

# XXXIX CONCURSO PREMIO ANUAL DE LA SALUD

## Toxicidad subcrónica y potencial adictivo de la planta *Mimosa pudica*.

**Autores:** Onel Fong Lores, Clara Azalea Berenguer Rivas, Jorge de la Vega Acosta, Edgar Puente Zapata, Juan Esmérito Betancourt Hernández Hilario Salas Martínez

CATEGORÍA: INVESTIGACIÓN APLICADA

Santiago de Cuba, 2014

Las *Mimosa* son un grupo de plantas, arbustos y árboles que pertenecen a la familia de las *Mimosaceae*. Son plantas muy comunes en América Latina, especialmente en el Caribe y el norte de Suramérica. Se caracterizan por tener hojas bipinnadas y flores pequeñas y numerosas. Algunas especies de *Mimosa* son utilizadas como plantas ornamentales, mientras que otras son utilizadas como plantas medicinales. En este estudio se investigó la toxicidad subcrónica y el potencial adictivo de la planta *Mimosa pudica*.

Ratones NMRI



Administración

La administración se realizó diariamente a través de una cánula esofágica, la dosis fue calculada para 1000 mg/kg de peso del animal, la manipulación la realizaba un especialista, así como estar a cargo de las condiciones de estancia de los animales.

Flores



Las flores, diminutas de color amarillo, naranja o púrpura, suelen disponerse en forma de globos. Tienen caliz largo o pediculado, corola larga o pediculada, numerosos estambres en las flores masculinas y femeninas, y un pistilo solitario en las femeninas y bisexuales.

Hojas



Las hojas bipinnadas, se repliegan y se abren como si estuvieran manecitas como respuesta al más ligero estímulo mecánico, químico o eléctrico.

# Dosis repetida

# Mimosa Púdica



**Título:** Toxicidad subcrónica y potencial adictivo de la planta *Mimosa pudica*.

**Autores:**

1. Onel Fong Lores (Licenciado en Bioquímica. Investigador Agregado. Asistente)
2. Clara Azalea Berenguer Rivas (Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Master en Medicina Natural, Tradicional y Bioenergética. Investigador Agregado. Instructor)
3. Jorge de la Vega Acosta (Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Instructor)
4. Edgar Puente Zapata (Doctor en Medicina Veterinaria. Master en Medicina Natural, Tradicional y Bioenergética. Investigador Agregado)
5. Juan Esmérito Betancourt Hernández (Doctor en Medicina Veterinaria. Master en Patología)
6. Hilario Salas Martínez (Técnico en Medicina Veterinaria)

**Institución:** Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). Autopista Nacional Km 1 ½. Santiago de Cuba. Cuba. Email: onel.fong@medired.scu.sld.cu

**Agradecimientos**

Quisiéramos agradecer al Dr. Alberto Cutié Bressler del Hospital General “Juan Bruno Zayas Alfonso” por su colaboración y apoyo incondicional en la génesis de esta investigación. A los investigadores del Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de Santiago de Cuba por su colaboración en la clasificación y certificación del material vegetal en estudio. Finalmente a todos aquellos participantes del Proyecto Institucional “Potencial toxicológico de la planta *Mimosa pudica*”, al cual tributan todos los resultados obtenidos en esta investigación.

# Contenido

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<i>Objetivos</i>	2
<b>DISEÑO METODOLÓGICO</b>	<b>3</b>
<i>Animales</i>	3
<i>Preparación de muestras vegetales</i>	3
<i>Ensayo de Toxicidad</i>	3
<i>Ensayo de abstinencia espontánea</i>	4
<i>Análisis estadístico</i>	4
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>6</b>
<i>Ensayo de Toxicidad Subcrónica</i>	6
<i>Parámetros bioquímicos</i>	8
<i>Estudios anatomopatológicos</i>	15
<i>Estudio histopatológico</i>	17
<i>Ensayo de Abstinencia espontánea</i>	22
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>28</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>29</b>
<b>FORMAS DE DIVULGACIÓN E INTRODUCCIÓN EN LA PRÁCTICA SOCIAL</b>	<b>33</b>

## Resumen

La planta *Mimosa pudica*, “Moriviví” como comúnmente se le conoce, ha sido empleada tradicionalmente como anestésico, antidepresivo, sedante, antialopécico, entre otras propiedades farmacológicas. Sin embargo, en los últimos años su consumo se ha intensificado en nuestro territorio como objeto de abuso. Con el objetivo de conocer el potencial tóxico y adictivo de esta planta se desarrolló un Estudio de Toxicidad Subcrónica y el Ensayo de Abstinencia Espontánea respectivamente, en ratones de la línea NMRI. El ensayo de toxicidad se desarrolló según el método del Test Límite, mientras que el ensayo de Abstinencia Espontánea se realizó empleando morfina como control positivo. Al finalizar el estudio se pudo comprobar que la decocción de la planta *Mimosa pudica* afectó el peso corporal de los animales tratados, provocando alteraciones bioquímicas en las enzimas hepáticas, glicemia y proteínas totales, así como daños anatomopatológicos significativos que son indicadores de la toxicidad de esta planta, tales como degeneración encefálica, necrosis hepática y ligeras alteraciones en corazón, riñón y órganos del sistema inmune. Por su parte los animales tratados mostraron signos de dependencia física, una vez suspendido el tratamiento.

**Palabras claves:** *Mimosa pudica*, ensayo de abstinencia espontánea, toxicidad subcrónica.

## INTRODUCCIÓN

En nuestros días el hombre está expuesto a una gran variedad de sustancias químicas que pueden ser introducidas al organismo de forma accidental o voluntaria y que afectan la salud humana. Dentro de estas sustancias, una de las que sin duda preocupan más al ciudadano son las denominadas drogas de abuso, ya que el uso indebido de estas sustancias ha aumentado alarmantemente en todos los rincones del mundo.<sup>1</sup> En nuestro país, como parte de la comunidad internacional, el problema del uso indebido de drogas ha comenzado a tener incidencias en los últimos años. Por estas razones el Ministerio de Salud Pública ha elaborado el Programa Nacional Integral de Prevención del uso Indebido de Drogas, lo que demuestra que este flagelo constituye un asunto de gran importancia, siendo una prioridad estudiar, prevenir y combatir esta emergencia.<sup>2</sup> Sin embargo a pesar del control de las drogas psicotrópicas en el país, así como la poca disponibilidad de drogas ilícitas y el alto costo que presentan algunas de estas; el clima de nuestro territorio ha favorecido el cultivo y propagación de variedades de plantas y cactus con propiedades psicoactivas, tales como las daturas, mimosas, cannabis, trichocereus, entre otras; así como algunas especies de hongos alucinógenos donde se destacan el psilocybe y la estrofaría cubensis, especies endémicas de nuestra flora cubana, propiciando la exploración de otras modalidades de consumo con la utilización de estas especies naturales.<sup>3,4</sup>

Estas nuevas modalidades de consumo carecen de estudios científicos que reporten sobre los efectos tóxicos de estas, por lo que constituye una necesidad por parte de los profesionales de salud del territorio, de conocer los efectos tóxicos del consumo a largo plazo de este objeto de abuso para de esta forma contribuir al tratamiento oportuno y diferencial de las patologías asociadas.

Dentro de los estudios de la farmacología de seguridad que evalúa el efecto de una nueva sustancia en el Sistema Nervioso Central, se encuentran aquellos relacionados con el potencial de inducir abuso o dependencia, ya que aunque ambos efectos de forma frecuente ocurren simultáneamente, no son sinónimos. La dependencia puede ser psicológica y física, la primera puede aparecer después de un periodo de tiempo largo de abstinencia y se basa en la búsqueda compulsiva de una sustancia para producir un placer o evitar un malestar. La segunda se muestra un poco más objetivamente al ocurrir la retirada de una sustancia a la que el cuerpo se ha acostumbrado y puede apreciarse desde variaciones de la temperatura corporal hasta situaciones extremas para la vida; mientras que el abuso se refiere al mal uso

o sobre uso de una sustancia y se evidencia por la búsqueda y la administración de esta muchas veces, no observándose ninguna evidencia de dependencia psíquica.<sup>5</sup>

Datos epidemiológicos demuestran que la *Mimosa pudica*, comúnmente conocida como Moriviví, Sensitiva o Dormidera es una de las plantas objeto de abuso más empleada, reportándose en el 4% de los pacientes que acuden al Servicio de Deshabitación, sin embargo es de conocimiento que esta, es además, una de las más empleada como adulterante en los “pitillos” de marihuana (que dentro de las drogas ilegales, es una de las de más bajo costo (por valor estimado) y de fácil preparación para su uso), por lo que consideramos que su consumo es mucho mayor que el reporte estadístico existente.

La planta *Mimosa pudica* más conocida como Mimosa sensitiva, vergonzosa, moriviví, adormidera o dormilona, es originaria de América tropical de la familia de las fabáceas, fácilmente distinguible por su reacción al tacto, porque las hojas se repliegan y se contraen como si estuvieran marchitas como respuesta al más ligero estímulo mecánico, químico o eléctrico. Los estudios fitoquímicos de esta planta han revelado la presencia de alcaloides, aminoácidos no proteicos (destacándose la *Mimosina*), flavonoides C-glicosilados, esteroides, terpenoides, taninos y ácidos grasos. Desde el punto de vista farmacológico ha demostrado tener propiedades antiasmáticas, analgésicas, afrodisíacas, anestésicas, antidepresivas, sedantes, antialopécicas, anticonvulsivante, hiperglicémica, entre otras.<sup>6</sup>

Sin embargo, por las propiedades psicoactivas observadas tras el abuso de altas dosis de la misma más allá de su aplicación terapéutica, el Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED) a través de esta investigación se ha dado a la tarea de evaluar la seguridad del uso de esta planta.

## Objetivos

1. Evaluar la toxicidad subcrónica de una decocción de la planta *Mimosa pudica* a dosis repetidas por el método de test límite en ratones NMRI.
2. Evaluar el potencial adictivo de una decocción de la planta *Mimosa pudica* a través del ensayo de Abstinencia Espontánea en ratones NMRI.

## DISEÑO METODOLÓGICO

**Animales:** Ratones NMRI de 6–8 semanas y entre 20-25 g de peso, suministradas por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Hembras nulíparas no grávidas. Los mismos se mantuvieron en condiciones convencionales, temperatura de  $22 \pm 3$  °C, humedad relativa de 65 % como promedio y fotoperíodo de 12 h luz y 12 h oscuridad. La alimentación consistió en ratonina y el suministro de agua fue *ad libitum*.<sup>7,8</sup>

**Preparación de muestras vegetales:** De la planta *Mimosa pudica* se recolectaron hojas y tallos, esta fue certificada y avalada en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de Santiago de Cuba. Se preparó una decocción de la planta, su concentración se determinó basada en el contenido de sólidos totales.

### Diseño experimental

**Ensayo de Toxicidad:** El ensayo de toxicidad a dosis repetidas por espacio de 28 días se realizó empleando el método de Test Límite según la Guía Regulatoria No. 407 de la Organización Económica para la Cooperación y Desarrollo (OECD).<sup>9</sup> El día antes de inicio del estudio se conformaron los grupos de ensayo: el grupo control (GC), al cual se le administró el vehículo, en este caso agua estéril y los grupos experimental (GE) y satélite (GS) a los que se les administró la sustancia en estudio. Los ratones se pesaron para sobre este peso, determinar el volumen de la decocción de la sustancia de ensayo a administrar. Este pesaje se realizó semanalmente para que la dosis fuera la misma durante todo el ensayo (1000 mg/kg), ya que en ensayos anteriores donde se aplicó una dosis de 2000 mg/kg no se detectaron efectos tóxicos. La dosis del extracto fue administrada de forma directa (sin diluir) en un volumen de 2 mL/100 g de peso corporal.

