

Plantas de la provincia de La Pampa, Argentina, con actividad gastroprotectora y antiespasmódica

Toso, R.E.¹; Toribio, M.S.¹; Mengelle, P.¹; Boeris, M.A.²

RESUMEN

Se evaluó la actividad gastroprotectora y antiespasmódica de extractos hidroalcohólicos de *Marrubium vulgare* (MV), *Acmella decumbens* (AD), *Lippia turbinata* (LT), *Tribulus terrestris* (TT) y *Ruta chalepensis* (RC). Para determinar el efecto gastroprotector se indujeron úlceras por estrés y la motilidad gastrointestinal se evaluó midiendo el progreso del contenido intestinal en ratones. Atropina y ranitidina fueron utilizadas como drogas de referencia con actividad gastroprotectora y atropina fue utilizada, también, por su efecto inhibitorio sobre la motilidad gastrointestinal. Todos los extractos y la atropina mostraron actividad gastroprotectora ($p < 0,01$). La ranitidina no previno las úlceras en ningún animal. Los ratones tratados con los extractos MV y AD mostraron mayor efecto inhibitorio de la motilidad que el logrado con atropina. Los extractos LT, TT y RC inhibieron el progreso del contenido gastrointestinal en forma más moderada, pero significativa respecto a los ratones pertenecientes al grupo control ($p < 0,01$). Se concluye que todos los extractos ensayados poseen actividad gastroprotectora e inhibitoria de la motilidad gastrointestinal. El efecto gastroprotector logrado con la atropina, pero no con la administración de ranitidina sugiere un importante papel de la acción espasmolítica en el mecanismo de acción de los extractos.

Palabras clave: (gastroprotector), (antiespasmódico), (extractos vegetales).

¹Cátedra de Farmacología. ²Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa.

Recibido: noviembre 2006 - Aceptado: mayo 2007 - Versión on line: diciembre 2007

Antiulcerogenic and antispasmodic effects of plants from La Pampa, Argentina

SUMMARY

The objective of the research was the analysis of the antiulcerogenic and antispasmodic effects of *Marrubium vulgare* (MV), *Acmella decumbens* (AD), *Lippia turbinata* (LT), *Tribulus terrestris* and *Ruta chalepensis* (RC) hidroalcoholic extracts. Antiulcerogenic activity was studied in mice for their ability to inhibit the gastric lesions induced on cold restraint stress. Gastrointestinal motility was evaluated with activated charcoal as intestinal transit indicator. Atropine and ranitidine were used like gastroprotectives. Atropine was used for decrease gastrointestinal motility. We proved that all plant extracts and atropine have gastroprotective activity ($p < 0.01$). Ranitidine did not prevent ulcers in mice. The extracts MV and AD also significantly reduced the intestinal transit in charcoal meal test when compared with atropine. LT, TT and RC extracts moderate but significantly inhibited gastrointestinal transit compared with control group ($p < 0.01$). These results further suggest that all extracts were found to possess antiulcerogenic and inhibitory activity on gastrointestinal motility, which might also be due to antispasmodic activity.

Key words: (gastroprotective), (antispasmodic), (plant extracts).

INTRODUCCIÓN

Los animales que son sometidos a estrés suelen presentar úlceras sangrantes en pocas horas como un efecto negativo de los mecanismos de defensa desencadenados⁶. Los factores que producen estrés son muy variados, entre ellos podemos mencionar la hipotermia, los esfuerzos durante competencias o entrenamientos¹⁰,² o el hacinamiento y sobrealimentación en pistas de engorde³. Robert, (1979) describió los mecanismos citoprotectores al observar que la integridad de la superficie gástrica se mantenía gracias a la barrera mucosa gástrica. Utilizando un modelo experimental en ratas sometidas a hipotermia e inmovilización se observó que la hipotermia causa una alteración primaria en la microcirculación mucosal que provoca una disminución en la secreción de mucus y bicarbonato debilitando la barrera mucosa gástrica⁹. Paralelamente se produce un aumento de la motilidad gástrica que actúa provocando un efecto erosivo mecánico, favoreciendo el

desprendimiento de mucus. El debilitamiento de la barrera mucosa y el efecto erosivo permiten que el ácido clorhídrico llegue hasta la superficie gástrica lesionándola. Estudios realizados en ratas han demostrado la importancia del aumento de la motilidad en la formación de las úlceras inducidas por estrés al prevenirlas con la administración de atropina¹².

