

CATEDRA DE HISTOLOGIA Y ANATOMIA PATHOLOGICA

Profesor Adjunto Encargado de Curso: EDUARDO GALLEGOS GARCIA

Análisis de las alteraciones histopatológicas producidas experimentalmente por el empleo del Benzetacil (Dipenicilina DBED)

Dr. Eduardo Gallegos Garcia

Este trabajo tiene por objeto el análisis de las alteraciones histopatológicas observadas en los animales de experimentación tratados con Benzetacil y ha sido realizado como consecuencia de algunos informes clínicos referentes a ciertas reacciones locales intensas y obedeciendo también a los resultados de un análisis de la bibliografía relativa a la toxicidad del Benzetacil, especialmente los trabajos de Seifert y Glassman en 1951, de los mismos autores en 1954 y de Dickison y Hoekstra en 1953. Se describen en esta comunicación las lesiones encontradas y atribuidas al Benzetacil y se efectúa un estudio comparativo con las ocasionadas por la Penicilina G Procaína.

Este trabajo ha sido realizado por el Dr. D. Eduardo Gallego en los laboratorios de la Fábrica de Antibióticos S. A. de León, con productos de la misma casa. Fué presentado al «Third Annual Symposium on Antibiotics» celebrado en Washington (Nov. 1955) y publicado en versión inglesa en la Publicación «Antibiotics Annual (1955-1956), pag. 816-824.

MATERIAL Y METODOS

Como animales de experimentación han sido empleados conejos y cobayos. Con objeto de poder establecer, dentro de lo que es farmacológica y biológicamente posible, un paralelo entre las lesiones experimentales y las que puedan presentarse en la clínica hemos utilizado justamente los mismos preparados comerciales con sus correspondientes vehículos y concentraciones. Se utilizó Benzetacil (Penicilina G Benzatina) en suspensión en agua bidestilada estéril y exenta de piretógenos (Inyectable de 2.400.000 de Wyeth, Antibióticos). Para las pruebas comparativas de Penicilina G Procaína se hizo uso de la Aquicilina Simple. (Schenley Antibióticos).



Fig. 1.—Punto de inyección. (Benzetacil, 2.^o día). Masa de inyección, mostrando los cristales, alojados entre los haces musculares.

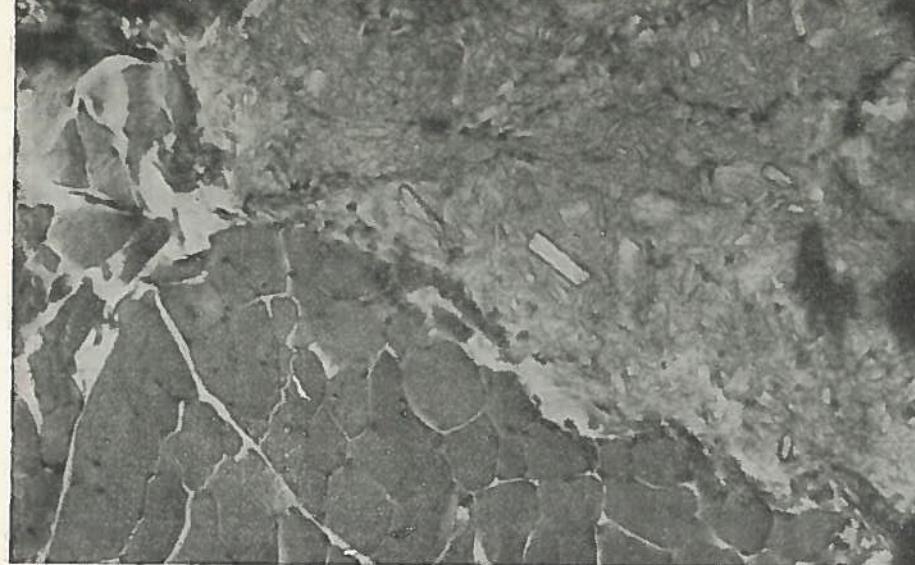


Fig. 2.—Punto de inyección. (Benzetacil, 2.^o día). Cristales de Benzetacil frente a fibras musculares sin lesiones.



Fig. 3.—Punto de inyección. (Benzetacil, 2.^o día). Ampliación de la fig. 2, donde pueden observarse los cristales frente a fibras musculares sin lesiones. En la zona de contacto se advierte el comienzo del exudado serofibrinoso.

