

Estudios preclínicos de cucurbita máxima (semilla de zapallo) un antiparasitario intestinal tradicional en zonas urbano rurales.

Daysi Díaz Obregón¹, Luis Lloja Lozano², Victor Carbajal Zúñiga³

RESUMEN

Estudio experimental realizado en los laboratorios de Parasitología y Química de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna

El proceso involucró dos fases: 1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cucurbita máxima como antiparasitario, se usó tenias caninas con tiempo 5 a 6 horas de aislamiento intestinal y 2. Determinación de la Reacción adversa de Cucurbita máxima en ratas albinas expuestas. Se halló que la CMI de semilla de zapallo a razón de 23 g. en 100 ml de agua destilada es capaz de producir un efecto antihelmíntico, concentración equivalente a ± 73 semillas de zapallo ($\chi^2 = 5.6$, $P < 0.01$).

Macroscópicamente a dosis de 23 g. a más se hallan alteraciones en la motilidad del helminto, hay un efecto proteolítico con un tiempo promedio de supervivencia de 38.4 minutos. Microscópicamente los proglótidos maduros presentan destrucción del tegumento con compromiso de la membrana basal. En los proglótidos grávidos hay destrucción de huevos, hallazgos mucho más acentuados a concentraciones de 30 y 32 g. de cucurbita experimentados.

Se halló gastritis no erosiva superficial en ratas weys a dosis de 9 g/kg posterior a las 4 horas de administración

PALABRAS CLAVE: CMI, Cucurbita máxima, antiparasitario, reacción adversa

SUMMARY

Experimental research was carried out at the Parasitology and Chemistry laboratories of the Jorge Basadre Grohmann National University, in Tacna.

The process involved two phases: (1) determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of Cucurbita Maxima as an antiparasitic agent using canine tapeworms with an intestinal isolation of 5 to 6 hours, and (2) determination of the side-effects of Curbita Maxima on exposed albino rats.

It was found that the MIC of 23 gr. of pumpkin seed in 100 ml. of distilled water can produce an antihelminthic effect. This concentration is equivalent to ± 73 pumpkin seeds ($\chi^2 = 5.6$, $p < 0.01$). Macroscopically, alterations in helminthic motility are present at a dose of > 23 gr. There is a protheolithic effect with an average survival time of 38.4 minutes.

Microscopically the mature proglottids present a destruction of the tegument involving the basal membrane. In the gravid proglottids there is egg destruction. These findings are accentuated when experimenting with Cucurbita Maxima in a concentration of 30 and 32 gr.

Superficial non-erosive gastritis was found in weys rats after 4 hours of administering 9 gr/kg.

KEY WORDS: MIC, Cucurbita Maxima, antiparasitic agent, side effects.

- 1 Residente de Cirugía General del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins (HNERM) – Lima
2,3 Catedrático de la Facultad de Medicina de la Universidad Jorge Basadre Grohman - Tacna

INTRODUCCIÓN

La parasitosis intestinal cobija altas prevalencias en nuestro país desde 47% en Cañete (1-4) a 94% a más en Cuzco, Arequipa, Lima, Tacna, Junio (5, 6, 7, 8, 9) y en la selva se describe un 78.4% (10). No obstante a pesar de la existencia de estos organismos no ha sido posible en nuestro país y en las demás naciones subdesarrolladas, la asistencia real y eficiente de salud de nuestros pobladores, tanto en la ciudad como en los centros de producción y siendo aún más deficitario en las zonas rurales y en aquellos pueblos o grupos humanos que viven ajenos de los que ocurre en la metrópoli.

