

Efecto teratogénico del programa de embarazo Herbalife® en embriones de *Gallus gallus domesticus*

Ibarra Rodríguez Cristian Bernardo, Rivera Agustín Edmundo, Sánchez Yáñez Hugo Daniel,
Chirino Galindo Gladys, Palomar Morales Martín*

UNAM, Laboratorio de metabolismo de la diabetes mellitus, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Av De Los Barrios 1,
Los Reyes Ixtacala, 54090 Tlalnepantla de Baz, México.

Autor para correspondencia: palomarmoralesmartin@gmail.com

Recibido:

24/febrero/2020

Aceptado:

31/octubre/2020

Palabras clave:

Teratogénesis,
Gallus gallus domesticus,
embrión

Keywords:

Teratogénesis,
Gallus gallus domesticus,
embryo

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto teratogénico del programa de embarazo Herbalife®. Se obtuvieron 50 huevos embrionados de pollo, que fueron asignados a cuatro grupos, tres de los cuales fueron sometidos respectivamente a tres distintos componentes del programa de embarazo Herbalife®, y el último se trató con agua destilada; y se incubaron. Se obtuvieron los embriones a los 13 y 16 días de gestación. Se cuantificó la actividad de la catalasa en hígado, y se extrajeron los cerebros, hígados y corazones para realizar cortes morfoanatómicos e histológicos. Se presentó toxicidad en tres embriones, así como gastrosquisis en la mayoría de los embriones del día 16 de los grupos tratados. Se encontraron malformaciones anatómicas profundas en cerebro; la actividad de la catalasa en el hígado se afectó, los cortes histológicos presentaron necrosis, hemorragias y desarrollo celular anormal. En conclusión, el uso del producto Herbalife® puede ser teratogénico.

ABSTRACT

The aim of the present work was to study the putative teratogenic effect of the Herbalife pregnancy program. Fifty embryonated eggs were obtained and assigned to four groups, three of them were respectively treated with three components of the program Herbalife® for pregnancy, and the last with distilled water, and incubated. Embryos were obtained at 13 or 16 days of gestation. Hepatic activity of catalase was quantified, and brains, livers and hearts were extracted to perform morphoanatomical and histological analysis. There was observed toxicity in three embryos as well as gastroschisis in most treated-embryos on day 16. Anatomical malformations were found in the brain, hepatic activity of catalase was affected, and in histological sections necrosis, hemorrhages and abnormal cell development were observed. In conclusion, the use of Herbalife® can be teratogenic.



Introducción

Las alteraciones morfológicas, bioquímicas y fisiológicas que se producen en el embarazo, son la causa del 3% de los defectos congénitos en embriones y se detectan en la gestación, al nacimiento o después de éste (Pérez-Landeiro et al., 2002; Valdés et al., 2018). Los teratógenos de naturaleza química producen defectos durante la embriogénesis, algunos de estos incluyen desorden en el crecimiento celular, destrucción de tejidos, control de muerte celular y alteraciones en otros procesos morfogénicos básicos (Rodríguez et al., 2015). Dentro de estos se encuentran los fármacos, los cuales en los EUA deben ser regulados y aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). En México desafortunadamente, la regulación por parte de la COFEPRIS es más laxa.

La FDA ha asignado una categoría denominada con las letras A, B, C, D o X, a los fármacos que poseen potencial teratogénico. Esta entidad reguladora señaló que el uso de remedios caseros mediados por productos naturistas, es un factor problemático durante el periodo de gestación, ya que el ser un producto natural, no garantiza que sea benéfico (Food and Drug Administration, 2018). Sin embargo, a causa de la propaganda incrementada en los medios de comunicación la demanda de estos productos naturistas va en ascenso, ya que son accesibles económicamente y de fácil consumo (Ekor, 2014).

Se conocen en México varias empresas dedicadas a la venta de productos naturistas, entre éstas destaca Herbalife Nutrition, que comercializa los productos Herbalife®. Actualmente, los estudios sobre posibles efectos teratogénicos en embriones con productos de esta empresa son escasos; aunque parte, se ha propuesto un posible efecto dañino sobre el hígado y causa de hepatitis, como fue señalado por Stickel et al. (2009).

El hígado tiene una capacidad limitada de capacidad de unión de las proteínas para almacenar vitaminas. La hipervitaminosis es un fenómeno que se presenta cuando se supera esta capacidad y presenta una gran variedad de síntomas, entre los más peligrosos están el daño a membranas plasmáticas y lisosómicas en hígado; así como desmineralización de huesos. Entre los casos más comunes se encuentran la hipervitaminosis tipo A y D, causadas por exceso de vitamina A y D respectivamente (Paredes et al., 2018).

Existe una variedad de publicaciones que vinculan el consumo de suplementos alimenticios de origen herbal o botánico con daño hepático por hipervitaminosis. Durante el embarazo, una alta cantidad de ácido retinoico interfiere con los genes de segmentación, induciendo anormalidades (Engelking, 2017). La hipervitaminosis es un fenómeno asociado al consumo

de suplementos alimenticios, esto generalmente aunado a un consumo mayor al recomendado de los productos generalmente (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2012).

