para evaluar mutaciones somáticas en *Drosophila melanogaster*. Los resultados de los ensayos mutagénicos *in vitro* e *in vivo* muestran ligera actividad mutagénica de estos compuestos (4).

6.- Pruebas de actividad antineoplásica *in vivo* empleando los modelos tumorales murinos recomendados por el National Cancer Institute, USA (16). Los resultados en este panel de evaluación son muy alentadores ya que algunas casiopeínas[®] sobrepasan por mucho los requerimientos exigidos por los protocolos internacionales e incluso, dependiendo de la casiopeína[®] de elección así como del esquema de tratamiento y dosis empleada, se han logrado remisiones totales y sobrevidas que van hasta un 200% (10, 18, 15).

7.- Interacción de estos compuestos con DNA lineal y superenrollado evaluada a través de electroforesis en gel (31).

8.- Farmacocinética básica de casiopeína[®] I, II y III en ratones y ratas. Este trabajo nos permitió conocer la concentración del compuesto en los sitios de acción así como la intensidad de sus efectos en función del tiempo para cada uno de los compuestos para así poder determinar su comportamiento en el organismo. Los resultados obtenidos a partir de las muestras en ratones indican que los órganos con mayor retención en los tres compuestos son bazo y riñón (13).

9.- Cardiotoxicidad y ototoxicidad. Estas pruebas se encuentran en el inicio de su desarrollo y han sido diseñadas para poder determinar el efecto de las casiopeínas[®] en órganos de suma importancia como lo es el corazón. y por otro lado, en base a los efectos de toxicidad que se han observado en el oído en el tratamiento con cisplatino (26) se ha decidido estudiar este otro efecto con casiopeínas[®] en ratones.

El presente trabajo forma parte de un proyecto multidisciplinario llamado "Desarrollo de Anticancerígenos" integrado por diferentes instituciones: Facultad de Química, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Instituto de Fisiología Celular, Centro para la Innovación Tecnológica que pertenecen a la UNAM, así como el Instituto Nacional de Cancerología, Instituto de Investigaciones Nucleares y otras colaboraciones a nivel internacional.

El proyecto consta de diferentes etapas de las cuales parte ya se han llevado a cabo y en la actualidad se continúa con el desarrollo de etapas siguientes. (Figura 2).

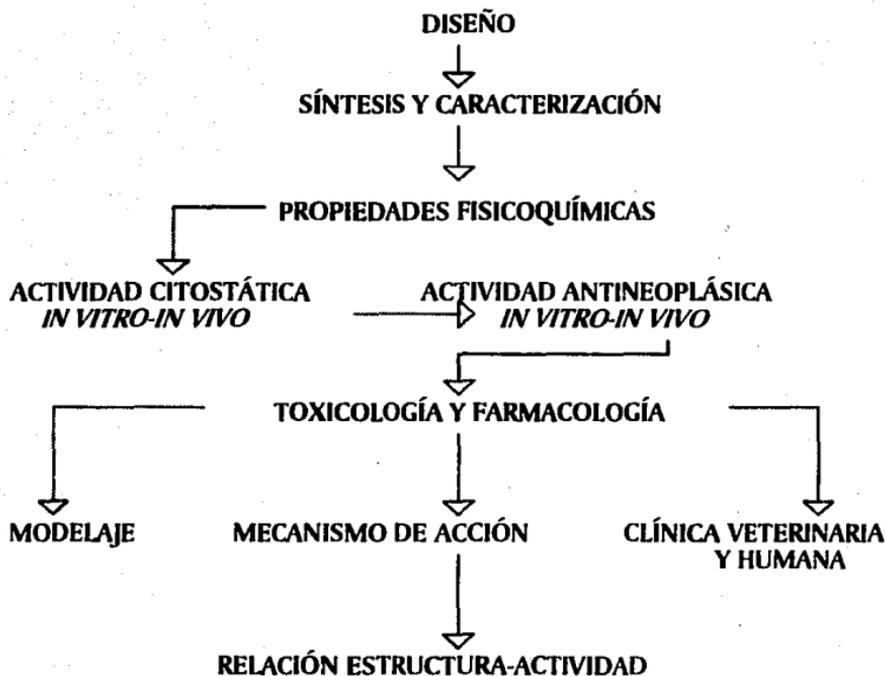


FIGURA 2

Los resultados de estos experimentos en conjunto han propiciado el comienzo de los estudios toxicológicos, así se obtuvieron las dosis letales agudas 50 (DL 50) de estas tres casiopéfnas[®] en ratón (7), y recientemente, se llevó a cabo la evaluación de la toxicidad aguda de la casiopéfnas[®] I en perros (8) con resultados alentadores, ya que una dosis tóxica por vía intavenosa rápida no lo es cuando se aplica intravenosa lenta. Así pues los resultados obtenidos hasta esta fecha resultan prometedores para el ámbito clínico, por lo

que se ha decidido llevar a cabo un estudio histopatológico de la acción de la casiopefina® I administrada intraperitonealmente a diferentes dosis y tiempos de sacrificio, ya que esta vía de administración debe ser utilizada antes que cualquier otra para la evaluación preclínica y toxicológica de cualquier fármaco de acuerdo al programa del Cancer Chemotherapy National Service Center (CCNSC) (2), además de que la toxicidad en tejidos normales limita la dosis y frecuencia de administración de cualquier medicamento, siendo los órganos y tejidos comúnmente afectados aquellos que tienen una rápida división celular (35). Esto ocurre debido a que los compuestos antineoplásicos comúnmente usados fueron seleccionados inicialmente por su habilidad de matar células de rápida división. La histología es una herramienta con suma importancia para la determinación a nivel microscópico de lesiones producidas al administrar en este caso, casiopefina® I, lo cual nos da un indicio del tipo de tejido que presenta daño así como el grado de afectación. Esto nos permitirá establecer la presencia de toxicidad, la cual es un efecto clave para el desarrollo de nuevos compuestos con actividad antineoplásica. Se espera que estos datos permitan tener mas bases para extrapolar su uso a los seres humanos, incluso para poder establecer protocolos para el tratamiento de tumores espontáneos en los animales.

IV. HIPÓTESIS

Se pueden determinar las posibles lesiones por medio de un estudio macro y microscópico de diferentes órganos y tejidos (encéfalo, corazón, riñones, pulmones, hígado, bazo, intestino delgado y grueso, peritoneo, órganos reproductores, músculo esquelético, médula espinal y piel) al administrar casiopeína[®] I vía intraperitoneal en diferentes dosis y tiempos de sacrificio en ratones de la cepa NIH.

V. OBJETIVO

Por medio un estudio macro y microscópico determinar las posibles lesiones producidas al administrar casiopeína[®] I intraperitonealmente en diferentes dosis y tiempos de sacrificio en ratones de la cepa NIH.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Animales.

Se utilizaron 36 ratones hembras de la cepa NIH con un peso aproximado de 25 g con una variación de ± 3 g y una edad promedio de 10 semanas con una variación de ± 2 días los cuales fueron alojados en cajas de policarbonato con una superficie de 28 x 28 x 13 cm con portafiltro de acero inoxidable y filtro. Se mantuvieron con agua acidificada a un pH de 2.5 a 3 y alimento peletizado marca Blue Bonnet *ad libitum* y con ciclos de luz-obscuridad de 12-12 horas (36).

Diseño experimental.

Los 36 ratones fueron numerados por medio de muescas en la oreja y se repartieron aleatoriamente en 8 grupos de acuerdo a los tiempos de sacrificio: 45, 90 min., 3, 6, 12, 24, 48, y 72 horas post-inyección, y a las dosis administradas: 8, 12, 16 y 20 mg/kg. las cuales se calcularon de acuerdo a la DL50 que es de 12.86 mg/kg. Se formó un grupo control de 4 animales. Estos grupos quedaron formados de la siguiente manera:

		GRUPO								
		1	2	3	4	5	6	7	8	Control 4
		TIEMPO								
		45 min	90 min	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	
DOSIS	8 mg/kg	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	12 mg/kg	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16 mg/kg	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	20 mg/kg	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Una vez que se asignaron las dosis y tiempos de sacrificio se procedió con la preparación de la casiopeína[®] I haciendo los cálculos correspondientes obteniendo una concentración de 0.44 mg en 1 ml.

Ya obtenida la cantidad de miligramos de casiopeína[®] I que se requirieron, se procedió con el pesado de los animales para obtener las dosis correspondientes y hacer la conversión a mililitros a administrar con una simple regla de tres.

Posteriormente se solubilizó la casiopeína[®] I utilizando 3% de etanol absoluto. Una vez disuelta se aforó con agua bidestilada hasta obtener el volúmen de 25 ml en una proporción 3:100 respectivamente. La casiopeína[®] I se prepara en el momento antes de ser administrada para evitar alguna descomposición causada por el vehículo utilizado con el paso del tiempo.

Después fue inoculada a cada animal vía intraperitoneal y se alojaron en jaulas de acuerdo a la dosis que se les administró. Los animales que no murieron antes del tiempo indicado se sacrificaron por dislocación cervical de acuerdo al tiempo ya establecido para llevar a cabo el estudio patológico.

