

Trabajo Original

Toxicología Experimental

## **Efecto de la combinación de un antisuero y el extracto etanólico de *Randia aculeata* (Crucetillo) contra el daño pulmonar que provoca el veneno de *Bothrops asper***

**Torres-Schwartz Jose Luis<sup>1</sup>, Valadez-Omaña María Teresa<sup>2</sup>, Gallardo-Casas Carlos Angel<sup>3\*</sup>.**

1. Departamento de Ciencias de la Salud, QFBT. Universidad del Valle de México Campus Lomas Verdes
2. 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
3. Licenciatura en Nutrición. Universidad de Chalcatongo, SUNEО, Nutrición Av. Universidad S/N, Centro Chalcatongo de Hidalgo, 71100 Tlaxiaco, Oaxaca. México Tel.: (953) 530 20 93 x 130

\*Correspondencia: Dr. Carlos Angel Gallardo-Casas

Universidad de Chalcatongo, SUNEО, Oaxaca. México.

Av. Universidad S/N, Centro Chalcatongo de Hidalgo, 71100 Tlaxiaco, Oaxaca.

Tel.: (953) 530 20 93 x 130

[carlosgallardo84@hotmail.com](mailto:carlosgallardo84@hotmail.com)

## Resumen

Cuando una persona es mordida por una serpiente venenosa, debe recibir atención médica lo más pronto posible, ya que los daños causados por el veneno de ciertas especies de serpientes pueden ser irreversibles, sobre todo en los casos que presentan necrosis, ya que existe el riesgo de perder la extremidad afectada debido a su rápida propagación por el tejido. Actualmente se buscan nuevas alternativas para controlar o retrasar los efectos del veneno, que proporcionen el tiempo suficiente para que la persona pueda ser atendida con el suero polivalente correspondiente. En México, el envenenamiento por mordedura de serpiente es común y representa un problema de salud pública. La especie más importante y que presenta mayor incidencia de casos es *Bothrops asper*, principalmente en la zona del sureste del país. 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 *Randia aculeata* ha probado ser efectivo como tratamiento antiofídico contra el veneno. 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. 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. asper*; c) Intoxicado con Veneno de *B. asper* + Faboterápico; d) veneno de *B. asper* más el faboterápico + extracto etanólico *R. aculeata*. Después de 24 horas se obtuvieron los pulmones, posteriormente se realizó una técnica histológica y se observaron al microscopio. Se tomaron microfotografías y se evaluó el daño histológico, también se obtuvo el peso relativo del pulmón. El veneno provocó necrosis, edema, además de abundantes leucocitos los cuales fueron protegidos por el faboterapico y *R. aculeata* coadyuva a este efecto protector.

**Palabras Clave.** Faboterápico, *Randia aculeata*, pulmón, veneno

---

## Abstract

### **Effect of the combination of an antiserum and the ethanolic extract of *Randia aculeata* (Crucetillo) against the lung damage provoked by the venom of *Bothrops asper*.**

When a person is bitten by a venomous snake he or she needs to get medical attention as quick as possible. Damage caused by the poison from certain species can be irreversible, mostly in cases where necrosis is found. In these cases it is possible the patient can lose the affected extremity since the venom rapidly propagated in tissue. Currently, new alternatives are being researched to control or delay the effect of venom. This could allow time enough for the person to be taken care of with the corresponding serum.

Poisoning by snake bite is very common in Mexico and it represents a serious public health problem. The most common case of this is by the *Bothrops asper* species mainly in the southeast part of the country. The usual treatment against this is the administration of polyvalent serum which is considered as the most effective treatment. However, the use of extract of the *Randia aculeata* plant has been proven to be also effective as an anti-ophidian treatment against the venom making the patient go through a faster recovery thus, avoiding medical complications common in this kind of patients. Antidote of male mice of the CD1 strain was made. We had 4 groups: a) Control: administered with saline solution (s.s), b) Intoxicated with *B. asper* venom, c) b) Intoxicated with *B. asper* venom + faboterapico, b) Intoxicated with *B. asper* venom + faboterapico + ethanolic extract of *R. aculeata*. After 24 hours lungs were extracted and, after an histological technique, were observed by microscope. Micro photographs were taken and histological damage was evaluated. Relative lung weight was also obtained. The venom provoked necrosis, edema but also several leukocytes were found which were protected by the faboterapico. *R. aculeata* helps to get this protective effect.

**Key Works:** *Randia aculeata*, lung, venom

## Introducción

Desde hace mucho tiempo y en muchas partes del mundo, el hombre ha empleado las plantas para tratar diversos malestares o problemas de salud. Este remedio no es la excepción al ser empleado como tratamiento contra los accidentes ofídicos, ya que estudios han demostrado que muchas plantas ayudan a controlar los síntomas contra las mordeduras de serpientes. (Fernandez y cols 2011, Mairorano y cols 2005).

