

TRABAJOS ORIGINALES

Nialamida en la intoxicación

Experimental por Tetracloruro de Carbono

DR. JIMÉNEZ J., GUIDO*
DR. MIRANDA G., GUIDO**
DR. MEKBEL, SAEED***
DR. GUTIÉRREZ S., RODRIGO****

Es conocido el efecto tóxico que produce el tetracloruro de carbono sobre las células hepáticas y renales. Desde el punto de vista experimental, es relativamente simple inducir fenómenos de necrosis en los mencionados tejidos, (1-2) mediante la administración parenteral del tóxico en dosis conocidas (2-8-17-23). Al mismo tiempo, ciertos autores han invocado efecto protector de la nialamida contra el efecto tóxico de ciertas sustancias, (4-5-6-7) en el tejido hepático (4-6) y renal.

El propósito del presente trabajo ha sido el de observar las lesiones histológicas producidas por el tetracloruro de carbono en el hígado y en el riñón, así como también cuantificar la magnitud del proceso necrótico inducido, mediante la determinación del contenido enzimático de cada tejido. Igualmente, en forma paralela establecer comparación entre el comportamiento de las células hepáticas y renales bajo el efecto tóxico del tetracloruro de carbono y en presencia de nialamida.

DESCRIPCION BIBLIOGRAFICA

Es conocido que la intoxicación por tetracloruro de carbono produce reducción de las siguientes enzimas del tejido hepático: piridina nucleótido (9), adenil nucleótido (10), citocromo C. (11), citocromo oxidasa (12), oxidasa succínica (12-13), fosfomonoesterasas ácidas y alcalinas y esterasas hepáticas (12). Repetidamente ha sido demostrado que la necrosis celular hepática y renal libera el contenido enzimático, lo que produce una elevación subsecuente en los niveles circulantes, demostrado desde los primeros trabajos de Wroblewski y La Due (14).

* Dep. de Fisiología, U. de C. R. Hosp. Central. CCSS.
** Jefe Sección Medicina, Hosp. Central CCSS.
*** Dep. Anatomía Patológica, U. de C. R. y Hosp. Central CCSS.
**** Dep. de Fisiología, Fac. de Medicina, U. de C. R.

La histopatología de las lesiones inducidas por el tetracloruro de carbono, presenta lesiones localizadas especialmente en la zona centrolobulillar que se caracterizan por degeneración grasa difusa, necrosis parenquimatosas (2-15-16-19), colapso del retículo, hemorragia e infiltración leucocitaria. Los efectos se acentúan en relación directa a la dosis administrada, así como también a la vía de acceso al organismo y al parénquima injuriado (17-18-19).

No está claramente establecido el mecanismo de acción del tóxico y algunos autores discrepan en el sitio de localización de la necrosis (17-20).

Una enorme variedad de sustancias han sido descritas como protectoras de las células hepáticas contra el efecto agresor de diversos tóxicos (21-22-25-26) y específicamente, en tiempos recientes, los inhibidores de la monoamina oxidasa parecieran haber demostrado esta condición en manos de algunos autores (4-5-6-7), mientras que otros reportan ningún efecto protector (23).

MATERIAL Y METODO

Se hicieron tres grupos de ratas blancas del tipo Wistar, adultos, que se aislaron en cajas individuales y se les alimentó con dieta balanceada (Purina Rat Chow) a discreción y agua ad lib.

Grupo A: Diez ratas blancas fueron sacrificadas para determinar el contenido de transaminasa glutámica oxalacética y glutámica pirúvica de los tejidos hepático y renal, mediante la técnica descrita por Zellman y colaboradores (24) y utilizando la técnica de Karmen, Wroblewski y La Due para la determinación de transaminasas.

Grupo B: Constituido por veintidós ratas que recibieron tetracloruro de carbono intraperitonealmente en dosis de 500 mgr/ kilo de peso. Dos ratas fueron sacrificadas diariamente y se obtuvieron dos muestras de hígado y dos de riñón de cada una, para dosificación tisular de transaminasas oxalacética y pirúvica, así como una muestra de hígado y dos de riñón para estudio histopatológico.