Necropsia y toma de muestras.

Los ratones muertos se colocaron en posición de cúbito dorsal sobre una charola de disección y se sostuvieron por las cuatro patas con alfileres. Se humedeció la parte ventral con alcohol y se incidió abriendo cavidad abdominal y torácica para observar y describir las lesiones macroscópicas.

Posteriormente fueron disecados y recolectados los siguientes órganos y tejidos: encéfalo, corazón, pulmones, hígado, riñones, bazo, intestino delgado y grueso, peritoneo, órganos reproductores, músculo esquelético, médula espinal y piel, los cuales

se fijaron en formalina amortiguada al 10% en una proporción órgano: formol de 1:10, durante 1 semana.

Una vez fijados, se procedió a realizar un corte pequeño de cada órgano para su inclusión en cápsulas y ser procesadas por el método de inclusión en parafina para posteriormente hacer cortes de 5 µm, tñirse con la tinción de rutina Hematoxilina-Eosina y ser observados al microscopio óptico. Se realizaron tinciones especiales en los casos necesarios (1).

La evaluación cualitativa de las lesiones se realizó por medio de la elaboración de una base de datos para poder examinar el tipo de lesión y saber a qué dosis y tiempo de sacrificio pertenecía, donde se señaló la intensidad de la lesión en tres grados:

- + discreto
- + + moderado
- + + + severo

Metodología estadística.

Con los resultados obtenidos se hicieron tablas de contingencia a partir de la base de datos en el programa Quattro Pro para windows versión 5.0, 1993, para PC, donde la condición se refiere a la intensidad de la lesión y la frecuencia a las veces que se presenta la misma. Posteriormente estas tablas se sometieron al análisis estadístico con la ayuda de el programa Statistical Analysis Systems (S.A.S.) empleando toda la estadística no paramétrica que ofrece este programa (ver anexo estadístico).

VII. RESULTADOS

Al administrar casiopéna[®] I se observaron cambios patológicos tanto a nivel macroscópico como microscópico en los 32 ratones tratados.

En los 4 animales control no se observaron cambios a nivel macroscópico, sin embargo, microscópicamente se observaron cambios principalmente en riñón e hígado en grado discreto, los cuales se encuentran descritos en el cuadro 2.

Posterior a la inoculación del compuesto, se observó postración y/o pasividad en todos los ratones, aglomerándose en las esquinas de las jaulas; en contraste, los ratones del grupo control se observaron activos con un consumo de alimento aparentemente normal. El comportamiento anormal de los ratones tratados se observó durante las primeras 16 horas posterior a la inoculación. Después de este tiempo hay una recuperación de su actividad normal.

De los 32 animales tratados, 4 murieron dentro de las primeras 3 a 8 horas post-inoculación, antes del tiempo de sacrificio ya establecido. Estos ratones corresponden a los grupos 6, 7 y 8:

<u>Grupo</u>	<u>Tiempo de sacrificio</u>	<u>Dosis</u>	<u>Muerte post-inoculación</u>
6	24 hrs.	20 mg/kg	7 hrs.
7	48 hrs.	20 mg/kg	8 hrs.
8	72 hrs.	16 mg/kg	7 1/2 hrs.
8	72 hrs.	20 mg/kg	3 1/2 hrs.

En los 4 animales antes mencionados se hallaron las siguientes lesiones macroscópicas:

- Cianosis en mucosas
- Congestión general
- Edema pulmonar
- Isquemia en diafragma
- Hemorragia en la punta de los dedos

Además de estos cambios, también presentaron congestión general, presencia de líquido serosanguinolento en cavidad torácica y abdominal, hidrotórax, edema en hígado y pulmones, nódulos blancos en tracto intestinal e isquemia en tracto digestivo y en los bordes del hígado.

Los cambios patológicos observados macroscópicamente en los 28 ratones restantes también tratados son principalmente congestión general, presencia de líquido serosanguinolento en cavidad torácica y abdominal, hidrotórax, edema en hígado y pulmones, nódulos blancos en tracto intestinal e isquemia en tracto digestivo y en los bordes del hígado. (Cuadros 3 al 10).

Las lesiones macroscópicas observadas fueron evaluadas microscópicamente (Cuadros 11 al 18 y Figuras 3 a la 10), de las cuales los hallazgos histológicos más frecuentes se resumen a continuación:

ÓRGANO	LESIÓN	No. Ratones	No. Ratones
		tratados que la presentaron	control que la presentaron
RIÑÓN	Congestión moderada cortical	6/32	0/4
CEREBRO	Congestión moderada difusa	5/32	0/4
	Edema moderado difuso	5/32	0/4
CEREBELO	Congestión moderada difusa	4/32	0/4
MENINGES	Congestión moderada difusa	3/32	0/4
PULMÓN	Congestión moderada-severa difusa	10/32	0/4
BAZO	Megacariocitos moderado-severo difuso	13/32	0/4
	Congestión moderada-severa difusa	7/32	0/4
HÍGADO	Degeneración hidrópica moderada perivascular	4/32	0/4
	Congestión moderada difusa	6/32	0/4
	Necrosis de cápsula ligera difusa	7/32	0/4
PERITONEO	Inflamación supurativa ligera-moderada multifocal	18/32	0/4
INTESTINO DELGADO	Serositis supurativa ligera-moderada focal	5/32	0/4

CUADRO 1-A

En los cuadros 19, 20, 21 y 22 se muestran estas lesiones donde podemos apreciar el grado de lesión. Estos hallazgos se observaron principalmente en los ratones de los grupos 6, 7 y 8 de las dosis 20 mg/kg, 20 mg/kg y 16 y 20 mg/kg respectivamente, con un grado de lesión de moderado a grave.

Se realizó un estudio citológico del líquido presente en cavidad torácica (Figura 11) en 3 de los ratones, en los que se observó:

Se realizó un estudio citológico del líquido presente en cavidad torácica (Figura 11) en 3 de los ratones, en los que se observó:

- Linfocitos + +
- Macrófagos +
- Polimorfonucleares +
- Glóbulos rojos + + +

De el cuadro anterior, se seleccionaron aquellas lesiones que mostraron ser diferentes al grupo control con una significancia \leq a 0.102, las cuales fueron:

ÓRGANO	LESIÓN	SIGNIFICANCIA
PULMÓN	Congestión	0.068
BAZO	Megacariocitos	0.023
HÍGADO	Degeneración hidrópica	0.102
	Necrosis de cápsula	0.045

VIII. DISCUSION

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo, se observó que al administrar casiopeína[®] I intraperitonealmente en ratones, se producen cambios patológicos de tipo circulatorio los cuales fueron identificados a la observación tanto macroscópica como microscópica. Los principales hallazgos fueron de tipo vascular presentándose en la mayoría como hemorragias, congestión y edema (ascitis e hidrotórax), siendo mas evidente en los ratones pertenecientes al grupo 6 y 8 de dosis 16 y 20 mg/kg, sin embargo cabe mencionar que, en el grupo 5 y 7 también se observaron estos hallazgos. La ascitis se presentó en 5 ratones: 2 del grupo 3 (8 y 16 mg/kg), 1 del grupo 5 (12 mg/kg), 1 del grupo 6 (8 mg/kg) y 1 del grupo 8 (20 mg/kg). Por otra parte, el hidrotórax se observó en 9 ratones, de los grupos 2, 3, 5, 6 y 7 en diferentes dosis. Cabe mencionar que los ratones del grupo 8 de dosis 16 y 20 mg/kg presentaron las lesiones circulatorias más generalizadas, además de que estos murieron 7 horas post-inoculación, siendo establecidas 72 horas para su sacrificio. Los cambios macroscópicos observados en los ratones que murieron antes del tiempo de sacrificio ya establecido, como cianosis de mucosas, edema pulmonar y congestión generalizada, corresponde a los cambios circulatorios, lo cual se relaciona con los signos post-inoculación registrados con base en la experiencia del observador como son: cambios en la frecuencia respiratoria, baja en la temperatura corporal y el consumo de alimento fue nulo. Cabe mencionar que con otros quimioterapéuticos, en forma aguda, también se presentan los signos antes mencionados (25); además de diarrea y vómito, los cuales no fueron observados con casiopeína[®] I.

La inflamación supurativa que se observó en serosas de intestino delgado e hígado, así como en peritoneo, grasa periuterina, peripancreática y mesentérica, se puede deber a la irritación directa que causa el compuesto al ser inoculado intraperitonealmente, el cual, al ser un cuerpo extraño en el tejido, produce un reacción inflamatoria aguda confirmada por la presencia de células polimorfonucleares (12, 32).

Por otra parte, los animales de los grupos 1 y 3 presentaron notoria atrofia linfoide, así como hiperplasia linfoide en los grupos 1 y 4. La atrofia de los nódulos linfoides del bazo se puede deber al requerimiento de células causado por una respuesta inmunitaria a la sustancia, sin embargo el tiempo que transcurre a partir de la inoculación hasta el sacrificio que es de 3 días como límite, la respuesta inmune no ha alcanzado su máxima expresión, por lo que hasta el momento se desconoce la causa de este daño. Cabe señalar que los animales del grupo control no la presentaban.

