

Evaluación de la Toxicidad

Las cumarinas y sus análogos son una clase importante de compuestos de origen natural y sintético. Estos compuestos pertenecen a la familia de las lactonas y están compuestos por un benceno condensado en un anillo de α -pirona. En los últimos años, el anillo de cumarina se ha utilizado como farmacóforo que según sus sustituciones químicas ha dado a lugar a un número importante de nuevos candidatos a fármacos con diferentes actividades farmacológicas como antibacteriano, antiviral, anticancerígeno, anticoagulante, antiinflamatorio, antioxidante y analgésico. El uso de la cumarina como aditivo alimentario fue prohibido por la FDA en 1954 en base a los informes de hepatotoxicidad en ratas. Sin embargo; estudios de toxicidad en ratones, perros, primates y humanos han revelado diferencias significativas de especies en el metabolismo y la toxicidad de la cumarina, de modo que ahora se comprende mejor el mecanismo de los efectos inducidos por la cumarina en los roedores, y la relevancia de estos hallazgos para la evaluación de la seguridad de la exposición a la cumarina en humanos.

El mecanismo de toxicidad está relacionado con el metabolismo de la cumarina. En el humano, la 7-hidroxilación es la principal vía metabólica de la cumarina mientras que en ratones la principal vía metabólica principal es la formación de conjugados de glucurónido y glutatión (Fig 1).

