

HISTOLOGÍA DEL HÍGADO DE RATAS TRATADAS CON UNA INFUSIÓN DE HOJAS DE HIGUERA (*Ficus carica*). REPORTE DE CASO

*Histology of Rat Livers Treated whit a Leaf Infusion of Fig Plant (*Ficus carica*). Case report*

Sonia Alvarado-Rico^{*.1} y Ligia Castro^{**}

**Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Estado Aragua, Venezuela. Apartado 4563. **Departamento de Ginecología y Obstetricia. Hospital Central de Maracay. Universidad de Carabobo. Sede Aragua. Estado Aragua Venezuela*

Correo-E: alvaradorico8@gmail.com

Recibido:17/03/10 - Aprobado: 27/01/11

RESUMEN

El hígado es el principal órgano involucrado en los procesos de detoxificación y biotransformación de fármacos y sustancias tóxicas, siendo susceptible a sufrir lesiones por estas sustancias. Las plantas medicinales han sido utilizadas como agentes curativos sin considerar sus efectos secundarios, los que pudiesen ser deletéreos a la salud del individuo. Las plantas medicinales han sido utilizadas entre otras, a través de infusiones, destacándose el uso de la infusión de hojas de *Ficus carica*, (higuera) para mujeres embarazadas. Este último uso se hace de manera empírica por tradición, con la finalidad de mejorar el trabajo de parto. El objetivo de este trabajo fue describir la histología del hígado proveniente de ratas sometidas al consumo de una infusión de hojas de *Ficus carica*. Se utilizaron 20 ratas hembras Sprague-Dawley entre 320-350 g divididas al azar en dos grupos de 10 ratas cada uno. El Grupo I (G I) correspondió al grupo control y el Grupo II (G II) constituido por las ratas sometidas al consumo de la infusión de hojas de *Ficus carica*, *per os*, durante siete días consecutivos. En el grupo experimental se observó una moderada congestión hepática y colapso de los sinusoides en

ABSTRACT

The liver is the major organ involved in the processes of detoxification and biotransformation of drugs and toxic substances, which can cause serious lesions. Medicinal plants have long been used as curative agents without taking into consideration their side effects to the individual. For example, infusions of *Ficus carica* leaves have been traditionally taken by pregnant women in an empirical way. This investigation described those liver histology of rats subjected to the ingestion of an infusion of *Ficus carica* leaves. A total of twenty female Sprague-Dawley (320-350 g) rats was allotted into two groups: group I or control (G I): 10 rats which received tap water for 7 d; Group II (experimental group): 10 rats which received an infusion of *Ficus carica* leaves for 7 d. The results showed a moderate liver congestion and collapsed hepatic sinuses in three zones of the hepatic lobule in GII. Also, cellular hyperplasia was evident ($P \leq 0.05$) in rats from the same group. The intracytoplasmic glycogen was qualitatively lesser than in GII compared to GI. Collagen and reticular fibers kept their normal distribution pattern. Although research on the possible toxic effects of

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

las tres zonas del lobulillo hepático. La hiperplasia celular resultó significativamente mayor ($P \leq 0,05$) en las ratas del G II. El glucógeno intracitoplasmático, resultó cualitativamente menor en el G II con respecto al G I. Las fibras colágenas y reticulares mantuvieron su patrón de distribución normal. Igualmente, el contenido de grasa, se mantuvo dentro de lo normal. Aun cuando los estudios sobre los posibles efectos tóxicos de la planta de *Ficus carica* son escasos en nuestra región, se precisa advertir a los profesionales de la salud del posible impacto que podría ocasionar en las mujeres embarazadas y sus neonatos.

