

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

EFECTO DE LA QUINACRINA EN EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LA PERRA

Memoria de Título presentada como parte de
los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.

CRISTÓBAL CERDA SÁNCHEZ

VALDIVIA – CHILE

2002

PROFESOR PATROCINANTE Dr. Enrique Paredes H.
Nombre _____
Firma

PROFESOR COPATROCINANTE Dr. Jorge Correa S.
Nombre _____
Firma

COLABORADOR Dr. Daniel Boroschek K.
Nombre _____
Firma

PROFESORES CALIFICADORES Dr. Rafael Burgos A.
Nombre _____
Firma

Dr. Humberto del Campo
Nombre _____
Firma

FECHA DE APROBACIÓN: _____

ÍNDICE

Resumen	1
Summary	2
Introducción	3
Material y Métodos	9
Resultados	14
Discusión	20
Bibliografía	24

EFFECTO DE LA QUINACRINA EN EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LA PERRA.

1.- RESUMEN

Con el objeto de avanzar hacia el descubrimiento de un método de esterilización no quirúrgico en perras que sea efectivo, sencillo, seguro y barato, se estudió el efecto de la droga hidrocloreuro de quinacrina (que ha demostrado ser un efectivo y seguro agente esterilizador de hembras en distintas especies, incluyendo la humana) en un grupo de perras de la ciudad de Valdivia, cedidas voluntariamente por sus dueños para tales efectos.

El experimento consistió en la introducción intrauterina (a nivel de cuerpo), por medio de laparotomía a nivel de la línea media, de 125 mg de hidrocloreuro de quinacrina diluidos en 1,5 ml de agua destilada, en cinco perras en edad fértil.

Por otra parte, a un segundo grupo de perras, similar en cantidad y características al anterior, se les introdujo 1,5 ml de suero fisiológico en la misma porción uterina y mediante idéntica metodología que al grupo antes mencionado.

Pasado un mes desde las intervenciones antes descritas se procedió en ambos grupos a extraer quirúrgicamente los órganos reproductivos de las perras (ovariohisterectomía). Estos órganos fueron analizados macroscópicamente, tanto en el momento de la intervención (in situ) como posterior a su extracción, este examen se realizó mediante inspección y palpación. Posteriormente se fijaron dichos órganos en formalina al 10%. Finalmente se obtuvieron muestras de oviducto a nivel del istmo y de los cuernos uterinos (cercano a su bifurcación) de cada animal, los que fueron procesados histológicamente para su examen microscópico posterior.

Del análisis de los resultados, se desprende que no se observaron diferencias entre el grupo tratado (125 mg de quinacrina disueltos en 1,5 ml de agua destilada) y el grupo control (1,5 ml de suero fisiológico), concluyéndose que el químico en esa dosis, con ese tipo y cantidad de solvente y siendo aplicado en el cuerpo uterino de las perras, no produjo lesiones microscópicas en las muestras de istmo y cuernos uterinos estudiadas.

EFFECTS OF QUINACRINE HYDROCHLORIDE ON THE REPRODUCTIVE TRACT OF THE BITCH.

2.- SUMMARY

This research was carried out in order to look for an effective, simple, safe, and inexpensive non-surgical method for sterilization of bitches. The effects of the drug quinacrine hydrochloride, which has proved to sterilize effectively and safely human females and other species, were tested on a group of bitches in Valdivia, Chile. These bitches were voluntarily provided by their owners.

Ten bitches of fertile age were randomly allowed to two groups: I Control (n = 5) and II Test group (n = 5). The procedure to follow, on the test group, was the intrauterine introduction of 125 mg of quinacrine hydrochloride diluted in 1.5 ml of distilled water, through laparotomy at the median line. A similar procedure was followed in the control group, introducing 1.5 ml of physiological serum instead of quinacrine hydrochloride.

After one month, both groups of bitches were surgically operated to extract their reproductive organs (ovariectomy and hysterectomy). These organs were macroscopically analyzed both during the surgical intervention (in situ) and following the intervention. This analysis consisted of inspection and palpation. Subsequently these organs were fixed in formalin at 10%. Finally, samples from the oviduct (isthmus) and from the uterus of each bitch were collected and were histologically processed for a posterior microscopical analysis.

No differences were observed between the samples of the test group of bitches (125 mg of quinacrine hydrochloride diluted in 1.5 ml of distilled water) and the control group of bitches (1.5 ml of physiological serum). It is concluded that quinacrine at the doses given and the quantity of solvent used, when applied to the bitch's uterus, did not produce microscopic lesions in the isthmus and uterus samples examined.

3.- INTRODUCCIÓN

El perro (*Canis familiaris*) es, sin lugar a dudas, una de las especies animales que mayor grado de contacto y convivencia tiene con el ser humano, así en Valdivia el año 1995 la relación hombre:perro se estimó en 8,42:1, con un total de perros estimado en 13.525 animales (García, 1995). Por otra parte, en 1990 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que la población mundial de perros era de 500 millones, lo que corresponde a un décimo de la población humana (Butcher, 2000).

En la medida que la población humana crece, lo mismo ocurre con la población canina, la cual se caracteriza por dividirse en un grupo de animales que cuentan con un hogar establecido (animales confinados) en donde sus amos se encargan de su alojamiento, alimentación y cuidados. Existe un segundo grupo de perros que teniendo un hogar donde siempre o esporádicamente se les entrega alojamiento y comida permanecen parte o todo el día en la vía pública (confinamiento parcial), por otra parte, existe un tercer grupo de animales que deambulan libremente por las calles (animales sin confinamiento) sin ningún tipo de supervisión y sin control alimenticio, reproductivo, sanitario, etc.

En el año 1990 la OMS, junto con calcular la población canina mundial, estimó que cerca de 375 millones de perros (75%) correspondían a población vagabunda (Butcher, 2000). En Chile es común ver perros en la vía pública, siendo en un alto porcentaje el confinamiento sólo parcial (Ojeda, 1984). Es así como de los 1,2 millones de perros que según estimaciones existían a nivel nacional el año 2000 cerca del 40% correspondería a perros vagos (Alarcón, 2002)¹.

En la ciudad de Valdivia la situación no difiere demasiado de la mundial o nacional. De los 13.525 animales estimados al año 1995, se determinó que un 19,55% permanecía en confinamiento solo temporal y que un 18,51% permanecía sin confinamiento. Esto significa que la población vagabunda o potencialmente vagabunda era de un 38,06% (García, 1995).

Debido a que el perro juega un rol preponderante en la transmisión de zoonosis, y si se toma en cuenta que entre estos animales y el hombre existe una estrecha relación, son importantes los aspectos sanitarios y de manejo de la población canina (Acha y Szyfres, 1989).

El perro vagabundo no sólo se presenta como potencial transmisor de enfermedades. Además, suele generar problemas por mordeduras, tanto al hombre, como a otros animales. Es así como en el Hospital Regional de Valdivia se atendieron 640 casos de personas mordidas por perros durante el año 2001 (Chile, 2002).

¹ Comunicación personal: Sra. Carolina Alarcón. Encargada Unidad Comunicaciones. Servicio de Salud Talcahuano.

Otro problema que trae consigo la población canina sin confinamiento es la alteración del orden y aseo de la ciudad, alteración dada por ejemplo por el deambular libre de jaurías de perros por las calles, plazas, poblaciones, etc., así como la dispersión de la basura domiciliaria.

Considerando lo anterior, se han desarrollado planes de control de la población canina, basándose principalmente en la eliminación de un porcentaje de los perros vagos, muchas veces a través de métodos no apropiados.

