

La antiomalina y el neostibosán en el tratamiento de la filariasis¹

(*Dirofilaria immitis*)

Por SOPHIE C. TRENT²

Del National Institute of Health, Bethesda, Maryland

I. LA ANTIOMALINA

A. Sus efectos sobre las microfilarias

SEGÚN las investigaciones³ realizadas por varios autores, la administración del componente trivalente de antimonio, conocido por antiomalina, reduce temporalmente el número de microfilarias circulantes; Brown,⁴ sin embargo, ha sido el primero en obtener la desaparición completa de las microfilarias en la circulación de dos enfermos, entre 11 parasitados con la especie *Wuchereria bancrofti*.

Partiendo de estas observaciones decidimos estudiar minuciosamente el efecto de este medicamento en la filariasis de los perros y determinar, si fuera posible: (a) los efectos que pudiera producir sobre las microfilarias, y (b) su acción sobre los gusanos filáricos adultos.

Método y procedimientos utilizados en la investigación. Escogiéronse seis perros infectados espontáneamente con *Dirofilaria immitis*, repartidos en grupos iguales, a los cuales se les administró el medicamento en épocas distintas. El peso de los animales osciló de 15.9 a 29.1 kg., y el número de microfilarias circulantes, entre 23 y 1,485 vermes por 20 mm.c. de sangre. Utilizáronse como testigos otros seis perros a los que no se administró medicamento alguno.

A cada animal se le inyectó intravenosamente, cinco veces a la semana, una dosis de 0.8 mg. de antimonio por kilo de peso, en forma de antiomalina (antimoniotiomalato de litio),⁵ hasta que el

1. Recibido para la publicación el 4 de agosto de 1947.

2. Senior-Research Fellow.

3. R. N. Chopra and S. S. Rao, Chemotherapy of filarial infection. Indian J. Med. Res., 27:549-562, 1939.

F. Hawking, Chemotherapy of filariasis *in vivo* and *in vitro*. J. Trop. Med. and Hyg., 43:204, 1940.

J. O. Poynton, Annual Report of the Institute for Medical Research of the Federated Malay States, Kuala Lumpur, pp. 80-85, 1938.

H. de Choisy, Observations d'un cas de microfilariose loa traité par l'antimonio-thiomalate de lithium. Rev. de Méd. et d'Hyg. Trop., 29:294-296, 1937-38.

R. N. Chopra and S. S. Rao, Studies in the treatment of filariasis. Indian M. Gaz., 64:130-139, 1929.

4. H. W. Brown, The treatment of filariasis (*Wuchereria bancrofti*) with lithium antimony thiomalate. J. A. M. A., 125:952-958, 1944.

5. Por cortesía de Merck & Cia., Inc.

recuento de microfilarias circulantes quedó reducido a cero. De ahí en adelante se les inyectaron dos dosis y se procedió a ejecutar el recuento microfilarico durante 12 semanas,⁶ al cabo de las cuales se sacrificaron los animales y se les hizo la autopsia.

Mientras se ejecutaba el tratamiento, tomáronse a cada perro muestras de sangre a la misma hora cada día, durante cinco días de la semana. Cada muestra contenía, aproximadamente, 1.5 cc. de sangre; 1 cc. se ponía en un tubo de ensayo estéril, que contenía 1 mg. de heparina, y se utilizaba para verificar el recuento de las microfilarias y su movilidad; con el resto de la sangre se preparaban cinco frotis finos en portaobjetos. Después de tomar la muestra se le administró a cada perro la dosis de antiomalina que se había calculado. Inmediatamente después de administrar el medicamento a todos los animales del grupo, se examinaba la sangre de cada uno y se apreciaba el grado de movilidad de las microfilarias. Estas observaciones repetíanse al mismo tiempo todos los días, para cada muestra de sangre, transcurriendo, respectivamente, 30, 45 y 60 minutos entre el momento en que se tomó la muestra y se procedió a determinar la movilidad de las microfilarias.

Para observar éstas, hicimos uso de una modificación de la técnica de Brady y Lawton.⁷ Tomábamos con una pipeta 1 cc. de una solución al 0.85 por ciento de cloruro sódico y lo depositábamos en una celdilla de Sedgewick-Rafter, añadiendo después 20 mm.c. de sangre heparinizada, la cual había sido agitada previamente durante tres minutos para que las microfilarias estuviesen distribuídas uniformemente en el líquido. Examinábase entonces esta suspensión bajo el microscopio y anotábase el grado de movilidad de los gusanillos en la muestra de sangre.

Después de esta primera observación procedíase a contar las microfilarias existentes en 20 mm.c. de cada muestra de sangre, según la técnica de Brady y Lawton.

Los frotis finos de sangre fijábanse por 5 minutos en una mezcla, a partes iguales, de alcohol absoluto y éter; una vez secas se teñían con hematoxilina de Meyer durante siete minutos. Después de la diferenciación rápida en alcohol-ácido, se lavaban los portaobjetos hasta que se secasen y se examinaban con objetivo de inmersión y ocular de 10 x.

En la sangre de los perros en que el recuento de microfilarias

6. Uno de los perros fué sacrificado al segundo día de encontrarse sin microfilarias en la sangre.

7. F. J. Brady and A. H. Lawton, A new method for the quantitative estimation of microfilariae in blood samples. *J. Parasitol.*, 30:34, 1944.

llegaba o pasaba de 100, estudiábanse cuidadosamente 75 gusanillos; mientras que cuando los recuentos eran menos de 100, estudiábanse todas las microfilarias encontradas en los cinco portaobjetos, anotando sus cambios de estructura.

Antes de iniciar la medicación verificábamos los recuentos de microfilarias, anotando su movilidad y su morfología durante cinco veces semanalmente, dos semanas seguidas, siguiendo la técnica y los procedimientos descritos antes. Al mismo tiempo contrastábamos los resultados con las observaciones verificadas en perros a los que no se administró medicación alguna.

Antes de la medicación y durante la misma, teníamos cuidado de dejar las muestras de sangre a la temperatura ambiente del laboratorio, hasta que todas las microfilarias de las preparaciones húmedas cesaban de moverse. Entonces se preparaban unos frotis y comparábase las microfilarias aparentemente muertas con las que se encontraban en las muestras tomadas durante el curso de la medicación.

Resultados. La sangre circulante de todos los seis perros quedó libre de microfilarias y así continuó durante las 12 semanas que duró la observación después que cesó la administración del medicamento. Las microfilarias desaparecieron de la circulación periférica al cabo de 10 días en cuatro perros, y algo más tarde en los otros dos animales (véase gráf. 1). Sin embargo, estos dos perros aumentaron en peso y por tal motivo hubo que reajustar las dosis del medicamento administrado; entonces la cifra de microfilarias descendió a cero, al cabo de 7 días, en uno, y de 10, en el otro. La dosis total de antimonio requerida para erradicar las microfilarias de la circulación fluctuó entre 126 y 277 mg., sin que se notase relación alguna entre la cantidad de medicamento administrado y la cuantía de microfilarias existentes (v. tab. 1).

TABLA 1

Dosis de antiomalina administrada intravenosamente, en proporción de 0.8 mg. de antimonio por kilo de peso, necesaria para suprimir la circulación de microfilarias (D. immitis) en la sangre de perros parasitados

Perro Núm.	Peso del animal (k.)	Antiomalina: dosis diaria administrada (c.c.)	Antimonio: dosis diaria administrada (mg.)	Duración del tratamiento (días)	Dosis total de antimonio (mg.)
211	24.5	2.0	20	8	160
214	18.7	1.5	15	12	180
220	{ 15.9	{ 1.3 (x9)	{ 13 (x9)	19	257
	{ 17.2	{ 1.4 (x10)	{ 14 (x10)		
223	17.7	1.4	14.0	9	126
224	29.1	2.3	23.0	6	138
226	{ 13.2	{ 1.1 (x15)	{ 11.0 (x15)	22	277
	{ 17.2	{ 1.6 (x7)	{ 16 (x7)		

No se observaron reacciones tóxicas de ninguna especie, a no ser una ligera pérdida del apetito durante el curso del tratamiento.

La movilidad de las microfilarias no parece modificarse por la acción del medicamento. No se notaron alteraciones morfológicas en las microfilarias de los perros medicados. Distingúanse perfectamente en todas ellas el *anillo nervioso*, el poro excretorio, el poro anal, sin que tampoco existiesen diferencias apreciables de tamaño, forma o configuración en sus estructuras. El ancho osciló en tamaño desde 4.8 a 8.0 micras a nivel del anillo, lo mismo en los parásitos de los perros medicados que en los procedentes de los animales testigos. Alguna vez se veían algunas microfilarias que presentaban unas células prominentes de forma ovalada, grandes, más numerosas por debajo del nivel del poro excretorio, que probablemente representaban las células de la subcutícula descritas por Füllerborn.⁸ La proporción de microfilarias que exhibían estas células prominentes no varió durante la administración del medicamento. Notóse igualmente que, en un pequeño número de las microfilarias existentes en las muestras de sangre, la longitud aparecía menor, algún día, y mayor el grueso que en las otras microfilarias de la misma preparación. Estos ejemplares cortos adoptaban generalmente la forma de las letras *C* o *J*, y, posiblemente, eran formas microfilaricas juveniles. Observáronse por igual y en la misma proporción, en las muestras de sangre de los perros medicados y en los utilizados como testigos, sin que variase su número en el curso de la medicación.

