

## **Toxicidad subcrónica de *Spirulina platensis* de producción cubana.**

**Maibel Hernández Arencibia<sup>1</sup>, María Antonia Torres Alemán<sup>2</sup>, María Boffill**

**Cárdenas<sup>3</sup>**

- <sup>1</sup>. Universidad Agraria de la Habana. Autopista Nacional y Carretera Tapaste. San José de las Lajas. La Habana. Cuba. Tel. 86 3013 e-mail: [maib@isch.edu.cu](mailto:maib@isch.edu.cu)
- <sup>2</sup>. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. Calle 222 y 27. La coronela. La Lisa. Ciudad Habana. Cuba Teléfono 250 1170. e-mail: [mariatorres@infomed.sld.cu](mailto:mariatorres@infomed.sld.cu)
- <sup>3</sup>. Instituto Superior de Ciencias Médicas. Unidad de Toxicología Experimental. UTEX. Carretera del Acueducto y Circunvalación. *Santa Clara*. Villa Clara. Teléfono: 27 3236 e-mail: [boffil@capiro.vcl.sld.cu](mailto:boffil@capiro.vcl.sld.cu)

## Resumen

Se administró una dosis de 1000 mg/Kg de *Spirulina platensis* por vía oral en dosis repetida por 28 días en ratas SD. Se realizaron observaciones de los signos clínicos y del comportamiento de la ganancia de peso corporal; se cuantificaron parámetros hematológicos y bioquímicos. Asimismo se realizaron pesajes de órganos, observaciones macroscópicas y estudios histopatológicos. No se produjeron muertes ni alteraciones clínicas. No se reportaron diferencias significativas en la ganancia de peso, los indicadores hematológicos y en la bioquímica sanguínea con excepción de la ASAT, glucosa y proteínas totales, aunque estas no fueron atribuidas a efectos tóxicos de la cianobacteria en estudio. No se reportaron alteraciones en los estudios post-mortem en ninguno de los grupos ensayados.

**Palabras claves:** *Spirulina platensis*, estudio subcrónico, ratas SD

## Abstract

### Subchronic toxicity of Cuban produced *Spirulina platensis*

*Spirulina* was administered in doses of 1000 mg/kg for 28 days in rats SD. Clinical sing and behavior of body weight was observed. Haematology and biochemistry were measured, also post-mortem evaluation, including weight of organs, macroscopic observation and histopathology test were made. No deaths or clinical alteration were reported. No statistic differences were reported from body weight behaviour, haematology and biochemistry parameters except ASAT, glucose and total protein although these was not attribute to the toxic effects of *Spirulina platensis*. No alterations were reported from post-mortem studies.

**Key words:** *Spirulina platensis*, subchronical study, SD rats

## Introducción

La cianobacteria *Spirulina sp.* es utilizada como fuente potencial de proteínas y otros elementos, su contenido proteico se acerca al 65-70%, posee una elevada concentración de vitaminas, minerales y otros micronutrientes que no son usualmente encontrados en la dieta. <sup>(1,2,3)</sup>. Hasta hace un tiempo atrás el interés sobre la spirulina recaía principalmente en su valor nutricional, actualmente esta ha estado ganando mayor atención como nutracéutico y como fuente potencial de medicamentos.

Se conoce que algunas especies de cianobacterias producen potentes toxinas<sup>(4,5)</sup>. Afortunadamente no siempre son tóxicas; las condiciones para que lo sean no son bien conocidas, dependiendo de factores fisiológicos, genéticos y ambientales.<sup>(6)</sup> Una de las especies utilizadas como suplemento nutricional y que está incluida dentro de las cianobacterias tóxicas es *Aphanizomenon flos-aquae*.<sup>(7)</sup> Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto se pretende realizar un estudio toxicológico a la Spirulina producida en nuestro país.

## Materiales y Métodos

El estudio se realizó en la UTEX, se empleó la prueba a dosis límite (1000 mg/Kg) establecida por la norma # 407 de la OECD, según se muestra en el *Cuadro 1*.

