

Lesiones hepáticas inducidas por componentes volátiles de *Senecio grisebachii* (margarita del campo o primavera) en ratones

Romero, A.; Zeinsteger, P.; Teibler, P.; Montenegro, M.; Ruiz de Torrent, R.; Ríos, E.; Acosta de Pérez, O.

Departamento Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE,
Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 03783–425753, Int. 156,
E-mail: patmed@vet.unne.edu.ar

Resumen

Romero, A.; Zeinsteger, P.; Teibler, P.; Montenegro, M.; Ruiz de Torrent, R.; Ríos, E.; Acosta de Pérez, O.: Lesiones hepáticas inducidas por componentes volátiles de *Senecio grisebachii* (margarita del campo o primavera) en ratones. Los terpenos son compuestos volátiles que forman parte del aceite esencial de la planta *Senecio grisebachii*. Algunos terpenos son utilizados en distintas industrias (alimentos, cosméticos, artículos de limpieza). En este trabajo se estudiaron los efectos que causan los terpenos sobre el hígado de ratones. El extracto acuoso de flores frescas de *Senecio grisebachii*, que contiene terpenos, fue obtenido por destilación por arrastre con vapor de agua y administrado vía oral a ratones macho (n=10) de 20±2 g de peso a razón de 0,5 ml/ratón/día durante 30 días. Al final los animales fueron anestesiados con éter y sacrificados para obtener muestras de hígado, las que fueron procesadas por las técnicas histológicas clásicas para bloques parafinados, cortadas en 5µm y coloreadas con hematoxilina–eosina. Igual número de animales controles recibieron solo agua. A partir de los 10 días de iniciada la experiencia se presentó disminución en la consistencia de la materia fecal, pelo hirsuto, decaimiento, deshidratación y, hacia los 30 días, letargia y desplazamiento lento y tambaleante. El examen histopatológico mostró degeneración turbia e hídrica y necrosis de los hepatocitos situados alrededor de la vena central y espacios porta, así como congestión y desorganización trabecular. Los resultados demuestran que los terpenos contenidos en *Senecio grisebachii* son hepatóxicos.

Palabras clave: *Senecio*, terpenos, hígado, toxicidad, ratón.

INTRODUCCIÓN

Diversos vegetales presentes en la naturaleza poseen componentes que pueden causar intoxicaciones al ser consumidos por los animales. Uno de ellos es el *Senecio*, género de amplia distribución en el mundo. Los primeros hallazgos de intoxicación en animales se realizaron en el año 1902, cuando se relacionaron afecciones hepáticas en bovinos con el consumo de *Senecio* en África⁹, luego se detectaron casos en Inglaterra²³, Canadá¹⁸, EEUU¹⁰, Uruguay¹⁹, Australia²², Chile² y Argentina^{3, 7, 21}. En este último país existen aproximadamente 300 especies de *Senecio*¹³; para la región nordeste se citan siete y la más abundante es *Senecio grisebachii*, conocida como “margarita del campo” o “primavera” (Figura 1), que prolifera fácilmente en suelos arenosos.

La toxicidad de la planta del género *Senecio* se debe a la presencia de alcaloides pirrolizidínicos, que fueron identificados por primera vez en el año 1885 en *Senecio vulgaris*¹⁶. Dichos compuestos son metabolizados en el hígado por procesos de hidrólisis, N–oxidación y demetilación. Los derivados de procesos de oxidación

afectan principalmente al hígado, al producir cambios hepatocelulares identificados como megalocitosis⁴, aunque también generan lesiones en pulmón, riñón¹⁴, intestino y sistema nervioso central¹⁵.

Otros componentes del *Senecio* son terpenos e indoles, que forman parte de su aceite esencial. Se ha demostrado que sesquiterpenos combinados con ácidos



Figura 1: Flores de *Senecio grisebachii*.

aromáticos de vegetales del género *Ferula* provocan un incremento en la permeabilidad de membrana a cationes divalentes ¹. La acumulación de éstos en el interior de la célula se acompaña de un aumento isosmótico de agua, y por consiguiente tumefacción celular ⁸. Estudios histopatológicos revelan que la administración oral del terpeno β -mirreno en ratones produce alteraciones en hígado y estómago, los que parecen ser órganos blanco en esta intoxicación ¹⁷.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción de los terpenos, componentes volátiles de *Senecio grisebachii* sobre hígado de ratones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras vegetales. Se trabajó con plantas de *Senecio grisebachii* recolectadas en el Departamento Capital de la Provincia de Corrientes, en época de verano. Las plantas fueron separadas en sus constituyentes (flores, tallos y hojas). Luego las flores se molieron hasta granulometría semejante a la yerba mate.

