

ARTICULO ORIGINAL**EFFECTO DE LA SACARINA DE SODIO SOBRE EL EPITELIO TRAQUEAL DEL RATON**

GEORGINA TORRES DE MERCAU, NORA RIERA DE MARTINEZ VILLA, HUGO VITALONE, GUILLERMO MERCAU, SILVIA GAMUNDI, NORA MARTINEZ RIERA, NORMA SORIA

Departamento Biomédico, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Tucumán

Resumen La sacarina de sodio actúa como un promotor tumoral del epitelio de vejiga de rata. El objetivo del presente estudio fue analizar las posibles modificaciones producidas por la sacarina de sodio en el epitelio traqueal del ratón. Se utilizaron ratones cepa C3H alimentados con una dieta balanceada adicionada con sacarina de sodio durante 180 días, realizándose posteriormente un análisis ultraestructural de las tráqueas. Demostramos que la sacarina de sodio produce modificaciones en la porción apical de las células ciliadas con la formación de excrecencias citomembranasas y malformaciones ciliares, lo que refuerza la hipótesis del potencial efecto nocivo de la sacarina de sodio.

Palabras clave: sacarina de sodio, tráquea, pleomorfismo microvellositario, promotor tumoral

La sacarina de sodio ha sido empleada como edulcorante de una variada gama de alimentos por más de ocho décadas. Los estudios epidemiológicos indican que la sacarina de sodio no incrementa el riesgo de cáncer de vejiga en el ser humano¹.

Experimentalmente, se ha demostrado que la sacarina de sodio, administrada en altas dosis, y por un largo período de tiempo, es un promotor tumoral en la producción del cáncer de vejiga en ratas²⁻⁴. También se ha determinado que este edulcorante produce hiperplasia epitelial y pleomorfismo microvellositario en el epitelio de vejiga de rata^{5,6}.

Nuestras experiencias han evidenciado que el epitelio de la vejiga de rata no es el único órgano blanco de la acción de los edulcorantes sintéticos. En trabajos previos hemos comunicado que la acción de una mezcla de sacarina de sodio y ciclamatos en el intestino delgado y grueso de ratas y ratones, induce cambios epiteliales^{7,8}. Esto

nos indica que es posible que la sacarina de sodio actúe sobre el epitelio de otros órganos modificando su morfología.

El objetivo del presente estudio fue determinar si la sacarina de sodio produce modificaciones en el epitelio traqueal del ratón.

Material y métodos

Se utilizaron 20 ratones adultos, cepa C3Hs, machos y hembras de 4 meses de vida. Los ratones se mantuvieron a 24°C y 50% de humedad, con 12 horas de luz y 12 de oscuridad, administrándoles dieta balanceada en gránulos suministrada por la elaboradora Nutric de la Provincia de Córdoba, Argentina, y agua *ad libitum*. Cinco ratones machos y 5 hembras se usaron como testigos y fueron alimentados con dieta balanceada.

A los ratones del lote experimental, 5 machos y 5 hembras, se les administró dieta balanceada en gránulos adicionada con sacarina de sodio Sigma S-1002-lote 44HO 189. Para tal fin los gránulos fueron molidos y mezclados con sacarina de sodio en polvo en la proporción de 1 gr de sacarina de sodio por 999 gr de gránulos molidos, siendo la mezcla nuevamente granulada.

El tratamiento se realizó durante 180 días al término de los cuales los ratones testigos y experimentales fueron sacrificados por sección cervical, tomándose una muestra del tercio medio de la tráquea de cada ratón.

Recibido: 8-I-1997

Aceptado: 12-III-1997

Dirección postal: Dra. Georgina T. de Mercau, España 1857, 4000 San Miguel de Tucumán.

Cada muestra fue fijada por inmersión en glutaraldehído al 1,5% en buffer cacodilato 0,05M, pH 7,2 por dos horas y lavadas luego en buffer cacodilato 0,05M. La postfijación se realizó en ácido ósmico a 1% en buffer cacodilato 0,05M, pH 7,2 por una hora a 4°C. El material fue deshidratado en baños sucesivos de acetona de gradación creciente y embebido posteriormente en EPON. Las secciones ultrafinas fueron teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo en baños sucesivos. La observación fue realizada en un microscopio electrónico de transmisión. (Zeiss, EM 109 del Servicio de Microscopía Electrónica del Noroeste Argentino (LAMENOA).

