

Estudio de Toxicidad Aguda del Extracto Alergénico de *Helminthosporium* sp. en Ratas y Ratones

Emilio MONTEAGUDO JIMÉNEZ *, Geidy LORENZO MONTEAGUDO & Luís DÍAZ COSTA

Unidad de Toxicología Experimental (UTEX),
Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara,
Aptdo. 860. Santa Clara, Villa Clara, CUBA

RESUMEN. Se realizó un estudio de toxicidad a dosis única del extracto acuoso del hongo *Helminthosporium* sp. (alergeno) en ratones Balb/C y ratas Sprague Dawley, con los que se confeccionaron 6 y 5 grupos experimentales, respectivamente, a los que les fue administrada la sustancia de ensayo por vía intraperitoneal en dosis de 300, 1650 y 3000 veces la dosis máxima para uso humano. Se observaron los animales por un período de 7 días y se controló el peso corporal al inicio y fin del ensayo. Al concluir el experimento se sacrificaron todos los animales para estudios anatomopatológicos macroscópicos. No se observaron signos ni síntomas de toxicidad asociados a la administración de la sustancia de ensayo ni daños macroscópicos en los órganos estudiados con ninguna de las dosis ensayadas.

SUMMARY. "Acute Toxicity Study of an Allergenic Extract from *Helminthosporium* spp. in Rats and Mice". An acute toxicity study with an aqueous extract from *Helminthosporium* spp. was carried out in Balb/C mice and Sprague Dawley rats. There were made 6 and 5 experimental groups, respectively, to whom was administered, intraperitoneally, the substance in doses of 300, 1650 and 3000 times the maximum proposed dose for humans. The animals were observed for 7 days and the weight was controlled at the beginning and at the end of each experiment. The animals were sacrificed for anatomopathological macroscopic examinations. There were no observed toxicity symptoms related to the administration of the substance neither macroscopic alterations in the studied organs.

INTRODUCCIÓN

La alergia es una respuesta anormal de defensa del organismo ante la presencia de agentes extraños que lo invaden y que normalmente no afectan a la mayoría de las personas. De acuerdo con informaciones y estudios recientes el número de personas alérgicas está en aumento en todo el mundo. Se calcula que del 6 al 10% de la población del planeta muestra manifestaciones alérgicas de tipo familiar y de un 30 a un 40% muestra manifestaciones alérgicas menores¹.

Las principales manifestaciones alérgicas son la rinitis alérgica estacional (fiebre del heno), la rinitis alérgica crónica, el asma, la sinusitis crónica, la alergia de la piel (eczema, urticaria o salpullido), el angioedema (hinchazones de la-

bios y cara) y las alergias a picaduras de insectos y a medicamentos. Los alérgenos inhalantes están muy frecuentemente involucrados en las enfermedades alérgicas respiratorias como la rinitis alérgica y el asma bronquial¹.

Los hongos son de importante consideración para el alergista, puesto que producen esporas que son transportadas por el viento y pueden ser una causa importante de alergia respiratoria. Entre los alérgenos inhalantes los hongos ocupan una posición única, pues están presentes en el ambiente doméstico². Los hongos también se ubican en el aire libre, predominando su presencia en ambientes polutos, relacionándose directamente con la incidencia de asma bronquial; además se señala el predominio de síntomas de irritación en medio urbano³. Por otra parte exis-

PALABRAS CLAVE: Alergia respiratoria, Toxicidad, Ratones, Ratas.
KEY WORDS: Respiratory allergy, Toxicity, Mice, Rats.

* Autor a quien dirigir la correspondencia

ten una serie de actividades laborales relacionadas con alérgenos inhalantes, entre las que se encuentran la manufactura de productos maderables, textiles, cristalería, alimentos (granos y crustáceos), producción de metales preciosos y no ferrosos, plásticos, detergentes, perfumes, otros químicos y minería en general ⁴.

Independientemente de la existencia de métodos como el VIDAS Stallertest, consistente en una reacción inmunoenzimática automatizada ⁵, las pruebas cutáneas, cuidadosamente realizadas, con antígenos potentes y sustancias de control positivo siguen siendo los procesos más reveladores para el diagnóstico de los factores alérgicos específicos asociados con las enfermedades alérgicas respiratorias ⁶. Es conocido lo costoso del tratamiento del asma y la rinitis alérgica ⁷, por lo que su diagnóstico temprano y correcto conduce a la reducción de los costos de la terapia relacionados con la estimación precisa del grado y profundidad de estas entidades.

La posibilidad de una reacción adversa en este tipo de prueba es muy escasa, pero por consideraciones bioéticas es necesario establecer un conocimiento profundo del potencial tóxico de la sustancia de ensayo, por lo que se diseña el presente experimento según lo descrito en las Guías Nórdicas para el Registro de Preparaciones Alérgicas ⁸.

En los muestreos aeromicológicos realizados por un período de dos años en la ciudad de Santa Clara (Cuba) se comprobó que las esporas del hongo *Helminthosporium* sp. ocupan el primer lugar en frecuencia de presentación, lo que motivó la preparación del extracto en cuestión y la evaluación de su potencial tóxico al considerarlo de nueva y posible introducción en los kit diagnóstico de prueba cutánea en humanos. Por ello se propone determinar las consecuencias toxicológicas derivadas de la administración única de la sustancia de ensayo y la obtención de información que permita la estimación del riesgo del uso de la sustancia para la salud humana.

MATERIALES Y METODOS

Se llevó a cabo un ensayo de toxicidad aguda ^{9,10} de la sustancia en estudio, consistente en la administración de una dosis única del compuesto (extracto acuoso del hongo *Helminthosporium* sp., con una potencia biológica de 2994 UB) ¹¹ escogiéndose la vía de administración intraperitoneal.

