



SUMARIO DEL NÚMERO 7

2024

- Establecimiento de un modelo experimental de dermatitis atópica inducida por ovoalbúmina en caninos
- Caso clínico: Radiografía y tomografía computarizada de neumoperitoneo a tensión causado por perforación gástrica en un perro
- Farmacocinética comparativa de doxorrubicina libre y una formulación liposomal en gatos tras administración intravenosa

DESCUBRE LA NUEVA DIETA ROYAL CANIN® HIGH FIBRE

Una dieta rica en fibra para ayudar a regular el tránsito intestinal.



ALTO EN FIBRA

Dieta rica en fibra para ayudar a regular el tránsito intestinal.



ENERGÍA ADECUADA

Cubre las necesidades energéticas de mantenimiento a pesar de tener un elevado contenido en fibra.



SOPORTE DIGESTIVO

Fórmula altamente digestible, incluyendo prebióticos, para favorecer una digestión saludable.



Para obtener más información, contacta con tu representante de Royal Canin o visita:
www.royalcanin.com/es

Sumario

Establecimiento de un modelo experimental de dermatitis atópica inducida por ovoalbúmina en caninos 4

Introducción 6

Material y métodos 7

Resultados 10

Discusión 14

Otra información 19

Referencias 20

Caso clínico: Radiografía y tomografía computarizada de neumoperitoneo a tensión causado por perforación gástrica en un perro 24

Introducción 25

Descripción del caso 26

Discusión 28

Otra información 32

Referencias 33

Farmacocinética comparativa de doxorrubicina libre y una formulación liposomal en gatos tras administración intravenosa 36

Introducción 37

Materiales y métodos 38

Resultados 40

Discusión 41

Otra información 44

Referencias 45

Patrocinadores:



CONSEJO DE REDACCIÓN

Directora Científica

Susana G. Pérez de Ayala

Veterinario mínima invasión

Francisco Pérez Duarte

Jorge Gutierrez del Sol

Cirugía veterinaria y ortopedia

David Osuna Calvo

Anestesia y analgesia veterinaria

Miguel Ángel Cabezas Salamanca

Diagnóstico por Imagen

César Bezos Martínez

Perito veterinario

Rafael Luna Murillo

Veterinario clínico

Enrique Toro Cruz

EQUIPO

Director Ejecutivo CEO

Enrique Marcos

enriquemarcos@axonvet.es

Directora de Coordinación

Valle García

vallegarcia@axonvet.es

Director de Proyectos

Javier Pérez

javierperez@axonvet.es

Directora creativa

Marijé Murillo

Programación

Carmen Triviño

Comunity Manager

Laura Vargas

Departamento jurídico

Susana González

Departamento fiscal

Teresa Polo

Departamento contable

Sira Marivela

EDITA

AXÓN VET

IMPULSO VET

Depósito legal: M-15782-2024

<https://axoncomunicacion.net>



Palabras clave:

ovoalbúmina, dermatitis atópica, dermatitis atópica canina, dermatitis atópica modelo animal, respuesta inmune Th2

Keywords:

ovalbumin, atopic dermatitis, canine atopic dermatitis, atopic dermatitis animal model, T helper 2 immune response

Establecimiento de un modelo experimental de dermatitis atópica inducida por ovoalbúmina en caninos



Establecimiento de un modelo experimental de dermatitis atópica inducida por ovoalbúmina en caninos

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2024.1296138/full>



Ha-Young Shin^{1,2}. Hyung Jun Jin^{1,3}. Hyun-Jin Tae². Hong-Geun Oh⁴. Jeong Ho Hwang^{1,3*}

1. Animal Model Research Group, Korea Institute of Toxicology, Jeongeup, Republic of Korea

2. Companion Animal New Drug Development Center, Korea Institute of Toxicology, Jeongeup, Republic of Korea

3. College of Veterinary Medicine and Biosafety Research Institute, Jeonbuk National University, Iksan, Jeollabuk-do, Republic of Korea

4. R&D Division, HUVET Co., Ltd., Iksan-si, Republic of Korea



Introducción: Se requiere un modelo estándar fiable para evaluar la eficacia de nuevos fármacos para animales de compañía, especialmente perros. La dermatitis atópica canina (DAC), también conocida como enfermedad dermatológica alérgica inflamatoria, es un problema común. Actualmente, el modelo animal de ácaros del polvo domésticos se utiliza en la investigación de la DAC pero este modelos presenta una variación individual significativa y es difícil de estandarizar. En este estudio, usamos ovoalbúmina como antígeno para sensibilizar y estimular a los perros, estableciendo así un modelo estable que imita la respuesta de linfocitos T-helper 2 (Th2) visto en la CAD. Nuestro objetivo fue crear un modelo de CAD que pudiera emplearse para evaluar la eficacia de nuevos fármacos e imitar la respuesta alérgica dominante Th2 observada en la patogénesis de la dermatitis atópica de los perros.

Métodos: para el estudio se usaron 6 Beagles. Se aplicó suero salino en dos animales y ovoalbúmina en cuatro, en la parte dorsal de la piel.

Resultados: el grupo tratado con ovoalbúmina mostró signos clínicos de DAC como prurito y eritema. Además, los niveles plasmáticos de inmunoglobulina E y quimioquina CCL17 de los marcadores de CAD fueron mayores en el grupo tratado con ovoalbúmina que en el grupo de control. El grosor cutáneo de la epidermis aumentó significativamente en el grupo tratado con ovoalbúmina, observándose infiltración de células inflamatorias en la región de la dermis engrosada. En conclusión, la aplicación en la piel canina con una concentración óptima de ovoalbúmina indujo síntomas típicos de CAD, y los análisis histológicos y moleculares confirmaron una mayor respuesta inmune relacionada con Th2.

Conclusiones: Por lo tanto, hemos establecido con éxito una respuesta adecuada Th2 dominante imitando la CAD, que facilitará la investigación específica de la dermatitis atópica en perros.



Introducción

La dermatitis atópica canina (CAD) es una enfermedad cutánea inflamatoria de la piel común que implica disfunción de la barrera epidérmica y prurito recurrente en perros (1). La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad hereditaria, aunque es posible que se desarrolle espontáneamente en cualquier individuo. Los factores ambientales, como la exposición a alérgenos, juega un papel importante en la activación de esta patología (2).

El tratamiento de la DA en humanos y perros implica utilizar medicación que puede suprimir la respuesta celular inmune de Th2 (3-6) y mantener el control de la enfermedad a largo plazo (7-10).

Al igual que en humanos, las lesiones cutáneas de la CAD se caracterizan por la infiltración de la dermis por células CD4⁺-T y eosinófilos, conocida como respuesta Th2. La respuesta Th2 es una respuesta inmune exagerada provocada por alérgenos (11). El sistema inmune de los perros genéticamente predispuestos reconoce los alérgenos y activa las células Th2. Estas células Th2 activadas migran al sitio de estimulación a través de CCL17, una quimioquina que mueve las células inflamatorias y estas células estimulan las células B (12). Las células Th2 liberan citoquinas de señalización específicas, incluidas la interleucina-4 (IL-4), la interleucina-13 (IL-13) y la interleucina-31 (IL-31). Las citoquinas liberadas promueven una respuesta inflamatoria en la piel, lo que lleva a síntomas característicos de la DAC como prurito, eritema y edema. La diferenciación inflamatoria de células T y la respuesta inmune Th2 en la piel está regulada por mediadores inflamatorios, como COX-2 (13, 14), pero el papel de COX-2 en la respuesta inmune de la DAC no está claro. Además, el hallazgo de que la inhibición de la expresión COX-2 de un modelo atópico alérgico en ratones promueve una respuesta Th2 (15) fue un indicador para la construcción del modelo de CAD dominante Th2.

IL-4 e IL-13 median en la hipersensibilidad del anticuerpo de la inmunoglobulina E (IgE) que está implicada en las reacciones alérgicas. Los anticuerpos IgE se unen a los mastocitos, que son abundantes en la piel. Tras la exposición posterior al mismo alérgeno, las IgE desencadenan la degranulación de los mastocitos. Debido a la degranulación, se libera histamina y otros mediadores que producen prurito y la posterior inflamación. Sin embargo, las citoquinas Th2 varían mucho dependiendo de la muestra y el tiempo de medición. En el caso de CCL17, las quimiocinas relacionadas con Th2 pueden medirse de una manera relativamente estable y, por lo tanto, están siendo estudiadas activamente como objetivos que puedan determinar la severidad de las enfermedades alérgicas como DA.

Para proteger a los animales y garantizar una selección óptima del tratamiento es esencial confirmar la eficacia y la seguridad de los nuevos medicamentos desarrollados para el tratamiento de enfermedades, incluida la atopia, en los animales diana (16).

La sensibilización epicutánea con alérgenos, como los ácaros del polvo doméstico (APDs), se ha utilizado ampliamente para establecer modelos de CAD o para estudiar la alergia de contacto (17,18). Sin embargo, los animales inducidos por APDs muestran importan-

tes variaciones individuales y estandarizar los protocolos es difícil (19,20). Por lo tanto, no se dispone de modelos animales fiables para experimentación, estudios no clínicos o estudios clínicos de fase II.

En este estudio, usamos ovoalbúmina como antígeno para la sensibilización y estimulación para estudiar la eficacia y actividad inmunológica. Deducimos la concentración óptima de ovoalbúmina necesaria para establecer un modelo y, de ese modo, establecemos un modelo de DAC que imita la respuesta DA Th2 dominante. Este modelo será una valiosa herramienta para seguir investigando en este campo.

Material y métodos

Animales

En el experimento se usaron seis beagles macho (*Canis lupus familiaris*). Los grupos de control (CG), T1 y T2 se componían de dos animales cada uno. Todos los perros eran machos de 7 meses con un peso medio de 7,95 kg (rango, 7,2-8,7), y se obtuvieron de Raon Bio (Yongin, Corea del Sur). Antes de empezar el experimento, al periodo de aclimatación de 7 días le siguió una cuarentena veterinaria. En este estudio se incluyeron animales sanos que no desarrollaron dermatitis o enfermedades alérgicas durante la cuarentena. A todos se les alojó en jaulas individuales (120 x 180 x 150 cm³). Durante el periodo experimental, la temperatura y la humedad de la habitación se mantuvieron a 24°C (\pm 2°) y 40-60% respectivamente. La intensidad de la luz fluorescente se mantuvo en 150-300 lx, la tasa de renovación del aire fue de 10-15 veces/hora y se mantuvo un ciclo de luz de 12h. Los animales fueron alimentados con pienso seco para perros (sin huevo) y se les permitió beber agua limpia de grifo a voluntad. No se les bañó durante el periodo de estudio para evitar cambios en los parámetros de la condición cutánea. Toda la experimentación animal se realizó bajo las directrices del Comité Institucional del Cuidado y Uso de Animales de Huvet (número de aprobación IACUC: HV 2022-011).

Diseño del estudio

En este estudio, al grupo control (GC) se le expuso epicutáneamente a suero salino normal y a los grupos T1 y T2 se les expuso epicutáneamente a 1 y 5 mg/kg de ovoalbúmina, respectivamente.

El estudio consistió en dos fases. En la fase 1, los beagles fueron sensibilizados epicutáneamente a la ovoalbúmina durante dos semanas. En ese momento, los perros se consideraron sensibilizados a la ovoalbúmina a pesar de que la mayoría de ellos (3 de 4) no presentaban lesiones cutáneas. En la fase 2, los beables fueron expuestos a ovoalbúmina durante 2 semanas.

La ovoalbúmina se aplicó con apósitos transparente Tegaderm® (3M, St. Paul, MN, Estados Unidos). Decidimos colocar la ovoalbúmina en la zona dorsal, que no es una zona típica de desarrollo de la DAC porque los animales eran propensos a eliminar el Tegaderm® cuando se movían. Para crear el modelo de la DAC, se cortó el pelo y se desinfectó la zona dorsal con alcohol isopropílico al 70%. A los grupos tratados con ovoalbúmina se le sensibilizó con 1 y 5 mg/kg





de ovoalbúmina disuelta en suero salino fisiológico todos los días durante 2 semanas. A los animales del GC se les administró suero salino fisiológico. Se obtuvieron imágenes macroscópicas los días 0, 2, 7 y 14.

Evaluación clínica de las lesiones cutáneas

Se evaluó la gravedad de los síntomas usando una versión simplificada del sistema de puntuación Draize utilizado en estudios toxicológicos y dermatológicos para evaluar la irritación cutánea, con las puntuaciones más altas que indicaban inflamación, lesión e hinchazón severas causadas por la ovoalbúmina. El sistema de puntuación de irritación dérmica Draize (SPID) se puntúa dos veces en semana (21), donde 0 indica que no hay eritema, escaras o edema, 1 indica eritema, escaras y edema apenas perceptible, 2 indica eritema, escaras y edema claramente perceptibles, 3 indica eritema, escaras y edema de moderados a severos y 4 indica severo eritema, escaras ligeramente profundas y edema severo que se extiende más allá del área expuesta.

Recolección de muestras y analíticas

Para analizar el hemograma completo y la química sanguínea, se recogió sangre entera en un tubo con anticoagulante EDTA (ácido dietilendiamino tetraacético) y en un tubo separador de suero, respectivamente. Se realizó un hemograma completo (BC-2800 Vet; Mindray, Shenzhen, China) usando sangre entera. Las muestras en el tubo separador de suero se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 rpm y el sobrenadante se recogió y utilizó como suero para las analíticas (DRI-CHEM NX700; Fujifilm, Tokio, Japón).

Histopatología

En el día 15, todos los animales fueron anestesiados para obtener muestras de piel de la región dorsal. Se recogieron cuatro biopsias utilizando punch de 8 mm en el área dorsal de cada uno de los seis perros después de una evaluación clínica y monitorización del estado de la piel. Para el examen histopatológico, el 50% de las muestras se fijaron en solución de formalina al 10% con tampón neutro; para el análisis de citoquinas, el 50% de las muestras conservadas en solución RNAlater® (AM7021, Invitrogen, Carlsbad, CA, Estados Unidos) se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido. Los tejidos de la piel se conservaron en formol tamponado neutro al 10% durante la noche e incorporados en parafina. Entonces, las muestras tisulares se seccionaron a intervalos de 5 μ m. Las secciones se desparafinaron y se tiñeron con hematoxilina y eosina para examinar las anomalías estructurales de la piel. La tinción tricrómica de Masson se realizó según las instrucciones del fabricante (Cat. No. IFU-2; ScyTek, Logan, UT, Estados Unidos). Los portaobjetos desparafinados se incubaron en solución de hematoxilina férrica de Weigert, fucsina ácida - escarlata de Briebrich, ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico, azul de anilina y una solución de ácido acético al 1%. El colágeno en los tejidos conectivos se tiñó de azul, el citoplasma se tiñó de rojo o rosa, y los núcleos se tiñeron de rojo oscuro o púrpura. Los resultados de la tinción fueron examinados por un histopatólogo.

Reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa con transcripción inversa

Para medir la cantidad de ácido ribonucleico (RNA) en las muestras, el RNA se extrajo de las biopsias de tejidos usando el RNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) y se transcribió inversamente utilizando el QuantiNova Reverse Transcription Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Se prepararon mezclas de 20µL de volumen para qRT-PCR, que contenían 2 Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Waltham, MA, Estados Unidos), y las reacciones se realizaron utilizando un QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Se utilizó gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control endógeno para la normalización. Las reacciones cuantitativas en cadena fueron realizadas usando cebadores que abarcan secuencias intrónicas (mencionadas en la **tabla 1**). El factor multiplicador de inducción se cuantificó utilizando el método 2- $\Delta\Delta$ CT.

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

Para analizar las citoquinas en las muestras sanguíneas, se recolectó sangre entera en tubos de EDTA y se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm y el sobrenadante se recogió como plasma. Todos los pasos se realizaron en rangos de temperatura entre 2 y 8 °C. Los niveles de IgE canina, IL-4 e IL-31 se midieron usando kits ELISA (Cat. No. CI0014 and CI0041 for IL-4 e IL31, respectivamente; Neobiolab, Cambridge, MA, USA; Cat. No. Ab157700 para IgE; Abcam, Cambridge, UK), de acuerdo con los protocolos del fabricante.

Tabla 1. Primers caninos usados para cuantificar la PCR real-time.

Símbolo del gen	Secuencia de Primers (desde 5' hasta 3')	Longitud	ID Banco de genes
CCL17	F: GCCATCGTGTGGTTGTA R: CTCCCTCCAGGTTCTTTGT	103	XM_038657714.1
IL-4	F: TCACCAGCACCTTTGTCCACGG R: TGCACGAGTCGTTTCTCGCTGT	96	AF187322.1
IL-13	F: TGCAGCAGCTCTAGAATCTCTG R: CAGCATCCTCTGGGTCCTT	69	NM_001003384.1
IL-31	F: CCTGTTCCCTGCTCTGCTCTA R: TGAGACACAGCAGCAAGGTA	188	NM_001165914.1
COX-2	F: AAGCTTCGATTGACCAGAGCAG R: TCACCATAAAGGGCCTCCAAC	145	NM_001003354.1
PTGES	F: GTCCTGGCGCTGGTGAGT R: ATGACAGCCACCACGTACATCT	89	NM_001122854.1
Filaggrin	F: GATGACCCAGACACTGCTGA R: TGGTTTTGCTCTGATGCTTG	158	XM_038423227.1
GAPDH	F: TTAAGTCTGGCAAAGTGGATATTGT R: GAATCATACTGGAACATGTACACCA	85	XM_038448970.1



Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.). Se utilizó la media \pm desviación estándar (DE) para representar los datos en todos los gráficos. Para el análisis de tejidos, se realizaron al menos tres experimentos independientes por triplicado. Para el análisis de plasma, se tomó una muestra de sangre de la vena cefálica de dos animales por grupo, y todas las pruebas se realizaron técnicamente por triplicado. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba t de Student. La significación estadística se fijó en un valor de p inferior a 0,05.