Resultados

Las células ciliadas del epitelio traqueal de los ratones del lote testigo presentan cilias típicas en su superficie entre las que se encuentran microvellosidades. (Fig. 1)

Cada cilia está constituida por un eje axonémico formado por nueve dobletes de microtúbulos y un par central, rodeada por la membrana celular y un corpúsculo basal constituido por nueve tripletes de microtúbulos.

Las células ciliadas del epitelio de la tráquea de los ratones tratados con sacarina de sodio, presentan modificaciones en su superficie. En algunos sectores del ápice de estas células se observan grandes excrecencias citomembranas unidas por un pedúnculo a la superficie celular. (Fig. 2)

Estas excrecencias citomembranas contienen una matriz homogénea en la que se encuentran fragmentos ciliares compuestos por 9 dobletes de microtúbulos y un par central sin membrana individual que los rodee. También se encuentran en la matriz microtúbulos en cantidad apreciable. El pedúnculo de la excrecencia presenta en su interior un eje microtubular axonémico. Los fragmentos ciliares de la porción expandida de la excrecencia se observan de menor diámetro que las cilias que se encuentran fuera de la excrecencia y que están rodeados por membrana (Fig. 2).

En la luz traqueal y separados de la superficie celular se observan grandes formaciones citomembranas libres con microvellosidades polarizadas y matriz homogénea. En la matriz de

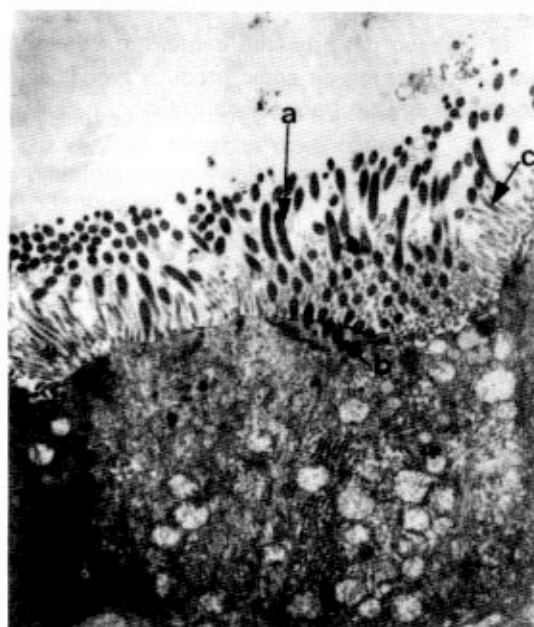


Fig. 1.— Célula ciliada del epitelio de la tráquea de ratón testigo. Célula ciliada de cuya porción apical emergen cilios y microvellosidades.

a) cilios; b) corpúsculos basales; c) microvellosidades.

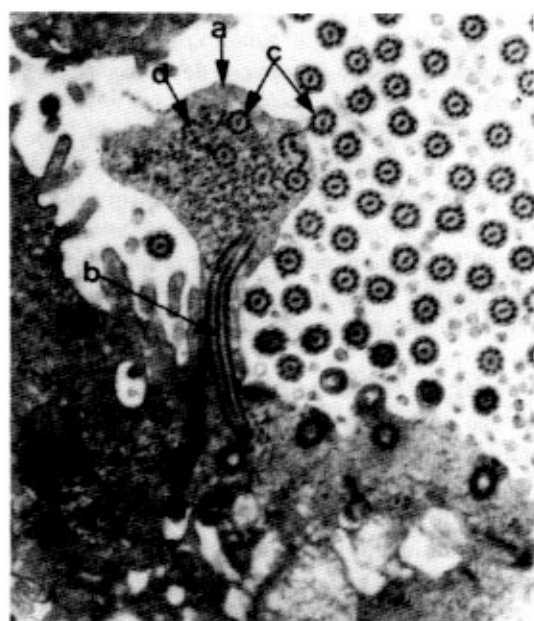


Fig. 2.— Célula ciliada del epitelio de la tráquea de ratón alimentado con sacarina de sodio. a) excrecencia pedunculada; b) axonema; c) microtúbulos; d) fragmentos ciliares.