(Palabras clave: Histología animal, Hígado, Rata, Hembras, Infusión, *Ficus carica*, Lesiones)

INTRODUCCIÓN

El hígado es el órgano responsable del mantenimiento de la homeostasis metabólica, participa en la biotransformación de metabolitos circulantes y en la detoxificación y excreción de productos de desechos endógenos y sustancias biológicas extrañas contaminantes. Es susceptible de lesiones potenciales por sustancias farmacéuticas y químicas ambientales, pudiendo muchas de estas sustancias provocar hepatotoxicidad (Cotran *et al.*, 2000; Espinoza *et al.*, 2002; Senties-Gómez *et al.*, 2005). Este órgano presenta una irrigación especial, recibe sangre arterial y venosa. A través de la vena porta ingresa sangre venosa desde el tracto gastrointestinal, el bazo y el páncreas, conteniendo la mayor parte de sustancias que han sido absorbidas por el intestino. Dichas sustancias son incorporadas al hepatocito donde intervienen en procesos de biotransformación. (Carballo *et al.*, 2005; Ross y Pawlina, 2007; Troncoso y Guija, 2007). Ante lesiones potenciales a las cuales el hígado está sometido, los hepatocitos cuentan con mecanismos eficientes para enfrentar las modificaciones de las condiciones de su entorno. Para mantener la homeostasis, el hígado responde, bien sea aumentando su tamaño (hipertrofia) o incrementando el número de células, a través de la división celular (hiperplasia), como respuesta adaptativa al estrés (Rubin y Faber, 1992; Cotran *et al.*, 1995; Cotran *et al.*, 2000).

Tradicionalmente, las plantas medicinales han

Ficus carica is scarce in our region, it is mandatory to warn health professionals about the possible impact this plant could have on both pregnant women and their newborns.

(Key words: Animal histology, Liver, Rats, Females, Infusion, *Ficus carica*, Lesions)

sido utilizadas de manera indiscriminada como agentes curativos. En el caso particular de *Ficus carica* conocida como la planta de higo (Martínez, 2007), sus hojas en forma de infusión han sido empleadas por mujeres embarazadas a fin de preparar los tejidos para el parto, con la creencia de que estos tejidos se reponen más rápidamente después del mismo. En el Servicio de Obstetricia y Pediatría del Hospital Central de Maracay (HCM), hemos observado a través de reportes de pacientes, complicaciones durante el parto y signos de depresión neonatal en mujeres embarazadas y sus progenies (datos no publicados), relacionados con el consumo de la infusión de hojas de *Ficus carica*, con la finalidad de mejorar el trabajo de parto. Macía *et al.* (2005) reportaron el uso de las hojas de *Ficus carica* como inductor del aborto y retraso de la menstruación; Firenzouli y Gori (2007) alertan sobre el uso indiscriminado de hierbas y medicinas “naturales” en cualquier etapa del embarazo ya que se desconoce sobre los efectos perjudiciales que pudieran producirse durante el mismo. El objetivo de esta investigación consistió en describir la histología del hígado de ratas tratadas con una infusión de hojas de higuera (*Ficus carica*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los animales utilizados en este experimento, fueron tratados respetando las normas éticas que rigen el empleo de animales de investigación (AVECAL,

2008). Se utilizaron 20 ratas hembras Sprague-Dowley, adultas de 3 meses de edad, con pesos comprendidos entre 320 y 350 g, provenientes del Bioterio de la Universidad de Carabobo. Los animales fueron divididos al azar en dos grupos conformados por 10 ratas cada uno: Grupo Control (G I) y Grupo Experimental (G II). Todos los animales se mantuvieron en condiciones de laboratorio y se les suministró alimento comercial granulado (Protinal®). Las ratas del GI ingirieron agua corriente por siete días. Mientras a las ratas del GII se sometieron al consumo de la infusión de hojas de *Ficus carica* durante siete días sucesivos. La infusión se obtuvo a partir de cinco hojas verdes y frescas de *Ficus carica*, con un peso total de 27 g (ésta corresponde a la cantidad que consume una mujer embarazada con un peso promedio de 80 kg) en 800 mL de agua sometida a temperatura de ebullición durante cinco min. Se incorporaron los 27 g de hojas de *Ficus carica*, posteriormente se dejó reposar durante 20 min hasta alcanzar la temperatura ambiente. Del preparado obtenido, se les proveyó diariamente vía *per os* 3,5 mL (cuya concentración fue de 1,108 g/mL), se incorporaron a 66,5 mL de agua en un dispensador (conteniendo un volumen total de 70 mL) que correspondía a la cantidad de líquido diaria que tomaban las ratas, previo estudio.

