EFEITOS DA HIDROXICOBALAMINA SOBRE A DL₅₀ DE CIANETO EM CAMUNDONGOS

EFFECTS OF HYDROXICOBALAMIN ON LD₅₀ OF CYANIDE IN MOUSE

JOÃO GUALBERTO SCHEFFER*
FRANCISCO CERSÓSIMO*

RECEBIDO EM: 20/01/82
APROVADO EM: 09/02/82

INTRODUÇÃO

Existem várias substâncias que após serem utilizadas durante longo tempo com determinada finalidade, apresentam após novas investigações em suas ações e efeitos, novas propriedades farmacológicas.

Entre essas podemos citar a hidroxicobalamina, que além de sua utilidade clássica como substância anti-anêmica e anti-neurítica, apresentou posteriormente efeito útil na intoxicação pelos cianetos.

Já em 1952, MUSHETT, KELLEY, BOXER & RICHARDS (7), tinham verificado redução do bloqueio da inibição respiratória provocada pelo cianeto, quando utilizado uma quantidade equimolecular de vitamina B₁₂.

Posteriormente DELGA (1) e DELGA, MIZOULE, VEVERKA (2) e DELGA *et alii* (3) mostraram a reanimação em animais intoxicados pelo cianeto quando tratados pelo hidroxicobalamina.

Em 1970, SCHEFFER, CAMPELLO & VOSS (8), demonstraram que a hidroxicobalamina protege o cão da morte produzida pelo cianeto (DL₁₀₀) injetado pela via venosa, da mesma forma que evita em órgão isolado (coração de cobaia) a parada definitiva pelo cianeto, assim como, em preparação de mitocôndria de fígado. O cianeto inibe o consumo de O₂ e a fosforilação oxidativa, efeito este completamente revertido pela hidroxicobalamina; verificaram que a inibição do citocromo alfa 3 pelo cianeto é revertida pela hidroxicobalamina.

Mais recentemente LOPES & CAMPELLO (5 e 6), estudaram os efeitos da hidroxicobalamina do citocromo c oxidase isolada, tendo LOPES (4) estudado ainda os efeitos da vitamina B₁₂ em intoxicação por cianeto e de sordens hepáticas.

Nessa seqüência de trabalhos, procuramos através do presente estudo, verificar a modificação da DL₅₀ de cianeto em camundongos não tratados e tratados com hidroxicobalamina.

* Professores de Farmacologia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados um total de 250 camundongos que eram conservados em jejum com água "ad libitum" nas 6 horas anteriores à experimentação.

No 1º grupo utilizamos 125 animais divididos em 5 gaiolas com 25 animais, com peso médio de 35 g (mínimo 29 — máximo 41).

O cianeto foi injetado pela via intraperitoneal em doses de 10, 20, 30, 40 e 60 μ g, conforme Tabela I.

No grupo 2 utilizamos 125 animais também divididos em 5 gaiolas, com peso médio de 27 g (mínimo 29 — máximo 42). (Tabela II).

O cianeto foi injetado pela via intraperitoneal em doses de 180-210, 240, 270 e 300 μ g, tendo sido injetadas previamente (20 minutos) com 100 μ g de hidroxibalamina.

RESULTADOS

Como podemos observar pelos resultados obtidos e anotados nas Tabelas I e II, as doses de cianeto que induziram a morte nos grupos 1 e 2 (tratados previamente com hidroxibalamina) apresentaram nítida diferença, como podemos constatar pela representação nos gráficos 1 e 2.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizando-se o método Reed-Muench, tivemos os seguintes dados no Grupo I.

MÉTODO DE REED-MUENCH

Doses- μ g 1	mortos 2	sobrev. 3	b 4	m 5	(b+m) (4+5)	% de mortos
10	0	25	70	0	70	0
20	3	22	45	3	48	6
30	11	14	23	14	37	38
40	17	8	9	31	40	78
60	24	1	1	55	56	98

$$\frac{51 - 38}{88 - 38} = \frac{13}{50} = 0,26 \quad \begin{array}{l} 10 \times 0,26 = 2,6 \\ 30 + 2,6 = 32,6 = 33 \end{array}$$

$$DL_{50} = 33 \mu g$$

No grupo II os dados obtidos foram:

Doses- μ g 1	mortos 2	sobrev. 3	b 4	m 5	(b+m) (4+5)	% de mortos
180	0	25	73	0	73	0
210	1	24	48	1	49	2
240	7	18	24	8	32	25
270	19	6	6	27	33	82
300	25	0	0	52	52	100

$$\frac{50 - 25}{82 - 25} = \frac{25}{57} = 0,44 \quad 30 \times 0,44 = 13,2$$

$$240 + 13,2 = 253,2 = 253$$

$$DL_{50} = 253 \mu g$$

A DL_{50} foi de $33 \mu g$ e quando os animais foram previamente tratados com hidroxibalamina a DL_{50} foi de $253 \mu g$.