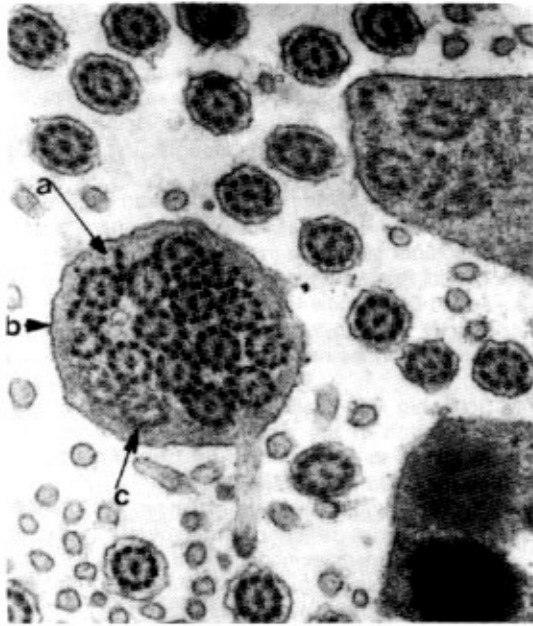


Fig. 3.— Excrecencia libre en la luz traqueal de ratón alimentado con sacarina de sodio. a) excrecencia libre; b) membrana; c) fragmentos ciliares.

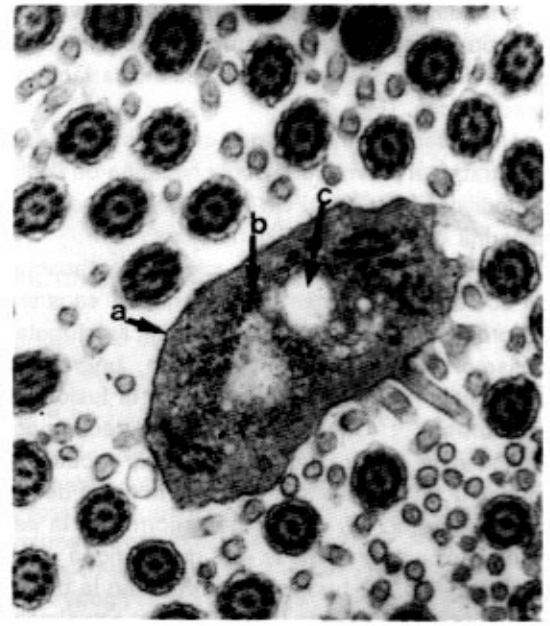


Fig. 4.— Excrecencia libre en la luz traqueal de ratón alimentado con sacarina de sodio. a) membrana; b) microtúbulos; c) vacuolización.

estas formaciones citomembranas se observan fragmentos ciliares constituidos por 9 dobletes de microtúbulos y un par central sin membrana que los rodee individualmente, constituyendo un conjunto de axonemas rodeados por una membrana común (Fig. 3).

Algunas de las excrecencias libres presentan una marcada vacuolización en su interior y disgregación microtubular. (Fig. 4).

Discusión

La bibliografía estudiada no registra información sobre el efecto de la sacarina de sodio en la superficie del epitelio traqueal. Las investigaciones se orientan generalmente hacia el efecto de la sacarina de sodio como promotor tumoral del cáncer de vejiga en ratas.⁵

Las células ciliadas del epitelio traqueal de los ratones a los que se les suministró sacarina de sodio, presentaron modificaciones estructurales en su superficie. Las excrecencias pedunculadas (Fig. 2) tienen su membrana en continuidad con

la membrana celular, lo que indicaría que los mismos se formarían por una estrangulación membranosa citoplasmática. Sin embargo, el hecho de contener en su porción expandida fragmentos ciliares sin membranas individuales, nos lleva a pensar que previamente a la estrangulación citoplasmática membranosa, las membranas de las cilias se fusionarían quedando una membrana común rodeándolas en su conjunto. El hecho de tener los fragmentos ciliares nueve dobletes de microtúbulos y un par central indicaría que no son porciones ciliares de la base de las cilias ya que a este nivel la estructura es de nueve tripletes de microtúbulos sin el par central. Las formaciones luminales (Fig. 3) presentan también fragmentos ciliares con 9 dobletes de microtúbulos y un par central, demostrándose que corresponde a la porción libre de las cilias y no a su base. Esto pone de manifiesto que las imágenes obtenidas no corresponden a cortes de ápices celulares puesto que si éste fuera el caso encontraríamos una imagen ciliar diferente con 9 tripletes de microtúbulos, que es la estructura típica de la base de las cilias. Esto nos permite concluir que las formaciones mencionadas serían

desprendimientos de ápices celulares. La vacuolización y disgregación microtubular observadas en los desprendimientos luminales indicarían procesos líticos. (Fig. 4).