Por otra parte, en las preparaciones de sangre que se habían dejado a la temperatura ordinaria del laboratorio hasta que cesó la movilidad de todas las microfilarias y que, por consiguiente, habían fenecido, presentábanse los gusanillos generalmente extendidos a lo largo, aplastados y plegados. Los núcleos estaban arrugados, no se distinguían las estructuras anatómicas y destacábanse las estriaciones cuticulares. Estas alteraciones no se observaron nunca en las preparaciones recientes, pero se dieron por igual en las muestras de sangre de los animales, hubieran sido o no medicados.

El examen microscópico de los tejidos en los perros sacrificados al segundo día de la desaparición de las microfilarias de la circulación periférica demostró la existencia de los cuerpos de éstas, enteros o fragmentados, localizados en los pulmones y riñones del animal. En los pulmones, las microfilarias estaban situadas dentro de los tabiques alveolares y, alguna vez, libres dentro del mismo alvéolo (v. grab. 1 y 2). Aunque en su mayoría los cuerpos microfilaricos

8. F. Fülleborn, Filariosen des menschen. Handb.d.Path.Mikroorg., 6:1044-1225, 1929.

estaban fragmentados y en vías de ser fagocitados por células mononucleadas grandes, a veces aparecieron enteros, con el cuerpo extendido. Contorneando algún que otro fragmento, observáronse zonas de proliferación mononuclear. En toda la extensión de ambos pulmones existían también espacios proliferativos, pero más grandes y confluentes, de células mononucleadas, y al mismo tiempo que esta proliferación veíase una ligera infiltración de linfocitos.

En los tejidos intersticiales de las papilas y de la médula renal aparecieron numerosas microfilarias (grab. 3). En estas últimas partes se encontraron formas extendidas, al parecer muertas, y formas fragmentadas, entremezcladas con material amorfo eosinofílico y granular. Las microfilarias aparecían también, alguna vez que otra, dentro de los vasos sanguíneos de las papilas. Al examinar el hígado, bazo, ganglios linfáticos, corazón, suprarrenales y tiroides no se encontraron microfilarias. Tampoco aparecieron en las vísceras internas de los perros sacrificados a las 12 semanas después de desaparecer las microfilarias en la sangre.

Comentarios. De los resultados del tratamiento parece deducirse que la antiomalina es un filaricida de acción rápida, efectiva y de escasa toxicidad. Como en ninguno de los exámenes verificados en el curso del tratamiento se observaron microfilarias con movilidad o morfología anormal hemos de presumir que las formas inmóviles, muertas o en proceso de fenecer, eran rápidamente eliminadas de la circulación sanguínea. En cuanto a que las microfilarias desaparecidas de la corriente circulatoria permanezcan vivas aún, pero sin fuerzas para retornar a la circulación, no parece probable, pues en distintos órganos existían microfilarias muertas y fragmentadas, algunas en proceso de ser fagocitadas y, otras, contorneadas ya por células mononucleadas de proliferación. También aparecieron numerosas microfilarias muertas y fragmentadas en los tejidos intersticiales de las papilas y médula renal. Estos hallazgos confirman la hipótesis sostenida hace años por Rodenwalt⁹ y Füllerborn,¹⁰ de que los riñones y los pulmones constituyen muy probablemente las tumbas donde van a parar las formas destinadas a perecer y quedan eliminadas de la circulación las microfilarias muertas.

Resumen. Tratáronse con inyecciones intravenosas de antiomalina seis perros parasitados con *Dirofilaria immitis*. Dosis utilizadas: 0.8 mg. de antimonio por kilo de peso animal, cinco veces a la semana. Todos los perros inyectados quedaron libres de microfi-

9. E. Rodenwalt, Studien zur morphologie der mikrofilarien. Cited by F. Fülleborn, *idem*.

10. F. Fülleborn, *op. cit.*

larias en la sangre al final de la tercera semana de tratamiento, y así continuaron durante las doce semanas que duró el período de observación.

La dosis total de antimonio requerida para hacer desaparecer los parásitos de la circulación fluctuó entre 126 y 277 mg. de antimonio, cuya administración tardó de 6 a 22 días, sin que al parecer exista relación alguna entre la dosis y la magnitud del recuento microfilarico.

La movilidad de los parásitos existentes en la sangre periférica no se alteró durante el curso del tratamiento, sin que se observasen tampoco alteraciones morfológicas en las microfilarias.

Encontráronse microfilarias en los pulmones y en los riñones de un perro que fué autopsiado al segundo día de haber desaparecido los parásitos de la corriente sanguínea. Los existentes en los pulmones aparecían localizados en mayor número en los tabiques alveolares y, al parecer, estaban siendo fagocitados.

No se observaron reacciones tóxicas durante la medicación, excepto anorexia transitoria.

B. Sus efectos sobre las filarias adultas

En vista de las observaciones de Ashburn y sus colaboradores,¹¹ sobre las alteraciones histológicas aparecidas en los órganos reproductivos de las hembras de la especie *Dirofilaria immitis*, recobradas en los perros medicados con varios componentes trivalentes de antimonio, hemos emprendido este estudio comparativo para ver lo que sucede con los parásitos filáricos adultos en perros tratados con antiomalina, esperando que de este modo podríamos obtener algunos datos referentes a la manera de actuar el medicamento, y sus efectos sobre los tejidos de los vermes adultos.

De un lote de seis perros,¹² sacrificamos cinco cuando quedaron libres de microfilarias en la sangre por la acción de la antiomalina. Verificamos la autopsia al final de la duodécima semana de tratamiento, en que habían desaparecido las microfilarias. Exponemos en este artículo los hallazgos post-mortem y las alteraciones patológicas observadas en los órganos de reproducción de los vermes filáricos adultos machos y hembras.

11. L. L. Ashburn, T. L. Perrin, F. J. Brady, and A. H. Lawton, Histologic changes in ovary and uterus of live *Dirofilaria immitis* recovered from dogs treated with trivalent antimony compounds. Arch.Path., 40:334-339, 1945.

F. Huytra, J. Marek, and R. Manniger, *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*. 4th English ed. (Chicago: Alex Eger, 1938).

B. M. Underhill, *Parasites and Parasitosis of Domestic Animals* (New York: The Macmillan Company, 1920).

12. El perro 223 fué sacrificado al segundo día de quedar libre de microfilarias en la sangre.

Método de investigación. A cinco perros parasitados con *Dirofilaria immitis* se les administró una dosis de 0.8 mg. por kilo de peso corporal, cinco veces a la semana, hasta que cesaron de encontrarse microfilarias en la sangre periférica. Los exámenes de sangre se verificaron por espacio de 12 semanas, sin que en ningún momento las microfilarias volvieran a aparecer en la corriente circulatoria.

Sacrificáronse los animales por electrocución, al cabo de las 12 semanas de estar siendo observados, procediendo entonces a autopsiarlos. Ligados los vasos torácicos, se extrajo en masa el corazón y los pulmones para evitar así la salida de los vermes que estuviesen localizados en el corazón o en las arterias pulmonares. Se disecaron y examinaron cuidadosamente los grandes vasos torácicos y abdominales para investigar la existencia de vermes. Anotábase el aspecto macroscópico de las vísceras abdominales y se tomaban muestras de tejidos del hígado, bazo, suprarrenales, riñones, corazón, pulmones, tiroides y ganglios linfáticos, para su examen microscópico.

Al abrir el corazón se llevaba cuenta de la localización, número, sexo, viabilidad y movilidad de las filarias adultas que pudiesen existir. Las arterias pulmonares se disecaron en toda su extensión, hasta sus ramas terminales, examinándolas para ver si en ellas existían vermes vivos o muertos. El mayor número de éstos apareció generalmente dentro del ventrículo derecho del corazón, y cifras moderadas dentro de las arterias pulmonares, sobre todo en la rama media de la arteria pulmonar derecha.

Cuando se encontraban vermes adultos se les ponía en líquido fijador para proceder después a teñirlos y seccionarlos, según el procedimiento de Ashburn y sus asociados.¹³ Generalmente se examinaron al microscopio tres vermes machos y tres hembras de cada perro.

Hallazgos post-mortem. El corazón, en todos los seis animales, presentaba un aspecto macro y microscópico normal.

Los pulmones, en dos de los animales, tenían congestionadas ambas bases pulmonares, y en todos los perros, menos en uno, notáronse una o dos áreas bien circunscritas, prominentes, de color amarillo pálido, de 2 mm. a 1.5 m.c. de diámetro mayor, situadas en la periferia de los lóbulos inferior izquierdo, inferior derecho y medio derecho. Los cortes de estas áreas revelaron la existencia de pequeños abscesos bien delineados, que contenían material granular de color amarillo y, en ocasiones, fragmentos de filarias muertas.

