

Toxicidad a dosis repetida de la decocción de *Solanum torvum* Sw. (predejera) en ratas

Toxicity by repeated doses of *Solanum torvum* Sw. decoction (predejera) in rats

Liliana Pérez Jackson^I; Alfredo Alfonso Castillo^{II}; Onel Fong Lores^{III}; Juan Betancourt Hernández^{IV}; Hilario Salas^V; Edgar Puente Zapata^{VI}; Nioslaymy Wawoe Díaz^{VII}; Yoandra Mora Tassé^{VII}

^ILicenciada en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Medicina Natural y Tradicional. Aspirante a Investigadora. Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). Santiago de Cuba, Cuba.

^{II}Doctor en Medicina Veterinaria. Máster en Toxicología Experimental. Profesor. TOXIMED. Santiago de Cuba, Cuba.

^{III}Licenciado en Bioquímica. Investigador Agregado. Instructor. TOXIMED. Santiago de Cuba, Cuba.

^{IV}Doctor en Medicina Veterinaria. Máster en Patología Clínica. TOXIMED. Santiago de Cuba, Cuba.

^VTécnico de Laboratorio Clínico. TOXIMED. Santiago de Cuba, Cuba.

^{VI}Doctor en Medicina Veterinaria. TOXIMED. Santiago de Cuba, Cuba.

^{VII}Licenciados en Tecnología de la Salud. TOXIMED. Santiago de Cuba, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Solanum torvum* Sw., comúnmente conocida en la zona oriental de Cuba como predejera, pertenece a la familia Solanaceae y es muy empleada por sus propiedades medicinales tradicionales como antimicrobianas, antiartríticas y antiinflamatorias.

OBJETIVOS: evaluar la toxicidad a dosis repetidas por 28 d de la decocción de hojas y tallos *S. torvum* por vía oral en ratas.

MÉTODOS: se realizó un ensayo de toxicidad a dosis repetida por el método de *test* límite por espacio de 28 d a una decocción de la planta *S. torvum* a una dosis de 1 000 mg/kg, administrada por vía oral, de ratas Sprague Dawley. Se efectuaron

exámenes de hematología, bioquímica sanguínea y análisis anatomopatológico e histopatológico correspondiente.

RESULTADOS: no se observaron signos de toxicidad en los animales. No se reportaron afectaciones en el peso corporal. Los resultados del análisis histopatológico arrojaron ausencia de daños orgánicos ocasionados por la decocción evaluada y corroboraron los resultados antes expuestos.

CONCLUSIONES: en las condiciones del ensayo, la decocción de hojas y tallos de *S. torvum* no reportó reacciones tóxicas imputables a la sustancia ensayada.

Palabras clave: plantas medicinales, extractos vegetales, prueba de toxicidad, *Solanum torvum*.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Solanum torvum* Sw., commonly known in Cuban eastern zone as predejera, belongs to Solanaceae family and is very used due to its traditional medicinal properties as antimicrobial, antiarthritic and anti-inflammatory.

OBJECTIVE: to assess the toxicity level by repeated doses for 28 days of leaves and stems decoction of *S. torvum* by oral route in rats.

METHODS: a toxicity trial was made in repeated doses by limit test method for 28 days in a decoction of *S. torvum* in a 1 000 mg/kg dose, administered by oral route to Sprague Dawley rats. Hematology, blood Biochemistry examinations and anatomical and pathological and histopathological corresponding analyses were made.

RESULTS: there were not toxicity signs in animals and no affectations in body weight. The results of histopathological analysis demonstrated the lack of organic damages provoked by the assessed decoction and corroborated the above results.

CONCLUSIONS: in trial conditions, the decoction of leaves and stems of *S. torvum* there were not toxic reactions attributable to essayed substance.

