

VALORACION DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR DE UN EXTRACTO DE PROPOLEO ROJO CUBANO EN EL MODELO DE HEPATOTOXICIDAD POR GALACTOSAMINA EN RATAS

A. González, N. Merino, R. González, A. Capote y E. Rojas.

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 31 de octubre de 1994.

RESUMEN. Se estudió el efecto de un extracto de propóleo rojo cubano en la hepatotoxicidad aguda inducida por la galactosamina (Gal N) en ratas, a través de la actividad de la enzima ALAT y del estudio del hígado por histopatología. El estudio fue diseñado experimentalmente sobre la base de la utilización de la GalNal a dosis de 1 000 mg/kg (i.p.) y del propóleo a las dosis de 10, 50 y 100 mg/kg por vía oral. El extracto de propóleo indujo una disminución significativa de la enzima ALAT en el suero de los animales intoxicados con galactosamina y redujo las lesiones hepáticas inducidas por esta hepatotoxina. Estos resultados evidencian que el propóleo es capaz de proteger al hígado del daño inducido por la galactosamina en ratas.

ABSTRACT. The pharmacological effects of propolis extract in a model of acute hepatotoxicity induced by galactosamine in rats at doses of 1 000 mg/kg, i.p were studied. Propolis was administered at doses of 10, 50 y 100 mg/kg, orally. The propolis extract decreased significantly the activity of alanine aminotransferase (ALAT) in serum and it also reduced liver damage induced by galactosamine. These results provide evidence that propolis exerts hepatoprotective effects in galactosamine model.

INTROUCCION

Los propóleos son sustancias resinosas de color pardo, rojo o amarillo-verdoso, elaboradas por las abejas a partir de diversas plantas.¹ Entre las diversas propiedades farmacológicas atribuidas al propóleo se encuentran las antiinflamatorias,² antioxidantes,^{2,3} antibacterianas⁴ y antivirales.⁵ Estas han sido confirmadas para los propóleos europeos que tienen una composición química diferente a la de los propóleos tropicales.

Recientemente, a un extracto etanólico de propóleo rojo cubano se le han encontrado propiedades hepatoprotectoras⁶ en los modelos de hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono⁷ y paracetamol.⁸

La galactosamina (Gal N) es un agente hepatotóxico que provoca una necrosis hepatocelular aguda y un infiltrado inflamatorio en el tejido hepático,^{9,10} deprimiendo nucleótidos de uracilo, importantes en la síntesis de determinadas proteínas que son fundamentales para el mantenimiento de la estructura celular.¹¹ Este modelo experimental se asemeja por sus alteraciones tisulares a la hepatitis viral en el hombre.⁹

Tomando en cuenta los resultados obtenidos con el propóleo rojo en otros modelos de hepatotoxicidad, se decidió evaluar los posibles efectos farmacológicos en el modelo de hepatotoxicidad aguda inducida por Gal N en ratas.

MATERIALES y METODOS

El estudio fue diseñado para un total de 35 ratas machos Sprague Dawley (200y 250g) suministradas por el CENPALAB.

Se utilizó como hepatotóxico la Gal N a la dosis de 1 000 mg/kg (i.p.), mientras que el propóleo rojo, fue administrado en diferentes dosis por vía oral.

Los animales fueron divididos en los grupos siguientes: Gal N, vehículo (etanol + H₂O), propóleo (10 mg/kg) + Gal N,

propóleo (50 mg/kg) + Gal N, propóleo (100 mg/kg)+ Gal N (6 animales en cada grupo) y el grupo Control con cinco animales.

El propóleo utilizado en este estudio fue clasificado de acuerdo con su patrón de separación por cromatografía de capa delgada y se le denominó propóleo rojo.

El propóleo fue colectado en apiarios de Consolación del Sur, Pinar del Río.

El extracto etanólico de propóleo se obtuvo de la forma descrita por Alvarez y col.¹² Un gramo de propóleo fue resuspendido en etanol al 95 % (V/V) en un mortero y la suspensión fue decantada después de 48 h, a temperatura ambiente. El extracto etanólico de propóleo así obtenido, tenía una concentración del 70% (P/V) en etanol y se guardó a 4 °C. Fue administrado a razón de 1 mL/kg de peso corporal, 30 s antes que la Gal N, disuelta en agua.

El alimento les fue retirado a los animales entre 12 y 14 h antes de la administración de las drogas. El agua fue suministrada *ad libitum*.

Todas las determinaciones fueron realizadas 18 h después de la administración del tóxico o del fármaco.

La sangre se extrajo de la vena cava abdominal (3 mL/animal), se centrifugó a 2 000 r/min durante 5 s y se obtuvo suero para la determinación de la enzima alanina amino transferasa (ALAT), utilizándose un juego diagnóstico de F. Hoffman-La Roche.