Las cucúrbitas, plantas dicotiledoneas, herbáceas, comúnmente denominadas calabazas, llevan en su composición química (específicamente del zapallo macre); ácido salicílico, grasa 35-36%, importantes cantidades de calcio, hierro y potasio (12). Las semillas contienen propiedades antihelmínticas, tenifuga, vermífuga, cuyo principio activo, se cree que es la fitosterolina. Además las semillas de cucúrbita máxima (semilla de zapallo) contiene cristales globoides de proteínas, isozimas, hormonas vegetales, saponinas, triterpenoides pentacíclicos entre otros. Considerando que la semilla de zapallo goza de una gran accesibilidad económica y distribución geográfica en nuestro país; y ante el uso empírico relativamente frecuente como antiparasitario en nuestra población (12,16), y la escasez de reportes científicos sobre la acción antiparasitaria de ésta cucúrbita, creemos que es meritorio determinar la concentración Mínima Inhibitoria y la existencia de alguna reacción adversa que pudiera depender de esta cucúrbita en estudio, complementando así nuestra investigación con el análisis histopatológico del tubo digestivo de ratas expuestas.

HIPÓTESIS DE ESTUDIO

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cucúrbita máxima es baja en gramos y la reacción adversa en ratas de experimentación estaría presente a dosis muy altas de consumo.

OBJETIVO GENERAL

Brindar una alternativa terapéutica con el uso de Cucúrbita máxima (semilla de zapallo ante la parasitosis intestinal prevalente en nuestra región.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar experimentalmente la concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del preparado estandarizado in vitro.
- Investigar la reacción adversa de Cucúrbita máxima a nivel del tubo digestivo de ratas de experimentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente es un estudio experimental, realizado en la ciudad

de Tacna, en los laboratorios de Parasitología Microbiológica y Química de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna. Realizada en el periodo de un año en 3 fases:

FASE 1: DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE CUCURBITA MAXIMA (semilla de zapallo) como antiparasitario.

Muestra : * Tenías caninas vivas con un tiempo menor a 6 horas de aislamiento intestinal.

Procedimiento: El proceso consta de dos etapas.

ETAPA I: OBTENCIÓN DE DISOLUCIÓN ESTÁNDAR DE CUCURBITA MAXIMA.

Se obtuvo zapallos macre, de los cuales se aisló las semillas, que fueron desecadas bajo el sol, luego se separó cuidadosamente el episperma para luego ser triturados en un mortero.

100 g. de la semilla triturada fueron sometidos a extracción de un concentrado de cucúrbita Máxima por arrastre de vapor, logrando obtener 100 ml de una disolución estándar de semilla de zapallo, caracterizada por ser incoloro y con un intenso aroma "sui géneris". Dicho preparado fue sometida a diversas diluciones para hallar la concentración mínima inhibitoria (CMI) como antiparasitario.

ETAPA II: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA (CMI) DE SEMILLA DE ZAPALLO COMO ANTIPARASITARIO.

Se sacrificó perros de los cuales se aisló tenias caninas (*Diphylidium caninum*) vivas con un tiempo de aislamiento intestinal menor a seis horas; tales céstodos vivos fueron separados en grupos de 7 donde cada uno fue expuesto a las diferentes diluciones de Cucúrbita máxima preparados a partir de una disolución estándar de extracto de 100 g. de Cucúrbita máxima / 100 ml de agua destilada por arrastre de vapor.

Las diluciones realizadas fueron las correspondientes a 5, 10, 15, 20, 25 y 30 g. de cucúrbita / 100 ml. de agua destilada y además se realizó diluciones detalladas de 21, 22, 23 y 24 g. de cucúrbita. Se tubo un grupo control de 7 céstodos donde se usó CNa al 9^o/oo.

La acción antihelmíntica fue valorado macroscópicamente por: la observación de alteraciones en la motilidad del helminto, proteólisis y muerte del mismo. Y microscópicamente por alteración del tegumento, membrana basal, estructuras internas y ruptura de la cáscara de huevo de proglótidos maduros y grávidos. Para tal efecto se realizó la técnica de fijación, coloración con Carmín clohídrico alcohólico, decoloración con alcohol ácido, deshidratación con diversas concentraciones de alcohol, aclaramiento en Xilol y montaje permanente con bálsamo de Canadá de los proglótidos expuestos. Para evitar variables de confusión como la supervivencia del helminto por estar fuera de su hábitat (temperatura, alimento) es que se realizó tan sólo 120 minutos de observación.

FASE II : DETERMINACION DE LA REACCION ADVERSA DE CUCURBITA MAXIMA EN RATAS EXPUESTAS.

Muestra : * Ratas weys de 3 meses de edad, con peso de 140 g. a 150 g. con un estándar de alimentación previo, del bioterio de la Facultad de Parasitología de la UNJBG – Tacna (N=189).

Procedimiento : Las ratas weys previamente seleccionadas por peso de 140 a 150 g. y 3 meses de edad fueron separadas en series de 7 para la administración por sonda orogástrica de almendra de semilla de zapallo triturado diluida en agua a dosis de : 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 g/kg de peso. Toda la población de roedores fue sacrificada para el análisis anatómopatológico del tubo digestivo a la segunda, cuarta, sexta y octava hora posterior a la administración de la dosis respectiva. Se observó los cambios macroscópicos e histopatológicos en la mucosa gástrica y primera porción del duodeno.

RESULTADOS

Las alteraciones de motilidad helmíntica expuesta a los preparados de Cucúrbita máxima observados en el Cuadro 1 fueron leves y esporádicos a concentraciones de 21 y 22 g. sólo en el 28.6 y 42.9%, respectivamente, contracciones intensas se iniciaron al minuto y medio a concentraciones de 23, 24 y 25 g. en más del 57.15% de los helmintos expuestos.

La muerte del helminto se evidencia en el 57.1% a 23 g, 85.7% a 24g. y 100% a 25 g. de Cucúrbita máxima / 100 ml de agua destilada.

La acción antihelmíntica de Cucúrbita máxima (semilla de zapallo) en tenias caninas vivas aisladas del tubo intestinal comparadas con su control en suero salino a concentraciones de 21 y 22 g. de Cucúrbita no fueron significativas, siendo altamente significativas a partir de 23 g/100 ml. de agua destilada ($\chi^2 = 56, P < 0.01$) (Tabla 1,2).

CUADRO 1
ACCIÓN ANTIHELMÍNTICA DE CUCURBITA MÁXIMA (SEMILLA DE ZAPALLO) EN TENIAS CANINAS

Acción Antihelmíntica	CONCENTRACIÓN DE CUCURBITA MÁXIMA (g/100 ml DE AGUA DESTILADA)						
	0	20	21	22	23	24	25
	–	–	(a)	(b)	*	*	*
-Alteración en la Motilidad del helminto (contracción Espasmódica)			leve esporádico	leve	intenso +	intenso ++	intenso ++
- PROTEOLISIS * Formación de "Vesículas" en el cuerpo del helminto	–	–	–	Dudoso	Presentes +	Presentes ++	Presentes ++
* Formación de "Arenilla" en la base de placa petri	–	–	–	±	+	++	++
- MUERTE DEL HELMINTO (N=7) N: 7	0	1 14.3%	2 (28.6%)	3 (42.85%)	4 (57.1%)	6 (57.1%)	7 (100%)

a y b - Cambios que se observaron + a los 5 minutos y sólo en el 28.6 y 42.9% respectivamente.

* - Cambios que se observaron al minuto y medio. En más del 57.15% de helmintos expuestos.

CUADRO 2. - EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIHELMINTICO DE LAS SEMILLAS DE CUCURBITA MÁXIMA EN TENIAS CANINAS (OMI)

SUST. ESTUDIADA	ÉXITO		FRACASO		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
CUCURBITA MAXIMA						
23 g/100ml agua destilada	4	57.1	3	42.94	7	100.0
Placebo	0	0.0	7	100.0	7	100.0
Total	1	28.6	10	71.4	14	100.0

$\chi^2 = 5.6$
P > 0.01

El tiempo de supervivencia de las tenias caninas expuestas a la concentración de 23 gr. de extracto de la Cucúrbita, tuvo un promedio de 38.4 minutos (Desviación estándar \pm 10.01 minutos), lapso durante el cual el parásito presentó contracciones espasmódicas al minuto y medio de observación, contracciones que se hicieron sostenidas a los 10 minutos logrando reducir una longitud de 12 cm a 4 cm del helminto, a los 38.4 minutos prosiguió la relajación total (post mortem) pudiendo observar la formación de "vesículas" en el cuerpo del céstodo, además se apreció una especie de "arenilla" fina y blanquecina en la placa petri. Tiempo de supervivencia que disminuyó gradualmente a mayor concentración de Cucúrbita usada.

De tales experiencias desprendemos que la concentración mínima inhibitoria como antihelmíntico de Cucúrbita máxima es 23gr. siendo altamente significativa a la observación microscópica de las muestras expuestas a 23, 24 y 25 gr. de cucúrbita revelan gran destrucción del tegumento, parenquima y tejido mesenquimatoso, además en proglótidos grávidos se observa ruptura de las cápsulas ovígeras y cáscara de los huevos (Foto 1,2).

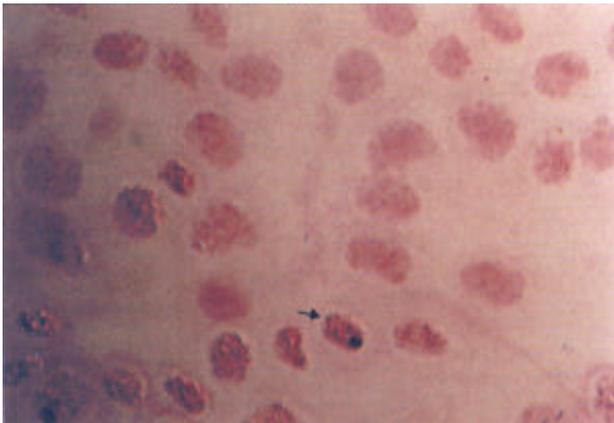


FOTO 1: HUEVOS DE DIPHYLIDIUM CANINUM EXPUESTAS A 24 g. DE CUCÚRBITA, Se aprecia los huevos destrozados, con apariencia de "deseccación"

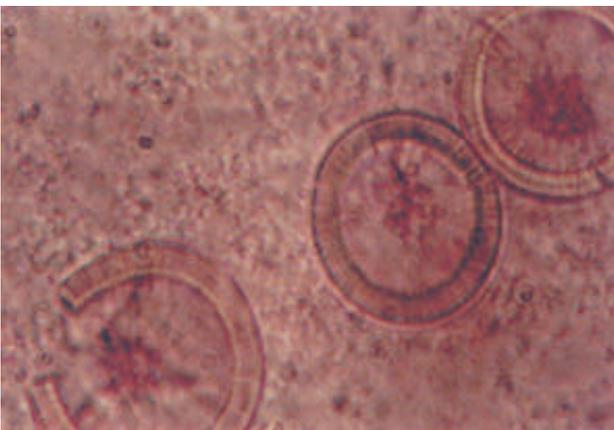


FOTO 2: HUEVO DE TENIA CANINA EXPUESTA A 25 g. DE CUCÚRBITA. Además del huevo claramente afecto, se aprecia grietas en los otros huevos.

Este hallazgo aperturan el uso de Cucúrbita máxima (semilla de zapallo) como antiparasitario, bajo la seguridad y éxito demostrado en su CMI de 23 gr. de almendra equivalente a 73 semillas de zapallo. En relación a la reacción adversa se evidenció la producción de gastritis a dosis mayor e igual a 9 gr/kg de peso de Cucúrbita máxima posterior a las 4 horas de administración de dicho preparado.

Los cambios histopatológicos a la dosis de 9 g/kg fueron correspondientes a una gastritis no erosiva superficial, encontrándose una reacción linfoplasmocitaria leve que abarca el tercio basal de la mucosa gástrica (Foto 3, 4). En tanto que se pudo observar una relación directa entre la mayor concentración usada (15 g/kg de peso) y la severidad linfoplasmocitaria que abarca los 2/3 tercios inferiores de la mucosa con escasa esfacelación, conservándose todavía la estructura normal.

La producción de gastritis leve a dosis de 9 g/kg de peso posterior a las 4 horas de la toma, es altamente significativa ($\chi^2 = 56$, $P > 0.01$) (Tabla 3); dosis equivalente a 630 g. de semillas de Cucúrbita máxima para un hombre de 70 kg.

CUADRO 3

PRODUCCIÓN DE GASTRITIS A LAS 4 HORAS DE ADMINISTRACIÓN DE CUCURBITA MÁXIMA (g/kg de Peso)

DOSIS CON GASTRITIS		SIN GASTRITIS		TOTAL
g/kg de Peso				
>9	28	—		28
>9	—	28		28
	28	28		56

$\chi^2 = 56$
 $P < 0.01$

DISCUSIÓN

El fenómeno de migración del campo a la ciudad, la recesión económica actual del país que comienza a incidir en el deterioro del nivel de salud de la comunidad y la predominante población infantil, hace que la parasitosis intestinal eleve su fuente de transmisión y reproducción, alcanzando prevalencias altas de monoparasitismo en 73.7%, en Junín (9), y un poliparasitismo de 60.6% en Arequipa (11). El grupo más afecto es el comprendido entre los 6 y 9 años (5, 6, 9). Datos muy relacionados con la procedencia de barrios marginales, deficiencia higiénico – sanitaria, así como la ausencia de servicios básicos de salud en nuestra sociedad, hacen que la parasitosis sea un flagelo silencioso de nuestra población que en la niñez además arrastrará una deficiencia nutricional y un desarrollo psíquico inapropiado para la salud y en el adulto se reflejará la alteración de su capacidad laboral.

Estos múltiples efectos negativos de la infección parasitaria intestinal sobre el estado nutricional (pérdida de apetito, mala absorción, capacidad deficitaria para la absorción de sustancias específicas, acción enzimática de los parásitos, pérdidas sanguínea competencia huésped-parásito por la materia alimenticia, actividad peristáltica alterada y cambios patológicos en la circulación portal (13, 14) podrían ser compensados con una relativa abundancia de alimentos (15).

Flores (12) evaluó la eficacia antioxiurática de las semillas de Cucurbita máxima, donde dosis de 15 g. de almendra en 2 tomas diarias y por tres días lograba en efectividad del 75% dosis inferiores de 600 mg fueron utilizadas por Peralta (16) logrando una efectividad de 16.67% sin significancia estadística. Nuestro hallazgo suma el efecto activo antiparasitario, de esta Cucurbita con una dosis estándar de inicio a partir de su CMI de 23 gr. de almendra preparada y habiendo comprobado su efectividad a nivel microscópico con destrucción del tegumento, membrana basal y parénquima de los céstodos experimentados.

La producción de gastritis a dosis altas 9 g/kg de peso de Cucurbita máxima equivalente a 630 g. semilla de zapallo en una persona de 70 kg. nos brinda un amplio rango de seguridad para su uso. En el estudio también se analizó cortes histológicos de riñón e hígado de ratas expuestas conservando su estructura normal.

CONCLUSIONES

1. La concentración Mínima Inhibitoria de Cucurbita Máxima (semilla de zapallo) como antiparasitario es 23 gr. de semilla.
2. Gastritis leve es la reacción adversa derivada de la administración de semilla de zapallo a dosis de 9 gr/kg de peso en ratas de experimentación.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios similares al presente para evaluar el efecto antiparasitario de Cucurbita máxima frente a protozoos.
2. Difundir el uso de la Cucurbita máxima como terapia antioxiurática a dosis de su CMI; 23 g.

