

N° 72
2EJ



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESTUDIO TOXICOLOGICO DE UN PREPARADO DE
VITAMINAS A, D Y E EN UN VEHICULO
DE LIBERACION PROLONGADA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A:
JUAN EUGENIO FRANCO GALLEGOS

ASESORADA POR: M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS Y
M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ



MEXICO, D. F.

1992

**TESIS CON
FALLA DE COBRE**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
Resumen	1
Introducción	3
Hipótesis y Objetivos	4
Material y Métodos	5
Resultados	8
Discusión	11
Literatura citada	13
Cuadro 1	15
Cuadro 2	16
Cuadro 3	18
Cuadro 4	19

R E S U M E N

Franco Gallegos Juan Eugenio. Estudio toxicológico de un preparado de vitamina A, D y E en un vehículo de liberación prolongada, bajo la asesoría de Luis Ocampo Camberos y Héctor Sumano López.

El objetivo del presente trabajo fué evaluar si el vehículo del Aderovet presenta alguna toxicidad (fetotoxicidad), constatar su margen terapéutico y si presenta o no reacciones tisulares al aplicarse localmente mediante evaluaciones de rutina aprobadas por las normas del F.D.A.

Se determinó la dosis letal aguda en 150 ratones de la cepa CFW aplicando el producto por vía endovenosa (en la vena caudal) a dosis de 0.01 mg/kg., 1.0 mg/kg y 10 mg/kg.

Para la evaluación de la toxicidad tisular se realizó la aplicación del vehículo de prueba a una concentración al 10% con y sin vitaminas D3 a una concentración del 2% por vía intramuscular a 40 ratas wistar; 20 de ellas se sacrificaron con éter 24 horas después para obtener la muestra de tejido y evaluar la reacción inflamatoria las 20 ratas restantes se sacrificaron a las 72 horas, 24 horas después de dos aplicaciones (1 diaria).

Comparándose los resultados con 2 grupos adicionales (de 40 ratas) inyectadas por vía intramuscular con los preparados comerciales de Vigantol (laboratorio Bayer) y SyntADE (laboratorio Syntex).

En la evaluación de la toxicidad subaguda se medicaron 40 ratas wistar con el vehículo a evaluar y 40 ratas con el vehículo más la vitamina D3 a las dosis que recomienda el fabricante, al cabo de 4 días se sacrificaron 10 de ellas por día para determinar los niveles de urea, creatinina, transaminasa glutámica oxaloacética y transaminasa glutámica pirúvica.

Para la evaluación de la fetotoxicidad y la teratogenicidad, el producto de vitamina D3 se inyectó a 50 ratonas gestantes tres veces durante la primera semana de gestación (detectada mediante la revisión diaria del tapón copulatorio) a los diecinueve días se les sacrificó con éter, se pesó el útero contando los productos viables. Los productos se fijaron en parafina previo corte en línea media para detectar alteraciones.

Se concluyó que el vehículo del Aderovet no induce efectos de toxicidad al ser aplicado por vía intramuscular y tiene un margen terapéutico muy amplio.

"ESTUDIO TOXICOLOGICO DE UN PREPARADO DE VITAMINA A, D Y E EN UN VEHICULO DE LIBERACION PROLONGADA".

INTRODUCCION

En la actualidad hay muchas enfermedades en las que se indica la aplicación de las vitaminas A, D y E (4,6, 7, 8, 10, 18); como en: La paresia de la parturienta, fiebre de leche, hipocalcemia, avitaminosis, etc.

De ellas, la hipocalcemia se caracteriza por ser una alteración asociada con el inicio de la lactación en la vaca (1, 5, 9, 19, 20). Normalmente una vaca produce diez litros o más de calostro después del parto, el que contiene aproximadamente veintitres gramos de calcio, lo que representa seis veces más la concentración del mismo en el espacio extracelular (1,9). La mayoría de los animales se adaptan mediante cambios homeostáticos mediados principalmente por la paratohormona y el 1,23 dihidroxicolecalciferol (vitamina D), (1, 6, 9, 10, 11). La mayoría de las vacas responden a un tratamiento simple de calcio, sin embargo, en otras ocasiones se reconoce que hasta en un 20% puede sufrir recaídas posteriores a pesar de que el tratamiento inicial fué correcto (2,15). Esto se ha relacionado directamente con una falla metabólica en la que las vacas resultan incapaces de producir 1,25 dihidroxivitamina D (3,5). De tal suerte que es común la utilización de preparados que contienen vitamina D3 para el tratamiento o la prevención de esta enfermedad (1, 4, 11, 12, 13, 14). Al respecto en el mercado nacional existen varios productos que contienen vitamina D3 entre los que destaca el Vigantol (laboratorio Bayer), el Syntade