Los animales fueron anestesiados con éter etílico y posteriormente sacrificados y sus hígados removidos rápidamente para el examen histológico. En la necropsia se tomaron dos fragmentos de hígado (de los lóbulos izquierdo y caudal), por animal que se fijaron en formol neutro al 10 % y procesaron por la técnica convencional de inclusión y corte en parafina y tinción con hematoxilina-eosina.

Los resultados bioquímicos se sometieron a un análisis de **varianza** de clasificación simple.

La significación estadística fue analizada según el test de Student.

Los resultados histopatológicos fueron evaluados cualitativamente siguiendo un diseño a ciegas, es decir, el patólogo desconocía a qué grupo de tratamiento pertenecían los hígados de los animales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Microscópicamente se observó necrosis de hepatocitos **aislados**, degeneración acidofílica (Cuerpos de Councilman) e infiltración focal de células mononucleares fundamentalmente en la zona periportal, en la mayoría de las muestras de tejido hepático de los animales de los grupos Gal N, y propóleo (10 mg/kg) + Gal N, pero no así, en los animales de los grupos propóleo (50 y 100 mg/kg) + Gal N (Tabla I).

Tabla I
Evaluación cualitativa de la necrosis hepática por grupos

Grupo	Total de animales	Necrosis observada			Total de animales sin necrosis
		I	II	III	
Control	8	—	—	—	—
Gal N (1 000 mg/kg)	13	3	1	7	2
Etanol + H ₂ O + Gal N	7	—	—	—	—
Propóleo (10 mg/kg) + Gal N	6	—	3	—	3
Propóleo (50 mg/kg) + Gal N	13	3	—	—	10
Propóleo (1 00 mg/kg) + Gal N	13	3	—	—	10

Gal N galactosamina.

La comparación de la cantidad de animales por grupo sin necrosis, arrojó diferencias significativas entre el control positivo Gal N y los grupos tratados con las dosis mayores de propóleo (50 y 100 mg/kg), sin embargo, entre estos últimos no hubo diferencias.

Lo anterior fue corroborado por la evaluación cualitativa de la necrosis hepática de las muestras, donde se observó que la mayoría de las muestras de hígado pertenecientes al grupo control positivo Gal N presentaron grado III de necrosis (severa) (Fig. I), mientras que en los grupos tratados con propóleo (50 y 100 mg/kg) sólo aparecieron tres animales con necrosis hepática grado (discreta) (Fig. II).

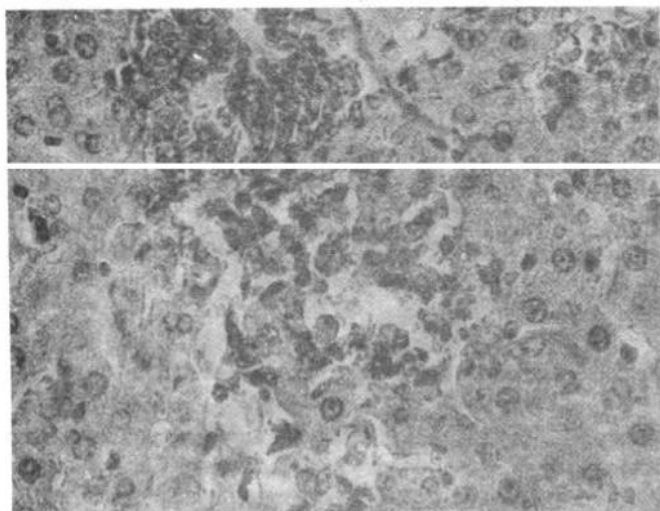


Fig.1. Tejido hepático severamente lesionado perteneciente al grupo Gal N con focos de células en necrosis, infiltración focal de células y cuerpos acidófilos. HE 40X7X1,25.

En los resultados del análisis estadístico (Tabla II), se constataron diferencias significativas entre los grupos control y control positivo, correspondiendo el marcado aumento de la enzima en estos grupos con el grado del daño celular que el tóxico provoca en el hígado.

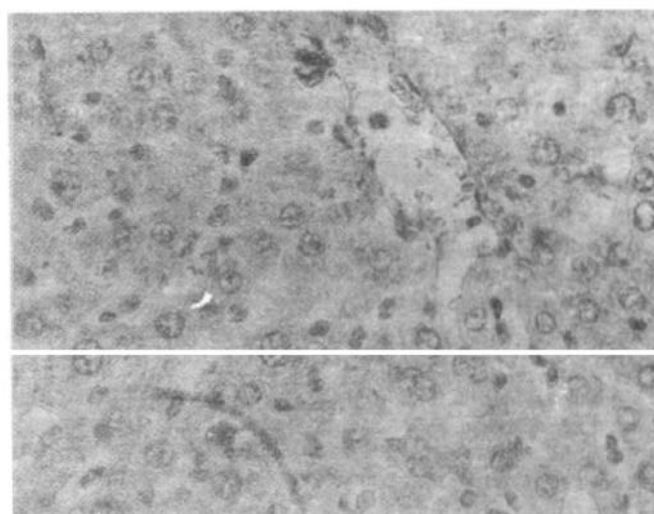


Fig.2. Hígado de rata tratado con propóleo (100 mg/kg oral) + Gal N. Pequeños focos de infiltrado celular periportal. HE 40X7X1,25.

