

Estudio Toxicológico de *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh

(Toxicological studies of *Cnidoscolus chayamansa*)

TORRICO, F. M¹.; GABAY, J¹.; SUÁREZ, A. I.¹ Y COMPAGNONE, R.S.²

Resumen

Cnidoscolus chayamansa (Euforbiaceae) es una planta cuyas hojas han sido empleadas como alimento en México y América Central, y utilizada con diferentes propósitos medicinales entre ellos: mejorar la memoria y la función cerebral, combatir la artritis, la diabetes y la obesidad, disminuir el colesterol e incrementar las plaquetas en pacientes que reciben quimioterapia. Aún cuando se han realizado estudios a nivel nutricional, no existen investigaciones que avalen su utilidad en el campo medicinal. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio toxicológico de esta planta y para ello utilizamos tres formas diferentes de preparación, utilizadas por la población. Se determinó la toxicidad aguda, la dosis tóxica 50 (DT₅₀) y la dosis letal 50 (DL₅₀). Estos ensayos revelaron como efectos predominantes: contorsión, letargia y piloerección, siendo el primero el efecto tóxico más relevante. Se evaluó la citotoxicidad *in vitro*, de los diferentes tipos de liofilizados, y se obtuvo que el porcentaje de citotoxicidad fue bajo. Estos estudios permiten apoyar el uso de la chaya con los propósitos terapéuticos utilizados por la población debido a que la DT₅₀ es cincuenta veces menor que la DL₅₀ y además, los efectos tóxicos presentados son leves y reversibles.

Palabras claves: *Cnidoscolus chayamansa*, toxicidad aguda, citotoxicidad

Abstract

Cnidoscolus chayamansa (Euforbiaceae) is a food plant from Mexico and Central America. Its leaf has been used for medicinal purposes such as: improve memory, arthritis, obesity, to lower high cholesterol, and to increase the levels of platelets in patients receiving chemotherapy. The literature about *Cnidoscolus chayamansa* shows only nutritional reports but there are not reports of medical research. The purpose of this investigation was to perform toxicological studies of the plant, using three different modes of preparation of the extract used in folk medicine. The LD₅₀ and DT₅₀ were determined. The assays showed that predominant effects were: lethargy, contortion and piloerection. The *in vitro* cytotoxicity was evaluated. The results indicated that *Cnidoscolus chayamansa* can be used for therapeutic purposes due to the low value of DT₅₀ and because the toxic effects are light and reversible.

Keywords: *Cnidoscolus chayamansa*, acute toxicity, cytotoxicity

Introducción:

En los últimos años se han revalorizado los productos naturales como sustancias de interés médico, veterinario, cosmético y agroquímico y en la actualidad el 25% de las drogas que se comercializan en el mercado, provienen de una fuente vegetal (Primo y col., 2001). Sin embargo, se calcula que en todo el mundo, la validación química, farmacológica y biomédica solo se ha llevado a cabo en 5% de estas especies (Huerta, 1997).

Los principales usos que se reportan de la planta *Cnidoscolus chayamansa* son: el consumo humano de

hojas y cogollos cocinados y también se usa en alimentación de animales como cabras y cerdos. Las hojas de esta planta han sido utilizadas con fines medicinales entre ellos: mejorar la memoria y la función cerebral, combatir la artritis, la diabetes y la obesidad, disminuir el colesterol e incrementar las plaquetas en pacientes que reciben quimioterapia (Molina y col., 1997, Annan, 1997).

El estudio científico de las plantas medicinales pretende reducir los riesgos de su utilización incontrolada, además de comprobar su actividad farmacológica y

¹ Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela

² Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Universidad Central de Venezuela

ampliar su espectro, así como también estandarizar su dosis.

Los estudios científicos son los que han de marcar la pauta en el desarrollo de la fitoterapia, ya que la investigación clínica, farmacológica, química y botánica de las plantas es la que sin duda nos han de dar las claves de la utilización segura de las plantas medicinales. Con el objeto de evaluar los posibles efectos tóxicos de la *Cnidoscopus chayamansa* nos propusimos determinar las propiedades toxicológicas *in vivo* e *in vitro* de los liofilizados de *Cnidoscopus chayamansa* preparados en tres diferentes formas: decocción, infusión y maceración. Este último objetivo es para obtener datos que se relacionen con la forma de preparación y garantizar cual es la mejor de ellas que disminuya los efectos tóxicos en los consumidores.