(laboratorio Syntex) y el Aderovet (laboratorio Rusell). Sin embargo en ninguno de estos casos se ha logrado que al administrar el producto, se asegure que exista una larga

persistencia de la liberación de las vitaminas. Para lograr este efecto se requiere habitualmente un vehículo de tipo oleoso que libere lentamente los principios activos. Uno de los vehículos que se incorporan más lentamente a la circulación es el Aderovet y pudiera ser un medio eficaz para mantener los niveles elevados y prolongados de la vitamina D en el organismo. Sin embargo uno de los primeros pasos que se deben realizar para someter a evaluación clínica un posible fármaco que contenga vitamina D con este novedoso vehículo, es el estudio toxicológico del mismo dado que se sabe existen muchos vehículos que pueden producir colapsos cardio-vasculares como el polietilenglicol (8,17), ó bien producir necrosis en el sitio de la inyección (8). Más aún se han relacionado muchos problemas toxicológicos con el vehículo más que con el compuesto, dado que se sabe que la penicilina se hace más alérgica cuando está incluida en un carboximetilcelulosa (16,17). En este sentido se consideró procedente utilizar como primer paso la evaluación toxicológica del vehículo del Aderovet para poder incorporar los productos de vitamina A, D y E en una formulación de liberación prolongada.

HIPOTESIS

El Aderovet no induce efectos de toxicidad, y tiene un margen terapéutico muy amplio.

OBJETIVO

Evaluar si el vehículo del Aderovet presenta alguna toxicidad (fetotoxicidad), constatar su margen terapéutico y si presenta o no reacciones tisulares al aplicarse localmente mediante evaluaciones de rutina aprobadas por las normas del F.D.A.

MATERIAL Y METODOS.

TOXICIDAD AGUDA

Se determinó la dosis letal aguda en ratones de la cepa CFW, estableciendo a lo largo de la curva por lo menos 6 puntos con 10 animales por punto con dos réplicas, 3

aplicando el producto por vía endovenosa (en la vena caudal). La curva se fijó a su mejor distribución utilizando análisis Probit. Con los datos obtenidos se calculó el margen terapéutico del producto.

Dado que se requirió encontrar la zona de distribución de la curva de letalidad, se iniciaron pruebas de escrutinio a dosis de 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg y 10 mg/kg con un volumen no mayor a 0.25 mililitros. Para esta fase se calcularon utilizar 150 ratones de 20 gramos de peso corporal.

TOXICIDAD TISULAR

Se realizó aplicando el vehículo de prueba a una concentración de 10% con y sin vitamina D3 a una concentración de 2% por vía intramuscular en un sitio señalado por depilación en la porción media del músculo gastrocnemio a un centímetro de profundidad a 40 ratas Wistar machos y hembras; 20 de ellas fueron sacrificadas con éter 24 horas después de una inyección para obtener la muestra de tejido y evaluar la reacción inflamatoria. Las veinte ratas restantes fueron sacrificadas a las setenta y dos horas, veinticuatro horas después de dos aplicaciones (una diaria).

Con el mismo esquema se compararon resultados con dos grupos adicionales (de 40 ratas cada uno), inyectadas por vía intramuscular con los preparados comerciales de Vigantol (laboratorio Bayer) y SyntADE (laboratorio Syntex).

En el análisis histopatológico se contempló la reacción inflamatoria, infiltración celular y en su caso necrosis.

En esta fase se utilizaron ochenta ratas Wistar de 200 gramos.

TOXOCIDAD SUBAGUDA

Se medicaron 40 ratas Wistar con el vehículo a evaluar durante cuatro días y 40 ratas Wistar con el vehículo más la vitamina D3 durante los mismos días a la dosis que recomienda el fabricante. A un número igual de ratas se les inyectó agua destilada por

los mismos cuatro días y sirvió como grupo testigo. Al cabo de los cuatro días de medicación se sacrificaron diez de ellas por día para determinar los niveles de urea, creatinina, transaminasa glutámica oxalacética y transaminasa glutámica pirúvica, de acuerdo con los métodos acostumbrados. Al término del estudio se realizaron necropsias y los análisis histopatológicos correspondientes.

