

TOXICIDAD SOBRE MÉDULA ÓSEA PROVOCADA POR ESTRÓGENOS EN LA ESPECIE CANINA.

F. Varela Balcells

R E S U M E N

Desde hace tiempo se conoce que los estrógenos administrados exógenamente o de procedencia endógena pueden provocar un efecto tóxico sobre la médula ósea, especialmente en la especie canina. La toxicidad está en relación con la dosis, los diferentes tipos de estrógenos, la edad del animal y también la distinta sensibilidad individual.

La patogénesis de la mielotoxicidad es, en su mayor parte, desconocida. El proceso cursa invariablemente en su inicio con una hiperplasia granulocítica con leucocitosis, neutrofilia y desviación a la izquierda, con trombocitopenia y con anemia progresiva. Finalmente aparece disminución de todas las series hematopoyéticas, con hipoplasia o aplasia medular, que se refleja a nivel de la sangre con leucopenia, trombocitopenia y anemia (pancitopenia).

Si bien algunos de los animales afectados pueden recuperarse una vez eliminado el agente causal, son frecuentes los casos en que se desarrolla una aplasia crónica severa e irreversible y el paciente muere debido a anemia profunda, hemorragias masivas por trombocitopenia o infecciones bacterianas secundarias con aparición de cuadros sépticos debido a la neutropenia.

En el presente artículo revisamos dos casos clínicos de mielotoxicidad por estrógenos, uno después de administración exógena y otro provocado por un hiperestrogenismo asociado a un tumor testicular de células de Sertoli en un macho.

Palabras clave: Estrógeno; Mielotoxicidad; Pancitopenia.

A B S T R A C T

It is known for a long time that exogenously administered or endogenous estrogens can provoke a toxic effect on the bone marrow, particularly in the dog. Toxicity is directly correlated with the dose, the different type of estrogens, the animal age, and also the interindividual sensitivity.

The pathogenesis of myelotoxicity is mostly unknown. Initially, the process includes invariably a granulocytic hyperplasia and left shifted leukocytosis and neutrophilia followed by thrombocytopenia and progressive anemia. Finally, it appears a decrease of the whole hematopoietic series with a medullar hypoplasia or aplasia which is manifested through a leukopenia, a thrombocytopenia and an anemia (pancytopenia). Although some of the affected animals can recover once the aethiologic agent is removed, frequently a severe and irreversible chronic aplasia can occur and the patients die due to a deep anemia, thrombocytopenia caused-masive haemorrhagy, or a secondary bacterial infection with septic clinical signs caused by a neutropenia.

The purpose of the present article is to review two cases of estrogen toxicity, both due to exogenous administration and a hyperestrogenism associated to a testicular Sertoli cell tumor in a male.

Key words: Estrogen; Myelotoxicity; Pancytopenia.



INTRODUCCIÓN.

Las dos fuentes de estrógenos en cuanto a su posible efecto tóxico sobre la médula ósea son la administración exógena con finalidad terapéutica y los tumores testiculares productores de estrógenos, básicamente sertolinomas.

Desde hace años se vienen usando los estrógenos con una función terapéutica en diversos procesos: adenomas de glándulas perianales, hiperplasia prostática, incontinencia urinaria, falsa gestación, anestro prolongado y prevención de la concepción después de la monta^(20, 31). Son varios los compuestos usados, siendo los más corrientes en Europa el dietilelbestrol y el benzoato de estradiol, y en Estados Unidos el ciprionato de estradiol. El dietilelbestrol es el menos potente de los tres y se metaboliza rápidamente en el hígado⁽³¹⁾; se usa en general por vía oral. El benzoato y el ciprionato son ésteres sintéticos del estradiol⁽²⁰⁾; son más potentes y se usan por vía parenteral, el primero en varias dosis repetidas (persisten niveles en el organismo durante varios días) y el segundo se suele usar mediante administración única, pues persiste en el organismo varias semanas. Es importante destacar que las dosis usadas son aproximativas, ya que no existen estudios adecuados que distingan entre dosis terapéuticas y dosis tóxicas^(1, 31).

Los tumores testiculares productores de estrógenos son fundamentalmente sertolinomas. Constituyen un 60 % de los tumores en los testículos no descendidos⁽²¹⁾; son en general de crecimiento lento y no invasivo⁽²¹⁾ aunque se considera que un 10 % pueden metastatizar a ganglios linfáticos regionales, pulmón e hígado^(2, 3). El tamaño es variable, entre 2 y 12,5 cm⁽³⁾. Están recubiertos de una cápsula blanca y al corte muestran una red de tejido esponjoso, de color blanco a marrón, formando lóbulos blandos separados por tejido fibroso. En algunas ocasiones pueden observarse quistes en medio del tejido tumoral, y si el tumor es grande se observan también focos de necrosis y hemorragia⁽²¹⁾ (Figs. 1 y 2).

Se considera que el 53 % de los tumores de células de Sertoli tienen lugar en testículos retenidos y los que se presentan en testículos retenidos en la ingle son el doble de los que aparecen en testículos intraabdominales⁽²⁶⁾. El riesgo de que un testículo retenido desarrolle con el tiempo un sertolinoma es 10 veces superior al de un testículo en su emplazamiento normal^(2, 21, 24).



Fig. 1. Testículo criptorquídico con un tumor de células de Sertoli. El testículo había aumentado unas 3 veces su tamaño normal y estaba alojado en el canal inguinal.

