

---

# TOXICIDAD SUBCRÓNICA DEL *Spilanthes americano* EN RATONES ALBINOS SUIZOS

Oscar Hernán Zuluaga<sup>1</sup>  
Nancy Ramírez<sup>2</sup>  
Beatriz Arango<sup>3</sup>  
Héctor Jaime Aricapa<sup>4</sup>  
Dora Cardona<sup>5</sup>

## RESUMEN

Objetivo: identificar los efectos producidos por el extracto de *Spilanthes americano* sobre los tejidos de los ratones Albinos Suizos.

Materiales y Métodos: se realizó un estudio experimental doble ciego con una muestra de 40 ratones albinos suizos, que fueron sometidos a la acción del *Spilanthes americano* para determinar la inocuidad del extracto, a través de los cambios histológicos en corazón, pulmón, riñón, hígado, piel y médula ósea.

Resultados: en los hallazgos histológicos se encontraron acúmulos linfoides peribronquiales e infiltrado linfoide intersticial tanto en el grupo experimental como en el grupo control, y entre los cuales no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,75$ ).

Conclusión: los hallazgos encontrados pueden estar relacionados con el estrés generado a los ratones en la fase experimental, y el test de micronúcleos presentó un resultado negativo, por lo tanto el extracto de *Spilanthes americano* no presentó ninguna clase de efecto tóxico agudo sobre los órganos de los ratones.

**Palabras clave:** *Spilanthes americano*, ratones, inocuidad, estrés.

## SUBCHRONIC TOXICITY OF *Spilanthes americano* IN SWISS ALBINO MICE

### ABSTRACT

Objective: to identify the histological effects produced by *Spilanthes american* extracts on the tissue of the "Albinus Swiss" mice.

Material and Methods: cuasiexperimental study double blind with 40 swiss albino mice that were subdue to *Spilanthes american* action to determine the innocuous effect, and histology's findings in hearth, lung, kidney, liver, skin and bone marrow.

Results: the histological findings show lymphatic accumulation, peribronchial and interstitial in both, experimental and control group, without statistical differences ( $p=0.75$ ).

Conclusion: the *Spilanthes american* extract does not produce any acute toxicity in the tissues of Swiss Albino mice.

**Key words:** *Spilanthes american*, mouse, innocuous, stress.

---

<sup>1</sup> Estudiante de Postgrado. Rehabilitación Oral Integral. Universidad Autónoma de Manizales.

<sup>2</sup> Estudiante de Postgrado. Rehabilitación Oral Integral. Universidad Autónoma de Manizales.

<sup>3</sup> Médico Patólogo.

<sup>4</sup> Médico Veterinario. Zootecnista Esp. Microbiología. Profesor Universidad de Caldas. Programa MVZ.

<sup>5</sup> Bacteriologa, Ph. D. Profesora Universidad Autonoma de Manizales.

## INTRODUCCIÓN

Una de las patologías de la cavidad oral más común en nuestro medio es el herpes labial recurrente. Las lesiones herpéticas se presentan en la actualidad de forma común en la población colombiana, que por lo general ha sido tratada con medicamentos, como el *Aciclovir*, que impiden la replicación viral y favorecen la cicatrización. Sin embargo, medicamentos de este tipo presentan inconvenientes como su alto costo y algunos efectos adversos (1).

Estudios realizados por Duque y Peláez en 1996, demostraron que el *Spilanthes americano* tiene una mayor eficacia que el *Aciclovir*, agregado a la ausencia de reacciones adversas y con un costo más accesible (1). Posteriormente, se observó que el uso del *Spilanthes americano*, sin importar la concentración a la cual se utilice (desde su uso como extracto puro, e inclusive diluido al 10%), reduce el tiempo de remisión de la lesión labial herpética recurrente a nivel clínico, generando una mejor y rápida cicatrización (2). Además de la actividad reportada en los anteriores estudios, Ospina de Nigrinis, Olarte y Núñez, en 1989 determinaron las sustancias biológicamente activas del *Spilanthes americano* (N-isobutil-5 ino-8 eno-trans-isobutilamida y acetato de taraxasterol), demostrando su actividad anestésica y acción cicatrizante rápida (3).