Se realizaron observaciones clínicas diarias, los animales fueron pesados antes de la administración de la sustancia de ensayo. Los grupos tratados, control y vehículo se sacrificaron a los 28 días de comenzado el estudio, el grupo centinela continuó bajo observación por espacio de 30 días; se tomaron muestras de sangre para analizar hemoglobina, hematocrito, leucocitos diferenciales; aspartato aminotransferasa (ASAT), alanil aminotransferasa (ALAT), proteínas totales (P.T), creatinina, urea (BUN), glucosa, y colesterol. Además se realizó pesaje de órganos, examen macroscópico de órganos e histopatología.

Los resultados se analizaron a través de la media ( $X$ )  $\pm$  desviación estándar (DS) para cada indicador, el nivel de significación estadística establecido fue de  $p < 0,05$ . Se realizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes y Kruskal Wallis para comparar más de un grupo experimental. Los análisis fueron procesados utilizando el paquete de análisis estadístico Statistics for Windows, versión 4.5.

## Resultados

No se observaron muertes, ni alteraciones en los signos clínicos; no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la ganancia de peso corporal, ni en los indicadores medidos en los análisis hematológicos de las ratas durante el experimento. La tabla 1 resume los valores medios y desviación estándar obtenidas para los diferentes indicadores bioquímicos. Ver Tabla I

No se hallaron diferencias significativas relativas al pesaje de órganos, ni se reportaron hallazgos histopatológicos de relevancia en los diferentes grupos experimentales. El grupo centinela no mostró alteraciones para ninguno de los indicadores medidos.

## Discusión

La ASAT intracelular se localiza en las mitocondrias, para la liberación de cantidades de esta a sangre se necesita la ocurrencia de un daño severo a los tejidos; a diferencia de la ALAT que se localiza principalmente en el citosol en altas concentraciones, pudiendo pasar a sangre bajo cualquier evento que altere la permeabilidad de la membrana.<sup>(8)</sup> Las elevaciones séricas de la actividad de la ASAT causadas por hepatotoxicidad son generalmente menores que las elevaciones de la ALAT.<sup>(8)</sup> Asimismo en un estudio realizado se demostró la capacidad cardioprotectora de *Spirulina platensis*.<sup>(9)</sup> Teniendo en cuenta además que no se encontraron lesiones

macroscópicas, ni histopatológicas a nivel de hígado y corazón en ratas hembras, no se justifica este aumento de la enzima ASAT en este sexo. Lo encontrado para la enzima ASAT no coincide con lo reportado en la literatura.<sup>(10)</sup> La disminución de la actividad sérica de esta puede estar causada por una disminución de la producción o liberación de esta enzima y por interferencia con la enzima ensayada. La causa más ampliamente reconocida involucra un efecto sobre el fosfato de piridoxal (Vitamina B<sub>6</sub>). Si el material de estudio afecta negativamente este cofactor, los niveles séricos de este disminuyen.<sup>(8)</sup> *Spirulina platensis* consta en su composición con Vitamina B<sub>6</sub>,<sup>(1, 2; 11, 12)</sup> de modo que este producto no debe afectar negativamente a este cofactor.

Presumimos que las diferencias estadísticamente significativas encontradas en los valores séricos de esta enzima en ambos sexos sea producto a una tendencia en los roedores a mostrar un incremento en la variabilidad interanimal de los valores de esta enzima, algunos de los cuales son debido a una contaminación con tejido muscular durante la toma de muestra de sangre.<sup>(8)</sup>

Causas como la malnutrición crónica, o enfermedades crónicas del hígado pueden estar involucradas en la presencia de altos niveles de glucosa en sangre.<sup>(13)</sup> Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente, así como al contenido de aminoácidos esenciales de esta cianobacteria<sup>(1, 2)</sup> y a que no se encontraron lesiones a nivel hepático se descartan estas posibles causas que pudiesen estar involucrados con los resultados obtenidos. La señal que más frecuentemente alerta a los toxicólogos de un posible efecto sobre el páncreas es precisamente la hiperglicemia. El descubrimiento de altos niveles de glucosa en sangre demanda de investigaciones más detalladas, que deben estar centradas en la integridad funcional del páncreas y en particular en las células  $\beta$ .<sup>(8,14)</sup>

