

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DEL EFECTO AGUDO DEL
EXTRACTO ACUOSO DE LA SEMILLA DE PAROTA
ENTEROLOBIUM CYCLOCARPUM (JACK)

GRISEB EN RATAS WISTAR.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
ROBERTO BRACAMONTES CARRILLO
GUADALAJARA, JALISCO. 1992

DEDICATORIA

A mis padres Anita y Roberto con todo mi amor y respeto, por darme vida y mostrarme como vivirla y comprenderla.

A mis hermanos Adriana, Guillermo y German Omar que me brindaron todo su apoyo a lo largo de la carrera.

A mis condicipulos y amigos que siempre estuvieron a mi lada en las buenas y las malas.

A mi alma mater, Piensa y Trabaja.

A mi esposa Lilia Guadalupe con todo mi cariño

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por otorgarme la oportunidad de ser lo que ahora soy.

A todos mis maestros que estuvieron siempre en la mejor disposición de a ayudarme.

A mi director de tesis M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección

Expediente

Número

C. ROBERTO BRACAMONTES CARRILLO
P R E S E N T E . -

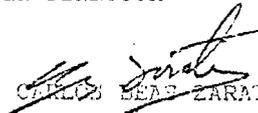
Manifestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis " ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DEL -- EFECTO AGUDO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA SEMILLA DE PAROTA *Enterobolium cyclocarpum* (Jack) Griseb EN RATAS WISTAR" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el M. en C. Genaro -- Gabriel Ortiz.

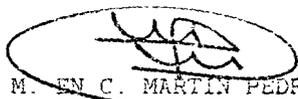
A T E N T A M E N T E
" PIENSA Y TRABAJA "
"AÑO DEL BICENTENARIO"
Guadalajara, Jal., 14 Enero de 1992.
EL DIRECTOR



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C.  CARLOS CÉSAR ZARATE

EL SECRETARIO



M. EN C. MARTÍN PEDRO TENA MEZA

c.c.p.- El M. en C. Genaro Gabriel O.; Director de tesis.pte.-
c.c.p.- El expediente del alumno.
CBZ>MFTM>Cg1r.

Al contestar este oficio citese fecha y número

GUADALAJARA, JALISCO A 14 DE ENERO DE 1990

C. M. en C. Carlos Beas Zárate.
Director de la Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara
P r e s e n t e.

Estimado M. en C. Carlos Beas Zárate:

Por este medio comunico a usted que el C. Roberto Eracamonates Carrillo, pasante de la Licenciatura en Biología con el número de registro 80306474 ha concluido satisfactoriamente el trabajo de tesis titulado: ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACION AGUDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA SEMILLA DE PAROTA ENTEROLOBIUM CYCLOCARPUM (JACK) GRISEB EN RATAS WISTAR. Estudio histopatológico efectuado en la Facultad de Ciencias.

Asimismo le informo que he revisado el manuscrito de la tesis y considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad a su digno cargo.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

M. en C.  Gabriel Ortiz.

Director de tesis.

INDICE GENERAL

	Pagina
INTRODUCCION _____	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA _____	10
HIPOTESIS _____	15
OBJETIVOS _____	16
MATERIAL Y METODOS _____	17
RESULTADOS _____	21
DISCUSION _____	46
CONCLUSIONES _____	50
LITERATURA CONSULTADA _____	51

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro	Pagina
1 CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LA SEMILLA _____	11
2 CARBOHIDRATOS DETERMINADOS EN LA ALMENDRA _____	12
3 ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA SEMILLA _____	13
4 CLASIFICACION DE LA TOXICIDAD _____	14
5 DIAGRAMA DE LA EVALUACION TOXICOLOGICA _____	19

Figura

1 FOTOMICROGRAFIA DE HIGADO DE RATA TESTIGO _____	26
2 FOTOMICROGRAFIA DE RIÑON DE RATA TESTIGO _____	28
3 FOTOMICROGRAFIA DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 50 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	30
4 FOTOMICROGRAFIA DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 50 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	32
5 FOTOMICROGRAFIA DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 500 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	34
6 FOTOMICROGRAFIA DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 500 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	36
7 FOTOMICROGRAFIA DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 5000 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	38
8 FOTOMICROGRAFIA DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 5000 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	40
9 FOTOMICROGRAFIA DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 15000 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	42
10 FOTOMICROGRAFIA DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL ADMINISTRACION DE 15000 ml/Kg DE <u>E. cyclocarpum</u> _____	44

ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACION AGUDA DEL
EXTRACTO ACUOSO DE LA SEMILLA DE PAROTA ENTEROLOBIUM CYCLOCARPUM
(JACK) GRISEB EN RATAS WISTAR.

PRESENTADO POR

ROBERTO BRACAMONTES CARRILLO

DIRECTOR : M. en C. GENARO GABRIEL ORTIZ

LABORATORIO DE MORFOLOGIA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

INTRODUCCION

La parota *E. cyclocarpum* (Jack) Griseb es una planta que pertenece a la familia de las leguminosas y la subfamilia de las mimosas. Su distribución es extensa en el territorio mexicano hasta altitudes de 800 metros (m) sobre el nivel del mar, dentro del bosque tropical deciduo y subdeciduo, frecuentemente se le puede encontrar en lugares húmedos y protegidos como las canadas y laderas (38). Es un árbol de 12 a 30 m de altura, de 1 a 3 m de diámetro con una amplia corona, hojas bipinadas compuestas, de 15 a 40 centímetros (cm) de largo, foliolos linear-oblongos, de 10 a 12 milímetros (mm), agudos y obtusos; inflorescencia en cabezuelas axiales; flores blancas; el fruto es una típica vaina aplanada y enroscada verde oscuro, que finalmente se torna de negro lustroso, casi como un círculo completo de 8-10 cm de diámetro, las semillas en un número de 10 a 15 están repartidas individualmente, cubiertas por una pulpa dulce cerca del perimetro de forma ovalada, de 1.8 a 2.3 cm de largo (1, 27).

Las semillas han sido consumidas por los indígenas de algunas zonas del país principalmente zonas costeras (39). Se sabe por análisis bromatológicos que el valor nutritivo de la parota recae en la buena cantidad en que se encuentran siete de los aminoácidos esenciales para el hombre que contiene la semilla (cuadro 1), además contiene importantes vitaminas como: Tiamina (Vitamina B 1) 2.74 mg/g, Rivo flavina (Vitamina B 2) 0.23 mg/g, Niacina 1.8 mg/g y Acido Ascórbico (Vitamina C) 7 mg/g y los valores de vitamina A alcanzan las 15 U.I.A.; es rica en carbohidratos (38.9%), (cuadro 2) y grasas; además posee 0.25% de leci-

tina y 4.7% de gomas y minerales esto resulta en una ventaja, ya que facilita su digestión en los climas calientes, haciéndola por lo tanto un complemento alimenticio concentrado para animales en crecimiento lo que la convierte en una buena fuente de energía (3, 39, 41).

En cuanto a factores tóxicos en la semilla, como en la mayoría de las leguminosas, encontramos inhibidores de proteasas (tripsina, quimiotripsina y raramente carboxipeptidasa B), factores antinutricionales como: ácido piperólico (1%), saponinas, albicina (2%), hemaglutininas, y un alcaloide denominado pitecolabina (20). Sin embargo estos pueden ser eliminados mediante un proceso de cocción durante un periodo de 3 horas (39, 41).

Ya que el Enterolobium cyclocarpum contiene elementos tóxicos que no deben estar presentes en un alimento de calidad para consumo humano o animal, es necesario evaluar la toxicidad inherente en el material vegetal (semilla) mediante la ejecución de pruebas toxicológicas que pueden ser realizadas en sistemas in vivo o in vitro ; dentro de las pruebas in vivo tenemos : Pruebas de toxicidad crónica, subcrónica y aguda, pruebas de toxicidad reproductiva, pruebas de toxicidad del desarrollo, pruebas de irritación cutánea y ocular, pruebas de hipersensibilidad, pruebas de fototoxicidad, estudios toxicocinéticos y pruebas de comportamiento (17, 22, 33, 35).

Las principales pruebas para la evaluación toxicológica son: aguda (dosis única), subaguda (dosis repetidas cada 6, 12 ó 24 h), crónica (dosis repetitiva en un lapso de meses) y subcrónica (dosis repetitiva en un lapso de uno a tres meses) (29).

Las pruebas de toxicidad aguda son parte integral de la

caracterización biológica de un compuesto químico ya sea sintético o natural. Para las sustancias que llegan al ambiente o se proponen como parte de la dieta en animales y humanos, datos experimentales deben ser proporcionados para evaluar el riesgo de éstos si fueran expuestos de manera aguda a altas concentraciones del compuesto. Para satisfacer este objetivo los experimentos deben proveer información sobre los efectos desde la dosis mínima sintomática hasta la máxima no-letal. El conocimiento de la dosis letal media (DL 50) en varias especies y bajo diferentes condiciones de exposición podría servir para la evaluación del riesgo que representa para el hombre y animales, pero la exactitud de esta determinación es raramente necesaria (14, 15, 22).

