

Trabajo Original

Toxicología Experimental

Efecto coadyuvante del extracto etanólico de *Randia aculeata* con la faboterapia utilizada contra el veneno de *Bothropsasper* en la histología músculo esquelético.

Tiburcio-Martínez Melissa, Valadez-Omaña María Teresa, Gallardo-Casas Carlos Angel.

Academia de Biología. Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos No. 6 "Miguel Othón de Mendizábal", Instituto Politécnico Nacional .Av. Jardín y calle 4, Col del Gas. Del. Azcapotzalco, México, D. F. C. P. 02050

*Correspondencia: Dr. Carlos Angel Gallardo-Casas

Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos "Miguel Othón de Mendizábal", Instituto Politécnico Nacional

Av. Jardín y calle 4, Col del Gas. Del. Azcapotzalco, México, D. F. C. P. 02050

Teléfono: (525) 729-6000/66033

carlosgallardo84@hotmail.com

Resumen

Las mordeduras de serpiente son un problema de salud pública en México, Veracruz es el estado por lo que ocupa el segundo lugar en mordeduras por serpientes.

La serpiente que más causa accidentes ofídicos es *B.asper* que pertenece a las nauyacac. Su veneno contiene proteasas y fosfolipasas capaces de causar necrosis muscular. Los signos de envenenamiento pueden variar dependiendo de la cantidad de veneno inoculado, tiempo de evolución, región afectada y si la víctima es mordida varias veces. Las mordeduras de esta serpiente ocasionan dolor local y nauseas.

Actualmente la terapia que se utiliza es la aplicación de faboterápicos hechos en caballos u ovejas.

En los últimos años se ha documentado que la planta *R. aculeata* tiene un efecto citoprotector en el músculo esquelético ante el veneno de serpiente.

Por lo tanto el objetivo general de nuestro trabajo fue evaluar el efecto de la faboterapia combinada con el extracto etanólico en el músculo esquelético de ratones intoxicados con el veneno de *B.asper*

Se realizó una intoxicación de ratones machos de la cepa CD1, teniendo 4 grupos a) Control, que recibió solución salina (s.s), b) Intoxicado con Veneno de *B. asperc*) Intoxicado con Veneno de *B. asper* + Faboterápico) veneno de *B.asper* más el faboterápico + extracto etanólico *R. aculeata*. Después de 24 horas se obtuvo músculo esquelético, posteriormente se realizó una técnica histológica y se observaron al microscopio. Se tomaron microfotografías y se evaluó el daño histológico.

El veneno provocó necrosis muscular, edema, núcleos hiper cromáticos, además de abundantes leucocitos los cuales fueron protegidos por el faboterápico y *R.aculeata* coadyuva a este efecto protector.

Palabras claves: *Randia aculeata*; veneno; *Bothrops asper*; músculo esquelético

Abstract

Adjunctive effect of ethanolic extract of *Randia aculeata* with the factory used against *Bothrops asper* venom in skeletal muscle histology

Snake bites are a public health problem in Mexico. Veracruz is the second Mexican state with the most snake bites in the country. The snake that causes the most ophidic accidents is *B. asper* better known as nauyaca. Its poison contains proteases and phospholipases that can cause muscular necrosis.

Poisoning symptoms can vary depending on the quantity of poison injected, time of evolution, body part affected and also if the victim was bitten many times. Bites from this snake can cause pain and nausea.

The most common therapy used against it is the administration of fabootherapics made in horses or sheeps. In the last few years *R. aculeata* has been documented as a plant able to have a citoprotective effect in the skeletal muscle against the poison. The main objective of our work was to evaluate the fabootherapy's effects combined with ethanolic extract administered in the skeletal muscle of *B. asper* intoxicated mice. Poisoning was performed in CD1 strain male mice. We created four groups: a) Control: Administered with salt solution (s.s) b) Intoxicated with *B. asper* venom c) Intoxicated with *B. asper* venom + fabootherapics d) Intoxicated with *B. asper* venom + fabootherapics + ethanolic extract of *R. aculeata*. After 24 hours skeletal muscle was obtained.

