

Comparación de la capacidad antioxidante de la Coenzima Q10 y la Vitamina E en ratas BIOU: Wistar intoxicadas con dosis variable de Paraquat

María Di Bernardo¹; Dubelía Montoya ²; Yasmin Morales³; Sulay Brito⁴; Tibusay Rojas de Marín⁵; Sonia Boueiri⁶; Andrés Osorio⁷; Yepsy Montero⁸; Thania Zambrano de Davila²

1. Farmacéutica. Dra. Química Analítica. Departamento de Toxicología y Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.
2. Médica Cirujano. Estudiante del Postgrado en Toxicología Médica. Facultad de Medicina. ULA- Mérida-Venezuela.
3. Farmacéutica. MSc. Ciencias Médicas Fundamentales. Centro de Microscopia Electrónica. Facultad de Medicina. ULA- Mérida-Venezuela.
4. Licenciada en Educación-Mención Agroecología. Licenciada en Pedagogía Alternativa (Sub-área diversidad e integración). Instituto de Educación Especial Los Ángeles. Mérida-Venezuela.
5. Médica Cirujano. Especialista en Toxicología Médica. Coordinador del Postgrado de Toxicología Médica. Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Medicina. ULA- Mérida-Venezuela.
6. Abogada. Dra. en Derecho. Facultad de Ciencias Jurídicas y Políticas. Escuela de Criminología. ULA- Mérida-Venezuela.
7. Médica Veterinario. Bioterio ULA (BIOULA). Mérida-Venezuela.
8. Licenciado en Nutrición y Dietética. Bioterio ULA (BIOULA). Mérida-Venezuela.

Correspondencia de autor: Dra. María Luisa-Di Bernardo Navas. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Toxicología y Farmacología. Universidad de Los Andes-Mérida-Venezuela. Correo: girard@ula.ve, marydi32@gmail.com.

Resumen

El Paraquat (PQ) es un herbicida tipo bipyridilo muy utilizado en la agricultura para el control de las malas hierbas, su uso indebido representa una elevada tasa de mortalidad. Actualmente no existe ningún tratamiento efectivo para tratar al paciente intoxicado con este herbicida, por lo que se han instaurado numerosos esquemas terapéuticos para minimizar el daño pulmonar producto del estrés oxidativo. Este estudio pretende hacer un aporte comparando la capacidad antioxidante de la Coenzima Q10 (CoQ10) no usada en estos casos y la Vitamina E, la cual es ampliamente utilizada en todos los esquemas terapéuticos. Este trabajo se basó en la determinación del marcador indirecto del estrés oxidativo Malondialdehido (MDA) en ratas BIOU: Wistar intoxicadas con PQ. Se manejaron 46 ratas BIOU: Wistar a las cuales se les administró PQ vía oral (V.O) clasificadas de la siguiente manera: n=6 grupo control experimental (CE) de los cuales 3 con dosis de 15 mg/kg de peso y 3 con dosis de 30 mg/kg de peso de PQ, un grupo experimental A (EA) n=10 Hembras con dosis de 15 mg/kg de Peso de PQ con una administración diaria de 100 mg/kg de peso de CoQ10, un grupo experimental B (EB) n=10 machos con dosis de 30 mg/kg de Peso de PQ con una administración diaria de 100 mg/kg de peso de CoQ10, grupo experimental C (EC) n=10 Hembras con dosis de 15 mg/kg de Peso de PQ con una administración diaria de 80 mg/kg de peso de Vit E, un grupo experimental D (ED) n=10 machos con dosis de 30 mg/kg de Peso de PQ con una administración diaria de 80 mg/kg de peso de Vit E, todos los grupos recibieron simultáneamente tratamiento de sostén, se tuvo un grupo testigo (CT) n=2 monitoreando condiciones ambientales. Los niveles hematológicos y bioquímicos se realizaron al inicio y fin del experimento. Las concentraciones de MDA se hicieron el día 4, 10 y 20 del ensayo. A los 21 días experimentales las ratas que culminaron el experimento fueron sacrificadas por la técnica de dislocación cervical con observaciones anatomopatológicas. Los resultados de bioquímica sanguínea mostró una uremia debido a la deshidratación y daño toxico tubular con aumento igual de creatinina en ambos grupos siendo más marcado en la dosis de 30 mg/kg de peso. La capacidad antioxidante

se midió a través de la enzima MDA mediante la técnica de espectrofotometría de luz ultravioleta. Los resultados demostraron que la CoQ10 tiene mayor efectividad que la Vitamina E como antioxidante con la dosis de 15 mg/Kg de peso corporal de PQ. En dosis de 30 mg/Kg de peso corporal de PQ las ratas con Vit E observaron mayor sobrevida en comparación con las tratadas CoQ10, mas sin embargo, las diferencias estadísticas no fueron significativas. Estos resultados demostraron que la CoQ10 puede resultar un sustituto competitivo ante la Vit E para reducir el daño causado por el PQ a nivel pulmonar.

Palabras Claves: Antioxidante, Coenzima Q10, Espectrofotometría, Estrés Oxidativo, Malondialdehído, Paraquat

Summary**Comparison of the antioxidant capacity of Coenzyme Q10 and Vitamin E in rats****BIOU: Wistar intoxicated with variable doses of Paraquat**

Paraquat (PQ) is a bipyridyl herbicide widely used in agriculture for the control of weeds; its improper use represents a high mortality rate. Currently there is no effective treatment to treat the patient intoxicated with this herbicide, which is why numerous therapeutic schemes have been established to minimize lung damage due to oxidative stress. This study aims to make a contribution by comparing the antioxidant capacity of Coenzyme Q10 (CoQ10) not used in these cases and Vitamin E, which is widely used in all therapeutic schemes. This work was based on the determination of the indirect marker of oxidative stress malondialdehyde (MDA) in BIOU: Wistar rats intoxicated with PQ. 46 BIOU: Wistar rats were administered to which they were administered PQ orally (VO) classified as follows: n = 6 experimental control group (CE) of which 3 with a dose of 15 mg / kg of weight and 3 with dose of 30 mg / kg of weight of PQ, an experimental group A (EA) n = 10 Females with a dose of 15 mg / kg of Weight of PQ with a daily administration of 100 mg / kg of CoQ10 weight, an experimental group B (EB) n = 10 males with a dose of 30 mg / kg of Weight of PQ with a daily administration of 100 mg / kg of CoQ10 weight, experimental group C (EC) n = 10 Females with a dose of 15 mg / kg of Weight of PQ with a daily administration of 80 mg / kg of weight of Vit E, an experimental group D (ED) n = 10 males with a dose of 30 mg / kg of Weight of PQ with a daily administration of 80 mg / kg of weight of Vit E, all groups were simultaneously receiving supportive treatment, had a control group (CT) n = 2 monitoring environmental conditions. The hematological and biochemical levels were performed at the beginning and end of the experiment. The concentrations of MDA were made on day 4, 10 and 20 of the trial. After 21 experimental days, the rats that culminated the experiment were sacrificed by the cervical dislocation technique with anatomopathological observations. The results of blood biochemistry showed a uremia due to dehydration and toxic tubular damage with equal increase in creatinine in both groups being more marked in the dose