Muchos estudios experimentales han sido requeridos para saber cuáles plantas poseen compuestos útiles para ser empleados como tratamientos contra el veneno de determinada especie de serpiente y a pesar de que ya se conocen algunas plantas que cumplen con este propósito, todavía quedan pruebas por hacer con muchas especies, entre las que en México destaca *Randia aculeata*, quien ha demostrado tener un efecto protector sobre la sangre y músculo (Gallardo Casas y cols 2012)..

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 (De Root 2005).

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. (Luna y cols 2005).

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

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.

## Metodología

### Obtención del extracto

Los frutos de la planta fueron cortados en trozos de 15 cm aproximadamente y posteriormente fueron colocados en etanol al 70% durante un periodo de 7 días en oscuridad. Una vez transcurridos los 7 días, el etanol se evaporó bajo presión reducida hasta sequedad (64° C) y se conservaron los residuos sólidos (Gallardo-Casas y cols 2012).

En cuanto al veneno de *B. asper*, fue una donación por parte del M. V. Z. Edgar Reina Ponce y del L. A. F. S. Orlando Reina Ponce, directores del Museo Viviente "Veracruz Salvaje". El veneno fue extraído por ordeñamiento manual, de un macho adulto y sano.

En el laboratorio, el veneno se almacenó en un congelador a -20° C y se utilizó el método de Bradford para cuantificar las proteínas contenidas en el mismo.

### Determinación de la DL50 para el veneno de *Bothrops asper* y para el extracto etanólico de *R. aculeata*

Para obtener la DL50, se utilizó la técnica descrita por Lorke. En el caso del veneno, se formaron 5 grupos con 3 ratones cada uno, a los cuales se les administraron dosis crecientes: 0.5; 1; 2.5; 5 y 10 mg de proteína/kg vía intramuscular.

Los ratones se mantuvieron en observación durante 24 horas posteriores a la administración del veneno. Una vez transcurrido el periodo de observación, se estimó el porcentaje de supervivencia de los animales, obteniendo así la DL50 para el veneno mediante el análisis de probit.

En el caso de extracto etanólico de *R. aculeata*, se formaron 3 grupos con 3 ratones cada uno, a los cuales se les administraron dosis logarítmicas del extracto 10, 100 y 1000 mg/kg vía intragástrica.

### Administración y tratamiento de los animales

Se utilizaron 40 ratones de tipo CD1, con los cuales se formaron diversos grupos. (Ver tabla 1)

Cada uno de los diferentes grupos fue depositado en una jaula de plástico con aserrín, todos los ratones tenían libre acceso al agua y a la comida.

Antes de administrar a cada grupo, cada uno de los animales fue pesado utilizando la balanza electrónica. Al segundo grupo, se le inyectó una dosis de veneno de 1 mg/kg respecto al peso de cada uno de los animales, debido a que esta era la DL<sub>25</sub> para el veneno de *B. asper*. Las inyecciones fueron por vía intramuscular usando agujas para administrar insulina. Al tercer grupo primero se les administró veneno de *B. asper*

vía intramuscular, utilizando la misma técnica mencionada anteriormente. Después se le administró suero polivalente vía intraperitoneal, ambas aplicaciones se efectuaron con agujas para administrar insulina

Para el cuarto grupo, fueron 3 las administraciones que se les hicieron a los ratones., primero se les inyectó veneno por la vía intramuscular. Posteriormente se les inyectó suero polivalente por vía intraperitoneal. Por último, los ratones recibieron la administración por vía intragástrica del extracto etanólico de *R. aculeata*,

Al terminar de administrar a cada uno de los grupos, los ratones fueron depositados en sus jaulas, separados en sus respectivos grupos. Permanecieron en observación por 24 horas con acceso libre a comida y agua.

A las 24 horas, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y posteriormente se extrajeron los pulmones de cada uno, se lavaron con solución salina y se pesaron. Una vez determinados estos pesos, los pulmones fueron colocados en un frasco con formaldehído al 10 %. Para después de 48 horas realizarles una inclusión en parafina y su posterior tinción por la técnica de Hematoxilina eosina.

## **Resultados y Discusión**

Con respecto a la mortalidad de los animales durante la parte experimental de este trabajo, solamente hubo decesos en los que fueron tratados con el veneno de *B. asper*.