Se ha demostrado que los sistemas de eliminación masiva, como método de control, no son efectivos; ya que la disponibilidad de comida parece ser mejor controlador de la población que la eliminación de un porcentaje de ésta, con la consiguiente reproducción elevada de los sobrevivientes y la migración desde otros lugares (Butcher, 2000).

La OMS, en conjunto con la Sociedad Mundial para la Protección de los Animales (WSPA), elaboraron una guía para el control de las poblaciones caninas, la que considera la esterilización como única intervención en los perros, en conjunto con otros aspectos como la identificación, legislación, higiene ambiental y educación (Butcher, 2000).

Hoy en día algunas municipalidades han optado por planes de esterilización quirúrgica, tanto de hembras como de machos, pero esta iniciativa no se ha masificado por el costo y complicaciones que involucra (Wiegand, 2002)².

La esterilización representa un medio altamente eficaz para la regulación de la fecundidad, sin embargo, la técnica convencional sigue siendo el procedimiento quirúrgico que, como tal, no solamente requiere la invasión de la cavidad peritoneal, sino que, además, demanda de personal calificado y de instalaciones adecuadas (Richart, 1982a).

Por todas las razones enunciadas es imperativo elaborar un procedimiento de esterilización que sea fácil de realizar, de bajo costo y que sea eficiente en el resguardo de la reproducción canina, para así directamente disminuir la población de perros vagos.

Se ha estudiado en humanos, desde hace más de un siglo, como modalidad de esterilización femenina no quirúrgica, la introducción transcervical, cercano a las trompas de falopio, de agentes farmacológicamente activos capaces de producir oclusión tubaria (Richart, 1983).

Son numerosos los agentes químicos que se han probado para obtener bloqueo tubario, clasificándose en cáusticos, esclerosantes, agentes productores de granuloma y citotóxicos, ácidos y bases, adhesivos tisulares y agentes farmacológicamente no activos (Richart, 1982a).

² Comunicación personal: Dr. Roberto Wiegand B. Programa Control de Zoonosis. Servicio de Salud Valdivia.

Se ha descartado la mayoría de los agentes químicos probados, porque además de no producir los efectos de oclusión esperados, son tóxicos no sólo para el epitelio tubario sino también para el peritoneo y las vísceras pélvicas (Richart, 1983).

Una variedad de agentes citotóxicos ha sido probada, de los cuales la quinacrina aparece como el único factible de usar, ya que los otros no producen niveles de necrosis epitelial tubaria necesarios como para producir esterilidad y, además, han sido asociados con problemas mutagénicos (Richart, 1982b).

El efecto de la quinacrina ha sido estudiado en animales y humanos (Richart, 1982a), y desde 1969 se ha usado clínicamente en forma masiva en países en vías de desarrollo como un método de oclusión tubaria en mujeres (Blake y col., 1982; Hieu y col., 1993).

La quinacrina es un derivado acridínico (Dabancens y col., 1994), descubierto en un programa de identificación de drogas sintéticas contra la malaria, desarrollado en Alemania a partir de 1920. Esta droga fue usada ampliamente durante la segunda guerra mundial en el tratamiento de la malaria, resultando ser muy efectiva (Dubin y col., 1982).

La acción de la quinacrina es notablemente limitada al oviducto (Richart, 1982a). Esto se debería a la diferencia en las concentraciones de zinc existentes en el útero y en el epitelio del oviducto (Kessel y col., 1983).

El modo de acción de la quinacrina se conoce parcialmente. Se ligaría al ADN disminuyendo la duplicación de estas moléculas, decreciendo así la síntesis de ADN, ARN y proteínas (Richart, 1982a).

El primer cambio histológico que ocurre tras la implantación uterina de quinacrina es la necrosis del epitelio del oviducto, luego se produce una inflamación de la zona, seguido de proliferación fibroblástica y formación de cicatrices (Parmley y col., 1982).

Inicialmente la quinacrina se aplicó en el útero en forma de solución, lográndose variados niveles de oclusión bilateral, pocas veces superior al 70% (Richart, 1982a), donde la droga en polvo se diluyó en sustancias tales como agua estéril, xilocaina al 2%, epinefrina, cortisona, versinato, oxitocina y tetraciclina, sustancias que, además de diluir la droga, la potenciaban. Posteriormente, se comprobó que era más efectiva una exposición crónica al producto (Richart, 1983). A raíz de estos descubrimientos, fueron desarrollados métodos de liberación que permiten la permanencia de la droga en el útero, durante mayor tiempo. Fue así como en algunos estudios se incorporó quinacrina en polímeros de mediana densidad (Richart, 1983) y en otros se diluyó en agar acuoso al 2%, el que se gelifica con la temperatura interna del útero (Malaviya y col., 1975; Wheeler, 1982).

Lo último en desarrollarse y más usado en las últimas aplicaciones, son los pellets de quinacrina, los cuales son introducidos al útero transcervicalmente y, una vez allí, liberan la droga lentamente, manteniendo niveles uterinos considerables del químico durante 10, 100 u 800 minutos dependiendo de la concentración del pellet (Wheeler, 1982).

A través de distintos ensayos se demostró que mediante exposiciones múltiples a la quinacrina se lograban mejores resultados que con una sola aplicación (Richart, 1982a). A raíz de estos avances se empezó a aplicar la droga dos o tres veces (tanto las soluciones como los pellets) con intervalos de un mes (Wheeler, 1982; Kessel y col., 1983; Richart, 1983; Dabancens y col., 1994).

Por ser la quinacrina un derivado acridínico, se ha especulado mucho sobre su potencial carcinogénico, debido a que son drogas intercalares (se unen al DNA), basándose en que algunos derivados acridínicos han resultado ser mutagénicos y carcinogénicos. Sin embargo, hay evidencias reales que demuestran que esta droga no es cancerígena, debido a que en su condición de droga intercalar forma uniones laxas con el ADN, siendo cancerígenas las que se unen al ADN con uniones firmes. Por otra parte, si bien la quinacrina produce mutaciones en algunas bacterias e insectos, se ha demostrado que no es mutagénica en mamíferos ni células humanas. La eventual carcinogenicidad de la quinacrina ha sido también descartada por la posición de su nitrógeno en el anillo central de los derivados acridínicos; la quinacrina tiene el nitrógeno en la posición 10, siendo ésta la inocua (Dabancens y col., 1994).

En ciertos ensayos en donde se introdujo quinacrina intrauterinamente a mujeres, se observaron algunos efectos colaterales, tales como malestar abdominal, prurito vaginal, dolor de cabeza (Hieu y col., 1993), vómitos, dolor muscular, descarga y sangramiento vaginal (Guzmán y col., 1982). En la mayoría de los casos estas complicaciones fueron de naturaleza temporal, desapareciendo dentro de pocas horas o pocos días después de la introducción.

Otro problema que se advirtió consistió en desórdenes del ciclo menstrual en un porcentaje de pacientes, consistentes en alargamiento de los ciclos de algunas mujeres (Guzmán y col., 1982), y disminución o aumento de la cantidad de flujo menstrual de ciertas pacientes (Hieu y col., 1993). Los ciclos menstruales de estas mujeres volvieron a la normalidad en el transcurso de los tres meses siguientes a la última introducción del químico (Guzmán y col., 1982; Hieu y col., 1993).