Key words: medicinal plants, plant extracts, toxicity test, *Solanum torvum*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales contienen principios activos, que si bien son los responsables de las propiedades terapéuticas que se les atribuyen, también lo son de las intoxicaciones y reacciones adversas que pueden aparecer si se emplean en dosis inadecuadas o por períodos prolongados. En la práctica esto supone un segmento no controlado de la terapia farmacológica, dada la posibilidad de efectos terapéuticos, tóxicos o interacciones que pueden causar. La existencia de plantas con un elevado potencial terapéutico constituye una alternativa farmacológica de marcado interés en el tratamiento de muchas enfermedades, de ahí la importancia de realizar estudios preclínicos con el propósito de detectar posibles efectos tóxicos posadministración.¹⁻³

La planta medicinal objeto de estudio es *Solanum torvum* Sw. (predejera) perteneciente a la familia Solanaceae, muy empleada en nuestro país por sus propiedades medicinales atribuidas tradicionalmente como antimicrobiana,

antiartrítico y antiinflamatorio, por lo que los autores del presente trabajo se dieron a la tarea de evaluar la toxicidad de la decocción de las hojas y tallos de *S. torvum* por vía oral a dosis repetidas en ratas durante 28 d.

MÉTODOS

Los estudios fueron conducidos cumpliendo las normas internacionales y lo establecido para el cuidado y uso de animales de laboratorio.⁴ Todo el procedimiento fue concebido como se estipula en el ensayo 407 de las Directrices de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). De la planta *Solanum torvum* se recolectaron hojas y tallos, fue certificada y avalada en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de Santiago de Cuba.

Se elaboró una decocción de hojas y tallos de *S. torvum*, la concentración se determinó basada en el contenido de sólidos totales. Se utilizaron en el estudio 30 ratas *Sprague Dawley*, 10 ratas por cada grupo de experimentación (5 hembras y 5 machos), con un peso promedio de 150 a 200 g. Se mantuvieron en condiciones convencionales, temperatura de 22 ± 3 °C, humedad relativa de 65 % como promedio y un fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

Un día previo al estudio se conformaron 3 grupos experimentales: el grupo control, al cual se le administró el vehículo, en este caso agua estéril; el grupo experimental que se le administró la decocción; y el grupo satélite, que se mantiene en estudio por un espacio de 42 d para evaluar la toxicidad de la decocción a largo plazo. Las ratas se pesaron para determinar el volumen de decocción a administrar. Este peso se realizó semanalmente para que la dosis fuera la misma durante todo el ensayo (1 000 mg de decocción de *S. torvum* en dosis única). Al concluir los 28 d de administración y observación, se realizó la necropsia de los animales.^{5,6}

Observaciones realizadas

Se realizaron observaciones clínicas a los animales 2 veces al día, que incluyeron: cambios en la piel, pelos, ojos y membranas mucosas; también los sistemas respiratorio, circulatorio, autónomo y nervioso central, así como la actividad somatomotora y el comportamiento de respuesta a los estímulos externos. Se prestó especial atención a observaciones de letargo, sueño, coma, temblores y convulsiones.⁶

Peso corporal

Los animales se pesaron al inicio del estudio y los días 7, 14, 21, 28; así como, los días 35 y 42 para el grupo satélite. Este parámetro, no solo se tuvo en cuenta para el cálculo del volumen de la decocción a administrar, sino para detectar posibles afectaciones al peso inducidas por la sustancia durante la etapa experimental.

Exámenes hematológicos

Se determinaron en sangre total las variables: hemoglobina (método de Drabkin), conteo global y diferencial de leucocitos.

Exámenes bioquímicos

Se determinaron las variables: colesterol total, proteínas totales, glucosa, triglicéridos y las enzimas hepáticas ALAT y ASAT.⁷

Estudios anatomopatológicos

Macroscópico

Incluyó examen de la superficie externa del cuerpo, todos los orificios y cavidades (cranial, torácica y abdominal), así como los órganos (hígado, riñones, adrenales, testículos, epidídimo, timo, bazo, pulmones y corazón) de todos los animales.

Histopatológico

Se tomaron muestras de los órganos siguientes: cerebro, cerebelo, puente de Varolio, médula espinal (región cervical, torácica y lumbar) glándula tiroides, paratiroides, timo, esófago, glándulas salivales, estómago, intestino delgado y grueso (incluidas las placas de *Peyers*), hígado, páncreas, riñones, adrenales, bazo, corazón, tráquea y pulmones, aorta, gónadas, órganos sexuales accesorios (glándulas mamarias, próstata), útero, vejiga urinaria, ganglios linfáticos (uno cerca de la vía de administración y uno distante de esta), el nervio periférico (ciático o tibial) preferentemente próximo al músculo, y una sección de médula ósea de los animales de todos los grupos. Las muestras se fijaron en formol al 10 % neutro, fueron procesadas por el método de parafina.⁸

Análisis estadístico

Para el análisis del peso de los animales se determinaron las medias y desviaciones estándar. Se utilizó la prueba Anova de un factor para la comparación de pares de estudio y se utilizó la prueba *t* para muestras pareadas, también se utilizó la prueba no paramétrica de *Mann-Withney*.

