

## EVALUACIÓN GENOTÓXICA DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal, COCONA EN CÉLULAS GERMINALES DEL RATÓN

José E. Betancourt B. Ph . D.<sup>3</sup>, Felipe Ríos I.<sup>3</sup>; Arilmí Gorriti G.<sup>2</sup>;  
Augusta Córdova R.<sup>2</sup>; Edgar Novoa C.<sup>1</sup>, Doris L. López A.<sup>1</sup>,  
José L. Bicerra F.<sup>1</sup>, Armando Cruz F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica UNAP; <sup>2</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM,  
<sup>3</sup> Instituto de Medicina Tradicional IMET-ÉSALUD

### RESUMEN

Se ha realizado la evaluación del potencial genotóxico del extracto acuoso liofilizado de los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal, mediante el método de anomalías de la cabeza de espermatozoides del ratón. Se utilizaron un total de 21 ratones albinos machos de la cepa Balb/c-53, distribuidos aleatoriamente en tres grupos experimentales con 7 animales por grupo: *Solanum sessiliflorum* Dunal, a dosis de 2000 mg/Kg p.c, ciclofosfamida a dosis de 50 mg/kg p.c. (control positivo) y solución salina al 0.9% (control negativo). Se administró el extracto y la solución salina por vía oral y ciclofosfamida por vía intraperitoneal durante 5 días consecutivos. A los 35 días, después de la primera administración, se sacrificaron los animales, se extrajeron los epidídimos, se preparó una solución con tripsina, se coloreó con eosina y se procedió a la extensión de la muestra en láminas porta objetos para su posterior lectura. Se clasificaron los espermatozoides siguiendo el criterio de Wyrobex y Bruce, basado en cabezas normales, amorfas, bananas y sin gancho. No se encontraron diferencias significativas entre el grupo tratado con *Solanum sessiliflorum* Dunal y el grupo control negativo, por lo que se puede concluir que el extracto acuoso liofilizado de *Solanum sessiliflorum* Dunal, no posee acción genotóxica a nivel de células germinales.

**Palabras clave:** *Solanum sessiliflorum* Dunal, genotoxicidad, anomalías, células germinales.

### SUMMARY

The genotoxic potential of the aqueous extract lyophilized of fruits *Solanum sessiliflorum* Dunal, by means of method head anomaly of spermatozoid mouse was evaluated. A total of 21 albino mice male of the cepa Balb/c-53 were used. Tree group experimentals with 7 animals for group: *Solanum sessiliflorum* Dunal to dose 2000mg/kg, ciclofosfamide to dose 50 mg/kg (positive control) and saline solution 0.9 % (negative control) were established. The aqueous extract and saline solution were administed route oral and ciclofosfamide route intraperitoneal during 5 days consecutives. After 35 days of the first administration, the animals were sacrifices, epididimes extracted and prepared a solution with tripsine, coloured with eosine and procedured to extend in lamina slide (2 lamina for animal) for the later recount. The spermatozoids were classified following the criterion of Wyrobex and Bruce, based in normal heads, amorphous, bananas and ahook. *Solanum sessiliflorum* Dunal not presented significant difference of amorphous spermatozoids in relation to negative control, for the that may to conclude extract not endowed genotoxic action to level germinals cells.

**Key words:** *Solanum sessiliflorum* Dunal, genotoxic, anomalys, germinals cells.

### INTRODUCCIÓN

La flora amazónica peruana constituye una de las mayores reservas de recursos fitoterapéuticos; la medicina tradicional, como parte esencial de la cultura de los pueblos, ha sido, durante siglos, el único sistema guardián de las generaciones pasadas donde, según el cálculo de la OMS, casi el 80 % de los habitantes de la tierra confía en ella, para resolver sus principales necesidades de salud (8).

En la actualidad, el tratamiento con plantas medicinales demanda que la aplicación se efectúe sobre una base científica que evalúe la actividad terapéutica de éstas. Las investigaciones científicas universitarias y las de la industria farmacéutica otorgan fundamento científico al uso de las plantas medicinales de uso tradicional, contribuyendo al perfeccionamiento de las formulaciones de origen vegetal. Este proceder terapéutico constituiría una innovación que permitirá formas farmacéuti-

## DISCUSIÓN

La evaluación del potencial genotóxico en células germinales del extracto acuoso liofilizado de *Solanum sessiliflorum* Dunal no mostró actividad mutagénica debido a que el porcentaje de anomalías en la cabeza de espermatozoide de la cabeza de ratón, no fue significativamente diferente con respecto al control negativo. De acuerdo a los resultados, se puede asumir que el extracto liofilizado no atraviesa la barrera hemato-testicular, por no poseer constituyentes químicos con actividad mutagénica o porque su contenido no se encuentra en las concentraciones críticas que ejercen ese efecto.

Es importante considerar la existencia de condiciones propias de la fisiología del animal como absorción, distribución, metabolismo y excreción, de manera que se puede inferir que, de existir algún metabolito de la planta con acción genotóxica, éste podría ser inactivado por los procesos enzimáticos en el hígado y por lo tanto incapaz de desencadenar daño a nivel del ADN2.