Cabe destacar que hasta el año 1976 solo se habían reportado un par de embarazos ectópicos (Israngkun y col., 1976) y que hasta el año 1993 este método no había reportado ninguna muerte en humanos, en contraposición a las defunciones producidas por otras técnicas, como la esterilización quirúrgica clásica y la esterilización por laparoscopia (Hieu y col., 1993). Estos datos adquieren importancia al considerar que el año 1994 se estimó en 70.000 las mujeres tratadas con una o más aplicaciones de pellets de quinacrina en países como Chile, Republica Dominicana, Hungría, India, Turquía, Uganda, Vietnam, etc. (Benagiano, 1994)

Se describe que la ocurrencia de estos síntomas depende de la dosis, el tiempo de exposición, el método de entrega del químico y de la susceptibilidad del paciente (Dubin y col., 1982).

La quinacrina ha demostrado ser un eficiente y seguro ocluser del oviducto en algunos animales como conejos, ratas y monos (Malaviya y col., 1975). Esto lleva a pensar que puede ser un método muy útil en el control de la población canina.

Para la introducción de la quinacrina en el útero de la perra se podría recurrir a los mismos métodos utilizados en la inseminación artificial intrauterina. Estos se dividen en quirúrgicos (laparoscopia y laparotomía) y no quirúrgicos (cateterización del cérvix) (Antelo, 1998).

Los ovarios de la perra tienen forma elipsoidal y algo aplanada. Cada ovario puede medir 1,5 cm de largo por 1 cm de ancho y 0,6 cm de grosor. Se localizan lateralmente en la región sublumbar a escasos centímetros por detrás de cada uno de los riñones. Los oviductos tienen una longitud que varía entre los 5 y 8 cm (Sisson y col., 1994), dirigiéndose en sentido posterior para finalmente terminar abruptamente en el extremo del respectivo cuerno uterino (Ballarales, 1998).

El útero presenta cuernos bastante largos (10-15 cm), de trayecto prácticamente recto y diámetro constante, los cuales divergen cranealmente hacia cada riñón. En la perra no gestante el órgano se relaciona dorsalmente con el techo de la cavidad abdominal (Sisson y col., 1994; Ballarales, 1998).

El cuerpo uterino mide entre 2 y 3 cm de largo y se localiza parcialmente en la cavidad abdominal. El cérvix de la perra mide entre 1,5 y 2 cm de largo y descansa sobre el piso de la pelvis. Tiene una capa muscular bastante gruesa y su posición es diferente a la de la mayoría de las especies, se dirige caudoventralmente, de manera que su orificio caudal prácticamente contacta con el piso de la vagina (Sisson y col., 1994; Ballarales, 1998).

La pared del oviducto la conforman, desde adentro hacia fuera, la mucosa, la submucosa, la capa muscular circular, la capa muscular longitudinal y la túnica serosa. Histológicamente, en el caso de la perra el oviducto se caracteriza por poseer un epitelio columnar simple o columnar pseudoestratificado, el cual se puede observar en los numerosos pliegues que tiene la mucosa. Pliegues que variarán en tamaño y número según la porción del oviducto que se observe. La submucosa está compuesta por tejido conectivo laxo y la túnica muscular está dada por bandas musculares circulares, longitudinales y a veces también oblicuas. La túnica serosa se presenta en la periferia del oviducto y contiene numerosos vasos sanguíneos y nervios (Bacha y col., 1991; Dellmann, 1993).

Desde el punto de vista histológico, el útero de la perra posee un endometrio el cual comprende una mucosa recubierta por un epitelio columnar simple, y una submucosa compuesta por tejido conectivo laxo el cual tiene fibroblastos y macrófagos. El miometrio está compuesto por una capa circular interna y una capa longitudinal externa, entre las cuales existe un anillo vascular consistente en vasos sanguíneos, nervios y vasos linfáticos. El perimetrio está conformado principalmente por tejido conectivo laxo (Bacha y col., 1991; Dellmann, 1993).

Por resultar imperativo encontrar una solución al problema de los perros vagos y por ser el método de esterilización química con quinacrina, efectivo y aparentemente seguro, tanto en algunos animales como en humanos, se ha considerado de utilidad y actualidad, hacer pruebas con este químico, en perras fértiles, con miras a avanzar hacia un método de control de la población canina.

Hipótesis:

La aplicación intrauterina de una solución de quinacrina en perras, origina lesiones en oviducto a nivel de istmo.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1 Material Biológico:

Se utilizaron 10 hembras caninas, nueve mestizas y una Fox Terrier, con un promedio de edad de 4.1 años (entre 2.5 y 6 años) y con un peso promedio de 14.4 kg, todas ellas con sus sistemas reproductivos normales. Estas fueron proporcionadas y mantenidas por sus dueños, con el fin de que tuvieran alimentación y alojamiento, así como que fuesen fácilmente ubicables para su posterior seguimiento.

4.1.2 Material Farmacológico:

- Acepromazina.
- Hidrocloruro de quinacrina en polvo (Laboratorio Silesia).
- Tiopental sódico.
- Amoxicilina.
- Ketoprofeno.

Con relación al químico hidrocloruro de quinacrina, este fue proporcionado por el Laboratorio Silesia, previa autorización de uso y destino por parte del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) a través del jefe del Departamento de Control Nacional Dr. Q.F. Jose Peña Ruz (anexo N° 1).

4.1.3 Material de Laboratorio:

- Ecógrafo.
- Jeringas de 3 ml con agujas 21 G, agujas de 25 G.
- Balanza.
- Material quirúrgico.
- Agua destilada.
- Suero fisiológico.

4.2. MÉTODO

Las perras fueron seleccionadas mediante un examen clínico general y un examen reproductivo; eligiéndose aquellas que se encontraban clínicamente sanas, que tenían sus

órganos reproductivos normales y que no se encontraban bajo actividad folicular (pro-estro o estro). Para dichos efectos se contó con la ayuda de un ecógrafo, el cual se usó en aquellos animales en los cuales existían dudas con respecto a su estado reproductivo.

Posteriormente los animales fueron separados al azar en dos grupos de 5 animales cada uno. A las perras del primer grupo se les aplicó intrauterinamente una dosis de suero fisiológico. A las perras del segundo grupo se les aplicó intrauterinamente una dosis de hidrocloreto de quinacrina disuelta en agua destilada.

Transcurrido un mes desde dichas aplicaciones se procedió a extraer quirúrgicamente los úteros y ovarios de la totalidad de las perras de ambos grupos.

Todas las intervenciones, en ambos grupos, se realizaron mediante laparotomía a nivel de la línea media, en dependencias de la Clínica Veterinaria del Dr. Daniel Boroschek K.

Finalmente se efectuó una observación, tanto macroscópica (mediante inspección y palpación) como microscópica (observación de cortes histológicos de istmo y de cuernos uterinos, cercano a su bifurcación) de todos los órganos extraídos, con la finalidad de evaluar el grado de reacción del tejido frente al químico.

4.2.1. Diseño experimental

Los 10 animales seleccionados se dividieron al azar, mediante el método probabilístico de la tabla de números aleatorios, en dos grupos de cinco perras cada uno. Una vez divididos los animales se volvieron a enumerar en forma correlativa del número uno al número diez. Así el grupo N° 1 o grupo control quedó constituido por las perras enumeradas del 1 al 5, y el grupo N° 2 o grupo tratado se conformó con las perras enumeradas del 6 al 10. En cada uno de los casos se solicitó al propietario que firmase un documento en el que se comprometía a tener al animal disponible, en todo momento entre las dos intervenciones, asumiendo, además, el riesgo propio de los actos quirúrgicos (Anexo N° 2).

Según disponibilidad de las instalaciones de la Clínica Veterinaria del Dr. Daniel Boroschek K., se procedió a intervenir a las perras de ambos grupos en un periodo de 23 días en orden correlativo comenzando por el número uno.

