

Evaluación tisular “in vivo” del dimetilsulfóxido (DMSO) en el tejido ovárico y tegumentario de la rata adulta

MORÁN-PERALES, José Luis †*, OLVERA-HERRERA, Jasiel Evani, SÁNCHEZ-GARCÍA, Octavio, y HANDAL-SILVA, Anabella

Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción, Instituto de Ciencias / Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 4 Sur #104; Col. Centro C.P. 72000; Puebla de Zaragoza, Puebla, México

Recibido Enero 17, 2017; Aceptado Marzo 01, 2017

Resumen

Se evaluaron los efectos citotóxicos o inflamatorios del DMSO inyectado sobre el tejido ovárico de 14 ratas hembra adultas de la cepa CII-ZV o en la dermis de 2 ratas alopecicas hipotímicas. Se probaron soluciones de DMSO al 100%, 50%, 25%, 5% y 0%, inyectando 20µL en una de las bursas ováricas de los animales CII-ZV y 50 µL de las mismas soluciones en la piel dorsal de los animales alopecicos. Las necropsias se realizaron a las 24, 48 o 96h posteriores al tratamiento en el ovario y a las 2 o 24h en los grupos con inyección subcutánea. Los ovarios y la piel se procesaron para histología con hematoxilina-eosina. En los cortes se registraron todos los signos de alteración tisular o necrosis. El DMSO indujo signos de distensión en el sistema linfático y venoso solo al nivel de la médula ovárica, pero ninguno en los compartimentos de la corteza ovárica: folículos (teca y granulosa), cuerpos lúteos y gándula intersticial. La inyección subcutánea del DMSO tampoco mostró signos de inflamación ni de necrosis en la dermis. Aparentemente, el DMSO es un vehículo adecuado para la infiltración de fármacos insolubles en el tejido ovárico y en la piel de la rata.

DMSO, Necrosis, Inflamación, Dermis, Tejidos ováricos

Abstract

We evaluated cytotoxic or inflammatory effects of DMSO injected on ovarian tissue in 14 CII-ZV adult female rats or in dermis tissue of 2 alopecic hypothyroid mutant rats. We test 100%, 50%, 25%, 5% and 0% DMSO solutions interjecting 20µL into an ovarian bursa of CII-Zv rats and 50µL of same solutions in dorsal skin of alopecic rats. Necropsies were performed at 24, 48, or 96h after on ovarian treatments or at 2 and 24h after subcutaneous injections in alopecic animals. The ovaries and skin were processed by histologic hematoxylin-oesin stain. We registered all the alteration or necrosis signs in histological cuts. DMSO induced distention signs on lymphatic and venous vessels just in ovarian medulla but none cortical compartments: follicles (teca and granulosa), corpora lutea or interstitial gland. The subcutaneous injection of DMSO either showed none inflammation or necrosis signs in dermis. Apparently, DMSO is an optimal vehicle for insoluble pharmacologic drugs infiltration in rat ovarian tissues or skin.

DMSO, Necrosis, Inflammation, Dermis, Ovarian tissues

Citación: MORÁN-PERALES, José Luis, OLVERA-HERRERA, Jasiel Evani, SÁNCHEZ-GARCÍA, Octavio y HANDAL-SILVA, Anabella. Evaluación tisular “in vivo” del dimetilsulfóxido (DMSO) en el tejido ovárico y tegumentario de la rata adulta. *Revista de Ciencias de la Salud*. 2017. 4-10: 46-58.

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: moranperales@yahoo.com.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Las membranas biológicas se caracterizan por su extremada selectividad, por lo que diversos solutos no pueden atravesarla libremente e incluso, ni siquiera alcanzan a interactuar con los lípidos y proteínas que la integran (Alberts et al, 2008). Muchos fármacos experimentales y de uso clínico certificado, debido a sus propiedades polares, tienen dificultad para realizar sus acciones al nivel de la membrana lo que obliga al incremento de las dosis y a tiempos de espera prolongados para que estos fármacos tengan las acciones y efectos esperados (Brunton et al, 2012). Por otra parte, se sabe que la matriz extracelular juega un papel preponderante en los mecanismos de reconocimiento y de inmunidad biológica (Alberts et al, 2008).

De acuerdo a lo anterior ¿Cómo se puede resolver el problema de la acción rápida de un fármaco activo para resolver un problema de salud? El vehículo que se utiliza como medio de transporte del fármaco puede ser la solución, pero también puede ser un problema.

El dimetilsulfóxido (DMSO; $(CH_3)_2SO$) es un líquido sin color, se ha usado como disolvente orgánico e industrial, criopreservante (Pegg, 2007), como un medicamento en la medicina veterinaria y humana (Parkin et al, 1997; Pope & Oliver, 1966) y en los últimos veinte años, en la innovación de tecnologías en Biología Molecular y Celular (Chakrabarti & Schutt, 2001). Descubierta por Alexander Saytzeff en 186, se obtiene como subproducto durante el procesamiento de la pulpa de madera para la fabricación de papel (Shirley et al, 1978). El gran potencial del DMSO como agente infiltrante lo hace una excelente opción para el uso en conjunto con fármacos activos cuya solubilidad en agua sea difícil.

Por ejemplo, existe un creciente interés en analizar el papel funcional de la matriz extracelular y de su extraordinaria selectividad; en este contexto el DMSO puede resultar de utilidad por sus propiedades anfipáticas. El presente trabajo muestra los efectos biológicos *in vivo* del DMSO en diferentes tejidos de la rata. Se analizaron sus efectos tóxicos directos cuando se aplica en tejidos vivos y se estimó su citotoxicidad por medio de histología convencional con microscopía de campo claro.