Materiales y métodos:

EXTRACTOS DE LA PLANTA A INVESTIGAR:

Se utilizó la hoja de la planta *Cnidoscopus chayamansa* que fue recolectada en el Jardín Medicinal de la Facultad de Farmacia de la U.C.V., e identificada por el botánico Stephen Tillet. Una muestra representativa de la planta se encuentra en el Herbario «Victor Ovalles» identificada como MYF-19622. Las hojas de la planta (50 gramos) fueron preparadas en tres diferentes formas: infusión, decocción y maceración. En la Infusión se calentó agua hasta temperatura de ebullición (100 °C) y luego se agregaron las hojas de la planta. En la decocción se hirvieron las hojas de la planta en agua por un período de 10 a 15 minutos. Para obtener el extracto de las hojas por maceración se dejaron reposar en agua fría durante 48 horas. Las diferentes preparaciones fueron sometidas al proceso de liofilización, proceso que se realizó en el laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia de la UCV.

Determinación de la toxicidad aguda de los diferentes liofilizados de *Cnidoscopus chayamansa*

Se determinó la dosis tóxica media (DT₅₀) y la dosis letal media (DL₅₀) de los diferentes liofilizados de *Cnidoscopus chayamansa* en animales experimentales. Como animales de experimentación se utilizaron ratones machos de la cepa Balb-c con un peso promedio de 20 g., provenientes del Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (I.V.I.C.). Todos los animales fueron alimentados con dieta comercial (Ratarina®) y tuvieron acceso libre a comida y agua. La determinación de la DT₅₀ y la DL₅₀ se realizó por el método descrito por Litchfield y Wilcoxon (1949) y en el cual los animales fueron pesados y distribuidos de manera aleatoria en grupos de 6 y cada grupo fue tratado con una dosis de *Cnidoscopus chayamansa* en sus diferentes tipos de

preparaciones administrándolas por vía intraperitoneal (i.p.) y usando como volumen requisito 0.1 ml por cada 10 g de peso corporal. Estas dosis se implementaron en orden creciente desde 25 mg/kg hasta 8000 mg/kg, procediéndose al registro de los efectos observados durante 90 minutos (Irwin, 1964).

Para la determinación de la DT₅₀ se escogió como efecto tóxico el más frecuente el cual fue «contorsión intestinal» y se seleccionó el período de tiempo en que se observó el máximo efecto. Para la determinación de la DL₅₀ se registró el número de ratones muertos por cada dosis.

Estudios *in vitro*

Se determinó la toxicidad *in vitro* de los diferentes liofilizados de *Cnidoscopus chayamansa* mediante la evaluación de la citotoxicidad en células BHK21 por el método del Azul de Tetrazolio (MTT) siguiendo el método descrito por Denizot y col. (1986). Las células BHK21 fueron cultivadas en frascos de 25 cm² (NUNCLON) en un medio de Eagle Dubecco modificado (DMEM, GIBCO) suplementado con 10% de suero fetal de ternera (GIBCO), 100 U/mL de penicilina y 2 µg/mL de anfotericina B (GIBCO), a 37°C en una atmósfera de 5% de CO₂. Estas células fueron sometidas a tripsinización y fueron sembradas en placas de 96 pozos e incubadas hasta obtener un cultivo confluyente. Una vez obtenido se removió el medio y se procedió a agregar medio fresco conteniendo el extracto de la planta a ser evaluada en concentraciones de 10, 100 y 1000 µg/mL y las placas fueron incubadas por 24 horas. Luego del período de incubación se agregó 100 µL de MTT al 98% (SIGMA) a cada pozo y se incubaron las placas en las condiciones descritas anteriormente por un período de 3 horas. Pasado este tiempo se descartó el sobrenadante de los pozos por inversión de la placa y a cada uno de los pozos se le agregaron 100 µL de dimetilsulfoxido al 95% (ANALAR). Se procedió a la lectura de las densidades ópticas en un lector de ELISA a una longitud de onda de 570 nm. Los resultados son expresados en el porcentaje de citotoxicidad en función de la DO obtenida en las células sin tratamiento.

Análisis Estadístico

Los resultados de citotoxicidad obtenidos se analizaron estadísticamente a través de la prueba de t de student (análisis de varianza de una vía), utilizando para ello el programa de computación Statistix®.