En los animales pertenecientes al grupo N° 1, previa anestesia general con tiopental sódico, mediante laparotomía en la línea media, se abordó la porción del cuerpo uterino, entre el cérvix y la bifurcación de los cuernos uterinos, donde se procedió a inyectar 1,5 ml de suero fisiológico mediante una jeringa de 3 ml con una aguja de 25 G. Posteriormente se efectuó la sutura de la pared abdominal y los animales se mantuvieron en una superficie inclinada, con sus miembros posteriores elevados por aproximadamente 15 minutos. Luego se dejaron las perras en observación permanente, con el reposo y cuidados post operatorios pertinentes por 48 horas.

Con metodología similar a la descrita para el grupo N° 1, en las perras pertenecientes al grupo N° 2 se procedió a abordar el cuerpo uterino, entre el cérvix y la bifurcación de los cuernos, introduciéndole una solución de 125 mg de hidrocloreto de quinacrina que momentos antes de la intervención fueron diluidos en 1.5 ml de agua destilada. La aplicación del químico se realizó mediante una jeringa de 3 ml con una aguja de 25 G. Posterior a la sutura de la pared abdominal, a los animales se les mantuvo en una superficie inclinada con sus extremidades posteriores elevadas por aproximadamente 15 minutos. Transcurrido este periodo, las perras fueron sujeto de observación permanente, con todos los cuidados postoperatorios necesarios durante las siguientes 48 horas.

Tanto las perras del grupo N° 1 como las pertenecientes al grupo N° 2, fueron devueltas a sus domicilios transcurridas 48 horas desde la intervención. A la totalidad de los animales se les suministró una terapia preventiva de antibióticos compuesta por una inyección de Amoxicilina LA* administrada en el momento de la operación quirúrgica, y un tratamiento con Amoxicilina en jarabe**, el cual fue entregado a cada propietario para que continuaran el tratamiento en sus domicilios por los siguientes 7 días.

Transcurrido un mes desde la primera intervención de cada una de las perras de ambos grupos, éstas fueron sometidas a una segunda operación quirúrgica en dependencias de la Clínica Veterinaria del Dr. Daniel Boroschek K., en donde previa anestesia general con tiopental sódico se procedió a abordar la cavidad abdominal a través de la línea media y mediante ligaduras a nivel del cuello uterino y del ligamento suspensor del ovario, se extrajeron los ovarios, oviductos, cuernos y cuerpo del útero, procediéndose a medir el largo entre el cérvix y el extremo anterior de los ovarios y el diámetro del cuerpo uterino, depositándose posteriormente en un frasco con formalina al 10%. Antes de ser extraídos los órganos reproductivos, éstos fueron sujeto de una inspección y palpación in situ, registrándose los datos obtenidos en una ficha dispuesta especialmente para tales efectos.

Finalmente se procedió a suturar la pared abdominal. Además, se les suministró en forma preventiva una inyección de Amoxicilina LA* y una inyección de Ketoprofeno*** administradas en el momento de la operación quirúrgica, y un tratamiento con Amoxicilina en jarabe**, el cual fue entregado a cada propietario para que continuaran el tratamiento en sus domicilios por los siguientes 7 días.

Posterior a esta segunda intervención todas las perras recibieron el reposo y cuidados de enfermería necesarios y fueron devueltas a sus dueños 24 horas después de cada intervención quirúrgica.

A cada una de las perras se le elaboró una ficha (Anexo N° 3) con la información del propietario, la reseña, historia clínica y algunos datos de ambas intervenciones, como el protocolo de anestesia y el tratamiento que se les dio para seguir en casa.

* Amoxicilina LA®. Recalcine

** Biotivet Oral®. Laboratorio Chile S.A.

*** Ketofen 20 MG Oral® Merial.

Los órganos extraídos se mantuvieron en formalina al 10% hasta que se procesaron de acuerdo a los procedimientos histológicos de rutina (Luna, 1968), obteniéndose cortes histológicos de 5 μm de grosor de oviducto a nivel del istmo y de cuernos uterinos (cerca a la bifurcación). Posteriormente, dichos cortes se observaron al microscopio, evaluándose las características microscópicas de las muestras de los órganos de las cinco perras tratadas, comparándolas con las de las cinco perras controles. Para tal efecto, las poblaciones celulares y los hallazgos fueron semicuantificados subjetivamente, utilizando la siguiente escala:

+++	:	Abundante(s)
++	:	Regular(es), moderada(s)
+	:	Escaso(s), leve(s)

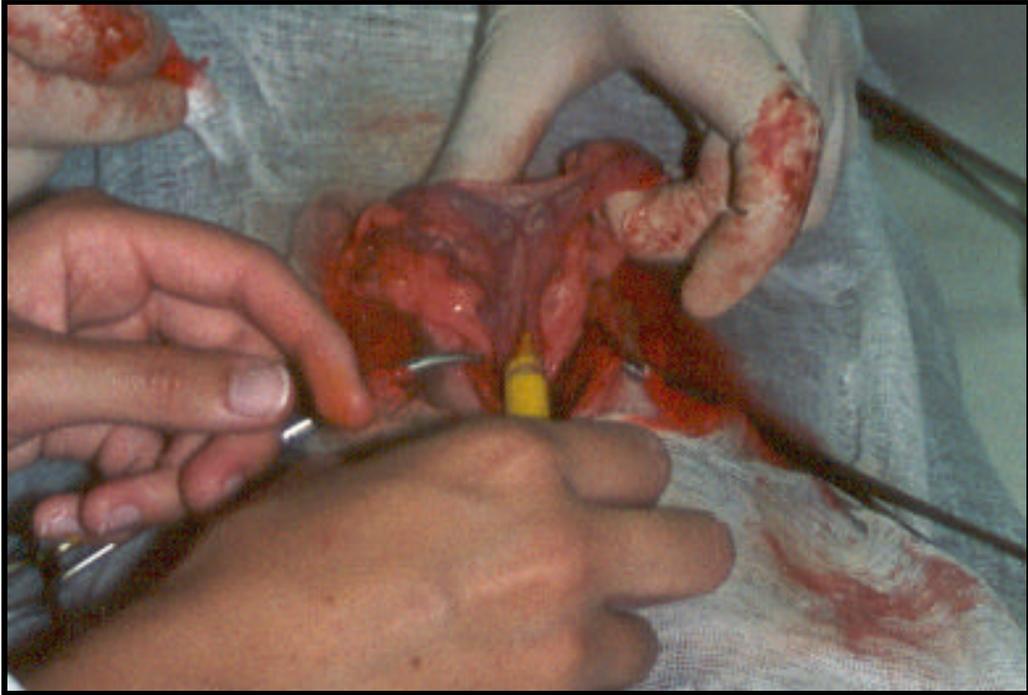


Foto N° 1: Método utilizado para la introducción de la solución de quinacrina en el cuerpo uterino.

5.- RESULTADOS

Cuadro N° 1: Características macroscópicas del tracto reproductivo de las 10 perras en estudio.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DEL TRACTO REPRODUCTIVO DE PERRAS (n = 10).	NÚMERO DE PERRA									
	GRUPO CONTROL					GRUPO TRATADO				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Largo (cm) entre cérvix y extremo anterior de los ovarios.	14.5	13	14.6	13.4	16.8	13.3	16	13.8	12.3	14.4
Diámetro (cm) cuerpo uterino.	0.7	0.8	0.8	1.1	0.7	0.7	1.2	0.6	0.7	1
Coloración tracto reproductivo.	R	RP	RP	R	RP	RP	RP	RP	R	RP
Consistencia.	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F

R: Rosado, RP: Rosado pálido, F: Firme.