WYROBEX y Col.<sup>11,12</sup> plantean que diversos factores como las infecciones, reacciones alérgicas, cambios en la temperatura corporal y el flujo sanguíneo pueden modificar los valores espontáneos en la prueba, siendo posible inferir que las sub óptimas condiciones de mantenimiento para estos animales, tendrían efectos negativos sobre la espermatogénesis (11, 12). Este planteamiento podría explicar la aparición de espermatozoides anormales en el control negativo (solución salina).

Se concluye que el extracto acuoso liofilizado de los frutos maduros de *Solanum sessiliflorum* Dunal, "cocona", a dosis de 2000 mg/kg, no se produce alteración en el peso de testículos y epidídimos (indicador de toxicidad) en los grupos experimentales. No se observó efecto genotóxico a nivel de células germinales y que la anomalía de mayor frecuencia en las cabezas de espermatozoides de los grupos experimentales fue la de "espermatozoides sin gancho".

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALICE. C. 1991. Screening of plants used in South Brazilian folk Medicine. Journal of Ethnopharmacology. 35: 165-171.
2. ASHBY. 1997. The unique role of rodents in the detection of possible human carcinogens and mutagens. Mut Res: 115: 177-213.
3. BARRUECO, C. 1999. Evaluación Mutagénica y genotóxica de los productos químicos. Madrid, Edit. MRCIA-SEMA, pp. 271-288.
4. BETANCOURT J. y Col. 1998. Evaluación genotóxica del extracto fluido de *Indigofera suffruticosa* Mill, mediante el Ensayo de Anomalías en la Cabeza de los Espermatozoides. Rev. Cubana Plant Med: 3(2): 58- 61.
5. BETANCOURT, J. 1999. Cuestiones éticas en la experimentación animal. DOC. Convenio EsSalud- Cuba.
6. BRACK E., A. 1999. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Centro de estudios regionales andinos Bartolomé de las Casas. Cusco.
7. HOLLSTEIN, M.; Mc Cann F.A. Angelosanto and W.W. Nichols. 1979. Short-Term form Carcinogens and Mutagen, Mutation Res; Gs.133-226.
8. VILLAR, M.; VILLAVICENCIO, O. 2001, Manual de Fitoterapia. Lima, OPS/OMS: 7-9, 347.
9. MEJÍA, K.; RENGIFO, E. 2000. Plantas medicinales de uso popular en la amazonía peruana. 2.ª ed., Asociación Gráfica Educativa. Lima, 33.
10. PINEDO, M. 1997. Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana. Estudio de su uso y cultivo. Iquitos-Perú.
11. WYROBEX, A. J.; BRUCE, W. R. 1975. Chemical induction of sperm abnormalities in mice. Proc Natl Acad Sci: 72: 44-259.
12. WYROBEX, A. J. *et al.* 1983. An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm test in humans. Mut Res: 115: 73-148.

binocular con fuente de luz eléctrica. Se contó mil espermatozoides por animal y se clasificó siguiendo el criterio de Wyrobex y Bruce, basados en cabezas normales, amorfas, bananas y sin ganchos.

#### Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente a través de promedios y desviaciones estándar, además del programa MICROSTAT para el análisis de varianza.

## RESULTADOS

Cuadro N.º 1. Índice de pesos de testículos y epidídimos en ratones por grupo experimental

Tratamiento	Peso de testículos (%) $X \pm SD$	Peso de epidídimos (%) $X \pm SD$
Extracto acuoso liofilizado <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal 2000 mg/kg	0.17 + 0.01	0.07 + 0.02
Solución salina al 0.9%	0.18 + 0.02	0.07 + 0.02
Ciclofosfamida 50 mg/kg	0.14 + 0.01	0.05 + 0.01

Fuente : Cuaderno de apuntes.

El Cuadro N.º 1 muestra que no existen diferencias significativas en el peso de los testículos y epidídimos con relación al control negativo; los valores

más bajos se manifiestan en el control positivo (ciclofosfamida).

Cuadro N.º 2. Porcentaje de espermatozoides con cabezas normales y anormales en ratones por grupo experimental.

Tratamiento	Tipos de espermatozoides	
	Normales (%) $X \pm SD$	Anormales (%) $X \pm SD$
Extracto acuoso liofilizado <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal 2000 mg/kg	83.11 $\pm$ 9.01	16.89 $\pm$ 9.01
Solución salina al 0.9%	82.52 $\pm$ 5.32	17.48 $\pm$ 5.32
Ciclofosfamida 50 mg/kg	67.15 $\pm$ 6.22	32.85 $\pm$ 6.21

En el Cuadro N.º 2 se observa que el extracto acuoso de *Solanum sessiliflorum* Dunal no pre-

senta diferencias significativas de espermatozoides anormales en relación al control negativo.

Cuadro N.º 3. Porcentaje de espermatozoides anormales en ratones por grupo experimental.