A histological technique was performed and observed with a microscope. Micro photographs were taken and histological damage was evaluated. The poison caused muscular necrosis, edema and hyperchromatic nuclei. Several leucocytes were protected by the fabootherapy and *R. aculeata* helps to obtain this protective effect.

Key words: *Randia aculeata*; poison; *Bothrops asper*; skeletal muscle

Introducción

Las plantas medicinales usadas contra el veneno de serpiente revisten un interés debido a que muchas personas las utilizan en el tratamiento de los accidentes ofídicos, muchas veces por desconocimiento y otras veces porque no cuentan con los servicios sanitarios adecuados.(1)

En México sólo dos plantas han sido evaluadas, *Brongniartiapodalyrioides* Kunth y *B. intermedia* Moric., en las cuáles se encontró que contienen edunol, sustancia cuya estructura química le permite neutralizar los efectos cardiotoxicos del veneno (2). Así mismo, se ha documentado en años recientes que los curanderos del municipio de Acayucan, Estado de Veracruz utilizan diferentes plantas contra las mordeduras de serpientes, entre las que se encuentra reportada *Randiaaculeata* (Cruetillo), donde se aplica la planta de manera completa (3), sin embargo en la zona Central de Veracruz en el municipio de Jamapa, este conocimiento se ha popularizado y las personas no acuden al curandero, si no que realizan un preparado alcohólico con el fruto de esta planta, por si llegan a ser mordidos por alguna serpiente, inclusive lo aplican a sus animales domésticos(4).

El principal tratamiento para esta especie es la administración del suero polivalente, considerado como el tratamiento más eficaz y efectivo. Sin embargo, también el uso del extracto de la planta *Randiaaculeata* ha probado ser efectivo como tratamiento antiofídico contra el veneno (4). La importancia del estudio de ambos tratamientos permitirá disminuir los efectos y daños causados por el veneno, haciendo posible una recuperación más eficiente del paciente, evitando las complicaciones intrahospitalarias conocidas para este tipo de pacientes.

Metodología

Se utilizaron 7 frutos de cruetillo los cuales fueron sumergidos en un litro de vino tinto y se dejaron actuar durante 8 días en obscuridad, posteriormente se utilizaron 24 ratones machos de la cepa CD1 y se dividieron 4 grupos de 6 ratones cada uno que oscilaban en un peso aproximado entre 20 y 25 gr.

Al primer grupo (grupo control) se le administró solución salina (s.s.), al segundo grupo se le administró S.S más Veneno, al tercer grupo se le administró el faboterápico mas el veneno de *B.asper*, al cuarto grupo se le administró el veneno de *B.asper* más el faboterápico + extracto etanólico *R.aculeata*(ig)

Cabe señalar que en la primer administración del cruetillo de 100mg/kg inmediatamente después del veneno administrado con la LD₅₀ (1mg/kg)

.Después la dosis del cruetillo disminuyó a 50mg/kg la cual se siguió administrando una cada hora, por cuatro veces más

Después de 24 horas se contabilizaron los números de vivos y muertos. Se sacrificaron los animales y se obtuvo músculo esquelético los cuales fueron sometidos a

una técnica convencional de inclusión en parafina, se cortaron en el micrótopo a 7 micras posteriormente se realizó la técnica topográfica hematoxilina-eosina y se observaron al microscopio. (5)

Resultados y Discusión

En México, los ataques por mordeduras de serpientes representan un serio problema de salud pública, principalmente aquellos ocasionados por *Bothrops asper*. Esta serpiente es responsable de casi el 50% del total de las mordeduras en nuestro país, a pesar de que solo se encuentra en el sureste del territorio nacional (6).

