

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"

## HEMATOPOYESIS HEPÁTICA EN EL RATÓN SOMETIDO A MIELOSUPRESIÓN POR QUIMIOTERAPIA Y TRATADO CON *ALOE BARBADENSIS* MILLER

Lic. José de la Paz Naranjo,<sup>1</sup> Dra. María del Carmen Sotolongo Baró,<sup>2</sup> Téc. María Elena Perdomo Paiba<sup>3</sup> y Téc. Odalys Matos Reyes<sup>3</sup>

### RESUMEN

Ciento sesenta ratones Balb/c hembras con 18 g de peso sometidos a mielosupresión con ciclofosfamida fueron distribuidos de forma aleatoria en 4 grupos experimentales. A las 24 h del tratamiento quimioterapéutico, 3 de estos grupos recibieron Aloe b en dosis de 0,03, 0,10 y 0,18 mg/kg de peso respectivamente, una vez al día y durante 7 días. El 4to. grupo recibió solución de cloruro de sodio al 0,9 % con la misma frecuencia. Ocho animales de cada grupo se sacrificaron por dislocación cervical los días 2, 4, 7, 9 y 14 de comenzado los tratamientos, con el objetivo de definir la presencia o ausencia de hematopoyesis hepática. Los resultados de los exámenes histológicos de los animales que recibieron el Aloe b fueron comparados estadísticamente con los del grupo que recibió la solución de cloruro de sodio al 0,9 % (control). Solo se encontró focos de actividad proliferativa en los animales tratados con la máxima dosis de Aloe b empleada. Los resultados demuestran que el extracto acuoso inyectable Aloe b administrado una vez al día y durante 7 días en ratones con supresión medular por quimioterapia estimula la hematopoyesis hepática.

*DeCS:* ALOE/uso terapéutico; HEMATOPOYESIS/efectos de drogas; HIGADO/efectos de drogas; PLANTAS MEDICINALES; MEDICINA HERVARIA; CICLOFOSFAMIDA/uso terapéutico; RATONES CONSANGUINEOS BALB C.

La hematopoyesis es un proceso dinámico de división, diferenciación y maduración de la célula madre pluripotencial, cuya progenie es capaz de seguir varias líneas de diferenciación, a medida que va perdiendo su capacidad de división. Este proceso que ocurre en la médula ósea du-

rante toda la vida del individuo, fundamentalmente a causa del ciclo vital relativamente corto de las células sanguíneas maduras, se encuentra finamente regulado por mecanismos homeostáticos complejos. Además debe responder tanto a las demandas basales como a las emergentes, con la

---

<sup>1</sup> Licenciado en Bioquímica. Investigador Agregado.

<sup>2</sup> Especialista de I Grado en Anatomía Patológica. Investigador Agregado.

<sup>3</sup> Técnico en Anatomía Patológica.

producción si fuese necesario de nuevas células en los órganos hematopoyéticos que cumplieron esta función en la vida fetal (hígado y bazo).<sup>1-4</sup>

La supresión medular posquimioterapia se encuentra entre las situaciones emergentes aludidas; células pluripotenciales de la médula ósea al igual que las células tumorales, se encuentran en mitosis activa y en consecuencia son vulnerables a la acción de esta terapia, que actúa fundamentalmente sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN), debido en gran parte al papel central y único en la economía celular que tiene esta macromolécula.<sup>5, 6</sup>

Es por la razón expuesta que se desea definir la presencia o ausencia de hematopoyesis hepática bajo influencia del Aloe b en ratones sometidos a supresión medular por ciclofosfamida, sobre la base de estudios anteriores que han demostrado acción positiva del *Aloe barbadensis* Miller (sábila) en la proliferación y diferenciación celular.<sup>7-10</sup>

## MÉTODOS

El extracto acuoso inyectable Aloe b fue elaborado por la Industria Médico Farmacéutica cubana a partir de hojas de *Aloe barbadensis* Miller.

Se utilizó en todo el experimento ratones hembras Balb/c de 18 g de peso, procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALB). Los animales se mantuvieron en una habitación del vivario del Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto", con temperatura controlada y régimen luz-oscuridad natural.

La dieta consistió en ratotina y el agua se suministró a libre demanda.