Al examinar al microscopio estas áreas se vió que estaban consti-

13. L. L. Ashburn et al., *op. cit.*

tuídas por ramas de las arterias pulmonares que habían quedado obstruídas por masas de tejido de granulación, frecuentemente canalizadas e infiltradas, moderada o intensamente, de linfocitos, células plasmáticas y, muchas veces, de polinucleados (grab. 4). El centro de estas masas granulomatosas estaba necrosado y muy infiltrado con gran cantidad de polinucleados. En uno de los perros se observó que la luz de uno de los vasos contenía un verme hembra adulto, con el útero vacío y con los ovarios conteniendo óvulos en proceso de degeneración (grab. 5). Dentro de las masas granulomatosas que, en este mismo animal obstruían los vasos pulmonares, observáronse focos calcificados, céntricos o excéntricos, formados, al parecer, por vermes muertos (grab. 6).

Diseminados por todo el parénquima pulmonar, en todos los animales, aparecieron numerosos islotes, grandes o pequeños, aislados o confluentes, constituídos por engrosamiento intersticial del tabique alveolar y, en ocasiones, el alvéolo estaba obliterado por proliferación de células monucleadas, tan numerosas y apelotonadas, en algunos parajes, que no se podían distinguir sus contornos. Este proceso se acompañaba de moderada infiltración linfocitaria.

En cuanto al hígado, bazo, tiroides, suprarrenales y ganglios linfáticos bronquiales, su aspecto no presentaba nada anormal, macroscópica ni microscópicamente, en ninguno de los animales. No se encontraron microfilarias en ninguno de los órganos internos ni en los ganglios linfáticos.

Estudio de las filarias adultas. Perro núm. 223. Encontráronse nueve vermes filáricos hembras y cinco machos, todos vivos y móviles, dentro del ventrículo derecho y en la arteria pulmonar.

Al examinarlo al microscopio, se observó que los vermes hembras tenían sus ovarios normales; en dos vermes el útero estaba vacío, con algunos detritus oxifílicos en uno de los vermes. En otro, observáronse numerosos óvulos multicelulares; algunos, en proceso de degeneración, con citoplasma oxifílico y picnosis nuclear, estaban situados en la parte posterior; en cambio, en la anterior, aparecieron numerosas microfilarias. Estas, sin embargo, presentaban sus núcleos pigmentados, fragmentados a veces, arrugados y con oxifilia del citoplasma. El examen microscópico no demostró alteración alguna de importancia en los vermes machos.

Perro núm. 224. Halláronse tres vermes machos y tres hembras, vivos, moviéndose dentro del ventrículo derecho.

Bajo el microscopio, los ovarios de dos vermes presentaban aspecto normal. En el ovario del tercer verme, sin embargo, había algunos óvulos con cambios degenerativos caracterizados por una gran abun-

dancia de citoplasma oxifílico, con pérdida de la estructura y contorno celulares. No aparecieron microfilarias ni óvulos normales en el útero de ninguno de los vermes. Dos vermes albergaban, en la parte posterior del útero, algunos óvulos monocelulares degenerados, don núcleos y contornos imprecisos (grab. 7 y 8); en cambio, sólo había un escaso número de óvulos situados en la parte anterior del útero, mezclados con sustancia mucoide. En otro verme hembra se apreciaron las mismas alteraciones, pero el útero estaba completamente vacío en su parte anterior.

De los vermes machos examinados al microscopio, sólo uno apareció normal. Los otros dos demostraban cariorrexis y, en algunos parajes, franca necrosis de las células espermatogénas (grab. 9 y 10). El gonoducto, en estos dos vermes, estaba vacío en su parte anterior.

Perro núm. 226. Recobráronse en este animal ocho vermes machos y diez hembras, de ellos, siete vivos de cada sexo, dentro del ventrículo derecho. Un macho y una hembra aparecieron dentro de la luz de la rama de la arteria pulmonar, en el lóbulo inferior del pulmón derecho; ambos vermes estaban enrollados en espiral apretada, aplanados, opacos, sin movimiento alguno, muertos al parecer. Otras dos hembras, de aspecto muy parecido a los anteriores, estaban situadas en la rama de la arteria pulmonar del lóbulo inferior izquierdo. Además, una rama de la arteria pulmonar izquierda estaba obstruída en gran parte de su longitud por una masa apretada de vermes muertos enrollados y apelotonados entre sí.

Los ovarios de los vermes hembras aparecían normales bajo el microscopio, sin más que alguna que otra célula oxifílica y cariorrética. No se observaron dentro del útero óvulos que no fuesen unicelulares, ni tampoco microfilarias. Aparte algunos detritus amorfos y algún óvulo oxifílico degenerado o necrótico, la parte anterior del útero estaba vacía.

Los vermes machos presentaban testículos normales, con espermatozoos situados en la porción media y posterior del conducto espermático; pero sólo algunos presentaban esta misma apariencia en la parte anterior de los gonoductos, notándose entonces cierto grado de edema y los bordes algo desdibujados.

Perro núm. 211. Recobráronse seis vermes muertos en el ventrículo derecho: 2 hembras y cuatro machos.

La observación microscópica fué algo difícil de interpretar, porque los vermes estaban mal conservados. Sin embargo, en los óvulos monocelulares situados en el fondo posterior del útero de uno de los vermes, se habían producido alteraciones necróticas ante-mortem y, en el otro, el útero estaba vacío.

En cuanto a los machos, uno estaba, relativamente, en buen estado de conservación y no presentaba alteraciones de importancia en sus órganos de reproducción.

Perro núm. 214. Aparecieron dos machos y 4 hembras móviles, dentro del ventrículo derecho y en la arteria pulmonar derecha.

Al examinar al microscopio las cuatro hembras, una presentaba sus ovarios morfológicamente normales, con algunos óvulos en proceso de degeneración oxifilica y, en otros dos vermes, los contornos celulares estaban desdibujadas (grab. 11 y 12). En el cuarto verme existía algún que otro óvulo necrótico.

El verme hembra con el ovario normal, contenía microfilarias en distintas etapas de evolución, situadas en la parte anterior del útero. Las microfilarias, sin embargo, presentaban signos de degeneración, desde un leve aumento de citoplasma oxifílico y picnosis nuclear, hasta la fragmentación completa. En la parte más anterior del útero no existían sino detritus necróticos y algunos pocos óvulos multicelulares fragmentados. Los úteros en los otros vermes estaban vacíos y no contenían más que restos necróticos oxifílicos y algún óvulo en el mismo estado. Los vermes machos no tenían alteraciones importantes cuando fueron examinados al microscopio.

Comentarios y resumen. Estudiáronse cinco perros parasitados espontáneamente con *Dirofilaria immitis*, sometiéndoles a la administración de una dosis de 0.8 mg. de antiomalina por kilo de peso, cinco veces a la semana, hasta que las microfilarias desaparecieron de la circulación periférica. Sacrificáronse los animales y se les practicó la autopsia al cabo de 12 semanas de haber estado libres de microfilarias.

Las alteraciones patológicas de relieve fueron las pulmonares y renales. En los pulmones existían trombosis antiguas y recientes de las ramas arteriales, las cuales contenían fragmentos de vermes filáricos muertos, y parajes diseminados con engrosamiento de los tabiques alveolares y obliteración de los alvéolos por proliferación de células mononucleadas. En los riñones existían pequeños focos diseminados intersticiales de infiltración, con linfocitos y células plasmáticas, en la corteza y en la médula. Ninguna de estas alteraciones puede ser atribuída a la acción de la antiomalina, pues se las ha observado con frecuencia en los animales parasitados a los que no se administró dicho medicamento.

No se encontraron microfilarias ni restos de ellas en ninguna de las vísceras internas, ni en los ganglios linfáticos bronquiales.

De los 36 vermes filáricos hallados en la autopsia, 26 estaban vivos y 10 muertos. Seis de estos últimos estaban dentro del ventrículo

derecho de un perro. Lo que cabe preguntar es si la muerte de estos vermes fué provocada por efecto de la antiomalina. Sin embargo, la muerte de los cuatro vermes adultos, encontrados en los otros perros, se presta a discusión, pues también se encuentran con relativa frecuencia vermes muertos en los animales que no han sido medicados. Parece, pues, que la acción filaricida de la antiomalina sobre los vermes adultos, a las dosis a que se empleó, no debe ser muy grande.

Los exámenes microscópicos rara vez revelan alteraciones patológicas en los ovarios de los vermes hembras. Estas consistieron en oxifilia, cariorrexis nuclear o necrosis de alguna célula, y se observaron en tres vermes únicamente.

Lo que generalmente se observó en las filarias hembras adultas fué carencia de formas de evolución que sobrepasaran la etapa unicelular, ausencia absoluta de embriones o microfilarias y depleción completa del útero. Hubo, no obstante, dos vermes que contenían microfilarias en varios estadios de desarrollo; pero contenían material oxifílico, presentaban picnosis nuclear y, en ocasiones, estaban en proceso de fragmentación.

Los testículos de los vermes machos eran normales, aunque alguna vez aparecía alterado el aspecto de los espermatozoos situados en la parte anterior del gonoducto, con edema, pérdida del contorno celular y, rara vez, necrosis.