El cuadro N° 1 muestra las características macroscópicas de los órganos reproductivos extraídos de las 10 perras en estudio (Foto N° 2). Se observa que los órganos reproductivos de las perras del grupo tratado no muestran mayores diferencias, a la inspección y palpación, con respecto a aquellos del grupo control.

Cuadro N° 2: Caracterización histológica de muestras de oviducto a nivel del istmo de las 10 perras en estudio.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE MUESTRAS DE ISTMO DE PERRAS (n = 10).		NÚMERO DE PERRA									
		GRUPO CONTROL					GRUPO TRATADO				
ESTRATO	TIPO CELULAR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mucosa	Epitelio	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS
Submucosa	Fibroblastos	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Células Plasmáticas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Macrófagos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Muscular	Capa circular	++	++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++
	Capa longitudinal	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++

CS.: Columnar simple; +++: Abundante(s), ++: Regular(es), moderada(s), +: Escaso(s), leve(s).

En el cuadro N° 2 se aprecian las características histológicas de las muestras obtenidas del oviducto a nivel de istmo (Fotos N° 3, 4 y 5). Al analizar los datos, se observa que en las muestras analizadas no existen mayores diferencias histológicas entre aquellas del grupo tratado y del grupo control. No encontrándose lesiones.

Cuadro N° 3: Caracterización histológica de muestras de los cuernos uterinos, en la porción cercana a su bifurcación de las 10 perras en estudio.

ESTRATO		ESTRUCTURA, TIPOS CELU- LARES Y HA- LLAZGOS	NÚMERO DE PERRA										
			GRUPO CONTROL					GRUPO TRATADO					
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Endometrio	Mucosa	Epitelio	CS	CUS	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS
		Glándulas uterinas	+++	+++	++	+++	++	++	+++	++	++	+++	+++
	Submucosa	Fibroblastos	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
		Células plasmáticas	+	++	+	+	+	+	++	+	+	++	++
		Macrófagos	++	++	+	+	+	+	++	+	+	++	++
		Hemosiderina	+	+	+	+	++	++	+	+	++	+++	+++
Miomетро	Capa circular	++	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Capa longitudinal	++	++	+++	+	+	+++	+++	++	+++	+++	+++	

CS: Columnar simple, CUS: Cúbico simple; +++: Abundante(s), ++: Regular(es), moderada(s), +: Escaso(s), leve(s).

En el cuadro N° 3 se presentan las características histológicas de las muestras de los cuernos uterinos, en la porción cercana a su bifurcación, de las perras en estudio (Foto N° 6). Se aprecia que en esta porción del útero, la composición y características celulares no difieren considerablemente entre las perras del grupo tratado con respecto a las del grupo control, salvo en el caso del miometrio, el cual presentó un mayor desarrollo de sus capas en los animales tratados.

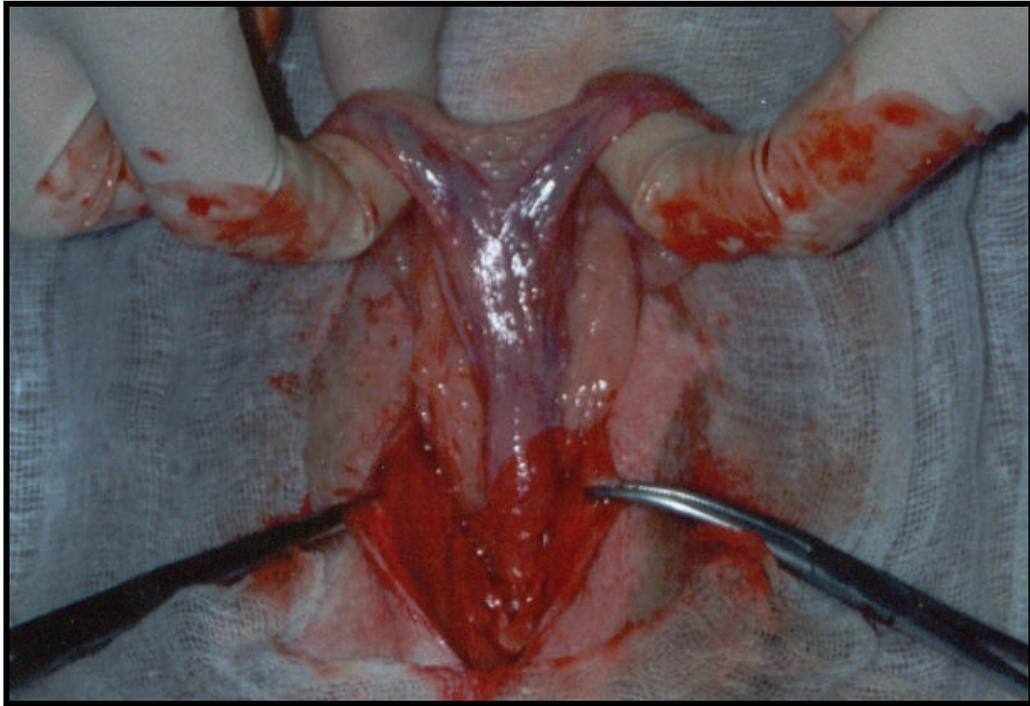


Foto N° 2: Tracto reproductivo. (Perra N° 10).

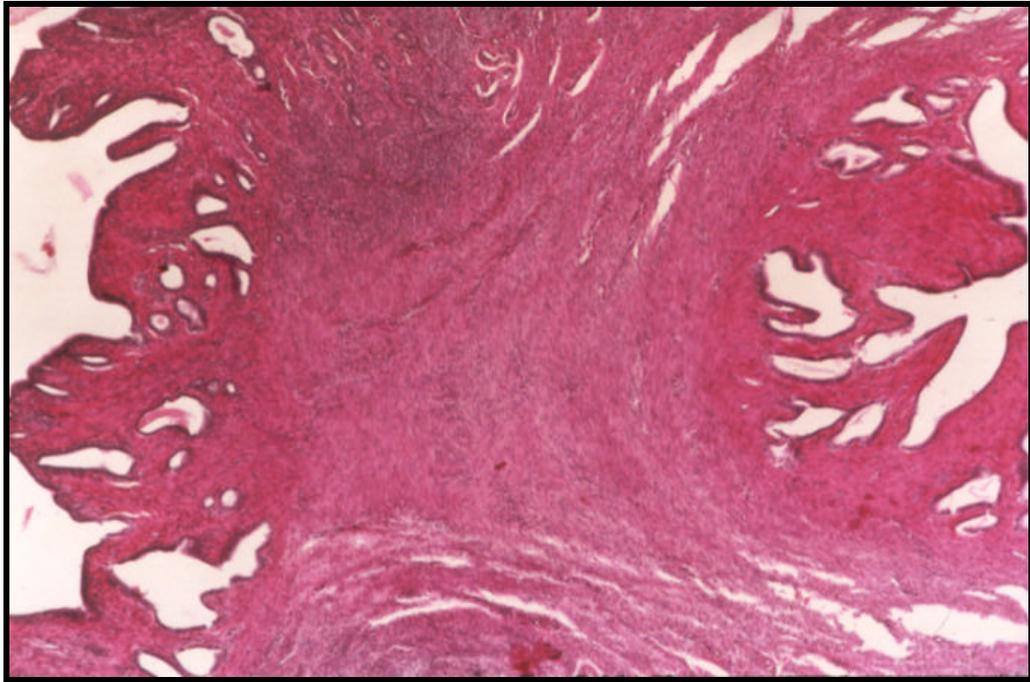


Foto N° 3: Corte longitudinal del tracto reproductivo, a nivel de la unión útero-tubaria. (Perra N° 3) HE. 50X.