Resultados

DETERMINACIÓN DOSIS LETAL MEDIA (DL₅₀) DE LOS DIFERENTES LIOFILIZADOS DE *Cnidoscopus chayamansa*

Los resultados obtenidos en la determinación de la DL₅₀ se muestran en la Tabla I, en ellos se puede apreciar

que la DL_{50} y sus límites de confianza al 95% son similares (7100 mg/Kg) en los tres tipos de preparaciones de la planta.

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS DIFERENTES LIOFILIZADOS DE *CNIDOSCOLUS CHAYAMANSA*

Los efectos tóxicos observados en los animales de experimentación tratados con las diferentes preparaciones de *Cnidoscopus chayamansa* se presentan en las Tablas II a, b y c. Como puede observarse con todos los tipos de preparaciones la contorsión intestinal, la letargia y la piloerección fueron los principales efectos tóxicos encontrados, siendo la contorsión el efecto tóxico más importante. Para las preparaciones de *Cnidoscopus chayamansa*: decocción (Tabla IIa), maceración (Tabla IIb) e infusión (Tabla IIc) a las dosis más elevadas, se observaron los siguientes efectos tóxicos: ataxia, ptosis palpebral, diuresis, apnea, hiperventilación, hiperactividad e hipersensibilidad.

En vista de que el efecto tóxico más resaltante fue «contorsión», procedimos a obtener el tiempo de efecto pico del mismo en todos los tipos de preparaciones de plantas evaluadas, en función de las dosis (Fig. 1). Se observó en el caso de los liofilizados de *Cnidoscopus chayamansa* cuya forma de preparación fue la de infusión (Fig. 1a) que el efecto tóxico de contorsión se comenzó a observar a la dosis de 50 mg/Kg mientras que las preparaciones de maceración (Fig. 1b) y decocción (Fig. 1c) se observó a la dosis de 100 mg/Kg, siendo el efecto pico a los 30 minutos de observación, en todas las preparaciones. En el caso del liofilizado de *Cnidoscopus chayamansa* preparado por maceración, a todas las dosis evaluadas se observó que el efecto pico fue a los 30 minutos (Fig. 1b) a excepción de la dosis de 4000 mg/kg, en donde el efecto de contorsión se mantuvo durante todo el período de observación. En los tres tipos de preparaciones se observó que el efecto tóxico «contorsión» es proporcional a la dosis administrada debido que cuanto más alta es la dosis más temprano se observa el efecto tóxico y se mantiene por más tiempo.

DETERMINACIÓN DE LA DOSIS TÓXICA MEDIA (DT_{50}) DE LOS DIFERENTES LIOFILIZADOS DE *CNIDOSCOLUS CHAYAMANSA*

El efecto tóxico escogido para realizar la determinación de la DT_{50} fue: contorsión, por ser el más sobresaliente en el estudio de toxicidad aguda, mientras que el período de observación seleccionado fue de 30 minutos por ser el período donde se observó el máximo efecto tóxico seleccionado. Los resultados de la DT_{50} junto con los límites de confianza, obtenidos con cada una de las preparaciones de *Cnidoscopus chayamansa* ensayadas, se muestran en la Tabla III. Se puede observar que las DT_{50} es de 140 mg/kg para las tres preparaciones herbales y los límites de confianza son similares en las preparaciones realizadas

con maceración y con decocción, mientras que en la preparación: infusión el límite de confianza inferior corresponde a una dosis más baja en comparación con las otras dos preparaciones.

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD *IN VITRO* DE LOS DIFERENTES LIOFILIZADOS DE *CNIDOSCOLUS CHAYAMANSA* MEDIANTE LA EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD EN CÉLULAS BHK21 POR EL MÉTODO DEL AZUL DE TETRAZOLIO (MTT)

Los resultados obtenidos en el estudio de citotoxicidad realizado en células BHK21 se muestran en la Figura 2. Se observa que en todos los tipos de liofilizados a medida que se incrementa la dosis, el porcentaje de citotoxicidad es mayor. El mayor porcentaje de citotoxicidad se obtuvo con la preparación decocción a la dosis de 1000 μ g/mL, sin embargo con ninguna de las dosis ensayadas en los diferentes liofilizados estudiados no se alcanza el 50% de citotoxicidad.

Los liofilizados: infusión y decocción (Figura 2) tuvieron un comportamiento similar a la dosis de 1000 μ g/mL, siendo esta significativamente diferente de las otras dosis empleadas ($p < 0.05$). En base a estos resultados podemos considerar que los efectos citotóxicos de los diferentes tipos de liofilizado de *Cnidoscopus chayamansa* son dependientes de la dosis.