Las proteínas totales en las hembras mostraron valores significativamente menores ( $p < 0.05$ ) con respecto al control. La capacidad de síntesis del hígado es lo suficientemente grande para que los niveles séricos disminuyan significativamente solo cuando han sido dañados un gran número de hepatocitos<sup>(15)</sup>; en el análisis histopatológico no se observaron lesiones a nivel hepático de significación biológica en dicho sexo. En el grupo centinela los valores de este indicador tienden a aumentar

nuevamente, lo que nos confirma que la disminución encontrada en el grupo tratamiento carece de importancia a la hora de precisar algún efecto sobre este órgano.

Los resultados del examen macroscópico e histopatológicos constituyen una clara evidencia del bajo potencial tóxico de *Spirulina platensis* administrada durante 28 días, dichos resultados coinciden con lo reportado por otros autores. <sup>(10,16, 17)</sup>

## Conclusiones

Los resultados de este estudio indican que a administración a dosis repetida de 1000 mg/Kg de *Spirulina platensis* bajo las condiciones de experimentación desarrollada no producen daños biológicos indicadores de efectos tóxicos asociadas a la cianobacteria

## Cuadro 1

Grupos Experimentales	Sustancia Aplicada	Número de Animales	
		Hembras	Machos
1 Tratado	Spirulina 1000 mg/Kg	15	15
2 Control	Agua destilada. Vol. equivalente	15	15
3 Vehículo	Carboximetil celulosa.(0.5 %)Vol. equivalente	15	15
4 Centinela	Spirulina 1000 mg/Kg	10	10

**Tabla I.** Valores medios y desviación estándar de los indicadores bioquímicos medidos en los grupos tratamiento, vehículo, control y centinela en ambos sexos.

Grupo	Colesterol mm/L	Creatinina mcm/L	Urea mm/L	ASAT U/L	ALAT U/L	Glucosa mm/L	Bilirrubina mg/dL	P. T mg/mL
<i>X±DS</i>								
<b>Machos</b>								
<b>Tratados</b>	1.82±0.25	41.90±4.85	4.95±1.95	59.33±7.45 <sup>a</sup>	24.83±5.52	8.48±0.66	0.51±0.25	51.89±2.88
<b>n</b>	10	10	10	10	10	10	10	10
<b>Control</b>	1.85±0.17	42.86±7.76	6.66±2.36	68.60±5.83	24.08±3.76	7.97±1.02	0.42±0.17	52.93±7.50
<b>n</b>	10	10	10	10	10	10	10	10
<b>Vehículo</b>	1.90±0.24	55.60±21.95	4.58±1.64 <sup>b</sup>	69.01±5.68	24.94±6.91	7.49±1.22	0.46±0.18	47.27±4.72 <sup>b</sup>
<b>n</b>	10	10	10	10	10	10	10	10
<b>Centinela</b>	1.35±0.23	61.46±11.70	4.33±1.67	62.83±6.72	19.35±3.08	5.01±1.22	0.55±0.22	53.61±4.83
<b>n</b>	5	5	5	5	5	5	5	5
<b>Hembras</b>								
<b>Tratados</b>	2.01±0.33	47.83±7.76	9.99±5.09	31.59±9.64 <sup>a</sup>	8.49±6.84	7.39±1.17 <sup>a</sup>	0.22±0.48	47.13±17.30 <sup>a</sup>
<b>n</b>	9	9	10	10	10	9	9	10
<b>Control</b>	2.15±0.32	56.31±15.15	7.16±3.34	19.98±5.05	5.27±1.79	6.04±0.71	0.27±0.21	61.18±8.12
<b>n</b>	10	10	10	10	10	10	10	10
<b>Vehículo</b>	1.54±0.91 <sup>b</sup>	47.28±22.97	4.56±2.56	25.64±8.18	6.37±5.00	5.89±0.70	0.32±0.23	53.57±6.45
<b>n</b>	10	10	10	9	10	9	9	9
<b>Centinela</b>	1.83±0.37	61.46±10.30	7.07±2.32	57.88±7.61	17.44±3.49	6.85±1.04	1.02±0.44	65.22±4.32
<b>n</b>	5	5	5	5	5	5	5	5