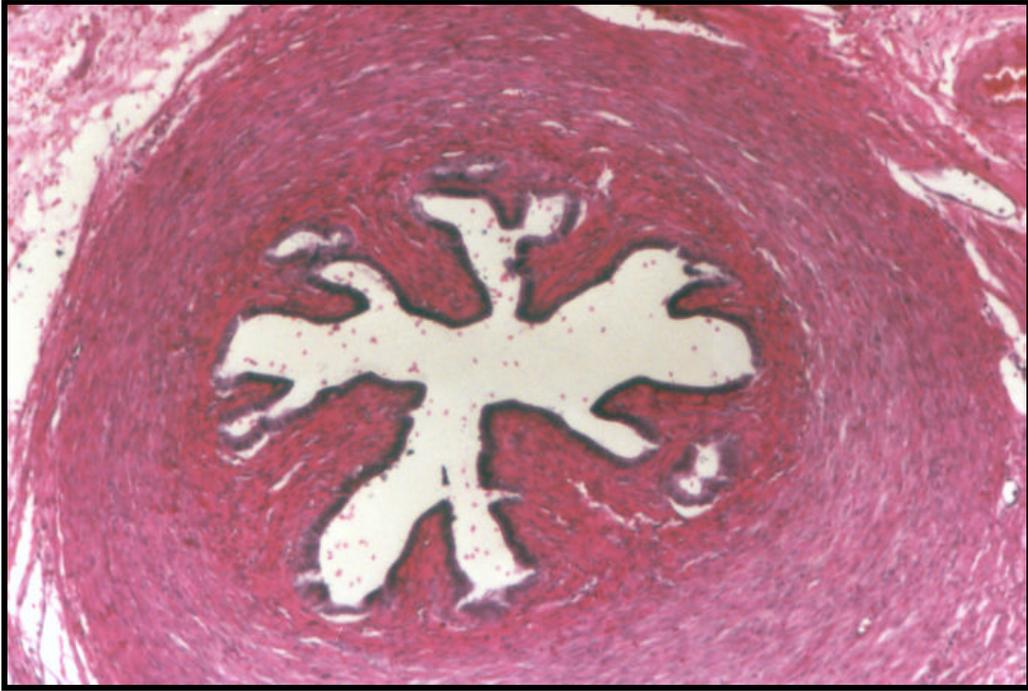


Foto N° 4: Corte transversal de oviducto a nivel de istmo. (Perra N° 8). HE. 100X.

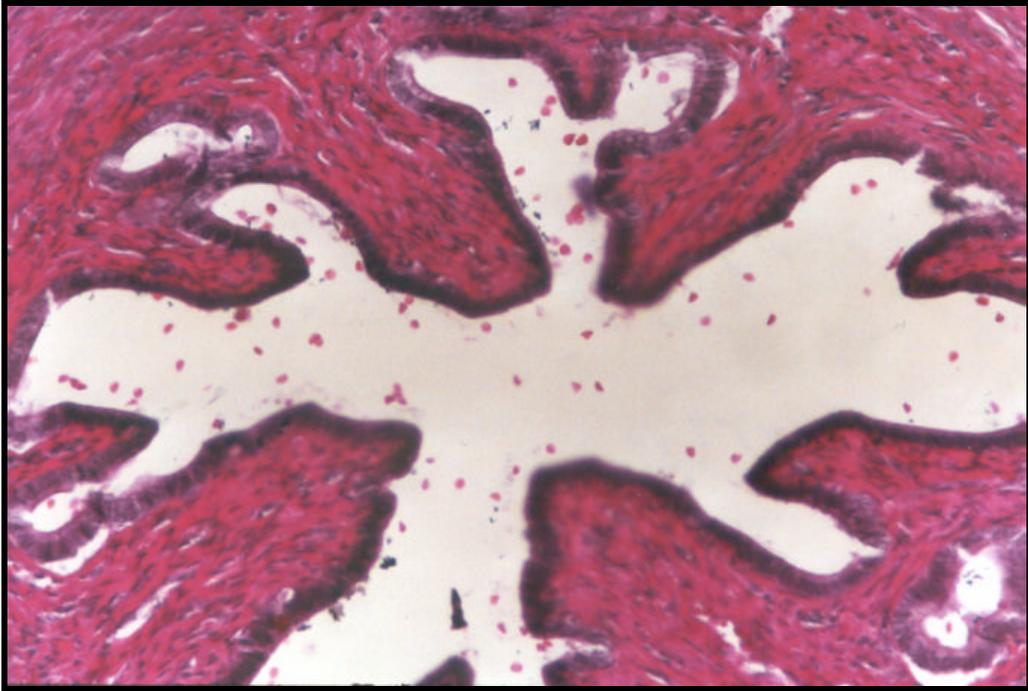


Foto N° 5: Corte transversal de oviducto a nivel de istmo. (Perra N° 8). HE. 200X.

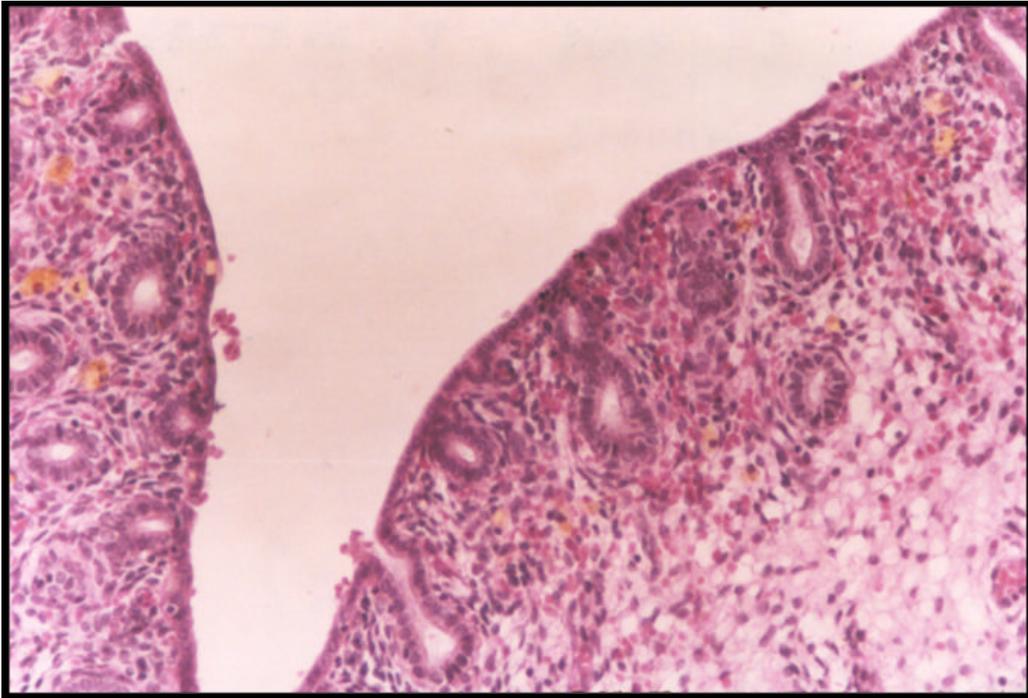


Foto N°6: Corte transversal de endometrio de cuerno uterino, cercano a la bifurcación.
(Perra N° 2). HE. 200X

6.- DISCUSIÓN

En la inspección de los órganos reproductivos (in situ y posterior a la extracción), así como en su palpación, no se advirtieron diferencias entre aquellas perras del grupo tratado con relación al grupo control (Cuadro N° 1).