Método de extracción de los componentes volátiles. Se efectuó aislamiento por destilación por arrastre con vapor de agua, para lo cual 20 g de flores frescas de *Senecio grisebachii* se mantuvieron durante 6 horas en un balón de vidrio, que por medio de una tubuladura recibía vapores de un recipiente con agua en ebullición. Por otro lado, el balón conectaba con un sistema de refrigeración que produjo la condensación del vapor que arrastraba los componentes volátiles de las células vegetales, obteniéndose el extracto acuoso de la planta.

Ensayos de toxicidad. Se utilizaron ratones macho (n=10) de la cepa CF1 de 20±2 g de peso, a los cuales se suministraron por vía oral los extractos obtenidos a razón de 0,5 ml/ratón/día durante 30 días. Los animales fueron observados diariamente para valorar el estado general, elasticidad de la piel, movilidad y posibles alteraciones compatibles con intoxicación. Los controles (n=10) recibieron solo agua. Ambos grupos fueron alimentados con una dieta balanceada comercial *ad-libitum*. Transcurrido dicho tiempo, los ratones fueron anestesiados con éter y sacrificados para obtener muestras de hígado, las que fueron procesadas por las técnicas histológicas clásicas para bloques parafinados, cortadas en 5 μ m y coloreadas con hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

En los primeros días posteriores a la ingestión de los extractos vegetales la exploración clínica de los ratones intoxicados no reveló síntomas compatibles con intoxicación. Sin embargo, a los 10 días de iniciada la experiencia se presentaron alteraciones tales como disminución en la consistencia de la materia fecal, pelo hirsuto, decaimiento y deshidratación, la cual fue evidente por observación clínica del pliegue cutáneo. Con el transcurso del tiempo estos síntomas se intensificaron y previo al sacrificio los animales se mostraron letárgicos,

con desplazamientos lentos y tambaleantes. No hubo sintomatología en los controles.

El examen histopatológico del hígado de los animales tratados mostró degeneración turbia e hidrópica en todo el órgano y necrosis de hepatocitos en zonas centrales y perilobulillares. También se observó congestión en venas centrales, espacios porta y capilares sinusoidales, así como desorganización trabecular de los cordones de hepatocitos (Figura 2).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se demuestra que la ingestión de sustancias volátiles obtenidas de *Senecio grisebachii* de la Provincia de Corrientes causa síntomas clínicos de intoxicación en ratones. En seres humanos se reportaron casos de toxicidad, tras la ingestión de productos de limpieza con aceite de pino, que contiene terpenos en su composición. Las manifestaciones halladas fueron irritación de las membranas mucosas y del tracto gastrointestinal, así como alteraciones del sistema nervioso central tales como depresión, ataxia e incluso coma ⁶. Estos trastornos coinciden con los observados en ratones intoxicados, que presentaron diarrea, deshidratación y desmejoramiento progresivo, síntomas que se intensificaron hacia el final de la experiencia, con depresión y trastornos en la marcha.

Trabajos previos identificaron como sustancias volátiles de *Senecio grisebachii*: indol, β -mirreno, o-cimeno, ylangeno, α -copaeno y α -cariofileno ²⁰. β -mirreno representa la esencia de numerosas plantas y es ampliamente utilizado en la industria de alimentos como aromatizante, en la fabricación de cosméticos, como aditivo de fragancias, detergentes y otros productos domésticos. Investigaciones realizadas en Brasil demostraron con este terpeno efectos tóxicos en ratones,