Al término del período experimental, las ratas previo ayuno de 14 h, fueron anestesiadas con tiopental sódico a una dosis de 30 mg/kg, vía intraperitoneal. Una vez alcanzado el estado de anestesia quirúrgica, se abordó la pared abdominal. Se tomaron muestras de hígado y posteriormente los animales fueron sacrificados con una sobredosis del mismo anestésico. Las muestras de hígado de 2 cm², fueron fijadas en formol al 10% a un pH de 7,1. Luego, fueron procesadas mediante la Técnica de Inclusión en Parafina (Prophet *et al.*, 1995). Se realizaron cortes de 5μm (en micrótopo marca JUNG), se tiñeron con la coloración de rutina Hematoxilina-Eosina. Para evidenciar fibras colágenas y reticulares, otra serie de cortes fueron teñidos con la tinción de tricrómico de Gallegos y tinción de plata, respectivamente. Se utilizó la coloración de PAS para evidenciar la presencia de glucógeno. Asimismo, se tomaron muestras para cortes por congelación en Criostato Leica modelo CM1510-3 y tinción especial de aceite rojo O, para

visualizar lípidos. Todos los cortes fueron estudiados y fotografiados con un fotomicroscopio Nikon Eclipse E400.

La observación de las muestras de hígado, controles y tratadas, permitió evaluar la congestión hepática en forma cualitativa. Para evaluar la hiperplasia celular, se realizó el conteo de hepatocitos binucleados en 10 campos consecutivos en los extendidos de las muestras de hígado de todos los individuos de ambos grupos en estudio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para confirmar si existían diferencias estadísticamente significativas con respecto a la hiperplasia celular entre los grupos de este ensayo, se aplicó una prueba de “t” de Student para datos no pareados (Murray, 2000; Hernández, 2006). Los resultados fueron considerados significativos a un valor ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS

En el estudio histológico del hígado de las ratas pertenecientes al GI se observó, que las estructuras lobulillares, trabeculares y portales no presentaron alteraciones aparentes. En contraste, los hígados provenientes del GII, mostraron una congestión vascular moderada con sinusoides hepáticos colapsados en las zonas periportal, intermedia y perivenosa, lo cual se observa como áreas muy densas uniformemente en el campo.

Los hepatocitos de las ratas control mostraron aspecto normal con núcleos eucromáticos, citoplasma basófilo, se observaron sinusoides hepáticos normales (Figura 1a), no se observaron células necróticas, ni áreas de inflamación en ninguna de las tres zonas del lobulillo hepático. Igualmente, para los hepatocitos del GII. A nivel de la vena centrolobulillar y arteria portal, se evidencia congestión (Figura 1b). En el GI se destacan los espacios sinusoides y hepatocitos eucromáticos con citoplasma basófilo y vacuolado y la presencia de las células de Kupffer en los sinusoides hepáticos (Figura 1c). En el GII, se observaron espacios sinusoidales estrechos (Figura 1d). Presencia de células binucleadas en el GII, (Figura 2a y Figura 2b). En promedio se observaron 27,4 células binucleadas para el GI y 57,8 células binucleadas para el GII. Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) en cuanto