Con relación al análisis microscópico, las perras pertenecientes al grupo tratado no presentaron diferencias con las del grupo control. Tanto en las muestras de oviducto a nivel del istmo (Cuadro N° 2) como en las muestras de cuernos uterinos a nivel de la bifurcación (Cuadro N° 3). En dichas muestras no se apreciaron diferencias histológicas ni en la estructura de los órganos, ni en los tipos ni cantidades celulares, más allá de lo que se menciona en la literatura para dichas estructuras en esta especie (Dellmann, 1993).

Según Parmley y col. (1982), posterior a la aplicación de quinacrina por vía intrauterina se produce necrosis del epitelio del oviducto, seguido de inflamación y proliferación fibroblástica, con la consecuente producción de cicatrices, las que producirían la oclusión del oviducto.

En las muestras de los oviductos (istmo) de las perras del grupo tratado con el químico, no se advirtió ninguna de las lesiones arriba descritas, observándose claramente el epitelio sin ningún indicio de necrosis. La submucosa se presentó compuesta por tejido conectivo laxo con presencia de fibroblastos, algunas células plasmáticas y macrófagos. Más externamente se encontraron las fibras del estrato muscular con las características propias del istmo (Dellmann, 1993) (Cuadro N° 2).

Por otro lado, Richart (1982a) describe que la acción de la quinacrina es altamente limitada al oviducto, debido supuestamente a los niveles de zinc, que en éste son marcadamente menores a los del endometrio (Kessel y col., 1983). Es por este motivo que se decidió analizar los cuernos uterinos (cerca a su bifurcación), pues existe la certeza de que esa porción del tracto reproductivo tuvo contacto con la droga, ya que fue en el cuerpo uterino que se introdujo el químico disuelto en agua destilada.

Al analizar histológicamente la porción de los cuernos uterinos adyacentes al cuerpo y que, por ende, estuvo en contacto con la droga (Cuadro N° 3), no se advirtió ninguna alteración con respecto a lo observado en el grupo control o a lo descrito en la literatura (Dellmann, 1993). Esto vendría a ratificar la inocuidad del químico a nivel del endometrio (Richart, 1982a).

El mayor desarrollo de las capas del miometrio encontrado en las perras del grupo tratado con respecto al control, no estaría relacionado con la aplicación de la quinacrina debido a que está determinado que esta droga no actúa a nivel de útero si no que de oviducto.

Si bien en otros animales y en humanos la introducción de soluciones de quinacrina en el útero han provocado lesiones considerables en oviducto logrando grados de oclusión tubaria significativos, este experimento revela que la introducción de una dosis de 125 mg de hidrocloreuro de quinacrina disuelto en 1,5 ml de agua destilada a nivel del cuerpo uterino de hembras caninas, no produjo lesiones a nivel de las zonas de istmo muestreadas (Cuadro N° 2).

Richart (1982a) menciona que las probabilidades de oclusión del oviducto aumentan proporcionalmente con el número de aplicaciones y que, a su vez, son mejores los resultados cuando el método de entrega libera el químico lentamente, manteniendo niveles de la droga crónicamente altos en el oviducto. Al respecto, por tratarse el presente trabajo de una primera aproximación a este método en perras, se introdujo una sola dosis de quinacrina en las perras, por implicar cada intervención quirúrgica un alto costo y un riesgo para éstas, partiendo de la base que en humanos la aplicación de una solución de quinacrina produce porcentajes de oclusión tubaria bilateral entre 40 y 70% (Richart, 1982a).

Debido a que el catéter para inseminación artificial intrauterino para perras, es de diámetro reducido (3 french) y, por tanto, no se podía introducir pellets al útero por vía transcervical, asegurando así un tiempo mayor de exposición al químico, es que se decidió la utilización de un medio de transporte de la droga (agua destilada) que se sabía no mantendría altos niveles del químico por mucho tiempo, pero que se pensó llegaría con mayor facilidad al istmo, al ser depositado en el cuerpo uterino.

Suponiendo, además que en el futuro el químico se introduzca por vía transcervical (por medio de un catéter para inseminación artificial intrauterina u otro), sin la necesidad de anestesiar ni de intervenir quirúrgicamente a la perra, es que se depositó el químico en el cuerpo del útero y no en los extremos craneales de los cuernos (situación en la que se hubiese asegurado el contacto del químico con el oviducto).

La causa por la cual la droga no produjo los efectos esperados sería que el químico no entró en contacto con el oviducto, o si es que lo hizo, fue en muy baja cantidad o por muy corto tiempo. Esto se habría debido a que la droga puesta a nivel del cuerpo uterino no fue capaz, pese a la elevación de los miembros posteriores después de la intervención, de llegar al extremo anterior de los cuernos uterinos. En este mismo sentido es necesario tener presente que la dosis de químico utilizada (125 mg), que es la mitad de lo que se usó en humanos (Dabancens y col., 1994), quizás fue insuficiente o que el volumen de agua destilada en que se diluyó el químico fue escaso y por consiguiente no permitió la llegada de éste hasta el istmo.

Otro aspecto a destacar, es que durante el período de observación postoperatorio (48 horas) las perras del grupo tratado con el químico se recuperaron de la intervención con la misma rapidez y forma que sus pares del grupo control, no evidenciando indicios de alteración orgánica.

Para lograr avances en este método se requiere realizar nuevas investigaciones donde esta experiencia puede ser usada como base. Dichas investigaciones, tendientes a convertir

este en un método efectivo, debieran comprender el desarrollo de algún sistema de entrega del químico, en lo posible no quirúrgico, que asegure su contacto con la porción inicial del oviducto, además, se debería probar en un número mayor de perras, diferentes dosis del químico, en busca de algún tipo de reacción del oviducto y de signos adversos a la aplicación. También se debería experimentar, una vez asegurado el contacto del químico con las porciones iniciales del oviducto, la introducción de más de una dosis de la droga, con el fin de acrecentar la reacción del tejido o de incrementar los niveles de oclusión, según fuese el caso.

Cualquier resultado que en investigaciones futuras conduzca este procedimiento a niveles de efectividad considerables, debe también considerar su seguridad (tanto para las perras como para el que realice las aplicaciones), el costo y el tiempo requeridos, para que recién ahí este método pueda convertirse en una verdadera opción de control para la población canina.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos y discutidos en el presente trabajo, en donde, se administró intrauterinamente 125 mg de hidrocloreuro de quinacrina, disueltos en 1,5 ml de agua destilada, mediante laparotomía a nivel de la línea media, en un grupo de cinco perras en edad fértil, se puede concluir que:

- No se observaron lesiones macroscópicas, en los tractos reproductivos de las perras del grupo tratado con respecto al grupo control.
- No se observaron lesiones microscópicas, en las muestras de istmo y cuernos uterinos (cercano a su bifurcación), de las perras del grupo tratado con respecto al grupo control.
- No se observaron efectos adversos perceptibles en las 48 horas posteriores a la aplicación.

