

Evaluación de la actividad antinociceptiva y efectos secundarios del extracto etanólico de *J. spicigera* en un modelo murino

ALVARADO, Brenda*†, LEÓN, Angel, MUNGUÍA, Abigail y HERNÁNDEZ, Jaime

Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca-Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Recibido 3 de Abril, 2015; Aceptado 25 de Junio, 2015

Resumen

El dolor es una sensación desagradable que aporta una alerta sobre el estado de integridad del organismo, para contrarrestarlo se utilizan fármacos que en uso crónico generan efectos secundarios. La etnomedicina es una alternativa farmacológica frente a este tipo de afecciones y aparentemente no provocan daños toxicológicos. *J. spicigera* es una planta ampliamente utilizada para tratar diversos malestares generales, por lo que en esta investigación se determinó la actividad antinociceptiva del extracto etanólico de *J. spicigera* mediante la evaluación del modelo de formalina, el porcentaje de antinocicepción a los 15 minutos del experimento en la dosis de 10 mg/kg fue de 48.20% mientras que en la concentración de 6 mg/kg mostró un 34.13%, en la evaluación toxicológica los animales tratados con el extracto no presentaron cambios neurológicos en el tiempo de tratamiento, por otra parte la observación del tejido gastrointestinal para ambas concentraciones no provocaron ulceración o trastornos digestivos, dados los resultados de la presente investigación *J. spicigera* sugiere ser una excelente alternativa como analgésico que a corto plazo no provoca efectos secundarios.

Uso etnomédico, formalina, efectos tóxicos, *J. spicigera*.

Abstract

Pain is an unpleasant sensation that gives us a warning about the state of integrity in the body, to counter drug that chronic use generate secondary effects are used. Ethnomedicine presents a pharmacological alternative to such conditions and apparently do not cause toxicological damage. *J. spicigera* is a widely used to treat various ailments general plant so in this study the antinociceptive activity of the ethanolic extract of *J. spicigera* by assessing the formalin model was determined, the percentage of antinociception after 15 minutes of the experiment in the dose of 10 mg / kg was 48.20% while the concentration of 6 mg / kg showed a 34.13% in the toxicological evaluation the animals treated with the extract showed no neurological changes in treatment time, moreover observing both gastrointestinal tissue concentrations did not cause ulceration or digestive disorders, given the results of this research it suggests *J. spicigera* can be an excellent alternative analgesic that does not cause short-term side effects.

Ethnomedic use, formalin, side effects, *J. spicigera*.

Citación: ALVARADO, Brenda, LEÓN, Angel, MUNGUÍA, Abigail y HERNÁNDEZ, Jaime. Evaluación de la actividad antinociceptiva y efectos secundarios del extracto etanólico de *J. spicigera* en un modelo murino. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias 2015, 2-3:409-414

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: balvarado@uaslp.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

El dolor es un estímulo que puede ser potencialmente nocivo el cual adjunta diversas sensaciones desagradables manifestadas por diferentes reacciones fisiológicas, anatómicas o conductuales (Covarrubias et. al., 2010) que es ampliamente asociado a un concepto de enfermedad (Muñoz et. al., 2009). Este signo clínico es de los más frecuentes en el mundo, el uso de un solo fármaco en muchas ocasiones suele ser ineficaz por lo que se recurre a la combinación de AINES y opioides, desafortunadamente el abuso de estos medicamentos puede llegar a provocar efectos secundarios como adicción, trastornos gastrointestinales y problemas renales (Marcus et. al., 2015, Lanás, 2001). Una alternativa para hacer frente a este problema es el uso de la etnomedicina, que ofrece una amplia gama de plantas con diferentes propiedades a las que se les atribuyen innumerables efectos beneficiosos, *J. spicigera* es una planta de la familia de las *Acanthaceae* de amplia distribución en el sur y centro de México, es utilizada para el tratamiento de enfermedades crónicas degenerativas, aumento de hemoglobina y procesos inflamatorios por lo que la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad analgésica del extracto etanólico de *J. spicigera* (EEJS) en un modelo murino así como determinar indicios de toxicidad mediante observación de tejido gastrointestinal y cambios de comportamiento neurológico.