Manso y cols. (2008) describieron el caso de dos mujeres españolas que presentaron daños hepáticos tras el consumo de productos Herbalife® durante dos años, una de ellas presentó hepatitis aguda grado 4 en etapa crónica y una alta actividad de enzimas transaminasas hepáticas. Posteriormente, Garrido-Gallego et al. (2015) presentaron un caso clínico de una mujer de 56 años, que en biopsia presentó hepatitis lobular con necrosis confluyente (hepatitis subfulminante) y regeneración nodular y alta actividad de enzimas transaminasas séricas, relacionados con el consumo regular de productos Herbalife y jugo de Noni.

A pesar de los daños hepáticos registrados, se desconoce si los productos Herbalife® son capaces de producir anomalías durante el desarrollo embrionario. México es uno de sus mayores mercados al representar poco más del 11% de las ventas globales. De acuerdo con el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) en México nacen aproximadamente 120 mil niños que presentan algún tipo de malformación, por lo que se considera un problema de salud pública.

Existen varios modelos experimentales para el estudio de la embriogénesis, como el huevo de pollo (*Gallus gallus domesticus*), que ofrece una opción viable para el estudio de este proceso y las patologías que se puedan presentar, de una manera accesible y detallada, pues sirve para el estudio de múltiples aspectos ontogenéticos y teratogénicos (Contreras et al., 2015).

El presente trabajo tiene como propósito estudiar la teratogenicidad, producida por los productos del programa de embarazo Herbalife®, en el desarrollo embrionario del pollo.

Metodología

Obtención de los embriones de pollo y del programa de embarazo Herbalife®

Se compraron 50 huevos de pollo fértiles, en el día 1 de desarrollo, en la empresa Aves Libres de Patógenos, S.A. de C.V. (Tehuacán, Puebla). Tres productos del programa de embarazo Herbalife® (PEH): Fórmula 1, Multivitamínico y Xtra-cal se adquirieron de manera directa con la empresa. El Multivitamínico se diluyó a una concentración final de 0.636 mg en 30 µL de agua, del Xtra-cal se diluyeron 1.48 mg en 30 µL de agua y el Fórmula 1 se diluyó 12.48 mg en 60 µL de agua.

Diseño experimental

Los embriones se distribuyeron al azar en tres grupos de 14 embriones, correspondientes a cada uno de los tratamientos a estudiar del PEH, y un grupo de 8 huevos como control, con agua destilada. En la cámara de aire del huevo, se hizo una pequeña abertura con una aguja de disección, y con una microjeringa Hamilton, se aplicó cada uno de los tratamientos del PEH, en un volumen de 30 μ L, sin tocar al vitelo o al blastodermo en formación. Finalmente, la abertura se selló con cinta Micropore y los embriones de pollo se introdujeron en una incubadora marca Casser modelo 200, a 37°C, con ventilación y en un ambiente húmedo (60-80% de humedad), donde se mantuvieron hasta el momento adecuado. De cada grupo experimental, se obtuvieron 7 embriones el día 13 de incubación, y 4 del grupo control. Se extrajeron los embriones para ser pesados y medidos longitudinalmente. La mitad de los embriones se fijó en solución Bouin para ser observados a nivel anatómico, de los restantes se extrajeron el cerebro, hígado y corazón para observar cortes histológicos de cada uno. El resto de los embriones se conservó hasta el día 16 de gestación replicando el procedimiento del día 13.

Pruebas bioquímicas

De los embriones del día 13 y 16 de gestación, antes de que se fijaran, se extrajo una fracción de entre la tercera o cuarta parte del hígado, que se homogeneizó en solución salina en proporción 1:5. El extracto se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos; se obtuvo el sobrenadante y se cuantificó la actividad de catalasa por el método de Aebi (1984), que se relacionó con la cantidad de proteínas cuantificadas por el método de Lowry et al. (1951).

Histología

Los embriones eviscerados fueron fijados en formaldehído al 10% por 24 horas, para proceder con la deshidratación con alcoholes a concentraciones crecientes. Se aclararon con alcohol amílico y después se hizo la inclusión en parafina grado histológico. De los cubos se realizaron cortes de 7 μ m con un microtomo de rotación Leica RM2125 RT. Por último, las laminillas se desparafinaron con xilol y alcoholes en concentraciones decrecientes. Se tiñeron corazón e hígado con el método de rutina hematoxilina – eosina, y el cerebro con tinción de Nissl (Brusco, 2014).

Análisis estadístico

Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($\alpha=0.05$) al peso y longitud corporal, peso y longitud del cordón umbilical y la actividad de la catalasa. Para los datos que no presentaron normalidad se les aplicó la prueba de Kruskal Wallis (peso corporal del día 16 y la

longitud corporal de día 13 y 16); se usó la prueba de Mann-Whitney apareada para identificar aquellos tratamientos con diferencias significativas. A los datos que si presentaron normalidad se les realizó ANOVA de un factor (peso corporal día 13, peso del cordón umbilical, longitud del cordón umbilical y actividad de la catalasa); Se hizo la prueba de Tukey para conocer si existen diferencias entre los tratamientos. Las pruebas estadísticas fueron realizadas en el software Past 4.0 (Hammer *et al.*, 2001).

Para representar los datos se realizaron gráficos de barras en Excel 2013 Plus para Windows 10.