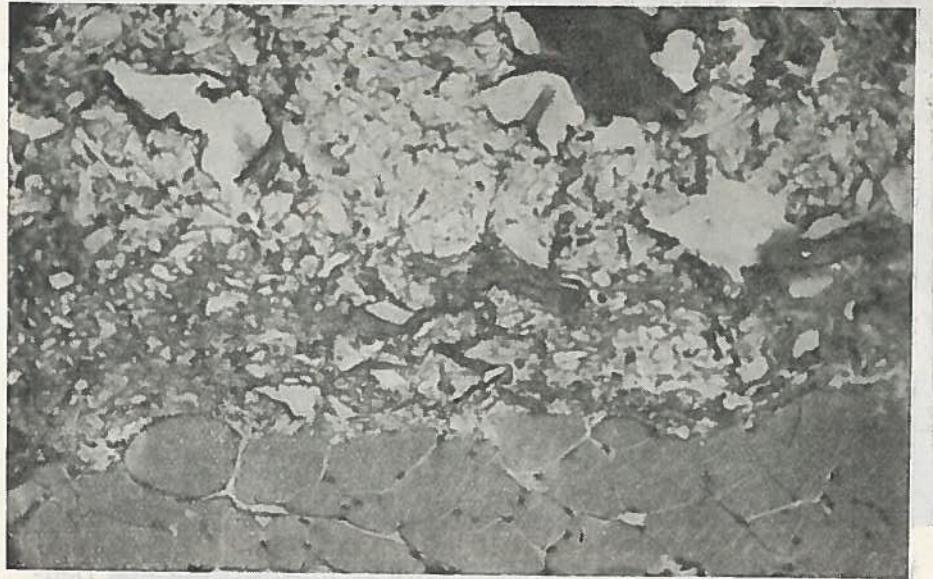


Fig. 4.—Punto de inyección. (Benzetacil, 3.^o día). La cantidad de exudado serofibrinoso entre fibra y cristales ha aumentado.

Benzetacil en conejos.—Hemos utilizado en cada lote 14 conejos (de 1,5 a 2 Kgrs.); se han inyectado 12 en el mismo día (2 sirvieron de testigos) intramuscularmente en los músculos posteriores del muslo derecho. Sistemáticamente se han ido sacrificando por parejas en los plazos de 1, 2, 4, 7, 14 y 21 días después de la inyección del preparado.

La dosis aplicada ha sido de 100 mgrs./kg. de peso, en inyección única.

Benzetacil en cobayos.—Se emplearon lotes de 14 cobayos en idéntica forma que los conejos. La dosis aplicada fué sensiblemente menor, 60 mgrs./Kg de peso en el primer lote, habida cuenta de la gran sensibilidad de esta especie a la Penicilina y sus derivados. Ulteriormente fué preciso reducir aún más la dosis (30 mgrs.) con objeto de prevenir efectos letales en la administración.

Penicilina G Precairia.—Se ha experimentado con lotes de 12 animales (2 testigos) inyectando en el mismo punto y sacrificando una pareja los días 1, 2, 3, 4 y 5. Dosis utilizada: 100 mgrs./Kg. de peso.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

(a) Punto de inyección.

Benzetacil.—La masa de inyección no se introduce entre las

bijóticos a causa, probablemente, de su mayor viscosidad y menor solubilidad, se desliza en los intersticios entre los músculos o entre los haces musculares secundarios para constituir depósitos del preparado.