Grupo C: Constituido por veinte ratas en las que se siguió el mismo procedimiento del grupo anterior, a la vez que recibieron nialamida en dosis de 40 mgr/kilo, iniciándose 24 horas antes de la administración del tetracloruro de carbono y en forma continua por dos días antes del sacrificio.

RESULTADOS:

CORRELACION HISTOPATOLOGICA

Los animales intoxicados con tetracloruro de carbono mostraron necrosis y focos de hemorragia centrolobulillares desde el primer día; el mismo cuadro al segundo día, había cobrado mayor intensidad, notándose entonces una zona centrolobulillar de necrosis rodeada por un halo de células hepáticas tumefactas con citoplasma claro. Además infiltración de leucocitos y de células mononucleares grandes de tipo histiocitario. Las células hepáticas vecinas ya mos-

traban núcleos grandes con cromatina abundante y algunas figuras mitóticas. Al tercer día las zonas necróticas mostraron fuerte infiltración de células mononucleares con desaparición parcial de las células necróticas. Las células hepáticas vecinas mostraban el máximo de cambios regenerativos, con un promedio de tres figuras mitóticas por campo de 400 diámetros. Al cuarto día hay una notable reducción de las áreas necróticas, con disminución de las células mononucleares infiltrantes; las células hepáticas vecinas mantienen intensos signos de regeneración. En el sexto día la necrosis ha desaparecido y los cambios regenerativos persisten aunque atenuados. Estos últimos disminuyen hasta casi desaparecer al noveno día.

En los animales protegidos con Nialamida se observó en el primer día marcada tumefacción de las células centrolobulillares, algunas de las cuales eran francamente necróticas. Al segundo día hubo más células hinchadas y menos necróticas que en los animales no protegidos. Al tercer día se manifestó extensa necrosis, notándose menor infiltración de células inflamatorias y menor actividad regenerativa de las células hepáticas que en los animales no protegidos. Al cuarto día uno de los animales mostró persistencia de necrosis importante, mientras que el otro no mostraba más que pequeñas áreas; la actividad regenerativa era importante. Al quinto día todavía se observaron pequeñas áreas de necrosis centrolobulillar. A partir del sexto día la evolución es enteramente similar a la de los animales no protegidos.

En resumen, se observa un retardo de un día en la aparición de la máxima necrosis en los animales protegidos con Nialamida, con menor respuesta inflamatoria.

En el riñón los cambios histológicos se inician al segundo día con ingurgitación vascular y vacuolización del epitelio de algunos pocos tubos contorneados. Al cuarto día hay presencia de eritrocitos en la luz tubular, hallazgo que permanece en los dos días siguientes. La vacuolización del epitelio del túbulo contorneado permanece hasta el décimo día sin mostrar cambios importantes. Respecto a los animales que recibieron nialamida al igual que en hígado, las lesiones se establecen 24 horas después, pero sin que exista apreciable diferencia entre ellas al cuarto día. Igualmente, los cambios histológicos persisten hasta el décimo día.

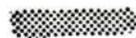
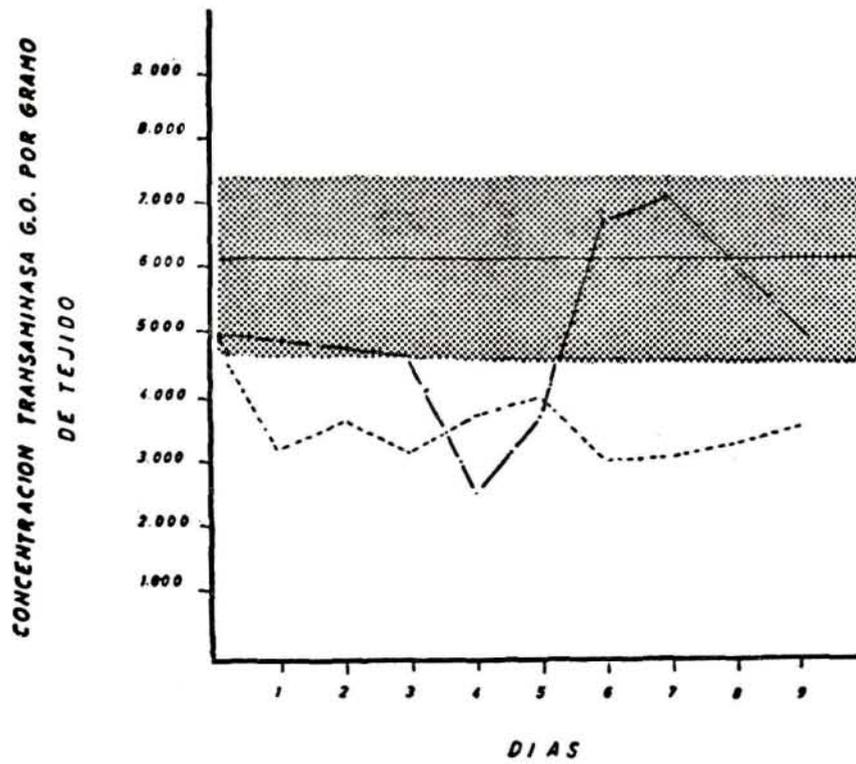
COMPORTAMIENTO DE LAS TRANSAMINASAS:

En el grupo A de animales, se determinó el contenido normal de la transaminasa glutámico-oxalacética y glutámico pirúvica en los tejidos hepático y renal, cuyos resultados se muestran en la tabla N° 1.

T A B L A N° 1

Tejido	Contenido T.G.O./Gr. tejido		Contenido T.G.P./Gr. tejido	
	Promedio	Desviación Standard	Promedio	Desviación Standard
Hígado	6.115,24	+1.315,14	10.984,44	+2.387,78
Riñón	16.461,88	+6.267,74	3.220,75	+1.488,16

Nº 1

HIGADOTRANSAMINASA GLUTAMICA OXALACETICA

DESVIACION STANDARD

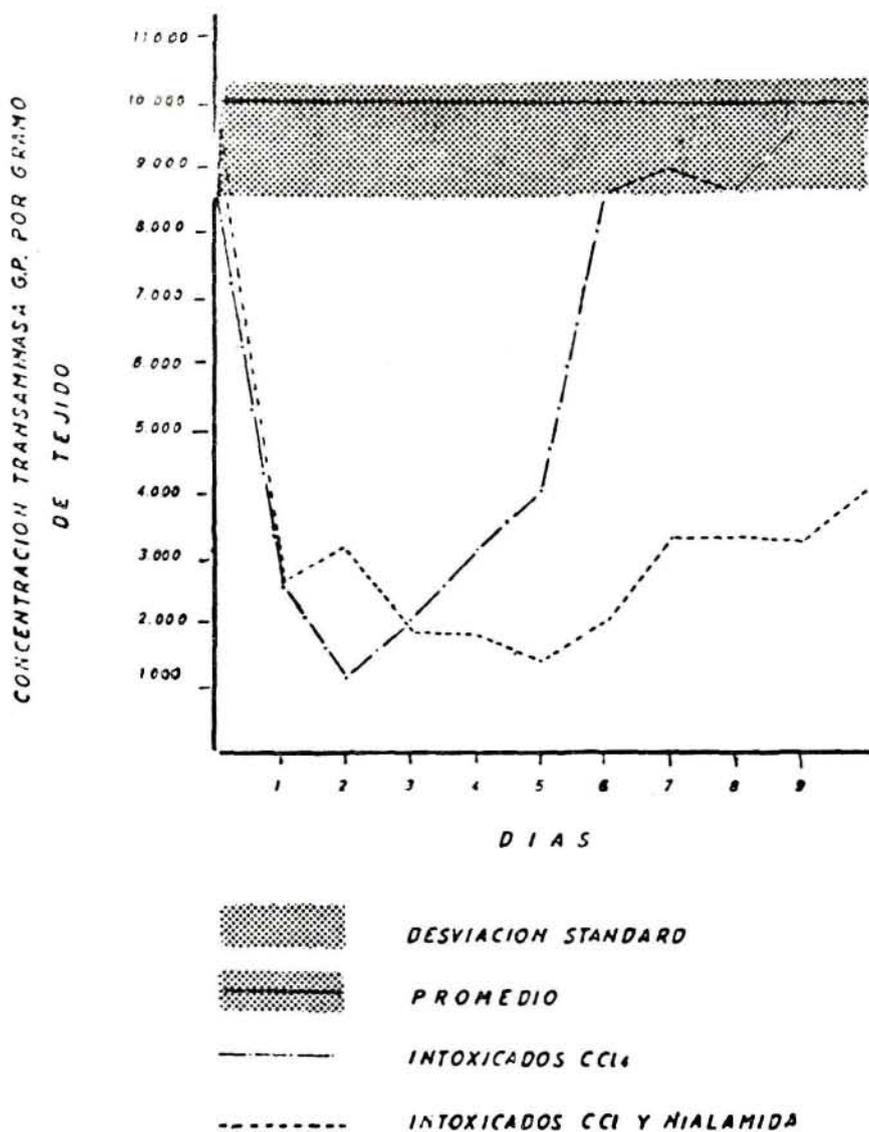


PROMEDIO

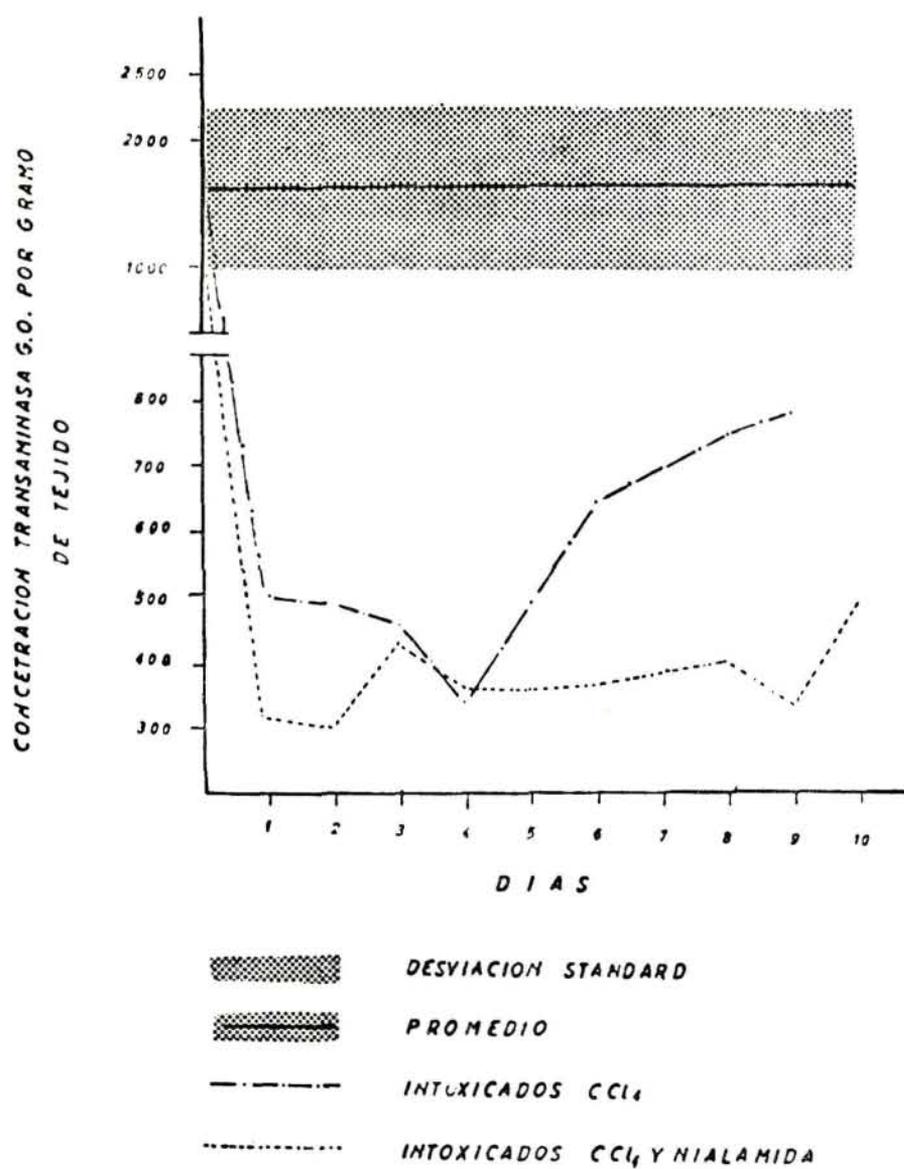
INTOXICADOS CCl₄INTOXICADOS CCl₄ Y NIALAMIDA