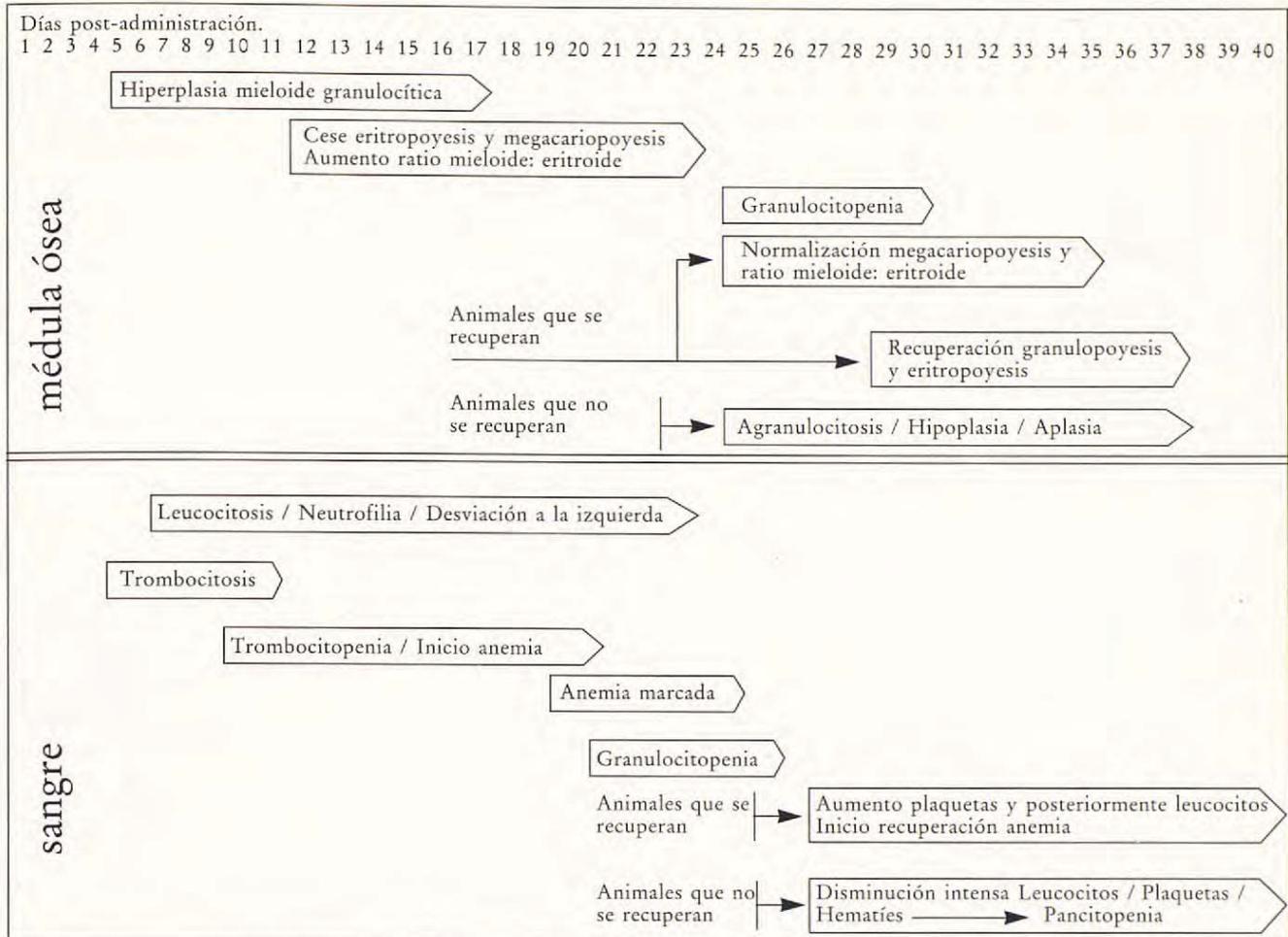


Fig. 2. Sección del testículo de la Fig. anterior. El tumor ocupa toda la glándula. Se pueden observar múltiples focos hemorrágicos.

Entre un 30 % y un 59 % según los autores^(4, 21) de los perros con sertolinomas presentan síndrome de feminización, que suele asociarse con tumores en testículos retenidos (más que a tumores en testículos en el escroto) y a tumores de tamaño grande^(3, 27). El síndrome de feminización se caracteriza por hiperpigmentación de la piel, alopecia simétrica de tórax ventral y abdomen, ginecomastia con agrandamiento de pezones, atracción por otros machos, atrofia del testículo contrario y atrofia prostática (aunque en algunos casos se describe hipertrofia prostática debida a metaplasia escamosa provocada por los estrógenos). En un pequeño porcentaje de estos animales se presentan alteraciones en médula ósea y citopenias en sangre periférica^(2, 3, 8, 21, 29). Hay que destacar que no siempre es posible hallar niveles elevados de estradiol sérico en los animales afectados⁽²⁷⁾, incluso cuando se presenta un síndrome de feminización evidente. Ello es debido a que algunos tumores producen otro tipo de estrógenos, como estrona



Tabla I.



o incluso andrógenos no testosterónicos (andros-tenodiona) que son convertidos en estrógenos en los órganos diana, básicamente piel y médula ósea^(5, 8). Se ha descrito un caso de secreción de progesterona por un tumor de células de Sertoli⁽⁹⁾. En otros casos se hallan niveles muy elevados de estrógenos en el propio tumor^(3, 4) y en suero⁽²⁹⁾.

CAMBIOS PROVOCADOS POR LOS ESTRÓGENOS A NIVEL DE MÉDULA ÓSEA Y SANGRE.

Gracias a los estudios en perros inyectados de forma experimental y también en animales tratados con finalidad terapéutica, se han podido secuenciar de forma detallada los cambios que tienen lugar en las células sanguíneas y en sus precursores medulares después de la administración de estrógenos^(8, 13, 29, 35). Estos cambios se instauran de forma progresiva y se observa una buena correlación entre las alteraciones a nivel medular y sanguíneo⁽¹³⁾. En la Tabla I se han

secuenciado de forma esquemática estas alteraciones.

Se observa en primer lugar a nivel de médula ósea una hiperplasia mieloide granulocítica^(20, 28, 33) que se corresponderá a nivel hemático con leucocitosis, número elevado de neutrófilos maduros y desviación a la izquierda^(8, 13, 33-35); en algunos casos puede observarse monocitosis⁽¹³⁾. También aparece trombocitosis de muy corta duración⁽²⁰⁾. Paulatinamente cesa la eritropoyesis y megacariopoyesis medular^(8, 20, 29, 31, 34) y aumenta el ratio mieloide:eritroide^(13, 20). Ello coincide a nivel hemático con trombocitopenia^(13, 20, 31, 33, 34) y anemia moderada, más intensa a partir de los 21 días^(13, 28, 31, 34). También alrededor de los 21 días puede observarse en la médula ósea el cese de la granulopoyesis⁽²⁰⁾; a su vez en los animales que se recuperan se normalizan progresivamente la megacariopoyesis y el ratio mieloide:eritroide⁽¹³⁾. En estos casos se va recuperando la eritropoyesis y la granulopoyesis de forma paulatina. A nivel hemático se observa en esta última fase granulocitopenia^(13, 31, 35) y en los animales



que se recuperan aparecerá un aumento de plaquetas y posteriormente de hematíes y leucocitos^(31, 34).

En los individuos incapaces de recuperarse, la médula ósea presentará agranulocitosis marcada, con hipoplasia severa generalizada, pobreza de precursores mieloides, eritroides y megacariocitos^(13, 28, 29, 33, 34) y en algunos casos aplasia completa^(5, 16, 34, 35). Puede observarse un aumento de la grasa medular^(30, 31, 33, 35), fibrosis moderada⁽⁸⁾ y un número variable de linfocitos, células plasmáticas, mastocitos y macrófagos^(5, 8, 13, 29, 31). Estas alteraciones se reflejan en la sangre como una disminución muy marcada de leucocitos, plaquetas y hematíes (pancitopenia)^(13, 33, 35) (Figs. 3 y 5).

PATOGENIA DE LA TOXICIDAD MEDULAR POR ESTRÓGENOS.

Los mecanismos por los cuales los estrógenos dan lugar a hipoplasia-aplasia medular son desconocidos, aunque se piensa que sus efectos pueden tener lugar tanto a nivel de la red estromal de la médula ósea como a nivel de los precursores celulares propiamente dichos^(31, 33, 34). Este entramado estromal no funciona sólo como un tejido de soporte pasivo, sino que también aporta factores que controlan el crecimiento y la diferenciación de las células progenitoras. A este complejo de células estromales, medulares y factores de crecimiento se lo conoce como microambiente inductivo hematopoyético^(11, 13, 20, 34).

La médula ósea lleva a cabo una función altamente especializada, proporcionando la cantidad y calidad correcta de distintos tipos celulares para cubrir las diversas necesidades fisiológicas,

procurando la distinta función, número y tiempo de supervivencia de las células sanguíneas que de ella se derivan. Para ello es imprescindible la organización de los tipos celulares en unos niveles jerárquicos determinados^(11, 22), tal como se describe en la Gráfica A.

En el nivel más elevado de esta jerarquía se encuentra la célula madre hematopoyética pluripotencial, capaz de dar lugar a colonias puras o mixtas de células eritroides, granulocíticas, megacariocíticas y probablemente linfoideas. Todas las células de una colonia dada poseen una dotación genética idéntica; así cada una de estas colonias es un clon derivado de una única célula madre^(11, 22). Los factores que regulan las distintas vías de diferenciación celular vienen recogidas también en la Gráfica A.

El estudio de células de médula ósea canina *in vitro* ha permitido identificar una población de células "adherentes" que se consideran como un componente importante del microambiente hematopoyético. Estas células dan soporte al crecimiento *in vitro* de las células madre hematopoyéticas en ausencia de factores estimuladores de colonias exógenos. Las células "adherentes" incluyen diversos tipos de fibroblastos, los precursores de los cuales pueden ser cuantificados como CFU-F (unidades formadoras de colonias de fibroblastos)^(13, 20).

