

Efecto del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium myrtillus* sobre tejido pulmonar de ratones con neumoconiosis inducida

Effect of the hydroalcoholic extract of *Vaccinium myrtillus* on lung tissue of mice with induced pneumoconiosis

José L. Cruzado-Razco*; Carmen R. Silva-Correa; Víctor E. Villarreal-La Torre; Segundo M. Miranda Leyva

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

*Autor correspondiente: jcruzador@unitru.edu.pe (J. Cruzado-Razco).

Fecha de recepción: 05 06 2018

Fecha de aceptación: 08 08 2018

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium myrtillus* sobre el tejido pulmonar de ratones *Mus musculus* Balb/c con neumoconiosis inducida por exposición al humo de combustión de las briquetas de carbón. Se utilizó con 32 ratones macho, que fueron distribuidos al azar en cuatro grupos: Blanco, Control y Experimental I y II. La experiencia se realizó durante 120 días, donde el grupo Blanco no fue expuesto al humo por combustión de briquetas de carbón, los grupos Control y Experimental fueron expuestos al humo de las briquetas durante 6 horas al día, además los grupos Experimental I y II recibieron 250 mg/kg/día y 500 mg/kg/día v.o del extracto hidroalcohólico, respectivamente. Posteriormente se extrajo los pulmones para realizar el análisis histopatológico, en el que se evidenció daño severo en el tejido pulmonar del grupo control evidenciándose inflamación, hemorragia, congestión, infiltración leucocitaria, lo que no se observó en el grupo blanco, mientras que en los grupos experimentales se evidenció daño leve en comparación al grupo control, siendo este efecto protector más notorio a la mayor dosis. Se concluye que extracto hidroalcohólico de *Vaccinium myrtillus* presentó efecto protector sobre el tejido pulmonar de ratones expuestos al humo de briquetas de carbón.

Palabras clave: Arándanos; *Vaccinium myrtillus*; neumoconiosis; pulmón; briquetas.

ABSTRACT

The effect of the administration of the hydroalcoholic extract of *Vaccinium myrtillus* on the lung tissue of *Mus musculus* Balb/c mice with pneumoconiosis induced by exposure to the combustion smoke of the charcoal briquettes was evaluated. It was used with 32 male mice, which were randomized into four groups: Blank, Control and Experimental I and II. The experiment was carried out for 120 days, where the Blank group, was not exposed to smoke by combustion of charcoal briquettes, the Control and Experimental groups were exposed to the smoke of the briquettes for 6 hours a day, in addition Experimental groups I and II received 250 mg/kg/day and 500 mg/kg/day of the hydroalcoholic extract, respectively. Subsequently, the lungs were extracted to perform the histopathological analysis, which showed severe damage to the lung tissue of the control group, evidencing inflammation, hemorrhage, congestion, leukocyte infiltration, which was not observed in the target group, while in the experimental groups showed slight damage compared to the control group, this protective effect being more notorious at the highest dose. It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Vaccinium myrtillus* had a protective effect on the lung tissue of mice exposed to the smoke of charcoal briquettes.

Keywords: Blueberries; *Vaccinium myrtillus*; pneumoconiosis; lung; briquettes.

INTRODUCCIÓN

La exposición a sustancias químicas con capacidad de producir enfermedades respiratorias, constituye un riesgo laboral u ocupacional conocido desde los tiempos de Hipócrates (siglo V a.C.), quien inculcó a sus discípulos la necesidad de conocer realmente a sus pacientes para así poder realizar un buen diagnóstico, siempre preguntando qué trabajo estaban realizando. En el siglo XVIII, Ramazzini, describió los primeros casos de asma bronquial generados por inhalación de polvo de cereales, en personas que laboraban en molinos y limpiadores de grano, lo que generó un cambio en el diagnóstico y preventiva al incidir en la necesidad de preguntar ¿dónde trabaja usted? (Pérez y Velázquez, 2018).