Para el análisis de los parámetros hematológicos y bioquímicos, se utilizó un análisis de varianza (Anova) tomando como factores los grupos confeccionados y los sexos, y por último, en las variables en que existieron diferencias, se le aplicó una prueba de *Posthoc de Duncan*. Los cálculos se efectuaron con el auxilio del programa SPS versión 11.5 para Windows, en una PC Pentium 4. Las variables procesadas fueron: peso, valores bioquímicos, valores hematológicos.^{9,10}

RESULTADOS

Signos clínicos

En ninguno de los animales tratados se observaron signos clínicos que pudieran asociarse a efectos tóxicos sistémicos; el comportamiento de los animales fue normal para la especie. Se reportó 100 % de supervivencia de los animales de experimentación.

Peso corporal

En la [tabla 1](#) se aprecia la variación del peso corporal (g) en los animales de estudios en el ensayo *test* límite de la decocción del *S. torvum*; se observó un aumento en el peso corporal y diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días del ensayo dentro de cada grupo, así como entre sexos.

Tabla 1. Variación del peso corporal (g) en ratas Sprague Dawley en el modelo de *test* límite de una decocción de *S. torvum*

Grupo	Sexo	Tiempo (días)				
		0	7	14	21	28
Control	Hembras	178,7 ± 17,07	197,92 ± 21,01	208,6 ± 23,41	223,72 ± 27,40	231,04 ±26,50
	Machos	219,64 ± 7,30	268,2 ± 14,98	310,8 ± 17,59	334,28 ± 26,43	359,44 ± 15,86
Experimental	Hembras	179,5 ± 10,71	206,64 ± 14,13	218,94 ± 18,39	234,48 ± 15,75	245,68 ± 18,54
	Machos	222,7 ± 4,86	263,5 ± 4,47	312,52 ± 4,87	342,48 ± 8,36	373,56 ± 9,54
Satélite	Hembras	179,4 ± 10,87	195,28 ± 17,17	210,22 ± 19,57	220,54 ± 24,40	234,5 ± 30,10
	Machos	216,88 ± 7,70	258,98 ± 15,77	296,24 ± 24,80	311,24 ± 29,50	329,7 ± 32,65

Exámenes hematológicos

En la [tabla 2](#) se muestra el comportamiento de los parámetros hematológicos evaluados en el estudio: hemoglobina y leucocitos totales, así como las subpoblaciones leucocitarias: linfocitos y neutrófilos en ratas Sprague Dawley, tras la administración oral de una decocción de la planta *S. torvum* durante un período de 28 d. En cada caso expuesto, los valores obtenidos se reportaron entre los valores de rango normales para la especie animal objeto de estudio. Las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) estuvieron dadas en los valores de hemoglobina para los diferentes sexos.

Exámenes bioquímicos

En la [tabla 3](#) se refleja el comportamiento de los metabolitos, triglicéridos, colesterol y proteínas totales. Los valores obtenidos en cada parámetro se encuentran ubicados entre los rangos normales para esta especie animal.

No obstante, el análisis estadístico arrojó que se aprecian diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores de colesterol de hembras y machos del grupo control, con hembras y machos de los grupos experimental y satélite. En el caso de los triglicéridos no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos de estudio; sin embargo, sí se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los sexos de cada grupo objeto de estudio. Las proteínas totales mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los animales machos del grupo experimental y los machos del grupo satélite; sin embargo, sus valores no sobrepasaron los rangos normales permisibles.

En la [tabla 4](#) se puede apreciar que solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), en los valores de ambas enzimas de hembras y machos del grupo satélite, con respecto a los grupos experimental y control. Los valores aportados de las actividades de ambas enzimas hepáticas oscilaron dentro del rango de valores normales establecidos a partir de los controles.

Estudio anatomopatológico

Durante el período de estudio no se originó la muerte de ningún animal de experimentación, 100 % se sacrificó al concluir la investigación. Al efectuarse la necropsia no se hallaron lesiones macroscópicas ni microscópicas imputables a la sustancia de ensayo, lo cual confirma la ausencia de alteraciones hematológicas y bioquímicas.