Mediante la inyección experimental de estrógenos en perros se ha visto como en el plazo de 1-2 semanas post-tratamiento disminuye la concentración de CFU-F y en el plazo de 2-3 semanas la de CFU-GM (unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos), que se amplía hasta las 4-5 semanas en los animales que desarrollan neutropenia y trombocitopenia. Se ha visto también que las células adherentes

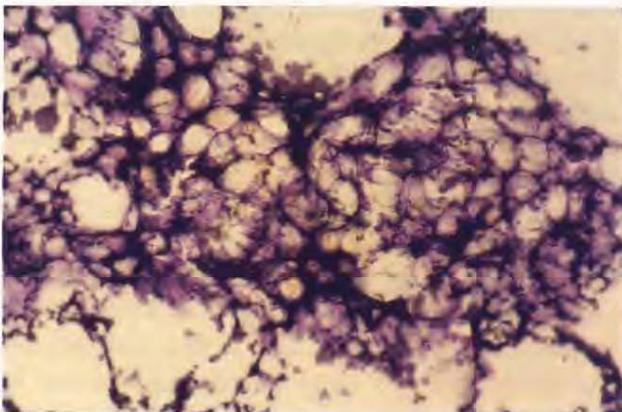


Fig. 3. Médula ósea hipocelular. Obsérvese la baja celularidad y el predominio de grasa ($\times 100$).

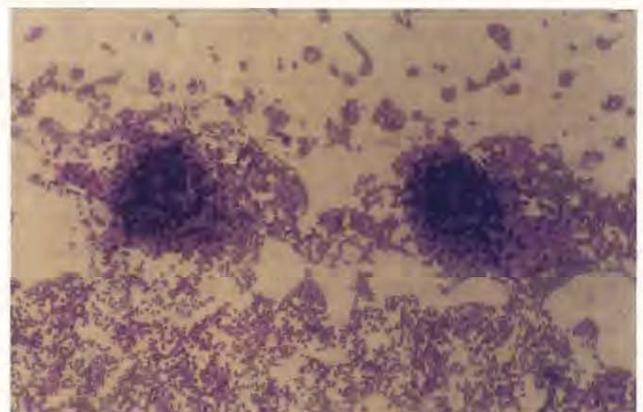
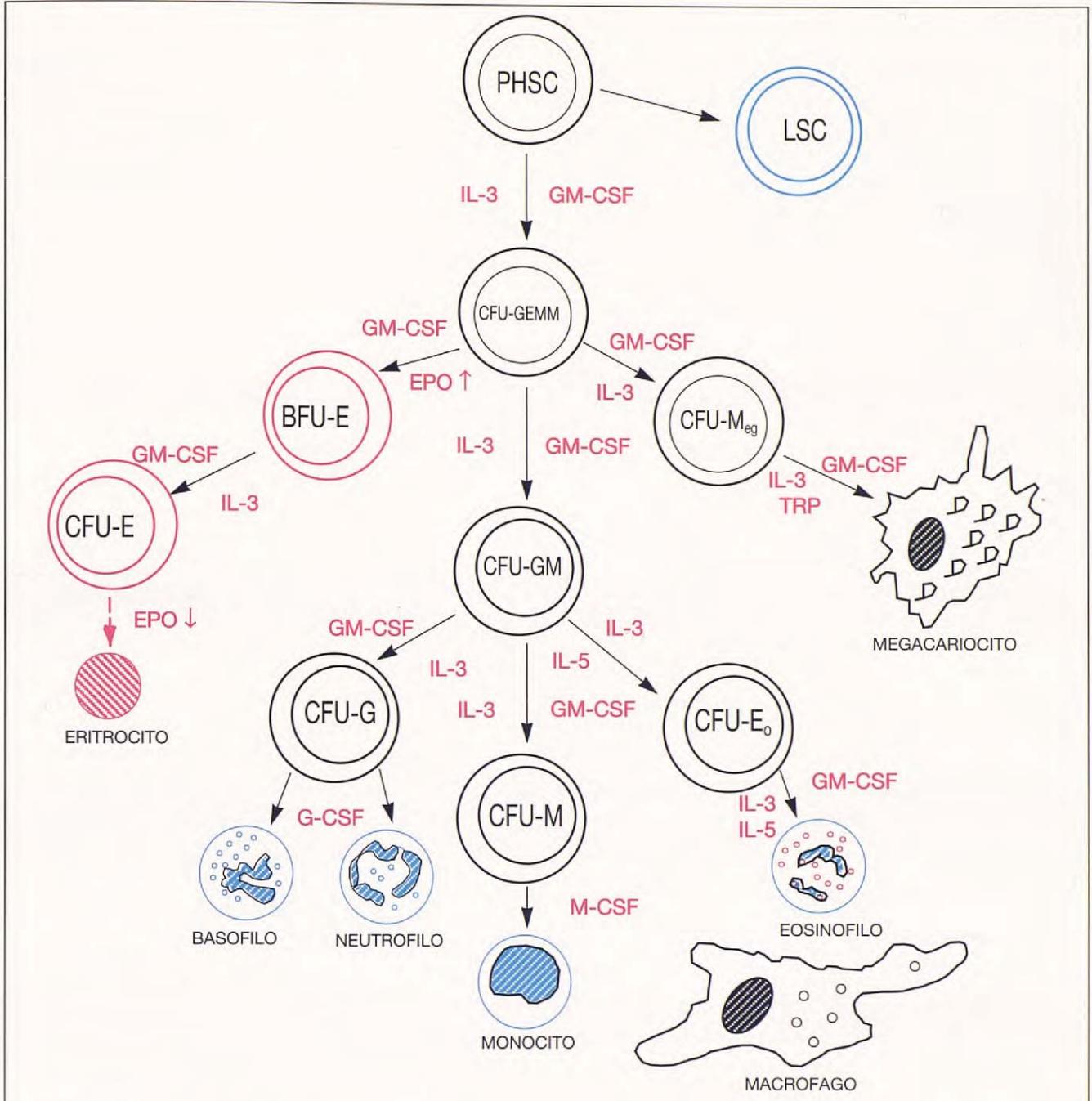


Fig. 4. Médula ósea canina normal. Se observan las características epiculas (partículas unitarias o *clusters* celulares) con elevada celularidad ($\times 100$).



Gráfica A.



PHSC: Célula madre hematopoyética pluripotencial.

CFU-GEMM: Unidad formadora de colonias de granulocitos, eritrocitos, macrófagos y megacariocitos.

LSC: Célula madre linfoide.

CFU-GM: Unidad formadora de colonias de granulocitos y macrófagos.

CFU-Meg: Unidad formadora de colonias de megacariocitos.

CFU-G: Unidad formadora de colonias de granulocitos.

CFU-M: Unidad formadora de colonias de macrófagos.

CFU-Eo: Unidad formadora de colonias de eosinófilos.

BFU-E: Unidad formadora de expansión eritroide.

CFU-E: Unidad formadora de colonias eritroides.

IL-3: Interleucina 3.

GM-CSF: Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos.

EPO ↑/↓: Eritropoyetina a alta y baja concentración.

TRP: Trombopoyetina.

Referencias bibliográficas 11, 22, 25, 34





Tabla II.

Signos generales	Valores hemáticos
Debilidad	<i>Hemograma</i>
Depresión	Anemia normocítica, normocromica
Anorexia	no regenerativa
Fiebre	Leucopenia (granulocitopenia)
Palidez de mucosas	Trombocitopenia
Petequias	
Hemorragias	<i>Bioquímica hemática:</i> normal
	<i>Pruebas de coagulación:</i> normales
Infecciones urinarias	
Prostatomegalia	
Atrofia de próstata*	

*Si bien los estrógenos suelen provocar atrofia de próstata en los machos, en algunos casos pueden dar lugar a una metaplasia escamosa de dicha glándula, que cursará con prostatomegalia.

de la médula ósea no pierden la capacidad de soportar el crecimiento de colonias de CFU-GM, tanto *in vivo* como *in vitro*. No se ha podido demostrar que exista un efecto citotóxico directo de los estrógenos sobre las células madre hematopoyéticas ni sobre el microambiente medular, al menos *in vitro* en lo que se refiere a este último caso^(13, 20).