Justificación

Muchos fármacos y herramientas farmacológicas con actividad fisiológica y fisioterapéutica presentan problemas en su administración, debido particularmente a su insolubilidad. Frecuentemente, deben ser administrados en un vehículo irritante o tóxico. El DMSO es un solvente muy apropiado para esta clase de agentes insolubles en agua y que además presenta propiedades biológicas aún no estudiadas que podrían colocarlo como un disolvente adecuado para infiltrar fármacos que actúen directamente a nivel de la matriz extracelular.

Problema

¿Por qué aparentemente el DMSO que es significativamente menos tóxico y que puede ser utilizado comoreemplazo de otros disolventes, ya sea puro o en mezclas de disolventes seguros, es infrutilizado? Quizás la utilidad del DMSO no ha sido totalmente comunicada a aquellos en posiciones capaces de tomar decisiones sobre la selección de disolvente comercial, o tal vez se debe a "mitos de bioseguridad" que han rodeado DMSO durante varios años (Vignes, 2000). Las dosis más altas, soluciones más concentradas, una mayor frecuencia de exposición, o un período de exposición más largo puede producir uno o más de los efectos tóxicos observados en algunos estudios de laboratorio y clínicos, que incluyen:

La ampliación dermatitis eritematosa, el daño a la tejido epitelial de los pulmones después de la inhalación, efectos teratogénicos, aumento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas, cambios lenticulares en el ojo, hemólisis, y las indicaciones bioquímicas de hepatotoxicidad y nefrotoxicidad posiblemente, aunque este último podría ser un efecto secundario de la hemólisis inducida por DMSO (Smith et al, 1983).

Sin embargo, los límites de tolerancia del DMSO, no se han establecido para todas las condiciones de exposición. Además, existen documentos y reportes científicos que muestran datos que recomiendan su uso terapéutico en animales domésticos e incluso en humanos.

Hipótesis

La administración local del DMSO no tendrá efectos citotóxicos en la piel y tejido ovárico de la rata adulta.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar los efectos del DMSO aplicado localmente en diferentes concentraciones en la piel y tejido ovárico de la rata adulta.

Objetivos específicos

- Evaluar la citotoxicidad del DMSO aplicado localmente en diferentes concentraciones sobre los tejidos ováricos en ratas adultas.
- Evaluar la citotoxicidad del DMSO aplicado localmente en diferentes concentraciones en la piel de ratas adultas.

Marco Teórico

El DMSO es una molécula anfipática con un dominio altamente polar y dos grupos metilo apolares, por lo que es soluble tanto en los medios acuosos como en los orgánicos (Santos et al, 2002). La mayoría de las propiedades fisiológicas de DMSO parecen estar relacionadas con sus propiedades de penetración, su potencial para inhibir o estimular enzimas, para actuar como un eliminador de radicales libres, y su capacidad de causar la liberación de histamina. Estas propiedades se basan en gran medida en las características químicas de DMSO, incluyendo su afinidad a las uniones de hidrógeno, afinidad por el agua, la capacidad de intercambio con agua entre las membranas celulares, y la capacidad de reaccionar con moléculas orgánicas (Wexler et al, 2005).

Por su propiedad de atravesar rápidamente la epidermis y las membranas celulares, el DMSO se ha propuesto como excelente acarreador de drogas o venenos, lo cual podría representar múltiples ventajas para el ensayo de los efectos de fármacos insolubles o hidrofóbicos. Se han documentado numerosos estudios de laboratorio que versan sobre las acciones farmacológicas primarias del DMSO, entre las que cabe mencionar: la penetración de la membrana celular, efectos sobre tejido conectivo, acción antiinflamatoria, analgesia, diuresis, mejora o reducción de la eficacia de otros medicamentos, inhibición de la colinesterasa, vasodilatación, relajación muscular, el antagonismo a la agregación plaquetaria, entre otras (Jacob & Herschler, 1983; 1986). El DMSO es uno de los disolventes más comunes para la administración in vivo de varias sustancias insolubles en agua. No está claro cómo la respuesta a una sustancia particular se ve alterada por el DMSO, pero en general se cree que actúa como un portador penetrante de sustancias a través de las membranas en todos los niveles de organización biológica.

Comunmente, el DMSO es usado en Medicina Veterinaria como linimento, sólo o en combinación con otros ingredientes, en este último caso el DMSO es usado como solvente para acarrear los otros ingredientes a través de la piel. Además, en caballos DMSO es usado vía intravenosa sin combinación o en combinación con otras drogas, para el tratamiento en el incremento de la presión intracraneal y/o edema cerebral (Schleining & Reinertson, 2007a; Schleining & Reinertson, 2007b).

Una de las preguntas más importantes acerca de cualquier terapia medicinal, es la seguridad. Las reacciones adversas a DMSO son relativamente leves y pueden producirse en relación con su concentración y su modo de administración (Jacob & De la Torre, 2009).

La toxicidad aguda de DMSO generalmente es baja en los animales. La DL50 en humanos es de 1800 mg/kg en piel y de 606 mg/kg por vía intravenosa. La DL50 por vía oral en la Rata va desde 14.5 a 28 g/kg y la DL50 dérmica por encima de 40 g/kg, por vía intraperitoneal e intravenosa la DL50 en ratones, ratas y perros supera los 15 g/kg. Se ha demostrado que dosis letales agudas en animales de experimentación pueden producir respiración rápida, inquietud, coma, hipertermia, y muerte rápida, o puede ocasionar la muerte después de varios días causada por insuficiencia renal. DMSO es un teratógeno experimental y también causa otros efectos reproductivos en animales de experimentación (Wexler et al, 2005).