También puede tener efecto anestésico de superficie en alteraciones de mucosa húmeda; por cuanto elimina el dolor por una acción anestésica local, la cual al hacerse persistente, se traduce en acción analgésica que facilita el proceso de cicatrización (3). También se encontraron acciones colinérgicas que pueden traer efectos como náuseas, diarrea, bradicardia, hipersecreción salival, broncoespasmo y confusión mental, pero solamente cuando se encuentran en concentraciones sanguíneas de la sustancia muy altas, por lo cual se sugiere sólo la administración tópica y en mucosas secas (4).

Ya que no se ha establecido la inocuidad del extracto de *Spilanthes americano*, el problema

de investigación está enfocado a resolver el interrogante: ¿Cuál es el efecto tóxico agudo del *Spilanthes americano* sobre los tejidos de ratones Albinos Suizos?

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental doble ciego con una muestra de 40 ratones Albinos Suizos divididos en 1 grupo control y 1 grupo experimental, los cuales se mantuvieron durante y después de la fase experimental según los Principios Éticos Internacionales de la experimentación animal (*International Council for Laboratory Animal Science*. Comité Nacional del Iclas).

Como criterios de inclusión se tuvieron en cuenta sólo ratones de cepa "*swiss albinus*", entre machos y hembras divididos por mitad, los cuales eran de la misma edad (ratones de 1 mes de nacidos) y el mismo peso, y se conservaron bajo los mismos factores ambientales tales como: temperatura ambiente; con agua permanente; en condiciones de cisco, el cual fue cambiado 2 veces por semana; 4 jaulas del mismo tamaño; y alimentados con concentrado para caninos, suministrado 1 vez por día. Se realizó una prueba piloto orientada a la estandarización de los procedimientos realizados para procesar los tejidos e identificar las características histológicas con 3 ratones denominados A, B, C, pertenecientes a la misma cepa, pero que no participaron dentro del estudio.

Los grupos experimental y control, se encontraron bajo un protocolo de observación. Los ratones estaban numerados del 1 al 40 y separados por grupos, además de las fichas utilizadas para registrar los análisis histopatológicos de cada uno de los diferentes órganos.

Los ratones se mantuvieron en el bioterio de la Universidad Autónoma de Manizales durante un periodo de 30 días en los cuales fueron expuestos al extracto, que se obtuvo a partir de

la flor de la planta de *Spilanthes americano*, en una concentración del 15% bajo un soporte de vaselina obteniendo un ungüento homogéneo, según los protocolos descritos por Duque y Luna en estudios anteriores (2).

La topicación se realizó tres veces al día sobre la piel del ratón (dorso); en el grupo experimental se utilizó el extracto de *Spilanthes americano* y en el grupo control un placebo, el cual correspondía al vehículo usado para el extracto (vaselina).

Culminada la topicación, se procedió al sacrificio de los ratones, por un médico veterinario autorizado y capacitado, según los artículos 5 y 10 de los Principios Éticos Internacionales de la experimentación animal (*International Council for Laboratory Animal Science*. Comité Nacional del Iclas). Inmediatamente se tomaron muestras de la médula ósea (fémur), de todos los grupos (de 3 a 5 extendidos por ratón) con el fin de realizar el test de micronúcleos, y se extrajeron 5 órganos (riñón, hígado, corazón, pulmón y piel).

A los órganos extraídos se les realizó un proceso histológico de elaboración de bloques, corte, tinción con hematoxilina-eosina y montaje de placas histológicas para el análisis realizado por un patólogo calificado.

Las muestras de médula ósea fueron sometidas a coloración de *Wright* para detectar la presencia o ausencia de fragmentos nucleares en glóbulos rojos (test de micronúcleos).

Para la interpretación de los resultados se utilizaron los siguientes criterios: hallazgos patológicos macroscópicos de los órganos, hallazgos histopatológicos de los órganos, y el test de micronúcleos en médula ósea. El análisis de resultados incluyó la comparación de los hallazgos histopatológicos del grupo experimental y el grupo control con el test de micronúcleos. Dicha comparación se realizó a través de la prueba t para proporciones.

