

Laboratorios Llorad

ESTUDIO FÁRMACO-TOXICOLÓGICO DEL EXTRACTO FLUIDO DE UVA CALETA AL 50 %

Lic. Aniuska M. Piloto Alfonso,¹ Lic. Gastón García Simón,² Téc. Arturo Valdivieso García,³ y Téc. Deysi Lorenzo García,³

RESUMEN: Se realizó un estudio farmacológico del extracto fluido de uva caleta al 50 % donde se evaluó el efecto acelerador de la cicatrización en heridas abiertas en la piel de ratas *wistar* y se comprobó finalmente que el grupo de tratamiento con el extracto tiene los índices más altos de cicatrización. Luego se determinó la inocuidad del extracto en animales de experimentación y se realizó un estudio toxicológico por los métodos establecidos según la OECD y la ISO. Los ensayos de toxicidad aguda oral y dérmica demostraron que al aplicar una dosis de 2 000 mg/kg de peso corporal no se observaron signos tóxicos, ni muertes por lo que se considera sin clasificar siendo potencialmente inocuo para el hombre. También se estudió el potencial irritante sobre la piel y las mucosas oral y ocular, donde se obtuvo que en ningún caso se provocan daños o alteraciones, por lo que se clasifica en todos los casos como no irritante.

DeCS: PLANTAS MEDICINALES/uso terapéutico; ACEITES VEGETALES/uso terapéutico; TESTS DE TOXICIDAD/métodos; CICATRIZACION DE HERIDAS; RATAS.

En Cuba el uso de las plantas medicinales como recurso terapéutico adquiere en estos momentos una relevancia fundamental por su probada efectividad e inocuidad, ya que constituye la base para la elaboración de sistema de medicina alternativa.¹

La uva caleta (*Coccoloba uvífera*) es una planta muy abundante en las costas de Cuba. De las hojas se hacen cocimiento para los baños de llagas y granos y se considera bueno para la ronquera y el asma.²

Es un producto natural al cual se le atribuye un efecto acelerador de la cica-

trización, destinado fundamentalmente para lesiones en la piel y la mucosa oral.

Cuando un producto nuevo se diseña se hace necesario efectuar, toda vez que se halla probado sus efectos farmacológicos, las pruebas toxicológicas, para de esta forma evitar o disminuir en lo más posible el peligro que su administración entraña, así como valorar la relación riesgo beneficio.³

Con el desarrollo de este trabajo se realiza una evaluación fármaco-toxicológica de este producto natural.

¹ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Especialista B en Control de Medicamentos.

² Licenciado en Biología.

³ Técnico A de Laboratorio.

Métodos

MATERIAL DE ENSAYO

El extracto fluido de uva caleta al 50 % fue elaborado en el Instituto de Ciencias Médicas de Matanzas, empleando hojas secas trituradas y un mestruo hidroalcohólico al 50 %. Este producto tiene una estabilidad de 12 m almacenado en frascos de cristal de color ámbar, a temperatura ambiente.

Ensayo farmacológico

Para el montaje de este método se utilizaron ratas albinas adultas jóvenes de la línea *wistar*, procedentes del CENPALAB, con su correspondiente certificado de salud, con un peso entre 200 y 250 g.^{4,5,6}

Se utilizaron en la prueba un total de 15 animales, todos fueron pesados y raturados en la región dorso escapular utilizando para ello crema depilatoria de calidad reconocida (Suchel Camacho).

Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico (40 mg/kg) y se procedió a provocar 4 heridas por animal de 4 mm de diámetro marcadas por un biótomo. Se eliminó el tejido subcutáneo con ayuda de una pinza y una tijera curva de punta fina, todo el procedimiento se realizó en condiciones asépticas.