En tejido linfoide la mayoría de los compuestos quimioterapéuticos producen, en forma aguda, inmunosupresión y mielosupresión, propiciando la presentación de una eritropoyesis extramedular, lo cual se puede observar al haber una movilización de células hematopoyéticas como lo son los megacariocitos presentes en el bazo. La eritropoyesis extramedular se observa normalmente en el bazo de los ratones en forma ligera (11). En los animales tratados con casiopeína I se presenta en grado moderado a severo, por lo que es posible que el compuesto contribuya al aumento de megacariocitos. Esto nos puede explicar en cierta medida la presencia de estas células en mayor número.

Otro hallazgo relevante fue la degeneración hidrópica en células epiteliales alrededor de vena central hepática, esta es una lesión reversible que se presenta al haber hipoxia celular (32), la cual se manifestó en 16 ratones, de los grupos 1, 2, 3, 4, 6, 7 y 8 de grado moderado a grave. Es posible que este relacionada con el método de sacrificio debido a que también se observó en 1 ratón del grupo control, no obstante, probablemente al administrar casiopeína[®] I, se vea acrecentada por los cambios circulatorios al igual que la vasodilatación observada en el hígado en los grupos 5 de 20 mg/kg, en el 6 de 8, 12 y 20 mg/kg y en el 8 de 8, 12 y 20 mg/kg.

Al haber realizado el análisis estadístico se obtuvieron como lesiones significativas únicamente: congestión en pulmón, megacariocitos en bazo, degeneración hidrópica y necrosis de cápsula en hígado. A pesar de que solamente resultaron estadísticamente

significativas las 4 lesiones anteriores, es importante señalar que casuísticamente a partir de un análisis visual de las lesiones microscópicas, las señaladas en el cuadro I-A se deben tomar en cuenta ya que en su mayoría se observaron en los 4 ratones que murieron dentro de las primeras 3 a 8 horas post-inoculación, y con un grado de lesión de moderado a severo, mientras que si estas lesiones se llegaron a observar en los ratones control, fué en forma ligera, lo cual se considera como normal (11).

Como ya se mencionó, los principales hallazgos tanto macroscópicos como microscópicos nos indican que existe una alteración a nivel circulatorio. Es posible que la casiopéina[®] I también altere las concentraciones de magnesio o de algún otro elemento, dando como resultado estos cambios, sin embargo en el presente trabajo este estudio no fue realizado.

A partir de un análisis casuístico podemos determinar que el principal cambio circulatorio como lo fue la congestión en un grado moderado, se presenta principalmente en pulmón en 8 ratones; riñón y bazo en 7 ratones en cada órgano, y en forma secundaria en hígado y cerebro en 6 ratones en cada órgano.

La mayoría de los hallazgos patológicos mencionados en este trabajo concuerdan con los observados en el estudio de toxicidad aguda de casiopéina[®] I en perros, donde los principales hallazgos fueron insuficiencia pulmonar causada por edema pulmonar, lo cual dio como resultado una hipoxia cerebral. Otras lesiones también observadas fueron degeneración hidrópica centrilobulillar en hígado, congestión moderada difusa en miocardio, atrofia de los nódulos linfoides del bazo y esponjosis en sustancia gris de encéfalo.

Los hallazgos histológicos así como las manifestaciones clínicas son similares a los observados en el cisplatino, incluso se consideran de menor grado de severidad.

Consideramos la importancia de realizar otros estudios como biometrias hemáticas, gasometría, toxicidad crónica, alteración de niveles de elementos esenciales en sangre, análisis histopatológico de médula ósea y otros tipos de estudios que nos confirmen los

cambios circulatorios observados para así poder aplicar su uso como un tratamiento quimioterapéutico anticancerígeno tanto en la clínica humana como en la clínica veterinaria.

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir:

- La casiopeína[®] I administrada por vía intraperitoneal produce principalmente trastornos a nivel circulatorio.

- La lesión más evidente en sistema circulatorio es la congestión en un grado moderado.

- Los órganos blanco afectados por la casiopeína[®] I administrada intraperitonealmente son: pulmón, riñón y bazo. En forma menos extensa en hígado y cerebro.

- Debido a que la magnitud de la lesión es moderada se cree que estos cambios serán reversibles, una vez suspendida la aplicación del compuesto.

X. LITERATURA CITADA

- 1.- Armed Forces Institute of Pathology: Manual of Staining Methods. *Lee G. Luna*, Washington, 1968.
- 2.- Bush H.: Preclinical methodology for the selection of anticancer agents. *Meth. Cancer Res.*, 1: 7 (1967).
- 3.- De La Garza S. J., Gallardo R.D. y Adel A.A. y Juarez S.P.: Semblanza Histórica de los Agentes Antineoplásicos. Cáncer y Quimioterapia. (memorias). México, D:F: 1992: 21-33. *Sociedad de Química de México*, Facultad de Química, Instituto Nacional de Cancerología. México (1992).
- 4.- De La Rosa, M.E. and Gracia, M.I.: Mutagenic Activity of Casiopeine in *Drosophila* XXth EEMS Meeting. (memories). York, Inglaterra. 1990: 22-27. *Academic Press*, USA (1990).
- 5.- De Vita, T.V., Hellman. S. and Rosenberg, S.A. : Cancer Principles and Practice of Oncology. *J.B. Lippincott Company*, 1982, USA.
- 6.- Geran, Greenberg, Macdonald and Abott : Protocols for in vivo Screening Systems. *National Cancer Institute*, 1987.
- 7.- Gomez, D.E.: Determinación de Toxicidad Aguda de la Casiopeína® I en perros. Tesis de licenciatura: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1992.

8.- Gomez-Ruiz C. y Ruiz-Ramirez L. y Gracia-Mora I.: Quimiosensibilidad *in vitro* en Células de Cáncer Cérvico-uterino por Efecto de Casiopefnas[®] I, II y III. Las Jornadas Médicas en Cáncer. (memorias). México, D.F.: 1993: *Instituto Nacional de Cancerología*. México (1993).

9.- Gracia-Mora I. and Ruiz-Ramirez L.: The Antitumor Activity of Several Transmission Metal Complex, *J. of Inorg. Biochem.*, 43:2-3 (1991).

10.- Gracia-Mora I. y Ruiz-Ramirez L.: Antineoplastic Effect of Several Transmission Metal Complexes. Fourth Chemical Congress of North America. (memories). New York 1991: 25-30. *Academic Press*, USA (1991).

11.- Gude, W.D., Cosgrove, G.E. and Hirsch, G.P. : *Histological Atlas of the Laboratory Mouse*. *Plenum Press*, New York, 1982.

12.- Ham, A.W. : *Tratado de Histología*. 8a ed. *Interamericana*, México, 1983.

13.- Hecht, A. M., Guevara, F. L., Ruiz, R. L., Gracia, M. I., Sumano, L. H., Saldivar, L., Tinoco, M. M. y Quiroz, R. G. : *Farmacocinética de Medicamentos Antineoplásicos en ratón*. VII Congreso Nacional Estudiantil de Investigación en el Area de Salud. (memorias) México, D.F. 1994.

14.- Helfand, S. C. : Principles and Applications of Chemotherapy. *Vet. Clin. of North Am. Small An. Prac.*, 20: 987-1013 (1990).

- 15.- Huerta, C. M. : Evaluación Antineoplásica de Nuevos Complejos de Coordinación Empleando el Modelo Tumoral Murino Sarcoma S 180. Tesis de licenciatura. Q:F:B:, *Facultad de Ciencias Químicas*, Universidad Veracruzana, 1992.
- 16.- Kallman, R. F. : Rodent Tumor Models in Experimental Cancer Chemotherapy. *Pergamon Press*, Canada, 1987.
- 17.- McEwen, E. G. : Biologic Response Modifiers: The Future of Cancer Therapy. *Vet. Clin. of North Am. Small An. Prac.*, 20: 1055-1073 (1990).
- 18 - Mayet C.M.: Cernimiento Antineoplásico de Nuevos Compuestos de Coordinación Empleando el Modelo Tumoral Murino Melanoma B16. Tesis de licenciatura. Q.F.B. *Facultad de Ciencias Químicas*, Universidad Veracruzana, 1991.
- 19.- Mora, M.V.: Riesgos en el Manejo Médico de Drogas Antineoplásicas. 5a Jornada Médica. (memorias). México, D.F. 1990: 23-24. *Departamento de Medicina y Zootecnia para pequeñas especies*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México (1990).
- 20.- Moulton, J.E. : Tumors in Domestic Animals. 3rd ed. *University of California Press*, Berkeley, 1990.
- 21.- Owen, L. N. : Therapeutics in Practice. Cancer Chemotherapy. *Vet. Rec.*, 118: 364-366 (1986).