Los animales de deporte son frecuentemente medicados con antiinflamatorios no esteroides (AINES), compuestos que ofrecen ventajas terapéuticas por sus acciones analgésicas y antiinflamatorias. Sin embargo, al inhibir la enzima ciclo-oxigenasa¹⁶, y por lo tanto la producción de prostaglandinas⁸, pueden presentarse como efectos colaterales lesiones gástricas al reducir los factores citoprotectores. La administración de AINES en animales sometidos a estrés produce una acción sinérgica provocando efectos más agresivos sobre la mucosa gástrica¹⁵. Además algunos AINES como la indometacina provocan aumento de la motilidad gástrica¹².

Se mencionan estos efectos secundarios de los AINES ya que a partir de su uso generalizado se ha diagnosticado la presencia de úlceras gástricas como un problema clínico frecuente. En la actualidad los tratamientos se basan en el empleo de fármacos que disminuyen la secreción ácida, como los antihistamínicos H₂ o los inhibidores de la bomba de protones. Estos compuestos promueven la curación de las úlceras en un 70-80% de los casos⁵. Trabajos realizados en ratas permitieron observar que la administración de omeprazol no previene las úlceras inducidas por indometacina pero sí lo hace la atropina, poniendo en evidencia la presencia de otros mecanismos que no estarían relacionados con la hipercloridia pero sí con la hipermotilidad gástrica¹³.

La medicina popular ha utilizado tradicionalmente remedios vegetales para el tratamiento de las úlceras gástricas. Estudios fitoquímicos revelaron la presencia de compuestos con actividad citoprotectora y espasmolítica. Entre ellos pueden mencionarse flavonoides como rutina, canferol, quercetina y apigenina⁴, o lactonas sesquiterpénicas como la dehidroleucodina⁷. Interesantemente una misma planta puede contener varios principios activos que actúan en forma conjunta para prevenir las úlceras provocadas por estrés, por ejemplo la *Centaurea solstitialis* tiene propiedades citoprotectoras y además inhibe la motilidad gastrointestinal¹⁵.

Teniendo en cuenta lo expuesto, en este trabajo se evaluó el efecto gastroprotector y el grado de actividad inhibitoria de la motilidad gastrointestinal de extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de partes aéreas de *Marrubium vulgare*, *Acmella decumbens*, *Lippia turbinata*, *Tribulus terrestris* y *Ruta chalepensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se ensayaron extractos de plantas nativas y naturalizadas recolectadas en la Provincia de La Pampa, Argentina provistos por el Banco de Extractos Vegetales (BEV) del Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Obtención de los extractos vegetales

Se maceraron 200 g de partes aéreas desecadas de la planta en 1000 ml de una solución etanol:agua (1:1, v/v) durante 24 h (3x). Los extractos se juntaron y fueron llevados a sequedad en rotavapor a una temperatura de 70°C. Los extractos secos se fraccionaron en frasco ampolla y se conservaron en el BEV a -20°C. Antes del ensayo se resuspendieron agregando el excipiente (Ex) compuesto de carboximetilcelulosa al 0,1% y Tween 80 al 0,05% (1:1, v/v), de modo que cada 0,5 ml de solución contenía el extracto proveniente de 1 g de planta seca.

Animales

Se utilizaron ratones *Mus musculus* provistos por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. Los animales fueron privados de alimento y agua 12 hs. antes del ensayo. Los ensayos se llevaron a cabo empleando el número mínimo necesario de animales para obtener datos avalados por el test estadístico utilizado. Los experimentos fueron conducidos planificando y siguiendo los protocolos estandarizados en el laboratorio del Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos de la FCV, UNLPam para estos estudios con el fin de evitar repeticiones o sufrimientos innecesarios a los animales de experimentación.

Método de inducción de úlceras

Las úlceras se indujeron colocando los ratones en jaulas individuales de 2,2 x 10 cm y sumergiéndolos hasta la altura del cartilago xifoides en agua a 22 °C durante 4,5 h empleando el método descrito por Yesilada et al., (1993) modificado por Toso y Skliar, (2000).