Cuando una persona es mordida por una serpiente, normalmente se le administran sueros polivalentes capaces de neutralizar las toxinas del veneno y por lo tanto, detener y controlar los efectos provocados por éste. Muchas veces estos tratamientos no se encuentran disponibles para los pacientes en zonas endémicas. Debido a esto, los habitantes de estas zonas suelen recurrir a terapias alternativas, como lo es el uso de plantas para tratar enfermedades o malestares. (7)

México, junto con Colombia y Brasil son países de Latinoamérica que han utilizado plantas para tratar mordeduras de serpientes desde hace mucho tiempo.(4,8,9)

El interés científico enfocado al uso de estas plantas como alternativa médica se ha incrementado últimamente. Una de las plantas más utilizadas para este fin en nuestro país, específicamente en Veracruz es la *Randia aculeata*. Estudios recientes han demostrado que esta planta es capaz de proteger el músculo y la sangre contra el veneno de *B. asper*. (4) Es por eso que en este trabajo, se buscó una relación entre el suero polivalente y el extracto obtenido a partir de esta planta para conocer si combinando ambos tratamientos, se obtendrá una mejor respuesta para la intoxicación ocasionada por la mordedura de esta serpiente.

Con respecto a la mortalidad de los animales durante la parte experimental de este trabajo, solamente hubo decesos en 2 de los 5 grupos utilizados en el mismo. En los grupos 1 (solución salina), 2 (veneno de *B. asper* y suero polivalente) y 5 (veneno de *B. asper*, suero polivalente y extracto etanólico de *R. aculeata*) no murió ningún animal transcurrido un día después de la administración.

El grupo de ratones que únicamente fue administrado con veneno de *Bothrops asper* presentó un porcentaje de mortalidad del 25%, lo cual es coherente, ya que se administró al animal con la respectiva DL₂₅.

El otro grupo, en el cual solamente murió un animal, fue el que recibió la administración de veneno de *B. asper* y posteriormente recibió tratamiento con el extracto etanólico de *R. aculeata*. El porcentaje de mortalidad para este grupo fue del 12.5%, lo cual indica que el uso del extracto etanólico de *R. aculeata* como único

tratamiento contra el veneno de *B. asper*, no es totalmente efectivo, aunque se sabe que de manera general tiene propiedades que controlan los efectos causados por el veneno.

Los componentes de *R. aculeatano* poseen las suficientes propiedades para evitar que el animal muera. En cambio, los sueros polivalentes son capaces de evitar la muerte del animal debido que poseen anticuerpos, que actúan de manera más específica.

Esto se debe a que neutralizan totalmente a las toxinas y al mismo tiempo evitan la propagación del proceso toxicológico, esto último en ocasiones puede ser la diferencia para que el médico decida si el miembro afectado deba o no ser amputado (10).

Cuando se lleva a cabo una mordedura de serpiente, uno de los principales efectos causado por el veneno consiste en la necrosis y hemorragia del músculo esquelético, ya que es comúnmente la zona que recibe directamente el veneno y donde la serpiente clava sus colmillos (11).

Estudios previos han demostrado que *R. aculeata* ayuda a disminuir parcialmente la necrosis, esto se ha detectado de manera histológica.(4) En este trabajo, se realizó un análisis microscópico ahora combinando la faboterapia con el extracto etanólico para así observar si había una disminución del daño al tejido muscular.

Con base en lo anterior, se observó que al utilizar tanto el extracto de *R. aculeata*, como el tratamiento faboterápico simultáneamente, ambos tratamientos contribuyen para controlar la propagación de la necrosis del músculo esquelético. Los componentes fitoquímicos ayudan a la reparación celular, mientras que los componentes del faboterápico se encargan de neutralizar las toxinas