Metodología

Obtención del extracto

El material vegetal de *J. spicigera* se recolectó en el municipio de Aquismón (21°38'00"N 99°02'00"O), S.L.P., México en el mes de Junio de 2014 en temporada pluvial, con un peso total de cuatro kilogramos de hojas nuevas frescas.

Las hojas se lavaron y se sometieron a un proceso de secado en condiciones de obscuridad durante una semana, una vez terminado este proceso se procesaron en un molino analítico (Osterizer) hasta obtener partículas finas (Mahecha, 2007). Las hojas pulverizadas se sometieron a un proceso de maceración colocándolas en un matraz erlenmeyer y cubriéndolo con papel aluminio para evitar la degradación de compuestos, el extracto se filtró y el concentrado fue obtenido por eliminación a temperatura ambiente en la campana de extracción (Fume Hood Lab Tech®) (Catania, 2007).

Animales de experimentación

Para la determinación de la actividad antinociceptiva del extracto etanólico de *J. spicigera* (EEJS) se utilizaron ratas Wistar hembra de entre 4 y 6 semanas de vida con un peso promedio de 160-180 gr. las cuales fueron mantenidas en un control de temperatura, humedad, acceso libre de agua y comida con ciclos de luz/obscuridad de 12 horas cada uno. La duración del experimento fue lo más corto posible, considerando siempre que el número de animales empleados fuera el mínimo necesario. Cada animal fue sacrificado siguiendo los lineamientos éticos para la investigación del dolor en animales de experimentación de la Asociación Internacional del Dolor (Zimmerman, 1983).

En la evaluación toxicológica se utilizaron 16 ratas Wistar hembra de 4-6 semanas de edad con un peso de 160 – 180 gr. mantenidas en condiciones controladas de temperatura y humedad con acceso libre de agua y comida en ciclos de 12 horas de luz/obscuridad. Los animales se dividieron en 4 grupos tratados de la siguiente manera: un grupo control con Indometacina, un grupo con agua desionizadas y dos más con concentraciones de 6 y 10 mg/kg del EEJS.

Modelo nociceptivo por formalina

Los animales se dividieron en 4 grupos compuestos de 4 ratas cada uno, los cuales fueron pretratados con administración oral del EEJS con dosis de 6 mg/kg de peso y 10 mg/kg, un grupo control positivo, al cual se le administró aminopirina (2 mg/kg) y un grupo control negativo, al que sólo se le administró agua desionizada.

Una hora después de administrar el tratamiento se indujo producción de dolor por formalina al 3% (Sigma, USA) (Zimmerman, 1983) en dosis de 20 µg por gramo de peso en la región subplantar de la pata derecha de los animales de experimentación.

Las ratas fueron colocadas en jaulas transparentes con el propósito de observar su conducta. Se cuantificó el tiempo de lamida y sacudida de la pata durante 30 minutos en periodos de 5 minutos. El porcentaje de antinocicepción se calculó mediante la siguiente ecuación (Isiordia, et. al., 2010):

$$\% \text{ antinocicepción} = \frac{T. \text{ de lamida sin farmaco} - T. \text{ de lamida con farmaco} * 100}{T. \text{ de lamida sin farmaco}} \quad (1)$$

Evaluación toxicológica

Durante el tratamiento de los animales se observaron signos clínicos y cambios conductuales, también se monitoreo el incremento de peso desde el inicio hasta el final de los experimentos.

Al finalizar la experimentación los animales fueron sacrificados. Mediante un corte sagital en la zona peritoneal de los animales se verificó la presencia de ulceraciones en el tracto gastrointestinal provocadas por los tratamientos.

La cantidad de úlceras se evaluó en escala de 0 a 4 cruces en donde una cruz (0-2 úlceras), dos cruces (3-5 úlceras), tres cruces (6-10 úlceras) y cuatro cruces (11 -20 úlceras) (González & Rodríguez, 2014).