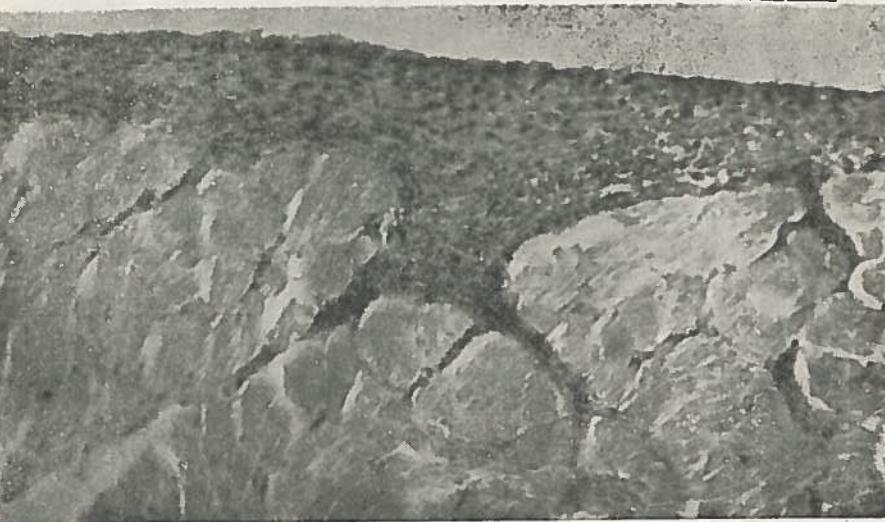


Fig. 5.—Punto de inyección. (Benzetacil, 7.^o dia). Tejido de granulación envolviendo al músculo y penetrando en algunos intersticios. Sin lesiones propiamente musculares.

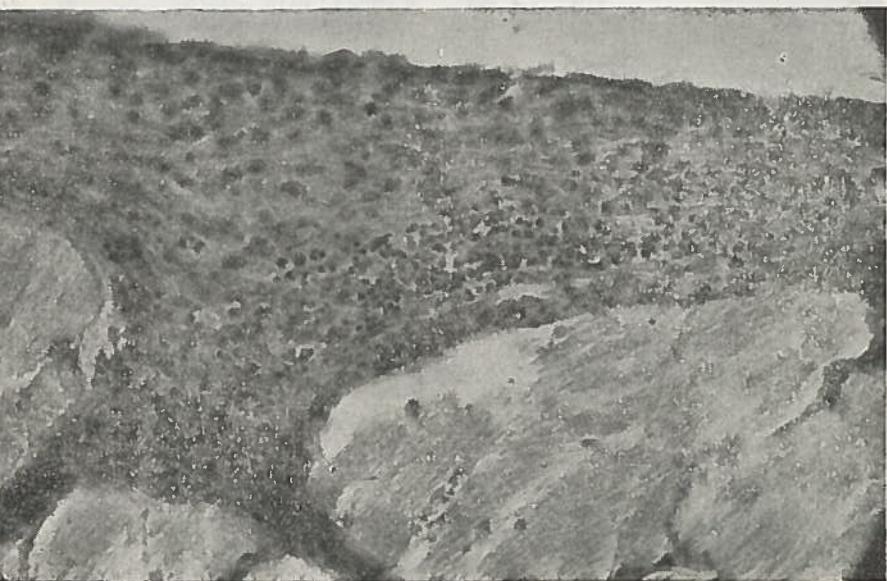


Fig. 6.—La figura anterior a mayor aumento para revelar las hemorragias que aparecen en el seno del tejido de granulación.

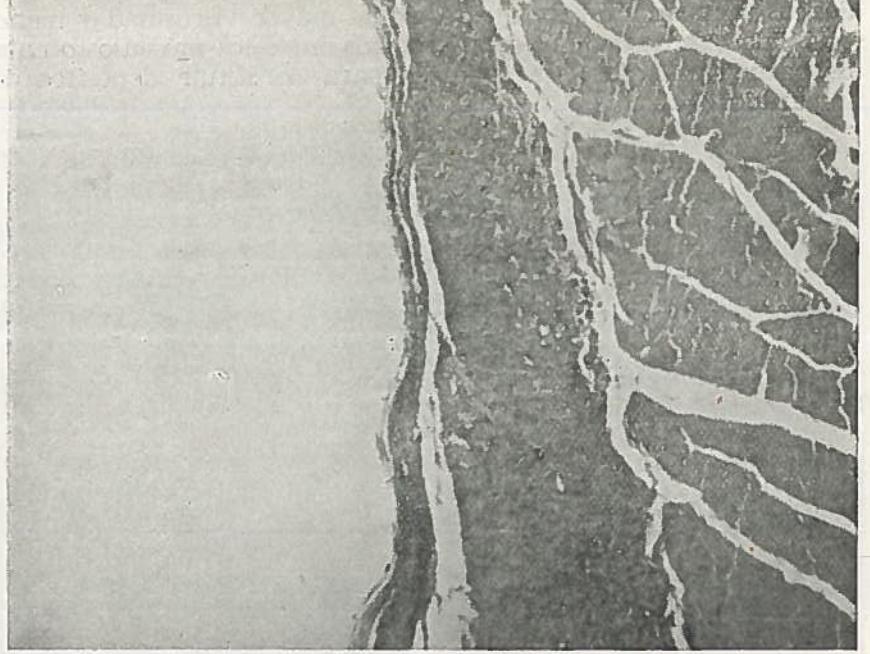


Fig. 7.—Punto de inyección. (Benzetacil, 14º día). Se observa claramente la disposición periférica del tejido de granulación frente a un músculo sin lesiones.