Los hallazgos habituales de ovarios y testículos histológicamente normales, con óvulos en proceso de degeneración, evolución y diferenciación retardada, y espermatozoos con alteraciones degenerativas, plantean el problema de si la antiomalina puede afectar permanentemente a los perros. Para poder valorar con certeza el efecto del medicamento habría que observar los animales durante un período más prolongado de tiempo que el que se empleó en este experimento (12 semanas), verificando la observación entre el momento en que desaparecen las microfilarias de la circulación y el momento en que se hace la autopsia.

II. EL NEOSTIBOSÁN

A. Sus efectos sobre las microfilarias

El neostibosán es un compuesto pentavalente de antimonio que ha sido usado por Chopra y Rao,¹⁴ quienes, en 1939, comunicaron haber logrado reducir temporalmente el número de microfilarias circulantes en enfermos parasitados con la especie *Wuchereria bancrofti*.

14. R. N. Chopra and S. S. Rao, *op. cit.*

Algunos años más tarde Culbertson y Rose¹⁵ utilizaron el medicamento en ratas de plantaciones de algodón que padecían filariasis. Después de repetidas inyecciones, observaron una considerable reducción del número de microfilarias en los animales medicados hasta que desaparecieron totalmente de la circulación, encontrando al autopsiar los animales que los vermes adultos estaban muertos. Habiendo observado también que las microfilarias existentes iban desapareciendo de la circulación sanguínea en cifras progresivamente decrecientes durante semanas y meses después de haber fenecido los vermes adultos, dedujeron que la acción filaricida del medicamento se ejercía principalmente sobre estos últimos.

Estos investigadores, en colaboración con Oliver González,¹⁶ utilizaron más tarde el tratamiento de neostibosán en 35 sujetos parasitados con *Wuchereria bancrofti* y observaron la desaparición total de microfilarias circulantes en 20 de estos enfermos. Al igual que sucede con la filariasis de las ratas algodonerías, la disminución en el recuento microfilarico se verifica lentamente; en ciertos casos, transcurren varios meses después de terminar el tratamiento antes de que desaparezcan completamente las microfilarias en la sangre. En vista de la semejanza de estas observaciones con lo que ocurre en la filariasis de las ratas, Culbertson y Rose han supuesto que quizás el efecto del neostibosán en los seres humanos se debe a su acción directa sobre los vermes filáricos adultos. Lo cual es, por supuesto, algo difícil de probar, pero interesa hacer notar que ninguno de los enfermos tratados con éxito por Culbertson y sus colaboradores ha presentado síntomas que pudieran atribuirse a la existencia de vermes filáricos muertos.

Hemos emprendido nuestros experimentos para tratar de obtener algunos datos, con objeto de determinar si el neostibosán actúa sobre las microfilarias, las filarias adultas o sobre ambas. Para esto hemos utilizado como animales de experimentación perros parasitados con *Dirofilaria immitis*. Exponemos aquí lo observado en las microfilarias existentes en estos perros, durante la administración del medicamento; en la segunda parte describiremos nuestras observaciones en los vermes filáricos adultos encontrados al autopsiar los animales.

Métodos y procedimientos. Utilizáronse seis perros parasitados espontáneamente con *Dirofilaria immitis*. Dos lotes, de tres perros

cada uno, fueron sometidos a la administración del medicamento en épocas distintas. Las cifras de microfilarias existentes antes de la administración oscilaron de 7 a 1,103 parásitos por 20 mm.c. de sangre. Seis perros dejados sin medicinar sirvieron de testigos.

El neostibosán¹⁷ es un componente pentavalente de antimonio, en que entran el ácido p-aminofenilestibónico, el ácido p-acetilaminofenilestibónico, el ácido antimónico y la dietilamina, y contiene de 41 a 44 por ciento de antimonio. Las dosis de medicamento administradas en el experimento se calcularon a base de la cantidad del radical antimonio, suponiendo que éste entraba en proporción de 43 por ciento, o sea, que el antimonio contenido en una ampolla de 0.3 g. de neostibosán, era 0.13 g. El medicamento se administró intravenosamente en solución acuosa al 5 por ciento. La inyección se ejecutó lentamente, en un período de 5 a 6 minutos.

A cada animal se le pusieron dos tandas de inyecciones. Durante la primera, la dosis de antimonio administrada fué 10 mgm. de antimonio, en forma de neostibosán, por kilo de peso animal, cinco veces a la semana, en 14 dosis. La dosis total de antimonio administrada a cada animal fluctuó de 1.75 a 3.64 g., que corresponde a 4.06-8.40 g. de neostibosán. Como ninguno de los animales medicados quedó libre de microfilarias en la sangre al cabo de la primera tanda de inyecciones, se repitieron éstas a todos los animales.

Durante la segunda tanda, a cada animal se le inyectaron 10 mg. de antimonio por kilo de peso, cinco días de la semana. A todos los animales se les administraron 18 dosis del medicamento, menos a uno, al que se le presentaron vómitos incoercibles después de haberle administrado 16 dosis y hubo que descontinuar la medicación.

Como cuatro de los seis perros engordaron durante las once semanas y media, después que se terminó de administrar la primera tanda de inyecciones de neostibosán, hubo necesidad de reajustar las dosis. La dosis total de medicamento administrado en la segunda tanda osciló de 5.91 a 10.80 g., o sea, de 2.56 a 4.68 g. de antimonio. Y la dosis total, combinado las de ambas tandas de inyecciones, fué de 10.27 a 19.20 g. de neostibosán, equivalentes a una cantidad de antimonio que fluctuó entre 4.44 y 8.32 g.

De los perros a los que se administró una segunda tanda de inyecciones, sobrevivieron cuatro. De los otros dos, uno apareció muerto al segundo día de haber terminado el tratamiento, y el otro, al cuarto día después de haber puesto la décimosexta inyección. Autopsiáronse los animales inmediatamente después que se sabía que

15. J. R. Culbertson and H. M. Rose, Chemotherapy of filariasis in the cotton rat by administration of neostam and neostibosan. *J. Pharmacol. and Exper. Ther.*, 81:189-196, 1944.

16. J. T. Culbertson, H. M. Rose, and J. Oliver González, Chemotherapy of human filariasis by the administration of neostibosan. 1st. report. *Am. J. Trop. Med.*, 25:271-274, 1945; 2nd. report. *Idem*, 25:403-406, 1945.

17. Por cortesía de la casa *Winthrop Company, Inc.*

TABLA 2
Primera tanda de inyecciones
Recuentos de microfilarias en seis perros parasitados con *Dirofilaria immitis*, inyectados con neostibosán:
14 inyecciones de 10 mg. del medicamento por kilo de peso durante cinco días consecutivos de la semana

Número del perro	Peso (kg.)	Dosis (g.)	Número de microfilarias en 20 mm.c. de sangre en un tiempo determinado											Porcentaje de reducción en el número de microfilarias, a las 11 semanas después de terminado el tratamiento	
			Antes del tratamiento		Semanas después del tratamiento										11
			Al final del tratamiento	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
217	12.5	4.06	128	139	86	92	109	116	81	63	44	38	44	39	—69
218	17.9	5.74	7	3	1	5	6	6	2	3	3	5	3	3	—57
219	20.0	6.44	209	438	330	174	194	137	167	173	119	121	35	62	—70
221	26	8.40	356	217	201	226	178	152	111	89	49	29	25	25	—93
222	16	5.18	1,103	988	1,005	997	992	921	887	846	697	617	673	532	—52
225	18	5.81	340	171	114	101	89	76	64	47	33	19	11	9	—97

TABLA 3
Segunda tanda de inyecciones
Recuento de microfilarias en seis perros parasitados con *Dirofilaria immitis*, inyectados con neostibosán: 18 dosis de 10 mg. de antimonio por kilo de peso, cinco días consecutivos de la semana

Número del perro	Peso (kg.)	Número de inyecciones	Gramos de medicamento inyectado	Antes del tratamiento	Al final del tratamiento	Número de microfilarias en 20 mm.c. de sangre, en un tiempo determinado											12 semanas después de terminado el tratamiento
						Días después del tratamiento											
						1	2	4	7	8	10	12	14	16	18	20	
217	14.9	18	6.21	39	19	15	17	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
218	18	18	7.47	4	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
219	24.9	18	10.35	58	9	12	11	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
221	26	18	10.80	22	2	0	0										
222	16	16	5.91	519	319	284	239	^a	^b								
225	22.9	18	9.54	12	0	0	0										

^aSacrificado.

^bEncontrados muertos - se le suspendió la medicación después de la décimosexta inyección.