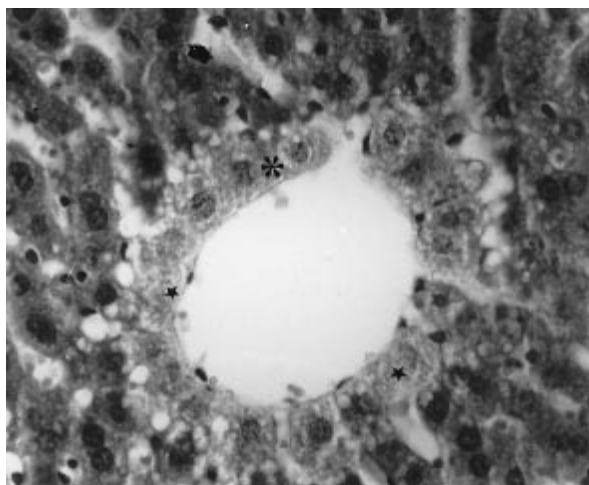


Figura 2: Corte histológico de hígado de ratón tratado con extracto acuoso de *Senecio grisebachii* (0,5 ml/día/ratón). Tiempo de exposición: 30 días. Se observa degeneración hidrópica (asterisco) y necrosis de hepatocitos alrededor de vena central (estrella), así como dilatación de capilares sinusoides (flecha). Hematoxilina-eosina. 400X.

en los que produjo lesiones en hígado y estómago tras su administración oral ¹⁷. También se ha demostrado que el β -mirceno produce inducción de monooxigenasas hepáticas ¹¹ y del citocromo P450 ¹², por lo tanto sería inductor enzimático para el metabolismo de xenobióticos. Si bien no se pueden atribuir a este último todos los efectos tóxicos aquí observados, probablemente participó en la inducción de las lesiones constatadas. Otros autores comprobaron que un terpeno aislado en hojas del vegetal *Eupatorium adenophorum* causa hepatotoxicidad y colestasis en ratas, con áreas focales de necrosis celular, así como proliferación y dilatación de los conductos biliares ⁵.

Sesquiterpenos de plantas del género *Ferula* incrementarían la permeabilidad de cationes divalentes en la bicapa lipídica de membrana celular y de mitocondrias ¹. Esta ganancia de solutos en el interior de la célula se acompaña de un aumento isosmótico de agua y consiguiente tumefacción celular; si estas alteraciones persisten en el tiempo se produce necrosis celular ⁸. Es probable que los terpenos identificados en *Senecio grisebachii* ejerzan un efecto semejante, que justifique los cambios degenerativos y necróticos observados en el hígado de los animales tratados.

Los resultados de este trabajo demuestran que los componentes volátiles de *Senecio grisebachii* ejercen una acción tóxica sobre el hígado. Es probable que las lesiones causadas por los terpenos potencien o faciliten los efectos de los alcaloides pirrolizidínicos que inducen la megalocitosis hepática.

Abstract

Romero, A.; Zeinsteger, P.; Teibler, P.; Montenegro, M.; Ruiz de Torrent, R.; Ríos, E.; Acosta de Pérez, O.: Hepatic damage induced by volatile components of *Senecio grisebachii* (margarita del campo or primavera) in mice. Terpenes are volatile components found in *Senecio grisebachii*, being constituents of the essential oil. Some of them are used in food, cosmetic and cleaning industries. The aim of this study was to investigate the effects of these components on mice liver. An aqueous extract from fresh flowers of *Senecio grisebachii*, which contains terpenes, was administered to mice (n=10), 0.5 ml/mouse/day *per os* during 30 days. Controls only received water. Ten days after the beginning of the assay, animals had soft stools, hirsute hair, dehydration, and after 30 days they were lethargic and had slow and wobbling movements. Mice were anesthetized with ether and then euthanized to obtain tissue samples from the liver. For microscopical examination, tissue was processed routinely and embedded in paraffin, and 5 μ m sections were stained with hematoxylin and eosin. Histopathological findings showed ballooning and hydropic degenerations, and centrilobar and periportal necrosis as well as congestion and disorganization of the parenchyma structure. Results indicate that terpenes from *Senecio grisebachii* are toxic for the liver.

Key words: *Senecio*, terpenes, liver, toxicity, mouse.

