

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA PRELIMINAR DE *RUTA GRAVEOLENS*, *ORIGANUM VULGARE* Y *PERSEA AMERICANA* SOBRE EMBRIONES PREIMPLANTACIONALES DE RATÓN

PRELIMINAR TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF *Ruta graveolens*, *Origanum vulgare* and *Persea americana* ON THE PREIMPLANTATIONAL MOUSE EMBRYOS

V. Benavides, G. Trujillo, G. D'Arrigo, U. Paredes y J. Pino

RESUMEN

El creciente interés por la medicina natural hace necesaria la evaluación de las propiedades de las plantas, así como de sus posibles efectos secundarios. En años recientes se han reportado los efectos tóxicos de varias plantas medicinales sobre el desarrollo preimplantacional de ratón (Benavides *et al.*, 1998; Benavides *et al.*, 1999), muchas de las cuales producen malformaciones y alteraciones en el desarrollo embrionario. *Ruta graveolens* "ruda", *Origanum vulgare* "orégano" y *Persea americana* "palta" son usadas folclóricamente para aliviar cólicos menstruales y como abortivos (Estrella, 1995). El objetivo del presente trabajo es evaluar *in vivo* el efecto del extracto acuoso de orégano, ruda y palta al 20% sobre la morfología y el desarrollo de embriones preimplantacionales de ratón.

ABSTRACT

The growing interest in natural medicine makes it necessary to study plant properties as well as their possible secondary effects. In recent years the toxic effects of many medicinal plants on the preimplantational mouse embryo development have been studied. Many of them produce malformations and alterations in the embryonic development. *Ruta graveolens* "ruda", *Origanum vulgare* "oregano" and *Persea americana* "palta" are used in rural areas to menstrual colic and to provoke abortion (estrella, 1995). This study is aimed at assessing "*in vivo*" the effect of extracts of "oregano", "ruda" and "palta" to 20% on the morphology and growth of preimplantational mouse embryos.

Todas las plantas fueron obtenidas de los mercados de Lima e identificadas mediante las claves vigentes. En el laboratorio se procedió al secado (colocándolas en la estufa a 60 °C durante 24 h) de las hojas de ruda y orégano y, en el caso de la palta, la pepa rallada.

Se usaron ratones Albino-Swiss mantenidos en nuestro laboratorio bajo condiciones de

bioterio de 14 horas luz y 10 oscuridad. Hembras de 6 a 8 semanas de edad fueron cruzadas con machos fértiles de 8 a 12 semanas, comprobándose la cópula al día siguiente por la presencia del tapón vaginal. Las hembras preñadas fueron separadas en cuatro grupos: Grupo control (al que se le suministro diariamente *ad libitum* agua potable); a los demás grupos se suministro una infusión al 20% (p/v) de ruda, palta y orégano. El extracto acuoso en todos los casos, fue preparado colocando 2 g de cada planta en 10 ml de agua potable previamente calentada a 60 °C, se dejó

* Laboratorio de Reproducción y Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Venezuela s/n, Casilla Postal 14-002, Lima 14, Perú.
e-mail: vbenavides23@hotmail.com

en infusión durante 15 minutos mas a la misma temperatura, se dejo enfriar y decantar, se separó el sobrenadante, el cual fue suministrado a los animales en las mismas condiciones que el grupo control, hasta las 83 horas postcópula (hpc). La infusión fue renovada diariamente. Las hembras fueron sacrificadas por dislocación cervical, y se les extirparon los oviductos y los cuernos uterinos; luego los embriones fueron obtenidos por perfusión, mediante lavados sucesivos con Buffer Fosfato Salino (PBS; SIGMA) pH 7,4. Los embriones se examinaron en un microscopio de contras-

te de fase y se determinó el grado de viabilidad realizando una evaluación morfológica considerando lo siguiente (Dorn y Kramer, 1987): **Grado 1:** el embrión es redondo y no tiene blastómeros libres; **Grado 2:** El embrión tiene blastómeros libres; **Grado 3:** el embrión tiene blastómeros libres y malformaciones severas; **Degenerados:** el embrión pierde su forma esférica, además presenta membrana(s) celular(es) rotas. En la tabla 1 los embriones de grado 3 y degenerados son considerados anormales. A los resultados se aplicó la prueba de X².

Tabla 1. Calidad embrionaria y alteraciones en el desarrollo en porcentaje de embriones preimplantacionales en los grupos control, ruda, palta y orégano.