TABLA 4

Dosificación de neostibosán administrado a seis perros parasitados con *Dirofilaria immitis*. A todos los perros se les administró cada dosis durante cinco días consecutivos de la semana, 10 mg. de antimonio por kilo de peso

Número del perro	Primera tanda							Segunda tanda							Dosis total	
	Peso (kg.)	Dosis diaria de antimonio (g.)	Dosis diaria de neostibosán (c.c.)	Número de inyecciones administradas	Dosis total de neostibosán (g.)	Dosis total de antimonio (g.)	Peso (kg.)	Dosis diaria de antimonio (c.c.)	Dosis diaria de neostibosán (c.c.)	Número de inyecciones administradas	Dosis total de neostibosán (g.)	Dosis total de antimonio (g.)	Dosis total de neostibosán (g.)	Dosis total de antimonio (g.)		
217	12.5	0.125	5.8	14	4.06	1.75	14.9	0.149	6.9	18	6.21	2.69	10.27	4.44		
218	17.9	0.179	8.2	14	5.74	2.51	18.0	0.180	8.3	18	7.47	3.24	13.21	5.75		
219	20.0	0.200	9.2	14	6.44	2.80	24.9	0.249	11.5	18	10.35	4.49	16.79	7.29		
221	26.0	0.260	12.0	14	8.40	3.64	26	0.260	12.0	18	10.80	4.68	19.20	8.32		
222 ^a	16.0	0.160	7.4	14	5.18	2.24	16.0	0.160	7.4	16	5.91	2.56	11.09	4.80		
225 ^b	18.0	0.180	8.3	14	5.81	2.52	22.9	0.290	10.6	18	9.54	4.13	15.35	6.65		

tanda de inyecciones. El perro número 221 quedó libre de microfilarias desde el día siguiente de terminar el tratamiento. No tuvo síntomas de importancia, a no ser cierto decaimiento después de las tres últimas inyecciones, pero tras la última dosis de neostibosán se tornó mohino y se le declaró una inapetencia muy grande, acompañada de adipsia. A pesar de que se le administró diariamente glucosa por vía parenteral y un millón de unidades de penicilina intravenosamente (recurso terapéutico empírico), el animal no mejoró lo mas mínimo y como su muerte parecía cercana, se le sacrificó y autopsió al tercer día de haber terminado el tratamiento. El perro número 222 apareció gravemente enfermo al día siguiente de haberle puesto la décimosexta inyección. Estaba muy decaído, con vómitos incoercibles, anoréxico y adíptico. Se le aplicaron líquidos por vía parenteral y un millón de unidades de penicilina diariamente, pero aunque experimentó una leve mejoría, apareció muerto cuatro días después de haberle puesto la inyección décimosexta de neostibosán. El perro número 225 quedó sin microfilarias el último día de tratamiento. No presentó síntomas patológicos de ninguna clase, pero se le encontró muerto dos días después. Con la sangre de estos tres perros inoculamos seis cricetos jóvenes, sin que se desarrollase en ellos enfermedad alguna durante tres semanas que estuvieron sometidos a observación. A estos tres perros se les practicó la reacción de complemento para diagnóstico de infección con *Leptospira canicola*, cuya reacción dió resultados positivos en los tres animales, pero a una titulación de 1:10,000, la cual se consideró que indicaba una infección padecida con anterioridad, pues los perros que padecen leptospirosis aguda generalmente dan una reacción positiva para la *Leptospira canicola* de, por lo menos, 1:250,000. Además, los perros que mueren de leptospirosis, presentan ordinariamente sintomatología aguda, la cual no se dió en estos animales. También es de advertir que a todos estos perros se les había vacunado contra la influenza canina y estuvieron puestos en cuarentena durante tres semanas antes de aislarles en la perrera, donde quedaron hasta que terminó el experimento. No hubo, pues, posibilidad de contacto entre los animales, los cuales ocupaban jaulas individuales y se les traía uno a uno cuando iban a ser inyectados. Ninguno de los otros animales (20-30) que estaban en la misma dependencia enfermó ni murió, antes ni después de estos tres perros.

Véanse a continuación las alteraciones anatomopatológicas observadas en las autopsias:

Macroscópicamente el corazón era de aspecto normal, salvo congestión de los vasos coronarios, petequias y equimosis en la base y en

el ápice, en el perro número 225. Todos los animales presentaban congestión de la base en ambos pulmones, con petequias en el parénquima, en los perros número 222 y 225. El hígado apareció siempre congestionado: en el perro número 225, con un tinte icterico. Los riñones mostraban congestión más o menos intensa; en los perros número 221 y 225, con hemorragias intersticiales, moderadas e intensas. Las demás vísceras no demostraban alteraciones de importancia.

El examen microscópico reveló lesiones en los pulmones, riñones e hígado. En el hígado, éstas fueron muy variadas, consistiendo de infiltración linfocitaria, con proliferación mononuclear intensa, degeneración hialina y abundancia de residuos necróticos en la parte central de los lóbulillos hepáticos (perro núm. 221), hasta necrosis central avanzada (en los perros núm. 222 y 225, v. grab. 13). Estas lesiones parecen depender de la congestión de las ramas portales y de la infiltración linfocitaria en torno de estos vasos.

Los riñones, congestionados, presentaban intensas hemorragias intersticiales de la médula, en los perros números 225 y 221 (grab. 14). En los animales 222 y 225 existían, además, bandas fibrosas radiadas, infiltradas de células redondas, en la corteza renal. En el animal número 221 veíanse lesiones patológicas características de pielonefritis crónica.

El bazo, en uno de los animales, era de aspecto normal. En otro, la víscera presentaba una congestión moderada e irregular, con algunos focos de células plasmáticas y escaso número de megacariocitos y leucocitos polinucleados, predominado éstos en las porciones subcapsulares. En el tercer perro, sólo se apreciaba un aumento de células plasmáticas.

La glándula tiroides era normal en todos los animales, y únicamente en el perro número 222, podía apreciarse cierta disminución de la sustancia coloidal, dentro de alguno de los acinos. En este mismo perro, además de las alteraciones enumeradas, encontráronse en el tejido pulmonar numerosas microfilarias, algunas fragmentadas y otras íntegras (grab. 15 y 16); estas últimas, en su mayoría en posición estirada, aparecían dentro de los tabiques alveolares y, rara vez, dentro de los alvéolos, los cuales generalmente contenían en su interior un fino exudado amorfo y granular, con algunas células redondas y mononucleadas. Los parásitos fragmentados eran mucho más numerosos y, frecuentemente, aparecían entremezclados con fagocitos mononucleados grandes, en los tabiques interalveolares. Alguna vez se observaban zonas de proliferación fibroblástica en torno a los focos de mononucleados que contenían fragmentos de microfilarias. Los alvéolos adyacentes a las zonas de fagocitosis

contenían con frecuencia cantidades moderadas de exudado granular oxifílico.

En el hígado del perro número 222 (grab. 17) había numerosas microfilarias, algunas extendidas, otras fragmentadas y otras de cortas dimensiones, en forma de *C*, que parecían formas juveniles. Todas estaban libres dentro de los sinusoides hepáticos, y contorneadas por mononucleados y células redondas. Dentro del hígado no había fragmentos de microfilarias en proceso de fagocitosis. Dentro de la pulpa esplénica se encontró una microfilaria en posición extendida, situada precisamente en la periferia de un folículo.

Las alteraciones observadas en los parásitos filáricos adultos aparecerán expuestas en la sección "B".

Todas las microfilarias encontradas en la sangre de los perros, durante y después del tratamiento, ejecutaban movimientos activos, con latigazos violentos y ondulaciones serpentinadas, cruzando a veces el campo microscópico y desapareciendo de la vista. No se notó diferencia alguna en la movilidad de los parásitos procedentes de los perros durante, o después, del tratamiento, ni en los de los perros sin tratar.

No se apreciaron alteraciones morfológicas en las microfilarias durante el tratamiento de los perros, ni después de la primera o segunda tanda de inyecciones. Lo mismo en los perros tratados o no, las microfilarias medían de 4.8 a 8.0 micras, a nivel del anillo nervioso, pero las dimensiones de la gran mayoría oscilaron entre 6.4 y 8.0 micras. Tampoco se apreció variación alguna del grueso del cuerpo de los parásitos, durante o después del tratamiento de los animales.

En ningún momento pudieron notarse cambios de forma, aspecto o configuración de los distintos órganos (columna nuclear, anillo nervioso, poro excretorio y poro anal) de los parásitos procedentes de los perros medicados. Sin embargo, algunas microfilarias observadas, lo mismo en los animales medicados que en los no sometidos a tratamiento, presentaban células prominentes debajo de la cutícula.¹⁹

En contraste con esto, las microfilarias observadas en las preparaciones hechas con sangre, que se habían dejado reposar durante del cuerpo de los parásitos, durante o después del tratamiento de los algún tiempo en el laboratorio hasta que cesaron de moverse (muertas, al parecer), presentaban todas un aspecto sorprendente. Estos parásitos aparecían con el cuerpo extendido, estirado, y rara vez,

19. F. Fülleborn, *op. cit.*

levemente doblado o curvado. Los anillos transversales de la cutícula destacábanse muy bien y los núcleos ya no aparecían dispuestos en columnas compactas, sino dispersos a todo lo ancho del cuerpo. Los órganos de referencia más corriente, tales como el anillo nervioso, el poro excretorio, etc., aparecían generalmente oscurecidos por la dispersión nuclear y ya no podían ser identificados.