Se administraron *per os* grupos de 5 animales cada uno con extractos de *Marrubium vulgare* (MV), *Acmella decumbens* (AD), *Lippia turbinata* (LT), *Tribulus terrestres* (TT) y *Ruta chalepensis* (RC) inmediatamente antes de comenzar el ensayo. El grupo control fue administrado *per os* con 0,5 ml de Ex. Otros dos grupos usados como testigos fueron administrados intraperitonealmente con 1 mg/Kg de atropina y con 50 mg/Kg de ranitidina respectivamente 30 minutos antes de someter los animales a estrés y con una dosis de 0,5ml del Ex *per os* inmediatamente antes de comenzar el ensayo.

Finalizado el ensayo, los ratones fueron sacrificados por sobredosis de éter y los estómagos fueron retirados, insuflados con agua destilada y fijados con formol. Se abrieron por la curvatura mayor y fueron fotografiados para medir con ayuda de un analizador de imágenes la superficie dañada de cada estómago. Utilizando como área de úlcera (AU) el total de la superficie dañada expresada en mm², se calculó el porcentaje de inhibición producido por los extractos en los distintos grupos tratados con relación al Grupo control utilizando la fórmula $[(AU_{\text{Grupo control}} - AU_{\text{Grupo tratado}}) / AU_{\text{Grupo control}}] \times 100$. Las diferencias entre las áreas ulceradas de los estómagos pertenecientes a los animales de los grupos testigos administrados con las drogas de referencia y las de los grupos tratados con los extractos fueron comparadas con respecto a las del grupo control utilizando el Test “t” de Student.

Evaluación de la motilidad gastrointestinal

El efecto antiespasmódico se determinó evaluando la acción de los extractos sobre la actividad gastrointestinal utilizando el método descrito por Arbos et al. (1993). Se emplearon siete grupos de cinco ratones cada uno tratados de la siguiente manera: el grupo control con 0,5 ml *per os* de Ex, el grupo testigo con 1 mg/kg de atropina vía intraperitoneal y 0,5 ml *per os* del Ex. Los cinco restantes con 0,5 ml *per os* del extracto de MV, AD, LT, TT y RC respectivamente. Transcurridos treinta minutos del tratamiento, se administró 0,25 ml de carbón activado al 10% en Ex a todos los animales y 30 minutos pos administración del carbón los animales fueron sacrificados por sobredosis de éter. Se extrajeron los estómagos e intestinos y se midió la distancia recorrida por el carbón desde el píloro hasta la última porción del intestino que contuvo por lo menos 1 cm continuo de carbón.

La distancia se expresó en centímetros como la media de la longitud total recorrida por el carbón \pm error estándar. El grupo tratado con atropina y los tratados con los extractos fueron comparados respecto al grupo control utilizando el test “t” de Student.

RESULTADOS

Efecto gastroprotector

En la Tabla 1 se observa que la atropina previno la formación de úlceras en los cinco animales, en tanto la ranitidina no mostró efecto gastroprotector. Los extractos de TT y RC lograron los mejores efectos previniendo totalmente la formación de lesiones ulcerosas en todos los animales. El resto de los extractos, mostraron actividad gastroprotectora significativa ($P < 0,01$), pudiendo ordenarse según el porcentaje de inhibición de la siguiente forma: AD < MV < LT.

Tabla 1: Efecto de la administración de atropina, ranitidina, extracto de *Marrubium vulgare*, *Acmella decumbens*, *Lippia turbinata*, *Tribulus terrestres* y *Ruta chalepensis* sobre las lesiones gástricas inducidas por hipotermia e inmovilización en ratones.

| Grupos | Dosis ^a | Area ulcerada ^b (mm ²) (media D. S.) | Tasa de prevención de úlcera ^c | Inhibición (%) |
|----------------------------|--------------------|---|---|-------------------|
| Control | 0,5 ml | 4,75 1,05 | 0/5 | – |
| Atropina | 10 mg/kg | 0,0 0,0 | 5/5 | 100 |
| Ranitidina | 50 mg/kg | 4,05 1,01 n.s. | 0/5 | 14 |
| <i>Marrubium vulgare</i> | 0,5 ml | 0,04 0,03 * | 4/5 | 98 |
| <i>Acmella decumbens</i> | 0,5 ml | 0,80 0,08 * | 2/5 | 83 |
| <i>Lippia turbinata</i> | 0,5 ml | 0,01 0,01 * | 4/5 | 99 |
| <i>Tribulus terrestres</i> | 0,5 ml | 0,0 0,0 | 5/5 | 100 |
| <i>Ruta chalepensis</i> | 0,5 ml | 0,0 0,0 | 5/5 | 100 |

^a La atropina se administró por vía intraperitoneal. Los extractos se administraron *per os* y fueron preparados como se indica en Materiales y Métodos. El Grupo Control fue administrado *per os* con 0,5 ml de excipiente.