Resultados y discusión

Peso y longitud corporal y del cordón umbilical

El peso corporal de los embriones del día 13 fue menor para los embriones tratados con Fórmula 1 con respecto al control y el Xtra-cal ($P<0.05$), mientras que para los grupos con Multivitamínico y Xtra-cal, hubo tendencia a aumentar, pero no de manera significativa (Figura 1). Por otra parte, para el día 16 no se observan diferencias significativas. En cuanto al peso del cordón umbilical del día 13, tampoco hubo diferencias significativas; sin embargo, se puede observar que el Multivitamínico causó mayor peso de los embriones con respecto al control y los otros dos tratamientos (Figura 2). En el día 16, el peso sí tuvo diferencias significativas en los embriones sometidos a cualquiera de los tres tratamientos, con respecto al control.

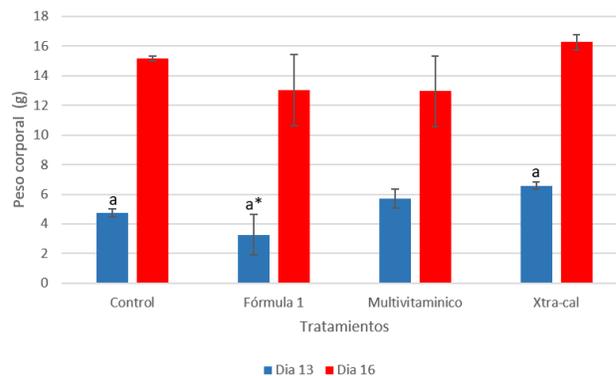


Figura 1. Peso corporal de embriones de pollo de día 13 y 16 bajo tratamiento con el PEH. El tratamiento con Fórmula 1 causó un peso menor al control el día 13 ($P < 0.05$). Para el día 16 no existen diferencias significativas, en ningún grupo con respecto al control.

Con respecto al peso del cordón umbilical, el día 13 no se presentó diferencias significativas los tratamientos con el grupo control. Para el día 16 se observó que los pesos de los cordones de los tres tratamientos fueron significativamente bajos respecto al control (Figura 2).

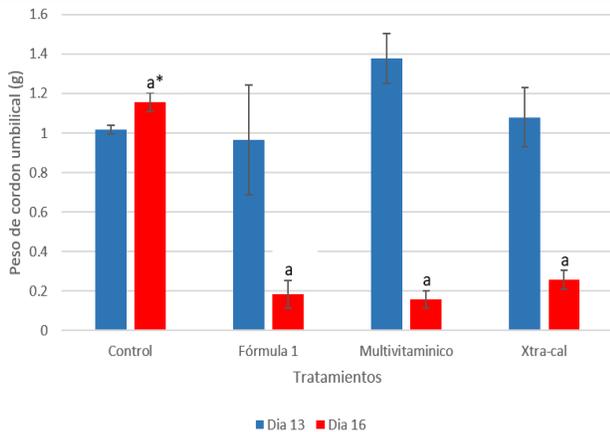


Figura 2. Peso del cordón umbilical de embriones de pollo de día 13 y 16 bajo tratamiento con el PEH. No hay diferencias significativas en el día 13, pero se puede apreciar que el Multivitamínico causó tendencia a aumentar el peso del cordón, a diferencia de la Fórmula 1 y el Xtra-cal. En el día 16 se observan diferencias significativas entre los tratamientos y el control ($P < 0.05$).

En cuanto a la longitud corporal de embriones de día 13, los embriones tratados con Xtra-cal fueron mayor respecto al control y al tratamiento con Fórmula 1. El día 16 el tratamiento Xtra-cal produjo embriones ligeramente más largos, y significativamente mayor al tratamiento con Multivitamínico (Figura 3).

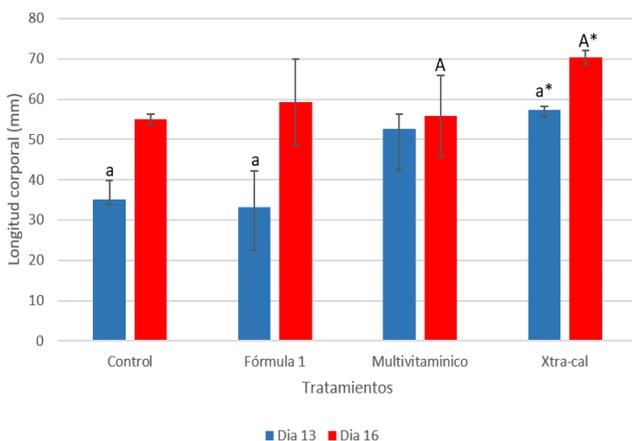


Figura 3. Longitud corporal de embriones de pollo de día 13 y 16 bajo tratamiento con el PEH. Se encontró diferencia significativa entre los embriones tratados con Fórmula 1 con el Xtra-cal y el control ($P < 0.05$). En el día 16 el Xtra-cal es significativamente diferente al Multivitamínico ($P > 0.05$).

Por último, en la longitud del cordón umbilical en ambos días presentó diferencias significativas, el tratamiento con fórmula 1 en el día 13 fue muy inferior a los otros dos tratamientos y el control, mientras que en el día 16 en las longitudes de los cordones fueron muy cortas comparadas con el control (Figura 4).