DISCUSIÓN

La búsqueda de nuevos fármacos de origen natural o la aplicación de una nueva tecnología, lleva implícito la realización de una serie de investigaciones previas que incluyen las relacionadas con aspectos de química farmacéutica, farmacología experimental (farmacocinética y farmacodinamia) y estudios toxicológicos, estos últimos son los que cumplen la finalidad de determinar la seguridad de su uso.

El peso de los animales en un estudio de toxicidad posee una importancia vital como posible indicador de daño provocado por la sustancia evaluada, por tal motivo una variación significativa en este indicador sugiere un posible daño orgánico; en este caso el aumento de peso de los animales estuvo dado en consecuencia con los días de estudio similar a lo publicado para esta especie, lo cual demostró la inocuidad de este producto en ese sentido.¹¹

En el análisis de los parámetros hematológicos se refieren valores superiores de la hemoglobina en las ratas Sprague Dawley machos con respecto a las hembras, esto coincide con lo reportado en la bibliografía para la caracterización de la especie animal objeto de estudio. Alteraciones en los valores de estos parámetros hematológicos son indicativo de alcance y profundidad de un daño.^{12,13}

Los exámenes bioquímicos reportan valores elevados de colesterol, estos resultados difieren de los encontrados en otros estudios, donde los valores de colesterol disminuyen con la administración de extracto acuoso de plantas del género *Solanum*. Vale destacar que las diferencias encontradas para este parámetro bioquímico se consideraron carentes de relevancia biológica.^{12,13}

Las enzimas alanina y aspartato aminotransferasas son biomarcadores considerados como las alarmas de daño hepático causado por exposición a sustancias de origen químico o natural, la variación en los valores que se reportan para estas enzimas carecen de importancia clínica. No se reportaron alteraciones que pudieran evidenciar la presencia de daño hepático.^{14,15}

Lo anteriormente expuesto permite concluir que en las condiciones empleadas, la sustancia evaluada no produjo alteraciones en la ganancia de peso corporal, tampoco provocó alteraciones anatomopatológicas atribuibles al efecto de la sustancia de ensayo sobre sistemas, órganos y tejidos. Las diferencias observadas en los parámetros hematológicos y bioquímicos para los 2 sexos, no son relevantes

biológicamente. Por lo cual afirmamos que la planta *S. torvum* a ese nivel de dosis, en el modelo experimental empleado y bajo las condiciones de laboratorio establecidas, carece de toxicidad. Sería válido la continuidad de estudios a esta planta medicinal, para lograr su registro como medicamento de origen natural.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ochoa A, González Y, Viso F. Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos. MEDISAN [serie en Internet]. 2006; [citado 22 Feb 2007].10(4). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol10_4_06/san12406.htm
2. Martín G. Los efectos adversos acaban con el mito de que lo "natural no es nocivo". Rev Esp Econ Salud. 2002;1(3). Disponible en: <http://www.economiadelasalud.com>
3. Miller LG. Herbal medicinals: selected clinical considerations focusing on known or potential drug-herb interactions. Arch Intern Med. 1998;158:2200-11.
4. Guía para el cuidado, uso y reproducción de los animales de experimentación en el CENPALAB. La Habana: CENPALAB; 2000. p. 8-18.
5. OECD. Guideline for the testing of chemicals. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents 407. Adopted by the council on 27th July, OECD, Paris; 1995. p. 1-28. Disponible en: <http://www.oecd.org/dataoecd/50/41/37477972.pdf>
6. CECMED. Requisitos para las solicitudes de inscripción, renovación y modificación en el registro de medicamentos de origen natural de uso humano. Ciudad Habana: MINSAP; 2001.
7. Alemán C. Reference database for the principal physiological indicators in three species of laboratory animal. Lab Anim. 2000;34(1):358-78.
8. Lillie G. Histopatología. Técnicas y prácticas histológicas. Madrid: Ed. ATIKA S.A.; 1995. p. 134-40.
9. Gad SC, Weil CS. Statistics for toxicologists. En: Principles and Methods of Toxicology. 3th ed. New York: Raven Press; 1994. p. 435-83.
10. Zar JH. Biostatistical analysis. 4ta ed. USA: Prentice Hall Ed.; 1999. p. 533-40.
11. Universities Federation for Animal Welfare. Terrestrial vertebrates. Part 3, Species kept in the laboratory. In: The UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals. 7. ed. V.1. Blackwell Science Ltd.; 1999.
12. Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB, et al. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. J Toxicol Environm Health. 1986;18:161-88.
13. Alemán C. Reference database of mains physiological parameters in Sprague Dawley rats from 6 to 32 months. Lab Anim. 1998;32(4):457-66.

