

**Titulo: “Propóleos: ¿ Restaurador de la función celular en el hígado graso no
alcohólico?”**

***Autores: Dra. Josanne Soto Matos¹, Lic. Norma Cordero Rojas¹, MSc. Teresa Giral
Rivero², Lc. Pedro García Cartaya¹, Lc. Antonio Prado¹.***

***Instituciones: 1- Hospital C. Q. “Hermanos Ameijeiras”.
2 - Estación Experimental Apícola del Ministerio de la Agricultura.***

Introducción

El hígado tiene un papel crítico en una amplia variedad de funciones metabólicas, secretorias, excretorias y de almacenamiento y en sus células, los hepatocitos, ocurren todas estas funciones.

Desempeña además un importante papel en la captación de ácidos grasos, esterificación de ácidos grasos libres en triglicéridos para exportar a otros tejidos, y oxidación de ácidos grasos libres para energía^{1,2}.

Por otras muchas funciones que realiza se ha llamado el órgano metabólico por excelencia y esta expuesto a una gran variedad de alteraciones funcionales y morfológicas, como consecuencia de enfermedades o agresiones que provocan daños agudo o crónico, conduciendo en muchas ocasiones al hígado graso.

El hígado graso o esteatosis, es la segunda o tercera enfermedad hepática crónica más frecuente a escala mundial. Se diagnostica de forma ambulatoria por ser la causa más común de elevación anormal y persistente de las enzimas aminotransferasas, y el hallazgo accidental más frecuente en estudios imagenológicos^{3,4}.

Esta enfermedad metabólica del hígado es una condición médica con un espectro muy amplio, que puede ir desde una acumulación simple de lípidos en los hepatocitos, sin tener evidencias bioquímicas de inflamación, hasta un depósito marcado de los mismos con aparición de procesos degenerativos que conducen a la muerte celular con la posterior fibrosis⁵.

En un principio se creyó que la esteatosis era expresión exclusiva del abuso crónico de alcohol. En 1980 Ludwig et al⁶ describieron una serie de pacientes que no ingerían alcohol y presentaban una enfermedad hepática caracterizada por la presencia de esteatosis, indistinguible de la que se veía en pacientes alcohólicos, lo que motivó que estos autores acuñaran el término “esteatosis hepática no alcohólica”^{7,8}.

El hígado graso se asocia a una amplia variedad de situaciones clínicas como: uso de drogas hepatotóxicas, procesos infecciosos, Diabetes Mellitus (tipo 2), dislipidemias, cirugía abdominal, enfermedades autoinmunes y la obesidad; lo que ha conllevado a un aumento de su prevalencia, alrededor del 20% de la población general.^{9,10,11}

La patogenia de esta enfermedad no está aún dilucidada, pero en los últimos años, se han acumulado ciertas evidencias experimentales, provenientes en su mayoría del estudio en modelos animales, que sugieren que la fisiopatología está relacionada con la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo que estimulan la producción de colágeno y la fibrogénesis. Los productos de la peroxidación lipídica pueden dañar directamente la célula, siendo los organelos más afectados: Retículo Endoplásmico, las Mitocondrias, el Núcleo, el Complejo de Golgi, los Lisosomas así como la Membrana plasmática y el Citoesqueleto, con liberación de las enzimas propias de los mismos y la consecuente oxidación y acumulación de grasa.^{12,13,14,15}

Esta enfermedad cursa de forma asintomática, aunque pueden aparecer síntomas como: malestar general, fatiga, dolor sordo y ligero en el cuadrante superior derecho motivo que lleva a los pacientes acudir a la consulta médica.

En los exámenes de laboratorio se constata elevación de los niveles séricos de las enzimas aminotransferasas (ALAT, ASAT) sin existir otra causa evidente de enfermedad hepática.¹⁶

El hecho más temido es su progresión silenciosa hacia la cirrosis hepática por la no-disponibilidad de un tratamiento efectivo.