Un estudio realizado en Francia demostró que exposiciones ocupacionales de baja intensidad en lugares no industriales, también son un riesgo importante para la salud respiratoria, es probable que, para países en vía en desarrollo como el nuestro, las cifras sean mucho mayores, debido a factores culturales y socioeconómicos que se relacionan a exposiciones ocupacionales y ambientales importantes (CDC, 2004).

Las neumoconiosis son un grupo de enfermedades pulmonares restrictivas causado por la inhalación crónica de polvo mineral (Thirión *et al.*, 2017).

Múltiples estudios han demostrado actividades terapéuticas del arándano, debido a que los frutos contienen una gran cantidad de compuestos fenólicos, a los que se atribuye propiedades anticancerígenas, antimutagénicas, antimicrobianas, antivirales y antiinflamatorias (Ceylan *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2013; Dasgupta y Klein, 2014).

Por ello el interés en evaluar los efectos de este fruto sobre diversas enfermedades, siendo una de ellas, los problemas respiratorios como la neumoconiosis, problema de salud que va en aumento día a día por la falta de implementos de protección en el ámbito laboral. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium myrtillus* sobre el tejido pulmonar de ratones *Mus musculus* Balb/c con neumoconiosis inducida por exposición al humo de combustión de las briquetas de carbón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materiales

32 *Mus musculus* Balb/c "ratones" machos con un peso promedio de 25-30 g, adquiridos en la Facultad de Farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

40 briquetas de carbón de piedra, procedentes del distrito de El Porvenir, Trujillo

Métodos

Preparación del extracto

Se pesó 100 g de frutos de *Vaccinium myrtillus* y se agregó 1 L de solución hidroalcohólica (agua destilada – etanol, 3:7 v/v) en un frasco de vidrio color ámbar y se dejó en agitación magnética por 72 horas. Luego se llevó a la estufa para secado a una temperatura de 40 °C por 48 horas, obteniendo el extracto seco.

Administración de tratamientos

Los ratones fueron distribuidos al azar en cuatro grupos. La administración de tratamientos se realizó durante 120 días, donde el grupo Blanco no fue expuesto al humo por combustión de briquetas de carbón, los grupos Control y experimentales fueron expuestos al humo de las briquetas durante 6 horas al día, para ello las jaulas con los especímenes se colocaron a dos metros de altura de un brasero, en el que frecuentemente hubo combustión de briquetas (Guevara *et al.*, 2014).

Los grupos Experimental I y II recibieron 250 mg/kg/día y 500 mg/kg/día v.o, respectivamente, del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium myrtillus*

Evaluación de tratamientos

Posteriormente se realizó la eutanasia de los especímenes utilizando pentobarbital sódico 100 mg/kg vía intraperitoneal y se extrajo los pulmones que fueron colocados en formol al 10% para realizar el análisis histopatológico (Guevara *et al.*, 2014).

Aspectos éticos

Los animales de experimentación fueron tratados acorde con las pautas dadas en la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (National Research Council of the Academy of Sciences, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio demostró que el extracto hidroalcohólico de arándano podría jugar un papel importante en el proceso inflamatorio inducido en un cuadro de neumoconiosis. Sin embargo, también se sabe que los sitios de inflamación presentan altas concentraciones de radicales libres y oxidantes, que juegan un papel importante en diferentes procesos de inflamación. Por lo tanto, los compuestos antioxidantes pueden ser útiles para prevenir este proceso. En este sentido, se ha descrito la actividad antioxidante de las antocianinas, que están presentes en altas concentraciones en los frutos de especies de *Vaccinium* (arándanos) como malvidina, cianidina, delphinidina, astragalina, hiperosida, isoquercitrina y quercitrina (Bell *et al.*, 2017; Blumenthal *et al.*, 2000; Moyer *et al.*, 2002; Torri *et al.*, 2007).