Discusión

En la población es muy común el uso de plantas con fines curativos, sus beneficios se han pasado de generación en generación, de modo que se tiene cierta confianza al utilizarlas, además de que el alto costo de las medicinas de origen sintético, hacen que el uso de las plantas medicinales sea más atractivo.

Es imperativo que el uso de plantas medicinales esté sustentado por estudios científicos en donde se evalúe su seguridad y eficacia. Avalar los beneficios terapéuticos de las plantas, ya tradicionalmente empleadas por la población con fines curativos, constituye todo un proceso en donde se le da gran importancia a los estudios de toxicidad (Irwin, 1964, Fugh-Berman, 2000). Con los resultados obtenidos en dichos estudios, se puede estimar, no solo el riesgo potencial de los efectos adversos que puedan presentarse en el hombre al consumir preparados a base de plantas, sino también, se puede establecer la dosis a la cual se evaluarán las posibles actividades farmacológicas de la planta y/o sus principios activos. De manera, que al investigar una planta potencialmente terapéutica, los primeros estudios que se realizan son los de toxicidad (Malone, 1983).

Los resultados que se obtuvieron al evaluar la toxicidad aguda en ratones Balb-c tratados con las diferentes preparaciones de *Cnidoscopus chayamansa*, revelan

Tabla I
Resultados de la evaluación de la DL₅₀ para los diferentes tipos de preparaciones de *Cnidoscopus chayamansa*

Preparación de la planta (g/kg)	Dosis ensayadas (g/kg)	Chi ² del estudio	Grados de libertad	Chi ² de la tabla	DL ₅₀ (g/kg)	Límites de confianza
Maceración	4, 6, 7 y 8	2,724	2	5,991	7,10	5,22 – 9,65
Infusión	2, 5 y 8	2,028	1	3,841	7,20	5,18 – 9,99
Decocción	5, 7 y 8	1,95	1	3,841	7,20	5,03 – 10,29

Tabla IIa
Porcentaje de animales experimentales que presentaron los efectos tóxicos observados (10-90 minutos), a las diferentes dosis de *Cnidoscopus chayamansa* obtenida por decocción

EFECTOS TÓXICOS OBSERVADOS (%)							
Dosis (mg/Kg)	contorsión		Piloerección	apnea	estereotipia	hiperventilación	Ptosis palpebral
10 minutos							
25	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	0	0	0	0
500	30	66.67	0	0	0	16.67	0
30 minutos							
25	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0
100	16.67	0	16.67	0	0	0	0
125	50	66.67	33.33	0	0	0	0
500	66.67	83.33	16.67	0	0	50	16.67
60 minutos							
25	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	16.67	0	0	0	0
125	0	50	50	0	0	0	0
500	33.33	66.67	0	0	16.67	33.33	16.67
90 minutos							
25	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	0	0	0	0
500	0	66.67	0	16.67	0	16.67	0

Tabla IIb
Porcentaje de animales experimentales que presentaron los efectos tóxicos observados (10-90 minutos), a las diferentes dosis de *Cnidoscolus chayamansa*: infusión

EFECTOS TÓXICOS OBSERVADOS (%)									
Dosis (mg/Kg)	contorsión	letargia	Piloerección	diarrea	estereotipia	hiperventilación	Diuresis	Ptosis palpebral	hipersensibilidad
10 minutos									
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	16.67	0	0	0	0	0	0	0	0
125	33.33	0	0	0	0	0	0	0	0
250	30	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	50	16.67	16.67	16.67	0	0	33.33	0	0
30 minutos									
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	16.67	0	16.67	0	0	0	0	0	0
100	33.33	16.67	0	16.67	0	0	0	0	0
125	66.67	16.67	66.67	0	0	0	0	0	0
250	83.33	33.33	33.33	0	0	0	0	0	0
2000	100	66.67	50	66.67	0	33.33	33.33	50	0
60 minutos									
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	16.67	0	0	0	0	0	0	0	0
100	16.67	0	0	0	0	0	0	0	0
125	50	16.67	66.67	0	0	0	0	0	0
250	50	16.67	50	0	0	0	0	0	0
2000	100	66.67	50	83.33	33.33	33.33	33.33	50	0
90 minutos									
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
125	33.33	0	66.67	0	0	0	0	0	0
250	16.67	16.67	0	0	16.67	0	0	0	0
2000	50	33.33	0	0	16.67	33.33	0	33.33	33.33

como principales efectos tóxicos: contorsión y piloerección. Estos efectos, junto con la diarrea (observada en menor grado) pueden asociarse a trastornos gastrointestinales, siendo la piloerección y la diarrea, consecuencia de la contorsión intestinal. La letargia, la hiperventilación y otros efectos como son: ataxia, ptosis palpebral, apnea, hiperactividad e hipersensibilidad observados con dosis elevadas de las diferentes preparaciones utilizadas, pueden asociarse con alteraciones del Sistema Nervioso Central (Irwin, 1964).