No podemos atribuir estos cambios en el epitelio traqueal provocados por la sacarina de sodio a modificaciones en el DNA celular por cuanto la sacarina de sodio no es genotóxica^{9, 10}.

El mecanismo íntimo de acción de la sacarina de sodio no se conoce, pero siendo la sacarina un promotor tumoral²⁻⁴ podría modificar el metabolismo celular actuando como un factor epigenético¹¹, lo que podría explicar la fusión de membranas y formación de las excrescencias. Concluimos que la sacarina de sodio produciría mediante un mecanismo fusógeno la unión de las membranas de los cilios y posteriormente la estrangulación membranosa que daría origen a las excrescencias. No hemos encontrado en la bibliografía mencionada esta propiedad que actualmente estamos analizando in vitro en liposomas.

Summary

Effect of sodium saccharin on the tracheal epithelium of the mouse

The present study evaluated the effect of sodium saccharin on mouse tracheal epithelium, in relation to its possible structural alterations.

Mice of the C3H strain were fed with standard pellets supplemented with sodium saccharin for 180 days. At that time the mice were sacrificed and their trachea were processed for transmission electronic microscopy.

We demonstrated that sodium saccharin produces alterations in cellular surface cilia, with cytoplasmic excrescences and ciliar malformations.

These results suggest that sodium saccharin is not an innocuous sweetener and that it may cause structural alterations in epithelial tissues.

Bibliografía

1. International Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of Chemicals to Humans: Some non-nutritive sweetening agents. Lyon: IARC 1980; Vol 22, p. 184.
2. Taylor JM, Weinber MA, Friedman L. Chronic toxicity and carcinogenicity to the urinary bladder of sodium saccharin in the in utero-exposed rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 54: 57-75.
3. Arnold DL, Moodie CA, Grice HC, et al. Long-term toxicity of ortho-toluenesulfonamide and sodium saccharin in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 52: 113.
4. Schoenig GP, Goldenthal EL, Geil RG, et al. Evaluation of the dose-response and in utero exposure to saccharin in the rat. *Food Chem Toxicol* 1985; 23: 475-90.
5. Cohen SM, Murasaki G, Fukushima J, Greenfield RE. Effect of regenerative hyperplasia on the urinary bladder carcinogenicity of sodium saccharin and N-4-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl-formamide. *Cancer Res* 1982; 42: 65-71.
6. Fukushima S, Cohen SM. Saccharin-induced hyperplasia of the rat urinary bladder. *Cancer Res* 1980; 40: 734-6.
7. Wendichansky E, Torres de Mercau G, Vitalone H. Modificaciones en la especialización apical de membranas celulares del intestino delgado de la rata por efecto de edulcorantes. *Rev Fac Med Tucumán* 1989; 21: 6-11.
8. Torres de Mercau G, Riera de Martínez Villa N, Mercau GA, et al. Alteraciones en la citomembrana y células de superficie del intestino grueso por acción de los edulcorantes. *Acta Gastroent. Latinoamer.* 1995; 25: 35-9.
9. Tennant RW. Some implications and limitations of in vitro genetic toxicity data in regulatory decision. In: Butterworth BE and Slaga, TJ (editors) Banbury Report 25: Non-genotoxic Mechanisms in Carcinogenesis. New York Cold Spring Harbor: 1987. p. 339.
10. Ashby J. The genotoxicity of sodium saccharin and sodium chloride in relation to their cancer promoting properties. *Food Chem Toxicol* 1985; 23: 507-19.
11. Williams GM, Whysner J. Epigenetic carcinogens: Evaluation and risk assessment. *Experiment Toxicol Pathol* 1996; 48: 2-3.