Análisis estadístico

Se revisaron los criterios de normalidad en los datos generados y posteriormente se utilizó la prueba ANOVA para determinar diferencias entre los grupos, tomando como significativo un valor de $p < 0.05$.

Para la generación de gráficos se utilizó el programa Excel en las pruebas de antinocicepción y Graph Pad Prism versión 6.5. para el gráfico de ulceración.

Resultados

La figura 1 muestra el porcentaje de efecto antinociceptivo donde el mayor resultado se observa a los 25 minutos con un valor de 64.90% para la concentración de 10 mg/kg del extracto existiendo una diferencia significativa ($p < 0.05$) en comparación con la dosis de 6 mg/kg cuyo resultado cae en un efecto antinociceptivo del 34.93%, ambas concentraciones tienden a decaer en el efecto a los 30 minutos del experimento mientras que el control positivo de aminopirina sigue una tendencia de incremento del efecto antes mencionado.

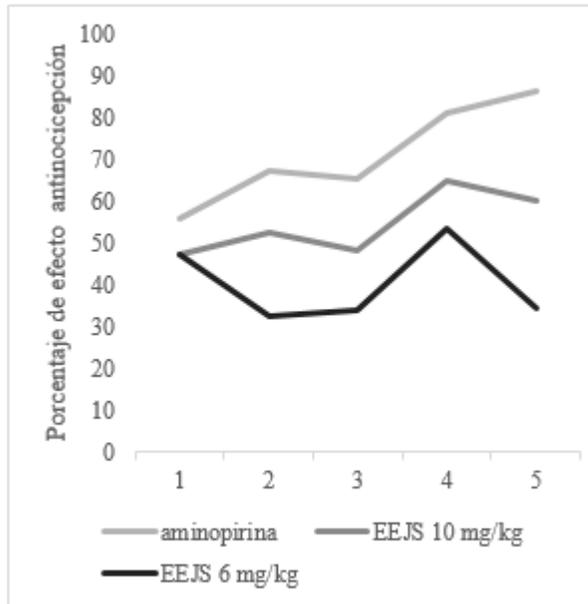


Figura 1 Porcentaje de efecto antinociceptivo.

Para evaluar indicios de toxicidad en los animales se registraron los cambios de comportamiento durante el tratamiento (Tabla 1). En esta tabla se muestra que los animales tratados con el EEJS no sufrieron cambios conductuales significativos comparados con el grupo tratado con agua. De igual manera no se observó mortandad en los grupos tratados con las dosis de EEJS.

En la Figura 2 se muestra un balance de la ganancia de peso, los tratamientos del EEJS así como el grupo control negativo con agua tienden a incrementar su peso de manera normal y constante a diferencia del grupo tratado con indometacina ($p < 0.05$). Esto concuerda con lo registrado en las observaciones de comportamiento donde el grupo tratado con indometacina presentó pérdida de apetito, síntomas de letargo, polidipsia y agresividad.

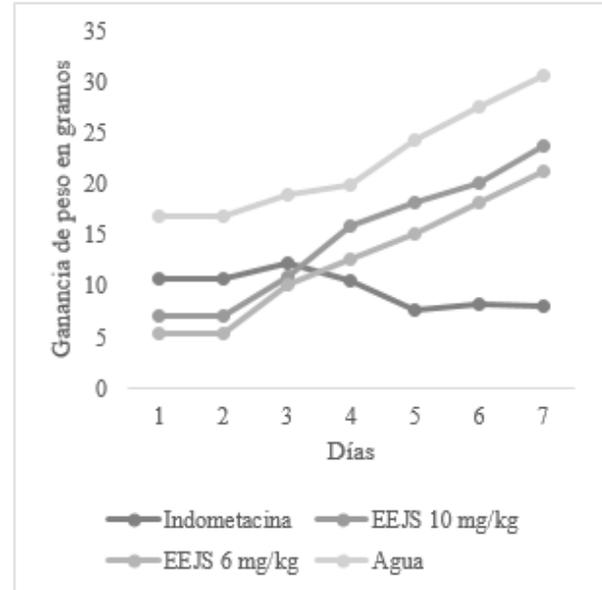


Figura 2 Ganancia de peso en gramos de los animales durante el periodo de tratamiento.