REFERENCIAS

1. Abramov AY, Zamaraeva MV, Hagelgans AI, Azimov RR, Krasilnikov OV. 2001. Influence of plant terpenoids on the permeability of mitochondria lipid bilayers. *Chem. Toxicol.* 51: 36.
2. Araya O, Gonzalez S. 1979. Intoxicación de caballos con *Senecio erraticus*. *Gaceta Vet.* 346: 743.
3. Araya O, Illanes O, Wittwer F. 1986. Seneciosis en novillos después de la exposición natural a la ingestión de *Senecio erraticus*. *Vet. Arg.* 21: 62–67.
4. Blood DC, Radostis MO. 1992. *Medicina Veterinaria*, 7^o ed., Interamericana, México, p. 1441–1451.
5. Bharwaj R, Singh A, Sharma OP, Daura RK, Kurade NP, Mahato SB. 2001. Hepatotoxicity and cholestasis in rat induced by the sesquiterpene, 9-oxo-10,11-dehydrogeraphorone, isolated from *Eupatorium adenophorum*. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 15: 279–286.
6. Brook MP, McCarron MM, Mueller JA. 1989. Pine oil cleaner ingestion. *Ann. Emerg. Med.* 18: 391–395.
7. Carrillo BJ, Casaro A, Ruksan B, Okada KA. 1976. Intoxicación de bovinos con *Senecio tweediei*. *Med. Vet. Univ. SP* 3: 131–136.
8. Cotran RS, Kumar V, Collins T. 2000. Patología Celular I: Lesión y muerte celulares. En: *Robbins Patología estructural y funcional*, 6^o ed., McGraw-Hill, México, p. 4–18.
9. Cushny AR, Watt HE. 1920. Senecio poisoning. *Lancet* 1: 1089–1090.
10. Davis CL. 1957. *Senecio* poisoning in cattle. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 130: 335–336.
11. De-Olivera AC, Ribeiro-Pinto LF, Otto SS, Gonçalves A, Paumgarten FJ. 1997. Induction of liver monooxygenases by beta-myrcene. *Toxicol.* 124: 135–140.
12. Freitas JC, Presgrave OA, Fingola FF, Menezes MA, Paumgarten FJ. 1997. Effect of beta-myrcene on pentobarbital sleeping time. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 26: 519–523.
13. Gallo GG. 1987. *Plantas tóxicas para el ganado en el Cono Sur de América*, 2^o ed., Hemisferio Sur, Buenos Aires, p. 213.
14. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. 1985. *Patología de los animales domésticos*. 3^o ed., Hemisferio Sur, Buenos Aires, p. 402–602.
15. Lloyd JR. 1957. The use of a liver function in the prognosis of ragwort poisoning in cattle. *Vet. Rec.* 25: 623–625.
16. Morales ECF. 1952. Contribuição ao estudo químico-toxicológico do *Senecio brasiliensis*. *Tese Livre-Docencia*, Universidade de Sao Paulo, Brasil, p. 28–31.
17. Paumgarten FJ, Delgado IF, Alves EN, Nogueira AC, De-Farias RC, Neubert D. 1990. Single dose toxicity study of beta-myrcene, a natural analgesic substance. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 23: 837–847.
18. Pethrich WH. 1906. Special report on Pictou cattle disease. *Canada Department of Agriculture*, Canadá, p. 21.
19. Podesta M, Tortora JL, Moyna, P, Izaguirre PR, Arrihaga G, Altamirano J. 1977. Seneciosis en bovinos, su comprobación en el Uruguay. *Vet.* 64: 97–112.
20. Teibler PG, Rios E, Zeinsteger PA, Acosta de Perez O, Castellanos MG, Leiva L, Jorge NL, Gomez Vara ME.

2001. Estudios de toxicidad del *Senecio grisebachii* en ratones e identificación de componentes volátiles potencialmente tóxicos. *Acta Toxicol. Argent.* 9: 86–91.
21. **Venzano AJ, Vottero DAJ.** 1982. Toxicidad de dos especies de *Senecio* en bovinos. *Med. Vet.* 63: 426–438.
22. **Walker KH, Kirkland PD.** 1981. *Senecio lautus* toxicity in cattle. *Aust. Vet. J.* 57: 1–7.
23. **Wilmont FC, Robertson GW.** 1920. *Senecio* diseases or cirrhosis of the liver caused by *Senecio* poisoning. *Lancet* 1: 48–49.