Comentarios. De los datos obtenidos al administrar el neostibosán, parece deducirse que, cuando la dosis total es de 4.06–8.40 g. (1.75–3.64 g. de antimonio) en un solo tratamiento corto e intensivo, el número de microfilarias *D. immitis* circulantes en la sangre del perro decrece progresivamente, sin dar lugar a efectos contraproducentes. Once semanas después de terminar el tratamiento, el recuento micro filárico descendió del 52 al 97 por ciento. Este hecho es semejante al observado por Culbertson²⁰ y sus colaboradores, los cuales aseguran que la reducción de la cifra de microfilarias (*W. bancrofti*) en los sujetos parasitados llega al 64 por ciento a los tres meses de finalizar un tratamiento corto e intensivo de neostibosán, en el que las dosis totales oscilaron de 9.5–15.59 g. (4.1–6.7 g. de antimonio).

Si bien es cierto que con una segunda tanda de inyecciones de neostibosán, administradas once semanas y media después de terminar la primera, se logró hacer desaparecer completamente las microfilarias de la circulación en 5 perros, de un lote de 6,²¹ uno de los perros falleció y otro enfermó gravemente y hubo que sacrificarlo. Los exámenes post-mortem revelaron alteraciones patológicas intensas, con degeneración y necrosis extensas de las áreas centrales de los lobulillos hepáticos, y hemorragia en la médula renal y en los pulmones; lesiones muy semejantes a las ocasionadas por envenenamiento antimonial crónico.

La dosis total de antimonio administrada a los animales fallecidos no fué mucho mayor que la de los animales sobrevivientes (comparativamente: 4.80–8.32 g., a unos; 4.44–7.29 g., a otros). Tampoco se observaron en los animales fallecidos signos previos de alteraciones hepáticas o renales (cirrosis o nefritis glomerular) que hubiera podido provocar la acumulación anormal o imperfecta excreción del antimonio.

La súbita aparición de los síntomas tóxicos, con depresión profunda, anorexia, adipsia y, en un caso, vómitos incoercibles, fué cosa sorprendente y se manifestó, al final del tratamiento, en todos

los animales. Esta rapidez en la aparición de los síntomas y su pronta terminación fatal (de 2 a 4 días después), si fué provocada por el neostibosán, es en un todo semejante a las reacciones tóxicas, generalmente mortales, que aparecen después del segundo tratamiento con antimonio, observadas por Lochte, Putscher, Werkgartner, Borgzinner y otros.²² Esas reacciones tóxicas, tras un segundo tratamiento de antimonio, han sido atribuidas por algunos autores a la acumulación extraordinaria del metaloide, y pueden deberse a diferencias individuales en la acumulación y excreción, aún cuando no existan lesiones anatomopatológicas demostrables en el riñon ni en el hígado, o quizás dependan de una hipersensibilidad individual ante el medicamento.

Los resultados obtenidos por nosotros parecen confirmar lo aconsejado por Schmidt y Peter,²³ de que un segundo curso de tratamiento con sales de antimonio sólo puede ser administrado después que haya transcurrido un largo período de tiempo y, aún así, con la mayor cautela posible. Cualquier signo tóxico que se presente en la segunda administración del medicamento indica que el tratamiento debe suspenderse en el acto. La presencia de microfilarias fragmentadas y fagocitadas en un perro que murió bajo tratamiento, antes de la desaparición de los embriones, y su ausencia en los perros que fallecieron o fueron sacrificados al tercer día de la desaparición de las microfilarias parecen indicar que la absorción de las microfilarias muertas es tan rápida como completa.

Resumen. Al administrar a seis perros un solo tratamiento intensivo de neostibosán, consistente en 10 mg. de antimonio por kilo de peso, cinco días consecutivos de la semana, hasta 14 dosis, se observó una reducción de 52–97 por ciento del número de microfilarias circulantes al cabo de 11 semanas de haber terminado el tratamiento. Si bien administrando un segundo tratamiento intensivo de neostibosán, comenzando a las once semanas y media de terminado el primero, se logró hacer desaparecer completamente las microfilarias en 5 de los 6 perros tratados, uno de ellos murió y, otro, sufrió una intensa toxemia y fué después sacrificado. La diferencia entre las dosis totales de antimonio administradas a los perros fallecidos

22. T. Lochte and W. Putscher, Ein Fall von tödlicher Fuadinvergiftung. Deutsche Ztschr. f.d.ges.gerichtl.Med., 20:471–481, 1933.

A. Werkgartner, Eine tödliche Antimosanvergiftung. Wien.klin.Wchnschr., 40:798–799, 1927.

R. Borgzinner, Über eine tödliche vergiftung durch Antimosan. Zentralb.f.inn.Med., 48: 1137–1140, 1927.

23. Schmidt and Peter, Zur therapie der multiplen sklerose. Therapeut.Berichte, Vol. 12, 1929.

20. J. T. Culbertson et al., op. cit.

21. El perro número 6 (caso núm. 222) fué encontrado muerto 4 días después de haberle puesto la inyección décimosexta, última de la serie. La cantidad de microfilarias en el momento de la muerte fué 207 por 20 mm.c.

(4.80–8.32 g.) y a los sobrevivientes (4.44–7.29 g.) era muy poca.

Al final de la medicación se observaron algunas síntomas enfadosos en 3 perros (dos de ellos libres de microfilarias), cuya sintomatología consistió en depresión intensa, anorexia, adipsia y, en un caso, vómitos incoercibles. De los 3 perros murieron 2; uno a los 2 días, y, otro, a los 4 de haber aparecido los síntomas antedichos; al tercer perro hubo que sacrificarlo cuatro días después de aparecer los síntomas tóxicos.

Los exámenes post-mortem de estos 3 perros revelaron degeneración y necrosis en el centro de los lóbulos hepáticos, y hemorragias en la médula renal y el tejido pulmonar, lesiones, al parecer, semejantes a las observadas en el envenenamiento crónico por sales de antimonio.

En el perro que falleció antes de haber desaparecido las microfilarias en la sangre, encontráronse numerosos embriones en los pulmones y en el hígado, y uno en el bazo. De los existentes en los pulmones, muchos estaban fragmentados y en vías de ser fagocitados por mononucleados. En las vísceras internas y ganglios linfáticos de los otros dos animales no se encontraron microfilarias.

Los tres perros sobrevivientes quedaron libres de microfilarias a los 4, 7 y 8 días, respectivamente, de haber terminado la medicación. Los exámenes de sangre, practicados dos veces a la semana, durante un período de observación de doce semanas, resultaron todos negativos.

No se notó diferencia alguna entre la movilidad o la morfología de las microfilarias existentes en la sangre de los perros dejados sin tratar, en relación con las encontradas en los perros durante el tratamiento, o después de terminado éste.

B. Sus efectos sobre las filarias adultas

Para completar el estudio de los efectos del neostibosán sobre las microfilarias de la especie *Dirofilaria immitis*, hemos realizado ciertas observaciones para tratar de terminar si dicho medicamento posee: (1) una acción filaricida directa sobre el parásito adulto o (2) si las alteraciones observadas después de su administración pueden ser atribuidas a lesiones patológicas de los órganos de reproducción de los vermes filáricos machos o hembras.

Procedimiento y métodos de investigación. A seis perros parasitados con microfilarias se les puso bajo tratamiento intensivo de neostibosán, en dos períodos distintos, con once semanas de intervalo entre uno y otro. A todos los animales se les administró una dosis de 10 mg. de antimonio por kilo de peso, cinco días a la semana, hasta

componer 14 y 18 dosis, respectivamente, en cada período de tratamiento.

De los seis perros medicados, tres quedaron exentos de microfilarias a los 3, 7 y 8 días después de haber completado el segundo tratamiento, y así permanecieron durante las 12 semanas que duró el período de observación postmedicamentoso, al final del cual fueron electrocutados y autopsiados.

De los otros tres animales, uno quedó sin microfilarias el último día de tratamiento, pero apareció muerto dos días después; otro se enfermó gravemente después que se le administró la inyección décimosexta de la segunda tanda del medicamento y falleció cuatro días después, cuando todavía el recuento de microfilarias acusaba 207 parásitos por 20 mm.c. de sangre; el tercer animal quedó libre de microfilarias un día después de terminar el tratamiento y se le sacrificó dos días más tarde.

Al autopsiar estos animales practicáronse cortes de corazón, hígado, bazo, pulmones, riñones, suprarrenales, glándula tiroides y ganglios linfáticos, para someterlos a examen microscópico. Disecáronse las arterias pulmonares hasta llegar a las ramas terminales y examináronse cuidadosamente los grandes vasos torácicos y abdominales para pesquisar los parásitos filáricos que contuviesen. Cuando aparecían, se observaba su vitalidad y movilidad, se les ponía en líquido fijador, preparando después cortes microscópicos que se teñían conforme a la técnica descrita por Ashburn y sus colaboradores.²⁴

Hallazgos de autopsias. La autopsia de los tres perros sacrificados al final de un período de 12 semanas de haber estado libres de microfilarias no reveló ningún signo macroscópico anormal en dos de los tres animales. En el tercero, perro número 219, los pulmones aparecieron de consistencia esponjosa, presentando numerosas petequias diseminadas por todo el parénquima y unas áreas transparentes, de color gris blanquecino, de 1 a 2 mm., aproximadamente, de diámetro, que hacían prominencia sobre la superficie del corte, y eran más numerosas en los lóbulos inferiores. En el lóbulo medio derecho existía, además, un área bien circunscrita, de 1 m.c. de diámetro medio, que contenía un material amorfo, grueso y de color amarillo.

