

# Determinación de dosis letal media (DL50) y toxicidad aguda de la formulación CK (Cytoreg®), una mezcla iónica de ácidos fuertes y débiles

Rosa De Jesús<sup>1</sup>, Nelson Vicuña-Fernández<sup>2</sup>, Andrés Osorio<sup>3</sup>, David Martucci<sup>4</sup>, Lewis Pozo<sup>5</sup>, William Jiménez<sup>6</sup>. <sup>1</sup>Profesora Titular. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Directora del Bioterio de la Universidad de Los Andes. <sup>2</sup>Profesor Titular. Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes.- <sup>3</sup>Asistente de Investigación. Bioterio Universidad de Los Andes. <sup>4</sup>y <sup>5</sup> Químicos de la Empresa Cytorex de Venezuela filial de Cytorex internacional.- <sup>6</sup>Técnico Empresa Cytorex de Venezuela filial de Cytorex internacional INC.-. Email: [rosadej@ula.ve](mailto:rosadej@ula.ve), telefax. (0274)2403128

## RESUMEN

Se dio inicio en el Bioterio de la Universidad de Los Andes una serie de pruebas toxicológicas y farmacológicas con la finalidad de evaluar una nueva formulación con fines terapéuticos, el presente trabajo reporta los resultados encontrados con respecto a la DL<sub>50</sub> y la toxicidad aguda, de esta formulación producida por el Laboratorio Cytorex de Venezuela, S.A. La nueva formulación es una mezcla de ácidos fuertes y débiles, con una concentración de ácido fluorhídrico (HF) referida por el proveedor de 55 g/litro. El ácido Fluorhídrico es el compuesto activo en la mezcla equilibrada ácida compuesta además por 10% de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 10% de ácido clorhídrico (HCl), 3% de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 0,3% de ácido oxálico (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) y 0,3% de ácido cítrico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>). Todas las concentraciones descritas en este trabajo están referidas al ácido fluorhídrico, el cual es el compuesto activo de la formulación. Se usaron métodos farmacológicos convencionales y se encontró que la dosis letal media en ratas resultó en 44,83 mg/Kg. y de 0,83 ml/Kg. Las dosis altas produjeron lesiones aparentemente cáusticas y los animales sobrevivientes no presentaron lesiones macroscópicas aparentes en la necropsia.

Palabras clave: Compuesto CK. Toxicidad, dosis letal media (DL<sub>50</sub>), ratas Wistar. La experiencia se realizó tomando en cuenta las normativas sobre la producción y uso ético de los animales de laboratorio de la AVECAL (4) y el MPPCyT (5), y con el Aval de la comisión de ética institucional, registrado con el N° CEBIOLA/013(02/11/2010).

## RESULTADOS

### DISEÑO EXPERIMENTAL

#### Modelo experimental

Se usaron la cantidad de 118 ratas hembras de la línea no consanguínea Wistar de 8 semanas de nacidas y con peso comprendido entre 210 – 260 grs. Los animales fueron alojados en cubículos bajo barreras sanitarias de esterilización de insumos y de mantenimiento, con 12 horas luz/oscuridad, y con alimentación y bebida a voluntad.

#### La formulación CK

Mezcla de ácidos fuertes y débiles con una concentración de ácido Fluorhídrico – HF – referida por el proveedor de 55 g/litro. El ácido Fluorhídrico es el compuesto activo en la mezcla equilibrada ácida compuesta además por 10% de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 10% de ácido clorhídrico (HCl), 3% de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 0,3% de ácido oxálico (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) y 0,3% de ácido cítrico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>). Todas las concentraciones referidas en este trabajo son representadas por las del ácido Fluorhídrico.

#### Metodología

I.- Los animales fueron agrupados en 13 lotes: un grupo de 5 lotes: 4 experimentales y 1 control, de 10 animales cada lote (experimento preliminar).

II.- Por desconocerse las dosis efectivas y letales del compuesto, se realizó un experimento preliminar administrando 2 ml, 1,5 ml, 1,0 ml, y 0,5 ml del compuesto por vía oral a 4 grupos experimentales de 10 animales c/u., y un grupo control al cual se le administró la cantidad de 2 ml., de agua.

III.- Luego de estos grupos preliminares, donde se observó mortalidad en todas las dosis del agente, y en el grupo control no hubo mortalidad.

IV.- Se prepararon diluciones con agua a partes iguales con la finalidad de administrar cantidades decrecientes, a partir de la dosis más baja que mató el 100% de los animales, es decir, de 0,5 ml, 0,186 ml, 0,150 ml, 0,125 ml y 0,1135 ml a grupos de 7 animales (N=7) c/u, comenzando con una dosis de 27,5 mg (0,5 ml), hasta una dosis no letal. Las dosis igualmente se calcularon normalizadas por Kg., de peso.

V.- Se observaron los animales diariamente durante 15 días, registrándose sintomatología presente y mortalidad en cada grupo. Los sobrevivientes al día 15 fueron sacrificados.

VI.- Todas las dosis fueron administradas como dosis únicas y vía intragástrica con sonda esofágica, se seleccionó esta vía de administración debido a que es una de las propuestas por el laboratorio inventor del agente, como vía de administración.

Tabla 1. Mortalidad resultante de la administración\* del compuesto CK en los grupos experimentales

Dosig (mg/Kg.)	ml (ml/Kg.)	Muertes	% Muertes
6,25 (29,26)	0,1135 (0,54)	0/7	0,00
6,87 (29,76)	0,125 (0,58)	2/7	28,57
8,25 (25,86)	0,150 (0,72)	4/7	57,14
10,25 (38,73)	0,186 (1,38)	4/7	57,14
13,75 (48,57)	0,25 (0,95)	7/7	100,00
27,50 (52,48)	0,50 (2,25)	7/7	100,00

\*Dosis calculada en mg y ml/Kg.

