

## Efecto de la melatonina en animales intoxicados con plomo

Alcalá Cárdenas Stephanie Lilibeth (1), Alfaro Martínez Minerva (2)

1 [Químico Farmacéutico-Biólogo, Universidad de Guanajuato] [alcalacardenaslilibeth@gmail.com](mailto:alcalacardenaslilibeth@gmail.com)

2 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato]  
[alfarom@ugto.mx](mailto:alfarom@ugto.mx)

### Resumen

La melatonina es una hormona encargada de la regulación del ciclo del sueño en los humanos, además es conocida por sus efectos sobre la captación de radicales libres y su actividad antioxidante. Es capaz de reducir la toxicidad de metales como el plomo. Realizamos la determinación del estrés oxidativo empleando como marcador la peroxidación lipídica. Se intoxicaron ratas con acetato de plomo a una dosis de 20mg/Kg de peso durante 9 días sin interrupción. Las ratas fueron divididas en dos grupos de los cuales uno se inició con tratamiento de Melatonina Sigma 10 mg/Kg de peso durante un mes sin interrupción. Además se introdujo un grupo de ratas como control negativo. El análisis de estrés oxidativo se realizó mediante un ensayo de cuantificación de peroxidación lipídica kit (Kit For the Determination of Aqueous and Lipid hydroperoxides SIGMA) commercial kit. Los valores de peroxidación lipídica en ratas intoxicadas son mayores que en aquellas ratas tratadas con melatonina. Las concentraciones de este biomarcador resultaron ser más bajas en las ratas control. La peroxidación lipídica es el resultado de la interacción entre radicales libres, generados ante la exposición del plomo, con los ácidos grasos de las membranas celulares.

### Abstract

Melatonin is a hormone responsible in regulation of sleep in human cycle; It is also known for its effects on the free radical scavenging and antioxidant activity. It is able to reduce the toxicity of metals such as lead. We perform the determination of oxidative stress, using as a marker the lipid peroxidation. Rats were intraperitoneally injected with lead acetate (20 mg / kg/ day) for 9 days without interruption. They were divided into two groups, one of which began with melatonin treatment Sigma 10 mg / kg body weight during a month without interruption: Besides a group of rats was introduced as a negative control. Analysis was performed by oxidative stress quantification assay of lipid peroxidation using a commercial peroxidation kit (Kit For the Determination of Aqueous and Lipid hydroperoxides SIGMA). The values of lipid peroxidation in rats intoxicated are greater than those rats treated with melatonin. This biomarker concentrations were found to be lower in the control rats . Lipid peroxidation is the result of interaction between free radicals generated by exposure of the lead, with the fatty acids of cell membranes.

### Palabras Clave

Melatonina, Plomo, Radicales libres, Peroxidación lipídica, Estrés oxidativo.

## INTRODUCCIÓN

### Plomo

El plomo es un metal tóxico presente en forma natural en la corteza terrestre. Su uso generalizado ha dado lugar a contaminación del medio ambiente, un nivel considerable de exposición humana y graves problemas de salud

pública [1]. Entre las fuentes de contaminación ambiental destacan la explotación minera, metalurgia, actividades de fabricación y reciclaje, pinturas y gasolina; destaca entre estas fuentes la fabricación de baterías de plomo-ácido para vehículos de motor como la más común [2]. Se distribuye en el organismo alcanzando el cerebro, hígado, riñones y huesos. Se deposita en dientes y huesos, donde se acumula con el tiempo. Los niños de corta edad son especialmente vulnerables a los efectos tóxicos del plomo, afectando al desarrollo del cerebro y del sistema nervioso; en adultos aumenta el riesgo de hipertensión arterial y de lesiones renales. [1]

### Melatonina

La melatonina es una hormona sintetizada en la glándula pineal, se ve envuelta en varios procesos funcionales incluyendo la regulación del ciclo del sueño en humanos [1]. Ha demostrado también la reducción en la toxicidad del metales como arsénico, cadmio, mercurio y plomo vía captación de radicales libres; actuando principalmente en la reducción del estrés oxidativo que producen dichos metales. Los dos mecanismos propuestos para la acción de la melatonina son: (1) la regulación de la expresión de genes de varias enzimas antioxidantes como: catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa a través de

receptores de melatonina; y (2) la interacción directa de la melatonina con radicales libres. [3]

### Estrés oxidativo y peroxidación lipídica

El estrés oxidativo es el resultado de un incremento en la formación de radicales libres y otras especies reactivas oxidantes, o bien una disminución de la concentración de moléculas antioxidantes de bajo peso molecular, o en la actividad de enzimas antioxidantes. Un radical libre reacciona con compuestos susceptibles incluyendo lípidos, proteínas y DNA; son reacciones muy rápidas y sus productos causan daño oxidativo. [4] Los radicales hidroxilo pueden dar inicio a la peroxidación de lípidos. Atacan los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares y lipoproteínas transformándolos en ácidos grasos peroxidados. [5]