Resultados

Perros sensibilizados a la ovoalbúmina con síntomas clínicos similares a las reacciones típicas de la DAC

Los síntomas clínicos de la atopia en perros incluyen eritema, edema y escoriaciones cutáneas. Examinamos visualmente las manifestaciones clínicas típicas de la atopia, incluyendo eritema, edema y escoriaciones en el grupo tratado con ovoalbúmina. Los síntomas se evaluaron y calificaron usando el criterio DDISS. Comparando con el grupo control, el grupo tratado con ovoalbúmina exhibió puntuaciones más altas, observándose un aumento notable en grupo T1 comparado con el grupo T2. Además, la

Los síntomas clínicos de la atopia en perros incluyen eritema, edema y excoriaciones cutáneas. Examinamos visualmente las manifestaciones clínicas típicas de la atopia, incluidos eritema, edema y excoriaciones, en el grupo tratado con ovoalbúmina. Los síntomas se evaluaron y calificaron utilizando los criterios DDISS. En comparación con los del grupo VC, el grupo tratado con ovoalbúmina exhibió puntuaciones más altas, observándose un aumento notable en el grupo T1 en comparación con el grupo T2. Por otra parte, la puntuación de gravedad de la dermatitis en el grupo T1 (**Figuras 1A, B**).

Histopatología de perros sensibilizados a ovoalbúmina similar a la DAC típica

Histopatológicamente, la DAC se caracteriza por una epidermis engrosada como resultado de una mayor proliferación de queratinocitos, junto con la infiltración de células inflamatorias, incluidos linfocitos y eosinófilos. En nuestro estudio, observamos una infiltración comparable de células inmunes, incluidos linfocitos, eosinófilos y neutrófilos, en el grupo tratado con ovoalbúmina (**Figuras 2A, C**).

Además, observamos infiltración de células inflamatorias y anomalías estructurales que incluyen inflamación dérmica linfocítica (inflamación perivascular) con epiteliotropismo focal en la capa dérmica del estrato córneo del grupo tratado con ovoalbúmina (**Figuras 2A, B**). El examen histológico mediante hematoxilina y eosina y tinción con tricrómico de Masson reveló un aumento notable y estadísticamente significativo en el espesor de la epidermis en el grupo tratado con ovoalbúmina en comparación con el grupo control (**Figura 2C**). Estos hallazgos indican que las características histopatológicas de la DA inducida por ovoalbúmina reflejan fielmente las observadas comúnmente en pacientes con DA.

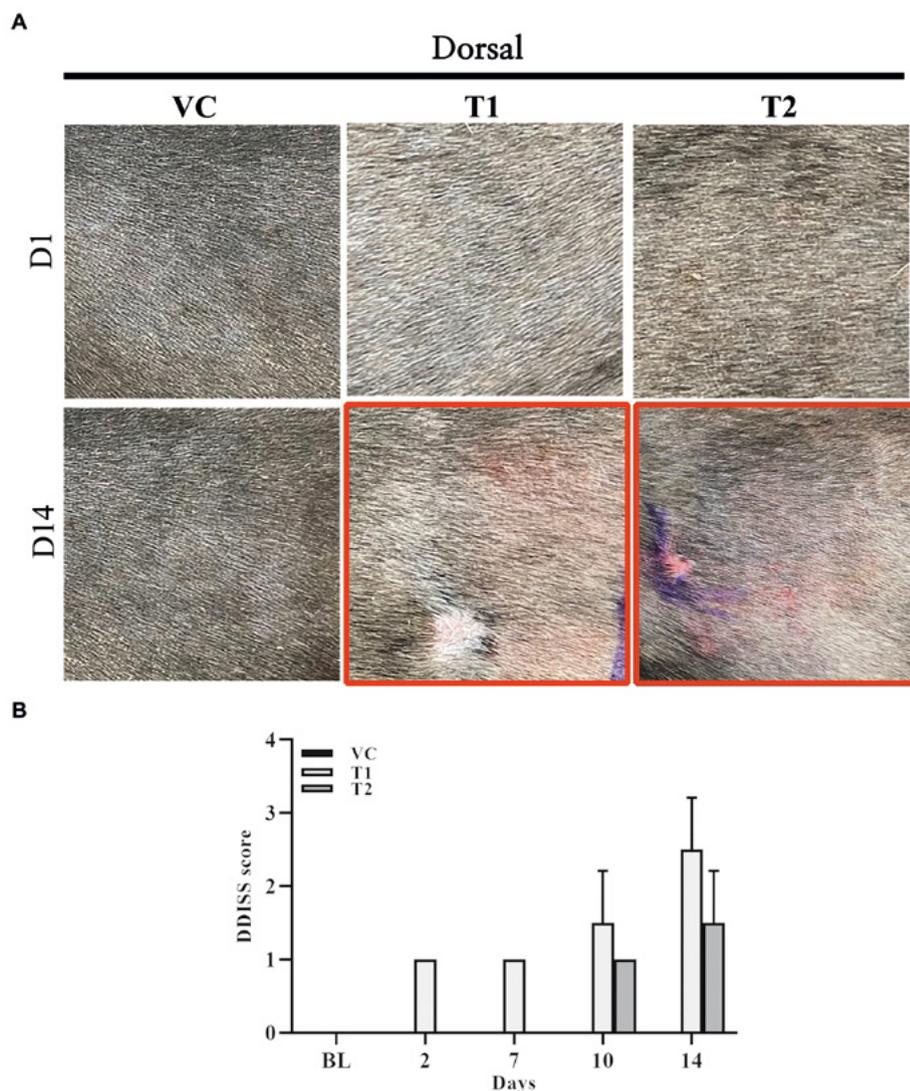


Figura 1. Cambios macroscópicos durante la estimulación con ovoalbúmina. (A) Imagen macroscópica adquirida el día 1 (fila superior) y 14 (fila inferior) (observación macroscópica) durante la estimulación con ovoalbúmina en todos los grupos (GC, T1 y T2). (B) Nivel de irritación de la piel puntuado utilizando el sistema de puntuación de irritación dérmica Draize (DDISS) en la estimulación con ovoalbúmina. El grupo tratado con ovoalbúmina exhibió síntomas clínicos más pronunciados de formación de eritema en comparación con el grupo de control (GC). Las puntuaciones fueron más altas en el grupo T1 (1 mg/mL) en comparación con el grupo T2 (5 mg/mL). Los valores representan la media \pm DE. GC, grupo control; T1, grupo de tratamiento 1 (tratamiento con ovoalbúmina de baja concentración); T2, grupo de tratamiento 2 (tratamiento con ovoalbúmina de alta concentración) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$.



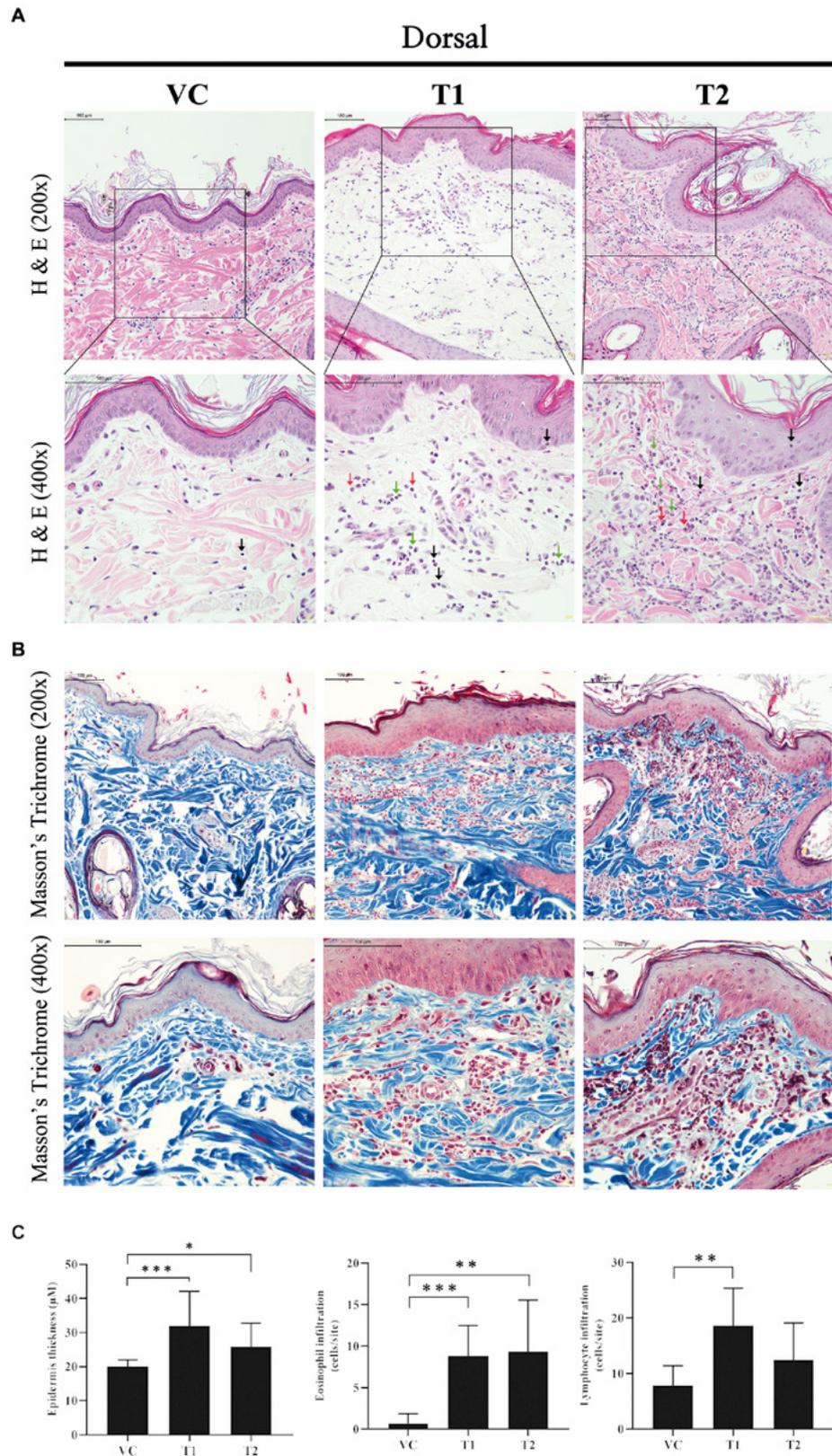


Figura 2. Cambios en la histopatología tras la estimulación con ovoalbúmina. (A) Imagen que muestra el análisis histopatológico de la tinción con hematoxilina y eosina en tejidos cutáneos. Las filas superiores son 200x y la inferior 400x. Barra de escala = 100 µm. Flecha negra: Linfocito; Flecha verde: Neutrófilo; Flecha roja: Eosinófilo. Estrella amarilla y flecha: anomalías estructurales de la inflamación dérmica linfocítica (inflamación perivascular) con epiteliotropismo focal. (B) Imagen que muestra el análisis histopatológico de la tinción con tricrómico de Masson en tejidos cutáneos. Las filas superiores son 200x y la inferior 400x. Barra de escala = 100 µm. (C) Grosor epidérmico y número de células inmunitarias infiltrantes (eosinófilos, linfocitos). Los valores representan la media ± DE. GC, grupo; T1, grupo de tratamiento 1 (tratamiento con ovoalbúmina de baja concentración); T2, grupo de tratamiento 2 (tratamiento con ovoalbúmina de alta concentración) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$.

Los perros sensibilizados a la ovoalbúmina desregulan la filagrina pero sobregulan la expresión de COX-2 y aumenta la producción de prostaglandina (PGE) de forma similar a la típica DAC

En nuestro modelo de DAC, examinamos la expresión de factores clave implicados en la barrera cutánea llamados filagrina y COX-2. Nuestro análisis de mRNA de la piel expuesta a ovoalbúmina reveló un descenso significativo, dosis dependiente, en la expresión de los niveles de filagrina en el grupo tratado con ovoalbúmina comparado con el grupo control (**Figura 3A**).

Además, el tratamiento con ovoalbúmina indujo un incremento significativo en la expresión COX-2 y un incremento asociado en la producción de PGE2.

Estos hallazgos indican que la ovoalbúmina causa en la barrera cutánea un daño e inflamación de forma similar a la DAC de una forma concentración-dependiente (**Figuras 3 B,C**).

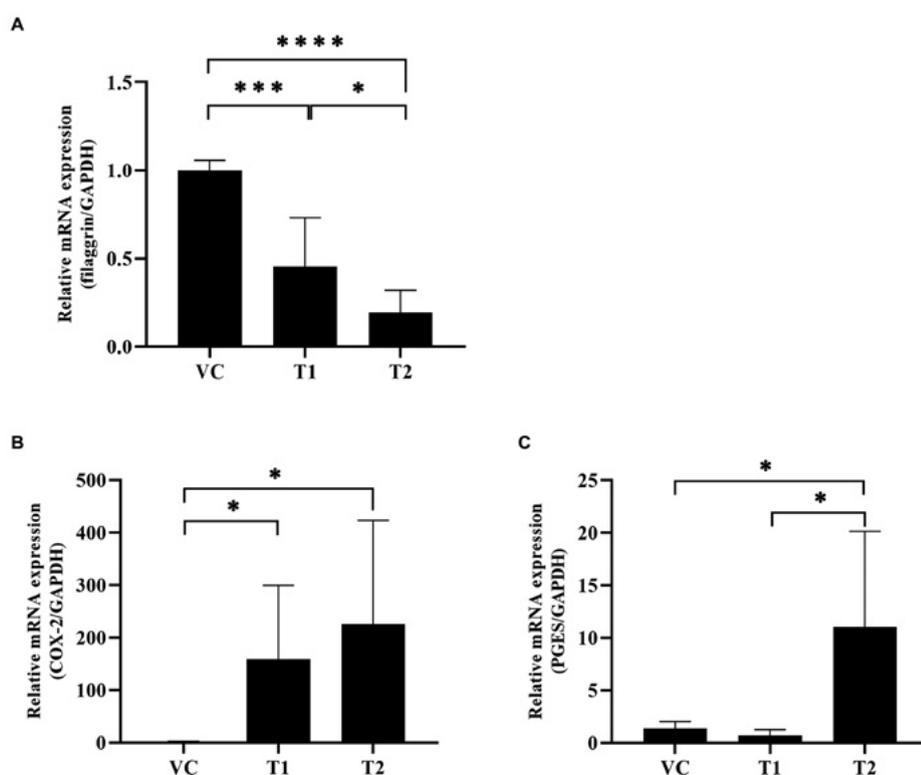


Figura 3. Cambios en los niveles de expresión de ARNm de los factores relacionados con la inflamación y de las proteínas de la barrera cutánea tras la estimulación con ovoalbúmina. Los niveles de ARNm de citoquinas relacionadas con la inflamación temprana se cuantificaron mediante PCR- transcripción inversa. (A) El nivel de expresión del ARNm de la filagrina disminuyó significativamente tras la estimulación con ovoalbúmina. (B) El nivel de expresión del ARNm de la COX-2 aumentó significativamente tras la estimulación con ovoalbúmina. (C) El nivel de expresión del ARNm de PGES aumentó significativamente tras la estimulación con ovoalbúmina en el grupo T2, no en el grupo T1. Todos los valores representan la media \pm DE. GC, grupo control; T1, grupo de tratamiento 1 (tratamiento con ovoalbúmina de baja concentración); T2, grupo de tratamiento 2 (tratamiento con ovoalbúmina de alta concentración) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$; **** $p < 0,001$. GC: grupo control; PGES: prostaglandinas.





Los perros sensibilizados a ovoalbúmina desarrollan una respuesta Th-2 dominante similar a la DAC típica

CCL17, comúnmente conocida como quimiocina regulada y activada del timo (TARC), es una quimioquina importante expresada en pacientes con DA. CCL17 estimula la migración de las células CCL4+Th2 al sitio de exposición a alérgenos (22). En la DAC, la sobrerregulación de la expresión de citoquinas relacionadas con las células Th2 se observa no solo en la piel, sino también en las células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) y muestras de plasma. Por el contrario, IgE genera anticuerpos alérgenos específicos que se unen a los mastocitos y desencadenan la liberación de moléculas inflamatorias.