No hay mayores antecedentes que puedan explicar la influencia de DMSO en acción como agente teratógeno debido a la diversidad en los procedimientos experimentales empleados y los tipos de anomalías que esos estudios indican (Smith et al, 1983).

Numerosos estudios han demostrado que el DMSO aumenta la permeabilidad de la piel en los seres humanos y animales (Astley & Levine, 1976; Baker, 1968; Malten & Den Arend, 1978; Mitryukovskii, 1970; Scheuplein & Ross, 1970; Sweeney et al, 1966). La concentración de DMSO determina el grado de cambio en la permeabilidad y la eliminación del disolvente en la recuperación parcial o completa (Astley & Levine, 1976).

DMSO es un solvente polar, fuertemente higroscópico, que muestra capacidad de solubilidad en agua y lípidos. La aplicación de esta sustancia a la piel resulta en la hiperhidratación de la capa córnea con el subsiguiente aumento de la permeabilidad. Mientras que no tiene efectos conocidos sobre las membranas plasmáticas, puede causar cambios en los filamentos de queratina, sus efectos in vivo son de corta duración (Brisson, 1974).

Metodología de Investigación

Material Biológico

Se utilizaron catorce ratas hembras adultas (90-120 días de edad; peso corporal 200-250 g) de la cepa CII-ZV y dos del mutante alopecico hipotímico, ambas cepas criadas y alojadas en el Bioterio Claude Bernad de la BUAP. Estos animales se mantuvieron en condiciones de iluminación controlada (14 h luz/10 h oscuridad) y con libre acceso al agua y al alimento (Figura 1).



Figura 1 Rata mutante alopecica hipotímica (Izquierda) y Rata CII-ZV (Long-Evans; Derecha); ambas cepas se crían en el Bioterio Claude Bernard de la BUAP

Soluciones de DMSO y Anestésicos

Preparación de las Soluciones de DMSO

A partir de un frasco de DMSO puro (100%) se realizaron diluciones en solución salina (NaCl 0.9%) al 50%, 25%, 5% y 1%.

Preparación del Anestésico (Ketamina-Xilacina)

Para preparar 10 ml de una mezcla de anestésico se utilizaron 3.75 ml de ketamina (100 mg/ml), 0.5 ml de xilacina (100mg/ml) y 5.75 ml de solución salina (NaCl 0.9%) (Gourdon, 2006). Los animales de los diferentes grupos experimentales recibieron una dosis con 0.2 ml de la mezcla o la dosis media con 0.1 ml de la mezcla por cada 100 gramos de peso corporal.

Grupos Experimentales

Inyección de las soluciones de DMSO

Con el fin de observar los efectos de la inyección local del DMSO sobre la citología del tejido infiltrado por el disolvente, animales intactos recibieron una inyección única de DMSO con cada una de las soluciones problema (100%, 50%, 25%, 5%) de la siguiente forma. Microinyección de las soluciones de DMSO dentro de la bursa del ovario: Para ello, se realizó una laparotomía dorso lateral en el ovario y se infiltraron 20 μ L de la solución en cada grupo experimental; esta inyección se realizó con una bomba automatizada de perfusión nanomolar (Figura 2).

Antes de iniciar el abordaje quirúrgico, se realizó la tricotomía en la zona a intervenir, una vez rasurada el área y llevado a cabo el proceso de asepsia, se realizó la antisepsia en la zona a incidir con gases impregnadas en una solución antiséptica. Se colocó al animal en decúbito lateral y se realizó una incisión de 1-1.5 cm paralela a la espina dorsal a una distancia de 1.5-2 cm caudales de la 13^o costilla.

La pared de músculo subyacente fue perforada 1.5 cm lateral a la espina. El ovario a tratar se localizó bajo el músculo dorsal, se exteriorizó y se aplicó la microinyección, el ovario fue reintroducido en la cavidad y se dio lugar a la sutura iniciando con la capa muscular y posteriormente la piel (Figura 2).



Figura 2 Imágenes que muestran cómo se realizó la técnica de la microinyección de 20 μ L diferentes disoluciones de Dimetil Sulfóxido (DMSO) dentro de la bursa ovárica

Con el objetivo de analizar los efectos agudos de DMSO a diferentes concentraciones los animales fueron repartidos en tres diferentes grupos experimentales, se realizó la disección de los tejidos a las 24, 48hrs y 96hrs después del tratamiento.

Inyección Subcutánea de DMSO

La inyección subcutánea es el método preferido para la administración de sustancias en la rata, esto se debe a la facilidad de la técnica de inyección y a una mayor posibilidad de elección del sitio de aplicación. En general las áreas dorsolaterales del cuello y hombros son los sitios de elección, otros sitios recomendados son los flancos y la espalda (CCAC, 1980).

Se usaron dos ratas de la cepa mutante alopecico hipotímico para la aplicación de las soluciones de DMSO por vía subcutánea, el tejido fue diseccionado a las 2 y 24 horas posteriores al tratamiento.

Inyección subcutánea de 50 μ L de las soluciones de DMSO en la piel del dorso en cada grupo experimental; la inyección subcutánea de las soluciones se realizó de acuerdo a la técnica de Wells y colaboradores (2000) (Figura 3).