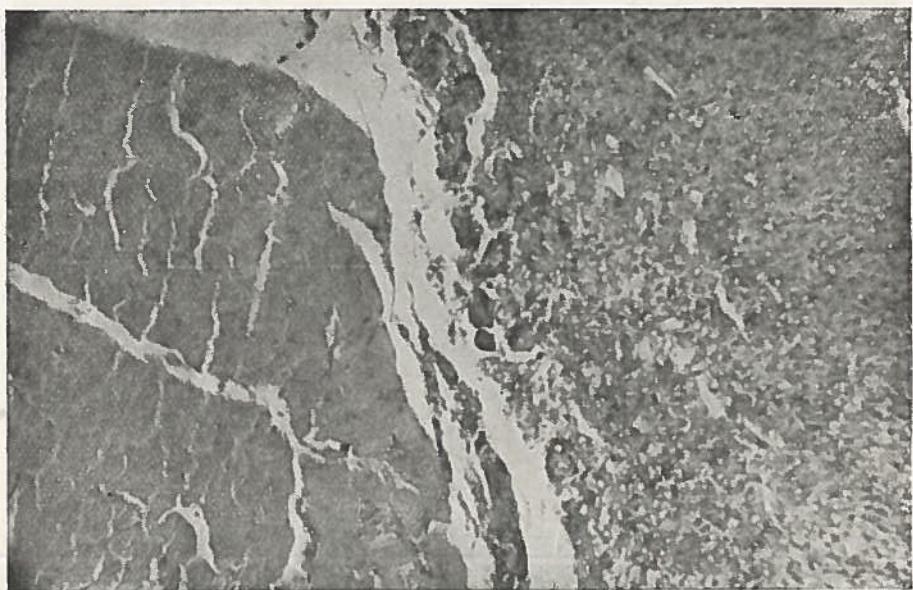


Fig. 8.—Ampliación a la figura anterior que permite observar las células gigantes de cuerpo extraño en las cercanías del tejido muscular.

El análisis histológico revela que se trata de un depósito cristalino en contacto con los haces musculares y, hecho interesante, las células musculares no revelan alteración alguna; a este respecto las imágenes microscópicas son bien evidentes: cristales de Benzetacil aparecen junto a fibras musculares inalteradas.

Esta imagen se repite en primero e incluso en segundo día y no suele observarse, ni edema, ni infiltración celular entre las fibras musculares (fig. 1).

Al segundo día comienza a observarse que entre la masa cristalina y las fibras aparece un exudado serofibrinoso que se difunde dentro de la masa de inyección (fig. 2).

En el cuarto día y hasta el séptimo, se encuentra tejido de granulación que se localiza fuera de la masa muscular y parece corresponder a un proceso de organización del exudado serofibrinoso depositado anteriormente y también de las masas hemorrágicas que el traumatismo de la inyección puede determinar. Las células musculares siguen sin mostrar alteraciones histopatológicas. En alguna zona puede observarse una penetración de tejido granulante rico en neovasos en los intersticios musculares superficiales. Este tejido de granulación perimuscular presenta entonces hemorragias en algunas zonas.

En el catorceavo día, el tejido de granulación que forma una zona ancha por fuera de los haces musculares es mucho más denso y ofrece la presencia de células gigantes de cuerpo extraño. Las hemorragias en su seno son muy reducidas en número y extensión. Las células gigantes se localizan en las proximidades de las fibras musculares y sus núcleos, que son muy numerosos, adoptan una ordenación periférica.

Las imágenes del día 21 corresponden a la evolución normal de un tejido de granulación.

En algunos casos en que parte de la masa de la inyección, se ha introducido en el tejido adiposo intermuscular del hueso popliteo se observa lo siguiente: la masa cristalina del Benzetacil dentro del tejido adiposo aparece netamente delimitada; sólo se encuentra en las trabéculas del adiposo algunos infiltrados de células redondas. La masa de inyección es pronto invadida por un exudado seroso y células redondas.