	GRUPO DE ESTUDIO			
	Agua	Indometacina 20 mg/kg	EEJS 10 mg/kg	EEJS 6 mg/kg
MORTALIDAD	0/4	0/4	0/4	0/4
ALTERACIONES NEUROLÓGICAS	Inmovilidad	S/C	S/C	S/C
	Sedación	S/C	++	S/C
	Polidipsia	S/C	++	S/C
ANORMALIDADES DEL COMPORTAMIENTO	Agresividad	S/C	++	S/C
	Irritabilidad	S/C	++	S/C
	Pasividad	S/C	+	S/C
PIEL Y MUCOSAS	Piel	S/C	S/C	S/C
	Mucosas	S/C	S/C	S/C

Tabla 1 Signos y síntomas observados durante el tratamiento.

En la figura 3 y 4 se muestran los tejidos estomacal e intestinal respectivamente, de los diferentes grupos tratados en la presente investigación. Los animales tratados con los EEJS no presentaron indicios de laceración o ulceración, caso contrario con los animales sometidos al fármaco indometacina en donde se produjeron lesiones en intestino y úlceras.

La cantidad de úlceras encontradas en el grupo control de indometacina es significativamente mayor (Figura 5) a las encontradas en los otros tratamientos, de igual manera se correlaciona con los signos clínicos observados debido a la poca ingesta de alimento y la sed provocada por el fármaco.

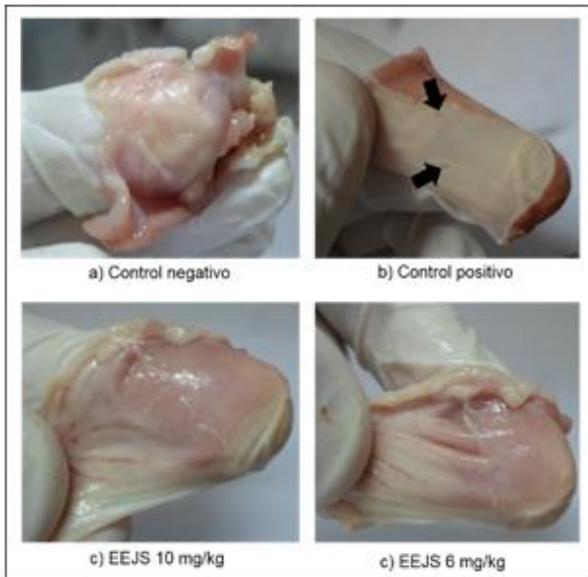


Figura 3 Observación macroscópica de tejido estomacal de rata al término de los tratamientos. a) Control negativo (agua), b) control positivo (indometacina), c) EEJS 10 mg/kg, d) 6 mg/kg.

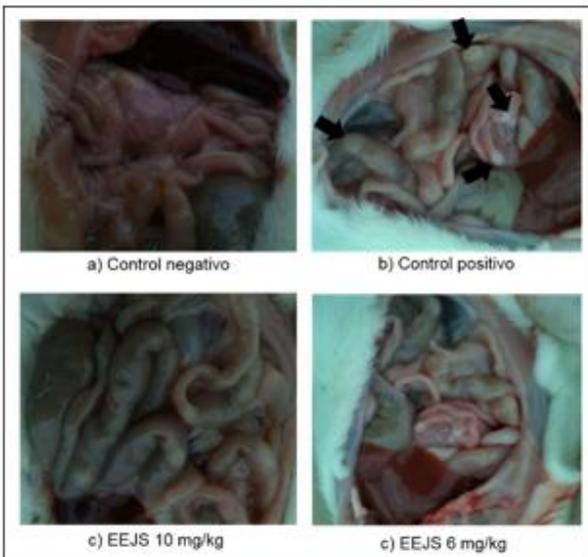


Figura 4 Observación macroscópica de tejidos intestinales de rata al término de los tratamientos. a) Control negativo (agua), b) control positivo (indometacina), c) EEJS 10 mg/kg, d) 6 mg/kg.