## RESULTADOS

En el momento del sacrificio de los ratones y la extracción de los órganos, se observó una disposición normal macroscópica de todos los órganos tanto del grupo control como del grupo experimental.

De los hallazgos histopatológicos encontrados se observaron acúmulo linfocítico peribronquial en el grupo experimental y acúmulo linfocítico peribronquial e infiltrado linfocítico intersticial en el grupo control. En el riñón se observó nefritis intersticial linfocítica en el grupo experimental y en el grupo control. Sólo en 1 de los casos del grupo experimental se encontró acúmulo linfocítico hepático.

Además de estos hallazgos en los ratones A, B, y C, utilizados como prueba piloto para la estandarización del procedimiento de sacrificio y de análisis histopatológico, se encontró acúmulo linfocítico peribronquial, infiltrado linfocítico intersticial y acúmulos linfocíticos en hígado. Las proporciones de los hallazgos histopatológicos se pueden observar en la Figura 1.

Después de la comparación de los hallazgos histopatológicos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimental y control ( $p=0,75$ ).

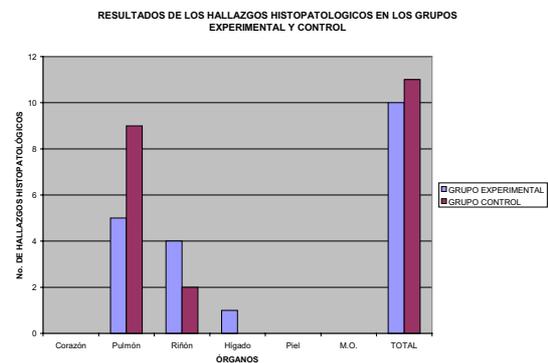


Figura 1. Resultados de los Hallazgos Histopatológicos en el grupo Experimental y grupo Control.

## DISCUSIÓN

Ya que no se han realizado más estudios sobre el efecto tóxico del *Spilanthes americano*, la interpretación y la discusión de los resultados se centrará en los hallazgos histopatológicos y de test de micronúcleos, que se observaron en los grupos experimental y control.

Dentro de los hallazgos histopatológicos encontrados en los grupos experimentales y de control, se tienen infiltrados inflamatorios (acúmulo linfoide intersticial, acúmulo linfoide peribronquial y nefritis intersticial linfoide) los cuales se hallaron también en los ratones de la prueba piloto.

Estos hallazgos se pueden relacionar al fenómeno de estrés, al cual estuvieron sometidos los ratones durante la totalidad del experimento. El estrés es un término genérico, indicativo de tensión, amenaza o agresión capaz de producir una respuesta encaminada a impedir el daño e incrementar la posibilidad de supervivencia. Si la respuesta es inadecuada por exceso o por agotamiento se derivan cambios patológicos o la muerte del animal (5).

Toda actividad física o psíquica, teóricamente puede considerarse como factor estresor. El mecanismo compromete al eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal, con mayores secreciones de catecolaminas y glucocorticoides, estos últimos encargados de reforzar y potenciar los efectos de las catecolaminas, las cuales disparan los efectos inmunológicos y la presencia de linfocitos en diferentes tejidos del cuerpo (5).

Todas las formas de estrés (traumatismo, operación quirúrgica, hambre, quemaduras, infecciones, ejercicio intenso, alteraciones psicológicas, ansiedad, etc.) producen glucocorticoides como el cortisol, liberados por las glándulas adrenales que son transportados por sangre hasta las fibras musculares (6).

La topicación del extracto de *Spilanthes americano*, se realizó tres veces al día durante

treinta días, actividad física que por sí sola representó un incremento de estrés de los ratones del grupo experimental y del grupo control, agregando la cercanía que tenía el salón de música de la Universidad Autónoma de Manizales al bioterio donde se encontraban los ratones.