Asociación Iberoamericana Multidisciplinaria de Enfermedades Transmisibles

Primeras Jornadas Internacionales de Zoonosis

Primeras Jornadas Pedagógicas sobre la Práctica Profesional en el área de la Salud

05, 06 y 07 de Noviembre de 2003

Organizadas por Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales e Instituto de Medicina Regional, UNNE. Patrocinadas por Universidad Nacional de Misiones, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales; Instituto del Profesorado Antonio Ruiz de Montoya (Posadas, Misiones); Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Veterinaria de Esperanza, Santa Fe; Universidad Comunitaria Regional de Chapecó, Centro de Ciencias de la Salud (Educación Física, Enfermería, Bioquímica y Farmacia) Santa Catarina, Brasil.

OBJETIVOS

Actualizar los conocimientos científicos sobre las enfermedades transmisibles de importancia sanitaria en la búsqueda de armonía y fortalecimiento del desarrollo social. Construir una visión interdisciplinaria y comprensiva para el abordaje de las zoonosis más frecuentes. Desarrollar las acciones previstas sobre principios de solidaridad, equidad y respeto, contribuyendo a una mejor calidad de vida. Generar un espacio para el intercambio de experiencias pedagógicas en el área de la salud. Concretar el intercambio de experiencias a partir de la reflexión de la propia práctica profesional desde la perspectiva científica.

DESTINATARIOS

Docentes, profesionales y alumnos de las carreras del área de la Salud y Medio Ambiente, Medicina, Veterinaria, Bioquímica, Farmacia, Educación Física, Ciencias Ambientales, Geografía, Biología, Enfermería y Kinesiología.

EJES TEMATICOS

Enfermedades Endémicas: Chagas, Toxoplasmosis, Leishmaniasis, Leptospirosis. Enfermedades Emergentes y Reemergentes: Tuberculosis, Rabia, Dengue, Fiebre Amarilla, Hepatitis. Enfermedades transmitidas por alimentos: Botulismo, Salmonelosis, Cólera. Zoonosis: Parasitarias, Bacterianas, Víricas. Saneamiento Ambiental: Medio Ambiente y Salud, Agua y su importancia en la salud. Experiencias pedagógicas en docencia, investigación y extensión en el área de la salud. Propuestas pedagógicas resultantes de los distintos enfoques sobre el cuerpo y el movimiento para la prevención, promoción y recuperación de la salud.

DISERTANTES INVITADOS

Dr. Daniel Salomon (Argentina), Dra. María Assunta Bussato (Brasil), Dr. Tomas Orduna (Argentina), Dra. Cristina Wisnivesky (Argentina), Dr. Jorge Gorodner (Argentina), Dr. Sergio Sosa Estani (Argentina), Dra. Antonieta Arias (Paraguay), Dr. Norberto Morán (INPPAZ) (Argentina), Dr. Albino Belotto (OMS/OPS Washington), Dra. Alicia Alito (INTA Castelar Argentina), Dr. Alfredo Seijo (Argentina), Dr. Olindo Martino (Argentina), Dra. Delia Enría (Argentina), Dra. Elba L. Weber (Argentina), Dr. Eduardo Zerba (Argentina), Dr. Ramón De Torres (Argentina).

PRESENTACIÓN DE POSTERS

Se aceptarán presentaciones en poster, de 1,20 x 1 m. Los resúmenes se recepcionarán hasta el 15 de septiembre de 2003. Extensión máxima en 1 carilla en hoja tipo A4, letra Times New Roman 12, margen superior 3 cm, inferior 2 cm, izquierdo 3 cm, derecho 2 cm. Al menos un autor debe estar inscripto a las jornadas. El autor del póster podrá exponer durante 5 minutos los fundamentos de su exposición.

ARANCELES

Profesionales \$ 60. Socios AIMET y Docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias \$ 50. Estudiantes con derecho a certificado y actividades sociales \$ 20. Alumnos sin certificado: Entrada libre. Contacto: Dr. Gabriel Marder - Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE - Sargento Cabral 2139 - (3400) Corrientes, Argentina. E-mail: patcom@vet.unne.edu.ar o gabrielmarder@yahoo.com.ar o prajornadas@yahoo.com.ar o jornadazoon@yahoo.com.ar