of 30 mg / kg of weight. The antioxidant capacity was measured through the MDA enzyme by ultraviolet light spectrophotometry technique. The results showed that CoQ10 is more effective than Vitamin E as an antioxidant with the dose of 15 mg / Kg of body weight of PQ. In a dose of 30 mg / Kg of body weight of PQ rats with Vit E observed higher survival compared to those treated with CoQ10, but nevertheless, the statistical differences were not significant. These results demonstrated that CoQ10 can be a competitive substitute against Vit E to reduce the damage caused by PQ at the pulmonary level.

Keywords: Antioxidant, Coenzyme Q10, UV-visible spectrophotometry, Oxidative Stress, Malondialdehyde, Paraquat.

Introducción

El Paraquat pertenece a la familia de herbicidas del bipyridilo, su nombre químico es 1,1'-dimetil-4,4'-dicloruro de bipyridilo, con el nombre comercial de Gramoxone. Es de amplio espectro, no selectivo que actúa por contacto. La intoxicación por Paraquat tiene una tasa de mortalidad elevada a nivel mundial, es utilizado con fines suicida tanto por la población rural como urbana. (1,2).

En Venezuela investigadores refieren que las intoxicaciones voluntarias predominaron con un 88,9%, sobre las accidentales con un 11,1%, resultado que coincide con lo expuesto por Durán-Nah y Collí-Quintal (3,4) quienes establecen que la ingesta suicida o voluntaria es la más frecuente en un 79% de los casos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su Clasificación recomendada de plaguicidas según sus riesgos, clasifica el Paraquat como "Moderadamente peligroso, clase II". La dosis letal mínima estimada para humanos es 10 - 15 ml del producto concentrado (5,6).

La intoxicación con fines suicida o por ingestión accidental al confundirlo con bebidas se produce por vía oral. Su ingesta produce causticaciones sobre la córnea y a nivel de mucosa bucal. Se distribuye a todos los tejidos excepto cerebro y médula. La intoxicación se caracteriza por la afectación de múltiples órganos, principalmente los pulmones, los riñones y el hígado. El pulmón es el órgano diana y la insuficiencia respiratoria con fibrosis pulmonar aguda es la causa más común de muerte. Su afinidad selectiva por el pulmón, destruye los neumocitos tipo II por aumento de los radicales libres derivados del oxígeno. El Paraquat es reducido en el organismo por el NADPH; posteriormente, se reoxida por medio del oxígeno molecular con la producción concomitante de radicales superóxidos, que atacan los lípidos insaturados de la membrana celular, dañándola. La toxicidad sistémica está intervenida por la producción de un radical superóxido, que por medio de un intermediario reacciona con los lípidos para formar hidroperóxidos, que causan la destrucción de las membranas celulares e interfieren con la función surfactante pulmonar. El daño celular se manifiesta por inflamación, edema y posteriormente fibrosis. Este radical superóxido se forma más rápidamente en presencia de oxígeno; por

eso, el órgano diana es el pulmón. También es el responsable de desencadenar la cascada del ácido araquidónico, estimulando la síntesis de prostaglandinas, que producen un incremento de líquido en el espacio intracelular, responsable del edema pulmonar manifestado. Los iones superóxido son responsables de otras lesiones de membrana y necrosis secundaria en el tracto digestivo superior, túbulos renales, hígado y glándulas adrenales (7,8).

La toxicidad del Paraquat es dosis dependiente y su concentración en el pulmón aumenta progresivamente después del contacto, a niveles mayores que los concentrados en el plasma ya que se acumula en tejido alveolar por un proceso de transporte activo. Aquí alcanza su máxima concentración a los 4 ó 5 días. También se acumula de manera importante en el tejido muscular. La semivida de eliminación es de 80hrs por lo que se mantiene durante un largo periodo de tiempo en el organismo. Se elimina por filtración glomerular y secreción tubular activa. En 48hrs es capaz de eliminarse el 70% y el 30% restante se elimina en 2-3 semanas (2).

Su volumen de distribución es de 2-8L/kg por lo que se puede considerar bastante hidrosoluble, accediendo a tejidos periféricos con facilidad. No se une a proteínas plasmáticas así que accede con facilidad a tejidos muy irrigados como riñón, hígado, corazón y pulmón.

Es bien conocido que el Paraquat se encuentra al alcance de los agricultores y población en general, sin distinción de género, raza y edad desde hace más de 40 años, es el segundo agroquímico más vendido en el mundo. Conociendo que su toxicidad está relacionada con la generación de iones superóxido, es necesario ensayar con medicamentos que presenten capacidad antioxidante y puedan ser utilizados como parte del protocolo terapéutico. La Coenzima Q10 por sus características farmacológicas representa una alternativa a ser ensayada y probada frente a la vitamina E en cuadros de intoxicación leve y moderada a severa.

La coenzima Q10, también conocida como ubiquinona, ubidecarenona, coenzima Q, y abreviada a veces a CoQ₁₀, CoQ, o Q₁₀, es una 1,4-benzoquinona, donde la Q se refiere al grupo químico quinona, y el 10 se refiere al número de subunidades del producto químico

isoprenilo en su cola. Esta sustancia soluble en aceite, similar a las vitaminas, está presente en la mayoría de las células eucariotas, principalmente en la mitocondria. Es un componente de la cadena de transporte de electrones y participa en la respiración celular aeróbica, generando energía en forma de ATP.

El noventa y cinco por ciento de la energía del cuerpo humano se genera de esta manera (9-11). Por lo tanto, los órganos con los requisitos más altos de energía-tales como el corazón, hígado y riñón tienen las concentraciones más altas de CoQ₁₀. Hay tres estados redox de la CoQ₁₀: totalmente oxidada (ubiquinona), parcialmente reducida (semiquinona o ubisemiquinona), y completamente reducida (ubiquinol). La capacidad de esta molécula para existir en una forma completamente oxidada y una forma completamente reducida permite que pueda desempeñar sus funciones en la cadena de transporte de electrones, y como antioxidante, respectivamente (12-14).