^b Total de la superficie ulcerada de la mucosa gástrica expresada en mm². ^c Número de animales en los cuales el extracto inhibió totalmente la formación de úlceras respecto al total. n.s. Test “t” de Student p<0,01, n=5. no significativo. Se comparó el Grupo Ranitidina respecto al Control. * Test “t” de Student p<0,01, n=5. El Grupo Tratado con el extracto se comparó respecto al Grupo Control.

Actividad sobre el tránsito gastrointestinal

Los ratones tratados con atropina y los extractos mostraron un retraso en el progreso del contenido intestinal con respecto al grupo control (P< 0,01), (Tabla 2). Comparando los efectos inhibitorios producidos por los extractos respecto al de la atropina se determinó que sólo el extracto MV fue significativo (P< 0,05).

Al retirar los estómagos se observó que los pertenecientes a los animales tratados con extractos de MV y AD conservaron mayor cantidad de extracto y carbón en sus estómagos respecto a los grupos tratados con el resto de los extractos y los administrados con atropina.

DISCUSIÓN

El efecto gastroprotector que mostró la atropina en ratones sometidos a estrés en este ensayo concuerda con los resultados hallados por Takeuchi et al. (1999) utilizando el mismo modelo experimental en ratas. La acción gastroprotectora de la atropina estaría producida principalmente por el efecto inhibitorio sobre la motilidad gástrica y no sobre la disminución del volumen y contenido ácido total, ya que solamente se presenta en animales de experimentación cuando reciben grandes dosis¹⁴.

Tabla 2: Efecto de la administración de atropina, extracto de *Marrubium vulgare*, *Acmella decumbens*, *Lippia turbinata*, *Tribulus terrestres* y *Ruta chalepensis* sobre el tránsito gastrointestinal en ratones

| Grupos | Dosis ^a | Distancia recorrida ^b (cm) | |
|----------------------------|--------------------|--|--------|
| | | (media | D. S.) |
| Control | 0,5 ml | 42,4 | 2,7 |
| Atropina | 10 mg/kg | 34,0 | 3,6* |
| <i>Marrubium vulgare</i> | 0,5 ml | 29,6 | 4,6* |
| <i>Acmella decumbens</i> | 0,5 ml | 32,0 | 4,4* |
| <i>Lippia turbinata</i> | 0,5 ml | 34,4 | 5,5** |
| <i>Tribulus terrestres</i> | 0,5 ml | 38,6 | 1,6 ** |
| <i>Ruta chalepensis</i> | 0,5 ml | 37,6 | 1,6** |

^aLa atropina se administró por vía intraperitoneal. Los extractos se administraron per os y fueron preparados como se indica en Materiales y Métodos. El Grupo Control fue administrado per os con 0,5 ml de excipiente, ^bDistancia recorrida por el carbón expresada en cm., *Test “t” de Student $p < 0,01$, $n = 5$. Los Grupos Tratados con atropina y con los extractos se compararon con respecto al Grupo Control, **Test “t” de Student $p < 0,05$, $n = 5$. Los Grupos Tratados con los extractos se compararon con respecto al Grupo Control.

La ranitidina no mostró actividad gastroprotectora, poniendo en evidencia que la disminución en la secreción de ácido clorhídrico no es suficiente para proteger la mucosa gástrica de los efectos del estrés y que estarían actuando otros mecanismos. Uno de estos mecanismos fue descrito por Murakami et al. (1985) quienes determinaron que el aumento de la motilidad produce un efecto erosivo mecánico que desprende partes de mucus permitiendo que el ácido lesione la superficie gástrica. Estos trabajos explicarían la localización característica de las lesiones ulcerosas producidas por el estrés en ratones,

ubicadas sobre las zonas más expuestas de los pliegues gástricos¹⁵.