El día de inicio del experimento, los animales fueron inyectados por vía intra-

peritoneal con una dosis subletal de ciclofosfamida (Genoxal, Laboratorios Funk, Barcelona) de 200 mg/kg de peso corporal en agua para inyección libre de pirógeno (IMEFA, Cuba).<sup>1</sup> Transcurridas 24 h, los ratones fueron distribuidos al azar mediante tabla de números aleatorios en 4 grupos experimentales y se comenzó en este primer día el tratamiento, durante 7 días con una inyección intramuscular en volumen de 0,1 mL diaria.

El tratamiento asignado por grupo fue el siguiente:

- Grupo 1: solución de cloruro de sodio 0,9 %.
- Grupo 2: extracto inyectable de Aloe b 0,03 mg/kg.
- Grupo 3: extracto inyectable de Aloe b 0,10 mg/kg.
- Grupo 4: extracto inyectable de Aloe b 0,18 mg/kg.

El estudio fue realizado en 2 tiempos y cada grupo en cada período estaba compuesto por 20 animales distribuidos en subgrupos de 4 especímenes según el día del sacrificio (2, 4, 7, 9 y 14) y de comenzado el tratamiento con Aloe b o solución de cloruro de sodio al 0,9 %, lo que representó un total de 40 ratones por grupo de estudio.

Inmediatamente después del sacrificio por dislocación cervical, fue disecado el hígado de todos los animales y fijado en una solución neutra de formaldehído al 10 %, fosfato de sodio monobásico 4,00 g/L y fosfato de sodio dibásico anhídrido 6,50 g/L. Luego, las piezas fueron deshidratadas y embebidas en parafina en un procesador de tejidos (Histokinette). Los cortes histológicos fueron realizados con un microtomo (Leitz) a 5  $\mu$  y coloreados con hematoxilina-eosina, después de ser montados en portaobjetos. Las observaciones se realizaron

en un microscopio (Carl Zeiss) con aumento 40 X, con la intención de localizar focos de hematopoyesis.

Para comparar los resultados entre grupos en cuanto a la presencia o ausencia de hematopoyesis fue aplicada la prueba chi cuadrado, con un nivel de significación menor o igual que 0,05. El programa estadístico utilizado fue el PRIMERLZ.

## RESULTADOS

En ninguno de los hígados de los ratones de los grupos 1, 2 y 3 se encontró focos de hematopoyesis, no así en los del grupo 4 con máxima dosis de Aloe los días 9 (37,5 %) y 14 (50,0 %), lo que resultó significativo al realizar las comparaciones estadísticas.

## DISCUSIÓN

Aún en vida intrauterina y una vez establecida la médula ósea como órgano hematopoyético, las células hepáticas van

perdiendo su habilidad de brindar un microambiente adecuado para la expansión de células hematopoyéticas. Sin embargo, en el adulto en determinadas situaciones como ya se ha referido este proceso puede ocurrir. Esto se debe en parte a un tipo de célula endotelial localizada en los sinusoides hepáticos y que en el ratón se conocen como LEC-1, que además secretan al medio algunas citocinas que junto a las producidas por las células del sistema inmune son indispensables para que este proceso ocurra.

El hecho de que en algunos de los hígados de los animales que recibieron Aloe b se encontraran focos de hematopoyesis puede deberse a las acciones reconocidas del *Aloe barbadensis* Miller sobre el sistema inmune, específicamente aumentando la proliferación de linfocitos y algunas de las citocinas que estos producen, entre las que se destacan la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interferón gamma (IF- $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), moléculas estas que además están comprometidas en la proliferación de las LEC-1.<sup>12-17</sup>

## SUMMARY

160 inbred Balb/c female mice with 18 g of weight were subjected to myelosuppression with cyclophosphamide and were distributed at random into 4 experimental groups. 24 hours after receiving drug therapy, 3 of these groups were administered Aloe b at doses of 0.03, 0.10 and 0.18 mg/kg of weight, respectively, once a day during 7 days. The 4th group received sodium chloride solution 0.9 % with the same frequency. 8 animals of each group were sacrificed by cervical dislocation on the 2nd, 4th, 7th, 9th and 14th day of treatment in order to define the presence or not of hepatic hematopoiesis. The results of the histological tests of the animals that received Aloe b were statistically compared with those of the group that received sodium chloride solution 0.9 % (control). Foci of proliferative activity were only found in the animals treated with the highest dose of Aloe b used. The results showed that the Aloe b injectable aqueous extract administered once a day and for 7 days in mice with medullary suppression by drug therapy stimulates hepatic hematopoiesis.