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

Cuando se lleva a cabo una mordedura de serpiente, uno de los principales efectos causado por el veneno consiste en la necrosis y hemorragia de los tejidos, principalmente músculos de las piernas ya que es comúnmente la zona que recibe directamente el veneno y donde la serpiente clava sus colmillos (De Root y cols 2005), sin embargo, es importante evaluar otros órganos que pudieran verse afectados ya que las toxinas del veneno son transportadas por todo el cuerpo a través de la circulación.

Estudios previos han demostrado que *R. aculeata* ayuda a disminuir parcialmente la necrosis, esto se ha detectado de manera histológica. (Gallardo Casas y cols 2012). En este trabajo, se realizó un análisis microscópico ahora combinando la foboterapia con el extracto etanólico para así observar si había una disminución de la necrosis pero ahora al tejido pulmonar.

El pulmón es uno de los órganos que suelen ser dañados por el veneno de serpiente, ya que las toxinas causan atrofia en sus células. En estos casos el paciente puede presentar un paro respiratorio posteriormente llevada a cabo la mordedura.

En cuanto a los pulmones de los ratones que solamente fueron administrados con veneno de *B. asper*, se presentó una hemorragia y también hubo atrofia ocasionada por las proteasas y lipasas que se encuentran en el veneno.

Para los pulmones de los ratones que recibieron veneno de *B. asper* y posteriormente suero polivalente, se observó que la atrofia que presentaban estos órganos disminuyó, no así la hemorragia.

Por último, los pulmones de los animales que recibieron veneno de *B. asper* y posteriormente ambos tratamientos, casi no presentaron atrofia ni hemorragia. Esto se debió a que ambos tratamientos aplicados a la vez, producen un efecto sinérgico que neutraliza las toxinas presentes en el veneno.

Con base en lo anterior, se observó que al utilizar tanto el extracto de *R. aculeata*, como el tratamiento faboterápico simultáneamente, se contribuye para controlar la propagación de la necrosis en la superficie 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* disminuye significativamente los efectos ocasionados por el veneno de *Bothrops asper* como coadyuvante del faboterápico en el tejido pulmonar, sugerimos que los efectos terapéuticos de *Randia aculeata* son más eficaces a nivel morfológico y al ser empleada como coadyuvante

## **Agradecimientos**

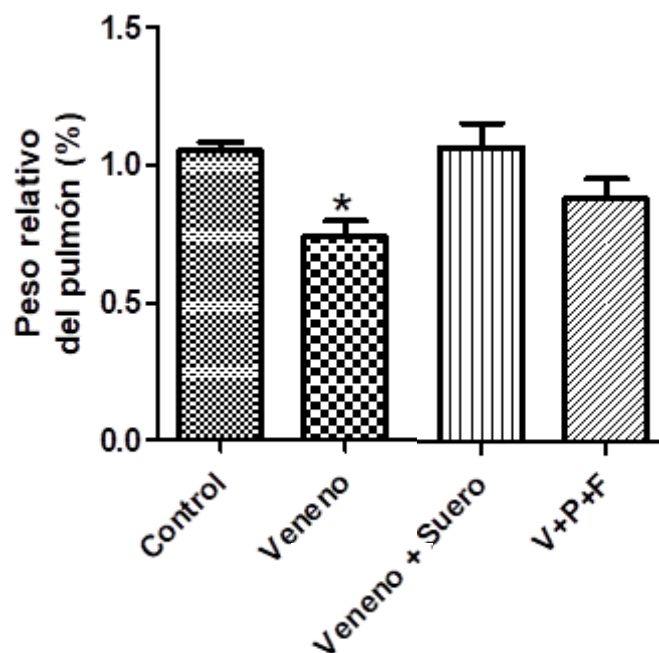
Este estudio fue parcialmente financiado por SIP-IPN

**Tabla1: Organización en grupos de los ratones utilizados para la parte experimental.**

<b>Grupos</b>	<b>Número de ratones</b>
Grupo 1: Solución salina	8
Grupo 2: Veneno de <i>B. asper</i>	8
Grupo 3: Veneno de <i>B. asper</i> + Suero polivalente	8
Grupo 4: Veneno de <i>B. asper</i> + Suero polivalente + Extracto etanólico de <i>R. aculeata</i>	8