Penicilina G. Procaina.—A las 24 horas de la inyección se observa en el punto de aplicación, un edema muy evidente (fig. 11) que separa a las fibras musculares unas de otras y muestra algunos filamentos de fibrina con pocas células redondas.

Al segundo día se encuentra una infiltración de células redondas más densa rodeando las células musculares. El análisis

histopatológico del tercer día nos revela que las fibras musculares de la zona de inyección están afectadas en su casi totalidad presentándose en diversos grados de destrucción (figs. 13 y 14). La necrosis y la fagocitosis de las fibras musculares es muy evidente el cuarto día, asistiendo a un proceso reparativo de organización donde se evidencian numerosos histiocitos y macrófagos activos. Se encuentran a veces focos de calcificación distrófica y hemorragias.

(b). Alteraciones histológicas en las visceras.—De una manera sistemática se ha realizado un riguroso análisis micrográfico de los más diversos órganos (riñón, uréter, vejiga, pulmón, corazón, ganglios linfáticos, bazo, glándulas salivares, estómago, intestino, hígado, páncreas, cerebro, glándulas endocrinas); las modificaciones son de poca intensidad y se refieren a alteraciones circulatorias siendo observables en riñón, hígado, y pulmón, preferentemente el primer órgano.

Riñón.—Presenta algunas alteraciones circulatorias que se hacen más evidentes al llegar el cuarto día para decrecer más tarde. Las lesiones consisten en pequeñas hemorragias corticales, hemorragias en forma de estrias muy evidentes en la zona medular y congestión glomerular difusa. Las lesiones son más evidentes en los cobayos que en los conejos.

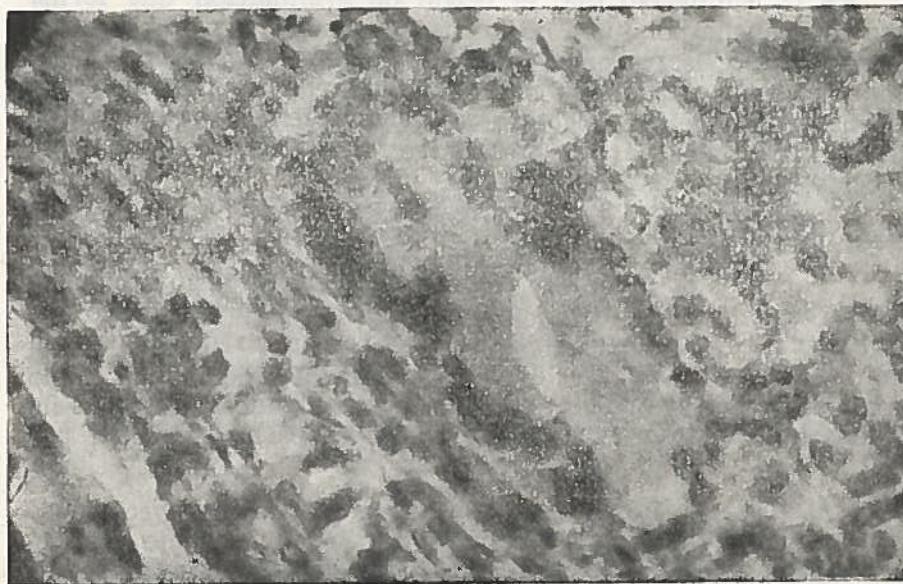


Fig. 9 Punto de inyección (Benzetacil, 14.^o día). Célula gigante de cuerpo extraño en el tejido de granulación.