Tabla 2 Determinación aritmética de la DL50 según el método de Behrens y Karber. Usando la dosis administrada en mg

LOTE N°	1	2	3	4	5	6
Dosis (mg)	6,25	6,875	8,25	10,25	13,75	27,5
N° ANIMALES /LOTE	10	7	7	7	7	7
N° DE MUERTES	0	2	4	4	4	7
DEIFERENCIAS ENTRE DOSIS (a)	0	0,63	1,37	2,0	3,75	13,75
DEIFERENCIAS MEDIA ENTRET MUERTES (B)	0	1	3	4	4	5,5
(a) X (b)	0	0,63	4,11	8,0	15	75,62

Con los datos obtenidos se aplicó la siguiente fórmula:

$$DL50^* = DL100^{**} - \frac{\sum (a) \times (b)}{N} = \frac{103,36}{7} = 27,5 - 14,76 = 12,74 \text{ mg}$$

DL50\* = Dosis capaz de matar el 50% de los animales de un lote  
DL100\*\* = Dosis capaz de matar el 100% de los animales de un lote  
N = número de animales por cada lote.

Tabla 3. Comparación del resultado del cálculo de la DL50 y Dosis letal mínima por diferentes métodos

MÉTODO	DL <sub>50</sub> (mg)	DL <sub>50</sub> (mg/kg)	DL ml)	DL ml)/Kg	DL min mg/Kg)	DL min ml/Kg)
Behrens y Karber	12,75	53,57	0,23	1,08	-	-
Gráfico	10,54	44,86	0,22	0,83	18,50	0,49

### DISCUSIÓN

En teoría, la dosis letal media o DL50 proporciona información sobre la cantidad de sustancia necesaria para tener efectos no deseados en los humanos (4), existen muchas formas de determinar la toxicidad, y aunque los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador comúnmente más utilizado es la muerte del organismo de prueba

Cabe destacar que la DL50 mide la dosis mortal, pero no otros efectos secundarios graves no letales, ni efectos indeseados que necesitan ser verbalizados (que el paciente pueda referir), (3).

La determinación de la curva de letalidad del compuesto CK nos demuestra actividad a dosis relativamente bajas; resultando en una dosis letal media (DL50) en ratas de 44,83 mg/Kg., obtenida gráficamente, y en mililitros resultó de 0,83 ml/Kg., teniendo en cuenta que la concentración referida es de 55 gramos por litro (55 mg/ml). Una dosis de 44,83 mg/Kg., sugeriría una dosis en ml., de 0,81 ml/Kg., la pequeña diferencia resultante puede deberse al error experimental, al número relativo. Aunque no se pueden extrapolar del todo los resultados en animales al humano, siguiendo principios generales de Farmacología clínica, la dosis a iniciar en pacientes debería ser 100 veces menor a la Dosis letal media observada en animales, es decir una dosis de 0,0083 ml/Kg., lo cual para un individuo de 70 Kg., la dosis total inicial de prueba a administrar, sería de 0,581 ml. vamente reducido de animales y a las diferencias intergrupos.

### CONCLUSIONES

- 1.- CK se trata de un compuesto con actividad potente
- 2.- Los animales fallecidos tempranamente por dosis altas presentan lesiones aparentemente cáusticas. En los sobrevivientes a los quince días las necropsias no revelan lesiones macroscópicas aparentes.
- 3.- La dosis letal media en ratas resultó en 44,83 mg/Kg., y de 0,83 ml/Kg., y la dosis letal mínima estimada es de 18,50 mg/Kg., y de 0,49 ml/Kg.
- 4.- Teóricamente se sugeriría una dosis inicial de prueba para los estudios de toxicidad crónica en ratas, la dosis letal mínima estimada.
- 5.- Se requeriría más investigación en otras especies de animales como por ejemplo conejos y perros, así como estudios de toxicidad crónica para precisar el efecto y la dosificación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- OMS (Organización Mundial de la Salud). Principios aplicables a estudios preclínicos de la inocuidad de los medicamentos. Series de Informes técnicos.1966, 341.
- 2.- Giráldez DA. y Romero VA. Cap. 18. Procedimientos experimentales en farmacología y toxicología. 2000.[alrededor 25p] [Consulta: 27 Enero 2011]. Obtenido de <http://minnie.uab.es/~veteri/0009/cap18pdf>.
- 3.- AVECAL. Manual para la producción y uso ético de los animales de Laboratorio. (2008). Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y la Tecnología. Caracas-Venezuela. MPPCyT (MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA E INDUSTRIAS INTERMEDIAS).
- 4.- Normas para la utilización de animales en investigación: en experimentación en el laboratorio, obtenidos en sus hábitats, estudios de sus patologías y de su comportamiento natural- Manual Bioética y Bioseguridad. 2008. Cap. 3. Pp: 33-35. Caracas – Venezuela.8,25
- 5.- Díaz M, Bulus G. y Pica Y. Capítulo 5. Métodos Estadísticos para el Análisis de Resultados de Toxicidad. International Development Research Center. 2004. [Consulta:27 Enero 2011].[alrededor 11p]. Obtenido de: [http://www.idrc.ca/en/ev-84468-201-1-DO\\_TOPIC.html](http://www.idrc.ca/en/ev-84468-201-1-DO_TOPIC.html).
- 6.- Kumi-Diaka J, Hassanhi M, Brown J, Merchant K, Garcia C and Jiménez W. Cytoreg inhibits growth and proliferation of human adenocarcinoma cells via induction of apoptosis. 2006. Journal of Carcinogenesis 5:1.