

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"

EXTRACTO DE *ALOE BARBADENSIS* INYECTABLE EN FRACTURAS EXPERIMENTALES

Dr. Mario González-Quevedo Rodríguez¹, Dra. María del C. Sotolongo Baró² y Dra. Mirta BatistaVeranes³

Resumen

El *Aloe barbadensis* inyectable (*A. barbadensis*), es un producto farmacéutico que tiene la propiedad de estimular la cicatrización de heridas. Basado en ello, a un modelo de fractura cerrada de tibia se le administró 3 dosis diferentes de *A. barbadensis* por vía subcutánea para estudiar su acción sobre el callo óseo. Las dosis de 0,03; 0,1 y 0,18 mg/kg estimularon la cicatrización ósea de forma significativa ($p < 0,05$). También fue observada una elevación de los valores de hemoglobina además de un descenso de calcio y fósforo sanguíneos en los animales tratados.

DeCS: ALOE/uso terapéutico; FRACTURAS DE LA TIBIA/terapia; FRACTURAS CERRADAS/terapia; CICATRIZACION DE HERIDAS/terapia; INYECCIONES SUBCUTANEAS; MODELOS ANIMALES DE ENFERMEDAD; RATAS WISTAR; PLANTAS MEDICINALES; EXTRACTOS VEGETALES/uso terapéutico.

Summary

Injectable *Aloe barbadensis* (*A. barbadensis*) is a pharmaceutical product having the property of stimulating wound healing. Based on it, a model of closed fracture was administered 3 different doses of *A. barbadensis* by subcutaneous route to study its action on the bone callus. The doses of 0.03, 0.1 and 0.18 mg/kg stimulated bone healing significantly ($p < 0.05$). An increase of the haemoglobin values and a decrease of calcium and phosphorus in the blood were observed in those animals under treatment.

Subject headings: TIBIAL FRACTURES/therapy; FRACTURES, CLOSED/therapy; WOUND HEALING/therapy; INJECTIONS, SUBCUTANEOUS; DISEASE MODELS, ANIMAL; RATS, WISTAR; PLANTS, MEDICINAL; PLANT EXTRACTS/therapeutic use.

Varios son los productos que en años recientes los investigadores han evaluado como activadores de la cicatrización ósea; tal es el caso de la calcitonina, acexamato de zinc y erizo indio, los 3 estudiados en diferentes modelos de fracturas.¹⁻³

El extracto de *Aloe barbadensis* inyectable (*A. barbadensis*) producido por el Centro de Investigaciones y Desarrollo de la Empresa de Medicamentos, es un bioestimulante de la cicatrización de heridas,⁴ de acción similar a la del extracto de *Aloe arborescens* fabricado en la ex-Unión Soviética y al que *Shermetov SG* y otros⁵ le encontraron además un efecto estimulante del callo óseo en fracturas.

Como ambas variedades de *Aloe* tienen diferencias en su composición química según los estudios realizados por

Larionova M y otros⁶ fue de interés investigar también el efecto del *A. barbadensis* sobre las fracturas experimentales.

Método

Para poder efectuar siempre fracturas similares, se utilizó un costótomo de primera costilla con una innovación consistente en la eliminación del filo de su cuchilla y la adición de un soporte frontal para descansar la pata del animal a fracturar.

Con dicho instrumento, bajo anestesia general, a 120 ratas *Wistar* machos con pesos entre 280 y 320 g les fueron

¹ Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular.

² Especialista de I Grado en Anatomía Patológica. Investigadora Agregada.

³ Especialista de I Grado en Bioestadística.

fracturadas las tibias de sus patas derechas posteriores, en la parte media diafisiaria y en sentido transversal. Cuatro grupos de 30 ratas fueron formados: a los animales de los 3 primeros grupos se les administró *A. barbadensis* durante 21 d por vía subcutánea, desde el mismo momento de la fractura. La dosis del grupo I correspondió a 0,03 mg/kg/día, la del grupo II a 0,1 mg/kg/día y la del grupo III a 0,18 mg/kg/día.