No existe un procedimiento general para la preparación de extractos vegetales que serán utilizados en las pruebas de evaluación biológica, empleadas en la investigación toxicológica. Algunas veces se prueba un solo extracto, por ejemplo acuoso, metanólico, hidroalcohólico (agua-etanol, 30:70; metanol-agua 1:1, o algún aceite esencial (32). Además el extracto se administra a diferentes concentraciones (14, 16). Para la investigación toxicológica es necesario tener en cuenta la vía de administración, y la especie animal, recomendándose la vía natural de acceso del material que se está probando (11), el tipo de dosis, cantidad de sustancia por peso corporal, duración de la exposición, tipo de efecto etc. (29, 31, 34).

La semilla entera no es digerible en los mamíferos monogástricos. En los trabajos realizados sobre la digestibilidad de la semilla se encontró que el caballo Equus caballus consume el

fruto completo y solo del 25% a 61% de las semillas totales son realmente ingeridas, y que de ellas, el 75% no son digeridas por el aparato digestivo (21). Lo mismo ocurre con el tapir Tapirus biordi, por la dureza de su cubierta la semilla pasa entera por el aparato digestivo sin llegar a escindirse y esta sólo llega a digerirse si se rompe la continuidad de su cubierta mediante algún proceso físico. (20, 39). Otros estudios muestran que la proteína contenida en la semilla es de alta calidad, pero no tan buena como la del frijol de soya además en experimentos con pollos y ratas los resultados indican que la semilla contiene un factor tóxico para pollos pero no para ratas (3).

En los estudios toxicológicos los órganos más estudiados son el sistema hepatobiliar, los testículos y el riñón (10, 19).

El sistema hepatobiliar consiste del hígado, la vesícula biliar (excepto en la rata) y el ducto biliar extrahepático. Los efectos químicos en la vesícula biliar y el ducto biliar extrahepático son poco comunes. Sin embargo, el hígado es el órgano blanco más común en los estudios de toxicidad (19) efectuados en animales y en menor proporción en humanos. Existen tres razones principales que determinan la vulnerabilidad del hígado. En primer lugar la mayoría de los compuestos son introducidos al organismo por vía oral per os y el hígado es el primer órgano expuesto a los compuestos químicos absorbidos en el tracto gastrointestinal y transportados por la vena hepática portal. Durante esta exposición el hígado remueve la mayoría si no el total de los compuestos químicos en la sangre y frecuentemente es expuesto a concentraciones aun más altas de tóxicos que cualquier otro órgano en el cuerpo. En segundo lugar, el hígado es lugar donde

se lleva acabo la mayoría de las reacciones de biotransformación y genera metabolitos tóxicos provenientes de compuestos introducidos en las células hepáticas. Finalmente, la excreción biliar, principal ruta de eliminación para xenobióticos, y otros compuestos químicos o sus metabolitos concentrados durante el proceso, podría alcanzar niveles tóxicos (15).

Existen varias formas de clasificar la hepatotoxicidad, pero la mayoría de las clasificaciones estan basadas en los mecanismos casuales o tipo de efecto. La investigación dentro de la hepatotoxicología ha sido el fundamento de nuestras conclusiones sobre los mecanismos casuales que causan dano al tejido. Sin embargo, aun no podemos clasificar dano mas allá de simples conceptos como dano dosis-dependiente predecible asociado con potentes hepatotoxinas como el tetracloruro de carbono, y dano que es impredecible o ideosincrático debido a alguna rasgo inusual en el huesped, como aberrantes rutas metabólicas o hipersensibilidad (15).

El higado esta compuesto de lóbulos y la localización del dano es morfológicamente especificado en términos de su posición dentro del lóbulo. Desafortunadamente, existen dos definiciones de lóbulo, el lóbulo clásico hexagonal del anatomista y el acino del higado funcional (24, 25). En el lóbulo clásico, la relación anatómica entre el hepatocito, red vascular y el árbol biliar es considerada como un hexágono. Las triadas portales de la vena hepática portal, arteria hepática y ducto biliar son las esquinas, y la vénula hepática terminal (vena central) forma un eje a la mitad. El concepto de dano periportal, de la zona media y centrilobular esta basado en este tipo de lóbulo. Aunque tal

lóbulo puede ser visualizado anatómicamente en especies como el cerdo, otros estudios sugieren que la unidad funcional del hígado es el acino. El acino simple es un grupo de hepatocitos con su eje en la triada portal en lugar de alrededor de la vena central. Existen tres zonas de circulación dentro de cada acino basadas en la distancia de las células a la arteria hepática. Las células que reciben la sangre fresca de la arteria hepática (zona 1) tienden a estar más cercanas a la triada portal y aquella con el riego más pobre (zona 3) tienden a estar cerca de la vena central. Así, la descripción anatómica clásica de región centrilobular, de la zona media y periportal, aunque funcionalmente incorrectas, son compatibles con los acinos del hígado funcional y estas aun forman la base de la mayoría de las descripciones de hepatotoxicidad.

El segundo gran componente en la clasificación morfológica del daño hepático es el tipo de efecto observado. Este, como en todos los tejidos, depende de la naturaleza del compuesto químico y del periodo de exposición, y puede ser cualquier combinación de degeneración, proliferación e inflamación (22).

El riñón es un blanco frecuente de la acción de químicos. Es el tercer lugar en cuanto a órgano más afectado por cambios inducidos con drogas experimentales, el hígado ocupa el primer lugar y los testículos el segundo. Las principales razones de su gran susceptibilidad están relacionadas con la gran transferencia de fluidos asociada con la eliminación de productos de desecho, agua corporal, electrolitos y homeostasis. Para lograr estas transferencias agua-solutos, el riñón posee miles de nefronas; cada nefrona consiste de glomérulo y tubos asociados, El

glomérulo esta compuesto de un grupo de capilares provenientes de la arteriola aferente y son drenados en la arteriola eferente. Un epitelio plano delinea la cápsula de Bowman. El epitelio capsular y la membrana basal son continuos con el epitelio y la membrana del túbulo contorneado proximal, todos estos en asociación íntima con una red de riego sanguíneo compleja. Los intercambios de fluidos asociados con la función renal indican que el riñón requiere de una gran provisión de sangre. Los riñones reciben entre los dos cerca del 25% de la sangre que sale del corazón, así pues, esta expuesto a un sin número de toxinas. Además, el riñón posee dos mecanismos que concentran los compuestos agentes al organismo. Uno la reabsorción de líquidos provenientes del lumen del túbulo que se concentran en el glomérulo. El otro mecanismo es, el transporte activo de ciertos compuestos del plasma a el lumen del túbulo resulta en una concentración mas alta en las células de los túbulos proximales que en el plasma (2, 4, 26).

La clasificación de la nefrotoxicidad es difícil por la compleja estructura del riñón. Los varios elementos vasculares y epiteliales son interdependientes, de esta manera el dano en un segmento frecuentemente repercute en otras areas de la nefrona y la localización primaria del efecto tóxico es difícil de definir. Además, un solo compuesto químico puede afectar varias regiones dependiendo de su naturaleza y periodo de exposición. Alternativamente, puede ejercer un efecto tóxico por mas de una vía o mecanismo (15, 16).

En nuestros días varias técnicas para la investigación celular, como la microscopía de luz, microscopía electrónica, citológica, inmunofluorescencia etcétera. han incrementado el conocimiento sobre los cambios que ocurren en la célula como respuesta a una agresión, la cual que puede ser causada por diferentes agentes como: lesiones mecánicas; factores ambientales como isquemia, hipoxia, hiperoxia; trastornos nutricionales como deficiencias o excesos ocasionales de vitaminas, aminoácidos, etcétera; agentes químicos, radioactividad, cambios bruscos de temperatura, microorganismos y sus productos; y complejos inmunológicos (2, 4, 10).

Los cambios atribuibles a alteraciones en la membrana plasmática se advierten en la etapa temprana de la lesión celular, estos manifiestan los trastornos de la regulación de iones y volumen, producidos por pérdida de ATP. Estos cambios incluyen tumefacción celular, formación de vesículas citoplasmáticas, degeneración mucosa, degeneración grasa, infiltración grasa y ameboidea (15); deformación de microvellosidades, creación de imágenes de mielina y desorganización de los organelos intercelulares. Estos cambios pueden ocurrir rápidamente y son reversibles (37).

En las lesiones reversibles se identifican principalmente dos hallazgos con el microscopio de luz; tumefacción celular y degeneración grasa. Aparece tumefacción celular o degeneración turbia siempre que las células son incapaces de conservar la homeostasis entre iones y líquidos. La degeneración hidropica o vacuolar es sencillamente expresión de la tumefacción celular, que manifiesta acumulación intercelular de mayor volumen del líquidos de lo normal. La manifestación principal de casi todas

las formas de lesión celular es el aumento de diámetro de las células que resulta en el desplazamiento de agua extracelular al interior causado por los mecanismo arriba mencionados. Si sigue acumulándose agua en el interior de la célula, la tumefacción ulterior se acompaña de la aparición de pequeñas vacuolas intracitoplásmicas, que probablemente correspondan a segmentos distendidos, separados, o secuestrados de retículo endoplásmico (2).