Inmediatamente de provocadas las heridas se procedió a la aplicación de los tratamientos 4 por cada animal los que se detallan a continuación:

Grupos	Tratamientos
I	Extracto fluido de uva caleta al 50 %.
II	Placebo (solución hidroalcohólico al 50 %).
III	Sulfadiacina de plata.
IV	Control (sin tratamiento).

Los tratamientos fueron rotados en el sentido de las manecillas del reloj, se realizaron 6 aplicaciones de 0,5 mL sobre las heridas. Transcurridos los 7 d de tratamiento se sacrificaron los animales bajo una atmósfera fabricada de éter, se toman muestras por grupos de tratamientos para la evaluación histológica y los 7 restantes se utilizaron para estudios morfométricos.

Diariamente se evaluaron las manifestaciones clínicas de cada una de las heridas analizando la evolución de éstas.

Ensayos toxicológicos

Se determinaron los posibles efectos adversos sobre la mucosa oral, ocular y sobre la piel después de la aplicación del aceite esencial, así como la determinación de la toxicidad aguda oral (TAO) y dérmica (TAD) del mismo a una dosis de 2 000 mg/kg.

Todos estos ensayos se realizaron según las técnicas establecidas:

- Toxicidad aguda oral y dérmica. Método OECD 401, 1987 dosis 2 000 mg/kg.⁷
- Irritabilidad oftálmica. Método OECD 405, 1987.^{8,9}
- Irritabilidad dérmica. Método OECD 404, 1992.^{9,10}
- Irritabilidad de la mucosa oral. Método 10 993-1992.¹¹

Resultados

Los resultados morfométricos e histopatológicos en los grupos tratados se expresan en las tablas 1 y 2.

ENSAYOS TOXICOLÓGICOS

Las variaciones en el peso de los animales en el ensayo así como su evaluación se expresan en las tablas 3, 4, 5 y 6.

Ensayo farmacológico

TABLA 1. Resultados morfométricos

Grupo	Perímetro promedio (mm) promedio (%)	Área epitelizada promedio (mm)	Crecimiento lineal
Control	20,34 i	18,48 d	0,90 h
Placebo	15,50 i	34,86 c	2,57 g
Sulfadiazina de plata	18,77 i	27,14 b	1,44 f
Uva caleta al 50 %	9,37 i	78,12 a	8,36 e

Significación estadística: a, b, c, d, e, f, g, h, i.

TABLA 2. Resultados histopatológicos

Grupo	Epitelización (%)	Dermis madura (%)
Control	50	50
Placebo	37,5	62,5
Sulfadiazina de plata	12,5	35,5
Uva caleta al 50 %	75	100

TABLA 3. Variaciones en el peso corporal de los animales en el ensayo de la toxicidad aguda oral dosis límite del extracto fluido de uva caleta

Grupo	Tiempo		
	0	7	14
Hembras			
Tratados	174,2 ± 8,96 a	205,4 ± 16,0 b	220,6 ± 20,86 b
Placebo	216,0 ± 11,83 c	256,6 ± 16,0 b	296,0 ± 36,1 e
Machos			
Tratados	215,2 ± 9,04 f	270,8 ± 5,07 g	298,8 ± 12,76 g
Placebo	177,4 ± 5,59 h	202,4 ± 4,93 h	212,8 ± 10,28 h

Significación estadística: a, b, c, d, e, f.

TABLA 4. Variaciones en el peso corporal de los animales en el ensayo de la toxicidad aguda dérmica dosis límite del extracto fluido de uva caleta

Grupo	Tiempo		
	0	7	14
Hembras			
Tratados	223,0 ± 21,64 a	233,2 ± 25,53 a	233,8 ± 21 a
Placebo	221,6 ± 13,24 a	227,0 ± 18,67 a	227,0 ± 18,67 a
Machos			
Tratados	294,4 ± 35,62 b	335,8 ± 20,2 b c	360,2 ± 22,0 c
Placebo	304,4 ± 12,52 b d	308,0 ± 38,3 b d	299,0 ± 33,4 d

Significación estadística: a, b, c, d.