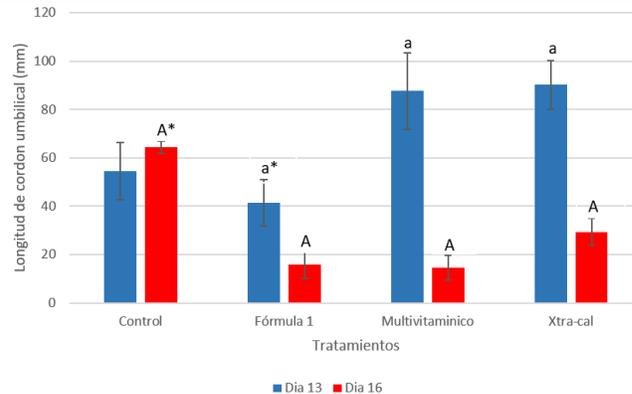


Figura 4. Longitud del cordón umbilical de embriones de pollo de día 13 y 16 bajo tratamiento con el PEH. Se encontró diferencia significativa entre los embriones tratados con Fórmula 1 con respecto a los otros tratamientos y el control ($P < 0.05$). En el día 16 los cordones umbilicales de los embriones de los tratamientos fueron estadísticamente menores al control ($P < 0.5$).

El Multivitamínico comparado con el control no afectó el peso y longitud corporal de los embriones, pero aquellos tratados con Fórmula 1 si presentaron bajo peso y corta longitud, esto se debe a que posiblemente al efecto de la albúmina como lo mencionan Willems et al. (2015), ya que, al privar de esta proteína a los embriones de pollo, se causa menor peso corporal, ya que esta proteína se ve involucrada en la maduración del tracto digestivo. Los embriones de los tres tratamientos presentaron un cordón umbilical corto y de bajo peso respecto al control puede explicarse con lo que opinan Arteaga y García (2017), que un cordón corto y por ende su bajo peso, se relaciona con anomalías causadas referentes a defectos en el sistema nervioso y las bandas amnióticas.

Cortes morfo-anatómicos

Con un 33% los problemas abdominales son morfológicamente el daño más evidente y frecuente en los embriones, como se muestra en las figuras 5 y 6, ya que se observaban al momento de abrir el huevo y examinar de manera gruesa al embrión. Los órganos no se desarrollaron de forma completa, además de tener gastrosquisis. Algunas de las anomalías morfológicas encontradas en los embriones de 16 días tratadas con el PEH, fue la ectopía siendo la más evidente y como se ve los resultados en la figura 5 presentándose una exposición visceral abdominal, debido a la falta de cierre de las paredes abdominales causada por la falta de desarrollo de bocetos mesenquimales, lo que conduce a una menor diferenciación de los pliegues embrionarios, al igual que en el estudio realizado por Salvaggio et al. (2018) donde obtienen resultados similares utilizando neonicotinoide, y se presentan hernias viscerales en los embriones de días 15 y 20.



Figura 5. Embrión de pollo de día 16: exposición visceral abdominal, debido a la falta de cierre de las paredes abdominales. A: Multivitamínico, B: Fórmula 1, C; Grupo control.

Además de la gastrosquisis, se encontraron daños oculares en 16% de los casos, presentaron diferencia de tamaños y el iris en distintas posiciones, como se puede ver en las imágenes marcadas con las letras C y D de la figura 6.



Figura 6. Cortes de día 16 con los tratamientos de Xtra-Cal, A: Gastrosquisis, B: corazón no desarrollado, C: Cavidades oculares de diferente forma y tamaño, D: Iris en la parte central.

Otro resultado muy evidente al momento de obtener las muestras, fue la embriotoxicidad, evaluada como mortalidad, sobre todo en embriones con tratamiento de Fórmula 1 y de Multivitamínico (Figuras 7 y 8).



Figura 7. Toxicidad de embrión de pollo con tratamiento de multivitamínico del día 16 (A); se observa embrioletalidad (B).



Figura 8. Toxicidad en embrión de pollo con tratamiento de fórmula 1 del día 13. En la letra A se observa el control con un desarrollo normal y en la letra B es el embrión que manifestó embrioletalidad.

De acuerdo con los resultados obtenidos, en los cortes realizados para conocer daño fisiológico, se encontró un mayor daño en los embriones que fueron incubados con el tratamiento Xtra-cal, seguido de los que fueron incubados con Multivitamínico y finalmente los de Fórmula 1. Como se observa en la figura 9 en los paneles A, B y C se presentan puntos necróticos, siendo el daño más evidente en el cerebro, en la letra D no se desarrollan de forma correcta las cavidades, sin embargo, la presencia de abscesos se encuentra en todas las muestras, siendo más evidente en la letra c, estos daños cerebrales ocupan el 23% de daños morfológicos en los embriones.

Se presentan distintas malformaciones en las cavidades oculares y el cerebro; el daño más evidente y frecuente en todos los cortes realizados fueron los puntos necróticos y abscesos en el cerebro, como refieren Senties y Corona (2005), los abscesos cerebrales son infecciones focales de parénquima caracterizadas por una zona central de licuefacción y necrosis rodeadas de una cápsula fibroglítica que mantiene localizada la infección, sin embargo, un estudio epidemiológico mostró que éstos se forman principalmente por diseminación hematógena y aunque gran cantidad de abscesos no tienen un origen conocido, también pueden ser producto de infección posquirúrgica y difusión directa.