Metamorfosis grasa o grasienta, puede en ciertas circunstancias ser otra indicación de daño celular reversible. Esta condición, también conocida como esteatosis, es la acumulación de grasa en células que participan en el metabolismo de grasas y dependen del mismo, como los son, el hepatocito y la célula miocardiaca. Un hígado graso se caracteriza por un contenido superior al 5% de lípidos del peso total e histoquímicamente por la presencia de grasa tenible con colorantes liposolubles como el sudan negro. Histológicamente, la esteatosis puede aparecer en dos formas, microvesicular y macrovesicular (26). En la esteatosis microvesicular, producida por agentes como la tetraciclina, las gotas de grasa son pequeñas dispersas a través del citoplasma y el núcleo permanece cerca del centro de la célula. Otros agentes químicos como el etanol, producen esteatosis macrovesicular en la cual pocas gotas grandes de grasa desplazan el núcleo a la periferia de la célula (15).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La distribución de Enterolobium cyclocarpum en el territorio mexicano es extensa . Sin embargo, se trata de una especie vegetal poco estudiada y sobre la cual la información es contradictoria. Se afirma que animales y personas se intoxican al beber el agua contaminada con "parota", pero los reportes difieren respecto a la naturaleza de la o las sustancias responsables de tales envenenamientos (1). Según algunos autores es una planta rica en taninos, mientras que otros afirman que no los posee y que el principio tóxico es un alcaloide, denominado pitecolabina (3, 20, 41).

De esta planta son aprovechables sus ramillas y frutos por el ramoneo del ganado bovino, caprino y equino y el uso popular que se hace de la corteza y los frutos de este árbol es el de sustitutos del jabón para lavar la ropa, de donde se desprende el origen de la intoxicación al consumir el agua de pozas y riachuelos contaminados. En la intoxicación accidental tanto en el hombre como en animales se ve afectado el aparato digestivo, se observan cólicos y abundante diarrea (1), estas manifestaciones suponemos se encuentran relacionadas con trastornos en la nutrición celular del hígado y riñón principalmente (10, 19, 37), por lo que se hace necesaria la realización de un estudio histopatológico que corrobore la supuesta toxicidad de los compuestos hidrofílicos en la semilla de parota.

CUADRO 1 *

AMINOACIDOS	g/100g PROTEINA	g/100 g Harina Base Seca
ASP	10.54	3.37
GLU	14.45	4.63
SER	4.57	1.46
HIS	3.98	1.27
GLI	5.45	1.10
# TRE	5.44	1.74
ARG	5.77	1.85
ALA	4.04	1.29
TIR	4.04	1.29
# MET	0.99	0.32
# VAL	4.08	1.30
# FEN	3.85	1.23
# ILE	4.11	1.31
# LEU	8.22	2.63
# LIS	7.82	2.50

* Tomado de Serratos-Arevalo J.C. (1989).

Aminoácidos esenciales.

CUADRO 2 *

CARBOHIDRATOS DETERMINADOS EN LA ALMENDRA

GLUCOSA	31.25 %
ARABINOSA	3.95 %
GALACTOSA	3.7 %

* Tomado de Serratos-Arevalo J.C. (1989).

CUADRO 3 *

	SEMILLA SECA BASE HUMEDA %	SEMILLA HUMEDA BASE SECA %		
Proteina	19.2	26.3	32.5	36.5
Grasa	2.4	2.8	7.13	8.6
Agua	27.0	0.0	5.86	0.0
Fibra	3.16	4.9	0.0	0.0
Cenizas totales	2.1	2.9	3.15	4.3
E.L.N.	46.1	63.1	51.36	49.6

* Tomado de Serratos-Arevalo J.C. (1989).

CUADRO 4 **

CLASIFICACION DE LA TOXICIDAD EN BASE A LA DL50 mg/Kg

CLASE	TOXICIDAD	DL50
1	Relativamente inocuo	>15000
2	Practicamente no tóxico	5001-15000
3	Débilmente tóxico	501-5000
4	Moderadamente tóxico	51-500
5	Altamente tóxico	5.1-50
6	Extremadamente tóxico	1-5.0
7	Super tóxico	< 1.0

** Tomado de Montoya-Cabrera M.A. (1987).

HIPOTESIS

Si la concentración de factores tóxicos contenidos en la semilla de parota son altamente tóxicos, se espera que los animales que reciben el extracto acuoso de la semilla de "parota" presenten alteraciones macroscópicas y microscópicas en hígado y riñón.

OBJETIVOS

1.- Elaboración de un método para la obtención del extracto acuoso de la semilla cruda y de la semilla cocida.

2.- Realizar un estudio histopatológico del hígado y riñón de ratas macho Wistar a las que se les administró por vía oral el extracto acuoso de la semilla de parota cruda.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas machos adultos jóvenes de la cepa Wistar, de 250 a 300 gramos (g) de peso, alimentadas con nutricubos (Purina) para roedores y agua en abundancia, mantenidas en condiciones ambientales de bioterio con ciclos de luz-obscuridad de 12 horas, temperatura de entre 22 y 24 grados centígrados y con una humedad relativa de 50 a 65% (33).

La elaboración del extracto acuoso de la semilla de parota cruda consistió en pulverizar la semilla de parota entera en un molino eléctrico, a través de una criba de 1 mm; mezclar el polvo de la semilla entera con agua destilada en un matraz de 1 litro en proporción 1:20 P/V y agitar durante 24 h, a una temperatura menor a 37 grados centígrados. La elaboración del extracto de la semilla cocida consistió en aplicar calor al mismo sistema antes descrito para la semilla cruda por arriba de los 87 grados centígrados durante 3 h (39), ambos extractos se filtraron con tela de manta y posteriormente se liofilizaron (32).

Se formaron 4 grupos de 7 ratas, cada grupo con 6 experimentales y una rata testigo por grupo de dosis, las cuales fueron seleccionadas del bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara, por su homogeneidad en el peso (Media = 230 g y D.S. = 5 g). Los grupos corresponden a las dosis 50 mg/Kg, 500 mg/Kg, 5000 mg/Kg, 15000 mg/Kg; y estuvieron albergados en jaulas de acrílico (40x20x15 cm) con reja metálica y cama de aserrín, agua y alimento en abundancia hasta 4 h antes de la dosis. A los animales experimentales se les administró por la vía oral (per os) el liofilizado obtenido del extracto acuoso de la semilla cruda (6) resuspendido en agua destilada (5 ml), con la

ayuda de una sonda plástica unida a una jeringa. Después de la aplicación de la dosis los animales fueron regresados a sus jaulas con alimento y agua en abundancia. Se observó a los individuos por un lapso de 8 h después de la aplicación de la dosis. A las 24 h de la administración de la dosis se procedió a sacrificar a los animales en una cámara de eter para después proceder con la perfusión de los órganos (12). Antes de perfundir, se realizó la observación macroscópica de cavidad abdominal, registrando datos de hígado y riñón.

CUADRO 5

DIAGRAMA DE LA EVALUACION TOXICOLOGICA

SEMILLA ENTERA
EN POLVO



CRUDA

Temperatura < 30 grados centigrados
tiempo = 24 h.



FILTRAR EXTRACTO ACUOSO



LIOFILIZAR



PREPARACION DE DOSIS



EVALUACION BIOLOGICA



OBSERVACION MACROSCOPICA



PROCESAMIENTO DE TEJIDOS



FOTOMICROGRAFIA



ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

Procesamiento de tejidos:

Se colocaron los animales en una tabla de disección y se les realizo una toracotomia, lo primero fue describir el aspecto macroscópico de riñón, hígado, para proceder a perfundir los órganos por vía intracardiaca mediante un catéter al ventriculo izquierdo y corte a nivel de la auricula derecha para infundir la solución lavadora de fosfatos (solución A) durante 2 a 3 min, después se paso la solución fijadora (solución B) por un periodo de 10 a 15 min la presión de perfusión fue de 1.40 m, según el método de Feria Velasco-Karnovsky (12).

Después de la perfusión se extrajeron los órganos abdominales en cuestión y se sometieron a una posfijación en la solución B por espacio de 1.5 h. Posteriormente las muestras provenientes de los órganos extirpados fueron sometidas a un proceso de deshidratación en soluciones crecientes de etanol que van de 70%, 80%, 90% y absoluto dos veces en cada solución por 20 min cada vez, y se aclararon con Xilol (etanol/xilol 1 vez 15/20 minutos y xilol 15 minutos).

Las muestras ya deshidratadas se infiltraron e incluyeron en paraplast/plus, previamente fundido en la estufa a una temperatura de 56 a 58 grados centígrados máximo.

Los cortes se hicieron con micrótomo rotatorio 820 AO Scientific Instruments. La tinción de los cortes se ejecuto con la técnica de Hematoxilina y Eosina (H-E).