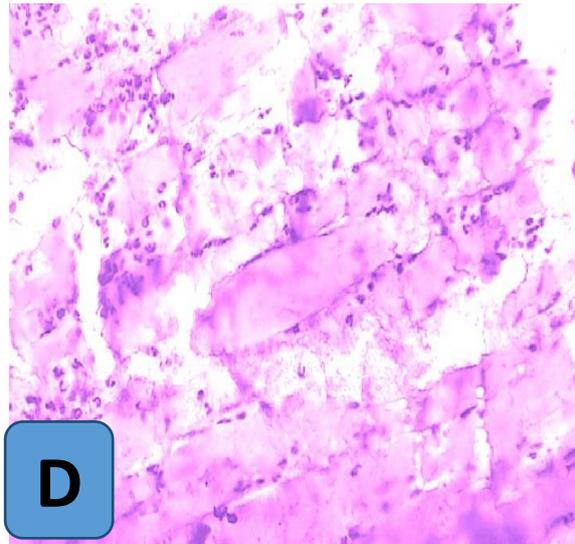
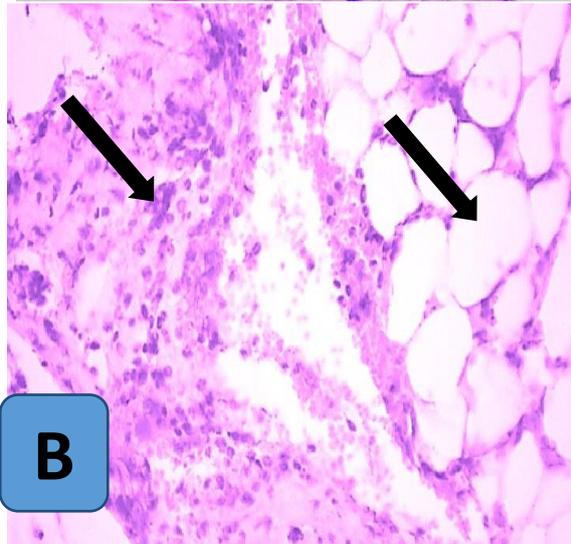
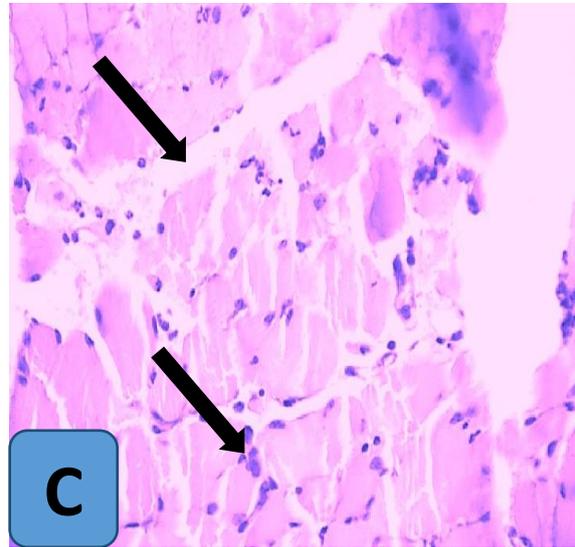
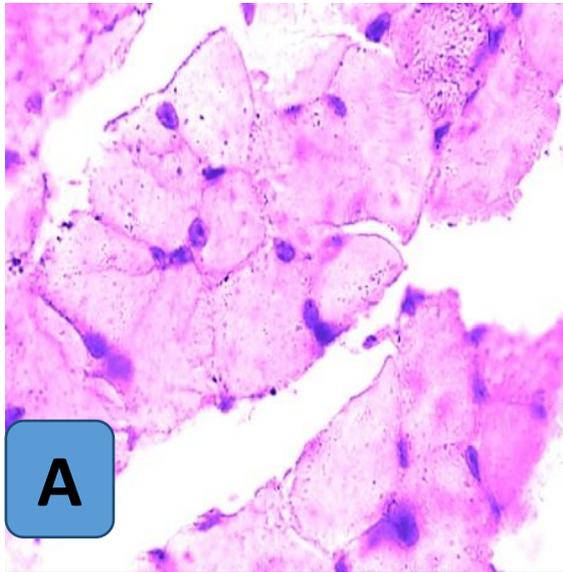
Conclusiones

El extracto etanólico de *Randia aculeata* coadyuva con la faboterapia contra el daño causado en el músculo esquelético provocado por la serpiente *B. asper*.

Agradecimientos

Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto 20150120 de la SIP-IPN.