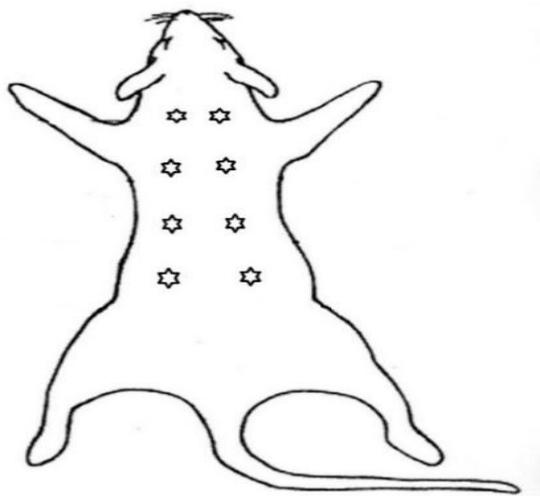


Figura 3 Ubicación de los sitios de la inyección subcutánea de DMSO de acuerdo al protocolo de Wells y colaboradores (2010)

Eutanasia, Autopsia y Fijación de Órganos

Todos los animales recibieron una dosis letal con pentobarbital sódico (80 mg/kg peso; i.p.). A la autopsia se disecaron la piel del dorso y los ovarios en los diferentes grupos experimentales. Los tejidos fueron colocados en solución de böuin y posteriormente procesados para histología en bloque de parafina. Todos los cortes fueron observados al microscopio.

Preparación para Inclusión de los Ovarios y Piel en Parafina

La preparación de los ovarios y la piel dorsal de los animales se realizó de modo convencional en bloques de parafina (Gaviño et al, 1992). Los bloques fueron cortados en serie a 10 μ m de grosor en un micrótopo de rotación RM-2125RT (LEICA Inc., USA) y extendidos en baño de flotación a 45°C.

Los cortes se colocaron en portaobjetos gelatinizados (Solución de gelatina para inclusión 3%) y numerados. Los cortes se dejaron secar a temperatura ambiente en una cámara hermética de vapores de formol 37% durante 24 horas (Figura 4). Los cortes fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina (Luna, 1975) y montados en resina sintética. Los portaobjetos numerados permanecieron en una superficie plana dejándose secar a temperatura ambiente durante una semana. Al cabo de este periodo de secado, a cada portaobjetos se le eliminan los residuos de resina con un paño de algodón embebido con xilol.

Análisis Histológico

Los cortes histológicos de piel y de ovario se analizaron en microscopía de campo claro a 100X, utilizando un microscopio óptico *Leica CME*. Las fotografías que se muestran en el apartado de los resultados fueron obtenidas con una cámara digital conectada a una computadora.



Figura 4 Equipamiento para el corte histológico y el montaje de los cortes de la piel y del ovario de los animales utilizados en los experimentos

Análisis Estadístico

Se registraron todos los signos de necrosis, inflamación o cualquier indicio de daño tisular en los tejidos infiltrados con las soluciones del DMSO o el vehículo (testigo: solución de NaCl 0.9%).

Los datos de los signos de alteración tisular fueron analizados con la prueba de Probabilidad Exacta de Fisher, comparando al grupo testigo contra los demás tratamientos con DMSO. En todas las pruebas, se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad sea igual o menor al 5%.

Resultados

Histología del Tejido Ovárico

Para analizar los efectos de las distintas disoluciones con DMSO, se utilizó el modelo de la rata CII-ZV (Figura 1). La microinyección de solución NaCl 0.9% dentro de las bursas ováricas no indujo cambios al nivel de los componentes anatómicos de la gónada. Los capilares y vasos linfáticos y sanguíneos en los grupos control no mostraron signos de alteración notable respecto a un ovario intacto (Figura 5).

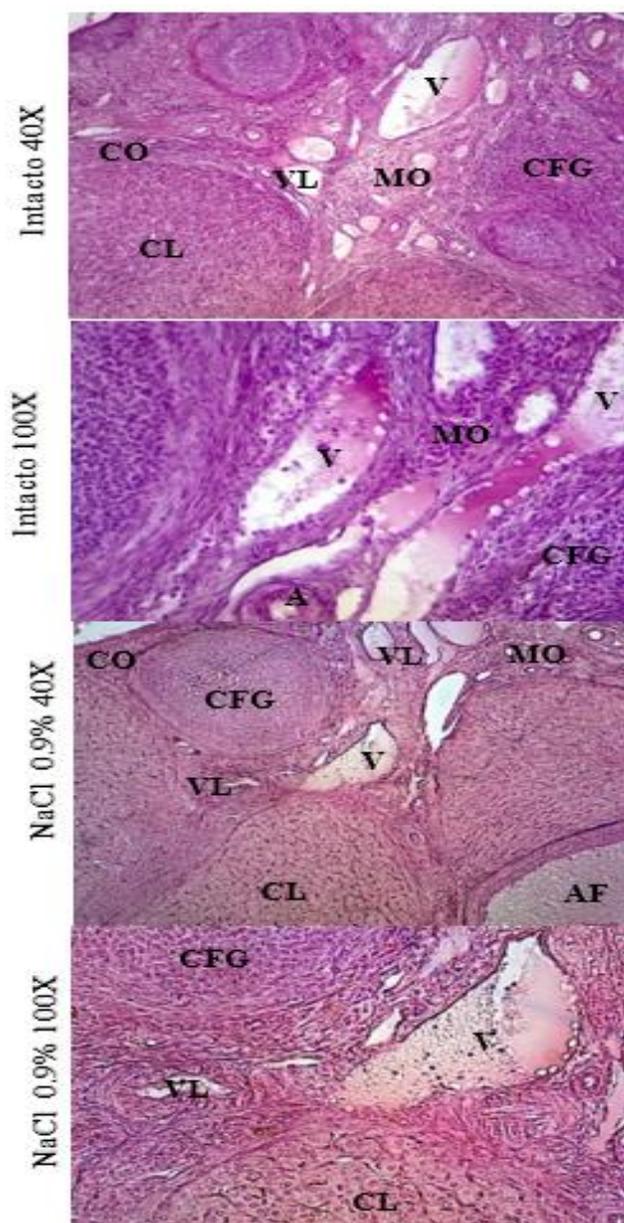


Figura 5 Efectos de la microinyección de 20 μ L de solución salina (NaCl 0.9%) dentro de las bursas del ovario de la rata CII-ZV comparado con el ovario de un animal intacto. MO: médula ovárica; CO: corteza ovárica; VL: vaso linfático; V: vena; A: arteriola; CL: cuerpo lúteo; CFG: células de la granulosa; AF: antro folicular.