En base a los reportes dados en la toxicidad del Plomo y la actividad de la melatonina para reducir los efectos causados por este metal en el organismo, realizamos una determinación del estrés oxidativo en un modelo biológico de tres grupos de ratas intoxicadas con plomo a dosis de 20mg/Kg de peso. Se contó con un grupo control, un grupo intoxicado y otro de ratas que fueron tratadas con melatonina en dosis de 10mg/Kg. El marcador de elección fue la peroxidación lipídica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Ratas Wistar; Centrífuga refrigerada; Homogenizador Glas-Col; Lector de placas de ELISA; Peroxidect Kit For the Determination of Aqueous and Lipid Hydroperoxides SIGMA; Melatonina SIGMA; Metanol SIGMA. Se emplearon ratas macho de 8 semanas de edad con un peso promedio de 217 g; divididas en grupo A: ratas control; B: Acetato de Plomo; y C: Acetato de plomo + melatonina. Se les administró intraperitonealmente, durante 9 días, acetato de

plomo en dosis de 20mg/Kg de peso diario. Posteriormente, al grupo C se les administró en adición un tratamiento con melatonina a dosis de 10 mg/Kg de peso diario durante un mes. Al finalizar el tratamiento con melatonina, se colectan muestras de heces y orina de 24 horas, provenientes de una rata de cada grupo. Se sacrifican todas las ratas para obtener muestra sanguínea; extraer hígado, cerebro, riñón y fémur.

Determinación de peroxidación lipídica. La preparación de la muestra se realiza lavando cada tejido con solución de PBS 1X y realizando cortes de 0.1g que se congelan y almacenan en nitrógeno líquido. En tubo eppendorf se colocan 100 mg de tejido, se añaden 400  $\mu$ L de metanol frío al 90% y se homogeniza; agregar otros 400  $\mu$ L de metanol. Centrifugar a 10000 g durante 10 minutos a temperatura 5°C.

Después de un pre-tratamiento de las muestras se lleva a cabo la reacción con 30  $\mu$ l en adición de 300  $\mu$ l de la solución de trabajo, la cual contiene hierro y naranja de xilenol para permitir la peroxidación de los lípidos presentes y por ende la formación de complejos coloreados cuya absorbancia se mide en el espectrofotómetro a 560 nm con previa incubación de 30 minutos de la mezcla reacción.

Elaborar la curva estándar colocando 0, 1, 2, 4, 8, 12 y 16 nmol de tert- butyl peroxide 200 $\mu$ M. Preparar en eppendorf cada muestra con 1 ml de solución de trabajo. A partir de esa muestra añadir a la placa 330  $\mu$ l para leer absorbancias a 560nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles de peróxido en las muestras se muestran en la tabla 1. Los valores de peróxido en la muestra de hígado se ven aumentados en la rata intoxicada únicamente. Las ratas que fueron tratadas con melatonina presentaron valores intermedios de peroxidación en comparación con

los controles y las intoxicadas. En el análisis de la muestra de riñón se observó claramente los niveles más bajos de peróxido en la rata control, aumentan en las ratas que recibieron tratamiento de melatonina y se incrementan aún más en las ratas sin melatonina.

Las muestras de cerebro fueron insuficientes para realizar un análisis de resultados.

Siendo la peroxidación lipídica el resultado de la interacción entre radicales libres, generados ante la exposición del plomo, con los ácidos grasos de las membranas celulares, se observa en las muestras de tejido el efecto protector o antioxidante que provee la Melatonina en dosis 10mg/Kg.

Tabla 1: Niveles de peróxido en el tejido de hígado, riñón y cerebro.

Rata	nmol/100mg muestra peso húmedo	
	Hígado	Riñón
Control	2.43 $\pm$ 3	4.51 $\pm$ 3
Plomo	3.61 $\pm$ 3	5.62 $\pm$ 3
Plomo-Melatonina	4.56 $\pm$ 3	5.95 $\pm$ 3

## CONCLUSIONES

El tratamiento con melatonina en las ratas mostró una disminución en el estrés oxidativo producido por la intoxicación con el plomo. Lo anterior se traduce en la confirmación de que la administración de melatonina permitió la reducción

de los efectos tóxicos que el plomo produce a las ratas.

Con este análisis, puede ser sometido a estudio futuro el uso de la melatonina como un tratamiento en pacientes que sufren de intoxicación con plomo.

## AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a la Dra. Minerva Alfaro Martínez (UG), Dra. Yolanda Alcaráz Contreras y Juan Pedro Galván (UG) por asistencia técnica. Este trabajo fue apoyado por la Universidad de Guanajuato.

## REFERENCIAS

1. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/es/> (15 de Julio de 2015)
2. Monograph on Inorganic and organic lead compounds. IARC monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volumen 87 (2006). (15 de Julio de 2015).
3. Hernández, E., Quiróz, F., Ramírez, G., Yáñez, E., Rodríguez, N., Flores, A., Wrobel, K., Wrobel, K., Méndez, I., Díaz, M., Robles, J., Martínez, M. (2015). Melatonin reduces lead levels in blood, brain and bone and increases lead excretion in rats subjected to subacute lead treatment. Elsevier, Vol.233, 79-80.
4. Lichtenberg, D., Pinchuk, I. (2015). Oxidative stress, the term and the concept. Elsevier, Vol. 461, 441.
5. <http://www.biologiaosea.com.ar/files/seminarios/sem%20estres%20oxidativo.pdf> (16 de julio de 2015)