En consecuencia, identificamos dos factores que desempeñan una función en la etapa inicial de la respuesta a la DA. Nuestros hallazgos demostraron una importante sobrerregulación de la expresión de quimioquinas CCL17 a nivel de ARNm en el grupo tratado con ovoalbúmina en comparación con el grupo control. Además, evaluamos los niveles de IgE para confirmar la producción de anticuerpos IgE totales séricos en la DA inducida por ovoalbúmina. Curiosamente, tanto la expresión de CCL17 como los niveles de IgE fueron más altos en el grupo de dosis baja que en el grupo de dosis alta (**Figura 4A**). Además, analizamos las citoquinas secretadas por las células T atraídas al sitio del tratamiento con ovoalbúmina. Este análisis se realizó utilizando muestras de piel y plasma, que confirmaron la presencia de células Th2 reclutadas en la piel. También observamos la secreción predominante de citoquinas asociadas con células Th2, incluyendo IL-4, IL-13 e IL-31, en la piel. Los niveles de ARNm de estas citoquinas mostraron un aumento significativo en el grupo tratado con ovoalbúmina en comparación con el grupo control (**Figura 4B**). No se detectó expresión Th1 en el grupo tratado con ovoalbúmina. Además, se observó una elevación significativa en los niveles de IL-4 e IL-31 en muestras plasmáticas del grupo tratado con OVA. Esta observación fue más pronunciada en el grupo de dosis baja que en el grupo de dosis alta (**figura 4C**).

Discusión

En este estudio, se buscó establecer un modelo de DAC de respuesta dominante Th2 utilizando ovoalbúmina en perros beagle sanos sin antecedentes de predisposición genética para desarrollar DAC. En las etapas de sensibilización e inducción, utilizando Tegaderm, la ovoalbúmina se aplicó diariamente a los perros sin bañar. Los síntomas clínicos de la atopia se analizaron dos veces a la semana mediante puntuación visual. Posteriormente, se realizaron análisis histológicos e inmunológicos después del período de aplicación de la ovoalbúmina para evaluar el modelo DA utilizando piel expuesta a la ovoalbúmina.

La dermatitis atópica es una afección cutánea común, inflamatoria que afecta a seres humanos y perros a nivel mundial (23, 24). El tratamiento para la dermatitis atópica humana y la DAC tiene como objetivo aliviar síntomas como el prurito y la inflamación a través de diversas intervenciones farmacológicas. Sin embargo, la eficacia no

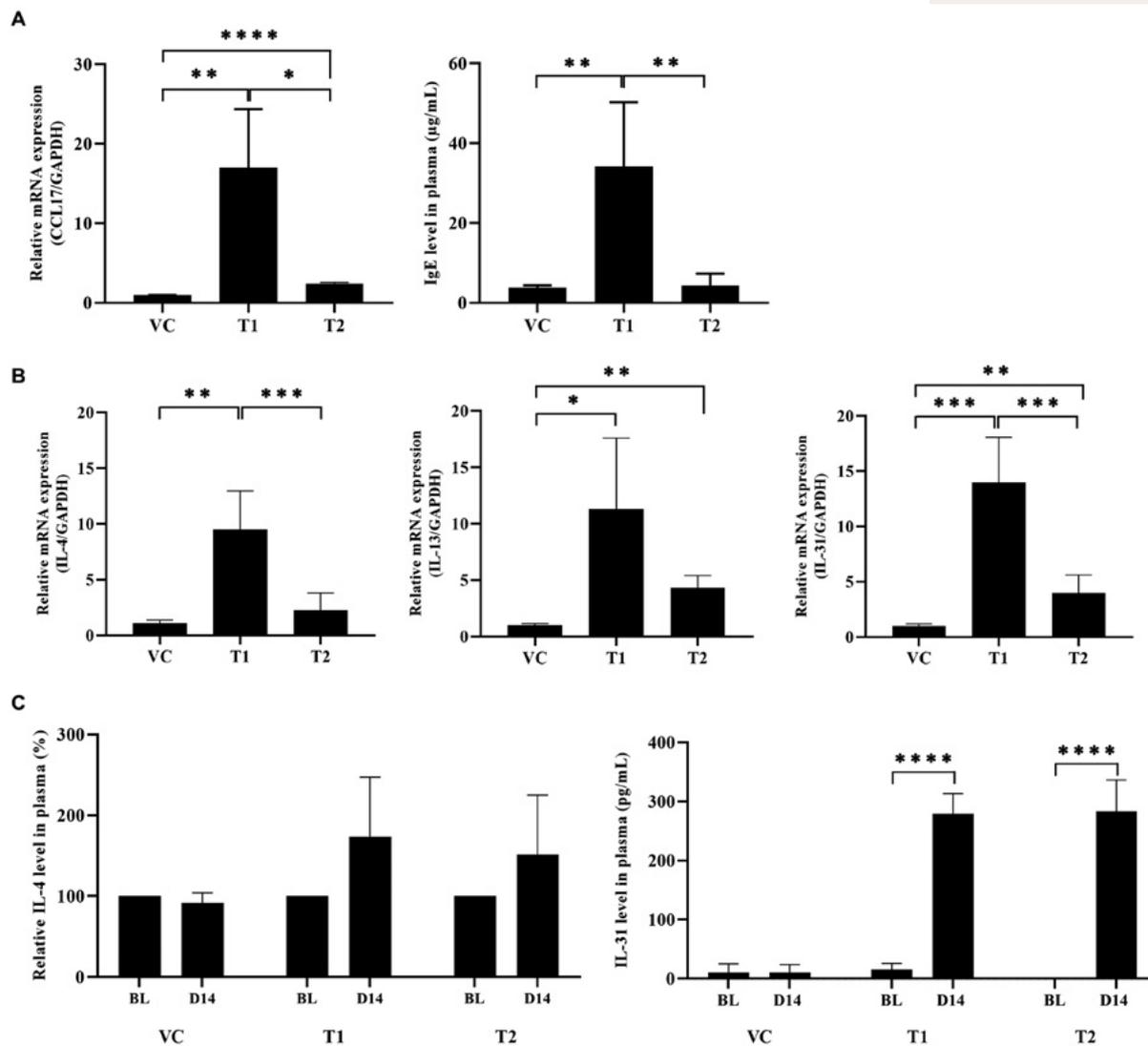


Figure 4. La ovoalbúmina induce una respuesta Th2 dominante similar a la DAC típica en perros sensibilizados a la ovoalbúmina. (A) Los niveles de proteína IgE total y ARNm de CCL17 aumentaron en el grupo tratado con ovoalbúmina en comparación con el grupo control. (B) Los niveles de expresión de ARNm de citocinas relacionadas con Th2 en muestras de piel de DAC inducida por ovoalbúmina se midieron mediante qRT-PCR. (C) Los niveles de expresión proteica de las citocinas relacionadas con Th2 en muestras de plasma obtenidas de individuos con DA se evaluaron mediante ELISA. Todos los valores representan la media \pm DE. GC, grupo control; T1, grupo de tratamiento 1 (tratamiento con ovoalbúmina de baja concentración); T2, grupo de tratamiento 2 (tratamiento con ovoalbúmina de alta concentración) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$; **** $p < 0,001$. GC, grupo control.

ha sido muy estudiada en perros, por lo tanto, se necesita investigación específica adicional y tener un modelo fiable de DAC para fines de investigación.

En la mayoría de perros con DAC se ha observado un incremento de los niveles circulantes de IgE contra alérgenos ambientales. Por lo tanto, es una práctica común detectar niveles de IgE específicos para alérgenos comunes en la mayoría de los perros diagnosticados con DA. El método principal utilizado para inducir síntomas similares a la DA en perros con fines de investigación es la aplicación de HDMs (20, 25). En algunos estudios se ha examinado a los perros para detectar IgE alta antes de inducir DA (19, 25). En otros se utilizaron perros beagle sanos sin predisposición genética a niveles elevados de IgE; sin embargo, la evaluación se basó en IgE como



único índice de evaluación. Las quimiocinas como CCL17, que están elevadas en la DA alérgica, facilitan el reclutamiento de células Th2 en los sitios de inflamación, y la citoquina Th2 (IL4) estimula la síntesis de IgE (26). En consecuencia, dado que los niveles de IgE en la dermatitis atópica se correlacionan con una respuesta inmune Th2, es importante examinar las quimioquinas o citoquinas que se regulan junto con los niveles de IgE.

Por lo tanto, el establecimiento de modelos estandarizados de atopia inducida por HDM para fines de investigación es un desafío. Los niveles incrementados de IgE sirven como marcadores de alérgenos en el DA, pero, aunque, un nivel elevado de IgE es un indicador importante no se puede confiar únicamente para el diagnóstico definitivo de DA (1). Tanto en ratones como en minicerdos, los síntomas similares a la DA pueden inducirse a través de la aplicación dérmica de ovoalbúmina (27-29). En modelos de ratones con DA inducidos por ovoalbúmina, la inducción de atopia a través de la sensibilización percutánea compromete la función de barrera cutánea, permitiendo que los alérgenos penetren en la piel. Posteriormente, la sensibilización transdérmica repetida desencadena una respuesta Th2, lo que resulta en la manifestación de síntomas cutáneos. En consecuencia, hemos establecido un modelo de DAC utilizando la ovoalbúmina como sensibilizador transdérmico.

Por otra parte, nuestros hallazgos sugieren que valores elevados de IgE acompañados de quimioquina CCL17 y respuesta dominante Th2, juegan un papel significativo en la exacerbación de la DA inducida por ovoalbúmina.

La dermatitis atópica en perros se acompaña de eritema macular, erupción cutánea y prurito (30, 31). Cualquier compromiso en la función de barrera cutánea contribuye a una progresión acelerada de la DA. Cuando la piel encuentra alérgenos, hay un aumento de mediadores inflamatorios como las PGEs y COX-2. En cuanto al desequilibrio Th1/Th2, la aplicación tópica, in vitro, de PgE_2 suprime la producción de citoquina IL-12, que es esencial para liberar IFN γ , una citoquina Th1 (32). La inhibición de la IL-12 promueve una respuesta inmune Th2 (33), lo que conduce a un rápido desarrollo de irritación cutánea (34). Curiosamente, investigaciones previas demostraron que la inhibición selectiva de la expresión de COX-2 en un modelo de atopia alérgica en ratones favoreció una respuesta Th2, exacerbando los síntomas de DA (15). En nuestro estudio, el grupo con baja exposición a la ovoalbúmina (grupo T1) mostró disminución de la expresión de COX-2 y PgE en comparación con el grupo con mayor exposición (grupo T2). Esto sugiere que reducir la exposición a ovoalbúmina puede llevar a una disminución de los mecanismos reguladores COX-2/PgE aumentando las expresiones específicas de citoquinas Th2.

Por consiguiente, proponemos que las concentraciones óptimas para inducir un modelo de DAC con dominancia Th2, es 1 mg/ml. Sin embargo, esta hipótesis requiere ser verificada en futuros estudios con mayor número de perros.

La DA puede asociarse a una deficiencia de filagrina, una proteína clave implicada en la formación de las capas más externas de la piel (estrato corneo) en algunos individuos. La respuesta inmunita-

ria polarizada Th2 inducida por la DA aguda conduce a una disminución secundaria de la filaggrina. Por lo tanto, la disminución de la filaggrina puede exacerbar la enfermedad inflamatoria dérmica y debe confirmarse en asociación con la citoquina Th2 en la DA (35-37). Nuestros hallazgos demostraron que el patrón de cambio en los niveles de expresión de la filaggrina fue similar al observado en estudios previos (38, 39) En el grupo tratado con ovoalbúmina, se observó una disminución, dependiente de la concentración, en los niveles de expresión del ARNm de filaggrina. Esto indica que la aplicación de ovoalbúmina perjudica la función de barrera cutánea de forma similar a los efectos observados en pacientes con atopia.

Durante las fases iniciales de la penetración de los alérgenos causada por deficiencias en la barrera cutánea, la quimioquina CCL17 es liberada por células cutáneas como los queratinocitos, células dendríticas y las células endoteliales. Posteriormente, CCL17 se expresa por células CCR4+-Th2 en las últimas etapas de la penetración de alérgenos. En un estudio realizado por Kakinuma et al., los individuos con DA presentaron niveles séricos elevados de CCL17 en comparación con los pacientes con psoriasis. Este hallazgo destaca el papel significativo de CCL17, una quimioquina esencial en la progresión y desarrollo de DA (40). En nuestro estudio, observamos un sustancial incremento en los niveles de expresión de ARNm de CCL17 en el grupo de DA inducida por ovoalbúmina en comparación con el grupo control. Curiosamente, este incremento fue particular en el grupo en el que se utilizaron dosis bajas. Esto sugiere que los niveles de CCL17 incrementados por ovoalbúmina conducen a una respuesta inmune dominante Th2 en la fase aguda y que 1 mg/ml era una concentración apropiada para inducir una respuesta inmune dominante Th2.

Los hallazgos histopatológicos de nuestro estudio muestran la infiltración por células inmunitarias (linfocitos, eosinófilos y neutrófilos) en todos los grupos analizados. Especialmente se observó un incremento significativo en el número de infiltrados de eosinófilos y de linfocitos en el grupo tratado con ovoalbúmina (**Figura 2B**). La infiltración de células inflamatorias en las lesiones cutáneas por DA se caracteriza típicamente por la presencia de varias subpoblaciones de células T y células linfoides innatas tipo 2 (41). Nakatani et al. reportaron una elevada incidencia de infiltración de células CCR4+-CD4+-T en pacientes con DA crónica en comparación con los pacientes con psoriasis (42). Adicionalmente, Murra et al. publicaron que la administración de un antagonista de CCR4 en un modelo de DAC produjo la supresión efectiva de los síntomas clínicos asociados con DAC (43).

Nuestra investigación reveló una consistente correlación entre el aumento de la infiltración de eosinófilos y la inflamación cutánea linfocítica (inflamación perivascular) de células inmunes en la DA inducida por la ovoalbúmina, niveles elevados de expresión del ARNm CCL17 y una mayor presencia de citoquinas Th2 de respuesta dominante.

La DA se caracteriza principalmente por el predominio de la respuesta inmune Th2, lo que lleva a la sobrerregulación de las citoquinas, como IL-4, IL-5 e IL-13 (44-46). La aplicación tópica de ovoalbú-



Establecimiento de un modelo experimental de dermatitis atópica inducida por ovoalbúmina en caninos

Discusión



mina en modelos de ratón da como resultado la sobrerregulación de las quimioquinas relacionadas con Th2, como CCL17 y CCL22, promoviendo la infiltración de células Th2 e intensificando la respuesta inflamatoria alérgica (47). La evaluación de los tejidos plasmáticos y cutáneos del grupo tratado con ovoalbúmina reveló una elevación significativa en los niveles de proteína IL-4 y de ARNm, así como en los niveles de ARNm IL-13. Curiosamente, nuestros hallazgos revelaron que los niveles de expresión eran notablemente altos en el grupo de dosis bajas.

La citoquina inflamatoria IL-31 es producida por la célula Th2 y participa directamente en la activación de las neuronas sensoriales y en la activación del prurito cutáneo (48, 49). En los individuos con DA, hubo un aumento notable en los niveles de IL-31 en comparación con los individuos sanos. Además, la inyección de IL-31 en perros indujo prurito (50). Nuestros hallazgos revelaron un aumento sustancial en los niveles de expresión de la proteína IL-31 y el ARNm en el grupo tratado con ovoalbúmina. Por lo tanto, determinamos la concentración óptima de ovoalbúmina necesaria para inducir la atopia. También observamos que los síntomas de la DA inducida con la concentración óptima de ovoalbúmina se parecían mucho a los síntomas clínicos observados en pacientes con DA, y este hallazgo valida la relevancia e importancia de nuestro modelo para realizar estudios sobre DA.

Este estudio tiene tres limitaciones principales. La primera limitación es que todos los grupos comprenden dos perros, lo que puede introducir un sesgo que podría afectar el análisis estadístico. Sin embargo, esta limitación se resolvió con cuatro biopsias de la región dorsal tratada con ovalbumina tomadas de cada perro y estimadas con al menos tres réplicas del análisis. En segundo lugar, CADESI-04, una escala de evaluación clínica para atopia canina, no era aplicable a nuestro estudio. Nuestro modelo de DAC, con ovoalbúmina aplicada localmente a la espalda en lugar de DA sensibilizada sistémicamente, es un modelo para estudios en los que se observa una respuesta inmune Th2-dominante en la espalda con manifestaciones clínicas similares a la dermatitis atópica. Sin embargo, el dorso no es un sitio común de dermatitis atópica y, por lo tanto, no se incluye en la métrica CADESI-04. Necesitábamos una métrica para evaluar los síntomas clínicos y aplicamos el DDISS, que utilizamos en nuestro estudio previo del modelo de DA en minicerdos (29). La gráfica que presentamos puntúa las manifestaciones clínicas atópicas de eritema y edema. En nuestro estudio, la formación de escaras se calificó como 0 para todos los animales. En el futuro, aplicaremos indicadores que puedan reflejar las manifestaciones clínicas de la dermatitis atópica (eritema, edema, excoriación, alopecia) como una puntuación de respuesta cutánea modificada o una puntuación CADESI modificada, donde se evalúa el tipo de lesión y la gravedad de la piel relevantes para este modelo. Una tercera limitación es que el prurito, en este modelo, se basó en la observación visual casual por parte del veterinario. Aunque hay escalas disponibles para determinar el prurito clínico, están diseñadas para dueños de perros (51). El prurito es un síntoma esporádico y no pudimos controlarlo en nuestro estudio. Por lo tanto, las escalas de prurito deberían desarrollarse más para futuros investigadores.