Los efectos tóxicos observados, podrían atribuirse a la presencia del HCN en las tres preparaciones herbales. El HCN se forma a partir de los glicósidos cianogénicos, los cuales son parte de la composición de la planta

Cnidoscolus chayamansa (Cruz, 2001). Se ha descrito que los glicósidos cianogénicos son compuestos que sufren hidrólisis por acción de la Beta-glicosidasa dando origen al ácido cianhídrico (HCN). Este ácido se produce cuando las hojas de la planta sufren algún daño capaz de destruir las células vegetales, de esta manera, los glicósidos cianogénicos contenidos en vacuolas citoplasmáticas, se liberan y entran en contacto con las enzimas hidrolíticas que se encuentran en la pared celular (Rosso y Pagano, 2000). Al respecto, Amelot (1999) asocia al HCN con procesos de inflamación gastrointestinal con hemorragia. Mientras que otros investigadores (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España, 2000), refieren que la combinación del cianuro procedente del

Tabla II c.

Porcentaje de animales experimentales que presentaron los efectos tóxicos observados (10-90 minutos), a las diferentes dosis de *Cnidoscolus chayamansa*: Maceración

EFECTOS TÓXICOS OBSERVADOS (%)								
Dosis (mg/Kg)	Contorsión	Letargia	Piloerección	Diarrea	Estereotipia	Hiperventilación	Diuresis	Ataxia
10 minutos								
25	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0
125	33.33	16.67	0	0	0	0	0	0
500	33.33	16.67	0	0	0	0	0	0
4000	100	33.33	33.33	33.33	0	66.67	33.33	50
30 minutos								
25	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	16.67	33.33	0	0	0	0	0	0
125	50	50	16.67	0	0	0	0	0
500	66.67	33.33	16.67	16.67	33.33	0	0	0
4000	100	33.33	33.33	0	0	83.33	33.33	66.67
60 minutos								
25	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	16.67	16.67	0	16.67	0	0	0	0
125	33.33	33.33	16.67	0	33.33	0	0	0
500	50	50	16.67	16.67	16.67	0	0	0
4000	100	16.67	66.67	0	0	83.33	0	66.67
90 minutos								
25	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	16.67	0	0	0	0
125	0	0	0	0	0	0	0	0
500	0	16.67	0	0	16.67	0	0	0
4000	100	16.67	66.67	0	0	83.33	0	66.67

Tabla III

Resultados de la evaluación de la DT₅₀ para las diferentes preparaciones de *Cnidoscolus chayamansa*

Preparación de la planta (mg/kg)	Dosis ensayadas	Chi ² del estudio	Grados de libertad	Chi ² de la tabla	DT ₅₀ (mg/kg)	Límites de confianza
Maceración	25, 50, 100, 125	0,972	2	5,991	140	101 - 195
Infusión	25, 50, 100, 125, 250	1,764	3	7,815	140	76 - 259
Decocción	25, 50, 100, 125	0,6996	2	5,991	140	102 - 193