Los resultados obtenidos en el estudio reveló, en la evaluación histopatológica de los tejidos pulmonares, que las secciones tomadas del grupo Blanco tenían una estructura sin ningún cambio patológico, se muestran los espacios alveolares normales y engrosamiento normal de septos alveolares (Figura 1); mientras que los pulmones de las ratas expuestas al humo de las briquetas de carbón mostraron infiltración leucocitaria, con macrófagos cargados de polvo evidenciando células inflamatorias en los espacios alveolares, aumentando el grosor de los septos intraalveolares y fibrosis (Figura 2).

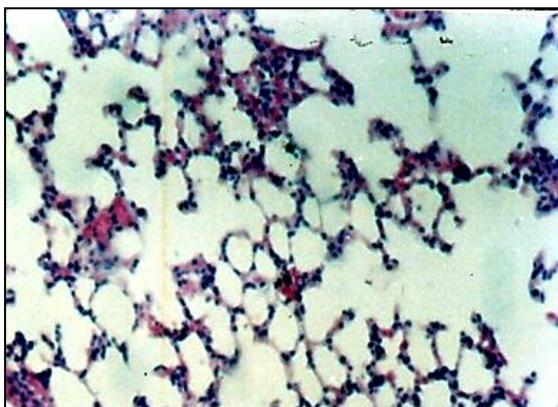


Figura 1. Tejido pulmonar del Grupo Blanco, sin neumoconiosis inducida (H&E, 100 X).

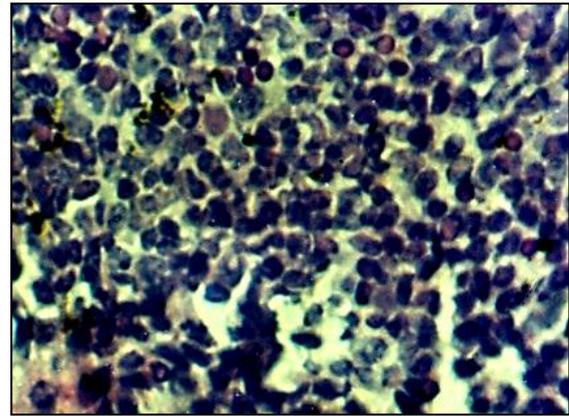


Figura 2. Tejido pulmonar del Grupo Control, con Neumoconiosis inducida por el humo de combustión de briquetas de carbón (H&E, 100 X).

Dogan *et al.* (2011) observaron en su estudio en ratones, inflamación perivascular y peribronquial, infiltración parenquimatosa y fibrosis, agregados nodulares, destrucción alveolar y cambios enfisematosos en los pulmones de ratones expuestos a biomasa. Ozbay *et al.* (2009) reportaron inflamación del parénquima, peribronquial y perivascular, fibrosis parenquimatosa y cambios premalignos en el sistema respiratorio.

Desde el punto de vista anatómico-patológico en un proceso de neumoconiosis se reportan inflamación crónica con presencia de máculas con lesiones fibróticas que contienen macrófagos cargados de polvo en el área intersticial. Las máculas se localizan en las áreas peribronquial y perivascular, se caracterizan por ser irregulares y reticuladas (Chien *et al.*, 2000; Honma *et al.*, 2004; Karakuş *et al.*, 2014)

En los grupos experimentales que recibieron 250 mg/kg/día y 500 mg/kg/día v.o, durante 120 días, del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium myrtillus* se evidenció daño leve en comparación al grupo control, siendo este efecto protector más notorio a la mayor dosis, pues el tratamiento administrado ayudó a prevenir algunos de los cambios histopatológicos inducidos por el humo de briquetas de carbón, observando menor infiltración celular y reducciones relativas en la formación de fibrosis pulmonar, característica observada en el grupo control (Figura 3 y 4).