Cuando la piel canina fue tratada con una concentración óptima de ovoalbúmina, observamos cambios clínicos, histopatológicos y no clínicos que se parecían a los observados de manera natural en la DAC. Además, observamos una respuesta inmune mejorada relacionada con Th2. En resumen, establecimos un modelo animal que puede usarse para la investigación básica de la respuesta dominante Th2 en el ámbito de la DAC, lo que proporciona un medio para una evaluación precisa de la seguridad de nuevos fármacos para el tratamiento de la DAC.

Otra información

Declaración de disponibilidad de datos

Las contribuciones originales presentadas en el estudio se incluyen en el artículo/material complementario; más consultas pueden dirigirse al autor correspondiente.

Declaración de Ética

El estudio con animales fue revisado y aprobado. Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con las pautas del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Huvet (número de aprobación IACUC: HV 2022-011).

Contribuciones de autor

H-YS: Análisis formal, Metodología, Visualización, Escritura – borrador original, Escritura – revisión y edición. HJ: Metodología, Investigación. H-JT: Metodología, Validación, Redacción – revisión y edición. H-GO: Supervisión, Redacción – borrador original. JH: Conceptualización, Adquisición de financiación, Supervisión, Recursos, Redacción – revisión y edición.

Fondos

El autor(es) declara haber recibido apoyo financiero para la investigación, autoría y/o publicación de este artículo. Este trabajo fue apoyado por la subvención del Consejo Nacional de Investigación de Ciencia y Tecnología (NST) del gobierno de Corea (MSIT) (número de subvención: CRC21022).

Conflicto de intereses

H-GO fue empleado por la División de I+D de HUVET Co., Ltd.

El resto de autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de relaciones comerciales o financieras que pudieran interpretarse como un potencial conflicto de intereses.

Nota del editor

Todas las afirmaciones expresadas en este artículo son exclusivas de los autores y no necesariamente representan las de sus organizaciones afiliadas, ni las del editor, los redactores y los revisores. El editor no garantiza ni respalda ningún producto que pueda evaluarse en este artículo, ni ninguna afirmación que pueda hacer su fabricante.





Referencias

1. Hensel, P , Santoro, D , Favrot, C , Hill, P , and Griffin, C . Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* (2015) 11:196. doi: 10. 1186/s12917-015-0515-5
2. Murrison, LB , Brandt, EB , Myers, JB , and Hershey, GKK . Environmental exposures and mechanisms in allergy and asthma development. *J Clin Invest.* (2019) 129:1504–15. doi: 10. 1172/JCI124612
3. Ruzicka, T , Hanifin, JM , Furue, M , Pulka, G , Mlynarczyk, I , Wollenberg, A, et al. Anti-Interleukin-31 receptor antibody for atopic dermatitis. *N Engl J Med.* (2017) 376:826–35. doi: 10. 1056/NEJMoa1606490
4. Arcique, MA , and Bajwa, J . Atopic dermatitis in humans and dogs. *Can Vet J.* (2020) 61:82–4.
5. Beck, LA , Thaci, D , Hamilton, JD , Graham, NM , Bieber, T , Rocklin, R, et al. Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. *N Engl J Med.* (2014) 371:130–9. doi: 10. 1056/NEJMoa1314768
6. Guttman-Yassky, E , Bissonnette, R , Ungar, B , Suarez-Farinas, M , Ardeleanu, M , Esaki, H, et al. Dupilumab progressively improves systemic and cutaneous abnormalities in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* (2019) 143:155–72. doi: 10. 1016/j. jaci. 2018. 08. 022
7. Pearson, J , Leon, R , Starr, H , Kim, SJ , Fogle, JE , and Banovic, F . Establishment of an intradermal canine IL-31-induced pruritus model to evaluate therapeutic candidates in atopic dermatitis. *Vet Sci.* (2023) 10:329. doi: 10. 3390/vetsci10050329
8. Fleck, TJ , Norris, LR , Mahabir, S , Walters, RR , Martinon, O , Dunham, SA, et al. Onset and duration of action of lokivetmab in a canine model of IL-31 induced pruritus. *Vet Dermatol.* (2021) 32:681–e182. doi: 10. 1111/vde. 12943
9. Bruet, V , Mosca, M , Briand, A , Bourdeau, P , Pin, D , Cochet-Faivre, N, et al. Clinical guidelines for the use of antipruritic drugs in the control of the Most frequent pruritic skin diseases in dogs. *Vet Sci.* (2022) 9:149. doi: 10. 3390/vetsci9040149
10. Nuttall, T , Reece, D , and Roberts, E . Life-long diseases need life-long treatment: long-term safety of ciclosporin in canine atopic dermatitis. *Vet Rec.* (2014) 174:3–12. doi: 10. 1136/vr. 102471
11. Nuttall, TJ , Knight, PA , McAleese, SM , Lamb, JR , and Hill, PB . T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokines in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* (2002) 87:379–84. doi: 10. 1016/S0165-2427(02)00076-4
12. Saeki, H , and Tamaki, K . Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. *J Dermatol Sci.* (2006) 43:75–84. doi: 10. 1016/j. jdermsci. 2006. 06. 002
13. Seibert, K , Masferrer, J , Zhang, Y , Gregory, S , Olson, G , Hauser, S, et al. Mediation of inflammation by cyclooxygenase-2. *Agents Actions Suppl.* (1995) 46:41–50.
14. Lee, JL , Mukhtar, H , Bickers, DR , Kopelovich, L , and Athar, M . Cyclooxygenases in the skin: pharmacological and toxicological implications. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2003) 192:294–306. doi: 10. 1016/S0041-008X(03)00301-6
15. Laouini, D , Elkhal, A , Yalcindag, A , Kawamoto, S , Oettgen, H , and Geha, RS . COX-2 inhibition enhances the TH2 immune response to epicutaneous sensitization. *J Allergy Clin Immunol.* (2005) 116:390–6. doi: 10. 1016/j. jaci. 2005. 03. 042
16. Van Brussel, L , Moyaert, H , Escalada, M , Mahabir, SP , and Stegemann, MR. A masked, randomised clinical trial evaluating the efficacy and safety of lokivetmab compared to saline control in client-owned dogs with allergic dermatitis. *Vet Dermatol.* (2021) 32:477–e131. doi: 10. 1111/vde. 12984
17. Kim, SW , and Kim, JH . Establishing an experimental model for canine atopic dermatitis through epicutaneous application of *Dermatophagoides farinae*. *Front Vet Sci.* (2022) 9:1015915. doi: 10. 3389/fvets. 2022. 1015915

18. Simpson, A , Maeda, S , and Marsella, R . Temporal dynamic changes of phenotypic expression of peripheral CD4 cells during environmental allergen challenge in an experimental model of canine atopic dermatitis: a pilot study. *J Vet Med Sci.* (2009) 71:1177–81. doi: 10. 1292/jvms. 71. 1177
19. Marsella, R , Nicklin, C , and Lopez, J . Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Vet Dermatol.* (2006) 17:306–12. doi: 10. 1111/j. 1365-3164. 2006. 00541. x
20. Pucheu-Haston, CM , Jackson, HA , Olivry, T , Dunston, SM , and Hammerberg, B . Epicutaneous sensitization with *Dermatophagoides farinae* induces generalized allergic dermatitis and elevated mite-specific immunoglobulin E levels in a canine model of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy.* (2008) 38:667–79. doi: 10. 1111/j. 1365-2222. 2008. 02949. x
21. Draize, JH . Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Ther.* (1944) 82:377–90.
22. Jang, M , Kim, H , Kim, Y , Choi, J , Jeon, J , Hwang, Y, et al. The crucial role of IL-22 and its receptor in thymus and activation regulated chemokine production and T-cell migration by house dust mite extract. *Exp Dermatol.* (2016) 25:598–603. doi: 10. 1111/exd. 12988
23. Leung, DY , and Bieber, T . Atopic dermatitis. *Lancet.* (2003) 361:151–60. doi: 10. 1016/S0140-6736(03)12193-9
24. Gedon, NKY , and Mueller, RS . Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy.* (2018) 8:41. doi: 10. 1186/s13601-018-0228-5
25. Marsella, R , Olivry, T , Nicklin, C , and Lopez, J . Pilot investigation of a model for canine atopic dermatitis: environmental house dust mite challenge of high-IgE-producing beagles, mite hypersensitive dogs with atopic dermatitis and normal dogs. *Vet Dermatol.* (2006) 17:24–35. doi: 10. 1111/j. 1365-3164. 2005. 00496. x
26. Hayashida, S , Uchi, H , Moroi, Y , and Furue, M . Decrease in circulating Th17 cells correlates with increased levels of CCL17, IgE and eosinophils in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci.* (2011) 61:180–6. doi: 10. 1016/j. jdermsci. 2010. 10. 013
27. Nakajima, S , Nomura, T , Common, J , and Kabashima, K . Insights into atopic dermatitis gained from genetically defined mouse models. *J Allergy Clin Immunol.* (2019) 143:13–25. doi: 10. 1016/j. jaci. 2018. 11. 014
28. Alosaimi, NS , Sattar Ahmad, MAA , Alkreathy, HM , Ali, AS , and Khan, LM . Pharmacological basis of the putative therapeutic effect of topical vitamin D3 on the experimental model of atopic dermatitis in mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* (2022) 26:6827–36. doi: 10. 26355/eurrev_202209_29785
29. Kim, YK , Lee, JY , Hwang, JH , and Suh, HN . A pilot study to establish an ovalbumin-induced atopic dermatitis Minipig model. *J Vet Res.* (2021) 65:307–13. doi: 10. 2478/jvetres-2021-0045
30. Olivry, T , and Baumer, W . Atopic itch in dogs: pharmacology and modeling. *Handb Exp Pharmacol.* (2015) 226:357–69. doi: 10. 1007/978-3-662-44605-8_19
31. Marsella, R , and Olivry, T . Animal models of atopic dermatitis. *Clin Dermatol.* (2003) 21:122–33. doi: 10. 1016/S0738-081X(02)00369-3
32. Kalinski, P , Hilkens, CM , Snijders, A , Snijdwint, FG , and Kapsenberg, ML . IL-12-deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E2, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells. *J Immunol.* (1997) 159:28–35. doi: 10. 4049/jimmunol. 159. 1. 28
33. Li, H , Edin, ML , Gruzdev, A , Cheng, J , Bradbury, JA , Graves, JP, et al. Regulation of T helper cell subsets by cyclooxygenases and their metabolites. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* (2013) 104-105:74–83. doi: 10. 1016/j. prostaglandins. 2012. 11. 002
34. Welss, T , Basketter, DA , and Schroder, KR . In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. *Toxicol In Vitro.* (2004) 18:231–43. doi: 10. 1016/j. tiv. 2003. 09. 009
35. Honzke, S , Wallmeyer, L , Ostrowski, A , Radbruch, M , Mundhenk, L , Schafer-Korting, M, et al. Influence of Th2 cytokines on the Cornified envelope, tight junction proteins, and ss-Defensins in Filaggrin-deficient skin equivalents. *J Invest Dermatol.* (2016) 136:631–9. doi: 10. 1016/j. jid. 2015. 11. 007





36. Howell, MD , Fairchild, HR , Kim, BE , Bin, L , Boguniewicz, M , Redzic, JS, et al. Th2 cytokines act on S100/A11 to downregulate keratinocyte differentiation. *J Invest Dermatol.* (2008) 128:2248–58. doi: 10. 1038/jid. 2008. 74
37. Combarros, D , Cadiergues, MC , and Simon, M . Update on canine filaggrin: a review. *Vet Q.* (2020) 40:162–8. doi: 10. 1080/01652176. 2020. 1758357
38. O'Regan, GM , Sandilands, A , McLean, WHI , and Irvine, AD . Filaggrin in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* (2008) 122:689–93. doi: 10. 1016/j. jaci. 2008. 08. 002
39. Santoro, D , Marsella, R , Ahrens, K , Graves, TK , and Bunick, D . Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* (2013) 24:329–36, e73, e73. doi: 10. 1111/vde. 12031
40. Kakinuma, T , Nakamura, K , Wakugawa, M , Mitsui, H , Tada, Y , Saeki, H, et al. Thymus and activation-regulated chemokine in atopic dermatitis: serum thymus and activation-regulated chemokine level is closely related with disease activity. *J Allergy Clin Immunol.* (2001) 107:535–41. doi: 10. 1067/mai. 2001. 113237
41. Kader, HA , Azeem, M , Jwayed, SA , Al-Shehhi, A , Tabassum, A , Ayoub, MA, et al. Current insights into immunology and novel therapeutics of atopic dermatitis. *Cell.* (2021) 10:1392. doi: 10. 3390/cells10061392
42. Nakatani, T , Kaburagi, Y , Shimada, Y , Inaoki, M , Takehara, K , Mukaida, N, et al. CCR4 memory CD4+ T lymphocytes are increased in peripheral blood and lesional skin from patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* (2001) 107:353–8. doi: 10. 1067/mai. 2001. 112601
43. Murray, C , Ahrens, K , Devalaraja, M , Dymond, M , Fagura, M , Hargreaves, A, et al. Use of a canine model of atopic dermatitis to investigate the efficacy of a CCR4 antagonist in allergen-induced skin inflammation in a randomized study. *J Invest Dermatol.* (2016) 136:665–71. doi: 10. 1016/j. jid. 2015. 11. 001
44. Gittler, JK , Shemer, A , Suarez-Farinas, M , Fuentes-Duculan, J , Gulewicz, KJ , Wang, CQ, et al. Progressive activation of T (H)2/T (H)22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* (2012) 130:1344–54. doi: 10. 1016/j. jaci. 2012. 07. 012
45. Tsoi, LC , Rodriguez, E , Stolzl, D , Wehkamp, U , Sun, J , Gerdes, S, et al. Progression of acute-to-chronic atopic dermatitis is associated with quantitative rather than qualitative changes in cytokine responses. *J Allergy Clin Immunol.* (2020) 145:1406–15. doi: 10. 1016/j. jaci. 2019. 11. 047
46. Langan, SM , Irvine, AD , and Weidinger, S . Atopic dermatitis. *Lancet.* (2020) 396:345–60. doi: 10. 1016/S0140-6736(20)31286-1
47. Matsuo, K , Hatanaka, S , Kimura, Y , Hara, Y , Nishiwaki, K , Quan, YS, et al. A CCR4 antagonist ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions induced by dibutyl phthalate and a hydrogel patch containing ovalbumin. *Biomed Pharmacother.* (2019) 109:1437–44. doi: 10. 1016/j. biopha. 2018. 10. 194
48. Cevikbas, F , Wang, X , Akiyama, T , Kempkes, C , Savinko, T , Antal, A, et al. A sensory neuron-expressed IL-31 receptor mediates T helper cell-dependent itch: involvement of TRPV1 and TRPA1. *J Allergy Clin Immunol.* (2014) 133:448–460. e7. doi: 10. 1016/j. jaci. 2013. 10. 048
49. Oetjen, LK , Mack, MR , Feng, J , Whelan, TM , Niu, H , Guo, CJ, et al. Sensory neurons co-opt classical immune Signaling pathways to mediate chronic itch. *Cell.* (2017) 171:217–228. e13. doi: 10. 1016/j. cell. 2017. 08. 006
50. Gonzales, AJ , Fleck, TJ , Humphrey, WR , Galvan, BA , Aleo, MM , Mahabir, SP, et al. IL-31-induced pruritus in dogs: a novel experimental model to evaluate anti-pruritic effects of canine therapeutics. *Vet Dermatol.* (2016) 27:34–e10. doi: 10. 1111/vde. 12280
51. Young, AJ , Torres, SMF , Koch, SN , Eisenschenk, MNC , and Rendahl, AK . Canine pruritus visual Analog scale: how does it capture owners' perception of their pet's itching level? *Vet Dermatol.* (2019) 30:377–e111. doi: 10. 1111/vde. 12761

POR TU EXPERIENCIA, SABES QUE TODO LO QUE COME CUENTA

El contenido de fibra del alimento puede tener impacto en la motilidad intestinal. En el caso del estreñimiento felino una dieta con una combinación de fibras específica puede favorecer al tránsito digestivo.

La dieta ROYAL CANIN® FIBRE RESPONSE húmeda incluye altos niveles de psyllium para ayudar a mantener un tránsito saludable y su contenido de humedad ayuda al manejo del estreñimiento en el gato. Es altamente digestible e incluye prebióticos, además aporta niveles adecuados de energía para mantener un peso corporal adecuado.