En esta fase se emplearon ochenta ratas Wistar de doscientos gramos.

FETOTOXICIDAD Y TERATOGENICIDAD

El producto de vitamina D3 se inyectó a 50 ratonas gestantes tres veces durante la primera semana de gestación (detectada mediante la revisión diaria del tapón copulatorio). A los diecinueve días de gestación se les sacrificó con éter y se pesó el útero, contando el número de productos viables. Los productos fueron fijados e incluidos en bloques de parafina previo corte en línea media para detectar alteraciones en:

- bóveda palatina.
- gónadas.
- cráneo.
- ojos.
- otras alteraciones evidentes.

El peso del útero y el número de productos fué comparado con los del grupo testigo, mientras que la teratogenicidad fué comparada contra la del mismo grupo en términos de frecuencia ($x:2$), para ello se emplearon 50 ratonas gestantes cepa CFW.

MODELO DE CLAUDICACION INDUCIDA

Se utilizaron treinta conejos Nueva Zelanda, 10 por cada grupo. Al primero se le inyectó en una sola ocasión el producto de vitamina D3 a dosis de dos mililitros por vía intramuscular profunda (aproximadamente cuatro centímetros) en la canaladura muscular dada por el biceps femoral y el semitendinoso en la cara lateral del músculo en dirección perpendicular al plano hasta que se produzca una contracción por estimulación ciática (evaluada por el movimiento brusco del miembro). Al segundo grupo se le inyectó Vigantol (Laboratorio Bayer) a dosis de 1500 U.I. en un volumen de 0.015 mililitros en el mismo sitio como grupo comparativo de un grupo similar y a un tercer grupo se le inyectó Tiaminal (laboratorio Silanes), a dosis de dos mililitros como testigo de que el procedimiento per se no daña el nervio ciático. Se evaluó claudicación por rangos por tres observaciones independientes en forma ciega y se evaluó mediante un análisis de rangos de Kruskal-Wallis.

R E S U L T A D O S

Toxicidad Aguda.

Se evaluaron en total 11 dosis por vía intramuscular de la siguiente manera:

Vehículo a la Concentración Normal	Número de Ratones	% de mortalidad a los 14 días
0.1 ml	12	cero
0.2 ml	12	cero
0.3 ml	12	cero
0.4 ml	12	cero
0.5 ml	12	cero
Vehículo al doble de la Concentración Normal		
0.1 ml	12	cero
0.2 ml	12	cero
0.3 ml	12	cero
0.4 ml	12	cero
0.5 ml	12	cero
0.7 ml (repartido en dos sitios)		

Por lo anterior, no fué posible realizar una graficación de la dosis respuesta fetal.

Por vía endovenosa, se aplicaron 3 niveles de dosis como sigue:

Vehículo a la Concentración Normal	Número de Ratones	% de mortalidad
0.05 ml	5	100 (instantánea)
0.1 ml	5	100 (instantánea)
0.15 ml	5	100 (instantánea)

Dado que con las dosis anteriores se presentaron quince muertes instantáneas, se decidió no continuar con la prueba con dosis mayores, es probable que las muertes se hayan presentado por tromboembolia pulmonar; no obstante los datos de la necropsia no revelaron alteraciones evidentes, lo cual es compatible con el proceso hiperagudo observado.

Toxicidad Tisular.

Los resultados de esta prueba derivan de evaluar la toxicidad tisular del vehículo a prueba (VR) y del producto con vitaminas A, D y E (ADE-R) de manera comparativa con Vigantol y Syntade en cuarenta ratas por grupo. Los resultados se resumen en el Cuadro 1 de donde resulta evidente que no se obtuvieron toxicidades tisulares de importancia en ningún grupo a excepción de una ligera reacción inflamatoria en el grupo que recibió Vigantol. Debe señalarse que la reacción marcada como (+) es una reacción mínima normal inducida por la inyección misma y por el desplazamiento que induce el volumen inyectado. Dos (++) indican una reacción más severa quizá causada por el componente de la solución inyectada, y (+++) indican una reacción inflamatoria marcadamente grave. Las (++++) se reservaron para la necrosis, que no se detectó en ningún caso.

Toxicidad Subaguda.