RESULTADOS

Antes de la administración de la dosis, durante el período de observación, los animales se comportaban activos, alertas y presentaban el pelaje lustroso, con sus hábitos normales de alimentación. Después de la aplicación de la dosis, los animales efectuaban un "chillido" y protrusión de la lengua. Al colocarlos en la jaula se desplazaban alrededor de 25 cm y paraban, cabe mencionar que la conducta de exploración de los animales a los que se les administró la dosis mostraron una reducción en su conducta exploratoria pero no en acicalamiento y la postura que tanto testigos como experimentales adoptaron después de la administración era encorbada con la región abdominal hacia abajo; reflejo del dolor abdominal. Esto seguido de pataleo, espasmos en el cuello y contracciones espásticas en la zona abdominal. Alternativamente se presentaba disnea con pupilas dilatadas. Las heces y orina de experimentales fueron sin diferencia a los testigos. Los animales recobraron su apariencia física normal, dentro de un período de 20 a 30 min posteriores a la administración de la dosis. Ocasionalmente se observó lagrimeo en el grupo de la dosis 15000 mg/Kg, después de 2 h los animales se aletargaron y se mostraban reluctantes a comer y beber.

TESTIGOS

En la observación macroscópica de los animales testigo sus hígados se muestran con medidas aproximadas a las promediadas por animales no manipulados (4.5 cm sobre el borde costal y 2.8 cm tomando el vértice del lobulo derecho); con una coloración roja

intensa de textura lisa y con un peso aproximadamente de 10 a 11 g. En las fotomicrografías se observan los hepatocitos (H), con su membrana celular bien delineada, formando cordones, y entre estos se aprecian los sinusoides (S) hepáticos, alineados hacia los canaliculos biliares, donde se puede observar los ductos biliares y las células de Kupffer (K) (Fig. 1).

A simple vista los riñones presentan forma de frijol, con una tonalidad roja débil, de superficie lisa suave y con su característica acumulación de grasa en la zona suprarrenal. En las microfotografías de riñón provenientes de los animales testigo (Fig 2) se aprecian: el glomérulo (G) como una masa de capilares enramados, sostenidos por el escaso tejido conectivo y envueltos por la cápsula de Bowman (CB). Un gran número de túbulos seccionados en diferentes planos aparecen adyacentes a los corpúsculos renales; y éstos se pueden dividir en dos tipos: los de lumen relativamente irregular y pequeño, compuestos de células casi cuboidales con bordes luminales en cepillo son los túbulos contorneados proximales (TCP); y, los que aparecen en menor número de lumen regular y amplio cuyas células que los componen son mas pequeñas y mas cuboidales son los túbulos contorneados distales (TCD).

EXPERIMENTALES

50 mg/Kg

En la necropsia de los animales pertenecientes a este grupo, el hígado aparece en su mayoría liso y ligeramente de mayor tamaño, pero de coloración normal.

Microscópicamente los hepatocitos cercanos a la zona centrilobular aparecen de la misma talla que en el grupo testigo (Fig. 3); la apariencia citoplasmática se muestra alterada en las células alrededor de la vena central hasta la zona media, donde encontramos congestión. La tumefacción turbia es ligera en la zona centrilobular pero se acentúa en la zona media.

La observación macroscópica de los riñones no revela anomalías, en cambio, el microscopio revela una degeneración turbia en los túbulos contorneados proximales (Fig. 4) y menos evidente en los túbulos contorneados distales; aunque los núcleos de las células que forman los túbulos contorneado proximal y distal se conservan centrales y sus citoplasmas muestran tumefacción turbia que les da una apariencia quebradiza. El glomérulo parece normal. Los primeros rasgos de tumefacción turbia aparecen en los túbulos.

500 mg/Kg

Todos los hígados de los individuos en este grupo parecen estar normales, con el diafragma adherido, al parecer la observación macroscópica no proporciona datos significativos,

Microscópicamente se aprecia una coloración pálida del tejido y los hepatocitos adyacentes a la vena central presentan vacuolas claras (Fig. 5), la zona centrilobular muestra congestión donde el volumen de las células se encuentra disminuido, esto resulta en aumento del espacio sinusoidal. En la figura 5 la degeneración vacuolar se muestra difusa. Los riñones de estos sujetos a simple vista se encuentran normales, no hay cambios macroscópicos de aparente relevancia.

La observación con ayuda del microscopio muestra una degeneración vacuolar en el glomérulo (Fig 6), además bastantes túbulos muestran un núcleo hiper Cromático. La degeneración vacuolar no se presenta en las células epiteliales, al parecer la tumefacción turbia afecta túbulos proximales y distales, en la mayoría de los casos estas degeneraciones se presentan como un cambio hialino y en el resto solo turbidez.

5000 mg/Kg

Este grupo no presenta cambios morfológicos significativos a nivel macroscópico.

El análisis microscópico muestra una condensación citoplasmática centrilobular, esto es, las células centrilobulares tienen su volumen citoplasmático bastante reducido (Fig. 7), y presenta una completa desorganización del parénquima. En la fotomicrografía la esteatosis microvesicular es generalizada. El hepatocito presenta un núcleo hiper Cromático central y con bordes irregulares. El citoplasma presenta una alta concentración de vacuolas que cubren entre un 70 - 90% del total.

La observación macroscópica de los riñones aparece sin cambios, y sólo una rata presenta la región suprarrenal edematizada.

Con el microscopio, encontramos coagulación en los bordes de los túbulos proximales, inflamación y congestión probablemente de globulos de varios tamanos en los lúmenes. El epitelio tubular aparece redondeado en vez de su apariencia cuboidal normal, los núcleos mantienen su tamaño pero el citoplasma se torna espumoso y en varias regiones principalmente en los túbulos contorneados mas que en la región glomerular el epitelio tubular

se vuelve menos uniforme; en el glomérulo se observan grandes vesículas que en ocasiones desplazan las células hacia la membrana citoplasmática (Fig 8). En la fotomicrografía los TCD y TCP presentan degeneración vacuolar.

15000 mg/Kg

Macroscopicamente los hígados de estas ratas muestran un tono opaco, ligeramente rugoso, con el lobulo derecho endurecido (5 de 7 ratas presentan este rasgo).

Los cambios microscópicos observables son: esteatosis difusa (Fig. 9), las vesículas tienden a acumularse en la periferia de los hepatocitos y el núcleo se encuentra ligeramente agrandado e hiperromático, y de formas aberrantes pero más esféricos que en el nivel de toxicidad anterior.

En promedio los riñones de este grupo no muestran cambios en cuanto a longitud o volumen. La cantidad de grasa depositada principalmente en la zona suprarenal y en menor grado alrededor de ésta es comparable con la de los testigos.

La observación microscópica muestra un proceso mayor de degeneración, los cambios que se aprecian son vacuolización en más de un 80% de los segmentos de ambos túbulos contorneados (Fig. 10); la degeneración vacuolar está diseminada y el glomérulo presenta grandes vesículas. Los cambios son más dispersos que en los niveles de intoxicación anteriores, además el epitelio se encuentra interrumpido en todos los bordes de los túbulos, y se presenta una degeneración tubular difusa, en donde algunas áreas los lúmenes de los túbulos se encuentran congestionados y aparecen zonas con procesos de necróticos.

FIGURA 1

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO DE RATA NORMAL
ADMINISTRACION DE AGUA DESTILADA (5 ml)
VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(H) HEPATOCITO, (S) SINUSOIDES, (K) CELULAS DE KUPFFER



FIGURA 2

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE RIÑON DE RATA TESTIGO
ADMINISTRACION DE AGUA DESTILADA (5ML)
VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(G) GLOMERULO, (CB) CAPSULA DE BOWMAN,
(TCP) TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL. (TCD) TUBULO CONTORNEADO DISTAL



FIGURA 3

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 50 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(H) HEPATOCITO, (S) SINUSOIDES, (K) CELULAS DE KUPFFER
(V) VENA CENTRAL, (FLECHA SOLIDA) TUMEFACCION TURBIA
(DOBLE FLECHA) DEGENERACION VACUOLAR

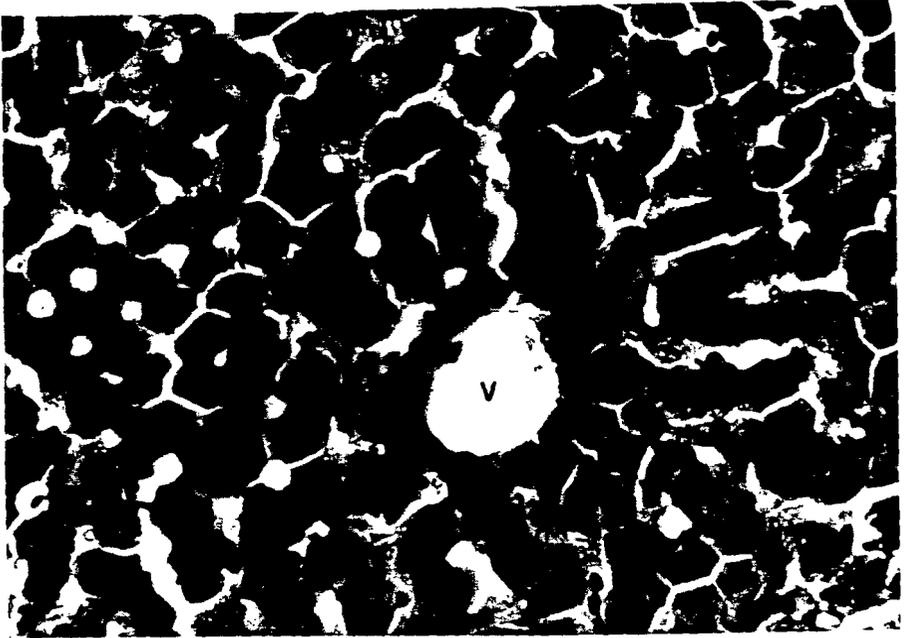


FIGURA 4

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 50 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(G) GLOMERULO, (CB) CAPSULA DE BOWMAN,
(TCP) TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL. (TCD) TUBULO CONTORNEADO DISTAL
(FLECHA SOLIDA) TUMEFACCION TURBIA