Las observaciones clínicas se hicieron dos veces al día durante todo el experimento para detectar posibles alteraciones de los animales. El grupo satélite se observó 14 días después de concluida la administración del producto para detectar ocurrencias retardadas, persistencia o recobrado de los posibles efectos tóxicos.

**Exámenes bioquímicos y anatomopatológicos:** Los animales del grupo control y experimental se mantuvieron en ayuno 24 h, después de la última administración del producto (día 28), y se sacrificaron mediante narcosis con Ketamina inyectable, por vía intraperitoneal en dosis de 50 mg/kg de peso corporal. Aún bajo los efectos del anestésico la

sangre se extrajo de la vena de la cola, y se colectó en tubos de ensayo sin heparina para los estudios bioquímicos: glucosa, colesterol total, proteínas totales, albúmina y globulinas, aspartato aminotransferasa ASAT y alanin aminotransferasa ALAT, los cuales se realizaron en un analizador automático HITACHI 920; en tubos de ensayo con heparina se recolectó sangre para la hematología: hematocrito, conteo global y diferencial de leucocitos. A continuación se realizó una necropsia completa donde se examinó la superficie corporal, cavidades (craneal, torácica y abdominal) y órganos (corazón, pulmón, hígado, riñones, estómago, intestinos, bazo, timo, encéfalo, ganglios linfáticos y órganos genitales). Se registró también el peso de los siguientes órganos: corazón, pulmón, hígado, riñones, bazo y timo.

Se procesaron histopatológicamente los órganos: hígado, bazo, riñones, ganglios mesentéricos, ovario/testículo, timo, corazón, pulmón, encéfalo y tracto gastrointestinal (estómago, duodeno, yeyuno, ileon y ciego).<sup>10</sup> Los órganos fueron seccionados y dispuestos, y se usó la técnica tradicional de coloración con hematoxilina-eosina al 10%, para su posterior observación y descripción al microscopio óptico Jenamed 2 Carl Zeiss.

**Ensayo de abstinencia espontánea:** Los animales se dividen en tres grupos de ensayos (5 animales por grupo), un grupo experimental que recibe administraciones orales diarias de la decocción de la planta *Mimosa pudica* a una dosis de 1000 mg/kg de peso dos veces al día por un periodo de tiempo de 20 días y se somete entonces a un periodo de observación de 8 días sin tratamiento, durante el cual se observan los cambios que puedan producirse en los animales en estudio con respecto al peso corporal, empleando una balanza digital marca *Sartorius* con capacidad de 6000 g y sensibilidad de 0,1 g y la temperatura rectal, empleando un termómetro de la firma comercial *RG Medical Diagnostic*. Además se observaron las manifestaciones conductuales y fisiológicas. Se utilizó un grupo control al cual se le administró el vehículo y un grupo de referencia o control positivo donde se emplearon dosis de 32 mg/Kg de peso de morfina por vía intraperitoneal.<sup>5</sup>

El estudio se realizó cumpliendo las normas internacionales y lo establecido de manera ética para el cuidado y uso de animales de laboratorio, así como lo descrito en el Manual de los Procedimientos Operacionales de Trabajo.

**Análisis estadístico:** Para el estudio de toxicidad subcrónica se utilizó la prueba Anova de un factor para la comparación de pares de estudio y se utilizó la prueba t para muestras pareadas. Los valores promedios del peso corporal se compararon por un método no



paramétrico, la prueba de la U de Mann-Whitney. Para el análisis de los parámetros hematológicos y bioquímicos: se utilizó un análisis de varianza (Anova) tomando como factores los grupos confeccionados y los sexos, en las variables en que existieron diferencias, se le aplicó una prueba de rango múltiple de Duncan.<sup>9</sup>

Para el análisis del peso de los animales y de la temperatura rectal en el ensayo de abstinencia espontánea, se determinaron las medias y desviaciones estándar. La comparación entre grupos se llevó a cabo a través del análisis diario de las variables mediante el Test de Students no pareado.<sup>5</sup>

Las diferencias entre grupos fueron significativas si  $p \leq 0,05$ . El análisis estadístico se realizó con el paquete Statgraphics Plus 5.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ensayo de Toxicidad Subcrónica

#### ***Signos clínicos.***

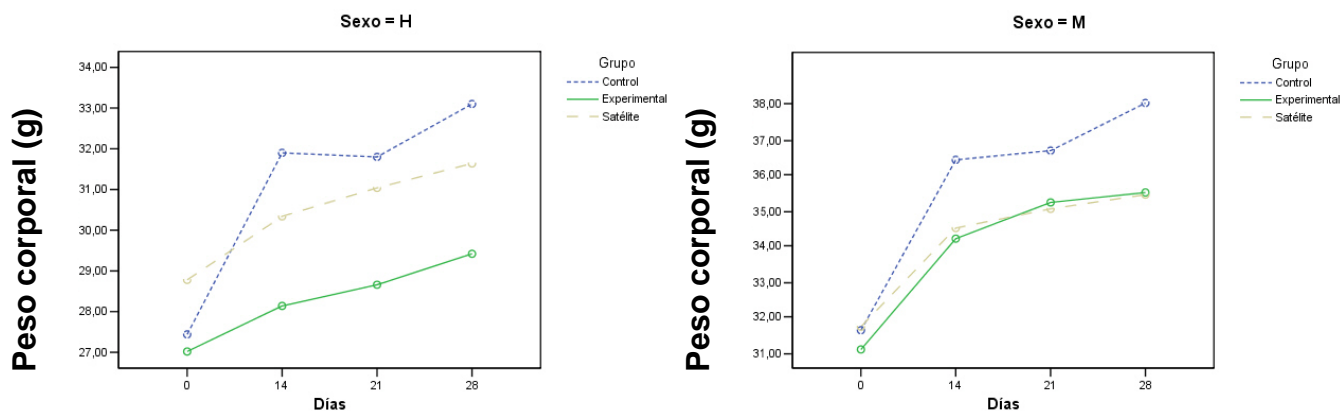
El ensayo concluyó con un 100 % de supervivencia. En los animales tratados se observaron signos de piloerección generalizada y deposiciones semiblandas en los primeros 7 días de administración. Los restantes 21 días mantuvieron una conducta normal, con reflejo postural normal, hábitos de aseo y respuesta habitual a los estímulos nociceptivos. Este es un indicador importante, ya que modificaciones de este cuadro clínico es una manifestación de posibles alteraciones anatomofisiológicas producidas por la acción tóxica de una sustancia, y que depende de la severidad y extensión de la lesión, así como de los sistemas de órganos involucrados, duración de la exposición, cantidad total de la sustancia en sangre, edad y salud general del animal.<sup>11</sup>

#### ***Comportamiento del peso corporal.***

El peso corporal constituye uno de los parámetros más importantes dentro de un estudio toxicológico, ya que alteraciones en el mismo es un indicador sensible de la toxicidad causada por un compuesto químico.

La Figura 1 refleja que los animales del grupo control para ambos sexos tuvieron un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) del peso corporal entre los días del ensayo, así como diferencias significativas entre ambos sexos, correspondiéndose con lo planteado por las normas para el uso y cuidado de los animales de laboratorio, así como con estudios de caracterización de esta especie animal, realizados en el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB).<sup>12,13</sup> Por su parte en el caso de los animales de los grupos experimental y satélite no existieron diferencias significativas entre los días del ensayo ( $p > 0.05$ ), comportamiento que se manifiesta de forma similar en ambos sexos.

En el caso de la comparación de los pesos de los animales entre los grupos de ensayo, se puede observar que en los machos existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el control y los grupos experimental y satélite, mientras que en el caso de las hembras las diferencias significativas existieron entre el grupo control y el experimental, sin embargo debe destacarse que el grupo satélite no presenta diferencias estadísticamente significativas por el hecho de iniciar el estudio (día 0) con un peso corporal promedio superior a los restantes dos grupos.



**Figura 1.** Variación del peso corporal (g) en ratones NMRI en el ensayo de test límite de una decocción de la planta *M. pudica*. (Programa SPSS para Windows, versión 12.0)

En 1981 El-Harith y colaboradores realizaron un estudio en ratas donde incluyeron concentraciones de 0.25 y 0.5 % de Mimosina en la alimentación de las mismas durante 3 semanas, encontrando que a la máxima concentración de este metabolito hubo una disminución de la ganancia del peso de los animales con respecto al control.<sup>14</sup> La similitud de estos resultados con los obtenidos en el estudio realizado con la decocción de la planta *M. pudica* sugieren que la variación en el comportamiento del peso corporal se debe a la acción tóxica de la Mimosina en el organismo, principal principio activo de esta planta.

### **Parámetros hematológicos.**

En la Tabla 1 se puede observar el comportamiento de los parámetros hematológicos estudiados: hematocrito y leucocitos totales, así como las sub-poblaciones leucocitarias: linfocitos, neutrófilos y eosinófilos en ratones NMRI, tras la administración oral de la decocción de *M. pudica* durante 28 y 42 días (experimental y satélite respectivamente), así como el grupo control, al que se le administró solo el solvente de la decocción (H<sub>2</sub>O). En cada uno de los casos se puede observar que los valores obtenidos se encontraron dentro del rango de valores normales reportados para esta especie animal.<sup>13</sup> Estos resultados sugieren que la decocción de la planta *M. pudica* administrada en dosis repetid por vía oral por espacio de 28 días, no afecta ninguno de los parámetros hematológicos estudiados, en el modelo animal empleado y a la dosis evaluada.

**Tabla 1.** Comportamiento de los parámetros hematológicos en ratones NMRI en el ensayo de test límite de una decocción de la planta *M. pudica*.

Sexo	Grupo	Hematocrito (mm)	Leucocitos (x10 <sup>9</sup> /L)	Linfocitos (x10 <sup>9</sup> /L)	Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L)	Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> /L)
H	Control	0.533±0.033a	6.920±1.397a	5.740±1.210a	1.160±0.397a	0.020±0.045a
	Experimental	0.536±0.048a	5.880±0.554a	4.480±0.773a	1.360±0.467a	0.040±0.055a
	Satélite	0.536±0.022a	5.980±0.709a	4.700±1.391a	1.260±1.126a	0.020±0.045a
M	Control	0.534±0.050a	6.600±0.721a	5.080±0.870a	1.500±0.938a	0.020±0.045a
	Experimental	0.515±0.066a	6.120±1.045a	4.660±1.363a	1.420±1.031a	0.040±0.089a
	Satélite	0.510±0.033a	5.660±0.847a	4.200±0.122a	1.460±0.796a	0.000±0.000a

H: hembras M: machos

### ***Parámetros bioquímicos.***

La Tabla 2 refleja el comportamiento de los metabolitos glucosa y creatinina, así como de las enzimas Alanin y Aspartato aminotransferasas (ALAT y ASAT respectivamente). Como puede observarse existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los niveles de glucosa del grupo satélite de ambos sexos con respecto a los grupos control y experimental. Este incremento de los niveles de glucosa sugiere que la planta posee un efecto hiperglicemiante manifestado a largo plazo. En el año 2002 Amalraj y colaboradores evaluaron en ratones Swiss albinos el efecto hiperglicémico de un extracto etanólico de las hojas de la planta *Mimosa pudica*, observando un incremento significativo de los niveles de glucosa en sangre en los animales tratados con respecto al control.<sup>15</sup>

En el caso de la creatinina no existieron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos, correspondiendo en cada caso con los valores normales reportados para esta especie. La creatinina es un biomarcador de la función glomerular, elevándose en el plasma cuando disminuye la velocidad de la filtración glomerular.<sup>16,17</sup> Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la decocción de la planta *M. pudica* no altera la filtración glomerular en los riñones de los animales tratados con esta planta.