Fueron usados ratones Balb/C y ratas Sprague Dawley, los que se identificaron por el mé-

todo de tatuaje en la oreja, siendo alojados según sexo y previa aleatorización. El peso corporal para los ratones fue de 18 a 22 g y para las ratas de 240 a 280 g. Se situaron 3 ratones por caja T2 de macrolón y 1 rata por caja T4 de macrolón con fondo de rejilla, respetándose los requerimientos de espacio vital para cada especie. Los animales se mantuvieron en salas climatizadas a una temperatura de 20 ± 2 °C, humedad relativa entre 30 y 70%, 10 a 12 recambios de aire por hora y ciclo de luz-oscuridad de 12/12 horas y recibieron como alimento ratonina peletizada con su correspondiente certificado de calidad. Este alimento fue sometido a esterilización en autoclave y el agua apta para consumo humano, siendo el acceso a ambos *ad libitum*.

Se retiraron diariamente las bandejas con heces y orina y el cambio de viruta se efectuó una vez por semana. Los animales fueron sometidos a cuarentena de 5 días previos al comienzo del experimento para inspección diaria de su estado general, pasando al ensayo solo los certificados como saludables. Se pesaron los animales y se registraron dichas pesadas; con posterioridad les fue administrada la sustancia de ensayo en la dosis establecida.

El diseño de dosis se obtuvo a partir de la bibliografía consultada, que plantea que la dosis para animales de experimentación de preparaciones alérgicas para diagnóstico deberá situarse en el rango de 300 a 3000 veces la dosis máxima para uso en humanos (0,1666UB/g). En ambas especies se trabajó con 300, 1650 y 3000 veces, de donde se obtuvieron los siguientes niveles de dosis para los grupos experimentales (Tabla 1) ⁸.

Los animales fueron observados sistemáticamente durante las primeras 24 horas y se recogieron los signos clínicos que evidenciaran toxicidad; esta observación continuó con una frecuencia diaria hasta el fin del experimento (7 días) ^{9,10}.

Se controló el peso vivo de los animales al inicio y fin del experimento como parámetro demostrativo de toxicidad, considerándolo positivo si la pérdida de peso excediere al 10% del peso vivo inicial del animal. Al concluir el experimento fueron sacrificados todos los animales según métodos de eutanasia aceptados internacionalmente y sometidos a estudios anatomopatológicos macroscópicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se presentaron signos clínicos tóxicos en ningún grupo de ambas especies tratadas. Sólo

Especie	Grupo	Tratamiento	Sexo	Dosis (Ub/G Pvr)	N° de animales
Ratones	I	T	M	50,0	3
	II	T	M	274,9	3
	III	T	M	500,0	3
	IV	C+	M	50,0	3
	V	C-	M	-	3
	VI	T	H	500,0	3
Ratas	I	T	M	50,0	1
	II	T	M	274,9	1
	III	T	M	500,0	1
	IV	C+	M	50,0	1
	V	C-	M	-	1

Tabla 1. Diseño experimental. T: Tratados (extracto alergénico); C+: Control positivo (fosfato de histamina); C-: Control negativo.

en el grupo control positivo (fosfato de histamina) aparecieron síntomas como hiperpnea, temblores, contracciones musculares espasmódicas y disminución de la actividad, los que fueron desapareciendo a medida que transcurrió el tiempo de observación. Referente al peso corporal no hubo toxicidad demostrable, pues todos los animales ganaron peso corporal dentro del rango fisiológico de cada especie respecto a su edad. No se encontraron lesiones hísticas de

carácter grosero observables a simple vista al comparar con los no tratados.

Dado que no se presentaron signos ni síntomas tóxicos observables derivados de la administración única de extracto acuoso del hongo *Helminthosporium* sp. en las dosis ensayadas, en base a la literatura consultada y a los resultados obtenidos se estima que el riesgo de su uso en humanos es bajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. FUNDASMALER (1996) "Asma, Alergias? Las respuestas a algunas dudas que usted pueda tener", Ed. MINSAP, La Habana, Cuba, Vol. 1, págs. 1-16
2. Cadman, A., R. Prescott & P.C. Potter (1998) *S. Afr. Med. J.* **88**: 1580-2
3. Dutau, H. & D. Charpin (1998) *Allerg. Immunol. (Paris)* **30**: 329-36
4. Ross, D.J., H.L. Keynes & J.C. McDonald (1998) *Occup. Med. (Oxf.)* **48**: 481-5
5. Felden, F. & A. Croizier (1998) *Pathol. Biol. (Paris)* **46**: 819-23
6. OPS (1989) "Compendio de enfermedades alérgicas e inmunológicas", Ed. OPS, La Habana, Cuba, págs. 29-45
7. Yawn, B.P., J.W. Yunginger, P.C. Wollan & M.D. Silverstein (1999) *J. Allergy Clin. Immunol.* **103 (1 Pt. 1)**: 54-9
8. Nordic Guidelines (1989) "Registration of allergen preparations" Ed. Nordiska Lakenmendelnamdera, Nordic Council of Medicines, Uppsala, Sweden, págs. 120-95
9. OECD (1993) "Acute oral toxicity", in "Guidelines for testing of chemicals", Guide 404, Paris, France
10. Chang, P.K. & W.A. Hayes, (1994) "Acute toxicity and eye irritancy", in "Principles and methods of Toxicology" (Raven Press, ed.), New York, New York, págs.579-89
11. Rodríguez,R.(1997) "Cartas alergológicas", Ed. Hospital Pediátrico William Soler", La Habana, Cuba, págs. 2-26