Su mecanismo de acción consiste en regular los procesos catalíticos energéticos es, por tanto responsable de la producción de la energía que todas las células necesitan para realizar absolutamente todos sus procesos vitales. En este sentido, es de especial importancia su acción a nivel de las células cardiacas. Es similar tanto estructural como funcionalmente a las vitaminas E y K. Participa en las reacciones antioxidantes y en los procesos de neutralización de los radicales libres. La toxicidad no se observa generalmente con altas dosis de CoQ₁₀. Se ha determinado que una dosis diaria de hasta 3600 mg se tolera tanto por personas sanas como también enfermas. Sin embargo, algunos efectos adversos, principalmente gastrointestinales, se reportan con el consumo elevado. El método de evaluación del riesgo "nivel seguro observado" (NSO) indicó que la evidencia de seguridad es fuerte en la ingesta de hasta 1.200 mg/día, y este nivel se identifica como el NSO (15-17).

Descritas brevemente las características generales y toxicocinética del Paraquat y su uso como agente suicida, el mismo representa un problema de salud pública con altos índices de mortalidad. Actualmente no existe ningún tratamiento efectivo de la intoxicación por Paraquat, por lo que se han instaurado numerosos esquemas terapéuticos dirigidos a prevenir la absorción, minimizar el daño pulmonar producto del estrés oxidativo y la

eliminación del tóxico del organismo. El daño a nivel pulmonar es en la mayoría de las veces de pronóstico reservado y de preocupación al campo médico, ya que el arsenal terapéutico antioxidante del cual disponemos (Vitamina E) ha resultado en acción farmacológica insuficiente para minimizar el estrés oxidativo.

PARTE EXPERIMENTAL

Diseño de la investigación

Se emplearon 46 ratas BIOU: Wistar las cuales se sometieron inicialmente a dosis de Paraquat previamente probadas mediante un estudio piloto y soportados en reportes de la literatura para crear cuadros de intoxicación de tipo moderada y modera-severa para luego administrar tratamiento con CoQ₁₀ de la casa comercial Spring-Valley y Vitamina E del Laboratorio Vivax, para contrastar los resultados inter e intra grupos se determino en plasma malondialdehido (MDA). Cabe destacar que el comité de Bioética sugirió: administrar en las ratas hembras dosis de 15 mg/kg de peso y las machos 30 mg/kg de peso, igual administración de un protector gástrico, como el Omeprazol con hidratación vía intraperitoneal (VIP), esta propuesta es de rutina cuando se emplean agentes tóxicos. El objetivo de usar este medicamento es para evitar erosión estomacal lo que ocasionaría sufrimiento al animal. El uso de este fármaco no interfiere con los resultados experimentales. El volumen empleado para la hidratación fue de 0,5 mL por capacidad de la vía utilizada en este tipo de animales. Finalmente los animales fueron sacrificados y sometidos a estudios anatomopatológicos.

Población de estudio

Se utilizaron 46 ratas BIOU: Wistar de ambos géneros (20 hembras y 26 machos) con pesos de 100 ± 20 gr, en edad adulto-joven (P=51), criados y mantenidos en el Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA). Los grupos experimentales se mantuvieron en ambientes climatizados, bajo las siguientes condiciones: alojados en áreas bajo barreras de ventilación y procedimientos estandarizados, temperatura de 23 ± 2 °C, humedad

relativa de 75%, con ciclos luz/oscuridad de 12 horas. Se les monitoreo niveles hematológicos y bioquímicos al inicio y fin del experimento. Las concentraciones de MDA se realizaron al día cuatro, diez y veinte del ensayo. Adicionalmente diariamente se realizaban observaciones clínicas (respiración, fragilidad capilar, daños a nivel de mucosa oral, conducción, ingesta de agua, alimento, entre otros). Semanalmente se recalculaban las dosis de los medicamentos dependiendo el peso. A los 21 días experimentales las ratas que culminaron el experimento fueron sacrificadas por la técnica de dislocación cervical y se realizaron observaciones anatomopatológicas. Se dividieron en seis grupos como se describen y se muestran en la Tabla 1 con las respectivas dosis de Paraquat, medicamentos de soporte y de tratamiento.

Consideraciones éticas- legales

La presente investigación fue realizada acorde con la legislación internacional y protocolos de investigación y docencia que involucran animales de laboratorio. Se contó con el aval de la Comisión de Bioética de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, el cual quedo registrado bajo el PROTOCOLO CEBIOULA /096.

METODOLOGÍA ANALÍTICA

Técnicas Analíticas

La concentración de MDA como un índice de lipoperoxidación fue determinada en plasma sanguíneo de ratas BIOU: Wistar mediante análisis por espectrofotometría ultravioleta-visible. Se procedió de la siguiente manera: una muestra de 0,5 ml plasma sanguíneo fue colocada en un tubo de ensayo, junto con 1 mL de amortiguador de Tris (Tris-HCl, 0.15M, pH 7.0) e incubada a 37 °C por 30 minutos. Al término de la incubación, se agregó 1.5 mL de ácido acético (5% v/v) y 1.5 mL de ácido tiobarbitúrico (0.8% p/v). Las muestras fueron incubadas por 60 minutos a 90 °C. Después se enfriaron y se agrego 1 mL de KCl (2% p/v) y 3 mL de una mezcla de butanol/piridina (1:10 v/v). La mezcla así obtenida se agitó y centrifugó durante 10 minutos a 3,000 rpm en una centrífuga clínica; al término de esto, se recuperó la interfase de butanol/piridina, la cual

fue leída a 532 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu). La concentración de MDA (calculada a partir del coeficiente de extinción $1.54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) fue expresada como nmol/mL.

Los parámetros hematológicos y bioquímicos fueron determinados mediante técnicas bioanalíticas de rutina.

Materiales y reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron del más alto grado analítico marca Merck y Sigma. El material de vidrio empleado fue lavado con solución al 10 % de ácido nítrico ultrapuro. El agua empleada para la preparación de estándares y patrones fue agua Milliq 18Ω.