La disminución de CFU-GM parece atribuible al aumento de la diferenciación de estos precursores durante la fase de incremento de la granulopoyesis. Así mismo, la disminución de CFU-F puede representar un incremento de la diferenciación y expansión de la población de fibroblastos medulares para soportar el aumento de la granulopoyesis⁽¹³⁾. Se desconoce si los estrógenos pueden afectar a los linfocitos o a otras células reguladoras de la hematopoyesis; tampoco puede descartarse la existencia de una hipotética citotoxicidad por metabolitos estrogénicos que no se generen en ensayos *in vitro*^(13, 33).

SIGNOS CLÍNICOS. DIAGNÓSTICO.

En general la toxicidad por estrógenos se suele detectar en la práctica clínica en fases avanzadas, siendo en muchos casos el primer signo que llama la atención la presencia de epistaxis o petequias, acompañado de debilidad y malestar general^(8, 29-31, 35).

La anamnesis puede aportar datos valiosos en cuanto a posibles tratamientos previos con estrógenos (especialmente para provocar abortos en hembras después de montas no deseadas) o en machos por la presencia de testículos tumorales en el escroto, retenidos en la ingle o en la cavidad abdominal, acompañado generalmente de síndrome de feminización^(3, 4, 8, 27, 29).

Los signos clínicos más frecuentes, así como las alteraciones analíticas se han resumido en la Tabla II^(4, 8, 21, 29-31).

Es determinante para el diagnóstico la punción o la biopsia de médula ósea⁽³⁴⁾.

TRATAMIENTO.

El tratamiento debe ir encaminado en primer lugar a resolver las alteraciones que ponen en peligro inmediato la vida del animal, a suprimir la fuente de estrógenos y a estimular la médula ósea^(31, 32, 34). El éxito de dicho tratamiento dependerá de la capacidad que se tenga de mantener al paciente mediante una terapia sintomática que permita ganar tiempo para que la médula ósea se recupere, a la vez que se procura ejercer un efecto terapéutico estimulante sobre la misma⁽²⁹⁾.

1) TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA.

En los casos de anemia grave y sangrado por trombocitopenia será necesario realizar transfusiones que muchas veces deberán ser repetidas, lo que implica conocer la compatibilidad donante-receptor. La sangre usada debe ser fresca y si el problema principal es la trombocitopenia, puede usarse también plasma rico en plaquetas^(8, 11, 29, 31, 34).

2) ANTIBIÓTICOS.

Los animales con neutropenia severa (menos de 200 neutrófilos segmentados por microlitro) desarrollan invariablemente infecciones oportunistas que en general acaban en septicemias mortales. Debido a ello es necesaria la administración de antibióticos de amplio espectro^(8, 15, 29, 31, 34). Deben usarse únicamente antibióticos bactericidas y si es posible seleccionados en base a cultivos a partir de sangre y antibiogramas^(6, 14).

3) SUPRESIÓN DE LA FUENTE DE ESTRÓGENOS.

En el caso de la administración exógena de estrógenos, la primera medida será lógicamente el cese del tratamiento. Cuando los estrógenos provengan de la secreción por un tumor testicular



RCCI: Los alimentos "Premium" de Royal Canin

¿QUE ES UN "PREMIUM"?

Como compañero del hombre, el perro ocupa cada día un lugar más privilegiado en la sociedad actual. Por ello, los propietarios más informados y exigentes demandan los productos de mayor calidad. Para responder a esta demanda, Royal Canin elabora sus alimentos "altos de gama". Mucho más que un eslogan publicitario, esta categoría de productos debe responder a unos criterios de excelencia nutricional y tecnológica:

- ALTA DIGESTIBILIDAD.
- MAXIMA PALATABILIDAD.
- OPTIMA COBERTURA DE LAS NECESIDADES NUTRICIONALES.
- ASOCIACION DE MATERIAS PRIMAS DE ALTA CALIDAD.
- FORMULA CONSTANTE.
- PROCEDIMIENTOS INDUSTRIALES TECNOLOGICAMENTE AVANZADOS.
- OPTIMA CONSERVACION.

CINCO CUESTIONES PARA ALIMENTAR MEJOR A SU PERRO:

1 ¿QUE EDAD TIENE SU PERRO?

ADULTO



2 ¿DE QUE RAZA ES SU PERRO?

RAZAS
MEDIANAS Y GRANDES
(>10 KG.)



3 ¿CUAL ES SU ACTIVIDAD COTIDIANA?

ACTIVIDAD
NORMAL



4 ¿QUE TIPO DE ALIMENTO PREFIERE?



5 SI SU PERRA ESTA EN PERIODO DE REPRODUCCION

GESTACION

LACTACION





de células de Sertoli, el animal deberá ser castrado tan pronto como su estado lo permita^(4, 8, 29).

4) ESTEROIDES ANABOLIZANTES.

No provocan estímulo directo sobre las células madre pluripotenciales⁽⁸⁾ pero se ha visto que estimulan la producción de eritropoyetina, que sí es un activador de estas células⁽⁷⁾. Algunos autores apuntan algún efecto estimulante sobre la granulopoyesis⁽³¹⁾. En todo caso el efecto de los esteroides anabolizantes en la hipoplasia-aplasia medular depende en su mayor parte de la cantidad de actividad hematopoyética residual que quede en la médula ósea, y su efectividad será mayor cuanto antes se inicie su administración^(7, 31). Los tratamientos deben ser largos (3 meses o más) siendo los productos más usados el decanoato de nandrolona, el enantato de testosterona y la oximetolona^(7, 31, 32, 34).

5) CORTICOIDES.

A pesar de que según algunos autores son útiles para disminuir la hemorragia asociada a trombocitopenia⁽³⁴⁾ y para estimular la producción de plaquetas⁽¹⁰⁾ para otros no existe una base científica suficiente que justifique su uso en la hipoplasia-aplasia medular por estrógenos⁽³¹⁾.

No es recomendable administrarlos cuando exista neutropenia severa, debido a su efecto negativo sobre la función neutrofílica, suprimiendo la actividad fagocítica y favoreciendo las infecciones bacterianas^(5, 10, 34).

6) LITIO.

Diversos autores citan la posibilidad de que tenga un efecto beneficioso en los animales con hipoplasia-aplasia medular por estrógenos^(18, 23, 31). Se cree que estimula la diferenciación de las células madre pluripotenciales de la médula ósea, pero no se conoce el mecanismo⁽³¹⁾.

7) VITAMINAS Y MINERALES.

No hay una base científica clara y contrastada que justifique su uso en la hipoplasia-aplasia medular por estrógenos⁽³¹⁾.

8) FACTORES DE CRECIMIENTO HEMATOPOYÉTICO (ESTIMULADORES DE COLONIAS). INTERLEUCINAS.

- Factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF).

Es el que se conoce mejor en medicina veterinaria. Actúa sobre los precursores granulocíticos comprometidos, estimulando la diferenciación y la función de los neutrófilos⁽¹¹⁾. Actualmente se ha obtenido la molécula recombinante canina, que aplicada en perros sanos da lugar a incrementos importantes del número de neutrófilos en las primeras 24 horas de su aplicación, y que son máximos a los 19 días, manteniéndose a este nivel mientras se sigue la administración; una vez ésta cesa, vuelven a los valores normales en 5 días^(11, 25). Los niveles de monocitos y linfocitos no se alteran⁽¹¹⁾. Se ha usado con éxito para evitar o reducir la mielosupresión provocada por el uso de drogas antitumorales y en la neutropenia cíclica del collie^(11, 19, 25). No tiene efecto estimulante sobre la eritropoyesis y la trombopoyesis⁽²⁵⁾.

- Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

Se ha usado con éxito en anemias aplásicas severas en humanos; aumenta el número de neutrófilos y monocitos de forma transitoria, incrementando la celularidad de la médula ósea sin aumentar el número de unidades formadoras de colonias y reduce la necesidad de transfusiones al estimular la hematopoyesis residual^(25, 34). Junto con la interleucina 3 estimula los precursores hematopoyéticos y regula la trombopoyesis⁽²⁵⁾.

El factor humano administrado a perros sanos mediante infusión endovenosa continua durante 14 días es tolerado perfectamente y es capaz de incrementar el número de neutrófilos en 3-6 veces. A los 3-7 días de cesar su administración los valores vuelven a la normalidad⁽³⁴⁾.

- Interleucina 3 (IL-3)

Afecta a los progenitores multipotenciales en una fase más precoz que los anteriores⁽¹⁹⁾. Tiene un efecto aditivo con GM-CSF sobre granulocitos y plaquetas. Se ha usado en medicina humana para tratar la anemia aplásica y la mielodisplasia, obteniéndose un aumento considerable en el número de granulocitos, plaquetas y eritrocitos⁽²⁵⁾.





Tratamiento médico de la hipoplasia-aplasia de médula ósea por estrógenos.

Transfusión	Sangre fresca 25 ml/kg Plasma rico en plaquetas 50 ml/kg
Antibióticos(1)	
Infecciones graves Febril	Gentamicina 1-3 mg/kg/i.v./8 h Cefalotina 20-30 mg/kg/i.v./6 h Gentamicina 2,2 mg/kg+cefalotina 20 mg/kg/i.v./8 h Penicilina 25.000 UI/kg/i.v./6 h Cefoxitin 22 mg/kg/i.v.-im/8 h
Infecciones leves No febril	Sulfadiazina-trimetoprim 13-20 mg/kg/oral/12 h Enrofloxacin 2,3 mg/kg/oral/12 h
Anaerobios	Metronidazol 15 mg/kg/i.v./12 h
Esteroides anabolizantes	Oximetolona 1-3 mg/kg/día/oral Decanoato de nandrolona 1-1,5 mg/kg/semana/i.m.
Litio	Citrato de litio 10-12 mg/kg/oral/12 h Carbonato de litio
Factores de crecimiento hematopoyético/interleucinas	G-CSF 5 mcg/kg/día(2) GM-CSF/IL-3(3)

(1)Es importante controlar la función renal cuando se administran aminoglucósidos.

(2)No está disponible comercialmente la molécula recombinante canina, sí la humana con los nombres comerciales de Granulokine (Lab. Pensa) y Neupogen (Lab. Roche).

(3)Sólo se han obtenido las moléculas recombinantes humanas, que actualmente no están disponibles comercialmente en nuestro país. No hay dosis estandarizadas para el perro.

No se cita en la bibliografía consultada el uso de estos factores para la patología que nos ocupa.

9) TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA.

Las técnicas del trasplante de médula ósea están perfectamente establecidas en el perro desde hace años, ya que esta especie se ha usado como modelo experimental para los trasplantes en humanos, sin embargo el problema principal es por el momento la obtención de donantes compatibles⁽¹²⁾.

PRONÓSTICO.

El pronóstico varía por regla general entre reservado y grave, dependiendo del grado de depresión de los componentes formes de la sangre, lo cual parece ligado a variaciones en la sensibilidad individual y especialmente a la edad del animal⁽³¹⁾.

Los criterios de recuperación serán básicamente el aumento del número de reticulocitos, de leucocitos (especialmente granulocitos) y posteriormente de plaquetas, que pueden ser las que más tardíamente se recuperen⁽²⁹⁾. Las trombocitopenias que duran más de 2 semanas ensombrecen el pronóstico⁽³¹⁾.

La muerte se produce en general por septi-

cemia debido a la neutropenia^(10, 29) y también por hemorragias en los animales en que no se controla la trombocitopenia mediante transfusiones repetidas. Los pacientes pueden morir de forma tardía hasta 1 o 2 meses después del diagnóstico⁽³¹⁾ aunque se reportan casos de recuperaciones al cabo de dos meses y medio⁽³⁵⁾.

CASOS CLÍNICOS.

CASO 1

Corresponde a un perro macho, cruce de pastor alemán de 10 años de edad.

Historia clínica. Tratado con éxito de una hiperplasia de próstata con un antiandrogénico oral (acetato de ciproterona)⁽¹⁾. Un año y medio después se detecta un agrandamiento considerable de un testículo alojado en el canal inguinal y se recomienda su extracción. Un mes después visitamos de nuevo al animal debido a una epistaxis profusa bilateral de 24 horas de duración, anorexia y depresión.

En la exploración observamos petequias en membranas mucosas, hiperpigmentación de la zona cutánea abdominal y ginecomastia. El testículo retenido no fue extraído y se palpa fácilmente en la zona abdominal subcutánea próxima

⁽¹⁾Androcur tabl., Lab. Schering.



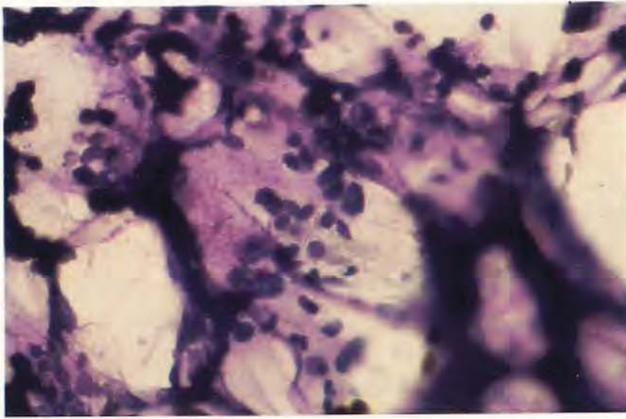


Fig. 5. Médula ósea hipocelular. Se observa un bajo número de precursores eritroides y mieloides con notable aumento de la grasa y del tejido conjuntivo ($\times 400$).

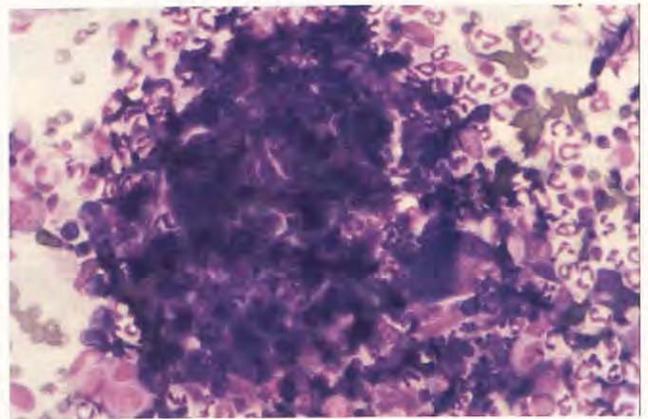


Fig. 6. Médula ósea canina normal. Contrasta con la médula hipocelular de la foto anterior por la gran variedad y riqueza de precursores hemáticos ($\times 400$). Las muestras de las Figs. 3, 4, 5 y 6 han sido obtenidas por punción costal y aspiración con aguja fina. Tinción con Diff-Quick.

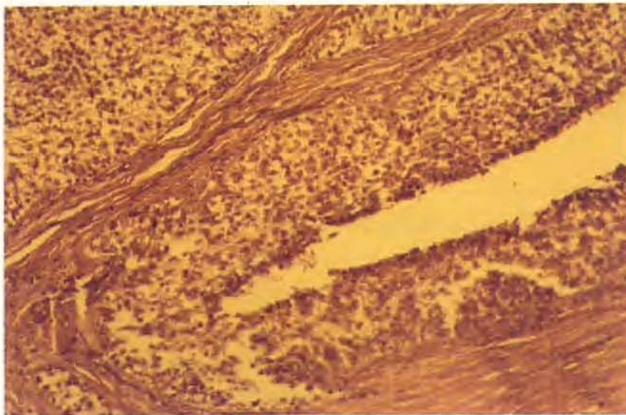


Fig. 7. Estudio histológico del tumor de células de Sertoli que muestra la proliferación de las células tumorales desde el tejido conjuntivo de soporte (fibras alargadas) hacia la luz del túbulo. Tinción con hematoxilina-eosina ($\times 100$).