- 22.- Page, R. L. and Thorall, D. E. : Clinical Indications and Applications of Radiotherapy and Hyperthermia. *Vet. Clin. of North Am. Small An. Prac.*, 20: 1025-1091 (1990).
- 23.- Pfeiffer, J. : La Célula. 2a ed. *Time Life Internacional*, México, 1981.
- 24.- Powis, G. and Hacker, M.P. : The Toxicity of Anticancer Drugs. *Pergamon Press*, USA, 1991.
- 25.- Pratt, W. and Ruddon, R.W. : The Cancer Problem: The Anticancer Drugs. *Oxford University Press*, New York, 1979.
- 26.- Prestayko, A. W., Crooke, S. T. and Carter, S. K. : Cisplatin. Current Status and New Developments. *Academic Press*, New York, 1980.
- 27.- Ruiz, R.L. : Naturaleza Química y Clasificación de los Agentes Quimioterapéuticos. Cáncer y Quimioterapia. (memorias). México, D:F: 1992: 13-20. *Sociedad de Química de México*, Facultad de Química, Instituto Nacional de Cancerología. México 1992.
- 28.- Ruiz-Ramirez L. : Cytostatic Effect of Some New Complexes. Symposium on Transition Metal-nucleotic Acid Chemistry Metal complexes and drugs (memories). New York 1986: 100-103. *Academic Press*, USA. (1987).
- 29.- Ruiz-Ramirez L. and Gracia-Mora I.: Design, Synthesis, Characterization and in vivo Antineoplastic Tests of a New Drug: Casiopefina®. 4th International Conference of Anticancer Research (memories). Creta, Grecia. 1992. *Olympus Scientist*, Grecia (1992).

- 30.- Ruiz-Ramirez L., Gracia-Mora I. y De La Rosa M.E. : Evaluación de la Actividad Antineoplásica de las Casiopeínas[®] I; II y III. IV Congreso Iberoamericano de Química Inorgánica (memorias). *Academia de México de Química Inorgánica*, 270 (1993).
- 31.- Ruiz-Ramirez L., Gracia-Mora I., Moreno-Esparza R., Cfrigo C., Tovar A. and García-Carrancá A. : Study of the Interaction Between Several Copper (II) Complexes of the Casiopeína's[®] Family with DNA. Latin-American Inorganic Chemistry Meeting (memories). Santiago de Compostela, 1993: 158. *Latin-American Inorganic Chemistry Meeting*. Santiago de Compostela, Spain (1993).
- 32.- Slauson, D.O. and Cooper, B. J. : Mechanisms of Disease. A textbook of Comparative General Pathology. 2nd ed. *Williams & Wilkins*, Baltimore, 1990.
- 33.- Solans X., Ruiz-ramirez L., Martínez, L., Gasque, L. and Moreno-Esparza, R. : Mixed Chelate Complexes. III. Structures of (L-Alaninato) (aqua) (2, 2'-bipyridine) copper (II) Nitrate Monohydrate and Aqua (2, 2'-bipyridine) (L-tyrosinato) copper (II) Chloride Trihydrate. *Acta Crystallographyca*. C 48, 1785-1788 (1992).
- 34 .- Solans X., Ruiz-Ramirez L., Martínez A., Gasque L. and Moreno-Esparza, R. : Mixed Chelate Complexes. III. Structures of L-Alaninato (aqua) (4, 7-diphenyl-1, 10-phenantroline) copper (II) Nitrite Monohydrate and Aqua (4, 7 dimethyl-1, 10-phenanthroline) (glycinato) (nitrate) copper (II) Monohydrate. *Acta Crystallographica*. C 49, 890-893 (1993).
- 35 .- Tannock F.I. y Hill R.P. : The Basic Science of Oncology. *Pergamon Press*, Canada, 1987.

36.- The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. Edited for UFAW by Trevor B. Poole. 6th edition. *Longman Scientific and Technical*. Great Britain, 1987.

37.- Theilen, G. H. and Madewell, B. R. : *Veterinary Cancer Medicine*. 2nd ed. *Lea & Febiger*, Philadelphia, 1987.

38- Thomson, R. G. : *Anatomía Patológica General Veterinaria*. 2a ed. *Acribia*, España. 1984.

39.- Thompson, J. M., Gorman, N. T., Blechen, N. M., Owen, L. N. and Whire, R. A. : Hyperthermia and Radiation in the Management of Canine Tumors. *J. Small Anim. Pract.*, 28: 457-477 (1987).

40.- Trigo, T. F. y Poumián, M. A. : *Patología General Veterinaria*. 2a ed. *Interamericana McGraw-Hill*, México, 1993.

X. CUADROS

CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS EN EL GRUPO CONTROL

ÓRGANO / CONTROL	ratón 1	ratón 2	ratón 3	ratón 4
RINÓN	Congestión ligera Foco linfoide perivascular	•	Congestión ligera	Congestión y dilatación tubular ligera
CEREBRO	•	Congestión y edema perivascular ligeros	Edema ligero perivascular	•
CEREBELO	•	Congestión ligera	Edema ligero perivascular	•
MENINGES	•	Congestión ligera	•	Congestión y edema perivascular ligeros
MÉDULA ESPINAL	•	•	•	•
PULMÓN	•	•	•	•
HÍGADO	•	Degeneración hidrópica y Vasodilatación ligera	Degeneración hidrópica ligera	Congestión ligera
BAZO	Megacariocitos en cantidad discreta	•	Megacariocitos	•
CORDAZÓN	Congestión ligera	Congestión ligera	Congestión ligera	•
INTESTINO DELGADO	•	•	•	•
INTESTINO GRUESO	Nódulo linfoide	•	•	Parásitos
PÁNCREAS	•	•	•	•
MÚSCULO ESQUELÉTICO	•	•	•	•
PERITONEO	•	•	•	•
PIEL	•	•	•	•
ÚTERO Y OVARIO	Edema ligero	•	•	•

• Sin alteración

CUADRO 2

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 1 (45 min)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RINÓN	*	*	*	*
CEREBRO	*	*	*	*
CEREBELO	*	*	*	*
MENINGES	*	*	*	*
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	Congestión ligera difusa	*	*	*
HÍGADO	Congestión ligera difusa	*	*	*
BAZO	*	Petequias en grasa periesplénica	Esplenomegalia ligera	Esplenomegalia severa con aspecto de mosaico
CORAZÓN	*	*	*	*
INTESTINO DELGADO	Nódulos blancos	Nódulos blancos	*	Nódulos blancos
INTESTINO GRUESO	Nódulos blancos	Nódulos blancos	Congestión ligera en mesenterio	Nódulos blancos
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	*	*	Congestión ligera difusa	*
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	*	Congestión ligera en ligamento ancho	*
CAVIDAD TORÁCICA	*	*	Hemotórax ligero	*
CAVIDAD ABDOMINAL	*	*	Congestión moderada de vasos sanguíneos	Cambios autolíticos
SUBCUTÁNEO	*	*	Infiltración de líquido (aspecto gelatinoso) en zona de inoculación	Nódulo café-verdoso en zona de inoculación

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 3

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 2 (90 min)

ÓRGANO / Dosis	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	*	*	*	*
CEREBRO	*	*	*	*
CEREBELO	*	*	*	*
MENINGES	*	*	*	Congestión ligera difusa
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	Congestión ligera multifocal	*	Congestión ligera multifocal	*
HIGADO	*	Congestión ligera	*	*
BAZO	*	*	Congestión ligera y esplenomegalia	*
CORAZÓN	*	*	*	*
INTESTINO DELGADO	*	Nódulos blancos	*	*
INTESTINO GRUESO	*	Nódulos blancos Congestión ligera en mesenterio	*	*
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	Congestión ligera difusa	*	*	*
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	Congestión ligera en ligamento ancho	Congestión ligera en ligamento ancho	Congestión ligera en ligamento ancho	*
CAVIDAD TORÁCICA	*	Ligero hidrotórax	*	*
CAVIDAD ABDOMINAL	*	Petequias en pared muscular	Punto verdoso rodeado de sangre en tejido adiposo	*
SUBCUTÁNEO	*	*	*	*

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 4

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 3 (3 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	*	*	*	*
CEREBRO	*	*	*	*
CEREBELO	*	*	*	*
MENINGES	*	*	*	*
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	*	*	*	*
HÍGADO	Congestión ligera difusa	*	*	*
BAZO	*	*	*	*
CORAZÓN	*	*	*	*
INTESTINO DELGADO	*	*	*	*
INTESTINO GRISES	*	*	*	*
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	*	*	*	Ligera infiltración de líquido (aspecto gelatinoso) en zona de inoculación
PIEL	*	*	*	Ligera infiltración de líquido (aspecto gelatinoso) en zona de inoculación
ÚTERO Y OVARIO	*	*	*	*
CAVIDAD TORÁCICA	Líquido serosanguinolento moderado	Líquido serosanguinolento moderado	*	*
CAVIDAD ABDOMINAL	Líquido serosanguinolento moderado	*	Ligera ascitis	*
SUBCUTÁNEO	*	*	*	*