Análisis Estadístico

Los datos se procesaron en el programa Statistix for Window versión 7.0., empleando estimadores estadísticos como media, desviación estándar, coeficiente de variación, mediana, mínimos y máximos intervalo de confianza para un 95%, para dar más confiabilidad a los resultados. De acuerdo con los hallazgos se utilizó una prueba *t* pareada para establecer diferencias, considerando un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

Resultados y Discusión

Resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos

Los datos obtenidos se sometieron a la prueba de normalidad a través del test de Shapiro Wills, obteniendo un $W = 0.9891$, $p = 0.5911$, indicando distribución normal de todos los datos obtenidos. Con los datos conseguidos se procedió a realizar estadística descriptiva simple y prueba de medias por cada grupo experimental. En la Tabla 2 se muestra la estadística simple de los resultados obtenidos de los parámetros hematológicos y bioquímicos del grupo control, los que se tomaron como basales.

Los bajos Coeficientes de variación (CV) obtenidos que van entre 1,04 y 2,23% indican una alta concentración de los datos, lo que permite asumir que no hay dispersión de la población muestreada, es decir hay homogeneidad en los valores de la variable, este comportamiento se vuelve a evidenciar obteniendo valores de la mediana muy cercano a la media aritmética lo que representa que el valor de las variables están distribuidos simétricamente dando confiabilidad a los resultados obtenidos.

En las figuras 1 y 2 se observan los resultados hematológicos y bioquímicos obtenidos en los grupos experimentales hembras por día de muestreo, grupo y dosis de PQ suministrada. Cabe destacar que la toma de muestra para el grupo con dosis de 15 mg/kg de peso se realizó el día 7 y 20 del ensayo por sacrificio de animal por grupo de tratamiento. Para el grupo con dosis de 30 mg/kg de peso que corresponden al género de ratas machos los muestreos se realizaron el día 4 del experimento por observar la gran mayoría de animales con alto compromiso de sus funciones vitales y al día 10 se agudizo la compatibilidad de vida, donde a este término solo 03 animales sobrevivieron en condiciones muy inestables por lo que se decide su sacrificio para toma de muestras.

Los resultados de la estadística descriptiva en ambos grupos experimentales diferenciados por dosis de Paraquat suministrada y género pero idénticos tratamientos (Vitamina E y CoQ10), muestran que sigue la tendencia de mínima dispersión de los datos analizados, con CV inferiores en todos los casos a 20%. La analítica sanguínea permite observar deshidratación en mayor grado en el grupo con dosis de 30 mg del herbicida, con disminución de la producción de glóbulos rojos lo que directamente disminuye los niveles de hemoglobina. Los leucocitos incrementaron lo que pudiera señalar algún daño a nivel de la médula ósea con repercusión al sistema inmunológico. En las ratas sometidas al estudio piloto se observó un aumento del bazo (esplenomegalia), este comportamiento bien pudiera explicar el descenso de los niveles de hemoglobina en este grupo experimental.

La bioquímica sanguínea se observó uremia que aumenta de forma progresiva, debida a la deshidratación y daño tóxico tubular; con aumento igual de creatinina. Los incrementos sucesivos fueron progresivos a pesar de la sueroterapia. Estos valores

obtenidos nos indicaron que estábamos en presencia de un fallo renal agudo progresivo, siendo más marcado en el grupo de 30 mg/kg de peso.

Cabe destacar que el grupo de ratas hembras logro alcanzar niveles de vida superiores a 20 días sin compromiso orgánico, con el tratamiento de CoQ10, observando este grupo valores de analítica sanguínea dentro de los límites superiores normales, caso contrario a lo observado con el grupo que recibía Vitamina E, el cual mostro uremia y creatinina sobre los límites referenciales como normales, así como las transaminasas. Ver Figura 1 y 2.

En las Tabla 3 se expresan los resultados de la estadística descriptiva simple del grupo de ratas (machos) que recibieron dosis de 30 mg/kg de peso de PQ discriminadas por días de muestreo y con tratamiento con Vitamina E, las ratas bajo tratamiento con CoQ10 observaron la misma tendencia, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. Este grupo a diferencia del anterior (15 mg/kg de peso de Paraquat), como era de esperarse aun en menor tiempo de suministro del toxico, se observaron niveles más bajo de hemoglobina, con aumento de los leucocitos y la bioquímica sanguínea, indicando esto compromiso renal y hepático. En el día 4 del ensayo fecha en la cual se realiza el primer muestreo para pruebas analíticas, no se observaron clínicamente ni anatomopatológicamente diferencias por tratamiento suministrado, lo que igual indico la química sanguínea, lo que conlleva a presumir que la CoQ10 y la Vitamina E en este intervalo de muestreo son iguales en capacidad antioxidante. Al realizar prueba de medias entre los resultados obtenidos para cada variable, la misma arrojo no encontrar diferencias estadísticamente significativas con $p < 0,05$ entre los grupos comparados. Se sigue evidenciando bajos CV, indicando homogeneidad de los datos analizados con medianas muy cercanas a la media muestral y el estimador de error estándar de la media (SE) manifestó que el tamaño muestral analizado carece de incertidumbre, lo que permite confianza en los resultados obtenidos.

La tabla 4, permite observar que al día 10 del experimento, las ratas ya presentaban niveles de química y bioquímica sanguínea que indicaban un alto compromiso de vida, donde los niveles de creatinina y urea sobre pasaron valores de 30 y 3 mgdL⁻¹,

respectivamente. Estos resultados coinciden con la observación clínica, los cuales a este tiempo mostraban fuerte dificultad respiratoria, movimientos tónico-clónicos extremos, estados de ansiedad, daño en mucosa bucal exacerbada, fragilidad capilar, otorragia, dificultad para consumo de alimento y agua. Los hallazgos anatomopatológicos mostraron daños morfológicos a nivel pulmonar, renal y hepático. Se observó una hepatomegalia marcada y edema renal, siendo este más marcado en riñón izquierdo. Las ratas bajo tratamiento con CoQ10 al día 10 del experimento registró un 65 % de mortalidad frente a un 55% de los animales bajo tratamiento con vitamina E. Este resultado nos hizo presumir que la dosis administrada de CoQ10 pudo haber sido insuficiente, estudios más contundentes se harán necesarios para corroborar tal presunción.

Resultados del marcador del estrés oxidativo

La cuantificación plasmática de malondialdehído (MDA), resulta una medida bastante real del proceso de oxidación, especialmente peroxidación lipídica. El nivel basal de MDA obtenido de los grupos ensayados fue de $0,9567 \pm 0,002$ nmol/mL para las ratas machos y de $0,8975 \pm 0,002$ nmol/mL para las ratas hembras.

Cabe destacar que las tomas de muestra para el grupo con dosis de 15 mg/kg de peso se realizaron el día 7, 14 y 20 del ensayo por sacrificio de animal por grupo. Para el grupo con dosis de 30 mg/kg de peso los muestreos se realizaron el día 4 del experimento por observar la gran mayoría de animales alto compromiso de sus funciones vitales y 10 motivado a que este término lograron mantenerse en el experimento solo 03 animales, en condiciones muy inestables por lo que se decide su sacrificio para toma de muestras.