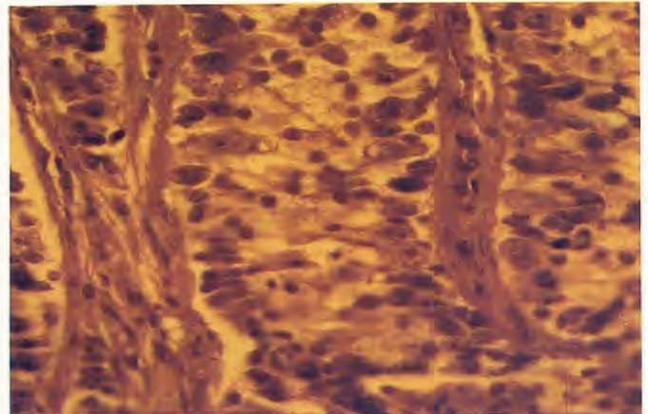


Fig. 8. Detalle del tejido tumoral. Las células adoptan en su proliferación un patrón tubular; están aumentadas de tamaño y su citoplasma es pálido, con núcleos pleomórficos, voluminosos y vesiculares. Tinción con hematoxilina-eosina ($\times 400$).

al pene; el aspecto es claramente tumoral. El testículo contralateral, alojado en la bolsa escrotal, está atrofiado. La temperatura rectal es normal ($38\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Perfil hemático.

Hematocrito 19,1 %	Anisocitosis y policromasia intensa	glucosa 116 mg/dl
Hemoglobina 6,4 g/dl	Leucocitos $800/\text{mm}^3$	urea 31 mg/dl
Hemáties $2,6 \times 10^6/\text{mm}^3$	Fórmula leucocitaria:	creatinina 0,9 mg/dl
V.C.M. 73,4 fl	Neutrófilos:	bilirrub. tot. 0,4 mg/dl
H.C.M. 24,6 pg	segmentados $416/\text{mm}^3$	AST(GOT) 41 UI/L
C.C.M.H. 33,5 %	neutróf. banda $48/\text{mm}^3$	ALT(GPT) 55 UI/L
Reticulocitos 0,5 %	eosinófilos $64/\text{mm}^3$	fosfat. alcal. 62 UI/L
Plaquetas $20.000/\text{mm}^3$	linfocitos $216/\text{mm}^3$	amilasa 315 UI/L
	monocitos $56/\text{mm}^3$	calcio 9,9 mg/dl
Proteínas tot. 8,8 g/dl	Orina* ph 8	fibrinógeno 280 mg/dl
Albumina 2,45 g/dl	proteína 30	

Anticuerpos contra *Ehrlichia canis* (IFI) - negativo
 Anticuerpos contra *Leishmania* (IFI) - negativo
 17- β -estradiol en suero (RIA) - 8 pg/ml (V.N. 10-20 pg/ml)
 Progesterona en suero (RIA) - 2,7 ng/ml (V.N. <1 ng/ml)
 Testosterona en suero (RIA) - 3,7 ng/ml (V.N. 0,75-4 ng/ml)

*Combust test, tiras reactivas, Lab. Boehringer Mannheim.

Evaluación de la médula ósea (punción costal) -se observan espículas (partículas unitarias o *clusters* celulares) con baja celularidad (<25 % de células) y predominio de grasa (Figs. 3 y 5).

Se aprecia un número bajo de precursores eritroides y mieloides, con los siguientes porcentajes:

- serie eritroide 19 % (V.N. 37-49 %)
- serie mioide 34 % (V.N. 45-65 %)
- ratio mioide-eritroide 1,8 (V.N. 1,42-5,64).

Aparece un incremento del número de linfocitos (47 %; V.N. 0-15 %) y de plasmocitos. No se observan megacariocitos.

Consideramos la médula ósea como hipocelular.

El diagnóstico es hipoplasia medular y pancitopenia debida a un tumor testicular de células de Sertoli productor de estrógenos.

A pesar del pronóstico desfavorable decidimos la castración del animal. En primer lugar se



Tabla III.

	Día 0	Día 7	Día 20	Día 26
Hematíes ×10 ⁶ /mm ³ VN: 5,5-8,5	3,08	3,76	4,46	6,02
Hemoglobina g/dl VN: 12-18	6,9	7,8	8,1	15
Hematocrito % VN: 37-55	22	26	22	44
V.C.M. % VN: 66-77	73	70	66	74
H.C.M. fl VN: 19,9-24,5	23	21	18	25
C.C.M.H. pg VN: 29-34	31	30	28	34
V.S.G. 1.ª h	43	19	4	0
2.ª h	80	35	15	1
Katz	41	18	6	0,25
Leucocitos/mm ³ VN: 6.000-17.000	1.000	4.300	8.000	6.500
Segmentados/mm ³ VN: 3.000-11.500	200	1.679	5.280	3.770
Linfocitos/mm ³ VN: 1.000-4.800	740	2.534	2.560	2.015
Eosinófilos/mm ³ VN: 100-1.250	-	-	160	585
Monocitos/mm ³ VN: 150-1.350	60	87	-	130
Plaquetas/mm ³ VN: 200.000-500.000	5.000	761.000	610.000	N.D.
Reticulocitos %	1	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: no determinado.

transfunden 250 ml de sangre entera fresca y se administra enrofloxacino¹ 5 mg/kg intramuscular. Una vez practicada la cirugía administramos decanoato de nandrolona² 1 mg/kg intramuscular y complejo vitamínico B³. Al día siguiente el animal presenta vómitos oscuros, por lo que prescribimos ranitidina⁴ 0,5 mg/kg cada 12 horas endovenosa y seguimos con el antibiótico. A las 48 horas de la cirugía han cesado los vómitos pero el animal no come y únicamente toma agua. La temperatura rectal es de 40 °C. Procedemos a la alimentación forzada oral⁵ pero el mismo día el animal muere.

El estudio histológico del testículo tumoral nos confirma que se trata de un sertolinoma (Figs. 7 y 8).

CASO 2.

Corresponde a un perro hembra, raza épagneul bretón de dos años y medio de edad.

Historia clínica. Atendemos al animal debido a un cuadro gastrointestinal con vómitos repe-

tidos y diarrea sanguinolenta. En la exploración se detecta ligero dolor abdominal y deshidratación moderada. La temperatura rectal es de 39,7 °C.

Se inició un tratamiento con suero Ringer lactato endovenoso, metoclopramida¹ 0,4 mg/kg/8 horas endovenosa, meglumina flunixinina² 0,5 mg/kg endovenosa y penicilina-estreptomicina³ 10 mg/kg (estreptomicina) cada 12 horas intramuscular. Al día siguiente el animal ha mejorado ligeramente pero observamos hemorragias petequiales subcutáneas en las extremidades posteriores, abdomen y membranas mucosas, que están ligeramente pálidas. La temperatura rectal es de 38,9 °C. Nos comenta el propietario que 3 semanas antes la perra fue inyectada con estrógenos para evitar la gestación después de una monta no deseada; desconoce la dosis (el producto era probablemente benzoato de estradiol).

Perfil hemático. Un hemograma muestra una pancitopenia, con valores especialmente bajos para leucocitos y plaquetas (Tabla II).

Las determinaciones de anticuerpos contra *Leishmania* y *Ehrlichia canis* fueron negativas. Dos muestras de médula ósea obtenidas por punción costal no fueron de suficiente calidad para poder ser evaluadas.