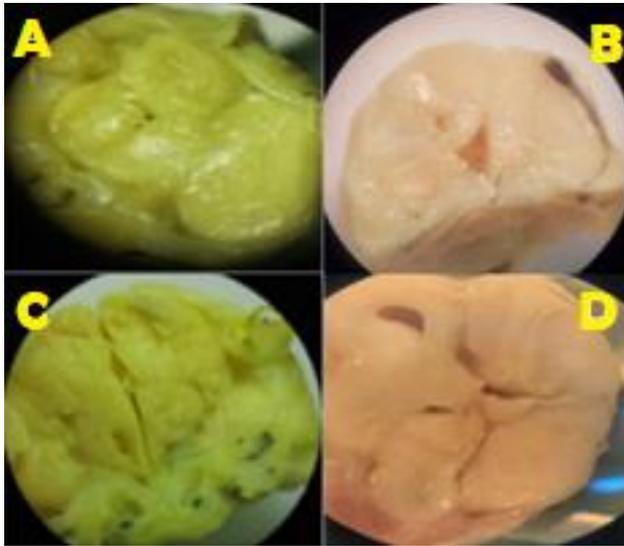


Figura 9. Cortes de día 13 con daños morfológicos en cerebro con tratamiento de Xtra-cal, A: No se presentan las divisiones hemisferiales, B: Se presenta daño necrótico, C: presencia de puntos necróticos y abscesos, D: Cerebro de grupo control sin daños.

Los daños observados fueron registrados en todos los casos, se adjudicó como daño principal el encontrado en corazón o cerebro, y como daño menor el que afecta a otros órganos; de igual manera, si un mismo embrión tiene un daño mayor y uno menor, no se contabiliza éste (Solecki et al, 2015). El compendio de los daños observados se muestra en la figura 10.

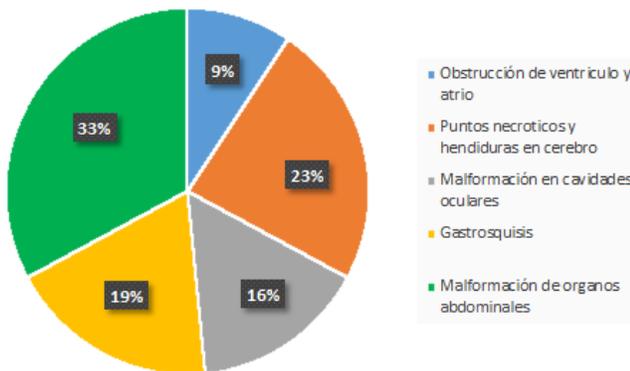


Figura 10. Gráfica porcentual de daños morfológicos más frecuentes, donde el daño con mayor presencia y porcentaje de malformaciones en órganos abdominales con 33%, seguido de puntos necróticos y hendiduras en cerebro con 23 % y el daño menos frecuente con 9% la obstrucción del ventrículo y atrio en el corazón.

Actividad de catalasa hepática

El tratamiento con Xtra-cal causó el día 13 un incremento significativo de la actividad ($P < 0.05$) con respecto de los otros dos tratamientos y el control; los tratamientos con

Fórmula 1 y Multivitamínico, causan aumento no significativo de la actividad con respecto al control (Figura 11).

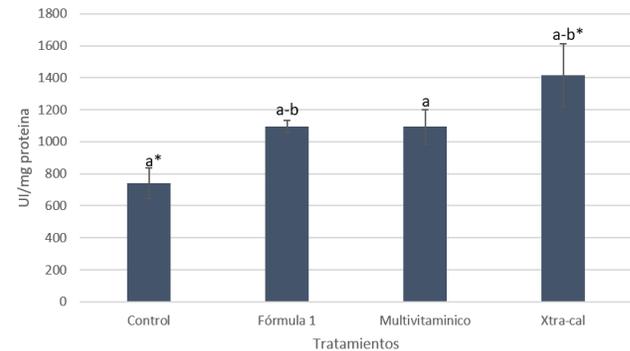


Figura 11. Actividad de la catalasa en hígado de embriones de pollo de día 13, los datos representados son el promedio \pm error típico de tres repeticiones independientes. ($P > 0.05$) con respecto al control.

En el día 16, de acuerdo con el ANOVA no existieron diferencias significativas entre grupos, sin embargo, se puede observar que el Multivitamínico tuvo más actividad presente a comparación de los otros dos tratamientos; el tratamiento con Fórmula 1 causó una disminución de actividad de la catalasa con respecto al control (Figura 12).

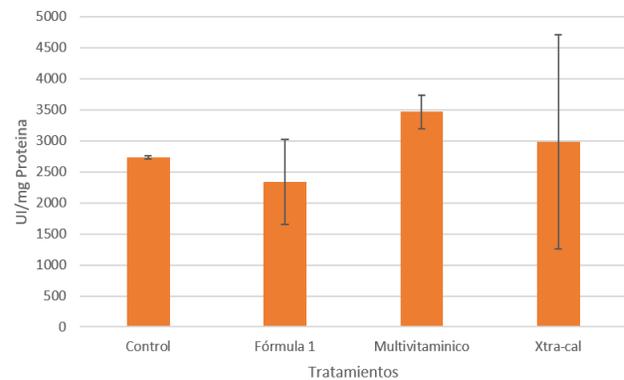


Figura 12. Actividad de la catalasa en hígados de embriones de pollo del día 16. No se observaron diferencias significativas entre el control y los tres tratamientos ($P < 0.05$).

