

PERSEA CAERULEA: UNA ALTERNATIVA PARA LA REGENERACIÓN DE HERIDAS

Dr. Juan Carlos Rodríguez Soto^{1,2}

Dr. Juan Roger Rodríguez Ruiz³

Mg. Marisol Contreras Quiñones^{2,3}

MsC. Claudio Eduardo Quiñones Cerna²

Dr. William Benjamín Ruiz Chang⁴

MsC. Roxana Elizabeth Ramírez Reyes¹

MsC. Alvaro David Rodríguez Salvatierra¹

1. Universidad César Vallejo, Escuela de Medicina, Trujillo, Perú

2. Universidad Nacional de Trujillo, Laboratorio de Citometría, Departamento de Ciencias Biológicas, Trujillo, Perú

3. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Instituto de Investigación, Chimbote, Perú

4. Universidad Privada Antenor Orrego, Instituto de Investigación, Laboratorio de Biología Celular y Molecular y Bioquímica, Trujillo, Perú

Correspondencia:

Dr. Juan Carlos Rodríguez Soto

Av. Juan Pablo s/n Campus Universitario. Trujillo-Perú. Teléfono: 0051-944623525

Email: jrodriguezsa@unitru.edu.pe

Recibido: 2/4/2022

Aceptado: 19/5/2022

RESUMEN

La regeneración de tejidos frente a heridas de diferente índole como quemaduras, continúa siendo hoy en día un tema de interés y creciente investigación al determinarse que el tiempo que demanda es esencial para la salud y vida del paciente. El objetivo del presente estudio fue evaluar el uso de *Persea caerulea* como una alternativa para la regeneración de heridas, empleando como modelo biológico *Girardia festae* bajo condiciones de laboratorio. Se colectó y determinó taxonómicamente tanto la especie vegetal como al platelminto modelo; se prepararon extractos al 0,4%; 0,2%; 0,1% y 0% de *P. caerulea* y siguiendo un diseño experimental en bloques totalmente aleatorizados se procedió a evaluar su efecto en siete tipos de fragmentos de *G. festae*, incluyendo una población de 280 fragmentos. Los resultados obtenidos se muestran promisorios para continuar estudios en modelos más cercanos a los tejidos humanos. La concentración de 0,4% de *P. caerulea* redujo significativamente el tiempo de formación de blastema a 9,6 minutos en el fragmento cefálico y a 131,6 horas su conformación a individuo completo.

Palabras clave: *Persea caerulea*, regeneración, heridas, salud, *Girardia festae*

PERSEA CAERULEA: AN ALTERNATIVE FOR WOUND REGENERATION

ABSTRACT

The regeneration of tissues from wounds of different kinds such as burns, continues today to be a topic of interest and growing research when it is determined that the time it takes is essential for the health and life of the patient. The objective of this study was to evaluate the use of *Persea caerulea* as an alternative for wound regeneration, using *Girardia festae* as a biological model study under laboratory conditions. Both, the plant specie and the model flatworm were collected and taxonomically identified. Extracts of *P. caerulea* were prepared at 0.4%, 0.2%, 0.1% and 0% and following an experimental design of completely randomized blocks, we proceeded to evaluate its effect on seven types of fragments of *G. festae*, including a population of 280 fragments. The results obtained show promise to continue studies in models closer to human tissues. The 0.4% concentration of *P. caerulea* significantly reduced the blastema formation time to 9.6 minutes in the head fragment and its conformation to a complete individual at 131.6 hours.

Keywords: *Persea caerulea*, regeneration, wounds, health, *Girardia festae*

INTRODUCCIÓN

Cada año, más de 100 millones de personas sufren heridas de diferente índole, ya sea por quemaduras, accidentes diversos, intervenciones quirúrgicas o ruptura de tejidos, requiriéndose tratamientos efectivos y rápidos, lo que hace la cicatrización de heridas y regeneración de tejidos un desafío terapéutico constante. Muchos investigadores y comunidades médicas buscan mejorar el cuidado del paciente con heridas con miras a promover una mejor regeneración del tejido en tiempo y calidad (1).