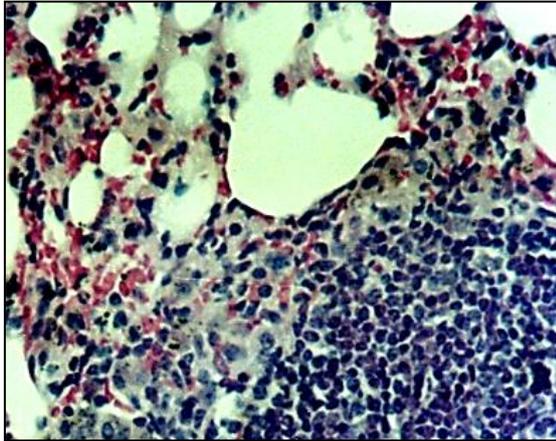


Figura 3. Tejido pulmonar del Grupo Experimental I: con Neumoconiosis inducida y *Vaccinium myrtillus* a dosis de 250 mg/kg/día (H&E, 100 X).

Diversos estudios han demostrado las potentes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de los polifenoles vegetales presentes en las frutas, y se ha sugerido que estas sustancias pueden usarse como agentes terapéuticos para las enfermedades relacionadas con la inflamación. Los arándanos son famosos por su amplia gama de beneficios para la salud, que incluyen la mejora de la diabetes, la atenuación de los problemas vasculares, el mantenimiento de la función endotelial y la prevención de enfermedades inflamatorias (Di Carlo *et al.*; 1999; Johnson *et al.*, 2015; Binte *et al.*, 2014)

Dehong *et al.* (2014) investigó la influencia de los extractos enriquecidos con antocianinas de arándano (BAE) en dosis de 20 and 80 mg/kg/d sobre el daño pulmonar inducido por la ciclofosfamida. Los resultados mostraron que el tratamiento con ciclofosfamida induce una lesión pulmonar patológica obvia, y la mejora de estos parámetros se exhibió en grupos BAE, con una manera dependiente de la dosis. Así también, atribuye que las características antioxidantes y antiinflamatorias están involucradas en el mecanismo de protección de las antocianinas del arándano.

CONCLUSIONES

Se concluye que extracto hidroalcohólico de *Vaccinium myrtillus* presentó efecto protector sobre el tejido pulmonar de ratones expuestos al humo de briquetas de carbón.

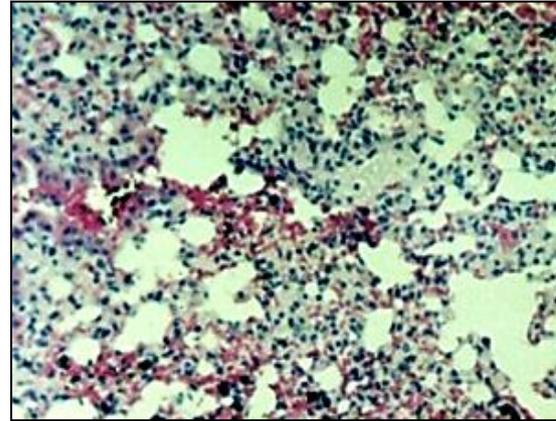


Figura 4. Tejido pulmonar del Grupo Experimental II: con Neumoconiosis inducida y *Vaccinium myrtillus* a dosis de 500 mg/kg/día (H&E, 100 X).