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 5

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 4 (6 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	*	*	*	*
CEREBRO	*	*	*	*
CEREBELO	*	*	*	*
MEMINGES	Ligera congestión difusa	*	*	*
MÉDULA ESPINAL		*	*	*
PULMÓN	Congestión ligera multifocal	Congestión ligera por zonas	*	Equimosis por zonas
HÍGADO	Áreas con ligera congestión	Isquemia	*	*
BAZO	*	Congestión ligera difusa	*	*
CORAZÓN	Arterias coronarias con congestión ligera	*	*	*
INTESTINO DELGADO	Congestión ligera difusa	Isquemia	Duodeno con congestión ligera	Duodeno con congestión ligera
INTESTINO GRUESO	*	Isquemia	Isquemia en colon distal	Petequias en colon distal
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	*	*	*	*
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	*	*	*
CAVIDAD TORÁCICA	*	*	*	*
CAVIDAD ABDOMINAL	*	*	*	*
SUBCUTÁNEO	Infiltración de líquido de pared abdominal (aspecto gelatinoso)	Punto café-verdoso en zona de inoculación	*	*

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 6

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 5 (12 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	•	•	•	•
CEREBRO	•	•	•	•
CEREBELO	•	•	•	•
MENINGES	•	•	•	•
MÉDULA ESPINAL	•	•	•	•
PULMÓN	•	•	•	•
HÍGADO	•	•	Congestión moderada difusa	•
BAZO	•	•	•	•
CORAZÓN	•	•	•	•
INTESTINO DELGADO	•	Congestión severa difusa	•	•
INTESTINO GRUESO	•	Congestión severa difusa	•	•
PÁNCREAS	•	•	•	•
PERITONEO	•	•	•	•
PIEL	•	•	•	•
ÚTERO Y OVARIO	•	Congestión ligera en útero	•	•
CAVIDAD TORÁCICA	•	Hemotórax	Líquido serosanguinolento	•
CAVIDAD ABDOMINAL	•	Ligera ascitis	•	•
SUBCUTÁNEO	•	•	•	•

• Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 7

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 6 (24 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	*	*	*	Congestión moderada difusa
CEREBRO	*	*	*	*
CEREBELO	*	*	*	*
MENINGES	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	*
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Equimosis	*
HÍGADO	*	*	Congestión ligera difusa	*
BAZO	*	*	*	*
CORAZÓN	*	*	*	*
INTESTINO DELGADO	*	*	*	Congestión moderada difusa
INTESTINO GRUESO	*	Congestión ligera en mesenterio	*	Congestión moderada difusa
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	*	Congestión ligera	*	*
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	*	*	*
CAVIDAD TORÁCICA	Hidrotórax ligero	*	Hidrotórax ligero	Hidrotórax ligero
CAVIDAD ABDOMINAL	Ascitis	*	*	*
SUBCUTÁNEO	*	*	*	*
MUCOSAS	*	*	*	Cianosis ligera

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 8

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS**

GRUPO 7 (48 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RENÓN	*	*	*	*
CEREBRO	*	*	*	*
CEREBELO	*	*	*	*
MENINGES	*	*	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	*	Congestión moderada difusa	*	Congestión y edema ligero difuso
HÍGADO	*	Bordes isquémicos	Nódulos en la superficie Bordes isquémicos Ligero edema	*
BAZO	*	*	*	*
CORAZÓN	*	*	*	*
INTESTINO DELGADO	*	*	*	*
INTESTINO GRUESO	*	*	*	*
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	*	*	*	Congestión ligera
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	*	*	*
CAVIDAD TORÁCICA	*	Hidrotórax ligero	Hidrotórax moderado	*
CAVIDAD ABDOMINAL	*	*	*	*
SUBCUTÁNEO	*	*	*	*

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 9

CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MACROSCÓPICOS

GRUPO 8 (72 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	*	*	Congestión moderada difusa	Congestión moderada difusa
CEREBRO	*	*	Hemorragia severa difusa	Congestión moderada difusa
CEREBELO	*	*	Hemorragia severa difusa	Congestión moderada difusa
MEÑINGES	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	Coloración oscura por zonas	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
HÍGADO	Punto blanco	Manchas blancas en un lóbulo	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
BAZO	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
CORAZÓN	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
INTESTINO DELGADO	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
INTESTINO GRUESO	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
PÁNCREAS	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
PERITONEO	*	*	Congestión severa difusa	Congestión moderada difusa
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	*	Congestión severa	Congestión moderada
CAVIDAD TORÁCICA	*	*	*	*
CAVIDAD ABDOMINAL	*	*	Congestión severa difusa	Diaphragma isquémico Ascitis
SUBCUTÁNEO	*	*	*	*
MUCOSAS	*	*	Cianosis moderada y hemorragia en uñas	Cianosis moderada

* Sin cambios patológicos aparentes

CUADRO 10

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS**

GRUPO 1 (45 min)

ÓRGANO/ DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	Congestión ligera principalmente en corteza	Congestión ligera en corteza Túbulos con cambios degenerativos	*	Nódulo linfóide perivascular
CEREBRO	Edema ligero perivascular	Edema ligero perivascular	Edema ligero perivascular	*
CEREBELO	Edema ligero perivascular Desmielinización ligera en sustancia gris	Edema ligero perivascular	*	*
PULMÓN	Congestión ligera	*	Engrosamiento de pared alveolar focal	*
HÍGADO	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar	Necrosis ligera focal Células de Kupffer aumentadas de tamaño	*
BAZO	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada	Hiperplasia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada
CORAZÓN	Congestión ligera en miocardio	*	Miocarditis Infiltración linfocitaria perivascular ligera Edema ligero	*
INTESTINO DELGADO	Parásitos	*	*	*
INTESTINO GROSUO	Hiperplasia linfóide en colon	Hiperplasia linfóide en colon	*	*
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	*	*	*	*
PIEL	Edema ligero en dermis	Edema ligero en dermis	*	*
MÚSCULO ESQUELÉTICO	*	*	Inflamación focal Infiltración linfocitaria ligera	*

* Sin alteración

CUADRO 11

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS**

GRUPO 2 (90 min)

ÓRGANO/ DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	*	*	Congestión ligera difusa	Congestión ligera en glomérulos
CEREBRO	Edema perivascular ligero	*	Edema perivascular ligero	Congestión y edema perivascular ligeros
CEREBELO	Edema en vasos ligero	*	Edema en vasos ligero	Congestión y edema perivascular ligeros
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	*	*	Congestión ligera en vasos y engrosamiento focal de paredes alveoloares	*
HIGADO	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar	*	Degeneración hidrópica ligera la zona centrolobulillar. Congestión ligera	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar
BAZO	Megacariocitos en cantidad moderada	Atrofia linfoide ligera	Atrofia linfoide ligera	Atrofia linfoide ligera Megacariocitos en cantidad moderada
CORAZÓN	*	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio	*
INTESTINO DELGADO	*	*	*	*
INTESTINO GRUESO	*	Parásitos	*	*
PERITONEO	*	*	*	*
PIEL	Edema en dermis	*	*	Edema ligero en dermis
ÚTERO Y OVARIO	Congestión moderada en ovario	*	Congestión ligera en ovario	*

* Sin alteración

CUADRO 12

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS**

GRUPO 3 (3 hrs)

ÓRGANO/ DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RIÑÓN	Congestión moderada difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa Dilatación tubular	Congestión ligera difusa
CEREBRO	Congestión y edema perivascular ligeros	Congestión ligera difusa Desmielinización ligera en substancia gris	Congestión y edema perivascular ligeros Desmielinización ligera en substancia gris	Congestión y edema perivascular ligeros
CEREBELO	Congestión y edema perivascular ligeros	•	•	Congestión y edema perivascular ligeros
MEJULA ESPINAL	Congestión y edema perivascular moderados Desmielinización severa en substancia gris	•	•	•
PULMÓN	•	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa
HIGADO	Congestión ligera Degeneración hidrónica severa difusa en la zona centrolobulillar	Congestión ligera difusa Necrosis alrededor de vena central	Congestión moderada difusa Degeneración hidrónica severa difusa en la zona centrolobulillar	Congestión ligera difusa
BAZO	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada en bordes	Atrofia linfóide ligera Megacariocitos en cantidad moderada
CORAZÓN	•	•	Congestión ligera en miocardio	•
INTESTINO DELGADO	•	•	Hiperplasia linfóide	•
PÁNCREAS	•	•	Inflamación supurativa ligera perivascular	•
PERITONEO	•	Inflamación supurativa ligera multifocal	•	•
PIEL	•	•	Edema ligero en dermis	•
ÚTERO Y OVARIO	Congestión moderada en ovario	•	•	•
* Sin alteración				

CUADRO 13

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS**

GRUPO 4 (6 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RINÓN	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa
CEREBRO	*	*	Edema ligero	Congestión y edema moderado
CEREBELO	Edema perivascular moderado Congestión ligera difusa	*	Edema perivascular ligero	Congestión ligera difusa
MEDULA ESPINAL	Desmielinización ligera en substancia gris	*	*	*
PULMÓN	Congestión y edema ligeros	Congestión moderada difusa	Congestión moderada difusa	*
HIGADO	Infiltración linfocitaria perivascular Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar	Necrosis de capsula ligera	Congestión ligera difusa	Degeneración hidrópica severa difusa
BAZO	Hiperplasia linfóide ligera Atrofia linfóide ligera	Hiperplasia linfóide ligera	Hiperplasia linfóide moderada	Hiperplasia linfóide Ganglio linfático hiperplásico
CORAZÓN	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio	*
INTESTINO DELGADO	*	Hiperplasia linfóide	*	Inflamación supurativa ligera en serosa Edema moderado en muscular
INTESTINO GRUESO	*	*	*	*
PÁNCREAS	*	*	*	Inflamación supurativa ligera en en grasa peripancreática Congestión ligera difusa
PERITONEO	Inflamación supurativa ligera multifocal	*	Inflamación supurativa ligera multifocal	Inflamación supurativa ligera multifocal
PIEL	*	*	*	Inflamación supurativa ligera focal y edema ligero
ÚTERO Y OVARIO	*	*	*	*