Por otro lado, la nefritis intersticial renal posee diferentes orígenes entre los cuales se encuentran un defecto genotípico innato de la cepa del ratón (6). Esto se ve representado en que tanto los ratones del grupo experimental, como los del grupo control, y los de la prueba piloto presentaron estos hallazgos, por lo cual se presume que esta manifestación era innata en la cepa de los ratones y que se hallaba presente antes del proceso de experimentación. Además se debe tener en cuenta la relación que tienen estos hallazgos con los órganos afectados (pulmón y riñón), ya que si se esperaba una reacción tóxica aguda del extracto se debieron haber encontrado hallazgos en órganos blancos encargados del metabolismo del extracto (riñón e hígado).

Adicionalmente, el test de micronúcleos realizado en todos los grupos experimentales y en los ratones de la prueba piloto resultó negativo asumiendo, en consecuencia, que el extracto no ocasiona lesiones genéticas. El test de micronúcleos se encarga de identificar cuerpos de *Howell Jolly* y fragmentos de cromosomas en las células sanguíneas inmaduras de médula ósea de ratón. De esta forma, el ensayo estudia las posibles lesiones genéticas *in vivo*, basándose en contabilizar trazas de cromatina presentes en una célula, generados por la acción del extracto (7).

La importancia del test de micronúcleos radica en la posibilidad de excluir lesiones genéticas, el cual ha sido documentado en el estudio del extracto de acetato de etilo de hojas de *monochaetum multiflorum* (niguito) –extracto utilizado como medicina alternativa–, donde presentó un resultado positivo en las células

eritroides, considerándola como un agente causal de alteraciones citogenéticas (7).

Como se ha descrito anteriormente, los hallazgos histopatológicos encontrados en pulmón y riñón están relacionados con el estrés al cual estuvieron sometidos los ratones durante toda la fase experimental. El test de micronúcleos dio un resultado negativo y los demás órganos presentaron una estructura normal, lo que permite concluir que el extracto

de *Spilanthes americano* no tiene efecto tóxico agudo ni subcrónico, sobre los diferentes órganos de los ratones.

Este estudio y los previamente realizados acerca de la eficacia del extracto, permiten señalar que el extracto de *Spilanthes americano* diluido en vaselina podría constituirse en una alternativa para manejar la cicatrización, como lo cita la literatura, y a su vez ser un posible tratamiento adyuvante del Herpes labial Recurrente (1,2).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Duque, Liliana; Peláez, Francisco. Estudio comparativo del efecto clínico cicatrizante del *Spilanthes Americano* y el *Aciclovir* aplicados tópicamente sobre la lesión labial herpética recurrente. Universidad Autónoma de Manizales. Facultad de Odontología. Manizales; Julio 1996.
2. Duque, Liliana; Luna, Juanita. Estudio comparativo del efecto clínico cicatrizante del *Spilanthes Americano* en diferentes concentraciones sobre la lesión herpética recurrente. Universidad Autónoma de Manizales. Facultad de Odontología. Manizales; 1998.
3. Ospina, Nigrinis; Olarte, J.E.; Núñez, O.E. Estudio fitofarmacológico de la fracción liposoluble de las flores de *Spilanthes Americano*. Revista colombiana de Ciencias Quimicofarmacéuticas 1989;15:37.
4. Mrad, Osorio; Torres, Nora; et al. Selección de la actividad farmacológica del extracto etéreo purificado de las flores de *Spilanthes Americano*. Revista Colombiana de Ciencias Quimicofarmacéuticas 1989;17:5-20.
5. Gutiérrez J.F., González C. Fisiología aplicada a la veterinaria y Zootecnia. Universidad de Caldas. Manizales. Colombia. Primera Edición; 1998.
6. Zúñiga. J.M., Ciencia y Tecnología en Protección y Experimentación Animal. Mc Graw Hill. Madrid. España; 2001.
7. Aricapa H.J., Romero S., Osorio B.M. Evaluación de la actividad tóxica aguda del extracto acetato de etilo de hojas de *monochaetum multiflorum* (Niguito) en Manizales. Especialización en microbiología. Universidad Católica de Manizales; 1998.