TABLA 5. Evaluación histológica de la mucosa oral

Grupo	Promedio	Índice de irritación	Evaluación
Placebo	11,3	10	Moderada
Tratados	6	4,7	Mínima a media
Control	1,3	0	Ninguna

TABLA 6. Evaluación dadas a las diferentes estructuras de los ojos

Observaciones/horas	Conjuntiva	Iris	Córnea
1 hora	12	0	35
24 horas	0	0	10
48 horas	0	0	0
72 horas	0	0	0
Suma	12	0	45
Total general		57	

Discusión

EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

Las evaluaciones clínicas realizadas diariamente a todos los animales mostraron como resultado que para el caso de los animales tratados con uva caleta, todas las heridas a partir del tercer día presentaron costra sin humedad. Para el caso de los animales que fueron tratados con sulfadiazina de plata se encontraron heridas infestadas de ahí los resultados obtenidos.

EVALUACIÓN MORFOMÉTRICA

Con relación a las evaluaciones morfométricas de la epidermis de las heridas se midieron varios parámetros como los que se muestran en la tabla 1; puede apreciarse en cuanto al parámetro del área epitelizada el grupo tratado con el extracto tiene un mayor porcentaje (78,12 %) de reepitelización, un mayor crecimiento lineal

(8,36 mm) y finalmente es el grupo que tiene un menor valor de perímetro igual a 9,37 mm.

Se pueden concluir que los mejores resultados en todos los parámetros evaluados se obtuvieron para aquellas heridas que fueron tratadas con el extracto de uva caleta al 50 %.

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

Los resultados de las evaluaciones histopatológicas que se observan en la tabla 2 mostraron que las heridas tratadas con el extracto en todos los animales tenían un proceso de cicatrización normal, presentaron una dermis madura y una epitelización completa en los animales a un 100 % y a un 75 % respectivamente.

Las heridas tratadas con sulfadiazina de plata sólo presentaron dermis madura en 3 de los animales a los cuales se les aplicó. El resto de los grupos tienen valores menores con respecto al grupo tratado con el extracto. Se puede concluir que el extracto de uva caleta al 50 % tiene un buen efecto acelerador de la cicatrización en las heridas abiertas.

Evaluación toxicología

ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA ORAL

Durante los 14 d que duró el ensayo sólo se encontró, tanto para el grupo placebo como el grupo tratado con el extracto, los signos clínicos atribuidos al contenido de alcohol presente en la formulación el cual desapareció a las 24 h.

Los datos experimentales que se muestran en la tabla 3 se procesaron estadísticamente como ya se indicó y se obtuvo para las hembras, que recibieron el compuesto que entre las diferentes pesadas efectuadas en los diversos días 7 y 14 con el primero pero no así entre los 2 primeros. Para el caso de los machos la situación se presenta algo diferente, para los placebos no hubo diferencias significativas entre los diferentes días en que se realizaron las pesadas, aunque sí se puede notar que hubo un aumento de peso desde el inicio hasta el final del experimento. En el caso de los machos tratados con el extracto la diferencia se expresó de manera similar a las hembras tratadas.

Las muestras de los órganos seleccionados no mostraron afectaciones desde el punto de vista macroscópico según los criterios del patólogo por lo que no fueron procesados histopatológicamente.

ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DÉRMICA

Para este estudio a diferencia de la TAO no se encontró ninguna alteración en los animales tratados tópicamente con el producto de estudio.

En el caso de las ratas hembras tratadas con el extracto como se afirma en la tabla 4 no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), ni dentro del grupo para los diferentes días, ni entre los

grupos para un mismo día. En el caso de los machos se observó que los días 7 y 14 no difieren entre sí, no sucediendo así para este último y el tiempo 0, siendo las medias de los tiempos, para los placebos no hubo diferencias significativas, entre los diferentes días en que se realizaron las pesadas, aunque si se puede notar que hubo un aumento de peso desde el inicio hasta el final del experimento.