* Sin alteración

CUADRO 14

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS**

GRUPO 5 (12 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RINÓN	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa
CEREBRO	Edema ligero perivascular Desmielinización ligera en sustancia gris	Congestión y edema perivascular ligeros	Congestión y edema perivascular ligeros	Congestión y edema perivascular ligeros
CEREBELO	*	*	Congestión y edema perivascular ligeros	Congestión y edema perivascular ligeros
MENINGES	*	*	Congestión y edema perivascular ligeros	Congestión y edema perivascular ligeros
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	*	Congestión ligera difusa
HÍGADO	Necrosis de cápsula ligera	Necrosis de cápsula ligera	Congestión ligera difusa	Congestión y vasodilatación ligera difusa
BAZO	Hiperplasia linfóide ligera	*	Hiperplasia linfóide ligera	*
CORAZÓN	*	*	Congestión moderada en miocardio	Congestión ligera en miocardio
INTESTINO DELGADO	Inflamación supurativa ligera en grasa mesentérica multifocal	*	*	Inflamación supurativa ligera en serosa difusa
INTESTINO GRUESO	*	*	*	*
PÁNCREAS	*	*	*	*
PERITONEO	Inflamación supurativa ligera multifocal	*	Inflamación supurativa ligera multifocal	Inflamación supurativa moderada multifocal Congestión y edema ligeros
PIEL	Glándulas sudoríparas quísticas	Edema severo focal	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	Inflamación supurativa ligera en grasa focal	*	*
MÚSCULO ESQUELÉTICO	*	*	Congestión ligera difusa	*

* Sin alteración

CUADRO 15

CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS

GRUPO 6 (24 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RÍÑÓN	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa
CEREBRO	*	Congestión ligera difusa	Congestión y edema perivascular ligero	Congestión moderada difusa
CEREBELO	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	*
MENINGES	*	Congestión ligera difusa	*	*
MÉDULA ESPINAL	*	*	*	*
PULMÓN	Congestión moderada difusa	Congestión y edema ligero	*	Congestión moderada difusa
HÍGADO	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar Necrosis de cápsula ligera Vasodilatación ligera difusa	Necrosis de cápsula ligera Congestión moderada Vasodilatación ligera difusa	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar Congestión moderada difusa	Congestión moderada Cápsula con inflamación Vasodilatación ligera difusa
BAZO	Megacariocitos en cantidad moderada	Congestión ligera difusa	Hiperplasia linfóide moderada Megacariocitos en cantidad moderada	Congestión moderada Hiperplasia linfóide ligera
CORAZÓN	*	Congestión moderada en miocardio	Congestión moderada en miocardio	*
INTESTINO DELGADO	*	*	Inflamación supurativa ligera en serosa	*
PERITONEO	*	Inflamación supurativa ligera multifocal	Inflamación supurativa ligera multifocal Congestión ligera difusa	Inflamación supurativa ligera multifocal
PIEL	*	*	*	*
ÚTERO Y OVARIO	*	*	*	Congestión ligera difusa

* Sin alteración

CUADRO 16

**CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS**

GRUPO 7 (48 hrs)

ORGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RINÓN	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Autolizado
CEREBRO	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	Congestión y edema perivascular ligero	Congestión y edema moderado Autólisis
CEREBELO	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	Congestión y edema perivascular ligero	
MENINGES	Congestión ligera	Congestión moderada	Congestión y edema ligero	Congestión y edema perivascular moderado Autólisis
PULMÓN	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	Congestión moderada difusa	Congestión severa difusa
HIGADO	Degeneración hidrópica moderada en la zona centrolobulillar	Congestión ligera Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar		Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar Necrosis de cápsula ligera
BAZO	Congestión moderada difusa Hiperplasia linfóide ligera	Congestión moderada difusa Hiperplasia linfóide ligera	Hemorragia moderada difusa Atrofia linfóide	Atrofia linfóide ligera Autólisis
CORAZÓN	Congestión moderada en miocardio	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio
INTESTINO DELGADO	Hiperplasia linfóide Congestión ligera en grasa mesentérica Serositis supurativa ligera focal			Autolizado
PÁNCREAS				
PERITONEO	Congestión ligera difusa Inflamación supurativa ligera multifocal	Congestión ligera difusa Inflamación ligera multifocal	Congestión ligera difusa Inflamación moderada difusa	Edema ligero Inflamación supurativa ligera multifocal
PIEL	Edema ligero difuso			
ÚTERO Y OVARIO			Inflamación supurativa ligera en grasa	Metaplasia escamosa en vagina Autólisis

* Sin alteración

CUADRO 17

CASIOPEÍNA I INTRAPERITONEAL EN RATONES
HALLAZGOS MICROSCÓPICOS

GRUPO 8 (72 hrs)

ÓRGANO / DOSIS	8 mg/kg	12 mg/kg	16 mg/kg	20 mg/kg
RINÓN	Dilatación vascular y tubular Congestión moderada difusa	Congestión y vasodilatación ligera difusa	Congestión moderada difusa	Congestión moderada difusa
CEREBRO	*	Congestión y edema perivascular ligero	Congestión y edema perivascular moderado	Congestión moderada difusa Edema perivascular ligero Desmielinización ligera en sustancia gris
CEREBELO	*	*	Congestión y edema perivascular moderado	Congestión moderada difusa
MENINGES	*	*	*	Congestión moderada difusa
PULMÓN	Congestión ligera difusa	Congestión ligera difusa	Congestión moderada difusa	Congestión moderada difusa
HIGADO	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar Vasodilatación y necrosis de cápsula ligeros	Degeneración hidrópica ligera en la zona centrolobulillar y vasodilatación ligera	Congestión moderada difusa Necrosis ligera en hepatocitos	Congestión moderada difusa Necrosis de cápsula vasodilatación ligera
BAZO	Hiperplasia linfóide ligera Autólisis	Congestión moderada hiperplasia linfóide y megacariocitos en cantidad moderada	Congestión ligera Atrofia linfóide ligera	Hiperplasia linfóide moderada Congestión severa
CORAZÓN	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio	Congestión ligera en miocardio
INTESTINO DELGADO	*	*	Autólisis	*
INTESTINO GRUESO	*	*	*	Congestión ligera
PERITONEO	Inflamación supurativa moderada focal y células plasmáticas	Inflamación supurativa moderada focal Edema ligero	Inflamación supurativa ligera multifocal	Inflamación supurativa y congestión ligera difusa
PIEL	*	*	Congestión ligera en dermis difusa	Congestión ligera en grasa Glándulas sudoríparas ligeramente dilatadas
UTERO Y OVARIO	Inflamación supurativa ligera en grasa	*	*	Congestión ligera en grasa periterna

* Sin cambios

CUADRO 18

**PRINCIPALES LESIONES MICROSCÓPICAS
CON GRADO DE LESIÓN**

RIÑÓN Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min	+	+		
90 min			+	+
3 hrs	++	+	+	+
6 hrs	+	+	+	+
12 hrs	+	+	+	+
24 hrs	+	++	+	**
48 hrs	+	+	+	
72 hrs	++	+	**	**

CEREBRO Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min				+
3 hrs	+	+	+	+
6 hrs	+	++	++	++
12 hrs		+	+	+
24 hrs		+	+	**
48 hrs	+	++	+	**
72 hrs		+	**	**

CEREBELO Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min				+
3 hrs	+	+	+	+
6 hrs	+	++	++	+
12 hrs			++	+
24 hrs	+	+	++	
48 hrs	+	++	+	
72 hrs			**	**

MENINGES Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min				
3 hrs				
6 hrs				
12 hrs				+
24 hrs		+		
48 hrs	+	++	+	**
72 hrs				**

+ ó · discreto
++ ó ** moderado
+++ ó *** Severo

* Pertenecen a los ratones que murieron
antes del tiempo de sacrificio

CUADRO 19

PULMÓN Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min	+			
90 min				+
3 hrs		+	+	+
6 hrs	+	++	++	
12 hrs	+	++		+
24 hrs	++	+		**
48 hrs	+	++	++	***
72 hrs	+	+	**	**

BAZO Megacariocitos

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min	++	+++	++	++
90 min	++			++
3 hrs	++	++	++	++
6 hrs	+	+	+	+
12 hrs	+			+
24 hrs	++		++	**
48 hrs	++			
72 hrs				

BAZO Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min				
3 hrs				
6 hrs				
12 hrs				
24 hrs		+		**
48 hrs	++	++	++	
72 hrs		++	*	***