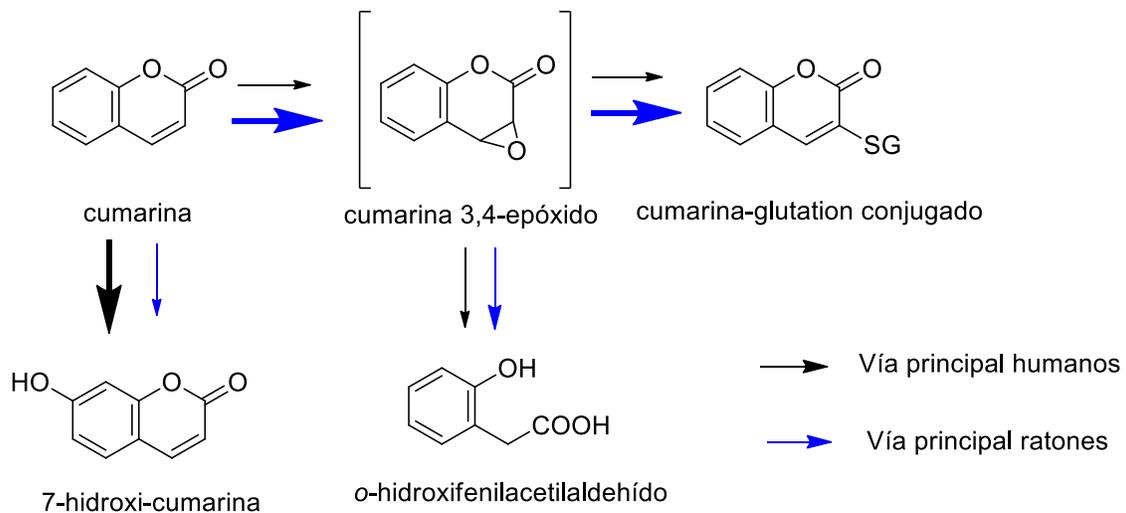
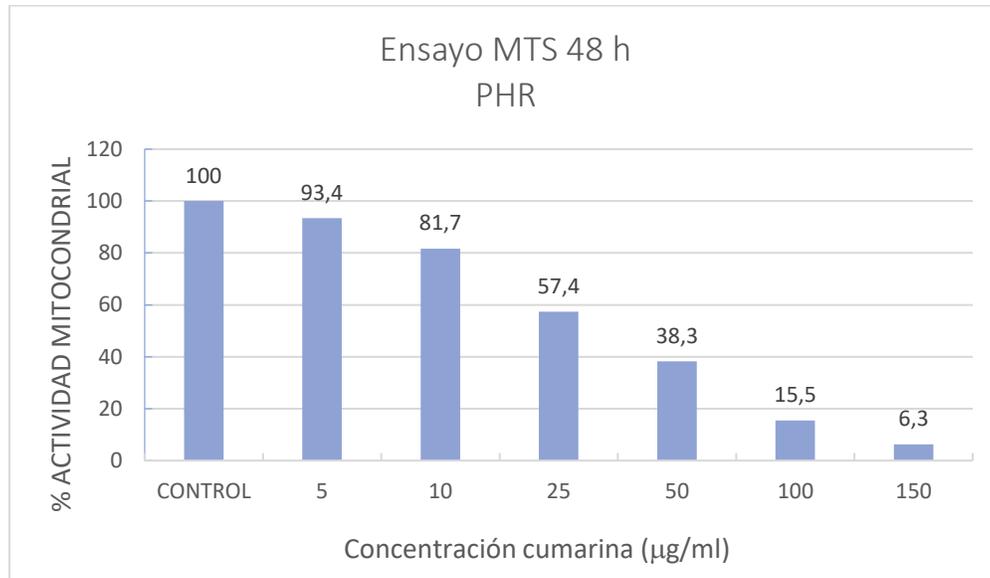