Para obtener más información, contacta con tu representante de Royal Canin o visita:
www.royalcanin.com/es



Palabras clave:

tomografía computerizada, perro, perforación gástrica, radiografía, neumoperitoneo a tensión

Keywords:

computed tomography, dog, gastric perforation, radiography, tension pneumoperitoneum

Caso clínico: Radiografía y tomografía computerizada de neumoperitoneo a tensión causado por perforación gástrica en un perro



El neumoperitoneo a tensión se caracteriza por una acumulación excesiva de gas en la cavidad peritoneal, lo que conduce a distrés cardiorespiratorio. Presentamos el caso de una hembra de 4 años de edad, Labrador retriever, que se presentó con severa distensión abdominal y jadeo. La radiografía reveló gran cantidad de gas libre en la cavidad peritoneal con disminución del detalle seroso. Después de la descompresión urgente, la aspiración ecoguiada de la efusión en el peritoneo confirmó que se trataba de una peritonitis séptica. La tomografía computarizada reveló una masa gástrica de aproximadamente 3,7 × 5,0 × 5,5 cm, que se sospechaba que había causado perforación gástrica. Un gran volumen de gas libre se encontraba en la cavidad peritoneal, causando compresión y centralización de los órganos abdominales. también se observó una hendidura de baja atenuación que sugería la presencia de una perforación gástrica. La laparotomía exploradora confirmó una perforación gástrica de aproximadamente 2,2 cm adyacente a la masa gástrica. Finalmente se diagnosticó que la paciente padecía un neumoperitoneo a tensión causado por perforación gástrica. La masa se resecó con un margen quirúrgico de 1-2 cm, y la citología de impronta indicó carcinoma gástrico. La paciente recibió un tratamiento agresivo con fluidos, analgésicos, antitrombóticos y terapia antibacteriana. Sin embargo, el estado del paciente siguió deteriorándose y se le practicó la eutanasia a petición del propietario. Nuestro trabajo es el primero en describir las características de imagen multimodal de un perro con neumoperitoneo a tensión secundario a una perforación gástrica causada por una neoplasia gástrica.

Introducción

El neumoperitoneo a tensión (NT) es un tipo de neumoperitoneo caracterizado por la excesiva acumulación de gas en la cavidad peritoneal, conduciendo a distrés respiratorio (1-5). La cantidad excesiva de gas en la cavidad peritoneal incrementa la presión intrabdominal desplazando el diafragma cranealmente lo que conduce a distrés respiratorio acompañado de taquipnea (1,2). El exceso de gas comprime la vena cava caudal y reduce el retorno venoso lo que, en última estancia, conduce a hipotensión y taquicardia (1,2). Por lo tanto, la descompresión urgente es necesaria para reducir la presión intraabdominal.

Para el diagnóstico rápido del NT el diagnóstico por imagen desempeña un papel fundamental. Los signos distintivos indicativos de NT en radiografía abdominal incluyen el desplazamiento craneal del diafragma, el desplazamiento medial del hígado, el amontonamiento de las vísceras en abdomen central y la presencia de neumoperitoneo masivo (2, 6). Para investigar las causas de NT, la tomografía computarizada (TC) puede ser útil. La causa más frecuente de NT, la perforación gastrointestinal (GI), se caracteriza en la TC por la discontinuidad de la pared GI en el lugar de la perforación o por hallazgos indirectos sugestivos de perforación GI.





Descripción del caso

Una hembra no esterilizada de Labrador retriever, de 4 años de edad y 21 kg de peso, se presenta a con anorexia y letargia de 20 días de duración. El examen físico revela distensión abdominal severa, fiebre (40,7°), incremento de la frecuencia cardiaca (132 lpm) y dificultad respiratoria acompañada de jadeo.

En el análisis sanguíneo se encontró leucocitosis (35.1×10^9 cels/L; rango de referencia: $6-17 \times 10^9$ cels/L) con severa neutrofilia (30.3×10^9 cels/L; rango de referencia: $3.9-8 \times 10^9$ cels/L) y monocitosis (2.3×10^9 cels/L; rango de referencia: $0.2-1.1 \times 10^9$ cels/L). La bioquímica plasmática reveló niveles incrementados de ALP (825 U/L; rango de referencia: 29-155 U/L), amilasa (1768 U/L; rango de referencia: 388-1,007 U/L), lactato (4.9 mg/dL; rango de referencia: 0.5-2.5 mg/dL), proteína C-reactiva (59.9 mg/L; rango de referencia: 0-20 mg/L), and D-dimero (2.0 mg/dL; rango de referencia: 0-0.3 mg/dL). Los niveles de glucosa sérica se encontraban dentro del rango de referencia (77 mg/dL; rango de referencia: 67-147 mg/dL).

En la radiografía abdominal (Titan 2000, Comed Medical Systems Co., Ltd., Seoul, Korea; 82 k Vp, 10.2 mAs, 320 mA) se observa una gran cantidad de gas libre en el espacio peritoneal (**Figura 1A, C**) con una marcada distensión abdominal y desplazamiento craneal del diafragma. Se observó gas peritoneal contorneando la pared externa del intestino delgado. Además, se identificó una franja radiopaca de aproximadamente 7 mm de grosor y 25 cm de longitud en el abdomen medio, sugestiva de un ligamento o reflejo peritoneal. El detalle general de la serosa abdominal se encontraba disminuido. Los hallazgos radiográficos indicaban que el jadeo y el distrés respiratorio estaban causados por un neumoperitoneo masivo. Se realizó una descompresión de urgencia con aguja y la toma de muestras de la efusión peritoneal, sin embargo, a pesar de la mejoría en el patrón respiratorio y la reducción de la distensión abdominal, persistió una gran cantidad de gas libre. En el análisis del fluido peritoneal, se observó una elevación significativa de las células de la serie blanca ($> 17 \times 10^9$ cels/L; rango de referencia: $< 7 \times 10^9$ cels/L) y de las proteínas totales y la concentración de glucosa fue de 28 mg/dL.

La tomografía computerizada (TC) fue realizada usando un TC de 164 cortes (Brivo CT 385; GE Medical Systems, Milwaukee, WI, United States, 120 KVp, 110 mAs, 1.25 mm de grosor de corte) con el perro bajo anestesia general y posicionado en recumbencia ventral. Se utilizó una jeringa de inyector de potencia TC (CT Power Injector; GE, Medical Systems, Milwaukee, WI, United States) para administrar 600 mg de yodo/kg de iohexol (Omnihexol 300; Korea United Pharmaceutical, Seoul, Korea). En las imágenes poscontraste se observó una masas gástrica con realce homogéneo, que media aproximadamente 3.7x5.0x5.5 cm y que se extendía desde el cardias hasta el fundus del estómago (**Figura 2**). Entre el omento y la masa gástrica se observaban pequeñas burbujas de gas (**Figura 2 A,B**). Una cantidad sustancial de gas libre se encontraba en la cavidad peritoneal (**Figura 2**) causando compresión y centralización de los órganos abdominales (**Figura 3, A-C**). Se observó derrame peritoneal difuso y acumulación de grasa en toda la cavidad peritoneal, particularmen-

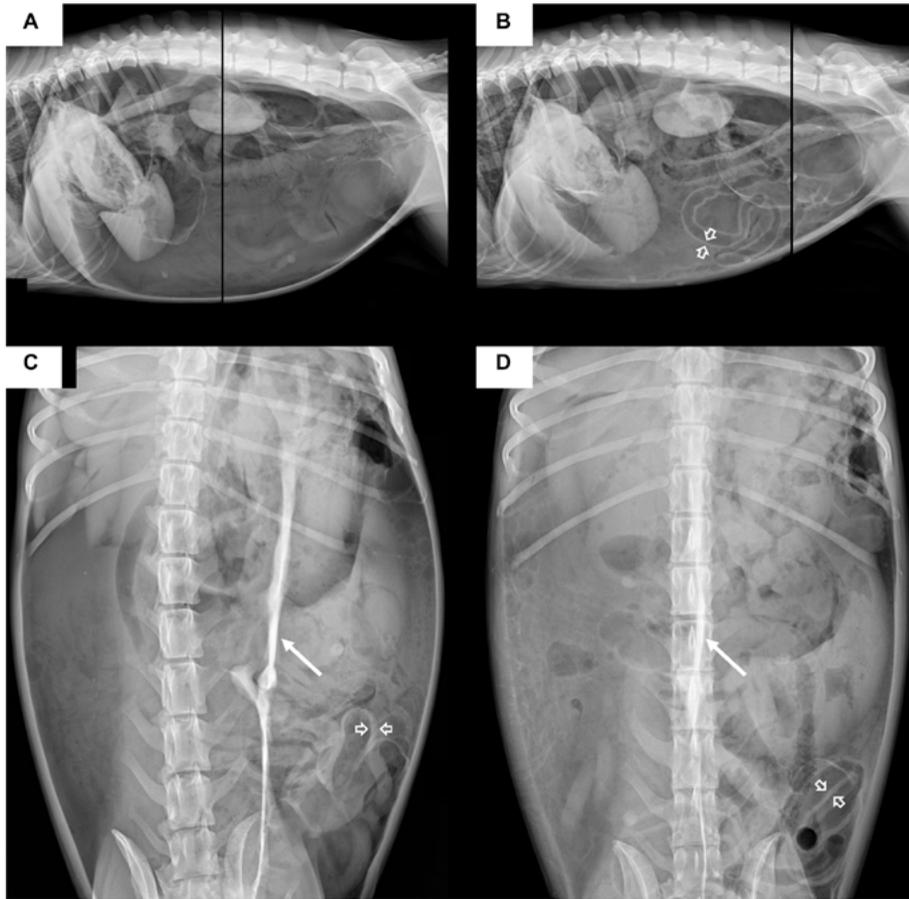


Figura 1: Proyecciones radiográficas abdominales laterales (A,B) y ventrodorsales (C,D) del perro. Las imágenes de la izquierda (A,C) se obtuvieron antes de la descompresión, y las de la derecha (B,D) se obtuvieron inmediatamente después de la descompresión. Antes de la descompresión, el neumoperitoneo se caracteriza porque se observa el contorno de la cavidad peritoneal rodeando una cantidad enorme de gas y el contorno de ambos lados de la pared del intestino delgado con gas peritoneal (flecha abierta); también se observa una disminución del detalle general de la serosa abdominal. En la radiografía ventrodorsal (C) se identifica una franja radiopaca (flecha) en el abdomen medio, que es un ligamento peritoneal. Tras la descompresión, la distensión abdominal disminuyó, pero sigue habiendo una gran cantidad de gas libre. El desplazamiento craneal del diafragma indica un aumento de la presión intraperitoneal.

te alrededor del estómago. Además, cerca de la masa gástrica se observó una hendidura de baja atenuación que podría ser indicativa del lugar de perforación. Estos hallazgos de imagen condujeron a un diagnóstico de perforación gástrica causada por una neoplasia gástrica que dio lugar a NP y peritonitis.

Al perro se le sometió a una laparotomía exploratorio para identificar y corregir la perforación y para realizar un lavado peritoneal. Se identificó una zona perforada (**Figura 2D**) de aproximadamente 2.2 cm cerca de la masa gástrica. Se observó peritonitis generalizada grave con depósito de fibrina a lo largo del peritoneo y ascitis con líquido amarillo, ligeramente opaco. La masa se resecó con un margen quirúrgico de 1 ~ 2 cm y después del lavado y drenaje peritoneal se cerró el abdomen. No se realizó biopsia de la masa porque los propietarios no lo autorizaron. Sin embargo, la impronta citológica indicó carcinoma gástrico. Se trató al paciente con fluidoterapia, analgésicos, agentes antitrombóticos y antibacterianos. A pesar del tratamiento agresivo, la condición del paciente fue empeorando y se practicó la eutanasia el día después de la cirugía a petición de los propietarios.





Discusión

En este caso se describe un NP en un perro, en el cual, los hallazgos de imagen conducen a un posible diagnóstico de perforación gástrica provocada por una neoplasia gástrica, NP y peritonitis. La perforación gastrointestinal puede causar NP a través de un mecanismo de "válvula unidireccional", en el que el hígado y el epiplón que cubre el sitio de la perforación actúan como una válvula, permitiendo que el aire escape desde el tracto gastrointestinal, pero impidiendo que vuelva a entrar en el mismo (1, 2, 7). Sin embargo, el NP es una consecuencia rara de la perforación gastrointestinal y puede darse junto con aerofagia (4). En este caso, la aerofagia probablemente fue debida al jadeo causado por dolor abdominal, conduciendo, por último, al NP. Además, el epiplón alrededor del sitio de la perforación puede haber actuado como una válvula, impidiendo que el aire volviera a entrar al estómago.

Se han descrito causas gastrointestinales, pulmonares y urológicas de NP en medicina humana. Previos estudios muestran que las causas gastrointestinales (27/36) fueron las más comunes (6). Hasta la fecha, se han descrito tres casos de NP en medicina veterinaria. De ellos, un caso fue experimentalmente inducido en un perro, mientras que los otros dos se reportaron en gatos debidos a perforación de estómago e duodeno (4, 5, 7).

Aunque el número de casos es pequeño, este caso y los previos indican que la perforación gastrointestinal puede ser la causa primaria del NP en medicina veterinaria, al igual que en humanos.

Hasta donde sabemos, no se han reportado casos de NP espontáneo causado por perforación gástrica en un perro. Aquí describimos un caso de NP causado por perforación gástrica en un perro.

La perforación gástrica en perros está provocada por diversas causas incluyendo úlceras gástricas, neoplasias, trauma abdominal y causas iatrogénicas. Se produce en aproximadamente el 35-45% de los perros con enfermedad ulcerosa gastroduodenal y neoplasias primarias (9-11). En este caso, no había antecedentes de traumatismo ni factores iatrogénicos, y la presencia de perforación alrededor de la masa gástrica sugiere el diagnóstico de perforación espontánea debida a carcinoma gástrico. Se sabe que la perforación espontánea causada por un tumor gástrico se produce cuando la ulceración y la necrosis tumoral se extienden a las capas profundas de la pared gástrica, concretamente a la subserosa (11). Aunque se ha descrito que la rotura de la pared gástrica debida a una neoplasia gástrica se produce en humanos en tasas que oscilan entre el 0,56 y el 3,9%, no se ha documentado ninguna frecuencia de perforación inducida por tumores en perros.

El diagnóstico de NP en humanos se basa en los signos clínicos y los hallazgos radiográficos abdominales. Los signos clínicos de NP incluyen distensión abdominal timpánica, distrés respiratorio y colapso hemodinámico, asociados con neumoperitoneo masivo. En el presente caso, se observó distrés respiratorio y distensión abdominal timpánica. Además, los hallazgos radiográficos característicos que se observan en humanos incluyen desplazamiento craneal del diafragma, signo de sillín indicativo de desplazamiento

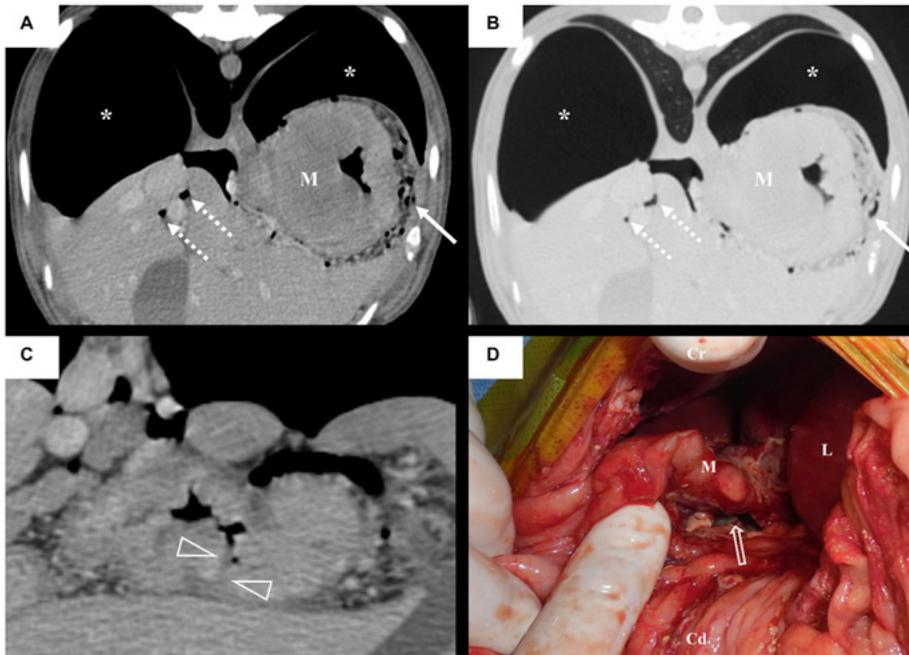


Figura 2: Imágenes transversales (A–C) de tomografía computarizada (TC) multiplanar postcontraste del paciente con un algoritmo de tejido blando (WL 45, WW 450) (A,C) y algoritmo pulmonar (WL -400, WW 1500) (B). Imagen intraoperatoria (D) del perro. En el cardias se observa la masa gástrica (M) con realce homogéneo de contraste. Se supone que el sitio de la perforación es una hendidura de atenuación baja (punta de flecha) adyacente a la masa gástrica. Observe la masa gástrica (M) y el sitio de perforación (flecha abierta) después de la separación de las adherencias omentales. Hay un gran volumen de gas libre (asterisco) que desplaza el hígado medialmente. Note que la estructura que se cree que es el epiplón cubre el estómago y hay numerosos gases (flecha) entre ellos. Múltiples burbujas de gas (flecha discontinua) quedan atrapadas entre el peritoneo. Las imágenes (A, B) están en el mismo nivel pero en diferentes algoritmos. Imágenes de TC, mismos kv, mAS y espesor que en el documento. L: hígado, M: masa gástrica, Cr: craneal, Cd: caudal.

medial del hígado, amontonamiento medial de vísceras y el signo de balón de fútbol indicativo de neumoperitoneo masivo, donde la cavidad abdominal está contorneada por gas, y el signo de Rigler indica grandes cantidades de neumoperitoneo cuando el gas aparece a ambos lados de la pared intestinal. Además, se identificó una franja radiopaca en la radiografía abdominal. Este hallazgo puede parecerse a los observados en humanos con un neumoperitoneo masivo, atribuidos a ligamentos peritoneales como el ligamento falciforme o los ligamentos umbilicales (13). Sin embargo, es importante señalar que, en este caso, las imágenes se obtuvieron en decúbito prono (decúbito ventral), a diferencia de los humanos que obtuvieron las imágenes en decúbito supino (decúbito dorsal). Por lo tanto, existen diferencias anatómicas en la identidad de la franja radiopaca, y se considera que está asociada a uno de los ligamentos peritoneales. Aunque no se ha podido determinar con precisión la naturaleza exacta de la franja radiopaca, su similitud con las características observadas en seres humanos con neumoperitoneo masivo sugiere que podría ser útil en el diagnóstico del NP (2, 3, 7).