La catalasa se caracteriza por poseer poca afinidad a su sustrato además de tener más actividad en el hígado como lo indican Céspedes et al. (1996), por lo que, con base a esto, la alta actividad en del día 13 puede deberse por una concentración de peróxido de hidrogeno mucho más elevada a la común que requiere la enzima, por lo que los tres tratamientos pueden contener ROS o bien precursora a estas sustancias.

La menor actividad del Fórmula 1 del día 16 puede deberse a presencia de sustancias capaces de inhibir la

actividad de la enzima, de manera similar a como se encontró con cyprodinil y fludioxonil que causan inhibición por sustrato de la catalasa de hígado de bovino (Karadag y Ozhan (2015).

Histología de los órganos fetales

Cerebro

En los cortes de cerebro, se pueden observar los, denominados cuerpos de Nissl. El cerebro del control se observa una muestra más homogénea, a comparación del corte con Fórmula 1 el cual tiene gran número de cuerpos de Nissl o neuronas, sin embargo, estas se amplían de manera ramificada, lo que nos indica presencia de células de Purkinje, las cuales logran invadir partes de la sustancia blanca y la sustancia gris. Esto es un tanto anormal ya que las células de Purkinje son neuronas muy largas que representan las partes funcionales del cerebelo; por otro lado, la sustancia blanca se encuentra en los tejidos más profundos del cerebro, contiene fibras nerviosas (axones) rodeadas de mielina. De igual manera se logran distinguir neuronas en la mayoría de los cortes (Figura 13).

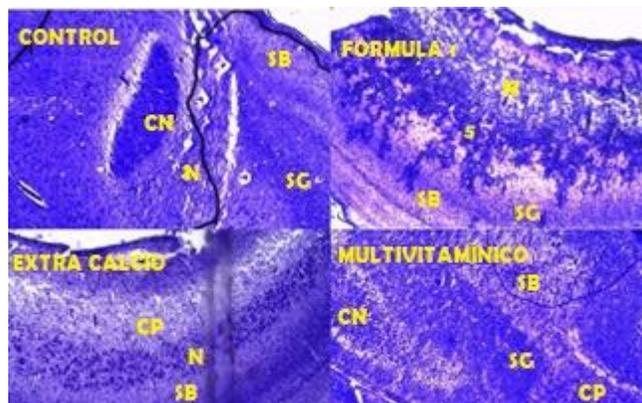


Figura 13. Cortes histológicos de cerebro (Nissl) de embrión de pollo 10x. CN: Cuerpos de Nissl, N: neuronas; SB: sustancia blanca; SG: sustancia gris; CP: células de Purkinje.

Hígado

En el hígado se aprecian los núcleos de los hepatocitos gracias a la tinción con hematoxilina y eosina. En el corte del control se ve claramente la lámina o placa de hepatocitos perfectamente distribuida, mientras que en las otras imágenes que contienen los tratamientos, se observa una malformación celular. En hígado con tratamiento de Fórmula 1 se observan líneas de hemorragia y puntos necróticos severos, es por ello que hay destrucción de la placa limitante. En el caso de los hígados tratados con Xtra-cal y Multivitamínico las células no están bien diferenciadas, no se logran distinguir los núcleos, ya que presentan cariólisis y hemorragias severas; las zonas oscuras que logran

distinguirse son puntos necróticos erosivos. Al no estar bien diferenciadas las células, el tejido no se encuentra bien formado, como ya antes se había mencionado (Figura 14).

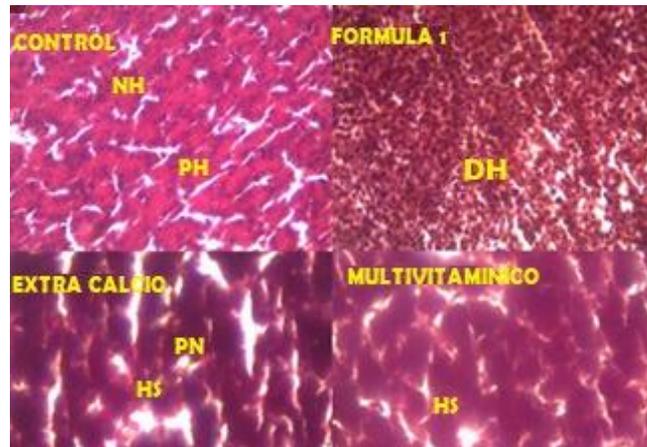


Figura 14. Cortes histológicos de Hígado de embrión de pollo 40x. NH: núcleo de hepatocitos, PH: placa de hepatocitos, DH; daño hemorrágico, HS: hemorragia severa, PN: puntos necróticos.

Corazón

Con el aumento a 40x se puede apreciar de manera cercana las células o miocitos que forman los tejidos como el miocardio. La arteria que se muestra en la imagen del control que contiene una arteria bien definida con eritrocitos en su interior, contrastando con los tratamientos, los cuales tienen arterias visibles pero no bien formadas, en donde los eritrocitos no son visibles y muestran rompimiento en el miocardio, Las fibras de colágena no están bien estructuradas y se observan hemorragias a lo largo del tejido (Figura 15).