Nº2 HIGADO

TRANSAMINASA GLUTAMICA PIRUVICA



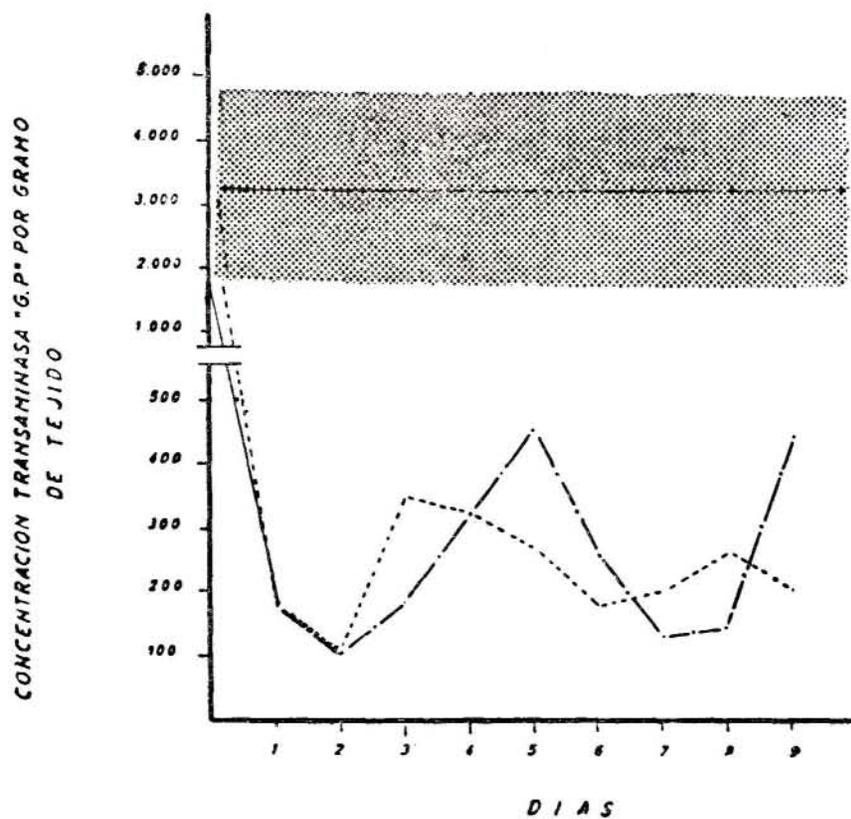
Nº3

RIÑONTRANSAMINASA GLUTAMICA OXALACETICA

Nº 4.

RIÑON

TRANSAMINASA GLUTAMICA PIRUVICA



DESVIACION STANDARD
PROMEDIO
INTOXICADOS CCl₄

TEJIDO HEPATICO

La dosificación de la transaminasa glutámico-oxalacética en hígado (gráfica N° 1), muestra una curva con tendencia al descenso del contenido de la enzima por debajo de los niveles normales que alcanzó su máximo al cuarto día, para iniciar luego un ascenso hasta recuperar los límites normales al sexto día.

La gráfica N° 2 muestra el comportamiento de la transaminasa glutámico-pirúvica en hígado, demostrando una conducta semejante a la observada para la transaminasa oxalacética. El descenso fue precoz, haciéndose evidente al segundo día después de la administración del tóxico, con retorno de la normalidad al sexto día. En el grupo de ratas a las cuales se les administró Nialamida como presunto protector al efecto tóxico del tetracloruro de carbono, se observó diferencia con los animales no protegidos, como puede apreciarse en las gráficas N° 1 y 2. Si bien el descenso fue semejante a lo obtenido en los animales intoxicados hasta el cuarto día, de ahí en adelante, el ascenso hasta niveles normales fue lento, lo que corresponde a la menor regeneración histológica observada en estos mismos hígados.