En Japón y California se han ensayado tratamientos con vitamina E, demostrándose que este agente antioxidante prevé el daño hepático relacionado con la peroxidación lipídica y la inflamación al actuar como secuestradores de radicales libres, pero para su uso se necesita de estudios aleatorizados y controlados, para valorar el beneficio a largo plazo de esta terapia.^{11,19}

También se han usado diferentes drogas hipolipemiantes como: Gemfibrozil, Clofibrato, etc., sin resultados alentadores.^{17,18}

Investigadores del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CENIC), en Cuba evaluaron el efecto protector del Propóleo rojo cubano en hepatocitos de roedores con daño inducido, corroborándose su acción citoprotectora en los organelos de los mismos.²⁰

Etimológicamente la palabra Propóleos significa “delante de la ciudad” y es utilizado por las abejas para la protección general de la colmena gracias a las propiedades bacteriostáticas, fungicidas y antisépticas.²¹

El propóleos es hoy en día un producto muy bien cotizado por el hombre, por sus propiedades terapéuticas. Colectado en bruto es generalmente de color pardo verdusco y se compone de una mezcla de resinas vegetales y cera de abejas.

Su composición química es variable, según el origen botánico. Contiene más de 40 flavonoides, ácidos aromáticos, alifáticos, componentes fenólicos, aminoácidos, un gran número de vitaminas y toda una serie de oligoelementos las que le han atribuido propiedades biológicas entre las que se encuentran: acción bactericida, antimicótica, antiparasitaria, antiinflamatoria, y antioxidante.^{22,23}

Los sacerdotes del antiguo Egipto lo utilizaban muy frecuentemente como medicina y como parte integrante de los ungüentos y cremas de embalsamar.

Los incas lo utilizaban cuando se presentaba un cuadro de infecciones febriles y en el continente europeo se utiliza por los franceses en los siglos XVIII y XIV para el tratamiento de llagas. Su máximo empleo se dio durante la guerra Anglo-boer, en África del Sur, alrededor de 1900, en el tratamiento de heridas infectadas y como sustancia cicatrizante.

El empleo del propóleos con fines terapéuticos en Cuba ha tenido una difusión extraordinaria en los últimos años. Decenas de médicos de diferentes instituciones del

sistema de salud lo aplican con resultados altamente satisfactorios y en ocasiones espectaculares.

Investigaciones farmacológicas y clínicas experimentales de este producto han demostrado que activa las funciones de muchos mecanismos defensivos del organismo y tiene acción secuestradora de radicales libres por lo que pudiera ser útil en el tratamiento de los pacientes con hígado graso.²³

Objetivos

Objetivos.

1. Evaluar la acción restauradora de la función celular hepática por el propóleo en los pacientes estudiados.

Objetivos específicos.

- ✓ Evaluar las modificaciones en los valores de las enzimas estudiadas al mes, dos y tres meses de tratamiento.

Material y método

Se realizó un estudio piloto, monocéntrico, abierto, para evaluar la acción restauradora de la función celular hepática por el propóleo en pacientes con hígado graso.

Se seleccionaron 35 pacientes de la consulta de medicina interna con edad comprendida entre 25 y 60 años, de ambos sexos con diagnóstico de Hígado graso por ultrasonido y que además tenían niveles séricos de aminotransferasas (ASAT, ALAT) por encima del valor normal de referencia, sin otra patología asociada, en el período comprendido desde Enero del año 2003 hasta Febrero del 2004.