En humanos, los hallazgos de NP en la TC incluyen compresión de múltiples asas intestinales por una cantidad masiva de gas, centralización de órganos abdominales y compresión de la vena cava inferior. En nuestro caso se observaron hallazgos similares,





incluida la compresión del intestino delgado y la centralización de los órganos abdominales. Sin embargo, no se observó compresión de la vena cava caudal; esto puede ser atribuible a la descompresión de emergencia antes de la TC o a la posición ventral durante la toma de imágenes, que difiere de la posición utilizada durante la TC en humanos. Por lo tanto, los hallazgos de NP en la TC pueden ser similares entre perros y humanos, lo que indica que los criterios de diagnóstico por TC utilizados en humanos pueden ser aplicables a los perros.

En humanos, el NP causado por perforación del tracto GI requiere laparotomía y drenaje intraperitoneal continuo (2-7), y la TC es una herramienta diagnóstica común para detectar estas perforaciones GI. Las discontinuidades en la pared GI, que suelen aparecer como hendiduras de baja atenuación en la TC, deben identificarse para localizar con precisión la perforación. La frecuencia de detección de estas discontinuidades suele ser inferior al 50% (14, 15). A pesar de esta baja frecuencia, el valor predictivo del lugar de la perforación es relativamente alto, oscilando entre el 82 y el 90%. Los hallazgos indirectos como el engrosamiento de la pared intestinal, el realce anormal de la pared, el absceso y las masas inflamatorias localizadas cerca del lugar de la perforación también son útiles para predecir el lugar de la perforación (16). En este caso, había una zona alrededor de la masa gástrica que hacía sospechar que se trataba de un foco de perforación; sin embargo, debido a la adherencia al epiplón, la presencia de ascitis y un estómago colapsado, fue difícil confirmar definitivamente el foco de perforación (14). A pesar de la dificultad para localizar con precisión el lugar de la perforación en la TC, se pensó en una perforación cerca de la masa gástrica debido al engrosamiento focal de la pared (16, 17). Desde esta perspectiva, la TC puede ayudar no sólo a determinar la necesidad de laparotomía, sino también a planificar el procedimiento quirúrgico en pacientes con NP.

El diagnóstico de peritonitis séptica se basa en el aumento del recuento de leucocitos, el aumento de los niveles de proteínas totales y la concentración de glucosa en el líquido peritoneal. En este caso, observamos recuentos elevados de leucocitos ($> 17 \times 10^9$ células/L; rango de referencia: 7×10^9 células/L), niveles elevados de proteínas totales (3,6 g/dL; rango de referencia: 2,0 g/dL) y niveles de glucosa en líquido peritoneal sistemáticamente inferiores a 55 mg/dL (sensibilidad 57%, especificidad 100%), con una diferencia de más de 20 mg/dL (sensibilidad 100%, especificidad 100%) en comparación con el nivel de glucosa en sangre. Esto confirma el diagnóstico de peritonitis séptica (15, 18). Por lo tanto, las alteraciones observadas en los análisis de sangre, incluida la neutrofilia grave, la monocitosis, el aumento de la proteína C reactiva y los niveles de dímero D, son indicios de una respuesta inflamatoria grave.

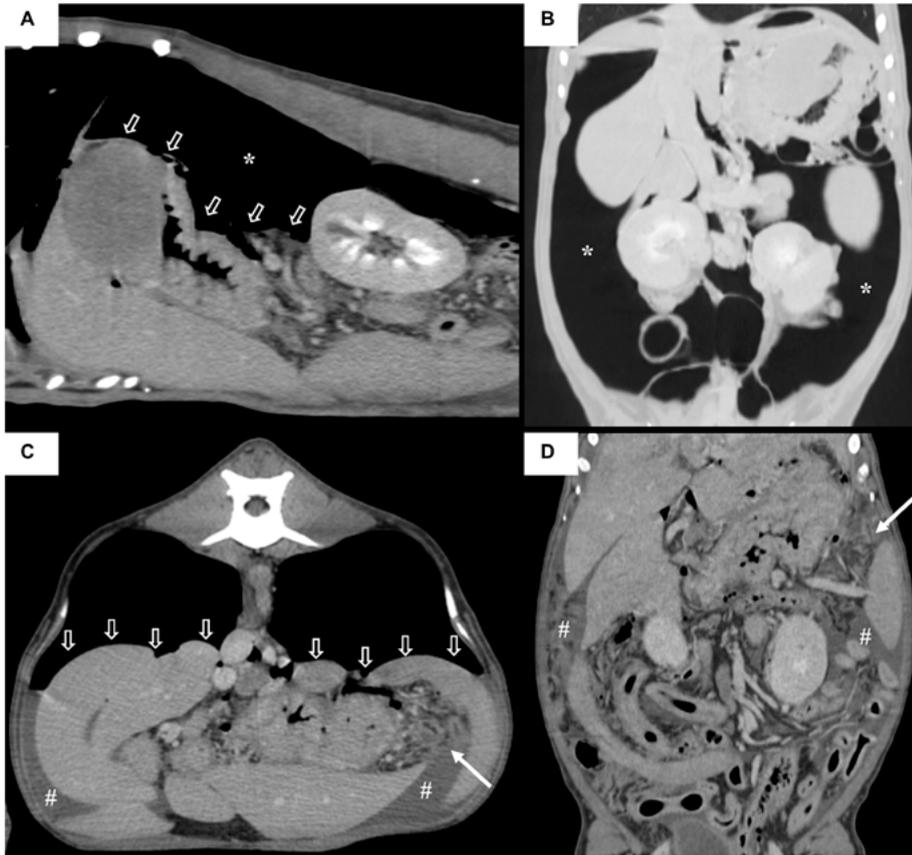


Figura 3: Imágenes de tomografía computarizada (TC) poscontraste sagital (A), dorsal (B,D) y transversal multiplanar (C) del paciente con un algoritmo de tejido blando (WL 45, WW 450) (A,C,D) y algoritmo pulmonar (WL -400, WW 1500) (B). Note que una gran cantidad de gas (asteriscos) comprime los órganos intraabdominales en la dirección dependiente de la gravedad (flechas abiertas) y los desplaza centralmente en el plano dorsal. Se observa derrame peritoneal difuso (#) y signos de acumulación de grasa en toda la cavidad abdominal, siendo el signo de acumulación de grasa particularmente pronunciado alrededor del estómago (flechas).

En conclusión, la NP es una complicación rara pero potencialmente mortal de la perforación gástrica en perros. Las modalidades de imagen, como la radiografía y la TC, son herramientas valiosas para el diagnóstico y la detección de sus causas subyacentes. En este caso, se detectó un neumoperitoneo masivo tanto en la radiografía como en la TC, con hallazgos característicos como gas delineando la cavidad peritoneal, gas a ambos lados de la pared intestinal, desplazamiento craneal del diafragma y una franja radiopaca en las radiografías abdominales. La TC también reveló compresión visceral intraabdominal y centralización de los órganos abdominales. Además, la TC fue especialmente útil para diagnosticar la causa subyacente del NP en el presente caso: perforación gástrica causada por un tumor gástrico.





Otra información

Declaración de disponibilidad de datos

Las contribuciones originales presentadas en el estudio se incluyen en el artículo/material suplementario, las consultas adicionales pueden dirigirse al autor correspondiente.

Declaración ética

No se requirió revisión y aprobación ética para el estudio con animales porque el informe de caso es la descripción de un caso clínico. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los pacientes/participantes para la publicación de este caso clínico.

Contribución de los autores

MK: Conceptualización, Investigación, Redacción - borrador original, Redacción - revisión y edición. JJ: Visualización, Redacción - revisión y edición. CC: Visualización, Redacción - revisión y edición. KE: Visualización, Redacción - revisión y edición. JK: Conceptualización, Visualización, Redacción - revisión y edición, Redacción - borrador original.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por la Universidad de Konkuk en 2023.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se llevó a cabo en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera construirse como un potencial conflicto de intereses.

Nota del editor

Todas las afirmaciones expresadas en este artículo son exclusivamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. El editor no garantiza ni respalda ningún producto que pueda evaluarse en este artículo, ni ninguna afirmación que pueda hacer su fabricante.

Referencias

1. Joo, WJ, Kuwahara, Y, Asaka, Y, Mizu, D, Hara, S, and Ariyoshi, K. Tension pneumoperitoneum caused by intestinal perforation from underlying colon cancer: a case report. *J Med Case Rep.* (2020) 14, 112–6. doi: 10.1186/s13256-020-02437-2
2. Das, P, Mukherjee, R, Pathak, D, Gangopadhyay, A, Halder, S, and Singh, SK. Tension pneumoperitoneum: a very rare complication of acute gangrenous appendicitis. *Ann R Coll Surg Engl.* (2016) 98:e197–9. doi: 10.1308/rcsann.2016.0240
3. Canivet, JL, Yans, T, Piret, S, Frere, P, and Beguin, Y. Barotrauma-induced tension pneumoperitoneum. *Acta Anaesth Belg.* (2003) 54:233–6.
4. Itoh, T, Nibe, K, and Naganobu, K. Tension pneumoperitoneum due to gastric perforation in a cat. *J Ve Med Sci Belg.* (2005) 67:617–9. doi: 10.1292/jvms.67.617
5. Bernabe, A, Valles, N, Echalecu, MS, Garrigos, A, and Agut, A. Tension pneumoperitoneum secondary to duodenal perforation presumptively due to the administration of meloxicam in a cat. *Vet Rec Case Rep.* (2021) 9: e40–4. doi: 10.1002/vrc2.40
6. Chan, SY, Kirsch, CM, Jensen, WA, Sherck, J, and Jose, S. Alerts, notices, and case reports tension pneumoperitoneum report of a case. *West J Med.* (1996) 165:61–4.
7. Olinde, AJ, Carpenter, D, and Maher, JM. Tension pneumoperitoneum a cause of acute aortic occlusion. *Arch Surg.* (1983) 118:1347–50. doi: 10.1001/archsurg.1983.01390110089020
8. Hamel, PES, Stern, AW, and Grosso, FV. Gastric perforation in a dog: postmortem computed tomography and forensic autopsy findings. *Forensic Imaging.* (2020) 20:200359. doi: 10.1016/j.fri.2020.200359
9. Hinton, LE, Mcloughlin, MA, Johnson, SE, and Weisbrode, SE. Spontaneous gastroduodenal perforation in 16 dogs and seven cats(1982-1999). *J Am Anim Hosp Assoc.* (2002) 38:176–87. doi: 10.5326/0380176
10. Parrah, JD, Moulvi, BA, Gazi, MA, Makhdoomi, DM, Athar, H, Dar, S, et al. Gastric ulceration in dog: a review. *Vet World.* (2013) 6:449–54. doi: 10.5455/vetworld.2013.449-454
11. Ohkura, Y, Lee, S, Kaji, D, Ota, Y, Haruta, S, Takeji, Y, et al. Spontaneous perforation of primary gastric malignant lymphoma: a case report and review of the literature. *World J Surg Oncol.* (2015) 13:35. doi: 10.1186/s12957-015-0458-0
12. Ignjatovic, N, Stojanov, D, Djordjevic, M, Ignjatovic, J, Stojanov, DB, and Milojkovic, B. Perforation of gastric cancer-what should the surgeon do? *Bosn J Basic Med Sci.* (2016) 16:222–6. doi: 10.17305/BJBMS.2016.1020
13. Chiu, YH, Chen, JD, Tiu, CM, Chou, YH, Yen, DHT, Huang, CI, et al. Reappraisal of radiographic signs of pneumoperitoneum at emergency department. *Am J Emerg Med.* (2009) 27:320–7. doi: 10.1016/j.ajem.2008.03.004
14. Grassi, R, Romano, S, Pinto, A, and Romano, L. Gastro-duodenal perforations: conventional plain film, US and CT findings in 166 consecutive patients. *Eur J Radiol.* (2004) 50:30–6. doi: 10.1016/j.ejrad.2003.11.012
15. Ragetly, GR, Bennett, DRA, and Ragetly, CA. Septic peritonitis: etiology, pathophysiology, and diagnosis. *Compend Contin Educ Vet.* (2011) 33:E1–6.
16. Sung, HK, Sang, SS, Yong, YJ, Suk, HH, Jin, WK, and Heoung, KK. Gastrointestinal tract perforation: MDCT findings according to the perforation sites. *Korean J Radiol.* (2009) 10:63–70. doi: 10.3348/kjr.2009.10.1.63
17. Boysen, SR, Tidwell, AS, and Penninck, DG. Ultrasonographic findings in dogs and cats with gastrointestinal perforation. *Vet Radiol Ultrasound.* (2003) 44:556–64. doi: 10.1111/j.1740-8261.2003.tb00507.x
18. Bonczynski, JJ, Ludwig, LL, Barton, LJ, Loar, A, and Peterson, ME. Comparison of peritoneal fluid and peripheral blood pH, bicarbonate, glucose, and lactate concentration as a diagnostic tool for septic peritonitis in dogs and cats. *Vet Surg.* (2003) 32:161–6. doi: 10.1053/jvet.2003.50005



→ LASER VET

EL LÁSER PARA EL VETERINARIO

Solicita una
DEMOSTRACIÓN

Gratuita y sin compromiso

Otohematoma

(15' sin anestesia general)

Gingivitis en gatos

(sin sedación)

Paladar

(5' sin sangrado)

Papilomas

(sin sedación)...

5 tratamientos en una herramienta:
Acupuntura, Endoscopia, Terapia, Cirugía con hemostasia y Descontaminación bacteriana

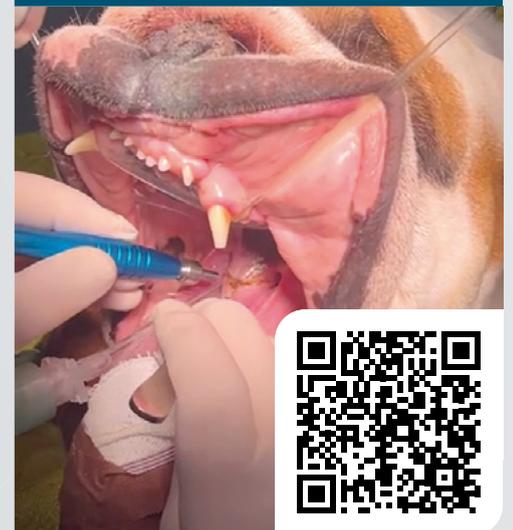
Resolución quirúrgica Épulis



Terapia Gingivitis gatos sin anestesia



Cirugía paladar



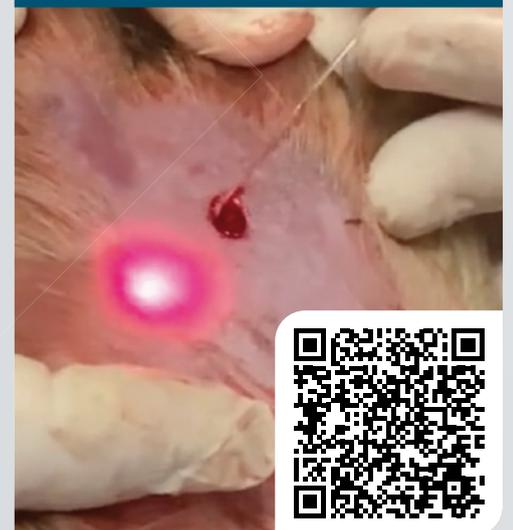
Cirugía



Acupuntura



Resolución otohematoma



Modelo:
I-VET

Características:

Pantalla táctil a color

0,1/10 W-980 nm/
650 nm

Luz continua/simple/
pulsada

Pedal inalámbrico



- No invasivo
- Indoloro
- Tiempos de recuperación reducidos o nulos

No pagues más
por menos:

**Elige
LASERVET**



Solicita una
**demostración
gratuita**

Mas información en:
enriquemarcos@laservet-iberia.es

Palabras clave:

doxorubicina, doxorubicinol, farmacocinética comparada, gatos, cancer

Keywords:

doxorubicin, doxorubicinol, comparative pharmacokinetics, feline, cancer

Farmacocinética comparativa de doxorubicina libre y una formulación liposomal en gatos tras administración intravenosa

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2024.1353775/full>



Yu Liu¹, Sumeng Chen¹, Zeyu Wen¹, Jinyan Meng¹, Yuxin Yang¹, Yang Zhang¹, Jianzhong Wang^{2*} y Xingyuan Cao^{1,3*}

1. Department of Veterinary Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, China
2. Shanxi Key Laboratory for Modernization of TCVM, College of Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Jinzhong, China
3. Key Laboratory of Detection for Veterinary Drug Residue and Illegal Additive, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing, China

La doxorubicina, un potente agente quimioterapéutico muy utilizado en el tratamiento del cáncer, muestra un comportamiento farmacocinético complejo, especialmente en varias formulaciones. Con una incidencia creciente de casos de cáncer en gatos, la comprensión de la farmacocinética del fármaco en sujetos felinos sigue siendo un área crítica pero inexplorada. Por lo tanto, en este estudio se investiga el perfil farmacocinético de la doxorubicina tras la administración intravenosa lenta de clorhidrato de doxorubicina (DOX-HCl) o clorhidrato de doxorubicina (DOX-HCl-PLI) liposomal pegilada en doce gatos a una dosis única de 20 mg/m².