Estadísticamente (coeficiente chi cuadrado) esta diferencia es significativa con referencia a los animales intoxicados a partir del cuarto día.

TEJIDO RENAL

El perfil de la curva de transaminasa glutámico-oxalacética en riñón para los animales del grupo B (gráfica N° 3) mimetiza fielmente el comportamiento de la enzima homóloga en tejido hepático. Se observa el descenso máximo al cuarto día pero no existe retorno a lo normal aún al décimo día.

En igual forma, los niveles de transaminasa pirúvica (gráfica N° 4), demostraron niveles muy bajos con expresión mínima al segundo día, sin que se observe retorno a lo normal aún al décimo día. Este fenómeno enzimático está corroborado por la presencia de lesiones histológicas.

En el grupo de animales que recibió Nialamida, la conducta inicial de la concentración de las transaminasas en el riñón fue comparable a la observada para los animales del grupo sin Nialamida. Tanto los niveles de transaminasa glutámico-oxalacética como de glutámico-pirúvica, descendieron dentro de los niveles esperados; en los días sucesivos no se observó recuperación en la concentración de las enzimas hasta el punto de llegar a tener diferencia significativa con el grupo de animales que no recibió Nialamida.

RESUMEN Y COMENTARIO

a) Se establece la normal de concentración enzimática en los tejidos hepático y renal para transaminasas glutámico-oxalacética y glutámico-pirúvica.

b) Se obtuvo efecto tóxico mediante la administración de tetracloruro de carbono en un grupo de ratas blancas y se determinaron las concentraciones de las enzimas en el parénquima hepático y renal.

c) Simultáneamente a otros grupos de ratas se le administró tetracloruro de carbono y Nialamida a fin de determinar si existía alguna conducta diferente, tanto desde el punto de vista histológico, como enzimático.

d) Los hallazgos obtenidos no demostraron que la Nialamida prevenga la acción tóxica del tetracloruro de carbono, ni favorezca la recuperación histológica o bioquímica. Más aún, se observó un retardo en la regeneración tisular hepática, con la correspondiente deficiencia de transaminasas intratisulares.

NOTA.—Los autores agradecen profundamente al Lic. Luis G. Solano, Jefe del Laboratorio Clínico, Hospital Central, CCSS su asistencia técnica y al Lic. Rafael Hernández, Jefe del Departamento de Bioestadística, Hospital Central, CCSS, el análisis de los resultados.

B I B L I O G R A F I A

- 1.—MC. CLOCKEY, J. F. MC. GEHEE, E. H.
Effect of subcutaneous and intraoral administration of carbon tetrachloride on the liver of the rat. *Arch. Path.* 49:200; 1950.
- 2.—MOON H. D.
The pathology of fatal carbon tetrachloride poisoning with special reference to the histogenesis of the hepatic and renal lesions. *Am. J. Path.* 26:1041; 1950.
- 3.—SMETANA H.
Nephrosis due to carbon tetrachloride *Arch. Int. Med.* 63:760; 1939.
- 4.—ALBORNOZ PLATA, A.
Metabolismo de la Serotonina, su modificación por la Nialamida y posibilidad de uso en el coma hepático. *Rev. Medicina y Cirugía* 25: Junio-julio, 1961.
- 5.—ALBORNOZ-PLATA, A.; ALBAN MUÑOZ, V.
Tratamiento del coma hepático, la hepatitis viral y fosfórica por la Nialamida. *Rev. Tribuna Médica* Vol. II, N° 59 Bogotá.
- 6.—NÚÑEZ OLARTE, E.
Tratamiento preventivo y curativo de la intoxicación experimental por fósforo blanco y por fluoracetato de sodio (1080).
Rev. Tribuna Médica Vol. 2; febrero 11 de 1963. Bogotá.
- 7.—RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, E.
Intoxicación fosfórica. *Rev. Medicina y Cirugía* 27: 6; 1963.
- 8.—BENGMARK, S; OLSSON R.
Glutamic Pyruvic Transaminase in rat liver after single injection of carbon tetrachloride.
Proc. Soc. Esp. Biol. Med. 109:258; 1962.
- 9.—DIANZANI, M. U.
Biochem. Biophys. Acta 17:391; 1955 (citado referencia 8).
- 10.—BIOCHEM, J.
65:116; 1957 (citado referencia 8).
- 11.—Citado por BENGMARK.
- 12.—STOWELL, R. E., LEE C. S.
AMA. Arch. Path. 50:19; 1950.