Por su parte aunque las enzimas hepáticas no mostraron diferencias estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) en el caso de la ALAT, debe observarse que la media de las hembras del grupo experimental se encuentra muy por encima de los valores normales reportados para esta especie, y esto se debe al comportamiento que de forma individual mostraron algunos de los animales de este grupo, donde los niveles de esta enzima se elevaron considerablemente.

En estudios realizados por El-Harith y colaboradores en 1981, observaron que la *Mimosina* administrada a ratas en su alimentación durante 3 semanas provocó leves incrementos de las enzimas hepáticas ALAT, ASAT y Glutamato deshidrogenasa.<sup>14</sup>

**Tabla 2.** Comportamiento de los parámetros bioquímicos: Glucosa, Creatinina, ALAT y ASAT en ratones NMRI en el ensayo de test límite de una decocción de la planta *M. pudica*.

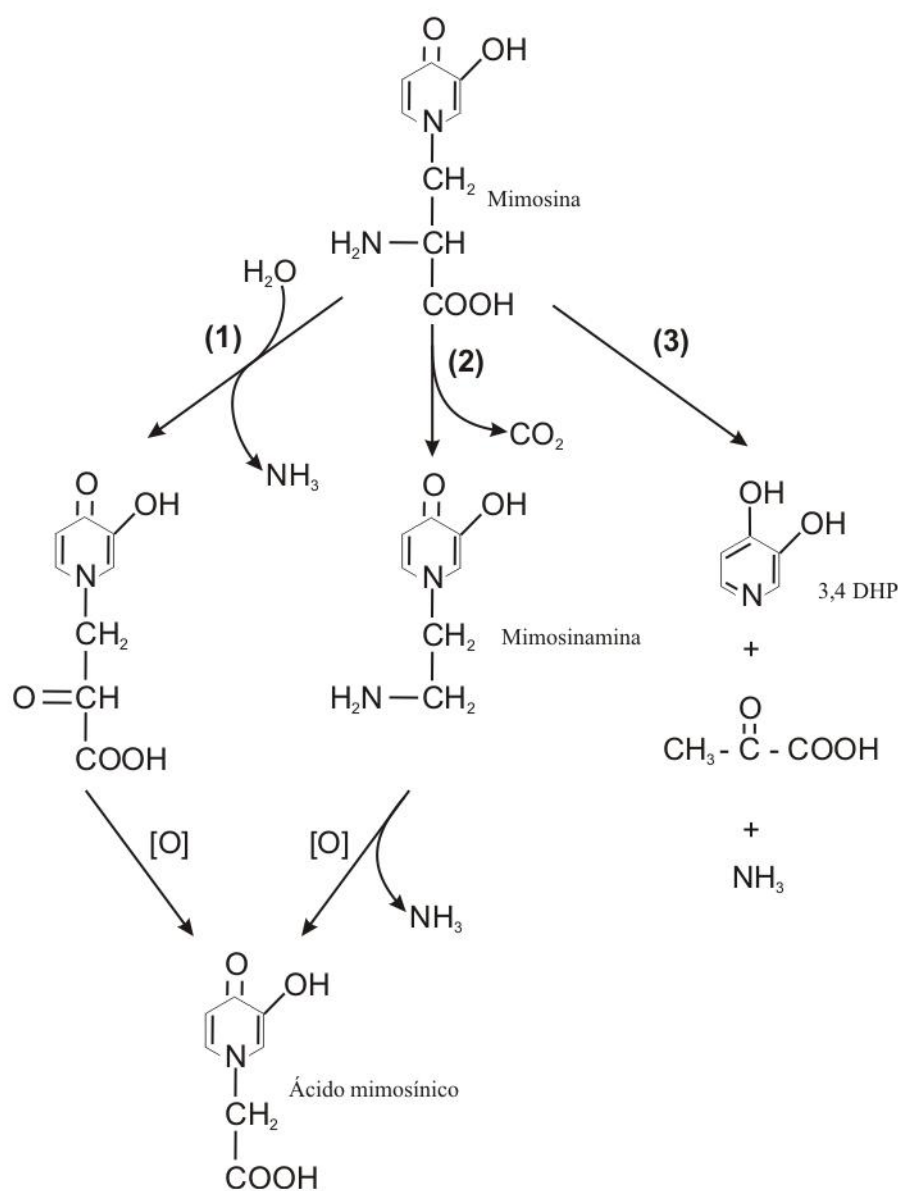
Sexo	Grupo	Glucosa (mmol/L)	Creatinina (mmol/L)	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)
H	Control	3,680±1,195a	42,868±24,984a	53,600±13,936a	135,200±20,364a
	Experimental	3,160±1,016a	42,574±17,320a	117,840±165,951a	130,800±38,239a
	Satélite	8,360±0,835 <sup>b</sup>	42,894±14,538a	63,860±30,286a	116,000±54,185a
M	Control	3,820±0,370a	40,596±17,368a	77,420±36,674a	156,000±36,892a
	Experimental	3,620±0,820a	34,446±14,607a	58,940±13,833a	127,000±19,685 <sup>ab</sup>
	Satélite	8,240±1,701 <sup>b</sup>	29,396±13,192a	64,860±11,471a	105,600±24,542 <sup>b</sup>

H: hembras M: machos, ASAT: Aspartato aminotransferasa, ALAT: Alanin aminotransferasa

En los estudios de hepatotoxicidad resulta de gran importancia el análisis de forma individual de los animales que conforman los grupos experimentales, ya que se ha observado variedad en la respuesta de los biomodelos empleados, ante el efecto tóxico de una determinada sustancia en el hígado,<sup>18</sup> dado fundamentalmente por la susceptibilidad de cada individuo, sobre todo si tenemos en cuenta que en este estudio se emplearon ratones de la línea NMRI, los cuales por ser no consanguíneos presentan una mayor variabilidad genética, constituyendo uno de los modelos animales más empleados en los estudios toxicológicos, por su semejanza a la población humana.<sup>11</sup> Existen estudios que demuestran que estas diferencias en la respuesta de cada individuo está dada en gran medida por el polimorfismo genético existente en los genes de las enzimas Citocromo P450 (CYP), las cuales participan en las reacciones de biotransformación de Fase I de los xenobióticos.<sup>19</sup>

La *Mimosina*, principal alcaloide de la planta *M. pudica*, es un aminoácido no proteico que se biotransforma en el hígado a través de reacciones de Fase I o directamente conjugándose con ácido glucurónico en las reacciones de Fase II. Dentro de las reacciones de Fase I que se proponen para este alcaloide, catalizadas por el sistema enzimático de monoxigenasas dependiente de Citocromo P450 (Figura 2), se observa que en primer lugar podría ocurrir

una desaminación oxidativa seguido por una reacción de oxidación que da lugar a la formación de un ácido carboxílico; este mismo metabolito final puede ser formado a partir de una segunda ruta metabólica que incluye la descarboxilación de la *Mimosina* en una amina y una posterior oxidación a ácido carboxílico.

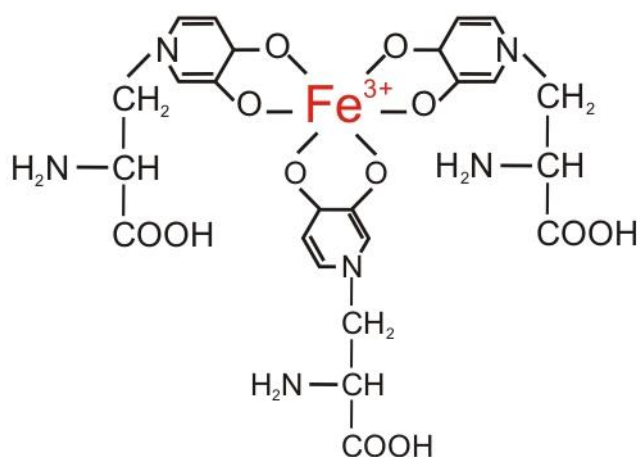


**Figura 2.** Ruta metabólica propuesta para la *Mimosina*.

En tercer lugar se propone un proceso de hidrólisis de la estructura de la *Mimosina*, formando como producto final la 3,4 Dihidroxi-piridina (DHP), cuya estructura aromática hidroxilada podría dar lugar a la formación de epóxidos como metabolitos intermediarios. Los

epóxidos, si bien son metabolitos inestables que pueden ser biotransformados a través de las enzimas Epóxido hidratasa y Epóxido hidrolasa o ser conjugados por el Glutathión, constituyen unos de los compuestos electrofílicos de mayor toxicidad para el organismo, ya que su alta reactividad les permiten unirse covalentemente a biomoléculas de gran importancia en los procesos celulares, tales como proteínas, enzimas y ácidos nucleicos (ADN, ARNs), con la consiguiente pérdida de sus funciones biológicas, siendo por lo tanto estas especies reactivas las causantes de un gran número de alteraciones hepatocelulares causadas por compuestos químicos.<sup>20</sup>

Por otra parte, uno de los principales mecanismos de hepatotoxicidad que se describe para las sustancias químicas, es la inhibición de las enzimas Citocromo P450 (CYP), fundamentalmente cuando se trata de un compuesto original de elevada toxicidad, que al inhibir las enzimas responsables de su metabolismo y detoxificación, incrementan la probabilidad de causar un daño celular severo.<sup>16</sup> En el caso de la *Mimosina*, si bien no ha sido demostrada su capacidad de inhibir las enzimas CYP, se ha reportado que por su capacidad quelante es capaz de formar complejos moleculares con el hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a partir de la función 3-hidroxi 4-oxo del anillo piridínico de la estructura de la *Mimosina*, afectando de esta forma la actividad biológica de las biomoléculas del organismo que contengan este ión en su estructura (Figura 3);<sup>21,22</sup> tal es el caso de las ferroproteínas, donde se incluye la familia de los citocromos.



**Figura 3.** Posible estructura del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -Mimosina, propuesta por Tsai y Ling en 1973.<sup>21</sup>

En el 2006, Yano y colaboradores reportan que al estudiar el mecanismo de inhibidores sintéticos de la enzima Citocromo P450 2A6, el mismo estaba basado en la formación de complejos de transición con el hierro del grupo hemo de las proteínas.<sup>23</sup> Por su parte Masubuchi y Horie en el 2007, describen mecanismos similares de inhibición de esta enzima por determinados fármacos.<sup>24</sup>

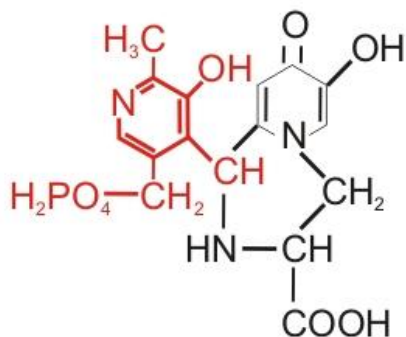
Estos estudios sugieren que la *Mimosina* podría inhibir el Complejo de Monooxigenasa de Función Mixta a partir de la formación de complejos moleculares con los cationes  $\text{Fe}^{3+}$  de sus principales componentes, el NADPH Citocromo P450 reductasa, el Citocromo b5 y el Citocromo P450, hemoproteínas presentes en la fracción microsomal de los hepatocitos.<sup>19,20</sup> De esta forma tanto la *Mimosina* como los demás componentes activos de la planta *M. pudica* verían afectado su metabolismo y excreción, haciendo más susceptible al hígado como órgano blanco de estos compuestos potencialmente tóxicos. Estudios realizados por Tsai y Ling en 1974 refieren que la *Mimosina* al igual que la mayoría de los aminoácidos neutros una vez que se absorbe en el tracto gastrointestinal, se excreta rápidamente en la orina, sin embargo cantidades significativas se mantienen acumuladas en varios sistemas y tejidos de ratas administradas con este alcaloide durante varias semanas.<sup>21</sup>

En el caso de la enzima Aspartato aminotransferasa (ASAT) las medias se mantuvieron dentro del rango de valores normales reportados para la especie, lo que hace suponer, si se analiza de forma individual el comportamiento de este biomarcador de daño hepatocelular, la posibilidad de que no se hayan producido alteraciones en este tejido. Sin embargo hay que destacar que en estudios realizados por Lin y colaboradores en 1962 y 1967 reportan que existe una interacción entre la *Mimosina* y el Fosfato de Piridoxal (Piridoxal-5'-Fosfato),<sup>25,26</sup> demostrándose en 1968 por Yang y Ling que estas moléculas se unen covalentemente mediante una unión por base de Schiff.<sup>27</sup> Este complejo formado por la *Mimosina* y el Fosfato de Piridoxal (Figura 4), según Lin y colaboradores en 1962, afecta la actividad de un determinado número de enzimas que dependen del Fosfato de Piridoxal como cofactor enzimático o coenzima, entre las cuales se encuentra la Aspartato aminotransferasa, así como las enzimas Glutamato descarboxilasa y Fosfatasa alcalina.<sup>25</sup>

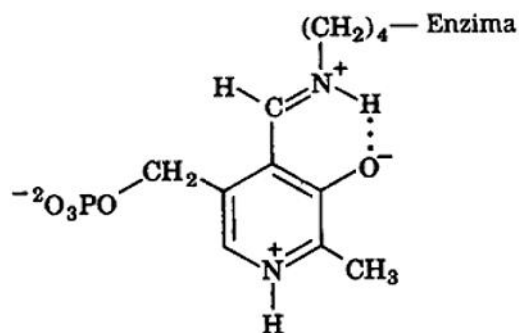
En la reacción de transaminación catalizada por la ASAT ocurre una transferencia de un grupo amino desde un aminoácido a un oxoácido aceptor; para transportar el grupo amino esta aminotransferasa requiere de la participación del Fosfato de Piridoxal,<sup>28</sup> el cual está unido covalentemente a la enzima por condensación de su grupo aldehído con el grupo  $\epsilon$ -



amino de un resto de Lisina de la enzima (Figura 5),<sup>29,30</sup> por lo que la formación de un complejo Mimosina-Fosfato de Piridoxal impediría la unión de este cofactor a la enzima, afectando su actividad catalítica. Estos resultados hacen suponer que el hecho de no encontrar valores elevados de la enzima ASAT en este estudio no es indicador de carencia de daño hepatocelular, sino que el mismo puede estar presente, sin embargo no reflejarse en la actividad plasmática de esta enzima producto de la inhibición de la misma a partir de la acción de la *Mimosina* sobre la coenzima Fosfato de Piridoxal.

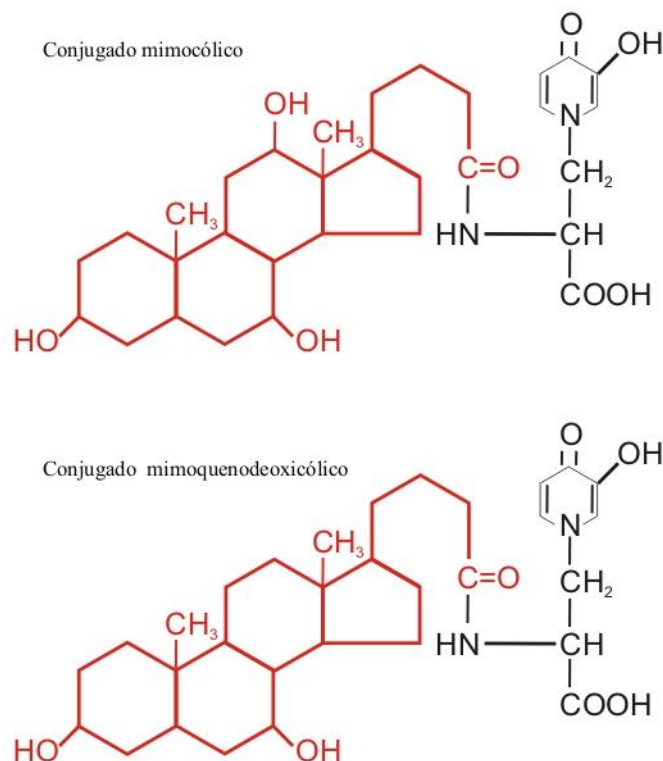


**Figura 4.** Complejo Mimosina-Fosfato de piridoxal propuesto por Lin y colaboradores en 1962.<sup>25</sup>



**Figura 5.** Unión covalente entre el Fosfato de Piridoxal y la enzimas aminotransferasas. Tomado de Voet 2006.<sup>29</sup>

La Tabla 3 refleja el comportamiento de los metabolitos colesterol, proteínas, albúmina y globulinas. Como se observa en el caso del colesterol solo se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el grupo satélite de los machos con respecto al control, pero la media se encontró dentro del rango de valores normales reportados para la especie. Existen estudios que proponen la formación de conjugados entre la *Mimosina* y ácidos biliares (Figura 6), sustituyendo al aminoácido Glicina en esta estructura; estas sales biliares atípicas (conjugados mimocólico y mimoquenodeoxicólico) se ha comprobado que pueden afectar la absorción de los lípidos y por consiguiente de las vitaminas liposolubles.<sup>31</sup> Este efecto atribuido a la *Mimosina*, si bien no afectó de manera significativa los niveles del colesterol en este estudio, pudo afectar la absorción de otras moléculas lipídicas y vitaminas contribuyendo en alguna medida a las alteraciones encontradas en el peso corporal de los animales tratados; lo cual amerita que se tenga en cuenta una evaluación más profunda en el lípidograma de estudios posteriores con esta planta.



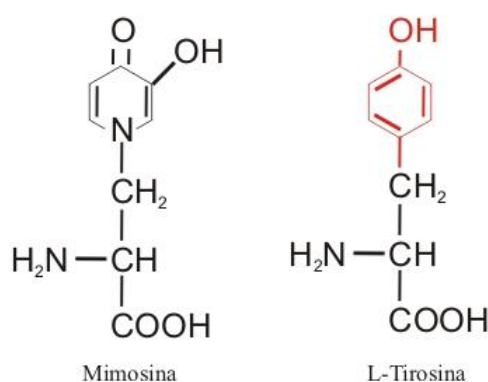
**Figura 6.** Posibles estructuras de los conjugados atípicos de ácidos biliares y Mimosina propuestos por El-Harith y colaboradores en 1983.<sup>31</sup>

**Tabla 3.** Comportamiento de los parámetros bioquímicos: Colesterol, Proteínas, Albúmina y Globulinas en ratones NMRI en el ensayo de test límite de una decocción de la planta *M. pudica*.

Sexo	Grupo	Colesterol (mmol/L)	Proteínas (g/L)	Albúmina (g/L)	Globulinas (g/L)
H	Control	3,478±0,468a	63,840±1,650a	38,560±1,780a	25,200±0,837a
	Experimental	2,744±0,549a	62,680±3,345a	39,700±1,701a	22,800±2,387 <sup>ab</sup>
	Satélite	2,802±0,443a	58,660±1,152 <sup>b</sup>	34,900±1,241 <sup>b</sup>	23,600±0,548 <sup>b</sup>
M	Control	3,916±0,278a	66,580±3,548a	37,320±2,865a	29,400±1,673a
	Experimental	3,786±0,488a	63,480±2,594a	36,480±1,593a	27,000±3,082 <sup>ab</sup>
	Satélite	2,552±0,385 <sup>b</sup>	57,340±2,070 <sup>b</sup>	32,520±1,509 <sup>b</sup>	24,800±0,837 <sup>b</sup>

H: hembras M: machos

Por su parte las proteínas mostraron en ambos sexos una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo satélite con respecto al control, manteniéndose este comportamiento tanto en los niveles de albúmina, como de globulinas. Este comportamiento podría deberse en primer lugar a un daño en el hígado de los animales tratados, afectando la síntesis de proteínas y provocando a largo plazo la disminución de los niveles de albúmina y globulinas en sangre.<sup>16</sup> Por otra parte existen estudios que demuestran el efecto inhibitor de la *Mimosina* en el metabolismo de determinados aminoácidos, lo cual podría afectar la síntesis de proteínas.<sup>14,32</sup> Lin y colaboradores plantean que a partir de la similitud estructural de la *Mimosina* con el aminoácido L-Tirosina (Figura 7), llegan a la hipótesis de que la *Mimosina* es capaz de actuar como análogo o antagonista de la Tirosina, alterando la biosíntesis de proteínas y dando lugar a las manifestaciones tóxicas atribuidas a este alcaloide, dentro de las cuales describen el retardo del crecimiento de los animales tratados,<sup>33</sup> tal y como fue observado en el comportamiento del peso corporal de los grupos experimental y satélite de este estudio.



**Figura 7.** Estructura química de la *Mimosina* y la L-Tirosina.

## Estudios anatomopatológicos

### Estudio macroscópico.

No se produjo la muerte de ningún animal durante el estudio, por ello todos fueron sacrificados al finalizar la investigación. Al realizar la necropsia no se encontraron lesiones macroscópicas. En la Tabla 4 se reflejan los pesos relativos de los órganos: encéfalo, hígado, corazón y pulmón, donde se puede observar una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el peso relativo del encéfalo de las hembras del grupo satélite con respecto al control; en el caso del peso relativo del hígado se observa una tendencia en ambos sexos a disminuir en

los grupos tratados con la decocción de la *M. pudica* con respecto al control, siendo estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) para los machos. Comportamiento similar se observa en el peso de los pulmones, donde se observan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el grupo satélite de las hembras con respecto al control. Por su parte el peso relativo del corazón mostró un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo satélite de las hembras con respecto al control.

**Tabla 4.** Comportamiento del peso relativo de los órganos: encéfalo, hígado, corazón y pulmón en ratones NMRI en el ensayo de test límite de una decocción de la planta *M. pudica*.

Sexo	Grupo	Encéfalo	Hígado	Pulmón	Corazón
H	Control	1,742±0,199a	5,722±1,205a	0,966±0,157a	0,542±0,080a
	Experimental	1,856±0,100a	4,550±0,278a	0,928±0,074a	0,556±0,068a
	Satélite	1,326±0,081b	4,722±0,292a	0,786±0,039b	0,712±0,070b
M	Control	1,448±0,077a	5,238±0,331a	0,818±0,180ab	0,658±0,119a
	Experimental	1,462±0,116a	4,718±0,210b	0,960±0,088a	0,630±0,134a
	Satélite	1,342±0,090a	4,774±0,241b	0,722±0,061b	0,574±0,106a

H: hembras M: machos

En la Tabla 5 se reflejan los pesos relativos de los órganos: timo, bazo, riñón derecho y riñón izquierdo. En el caso de los pesos relativos del timo no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos. Por su parte el bazo evidenció una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el peso relativo de los grupos experimentales en ambos sexos con respecto a los controles. Al analizar los pesos relativos de los riñones derechos e izquierdos se puede observar que existe una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) del grupo satélite de los machos con respecto al control.

**Tabla 5.** Comportamiento del peso relativo de los órganos: timo, bazo, riñón derecho y riñón izquierdo en ratones NMRI en el ensayo de test límite de una decocción de la planta *M. pudica*.

Sexo	Grupo	Timo	Bazo	RD	RI
H	Control	0,398±0,110a	0,684±0,088a	0,700±0,102a	0,618±0,059a

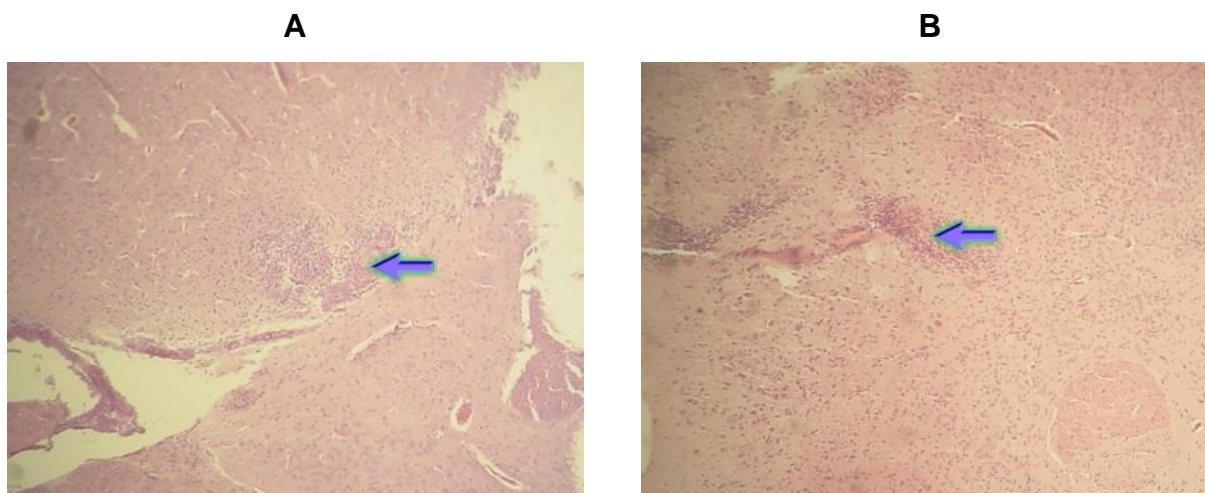
	<b>Experimental</b>	0,340±0,123a	0,510±0,065 <sup>b</sup>	0,696±0,045a	0,618±0,052a
	<b>Satélite</b>	0,254±0,067a	0,632±0,072 <sup>ab</sup>	0,742±0,080a	0,572±0,121a
<b>M</b>	<b>Control</b>	0,258±0,056a	0,554±0,065a	0,810±0,047a	0,788±0,029a
	<b>Experimental</b>	0,288±0,061a	0,496±0,088 <sup>b</sup>	0,772±0,065 <sup>ab</sup>	0,768±0,065a
	<b>Satélite</b>	0,252±0,057a	0,562±0,096 <sup>ab</sup>	0,650±0,124 <sup>b</sup>	0,618±0,016 <sup>b</sup>

RD: Riñón derecho, RI: Riñón izquierdo. H: hembras, M: machos

## Estudio histopatológico.

### Encéfalo.

En el estudio histopatológico del encéfalo se pudo observar en los animales del grupo experimental una ligera degeneración y congestión encefálica (Figura 8A). En el caso de los animales del grupo satélite se observaron focos de necrosis y gliosis de intensidad ligera en las hembras y más intensas en los machos, edema perivascular y perineuronal, satelitosis, degeneración neuronal y congestión de vasos (Figura 8B). La mayor intensidad en los daños histopatológicos encontrados en el grupo satélite podría explicar la disminución observada en el peso relativo de este tejido en este grupo con respecto al control.

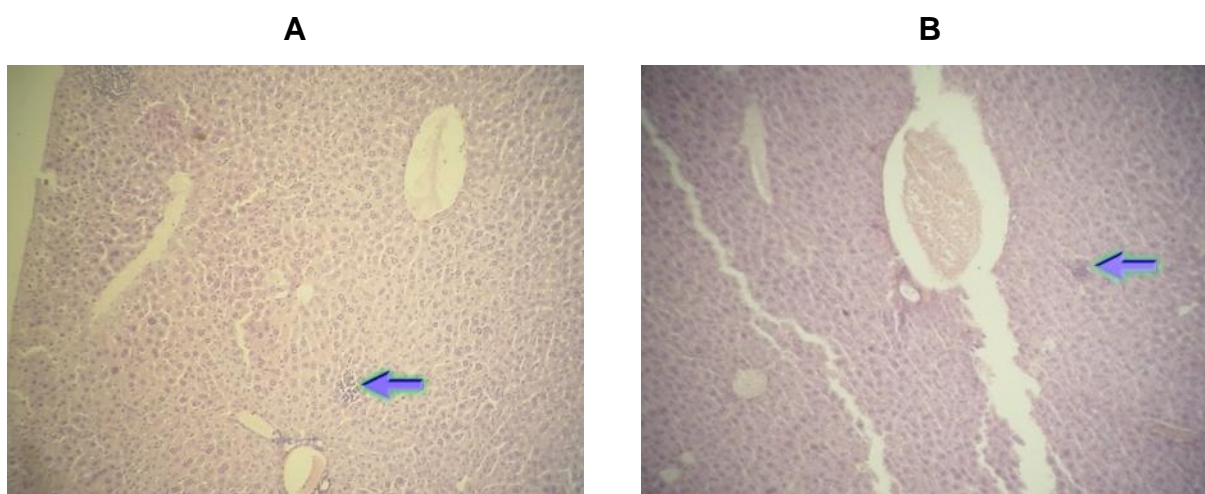


**Figura 8.** Corte histológico del encéfalo de animales de los grupos (A) experimental y (B) satélite. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

### Hígado.

En el análisis histopatológico del hígado de los animales del grupo experimental se pudo observar congestión, degeneración vacuolar hepática y focos de necrosis e infiltrados mononucleares (Figura 9A); mientras que para el grupo satélite se observó degeneración

centrolobulillar hidrópica difusa moderada, picnosis de núcleos, citólisis, congestión de venas centrolobulillares, tumefacción de las células de Kupffer (Figura 9B). Estos resultados podrían explicar la disminución que se observa en el peso relativo de los hígados de los grupos experimental y satélite con respecto a los controles. Por otra parte, la naturaleza de estos daños podría corroborar las afectaciones bioquímicas encontradas, fundamentalmente la disminución de la síntesis de proteínas y el incremento de la ALAT, los cuales constituyen biomarcadores por excelencia de hepatotoxicidad.<sup>34,35</sup> Los resultados obtenidos, tanto bioquímicos como histopatológicos, demuestran que la decocción de la planta *M. pudica* administrada por vía oral a ratones NMRI es capaz de producir lesiones hepatocelulares significativas, las cuales por su naturaleza pueden atribuirse a la toxicidad de su principio activo: la *Mimosina*, y a la posible formación de metabolitos intermediarios, tales como los epóxidos, los cuales son compuestos de demostrado potencial hepatotóxico.<sup>20</sup>

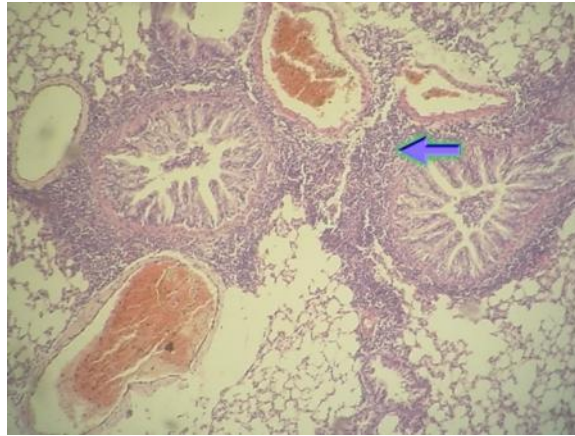


**Figura 9.** Corte histológico del hígado de animales de los grupos (A) experimental y (B) satélite. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

## Pulmones

En el análisis histopatológico de los pulmones de los animales del grupo experimental no se observaron alteraciones histopatológicas, mientras que en el grupo satélite se pudo observar en las hembras neumonitis peribronquial y perivascular con infiltrados de mononucleares y linfocitos, congestión de vasos, descamación del epitelio peribronquial y mucosas (Figura 10), en el caso de los machos no se observaron alteraciones histopatológicas.





**Figura 10.** Corte histológico de los pulmones de animales del grupo satélite. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

### Corazón

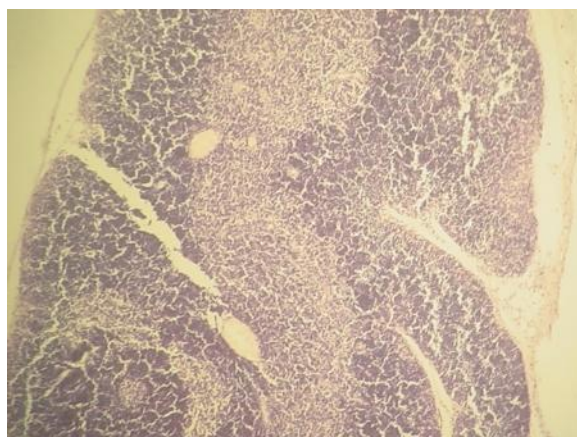
En el estudio histopatológico del corazón de los animales del grupo experimental se pudo observar congestión de los vasos miocárdicos, en el caso de los machos además se observó miocarditis focal subepicárdica ligera e infiltrados linfomononucleares y degeneración de Zenker difusa en miocardio (Figura 11). El grupo satélite no mostró alteraciones histopatológicas.



**Figura 11.** Corte histológico del corazón de animales del grupo experimental. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

### Timo

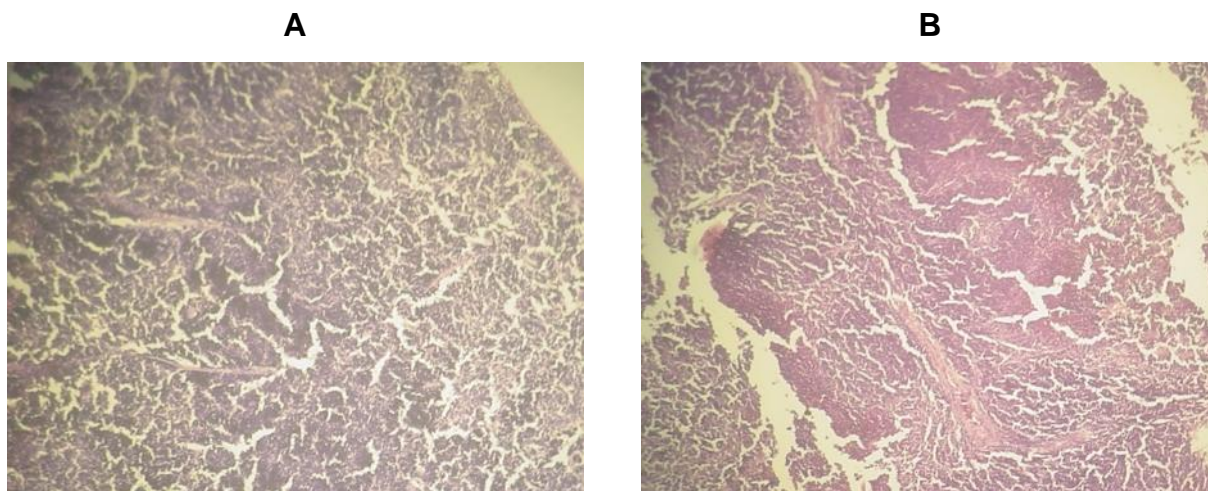
En el estudio histopatológico de los animales del grupo experimental se observó una hiperplasia ligera de la corteza del timo (Figura 12). En el caso de los animales del grupo satélite no se observaron alteraciones histopatológicas.



**Figura 12.** Corte histológico del timo de animales del grupo experimental. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

### **Bazo**

El análisis histopatológico del bazo de los animales de los grupos experimental y satélite mostraron hiperplasia ligera de la pulpa blanca y abundantes megacariocitos (Figura 13A y B).

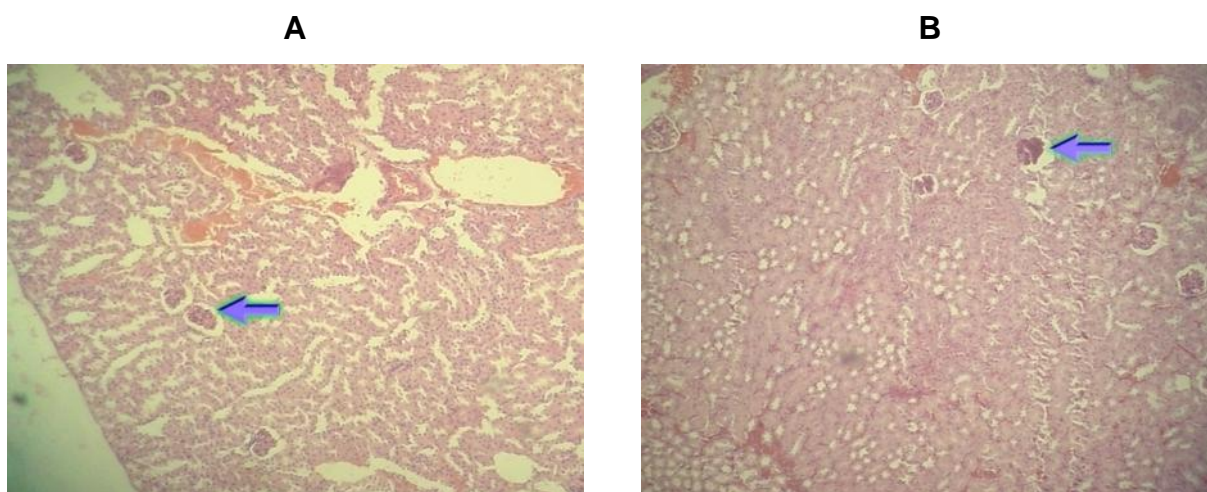


**Figura 13.** Corte histológico del bazo de animales de los grupos (A) experimental y (B) satélite. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

### **Riñón**

El análisis histopatológico de los riñones de los animales de los grupos experimental y satélite mostraron congestión córtico-medular renal ligera (Figura 14A y B).





**Figura 14.** Corte histológico de los riñones de animales de los grupos (A) experimental y (B) satélite. 100x. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

El resto de los órganos no mostró alteraciones histopatológicas aparentes.

Los resultados del estudio anatomopatológico han demostrado que la decocción de la planta *M. pudica* produce alteraciones a diferentes niveles en los órganos: encéfalo, hígado, pulmón, corazón, timo, bazo y riñones; corroborándose con algunos de los resultados obtenidos en los estudios hematológicos y bioquímicos realizados. El comportamiento observado puede ser consecuencia de la toxicidad atribuida al componente principal de esta planta: la *Mimosina*. Estudios realizados por Moscal, Lin y Hamlin en 1995, demostraron que la *Mimosina* es extremadamente eficaz en la inhibición de la replicación del ADN en células mamíferas, uniéndose a enzimas que participan en la fase inicial de este proceso.<sup>36</sup> Resultados similares obtuvieron Mladenov y Anachkova en el 2003, cuando observaron daños en el ADN en células hematológicas de ratones tratados con *Mimosina*.<sup>37</sup> Vogt y colaboradores demostraron que las células a la que se le inducía la muerte por la acción de la *Mimosina*, mostraban un patrón de muerte diferente, observándose primeramente un daño al núcleo celular y luego, en dependencia de la concentración de *Mimosina*, un daño más severo a la cromatina y al ADN.<sup>38</sup> Mikhailov y colaboradores en el 2000 reportan que el complejo formado por la *Mimosina* y los iones Hierro, incrementan las rupturas del ADN provocadas por radicales libres en estudios *in vitro*.<sup>39</sup> Esta propiedad quelante de la *Mimosina* fue descrita en 1996, donde Kulp y Vulliet refieren que este alcaloide bloquea la progresión del ciclo celular en células mamíferas en cultivo.<sup>40</sup> Estudios recientes realizados

por Perry y colaboradores en el 2005 plantean que la Mimosina interrumpe la replicación del ADN inhibiendo la actividad de la enzima hierro-dependiente Ribonucleótido reductasa y la transcripción del gen de la enzima citoplasmática Serin-hidroxi metiltransferasa. (SHMT1).<sup>41</sup> Años antes, Oppenheim y colaboradores en el 2000, proponían este mismo mecanismo para explicar los resultados obtenidos en sus investigaciones, donde la *Mimosina* actuaba como antagonista del metabolismo de los folatos en células mamíferas.<sup>42</sup> Por su parte ya desde 1978 Hegarty y colaboradores demostraron el efecto citotóxico de la *Mimosina* en células de la medula ósea de ratones.<sup>43</sup>

### Ensayo de Abstinencia espontánea

Una vez realizado el ensayo de Abstinencia espontánea se registró un 100 % de supervivencia de los animales en estudio. Como se puede observar en la Tabla 6 los grupos de animales tratados con la decocción de la planta *Mimosa pudica* y el control positivo con Morfina evidenciaron signos de piloerección y somnolencia. Por su parte una vez culminado el periodo de administración se evidenciaron signos de hiperactividad en estos grupos.

**Tabla 6.** Descripción de signos clínicos durante y después de la administración de los grupos Control, Control Positivo con Morfina y los tratado con la decocción de la planta *Mimosa pudica*.

Signos Clínicos	Durante la administración			Después de la administración		
	Control	Control positivo Morfina	Grupo experimental <i>M. pudica</i>	Control	Control positivo Morfina	Grupo experimental <i>M. pudica</i>
Piloerección	-	+++	++	-	++	++
Sonnolencia	-	+++	++	-	-	-
Saliveo	-	-	-	-	-	-
Diarrea	-	-	-	-	-	-
Hiperactividad	-	-	-	-	+++	+++
Temblor	-	-	-	-	-	-
Taquipnea	-	-	-	-	-	-

Leyenda: (-) Ausencia de signos clínicos.

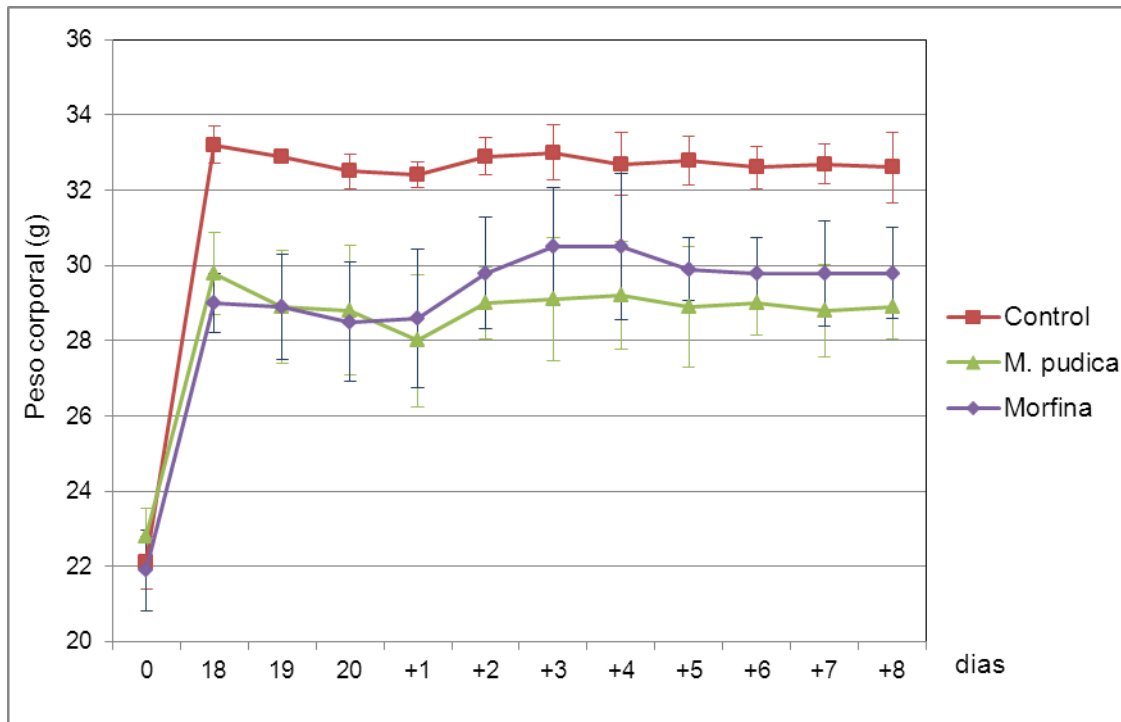
(+) Presencia de signos clínicos leves, (++) moderados, (+++) severos.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron en el grupo control positivo con morfina, tal y como era de esperar, un comportamiento de hiperactividad, durante el periodo de abstinencia. Estos síntomas han sido descritos por varios autores los cuales han profundizado en sus mecanismos de acción molecular.<sup>44,45</sup> Tras cesar o disminuir el consumo de morfina comienza a aparecer la sintomatología de abstinencia. Sus signos y síntomas en parte son opuestos a las acciones opioides y, en parte, derivan de una hiperactividad o hiperexcitabilidad noradrenérgica central, de varios núcleos cerebrales, entre ellos el *locus coeruleus*, provocada por la acción permanente del opioide y, en cierto modo, tapada o larvada mientras el opioide sigue presente ocupando sus receptores. En las neuronas hiperactivadas se aprecian fenómenos moleculares contrarios a los ocasionados por la acción aguda del opioide: aumento de la actividad de la adenililciclase, de la actividad de proteínas G, de la formación de AMPc, de la fosforilación consiguiente de proteínas y formación de genes de acción inmediata (c-fos, c-jun, etc.), facilitación de flujos de salida de Na<sup>+</sup> y de entrada de Ca<sup>2+</sup> con aumento de la actividad bioeléctrica. Estos fenómenos neuroquímicos pueden constituir la base molecular de la conducta adictiva de esta sustancia.<sup>3,4</sup> Los primeros síntomas que se perciben en la dependencia física a morfina son subjetivos (ansiedad, inquietud e irritabilidad) y se acompañan de dolores y calambres musculares. También se observa disforia, náuseas o vómitos, lagrimeo, rinorrea, midriasis, sudoración, diarrea, bostezos e insomnio, piloerección y fiebre.<sup>44</sup>

Al analizar el comportamiento de los animales tratados con *M. pudica*, resulta interesante destacar que aun cuando esta planta ha sido reportada como sedante,<sup>46</sup> acción corroborada al principio del estudio en los animales tratados, una vez que cesó el tratamiento con la decocción de la planta el comportamiento de los mismos varió hacia una hiperactividad evidente. Hay sustancias como el alcohol y las benzodiacepinas que se caracterizan por presentar sintomatología similar en su síndrome de abstinencia.<sup>47-49</sup>

La Figura 15 permite evaluar el comportamiento del peso corporal de los animales tratados con la decocción de la planta y el control positivo con morfina al inicio del estudio, a continuación los 3 últimos días de tratamiento y los 8 días siguientes al cese de la administración. Se puede observar que con respecto al control existe una diferencia significativa en el peso diario de estos grupos, resultando estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). Como se puede apreciar en ambos grupos hay una disminución el primer día de la

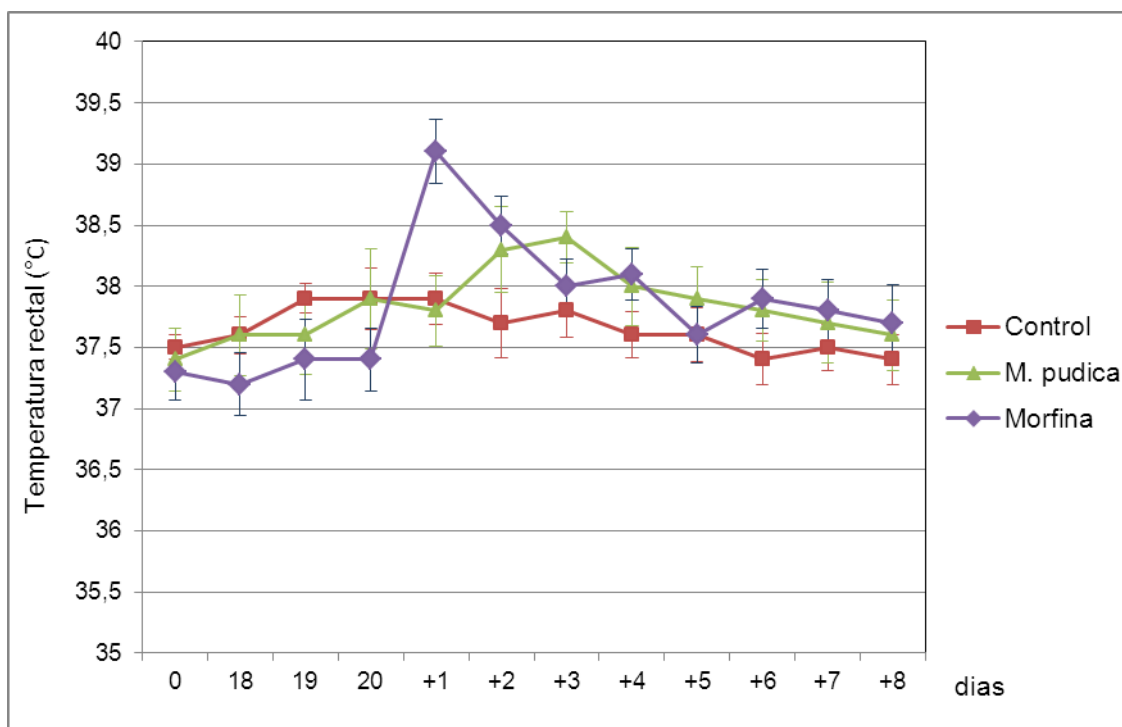
abstinencia, esta diferencia se hace menor a partir de los 2-3 días posteriores al cese del tratamiento.



**Figura 15.** Comportamiento del peso corporal de los animales de los grupos Control, tratado con la decocción de la planta *Mimosa pudica* y Control Positivo con Morfina. (+) días de observación después del cese de la administración.

El comportamiento observado para el control positivo con morfina es el característico de esta sustancia, mientras que para el caso de la planta *M. pudica* se corresponde con el obtenido en el ensayo de toxicidad.

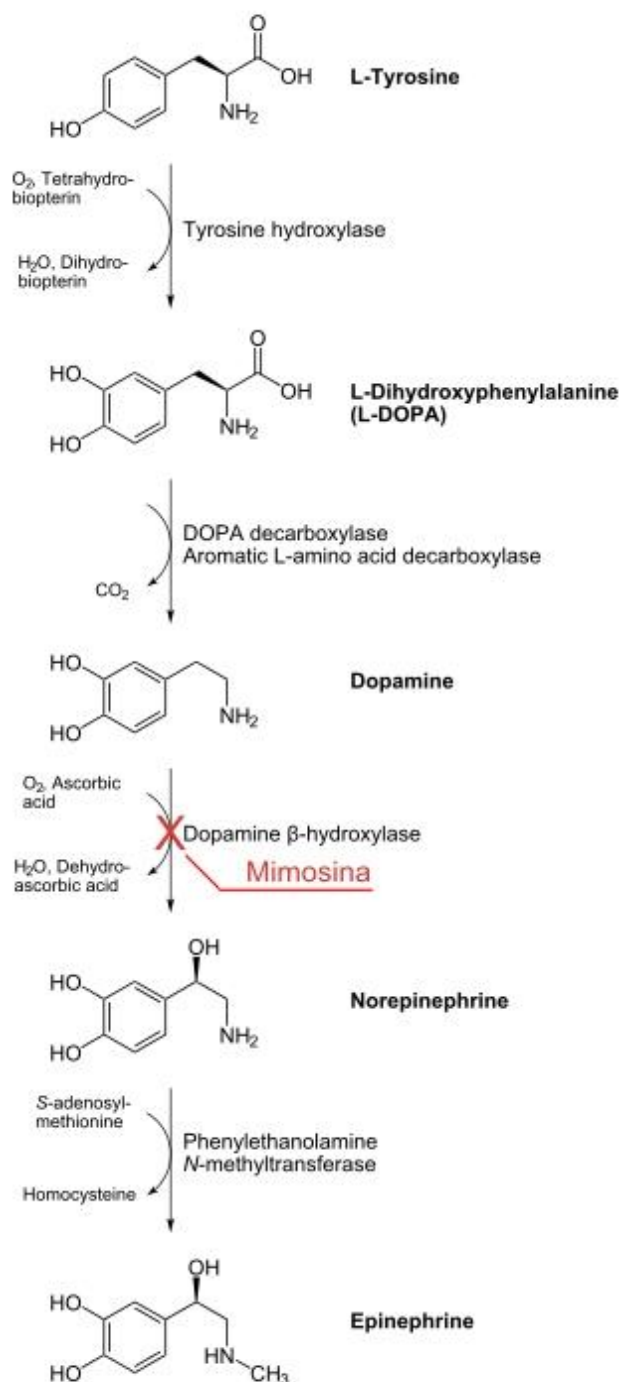
La Figura 16 permite evaluar el comportamiento de la temperatura rectal de los animales tratados con la decocción de la planta y el control positivo con morfina al inicio del estudio, a continuación los 3 últimos días de tratamiento y los 8 días siguientes al cese de la administración. Se puede observar que en el grupo de referencia con morfina hubo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de esta variable con respecto al control en los dos días siguientes al cese del tratamiento. Similar comportamiento se observa en el grupo tratado con la decocción de la planta entre el segundo y tercer día luego del cese del tratamiento, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).



**Figura 16.** Comportamiento de la temperatura rectal de los animales de los grupos Control, tratado con la decocción de la planta *M. pudica* y Control Positivo con Morfina. (+) días de observación después del cese de la administración.

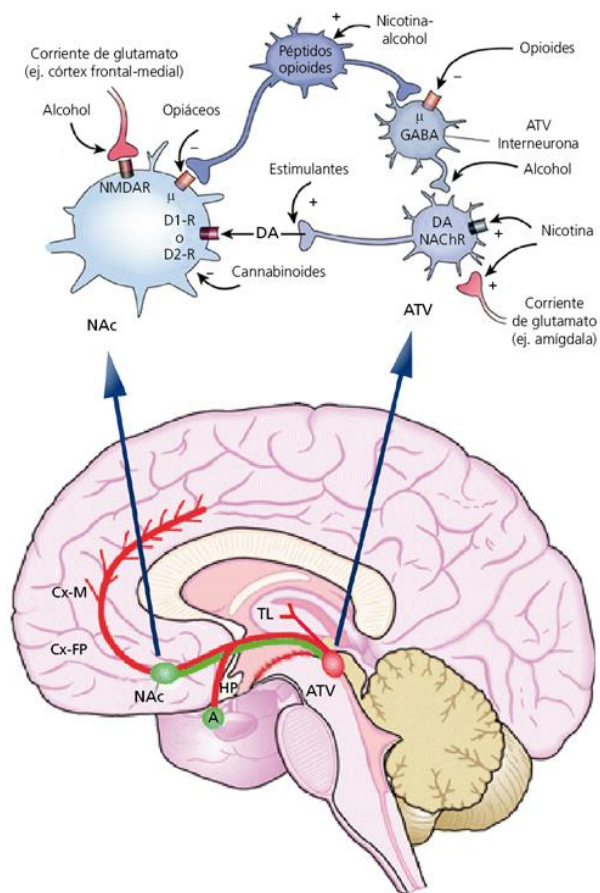
El comportamiento de la temperatura rectal de los animales tratados con *M. pudica* es similar al efecto reportado por el alcohol producto de la hiperactividad que provoca en el Sistema Nervioso Autónomo.<sup>47</sup>

Teniendo en cuenta la similitud estructural de la *Mimosina* con la tirosina, sería interesante analizar si esto podría afectar la síntesis y/o acción de los neurotransmisores derivados de la tirosina, tales como dopamina, norepinefrina y epinefrina, los cuales son de gran importancia en la neurobiología de las drogodependencias. Si bien no existen reportes de la acción de la *Mimosina* a nivel de estos sistemas de neurotransmisión en el Sistema Nervioso, si existen referencias que señalan la propiedad inhibitoria de la *Mimosina* en la enzima Dopamina  $\beta$ -Hidroxilasa, la cual participa en la biotransformación de dopamina a norepinefrina (Figura 17).<sup>50</sup> Este efecto inhibitorio de la *Mimosina* podría provocar un incremento de los niveles de dopamina (DA) por acumulación, al no poder continuar su metabolismo a norepinefrina.<sup>51</sup> En estudios realizados con inhibidores de esta enzima se han comprobado niveles incrementados en la liberación de DA, causando cambios psicológicos severos, tales como esquizofrenia.<sup>52</sup>



**Figura 17.** Biosíntesis de Catecolaminas

Es conocido que las drogas de abuso producen un incremento de los niveles de DA en el núcleo *accumbens*, a través de diferentes mecanismos en dependencia de la sustancia en cuestión (Figura 18) y que este incremento de DA activa el circuito de recompensa, responsable del comportamiento adictivo del drogodependiente.<sup>53</sup>



**Figura 18.** Circuito de recompensa en cerebro y acciones de las diferentes drogas de abuso. En esta visión del cerebro (corte anteroposterior por la línea media) se señala la vía dopaminérgica que se extiende desde el área tegmental ventral (ATV) con proyecciones al núcleo accumbens (NAc) y otras áreas del sistema límbico [amígdala (A), corteza prefrontal (Cx-FP), corteza medial (Cx-M), tálamo (TL), hipocampo (HP)]. La parte superior de la figura detalla en forma esquemática algunas acciones de las diferentes drogas sobre componentes de este circuito, y sobre la modulación por los diferentes sistemas de neurotransmisión de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Por ejemplo, los estimulantes, como la cocaína, aumentan la dopamina (DA) en este núcleo al inhibir el transportador de dopamina (DAT), mientras que la nicotina actúa en este circuito interaccionando en el área tegmental ventral con los receptores colinérgicos de tipo nicotínico (NACHR), causando liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Los opiáceos causan liberación de DA en este núcleo mediante inhibición de las interneuronas GABAérgicas e interacción con sus receptores  $\mu$  tanto en el área tegmental ventral como en el núcleo accumbens. El alcohol induce un aumento de DA en el núcleo accumbens, mediante diferentes mecanismos incluyendo la liberación de opiáceos endógenos y su interacción con los receptores  $\mu$ .

**Fuente:** Modificada de Hyman y col. (53)

Los resultados obtenidos en este ensayo sugieren que existe una leve dependencia física al consumo prolongado de la planta *Mimosa pudica*, que resultó ser menor que la mostrada por el grupo control positivo morfina, y similar en comportamiento a lo reportado por sustancias con acción farmacológica sedante.

Los resultados obtenidos en este estudio fomentarán la realización de nuevos estudios en el campo de la Toxicología y Farmacología Preclínica, relacionados con esta planta y otras modalidades de consumo del territorio. Los aportes de los mismos permitirán incrementar el conocimiento por parte de los profesionales de salud acerca de las patologías multisistémicas asociadas al consumo de estas sustancias en animales de experimentación y su consiguiente extrapolación a la asistencia médica en humanos, permitiendo elevar la calidad del tratamiento de desintoxicación a pacientes drogodependientes que acuden a los Servicios de Deshabitación del territorio, así como en los casos de intoxicación aguda en salas de emergencias de los principales centros de salud de la provincia; permitiendo, con una rehabilitación más eficiente del paciente, una disminución de su estadía hospitalaria y un

uso más racional de los recursos médicos destinados a su tratamiento, lo cual se traduce en un considerable ahorro económico en el sector de Salud Pública.