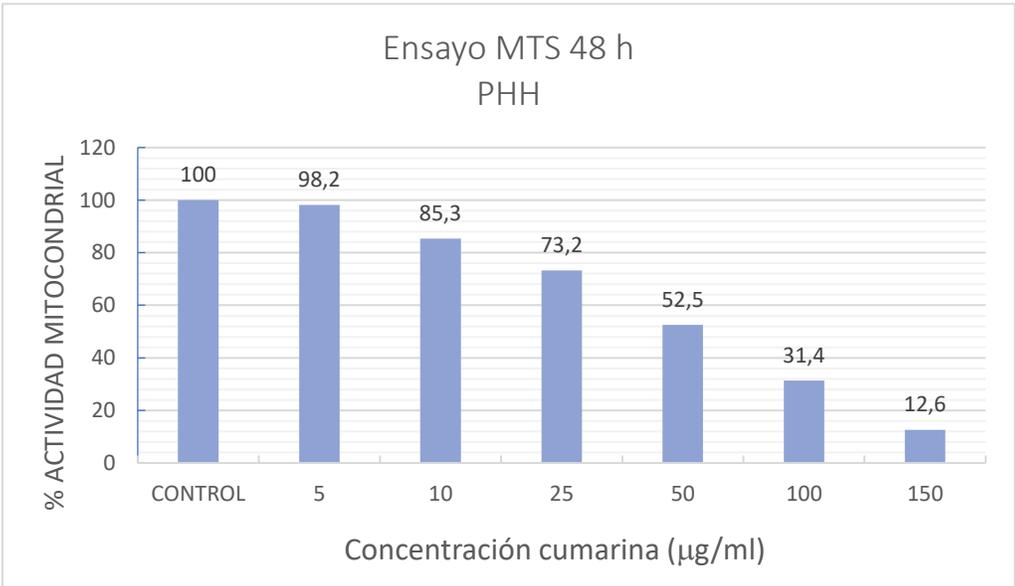
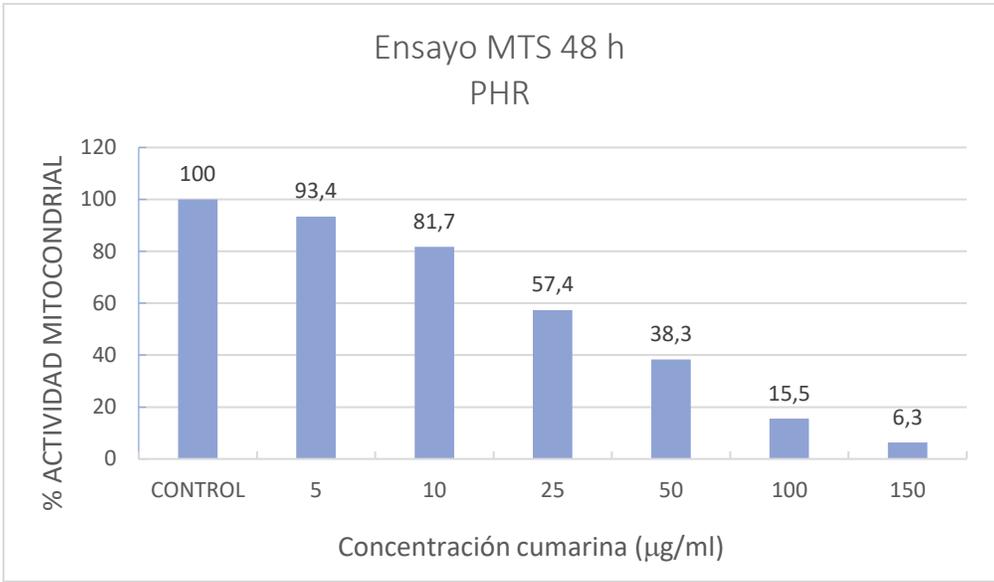