Se incluyeron todos aquellos casos que cumplieron con los siguientes criterios:

1. Sujetos que voluntariamente den su consentimiento para participar en el ensayo.
2. Pacientes de ambos sexos y edad comprendida entre 20 y 60 años.
3. Pacientes con diagnóstico de hígado graso y exámenes de laboratorio clínico:
 - ALAT > 40 U/L
 - ASAT > 40 U/L
 - GGT < 100 U/L
 - FAL < 330 U/L
 - AgHBs negativo

Se excluyeron los casos que cumplieron al menos uno de los siguientes criterios:

1. Pacientes con antecedentes de alergia al Propóleo.
2. Pacientes con antecedentes de alcoholismo.
3. Pacientes con presencia de algunas de las siguientes enfermedades:
 - Cirrosis hepática.
 - Hepatitis aguda o crónica.
 - Neoplasias
 - Infarto Agudo del Miocardio
4. Pacientes embarazadas o en período de lactancia.
5. Pacientes que usan medicamentos hepatotóxicos reconocidos.
6. Pacientes con enfermedades mentales que no le permitan el cumplimiento del tratamiento.
7. Pacientes con tratamiento antioxidante (Vit. A, C, E).

Evaluación de los pacientes

A todos los pacientes con diagnóstico de Hígado graso, se les tomó una muestra inicial de sangre en ayunas, por punción venosa cubital, para la determinación de los parámetros seleccionados: ALAT, ASAT, FAL, GGT. Se realizó además GLICEMIA, COLESTEROL y TRIGLICERIDOS, con el objetivo de descartar cualquier factor de riesgo asociado a la esteatosis hepática como la Diabetes Mellitus e Hiperlipidemias, todos ellos realizados por métodos enzimáticos de la firma Roche en el autoanalizador HITACHI 717.

El antígeno de superficie para hepatitis B (AgHBs) fue otro de los parámetros determinado para descartar la presencia de esta patología, para lo cual se utilizó el método de ELISA en un equipo SUMA.

Todos aquellos que cumplieron con los criterios de inclusión se les administró tratamiento con Propóleo al 5% realizándoseles determinaciones de ALAT, ASAT, FAL, GGT, al mes, dos meses y al finalizar el tratamiento teniendo un seguimiento mensual en la consulta de Medicina Interna mientras duró el ensayo.

Para la evaluación de la respuesta al tratamiento se consideró como respondedor a todos aquellos pacientes en los cuales los valores de ALAT y ASAT disminuyeron al menos en 10 U/L en relación con el valor al inicio del estudio y no respondedor en los que no se cumplió esto.

Medicamento y dosis aplicada

Se administró una solución hidroalcohólica de Propóleo al 5% compuesto por: polifenoles aromáticos, quinonas, flavonoides, ácidos grasos y oligoelementos como Fe, Mn, Zn y Cu. El producto se presenta en frasco ámbar de 60 ml de capacidad, correctamente etiquetado que se elaboró en la Estación Experimental Apícola del Ministerio de la Agricultura.

Para obtener el efecto citoprotector deseado, se empleó una dosis de 50 gotas diluidas en medio vaso de agua en ayunas, y antes de acostarse por un período de 3 meses.

Se escogió esta dosis diaria ya que 100 gotas representan 125 mg de la sustancia activa de Propóleo, por un estimado de lo que pueda necesitarse para hígado graso, según las dosis usadas en otras patologías como: Giardiasis, Úlcera gástrica y duodenal, etc.²⁴

Análisis Estadístico

Para la recolección de los datos se utilizó una ficha previamente diseñada para cumplir con los objetivos del trabajo (ANEXO2) y posteriormente se introdujeron en una base de datos en el sistema automatizado Excel del programa Windows 98. La significación estadística de los resultados fue determinada utilizando medidas de tendencia central y T-test para muestras dependientes, con una $p < 0,05$, para comparar los valores de las enzimas aminotransferasa antes, al mes, dos meses y al final del tratamiento. Los resultados se expresaron en gráficos y tablas representativas, lo que permitió que mediante el proceso de análisis arribar a conclusiones.

Resultados

En este trabajo nos propusimos como objetivo esencial evaluar la acción restauradora de la función celular hepática por el propóleo en los pacientes con diagnóstico de hígado graso, determinando la variación de los valores de las enzimas aminotransferasas.

Se estudiaron 35 pacientes, de ambos sexos con diagnóstico de Hígado graso por ultrasonido y que además tenían niveles séricos de aminotransferasas (ASAT, ALAT) por encima del valor normal de referencia, con edad comprendida entre 25 y 60 años para una media de 46 años.