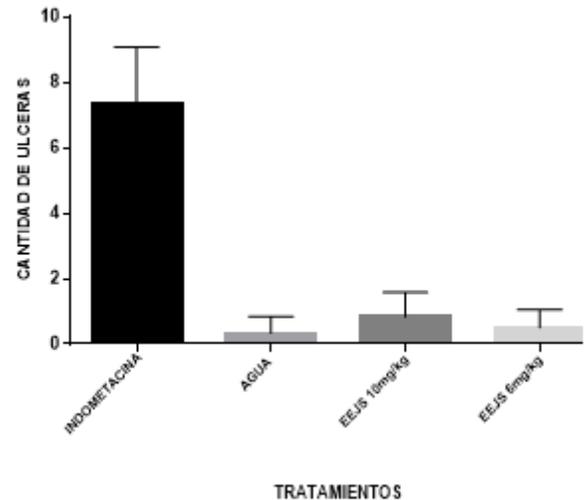


Figura 5 Cantidad de úlceras observadas en el tejido estomacal e intestino de los animales de experimentación en los diferentes grupos.

Agradecimientos

Al personal de apoyo técnico del Laboratorio de Investigación Biomédica y del Laboratorio de Desarrollo de Productos. Un agradecimiento al Fondo de Inmersión a la Ciencia por el apoyo económico otorgado través del convenio C14-PIFI-08-18.18.

Conclusiones

El EEJS muestra una capacidad analgésica efectiva en los primeros 20 minutos de su administración sin provocar efectos secundarios visibles, por lo que podría considerarse como una alternativa viable para el tratamiento del dolor previa realización de estudios toxicológicos más profundos.

Referencias

- Catania, C., & Avagnina, S. (2007). La maceración. Curso superior de degustación de vinos.
- Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Gutiérrez-Salmerón, C., Betancourt-Sandoval, J. A., & Córdova-Domínguez, J. A. (2010).

ALVARADO, Brenda, LEÓN, Angel, MUNGUÍA, Abigail y HERNÁNDEZ, Jaime. Evaluación de la actividad antinociceptiva y efectos secundarios del extracto etanólico de *J. spicigera* en un modelo murino. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias 2015

Epidemiología del dolor crónico en México. *Rev Mex Anest*, 33, 207-213.

González A., C. G., & Rodríguez R., E. (2014). Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Senecio confusus* en un modelo murino de inflamación por carragenina. Cd. Valles, S.L.P.

Isiordia, M., Guillén, A. P., Aguirre, P., & Pérez, J. (2010.). Análisis isoblográfico de la combinación analgésica ketorolaco sistémico y tramadol local en el modelo de la formalina en ratones. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 2(16), 42-49.

Lanas, A. (2001). Efectos secundarios gastrointestinales por antiinflamatorios no esteroideos y costes en el Sistema Nacional de Salud. *Anales de Medicina Interna*, 18(11), 9-11.

Mahecha, G. (2006). Guía para la recolección y preservación de muestras botánicas en campo.

Marcus, D. J., Zee, M., Hughes, A., Yuill, M. B., Hohmann, A. G., Mackie, K., Morgan, D. J. (2015). Tolerance to the antinociceptive effects of chronic morphine requires c-Jun N-terminal kinase. *Molecular Pain*, 11, 34. doi:10.1186/s12990-015-0031-4

Muñoz, C. E., Vergel, N. E., Cabral, P., Aragón, D. M., & Ospina, L. F. (2009). Antinociceptive effect of *Critoniella acuminata*, *Physalis peruviana* and *Salvia rubescens*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 38(1), 31-41.

Zimmerman, M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pains*, 2(16), 109-110.