Tabla II
Efecto del propóleo sobre la actividad sérica de la ALAT

Grupo	ALAT (U/L) (X ± DE)
Control	68,66 ± 6,31
Gal N (1 000 mg/kg)	287,66 ± 26,84
Etanol + H ₂ O	272,60 ± 19,94
Propóleo (10 mg/kg) + Gal N	271,16 ± 17,81
Propóleo (50 mg/kg) + Gal N	210,66 ± 46,36*
Propóleo (1 00 mg/kg) + Gal N	1 81,66 ± 31,96*

Gal N galactosamina.

* p < 0,05.

No se detectaron diferencias significativas entre los grupos Gal N y propóleo (10m g/kg).

En los grupos tratados con dosis mayores de propóleo (50 y 100 mg/kg) + Gal N, si se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo Gal N, correlacionándose la disminución de los valores de la ALAT, con la reducción de las lesiones aparecidas en la morfología del tejido hepático.

Este efecto hepatoprotector del extracto de propóleo rojo, probablemente se deba a sus propiedades antioxidantes,² si se tiene en cuenta que la Gal N induce peroxidación lipídica y aumento del malonaldehído.¹³

También se ha descrito¹⁴ que la Gal N, reduce en el hígado la cantidad de grupos sulfidrílicos no proteicos, como es el glutatión (GSH), un importante antioxidante endógeno.

Por otra parte, ha sido demostrado el efecto hepatoprotector del propóleo frente al paracetamol,¹⁵ cuyo mecanismo depende primariamente de una depleción del GSH por el paracetamol, así como la reversión de este efecto por el propóleo.⁸ Este hecho unido a que este producto disminuye la peroxidación lipídica inducida en el modelo de tetracloruro de carbono,⁷ permite sustentar la hipótesis de que las propiedades antioxidantes del propóleo rojo están vinculadas a su efecto hepatoprotector contra el daño inducido por la Gal N.

CONCLUSIONES

El propóleo rojo administrado a las dosis de 50y 100 mg/kg muestra un efecto hepatoprotector en el modelo experimental de hepatitis inducida por galactosamina en ratas.

BIBLIOGRAFIA

1. Cueto Leyva D.J. **Rev. Cub. Farm.**, **13**, 124, 1984.
2. Pascual C., González R. y Torricella R. **Journal of Ethnopharmacology**, **43**, 9, 1994.
3. Krol W., Czuba Z., Sceller S., Gabry J., Grabiec S., Shaani J. **Biochem. Int.**, **1**, 593, 1990.
4. Kujumgiev A., Bankova V., Ignatova A. and Popov S. **Pharmazie**, **48**, 785, 1993.
5. Amoros M., Simoes C.M.O., Girre L. **Journal of Natural Products**, **55**, 1732, 1992.
6. Hollands I.S. Machado y Domínguez C. **Rev. Cub. Cienc. Vet.**, **22**, 85, 1991.
7. González R., Corcho I., Remírez D., Rodríguez S., González A., Ancheta O., Merino N. and Pascual C. **Phytotherapy Research**, **9**, 114, 1994.
8. González R., Remírez D., Rodríguez S., González A., Ancheta O. y Merino N. and Pascual C. **Phytotherapy Research**, **8**, 229, 1994.
9. Keppler D., Keppler D., Lesch R., Reutter W. and Decker K. **Exp. Mol. Pathol.**, **9**, 279, 1968.
10. Ozeki Tsuneo, Mikio Kan, Shoichi Yamagata and Yoshio Taoka. **Gastroenterología Japonica**, **17**, 55, 1991.
11. Abdul-Hussain S. K. and Mehendale H.M. **Toxic. in Vivo**, **6**, 183, 1992.
12. Alvarez J.D., Granadillo J. y Tabio C. **Cienc. Tec. Agric. Apicultura**, **5**, 51, 1989.
13. Seckin S., Kocak N., Uysal M. y Oz B. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.**, **80**, 117, 1993.
14. McDonald J.R., Gandolfi A.J. and Sipes I.G. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, **73**, 551, 1984.
15. Remírez D., González A., Rodríguez S., González R., Merino N., Ancheta O., Pascual C., Rojas E. y Ramos M.E. **Rev. Cub. Farm.**, **28**, 45, 1994.