Las medias de los valores iniciales de la ALAT y ASAT fueron de 83.21 U/L y 64.18 U/L con una desviación estándar de 18.04 y 12.59 respectivamente.

Los valores al final del primer mes de tratamiento disminuyeron para una media de 66.57 U/L en el caso de la ALAT y de 50.66 U/L para la ASAT con relación al inicial, observándose que la mayoría de los casos ya tenían una variación de los valores de más de 10 U/L.

En el segundo mes de tratamiento la media de los valores para la ALAT fue de 56.63 U/L y para la ASAT de 46.39 U/L con una diferencia respecto a los valores iniciales de 26.57 U/L y 17.78 U/L respectivamente. (TABLA 1)

Al final del tratamiento la disminución de los valores con respecto a los valores iniciales de la ALAT varió desde 83.21 ± 18.04 U/L hasta 52.57 ± 16.04 U/L ($p < 0.000$) y la ASAT disminuyó desde 64.18 ± 12.59 U/L hasta 44.03 ± 14.71 U/L y la diferencia de la media inicial y final de la ALAT fue de 30.63 U/L y de la ASAT 20.15 U/L para un nivel de confianza del estudio del 95%. (GRÁFICO 1)

Los resultados de las enzimas GGT y FAL fueron al igual estadísticamente significativos al encontrarse una diferencia entre la media inicial y final de 14.45 U/L y 29.90 U/L.

Las determinaciones de Glicemia y Colesterol no mostraron variaciones significativas, mientras que en los Triglicéridos la diferencia entre la media inicial y final fue de 0.30 mmol/L para una $p < 0.030$. Este hecho fue más evidente entre el primer mes y el segundo mes del tratamiento donde la diferencia fue de 0.27 mmol/L con una $p < 0.004$, lo que nos incita a pensar en la acción del propóleo sobre el metabolismo de estos lípidos sanguíneos.

Los resultados obtenidos sugieren que el Propóleo actúa como restaurador de la función hepática correspondiéndose los mismos, con los obtenidos en estudios realizados en animales con daño hepatocelular inducido.²⁵

Existe la creencia actual de que la peroxidación lipídica sea uno de los mecanismos patogénicos clave en el desarrollo del hígado graso no alcohólico, planteándose que el estrés oxidativo, generador de especies reactivas del oxígeno (ERO) tales como: radicalhidroxilo y radical superóxido pueden reaccionar con excesos de lípidos para la formación de peróxidos.

Las ERO incrementan la producción del factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α) y el depósito de grasas oxidadas. Los TNF- α y los productos de la peroxidación lipídica deterioran el flujo de electrones a lo largo de la cadena respiratoria, causando sobre reducción de los componentes de la cadena e incrementando la formación de ERO mitocondriales. Estos productos pueden dañar directamente la célula por interferencia con la función de la membrana o estimular la fibrosis por las células estrelladas hepáticas, manifestándose todo este desorden en un aumento plasmático de las enzimas involucradas en el metabolismo celular.²⁶

El efecto restaurador de la función hepatocelular del Propóleo posiblemente se deba a sus propiedades inhibitorias de la peroxidación lipídica y antioxidante, descritas por Sèller, 1990 y Ryo en 1992, al actuar como secuestrador de radicales libres lo que abre un nuevo camino en la futura terapéutica del Hígado graso no alcohólico.

Conclusiones

1. Los resultados evidencian que el Propóleo tiene efecto restaurador sobre la función de la célula hepática, al disminuir los valores de las enzimas aminotransferasas en los pacientes con diagnóstico de hígado graso.
2. Los valores de las enzimas GGT y FAL disminuyeron con el tratamiento, aunque sus valores se encontrarán en muchos pacientes dentro del rango normal de referencia.
3. No existió variación significativa en los valores de Glicemia y Colesterol.