- 13.—RAHMAN, M., AHMADA, K.
Ann. Biochem. Exp. Med. 15:143; 1955.
- 14.—MOLANDER D. W.; WROBLEUSKI F., LA DUE J. S.
Serum glutamic oxalacetic transaminase as an index of hepatic cellular integrity.
Lab. and Clin. Med. 46:831; 1955.
- 15.—CAMERON G. R. KARUNARATNE W. A. E.
Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration.
J. Path. y Bact. 42:1; 1936.
- 16.—CAMERON G. R. KARUNARATNE W. A. E. and THOMAS J. C.
Masive necrosis ("Toxic infraction") of the liver following intra portal administration of poisons. J. Path. Bact. 44:297; 1937.
- 17.—ATERMAN K.
Toxic effect of carbon tetrachloride on the liver.
Call Brit. J. Pharmacol. 19:219; 1962.
- 18.—MYREN I.
Injury of liver tissue in mice after single injection of carbon tetrachloride.
Acta Path. Microbiol. Scand Suppl. 116, 1-64; 1956.
- 19.—ATERMAN K.
Studies on fibrosis of the liver induced by carbon tetrachloride.
Ama Arch. Path. 57: 1-11; 1954.
- 20.—BRODY T. M. CALVER, D. N. SCHNEIDER A. F.;
Alteration of carbon tetrachloride induced pathologic changes in the rat by spinal transection, adrenalectomy and adrenergic blocking agents.
J. Pharmacol. Exp. Ther 131:341; 1961.
- 21.—SHAFFER, C. B., CARPENTER, CP. AND MOSES C.
Experimental evaluation of methionine in therapy of liver injury from carbon tetrachloride I. Ind. Hyg. Toxicol 28:87; 1946.
- 22.—DUEL V. A. AND LVOXIS T. A.
Methionine therapy in experimental liver injury produced by carbon tetrachloride.
J. Pharmacol. y Exper. Terap. 90:138; 1947.
- 23.—PROF. BELLELLI
Comunicación recibida de Pfizer Corp. Medical Dept.
Institute "Regina Elena" Roma.
- 24.—ZELMAN S., WANG, C. C.
Transaminase in Serum and liver correlated with liver cell necrosis in needle aspiration biopsies.
Am. J. Med. Sci., 237:323; 1959.
- 25.—GYORGY P., SEIFTER, J., TOMARELLI, R., GOLDBLATT H.
Influence of dietary factors and sex on the toxicity of carbon tetrachloride in rats.
J. Exp. Med. 83:449; 1946.
- 26.—KASKEBAR, D. K., LAVATE W. V., REGE D. V. AND SREENIVASAN.
A Study of Vit. B. 12 Protection in experimental liver injury to the rat by carbon tetrachloride.
The Biochem. J. 72:384; 1959.

- Fig. 1.—Hígado. Rata no protegida, 2 días después de la administración tetracloruro de carbono. Observándose la extensa necrosis centrolobulillar. H.E. 100 x.
- Fig. 2.—Hígado. Rata protegida con nialamida, 2 días después del tetracloruro. Obsérvese la menor intensidad del infiltrado inflamatorio en la zona de necrosis. H.E. 100 x.
- Fig. 3.—Hígado. Rata no protegida, 3 días después del CCL₄. H.E. 100 x. Nótese la importante actividad regenerativa alrededor del área necrótica.
- Fig. 4.—Hígado. Rata protegida, 3 días después del CC14. H.E. 100 x. Nótese la persistente vacuolización celular y la menor actividad regenerativa.