El cuarto grupo o grupo control recibió 1 mL de solución de cloruro de sodio al 0,9 % por igual vía y con la misma frecuencia. Un quinto grupo de ratas del mismo peso y sin fracturar, fue incluido en el estudio con el objetivo de comparar sus valores de hemoglobina, calcio y fósforo sanguíneos con los homólogos de las ratas fracturadas.

Al concluir el tratamiento a los 21 d, a todos los animales se les hizo las extracciones de sangre para los análisis de laboratorio y seguidamente, a las ratas fracturadas se les realizó radiografías óseas antes de ser extraídas las tibias afectadas, para el estudio histopatológico final. Los huesos fueron procesados hasta la inclusión en parafina y sus cortes fueron teñidos con los colorantes hematoxilina y eosina.

Los diagnósticos respondieron a uno de los 3 grados de cicatrización establecidos para este estudio, en dependencia de la relación de colágena y cartílago existente en el callo óseo. Los grados fueron: grado I (cicatrización inmadura), en que la colágena supera al cartílago que a veces pudiera estar ausente; grado II (cicatrización medianamente madura), en que la colágena y el cartílago se encuentran en proporciones similares y grado III (cicatrización madura), en que el cartílago supera a la colágena que a veces pudiera estar ausente. Además otros elementos están presentes en el grado I: vasos de neoformación, células indiferenciadas, células osteógenas e infiltrado de células redondas. Todos ellos disminuyen a medida que aumentan los grados de maduración. La aparición de polimorfonucleares en el foco de fractura indica infección.

Con relación a las espículas óseas, pueden ser de 2 tipos: inmaduras y maduras. Las primeras pueden faltar en la maduración grado III mientras que las maduras pueden aparecer en todas las muestras debido a que proceden del hueso fracturado.

Para analizar los resultados de la calidad de cicatrización se utilizó la técnica estadística Chi cuadrado (X^2) y para los resultados de las variables hematológicas, análisis de varianza (ANOVA) con prueba de *Tukey a posteriori* en caso de que hubiera diferencias significativas, todo con una confiabilidad del 95 % ($\alpha = 0,05$).

Resultados

A continuación se expresan los resultados en la calidad de la cicatrización ósea alcanzada en los 4 grupos de estudio (tablas 1-4).

TABLA 1. Grados de maduración de la cicatrización ósea correspondiente a las ratas tratadas con 0,03 mg de Aloe/kg. Grupo I

Grados de maduración	Número de fracturas	%
I	8	27,6
II	18	62,1
III	3	10,3
Total	29	100

TABLA 2. Grados de maduración de la cicatrización ósea correspondiente a las ratas tratadas con 0,1 mg de Aloe/kg. Grupo II

Grados de maduración	Número de fracturas	%
I	8	26,6
II	15	50
III	7	23,3
Total	30	99,9

TABLA 3. Grados de maduración de la cicatrización ósea correspondiente a las ratas tratadas con 0,18 mg de Aloe/kg. Grupo III

Grados de maduración	Número de fracturas	%
I	13	46,4
II	9	32,1
III	6	21,4
Total	28	99,9

TABLA 4. Grados de maduración de la cicatrización ósea correspondiente a las ratas tratadas con ClNa 0,9 %. Grupo IV

Grados de maduración	Número de fracturas	%
I	12	40
II	18	60
III	0	0
Total	30	100

Una de las fracturas no fue evaluable por dificultades técnicas.

En el grupo III, 2 fracturas se excluyeron por presentar gran infiltrado a polimorfonucleares (abscesos), a pesar de que las fracturas eran cerradas.