4. Los valores de Triglicéridos disminuyeron evidenciando el efecto del propóleo sobre el metabolismo lipídico.

Bibliografía

1. Miyal K. Hepatotoxicology, Chapter 13 Structural and Organization of the liver, RG Meek, SD Harrison and RJ. Boca Ratón, Florida, USA 1991; 1-65
2. Marzella L and Trump BF. Hepatotoxicology, Chapter 3 Patology of the liver. Funtional and Structural Alteration of Hepatocyte Organelles Induced by Cell Injury. RG Meek, SD Harrison and RJ Bull 1991; 93-138.
3. Angulo P, Lindor K. "Treatment of Nonalcoholic fatty liver: Present and emerging therapies sem disease 2000; 21 (1): 81-88.
4. Malteoni CA, Younossi ZM, Gramlich TI, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology 1999; 116: 1413-1419.
5. Brunt EM, Janney CG, Dibisceglie AM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and the histological lesions. Am J Gastroenterol 1999; 94: 2467-2474.
6. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Ott BJ. Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clinic Proc 1980; 55: 434-438.
7. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Non-alcoholic steatohepatitis. Ann Intern Med 1997; 126: 137-145.
8. Ludwig J, McGill DB, Lindor KD. Review: nonalcoholic steatohepatitis. J Gastroenterology Hepatol 1997; 12: 398-403.
9. Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis. A study of 49 patients. Hum Pathol 1989; 20: 594-598.
10. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. Hepatology 1990; 12: 1106-1110.
11. Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children : a pilot study. J Pediatr 2000; 136: 734-738.
12. Poucell S, Ireton J, Valencia-Mayoral P, Downar E, Larratt L, Patterson J. Amiodarone-associated phospholipidosis and fibrosis of the liver. Light, immunohistochemical and electron microscopic studies. Gastroenterology 1984; 86: 926-936.
13. Götz W. Diagnosis of Hepatic diseases. 1980; 12-15.

14. Fromety B, Berson A, Pessayre D. Microvesicular steatosis and steatohepatitis : role of mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. *J Hepatol* 1997; 26(suppl): 13-22.
15. Berson A, De Beco V, Letteron P, Robin M, Moreau C, El Kahwaji J, et al. Steatohepatitis-inducing drug cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1998; 114: 764-74.
16. Brent A. Fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Cornstone* 2001; 3(6): 47-57.
17. Laurin J, Lindor K, Crippin JS, et al. Ursodeoxycholic acid or clorffibrate in treatment of Nonalcoholic-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996; 23: 1464-1467.
18. Basaranogla M, Achay O, Sonsus A. A controlled trial of Gemfibrozil in the treatment of Nonalcoholic induced steatohepatitis: A pilot study. *Hepatology* 1996; 23: 1464-67.
19. Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Yokihama S, Tamonk K, Sato Y. Diagnostic significance of measuring TG levels and effect tocopherol in patients with NASH. *Gastroenterology* 1997; 112: 1278.
20. Rodríguez S, Ancheta O, Remires D, et al. El efecto del Propóleo rojo cubano ante el daño inducido en hepatocitos de roedores. *Rev CENIC Ciencias biológicas* 1998; Vol 29(2).
21. Asís Moisés. Propóleo: El oro púrpura de las abejas. Centro de Inf y doc Agropecuario 1991.
22. García-Vaguera C, Greenaway W, Whatley F. Composition of propolis from two diferents Spanish Regions. *Naturforach* 1992; 47c, 634.
23. Pascual C, González R, Torricella R. Scavenging action of propolis extract against oxigen radicals. *J. Ethnolarmacol* 1999 ; 41: 9-13.
24. Giral R T. Comunicación personal.
25. González A, Merino N, González R. Valoración del efecto hepatoprotector de un extracto de Propóleo rojo cubano en el modelo de hepatotoxicidad por Galactosamina en ratas. *Rev CENIC ciencias biológicas* 1994; 25, 36.
26. Pietrangelo A. Metals, oxidative stress and hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1998; 16: 13-30.