a: Diferencia significativa entre tratado y control. (p< 0.05)

b: Diferencia significativa entre vehículo y control (p< 0.05)

n: número de animales.

## Bibliografía

1. Henrickson, R. 1994. Spirulina. Superalimento del futuro. Barcelona Ed.Urano. p.39
2. Centeno, A. 1996. Alga Spirulina. Ed. Moderna. México. DF: p 115.
3. Earthrise. 2000. UC Davis Study shows boosts immune system. Sacramento California. [En línea] Journal of Medicinal Foods. December 1. Disponible en: <<http://www.news.ucdmc.ucdavis.edu>>. Consulta: 27/03/2006.
4. Falquet, J. 1996. Espirulina: Aspectos nutricionales. [En línea] Antenna Technology. Disponible en: <<http://www.antenna.ch/Espagnol/BK>> Consulta: 18/05/2005.
5. Roset, J.; Aguayo, S.y Muñoz, M. J. 2001. Detección de cianobacterias y sus toxinas. [En línea] Rev. Toxicol. Disponible en:<<http://www.um.es/grupos/grupo-toxicologi/congreso.html>>. Consulta: 27/03/2006.
6. Prósperi, C. 1999. Las algas tóxicas y su efecto sobre el ambiente. [En línea] Serie verde. Cuadernos de divulgación de la Universidad Libre del Ambiente (ULA). Ed. ULA. Disponible en: <[www.funaman.org.ar](http://www.funaman.org.ar)> Consulta: 18/05/2005
7. Jimeno, L. 2005. Algas: las verduras marinas. [En línea] Disponible en: <<http://www.dsalud.com>> Consulta: 5/05/05.
8. Wallace- Hayes A. 2001. Principles and methods of toxicology. Fourth Ed.: 856-867, 918-932, 1019-1027.
9. Martínez B y Torres, M. A. 2000. Cardiotoxicidad por antraciclinas: estudios experimentales y clínicos. Tesis de Maestría. IFAL. Universidad de La Habana
10. Chamorro<sup>b</sup>, G.; Herrera, G.; Salazar, M.; Salazar, S.y Ulloa, V. 1988. Subchronic toxicity study in rats fed Spirulina. Journal of Pharmacology. Bélgica. 43(1), p29-36.



11. Delpeuch, F. 1976. Consumption as food and nutritional composition of blue green algae among population in the Kanem region of Chad. Ann. Nutr. Aliment.
12. Earthrise. 1998. Earthrise Farms and Earthrise trading Co Inc. Earth food Spirulina. [En línea] Scientific abstracts by health category. 2000. Disponible en: <[www.spirulinaresource.com](http://www.spirulinaresource.com)> Consulta: 16/12/2005.
13. Fischbach, F. 1992. A manual of laboratory and diagnostic test. J. B. Lippincott Company. Fourth ed. p. 262-393
14. Wallace- Hayes A. 1989. Principles and methods of toxicology. Second Ed.: 225-226, 693-694
15. Widman, F. K. 1989. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. p. 263-356
16. Yoshino, Y.y Hirai, Y, 1980. The chronic intoxication test on Spirulina product fed to Wistar rats. Japan. Journal of Nutr. 38 (4) p. 221-225.
17. Chamorro, G. 1980. Toxicological studies on Spirulina Alga Sosa Texcoco S.A. Pilot Plant for the production of protein from the Spirulina Alga. Study of subchronic toxicity of Spirulina alga in the rats. United Nations Industrial Development Organization.

**Recibido: 15/12/08**

**Aceptado: 5/1/09**