En esta fase se evaluó la posible toxicidad subaguda del VR y del ADE-R sobre variables séricas de la función renal (urea y creatinina) y de función hepática (TGO y TGP). En el cuadro 2 se agrupan los resultados de estos parámetros y en ellos se manifiesta claramente que no existen desviaciones de los valores basales de los grupos utilizados, por lo que se puede concluir que no indujeron daños renales ni hepáticos evidentes. En el cuadro 3 se listan las medias y desviaciones estandar de dichos valores.

Fetotoxicidad y Teratogenicidad.

Los resultados de la evaluación de la fetotoxicidad del grupo con vitamina A, D y E (ADE-R), en comparación con el grupo tetigo no se pudo graficar, ya que en ambos grupos se observó una viabilidad de 100%. Con relación a la teratogenicidad, los resultados fueron similares, ya que en ningún producto del grupo (ADE-R) se observaron cambios teratogénicos evidentes en ninguno de los órganos estudiados ni en algún otro. Por lo que se concluye que el ADE-R no induce Fetotoxicidad ni Teratogenicidad.

Claudicación.

Se llevaron a cabo treinta evaluaciones de claudicación correspondiente al producto ADE-R, al Vigantol y al Tiaminal. Los resultados se presentan en el cuadro 4, en el que se puede constatar que no existieron claudicaciones significativas en el grupo ADE-R y que tanto el grupo de Vigantol como el de Tiaminal si indujeron claudicaciones, tanto en tiempo como en intensidad.

El grupo de Vigantol presentó mas casos de claudicación evidente. Los criterios se establecieron conforme a rangos de la siguiente manera:

(-)	= no claudica
(+)	= creo que claudica
(++)	= claudica a veces
(+++)	= claudica
(++++)	= claudica notoriamente.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en la evaluación de la Toxicidad Aguda, muestran que el vehículo a prueba (VR), aplicado por vía I.M. en ratones gestantes no causó ninguna mortalidad fetal, no obstante por vía I.V. a las dosis recomendadas, hubo quince muertes instantáneas, por lo que se decidió no continuar con la prueba a dosis mayores, dejando un porcentaje de mortalidad de 100%. Es probable que las muertes se hayan presentado por tromboembolia pulmonar, aunque los datos a la necropsia no revelaron alteraciones evidentes, lo cual es compatible con el proceso hiperagudo observado. Asimismo estos resultados concuerdan con lo descrito por Pietsch and Ruffle (8), quienes informan que existen vehículos que pueden producir colapso cardio-vascular, concluyéndose que el vehículo (VR) tiene un alto margen de seguridad al ser aplicado por la vía I.M.

En la prueba de Toxicidad Tisular no hubo resultados de consideración toxicológica, a excepción de una ligera reacción inflamatoria del grupo que recibió Vigantol, lo cual se valoró como una reacción normal inducida por la inyección misma y por el desplazamiento que induce el volumen inyectado, tal y como lo mencionan Paul (16) y Reilly (17).

En la fase de Toxicidad Subaguda se evaluó a el VR y al ADE-R sobre variable séricas de la función renal (urea y creatínina) y de la función hepática (TGO y 'TGP), manifestándose claramente que no existieron desviaciones de los parámetros basales, por lo que se puede concluir que no indujeron daños renales ni hepáticos evidentes. Al evaluar la Fetotoxicidad y la Teratogenicidad, se observó que el ADE-R no provoca mortalidad en los fetos, además de que no induce cambios teratogénicos en los mismos, siendo esto determinante en el incremento de la confiabilidad de su aplicación en hembras en estado grávido.

En las pruebas de Claudicación Inducida, se observó que el Tiaminal indujo claudicaciones poco significativas, mientras que el Vigantol provocó casos de claudicación evidente, con relación al ADE-R, éste no provocó claudicación evidente, por lo cual el ADE-R es el más seguro con una nula reacción de dolor en el sitio de aplicación. Lo cual concuerda con lo que expone Reilly al indicar que existen fármacos con diferente PH; los cuales tienen la capacidad de estimular en diferentes grados de intensidad las terminales sensitivas adyacentes al sitio de aplicación del fármaco (17).

