

Ensayo de irritabilidad vaginal a un producto natural, obtenido a partir de *Rhizophora mangle L.* destinado al tratamiento de infecciones uterinas (Test of vaginal irritability to a natural product, obtained from *Rhizophora mangle L.* destined to the treatment of uterine infections)

Félix Agüero, Carlos Bulnes, Reina Durand y Liseth García. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Autopista Nacional y Carretera a Tapaste, San José de las Lajas, CP 32700, La Habana, Cuba.

E-mail: faguero@censa.edu.cu

RESUMEN

En las últimas décadas, se observa un incremento en la tendencia a obtener productos de origen natural para el tratamiento de afecciones en animales y humanos. Una de las fuentes naturales explotadas en Cuba con este fin es la planta *Rhizophora mangle L.* conocida comúnmente como Mangle rojo. Sobre los resultados obtenidos en investigaciones previas, nos trazamos como objetivo de nuestro trabajo desarrollar un ensayo para evaluar el potencial irritante de una formulación de *Rhizophora mangle L.* como medicamento candidato al tratamiento de infecciones uterinas. El ensayo se realizó bajo los procedimientos establecidos en la norma ISO 10993-10. "Biological evaluation of medical devices. Part 10: Test for irritation and sensitization. European Committee for Standardization". Se cumplieron los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio y los principios éticos para evitar sufrimiento a los animales durante la experimentación. El protocolo de investigación fue aprobado por el *Comité Institucional de Ética* del CENSA. Como resultado se observó ligera congestión e infiltración leucocitaria. Los índices de irritabilidad fueron de 4.0, 3.1, 2.3 y 0.5, para las concentraciones de 16, 24, 32 y 100 mg/mL, respectivamente. El producto no fue irritante para la mucosa vaginal y se observó una disminución del indicador en la medida que se incrementa la concentración de la formulación.

Palabras claves: irritabilidad vaginal, Mangle rojo, *Rhizophora mangle L.*

SUMMARY

In the last decades, an increase in the tendency is observed to obtain products of natural origin for the treatment of affections in animals and humans. One of the operated natural sources in Cuba with this aim is the *Rhizophora* plant well-known

Félix Agüero, Carlos Bulnes, Reina Durand y Liseth García. **Ensayo de irritabilidad vaginal a un producto natural, obtenido a partir de *Rhizophora mangle L.* destinado al tratamiento de infecciones uterinas** - [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET](http://www.veterinaria.org)®, ISSN 1695-7504, Vol. VI, nº 06, Junio /2005. [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual.

Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605.html>



mangle L. commonly like red Mangle. On the results obtained in previous investigations, we drew up like objective of our work to develop a test to evaluate the irritating potential of a formulation of *Rhizophora mangle* L. like medicine candidate to the treatment of uterine infections. The test was made under the established procedures in norm ISO 10993-10. "medical Biological evaluation of devices. Part 10: For test irritation and sensitization. European for Committee Standarization ". The ethical principles of the Good Practices of Laboratory and principles were fulfilled to avoid suffering to the animals during the experimentation. The investigation protocol was approved by the Institutional Committee of Ethics of REGISTERS. As result were observed light congestión and leucocitaria infiltration. The irritability indices were of 4,0, 3,1, 2,3 and 0,5, for the concentrations of 16, 24, 32 and 100 mg/mL, respectively. The product was not irritating for the vaginal mucosa and a diminution of the indicator in the measurement was observed that is increased the concentration of the formulation.

Key words: vaginal irritability, red Mangle, *Rhizophora mangle* L.

INTRODUCCION

En las últimas décadas, se observa un incremento en la tendencia a obtener productos de origen natural para el tratamiento de afecciones en animales y el hombre. Esto se debe, en gran parte, a las ventajas de estos productos por su eficacia e inocuidad. Una de las fuentes naturales explotadas en Cuba con este fin es la planta *Rhizophora mangle* L. conocida comúnmente como Mangle rojo.

La formulación, a partir del extracto de dicha planta, se reporta con altos porcentajes de recuperación en el tratamiento de infecciones umbilicales y la cura de heridas abiertas (Figueredo y col., 1995 y Figueroa y col., 1995). Además de demostradas sus propiedades antisépticas y cicatrizantes (Melchor, 1999), también se reporta su eficacia en el tratamiento de las infecciones uterinas del ganado bovino sin afectar el reinicio de la actividad ovárica postparto (Agüero, 1998 y Portillo, 2004).

A pesar de estos resultados, se desconoce el potencial irritante que pueda tener esta formulación provoca sobre la mucosa vaginal, ensayo clínico imprescindible para justificar la vía de administración y la indicación terapéutica. Por estas razones, nos propusimos como objetivo determinar el potencial irritante de una formulación, a base de *Rhizophora mangle* L., sobre la mucosa vaginal como ensayo preclínico de inocuidad del medicamento.

MATERIALES Y METODOS

Para el cumplimiento de nuestros objetivos llevamos a cabo dos ensayos. Durante el primero, evaluamos la irritabilidad vaginal y en el segundo la irritabilidad uterina. El ensayo se realizó según los procedimientos establecidos en la norma ISO 10993-10 (1996). Fue requisito indispensable, el cumplimiento de los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio establecidos por la Organization for Economic Cooperation Development (OECD, 1992) y la Standard Operating Procedures (1980).



Para el desarrollo experimental, utilizamos 15 conejas de la raza Nueva Zelanda Blanco por su alta sensibilidad para la detección de irritación vaginal y la facilidad para su manipulación en condiciones de laboratorio. Estas fueron suministradas por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), con salud certificada y peso promedio de 2 kg. Se recibieron y alojaron en el Local para conejos, del Área de animales de experimentación del CENSA. El alojamiento se realizó individualmente en jaulas metálicas. Se mantuvieron controladas las condiciones ambientales (temperatura: 20-23°C, humedad relativa: 60-70%) según establece el Canadian Council of Animal Care (1993). El ciclo luz/oscuridad se mantuvo en una frecuencia de 12/12 horas y libre acceso al agua y alimento.

Los animales se distribuyeron al azar en los grupos de tratamientos siguientes:

Grupo I, Control no tratado

Grupo II: Formulación de *R. Mangle* en concentración de 16 mg/mL

Grupo III: Formulación de *R. Mangle* en concentración de 24 mg/mL

Grupo IV: Formulación de *R. Mangle* en concentración de 32 mg/mL

Grupo V: Formulación de *R. Mangle* concentrada a 100 mg/mL

Con el grupo V, se buscó la expresión de algún potencial irritante o efectos tóxicos, ya que basados en la experiencia de otros ensayos toxicológicos de irritación local (ocular, dérmica, mucosa bucal, ubre) no se reportan efectos irritantes.

Para la aplicación de las formulaciones, se utilizó jeringuilla y catéter individual por animal durante el desarrollo del experimento.

Se realizó observación clínica diaria, con mayor rigor antes de la aplicación del tratamiento y hasta las 4 horas después de la aplicación; así como previo al sacrificio. El sacrificio se fijó a los 6 días de iniciado el tratamiento si no se presentaban daños severos o alarmantes. Se empleó la eutanasia con pentobarbital sódico y posterior desangrado. La vagina fue abierta longitudinalmente y examinada, para evaluar el tipo de alteración, según se expresa en la tabla 1. Se tomaron muestras para estudio histológico, las cuales se depositaron en solución fijadora de formol tamponado al 10% hasta su posterior inclusión en parafina y coloración con Hematoxilina-Eosina.

Según la severidad de la reacción, se le asignó una puntuación a cada parte del órgano evaluada y se calculó el promedio de puntos. Al valor obtenido por grupo se le restó el obtenido por el control. El dato obtenido se considera el índice de irritación vaginal para cada grupo. La relación entre el índice de irritabilidad y la categoría de respuesta se expresan en la tabla 2.



Tabla 1. Sistema de clasificación microscópica atendiendo al tipo de alteración histopatológica en el tejido vaginal.

| Epitelio | Tipo de reacción | | | Escala de puntos |
|----------------------|------------------------------|---------------------------|----------|------------------|
| | Congestión vascular | Infiltración leucocitaria | Edema | |
| Normal intacto | Ausente | Ausente | Ausente | 0 |
| Degeneración celular | Mínima | Mínima (<25) | Mínima | 1 |
| Metaplasia | Media | Media (26-50) | Media | 2 |
| Erosión focal | Moderada | Moderada (51-100) | Moderada | 3 |
| Erosión generalizada | Marcada con ruptura de vasos | Marcada (>100) | Severa | 4 |

Tabla 2. Clasificación de la irritabilidad atendiendo al valor del índice de irritabilidad calculado.

| Índice de irritación vaginal | Categoría de respuesta |
|------------------------------|------------------------|
| 0 | Ninguna |
| 1-4 | Mínima |
| 5-8 | Media |
| 9-11 | Moderada |
| 12-16 | Severa |

Como Control de la Calidad, la ejecución del ensayo se realizó según el "Manual de Calidad" del Centro de Ensayos Preclínicos y Clínicos (CENPREC), el cual define las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio y organización general del trabajo para la realización de ensayos toxicológicos. El protocolo de ensayo fue revisado por el "Comité Institucional de Ética" del CENSA.

RESULTADOS Y DISCUSION

Durante las observaciones clínicas realizadas, no se aprecian lesiones que muestren signos de irritación en los animales tratados. Sólo en 1 animal del Grupo III (24mg/mL) se observó ligera congestión en la comisura vulvar que desapareció progresivamente. Estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores (Figuroa y col., 1995; Bulnes y col., 2001; Gutiérrez y col., 2001) en pruebas de toxicidad aguda y otros ensayos preclínicos ratas y otras especies de animales, donde no encontraron efectos irritantes.

Con relación a los cambios histopatológicos, se aprecian cambios con poca frecuencia de presentación que se caracterizan por congestión vascular e infiltración de leucocitos dispersos por toda la mucosa (tabla 3). Ello puede estar relacionado con una respuesta fisiológica producto de la activación de los mecanismos de defensa uterinos como respuesta a la inoculación de la sustancia extraña.

El grado de irritabilidad que presentaron los animales fue discreto (tabla 4), y coincide con trabajos realizados por otros autores, quienes al evaluar un producto similar, no observaron irritación de los tejidos (García y col. 2000).

Tabla 3. Puntuación total según las lesiones histopatológicas presentes en cada grupo de tratamiento.

| Lesiones | Grupos | | | | |
|------------------|--------|----|-----|----|----|
| | I | II | III | IV | V |
| Epitelio | 6 | 7 | 11 | 9 | 7 |
| C. Vascular | 9 | 16 | 22 | 14 | 12 |
| Inft. Leucocitos | 10 | 19 | 15 | 15 | 10 |
| Edema | 5 | 12 | 11 | 6 | 4 |
| Total | 30 | 54 | 49 | 44 | 33 |



Tabla 4.- Índice de irritabilidad vaginal en los animales en estudio.

| G r u p o | V a l o r o b t e n i d o | I n d i c e d e i r r i t a b i l i d a d | C a t e g o r í a d e l a r e s p u e s t a |
|------------------|----------------------------------|--|--|
| I | 3 0/ 6 (5 ,0) | Grupo Control | |
| I I | 5 4/ 6 (9 ,0) | 4 , 0 | M í n i m a |
| I I I | 4 9/ 6 (8 ,1) | 3 , 1 | M í n i m a |
| I V | 4 4 /6 (7 ,3) | 2 , 3 | M í n i m a |



| | | | |
|----------|-------------------------------|-------------|-----------------------|
| V | 3 3/ 6 (5 ,5) | 0 , 5 | N ul a |
|----------|-------------------------------|-------------|-----------------------|

El índice de irritabilidad obtenido en cada grupo de tratamiento y la categoría de la respuesta al ensayo varía entre nula y mínima, por lo que se puede concluir que el producto no produce efectos irritantes sobre el órgano evaluado y puede ser aplicado por vía intravaginal.

BIBLIOGRAFIA.

1. Agüero, F. (1998) Uso de *Rhizophora mangle* L. en el tratamiento de la endometritis bovina. Tesis en opción al grado académico de Master en Reproducción animal. UNAH/CENSA.
2. Figueredo, J.M.; Sánchez, Luz Ma.; Melchor, Gleiby & Graciela Coronado (1995) Mangle rojo (*Rhizophora mangle* L.). Influencia en la prevención de infecciones umbilicales del ternero. Rev. Salud Anim., 17 (1): 101-104.
3. Bulnes, C.; Fernández, O; Navarro, D; Marrero, E; Rueda, D.; Merchor, G. (2001): Healing effect of a Red Mangrove extract in open aseptic wounds in rat. Vol 23. no 2. Rev. Salud Animal.102-108.
4. Figueroa O; Figueredo, J; Rodríguez, A; Perez P(1995): Efecto de una solución de Mangle Rojo en la cicatrización de heridas experimentales en conejos. rev Salud Animal. 17: 96-99.
5. García, Liseth, Agüero, F. Bulnes, C y Durand, Reina (2000). Evaluación del efecto irritante del MetriCen. IV Encuentro Iberoamericano sobre Cienc. Farmacéuticas y Alimentarias
6. Gutiérrez, Maritza; Melchor, Gleiby; Figueredo, J (2001): Evaluación de la eficiencia del CIKRON como preventivo de infecciones umbilicales de terneros neonatos. Rev. Salud Animal. 23(1).
7. Melchor Orta, Gleybis (1999) Efecto cicatrizante y antiséptico del extracto y de una forma farmacéutica obtenida a partir de *Rhizophora mangle* L. Tesis en opción al grado científico de Doctora en Ciencias. CENSA. Cuba.
8. Canadian Council on Animal Care (1993): Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 1. 2nd. ed. Enerst D. Olfert..
9. ISO 10993-10 (1996). Biological evaluation of medical devices. Part 10: Test for irritation and sensitization. European Committee for Standardization
10. Organization for Economic Co-operation and Development (1992): The OECD Principles of Good Laboratory Practice. Environment Monograph No. 45
11. Portillo Portillo, D. (2004) Uso del Cikrón en el tratamiento de las infecciones uterinas y su efecto en el reinicio de la actividad ovárica postparto en bovinos en la República de Honduras. CENSA/UNAH.
12. Standard Operating Procedures (1980): Inveresk Research International, Ltd. IRI. Edinburgh. Paget, G.E. and Thomson, R. Toxicology Vol. 1.



Trabajo recibido el 30.05.05 n° de referencia 060516_REDNET. Enviado por su autor principal, miembro de la [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)®. Publicado en [REDNET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)® el 01/06/05.

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org - www.veterinaria.org y [REDNET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)® www.veterinaria.org/revistas/redvet y se cumplan los requisitos indicados en [Copyright](#)

(Copyright) 1996-2005. [Revista Electrónica de Veterinaria REDNET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)®, ISSN 1695-7504 - [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)®