HÍGADO Degeneración hidrópica

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min	+	+		
90 min			+	+
3 hrs	+++		+++	
6 hrs	+			+++
12 hrs				
24 hrs	+		+	
48 hrs	++	+		*
72 hrs	+	+		

+ ó * discreto
 ++ ó ** moderado
 +++ ó *** Severo

* Pertencen a los ratones que murieron
 antes del tiempo de sacrificio

CUADRO 20

HÍGADO Congestión

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min		+	+	
3 hrs	+	+	++	+
6 hrs			+	
12 hrs			+	+
24 hrs		++	++	**
48 hrs		+	++	
72 hrs			**	**

HÍGADO Necrosis de cápsula

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min				
3 hrs				
6 hrs		+		
12 hrs	+	+		
24 hrs	+	+		
48 hrs				*
72 hrs	+			*

INTESTINO DELGADO Inflam. supurativa

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min	+			
90 min				+
3 hrs		+	+	+
6 hrs	+	++	++	
12 hrs	+	++		+
24 hrs	++	+		**
48 hrs	+	++	++	***
72 hrs	+	+	**	**

PERITONEO Inflamación supurativa

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min				
90 min				
3 hrs		+		
6 hrs	+		+	+
12 hrs	+	+	+	++
24 hrs	+	+	+	
48 hrs	+	+	++	*
72 hrs	++	++	*	*

+ ó • discreto
 ++ ó ** moderado
 +++ ó *** severo

* Pertenecen a los ratones que murieron
 antes del tiempo de sacrificio

CUADRO 21

CEREBRO Edema

DOSIS mg/kg TIEMPO	8	12	16	20
45 min	+	+	+	-
90 min	+	-	+	+
3 hrs	+	-	+	+
6 hrs	++	-	+	++
12 hrs	+	+	+	+
24 hrs	-	-	+	-
48 hrs	-	-	+	**
72 hrs	-	+	**	*

+ ó * discreto
 ++ ó ** moderado
 +++ ó *** Severo

* Pertenecen a los ratones que murieron
 antes del tiempo de sacrificio

CUADRO 22

XI. FIGURAS

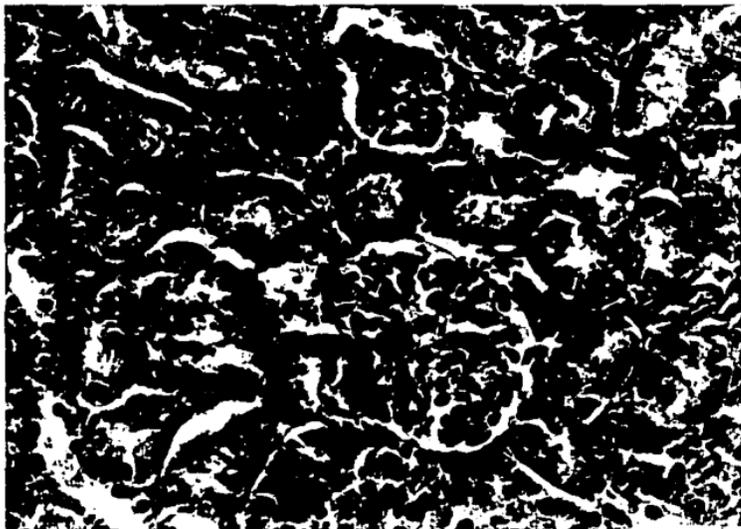


FIGURA 3

GRUPO 8. DOSIS 16 mg/kg

Corte de riñón en el cual se observa congestión moderada en glomérulo (H.E. x 320).



FIGURA 4

GRUPO 7. DOSIS 20 mg/kg

Corte de pulmón en el cual se observa congestión moderada difusa (H.E. x25).

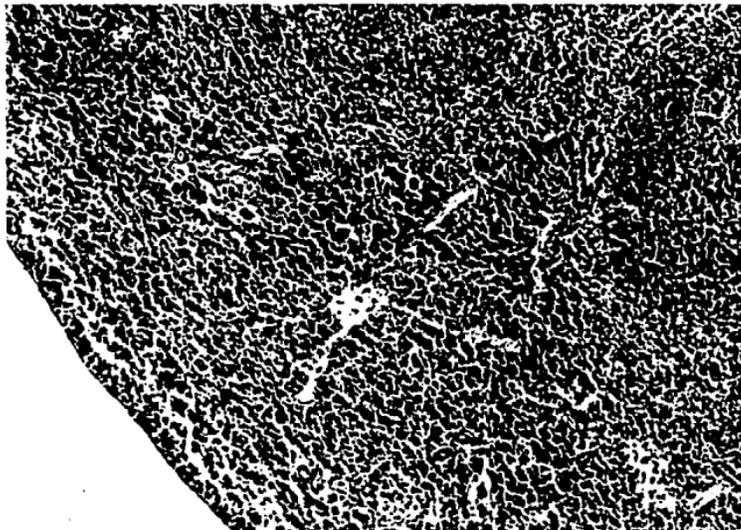


FIGURA 5

GRUPO 1. DOSIS 12 mg/kg

Corte de bazo en el cual se observa un aumento en el número de megacariocitos (H.E. x100).

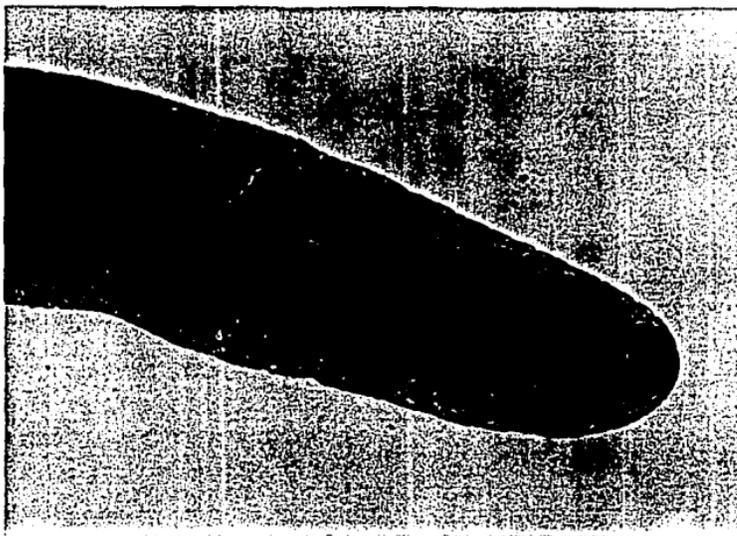


FIGURA 6

GRUPO 4. DOSIS 16 mg/kg

Corte de bazo en el cual se observa atrofia moderada de nódulos linfoides (H.E. x25).

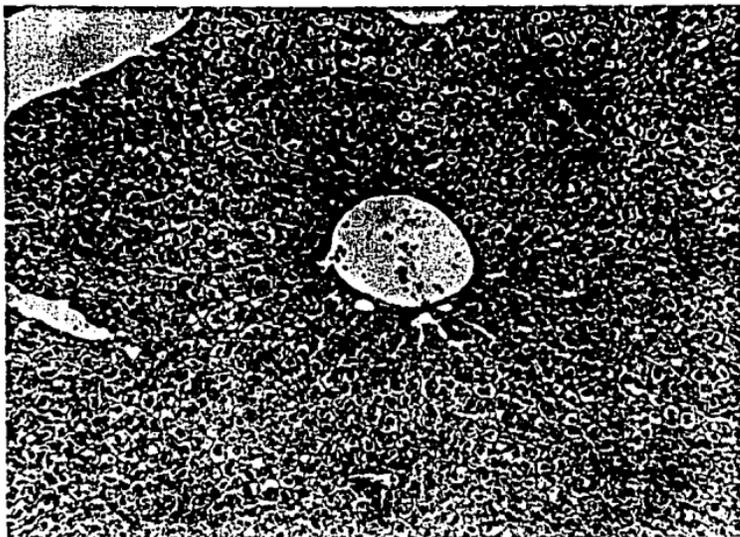


FIGURA 7

GRUPO 3. DOSIS 8 mg/kg

Corte de hígado en el cual se observa degeneración hidrópica severa difusa (H.E. x250).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

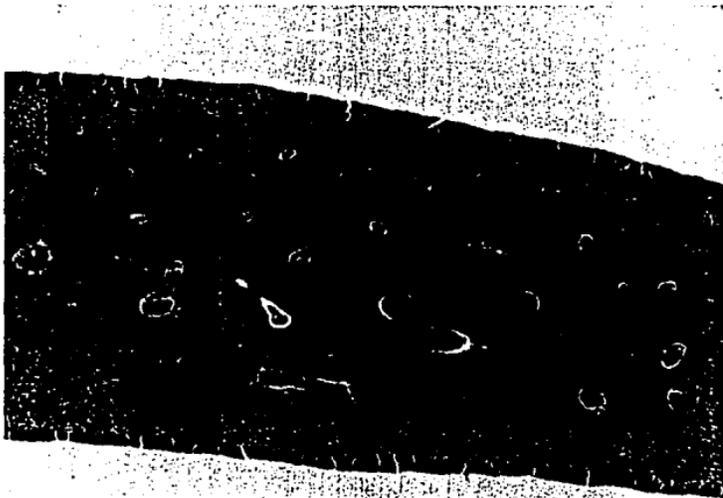


FIGURA 8

GRUPO 4.DOSIS 16 mg/kg

Corte de hígado en el cual se observa congestión moderada difusa (1)
con dilatación vascular (2) (H.E. x25).