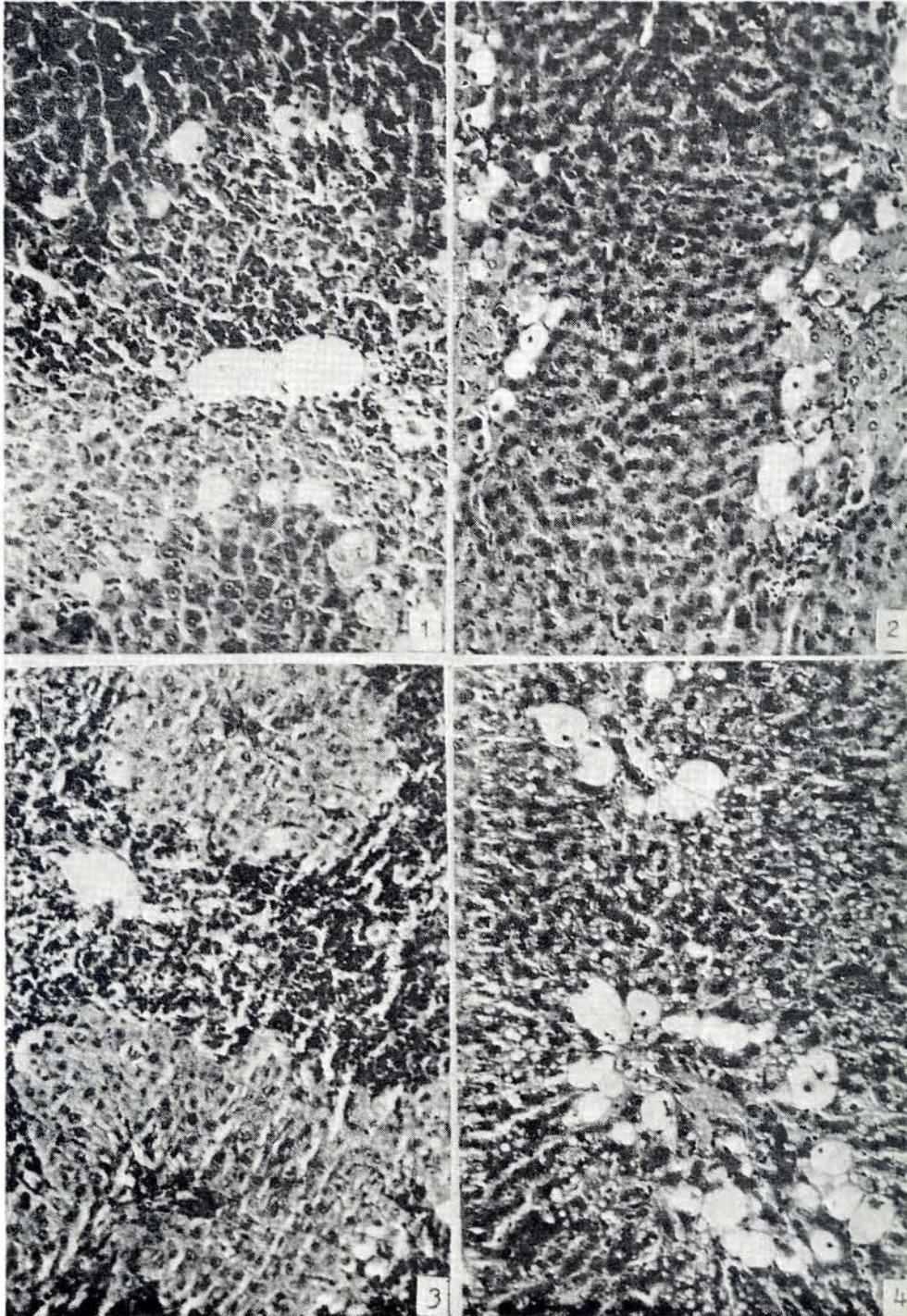


Fig. 5.—Hígado. Rata no protegida, 4 días. H.E. 100 x. Acentuada disminución del área necrótica y del infiltrado inflamatorio.

Fig. 6.—Hígado. Rata protegida, 4 días. H.E. 100 x. La reducción del área necrótica no es tan marcada como en la figura 5.

Fig. 7—y 8. Riñón. 2 días después de la administración de tetracloruro de carbono. Obsérvese la vacuolización del epitelio tubular. 100 x. H.E.