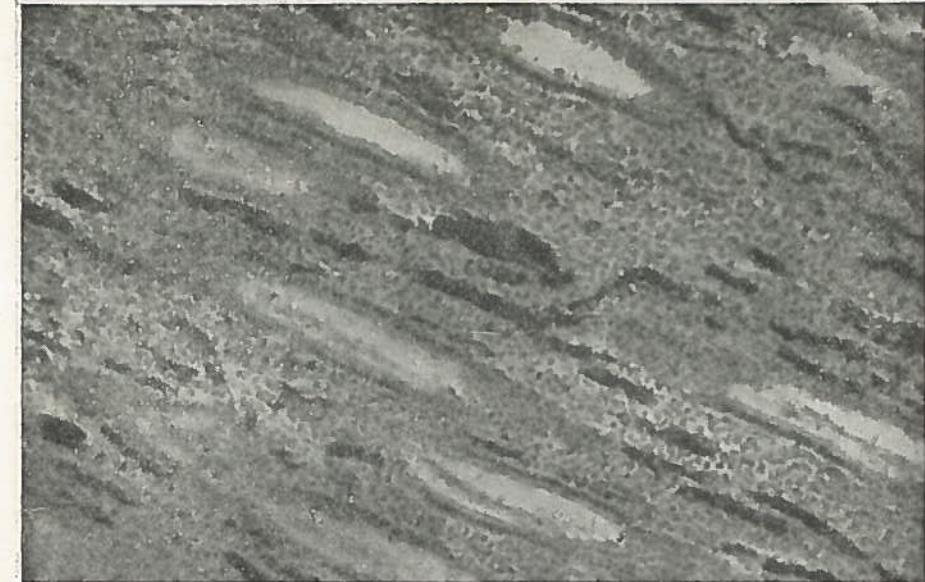


Fig. 10—Riñón (Benzetacil, 4.^o día). Hemorragias en estria localizadas en zona medular.

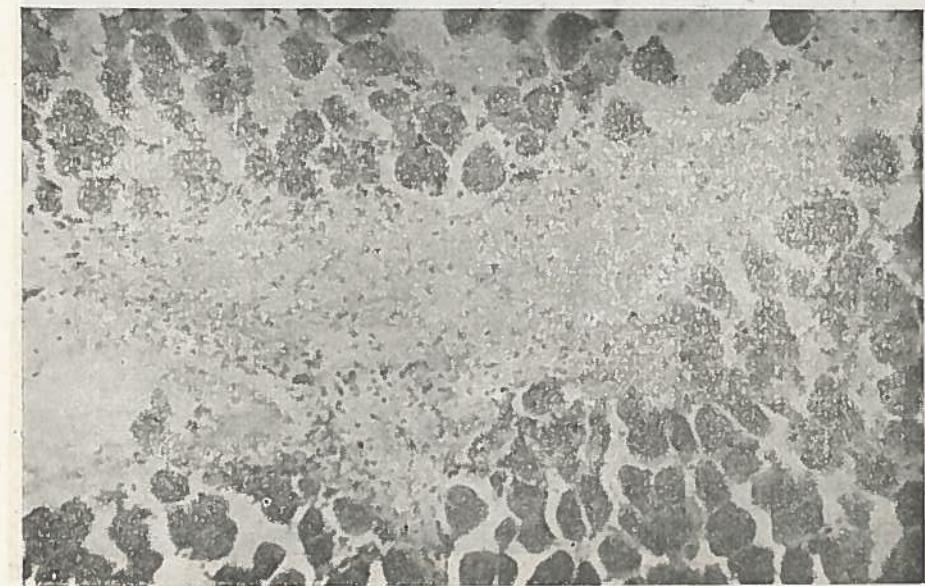


Fig. 11—Punto de inyección (Penicilina G Procaina, 1.^o día). Dilatación de los espacios conjuntivos musculares por intenso edema y discreta infiltración celular.



Fig. 12—Punto de inyección. (Penicilina G Procaina, segundo día). Edema con incremento de la infiltración celular que comienza a rodear las fibras musculares.