FIGURA 9

GRUPO 5. DOSIS 20 mg/kg

Corte de peritoneo en el cual se observa infiltración discreta de células
polimorfonucleares entre sus fibras (H.E. x250).

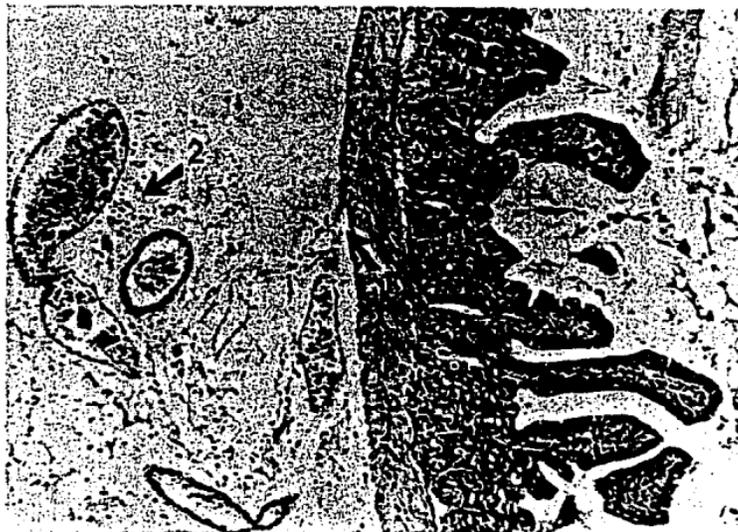


FIGURA 10

GRUPO 4. DOSIS 20 mg/kg

Corte de intestino delgado en el cual se observa inflamación supurativa en serosa (1)
y en grasa mesentérica (2) (H.E. x250).

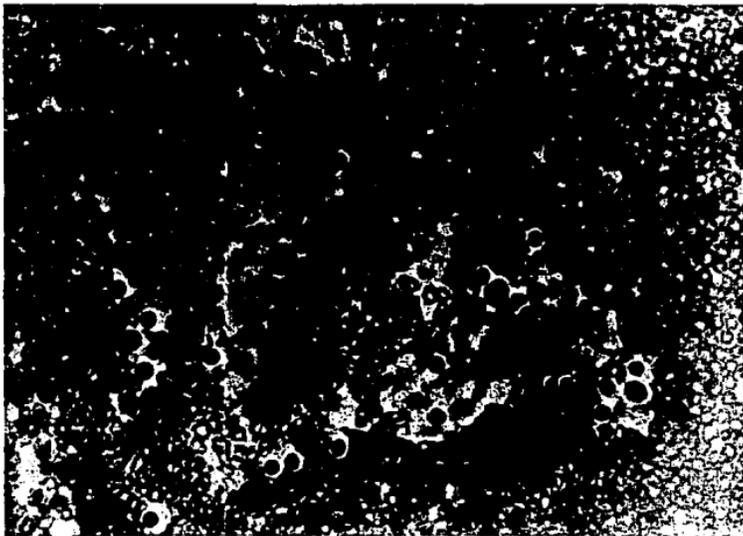


FIGURA 11

GRUPO 4. DOSIS 12 mg/kg

Citología de líquido de cavidad torácica en el cual se observan linfocitos (1)
y abundantes glóbulos rojos (2) (Papanicolau x320).

XII. ANEXO ESTADISTICO

DEGENERACION HIDROPICA EN HIGADO
STATISTICS FOR TABLE OF DOSIS BY CONDI

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	4	3.094	0.542
Likelihood Ratio Chi-Square	4	4.062	0.398
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	2.674	0.102
Phi		0.293	
Contingency Coefficient		0.281	
Cramer's V		0.293	

Statistic	Value	ASE
Gamma	0.627	0.236
Kendall's Tau-b	0.250	0.112
Stuart's Tau-c	0.198	0.114

Statistic	Value	ASE
Somers' D C R	0.125	0.072
Somers' D R C	0.500	0.200
Pearson Correlation	0.276	0.122
Spearman Correlation	0.279	0.125
Lambda Asymmetric C R	0.000	0.000
Lambda Asymmetric R C	0.071	0.049
Lambda Symmetric	0.063	0.040
Uncertainty Coefficient C R	0.162	0.075
Uncertainty Coefficient R C	0.036	0.022
Uncertainty Coefficient Sym	0.058	0.034

Sample Size = 36

WARNING: 60% of the cells have expected counts less than 5. Chi-Square may not be a valid test.

ASE is the asymptotic standard error.

R|C means row variable dependent on column variable.

SUMMARY STATISTICS FOR DOSIS BY CONDI

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	2.674	0.102
2	Row Mean Scores Differ	4	3.008	0.557
3	General Association	4	3.008	0.557

Total Sample Size = 36

NECROSIS DE CAPSULA EN HIGADO

STATISTICS FOR TABLE OF DOSIS BY CONDIC

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	3	6.400	0.094
Likelihood Ratio Chi-Square	3	8.155	0.043
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	3.720	0.054
Phi		0.447	
Contingency Coefficient		0.408	
Cramer's V		0.447	

Statistic	Value	ASE
Gamma	-0.667	0.176
Kendall's Tau-b	-0.316	0.105
Stuart's Tau-c	-0.281	0.124

Statistic	Value	ASE
Somers' D C R	-0.188	0.083
Somers' D R C	-0.533	0.153
Pearson Correlation	-0.346	0.113
Spearman Correlation	-0.346	0.115
Lambda Asymmetric C R	0.000	0.000
Lambda Asymmetric R C	0.125	0.170
Lambda Symmetric	0.103	0.142
Uncertainty Coefficient C R	0.294	0.084
Uncertainty Coefficient R C	0.092	0.040
Uncertainty Coefficient Sym	0.140	0.055

Sample Size = 32

WARNING: 50% of the cells have expected counts less than 5. Chi-Square may not be a valid test.

ASE is the asymptotic standard error.

R|C means row variable dependent on column variable.

SUMMARY STATISTICS FOR DOSIS BY CONDIC

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	3.720	0.045
2	Row Mean Scores Differ	3	6.200	0.102
3	General Association	3	6.200	0.102

Total Sample Size = 32

CONGESTION EN PULMON

STATISTICS FOR TABLE OF DOSIS BY CONDI

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	4	8.649	0.070
Likelihood Ratio Chi-Square	4	10.031	0.040
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	3.325	0.068
Phi		0.490	
Contingency Coefficient		0.440	
Cramer's V		0.490	

Statistic	Value	ASE
Gamma	0.406	0.212
Kendall's Tau-b	0.262	0.142
Stuart's Tau-c	0.321	0.177

Statistic	Value	ASE
Somers' D C R	0.203	0.110
Somers' D R C	0.338	0.185
Pearson Correlation	0.308	0.155
Spearman Correlation	0.292	0.159

Lambda Asymmetric C R	0.286	0.121
Lambda Asymmetric R C	0.071	0.084
Lambda Symmetric	0.143	0.093
Uncertainty Coefficient C R	0.208	0.095
Uncertainty Coefficient R C	0.088	0.039
Uncertainty Coefficient Sym	0.124	0.055

Sample Size = 36

WARNING: 100% of the cells have expected counts less than 5. Chi-Square may not be a valid test.

ASE is the asymptotic standard error.

R|C means row variable dependent on column variable.

SUMMARY STATISTICS FOR DOSIS BY CONDI

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	3.325	0.068
2	Row Mean Scores Differ	4	8.409	0.078
3	General Association	4	8.409	0.078

Total Sample Size = 36

MEGACARIOCITOS EN BAZO

STATISTICS FOR TABLE OF DOSIS BY CONDI

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	4	5.494	0.240
Likelihood Ratio Chi-Square	4	6.856	0.144
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	5.195	0.023
Phi		0.391	
Contingency Coefficient		0.364	
Cramer's V		0.391	

Statistic	Value	ASE
Gamma	0.544	0.184
Kendall's Tau-b	0.342	0.126
Stuart's Tau-c	0.420	0.158

Statistic	Value	ASE
Somers' D C R	0.266	0.099
Somers' D R C	0.442	0.163
Pearson Correlation	0.385	0.137
Spearman Correlation	0.382	0.141
Lambda Asymmetric C R	0.143	0.187
Lambda Asymmetric R C	0.107	0.089
Lambda Symmetric	0.119	0.113
Uncertainty Coefficient C R	0.142	0.077
Uncertainty Coefficient R C	0.060	0.032
Uncertainty Coefficient Sym	0.085	0.046

Sample Size = 36

WARNING: 100% of the cells have expected counts less than 5. Chi-Square may not be a valid test.

ASE is the asymptotic standard error.

R|C means row variable dependent on column variable.

SUMMARY STATISTICS FOR DOSIS BY CONDI

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	5.195	0.023
2	Row Mean Scores Differ	4	5.341	0.254
3	General Association	4	5.341	0.254

Total Sample Size = 36