Al comparar los resultados de la calidad de cicatrización ósea alcanzada a los 21 d entre los grupos tratados con *A. barbadensis* y el grupo tratado con solución salina, hubo

diferencias significativas ($p < 0,005$). Posteriormente, la comparación de cada grupo *Aloe* con el control salina mostró que las diferencias radicaron por igual en los grupos tratados con *Aloe*. Lo anterior permitió afirmar que el *A. barbadensis* es capaz de estimular la cicatrización ósea de las fracturas con las 3 dosis. Por otro lado, al hacer la comparación estrictamente entre los grupos tratados con *Aloe*, no hubo significación estadística; lo que demostró que todas las dosis actuaron de forma similar y que no hubo una mejor que otra.

Los próximos resultados corresponden a los valores medios de las variables hemoglobina, calcio y fósforo sanguíneos de los 5 grupos de ratas (tablas 5 y 6).

TABLA 5. Medias de los valores sanguíneos de Ca, P y Hb de las ratas fracturadas al finalizar el tratamiento con *A. barbadensis*

Dosis <i>A. barbadensis</i> mg/kg	n	Ca n Mol/L	P nMol/L	Hb nMol/L
0,18	28	2,03	1,82	16,1
0,1	30	2,26	1,78	15,6
0,03	29	2,61	2,55	14,6

TABLA 6. Medias de los valores sanguíneos de Ca, P y Hb de las ratas normales y de las fracturadas tratadas con ClNa

Grupo	n	Ca nMol/L	P nMol/L	Hb nMol/L
Normales	30	2,30	2,16	13
Fracturas con ClNa	30	2,46	2,51	13,7

Al comparar todos los grupos de estudio, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores de calcio, fósforo y hemoglobina.

En cuanto a la hemoglobina, a medida que aumentaron las dosis de *A. barbadensis*, también aumentaron sus valores aunque solamente de forma significativa ($p < 0,05$) entre las dosis 0,03 y 0,18 mg/kg. Por otro lado, la significación fue muy alta ($p < 0,01$) cuando se compararon los valores de hemoglobina de los animales tratados con las distintas dosis de *Aloe* y los valores de hemoglobina del grupo tratado con solución salina y los del grupo normal (tabla 5).

Al analizar los valores de calcio sanguíneo, hubo diferencias entre las 3 dosis de *Aloe* y también al comparar los valores resultantes de las dosis 0,1 y 0,18 con los valores del grupo tratado con solución salina.

En cuanto a los valores de fósforo sanguíneos, solamente hubo diferencias significativas entre el grupo tratado con 0,03 mg/kg y las otras 2 dosis con valores más bajos (tabla 5).

De 117 estudios radiológicos, el 70,9 % mostró angulación de sus fragmentos y el 29 % desplazamiento mínimo. Las angulaciones se distribuyeron de forma bastante similar en los 4 grupos (tabla 7).

A los 21 d todos los focos de fracturas mostraron la misma opacidad radiológica, ningún grupo se diferenció en ese aspecto.

TABLA 7. Posición de los fragmentos óseos en las radiografías simples

Grupos	Desplazamiento	Angulación
0,03	12	17
0,1	7	23
0,18	5	23
ClNa	10	20

Discusión

Varios fenómenos interesantes ocurrieron en esta investigación; uno de ellos fue la disminución del calcio y del fósforo sanguíneos con las dosis de 0,1 y 0,18 mg de *Aloe*/kg, que pudiera ser ocasionada por consumo en el callo óseo. Precisamente, las sales de calcio y fósforo constituyen los principales componentes minerales del hueso. Al ser estimulada la reparación del tejido óseo por el *Aloe*, necesariamente deberán disminuir sus niveles en sangre.

Igarashi A, y otros² estudiaron el contenido de calcio en las diáfisis femorales fracturadas de ratas no tratadas y encontraron que a ese nivel estaba disminuido de forma significativa contrariamente a lo sucedido en un grupo similar tratado con acexamato de zinc, en que sí hubo un incremento de calcio en el hueso. Hipotéticamente, el *A. barbadensis* al igual que el acexamato de zinc favorece el desplazamiento de calcio hacia el foco de fractura.