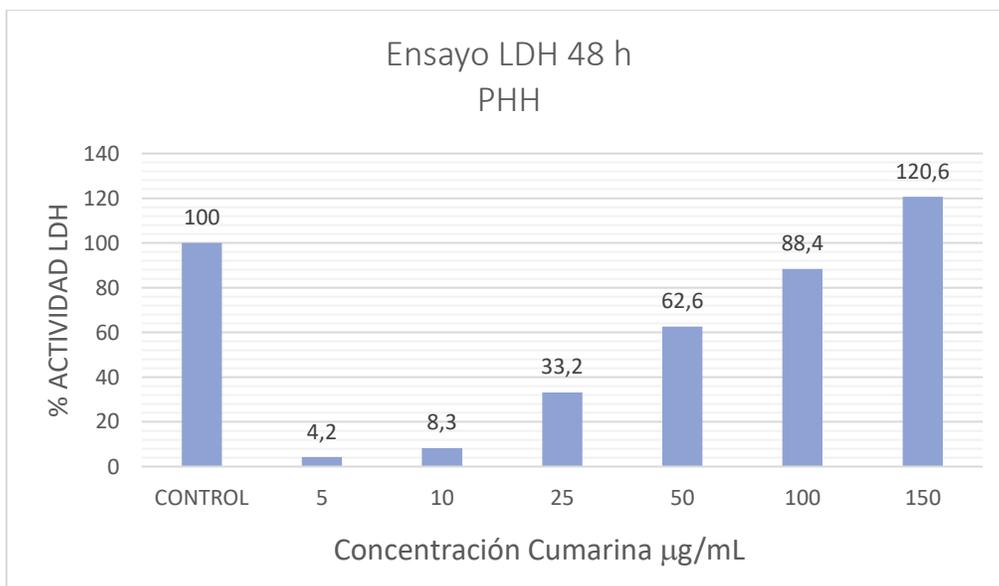
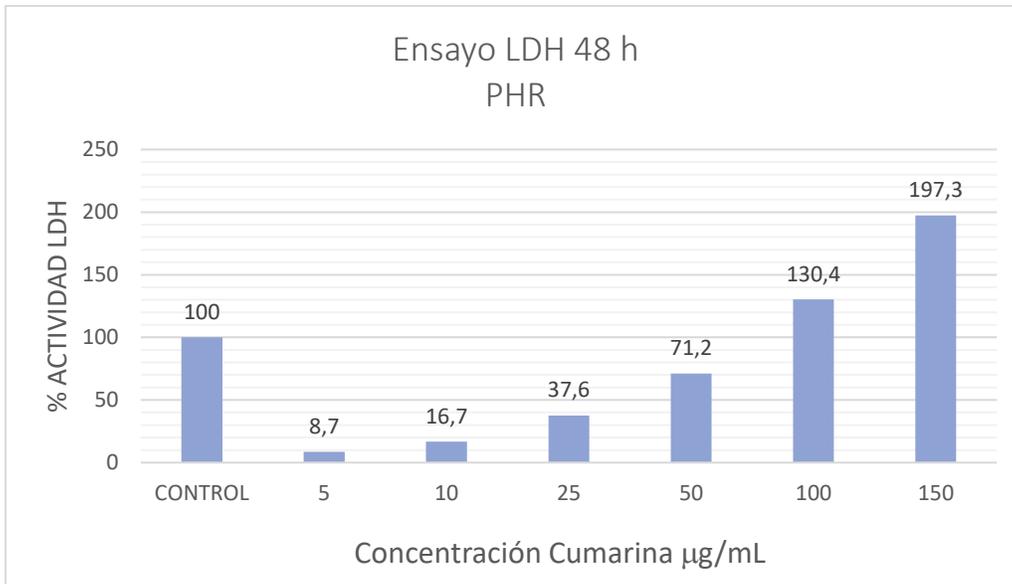
Fig. 1. Vías metabólicas principales de cumarina.