Los cortes histológicos del corazón mostraron hemorragias los cuales tienen arterias visibles pero no bien formadas, eritrocitos no visibles así como rupturas del miocardio, esto es debido a, como lo menciona Gao et al. (2018) la alta presencia de agentes ROS afecta la proliferación celular induciendo la apoptosis excesiva obtenidos de sus resultados en embriones de pollo con tratamientos excesivos de sal además demostrar que la sal inhibe la diferenciación celular cardíaca. Estos resultados son similares ya que en este trabajo se obtuvo más actividad presente de la catalasa en los tratamientos (a excepción de los embriones tratados con Fórmula 1, y obtenidos el día 16), lo cual indica una alta presencia de peróxido de hidrógeno por lo que daña fisiológicamente a la célula y por ende pasa a daños celulares y necrosis.

A partir de la observación morfológica de las muestras y del estudio de preparaciones histológicas, observamos que el PEH puede causar efectos teratogénicos en

embriones de pollo. Principalmente se destacaron en el período terminal de desarrollo, al día 16 de incubación en los distintos tratamientos analizados.

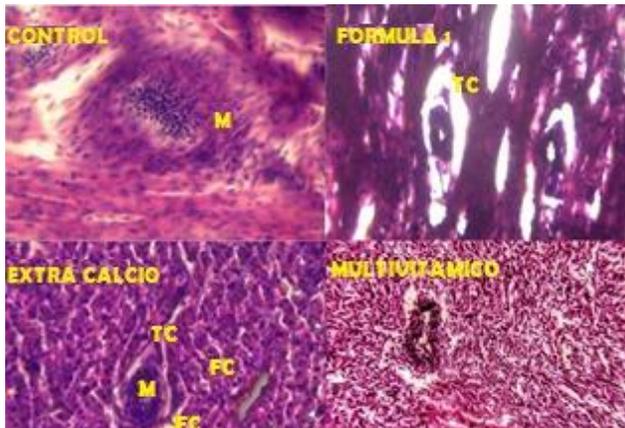


Figura 15. Cortes histológicos de corazón de embrión de pollo 40x. Miocitos, TC: tejido conectivo FC: fibras de colágeno.

Nuestros resultados guardan relación con los de Khosravi et al. (2018), quienes señalan que obtuvieron hiperemia en el día 12 en corazón, riñón e hígado y en el día 18 los efectos fueron más agresivos mostrando degeneración hepatocelular y miocitos poco desarrollados con la dosis más alta de antimonio de meglumina. Otro estudio realizado por Salvaggio et al. (2018), demuestra que el neonicotinoide afecta de forma severa al hígado provocando hemorragias y esteatosis en una concentración de 9.2×10^{-7} . La necrosis erosiva y en puente son indicadores de hepatitis B y hepatitis crónica, por lo que se confirma que los embriones desarrollan dicha enfermedad a causa de PEH. También un factor a destacar en el producto Fórmula 1 y Multivitamínico son las altas cantidades de vitaminas entre ellas la A. estas aberraciones pueden indicar un exceso de vitamina A, esto lo explica claramente Paredes et al. (2018) en su trabajo con embriones de ratas al administrar vitamina A en exceso mostrando daños hepáticos parecidos a los nuestros con el argumento de que la célula al entrar en degeneración vacuolar y necrosis, las células activan sus mecanismos ante la agentes extraños, además de que se presenta liberación de hidrolasas ácidas. Con lo mencionado de dichos autores sus resultados son acordes a los nuestros además de que se presentó necrosis erosiva y en puente, estos daños obtenidos respaldan que los tratamientos usados de PEH son tan dañinos como el fármaco antimonio de meglumina y el insecticida neonicotinoide. La teratogénesis así como la toxicidad, se presentan según la dosis que se le administre al embrión, ya que de acuerdo a Vorhees (1986) un teratógeno puede causar, desde dosis pequeñas teratogénesis funcional; con dosis más elevadas daño al crecimiento, y aparición de malformaciones, y con dosis mucho más elevadas, causa

embrioletalidad, aunque también la susceptibilidad de cada organismo juega un papel importante en la aparición de los diversos daños.

Conclusiones

La administración de tres de los cinco constituyentes del PEH causan en embriones de pollo, daño al crecimiento, aparición de malformaciones y embrioletalidad, por lo que se sugiere evitar el uso de éste programa en nuestra especie; si bien para tener mayor base para esto, harían falta estudios en varias especies de mamíferos como sugiere la FDA, así como recolectar datos clínicos concluyentes.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado parcialmente por el proyecto PE210319, del Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación, DGAPA, UNAM. Los autores desean reconocer la participación, en los aspectos técnicos, a los estudiantes de biología Isaac Alejandro de la Rosa García, Dagny Jennifer García Maldonado y Axel Javier Méndez Serrano.

Referencias

- Aebi HE: Oxidoreductases acting on groups other than CHO. 3.9 Catalase: hydrogen-peroxidase: hydrogen-peroxidase oxidoreductase E. C. 1. 11. 1. 6. In: Bergmeyer HU, ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. III. Weinheim: Verlag Chemie. 1983: 273-286.
- Arteaga M.A., García P.I. (2017). *Embriología humana y biología del desarrollo*. 2ª. Ed. Panamericana. México.
- Brusco H., López J., Loidl C. (2014). *Histología médico-práctica*. Barcelona. España. Elsevier.
- Céspedes E., Hernández I., Llópez N. (1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II Catalasa. *Rev. Cub. Invest. Biomed.* 15(2). Recuperado el 15 de julio de 2020 de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001996000200001&lng=es&nrm=iso
- Contreras R.J., Martínez S.P., Santos R.I., Rojo R.C., (2015). El embrión de pollo como modelo experimental: ven y descubre la embriología. Recuperado el 20 de Agosto de 2019 de <http://www.lcsanpablo.es/mangel/pollo.pdf>.
- Ekor M. (2014). The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol.*, 4: 177. <http://doi:10.3389/fphar.2013.00177>.
- Engelking L.R. (2015). *Textbook of veterinary physiological chemistry*, Editorial Science Direct. Pp. 282-287. <http://doi:10.1016/b978-0-12-391909-0.50044-x>.