La Tabla 5 detalla los resultados obtenidos durante el ensayo, en las tres etapas de monitoreo: intermedia (día 7 y 14) y final (día 20) en ratas hembras con dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat y diferenciadas por grupos experimentales según tratamiento administrado y en la figura 3 se muestra gráficamente el comportamiento observado. Los resultados obtenidos de MDA por días de tratamiento y medicamento suministrado no mostraron diferencias significativas con un $p= 0,003$.

La Tabla 5 detalla los resultados obtenidos durante el ensayo, en las 2 etapas de monitoreo: intermedia (día 4) y final (día 10) en ratas machos con dosis de 30 mg/kg de peso de Paraquat y diferenciadas por grupos experimentales según tratamiento administrado y en la figura 4 se observa gráficamente. Los niveles de MDA al monitoreo intermedio no mostraron diferencias significativas entre los medicamentos suministrados con un $p=0,004$. Mas sin embargo, al monitoreo final, cuando se decide eutanasiar a las ratas por presentar las mismas condiciones incompatibles con la vida, los niveles de MDA presentaron diferencias estadísticamente significativas con un $p= 0,23$. Lo que indica que la CoQ10, no logro en esta etapa minimizar el daño producto del estrés oxidativo. La figura 5 muestra esquemáticamente el proceso donde el Paraquat ejerce su efecto a nivel de la glutatión peroxidasa formando los radicales libres lipídicos responsables del daño multiorgánico por lesión a las membranas de las mitocondrias, ribosomas y lisosomas con la consecuente liberación de la MDA.

Los resultados obtenidos en los parámetros hematológicos y bioquímicos en ambos grupos experimentales coinciden con lo reportado por Bryson, Graner, Kelly, Smalley (8, 18- 20) quienes informan que producto de la deshidratación interna los niveles de urea y creatinina muestran tendencias al aumento, lo que es de diagnostico-pronostico de falla renal. Igual sucede con las transaminasas debido al toque a nivel hepático que produce el toxico. Bryson y cols; explican que muy a pesar de la sueroterapia el daño multiorgánico que produce el Paraquat no responde a la hidratación. Con respecto a la formula hematológica el descenso de la hemoglobina explica Smalley puede interpretarse como una respuesta del sistema inmunológico cuando es atacado por tóxicos y como objeción a este evento se produce un aumento de los leucocitos. Kelly y cols; en su trabajo con perros intoxicados con Paraquat describe que la bioquímica sanguínea es un buen indicador de pronóstico de la intoxicación y sus complicaciones.

Con respecto a los resultados obtenidos entre la CoQ10 y la Vitamina E, donde la CoQ10 aun siendo similar tanto estructural como funcionalmente a las vitaminas E y K y participar en las reacciones antioxidantes y en los procesos de neutralización de los radicales libres, no mostro capacidad en igualdad de condiciones en las ratas con dosis

de 30 mg/Kg de peso del toxico en inhibir la MDA. Sarter, Hyson y Hatcock (15-17) exponen que el mecanismo de acción de la CoQ10 consiste en regular los procesos catalíticos energéticos es, por tanto responsable de la producción de la energía que todas las células necesitan para realizar absolutamente todos sus procesos vitales. En este sentido, es de especial importancia su acción a nivel de las células cardiacas. Es muy probable que su acción a nivel de las células pulmonares es limitado y por lo tanto a dosis menores del toxico si es capaz de minimizar la peroxidación como se evidencio en la dosis de 15 mg/kg de peso del toxico o la dosis suministrada a los biomodelos fue insuficiente. La literatura reporta que se ha determinado que una dosis diaria de hasta 3600 mg se tolera tanto por personas sanas como también enfermas (21-24).

Los resultados observados en este trabajo de investigación demostraron y corroboraron lo reportado por otros investigadores que el Paraquat al ocasionar la peroxidación lipídica resulta dificultoso determinar la magnitud de dicha peroxidación. Mas, sin embargo, determinar los productos de su degradación metabólica, constituidos fundamentalmente por aldehídos de alta capacidad reactiva es posible siendo el más significativo el malondialdehído (MDA).

Conclusiones

Los resultados obtenidos nos permiten concluir con un 95% de confianza lo siguiente

1. La Coenzima Q10 mostro capacidad antioxidante igual que la vitamina E a dosis de Paraquat de 15 mg/kg de peso considerada dosis leve-moderada lo que equivale a 7 ml de ingesta en un humano con peso corporal de 70Kg.
2. Los biomodelos bajo tratamiento con Coenzima Q10 E a dosis de Paraquat de 15 mg/kg de peso mostraron mejores condiciones clínicas e incluso expusieron menor porcentaje de mortalidad.
3. La dosis suministrada de Coenzima Q10 resulto insuficiente en capacidad antioxidante a dosis de Paraquat de 30 mg/kg de peso considerada dosis moderada-severa lo que equivale a 14 ml de ingesta en un humano con peso corporal de 70Kg.

4. La vitamina E mostro ser más efectiva para la intoxicación moderada-severa aun en dosis igual a la administrada en la intoxicación leve-moderada.
5. El marcador Malondialdehido es útil para establecer la magnitud de la peroxidación lipídica causada por el Paraquat ya que permite determinar los productos de su degradación metabólica y servir de diagnóstico-pronostico.

RECOMENDACIONES

1. Se hace necesario ensayar con dosis más altas de Coenzima Q10 para con certeza poder descartar su uso en dosis moderada-severa.
2. Realizar análisis microscópico de morfología pulmonar, lo que permitirá contrastar los resultados obtenidos con el marcador de estrés oxidativo malondialdehido.

Agradecimientos: *los autores agradecemos al Ministerio del Poder Popular Para Los Servicios Penitenciarios (MPPSP) por el financiamiento de este proyecto, el cual permitió a la Médica Cirujana Dubelia Margarita Montoya Olivares, Medico MGI, obtener su título de Especialista en Toxicología Medica.*

Tabla 1. Condiciones de los grupos experimentales bajo tratamiento e intoxicados a dosis de 15 y 30 mg/kg de peso de Paraquat.