A. Ensayos de citotoxicidad de cumarina.

Se evaluó la citotoxicidad a seis concentraciones distintas de la cumarina en dos tipos celulares, en cultivo primario de hepatocitos de rata (PHR) y en cultivo primario de hepatocitos humanos (PHH). Después de 48 h de estímulo con la cumarina, la evaluación de la citotoxicidad se realizó por las técnicas de MTS y LDH:



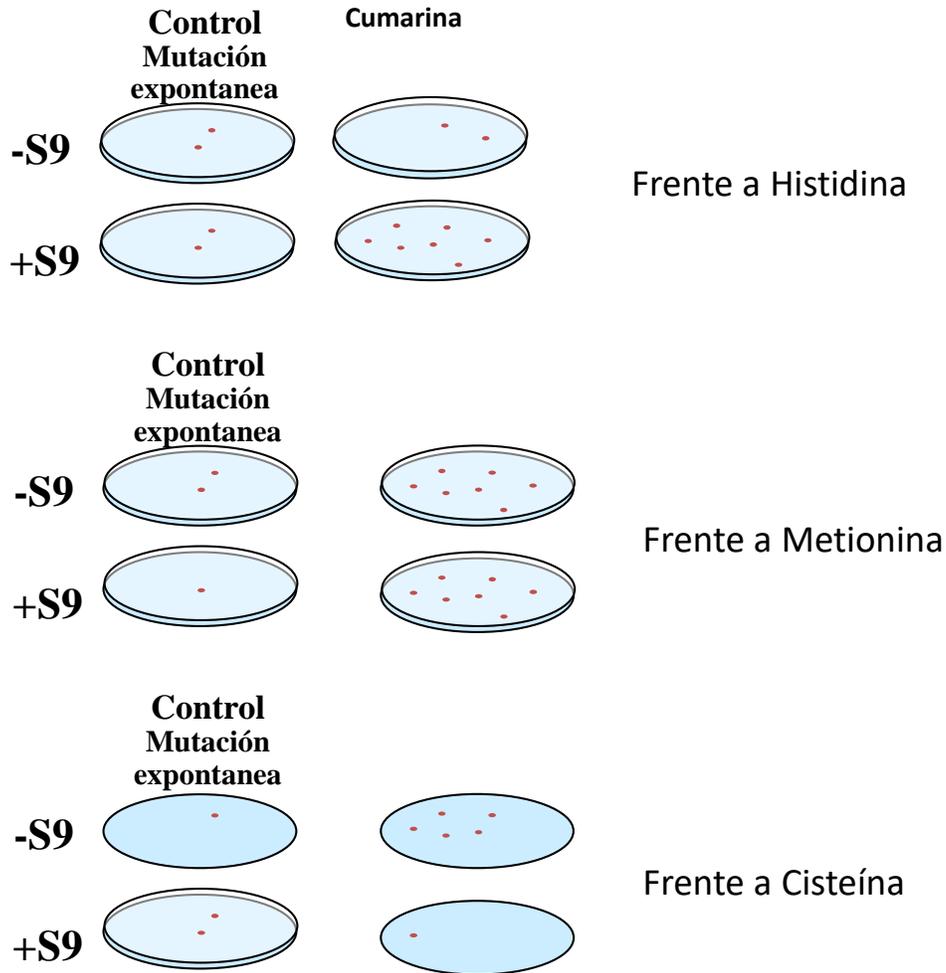




1. Estime la IC₅₀ de las cumarinas en ambos tipos celulares.
2. ¿Qué información se puede obtener a partir de ambos ensayos?
3. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de estos métodos?
4. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas al utilizar un cultivo primario de hepatocitos?
5. Según los resultados obtenidos, ¿propones realizar una tercera técnica para evaluar viabilidad celular?

B. Ensayo de genotoxicidad

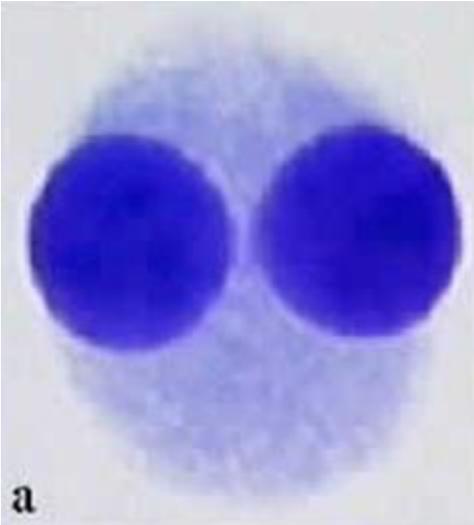
Para determinar si la cumarina presenta genotoxicidad se realizó un test de Ames que arrojó los siguientes resultados:



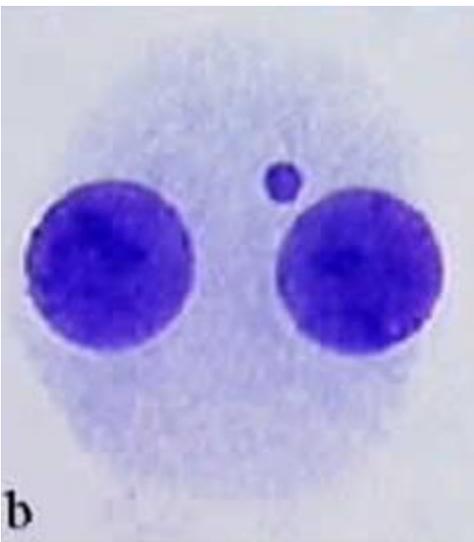
a) ¿Qué conclusiones se pueden obtener de este ensayo?

C. Ensayo para evaluar el efecto sobre los núcleos.

- En el siguiente ensayo del test de los micronúcleos se evaluó el efecto de las cumarinas.



- Al incubar la cumarina con la fracción S9 de rata se obtuvo el siguiente resultado.



a) ¿Qué conclusiones se pueden obtener a partir de los dos ensayos?

D. Evaluación de la toxicidad en ratón.

El siguiente ensayo corresponde a un ensayo para evaluar la DL50 de la cumarina en que se obtuvieron los siguientes resultados.

Dosis mg/Kg	Muertos/animales	% muertes	%incremento
1,6	0/15	0	0
3,2	1/15	7	7
6,4	2/15	13	6
12,8	7/15	46	33
25	10/15	67	21
50	12/15	80	13
100	14/15	93	13
200	15/15	100	7

- Grafique en papel semilogarítmico la relación dosis respuesta
- Estime la DL50
- Represente este grafico en unidades probit.
- ¿Qué parámetros evaluaría además de la letalidad para determinar los efectos tóxicos de las cumarinas?
- ¿Qué dosis utilizaría para determinar la DL50 en animales?

Papel semilogaritmico.

