

EVALUACIÓN DE SILIMARINA Y DMSA SOBRE LA INTOXICACIÓN POR PLOMO EN RATAS

Eduardo González Rocha, Yolanda Alcaraz Contreras

Licenciatura Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato | zonaeduardo@gmail.com

Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato | yolaalca@ugto.mx

Resumen

El plomo es un metal tóxico ampliamente utilizado que afecta sistemas, órganos y tejidos. Los principales mecanismos responsables de las alteraciones relacionadas con la intoxicación por plomo son la generación de especies reactivas de oxígeno, la estimulación de la peroxidación lipídica y el agotamiento de las reservas de antioxidantes. En este trabajo se determinó el efecto de la silimarina y del ácido 2,3 dimercaptosuccínico (DMSA) administrados de forma individual o combinada sobre los niveles de glutatión en hígado de ratas expuestas a plomo. La administración de plomo produjo disminución de los niveles de glutatión hepático y los tratamientos con silimarina y/o DMSA mostraron un efecto protector.

Abstract

Lead is a toxic metal widely useful that affect organs, systems and tissues. The main mechanisms responsible of alterations linked with the lead poisoning are the generation of reactive oxygen species, stimulation of lipid peroxidation and depletion of antioxidants. In this work determined the effect the silymarin and dimercaptosuccinic acid (DMSA) administred individually and combined form on the levels of glutathione in the liver rats exposed to Lead. The administration in lead produced decrease in levels the glutathione hepatic and the treatment with silymarin and DMSA showed an effect protective.

Palabras Clave

Plomo; ácido 2,3-dimercaptosuccínico ; silimarina; glutatión;

INTRODUCCIÓN

Toxicidad del plomo

El plomo es un metal tóxico ampliamente utilizado. La exposición ocupacional y ambiental es un problema de salud a nivel mundial. Diversos reportes indican que el plomo puede causar daño a nivel de los sistemas nervioso central, gastrointestinal, reproductivo, circulatorio, hematológico entre otros. Al igual que otros metales tóxicos persistentes, el plomo daña los componentes celulares a través de la generación de estrés oxidativo. La producción de especies reactivas de oxígeno, la estimulación de la peroxidación lipídica y el agotamiento de las reservas de antioxidantes se han postulado como los principales responsables de las alteraciones relacionadas con la exposición. [1, 2, 3]

La intoxicación por plomo es tratada con diferentes tipos de quelantes y se ha reportado que la administración simultánea de un quelante con un antioxidante puede potenciar la efectividad del tratamiento. [2,3]

El ácido 2,3 dimercaptosuccínico (DMSA) es un derivado del dimercaprol que contiene 2 grupos sulfidrilos (-SH), y es considerado un agente quelante efectivo de plomo. DMSA tiene la ventaja de ser poco de que puede ser administrado por la vía y no permite la redistribución del metal. El DMSA es capaz de quelar metales en tejido blando pero es incapaz de quelar el plomo en los huesos. [1]

La silimarina es un producto de estructura flavonoide que se obtiene de los frutos del *Silybum marianum* (L.) Gaerth. Tiene un efecto antioxidante y hepatoprotector que puede bloquear toxinas y es capaz de eliminar radicales libres. La silimarina mejora el daño hepático desde el punto de vista terapéutico en afecciones tóxicas e infecciosas. Diversos estudios realizados tanto *in vitro* como *in vivo* en animales han demostrado las propiedades hepatoprotectoras de la silimarina [6,7].

Diversos estudios han mostrado la ventaja de administrar un agente quelante con un antioxidante. Así, parece que los agentes quelantes usados en combinación con antioxidantes pueden ser una estrategia estándar en el tratamiento de la toxicidad de metales pesados. [8]

MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos utilizados fueron: Glutathione Assay Kit catalog number CS062, Silimarina, DMSA, adquiridos de SIGMA-ALDRICH®. Acetato de plomo trihidratado, marca Jalmek.