Grupos	Condiciones experimentales	Observaciones
Control testigo (CT) (n=02)	Alimento no convencional (trigo N°3) y agua potable Ad-Libitum	Bajo condiciones nomales
Control experimental (CE) (n=6)	Alimento no convencional (trigo N°3) y agua potable Ad-Libitum	03 con dosis de 15 mg/kg de peso de PQ y 03 con dosis de 30 mg/kg de peso
Experimental A (EA) (n=10) hembras Dosis de 15 mg/kg de peso de PQ	Alimento no convencional (trigo N°3) y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 100mg/kg de peso de COQ10 VO, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso
Experimental B (EB) (n=10) machos Dosis de 30 mg/kg de peso de PQ	Alimento no convencional (trigo N°3) y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 100mg/kg de peso de COQ10 VO, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso
Experimental C (EC) (n=10) hembras Dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat	Alimento no convencional (trigo N°3) y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 80mg/kg de peso de Vit E VO, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso
Experimental D (ED) (n=10) machos Dosis de 30 mg/kg de peso de PQ	Alimento no convencional (trigo N°3) y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 80 mg/kg de peso de Vit E VO, hidratación (0,5 mL) y Omeprazol VIP a dosis de 5mg/kg de peso

Tabla 2. Niveles basales obtenidos del grupo control (n=6)

Parámetro estadístico	Hb (gdL ⁻¹)	Hto (%)	Leuc (mm ³)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL ⁻¹)	Creat (mgdL ⁻¹)
X ± DE	17,58 ±0,04	42±2	7333±250	124± 2,3	121±0,5	14 ±0,03	0,65±0,01
Mediana	<u>17,4</u>	<u>41</u>	<u>7300</u>	<u>124</u>	<u>121</u>	<u>14</u>	<u>0,63</u>
SE	0,025	0,14	137,9	1,09	1,20	0,22	0,02
CV (%)	2,09	2,3	<u>2,23</u>	2,16	2,16	2,15	<u>1,04</u>

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

Tabla 3. Estadística descriptiva global de los parámetros hematológicos y bioquímicos a día 4 del experimento en ratas (machos) con 30 mg/kg de peso de Paraquat de vitamina E.

Parámetro estadístico	Hb (gdL ⁻¹)	Hto (%)	Leuc (μL)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL ⁻¹)	Creat (mgdL ⁻¹)
X ± DE	10,67±0,6	29±1,2	18000±1732	140	154	23	2
Mediana	10,8	30	19000	140	155	23	2
SE	0,35	0,67	1000	2,89	1,2	0,57	0
CV	5,73	3,93	9,62	3,57	1,35	4,34	0
Mínimo	10	28	16000	135	152	22	2
Máximo	11,2	30	19000	145	156	24	2
IC95% superior	12,18	32,2	23300	152	159	26	2
IC 95% inferior	9,15	26,5	13,7	127	149		2

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

Tabla 4. Estadística descriptiva global de los parámetros hematológicos y bioquímicos a día 10 del experimento en ratas (machos) con 30 mg/kg de peso de Paraquat con Vitamina E.

Parámetro estadístico	Hb (gdL ⁻¹)	Hto (%)	Leuc (mm ³)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Urea (mgdL ⁻¹)	Creat (mgdL ⁻¹)
X ± DE	8,44±0,6	30±2	20335±1528	153±3,2	175±5,3	27±1,15	2,63±0,15
Mediana	10,2	30	20000	154	177	26	2,6
SE	0,36	1,15	882	1,86	3,05	0,67	0,08
CV	6,25	6,67	7,51	2,10	3,02	4,33	<u>5,08</u>
Mínimo	9,3	28	19000	149	169	26	2,5
Máximo	10,5	32	20000	155	179	28	2,8
IC 95% superior	11,5	34	24128	160	188	<u>29,5</u>	<u>3,01</u>
IC 95% inferior	8,45	25	16539	144	162	24	2,25

X= media, DE= desviación estándar, CV= Coeficiente de variación, SE= error de la media, HB= hemoglobina, Hto= hematocrito, Leu= leucocitos, TGO y TGP= transaminasas, Creat= creatinina.

Tabla 5. Niveles promedios de MDA en ratas hembras sometidas a dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat según tratamiento administrado

Parámetro (nmol/mL)	COQ10 hembras	Vitamina E hembras
MDA :día 7	Basal: 0,76±0,001 1,19 ± 0,002	Basal: 0,87±0,002 1,18 ± 0,004
MDA :día 14	1,10 ± 0,005	1,10 ± 0,004
MDA: día 20	0,97± 0,005	0,98 ± 0,004

Tabla 5. Niveles de MDA en ratas machos sometidas a dosis de 30 mg/kg de peso de Paraquat.

Parametro (nmol/mL)	COQ10 machos	Vitamina E machos
MDA :día 4	Basal: 0,87±0,003 1,80 ± 0,001	Basal: 0,87±0,002 1,81 ± 0,000
MDA :día 10	1,88 ± 0,000	1,79 ± 0,004

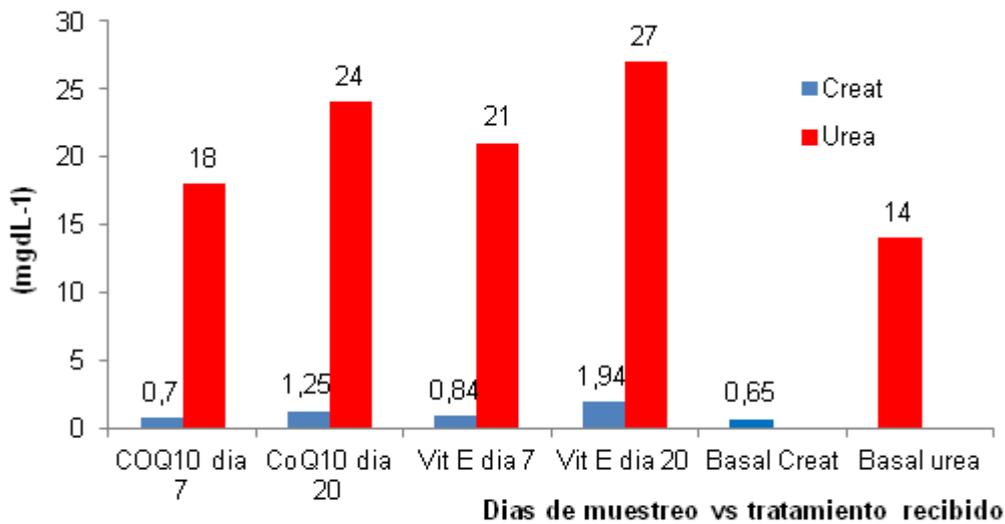


Figura 1. Niveles de creatinina y urea en ratas hembras con dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat por día de muestreo