Diagnosticamos el proceso como pancitopenia debida a toxicidad por estrógenos y tratamos al animal con suero Ringer lactato, complejo vitamínico B⁴ decanoato de nandrolona⁵ 1 mg/kg intramuscular, prednisolona⁶ 1 mg/kg/día 2 días y penicilina-estreptomicina durante 2 días más.

Al tercer día ha cesado la diarrea, la temperatura rectal es de 38 °C y persisten las petequias. El estado general del animal es bueno; prescribimos como medicación penicilina (fenoximetilpenicilina)⁷ 10 mg/kg/8 horas por vía oral, prednisona⁸ 1 mg/kg a días alternos por vía oral y carbonato de litio⁹ 10 mg/kg/12 horas oral.

Al cabo de una semana revisamos de nuevo al animal. Su estado general es bueno. Repetimos la inyección de decanoato de nandrolona. Un nuevo hemograma muestra un grado importante de recuperación, especialmente en cuanto a las plaquetas (Tabla III). Proseguimos el mismo

⁽¹⁾Primperan iny., Lab. Delagrangé.⁽²⁾Fynadine iny., Lab. Schering.⁽³⁾Sincrozoo iny., Lab. Vetoquinol.⁽⁴⁾Becozyme iny., Lab. Roche.⁽⁵⁾Deca Durabolin iny., 25 mg, Lab. Organon.⁽⁶⁾Solu Dacortin H iny. 25 mg, Lab. Merck.⁽⁷⁾Bendralan comp. 250 mg, Lab. Antibióticos.⁽⁸⁾Prednisona Alonga comp. 10 mg, Lab. Alonga.⁽⁹⁾Plenur comp. 400 mg, Lab. Lasa.⁽¹⁾Baytril iny. 5 %, Lab. Bayer.⁽²⁾Deca Durabolin 25 mg iny., Lab. Organon.⁽³⁾Reavit Complejo B iny., Lab. SmithKline Beecham.⁽⁴⁾Ranuber iny., Lab. ICN Hubber.⁽⁵⁾a/d Prescription diet, Hill's.



tratamiento y a los 20 días del inicio de la terapia, un nuevo hemograma confirma la evolución favorable del proceso. Después de una semana todos los valores del hemograma se han normalizado (Tabla II). Consideramos el proceso resuelto y cesamos la medicación.

DISCUSIÓN.

De entre todas las causas que pueden provocar hipoplasia-aplasia medular en el perro, los estrógenos ocupan un pequeño porcentaje de los casos. Sin embargo, el hecho de que estas hormonas tengan diversas aplicaciones clínicas, unido al cuadro patológico grave que en algunos casos pueden provocar, hace necesario conocer los riesgos que puede conllevar su utilización y cuales serán los efectos yatrogénicos no deseados que pueden tener lugar. Por otra parte esta patología puede también aparecer asociada a tumores testiculares de células de Sertoli productores de estrógenos como un síndrome paraneoplásico.

En este último caso, y en nuestra experiencia (datos no publicados), los sertolinomas constituyen aproximadamente un 20 % de los tumores testiculares, y de este 20 % sólo una pequeña parte son secretores de estrógenos –y durante el tiempo suficiente– como para provocar alteraciones a nivel de médula ósea. De todas formas es recomendable siempre la extracción quirúrgica de los testículos criptóquidos y muy especialmente si están tumorados y el perro presenta signos de feminización.

El primer caso presentado es ilustrativo de ello, pues se aconsejó al propietario la castración del animal en el momento en que se detectó la tumoración del testículo retenido en la ingle; la intervención fue desestimada por el cliente y al cabo de un mes el animal presentaba ya el cuadro patológico, que probablemente no hubiera aparecido de haber sido intervenido en su momento. Es de destacar también en este caso que el animal había sido tratado un año y medio antes con un antiandrogénico oral debido a una hiperplasia prostática. Desconocemos si existe alguna relación entre este tratamiento y el posterior desarrollo de un sertolinoma en el testículo retenido en el canal inguinal; no hemos hallado datos al respecto en la bibliografía consultada.

En este primer caso, tanto el cuadro clínico como los hallazgos hematológicos son similares a los hallados por otros autores. El número de

plaquetas se obtuvo mediante conteo electrónico y no se contrastó con recuento manual, debido al bajísimo número de plaquetas observadas en la extensión de sangre y a la ausencia de megacariocitos en médula ósea, sospechamos que el número real de plaquetas fuera sensiblemente más bajo que el obtenido.

Si bien la presentación de pancitopenia es relativamente poco frecuente en la ehrlichiosis y en la leishmaniosis caninas, es aconsejable descartar dichas enfermedades parasitarias en nuestro entorno geográfico en los animales que presenten alteraciones hemáticas de este tipo.

En cuanto a los niveles de estrógenos, sólo se determinó el 17-B-estradiol, que resultó ser normal. Es probable que como indican otros autores^(5, 8, 27), los sertolinomas secreten otros tipos de estrógenos, además del mencionado, o incluso andrógenos no testosterónicos que se convierten en estrógenos en los órganos diana. De hecho el animal presentaba un síndrome de feminización evidente pese a tener niveles normales de testosterona; los niveles de progesterona eran ligeramente altos, y se sabe que en algunos casos los tumores de células de Sertoli pueden producir progesterona⁽⁹⁾.

Para la evaluación de la médula ósea obtenemos la muestra mediante punción costal a nivel de la unión costo-condral y aspiración con aguja fina. Este método tiene las ventajas de ser rápido y sencillo, puede realizarse con anestesia local mínima y el aspirado, una vez fijado y teñido (en nuestro caso usamos para la tinción un colorante rápido comercial)^a puede ser valorado en pocos minutos. Como inconvenientes presenta que las células obtenidas pierden su organización histológica (problema común a todas las muestras obtenidas por punción y aspiración) y que en algunas ocasiones pueden recogerse muestras hipocelulares o acelulares de médulas hipercelulares⁽¹⁷⁾; en caso de duda será necesario repetir la punción en puntos distintos y si aún así no se consiguen muestras adecuadas, deberá realizarse una biopsia para su posterior análisis histológico.

En el segundo caso presentado, la anamnesis y la historia clínica fueron esenciales para poder asociar el cuadro de pancitopenia con la administración previa de estrógenos; a la vez se procuró descartar todas las otras causas posibles (exposición a otras drogas o tóxicos, infecciones parasitarias, etc.). Desgraciadamente en

^(a) Diff.-Quick, Lab. Grifols





este caso no fue posible obtener muestras adecuadas para el estudio de la médula ósea después de varias punciones costales, y no se realizó biopsia.

El cuadro clínico en este animal probablemente vendría desencadenado por una infección oportunista del tracto gastro-intestinal debido a la neutropenia, asociado a déficit de la coagulación por el bajo número de plaquetas.

Es de destacar la recuperación rápida de la pancitopenia que se observa. Ello nos hace pensar, de acuerdo con otros autores⁽¹³⁾, que el efecto de los estrógenos sea debido tal vez, más que a una toxicidad sobre los precursores medulares, a una hiperestimulación y a un agotamiento de éstos, lo cual será mucho más grave en animales viejos (con un menor número de precursores hemáticos y una menor capacidad de regeneración) que en animales jóvenes, sin contar con la distinta sensibilidad individual y el tipo de estrógeno usado. En nuestra experiencia (observaciones personales), y de acuerdo con otros autores, el dietilestilbestrol es bien tolerado, y a las dosis usuales puede utilizarse con seguridad elevada. En el caso de los estrógenos inyectables, generalmente benzoato de estradiol cuyo uso mayoritario es evitar la gestación tras montas no deseadas, deben ser usados siempre como último recurso, advirtiendo al propietario del animal del riesgo de su administración; no es posible dar dosis totalmente seguras y a la vez efectivas para todos los animales^(1,31). En cuanto al uso de estrógenos inyectables para otras patologías (hiperplasia prostática, adenomas de glándulas perianales, etc.) es preferible usar tratamientos alternativos.