Considerando el mecanismo de acción de la droga de referencia y los resultados obtenidos con los extractos vegetales ensayados, se puede inferir que la acción inhibitoria de la motilidad juega un papel importante en la prevención del daño gástrico inducido por estrés.

CONCLUSIONES

Los extractos hidroalcohólicos de *Marrubium vulgare*, *Acmella decumbens*, *Lippia turbinata*, *Tribulus terrestres* y *Ruta*

chalepensis previenen las úlceras gástricas producidas por estrés en ratones y retrasan el tránsito gastrointestinal evidenciando un efecto inhibitorio sobre la motilidad. El efecto gastroprotector logrado con la atropina, pero no con la administración de ranitidina sugiere un importante papel del efecto espasmolítico en el mecanismo de acción de los extractos.

BIBLIOGRAFÍA

- Arbos, J.; Cegri, A.; Lopez-Soriano, F.R.J.; Argiles, J.M. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. *Arch. Intern. Physiol. Bioch. Biophys.* 1993; 101:113-115.
- Begg, L.M.; O'Sullivan, C.B. The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 racehorses. *Aust Vet J.* 2003; 81:199-201.
- Berruecos, J.M.; Done, J.T.; Ramírez Necoechea, R.; García Rivas, J. Problemas hereditarios y congénitos. En Ramírez Necoechea, R.; Pijoán Aguadé, C. (ed.) *Enfermedades de los cerdos*. Primera edición. Grupo Diana, México DF., México, 1986, pag. 61-63.
- Di Carlo, G.; Autore, G.; Izzo, A.A.; Maiolino, P.; Mascolo, N.; Viola, P.; Diurno, M.V.; Capasso, F. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. *J.Pharm.Pharmacol.* 1993; 45:1054-1059.
- Doucet, M.Y.; Vrins, A.A.; Dionne, R.; Alva, R.; Ericsson, G. Efficacy of a paste formulation of omeprazole for the treatment of naturally occurring gastric ulcers in training standardbred racehorses in Canada. *Can Vet J.* 2003; 44(7):581-585.
- Ganong, W.F. (ed.). *Fisiología Médica*. Décimo sexta edición. Manual Moderno, México D.F., México, 1998.
- Giordano, O.S.; Guerreiro, E.; Guzmán, J.A.; Penissi, A.B.; Piezzi, R.S. Citoprotectores gastrointestinales obtenidos a partir de especies vegetales. *Pren. Méd. Argent.* 1997; 84: 890-899.
- Hollander, D. Gastrointestinal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Prophylactic and therapeutic strategies. *Am J Med.* 1994; 96:274-281.
- Murakami, M.; Lam, S.K.; Inada, M. Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology.* 1985; 88:660-665.
- Murray, M.J.; Nout, Y.S.; Ward, D.L. Endoscopic findings of the gastric antrum and pylorus in horses: 162 cases (1996-2000). *J Vet Intern Med.* 2001; 15:401-406.
- Robert, A. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology.* 1979; 77:761-767.
- Takeuchi, K.; Suzuki, K.; Araki, H.; Mizoguchi, H.; Sugamoto, S.; Umeda, M.J. Roles of endogenous prostaglandins and nitric oxide in gastroduodenal ulcerogenic responses induced in rats by hypothermic stress. *J Physiol Paris.* 1999; 93:423-431.
- Takeuchi, K.; Tanaka, A.; Hayashi, Y.; Kubo, Y. Functional mechanism underlying COX-2 expression following administration of indomethacin in rat stomachs: importance of gastric hypermotility. *Dig Dis Sci.* 2004; 49:180-187.
- Taylor, P. 1985. -Agonistas colinérgicos. En Goodman, L.S.; Gilman, A. (ed.) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Sexta edición. Editorial Médica Panamericana, Madrid, España, 1985, pag. 105-113.
- Toso, R.E.; Skliar, M.I. Efecto de la indometacina sobre la citoprotección de extractos de *Centaurea solstitialis* contra úlceras gástricas inducidas por estrés en ratones. *Ciencia Veterinaria.* 2000; 2:16-20.
- Vane, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. *Nature.* 1971; 5:231-232.
- Yesilada, E.; Gurbuz, I.; Shibata, H. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *J. Ethnopharmacol.* 1999; 3:289-293.