LITERATURA CITADA

1. Allen, W.M. and Davies., D.C.: Milk fever, hypomagnesaemia and the downer cow syndrome, *Br. vet. J.*, 137:435-441 (1981).
2. Anon: Proceedings of group discussion on magnesium metabolism, hipomagnesaemia and grass tetany in cattle. **Dunsea Research Centre Agricultural.** Institute Dublin, Ireland, 1971, Society for Veterinary Ethology, Dublin Ireland (1971).
3. Jesse P. Goff, Timothy A. Reinhardt and Ronal L. Horst, 1989. Recurring Hypocalcemia of Bovine Parturient Paresis. Its Associated with Failure to produce 1,25-Dihydroxyvitamin D. **Endocrinology** 125:49-53 (1989).
4. A. Bart, S. Striem., R. Perlman, and S. Sachs. Use of 1-alfa-Hydroxyvitamin D3 in prevention of Bovine Parturient Paresis. 8 Maternal and Neonatal Plasma Calcium, Parathyroid Hormone, and vitamin D Metabolites Concentrations. **Bard** 352-81. (1987).
5. Goff JP, Horst R. L. Reinhardt TA. The pathophysiology and prevention of milk fever. **Vet. Med.** 82:943 (1987).
6. Brander, G.C., Pugh D.M. and Bywater R.J.: Veterinary applied pharmacology and therapeutics. 4 th ed. Balliere. **Tindall**, London, (1982).
7. Jones, L.M. and Booth, N.H.: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 4th.ed. **The Iowa State University.** Press, Ames, (1977).
8. Pietsch, W. and Ruffe, E.: Charakterisierung wichtiger zwischenfalle bei der anweduny von veterinarpharmazavitika **Mh Vet. Med.:** 59-61 (1986).
9. Bogan, J.A., Less, P. and Yoxall, A.T.: Pharmacology Basis of Large Animal Medicine. **Blackwell, L. ed.** (1983).
10. Blood, D.C., Henderson S.A. and Rodostits N. Medicina Veterinaria 6a. ed. **Interamericana, México, D.F.,** (1986).

11. Kayssinguer, Y., Garel, I.M., Davico, M.J. and Berlet, J.P. Plasma Parathyroid hormone and calcitonin levels in hypocalcemic magnesium deficient calves. *Annls Rech. Vet.*, 8:267-273 (1977).
12. Blaser, E: Treatment of puerperal paresis in coassociated with liver disease. *Tierarztl Umsch*, 4:69-698. (1985).
13. Jonson, G.: prophylaxis of puerperal paresis in cows. *Nord. Vet. Med.*, 10:21-37 (1958).
14. Jonson, G. and Pehrsson, B: The therapeutic effect of different calcium dose in cases of parturient paresis. *Svensk. Vet. Tidskr.*, 27:138-143 (1975).
15. Mayer GP. 1972 A rational basis for the prevention of parturient paresis. *Ok. Vet. Med. Assoc.* 14:2.
16. Paul, J.W.: Drug interactions and incompatibilities. *Vet. Clin. North AM.*, 3: 145-151 (1987).
17. Reilly, P. E. and Isaacs, J.P.: Adverse drug interactions of importance in veterinary practice. *Vet. Rec.*, 112:29-33, (1983).
18. Bar, A., R. Perlman and M. Sachs. 1985. Observation on the use of 1 alfa-hydroxivitamin D3, in the prevention of bovine parturient paresis: The effect of a single injection on plasma 1 alfa-hydroxivitamin D3, 1-25 dihydroxivitamin D3, calcium and hidroxyproline. *J. Dairy Sci.* 68: (1952).
19. Bar, A., M. Seachs and R., Perlman. Observation on the use of 1 alfa-hydroxivitamin D3 in the prevention of bovine parturient paresis. 6. Lack of effect on the concentrations of vitamin D3 equivalence of the milk, *J. Dairy Sci.* 69:2810 (1986).
20. Goff, J.P., R.L. Horts, and E.T. Littledike. Effect of maternal vitamin D. Status at parturation on the vitamin D status of the neonatal calf *J. Nutr.* 114:163 (1982).

CUADRO I

Observaciones histopatológicas a la inyección del VR= Vehículo comercial,
ADE-R= producto terminado con vitaminas A, D y E, Vigantol y Syntade
Las observaciones son el concepto de tres observadores independientes de manera ciega.

Grupo	UNA DOSIS			DOS DOSIS		
	Inflamación	Infiltración	Necrosis	Inflamación	Infiltración	Necrosis
VR	+	-	-	+	+	-
ADE-R	+	-	-	+	+	-
Vigantol	++	++	-	+++	++	-
Syntade	+	++	-	++	+	-

CUADRO 2.