La observación microscópica de las vísceras de estos animales no demostró alteraciones histopatológicas de importancia en el corazón, tiroides ni ganglios linfáticos bronquiales. Los pulmones en todos los perros presentaban numerosas áreas diseminadas de engrosamiento interalveolar, con infiltración linfocitaria. En el perro 219

24. L. L. Ashburn et al., op. cit.

existían muchos parajes perfectamente circunscritos, en los que se agrupaban leucocitos polinucleados. Algunos de estos parajes presentaban necrosis en el centro; otros, en ocasiones, exhibían una estructura laminada, irregularmente concéntrica. Dos ramas de la arteria pulmonar estaban obliteradas por masas granulomatosas, como las que se observan en las lesiones de la filariasis canina. En el hígado del perro número 217, el tejido conjuntivo parecía algo abundante, y, en el perro número 219, existían lesiones cirrósicas tempranas. Los riñones, en dos animales, tenían aspecto normal, aunque con algunos focos intersticiales de linfocitos y células plasmáticas. En el perro número 218, sin embargo, observáronse numerosas bandas radiadas fibrósicas, infiltradas intensa o moderadamente de células redondas, en la corteza renal. La única alteración microscópica notable en el bazo se observó en el perro número 219, en que existían áreas hemorrágicas intrafoliculares. Las glándulas suprarrenales, de aspecto normal sólo en el perro número 217, presentaban cierta disminución del número de células que contorneaban la corteza medular y un aumento de las fibras colágenas, lo cual daba al tejido un aspecto reticulado.

De los dos perros autopsiados al tercer día de estar sin microfilarias en la sangre, el animal número 225 presentó petequias y equimosis en el corazón; en el número 221 se observó, en cambio, dilatación de la aurícula y ventrículo derechos. En ambos perros los pulmones están congestionados en las bases; con petequias diseminadas, en el perro número 225. El hígado, en ambos animales, congestionado, y en el número 225, con coloración icterica. El bazo, de consistencia blanda y pulposa, y la médula renal, con hemorragias difusas, en los dos animales. La musculatura del perro número 225 presentaba además un tinte icterico.

El examen microscópico del corazón en ambos animales no reveló nada anormal, excepto congestión de los vasos coronarios en el perro número 225; en los pulmones, cierto engrosamiento de los tabiques interalveolares con infiltración linfocitaria. En el perro número 225 existían, además, áreas circunscritas hemorrágicas interalveolares y edema. En el número 221, algunas ramas de las arterias pulmonares estaban obliteradas por masas granulomatosas, tal como se observan en las lesiones de la filariasis canina. Las alteraciones hepáticas en ambos animales fueron muy variadas: desde áreas extensas de necrosis centrolobulillares en el perro número 225, hasta infiltración linfocitaria, proliferación mononuclear, y acumulación de fibras hialinas y detritus necrósicos en el centro de los lobulillos hepáticos, en el perro número 221. Aunque la médula renal aparecía congestionada

y hemorrágica en ambos perros, estas alteraciones eran más intensas en el número 225, en el cual se observaron además bandas radiadas de fibrosis, infiltradas de linfocitos y células plasmáticas. El perro número 221 presentaba, además, numerosos focos de fibrosis en este órgano, acompañados de escasa infiltración linfocitaria y de algunos polinucleados. El número de células plasmáticas aparecía aumentado en el bazo de ambos animales, así como también los polinucleados, sobre todo en la región subcapsular, en el perro número 221. Las suprarrenales, tiroides y ganglios linfáticos no presentaban alteraciones de importancia.

Estudios de las filarias adultas. Perro núm. 217. Recobráronse en este animal 10 vermes machos y 2 hembras, vivos y muy movibles, dentro del ventrículo derecho, enrollados en torno a la cuerda tendinosa de la válvula tricúspide.

Al microscopio, los machos no presentaban alteraciones morfológicas de interés, y sólo se notó depleción del gonoducto hacia el extremo de su parte anterior.

En las hembras los ovarios parecían normales. En una, el útero estaba vacío, con algunos óvulos unicelulares en las porciones media y posterior; gran parte de los óvulos mostraba oxifilia intensa y pérdida de los detalles celulares, estando algunos evidentemente necrósicos. En otro verme hembra había un conglomerado de óvulos unicelulares, fundidos entre sí, degenerados y necrósicos, en la parte posterior del útero, y un pequeño número de formas multicelulares, hacia la mitad y parte posterior del órgano. La mayoría de estas formas multicelulares aparecía en distintas etapas de fragmentación oxifilica. En ninguna de las hembras se observaron embriones ni microfilarias. En la porción distal uterina de ambos vermes había muchos espermatozoos.

Perro núm. 218. Encontráronse 2 vermes hembras, muy movibles, dentro del ventrículo derecho, enrollados en torno a las cuerdas tendinosas de la válvula tricúspide.

Examen microscópico: ambos vermes con ovarios normales. En un verme, en la parte posterior del útero, existían muchos óvulos unicelulares, al parecer bien conservados, aunque levemente oxifílicos. Hacia la parte anterior iba disminuyendo el número de óvulos; los que estaban hacia la parte media presentaban signos de degeneración; en cambio, los pocos que existían en el punto más anterior del útero, aparecieron contraídos, muy oxifílicos y en franca necrosis. En el otro verme hembra se observaron las mismas alteraciones, excepto algunos más óvulos necrósicos en las porciones más anteriores del útero.

Perro núm. 219. Recobráronse 4 machos y tres hembras, todos vivos, dentro del ventrículo derecho. Aparecieron además otros 4 vivos dentro del lumen de la arteria pulmonar derecha.

Examen microscópico: los machos, sin alteraciones, pero sin espermatozoos o formas precursoras espermatozoides en las porciones más anteriores del gonoducto.

Los ovarios, en todas las hembras, de aspecto normal. En los puntos más posteriores del útero, en dos de los vermes, había muchos óvulos unicelulares, también de aspecto normal, aunque algunos oxifílicos. Conforme se ascendía hacia la parte anterior iba, sin embargo, disminuyendo rápidamente el número de óvulos y se acentuaban los cambios degenerativos. Los escasos óvulos dentro del útero estaban arrugados, muy oxifílicos y completamente necrosados. Un tercer verme hembra sólo contenía muy pocos óvulos, situados en la parte posterior del útero, unicelulares y en proceso degenerativo. En ninguna de las filarias hembras se observaron formas de evolución ovular, embriones, ni microfilarias.

Perro núm. 221. Encontráronse 6 vermes hembras (5 vivos y 1 muerto) y 4 machos vivos en la aurícula derecha. En la rama media de la arteria pulmonar derecha se recobraron dos hembras y un macho, todos vivos. En la rama de la arteria pulmonar derecha, hacia el lóbulo superior derecho, aparecieron tres hembras muertas, una viva y un macho vivo.

Microscópicamente, pudo apreciarse gran número de espermatozoos de morfología normal, situados en la parte anterior del gonoducto, en todos los vermes machos examinados. En la parte media, sin embargo, había espermatozoos en proceso de evolución, que tomaban mal los tintes, con los bordes celulares borrosas y sin detalles. Había un área necrótica bien definida. Dentro de la parte posterior del gonoducto los espermatozoos en desarrollo tenían aspecto normal.

Las hembras todas, menos una, parecían tener los ovarios normales. Aunque existían muchos óvulos unicelulares necróticos en la parte más posterior del útero en una hembra, el resto del canal uterino estaba completamente vacío y sólo contenía algún óvulo unicelular necrótico. En otra hembra, el útero estaba también casi completamente vacío, con sólo algunos óvulos mono o multicelulares en la parte más anterior, con leves signos degenerativos. En otra hembra los ovarios estaban algo vacuolizados, con los contornos y detalles celulares borrosos y desdibujados. En los úteros de este verme había numerosas formas multicelulares. Las situadas en la parte posterior del útero eran a veces necróticas; en cambio, las que estaban en la parte más anterior presentaban a veces signos de picnosis y

oxifilia citoplásmica. En las partes más anteriores veíanse óvulos multicelulares, embriones y algunas pocas microfilarias bien desarrolladas y enroscadas apretadamente. A pesar de eso, todas estas formas de evolución presentaban signos más o menos avanzados de oxifilia citoplásmica, picnosis nuclear, pérdida del contorno celular y fragmentación en algunos casos. Un cuarto verme hembra contenía algún óvulo unicelular necrótico en la parte posterior del útero y, en la parte media, un número moderado de formas multicelulares en proceso de degeneración o necrosis. La porción anterior del útero estaba completamente vacía.

