

ESTUDIOS POR MICROSCOPIA ÓPTICA Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS DEL EFECTO TERAPÉUTICO DEL NADIAN PLUS (SUPLEMENTO ALIMENTICIO) SOBRE CÉLULAS HEPÁTICAS DE RATAS WISTAR MACHO TRATADAS PREVIAMENTE CON UN AGENTE CARCINOGENICO "AFLATOXINA B1".

Cruz-Cobián Liliana¹, Delgado Buenrostro, Norma L.².

1 Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. 2 Unidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Tel. 56231294 Ext. 160. Fax. 56231238. E-mail: tiggerlili85@hotmail.com, nldb1@hotmail.com, nldelgado@campus.iztacala.unam.mx

INTRODUCCIÓN

La AFB1 es una toxina con actividad mutagénica y teratogénica; estas propiedades pueden variar dependiendo de la dosis ingerida, el tiempo de exposición, la especie, la raza, la edad y el sexo del individuo intoxicado [1,2,5]. Afecta principalmente al hígado provocando lesiones como cirrosis (enfermedad crónica progresiva, caracterizada por la necrosis en células hepáticas de manera lenta por un periodo prolongado que puede inducir hepatocarcinoma celular u ocasionar la muerte) [3,4].

El Nadian Plus (NP) (Suplemento alimenticio de origen natural), contiene vitaminas como la A, B, C, D, E y K; además, contiene minerales como el calcio, magnesio, fósforo, hierro y potasio; y derivados de la colmena como la miel de abeja, el propóleo y el polen. Al NP se le han atribuido funciones como: Auxiliar en el tratamiento de enfermedades crónicas degenerativas e infecciosas. Así mismo participa de manera eficiente en las funciones del sistema inmunológico.

OBJETIVOS

- 1.- Provocar una alteración hepática con la administración oral de sorgo contaminado con AFB1 en ratas macho wistar.
- 2.- Valorar el daño hepático de ratas tratadas con AFB1 a través de pruebas bioquímicas (hematocrito, TGO, TGP y LDH) e histopatológicas (hígado, bazo y riñones).
- 3.- Valorar el efecto del NP "respuesta ante una enfermedad crónica hepática". y de la vitamina E en ratas tratadas simultáneamente con AFB1.
- 4.- Valorar el efecto del NP y de la vitamina E "correlacionar su efecto" en ratas tratadas simultáneamente con AFB1.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio con 40 ratas macho Wistar tratadas previamente con aflatoxina B1 [1.5 ppb], durante 84 días; los días 0, 35 y 84 se les realizó una punción cardiaca y mediante pruebas bioquímicas (hematocrito, cuantificación de enzimas TGO, TGP y LDH), estudios histopatológicos (hígado, bazo y riñones) y la valoración de síndromes tóxicos, se valoró el daño ocasionado por la AFB1 así como los posibles efectos terapéuticos ocasionados por el NP.

Preparación del alimento con AFB1. La cepa de *Aspergillus flavus* fue sembrada en medio Malta sal Agar e incubada a 25° C durante 7 días. Posteriormente se realizó una suspensión de 3×10^6 esporas/ml en agua estéril con tween 80 al 1%. En seguida se realizó el inóculo a la semilla de sorgo con 93.1 ml de suspensión en 8 ml de agua estéril para tener una humedad de 18% en el sorgo. Una vez inoculado el sorgo se incubó a 27° C durante 15 días. Posteriormente se realizó la cuantificación de aflatoxinas por el método de Aflatest VICAM (ver adelante). Finalmente se ajustó el sorgo a la concentración de 1.5 ppb de aflatoxinas y se realizó el conteo de esporas en una cámara de Neubauer para su posterior administración por vía oral a las ratas en estudio.

Cuantificación de Aflatoxinas (Método Aflatest VICAM)

Se molieron y homogenizaron 50 g de semilla de sorgo inoculada, 5 g de NaCl y 100 ml de metanol al 80% en una licuadora para laboratorio de uso rudo. Se filtró la mezcla a través de papel filtro Whatman No. 1. Enseguida se tomaron 10 ml del filtrado y se llevó a un volumen de 50 ml con agua destilada, filtrándose nuevamente a través de un filtro microfibras (1.0 μ m). Posteriormente 10 ml del filtrado final se pasó a través

de una columna de inmunoafinidad Aflatest con flujo de 1-2 gotas/s. Enseguida se lavó la columna dos veces con 10 ml de agua destilada con un flujo de 1-2 gotas/s. Inmediatamente después, se agregó 1 ml de metanol grado HPLC para que fluyeran las Aflatoxinas por la columna, la elusión se colectó en un tubo y se le añadió 1 ml de revelador Aflatest y se realizó la lectura en un fluorómetro VICAM para obtener la concentración de Aflatoxinas en ppb. [4]