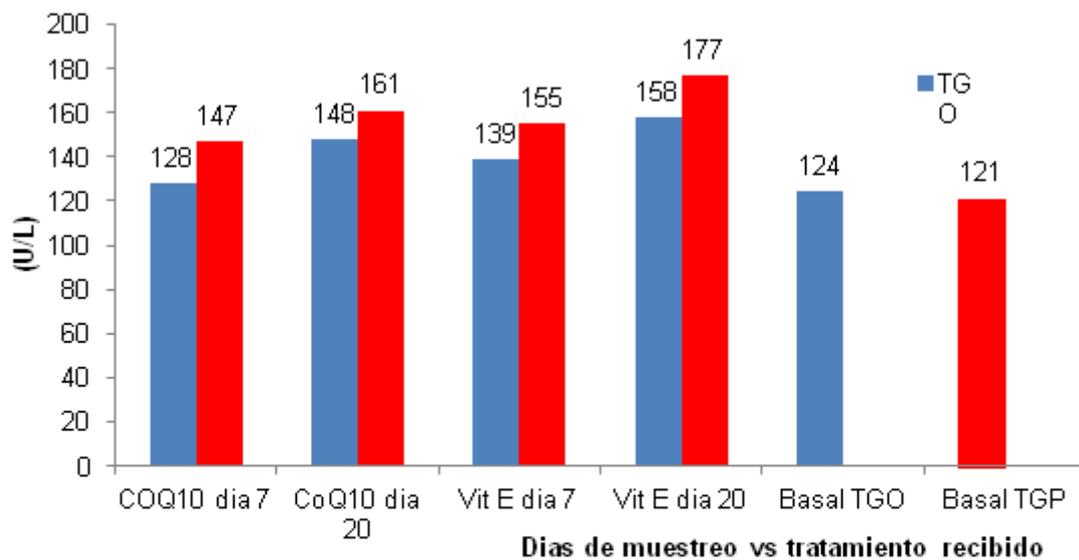


Figura 2. Niveles de TGO y TGP en ratas hembras con dosis de 15 mg/kg de peso de Paraquat por día de muestreo

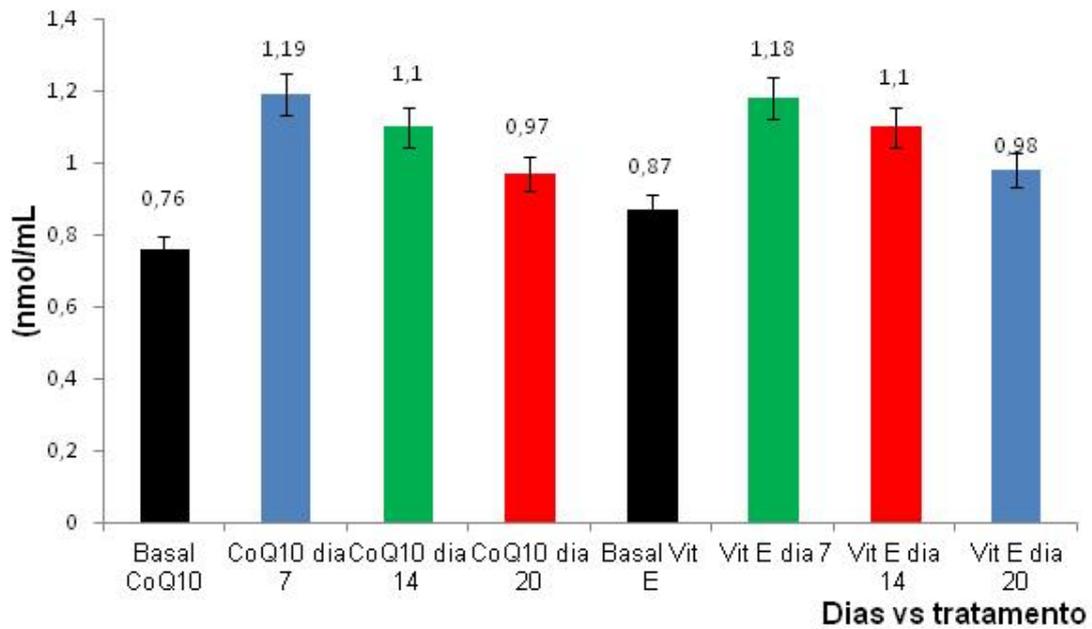


Figura 3. Comportamiento de la MDA en ratas con dosis de 15 mg/kg de paraquat tratadas con CoQ10 y vit E.

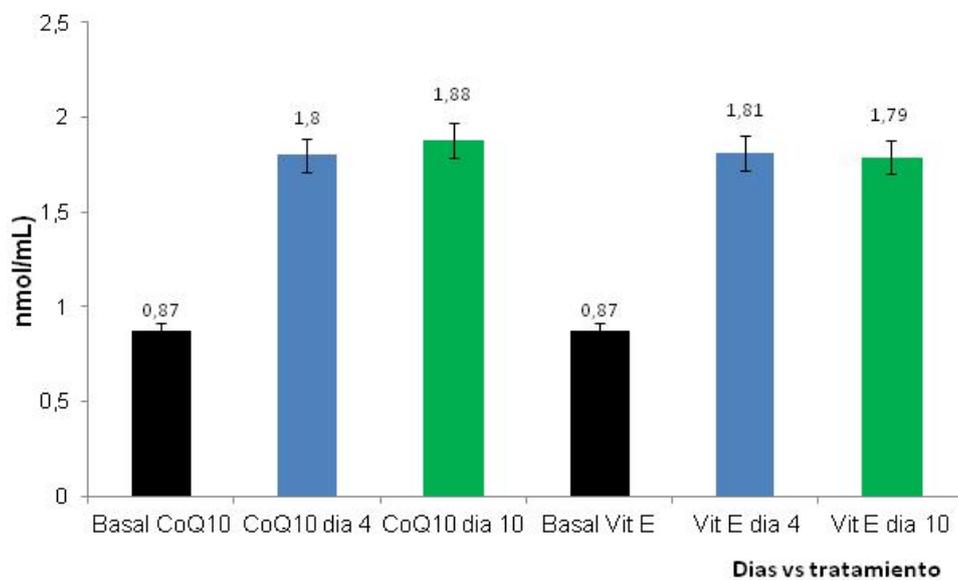


Figura 4. Comportamiento de la MDA en ratas con dosis de 30 mg/kg de paraquat.