En cambio, la microinyección con DMSO 100%, 50% y 25% mostró efectos sobre el sistema vascular y linfático que drena al ovario.

El tejido medular, mostró signos de distensión, sobretodo en el sistema venoso, mismos que indican una exacerbación en los mecanismos de limpieza y drenaje, pero sin alteraciones al nivel de las estructuras en la corteza ovárica; ni los folículos ni los cuerpos lúteos mostraron signos de alteración estructural ni necrosis. Estos efectos prevalecen incluso a las 96 h posteriores a la microinyección (Figura 6).

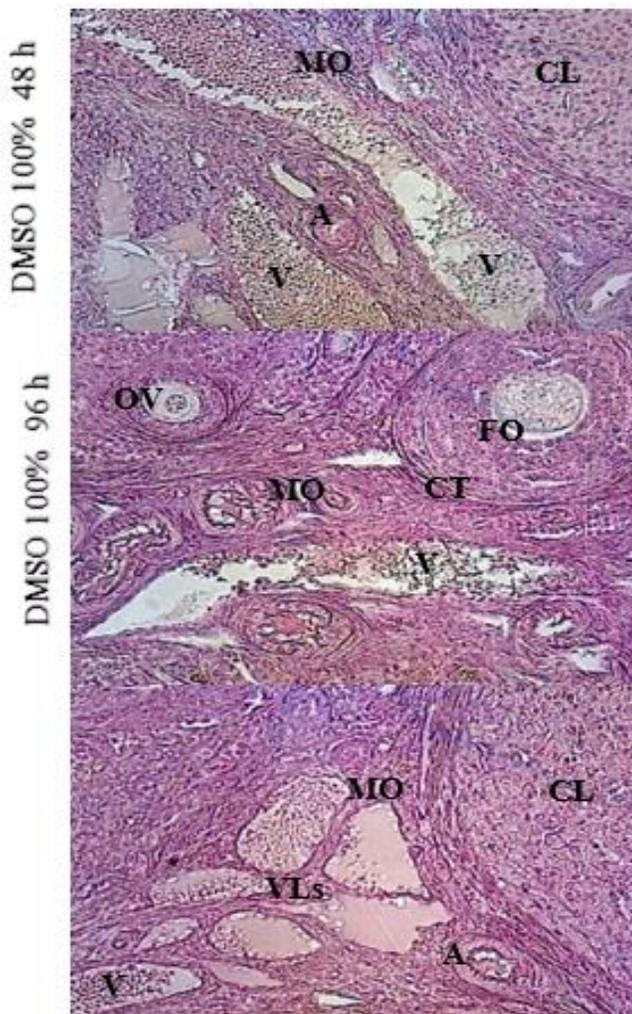


Figura 6 Imágenes a 100X de los efectos de la microinyección con 20 μ L de DMSO 100% en el tejido ovárico de la rata de la cepa CII-ZV. No se aprecian signos de alteración estructural ni de necrosis en la corteza ovárica. MO: médula ovárica; CT: céls. de la teca; VLs: vasos linfáticos; A: arteriola; V: vénula; CL: cuerpo lúteo; FO: folículo ovárico; OV: ovocito

La inyección de las disoluciones con DMSO 100%, 50% y 25%, tanto a las 2 horas como a las 24 horas posteriores a la inyección subcutánea, no mostraron signos de irritación, distensión o necrosis en diferentes órganos de la piel. En la Figura 7, se muestran algunas imágenes del tratamiento con el DMSO al 100%.