Material Biológico

Se utilizaron 25 ratas Wistar machos, proporcionadas por el bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, sede Noria Alta. Los animales se trabajaron en grupos de 5 ratas y recibieron los siguientes tratamientos.

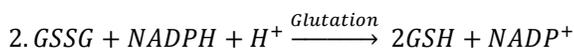
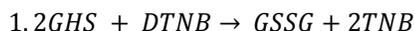
- I. Ratas sin exposición a plomo (control negativo)
- II. Ratas expuestas a plomo administrado *ad libitum* en el agua de beber a una concentración de 4000 ppm durante 6 semanas. Control positivo.
- III. Ratas expuestas a plomo de forma similar al grupo II y co-tratadas con silimarina durante 6 semanas a una dosis de 200 mg/Kg.
- IV. Ratas expuestas a plomo y co-tratadas con silimarina de forma similar al grupo III. Durante los últimos 5 días recibieron tratamiento con DMSA a una dosis de 75 mg/Kg.,
- V. Ratas expuestas a plomo de forma similar al grupo II y tratadas durante los últimos 5 días con DMSA a una dosis de 75 mg/Kg.

Después de 24 h de concluir el tratamiento las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico vía i.p. y se tomaron muestras de sangre mediante punción intracardiaca. Las muestras de sangre se utilizaron para determinar el valor del hematocrito. El hígado, los riñones, los testículos y el fémur fueron retirados, pesados y congelados inmediatamente. Estas muestras serán utilizadas posteriormente para cuantificar el plomo. Una porción del hígado fue congelado inmediatamente a -80° C para la determinación de glutatión (GSH).

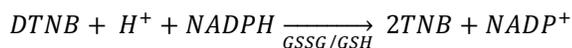
Determinación de glutatión (GSH)

Los niveles de GSH fueron determinados siguiendo las instrucciones del fabricante del Kit Glutathione Assay Kit catalog number CS062 de Sigma. Brevemente descrita, se realizó un homogenizado del tejido con ácido 5-sulfosalicílico al 5% en una proporción 1:10 w/v. El homogenizado fue centrifugado y el sobrenadante fue utilizado para la cuantificación del GSH. Se realizó una curva de calibración con GSH y la reacción con el DTNB fue seguida por medio de una cinética durante 5 minutos. Las lecturas se realizaron a 412 nm cada minuto. La concentración de GSH fue extrapolada de la curva construida con los datos de la cinética y el resultado fue expresado en nmoles/100 mg de tejido húmedo.

Ensayo cinético de glutatión:



Reacción combinada:



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La exposición a plomo durante 6 semanas no provocó cambios en la ganancia de peso ya que no encontramos diferencias entre el grupo expuesto a plomo y el grupo sin exposición. Por otro lado, los grupos expuestos a plomo y que recibieron

tratamientos produjeron una ganancia de peso al finalizar el periodo de tratamiento. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados y los controles. En promedio la ganancia en el peso fue de 99 ± 6 gr. Tampoco observamos cambios significativos respecto al peso del hígado en ninguno de los grupos tratados. El peso hepático representó el 2.6% del peso total para el control negativo y no hubo diferencia significativa respecto a los grupos expuestos a plomo y que recibieron tratamiento con silimarina y/o DMSA.

LA exposición a plomo produjo una disminución en los niveles del GSH hepático. Figura 1. Los tratamientos con silimarina y DMSA administrados de forma individual o combinada revirtieron este efecto y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Este efecto puede ser atribuido al efecto quelante del DMSA y al efecto antioxidante de la silimarina.

En los grupos III, IV y V existe una mayor cantidad de GSH, lo que sugiere existe un estímulo a la producción de GSH, un efecto hepatoprotector de la silimarina o un efecto antioxidante de la silimarina.[9,4]

CONCLUSIONES

La administración de plomo produjo disminución de los niveles de glutatión hepático y los tratamientos con silimarina y/o DMSA mostraron un efecto protector.