Perro núm. 225. Albergaba seis machos y una hembra, vivos, en el corazón derecho. Todos estos vermes tenían un brillante color amarillo. Según se demostró después en la autopsia, en este perro todos los músculos del cuerpo tenían un tinte icterico.

Examen microscópico. Los machos contenían espermatozoos bien diferenciados morfológicamente y de aspecto normal dentro de la porción anterior de los gonoductos. En un macho existían una pocas células necróticas en las partes más posteriores. En otro, detritus celulares, sin espermatozoos en evolución normal, aparecían en la porción media del tubo.

Una de las hembras presentaba las células ováricas vacuolizadas y contenía numerosos óvulos necróticos en las partes posteriores del útero. Hacia la parte anterior las formas unicelulares, menos cada vez, iban siendo reemplazadas por los óvulos multicelulares, cuya mayoría presentaba alteraciones degenerativas y necróticas. Dentro de la parte anterior uterina había moderada cantidad de óvulos multicelulares degenerados, necróticos y fragmentados, al par que alguna que otra microfilaria fragmentada, con núcleos picnóticos y citoplasma oxifílico. Otra hembra presentaba, aproximadamente, las mismas alteraciones, pero los óvulos multicelulares no estaban tan degenerados. El tercer verme hembra, con alteraciones semejantes, pero, además, con numerosos espermatozoos situados en la parte posterior del útero.²⁵

*Perro núm. 222.*²⁶ Aparecieron 12 vermes machos (10 vivos, 1 muerto y 1 inmóvil) y 9 hembras (6 vivos y 3 muertos) dentro del ventrículo derecho.

La única cosa notable observada microscópicamente en los machos fué, posiblemente, la degeneración de los espermatozoos localizados en la parte más anterior del gonoducto. Estos espermatozoos no

25. Lo imperfecto de la técnica utilizada al hacer los cortes no nos permite asegurar que no existiesen espermatozoos en los otros vermes hembras examinados.

26. Este animal albergaba 207 microfilarias por 20 mm.c. de sangre al tiempo de la muerte.

estaban, al parecer, bien diferenciados morfológicamente. En un macho, la parte anterior del gonoducto estaba vacía, conteniendo únicamente material granular basofílico.

Una de las hembras albergaba numerosos óvulos unicelulares necróticos en la parte más posterior del útero. En las porciones más anteriores había moderada cantidad de formas multicelulares, la mayoría en degeneración y necrosis, y algunas microfilarias muy enrolladas, en las que a veces se veían núcleos y citoplasma oxifílico. En estas porciones más anteriores uterinas, sólo existía alguna que otra microfilaria fragmentada y rara vez intacta, pero degenerada. En otra hembra observáronse focos de necrosis en una de las circunvoluciones ováricas. En la porción posterior del útero existían óvulos degenerados y necróticos. Las formas multicelulares ocupaban las posiciones más anteriores; aunque algunas de éstas aparecían oxifílicas, fragmentadas y picnóticas, muchas tenían aspecto normal. En un corte transversal del verme aparecieron espermatozoos dentro de la parte posterior del útero. En otro verme, óvulos unicelulares necróticos estaban situados en la parte posterior del útero, formas multicelulares en la porción media (algunas en proceso de degeneración) y microfilarias bien conformadas, en las porciones más anteriores, donde también aparecían numerosas microfilarias fragmentadas. Los ovarios en todas las hembras, menos en una, eran normales. Ya hemos descrito anteriormente lo observado en ellos.

Comentario. De lo observado parece deducirse que el neostibosán no produce resultados efectivos contra la especie *Dirofilaria immitis*. De los 71 vermes recobrados en los animales medicados, 63 aparecieron vivos, con movimientos activos. El escaso número de lesiones granulomatosas y abscesos pulmonares que se observaron en torno a los vermes muertos, o de los detritus indicadores de su previa existencia, no parece indicar que existiesen otros vermes que los encontrados, que hubiesen sido aniquilados por el medicamento y desalojados del sitio (el corazón o en las arterias pulmonares) en que se encontraban localizados. Lo que parece demostrarse es que el neostibosán ejerce una acción nociva sobre el sistema reproductor de los vermes filáricos adultos.

Los vermes machos que se recobraron en los perros autopsiados²⁷ a los dos y cuatro días después de haber terminado la segunda tanda de inyecciones de neostibosán, todos tenían los testículos normales, pero los espermatozoos presentaban distintas alteraciones en su proceso de evolución. La acción del medicamento parece ejercerse

27. Dos estaban libres de microfilarias, mientras que uno mostraba 207 microfilarias por 20 mm.c. de sangre, en el momento de la autopsia.

principalmente sobre las formas evolutivas que se encontraron en la porción media del gonoducto: alteraciones varias, desde la simple borrosidad del contorno celular, hasta pérdida completa de su definición, aunque rara vez necrosis.

Los vermes hembras conservaban los ovarios aparentemente normales, si bien en ocasiones se observó vacuolización o focos de necrosis en una de las circunvoluciones. Como se había administrado a los animales una primera tanda de inyecciones del medicamento, es interesante observar que las hembras albergaban en sus ovarios óvulos unicelulares, en todas sus fases de evolución, e incluso microfilarias bien diferenciadas. Todos estos hechos parecen indicar: (1) que la primera etapa del tratamiento no impidió la ovulación ni el posterior proceso evolutivo del óvulo, el cual pudo alcanzar su forma definitiva; o bien puede suceder que (2) las formas encontradas hayan evolucionado durante el primer curso del tratamiento, pero sin haber sido eliminadas del canal reproductivo. Esta última hipótesis no parece acertada dado el largo intervalo de tiempo transcurrido y las alteraciones observadas en los vermes después de las 12 semanas en que estuvieron los perros sometidos a observación.

Sin embargo, todas las formas evolutivas mostraban alteraciones patológicas que fluctuaban desde signos degenerativos (picnosis nuclear, exofilia citoplásmica y oscurecimiento del contorno celular) hasta la necrosis franca. Los óvulos unicelulares alojados en las porciones del útero parecían ser los más afectados, pues en su mayor parte estaban arrugados y necróticos. Aunque algunas formas multicelulares, al igual que las microfilarias, presentaban signos de necrosis, las más de ellas solo mostraban señales más o menos marcadas de degeneración y fragmentación. Parece, pues, que el neostibosán ejerce una acción tóxica sobre todas las fases evolutivas ovulares existentes en el útero de los parásitos hembras.

Por otra parte, los vermes hembras recobrados en los perros sacrificados al cabo de 12 semanas de haber quedado libres de microfilarias, sólo contenían óvulos unicelulares, la mayoría de los cuales únicamente estaba localizada en las porciones uterinas posteriores, y todos los huevos tenían aspecto normal, salvo, alguna vez, leve oxifilia. Las porciones media y anterior del útero estaban vacías, y rara vez albergaban algún óvulo unicelular. Los ovarios en todas las hembras tenían aspecto normal.

La normalidad morfológica de los ovarios y óvulos podría explicarse de varias maneras: (1) el neostibosán pudo haber actuado directamente sobre todas las fases evolutivas del óvulo y sobre las microfilarias existentes en el útero en el momento del tratamiento,

pero no sobre los ovarios, o también; (2) el medicamento ejercería quizás una acción tóxica transitoria sobre los ovarios. Cualquiera de las dos hipótesis es fácil de comprender. Empero, debe tenerse presente que esos óvulos quizás eran incapaces de continuar su desarrollo evolutivo, aún cuando tuviesen un aspecto normal. En realidad, no podemos llegar a una conclusión definitiva sobre los efectos de este medicamento y serían necesarias otras investigaciones en animales que hayan sobrevivido períodos de tiempo más prolongados antes de hacerles la autopsia.

Resumen. El neostibosán no demuestra ejercer una acción filaricida sobre los vermes adultos de la especie *Dirofilaria immitis*. De los 71 vermes recobrados en la autopsia de perros a los que se habían inyectado dos series del medicamento, 63 estaban vivos y con movimientos activos.

Los vermes hembras aparecidos en los perros autopsiados después de dos y cuatro días de la segunda tanda de inyecciones de neostibosán albergaban óvulos en todas sus etapas evolutivas, y microfilarias perfectamente diferenciadas. Sin embargo, todas estas formas ovulares presentaban signos variables de degeneración y necrosis. El aspecto morfológico de los ovarios era normal, salvo alguno vacuolizado y, en un caso, con focos de necrosis. Los vermes machos poseían testículos normales, pero los espermatozoos alojados en el centro de la porción media del gonoducto aparecían ocasionalmente con leves signos degenerativos y, en un verme, necrósicos.

En los perros a los que se practicó la autopsia 12 semanas después de haber desaparecido las microfilarias de la sangre periférica, las filarias hembras poseían ovarios normales que albergaban solamente óvulos unicelulares normales en la porción posterior del útero, estando vacío el resto de este órgano. Los machos, así como sus espermatozoos, normales también.

Nuevas investigaciones para determinar la duración del efecto tóxico del neostibosán sobre los órganos reproductores de los vermes filáricos adultos serán necesarias antes de poder valorar con exactitud la eficacia terapéutica de este medicamento.

R. L. trad.