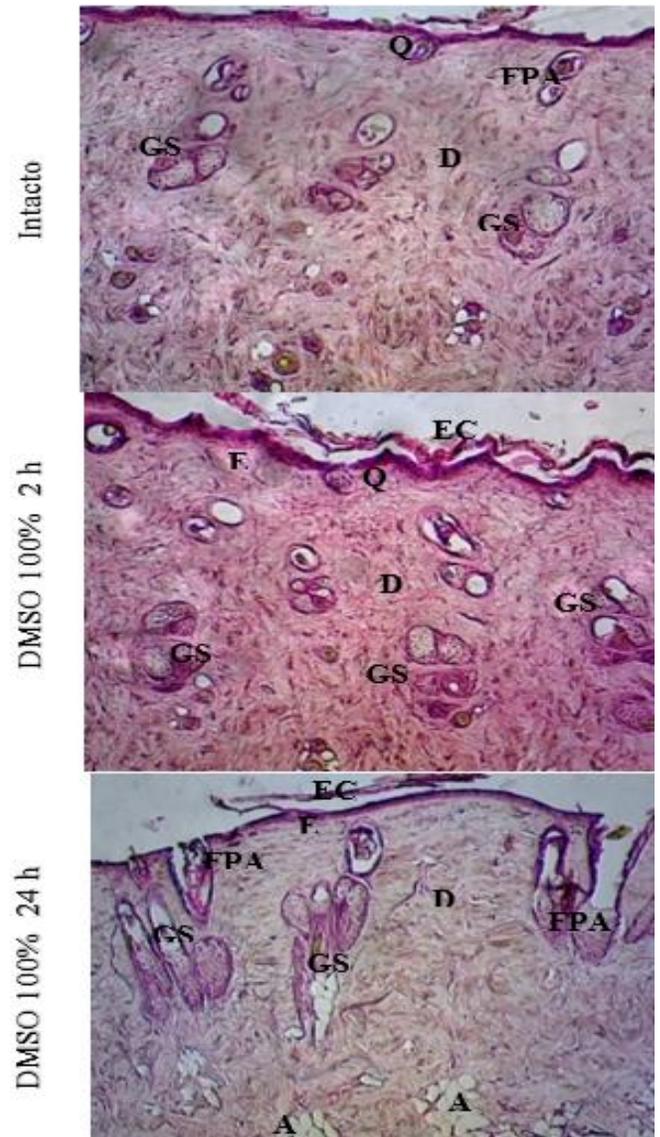


Figura 7 Imágenes de la piel de la rata alopecica hipotímica a 40X que muestran el efecto de la inyección subcutánea de 50 μ L de DMSO al 100% 2 y 24 horas después del tratamiento. GS: glándula sebácea; FPA: folículo piloso atrofiado; E: epidermis; D: dermis; EC: estrato corneo; A: adipocitos; Q: queratinocito. GS: glándula sebácea

Discusión de Resultados

Los resultados del presente trabajo muestran que tanto la inyección subcutánea como y la microinyección del DMSO dentro de las bursas ováricas no indujo alteraciones significativas en la estructura tisular de la piel ni en los tejidos anatómico-funcionales de los ovarios. No obstante, la utilización de soluciones con diferentes concentraciones de DMSO dentro de la bursa ovárica mostró algunos signos de distensión al nivel de la médula ovárica, particularmente en el sistema vascular que irriga a la gónada. Sin embargo, los compartimentos anatómicos y funcionales ubicados en la corteza del órgano no mostraron ningún cambio físico o alteración estructural en las células foliculares (teca y granulosa), ni en cuerpos lúteos o en la glándula intersticial, comparados con los cortes histológicos de un ovario intacto.

Al nivel del sistema vascular sanguíneo o linfático que irriga y drena la glándula, se lograron observar signos de inflamación o distensión que no involucraron procesos de muerte o necrosis celulares aparentes. Por ejemplo, cuando ocurre una infección, traumatismo o uso de agentes químicos citotóxicos, el tejido responde rápidamente con inflamación (distensión de vasos) e incluso con infiltración linfocitaria que termina con la remoción del tejido dañado (Dixon et al, 2014).

Recientemente, Dixon y colaboradores (2014) propusieron todo un protocolo de análisis histopatológico para la identificación de alteraciones tisulares producidas ante una lesión experimental o daño colateral ante ciertas manipulaciones quirúrgicas o toxicológicas en diferentes órganos del tracto genital de la rata y ratón hembra (entre los que se incluyen: ovarios, útero, cérvix y vagina), comparando cambios fisiológicos normales respecto a diversas lesiones patológicas.

Yoshida y colaboradores (2009), sugieren una metodología fundamentada en el análisis histológico del ovario de la rata cuando se empleen agentes farmacológicos potencialmente tóxicos para la gónada. En este estudio se analizó la morfología típica de la estructura ovárica en condiciones normales y en diferentes momentos del ciclo estral de 143 animales intactos. Los autores ponen de manifiesto que los tejidos ováricos y el propio ovocito son estructuras altamente sensibles a la manipulación farmacológica con sustancias potencialmente tóxicas y que por medio de métodos inmunohistoquímicos se pueden detectar alteraciones en la expresión de un antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA, por sus siglas en inglés) como biomarcador bioquímico en células del cuerpo lúteo, en células foliculares de la granulosa y de la teca, así como en el propio ovocito.

Nuestros resultados muestran que la aplicación de soluciones de DMSO en diferentes concentraciones no indujo alteraciones tisulares en los tejidos ováricos clave para la recepción de las señales adenohipofisarias: células de la teca y de la granulosa, ni en el compartimento luteal ni en el ovocito de folículos sanos.

La corteza del ovario de la rata es un órgano en constante recambio, ya que cada cuatro o cinco días presenta evento ovulatorio. La misma ovulación ha sido descrita como un evento “inflamatorio” que dispara mecanismos de alerta que activan al sistema inmunológico (Juengel et al, 1999). Por ejemplo, la ruptura de la pared folicular se inicia con la emisión de colagenasas que debilitan las uniones que delimitan al folículo y la posterior ruptura lesiona vasos con la subsecuente respuesta que conduce a la formación del cuerpo lúteo. Por otra parte, la atresia folicular es un evento apoptótico programado y altamente controlado a lo largo de la etapa reproductiva de la rata, que sin embargo no pareció verse alterado con la administración del DMSO.

La inyección subcutánea del DMSO tampoco alteró la organización tisular al nivel de la piel, sin mostrar signo alguno de posible inflamación y mucho menos necrosis. En este sentido, algunos autores incluso lo utilizan y promueven como un agente antiinflamatorio, para uso veterinario y como agente infiltrante de fármacos (Balakin & Ivanenkov, 2004; Balakin et al, 2006; Schleining & Reinertson, 2007a; Schleining & Reinertson, 2007b).

