

***Larrea tridentata* en urolitiasis.**

Efecto en un modelo no metabólico en ratas

Eliseo Portilla-de Buen,¹
Luisa Ramos,²
Abigail Aguilar,³
Alberto Ramos,⁴
David García-Martínez,¹
Adolfo Cárdenas,¹
Sergio Rodríguez-Reynoso,¹
Caridad Leal¹

RESUMEN

Objetivo: evaluar el efecto de una infusión de *L. tridentata* sobre el desarrollo de cálculos urinarios en un modelo no metabólico en ratas. **Material y métodos:** se formaron dos grupos de ratas Wistar ($n = 10$ cada uno): el experimental recibió 1 mL de infusión oral de *L. tridentata* tres veces al día durante 95 días. El grupo control recibió agua potable en la misma cantidad. Cinco días después de iniciado el tratamiento, se indujo urolitiasis mediante la inserción de 15 nudos de catgut crómico 5-0 dentro de la vejiga urinaria. Se midió peso corporal e ingesta de agua, biometría hemática completa, glucosa, NUS, creatinina y peso de los urolitos y arenillas.

Resultados: no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos para ninguna de las variables analizadas.

Conclusiones: la infusión de *L. tridentata* no fue efectiva para prevenir la formación de urolitos inducidos por suturas en el modelo estudiado. Tampoco produjo alteraciones en la ganancia de peso corporal, biometría hemática, química sanguínea o ingesta de agua. Se requieren más investigaciones para descartar por completo cualquier efecto de la planta sobre la formación de urolitos.

SUMMARY

Objective: to evaluate the effect of *L. tridentata* infusion on the development of urinary calculi in a non-metabolic model.

Methods: male Wistar rats were divided into two groups ($n = 10$ each). The experimental group received 1 mL of oral *L. tridentata* infusion three times daily for 95 days. Control group received 1 mL tap water. Five days after initiating treatment, urolithiasis was induced inserting a series of 15 knots of 5-0 chromic catgut into the urinary bladder. Measurements included body weight and water intake, complete blood counts, glucose, BUN, creatinine, bacterial culture, and weight of urinary stones and sands.

Results: no statistically significant differences were found between groups for any variable.

Conclusions: an infusion of *L. tridentata* was not effective in the prevention of urolith formation in the suture-induced rat model. It produced no alterations in body weight gain, blood counts, or water intake. Future work is needed to completely rule out any effect of the plant on urolith formation.

¹División de Investigación Quirúrgica
²Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara
³Herbario Medicinal, Coordinación de Investigación Médica, Distrito Federal, México
⁴Bioterio

Autores 1 y 4, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Guadalajara, Jalisco

Instituto Mexicano del Seguro Social

Comunicación con:
 Eliseo Portilla.
 Tel: (33) 3618 9410.
 Fax: (33) 3618 1756.
 Correo electrónico:
 eportilla@mail.udg.mx

Recibido: 25 de mayo de 2007

Aceptado: 17 de enero de 2008

Introducción

La urolitiasis tiene diversas etiologías que varían ampliamente y producen diferentes composiciones de los cálculos.¹ La medicina tradicional mexicana atribuye a *Larrea tridentata* (Sessé and Moc. ex DC) Coville (*Zygophyllaceae*) efectos sobre los cálculos renales y biliares, ya sea para evitar su formación o para disolver los existentes.² Esta planta se encuentra ampliamente distribuida en el continente americano, donde se le conoce como creosota, chaparral, gobernadora, huamis, hediondilla, falsa alcaparra o jarilla. Aun-

que tiene varios usos por distintas vías,^{3,4} su mayor aplicación es en infusión acuosa vía oral por periodos prolongados; se ha demostrado su efecto para la prevención de la coleditiasis pigmentaria en hamsters.⁵ El interés en esta planta se mantiene, ya que algunos componentes reducen el edema inducido por carragenanos en rata,⁶ reducen la transcripción y replicación del virus de inmunodeficiencia humana,⁷ son protectores de las alteraciones inducidas por radiación ultravioleta B en queratinocitos,⁸ hipoglucemiantes,⁹ antioxidantes y antiapoptóticos^{10,11} y citotóxicos para distintas células cancerosas.^{4,12}

Palabras clave

- ✓ *Larrea*
- ✓ *Zygophyllaceae*
- ✓ urolitiasis
- ✓ ratas Wistar

Key words

- ✓ *Larrea*
- ✓ *Zygophyllaceae*
- ✓ urinary calculi
- ✓ Wistar rats

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de una infusión acuosa de *L. tridentata* en un modelo de urolitiasis inducida por sutura en ratas Wistar,¹³ para identificar la supuesta capacidad de evitar directamente la formación de los cálculos por un mecanismo local en animales por lo demás sanos (sin alteraciones metabólicas).

Material y métodos

Se obtuvo la planta seca en el Mercado Corona de Guadalajara, Jalisco, México. Se envió una muestra al Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social en la Ciudad de México, donde fue identificada como *Larrea tridentata* (Sessé and Moc. ex DC) Coville (*Zygophyllaceae*). El número de espécimen del herbario para esta muestra es IMSSM 11 317. Se utilizó solamente planta de esta colecta para todo el estudio. Las infusiones se prepararon tres veces al día, justo antes de la administración: se hirvieron 2.5 g de la planta en 230 mL de agua potable por cinco minutos después de los cuales el recipiente se cubrió con papel durante dos minutos antes de filtrar a través de cuatro capas de gasa de algodón. La infusión se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de la administración.

Se utilizaron 20 ratas sanas Wistar machos de 230 a 260 g de peso, provenientes del bioterio local. Los animales recibieron una dieta comercial (Purina Nutricubos, Manna Pro Corp., Kansas) y tuvieron acceso *ad libitum* a agua potable durante todo el estudio. El protocolo fue aprobado por el Comité Local de Investigación en Salud (CLIS). Los animales se asignaron a uno de dos grupos ($n = 10$): el experimental recibió 1 mL de infusión de *L. tridentata* mediante una cánula orogástrica, tres veces al día durante 95 días; el grupo control recibió 1 mL de agua potable sin infusión en cada ocasión. Cinco días después de iniciar los tratamientos, se indujo urolitiasis en ambos grupos, de acuerdo con un protocolo ya descrito:¹³ bajo anestesia con clorhidrato de ketamina (80 mg/kg i. p.) y dehidrobenezoperidol (2.5 mg/kg i. p.) se realizó laparotomía media suprapúbica y se instalaron 15 nudos de catgut crómico 5-0 (Davis & Geck, Cyanamid de México, S. A. de C. V.) dentro de la vejiga urinaria. La cistotomía se cerró con surgete continuo del mismo material. La laparotomía se cerró con sutura continua de poliglactina 5-0 en un solo plano.

Las ratas se pesaron cada semana y se midió la ingesta de agua diaria durante el estudio; 90 días después de la cirugía (a 95 del tratamiento) se repitió la anestesia. Se obtuvieron muestras sanguíneas por punción cardíaca y se administró una dosis letal de cloruro de potasio. Se midió glucosa, nitrógeno ureico sanguíneo, creatinina y biometría hemática completa. Se obtuvo la orina mediante punción directa de la vejiga, en jeringas estériles para cultivo bacteriano los días de la cirugía y de la autopsia. Los urolitos y arenillas, se dejaron secar a temperatura ambiente por dos semanas y se pesaron.

Los grupos se compararon para presencia/ausencia de cálculos y positividad/negatividad en cultivos de orina al final del estudio mediante χ^2 . Los pesos de las ratas en cada punto en el tiempo, el consumo de agua (ajustado al peso corporal para cada grupo) y los resultados de biometría y química sanguínea se compararon con t de Student. Los pesos de los cálculos y arenillas obtenidos en la autopsia se compararon con la prueba de suma de rangos de Mann-Whitney. Todos los análisis se hicieron con el programa SigmaStat-W versión 2.03.

Resultados

No se identificaron cálculos urinarios en ninguna rata al momento de la cirugía. Diez ratas del grupo experimental y nueve del control desarrollaron urolitos (diferencia no significativa). No se encontraron diferencias significativas entre grupos para el peso de los cálculos y arenillas (experimental, 0.333 ± 0.88 g; control, 0.252 ± 0.17 g). Los cultivos de orina obtenidos el día de la cirugía fueron negativos para todas las ratas. Solo las orinas de dos ratas del grupo experimental fueron positivas a *Staphylococcus albus* al final del estudio (diferencia no significativa). No hubo diferencias entre grupos para ganancia de peso o consumo de agua en ningún momento. Los resultados de las biometrías hemáticas y químicas sanguíneas permanecieron en los rangos normales en todos los animales al final del estudio, sin diferencias significativas entre grupos.

Conclusiones

En este trabajo no se logró identificar ningún efecto obvio de la infusión de *L. tridentata* en la forma-

ción de cálculos ni en los parámetros sanguíneos, de consumo de agua o ganancia de peso. Se ha demostrado que los urolitos inducidos por catgut crómico en la rata son fosfatos de magnesio o calcio,^{13,14} composición no tan frecuente en la urolitiasis humana,¹ lo que pudo condicionar una respuesta diferente a la infusión en humanos.

Además de producir estomatitis y dermatitis por contacto, se ha demostrado que *L. tridentata* es hepatotóxica y nefrotóxica en humanos¹⁵⁻¹⁸ y que induce hipoplasia testicular y cambios del comportamiento en hamsters.⁵ También produce la formación de quistes renales y linfadenopatía en roedores y humanos.^{19,20} La toxicidad se ha identificado con más frecuencia asociada al consumo de dosis altas en las presentaciones en cápsula o tableta de la planta o de ácido nordihidroguaiarético, su principal componente químico.^{15,21,22} Aunque la identificación de mecanismos específicos de toxicidad no fue el objetivo primario de este trabajo, se valoraron algunas alteraciones fisiológicas y metabólicas. Con el objeto de detectar algún efecto diurético que pudiera influir en el desarrollo de los cálculos, se midió también el consumo de agua. Ninguno de los parámetros mostró diferencias entre grupos. Se ha observado que la ingesta de alimento en roedores herbívoros como *Neotoma lepida*, está regulada por la concentración sanguínea de metabolitos secundarios de las plantas que consumen, particularmente *L. tridentata*.²³ Aunque este mecanismo no está demostrado en la rata noruega, para descartar este posible efecto se compararon los pesos de ambos grupos como una medida indirecta de la ingesta, pero no se encontraron diferencias.

La medicina tradicional recomienda tres tazas (200 mL) diarias de infusión para el tratamiento de la urolitiasis. Con esta base, un individuo de 70 kg tomaría 8.6 mL/kg/día. Las ratas en este estudio bebieron inicialmente entre 11 y 12 mL/kg/día, superior a la dosis humana usual. Como establecieron Travis y colaboradores,²⁴ esta proporción alométrica es válida si el compuesto activo se desactiva espontáneamente, pero se requiere una dosis mayor para descartar un efecto comparable si el compuesto activo es un producto de transformación metabólica. Entonces este trabajo es válido solo si se cumple la primera condición.

Se ha propuesto que los lignanos son posiblemente los responsables de la toxicidad de *L.*

tridentata. Estos compuestos se identifican principalmente en extractos etanólicos, tabletas o cápsulas, pero alcanzan niveles bajos en infusiones acuosas,^{25,26} lo que puede explicar la ausencia de datos de toxicidad en nuestras ratas. Por otro lado, no es posible descartar un efecto tóxico en ratas después de periodos mayores a los 95 días utilizados en el presente trabajo.

Hay mayor producción de urolitos en suturas cuando coexiste una infección²⁷ y al mismo tiempo se ha demostrado actividad antimicrobiana de *L. tridentata* contra más de un organismo.²⁸ Sin embargo, dos ratas del grupo experimental fueron positivas a *S. albus* y las restantes tuvieron orina estéril. Esta situación no permite descartar un efecto bactericida de la infusión, que pudiera evidenciar un posible papel en el control de la urolitiasis. Aunque *S. albus* se considera un saprófito en diferentes tejidos y pudiera tratarse de un contaminante de las muestras, no es posible descartar una infección activa en las ratas con cultivos positivos. Deberán utilizarse otros modelos que consideren la participación microbiana en estudios futuros.

La imposibilidad de mostrar algún efecto de la infusión de *L. tridentata* sobre el desarrollo de urolitos en este trabajo podría deberse a una o más de las siguientes consideraciones: *a)* no hay un efecto local sino sistémico (metabólico) o antibacteriano; *b)* no hay un efecto específico sobre urolitos de fosfato; *c)* el estímulo permanente de la sutura supera al efecto de la infusión; *d)* el compuesto activo es un producto metabólico, lo que hizo inadecuada a la dosis; *e)* las porciones de la planta utilizadas no fueron las ideales; *f)* el momento de la recolecta de la planta no fue óptimo; *g)* no hay ningún efecto en realidad.

Estas consideraciones justifican más investigaciones en modelos distintos que pudieran evidenciar cualquier efecto posible de esta planta sobre el desarrollo de urolitos. En conclusión, la infusión de *L. tridentata* no fue efectiva en la prevención de la formación de urolitos en el modelo de rata inducido por sutura. Tampoco produjo alteraciones en la ganancia de peso, el consumo de agua o la biometría y química sanguíneas.

Referencias

1. Resnick MI, Persky L. Summary of the National Institutes of Arthritis, Diabetes, Digestive and Kidney

2. Aguilar A, Camacho JR, Chino S, Jáquez P, López ME. Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 1994.
3. McDaniel S, Goldman GD. Consequences of using escharotic agents as primary treatment for nonmelanoma skin cancer. *Arch Dermatol* 2002;138:1593-1596.
4. Arteaga S, Andrade-Cetto A, Cárdenas R. *Larrea tridentata* (creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *J Ethnopharmacol* 2005; 98(3):231-239.
5. Granados H, Cárdenas R. Cálculos biliares en el hamster dorado. XXXVII. Acción preventiva de "gobernadora" (*Larrea tridentata*) en la coleditiasis pigmentaria producida por la vitamina A. *Rev Gastroenterol Mex* 1994;59:31-35.
6. Meckes M, David-Rivera AD, Nava-Aguilar V, Jiménez A. Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine* 2004;11(5):446-451.
7. Gnable JN, Brady JN, Clanton DJ, Ito Y, Dittmer J, Bates RB, et al. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription and replication by DNA sequence-selective plant lignans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11239-1143.
8. Gonzales M, Bowden T. Nordihydroguaiaretic acid-mediated inhibition of ultraviolet B-induced activator protein-1 activation in human keratinocytes. *Mol Carcinog* 2002;34:102-111.
9. Luo J, Chuang T, Cheung J, Quan J, Tsai J, Sullivan C, et al. Masoprocol (nordihydroguaiaretic acid): a new antihyperglycemic agent isolated from the creosote bush (*Larrea tridentata*). *Eur J Pharmacol* 1998;346:77-79.
10. Abou-Gazar H, Bedir E, Takamatsu S, Ferreira D, Khan IA. Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 2004;65:2499-505.
11. Culver CA, Michalowski SM, Maia RC, Laster SM. The anti-apoptotic effects of nordihydroguaiaretic acid: inhibition of cPLA2 activation during TNF-induced apoptosis arises from inhibition of calcium signaling. *Life Sci* 2005;77:2457-2470.
12. Lambert JD, Sang S, Dougherty A, Caldwell CG, Meyers RO, Dorr RT, et al. Cytotoxic lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 2005;66:811-815.
13. Portilla E, Ramos A, Ramos ML, de Buen N, García D, Rodríguez-Reynoso S, et al. A model of suture-induced urolithiasis with urographic control in the bladder of the rat. *J Invest Surg* 1999;12:205-211.
14. D'Silva M, Gittes RF, Wolf P, Pirenne J, Munger K, Pascual J, et al. Rat kidney transplantation update with special reference to vesical calculi. *Microsurgery* 1990;11:169-176.
15. Sheikh NM, Philen RM, Love LA. Chaparral-associated hepatotoxicity. *Arch Intern Med* 1997;157:913-919.
16. Smith AY, Feddersen RM, Gardner KD, Davis CJ. Cystic renal cell carcinoma and acquired renal cystic disease associated with consumption of chaparral tea: a case report. *J Urol* 1994;152(6 pt 1):2089-2091.
17. Pittler MH, Ernst E. Systematic review: hepatotoxic events associated with herbal medicinal products. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:451-471.
18. Stedman C. Herbal hepatotoxicity. *Semin Liver Dis* 2002;22(2):2002.
19. Brent J. Three new herbal hepatotoxic syndromes. *Clin Toxicol* 1999;37(6):715-719.
20. Steenkamp V, Stewart MJ. Nephrotoxicity associated with exposure to plant toxins, with particular reference to Africa. *Ther Drug Monit* 2005; 27(3):270-277.
21. Alderman S, Kailas S, Goldfarb S, Singaram C, Malone DG, et al. Cholestatic hepatitis after ingestion of chaparral leaf: confirmation by endoscopic retrograde cholangiopancreatography and liver biopsy. *J Clin Gastroenterol* 1994;19:242-247.
22. Lambert JD, Zhao D, Meyers RO, Kuester RK, Timmermann BN, Dorr RT. Nordihydroguaiaretic acid: hepatotoxicity and detoxification in the mouse. *Toxicol* 2002;40(12):1701-1708.
23. Sorensen JS, Heward E, Dearing MD. Plant secondary metabolites alter the feeding patterns of mammalian herbivore (*Neotoma lepida*). *Oecologia* 2005;146(3):415-422.
24. Travis CC, White RK, Ward RC. Interspecies extrapolation of pharmacokinetics. *J Theor Biol* 1990; 142:285-304.
25. Obermeyer WR, Musser SM, Betz JM, Casey RE, Pohland AE, Page SW. Chemical studies of phytoestrogens and related compounds in dietary supplements: flax and chaparral (43824). *Proc Soc Exp Biol Med* 1995;208:6-12.
26. Heron S, Yarnell E. The safety of low-dose *Larrea tridentata* (DC) Coville (creosote bush or chaparral): a retrospective clinical study. *J Altern Complement Med* 2001;7(2):175-185.
27. Milroy E. An experimental study of the calcification and absorption of polyglycolic acid and catgut sutures within the urinary tract. *Invest Urol* 1976;14(2):141-142.
28. Verástegui MA, Sánchez CA, Heredia NL, García-Alvarado JS. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. *J Ethnopharmacol* 1996;52:175-177. 