*Subject headings:* ALOE/therapeutic use; HEMATOPOIESIS/drug effects; LIVER/drug effects; PLANTS, MEDICINAL; MEDICINE, HERBAL; CYCLOPHOSPHAMIDE/therapeutic use; MICE, INBRED BALB C.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Corral M, Moraleda JM. Hematopoyesis. Hematías estructura y función. En: Moraleda JM, ed. Hematología. Madrid: LUZAN, 1990:1-14.
2. Aguilo M, Tatay JA. Hematología. Valencia: ECIR, 1998:1-12.
3. Cortran RS, Kumar V, Collins L. Patología estructural y funcional de Robbins. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana, 1999:632.
4. De Vita Hellman S, Rosenberg S. Cancer. En: Principles and Practice of Oncology. 4 ed. Philadelphia: JB Lippencott, 1993:276-92.
5. Kaplan H. Biología de neoplasia. En: Smith LLH, Thier S, ed. Fisiopatología. Principios básicos de la enfermedad. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1986:218-63.
6. Paz Naranjo J de la, Sotolongo Baró MC, Céspedes Valcárcel A, Curt Hernández M, Miranda Flores R, Perdomo Paiba ME. Extracto de Aloe b inyectable en la atenuación de la mielosupresión por ciclofosfamida en ratones. Rev Cubana Plant Med 1997;2(2-3):35-9.
7. González Quevedo Rodríguez M, Abín Montalván G, Merino García N, Paz Naranjo J de la, Alonso González M. Efecto del *Aloe barbadensis* en la involución tímica del ratón Balb/c. Rev Cubana de Med Milit 1999;28(2): 89-92.
8. Egger SF, Brown GS, Keisey LS, Yates KM, Rosenberg LJ, Talmadge JE. Hematopoietic augmentation by b - (1,4) - linked mannan. Cancer Immunol Immunother 1996;43(1):195-205.
9. Egger SF, Brown GS, Keisey LS, Yates KM, Rosenberg LJ, Talmadge JE. Studies on optimal dose and administration schedule of a hematopoietic stimulatory b- (1,4) - linked mannan. Int J Immunopharmacol 1996;18(2):113-26.
10. Gamba-Vitalo CH, DiGiovanna M, Santirelli A. Effects of recombinant murine granulocyte -macrophage colony-stimulating factor in cyclophosphamide- treated mice. Blood Cells 1991;17(1):193-205.
11. Miyajima UN, Kinoshita T, Tanaka M, Kamiya UN, Mukoyama Y, Hara T. Papel de la Oncostatina M en la hematopoyesis y el desarrollo del hígado. Cytokine Growth Factor Rev 2000;11(3):177-83.
12. Cardle JE, Barbera-Guillem E, Arthur G. Extramedullary hematopoiesis in the adult mouse liver is associated with specific hepatic sinusoidal endothelial cells. Hepatology 1997;26(1):165-75.
13. Crosbie OM, Renolds M, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, O'Farrelly C. *In vitro* evidence for the presence of hematopoietic stem cells in the adult human liver. Hepatology 1999;29(4):1193-8.
14. Cardle JE. Effects of megakaryocyte growth and development factor (/thrombopoietin) on liver endothelial cells *in vitro*. Microvasc Res 1999;58(2):108-13.
15. Cardle JE. Thrombopoietin and its receptor, C-mpl, are constitutively expressed by mouse liver endothelial cells: evidence of thrombopoietin as a growth factor for liver endothelial cells. Blood 1998;91(3):923-9.
16. Zhang L. Activation of mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. Immunopharmacology 1996;35(2):119-28.
17. Bill H. Use of aloe products in the prevention and treatment of infections and infestation. Carrington Laboratories, Inc Irving. Tex. US. Patente No. 5441941, 1997 Dec 30.

Recibido: 22 de febrero del 2001. Aprobado: 27 de marzo del 2001.

Lic. *José de la Paz Naranjo*. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Avenida Monumental, Habana del Este, CP 11700, Ciudad de La Habana, Cuba.