Mecklenburg y colaboradores (2013) han propuesto un protocolo de análisis histopatológico para la identificación de alteraciones tisulares producidas ante una lesión experimental o daño ante manipulaciones quirúrgicas o toxicológicas en el tejido tegumentario de la rata y ratón, comparando cambios fisiológicos normales respecto a diversas lesiones patológicas.

Wells y colaboradores (2010), mostraron que la inyección subcutánea de solución salina puede inducir hiperplasia en el tejido subcutáneo de la rata hembra y macho, a cuyos efectos aparentemente las hembras se reponen más fácilmente que los machos pero que también dependen de la edad del animal. En el presente trabajo, la aplicación de soluciones de DMSO en diferentes concentraciones no resultó en alteraciones claras de la morfología de la piel en ratas sanas adultas, lo que indica que este disolvente puede ser utilizado como agente infiltrante de medicamentos tópicos para el tratamiento de algunas enfermedades de la piel, como dermatitis, infecciones, inflamaciones, entre otras patologías (Bertelli et al, 1995; Guerre et al, 1999; Kingery, 1997; Swanson, 1985).

Por todo lo anterior, el DMSO pudiera ser propuesto como un disolvente de fármacos activos (drogas y antibióticos), insolubles o poco solubles en agua, que requieran de un efecto local rápido y eficaz en la terapia y manejo de lesiones o infecciones en la clínica veterinaria o para la administración de fármacos con uso potencial en la biología o la medicina experimental.

Conclusiones

A microinyección del DMSO, aplicado localmente en diferentes concentraciones, no produjo alteraciones histológicas significativas en los compartimentos anatómico-funcionales clave en el ovario de la rata adulta.

La inyección subcutánea del DMSO, aplicado localmente en diferentes concentraciones, tampoco indujo alteraciones histológicas significativas en los tejidos funcionales y estructurales de la piel de la rata adulta.

Agradecimientos

Nuestro Cuerpo Académico (CA-090) agradece al MVZ Franciso Ramos Collazo, director del Bioterio *Claude Bernard* de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, médico asignado al cuidado del bienestar de nuestros animales de experimentación, todas las facilidades y atenciones para el desarrollo del proyecto

Referencias

Alberts, B., Jhonson, A. Lewis, J. Raff, M. Roberts K. Walter, P. (2008). Membran Estructure. En: Molecular Biology of the Cell. 5th Edition. Eds. Alberts, B. Jhonson, A. Lewis, J. Raff, M. Roberts K. Walter, P. Garland Science, New York. Pp. 617-650.

Astley, J.P. & Levine, M. (1976). Effect of dimethyl sulfoxide on permeability of human skin in vitro. J. Pharm. Sci. Vol. 65. Pp. 210-215.

Baker, H. (1968). The effects of dimethyl sulfoxide, dimethyl formamide, and dimethylacetamide on the cutaneous barrier to water in human skin. J. Invest. Dermatol. Vol.50. Pp. 283-288.

- Balakin, K.V. & Ivanenkov, Y.A. (2004). In Silico Estimation of DMSO Solubility of Organic Compounds for Bioscreening. *Journal of Biomolecular Screening*. Vol. 9. Pp. 22-31.
- Balakin, K.V., Savchuk, P. & Tetko, V. (2006). In silico approaches to prediction of aqueous and DMSO solubility of drug-like compounds: trends, problems and solutions. *Curr. Med. Chem*. Vol.13. Pp. 223–241.
- Bertelli, G., Gozza, A. Forno, G.B. Vidili, M.G. Silvestro, S. Venturini, M. Del Mastro, L. Garrone, O. Rosso, R. & Dini, D. (1995). Topical dimethyl sulfoxide for the prevention of soft tissue injury after extravasation of vesicant cytotoxic drugs: a prospective clinical study. *J. Clin. Oncol*. Vol. 13. Pp. 2851-2855.
- Brisson, P. (1974). Percutaneous absorption. *CMA Journal*. Vol. 110. Pp.1182-1185.
- Brunton, L., Chabner, B. & Knollman, B. (2012). Transportadores de membrana y respuesta a los fármacos. En: Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª Ed. Eds. Giacomini, K. M. & Sugiyama, Y. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. México, D.F. Pp. 89-123.
- CCAC (Canadian Council on Animal Care). (1980). En: Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 1. Pp.53-54. Ottawa, CCAC.
- Chakrabarti R. & Schutt E. (2001). The enhancement of PCR amplification by low molecular weight amides. *Nucleic Acids Research*. Vol.29. Pp.2377-2381.
- Dixon, D., Alison, R. Bach, U. Colman, K. Foley, G. I. Harleman, J. H. Haworth, R. Herbert, R. Heuser, A. Long, G. Mirsky, M. Regan, K. Van Esch, E. Westwood, F. R. Vidal, J. & Yoshida, M. (2014). Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Female Reproductive System. *J Toxicol Pathol*. Vol. 27. Pp.1-107.
- Gaviño, G. Juárez, J. & Figueroa, T. H. H. (1992). Estudios Postmortem. En: Técnicas Biológicas Selectas de Laboratorio y de Campo. Capítulo VIII. LIMUSA. México. Pp. 57-80.
- Gourdon J. (2006). Rodent Anesthesia. CARE 101.01. Cornell Center for Animal Resources and Education. Cornell University.
- Guerre, P., Burgat, V. & Casali, F. (1999). Le diméthylsulfoxyde (DMSO) usages experimentaux et toxicité. *Rev. Méd. Vét*. Vol. 150. Pp. 391-412.
- Jacob, S. & De la Torre, C. (2009). Pharmacology of dimethyl sulfoxide in cardiac and CNS damage. *Pharmacological Reports*. Vol.61. Pp.225-235.
- Jacob, S.W. & Herschler, R. (1983). Dimethyl sulfoxide after twenty years. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. Vol. 411. Pp. 13-17.
- Jacob, S.W. & Herschler, R. (1986). Pharmacology of DMSO. *Cryobiology*. Vol.23. Pp.14-27.
- Juengel, J.L., E. Melntush & G. D. Niswender (1999). The corpus luteum. En: Encyclopedia of Reproduction. Tomo 1. Eds. Knobil, E. & Neill, J.D. Raven Press, New York. Pp. 703-708.
- Kingery, W.S. (1997). A critical review of controlled clinical trials for peripheral neuropathic pain and complex regional pain syndromes. *Pain*. Vol. 73. Pp. 123-139.
- Luna, L.G. (1975). Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company. New York. Pp. 21 y 52.