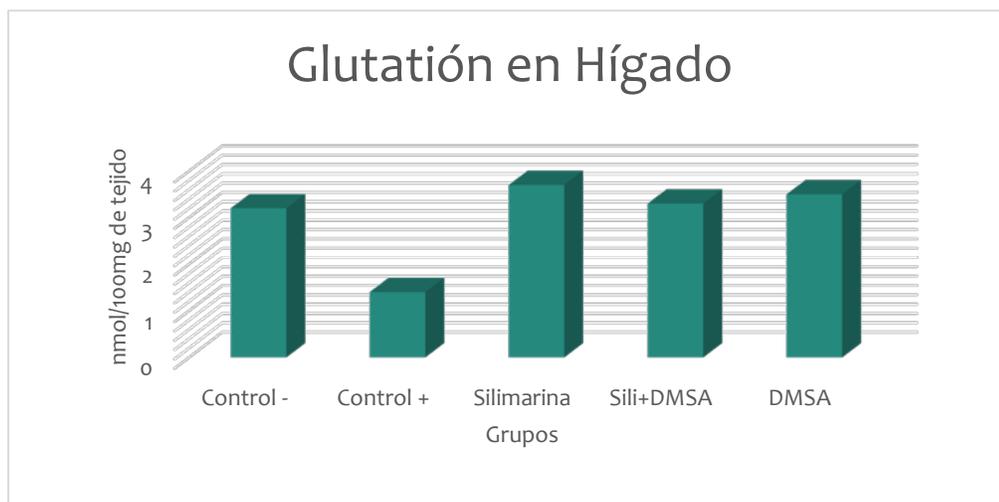


Gráfico 1: cantidad de nmol de glutatión por 100 mg de hígado.

REFERENCIAS

Artículo:

1. Debasish Bandyopadhyay, Debosree Ghosh, Aindrila Chattopadhyay, Syed Benazir Firdaus, Arnab Kumar Ghosh, Sudeshna Paul, Debajit Bhowmik, Sanatan Mishra, Krishnendu Dalui, (2014). Lead induced oxidative stress: a health issue of global concern. *Journal of Pharmacy Research*, (8), 9
2. Flora G. , Gupta D., Tiwari A. ; Toxicity of lead: A review with recent updates ; *Interdisciplinary Toxicology* 2012; Vol 5 (2) 47-58.
3. Bassem R. M., El-Barbary A., Touson, E., Aziz S. Di-Mercapto Succinic Acid (DMSA) and vitamin C chelating potency in lead intoxication, regarding oxidative stress and apoptotic related proteins in rabbits. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* (2011) 9, 121–131
4. Power John (2014), *Silybum marianum* monograph. *JATMS* 20. 40-44
5. S.J.S Flora, Megha Mittal & Ashish Mehta (2008), Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res* 128. 501-523.
6. Cárceles, C., Ponferrada, C. Sarljuan, M. A. y Serrano, J. M. 1987. Farmacocinética de la Silimarina Intravenosa en Conejos a dosis única. *An. Vet. (Murcia)* 3 : 11-15
7. Zhiming Wen, Todd E. Dumas, Sarah J. Schrieber, Roy L. Hawke, Michael W. Fried and Philip C. Smith. Pharmacokinetics and Metabolic Profile of Free, Conjugated, and Total Silymarin Flavonolignans in Human Plasma after Oral Administration of Milk Thistle Extract. *Drug, Metabolism and Disposition*.
8. Jomova K. y Valko, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease ; *Toxicology* 283 (2011) 65–87
9. Alcaraz-Contreras Y, Mendoza-Lozano RP, Martínez-Alcaraz ER, Martínez-Alfaro M, Gallegos-Corona MA, Ramírez-Morales MA, Vázquez-Guevara MA. Silymarin and dimercaptosuccinic acid ameliorate lead-induced nephrotoxicity and genotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2015 Jun 15. pii: 0960327115591373.