El diagnóstico de las hipoplasias-aplasias medulares provocadas por estrógenos suele realizarse en general en fases avanzadas, lo que en muchos casos ensombrece el pronóstico; éste será muy grave en animales viejos con pancitopenia severa y moderadamente grave o reservado en animales jóvenes.

El tratamiento consiste básicamente en mantener al animal el tiempo necesario para dar lugar a la recuperación de la médula ósea. En muchos casos estas recuperaciones son tardías, y ello conlleva la realización de transfusiones repetidas (para lo cual es necesario identificar los grupos sanguíneos de donantes y receptor) y el uso de una antibioterapia agresiva ya que por lo general los animales mueren o bien por hemorragias masivas o por sepsis.

No existen pruebas o estudios concluyentes hasta el momento en que demuestren la utilidad del uso de esteroides anabolizantes, corticoides, litio y complejos vitamínico-minerales; sin embargo –y con excepción de los corticoides– no provocan problemas añadidos, por lo que puede ser discutible el rechazarlos categóricamente.

El uso de factores de crecimiento hematopoyético y de interleucinas es sin duda una de las posibilidades terapéuticas más interesantes en un futuro próximo; sin embargo no tenemos experiencia de su uso por el momento. Lo mismo podemos decir en cuanto al trasplante de médula ósea; no hay datos publicados hasta el momento del uso de ambas terapias en la hipoplasia-aplasia medular por estrógenos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Bowen, R.A., Olson, P.N., Behrendt, M.D. *et al.* Efficacy and toxicity of estrogens commonly used to terminate canine pregnancy. *JAVMA* 186 (8): 783-788, 1985.
2. Brearley, M.J. The urogenital system. *En*: White, R.A.S. (Ed.): Manual of small animal oncology. *BSAVA*. 297-314, 1991.
3. Brodey, R.S., Martin, J.E. Sertoli cell neoplasms in the dog: the clinicopathological and endocrinological findings in thirty-seven dogs. *JAVMA* 133 (5): 249-257, 1958.
4. Camy, G. Sertolinome et pancytopenie. *Le Point Vétérinaire* 19 (103): 63-69, 1987.
5. Chastain, C.B. Case presentation: A feminizing tumor of the testis causing estrogen-induced bone marrow aplasia. *Compendium Contin. Educ. Small Anim. Pract.* 15 (2): 197-201, 1993.
6. Couto, C.G. Patterns of infection associated with immunodeficiency. *En*: Kirk-Bonagura (Ed.): Current Veterinary Therapy, vol. XI, 223-227, Saunders, Philadelphia, 1992.
7. Dennis, J.S. Anabolic steroids: their potential in small animals. *Compendium Contin. Educ. Small Anim. Pract.* 12 (10): 1403-1410, 1990.
8. Edwards, D.S. Bone marrow hypoplasia in a feminized dog with a Sertoli cell tumor. *JAVMA* 178 (5): 494-496, 1981.





9. Fadok, V.A. Hyperprogesteronemia associated with Sertoli cell tumor and alopecia in a dog. *JAVMA* 188 (9): 1058-1059, 1986.
10. Feldman, B.F., Thomason, K.J., Jain, N.C. Quantitative platelet disorders. En: Feldman, B.F. (Ed.): Hemostasis. *Veterinary Clinics of North America* 18 (1): 35-49, 1988.
11. Feldman, B.F. Clinical hematology seminar. *AVEPA*, Barcelona, 1992.
12. Gasper, P.W., Fulton, R., Thrall, M.A. Bone marrow transplantation: update and current considerations. En: Kirk-Bonagura (Ed.): *Current Veterinary Therapy*, vol. XI, 493-496, Saunders, Philadelphia, 1992.
13. Gaunt, S.D., Pierce, K.R. Effects of estradiol on hepatopoietic and marrow adherent cells of dogs. *Am. J. Vet. Res.* 47 (4): 906-909, 1986.
14. Goodwin, J.K., Schaer, M. Septic shock. En: Kirby, R.-Stamp, L. (Ed.): *Critical Care. Veterinary Clinics of North America* 19 (6): 1239-1258, 1989.
15. Gorin, M.F.S. Les anémies par aplasie médullaire chez le chien. Thèse doctorale, Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse. 53-63, 1989.
16. Gorman, N.T. Jornadas de inmunología-oncología. Smith-Kline Beecham, Madrid, 1991.
17. Grindem, C.B. Bone marrow biopsy and evaluation. En: Parry, B.W. (Ed.): *Clinical pathology: part II. Veterinary Clinics of North America* 19 (4): 669-696, 1989.
18. Hall, E.J. Use of lithium for treatment of estrogen-induced bone marrow hypoplasia in a dog. *JAVMA* 200: 814-816, 1992.
19. Hammer, A.S. Prevention and treatment of chemotherapy complications. En: Kirk-Bonagura (Ed.): *Current Veterinary Therapy*, vol. XI, 223-227, Saunders, Philadelphia, 1992.
20. Latimer, K.S., Meyer, D.J. Leukocytes in health and disease. En: Ettinger (Ed.): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 3.ª ed. 2181-2224, Saunders, Philadelphia, 1989.
21. Loar, A.S. Tumors of the genital system and mammary glands. En: Ettinger (Ed.): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 3.ª ed. 1814-1825, Saunders, Philadelphia, 1989.
22. Lydyard, P., Grossi, C. Development of the immune system. En: Roitt, I.M., Brostoff, J., Male, D.K. (Ed.): *Immunology*. 3.ª ed. 11.2-11.15, London, 1993.
23. Maddux, J.W., Shaw, S.E. Possible beneficial effect of lithium therapy in a case of estrogen-induced bone marrow hypoplasia in a dog: A case report. *JAAHA* 19: 242-245, 1983.
24. Madewell, B.R., Theilen, G.H. Tumors of the genital system. En: Theilen-Madewell (Ed.): *Veterinary Cancer Medicine*, 2.ª ed. 583-600, Lea & Febiger, Philadelphia, 1987.
25. Ogilvie, G.K., Obradovich, J.E. Hematopoietic growth factors: clinical use and implications. En: Kirk-Bonagura (Ed.): *Current Veterinary Therapy*, vol. XI, 466-469, Saunders, Philadelphia, 1992.
26. Reif, J.S., Maguire, T.G., Kenney, R.M., Brodey, R.S. A cohort study of canine testicular neoplasia. *JAVMA* 175 (7): 719-723, 1979.
27. Schmeitzel, L.P. Sex hormone-related and growth hormone-related alopecias. En: De Boer, D.J. (Ed.): *Advances in clinical dermatology. Veterinary Clinics of North America* 20 (6): 1579-1601, 1990.
28. Shelly, S.M. Causes of canine pancytopenia. *Compendium Contin. Educ. Small Anim. Pract.* 10 (1): 9-16, 1988.
29. Sherding, R.G., Wilson, G.P., Kociba, G.J. Bone marrow hypoplasia in eight dogs with Sertoli cell tumor. *JAVMA* 178 (5): 497-501, 1981.
30. Steinberg, S. Aplastic anemia in a dog. *JAVMA* 157 (7): 966-967, 1970.
31. Teske, E. Estrogen-induced bone marrow toxicity. En: Kirk (Ed.): *Current Veterinary Therapy* vol. IX, 495-498, Saunders, Philadelphia, 1986.
32. Watson, A.D.J. Bone marrow failure in a dog. *J. Small Anim. Pract.* 20: 681-690, 1979.
33. Weiser, M.G. Erythrocyte and associated disorders. En: Ettinger (Ed.): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 3.ª ed. 2145-2180, Saunders, Philadelphia, 1989.
34. Weiss, D.J. Aplastic anemia. En: Kirk-Bonagura (Ed.): *Current Veterinary Therapy*, vol. XI, 479-484, Saunders, Philadelphia, 1992.
35. Weiss, D.J., Klausner, J.S. Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). *JAVMA* 196 (3): 472-475, 1990.