El *A. barbadensis* inyectable en su composición química posee numerosos minerales como calcio y magnesio (mayoritarios) y además sodio, cobre, aluminio, manganeso, hierro, potasio y cloro, pero no zinc.⁶ La presencia de ellos en mayor o menor grado depende de factores ambientales como el clima, la época del año y el suelo.

Otro hecho importante observado fue el aumento de las cifras de la hemoglobina en los animales de los grupos tratados con *A. barbadensis*. Basados en ello, *de la Paz J.* y otros⁷ estudiaron el *A. barbadensis* en un modelo de mielosupresión con el que lograron demostrar el efecto estimulante que tiene dicho producto en la formación de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Dichos resultados hacen pensar que en pacientes con anemia hipocrómica, leucopenias o trombocitopenias, el *A. barbadensis* inyectable pudiera ser útil.

La angulación de los fragmentos ocurrida en la mayoría de los animales era de esperar al no poderse utilizar métodos de fijación que trajeran otras implicaciones, bien en la formación del callo óseo o bien durante el procesamiento del hueso en el departamento de Anatomía Patológica.

Como conclusión final puede afirmarse que el *Aloe barbadensis* inyectable mejoró la calidad de la cicatrización ósea de las fracturas cerradas de tibias experimentales a la vez que aumentó indudablemente los valores de hemoglobina de los animales tratados con el producto.

Referencias bibliográficas

1. Guarniero R, Barros TEP de, Freitas CA de, Junqueira C, Pedrinelli A, Andrade M de, et al. Estudio experimental de la consolidación de fracturas en la desnutrición proteica. Utilización de calcitonina en ratas desnutridas. *Rev Esp Cir Osteart* 1995;30:21-7.
2. Igarashi A, Yamaguchi M. Stimulatory effect of zinc acexamate administration on fracture healing of the femoral diaphyseal tissues in rats. *Gen Pharmacol* 1999;32(4):463-9.
3. Murakami S, Noda M. Expression of Indian hedgehog during fracture healing in adult rat femora. *Calcif Tissue Int* 2000;66(4):272-6.
4. González-Quevedo Rodríguez M, Abela Cañizares I, Hurtado de Mendoza Amat J, Larionova M, López-Calleja C. Estudio preclínico de la acción cicatrizante que ejercen sobre las heridas abiertas los extractos inyectables elaborados con dos variedades diferentes de Aloe que crecen en Cuba. En: Compendio de investigaciones sobre el *Aloe barbadensis* Miller (sábila) cultivado en Cuba. La Habana: Imprenta Dirección Política de las FAR, 1990:36-48.
5. Shermetov SG, Usikov VN. Influence of subcutaneous injections of Aloe extract upon the healing of bone fractures. Symposium of scientific works of physicians of the Kazakn Railway and the Chair of Faculty of Surgery of the Alma Ata State Medical Institute 1971;5:248-9.
6. Larionova M, Menéndez R, Valiente O. Estudio fitoquímico comparativo de los extractos de *Aloe barbadensis* Mill. y *Aloe arborescens* Mill. En: Compendio de investigaciones sobre el *Aloe barbadensis* Miller (sábila) cultivado en Cuba. La Habana: Imprenta Dirección Política de las FAR; 1990:7-35.
7. Paz Naranjo J de la, Sotolongo Baró MC, Céspedes Valcárcel A, Curi Hernández M, Perdomo Paiba M, Miranda Flores R. Extracto de *Aloe barbadensis* inyectable en la atenuación de la mielosupresión por ciclofosfamida en ratones. *Rev Cubana Plant Med* 1997;2(2-3):35-9.

Recibido: 15 de abril de 2001. Aprobado: 4 de abril de 2002.

Dr. *Mario González-Quevedo Rodríguez*. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Ave Monumental. Habana del Este. Ciudad de La Habana. Cuba