**RESULTADOS DE LA TOXICIDAD RENAL Y HEPÁTICA DEL VR Y ADE-R
VARIANZA:**

Raza VR	5 DIAS				6 DIAS				7 DIAS				8 DIAS			
	Urea	Creat	TGO	TGP												
1	25.1	1.4	30.4	15.4	24.1	1.2	27.6	18.6	26.1	1.3	33.2	16.8	23.6	1.3	22.8	18.7
2	26.2	1.7	40.8	21.1	24.1	1.4	19.7	17.5	22.4	1.9	31.1	17.1	24.3	1.6	30.0	31.0
3	25.5	1.2	33.1	18.4	27.2	1.6	26.3	19.1	21.8	1.4	34.6	22.4	23.1	1.3	33.0	19.8
4	24.6	2.1	36.6	22.9	26.3	2.2	25.1	20.6	24.6	1.8	30.2	30.1	26.6	1.8	44.0	27.4
5	25.1	1.7	30.2	27.7	24.1	1.5	26.1	15.4	22.8	1.7	26.3	29.6	27.1	1.4	17.0	23.0
6	21.4	1.4	15.4	25.0	20.0	1.4	31.2	18.6	22.1	1.3	24.8	24.8	26.2	2.0	18.1	19.4
7	27.0	1.9	26.6	17.0	20.0	2.1	17.6	19.1	27.0	2.1	23.1	31.0	31.4	1.9	21.6	22.4
8	26.3	1.4	27.9	20.4	28.0	1.2	18.9	22.6	22.4	2.0	26.2	31.0	22.6	2.3	21.2	30.0
9	27.6	1.3	31.0	19.6	30.3	1.1	22.6	24.8	26.2	1.2	28.2	31.0	21.0	1.1	20.0	19.6
10	23.8	2.1	31.1	21.6	21.6	1.4	21.4	25.7	23.1	1.1	26.3	20.2	24.0	1.06	22.4	20.2

Raza ADP	5 DIAS				6 DIAS				7 DIAS				8 DIAS			
	Urea	Creat	TGO	TGP												
1	26.7	1.6	42.6	15.4	24.0	1.3	37.6	19.6	21.0	2.1	20.6	30.6	24.6	1.8	27.4	18.1
2	26.1	1.5	38.5	21.1	27.1	1.6	30.1	23.7	20.6	1.9	28.0	32.0	28.7	1.4	28.4	31.0
3	25.4	1.1	33.4	18.5	21.1	1.6	22.2	29.6	26.3	1.3	31.2	19.8	25.6	2.1	31.4	19.8
4	27.6	1.6	35.4	22.9	18.4	1.4	27.1	21.3	22.1	1.3	28.6	28.6	25.0	1.9	36.4	27.4
5	26.3	1.4	28.7	21.7	30.3	1.9	20.6	20.0	30.1	1.4	29.4	28.7	23.8	1.8	18.1	23.0
6	26.4	1.4	31.0	25.0	27.2	2.6	19.3	22.0	29.6	1.2	33.4	21.2	22.6	1.5	23.4	18.9
7	23.8	1.3	29.4	23.0	19.1	2.1	18.6	24.6	18.4	1.8	36.2	31.5	29.4	1.7	15.9	22.4
8	21.5	1.2	27.4	20.4	24.3	1.2	27.6	19.1	19.1	1.9	30.0	31.0	20.0	2.0	28.6	30.0
9	23.9	1.6	33.4	19.6	23.2	1.5	21.8	18.6	17.2	2.0	28.6	29.4	19.9	1.3	27.2	19.6
10	24.2	1.5	31.4	21.6	27.4	1.4	22.5	18.8	18.4	1.1	27.1	28.6	31.0	1.1	30.0	29.0