FIGURA 5

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 500 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(H) HEPATOCITO, (S) SINUSOIDES, (K) CELULAS DE KUPFFER
(V) VENA CENTRAL, (FLECHA SOLIDA) TUMEFACCION TURBIA
(FLECHA) DEGENERACION VACUOLAR

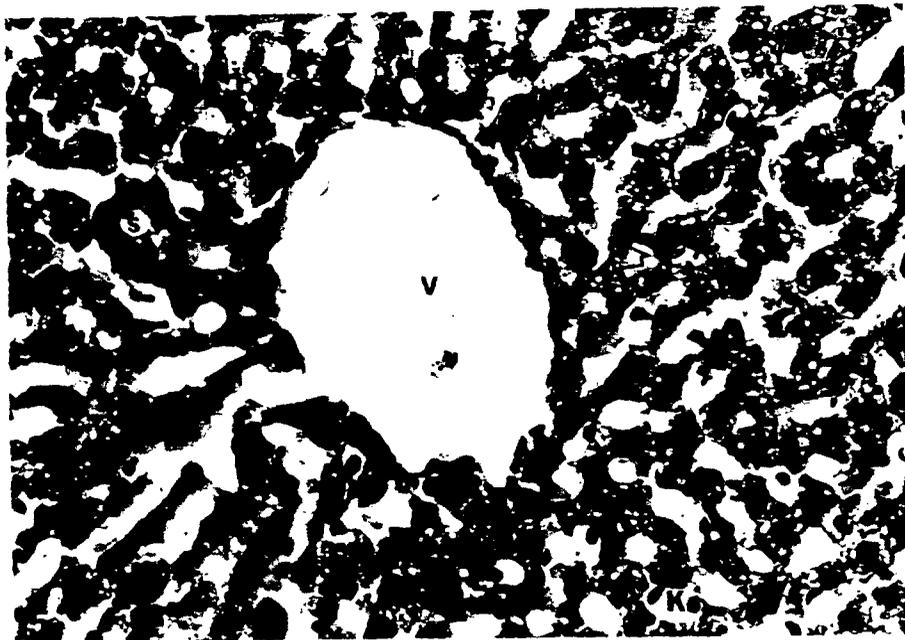


FIGURA 6

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 500 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(G) GLOMERULO, (CB) CAPSULA DE BOWMAN,
(TCP) TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL. (TCD) TUBULO CONTORNEADO DISTAL
(FLECHA CORTA) DETRITUS, (FLECHA LARGA) TUMEFACCION TURBIA

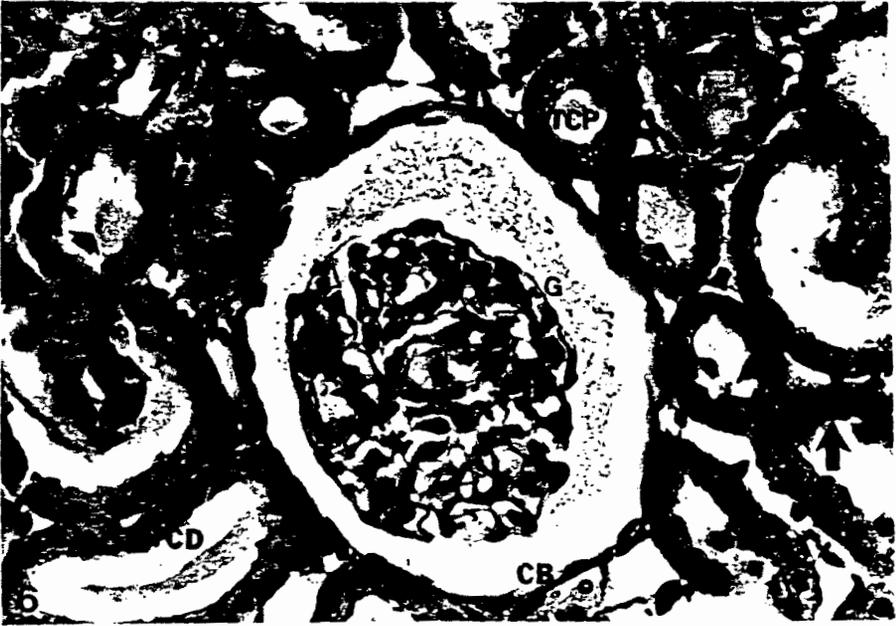


FIGURA 7

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 5000 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(H) HEPATOCITO, (S) SINUSOIDES, (K) CELULAS DE KUPFFER
(FLECHA) DEGENERACION VACUOLAR DIFUSA, ESTEATOSIS

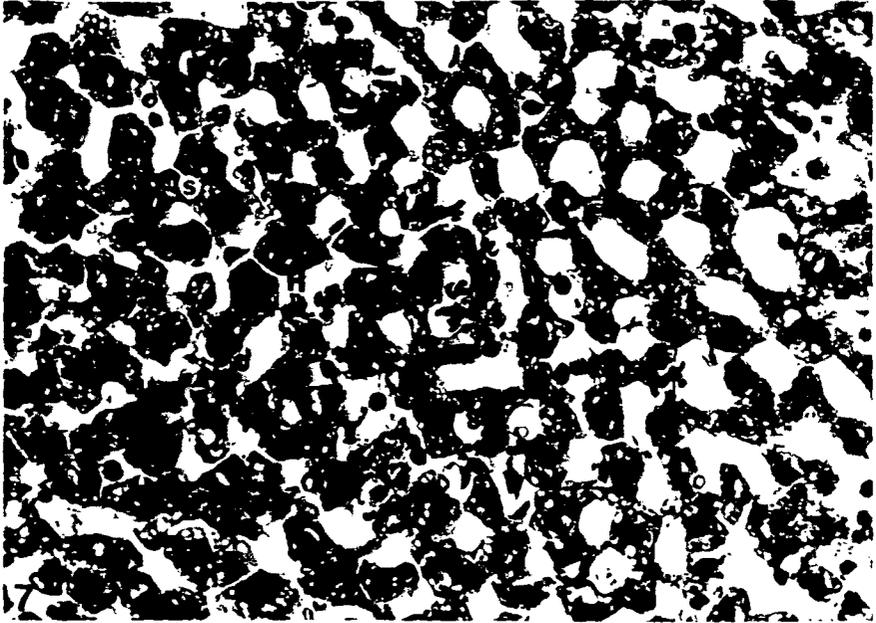


FIGURA 8

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 5000 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(G) GLOMERULO, (CB) CAPSULA DE BOWMAN,
(TCP) TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL. (TCD) TUBULO CONTORNEADO DISTAL
(FLECHA) DEGENERACION HIDROPICA VACUOLAR

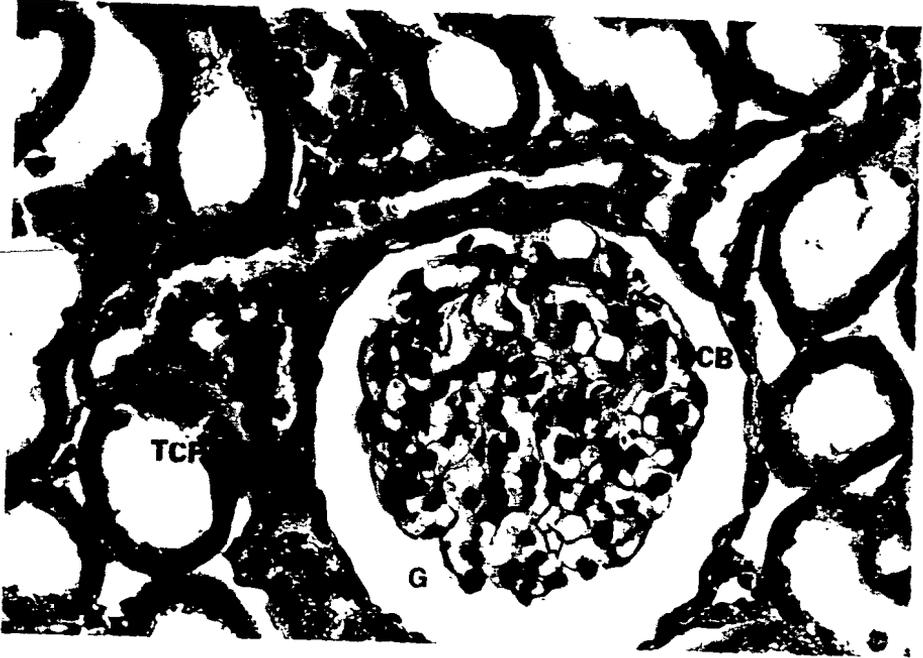


FIGURA 9

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE HIGADO DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 15000 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(H) HEPATOCITO, (S) SINUSOIDES, (K) CELULAS DE KUPFFER
(FLECHA) ESTEATOSIS