RESULTADOS

Los resultados mostraron que la AFB1 provocó algunos síndromes tóxicos como disminución de peso, caída de pelo, anorexia y mortalidad; a nivel bioquímico se observó disminución en el porcentaje del hematocrito, aumento en la concentración de las enzimas TGO, TGP y LDH; con relación a los estudios histopatológicos las ratas mostraron severo daño hepático, así como daño en bazo y riñones, sin embargo el NP pudo disminuir algunos síndromes tóxicos, contrarrestar las alteraciones bioquímicas manteniendo niveles normales en el porcentaje del hematocrito y en las concentraciones de las enzimas TGO, TGP y LDH provocados por la AFB1, y también podría estar disminuyendo el grado de lesiones presentes en los órganos de los animales tratados con AFB1. Estos resultados nos hacen sugerir que el NP podría estar minimizando los efectos provocados por la AFB1 debido a que las vitaminas que contiene tienen efecto antioxidante y además contribuyen en la regeneración celular; al igual que los minerales y los derivados de la colmena que podrían estar participando en reacciones bioquímicas del organismo que ayudan a contrarrestar los efectos provocados por la AFB1.

CONCLUSIONES

- 1.- La AFB1 provocó síndromes tóxicos como son disminución de peso, caída de pelo, anorexia y mortalidad; a nivel bioquímico se presentó una disminución en el volumen de eritrocitos representado por el porcentaje del hematocrito; y se incrementó la concentración de las enzimas TGO, TGP y LDH indicándonos una enfermedad hepática que involucra necrosis tisular.
- 2.- El estudio histopatológico nos confirmó un severo daño hepático hasta llegar a inducir cirrosis, así como daño en bazo y riñones.
- 3.- El Nadian Plus debido a los elementos nutricionales que contiene podría estar inhibir los síndromes tóxicos como la anorexia, la caída de pelo y disminución en el peso; además de mantener los niveles normales del hematocrito y de las enzimas TGO, TGP y LDH que fueron alteradas por la AFB1.
- 4.- Con base en los resultados mostrados sugerimos que el Nadian Plus ayuda a disminuir el grado de lesiones presentes en los órganos de los animales tratados con AFB1.
- 5.- Sugerimos que el efecto que tiene el Nadian Plus en el organismo ante un daño hepático podría ser mejor que el de la vitamina E.

REFERENCIAS

- [1] Pozzi CR, Correa B, Xavier JG, Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats. 151(2001)21-27
- [2] Wang, JS, Groopman JD. DNA damage by mycotoxins. 424(1999)167-181.
- [3] Angel G, Angel M., Interpretación clínica del laboratorio. 6edición (2001)101-129.
- [4] Bueno DJ, Oliver G., Determination of aflatoxin and zearalenone in different culture media. 268(2004)133-137.
- [5] folkman j., Angiogenesis in cancer vascular, rheumatid and other disease 1(1995)27-31.

DATOS

TEMA DEL TRABAJO:

II.- CIENCIAS BIOLÓGICAS, MEDICINA Y FORENSE
II.3 MEDICINA.

DATOS DEL RESPONSABLE:

Dra. NORMA LAURA DELGADO BUENROSTRO.

GRADO ACADÉMICO: DOCTORADO EN CIENCIAS “BIOLOGIA CELULAR”.

INSTITUCIÓN: FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA. UNAM

DIRECCIÓN: Av. de los barrios 1 Los Reyes Iztacala Tlalnepantla 54090 México D.F.

TELEFONO Y CORREO ELECTRÓNICO: Tel. 56231294 Ext. 160. Fax. 56231138.

nldb1@hotmail.com nldelgado@campus.iztacala.unam.mx

PLAZA DE CARRERA. TÉCNICO-ACADÉMICO TITULAR B

QUIMICA FARMACÉUTICA BIOLOGA. LILIANA CRUZ COBIÁN.

GRADO ACADÉMICO: LICENCIATURA.

INSTITUCIÓN: FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN UNAM

DIRECCIÓN: Cuautitlán Izcalli s/número Edo de México L-502.

TELEFONO Y CORREO ELECTRÓNICO: Tel. 11131101. E-mail:

tiggerlili85@hotmail.com

PROFESOR DE ASIGNATURA.

PREFERENCIA: CARTEL