Raza Tm	5 DIAS				6 DIAS				7 DIAS				8 DIAS			
	Urea	Creat	TGO	TGP												
1	26.6	1.4	36.6	17.0	27.1	1.8	27.7	18.6	19.6	1.9	26.4	31.0	28.6	1.9	27.6	30.0
2	23.5	1.5	44.7	18.6	26.3	1.6	30.0	13.1	22.4	1.6	26.6	28.6	27.0	1.3	30.0	26.0
3	26.4	1.8	32.6	24.8	27.4	1.3	26.7	23.6	24.4	1.5	17.0	27.4	23.6	1.6	29.4	31.0
4	25.7	1.3	34.7	17.3	21.2	1.1	26.1	22.6	26.1	1.4	30.2	28.4	28.1	1.9	27.6	23.0
5	24.6	1.7	19.6	25.0	28.6	2.0	19.4	22.4	25.4	2.2	31.6	23.4	27.6	2.1	30.0	14.0
6	25.1	1.4	22.9	18.6	28.1	2.1	22.6	21.6	19.6	2.3	29.4	32.0	23.4	2.0	33.4	18.0
7	24.9	1.3	21.7	23.1	25.1	1.9	31.2	17.8	18.9	1.1	29.1	29.6	20.8	1.8	29.1	28.0
8	23.6	1.9	33.2	20.8	20.2	1.1	40.8	19.6	21.7	1.2	26.0	28.0	30.0	1.1	24.8	29.0
9	24.1	1.6	30.7	19.3	21.6	1.0	27.6	22.6	22.4	1.4	31.0	17.7	29.6	1.3	27.1	29.0
10	22.6	1.5	29.6	18.7	20.3	1.1	22.7	26.8	20.6	1.3	37.0	26.0	28.4	1.16	24.8	19.0

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

5º día	Fc	Ft	5º día	Fc	Ft
UREA	.416	3.35	CREAT.	4.96	3.35
6º día			6º día		
UREA	0.70	3.35	CREAT.	.33	3.35
7º día			7º día		
UREA	1.29	3.35	CREAT.	.044	3.35
8º día			8º		
UREA	1.93	3.35	CREAT.	.1418	3.35
TOTAL			TOTAL		
UREA	.217	3.08	CREAT.	.17	3.08

5º día	Fc	Ft	5º día	Fc	Ft
TGO	.0043	3.35	TGP	1.58	3.35
6º día			6º día		
TGO	2.32	3.35	TGP	1.191	3.35
7º día			7º día		
TGO	0.108	3.35	TGP	2.718	3.35
8º día			8º		
TGO	.995	3.35	TGP	.482	3.35
TOTAL			TOTAL		
TGO	1.64	3.08	TGP	1.29	3.08

CUADRO 3

Valores medios y desviaciones estandar en toxicidad sistémica subaguda sobre riñón e hígado del VR = Vehículo comercial y del producto terminado del vitamina A, D y E (ADE-R)

Grup	Urea	Creat	Ti(0)	TGP	Urea	Creat	Ti(0)	TGP	Urea	Creat	TGO	TGP	Urea	Creat	TGO	TGP
	25.33	1.74	11.54	22.1	24.47	1.61	11.37	20.04	24.24	1.58	29.6	24.2	25.25	1.6	25.32	23.3
VR
	1.04	0.28	4.41	4.9	1.28	0.4	4.11	1.18	1.81	0.34	4.93	5.77	0.97	0.35	8.84	4.74

	25.34	1.42	11.25	23.81	24.33	1.68	23.44	21.67	22.25	1.6	29.33	28.74	25.06	1.694	25.44	23.4
ADE-R
	2.32	.166	4.37	4.36	3.51	0.4	5.46	3.02	4.49	0.53	3.88	5.34	3.57	0.30	7.06	4.95

	25.53	1.54	11.12	20.34	24.89	1.52	27.23	22.63	22.13	1.63	30.74	27.19	27.52	1.694	28.34	23.2
VE-S RNI
	2.05	0.19	40.2	2.84	1.06	0.38	4.06	3.68	2.38	0.59	1.47	1.31	2.17	0.30	2.43	4.77

CUADRO 4.

Valores relativos de claudicación después de la aplicación I.M. profunda, cerca del ciático de Vigantol, ADE-R (producto de vitaminas A, D Y E de Roussell) y Tiaminal

CONEJO	VIGANTOL			ADE-R			TIAMINAL		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	++	+	-	-	-	-	+	+	-
2	+++	+	-	-	-	-	+	+	-
3	++	+	-	+	-	-	++	+	-
4	+	+	-	-	-	-	+	-	-
5	+	-	-	-	-	-	+++	+	-
6	+	-	-	+	-	-	++	+	-
7	-	-	-	-	-	-	+	-	-
8	++	-	-	-	-	-	++	+	-
9	+++	+	+	-	-	-	+++	+	-
10	++++	+++	+	+	-	-	+	-	-

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA