

Uso del Floripondio como cicatrizante en heridas dérmicas

Use of Floripondium as a healing agent in dermal wounds

Nota Técnica

Pablo Rubio-Arias^{1*} , John Maldonado-Jaramillo² , Edy Castillo-Hidalgo¹ , Manuel Maldonado-Cornejo²  y José Vidal-Vidal² 

¹Universidad Católica de Cuenca, Posgrado, Health & Behavior HBr Group. Cuenca, Azuay, Ecuador. ²Universidad Católica de Cuenca. Cuenca, Azuay, Ecuador
Correo electrónico: prubioa@ucacue.edu.ec

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la eficiencia de dos concentraciones de cremas de floripondio (*Brugmansia arborea*) al 10 y 20 % frente a un grupo testigo, en la disminución del tiempo de cicatrización en heridas dérmicas de 300 milímetros cuadrados provocadas en conejos. Se tomaron varias biopsias de piel a los días (d) 7; 14 y 21 para medir los cambios estructurales en la piel, 27 placas histológicas fueron analizadas, donde se evaluaron varios cambios estructurales como la inflamación, presencia de fibroblastos y el depósito de colágeno intracelular como variables que indican regeneración de la misma. El Análisis de varianza (ADEVA) de las dosis y d de cicatrización expresan relación altamente significativa ($P < 0,01$) entre los factores de estudio. Los tiempos de cicatrización varían entre los tratamientos con un valor R de 0,97. El tratamiento al 10 % presenta los resultados en un periodo de tiempo menor ($15,4 \text{ d} \pm 0,74$) mientras al 20 % presenta un tiempo mayor al tratamiento de 10 % ($19,4 \text{ d} \pm 0,72$) y el grupo testigo presenta un tiempo superior a los dos tratamientos ($28,07 \text{ d} \pm 1,22$).

Palabras clave: Cicatrización; floripondio; histología; conejos

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the efficiency of two concentrations of creams of Floripondium (*Brugmansia arborea*) at 10 and 20 % compared to a control group in reducing the healing time in dermal wounds of 300 millimeters caused in rabbits. Skin biopsies were taken on days (d) 7, 14 and 21 to measure structural changes in the skin, 27 histological plates were analyzed, where various structural changes such as inflammation, presence of fibroblasts and intracellular collagen deposition were evaluated as variables that indicate regeneration of the same. The Analysis of Variance (ADEVA) of the doses and d of healing express a highly significant relationship ($P < 0.01$) between the study factors. Healing times vary between treatments with an R value of 0.97. Treatment at 10 % presents the results in a shorter period of time ($15.40 \text{ d} \pm 0.74$) while at 20 % presents a longer time to treatment of 10 % ($19.40 \text{ d} \pm 0.72$) and the control group the two treatments had a longer time ($28.07 \text{ d} \pm 1.22$).

Key words: Healing; floripondio; histology; rabbits

INTRODUCCIÓN

La piel es la envoltura viva del cuerpo, su función principal es proteger al organismo de cualquier agente físico, químico y biológico que atente contra éste, al perder su integridad se da el proceso de cicatrización que es una serie de mecanismos naturales de alta complejidad; hoy en día (d) el uso de la fitomedicina y los conocimientos de la medicina ancestral permiten desarrollar productos que generen efectos beneficiosos sobre ciertas enfermedades y sobre todo en el manejo de las heridas. En la actualidad existe un auge de la Industria Farmacéutica (IF) en la obtención de productos provenientes de principios activos naturales (fitofármacos) como una alternativa en la medicina moderna. Sin duda, hoy en día el uso de las plantas medicinales empleadas para mejorar la salud y tratar las enfermedades va en ascenso, específicamente en cicatrización de heridas, entre los más utilizados tenemos a la sábila (*Aloe vera*), follajes del pinus (*Pinus chiapensis*), miel de abeja, llantén (*Plantago major*), floripondio (*Brugmansia arborea*) (F) y sangre de drago (SD) (*Croton lechleri*) [3].

El Floripondio (F) es una planta con propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes, por ende, se le ha considerado para el estudio. En la IF, estos alcaloides son comúnmente utilizados para extraer atropina y escopolamina, los cuales se emplean para la elaboración de una gran gama de medicamentos como antiespasmódicos, anticolinérgicos, midriáticos, analgésicos, sedantes y antiinflamatorios [6].

Actualmente, la tendencia de emplear fitofármacos a fin de mejorar la cicatrización ha incrementado en medicina veterinaria. Además, se han demostrado otros beneficios como disminuir la inflamación, controlar procesos infecciosos y la facilidad de su aplicación. Por lo antes citado, en el presente trabajo se planteó el uso de una crema a base de F con el fin de disminuir el tiempo de cicatrización (TC).

La pérdida de continuidad de la piel se conoce como injuria o herida. Ésta puede provocarse de manera espontánea por uno de los agentes ya citados e incluso ser inducidas. El tejido lesionado se repara a través de un proceso biológico denominado cicatrización (C) o curación. La C es un proceso natural dinámico de alta complejidad en el que se dan cinco fases: hemostasia, inflamación, proliferación, epitelización y remodelación tisular, que recupera la integridad de la piel y provoca su regeneración y la de sus funciones. Está intermediado por citoquinas, factores del crecimiento y células que se encargan de restablecer la piel [5]. Por lo citado, en el presente trabajo se evaluó el uso de una crema a base de F con el fin de disminuir el TC de las heridas quirúrgicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se procedió a realizar la extracción a partir del principio activo de la corteza del tallo de F a través del proceso de percolación, decantación y ebullición del alcohol. Se obtuvo 1000 mililitros (mL) de principio activo. Para formar cremas al 10 y 20 % se agregó 10 y 20 mL de principio activo en 90 y 80 gramos (g) de crema base y conservantes, respectivamente (TABLA I), obteniendo 100 g de crema a una concentración de 100 y 200 miligramos (mg) de F por g de crema.

Para realizar el bioensayo, previamente los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) fueron congregados en tres grupos, confinados dentro de un galpón en jaulas metálicas de hierro galvanizado de 0,80 x 0,80 x

TABLA I
Composición de las cremas en 100 gramos

	Crema al 10 % (A)	Crema al 20 % (B)
Floripondio	10 mililitros	20 mililitros
Crema base	83 gramos	27 gramos
Óxido de zinc	3 gramos	3 gramos
Ácido ascórbico	1 gramos	1 gramos
CMC (carboximetilcelulosa)	3 gramos	4 gramos

0,50 centímetros (cm) con piso y paredes de malla electrosoldada, teniendo cada tratamiento tres repeticiones de aplicación de la crema (5 animales), se realizaron tres exámenes de biometría hemática (BH) a tres animales de cada grupo, un inicial, intermedio y final, para comprobar el estado de salud de los animales durante el proceso de investigación. La alimentación de los animales consistió en forraje verde *ad libitum* más un concentrado comercial (Pronaca-Procuys) y conejos. A cada grupo experimental se administró crema de F al 10, 20 % y placebo, respectivamente, constituyéndose éste en único tratamiento médico.

Para evaluar los cambios estructurales en la C de injurias en la piel de los conejos se realizó un corte de 300 milímetros cuadrados (mm²) en la dermis del dorso de los animales, bajo un protocolo anestésico de combinación de ketamina al 10 % a una dosis de 30 miligramos (mg) / kilogramos (kg) y xilacina 2,0 % a dosis de 5 mg·kg⁻¹ de peso vivo, se esperó de 5 a 10 minutos (min) antes del procedimiento quirúrgico [1, 2]. Los grupos 1, 2 y 3 recibieron los tratamientos de crema al 10, 20 % y placebo a posología cada doce horas, respectivamente, durante 21 d tomándose muestras de biopsia mediante *sacabocado* del tejido cicatrizal a los d 7, 14 y 21 para análisis histológico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la respuesta inflamatoria sistémica, en las tres instancias del examen de BH (TABLA II), no hubo cambios significativos que orienten un proceso inflamatorio severo entre los tres tratamientos (A, B y C), las variables consideradas fueron conteo de leucocitos, linfocitos, monocitos y neutrófilos.

En la respuesta inflamatoria en tejido, deposición de fibroblastos y colágeno, se clasificó y valoró el proceso inflamatorio, así como el grado de C en tejido dérmico, con un conteo de células inflamatorias sin diferenciación de mononucleares y polimorfo nucleares, deposición de fibroblastos y colágeno en campo de aumento de 40 X en cortes histológicos, clasificándose los resultados en leve moderado y marcado, según el número de células por campo (TABLA III), los resultados obtenidos se muestran en las TABLAS IV y V.

Grado de cicatrización

Para medir el grado de C se realizó la sumatoria del número de cruces obtenidas en la inflamación, presencia de fibroblastos y la deposición de colágeno por placa.

TABLA II
Resultados de los Hemogramas

	Prueba	Leucocitos	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos
	Unidad	10 ⁹ -litro ⁻¹	%	%	%
	Referencia	5,0 a 12,50	40 a 75	10 a 19	20 a 41
Primer hemograma	A15	6,69	41,2	13,5	35,3
	A3	8,15	46,7	17,3	41
	A10	5,58	46,9	18,5	34,6
	B2	7,82	43,8	12,1	37,1
	B10	7,44	56,1	12,8	31,1
	B12	8,45	49,7	11,1	39,2
	C5	10,31	46,5	17	36,5
	C6	11,18	43,7	14,2	32,1
	C12	12,21	58,7	11,3	30
Segundo hemograma	A15	13	55,2	23	41,8
	A3	13,5	33,7	24,5	51,8
	A10	8,23	44,4	25,4	40,2
	B2	8,1	42,3	26,6	41,1
	B10	8,5	24,9	26,8	58,3
	B12	11,35	29,6	19,2	51,2
	C5	11,47	28	26,7	55,3
	C6	13,92	56,7	24,2	49,1
	C12	8,12	26,7	27,3	46
Tercer hemograma	A15	12,1	55,2	13	21,8
	A3	5,15	41,37	14,5	31,8
	A10	8,23	44,4	15,4	40,2
	B2	8,1	42,3	16,6	41
	B10	8,5	14,9	16,8	38,3
	B12	11,35	49,6	18,2	31,2
	C5	11,47	48	16,7	35,3
	C6	13,92	56,7	14,2	29,1
	C12	9	26,7	17,3	36

A = Tratamiento A (crema al 10 %); B = tratamiento B (crema al 20 %); C = tratamiento C (placebo)

TABLA III
Escala de clasificación de la respuesta inflamatoria y el grado de cicatrización

Clasificación por cruces	Número de cruces	Células por campo (Aumento 40X)	Valoración
Células mononucleares y Polimorfonucleares			
Leve	1	1 a 30	Leve
Moderado	2	30 a 60	Moderado
Marcado	3	más de 60	Marcado
Fibroblastos			
Leve	1	1 a 30	Leve
Moderado	2	30 a 100	Moderado
Marcado	3	más 100	Marcado
Colágeno			
Leve	1	Escaso	Leve
Moderado	2	Normal	Normal
Marcado	3	Abundante	Abundante

TABLA IV
Valores del conteo de células inflamatorias, fibroblastos y colágeno

Día muestreo	Tratamiento	Individuo	Calificación cruces			Valoración
			Células inflamatorias	Fibroblasto	Colágeno	
Día 7	A	A2	2	2	2	Moderado
		A9	3	1	2	Marcado
		A11	3	3	3	Marcado
	B	B5	1	1	2	Leve
		B8	1	1	2	Leve
		B11	2	1	2	Moderado
	C	C3	1	2	1	Leve
		C8	1	1	1	Leve
		C11	1	1	1	Leve
Día 14	A	A2	1	3	3	Leve
		A9	1	3	3	Leve
		A11	1	3	3	Leve
	B	B5	1	2	2	Leve
		B8	1	2	2	Leve
		B11	2	1	2	Moderado
	C	C3	2	2	1	Moderado
		C8	2	1	1	Moderado
		C11	1	1	1	Leve
Día 21	A	A2	1	3	3	Leve
		A9	1	2	3	Leve
		A11	1	3	3	Leve
	B	B5	1	1	2	Leve
		B8	1	1	2	Leve
		B11	1	2	3	Leve
	C	C3	1	1	2	Leve
		C8	1	1	2	Leve
		C11	1	1	1	Leve

TABLA V
Medición del grado de cicatrización

	Respuesta inflamatoria	Grado Cicatrización
	Total cruces	
Tratamiento A	20	Alto
	19	Alto
	22	Alto
Tratamiento B	13	Medio
	13	Medio
	16	Medio
Tratamiento C	13	Medio
	11	Medio
	9	Baja

En el estudio se obtuvo tratamientos en crema con características aceptables como: buena consistencia, pH neutro, color y olor agradable según sugiere Simoes [7]. La dosis terapéutica de escopolamina no debe sobrepasar de 330 microgramos (μg) por vía transdérmica, ya que puede producir efectos indeseados como parálisis, alucinaciones, delirio, convulsiones y la muerte, la adición del óxido de zinc permitió generar propiedades emolientes, protectores y astringentes del tejido cicatrizal [9].

En el presente estudio, el tratamiento al 10 % de extracto de F, contiene 5 μg de escopolamina por g crema, en tanto que el tratamiento al 20 %, contiene 10 μg . Los pacientes sometidos al presente estudio fueron monitoreados durante 45 min posteriores a cada aplicación de crema en la herida quirúrgica, con el fin de observar los posibles efectos adversos que pudieran presentarse durante este tiempo, basados en el estudio de Soler y col. [8] quienes describen que los efectos toxicológicos se demuestran entre 15 y 30 min post-aplicación.

Los resultados obtenidos de los análisis hematológicos, tanto en el primero como en el tercer muestreo, son similares a los reportados por Moore y Zimmerman [4] en su estudio de evaluación hematológica en conejos sanos, en el cual encontraron los siguientes rangos: recuento total de glóbulos blancos 5,5-12,5 ($\times 10^9 \text{ L}$); linfocitos 28-50 %; monocitos 4-12 % y neutrófilos 38-54 %. En tanto que los resultados del segundo hemograma (análisis realizados 4 d después de realizar las incisiones en la dermis) presentaron alteraciones en la línea blanca, sin embargo, Reinke y Song [5] describen que, al existir una lesión, el sistema de defensa se activa al instante buscando salvaguardar su integridad.

La crema al 10 % de F tiene efecto cicatrizante de 15,4 d en condiciones medio-ambientales de confinamiento controlado. Reinke y Song [9] demostraron que 12 plantas brasileñas alcanzaron un tiempo similar de C en ratas (*Rattus rattus* Linnaeus) en las que se provocó heridas.

CONCLUSIONES

Este estudio permitió determinar que las cremas a base de F como agente cicatrizante, tuvieron efecto sobre las unidades experimentadas, la formulación al 10 % de F presenta un tiempo promedio de 15,4 d de cicatrización, con mayor presencia de colágeno intracelular, depósito de fibroblastos y mayor efecto en el control de la inflamación que se evidencia en los d 7, 14 y 21, respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CANO-CARMONA, E; CANO-ORTIZ, A; CANO-ORTIZ, A. Plantas prohibidas o restringidas por su toxicidad: Flora psicotrópica. **Bol. Inst. Estud. Giennenses**. 200: 73-123. 2009.
- [2] FUENTES, F; MENDOZA, R; RIVERA, R; VARA, M. Conejo. **Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio**. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud del Perú. 48pp. 2010.
- [3] ISORNA, M; RAIL, A. Drogas facilitadoras de asalto sexual y sumisión química. **Salud Drogas**. 15(2): 137-150. 2015.

- [4] MOORE, D; ZIMMERMAN, K. Hematological assesment in pet rabbits. Blood simple collection and blood cell identification. **Vet. Clin. Exot. Anim**. 18: 9-19. 2015.
- [5] REINKE, JM; SONG, H. Wound repair and regeneration. **Eur. Surg. Res**. 49(1): 35-43. 2012
- [6] SHEDOEVA, A; LEAVESLEY, D; UPTON, Z; FON, CH. Wound healing and the use of medicinal plants. **Evidence-Based Complem. Altern. Med**. 2019:1-31. 2019.
- [7] SIMOES, A; VEIGA, F; VITORINA, C; FIGUEIRAS, A. A tutorial for developing a topical cream formulation based on the quality by design approach. **J. Pharmaceut. Sci**. 107: 2653-2662. 2018.
- [8] SOLER, A; RUBIO, C; HARDISSON DE LA TORRE, A; GUTIÉRREZ, AJ. *Datura Stramonium*: toxicología de una droga emergente. **Farmaceut. Comunit**. 5(2): 74-78. 2013.
- [9] VALENCIA, C. Cicatrización: Proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. **Invest. Andina**. 12(20): 85-98. 2010.