BIBLIOGRAFIA

1. OBREGÓN, L. "Influencia de la medicina tradicional en el Distrito de Socabaya 1986". Tesis para optar el grado de bachiller en Medicina UNSA.
2. ECHEGARAY, M. "Estudio de la influencia de la Medicina Tradicional en el Pueblo Joven 15 de Agosto – Paucarpata 1988". Tesis para optar el grado de bachiller en Medicina UNSA 1988.
3. EVANS, A. STEPHENSON L. "Lucha contra la Helminthiasis: Los medicamentos no bastan" Foro Mundial de la Salud Vol. 16 1995.
4. SALAS, R; RODRÍGUEZ, J.: "Estudio de Parasitosis intestinal en niños del distrito de Calango – Cañete. Boletín Peruana de Parasitología Vol 12 1997.
5. CÁRDENAS F.: MARTÍNEZ, E: "Parasitismo Intestinal es escolares de nivel primaria de la localidad de Espinar" – Cuzco". Boletín Peruana de Parasitología Vol. 12 1996.
6. RODRÍGUEZ, H.; MARTÍNEZ, E.: "Prevalencia de Helminthos Intestinales en escolares de nivel Primario de Quillabamba – Cuzco Boletín Peruano de Parasitología Vol. 12 1997.
7. SISNIEGAS, W.; MARTÍNEZ, E.; LIU, M.; Parasitismo Intestinal en la población escolar en la localidad de Chala Caraveli – Arequipa Boletín Peruano de parasitología Vol. 12 1992.
8. VERANO, R.; MORALES, E. Enteroparasitosis en alumnos de los centros escolares que "Quebrada Verde". Distrito de Pachacamac, provincia de Lima. Boletín Peruano de Parasitología 1997.
9. MARTÍNEZ, P.: "Parasitosis Intestinal en un distrito de la Sierra Central". Sociedad Peruana de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Vol. 7 Julio 1998.
10. PACHAS, M. "Parasitosis en pacientes del Policlínico y Hospital Zonal Iquitos del IPSS". II Congreso Peruano de Parasitología. Trujillo Vol. 7 Julio 1995.
11. VELÁSQUEZ, R.; FERNÁNDEZ, C. NEYRA M: "Prevalencia de entero parásitos en pacientes de laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa" Perú de 1994 – 1996. Boletín Peruano de Parasitología. Vol. 12 1997.
12. FLORES, J.; "Eficacia antioxiurática de Cucurbita máxima (zapallo), Corica (papaya), Portulaca o lerócea (verdolaga) en escolares de nivel primario, Juliaca – Puno Tesis para optar el Grado de Bachiller en Medicina UNSA 1996-.
13. Who Technical Report Series 666. Intestinal Protozoan and Helminth infections Report of a WHO Scientific Group World Health Organization Geneva 1981.
14. STEPHENSON, L.; CROMPTON, D.W. LATHAM, M; Relación Ships Between Ascaris infection and growth of malnourished preschool children in Kenya. The American Journal of Clinical Nutrition 33, 1165, 1175 – 1980"
15. BERLIN, E: Parásitos y nutrición Dinámica de la Salud entre los Aguarunas – Jivaro Amazonía Peruana. Paf. 51 – 58. 1982
16. PERALTA, V.: Oxiuriasis y estudio clínico, epidemiológico de la oxiuriasis y evaluación terapéutica de las semillas de Cucurbita máxima (zapallo) Distrito de Acari – Caraveli. Tesis para optar el Grado de Bachiller en Medicina (UNSA. 1988).
17. PACHAS MILCIADES,: Determinación de la Dosis Letal SO de oje en al Lombric de Tierra (limbricus terrestris) "II Congreso Peruano de Parasitología" Julio 1995.