Las muestras de sangre recogidas en el momento del pretratamiento (0h) y a lo largo de 192h se analizaron mediante cromatografía líquida de ultrarendimiento-espectrometría de masas (UPLC-MS/MS). Los parámetros farmacocinéticos obtenidos de doxorubicina revelaron diferencias significativas entre las dos formulaciones y fueron los siguientes: semivida de eliminación (T_{1/2λz}) de 5,00±3,20h (DOX-HCl) y 17,62±8,13h (DOX-HCl-PLI), área bajo la curva concentración/tiempo de 0 al último punto (AUC_{last}) de 0,67±0,12 μghr./mL (DOX-HCl) y 783,09±267,29 μghr./mL (DOX-HCl-PLI), y aclaramiento corporal total (CL_{obs}) de 27098,58±5205,19 mL/h/m² (DOX-HCl) y 28,65±11,09 mL/h/m² (DOX-HCl-PLI). Además, también se detectaron diferencias en el volumen aparente de distribución (Vz_{obs}) con 178,56±71,89 L/m² (DOX-HCl) y 0,64±0,20 L/m² (DOX-HCl-PLI), y la concentración plasmática máxima (C_{max}) con 2,25±0,30 μg/mL (DOX-HCl) y 24,02±5,45 μg/mL (DOX-HCl-PLI). En particular, se detectó una baja concentración de doxorubicinol, el metabolito de la doxorubicina, en plasma después de la administración de DOX-HCl, y una concentración aún menor cuando se administró DOX-HCl-PLI. Esta investigación proporciona valiosa información sobre los distintos comportamientos farmacocinéticos del DOX-HCl y el DOX-HCl-PLI en los gatos. DOX-HCl-PLI en gatos, aportando una base esencial para futuros estudios y posibles aplicaciones clínicas en oncología felina.

Introducción

La doxorubicina, ampliamente usada en el tratamiento del cáncer de mama y de ovario, es un antibiótico de tipo antraciclina, antitumoral, de amplio espectro que inhibe la síntesis de ADN, ARN y proteínas en las células en varios ciclos de crecimiento (1,2). Actualmente, hay dos formulaciones de doxorubicina autorizadas para el uso clínico en humanos, clorhidrato de doxorubicina y clorhidrato de doxorubicina liposomal (3). Aunque la doxorubicina presenta una eficacia antitumoral significativa, los estudios clínicos indican muchos efectos adversos (4-6). Por ejemplo, las investigaciones han demostrado que la doxorubicina y su metabolito, el doxorubicinol, cuando se combinan provocan fuertes efectos secundarios tóxicos en humanos y otras especies (7, 8). Las investigaciones sobre una forma liposomal de doxorubicina han revelado su capacidad para alterar el perfil farmacocinético del fármaco in vivo, mejorando en consecuencia su eficacia antitumoral (9-13).





El carcinoma mamario felino sigue siendo uno de los más comunes tumores en gatos, mostrando una alta malignidad y ratio de metástasis, mostrando características clínico-patológicas, epidemiológicas e histológicas, y una clasificación molecular similar a las encontradas en el cáncer humano (14-16). En los recientes años, varios estudios han descrito la eficacia de la doxorubicina en el tratamiento de una variedad de tumores felinos (17-20). De forma más específica, un artículo detalló el uso de cirugía citorrreductora y quimioterapia adyuvante con doxorubicina en el tratamiento del hemangiosarcoma mesentérico, lo que resultó en una supervivencia prolongada en el gato (18). Sin embargo, en otros informes se ha expresado preocupación sobre la importante toxicidad del fármaco en gatos, que provoca lesión renal, mielosupresión, anorexia y pérdida de peso (21). Se necesita un conocimiento profundo para revelar opciones terapéuticas destinadas a mejorar el resultado clínico en el gato. Dichos estudios están limitados por la falta de líneas celulares felinas disponibles para ensayos de citotoxicidad (22). Además, al comparar las dos formulaciones de doxorubicina, las propiedades físicas del liposoma desempeñan un papel importante en la alteración de la farmacocinética del fármaco, un factor estrechamente relacionado tanto con la eficacia como con las reacciones adversas (23). A pesar de esto, sólo unos pocos estudios han caracterizado el perfil farmacocinético de la doxorubicina en gatos. La evaluación del perfil farmacocinético de la doxorubicina y el doxorubicinol en las especies de destino constituye un paso crucial para comprender la eficacia y gestionar los posibles efectos adversos en futuros tratamientos clínicos. Por lo tanto, el objetivo principal del presente estudio fue caracterizar la farmacocinética de la doxorubicina y su metabolito, doxorubicinol, de dos formulaciones distintas de doxorubicina en gatos.

Materiales y métodos

Materiales

El producto estándar de clorhidrato de doxorubicina (pureza = 98,0%), el producto estándar de doxorubicinol (pureza = 96,4%) y el producto estándar de clorhidrato de daunorrubicina (estándar interno, pureza = 98,8%) fueron proporcionados por TLC Pharmaceutical Standers. El clorhidrato de doxorubicina para inyección (DOX-HCl, 10 mg) se obtuvo de ShanXi Pude Pharmaceutical Co., Ltd., y la inyección de liposomas pegilados de clorhidrato de doxorubicina (DOX-HCl-PLI, 20 mg:10 ml) fue suministrada por CSPC Pharmaceutical Group Ouyi. Pharmaceutical Co., Ltd. Todos los demás productos químicos y reactivos utilizados fueron de calidad cromatográfica y se obtuvieron de proveedores comerciales (Fisher Scientific).

Diseño experimental

En este estudio se utilizaron doce gatos pastorales chinos domesticados (seis hembras y seis machos; 3-3,6 kg; rango de edad de 2-3 años) obtenidos del Centro de Animales Experimentales de la Universidad Agrícola de China. Antes del estudio se verificó que los gatos estuvieran sanos basándose en el examen físico. Todos los

procedimientos fueron revisados y aprobados por Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad Agrícola de China (NO.13303-21-E-001).

El experimento preestablecido se llevó a cabo en un diseño de dosis única y dosis paralelas. Doce gatos fueron asignados aleatoriamente a dos grupos de tratamiento del mismo tamaño. El grupo I recibió DOX-HCl a una dosis de 20 mg/m² de superficie corporal, mientras que el grupo II recibió DOX-HCl-PLI a la misma dosis. De manera similar a la práctica clínica, ambas formulaciones se administraron mediante infusión intravenosa (i.v.) lenta (administrada durante 10 minutos) después de la dilución con NaCl al 0,9 %, manteniendo una velocidad de inyección de aproximadamente 10 µL/s. Los gatos ayunaron durante 16 h antes y 8 h después de la administración del fármaco. Se pesó a cada gato inmediatamente antes de la administración del fármaco el primer día de tratamiento.

Se recogieron muestras de sangre de 0,5 ml en tubos heparinizados a través de las venas de las extremidades anteriores en 0 (pretratamiento) y 0,033, 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 h después de iniciar la administración. Posteriormente, las muestras de sangre se centrifugaron durante 10 minutos a 4000 rpm y las muestras de plasma se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

Análisis de muestras

Las concentraciones plasmáticas de doxorubicina y doxorubicinol se analizaron utilizando un método validado de cromatografía líquida de ultra rendimiento-espectrometría de masas (UPLC-MS/MS), como se indicó anteriormente (7, 24). El límite inferior de cuantificación (LLOQ) de doxorubicina y doxorubicinol en plasma fue de 10 ng/ml y 2 ng/ml, respectivamente. Tanto los coeficientes de variación inter como intraensayo se mantuvieron por debajo del 15%. Las recuperaciones medias de doxorubicina oscilaron entre -14,51 y 10,00 %, mientras que las de doxorubicinol oscilaron entre -14,00 y 10,63 %. Las curvas de calibración de doxorubicina y doxorubicinol mostraron una linealidad satisfactoria dentro del rango de concentración de 10 a 2000 ng/ml ($r^2 > 0,99$) y de 2 a 400 ng/ml ($r^2 > 0,99$), respectivamente.

Análisis de los datos

Los parámetros farmacocinéticos se determinaron a partir del modelo de análisis no compartimental 200-202 (método de interpolación lineal, trapezoidal lineal, ponderación uniforme) en el software WinNonlin™ (WinNonlin 8.3, Certara Estados Unidos). Para evaluar diferencias significativas, se empleó una prueba *T* mediante SPSS Statistics 20.0 (International Business Machines, Armonk, NY, Estados Unidos) entre los grupos de estudio después de una transformación logarítmica en la vida media de eliminación ($T_{1/2z}$), área bajo la curva de concentración/tiempo desde 0 hasta el último punto (AUC_{last}), aclaramiento corporal total (CL_{obs}), volumen de distribución aparente (Vz_{obs}) y concentración plasmática máxima (C_{max}). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas para valores de *p* (*p*) inferiores a 0,01 y todos los datos se expresan como media ± desviación estándar (DE).





Resultados

Las curvas de concentración plasmática/tiempo de doxorubicina para los grupos DOX·HCl y DOX·HCl-PLI se muestran en la **Figura 1**.

Además, la curva de doxorubicinol se presenta para el grupo DOX·HCl, mientras que la curva para el grupo DOX·HCl-PLI no se muestra debido a los limitados puntos de tiempo medidos después de la administración. Los resultados demostraron que el perfil farmacocinético de la doxorubicina después de la administración de las dos formulaciones fue significativamente diferente.

Los parámetros farmacocinéticos para las dos formulaciones de doxorubicina se presentan en la **Tabla 1**. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los dos grupos, DOX·HCl y DOX·HCl-PLI, en los valores $T_{1/2\lambda_z}$, AUC_{last} , CL_{obs} , Vz_{obs} y C_{max} ($p < 0,01$). Dada la baja concentración del metabolito doxorubicinol y el número limitado de puntos temporales medidos, no se pudieron obtener con precisión los parámetros farmacocinéticos del doxorubicinol basándose en la dosis actual de doxorubicina. No se observaron efectos adversos en ningún gato.

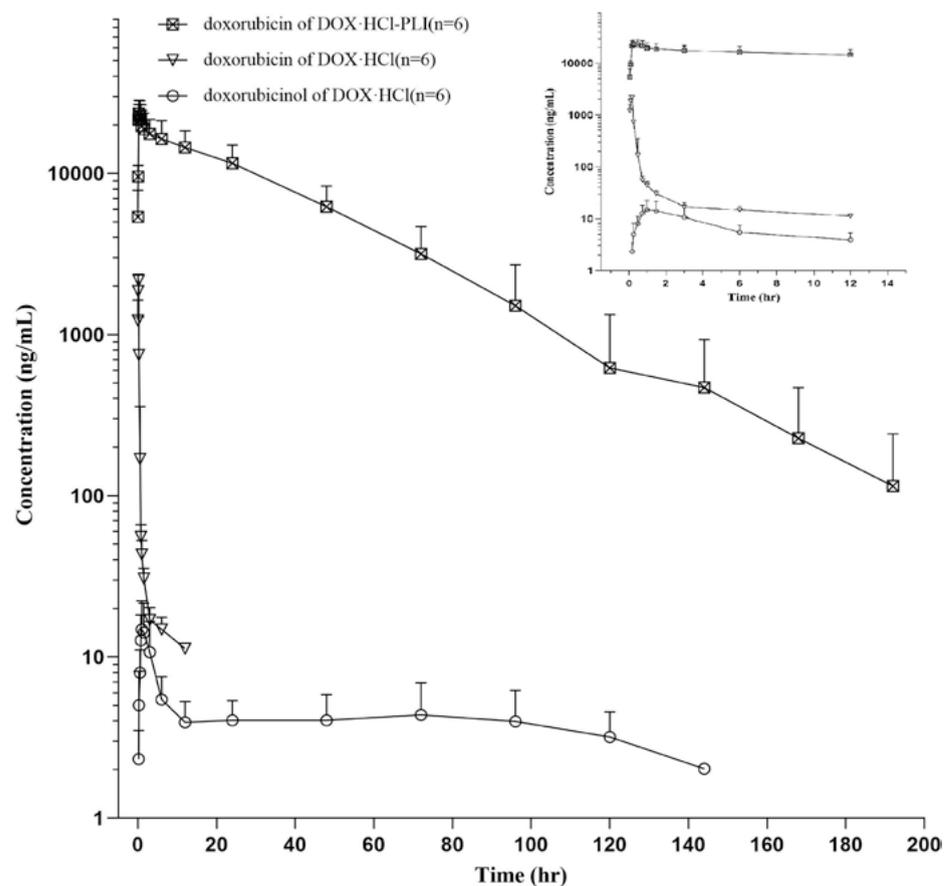


Figura 1. Curvas de concentración plasmática/tiempo de doxorubicina y doxorubicinol en gatos ($n = 6$) tras una inyección i.v. lenta de una dosis única (20 mg/m^2) de DOX·HCl o DOX·HCl-PLI, respectivamente. Se muestra en primer plano las primeras 12 h tras la administración del fármaco.



Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos plasmáticos (media aritmética±DE) tras la administración en infusión i.v. de una dosis única (20 mg/m²) de las dos formulaciones de doxorubicina a gatos (n = 6), DOX-HCl y DOX-HCl-PLI.

Parameters	DOX-HCl (n = 6)	DOX-HCl-PLI (n = 6)
λ_z (1/h)	0.17±0.07	0.05±0.03
$T_{1/2\lambda_z}$ (hr)	5.00±3.20**	17.62±8.13**
MRT_{last} (hr)	0.83±0.36	32.72±6.17
T_{max} (hr)	0.14±0.04	0.29±0.10
AUC_{INF_obs} (µg·hr./mL)	0.76±0.15	785.83±270.56
AUC_{last} (µg·hr./ mL)	0.67±0.12**	783.09±267.29**
CL_{obs} (mL/h/m ²)	27098.58±5205.19**	28.65±11.09**
Vz_{obs} (L/m ²)	178.56±71.89**	0.64±0.20**
C_{max} (µg/ mL)	2.25±0.30**	24.02±5.45**

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon utilizando el modelo de análisis no compartimental 200-202 en el software Winnonlin™ (WinNonlin 8.3, Certara USA); λ_z , la constante de velocidad de eliminación; $T_{1/2\lambda_z}$, semivida de eliminación; MRT_{last} , tiempo medio de residencia; T_{max} , tiempo para alcanzar la concentración máxima (pico) observada en estado estacionario; AUC_{INF_obs} , área bajo la curva concentración/tiempo de 0 a infinito; AUC_{last} , área bajo la curva concentración versus tiempo de 0 al último punto; CL_{obs} , aclaramiento corporal total; Vz_{obs} , el volumen aparente de distribución; C_{max} , concentración plasmática máxima. **Diferencias significativas ($p < 0,01$), grupo DOX-HCl comparado con el grupo DOX-HCl-PLI.

Discusión

La doxorubicina ha demostrado una eficacia terapéutica significativa en muchos tipos de cáncer, y se considera uno de los fármacos quimioterapéuticos aprobados más potentes. Los estudios farmacocinéticos anteriores se centraron principalmente en humanos y otras especies (25); sin embargo, en los últimos años se ha observado una tendencia al alza en los casos clínicos de tumores en gatos (18, 21). Así pues, en nuestro estudio hemos investigado la farmacocinética de dos formulaciones de doxorubicina midiendo las concentraciones plasmáticas de doxorubicina y su metabolito, el doxorubicinol, en gatos.

En consonancia con otros hallazgos, nuestros resultados detectaron doxorubicina y doxorubicinol en muestras de plasma, con el fármaco principal predominantemente presente en el plasma tras la administración (26).

