

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA



ESTUDIOS DE TOXICIDAD DERMICA DE LA T-514
(PEROXISOMICINA A.) AISLADA DEL GENERO
KARWINSKIA EN CONEJOS NUEVA ZELANDA

POR

VICTOR ARMANDO TAMEZ RODRIGUEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR
EN CIENCIAS con Especialidad en Farmacología
y Toxicología

'Abril' del 2001

TD
QP981
.K37
T36
2001
c.1



1080092881

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA

KARWINSKIA EN CONEJOS NUEVA ZELANDA

Aprobación de la tesis



Dr. med. María Guadalupe Hernández de Rocha
Directora de la tesis

ESTUDIOS DE TOXICIDAD DERMICA DE LA T-514
(PEROXISOMICINA A.) AISLADA DEL GENERO
KARWINSKIA EN CONEJOS NUEVA ZELANDA

Ph.D. Julio César Treviño
Miembro del Jurado

POR

VICTOR ARMANDO TAMEZ RODRIGUEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR
EN CIENCIAS con Especialidad en Farmacología
y Toxicología

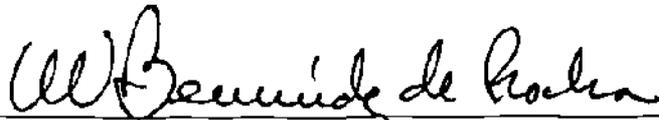
Abril del 2001

TD
9/29
37
136
2001



**ESTUDIOS DE TOXICIDAD DÉRMICA DE LA T-514
(PEROXISOMICINA A₁) AISLADA DEL GÉNERO
KARWINSKIA EN CONEJOS NUEVA ZELANDA**

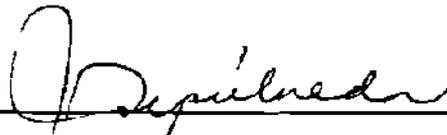
Aprobación de la tesis:



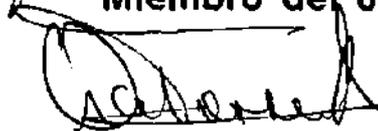
**Dr. med. María Victoria Bermúdez de Rocha
Director de la tesis**



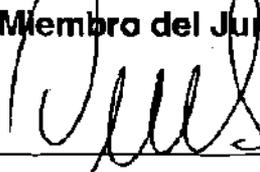
**Dr. med. Alfredo Piñeyro López
Codirector de la tesis**



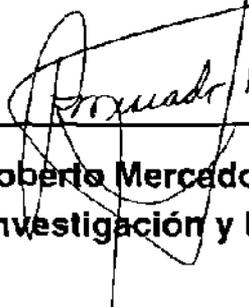
**Ph.D. Julio Sepúlveda Saavedra
Miembro del Jurado**



**Dr. med. Oscar Torres Alanís
Miembro del Jurado**



**Dr. med. Oscar de la Garza Castro
Miembro del Jurado**



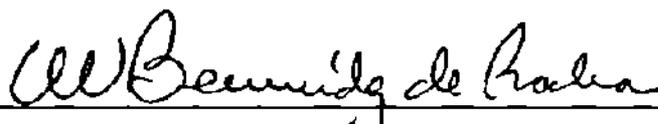
**Dr. Roberto Mercado Longoria
Subdirector de Investigación y Estudios de Posgrado**

**ESTUDIOS DE TOXICIDAD DÉRMICA DE LA T-514
(PEROXISOMICINA A₁) AISLADA DEL GÉNERO
KARWINSKIA EN CONEJOS NUEVA ZELANDA**

Presentado por

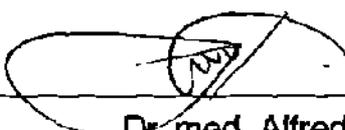
Q.C.B. Víctor Armando Tamez Rodríguez

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Farmacología y
Toxicología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. bajo la asesoría de
la Dr. med. María Victoria Bermúdez de Rocha y la coasesoría del
Dr. med. Alfredo Piñeyro López.



Dr. med. María Victoria Bermúdez de Rocha

Director de la tesis



Dr. med. Alfredo Piñeyro López

Codirector de la tesis

Víctor Armando Tamez Rodríguez

Fecha de graduación: Abril, 2001

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Título del Estudio:

ESTUDIOS DE TOXICIDAD
DÉRMICA DE LA T-514
(PEROXISOMICINA A₁) AISLADA
DEL GÉNERO *KARWINSKIA* EN
CONEJOS NUEVA ZELANDA.

Número de páginas: 101

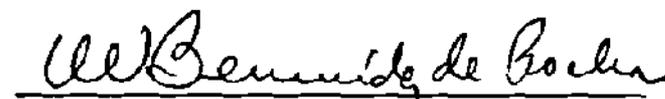
Candidato para la obtención del
Grado de Doctor en Ciencias con
Especialidad en Farmacología y
Toxicología.

Área de Estudio: Farmacología
y Toxicología

Próposito y Método de Estudio: La T-514 (Peroxisomicina A₁) es una antracenona dimérica que se extrae de plantas del género *Karwinskia*. Se ha comprobado que esta sustancia posee una alta toxicidad selectiva entre las poblaciones celulares de origen benigno y maligno. Estos resultados han motivado a la realización de diversos estudios con el fin de establecer su posible uso como agente antineoplásico. A través de este trabajo se pretende evaluar el potencial de irritación de la Peroxisomicina A₁ por vía dérmica así como determinar los efectos tóxicos sistémicos en los órganos blanco tales como hígado, pulmón y riñón. Así mismo, se presentan los procedimientos para la evaluación de la toxicidad dérmica y los resultados de la evaluación histopatológica.

Contribuciones y Conclusiones: Con base en los resultados obtenidos se concluyó que la Peroxisomicina A₁ administrada vía tópica, no produce efectos de fototoxicidad ni fotopigmentación, así como tampoco causa daño sistémico en los órganos blanco. De acuerdo al Índice de Irritación Primaria obtenido se considera a la Peroxisomicina A₁ como una sustancia no irritante o de irritación ligera. La Peroxisomicina A₁ administrada vía intradérmica produce ligera sensibilización.

FIRMA DEL ASESOR



Dr. med. María Victoria Bermúdez de Rocha

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida, la salud y las bendiciones recibidas para concluir hoy esta etapa.

A mis Padres que me dieron la oportunidad de vivir, crecer y la formación y educación necesaria para luchar en la vida.

A mi esposa (Rosy) e hijos (Cynthia y César) con todo mi cariño, por su estímulo, paciencia y comprensión.

a la Dr. med. María Victoria Bermúdez de Rocha con todo respeto, admiración y cariño, por su amistad y apoyo incondicional.

Al Dr. med. Alfredo Piñeyro López porque gracias a sus enseñanzas, su apoyo y su acertada crítica este trabajo llegó a su fin.

Al Dr. Jesús Ancer Rodríguez por sus valiosas sugerencias, disposición de ayuda e interés en la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Juan Pablo Flores Gutiérrez por su colaboración y asesoría en los estudios anatomopatológicos.

A la Q.C.B. Martha Elizabeth Salazar Leal por su valiosa amistad, apoyo y consejo.

Al Ph.D. José Pisanty Ovadia con admiración y respeto, por escucharme, aguantarme y brindarme siempre sus enseñanzas.

Al M.V.Z. Gilberto Arévalo Martínez por haber compartido conmigo los buenos y los malos momentos. Gracias por tu amistad.

A mis compañeras del Doctorado por ser unos excelentes compañeros de camino y por los momentos que hemos pasado juntos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento proporcionado.

Al comité evaluador de la tesis por sus observaciones, comentarios y consejos en el desarrollo del presente estudio.

A mis amigos quienes me animaron y acompañaron constantemente a seguir adelante y concluir hoy este trabajo.

A todos "Mil Gracias"

Gracias a todos

DOSIS SOLA FACIT VENENUM

¿Qué hay que no sea veneno?

Todo es veneno y nada existe sin veneno.

Solamente la dosis determina que algo no sea un veneno.

Philippus Theophrastus Aureolus Bombastus Von Hohenheim

“Paracelso”

(1492 - 1541)

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1 INTRODUCCIÓN	1
2 MATERIAL Y MÉTODOS	22
2.1 Material	22
2.1.1 Material biológico	22
2.1.2 Material y equipo general.	22
2.2 Métodos	26
2.2.1 Pruebas de toxicidad dérmica	26
2.2.1.1 Determinación de la Peroxisomicina A ₁ en sangre	28
2.2.1.2 Evaluación de la toxicidad tópica	28
2.2.1.3 Evaluación de la toxicidad subcutánea	34
2.2.1.4 Evaluación de la sensibilización	36
2.2.1.5 Evaluación de la fototoxicidad	39
2.2.1.6 Evaluación de la fotopigmentación.	42

Capítulo	Página
2.2.2 Estudio histológico	42
2.2.3 Análisis estadístico	44
3 RESULTADOS	45
3.1 Determinación de la Peroxisomicina A ₁ en sangre.	45
3.2 Toxicidad tópica	45
3.3 Toxicidad subcutánea	51
3.4 Sensibilización	58
3.5 Fototoxicidad	63
3.6 Fotopigmentación	69
3.7 Análisis estadístico	73
4 DISCUSIÓN	74
4.1 Toxicidad tópica	76
4.2 Toxicidad subcutánea	79
4.3 Sensibilización	80
4.4 Fototoxicidad y Fotopigmentación	81

Capítulo		Página
5 CONCLUSIONES	85
REFERENCIAS	87

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Arbusto de la <i>Karwinskia humboldtiana</i>	13
2	Toxinas aisladas del fruto de la <i>Karwinskia humboldtiana</i> .	15
3	Estructura química de la T-514 (Peroxisomicina A ₁).	16
4	Región dorsal del conejo rasurada..	27
5	Áreas de aplicación de la Peroxisomicina A ₁	30
6	Secuencia de la aplicación en la región dorsal del conejo. Cuatro preparaciones 1%, 3%, 9% y C son asignadas a las cuatro áreas (1), (2), (3) y (4). Áreas (2) y (3) son de piel íntacta. Áreas (1) y (4) tienen abrasiones epidérmicas.	31
7	Jaulas especiales para la restricción de los conejos.	32
8	Fotografía de la piel del conejo expuesta a la administración vía ID de 0.1 mL de la Peroxisomicina A ₁ al 1/1000.	37