- Food and Drugs Administration. (2018). Algunos suplementos dietéticos importados y productos medicinales de venta libre pueden hacerle daño. Recuperado el 8 de enero de 2020 de <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/algunos-suplementos-dieteticos-importados-y-productos-medicinales-de-venta-libre-pueden-hacerle-dano>.
- Gao L., Wang G., Zhang J., Li S., Chuai M., Bao Y., Hoher B., Yang X. (2018). High salt-induced excess reactive oxygen species production resulted in heart tube malformation during gastrulation. *J. Cell. Physiol.*, 233: 7120-7133.
- Garrido-Gallego F., Muñoz R., Muñoz C., Delgado P., Fernandez I., Castellano G. (2015). Fallo hepático agudo en paciente consumidora de productos de Herbalife y zumo Noni. *Rev. Esp. Enf. Dig.*, 107(4). Recuperado el 20 de agosto de 2020 de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082015000400017&lng=es&nrm=iso.
- Hammer Ø., Harpe D.A.T., Ryan P.D. (2001.) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontol. Electr.*, 4 9. Recuperado el 28 de abril de 2020 de: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf.
- Karadag H., Ozhan F. (2015). Effect of cyprodinil and fludioxonil pesticides on bovine liver catalase activity. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 29: 40-44.
- Khosravi A., Sharifi I., Tavakkoli H., Derakhshanfar A., Keyhani A.R., Salara Z., Mosallanejad S.S., Bamorobvat M. (2018). Embryonic toxico-pathological effects of meglumine antimoniate using a chick embryo model. *Plos One*. 13: e0196424. <http://doi:10.1371/journal.pone.0196424>.
- Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- Manso G., López-Rivas L., Duque M., Salgueiro E. (2008). Spanish reports of hepatotoxicity associated with Herbalife® products. *J. Hepatol.*, 49: 289-290.
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (2012). LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Recuperado el 20 de Agosto de 2019, de <https://europepmc.org/article/NBK/NBK547852>
- Paredes L.D.T., Sanabria N.J.G., Zaldívar G.I., Crespo D.A. (2018). Hipervitaminosis A y lesiones hísticas hepáticas en ratas Sprague Dawley recién nacidas. *Rev. Cien. Méd. Pinar Rfo.*, 22:2. Recuperado el 25 de noviembre de 2019, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156131942018000200003&lng=es&tlng=es.
- Pérez-Landeiro A., Allende-Bandrés M., Fernández J.A., Palomo P.P., (2002). Teratogénesis: clasificaciones. *Farm. Hosp.*, 26: 171-177.
- Rodríguez M., Tamayo F.M., Rivadeneira F. (2015). Agentes Teratogénicos y Teratogenicidad. Recuperado el 20 de agosto de 2020 de: <https://www.javeriana.edu.co/documents/5782625/5901279/10Teratogeno.pdf/8d22feb3-096b-4ddf-b31c-94a9bba1357c>.
- Salvaggio A., Antoci F., Messina A., Ferrante M., Copat C., Ruberto C., Scalisi E.M., Pecoraro R., Brundo M.V. (2018). Teratogenic effects of the neonicotinoid thiacloprid on chick embryos (*Gallus gallus domesticus*). *Food Chem. Toxicol.*, 118: 812-820.
- Solecki R., Rauch M., Gall, A., Buschmann J., Clark R., Fuchs A., Kan H., Heinrich V., Kellner R., Knudsen T., Li W., Makris S., Ooshima Y., Paumgarten F., Piersma A., Schönfelder G., Oelgeschläger M., Schaefer C., Shiota K., Ulbrich B., Ding X., Chahoud I. (2015). Continuing harmonization of terminology and innovations for methodologies in developmental toxicology. *Reprod. Toxicol.*, 57: 140-146.
- Stickel F., Droz S., Patsenker E., Bogli-Stubler K., Aebi B., Leib S. (2009). Severe hepatotoxicity following ingestion of Herbalife nutritional supplements contaminated with *Bacillus subtilis*. *J. Hepatol.*, 50(1). 111-117.
- Valdés Y., Sánchez E., Fuentes S. (2018). Malformaciones congénitas relacionadas con los agentes teratógenos. *Corr. Cient. Méd.*, 22: 652-666.
- Vorhes, C. (1986). Principles of behavioral teratology. En: Handbook of behavioral toxicology (Riley, E.P. y Vorhees C.V. editors). Plenum Press, New York. 23-48
- Willems E., Wang Y., Koppenol A., Lesuisse J., Franssens M., Decuyper E., Buyse, J., Everaert N. (2015). Reduced protein availability by albumen removal during chicken embryogenesis decreases body weight and induces hormonal changes. *Exp. Physiol.*, 100: 1298-1308.