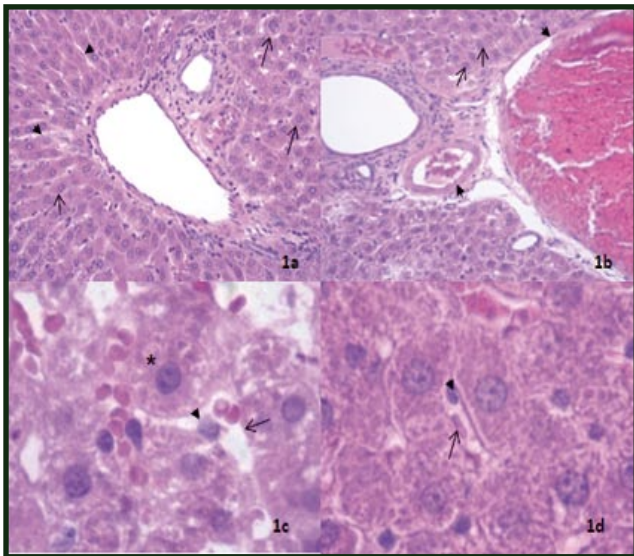


Figura 1. Micrografía del hígado de rata Sprague-Dawley. Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E). 1a Hígado del Grupo control (GI), Los hepatocitos mostraron aspecto normal con núcleos eucromáticos y citoplasma basófilo (flecha), se observan sinusoides hepáticos (puntas de flecha). 1b Los hepatocitos de las ratas del Grupo experimental (GII), mostraron aspecto normal con núcleos eucromáticos y citoplasma basófilo (flecha), congestión en la vena centrolobulillar y arteria portal (puntas de flechas), aumento 20X. 1c En el grupo GI, se destacan los espacios sinusoides (flecha), células de Kupffer (punta de flecha) y hepatocito con núcleo eucromático con citoplasma basófilo y vacuolado (*). 1d En el hígado de ratas del GII, se observan: espacio sinusoidal estrecho (flecha), célula de Kupffer (punta de flecha) Aumento 100X.

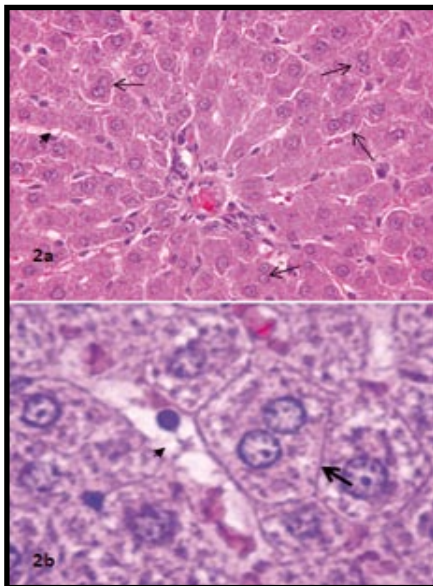


Figura 2. Micrografía del hígado, coloración Hematoxilina. 2a. Hígado del GII, células binucleadas (flecha), sinusoides hepático (punta de flecha) 40X. 2b. Hígado del GII, célula binucleada (flecha), sinusoides hepático (punta de flecha) 100X.

al incremento de la división celular entre el Grupo II y Grupo I.

La distribución de las fibras colágenas en las muestras teñidas con tricrómico de Gallegos, se mantuvo dentro de su patrón de disposición normal en el parénquima hepático en ambos grupos. Las fibras colágenas del espacio porta, demuestran una delimitación neta entre el espacio y los hepatocitos de la placa limitante periportal, en la trama reticular del hígado con tinción de plata, se observan las fibrillas en forma paralela y regular en correspondencia con las trabéculas hepáticas, en ambos grupos (Tabla 1). El citoplasma de los hepatocitos reaccionó positivamente a la coloración especial de PAS y se evidenció una disminución cualitativa del glucógeno en los hepatocitos de las ratas del GII. Se observaron vacuolas lipídicas intracitoplasmáticas cuya distribución cualitativa no exhibió diferencias entre ambos grupos utilizando la tinción especial de aceite rojo O (Tabla 1).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los hallazgos encontrados no permiten inferir que la infusión de hojas de *Ficus carica* haya provocado la moderada congestión y el colapso de los sinusoides en el parénquima hepático, además estos aspectos no son considerados como lesiones histológicas. Con relación a la hiperplasia celular observada resultó significativamente mayor ($P \leq 0,05$) en el Grupo II; sin embargo, Percy y Barthold (1993) reportaron que la tasa de división de los hepatocitos en los roedores es alta.