7.- BIBLIOGRAFÍA

- ACHA, P.; L. SZYFRES. 1989. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª edición. Publicaciones científicas OPS/OMS N°503.
- ANTELO, R. 1998. Técnicas de Inseminación Artificial en Caninos. En: Tópicos de Clínica Reproductiva e Inseminación Artificial en Caninos. Instituto de Reproducción Animal. Universidad Austral de Chile. Valdivia.
- BACHA, W; L, WOOD. 1991. Atlas color de Histología Veterinaria. Inter-Médica. Buenos Aires.
- BALLARALES, P. 1998. Anatomía Reproductiva de la Perra. En: Tópicos de Clínica Reproductiva e Inseminación Artificial en Caninos. Instituto de Reproducción Animal. Universidad Austral de Chile. Valdivia.
- BENAGIANO, G. 1994. Sterilisation by Quinacrine. *The Lancet* 344: 689.
- BLAKE, D; N. DUBIN; M. DIBLASI; T. PARMLEY; G. STETTEN; T. KING. 1982. Teratologic and Mutagenic Studies With Intrauterine Quinacrine Hydrochloride. In: Female Transcervical Sterilization. Harper & Row Publishers. Philadelphia.
- BUTCHER, R. 2000. La Implementación de Programas de Control de Animales Vagos, los Efectos de las Diferencias económicas y Culturales. *MEVEPA* 14: 40-42.
- CHILE. 2002. Ministerio de Salud. Servicio de Salud Valdivia. Departamento de Programas sobre el Ambiente. Informe interno de accidentes por mordeduras, periodo 1997-2001.
- DABANCENS, A; M. PRUYAS; M. RIVERA; D. SOKAL; J. ZIPPER. 1994. Tasas Estandarizadas de Incidencia y Prevalencia de Patología Cervical Preclínica en 1061 Mujeres Esterilizadas con Quinacrina Intrauterina. *Revista chilena de obstetricia y ginecología* 59: 181-184.
- DELLMANN, H. 1993. Textbook of Veterinary Histology. Fourth edition. Lea & Febiger. Philadelphia.
- DUBIN, N; T. PARMLEY; M. DIBLASI; R. GHODGAONKAR; M. JIFFRY; D. BLAKE; T. KING. 1982. Pharmacology of Quinacrine Hydrochloride With Emphasis on its Use as a Tubal Occluding Agent. In: Female Transcervical Sterilization. Harper & Row Publishers. Philadelphia.

- GARCÍA, H. 1995. Estimación Demográfica de la Población canina en la ciudad de Valdivia. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia.
- GUZMÁN, R; A. BERNALES; L.PAINTER. 1982. Clinical Report: Quinacrine-Fused Pellets. In: Female Transcervical Sterilization. Harper & Row Publishers. Philadelphia.
- HIEU, D.; T. TAN; D. TAN; P. NGUYET; P. THAN; D. VINH. 1993. 31.781 Cases of Non-Surgical Female Sterilisation with Quinacrine Pellets in Vietnam. *The Lancet* 342: 213.
- ISRANGKUN, C; S. PHAOSAVADI; R. NEUWIRTH; R. RICHART. 1976. Clinical Evaluation of Quinacrine Hydrochloride for Sterilization of the Human Female. *Contraception* 14: 78-79.
- KESSEL, E.; L. LAUFE; J. ZIPPER. 1983. Future Female Sterilization Technology: What to Expect. In: New Trends in Female Sterilization. Year Book Medical Publishers.
- LUNA, L. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3^a edition. McGraw-Hill. New York.
- MALAVIYA, B.; H. CHANDRA; A KAR. 1975. Chemical Occlusion of Monkey Oviducts with Quinacrine: Antagonism and Reversal with Estrogen. *Contraception* 12: 31-36.
- OJEDA, E. 1984. Estudio de algunas características de la población canina en las localidades de Lanco, San José y Los Lagos. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia.
- PARMLEY, T.; N. DUBIN; J. STRANDBERG; L. LAUFE. 1982. Histologic Changes Following Intrauterine Administration of Quinacrine Hydrochloride. In: Female Transcervical Sterilization. Harper & Row Publishers. Philadelphia.
- RICHART, R. 1982a. Oclusión de las Trompas de Fallopio mediante Agentes Químicos. En: Aspectos Clínicos en Reproducción Humana. Universidad de Chile. Santiago.
- RICHART, R. 1982b. The Use of Chemical Agents in Female Sterilization. In: Female Transcervical Sterilization. Harper & Row Publishers. Philadelphia.
- RICHART, R. 1983. Sterilization Using Chemical Agents. In: New Trends in Female Sterilization. Year Book Medical Publishers.
- SISSON, S.; J. D. GROSSMAN. 1994. Anatomía de los Animales Domésticos. Quinta edición. Salvat. México D.F.
- WHEELER, R. 1982. Delivery Systems for Applying Quinacrine as a Tubal Closing Agent. In: Female Transcervical Sterilization. Harper & Row Publishers. Philadelphia.

ANEXO N° 1



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO DE SALUD PUBLICA DE CHILE

AUTORIZACION

En Santiago de Chile, a 19 días del mes de Noviembre del 2001, el Jefe del Departamento de Control Nacional del Instituto de Salud Pública de Chile, autoriza a Laboratorio Silesia S.A., para efectuar la donación de **50 g de Hidrocloruro de Quinacrina en polvo**, al Sr. Cristobal Cerda Sanchéz, alumno de la Universidad Austral de Chile, para realizar estudios en Hembras caninas como parte de la Tesis de Licenciatura para optar al título de Médico Veterinario.

Por delegación del Director del Instituto de Salud Pública de Chile.

DR. Q.F. JOSE PEÑA RUZ
JEFE DEPARTAMENTO CONTROL NACIONAL
INSTITUTO DE SALUD PUBLICA DE CHILE



ANEXO N° 2

De acuerdo a investigaciones que se están realizando en el marco de la tesis de grado del alumno de quinto año de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, Cristóbal Cerda Sánchez, tendientes a probar el efecto del químico quinacrina en el sistema reproductivo de las perras, las personas interesadas se comprometen a:

Primero:

El que subscribe se compromete a esterilizar, en un plazo no mayor a 45 días, a las perras entregadas para tales efectos por sus dueños.

Segundo:

El costo de las intervenciones, traslados y terapia medicamentosa requerida serán asumidos en su totalidad por el subscriptor.

Tercero:

Durante el tiempo que dure el estudio (40 días) los dueños de los animales se comprometen a mantener a las perras en un lugar accesible y bajo observación.

Cuarto:

Los dueños asumen todo riesgo que conlleva la intervención, que como toda operación es de un cierto riesgo para el animal.

CRISTÓBAL CERDA S.
FIRMA SUBSCRIPTOR

FIRMA PROPIETARIO

ANEXO N° 3

Número:**PROPIETARIO**

Nombre :
 Dirección :
 Teléfono :

ANIMAL

Nombre : Raza :

Edad : **Color :** **Peso :**

Último celo :

HISTORIA CLÍNICA (Enfermedades, gestaciones, anticonceptivos, etc.)

FRECUENCIAS Y CONSTANTES FISIOLÓGICAS

Frec. Card : Frec. Respiratoria : Temperatura :

CONCLUSIÓN EXAMEN CLÍNICO GENERAL**PRIMERA INTERVENCIÓN**

Fecha : Hora : Fecha 2da intervención :
Protocolo anestesia :
Antibióticos :

Comentarios :

SEGUNDA INTERVENCIÓN

Fecha : Hora :
Protocolo anestesia :
Antibióticos :

Comentarios :

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar el presente trabajo quisiera agradecer a todas las personas e instituciones que contribuyeron en su realización, en especial a:

- Laboratorio Silesia, por el suministro de la droga Quinacrina.
 - Dr. Roberto Hube, Gerente ventas área bovinos, Laboratorio Pfizer de Chile, por el aporte en medicamentos.
 - Dr. Enrique Paredes, por su acogida y colaboración.
 - Dr. Daniel Boroschek, por su contribución y por el préstamo de sus instalaciones.
 - Dr. Jorge Correa, por su apoyo y ayuda.
 - A todos los integrantes del Instituto de Anatomía Patológica por sus comentarios y consejos.
-