Tratamiento	Tipos de espermatozoides		
	Bananas $X \pm SD$	Amorfos $X \pm SD$	Sin gancho $X \pm SD$
Extracto acuoso liofilizado <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal 2000 mg/kg	0.31 $\pm$ 0.21	7.87 $\pm$ 3.55	8.72 $\pm$ 6.05
Solución salina al 0.9%	0.10 $\pm$ 0.27	9.25 $\pm$ 3.42	8.01 $\pm$ 3.65
Ciclofosfamida 50 mg/kg	0.38 $\pm$ 0.27	10.85 $\pm$ 2.71	21.74 $\pm$ 5.80

El Cuadro N.º 3 muestra los tipos de anomalías predominantes; el aumento observado obedece, en su mayoría, al incremento en la proporción

de cabezas de espermatozoides sin gancho, especialmente en el grupo tratado con ciclofosfamida.

cas efectivas con los adecuados estudios botánicos, farmacognósticos, farmacológicos, toxicológicos, genotóxicos y clínicos(4).

Una rama de la Toxicología, la Genética Toxicológica, tiene como principal objetivo la detección de agentes con actividad mutagénica, los que podrían resultar potencialmente carcinogénicos; estos agentes se denominan genotóxicos y ejercen su acción sobre el material hereditario de las células de los organismos vivos, pudiendo provocar cambios en la composición del genoma (4, 7).

Los efectos adversos de la mutagénesis en la salud pueden manifestarse por la transmisión del daño inducido en células germinales a las futuras generaciones, trastornos que pueden expresarse desde la fertilización hasta la etapa adulta, afectando la capacidad reproductiva de los seres vivos y/o incrementando la carga de enfermedades genéticas en la población (7).

Los extractos de las plantas constituyen mezclas complejas que contienen un gran número de constituyentes químicos y sustancias con propiedades mutagénicas y carcinogénicas, su uso frecuente se ha correlacionado con la ocurrencia de las enfermedades, de ahí el peligro potencial que encierra el consumo indiscriminado de fármacos de origen vegetal, debido a la escasez de datos sobre la acción mutagénica de las plantas medicinales consumidas por la población (1).

Las actuales pruebas de genotoxicidad tienen alrededor de veinte años de haberse introducido y desarrollado en numerosos ensayos. Estos estudios constituyen un paso importante en la evaluación toxicológica de los medicamentos de origen sintético y vegetal con determinada acción terapéutica (3).

Por otra parte, la simplicidad de esta prueba de mutagenicidad en cuanto a tiempo y costo, con respecto a los de carcinogenicidad, permite determinar, rápidamente, si el compuesto es mutagénico, evitando su introducción.

*Solanum sessiliflorum* Dunal, de la familia Solanaceae, es una especie conocida vulgarmente como "cocona", que se utiliza en medicina tradicional como antidiabético, antiofídico, escabicida y en quemaduras. La pulpa y el mucílago de las semillas del fruto maduro, también se utiliza en alimentación para la preparación de jugos, refres-

cos, helados, caramelos, jarabes, ensaladas y encurtidos y en la industria alimentaria para la preparación de néctares mermeladas y jaleas (9, 10).

Debido al consumo masivo de esta especie por las pobladores amazónicos, se realiza el presente trabajo con el objetivo de evaluar el potencial genotóxico del extracto acuoso liofilizado de los frutos maduros de *Solanum sessiliflorum* Dunal, que contribuya al conocimiento de su inocuidad.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se empleó extracto acuoso liofilizado de los frutos maduros de *Solanum sessiliflorum* Dunal, "cocona" con N.º de herbario SOL-0016, cedido por el laboratorio de Fitoquímica del IMET-EsSALUD, de la ciudad de Iquitos.

### Material biológico

Se utilizó un total de 21 ratones albinos machos de la cepa Balb/c-53, provenientes del Centro Nacional de Productos Biológicos-Instituto Nacional de Salud (INS), con sede en la ciudad de Lima.

### Procedimiento experimental

Los animales de experimentación fueron pesados y marcados para su identificación individual, y fueron distribuidos, aleatoriamente, en 3 grupos experimentales de 7 animales por grupo. Al primer grupo experimental se le administró *Solanum sessiliflorum* a dosis de 2000 mg/kg p.c por vía oral; al segundo grupo experimental, ciclofosfamida a la dosis de 50 mg/kg p.c por vía intraperitoneal; y al tercer grupo, solución salina al 0.9 % por vía oral, durante cinco días consecutivos a intervalos de 24 horas. A los 35 días de la primera administración se sacrificaron los animales por dislocación cervical siguiendo los principios éticos de experimentación en animales (5); se extrajeron los epidídimos y testículos para determinar el peso. Se colocaron los epidídimos en placas petri con 3mL de solución salina al 0.9% y luego se preparó la solución espermática. Las suspensiones de espermatozoides fueron transferidas a tubos cónicos y teñidas con 300 uL de eosina al 1%; después de cinco minutos, se extendieron dos láminas por animal. Se realizó la lectura de las láminas utilizando un microscopio