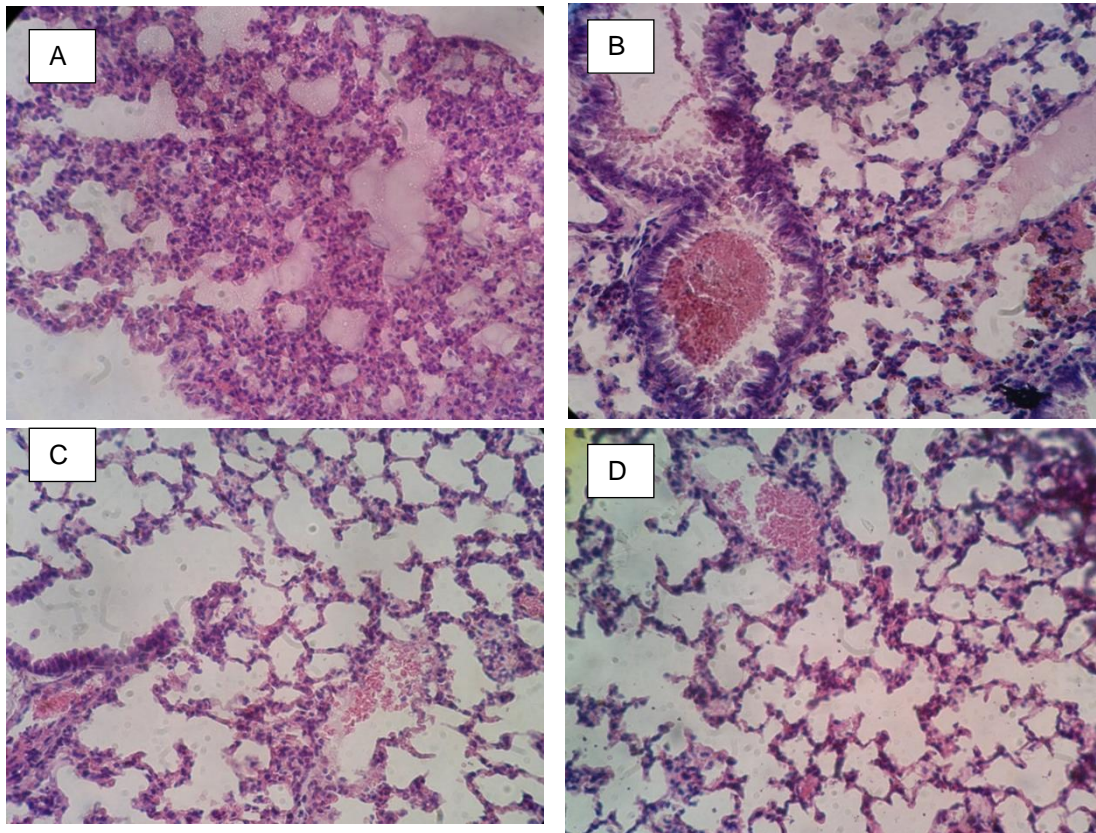
**Figura .1: Peso relativo del pulmón en los diferentes grupos de animales administrados durante la experimentación. ANOVA UNIFACTORIAL Post hoc \*p<0.05 vs control**

Se puede apreciar que en dos grupos el peso del pulmón disminuyó significativamente: En el grupo que únicamente fue administrado con veneno de *B. asper* y en el grupo que fue administrado con veneno y también recibió tratamiento con el extracto de *R. aculeata*. Lo anterior demuestra que el tratamiento con *R. aculeata* evita la propagación del daño que causan las toxinas, pero no es capaz de reparar el daño ya ocasionado.





**Figura 2. Cortes histológicos de los diferentes grupos experimentales. Se observa (A) Grupo control donde la citoarquitectura normal del pulmón, en donde se presentan los distintos alvéolos con espacios abiertos, así como su epitelio plano simple, también se aprecian bronquiolos terminales con su epitelio plano simple. B) intoxicado con el veneno de *B. asper.*, se detecta atrofia de los alvéolos, también presenta diversas zonas de edema y necrosis, así como una vasocongestión en los bronquiolos terminales y además una infiltración leucocitaria. En el grupo con suero polivalente y veneno (C) se observa que la atrofia disminuye considerablemente, a pesar de ello, todavía se aprecia una ligera hemorragia y no hay infiltración leucocitaria. En el grupo que recibió Veneno + Extracto etanólico de *R. aculeata.* + Faboterápico (D) se observa una hemorragia leve en el bronquiolo terminal. no se aprecia atrofia y tampoco presenta infiltración leucocitaria.**



## Bibliografía

1. 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.
2. FERNÁNDEZ, M; ORTIZ, W; PEREAÑEZ, J. A. & MARTÍNEZ, D. "Renal and cardiovascular effects of *Bothrops marajoensis* venom and phospholipase A2". *Toxicon* 55. 2011, pp. 1061-1070.
3. 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.
4. 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.
5. Ramos-Hernández M, Ávila-Bello CH, Morales Mávila 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.
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

**Recibido: 13/12/18**

**Aceptado: 14/12/18**

Disponible en Retel / n°56 [Diciembre 18]

<https://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=993>