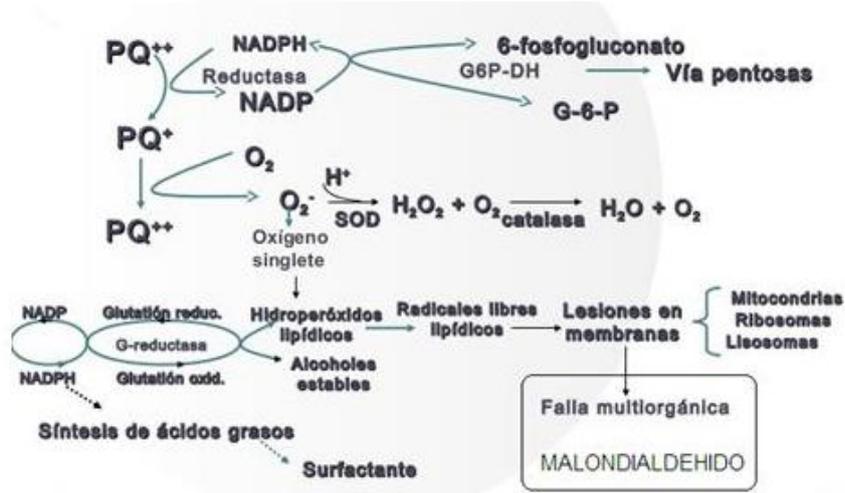


Figura 5. Esquema de peroxidación lipídica donde se observa la liberación del MDA al ocurrir el fallo multiorgánico.

Referencias Bibliográficas

1. Hernández Vargas M.F, Weiss S. (1977). Intoxicación por paraquat; Act. Méd. Cost.; 20 (3):233-238.
2. Van der Wal F.T, Van Oirschot J.F, Van Dijk A, Verhoef J, Van Asbeck V.A. (1990). Mechanism of protection of alveolar type II cells against paraquat-induced cytotoxicity by deferoxamine. *Biochem Pharmacol.*;39: 1665-1671.
3. Marianela Serrano; Yuleidi Pino; Rosalba Florido; Carlos Omaña; Nancy Díaz. (2015). Hallazgos epidemiológicos y clínicos en cadáveres ingresados a la morgue-IAHULA con diagnóstico de intoxicación exógena. *Acta Bioclínica.*; 5 (10): 24-26.
4. Durán Nah J, Collí Quintal J (2011). Intoxicación aguda por plaguicidas. *Salud pública Méx.*; 42(1): 48 -52
5. Vargas Alvarado Eduardo. (2007). *Medicina Legal*. 2da. Edición-México: Trillas;3: 401-403.
6. World Health Organization. (2002). WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2000-2002. WHO/PCS. Geneva.
7. Cassarerr and Doull's. (1986). *Toxicology: The basis science of poisons*. 3rd edition. Macmillan Publishing Company. 1986.
8. Brysson, P. (1999). *Comprehensive review in toxicology*, 2nd edition. Aspen Publication.
9. León-Verastegui, Á. (2012). Enfermedad de Parkinson por exposición ocupacional a Paraquat. (Spanish). *Revista Medica Del IMSS.*; 50(6):665-672.
10. Ernster L, Dallner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta.*; 1271 (1): 195-204.
11. Dutton, PL; Ohnishi, T; Darrouzet, E; Leonard, MA; Sharp, RE; Cibney, BR; Daldal, F; Moser, CC. (2000). 4 Coenzyme Q oxidation reduction reactions in mitochondrial electron transport. En Kagan, VE; Quinn, PJ. *Coenzyme Q: Molecular mechanisms in health and disease*. Boca Raton: CRC Press: 65-82.

12. Okamoto, T; Matsuya, T; Fukunaga, Y; Kishi, T; Yamagami, T. (1989). Human serum ubiquinol-10 levels and relationship to serum lipids. *International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift für Vitamin- und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition.*; 59 (3): 288-292.
13. Aberg, F; Appelkvist, EL; Dallner, G; Ernster, L. (1992). Distribution and redox state of ubiquinones in rat and human tissues. *Archives of biochemistry and biophysics.*; 295 (2): 230-234.
14. Shindo, Y; Witt, E; Han, D; Epstein, W; Packer, L. (1994). Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *The Journal of investigative dermatology.*; 102 (1): 122-126.
15. Sarter B (2002). Coenzyme Q₁₀ and cardiovascular disease: a review. *Journal of Cardiovascular Nursing.*; 16(4): 9-20.
16. Hyson HC, Kiebertz K, Shoulson I, et al .(2010). Safety and tolerability of high-dosage coenzyme Q₁₀ in Huntington's disease and healthy subjects. *Mov. Disord.*; 25 (12): 1924-1932.
17. Hathcock JN, Shao A .(2006). Risk assessment for coenzyme Q₁₀ (Ubiquinone). *Regul. Toxicol. Pharmacol.*; 45 (3):282-290.
18. Graner, G.E (1992) Toxicant-induced acute renal failure. In Kirk: *Current Veterinary Therapy X*. W.B. Saunders.126-130.
19. Kelly, D.E (1978). Paraquat poisoning in the dog. *Veterinary Annual.*; 18: 251-254.
20. Smalley, H.E., Radellef, R.D (1997). Comparative toxicity of the herbicide Paraquat in laboratory and farm animals. *Toxicology and applied Pharmacology.*; 17:305-307.
21. Schmelzer C, Lorenz G, Rimbach G, Döring F (2009). [«In Vitro Effects of the Reduced Form of Coenzyme Q\(10\) on Secretion Levels of TNF-alpha and Chemokines in Response to LPS in the Human Monocytic Cell Line THP-1»](#). *J Clin Biochem Nutr .*;44 (1):62-66.
22. Gemma López Granollers, Rafael Lafuente Varea, Miguel A. Checa Vizcaíno Ana Monqaut y Mario Brassesco Macazzaga (2011). Efecto del tratamiento con vitaminas,

L-carnitina y coenzima Q10 en el índice de vacuolización y la fragmentación espermática en pacientes de fecundación in vitro. Rev. Int Androl.; 9(4):154-159.

- 23.** Francisco M. Gutiérrez-Mariscal, Pablo Pérez- Martínez y col. Antonio Camargo (2012). Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q10 induces postprandial changes in p53 in response to oxidative DNA damage in elderly subjects. AGE (American Aging Association) .; 34:389-403.
- 24.** Quinzii, C. M., Dimauro, S., Hirano, M.(2007). Human coenzyme Q(10) deficiency. Neurochem. Rev.; 32:723- 727.

Recibido: 28/01/18

Aceptado: 29/01/18