Figura 1. Fotomicrografías del músculo esquelético A) Grupo control B) Veneno de *B. asper* C) Veneno de *B. asper* + Faboterápico, D) Veneno de *B. asper* + Faboterápico, + *R. aculeata*. El veneno de *B. asper* ocasionó necrosis muscular, núcleos hiper cromáticos, edema, además de abundantes leucocitos. Estas alteraciones fueron parcialmente prevenidas por el extracto etanólico de *R. aculeata* con el faboterápico.



Bibliografía

1. Maiorano VA, Marcussi S, Daher MA, Oliveira CZ, Couto LB, Gomes OA et al. Antiophidian properties of the aqueous extract of *Mikania glomerata*. J Ethnopharmacol 2005; 102(3):364-70.
2. Reyes-Chilpa R, Gomez-Garibay F, Quijano L, Magos-Guerrero GA, Rios T. Preliminary results on the protective effect of (-)-edunol, a pterocarpan from *Brongniartia podalyrioides* (Leguminosae), against *Bothrops atrox* venom in mice. J Ethnopharmacol 1994; 42(3):199-203.
3. Ramos-Hernández M, Ávila-Bello CH, Morales Mávil JE. Etnobotánica y ecología de plantas utilizadas por tres Curanderos contra la mordedura de serpiente en la región de Acayucan, Veracruz, México. Bol Soc Bot Méx 2007; 81:89-100.
4. Gallardo-Casas CA, Guevara-Balcázar G, Morales-Ramos E, Tadeo-Jiménez Y, Gutiérrez-Flores O, Jiménez-Sánchez N, Valadez-Omaña MT, Valenzuela-Vargas MT, Castillo-Hernández MC. Ethnobotanic study of *Randia aculeata* (Rubiaceae) in Jamapa, Veracruz, Mexico, and its anti-snake venom effects on mouse tissue. 2012;3: 287-294.
5. Gallardo CA, Cano E, López GE, Blas V, Olvera R, Franco M, Ortiz R. Phycobiliproteins from *Spirulina maxima* and *Pseudanabaena tenuis* protect against hepatic damage and oxidative stress caused by Hg²⁺ Rev Mex de Cien Farm 2010; 41 (2): 30-35.
6. De Roodt AR, Estevez-Ramirez J, Paniagua-Solis JF, Litwin S, Carvajal-Saucedo A, Dolab JA et al. [Toxicity of venoms from snakes of medical importance in Mexico]. Gac Med Mex 2005; 141(1):13-21.
7. Luna, M. E; Martínez, G. y Salazar, A. C. "Mordeduras por serpiente. Panorama epidemiológico de la zona de Córdoba, Veracruz". Revista Facultad Medicina UNAM 2004 (4):150
8. Floriano RS, Nogueira RM, Sakate M, Laposy CB, da Motta YP, Sangiorgio F et al. Effect of *Mikania glomerata* (Asteraceae) leaf extract combined with anti-venom serum on experimental *Crotalus durissus* (Squamata: Viperidae) envenomation in rats. Rev Biol Trop 2009; 57(4):929-37.
9. Fernández C.M, Ortiz C.W, Peñarez J.J, Martínez R.D. Antiophidian properties evaluation of ethanol extract and fractions obtained from *Renealmia alpinia* (Rottb) Mass (Zingiberaceae) cultivated in vitro. Rev Fac Quim Farm 2010; 17(1):75-82.

10. Hernandez CG, Bravo AA. [Bites by venomous snakes: epidemiologic panorama in Mexico]. Salud Publica Mex 2009; 51(2):95-6.
11. Gonzalez-Rivera Aurora, Chico-Aldama Patricia, Dominguez-Viveros Wendy, Iracheta-Gerez Ma.de la Luz, Cuellar-Ramirez Alfredo, Zamora Verónica. Epidemiología de las mordeduras por serpiente. Su simbolismo. Acta Pediatr Mex 2009; 30(3):182-91.

Recibido: 21/12/16

Aceptado: 22/12/16