Figura	Página
9 Fotografía a mayor aumento de la piel de conejo expuesta a la administración vía ID de 0.1 mL del vehículo.	38
10 Fotografía de la piel de conejo con administración vía tópica de las diferentes soluciones de la Peroxisomicina A ₁	40
11 Exposición a la luz UV de las áreas de aplicación.	41
12 Corte de piel control con administración vía tópica del vehículo. H y E 20 X.	47
13 Corte de piel con aplicación al 3% de Peroxisomicina A ₁ vía tópica. H y E 20 X.	48
14 Corte de piel con aplicación de Peroxisomicina A ₁ al 9% vía tópica. H y E 20 X.	49
15 Corte de piel con aplicación de Peroxisomicina A ₁ al 9% vía tópica. PAS 40 X.	50

Figura	Página
16 Corte de piel control con administración subcutánea del vehículo. H y E 20 X.	53
17 Corte de piel con administración subcutánea de 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de Peroxisomicina A_1 . H y E 20 X.	54
18 Corte de piel con administración subcutánea de 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de Peroxisomicina A_1 . H y E 20 X.	55
19 Corte de piel con administración subcutánea de 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de Peroxisomicina A_1 . H y E 40 X.	56
20 Fotografía de la piel de conejo con administración ID del vehículo 24 horas después.	59
21 Fotografía de la piel de conejo con administración ID de Peroxisomicina A_1 24 horas después.	60
22 Corte de piel control con administración ID del vehículo. H y E 20 X.	61

Figura	Página
23 Corte de piel control con administración ID de Peroxisomicina A ₁ al 1/1000. H y E 40 X.	62
24 Corte de piel con administración ID de Peroxisomicina A ₁ al 1/1000. H y E 20 X.	63
25 Fotografía de la piel de conejo expuesto a la administración vía tópica de las diferentes soluciones de la Peroxisomicina A ₁ , vehículo y 8-MOP 24 horas después de la exposición a la luz UV.	65
26 Fotografía de la piel de conejo expuesto a la administración vía tópica de la Peroxisomicina A ₁ al 9%, vehículo y 8-MOP 24 horas después de la exposición a la luz UV.	66
27 Corte de piel control sin exposición a luz UV y con administración vía tópica del vehículo. H y E 20 X.	67
28 Corte de piel con aplicación vía tópica de Peroxisomicina A ₁ al 1%. H y E 20 X.	68

Figura	Página
29 Corte de piel con aplicación vía tópica de 8-MOP al 1%. H y E 20 X.	69
30 Corte de piel control con administración vía tópica de la Peroxisomicina A ₁ al 9%. H y E 20 X.	71
31 Corte de piel con aplicación vía tópica de 8-MOP al 1%. H y E 20 X.	72
32 Corte de piel con aplicación vía tópica de 8-MOP al 1%. H y E 40 X.	73

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Absorción percutánea <i>in vivo</i> en la rata y el humano.	10
2	Absorción percutánea <i>in vivo</i> en el mono Rhesus y el humano.	10
3	Absorción percutánea <i>in vivo</i> en el conejo y el humano.	11
4	Parámetros del control de calidad de la Peroxisomicina A ₁	26
5	Evaluación de las reacciones de la piel.	33
6	Evaluación de la fotopigmentación.	42
7	Evaluación histopatológica de los sitios tratados con la Peroxisomicina A ₁ vía tópica.	51
8	Evaluación histopatológica de los sitios tratados con la Peroxisomicina A ₁ vía subcutánea.	57

- 9 Comparación del índice de irritación primaria (IIP) de
varias sustancias antineoplásicas y la Peroxisomicina A₁. 78

NOMENCLATURA

°C	Grados centígrados
CCF	Cromatografía en capa fina
CCF-FN	Cromatografía en capa fina fase normal
CCF-FR	Cromatografía en capa fina fase reversa
CLAR-FR	Cromatografía de líquidos de alta resolución fase reversa
cm	Centímetro
cols	Colaboradores
Conc.	Concentración
CT ₅₀	Concentración citotóxica 50%
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DL ₅₀	Dosis letal media
H y E	Hematoxilina y eosina
ID	Intradérmica
IV	Intravenosa
IIP	Índice de irritación primaria
J	Joules
kg	Kilogramo
µm	Micras
µg	Microgramos
µL	Microlitros

m	Metro
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
8-MOP	8-Metoxipsoraleno
5-MOP	5-Metoxipsoraleno
5-FU	5-Fluorouracilo
PAS	Ácido peryódico de Schiff
pH	- Log [H]
PMN	Polimorfonucleares
R _f	Factor de retardo (razón de la distancia que recorre la muestra con respecto al eluente).
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
T	Toxina
t _R	Tiempo de retención
UV	Ultravioleta