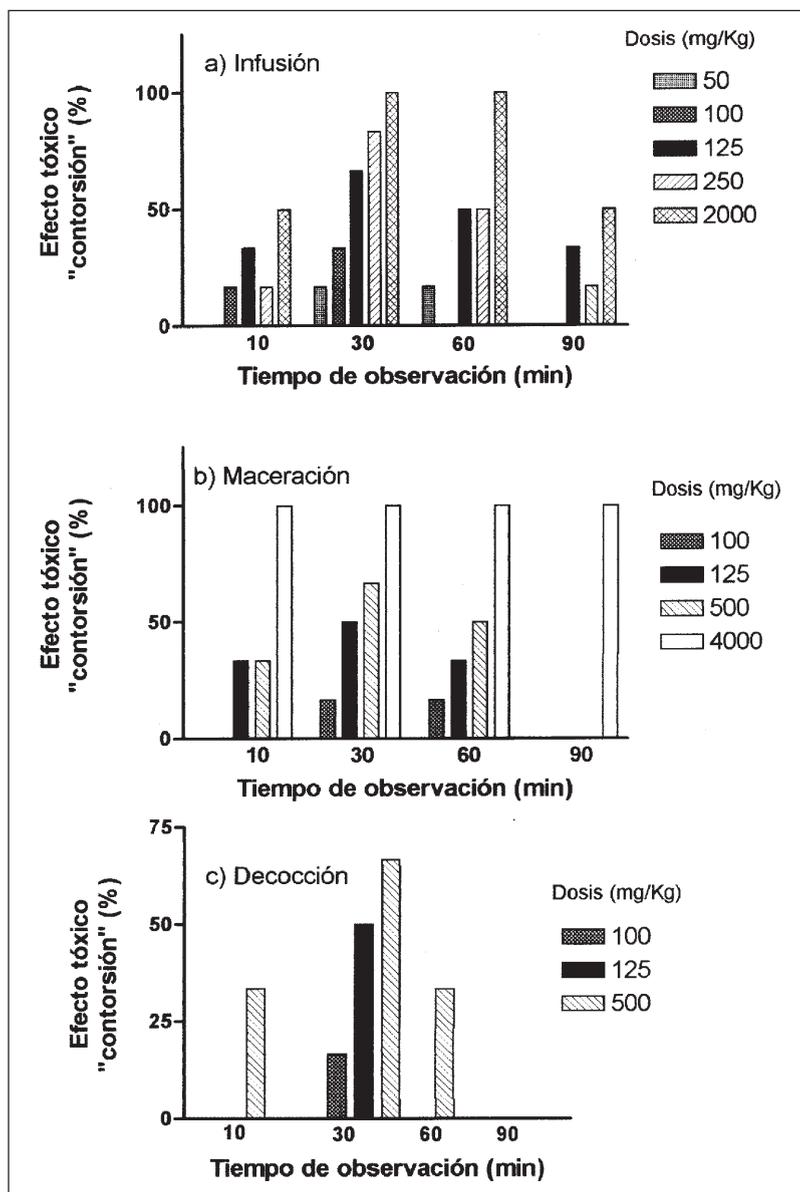
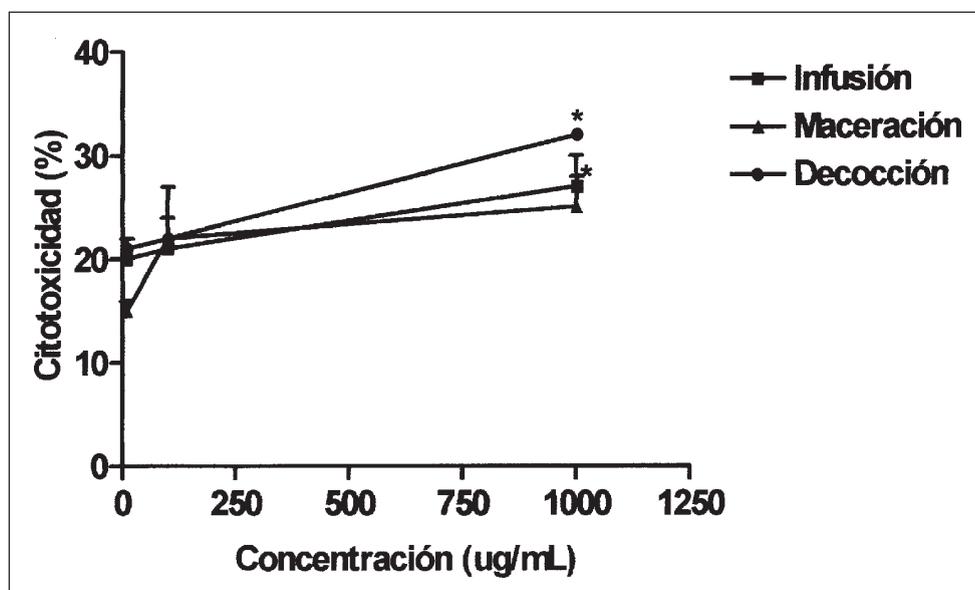


Figura 1
Determinación del tiempo de efecto pico «contorsión» para el liofilizado de *Cnidocolus chayamansa* preparada en la forma de (a) infusión, (b) maceración y (c) decocción.

Figura 2
Evaluación de citotoxicidad obtenida en células BHK21 expuestas a diferentes concentraciones del liofilizado de *Cnidocolus chayamansa* preparada en la forma de infusión (■), maceración (▲), y decocción (●). (n=6, *p<0,05).



HCN, con la enzima citocromo oxidasa, produce alteraciones de la cadena respiratoria, que se manifiesta con alteraciones del ritmo respiratorio, trastornos de la conciencia, entre otros. Solo a altas dosis de las diferentes preparaciones herbales, se observó la convulsión como efecto tóxico, que en muchos casos precedió la muerte del animal. Esta observación, concuerda con lo reportado en la literatura para la toxicidad del HCN, donde consideran que el envenenamiento a altas dosis del HCN, tiene como manifestación principal convulsiones tónicas y clónicas (Routt y James, 1999). De todos los efectos tóxicos presentados, seleccionamos como más importante el de contorsión, y consideramos que se debe realizar un estudio en donde se investigue, el mecanismo involucrado en este efecto tóxico ya que podría estar mediado por la estimulación de receptores presentes en la musculatura lisa intestinal.

En los animales de experimentación utilizados, se da un proceso de desintoxicación bastante rápido debido a que con el uso de todas las preparaciones de *Cnidoscolus chayamansa*, el tiempo de efecto pico para contorsión fue entre los 10 y 30 minutos en el rango de dosis entre 50 y 2000 mg/mL, efecto que disminuyó gradualmente. Sin embargo, el efecto tóxico se mantuvo durante todo el período de observación, al utilizarse dosis elevadas de los diferentes preparados de la planta. Estos resultados concuerdan con lo expuesto por otros investigadores (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España, 2000), donde se indica que las drogas que contienen HCN no suponen riesgo severo para el que las ingiere, ya que es necesario la ingesta rápida y en grandes cantidades del mismo para producir efectos tóxicos, debido a que el organismo es capaz de transformar los cianuros ingeridos en tiocianatos, que luego son eliminados a través de la orina. De tal manera que, cuando la dosis de cianuro en el organismo, es superior a la capacidad del mismo para transformarla, se produce una intoxicación severa. En nuestros estudios se obtuvieron efectos tóxicos con cada una de las preparaciones, siendo menor en el preparado decocción donde el efecto aparece tardíamente y desaparece más rápido y solo se observa a los 60 minutos a dosis elevadas (500 mg/Kg) . Estos resultados coinciden con lo expresado por Annan (1997) y Molina (1999), quienes recomiendan la cocción de la planta en agua hirviendo por un período de 15 a 20 minutos, para eliminar los glucósidos cianogénicos a los cuales se les atribuyen las propiedades tóxicas.

En nuestro estudio se observa que la DT_{50} para las tres preparaciones evaluadas fue de 140 mg/kg, y los límites inferiores de los intervalos de confianza fueron: 101, 76 y 102 mg/kg para los liofilizados: maceración, infusión y decocción respectivamente. Esto significa que para la preparación: infusión, la toxicidad se presenta a dosis más

bajas. El objetivo de determinar los límites de confianza para la DT_{50} es el de obtener la actividad terapéutica de estos extractos con dosis por debajo de estos valores, para así poder garantizar que la eficacia y la potencia de la actividad terapéutica estén alejadas del riesgo tóxico.

La DL_{50} y los límites de confianza para este parámetro fueron similares en las tres preparaciones evaluadas de *Cnidoscolus chayamansa*. En base a los resultados obtenidos, podemos afirmar que la toxicidad aguda de *Cnidoscolus chayamansa* en ratones Balb-c es baja. Además, la DT_{50} se aleja considerablemente de la DL_{50} (50 veces mayor). Estos resultados son muy importante para futuras investigaciones farmacológicas de la planta, porque clasifican a los liofilizados de *Cnidoscolus chayamansa* (bajo las formas de preparación: maceración, infusión y decocción) como seguros para ser utilizadas como agentes terapéuticos.

No podemos descartar que los pocos efectos tóxicos observados en las diferentes preparaciones, se deben a la existencia de otros compuestos tóxicos además del HCN, presentes en las preparaciones evaluadas, que no se ven afectados por los procesos a los cuales fueron sometidos las diferentes preparaciones de *Cnidoscolus chayamansa*. Esto nos conduce a considerar necesaria la realización de análisis químicos de las diferentes preparaciones, para establecer a cuál o cuáles compuestos químicos presentes se le atribuye la toxicidad.