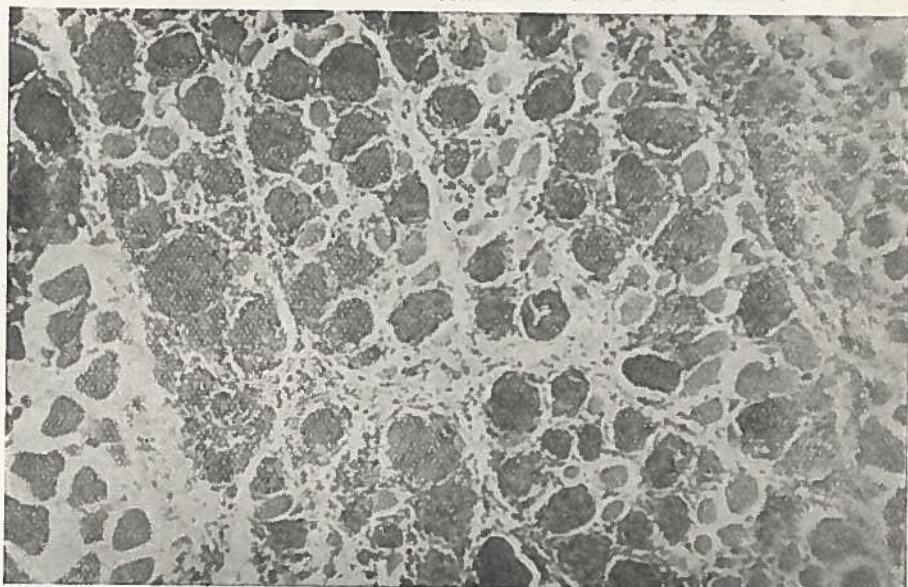


Fig. 13—Punto de inyección (Penicilina G Procaina, 3.º día). Necrobiosis de las células musculares en diferentes grados, de destrucción e infiltración histiocitaria.

Hígado y pulmón.—Presentan alteraciones congestivas y algunas pequeñas hemorragias; sin embargo, no existe una evidencia absoluta de su génesis farmacotóxica a expensas del Benzetacil.

(c) **Control hematológico.**—Se ha llevado a efecto un meticuloso control hematológico determinándose en días alternos, número de hematies, cantidad de hemoglobina, número de reticulocitos, de leucocitos y fórmula leucocitaria.

En los lotes de conejos no se ha registrado alteración alguna de interés; en los cobayos se observó un ligero descenso del número de hematies y de la cantidad de hemoglobina en el curso de la experiencia.

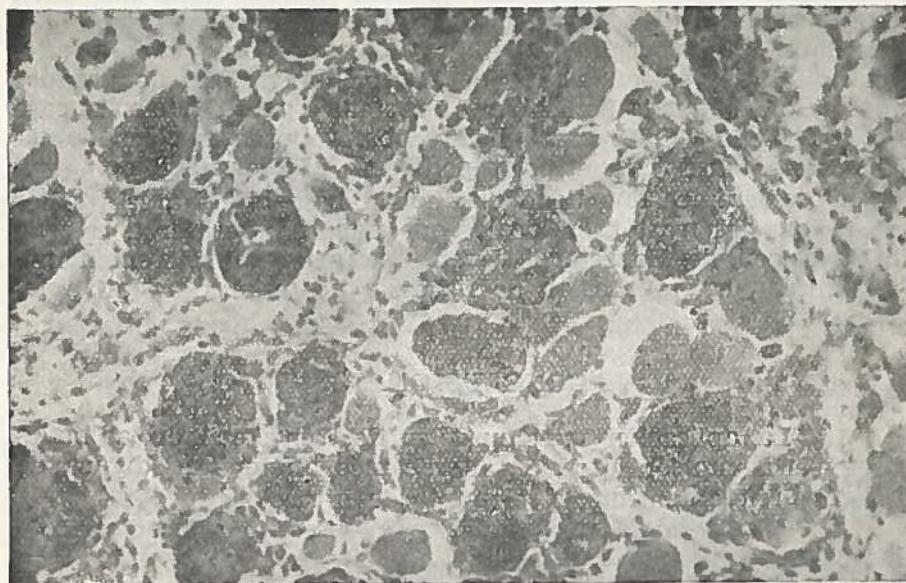


Fig. 14—Punto de inyección (Penicilina G Procaina, 3.º día). La figura anterior a mayor aumento mostrando algunas células musculares normales frente a la gran mayoría que aparece en diversos estados de necrobiosis.

DISCUSION

Interesa destacar el análisis del punto de inyección. En todas las observaciones realizadas hemos podido comprobar diferencias notables entre las alteraciones provocadas por el Benzetacil en el punto de inyección y las determinadas por la Penicilina G Pro-

caina. La diferencia fundamental es la siguiente: la inyección de Penicilina G Procaina ataca y destruye las fibras musculares mientras que el Benzetacil no modifica el tejido muscular propiamente dicho; la Penicilina G Procaina desde el primer día de la inyección, produce un edema que invade el haz muscular separando unas células musculares de otras y comenzando así su necrosis; el Benzetacil, por el contrario, se acumula en los intersticios de los haces constituyendo depósitos cristalinos mientras las fibras musculares permanecen inalteradas. El tejido de granulación que se produce en el punto de inyección de la Penicilina G Procaina viene a sustituir células musculares destruidas; el correspondiente al Benzetacil sustituye un exudado serofibrinoso o un depósito hemorrágico.