Se recomienda realizar estudios adicionales, en el aislamiento e identificación de los compuestos activos y la comprobación de otras actividades biológicas del arándano, para así promover el consumo masivo de este fruto por la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bell, D.; Lamport, L.; Butler, T; Williams, M. 2017. A study of glycemic effects following acute anthocyanin-rich blueberry supplementation in healthy young adults. *Food & Function* 8(9): 3104-3110.
- Binte, N.; Trishna, S.; Michael, Y.; Hasnat A. 2014. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of Korean blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts. *Asian Pac J Trop Biomed* 4(10): 807-815
- Blumenthal, M.; Goldberg, A.; Brinckmann, J. 2000 *Herbal Medicine - expanded commission E monographs*. 1st edn, American Botanical Council, Newton, MA, USA, p. 519.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2004. Changing patterns of pneumoconiosis mortality—United States, 1968-2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 53(28): 627-32.
- Ceylan, S.; Saral, Ö.; Özcan, M.; Harşit B. 2017. Yaban mersininin (*Vaccinium myrtillus* L.) farklı çözücü ekstraktlarındaki antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Artvin Coruh University* 18(1): 21-27.
- Chien, H.; Lin, T.; Chen, H.; Huang, T. 2000. Right middle lobe atelectasis associated with endobronchial silicotic lesions. *Arch Pathol Lab Med* 124: 1619-1622.
- Dasgupta, A.; Klein K. 2014. Fruits, vegetables, and nuts: good sources of antioxidants. En: Klein AD, editor. *Antioxidants in food, vitamins and supplements*. Estados Unidos. p 209-235.
- Dehong, T.; Yunen, L.; Lin, Shi.; Bin, L.; Ling, L.; Bing, B.; Xianjun, M. *et al.* 2014. Blueberry anthocyanin-enriched extracts attenuate the cyclophos-

- phamide induced lung toxicity. *Chemico-Biological Interactions* 222: 106–111.
- Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A.A.; Capasso, F. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65: 337–353.
- Dogan, O.; Elagoz, S.; Ozsahin, S. 2011. Pulmonary toxicity of chronic exposure to tobacco and biomass smoke in rats. *Clinics. Brasil* 66: 1081-1087.
- Guevara, A.; Vásquez, L.; Cusma, K.; Fajardo, K.; García, F.; Fernandez, E. 2014. Efecto de la vitamina E sobre el parénquima pulmonar de ratas albinas con neumoconiosis inducida. *Pharmaciencia* 2(2): 64-71.
- Honma, K.; Abraham, J.; Chiyotani, K. 2004. Proposed criteria for mixed-dust pneumoconiosis: definition, descriptions, and guidelines for pathologic diagnosis and clinical correlation. *Hum Pathol* 35: 1515-1523.
- Johnson, S.; Figueroa, A.; Navaei, N. 2015. Daily blueberry consumption improves blood pressure and arterial stiffness in postmenopausal women with pre- and stage 1-hypertension: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 115(3): 369–377.
- Karakuş, E.; Pınar, E.; Akyürek, N.; Memiş, L. 2014. Histopathological Changes in Lungs Associated with Long-Term Exposure to Biomass: A Case Report. *Turk Toraks Derg* 15: 36-38.
- Moyer, R.; Hummer, K.; Finn, C.; Frei, B.; Rolstad, R. 2002. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *J. Agric. Food. Chem.* 50: 519–525
- National Research Council of the Academy of Sciences. 2011. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th edition. USA: p. 162-165.
- Ozbay, B.; Yener, Z.; Acar, S.; Kanter, M. 2009. Histopathological changes in the lung of rat following long-term exposure to biomass smoke. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 29: 877-883.
- Pérez, G.; Velázquez R. 2018. Caracterización epidemiológica de las enfermedades bronco pulmonares ocupacionales diagnosticadas en el Municipio de Moa. 2012 – 2016. Convención Internacional de Salud, Cuba Salud 2018. Disponible en: <http://convencionsalud2018.sld.cu/index.php/convencionsalud/2018/paper/viewFile/1945/785>
- Silva, S.; Costa, E.; Pereira, M.; Costa, M.; Pintado. 2013. Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from dry *Vaccinium corymbosum* extracts upon food microorganism. *Food Control* 34: 645-650.
- Thiri6n, I.; Gochicoa, L.; Torre, L. 2017. Neumología ocupacional y ambiental. Temas necesarios en la formaci6n del especialista en Medicina Respiratoria. *Neumología y Cirugía de T6rax* 76(4): 295-297.
- Torri, E.; Marivane, L.; Vin6cius, C.; C6ndida, A.; Kassuya, J.; Andrade, S. 2007. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of blueberry extract (*Vaccinium corymbosum*). *JPP* 59: 591–596.