Las muestras de los órganos seleccionados no mostraron afectaciones desde el punto de vista macroscópico, según los criterios del patólogo, por lo que no fueron procesados histopatológicamente.

IRRITABILIDAD DÉRMICA

En ninguna de las evaluaciones realizadas se observa alteración alguna o signos clínicos en los animales, por lo que el índice de irritación primario para el extracto fluido de uva caleta al 50 % es 0,0 lo cual cataloga a la sustancia como potencialmente no irritante para la piel.

IRRITABILIDAD DE LA MUCOSA ORAL

El producto objeto de estudio como se aprecia en la tabla 5 no mostró ser irritante para la mucosa oral del *hámster* dado a que se obtuvo un valor de 4,7 o sea irritante mínimo o medio inferior al límite 9 (ISO) que se acepta para aprobar o rechazar un lote. En el caso del placebo se clasifica como moderadamente irritante y no pasa la prueba.

IRRITABILIDAD OFTÁLMICA

En la tabla 6 se muestran ligeras afectaciones en la conjuntiva y córnea, por lo que el índice de irritación oftálmico fue de 4,75 y de esta forma el producto se considera como no irritante.

SUMMARY: A pharmacological study of the fluid extract of *coccoloba uvifera* 50 % was conducted to evaluate the accelerating effect of open wound healing in the skin of Wistar rats. It was finally proved that the group treated with the extract has the highest healing indexes. Then, the innocuousness of the extract was determined in laboratory animals and a toxicological study was carried out according to the methods established by the OECD and the ISO. The assays of acute oral and dermal toxicity showed that on applying a dose of 2 000 mg/kg of body weight, neither toxic signs nor deaths were observed. Therefore, it was considered as unclassified, being potentially innocuous for man. The irritant potential on the skin, oral and ocular mucosae was also studied. As no damages or alterations were detected, it was classified as no irritant in all cases.

Subject headings: PLANTS MEDICINAL/therapeutic use; PLANT OILS/therapeutic use; TOXICITY TESTS/methods; WOUND HEALING; RATS.

Referencias bibliográficas

1. Franco JP, y col. Tamizaje antitumoral de plantas cubanas. Rev Cubana Farm 1998; 22: 119-24.
2. Roig JT. Diccionario Botánico de Nombres Vulgares. Editorial Científico-Técnica. La Habana. 1988.
3. Ecobichon D. The Basic of Toxicology Testing. M.C. Gill University, 1992.
4. Guía Metodológica para la investigación de plantas medicinales. Dirección de Ciencias y Técnicas, área de docencia e investigaciones MINSAP 1997.
5. Berlanga J, Moreira E Wound Healing Promotion in rats Treated with EGF is dose dependent Biotecnología aplicada 1996; 13:181-5.
6. RG. Paul; JF. Tariton. Biomechanical and Biochemical study of a standardized wound healing model. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 1997;29:211-20.
7. OECD. Acute Oral Toxicity. Guidelines for Testing of Chemical No. 401, 1996.
8. OECD. Acute Eyes Irritation Corrosion. Guidelines for Testing of Chemical No. 405, 1987.
9. Draize. J.H. Woodward, G, Calvery, H.O, Methods for the study of Irritation and Toxicity of substances applied topically to the skin and mucosae membranes. J Pharmacol Exp. Ther, 82:pp 377.
10. OECD. Guidelines for Testing of Chemical: Acute Dermal Irritation Corrosion 404, julio 1992.
11. ISO. Biological Evaluation of Medical Devices, part 10. Test for Irritation and Sensitization, 1992. 1994.

Recibido: 29 de mayo del 2001. Aprobado: 30 de junio del 2001.

Lic. Aniuska M. Piloto Alfonso. Laboratorios Llorad. Calle 35 No. 23406 entre 234 y 236, San Agustín, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.