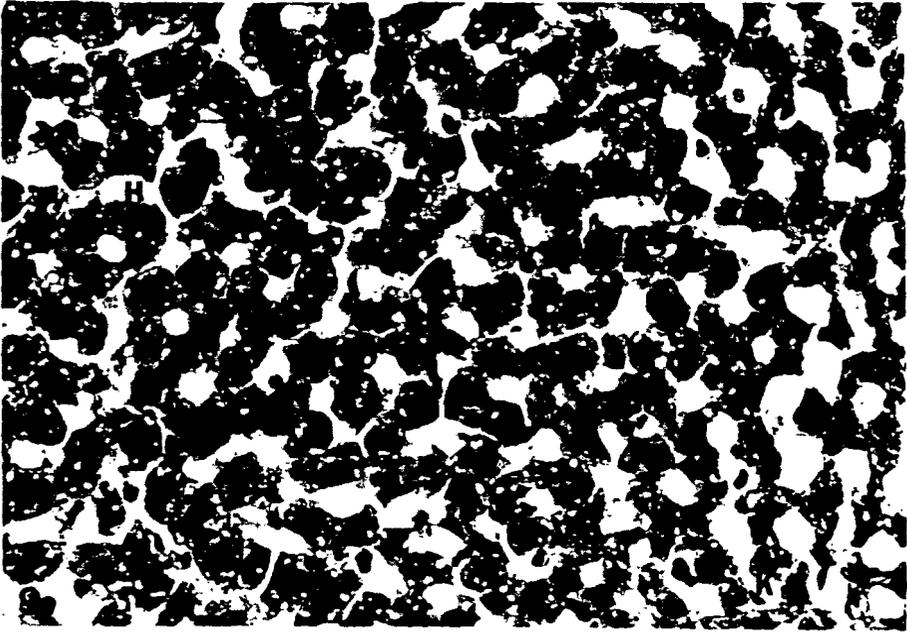
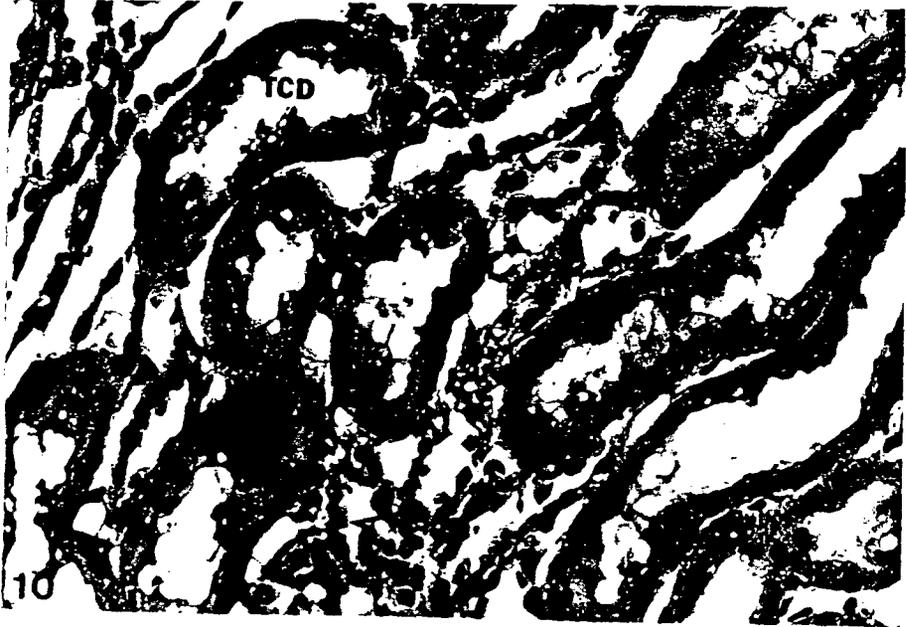


FIGURA 10

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE RIÑON DE RATA EXPERIMENTAL
ADMINISTRACION DE 15000 ml/kg DE E. cyclocarpum.
EN 5 ml DE AGUA DESTILADA, VIA ORAL
TINCION HEMATOXILINA Y EOSINA

(G) GLOMERULO, (CB) CAPSULA DE BOWMAN,
(TCP) TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL. (TCD) TUBULO CONTORNEADO DISTAL
(FLECHA CHICA) PROLONGACIONES CITOPLASMATICAS
(FLECHA GRANDE) NECROSIS
(FLECHA SOLIDA) DEGENERACION HIDROPICA VACUOLAR DIFUSA



DISCUSION

La publicación de trabajos sobre los efectos histopatológicos de las leguminosas en el hombre o animales de experimentación es pobre (39). Aunque existe bastante información sobre el valor nutritivo del Enterolobium cyclocarpum, solo existen cuatro artículos publicados en los últimos 25 años sobre su toxicidad, mediante la evaluación biológica, en pollos, ratas y cabras, (3, 21, 39, 41) pero estos trabajos no presentan evidencia histopatológica que de una idea amplia de los efectos de los componentes de la semilla en el organismo. Aunque la semilla entera no es completamente digerible en los animales monogástricos, se reporta que puede contaminar pozos y riachuelos donde eventualmente se puede dar el hecho de que animales y personas generalmente niños, ingieran el agua contaminada con la fruta que cae del árbol (1).

Los resultados histopatológicos reportados en este trabajo son dosis-dependiente, cabe señalar que existen trabajos toxicológicos donde los hallazgos son similares. Por ejemplo con la administración intravenosa única de 20 mg/Kg de cocaína a ratones (28) produce efectos similares en hígado a los encontrados en el grupo tratado con 500 mg/Kg del extracto acuoso. Los resultados de este grupo también asemejan los encontrados por la administración de 10 ml de aceite de maíz/Kg a ratones (vehículo del ácido perfluorodecánico) (18). Dentro de este mismo nivel pero en ríñon los resultados semejan a los encontrados en roedores de edad avanzada a los que se les aplicó una dosis de 1000 mg/Kg de acetaminofen y posteriormente sacrificados a las 24 horas (42).

Los congestionamientos observados en túbulos renales de todos los niveles de toxicidad asemejan a los mostrados por la administración del vehículo salino para la furosamida (7).

Los resultados de la administración de 500 mg/Kg de DCP a ratas por un día son muy similares a los encontrados en hígado en el nivel 5000 mg/Kg (5); y a los encontrados por Vilikusela (43) aunque en perros con la administración de 100 mg/Kg de eritromicina dos veces al día (42). Las vacuolizaciones en hígado resultado de la administración del extracto acuoso de la parota son similares a los encontrados con ratas a las que se les administro hexaclorobenzeno (1000 ppm) por 15 días (36).

En las nefronas los hallazgos encontrados en los grupos 5000 y 15000 son parecidos a los encontrados con varios compuestos como Acetaminofen (34), tetraplatin y cisplatin (40), Chlorozotocin (8), floruro de L-Uranyl (9), y Metalotioneina de Cadmium (23).

Los resultados histopatológicos obtenidos se asemejan a los reportados por otros laboratorios pero con diferentes sustancias (arriba mencionadas) de toxicidad moderada. Esto nos indica la existencia de una gran variedad de compuestos tóxicos inocuos en el extracto acuoso como los reportados en la literatura (saponinas, hemaglutininas, alcaloides, inhibidores de tripsina, albicina y el ácido pipécólico) entre otros factores que alteran el metabolismo celular, lo que hace necesario aislar e identificar los agentes supuestamente tóxicos para su correspondiente estudio bioquímico-farmacológico-toxicológico el cual se hará en conjunto con el Centro de Investigación Biomédica Basica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (M. en C. Fernando Jaramillo).

De hecho, las pruebas de toxicidad aguda son el primer experimento biológico realizado para la mayoría de los compuestos sintéticos o provenientes de la naturaleza; este tipo de prueba seguido proporciona información valiosa la cual modifica nuestras opinines acerca del compuesto. Los resultados de las pruebas de toxicidad de aguda, en las cuales el tiempo de exposición de los animales a la droga es arbitrariamente determinado, son usados como guía para la selección de la dosis y diseno de experimentos posteriores, estos resultados señalan la presencia de problemas especiales como la selección de la especie y el rango de las dosis que requirieran medidas preventivas inmediatas. Las pruebas de toxicidad aguda son importantes como un medio para caracterizar la toxicidad general del compuesto, pero lo primordial no es encontrar el valor de la DL 50, si no el síndrome de intoxicación como un todo, la inclinación de la curva dosis-efecto, y el conocimiento de los órganos blanco y el sistema afectado por el compuesto en prueba. Esta información puede ser obtenida con un pequeno número de animales, si usamos los instrumentos de diagnóstico que estan a nuestra disposición.