En todos los casos estudiados se observó la distribución normal del estroma hepático, las coloraciones especiales evidenciaron la disposición normal de las fibras colágenas y reticulares. La presencia de vacuolas lipídicas intracitoplasmáticas no evidenció diferencias entre ambos grupos. En cuanto al contenido de glucógeno, se observó una disminución cualitativa en el grupo tratado; sin embargo, esta condición no permite concluir que fue provocado por la infusión de *Ficus carica*. Este estudio histológico no mostró importantes cambios, en tal sentido se sugiere plantear varios esquemas de tratamiento con tiempo de administración diferente e igualmente aumentar el número de individuos en los grupos experimentales para futuras investigaciones.

Se requiere de nuevos estudios para establecer si

Tabla 1. Comparación entre el GI y GII en relación a los resultados de las observaciones histológicas con las diferentes coloraciones especiales: Tricrómico de Gallegos, Tinción de Plata, Reacción de Pas y Aceite Rojo O

Grupos	Tricrómico de Gallegos	Tinción de Plata	Reacción de PAS	Aceite Rojo O
GI	+++	+++	+++	+++
GII	+++	+++	+	+++

(+++)= Disposición normal de las fibras colágenas y reticulares, contenido normal de vacuolas lipídicas y glucógeno intracitoplasmático. (+) = Disminución cualitativa del glucógeno intracitoplasmático

los aspectos mencionados anteriormente observados en el hígado dentro del modelo de la rata son provocados por la infusión, por lo cual se recomienda profundizar las investigaciones relacionadas con la planta de *Ficus carica*.

REFERENCIAS

- AVECAL. 2008. Manual para la producción y uso ético de los animales de laboratorio. Gobierno Bolivariano de Venezuela. Ministerio de Poder Popular para la Ciencia y Tecnología. 93 p.
- Carballo, M.; Cortada, C.; Ganado, A. 2005. Riesgos y beneficios de las Plantas Medicinales. *Theoria*, 14:95-108.
- Cotran, R., Kurman, V., Robbins, S. 1995. Patología estructural y funcional. 5^{ta} Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana Madrid. 1533 p.
- Cotran, R.; Kurman, V.; Collins, T. 2000. Patología estructural y funcional. 6^{ta} Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana, Madrid. 1475 p.
- Espinoza O.; Bustos-Obregón E.; Suja J. A. 2002. Efecto del parathion sobre el índice de apoptosis en hepatocitos de ratones CF1. *Rev. Chil. Anat.*, 20:29-36.
- Firenzouli, F.; Gori, L. 2007. Evidence-based complementary and alternative medicine e CAM. En: *European Traditional Medicine International Congress Introductory Statement*. 4 (Suppl. 1) :3-4.
- Hernández, R. 2006. Metodología de la Investigación. McGraw Hill, México. 471 p.
- Macía, M.; García, E.; Vidaurre, P. 2005. An ethnobotanical survey of medicinal plants commercialized in the markets of La Paz and El Alto, Bolivia. *J. Ethnopharmacology*, 97:337-350.
- Martínez, V. El mundo de las plantas. 2007. Dirección URL: <http://www.botanical-online.com> [Consulta 27 Ene 2008].
- Murray, S. 2000. Estadística 2^{da} Edición. Ed. McGraw-Hill, Inc. Madrid. 556 p.
- Percy, D.H.; Barthold, S. 1993. Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits. Blackwell Publishing. 229 p.
- Prophet, E. B.; Milis, B.; Arrington, J B.; Sobín, L M. 1995. Manual de Métodos Histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. Traducción de la 5^{ta} Edición Inglesa. Washington. 400 p.
- Ross, M.; Pawlina, W. 2007. Histología. 5^{ta} Ed. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 974 p.
- Rubin, E.; Faber, J. 1992. Patología-fundamentos. Editorial Médica Panamericana. Mexico. 752 p.
- Sentíes-Gómez, M.D.; Gálvez-Gastélum, F.J.; Meza-García, E.; Armendáriz Borumda, J. 2005. Fibrosis hepática: El papel de las metaloproteínas y de TGF- β . *Gac. Med. Mex.*, 141:315-322.
- Troncoso, L.; Guija, E. 2007. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *An. Fac. Med. Lima*, 68:333-343.