Nuestros resultados mostraron diferencias significativas en los perfiles farmacocinéticos de la doxorubicina y el doxorubicinol entre las formulaciones DOX-HCl y DOX-HCl-PLI. Estos resultados coinciden con los de A. Gabixon et al., en cuyo estudio de la formulación liposomal de doxorubicina se observó un mayor tiempo de circulación en plasma y un menor volumen aparente de distribución tras la administración i.v. en comparación con la doxorubicina convencional (27). Además, en nuestro estudio se vió una semivida de eliminación más larga tras la administración de DOX-HCl-PLI en comparación con el grupo DOX-



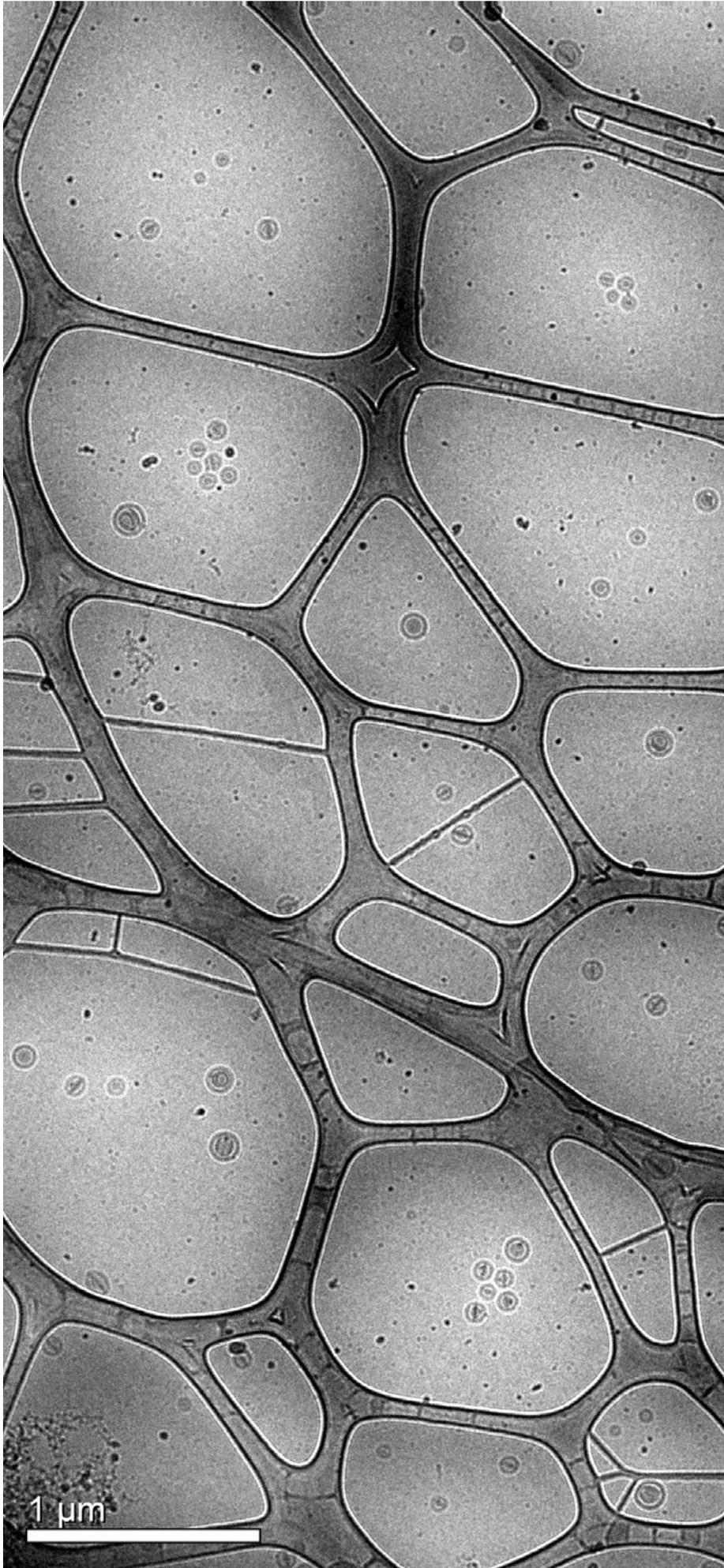
HCl. Cabe señalar que el mismo rasgo también se observó en otras especies, como lo demuestra la semivida de eliminación de 27 ± 5 h tras la administración de doxorubicina liposomal en perros (28). La presencia de moléculas de polietilenglicol (PEG) en la superficie de la doxorubicina liposomal contribuye a prolongar sus tiempos de circulación *in vivo*, que superan las 18 h en ratones y las 50 h en humanos (29). La diferencia aparente en el tiempo de circulación entre las dos formulaciones se atribuye probablemente a la capa de PEG que reduce su interacción con el sistema fagocítico mononuclear (MPS), ayudando así a evitar la eliminación en el hígado (30). Además, el volumen de distribución del grupo DOX-HCl-PLI fue significativamente menor en comparación con el grupo DOX-HCl, lo que indica que la formulación liposomal está confinada principalmente dentro del compartimento intravascular (2). Además, el AUC_{last} ($0,67 \pm 0,12 \mu\text{g-hr./mL}$) del DOX-HCl fue inferior al del DOX-HCl-PLI ($783,09 \pm 267,29 \mu\text{g-hr./mL}$) en gatos.

Estos resultados sugieren que el DOX-HCl-PLI aumenta potencialmente la biodisponibilidad y mejora su potencial de efecto antitumoral. En un estudio de A. Rahmab y otros, se exploró la farmacocinética comparativa de la doxorubicina libre y la doxorubicina atrapada en liposomas de cardiolipina en ratas administradas a una dosis i.v. de 6 mg/kg. La concentración plasmática máxima de doxorubicina libre a los 5 min fue de $1,7 \mu\text{g/mL}$, mientras que la formulación de liposomas de cardiolipina produjo una concentración plasmática máxima de doxorubicina a los 5 min de $20,9 \mu\text{g/mL}$. El AUC para la doxorubicina libre y la doxorubicina liposomal fue de $1,95 \mu\text{g-hora/mL}$ y $81,4 \mu\text{g-hora/mL}$, respectivamente (31). Del mismo modo, en ratones, el AUC_{last} ($72,98 \pm 15,79 \mu\text{g-hora/mL}$) del DOX-HCl fue inferior al del DOX-HCl-PLI ($499,61 \pm 72,35 \mu\text{g-hora/mL}$) (32).

Estos hallazgos sugieren que el DOX-HCl presenta un mayor volumen de distribución, un aclaramiento más rápido y una semivida más corta en comparación con el DOX-HCl-PLI.

No obstante, nuestro estudio pudo detectar que la concentración de doxorubicinol era baja inmediatamente después de la administración de DOX-HCl, y que era aún menor cuando se administraba DOX-HCl-PLI. Estas observaciones concuerdan con hallazgos anteriores (29, 33) e indican una conversión notablemente reducida de doxorubicina a doxorubicinol cuando la doxorubicina se administra en su forma liposomal. Los datos del presente estudio podrían servir como prueba científica que contribuya a explicar la sustancial reducción de la cardiotoxicidad asociada a la doxorubicina liposomal.

En conclusión, este estudio representa una investigación inicial para comprender la farmacocinética de dos formulaciones distintas de doxorubicina en gatos. Aunque preliminares, los hallazgos ofrecen conocimientos fundamentales que podrían resultar cruciales para la administración práctica y clínica de la doxorubicina, en particular en el tratamiento del cáncer en sujetos felinos.



Fotografía 1. Disparo con un microscopio electrónico criogénico, un fármaco contra el cáncer (doxorubicina).



**Farmacocinética comparativa
de doxorubicina libre y una
formulación liposomal en
gatos tras administración
intravenosa**

Discusión



Otra información

Declaración de disponibilidad de datos

Las contribuciones originales presentadas en el estudio se incluyen en el artículo/material suplementario, las consultas adicionales pueden dirigirse a los autores correspondientes.

Declaración ética

El estudio con animales fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de la Universidad Agrícola de China (Nº 13303-21-E-001). El estudio se realizó de acuerdo con la legislación local y los requisitos institucionales.

Contribución de los autores

YL: Redacción - borrador original, Análisis formal, Validación, Redacción - revisión y edición. SC: Redacción - revisión y edición, Análisis formal, Validación. ZW: Redacción - revisión y edición, Validación. JM: Redacción - revisión y edición, Recopilación de datos, Validación. YY: Redacción - revisión y edición, Validación. YZ: Redacción: revisión y edición, validación. JW: Redacción - revisión y edición. XC: Redacción - revisión y edición.

Financiación

Los autores declaran que no han recibido apoyo financiero para la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Agradecimientos

Queremos agradecer a Xiaohui Gong, Pan Sun y Jing Li su ayuda en la determinación analítica del fármaco y en el pedido de consumibles experimentales.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se llevó a cabo en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que podría interpretarse como un posible conflicto de intereses.

Nota del editor

Todas las afirmaciones expresadas en este artículo son exclusivamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. El editor no garantiza ni respalda ningún producto que pueda evaluarse en este artículo, ni ninguna afirmación que pueda hacer su fabricante.

Referencias

1. Rivankar, S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther.* (2014) 10:853–8. doi: 10.4103/0973-1482.139267
2. Tahover, E, Patil, YP, and Gabizon, AA. Emerging delivery systems to reduce doxorubicin cardiotoxicity and improve therapeutic index: focus on liposomes. *Anti-Cancer Drugs.* (2015) 26:241–58. doi: 10.1097/CAD.000000000000182
3. Li, XR, Cheng, XH, Zhang, GN, Wang, XX, and Huang, JM. Cardiac safety analysis of first-line chemotherapy drug pegylated liposomal doxorubicin in ovarian cancer. *J Ovarian Res.* (2022) 15:96. doi: 10.1186/s13048-022-01029-6
4. Wu, BB, Leung, KT, and Poon, EN. Mitochondrial-targeted therapy for doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Int J Mol Sci.* (2022) 23:1912. doi: 10.3390/ijms23031912
5. Kong, CY, Guo, Z, Song, P, Zhang, X, Yuan, YP, Teng, T, et al. Underlying the mechanisms of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity: oxidative stress and cell death. *Int J Biol Sci.* (2022) 18:760–70. doi: 10.7150/ijbs.65258
6. Sheibani, M, Azizi, Y, Shayan, M, Nezamoleslami, S, Eslami, F, Farjoo, MH, et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview on pre-clinical therapeutic approaches. *Cardiovasc Toxicol.* (2022) 22:292–310. doi: 10.1007/s12012-022-09721-1
7. Harahap, Y, Ardinarsih, P, Corintias Winarti, A, and Purwanto, DJ. Analysis of the doxorubicin and Doxorubicinol in the plasma of breast Cancer patients for monitoring the toxicity of doxorubicin. *Drug Des Devel Ther.* (2020) 14:3469–75. doi: 10.2147/DDDT.S251144
8. Zeng, X, Cai, H, Yang, J, Qiu, H, Cheng, Y, and Liu, M. Pharmacokinetics and cardiotoxicity of doxorubicin and its secondary alcohol metabolite in rats. *Biomed Pharmacother.* (2019) 116:108964. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108964
9. Gabizon, AA. Pegylated liposomal doxorubicin: metamorphosis of an old drug into a new form of chemotherapy. *Cancer Investig.* (2001) 19:424–36. doi: 10.1081/CNV-100103136
10. Laginha, KM, Verwoert, S, Charrois, GJ, and Allen, TM. Determination of doxorubicin levels in whole tumor and tumor nuclei in murine breast cancer tumors. *Clin Cancer Res.* (2005) 11:6944–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0343
11. Goebel, FD, Goldstein, D, Goos, M, Jablonowski, H, and Stewart, JS. Efficacy and safety of stealth liposomal doxorubicin in aids-related Kaposi's sarcoma. The international SI-dox study group. *Br J Cancer.* (1996) 73:989–94. doi: 10.1038/bjc.1996.193
12. Gabizon, AA. Liposomal anthracyclines. *Hematol Oncol Clin North Am.* (1994) 8:431–50.
13. Taléns-Visconti, R, Díez-Sales, O, de Julián-Ortiz, JV, and Nácher, A. Nanoliposomes in Cancer therapy: marketed products and current clinical trials. *Int J Mol Sci.* (2022) 23:4249. doi: 10.3390/ijms23084249
14. Nascimento, C, Gameiro, A, Correia, J, Ferreira, J, and Ferreira, F. The landscape of tumor-infiltrating immune cells in feline mammary carcinoma: pathological and clinical implications. *Cell.* (2022) 11:2578. doi: 10.3390/cells11162578
15. Nascimento, C, and Ferreira, F. Tumor microenvironment of human breast cancer, and feline mammary carcinoma as a potential study model. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* (2021) 1876:188587. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188587
16. Granados-Soler, JL, Taher, L, Beck, J, Bornemann-Kolatzki, K, Brenig, B, Nerschbach, V, et al. Transcription profiling of feline mammary carcinomas and derived cell lines reveals biomarkers and drug targets associated with metabolic and cell cycle pathways. *Sci Rep.* (2022) 12:17025. doi: 10.1038/s41598-022-20874-5
17. Williams, AG, Hohenhaus, AE, and Lamb, KE. Incidence and treatment of feline renal lymphoma: 27 cases. *J Feline Med Surg.* (2021) 23:936–44. doi: 10.1177/1098612X20984363





18. Simon, KL, Cook, MR, Husbands, BD, Long, ME, Hokamp, JA, Helms, TH, et al. Use of doxorubicin chemotherapy following debulking surgery in the treatment of a cat with mesenteric hemangiosarcoma. *JFMS Open Rep.* (2022) 8:20551169221121900. doi: 10.1177/20551169221121900
19. Zabielska-Koczywas, K, and Lechowski, R. The use of liposomes and nanoparticles as drug delivery systems to improve Cancer treatment in dogs and cats. *Molecules.* (2017) 22:2167. doi: 10.3390/molecules22122167
20. Barber, LG, Sorenmo, KU, Cronin, KL, and Shofer, FS. Combined doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy for nonresectable feline fibrosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc.* (2000) 36:416–21. doi: 10.5326/15473317-36-5-416
21. Reiman, RA, Mauldin, GE, and Neal, MG. A comparison of toxicity of two dosing schemes for doxorubicin in the cat. *J Feline Med Surg.* (2008) 10:324–31. doi: 10.1016/j.jfms.2007.12.009
22. Gameiro, A, Urbano, AC, and Ferreira, F. Emerging biomarkers and targeted therapies in feline mammary carcinoma. *Vet Sci.* (2021) 8:164. doi: 10.3390/vetsci8080164
23. Tardi, PG, Boman, NL, and Cullis, PR. Liposomal doxorubicin. *J Drug Target.* (1996) 4:129–40. doi: 10.3109/10611869609015970
24. Anders, CK, Adamo, B, Karginova, O, Deal, AM, Rawal, S, Darr, D, et al. Pharmacokinetics and efficacy of Pegylated liposomal doxorubicin in an intracranial model of breast cancer. *PLoS One.* (2013) 8:e61359. doi: 10.1371/journal.pone.0061359
25. Gabizon, A, Shmeeda, H, and Barenholz, Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin: review of animal and human studies. *Clin Pharmacokinet.* (2003) 42:419–36. doi: 10.2165/00003088-200342050-00002
26. Maniez-Devos, DM, Baurain, R, Trouet, A, and Lesne, M. Doxorubicin pharmacokinetics in the rabbit. *J Pharmacol.* (1985) 16:159–69.
27. Gabizon, A, Catane, R, Uziely, B, Kaufman, B, Safra, T, Cohen, R, et al. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. *Cancer Res.* (1994) 54:987–92.
28. Gabizon, AA, Barenholz, Y, and Bialer, M. Prolongation of the circulation time of doxorubicin encapsulated in liposomes containing a polyethylene glycol-derivatized phospholipid: pharmacokinetic studies in rodents and dogs. *Pharm Res.* (1993) 10:703–8. doi: 10.1023/A:1018907715905
29. Allen, TM, K Cheng, WW, Hare, JI, and Laginha, KM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipidic nano-particles in cancer. *Anti Cancer Agents Med Chem.* (2006) 6:513–23. doi: 10.2174/187152006778699121
30. Makwana, V, Karanjia, J, Haselhorst, T, Anoopkumar-Dukie, S, and Rudrawar, S. Liposomal doxorubicin as targeted delivery platform: current trends in surface functionalization. *Int J Pharm.* (2021) 593:120117. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.120117
31. Rahman, A, Carmichael, D, Harris, M, and Roh, JK. Comparative pharmacokinetics of free doxorubicin and doxorubicin entrapped in cardiolipin liposomes. *Cancer Res.* (1986) 46:2295–9.
32. Lu, WL, Qi, XR, Zhang, Q, Li, RY, Wang, GL, Zhang, RJ, et al. A pegylated liposomal platform: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicity in mice using doxorubicin as a model drug. *J Pharmacol Sci.* (2004) 95:381–9. doi: 10.1254/jphs.FPJ04001X
33. Liu, Y, Yang, Y, Liu, X, and Jiang, T. Quantification of pegylated liposomal doxorubicin and doxorubicinol in rat plasma by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectroscopy: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Talanta.* (2008) 74:887–95. doi: 10.1016/j.talanta.2007.07.022

Inmunoferon Vet Stangest®

Refuerza la acción eficaz y
equilibrada del sistema inmune



NUEVO

¡ENTRENA SU SISTEMA INMUNE!

- ✓ Aporte de nutrientes clave para el sistema inmune
- ✓ Apoyo a la respuesta inmune innata y adaptativa
- ✓ Inmunomodulación: promueve la homeostasis o equilibrio inmunitario

AM3®
TECHNOLOGY



CroniCare

Aceite de cáñamo para perros y gatos

- ✓ Con fitocannabinoides, omega 3 y triglicéridos de cadena media
- ✓ Obtenido de plantas de *Cannabis sativa*
- ✓ Disponible en formato de 30 ml y 100 ml