Aun no podemos clasificar daño mas allá de simples conceptos como daño dosis-dependiente predecible asociado con potentes hepatotoxinas como el tetracloruro de carbono, y daño que es impredecible o ideosincrático debido a algun rasgo inusual en el huesped, como aberrantes rutas metabólicas o hipersensibilidad. Por esto debemos entender la hepato-toxicología desde el punto de vista tradicional de efectos morfológicos basados en la localización y naturaleza de la respuesta.

Los factores tóxicos hidrofílicos contenidos en la semilla administrados por la vía oral y de forma aguda, producen trastornos reversibles (tumefacción turbia) y trastornos que en algunos casos son irreversibles (degeneración hidrópica vacuolar y degeneración grasa) en el metabolismo de las células de hígado y riñón a dosis prácticamente no tóxicas. Por esto sería probable observar este mismo trastorno con la administración subaguda (aproximadamente 4 días) del extracto al administrar dosis entre 1000 y 5000 mg/Kg de peso, con un número similar de animales experimentales (13) y aunque esto no signifique que la toxicidad sea elevada sino que sugiere el rango para la dosis letal media para el extracto acuoso de parota, aún así sería imprudente generalizar o extrapolar conclusiones sin una verificación experimental adicional. Lo interesante de los resultados es que produjimos evidencia de que el daño es dosis-dependiente y es evidente donde tanto, la organización de hígado como la de riñón muestran signos de toxicidad, aunque este mismo tipo de hallazgos histopatológicos es causado por un gran número de compuestos considerados tóxicos a las dosis señaladas; y en todos los grupos el daño es reversible excepto en dosis extremadamente elevadas del extracto de "parota" (15000 mg/Kg). El producto de estos ensayos no especifica que sustancia contenida en la semilla de "parota" es la más tóxica, pero muestra evidencia sobre su toxicidad.

CONCLUSIONES

1.- El efecto de la administración del extracto acuoso de la semilla de Enterolobium cyclocarpum por vía oral en forma aguda a ratas jóvenes es débilmente tóxico.

2.- Los compuestos que se encuentran en la fracción acuosa producen degeneración grasa e hidrópica en hígado y riñón respectivamente, de manera dependiente de la dosis. Los grupos de las dosis de 5000 mg/Kg y 15000 mg/Kg mostraron el mayor efecto.

3.- Basados en los resultados del presente trabajo, recomendamos que el consumo de E. cyclocarpum para el animal o humano sea previa cocción de la semilla para eliminar los tóxicos.

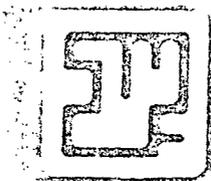
LITERATURA CONSULTADA

- 1.- Aguilar Contreras A. y Zolla C., (1982), Plantas Tóxicas de México; Primera edición IMSS, pp. 96-97.
- 2.- Anderson W.A.D., Scotti T.M., (1980). Synopsis of Pathology Tenth Edition. The C.V. Mosby CO. pp. 5-18.
- 3.- Bressani R., Joaquin R., Elias L.G. y Brahman E. J., (1966). Analisis químico de la harina de almendra de coanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) y su evaluación biológica en ratas y pollos. Separado de Turrialba Vol. 16, No. 4; PP. 330-339. Trimestre Octubre-Diciembre.
- 4.- Bronson Joel G. and Gall Edward A., (1971). Concepts of Disease. The Mc. Millan CO. N.Y.; pp. 216-219.
- 5.- Bruckner J.V., MacKenzie W.F., Ramanathan R., Muralidhara S., Kim H.J., and Dallas C.E., (1989), Oral Toxicity of 1,2-Dichloropropane: Acute, Short Term, and Long-Term Studies in Rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12; pp. 713-730.
- 6.- Clayson D.B., Krewsky D., Munro I., (1985). Toxicological Risk Assessment. C.R.C. Press; pp. 21.
- 7.- Corcoran et al. (1989) Obesity as a Risk Factor in Drug Induced Organ Injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 98; pp. 12-24.
- 8.- Dees Jane H. and Kramer Robert A., (1986) Sequential Morphologic Analysis of the Nephrotoxicity Produced in Rats by Single Doses of Chlorozotocin. *Toxicologic Pathology* Vol 14, Number 2, pp. 213-231.
- 9.- Diamond G.L. et al., (1989). Reversible Uranil L Fluoride Nephrotoxicity in the Long Evans Rat. *Fundamental and Applied Toxicology*; 13; pp. 65-78.
- 10.- Du Boistesselin R., (1966). The Progress of Histological Analysis in Toxicology. Side Effects of Drugs. pp. 119-125.
- 11.- Farnsworth N. (1982), Sobre la preparación de extractos de plantas para su evaluación farmacológica. *Medicina Tradicional*, III, 11, pp. 27-33.
- 12.- Feria-Velasco, A. y Karnovsky, M.J., (1970) Optima preservación del sistema nervioso central por perfusión intravascular con glutaraldehído. *Archivos de Investigación Médica (Mex.)* 1 pp. 201-220.
- 13.- Gad S. and Weil C.S., (1986) Statistics and Experimental Design for Toxicologists. Telford Press. pp. 49-149.
- 14.- Garner R.J., (1977). Toxicología Veterinaria, tercera edición, Zaragoza, España. pp. 364-376.

- 15.- Glaister John R., (1986). Principles of Toxicological Pathology. Taylor & Francis. pp. 81-103.
- 16.- Goldberg A. M., (1984). Acute Toxicity Testing: Alternative Approaches. Vol 2. Mary Ann Liebert, Inc. pp. 8-182.
- 17.- Goldberg A.M. and Fraizer J.M., (1989). Alternatives to animals toxicity testing, Scientific American, Vol 261, No. 2, pp. 16-22.
- 18.- Harris Michael W. et al, (1989). Acute Toxicity of Perfluorodecanoic Acid in C57BL/6 Mice Differs From 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzoo-p-dioxin. Fundamental and Applied Toxicology, v 13; pp. 723-736.
- 19.- Hess R., (1966). Functional Interpretation of Drug-Induced morfological Changes. Side Effects of Drugs: pp. 130-141.
- 20.- Janzen D.H., (1981). Guanacaste tree seed swallowing by costarican range horses. Ecology 62 (3) pp. 587-592.
- 21.- Janzen D.H., (1981). Enterolobium cyclocarpum seed pasage rate and survival in horses costarican pleistocene seed dispersal agents. Ecology 62 (3) pp. 593-601.
- 22.- Jones L.M., N.H. Booth y L.E. Mc.Donald, (1977). Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 4 ed., IOWA State University Press.
- 23.- Maitani T. et al., (1988). Nephrotoxicity of Intravenously Injected Cadmium-Metallothionein Critical Concentzation and Tolerance. Fundamental and Applied Toxicology; 10; pp. 89-97.
- 24.- Mariano S.H., Di Fiore, (1974). Atlas of Human Histology. Fourth Edition. Lea and Fabiger. pp. 172-179.
- 25.- Mathews J.L. and Martin J.H., (1971). Atlas of Human Histology and Ultraestructure. First Ed. Lea Fabiger. pp. 288-289.
- 26.- Mayers C.P., (1972). Pathology. Arco Publishing Co. Inc. N.Y. pp. 122-123.
- 27.- Mc. Vaughn R., (1987). Flora Novo-Galiciana, a descriptive account of the vascular plants of western méxico. Ann Arbor University of Michigan Press. Vol. 5 (Editor William R. A.) pp. 176-178.
- 28.- Mehanny S.Z. et al, (1991). Cocaine Hepatototoxicity in Mice: Histologic and Enzimatic Studies. Toxicology Pathology, V 19; N 1; 24-29.
- 29.- Meneses-Hoyos J., (1986). Como probar un nuevo medicamento (primera etapa); Compendium de investigaciones clínicas latino-americanas; Vol. 6, No 3 pp. 107-108.

- 30.- Meneses-Hoyos J., (1987). Como probar un nuevo medicamento (segunda etapa); Compendium de investigaciones clinicas latinoamericanas; Vol 7 No. 1 pp. 1-2.
- 31.- Montoya-Cabrera M.A., (1987). Toxicologia Clinica. Editorial Fco. Mendez Cervantes; Primera Ed. pp. 20.
- 32.- Navarrete-Castro A., (1982). Evaluación farmacologica de las plantas medicinales. Medicina Tradicional III, 11, pp. 1-26. Méx.
- 33.- Pellet P.L. and Young B.R., (1980). Nutrition Evaluation of Protein Food. Ed. United Nation University. Japon.
- 34.- Placke M.E. et al, (1987). Extrahepatic Lesions Induced by Acetaminophen in the Mouse. Toxicologic Pathology; Vol 15; N 14; pp.381-387.
- 35.- Repetto M., (1981). Toxicologia fundamental. Ed. Cientifico-Medica pp. 22-29. Barcelona , Espana.
- 36.- Rizzaedinni M., Cantoni L., Villa P., and Ubezio P., (1990). Bioquimichal, Morphological and Flowcytometric Evaluation of the Effects of Hexachlorobenzene on Rat Liver. Cell Biology and Toxicology, Vol 6, No. 2. pp. 185-201.
- 37.- Robbins S.L., (1975). Patologia estructural y funcional. Primera Edición. Ed. Interamericana. pp. 8-19.
- 38.- Rzedowski J., (1986). Vegetacion de México. Ed. Limusa pp. 182-187. Mex.
- 39.- Serratos Arevalo J.C., (1989). Utilización de las semillas de parota (*Enterolubium cyclocarpum*) para la alimentación humana, Tesis de Maestría en Nutrición Animal, Escuela de posgraduados, Universidad de Guadalajara. pp. 38.
- 40.- Smith J.H. et al, (1968). Comparative Toxicity and Renal Distribution of the Platinum Analogs, Tetraplatin, CHIP, y Cisplatin at Equimolar Doses in The Fischer 344 Rat. Fundamental and Applied Toxicology; 10; pp. 45-61.
- 41.- Sotelo A., (1981). Leguminosas silvestres, reserva de proteina para la alimentación del futuro. Información Científica y Tecnológica. Vol. 3, No. 54; pp. 24-32.
- 42.- Tarloff et al, (1989). Acetaminophen and p-Aminophenol Nephrotoxicity in Aging Sprague-Dawley and Fisher 344 Rats. Fundamental and Applied Toxicology; 12; pp. 78-91.
- 43.- Viluksela M., Hanhijarvi H., Husband R.F.A., Kosma V.M., Collan Y., and Mannisto P.T., (1988). Comparative Liver Toxicity of Various, Erythromicin Derivatives in Animals. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 21, Suppl. D. pp. 9-27.

Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas



XXXIV
Congreso Nacional de
Ciencias Fisiológicas

Programa general
y resúmenes



UNIVERSIDAD DE COLIMA

Colima, Col., septiembre 8 al 12

1991

EFFECTO DEL AMPc SOBRE LA ACTIVIDAD DE ANHIDRASA CARBONICA TIPO I DE SANGRE HUMANA. Ma. del Carmen Marroquín, (Avalado por M. en C. Marcelo Islas Chaires) Laura Martínez-Torres e Ignacio Galarr. Departamentos de Biofísica y Farmacia de la ENCF-IPN.

Existen evidencias de que el AMP cíclico, en ciertos tejidos y concentraciones relativamente altas (10^{-4} M), inhibe la actividad de anhidrasa carbonica (AC), sin embargo también se ha observado lo contrario pero en diferentes condiciones. En nuestro laboratorio se ha encontrado que el AMPc es un fuerte inhibidor de la AC tipo II aislada; pero solo inhibe una fracción de la actividad de AC de la sangre. Por esta razón decidimos probar el efecto del AMPc sobre AC tipo I aislada y comparar su efecto con el observado en sangre humana (hemolizada). Las variaciones observadas en la sangre fueron semejantes a las que se obtuvieron con la isoenzima a concentraciones entre 0.05 y 25 μ M de AMPc, excepto en el intervalo de concentración menor de 0.25 μ M, pues en este la actividad en la sangre fue incrementada para después disminuir significativamente alcanzando un tipo a 0.75 μ M, mientras que con la enzima aislada se observó al principio un decremento, para después regresar a un valor cercano al control y después caer a un valor mínimo a la concentración de 0.75 μ M. A concentraciones mayores que estas, tanto en el hemolizado como en la enzima aislada se observó un aumento en la actividad de AC significativamente mayor que el control. Estos resultados indican que a concentraciones de AMPc mayores de 0.75 μ M la actividad de la AC tipo I aislada de la sangre humana, así como en el hemolizado, aumento por encima del valor control, lo cual sugiere la posibilidad de que la AC tipo I actúe como un regulador del nivel de AC en la célula cuando la anhidrasa carbonica tipo II es inhibida por un aumento del AMPc. Si esta hipótesis es válida, daría un sentido fisiológico a la AC tipo I que normalmente está inhibida por la concentración intracelular de aniones, especialmente cloruro.

C50

CAMBIO EN LA CAPTURA Y LIBERACION DE GABA μ M POR EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE GLUTARATO MONOSODICO A RATAS ADULTAS. Morales-Villagran, A., Medina-Ceja, L.S., García-Balzacón, J., Bess-Zarate, C. y Ferriz-Velasco, A. Facultad de Ciencias Biológicas U. de G. y U.I.B.D. IHSS.

Diferentes intentos se han realizado, para tratar de entender mejor el mecanismo de inducción de crisis convulsivas, como es la utilización de diferentes modelos para el estudio de la epilepsia experimental, tales como kindling, electroshock, administración de pentilentetrazol y otras drogas. En los modelos anteriormente mencionados, se han logrado identificar alteraciones de la transmisión GABAérgica, lo cual sugiere que el GABA, es uno de los neurotransmisores principalmente involucrados en la regulación de las crisis convulsivas.

En estudios realizados en nuestro laboratorio en los que se ha utilizado la sal monosódica del ácido glutámico (GMS) como un agente inductor de crisis convulsivas, se han identificado alteraciones en la transmisión catecolaminérgica y colinérgica en diferentes áreas del sistema nervioso central. Sin embargo, la participación del GABA, no se ha evaluado, por lo que en el presente trabajo se determinó la captura y liberación de GABA μ M en la sustancia nigra del cerebro de rata en el momento de las crisis convulsivas inducidas por la administración intraperitoneal de GMS a una dosis de 5 mg/g.

Los resultados mostraron que el GMS produce una disminución en la captura de GABA de un 68% con respecto al control y de igual manera, la liberación se encuentra reducida en un 50% por efecto del GMS. Los resultados sugieren que la reducción en el transporte del GABA facilita el desarrollo de las crisis convulsivas inducidas por GMS probablemente por una reducción en la estimulación colinérgica de la vía estríado-nigral.

EFFECTO DEL ANTICONVULSIONANTE HIDANTOIN Y DEL BUTIRAMIDA (GABA) SOBRE LA CONCENTRACION Y LIBERACION DE GABA EN EL ESTRIADO DEL RATON BLANCO

Bess-Zarate, C., Ferriz, G.M.I., Rivera, I.M., Morales-Villagran, A., Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

Diversos estudios farmacológicos, bioquímicos y fisiológicos han demostrado la participación de las catecolaminas, NE y DA en la regulación del umbral convulsivo en diferentes modelos de estudio de la epilepsia experimental. Además se ha descrito el efecto anticonvulsivo de acción no algunos anticonvulsivos como la EPM, clonidina, picrotoxin, el diazepam, etc., es a través de modular la neurotransmisión Chérgica. En esta forma, en México se han sintetizado una serie de compuestos derivados de las butiramidas los cuales han mostrado una marcada actividad anticonvulsiva en animales de experimentación.

En el presente trabajo se realizaron algunos experimentos para conocer el efecto del GABA y de diferentes drogas sobre la concentración y liberación de GABA en el estriado del ratón adulto. La administración de DA en dosis de 0.5 mg/kg, y de EPM de 20 mg/kg, disminuyó la liberación de GABA en el estriado del ratón adulto. La administración de DA en dosis de 0.5 mg/kg, y de EPM de 20 mg/kg, disminuyó la liberación de GABA en el estriado del ratón adulto.

Los resultados indican un importante incremento en la concentración de DA en el estriado de 20 mg/kg de EPM con respecto al control, mientras que la NE disminuyó en un 50% y GABA en un 20%. Los resultados obtenidos sugieren que la liberación de GABA en el estriado del ratón adulto es regulada por la concentración de DA y de EPM en el estriado del ratón adulto.

C52

ESTUDIO MORFOLOGICO-TOXICOLOGICO DE RATAS TRATADAS Y ALIMENTADAS CON Enterolobium cyclocarpum. Ortiz, G.G., Tapuste, J.G., Bracamonte, R., González, I., Dueñas, M. y Álvarez, C. Laboratorio de Morfología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Guadalajara.

Uno de los problemas que enfrentan los países en vías de desarrollo es el déficit nutricional que sufren sus pobladores por lo que las dietas de los trabajos realizados en el campo de la nutrición, muchos de ellos se basan en encontrar fuentes de proteínas que contengan aminoácidos esenciales en una concentración aceptable. E. cyclocarpum es una de las leguminosas silvestres que por la cantidad y calidad de su proteína representa una valiosa opción. Por lo que evaluamos el efecto de un extracto y una dieta a base de E. cyclocarpum. Se utilizaron 4 grupos de ratas híbridas, en 2 grupos madres fueron alimentadas con E. cyclocarpum los cerebros de sus crías fueron estudiados a los 0, 5, 20, 30 y 60 días postnatales, a los otros tres se les administró extractos acuoso intracerebrales a diferentes concentraciones. A los primeros 2 grupos se les extrajo el cerebro-cerebelo y a los otros 2 grupos hígado e riñón. Muestras de ratas experimentales y testigos fueron procesadas histológicamente y sus laminillas examinadas bajo un microscopio fotónico. Si bien encontramos menor peso cerebral-cerebeloso no encontramos retardo en la migración celular a los 20 días y su histología bajo este método fue normal. Por otra parte los extractos acuosos crudos mostraron alteraciones progresivas hasta llegar a una degeneración gruesa en hígado o una degeneración hidrópica difusa en riñón. Conclusión: E. cyclocarpum debe de ser utilizada con cuidado puede ser usada como un suplemento proteico y no como fuente única de proteínas.