Los resultados obtenidos en los estudios de citotoxicidad nos corroboran lo obtenido en animales experimentales, ya que los diferentes tipos de preparaciones producen porcentajes bajos de citotoxicidad en la línea celular BHK21. En general, con todas las preparaciones se observó que dicho efecto era dependiente de la dosis.

Nuestros resultados indican que la hoja de la planta *Cnidoscolus chayamansa* puede ser utilizada con los fines terapéuticos señalados en la bibliografía popular y científica (Molina y col., 1997; Annan, 1997) ya que los efectos tóxicos que se observan son leves y reversibles en el tiempo. Es recomendable establecer la forma correcta de preparación así como la dosis a ingerir de dicha planta para establecer una máxima seguridad y consideramos que esta planta cumple con los requisitos fundamentales para pasar a estudios posteriores donde se aislen los principios activos a los cuales se deben sus múltiples acciones terapéuticas y analizar a través de qué mecanismos tienen su actividad farmacológica.

Referencias Bibliográficas

- AMELOT, A. (1999): Helecho macho, salud animal y salud humana. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 16: 528-541.
<http://www.redpav-fpolar.info.ve/fagroluz/v16-5/v165z010.html>
 ANNAN, S. (1997): Chaya. The Mayan miracle plant.

- http://www.mexconnect.com/mex_/travel/sjensen/saja-chaya.html
- CONSEJO GENERAL DE COLEGIOS OFICIALES DE FARMACÉUTICOS DE ESPAÑA (2000): Plantas medicinales. Compuestos nitrogenados. *Panorama Actual del Medicamento* 2000. 24 (231).
<http://www.cof.es/pam231/plantas-medicinales.htm>
- CRUZ, C. (2001): Te invito a comer chaya. *Universo*. 2 (44)
<http://www.uv.mx/universo/44/infgral/chaya.html>
- DENIZOT, F. y LANG, R. (1986): Rapid colorimetric assay cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods*. 89: 271-77.
- FUGH-BERMAN, A. (2000): Herb drug interactions. *Lancet* 355:134-38.
- HUERTA, C. (1997): La herbolaria: mito o realidad. *Biodiversitas* (3)12.
<http://www.conabio.gob.mx/biodibversitas/huerta.htm>
- IRWIN, S. (1964): Animal and Clinical Pharmacology Techniques. In Drug Evaluation. Cap. 4: Drug Screening and Evaluation of New Compounds in Animals. *Year book Medical Publishers, Inc USA*. pp. 36-53
- LITCHFIELD, J. y WILCOXON, F. (1949): A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99-108
- MALONE, M.H. (1983): The pharmacological evaluation of natural products. *J. Ethnopharmacol* 8: 127.
- MOLINA, A.; CURLEY, L. y BRESSANI, R. (1997): Redescubriendo el valor nutritivo de las hojas de Chaya (*Cniduscolus aconitifolius Euphorbiaceae*). *Ciencia en acción*. 3.
<http://www.uvg.edu.gt/facs/boletines-is/b3/cienac3.html>
- MOLINA, A., SOLÓRZANO, M. y BRESSANI, R. (1999): Procesamiento de las hojas de Chaya (*Cniduscolus aconitifolius; Eupharbiaceae*) para consumo humano: I. Cocción en agua hirviendo y almacenamiento de hojas frescas. *Ciencia en Acción* 6.
<http://www.uvg.edu.gt/facs/boletines-is/b3/cienac6.html>
- PRIMO, V.; ROVERA, M.; ZANÓN, S.; OLIVA, M.; DEMO, M.; DAGHERO, J. y SABINI, L. (2001): Determinación de la actividad antibacteriana y antiviral del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* (griseb) *Epling. Rev. Arg. Microbiol.* (33)2.
http://www.drwebsa.com.ar/aam/rev_033/vol_033_02/033_09.htm
- ROSSO, B. y PAGANO, E. (2000): Caracterización por cianogénesis de una colección de trébol blanco (*Trifolium repens L.*) en Pergamino, Argentina. *Plant. Genetic. Newsletter*. 123.
<http://www.ipgri.cgiar.org/pgrnewsletter/article.asp?id-article=7&id-issue=123>
- ROUTT, R. y JAMES R. (1999): Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas. Capítulo 16: *Fumigantes*. Quinta edición.
<http://www.epa.gov/pesticides/safety/healthcare>

Recibido: enero 2004
Aceptado: septiembre 2004