14. Gómez A, Lizarraga P, Troncoso L. Efecto hepatoprotector del extracto puro de berenjena (*Solanum melongena* L.) frente al daño hepático inducido por tetracloruro de carbono en ratas. An Fac Med Lima [serie en Internet]. 2006 [citado 3 Abr 2007];67(Suppl1): Disponible en: <http://www.redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/379/37906706.pdf>

15. Vijayan P, Prashanth HC, Preach V, Dhanaraj SA, Shrishailappa B, Suresh B. Hepatoprotective effect of the total alkaloid fraction of *Solanum pseudocapsicum* leaves. Pharmaceutical Biol. 2003;41(6):443-8.

Recibido: 2 de abril de 2009.

Aprobado: 20 de abril de 2010.

Lic. *Liliana Pérez Jackson*. Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). Autopista Nacional Km 1 1/2, AP 4033, Santiago de Cuba, Cuba. Teléfs.: 53 (22) 64 1000, 53 (22) 64 3864. Correo electrónico: bebe@toxi.scu.sld.cu; antidotos@toxi.scu.sld.cu

Tabla 2. Comportamiento de los parámetros hematológicos en ratas Sprague Dawley en el ensayo de *test* límite de una decocción de *S. torvum*

Grupo	Sexo	Hemoglobina (g/L)	Leucocitos ($\times 10^9/L$)	Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	Linfocitos ($\times 10^9/L$)
Control	Hembras	123,8 \pm 1,64	6,40 \pm 0,93	1,36 \pm 0,36	5,00 \pm 0,71
	Machos	138,8 \pm 1,92	6,48 \pm 0,69	1,38 \pm 0,15	5,04 \pm 0,38
Experimental	Hembras	123,2 \pm 0,84	6,74 \pm 0,59	1,44 \pm 0,21	5,34 \pm 0,32
	Machos	137,2 \pm 2,77	6,68 \pm 0,59	1,40 \pm 0,16	5,42 \pm 0,41
Satélite	Hembras	125,2 \pm 1,92	6,72 \pm 0,60	1,34 \pm 0,15	5,52 \pm 0,86
	Machos	138,4 \pm 3,43	6,84 \pm 0,38	1,28 \pm 0,08	5,64 \pm 0,26

Tabla 3. Comportamiento de los metabolitos, triglicéridos, colesterol y proteínas totales en ratas Sprague Dawley en el ensayo de *test* límite de una decocción de *S. torvum*

Grupo	Sexo	Colesterol (mmol/L)	Triglicéridos (mmol/L)	Proteínas (g/L)
Control	Hembras	0,36 ± 0,29	0,26 ± 0,09	66,2 ± 2,77
	Machos	0,40 ± 0,19	0,22 ± 0,18	65,6 ± 2,70
Experimental	Hembras	1,60 ± 0,20	0,20 ± 0,10	63,2 ± 3,63
	Machos	1,58 ± 0,30	0,30 ± 0,14	66,4 ± 2,07
Satélite	Hembras	1,48 ± 0,34	0,34 ± 0,29	65,6 ± 3,58
	Machos	1,44 ± 0,21	0,24 ± 0,05	61,8 ± 3,49

Tabla 4. Comportamiento de las enzimas alanino aminotransferasa (ALAT) y aspartato aminotransferasa (ASAT) en ratas Sprague Dawley en el ensayo de *test* límite de una decocción de la planta *S. torvum*

Grupo	Sexo	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)
Control	Hembras	15,52 ± 4,02	16,64 ± 5,81
	Machos	14,22 ± 7,95	15,68 ± 8,88
Experimental	Hembras	24,32 ± 5,16	23,68 ± 5,11
	Machos	25,7 ± 9,05	27,52 ± 7,77
Satélite	Hembras	29,4 ± 12,27	35,36 ± 14,02
	Machos	18,56 ± 0,15	28,00 ± 29,63