- Malten, K.E. & Den Arend, J. (1978). Topical toxicity of various concentrations of DMSO recorded with impedance measurements and water vapor loss measurements. Recording of skin's adaptation to repeated DMSO irritation. *Contact Dermat.* Vol. 4. Pp. 80-92.
- Mecklenburg, L., Kusewitt, D. Kolly, C. Treumann, S. Adams, E.T. Diegel, K. Yamate, J. Kaufmann, W. Müller, S. Danilenko, D. & Bradley A. (2013). Proliferative and Non-Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Integument. *J Toxicol Pathol.* Vol.26. Pp. 27-57.
- Mitryukovskii, L.S. (1970). Permeability of the hematocutaneous barrier for radioactive iodine-131 under the effect of dimethyl sulfoxide and dimethylformamide (in Russian). *Tr. Perm. Gos. Med. Inst.* Vol. 99. Pp. 353-355.
- Parkin, J., Shea, C. & Sant, G.R. (1997). Intravesical dimethyl sulfoxide (DMSO) for interstitial cystitis a practical approach. *Urology.* Vol. 49. Pp. 105-107.
- Pegg, E. (2007). Principles of cryopreservation. *Methods Mol Biol.* Vol. 368. Pp. 39-57.
- Pope, D.C. & Oliver, T. (1966). Dimethyl Sulfoxide (DMSO). *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* Vol. 30. Pp. 3-8.
- Santos, N.C., Figueira-Coelho, J. Saldanha, C. & Martins-Silva, J. (2002). Biochemical, biophysical and haemorheological effects of dimethyl sulphoxide on human erythrocyte calcium loading. *Cell Calcium.* Vol. 31. Pp. 183-188.
- Scheuplein, R.J. & Ross, I. (1970). Effects of surfactants and solvents on the permeability of epidermis. *J. Soc. Cosmetic. Chem.* Vol.21. Pp.853-873.
- Shirley, S.W., Steward, B.H. & Mirelman, S. (1978). Dimethyl sulfoxide in treatment of inflammatory genitourinary disorders. *Urology.* Vol. 11. Pp. 215-220.
- Schleining, J.A. & E.L. Reinertson (2007a). Evidence for dimethyl sulfoxide (DMSO) use in horses. Part 1: DMSO as a topical and intra-articular anti-inflammatory agent. *Equine Veterinary Education.* Vol. 19. Pp. 545-546.
- Schleining, J.A. & E.L. Reinertson (2007b). Evidence for dimethyl sulfoxide (DMSO) use in horses. Part 2: DMSO as a parenteral anti-inflammatory agent and as a pharmacological carrier. *Equine Veterinary Education.* Vol. 19. Pp. 598-599.
- Smith L.H., Opresko D.M., Holleman, J. W. & R.H. Ross (1983). Problem definition study of dimethyl sulfoxide (DMSO) and interactive health effects with other chemicals. En: "Oak Ridge National Laboratory (ORNL)". Union Carbide Corporation for the United States Department Energy / U.S. Army Medical Research and Development Command. Fort Detrick, Fredrick. MD. Pp. 1-164.
- Swanson, B.N. (1985). Medical use of dimethyl sulfoxide (DMSO). *Rev. Clin. Basic Pharm.* Vol. 5. Pp. 1-33.
- Sweeney, T.M., Downes, A.M. & Matoltsy, A.G. (1966). The effect of dimethyl sulfoxide on the epidermal water barrier. *J. Invest. Dermatol.* Vol. 46. Pp. 300-302.
- Vignes, R. (2000). Dimethyl sulfoxide (DMSO) A "new" clean, unique, superior solvent. ASC Presentation National Meeting 8/20-8/24/00. Memories of Annual Meeting for American Chemical Society annual. August 20-24, Washington, DC.

Wells, Y., Voute, H. Bellingard, V. Fisch, C. Boulifard, V. George, C & Picaut, P. (2010). Histomorphology and Vascular Lesions in Dorsal Rat Skin Used as Injection Sites for a Subcutaneous Toxicity Study. *Toxicologic Pathology*. Vol. 38. Pp. 258-266.

Wexler, P., Anderson, B. de Peyster, A. Gad, S. Hakkinen, P. J. Kamrin, M. Locey, B. Mehendale, H. Pope, C. & Shugart, L. (2005). Dimethyl Sulfoxide. En: *Encyclopedia of toxicology*. 2th Edition. Eds. Gad, S.E. Academic Press. Pp.51-52.

Yoshida, M., Sanbuissyo, A. Hisada, S. Takahashi, M. Ohno, Y. & Nishikawa, A. (2009). Morphological characterization of the ovary under normal cycling in rats and its viewpoints of ovarian toxicity detection. *The Journal of Toxicological Sciences (J. Toxicol. Sci.)* Vol.34. Pp.189-197.