## **Conclusiones**

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la planta *Mimosa pudica* a la concentración empleada y administrada por vía oral es capaz de producir alteraciones en el peso corporal, así como en variables bioquímicas y anatomopatológicas, que demuestran el potencial tóxico de esta planta.

Por otra parte, existe una leve dependencia física al consumo prolongado de la planta *Mimosa pudica*, que resultó ser menor que la mostrada por el grupo control positivo morfina, y similar en comportamiento a lo reportado por sustancias con acción farmacológica sedante.



## Referencias bibliográficas

1. Bakke OM. Requerimientos para el estudio clínico de nuevos fármacos. El desarrollo preclínico. Invest. Clin Bioét 2000; 36: 25-28.
2. CUBA. Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional Integral de Prevención del Uso Indebido de Drogas. Ciudad Habana. 1999:1-2.
3. CUBA. Ministerio de Salud Pública. Programa para la Prevención del Uso Indebido de Drogas y Atención a la Drogodependencia. Santiago de Cuba. 1999:1-4.
4. CUBA. Ministerio de Salud Pública. Carta Circular No.17. Reporte de casos relacionados con drogas estupefacientes. Sustancias psicotrópicas y otras de efectos semejantes objeto de abuso. Ciudad Habana, 1999 Dic 2:1-4.
5. Vogel GH. Drug Discovery and Evaluation. Safety and Pharmacokinetic Assays. Germany: Springer; 2006.
6. Ahmad H, Sehgal S, Mishra A, Gupta R. *Mimosa pudica* L. (Laajvanti): An overview. Pharmacogn Rev. 2012 Jul-Dec; 6(12): 115–124.
7. Siglin JC, Baker WH. Laboratory Animal Management. In: Derelanko MJ, editor. Handbook of Toxicology. 2nd ed. New Jersey: CRC Press LLC; 2000: p.20-2
8. Programa Internacional de Seguridad Química IPCS. Quality Management Applied to toxicity studies. (EHC 141); 1992:62-88.
9. OECD Guideline for the testing of chemicals. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents 407. Adopted by the council on 27<sup>th</sup> July, 1995.
10. Hodge T. Anatomic Pathology. In: Nohynek GJ editor. Presenting Toxicology Results. Taylor & Francis Inc. London, United Kingdom. 2002:92-105.
11. Gad SC, Frith ChH, y Goodman DG. The Mouse. In: Gad SC editor. Animal Models in Toxicology. 2nd ed. Taylor and Francis Group, LLC. New York. 2007; p. 25-46, 48-51, 58-72.
12. Alemán C. Reference database of mains physiological parameters in Sprague Dawley rats from 6 to 32 months. Lab. Anim 1998;32(4):457-466.
13. Alemán C. Reference database for the principal physiological indicators in three species of laboratory animal Lab. Anim 2000; 34(1):358-378.

14. El-Harith EA. Effects of mimosine on some serum enzyme activities and amino acid metabolism in the rat. *Z Tierphysiol Tierernaehr Futtermittelkd* 1981;46(5):255
15. Amalraj T, Ignacimuthu S. Hyperglycemic effect of leaves of *Mimosa pudica* Linn. *Phytother* 2002 July;73(4):351-2.
16. Timbrell J. Biochemical Mechanism of Toxicity: Specific Examples. In: Timbrell J. *Principles of Biochemical Toxicology*. 3rd ed. Taylor and Francis Group, LLC. New York. 2003. p. 259-263, 285-287, 290-293.
17. Ferguson MA, Vaidya VS, Bonventre JV. Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury. *Toxicology* 2008; 245: 182–193.
18. Boone L, Meyer D, Cusick P, Ennulat D, Bolliger AP, Everds N, Meador V, Elliott G, Honor D, Bounous D, Jordan H. Selection and interpretation of clinical pathology indicators of hepatic injury in preclinical studies. *Vet. Clin. Pathol.* 2005;34:182–8.
19. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2004;369: 89–104.
20. Abou-Donia MB, Elmasry EM, Abu-Qare AW. Metabolism and Toxicokinetics of Xenobiotics. In: Derelanko MJ, editor. *Handbook of Toxicology*. 2nd ed. New Jersey: CRC Press LLC; 2000: 775-807.
21. Tsai WC, Ling KH. Stability constants of some metal ion chelates of mimosine and 3,4-dihydroxy pyridine. *J Chin Biochem Soc* 1973;2:70-86.
22. Hashiguchi H, Takashi H. Inhibition of two copper containing enzymes, tyrosinase and dopamine betahydroxylase, by L-mimosine. *Mol Pharmacol* 1977;13: 362-7.
23. Yano JK, Denton TT, Cerny MA, Zhang X, Johnson EF, Cashman JR. Synthetic inhibitors of cytochrome P-450 2A6: inhibitory activity, difference spectra, mechanism of inhibition, and protein cocrystallization. *J Med Chem.* 2006 Nov 30;49(24):6987-7001.
24. Masubuchi Y, Horie T. Toxicological significance of mechanism-based inactivation of cytochrome p450 enzymes by drugs. *Crit Rev Toxicol.* 2007 Jun;37(5):389-412.
25. Lin Y-Y, Ling K-H. Studies on the mechanism of toxicity of mimosine. *J Formos Med Assoc* 1962;61:997.

26. Lin JK, Lin KT, Ling TA, Tung TC. Biochemical study of mimosine. IV. Comparative study of the effect of mimosine, phenylalanine, and glutamic acid on the activities of vitamin B6-requiring enzymes in rats. *J Formos Med Assoc* 1967;66:87-91.
27. Yang SS, Ling KH. Excretion of kynurenic and xanthurenic acid by mimosine-intoxicated rats after L-tryptophan loading. *J Formos Med Assoc* 1968;67: 315-8.
28. Liao RZ, Ding WJ, Yu JG, Fang WH, Liu RZ. Theoretical studies on pyridoxal 5'-phosphate-dependent transamination of alpha-amino acids. *J Comput Chem.* 2008 Mar 25;29(12):1919-1929.
29. Voet D y Voet J. Capítulo 24. Metabolismo de los aminoácidos en: *Bioquímica*. 3ª edición. Ediciones Panamericana, Barcelona, 2006: 726-728.
30. Kirsch JF, Eichele G, Ford GC, Vincent MG, Jansonius JN, Gehring H, Christen P. Mechanism of action of aspartate aminotransferase proposed on the basis of its spatial structure. *J Mol Biol.* 1984 Apr 15;174(3):497-525.
31. El-Harith EA, Hiller A, Ter Meulen U. The effect of administration of glycine and tyrosine on the growth depression caused by mimosine in rats. *Z Tierphysiol Tierernahrg Futtermittelkde* 1983;50:132-7.
32. Zizheng Dong, Jian-Ting Zhang. EIF3 p170, a Mediator of Mimosine Effect on Protein Synthesis and Cell Cycle Progression. *Molecular Biology of the Cell* 2003 September;14(3942–3951).
33. Lin K-C, Lin J-H, Tung T-C. Effect of amino acids on the growth inhibition of rats caused by mimosine. *J Formos Med Assoc* 1964;63:278-84.
34. Amacher DE. A toxicologist's guide to biomarkers of hepatic response. *Hum. Exp. Toxicol.* 2002;21:253–62.
35. Ozeretal J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology* 2008;245:194–205.
36. Moscal PJ, Lin HB y Hamlinl JL. Mimosine, a novel inhibitor of DNA replication, binds to a 50 kDa protein in Chinese hamster cells. *Nucleic Acids Research*, 1995;23(2): 261-8.
37. Mladenov E y Anachkova B. DNA breaks induction by mimosine. *Zeitschrift Für Naturforschung. C, Journal Of Biosciences* 2003 Sep-Oct; 58(9-10):732-5.
38. Vogt G, Böhm R, Segner H. Mimosine-induced cell death and related chromatin changes. *J Submicrosc Cytol Pathol.* 1994 Jul;26(3):319-30

39. Mikhailov I, Ninova P, Russev G, Anachkova B. Iron(II)-mimosine catalyzed cleavage of DNA. *Z Naturforsch [C]*. 2000 Sep-Oct;55(9-10):849-51.
40. Kulp KS, Vulliet PR. Mimosine blocks cell cycle progression by chelating iron in asynchronous human breast cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1996 Aug;139(2):356-64.
41. Perry C, Sastry R, Nasrallah IM, Stover PJ. Mimosine attenuates serine hydroxymethyltransferase transcription by chelating zinc. Implications for inhibition of DNA replication. *J Biol Chem*. 2005 Jan 7;280(1):396-400.
42. Oppenheim EW, Nasrallah IM, Mastri MG, Stover PJ. Mimosine is a cell-specific antagonist of folate metabolism. *J Biol Chem*. 2000 Jun 23;275(25):19268-74.
43. Hegarty MP, Lee CP, Christie GS, De Munk FG y Court RD. Comparative toxicities of mimosine and some chemically related compounds to mouse bone marrow cells in liquid culture. *Aust J Biol Sci*. 1978 Apr; 31(2):115-21.
44. Becker GL, Gerak LR, Li JX, Koek W, France CP. Precipitated and conditioned withdrawal in morphine-treated rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2010 Mar; 209(1): 85-94.
45. Katovich MJ, Pitman D, Schechtman O. Role of the adrenal gland in the thermal response to morphine withdrawal in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 1992 Aug; 70(8): 1090-5.
46. Molina M, Contreras CM, Tellez AP. *Mimosa pudica* may possess antidepressant actions in the rat. *Phytomedicine*. 1999; 6: 319–23.
47. Heilig M, Egli M, Crabbe JC, Becker HC. Acute withdrawal, protracted abstinence and negative affect in alcoholism: are they linked? *Addict Biol*. 2010 Apr; 15(2): 169-84.
48. Brown CG. The alcohol-withdrawal syndrome. *West J Med*. 1983 April; 138(4): 579–581.
49. Shen G, Tietz EI. Down-regulation of synaptic GluN2B subunit-containing N-methyl-D-aspartate receptors: a physiological brake on CA1 neuron  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid hyperexcitability during benzodiazepine withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011 Jan; 336(1): 265-73.

50. Hashiguchi H, Takahashi H. Inhibition of two copper-containing enzymes, tyrosinase and dopamine beta-hydroxylase by L-mimosine. *Mo Pharmacol*. 1977; 362.
51. R Bahena-Trujillo, G Flores, JA Arias-Montaña. Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Rev Biomed* 2000; 11:39-60.
52. Hartmann E, Keller-Teschke M. The psychological effects of dopamine- $\beta$ -hydroxylase inhibition in normal subjects. *Biological Psychiatry*, 1979 Vol 14(3): 455-462.
53. Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* 2006; 29: 565-98.

## **Formas de divulgación e introducción en la práctica social.**

- Divulgación: Publicaciones (Ej: Abstinencia espontánea en ratones tratados con *Mimosa pudica*. *MEDISAN* 2014;18(2):198). Informes finales de estudios. Promoción de salud sobre los peligros del uso de la planta en medios de difusión masivos (radio y televisión provincial y nacional). Cursos de postgrado a profesionales de la salud vinculados a la temática. Presentación en eventos científicos (Ej: PREMIO en evento internacional FARMACARIBE 2013)
- Introducción en la práctica social: Los resultados de esta investigación serán introducidos en el servicio de consultoría farmacológico-toxicológica y atención al paciente intoxicado que brinda TOXIMED a los centros de salud del territorio. Por su parte los servicios de deshabitación de drogas del territorio podrán disponer de estos resultados para llevar a cabo un tratamiento de desintoxicación más efectivo. Los servicios de urgencias de los principales hospitales del territorio podrán introducir estos resultados en los casos de intoxicación aguda que puedan ser causados por esta planta.