	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Degenerado	Anormales
CONTROL	42,86(33)	42,86(33)	10,39(8)	3,90(3)	14,29(11)
RUDA 20%	51,02(25)	24,49(12)*	24,49(12)*	0,00(0)*	24,49(12)*
PALTA 20%	55,38(36)	29,23(19)*	3,08(2)*	12,31(8)*	15,39(10)
ORÉGANO 20%	52,00(26)	38,00(19)	2,00(1)*	8,00(4)*	10,00(5)

Números en paréntesis son números de embriones evaluados.
*Significativamente diferente del grupo control (p<0.05).

Tabla 2. Porcentaje de embriones por estadios.

	1-8 cell	M. no Comp.	M. Comp.	Blast. Ini.	Blast. Tar.	Blast. Exp.
CONTROL	5,2(4)	2,60(2)	28,57(22)	16,88(13)	29,87(23)	16,88(13)
RUDA 20%	0,00(0)	4,08(2)	46,94(23)*	6,12(3)*	30,61(15)	12,24(6)
PALTA 20%	12,32(8)*	0,00(0)	32,31(21)	15,38(10)	33,85(22)	6,15(4)*
ORÉGANO 20%	6,00(3)	4,00(2)	44,00(22)*	4,00(2)*	24,00(12)	18,00(9)

*Significativamente diferente del grupo control (p < 0,05).

Nuestros resultados evidenciaron una disminución significativa de embriones normales (grado 2) en los grupo ruda y palta (Tabla 1). El grupo ruda presenta un porcentaje significativamente mayor de embriones anormales que es de 24,49% frente a 14,29% en el grupo control (Tabla 1). En el grupo palta se observa un aumento de embriones degenerados que es de 12,31% frente a 3,90% en el grupo control (Tabla 1). En cuanto al retraso en el desarrollo embrionario se observa un in-

cremento de embriones de 1 a 8 células en el grupo palta y a su vez se observa un descenso en la ocurrencia de estadios posteriores como blastocisto expandido (Tabla 2). Los embriones de los grupos ruda y orégano muestran un incremento en los estadios de mórula compactada y blastocisto inicial evidenciándose un atraso ligero en el desarrollo embrionario (Tabla 2). En el grupo orégano se observa un 10% de embriones anormales, porcentaje menor al observado en el grupo control

que presenta un 14,29% esta diferencia no es significativa.

Paulini *et al.* (1991) reportaron una actividad mutagénica de *R. graveolens* propiedad que se le atribuye a alcaloides de la familia de los acridones, lo que apoya la hipótesis de un efecto tóxico de *R. graveolens*. Así también se han reportado efectos anticonceptivos en ratas, y no se ha observado el mismo efecto en hámster (Gandhi *et al.*, 1991). Algunos autores proponen que el aceite de la semilla de *P. americana* incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina; esta enzima está relacionada con procesos y mecanismos de diferenciación temprana, a partir del estadio de 2 células (Werman *et al.*, 1989), lo que podría alterar el desarrollo embrionario normal. También hay reportes de que *O. vulgare* tiene efectos antioxidantes, y se atribuye este efecto parcialmente a la presencia del ácido rosmarínico, que le estaría confiriendo un poder protector contra daño celular por oxidación (Lamaison, *etal.*, 1990). Además se ha reportado que *O. vulgare* posee actividad antimutagénica (Lagouri y Boskou, 1996), lo que explicaría la menor incidencia de embriones anormales encontrados en el grupo orégano.

LITERATURA CITADA

- Benavides V., Gutiérrez J., D'Arrigo G. & Pino J. 1998. Libro de resúmenes VII Reunión Científica del Instituto de Ciencias Biológicas "Antonio Raimondi": 44. Lima-Perú.
- Benavides V., Gutiérrez J., & Pino J., 1999. Libro de resúmenes VIII Reunión Científica del Instituto de Ciencias Biológicas "Antonio Raimondi": 119. Lima-Perú.
- Dorn CG & Kramer DC. 1987. Bovine embryo gradient. Texas A & E University, USA.
- Estrella E. 1995. Tratado de Cooperación Amazonica, Lima, pp. 151-187.
- Gandhi M., Lal R., Sankaranarayanan A y Sharma PL. 1991. J. Ethnopharmacol 34: 49-59.
- Lamaison JL, Petitjean-Freytget C. & Carnat A. 1990. Ann Pharma Fr 48: 103-8.
- Lagouri V. & Boskou D. 1996. Int J Food Sci Natu. 47: 493-7
- Paulini H., Popp R., Schimmer O., Ratka O y Roder E. 1991. Planta Med 57:59-61.
- Werman MJ, Mokady S., Neeman I., Aualaender L & Zeidler A. 1989. Food Chem Toxicol 27: 279-82.