Como puede observarse, disentimos de la opinión de los autores que indican la existencia de una necrosis muscular para el Benzetacil (Dickison y Hoekstra). Tampoco consideramos muy adecuada la conclusión de Seifter y colaboradores, cuando afirman: "La suspensión acuosa de Dipenicilina DBED no produce más irritación que la Penicilina G Procaina", puesto que en el caso de la Penicilina G Procaina hemos observado destrucción de células musculares y en el correspondiente al Benzetacil no.

Consideramos que tiene una sólida base objetiva la hipótesis de que los trastornos locales que pueden aparecer a raíz de la inyección de Benzetacil tienen una génesis preferentemente mecánica, pura separación de fibras, y no químico-irritativa lesionante.

CONCLUSIONES

1.^a La aplicación intramuscular de Benzetacil en animales de experimentación produce alteraciones anatómicas dignas de interés preferentemente en el punto de inyección.

2.^a A raíz de la inyección no se observan alteraciones de las células musculares, depositándose la masa de Benzetacil en acúmulos cristalinos entre los haces.

3.^a Es posible observar la coexistencia de cristales de Benzetacil y fibras musculares inalteradas en su proximidad.

4.^a Los primeros trastornos determinados por la inyección intramuscular de Benzetacil deben responder, preferentemente, a factores mecánicos de compresión.

5.^a Interesa hacer constar el contraste observado con la Penicilina G Procaina, la cual produce degeneración y necrosis de las células musculares en el punto de inyección.

6.^a Ambos productos determinan finalmente el desarrollo de un tejido de granulación; pero de tal forma, que mientras en el caso de la Penicilina G Procaina éste sustituye a células mus-

culares destruidas, profundizando en el tejido, en el caso del Benzetacil reemplaza a exudado serofibrinoso o a pequeñas hemorragias traumáticas contorneando los haces.

RESUMEN

Se realiza un estudio de las alteraciones histológicas desarrolladas durante la administración intramuscular de Benzetacil, analizando preferentemente las lesiones en el punto de inyección. Se efectúa un análisis comparativo entre estas alteraciones y las determinadas por la aplicación de Penicilina G. Procaina.

La masa de Benzetacil se deposita en acúmulos cristalinos entre los haces musculares, siendo posible observar la coexistencia de cristales de Benzetacil y fibras musculares intactas. Por contraste la Penicilina G. Procaina determina edemas, degeneraciones y necrosis.

CONCLUSIONES

1. The intramuscular application of dipenicillin DBED on laboratory animals produces interesting anatomic alterations at the point of injection.

2. At the site of the injection alteration of the muscular cells is not present, and the mass of dipenicillin DBED deposits itself in crystalline heaps between the fasciculi. It is possible to observe the coexistence of dipenicillin DBED crystals in proximity to unaltered muscular fibers.

3. The first changes determined by the intramuscular injection of dipenicillin DBED should respond, preferably, to compression mechanical factors.

4. It will be interesting to observe the contrast obtained with procaine penicillin G, which produces degeneration and necrosis of the muscular cells at the point of injection.

5. Both products cause, in the end, the development of granulation tissue, but in such a way that, while in the case of procaine penicillin G it replaces the destroyed muscular cells, penetrating into the tissue; in the case of dipenicillin DBED, it replaces the serofibrinous exudate or small traumatic hemorrhages surrounding the fasciculi.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Dickison, H. L.; Hoekstra, J. B. 1953.—Pharmacological Studies With Dibenzylamine Penicillin G. *Antibiotics Annual*. 1: 336.
- 2) Hanre, D. H.; Rake, G.; Mc Phillamy, H. B. 1943.—The To-

- xicity of Penicillin as prepared for clinical use. *J. Med. Sc.*
106: 642.
- 3) Seifter, J.; Glassman, J. H.; Begany, A. J. and Blumenthal,
A. 1951.—The Toxicity of N. N'. — Dibenzylethylenediamine
DBED) and DBED Dipenicillin. *G. Antibiotics and Chemotherapy.* 17: 504.
 - 4) Seifter, J.; Glassman, J. H., Begany, A. J.; Errich W. E.
and Beckfield, W. J. 1954—The Tarmacology of N. N'.-Di-
benzylethylenediamine (DBED) and DBED dipenicillin G.
G. Antibiotics and Chemotherapy. 4: 633.