Tabela 1: 5 gaiolas. 25 animais em cada gaiola: 125 animais.
 Peso médio: 36 g. Mínimo: 29. Máximo: 41 g.
 Cianeto de Potássio: Sol.: 20 μ g/ml.

VOLUME DA SOLUÇÃO	DOSE μ g	Nº ANIMAIS	Nº MORTES	% MORTES	
0,05 ml	10	25	0	0	
0,1 ml	20	25	03	12	
0,15 ml	30	25	11	44	
0,2 ml	40	25	17	68	
0,3 ml	60	25	24	96	

Tabela II: 5 gaiolas. 25 animais em cada gaiola: 125 animais.
 Peso médio: 37 g. Mínimo: 29. Máximo: 42 g.
 100 μ g de Hidroxicobalamina 1/2 hora antes do KCN.
 Sol.. Cianeto de Potássio — 300 μ g/ml,
 Hidroxicobalamina — 200 μ g/ml.

VOLUME DA SOLUÇÃO	DOSE μ g	Nº ANIMAIS	Nº MORTES	% MORTES	
0,6 ml	180	25	0	0	
0,7 ml	210	25	01	04	
0,8 ml	240	25	07	28	
0,9 ml	270	25	19	76	
1,0 ml	300	25	23	92	

Gráfico 1

Gráfico 2

S = Nº de animais que sobreviveram a esta e a doses maiores.
M = Nº de animais que morreram com esta e com doses menores.

RESUMO

Em nossas condições de experimentação a DL₅₀ de cianeto em animais previamente tratados com hidroxocobalamina foi de 7,6 vezes maior do que no grupo que não recebeu vitamina B₁₂, confirmando portanto uma série de pesquisas já realizadas nessa área de trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: hidroxocobalamina; cianeto; DL₅₀

SUMMARY

In our experimental conditions the LD₅₀ of cyanide in animals previously treated with hydroxycobalamin was 7,6 times bigger than in the group which didn't receive B₁₂ vitamin, consolidating a series of researches realized in this area of work.

KEY-WORDS: hydroxycobalamin, cyanide; LD₅₀

RÉSUMÉ

Dans nos conditions d'expérimentation, pour les souris qui ont reçu de la vitamine B₁₂, la DL₅₀ de cyanure a été 7,6 fois plus grande que pour les animaux non traités par hydroxycobalamine. Ces résultats confirment les observations constantes d'autres recherches, à ce sujet.

MOTS CLÉS: hydroxycobalamine, cyanure, DL₅₀

BIBLIOGRAFIA

1. DELGA, J. Action of three nitrogen mustards on yeast cells. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, Paris, **34**:402-414, 1952.
2. DELGA, J.; MIZOULE, J.; VEVERKA, B. Value of hydroxocobalamin intreatment of cyanide poisoning. *Compt. Rend. Soc. Biol. Paris*, Paris, **155**:1016-1019, 1961.
3. DELGA, J.; MIZOULE, J.; VEVERKA, B.; BON, R. Experimental treatment of cyanide poisoning with hydroxocobalamin. *Ann. Pharm. Franç.*, Paris, **19**:740-745, 1961.
4. LOPES, L.C.V. The role of vitamin B₁₂ in cyanide poisoning and in isolated livers. *Arq. Biol. Tecnol.*, Curitiba, **22**:123-126, 1979.
5. LOPES, L.C.V. & CAMPELLO, A.P. Effect of hydroxocobalamin on the inhibition of cytochrome c oxydase by cyanide. I. In intact mitochondria. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* New York, **12**:521-532, 1975.
6. LOPES, L.C.V. & CAMPELLO, A.P. Effect of hydroxocobalamin on the inhibition of cytochrome c oxydase by cyanide. II. In isolated

- cytochrome c oxydase. *Res. Commun. Pathol. Pharmacol.*, New York, **14**:177-191, 1976.
7. MUSHETT, C.W.; KELLEY, K.L.; BOXER, G.E.; RICKARDS, J.C. Antidotal efficacy of vitamin B_{12a} (hydroxocobalamin) in experimental cyanide poisoning. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, New York, **81**:234-237, 1952.
 8. SCHEFFER, J.G.; CAMPELLO, A.P.; VOSS, D.O. Pharmacological effects of hydroxocobalamin: antagonism between hydroxocobalamin and cyanates. *O Hospital*, Rio de Janeiro, **78**:391-397, 1970.