Según la Organización Mundial de la Salud, cada año acuden aproximadamente 50 millones de personas a establecimientos hospitalarios con heridas producto solamente de accidentes de tránsito, siendo el rango de edad más preponderante entre 10 a 24 años de edad (2). En el Perú, según la Organización Panamericana de la Salud, las heridas producidas por los accidentes de tránsito constituyen un gran problema de salud pública, siendo los jóvenes los más afectados. En ciudades del Perú, como Lima, Trujillo, Arequipa y Chimbote, en los últimos años se han incrementado los accidentes y por lo tanto las heridas que causan, situación que influye directamente con la economía del país (3).

Las plantas medicinales, junto con otros remedios de origen animal y mineral, constituyen el primer arsenal terapéutico del que dispone el hombre para tratar sus dolencias, siendo la regeneración de tejidos un tema no ajeno a ello. En el Perú, un país denominado megadiverso por la inmensa riqueza de flora que posee (4), existe una gran variedad de plantas con propiedades terapéuticas que deben ser estudiadas a profundidad, pues solo se conocen sus propiedades por el conocimiento folclórico (5,6).

En la actualidad se han realizado diversos estudios acerca de la regeneración de tejidos (7,8,9), probándose diversos vegetales con propiedades antiinflamatorias y antisépticas. Dichas propiedades podrían colaborar con la regeneración de tejidos en virtud al contenido de flavonoides, triterpenoides y taninos, entre otros componentes químicos (10,11). Sin embargo, son pocos los estudios realizados con *Persea caerulea*, vegetal que reúne estos metabolitos que le confieren propiedades importantes para la regeneración de tejidos (12,13).

Persea caerulea es un árbol de aproximadamente 12 m de altura que se puede hallar desde ceja de selva peruana y gran parte de la selva amazónica, con la corteza externa oscura, interior rosa; ramas glabrescentes delgadas y hojas cartáceas alternadas; peciolo tomentoso-pubescentes y rojos; de inflorescencias paniculadas y axilares; de pedúnculos delgados rojizos y flores rojizas. Sus infrutescencias son múltiples con un cáliz persistente, esta es una drupa de forma globosa (12).

La corteza y las hojas de *P. caerulea* se emplean como cicatrizante, antiséptico, antiinflamatorio, antidiarreico y

vermífugo. El aceite extraído se aplica sobre la piel seca, previene el envejecimiento cutáneo y combate eczemas y psoriasis, artritis reumatoide y esclerodermia difusa (14). Estas propiedades han sido atribuidas a la corteza de *P. caerulea*, posiblemente por la presencia de β -sitosterol (esterol), escopoletina (cumarina), 5,7-dimetoxi-3',4'-metilendioxi epicatequina (flavanol) y la quinona 2,7-dimetoxi-5-hidroxi-6-(1-hidroxietil)-1,4-naftoquinona (12).

P. caerulea es empleado en la etnobotánica colombiana contra la artritis, hidropesía, antirreumático y antifúngico. De igual forma, el aceite se utiliza como ungüento para calmar el dolor y suavizar los tejidos en la gota; el fruto como carminativo y emenagogo; la cáscara del fruto como vermífuga, antidisentérica y en forma de infusión contra la blenorragia (14). Toda la información referenciada a su composición química nos permite suponer que *Persea caerulea* podría colaborar eficazmente con los procesos de regeneración tisular, lo que beneficiaría los procesos de curación de heridas, quemaduras y cicatrización.

La regeneración biológica se ha definido tradicionalmente como la capacidad que poseen ciertos organismos vivos para restaurar un tejido perdido o lesionado por causa accidental o fisiológica (15). La regeneración puede darse entonces a nivel celular, de tejido, de órgano, estructura e incluso del cuerpo entero, pero en algunos organismos la capacidad regenerativa es muy alta (16). De ahí la importancia de elegir un modelo biológico para trabajar los ensayos en condiciones de laboratorio. Uno de los modelos biológicos ideales para evaluar la regeneración de heridas son los platelmintos debido a su alta capacidad de regenerar sus tejidos. *Girardia festae* es una planaria de agua dulce que posee dicha capacidad de regeneración, lo que permite evaluar si el extracto de plantas influye positivamente en dichos procesos en un lapso de semanas (17,18,19,20).

Bajo lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el uso de *Persea caerulea* como una alternativa para la regeneración de heridas, empleando como modelo biológico *Girardia festae* bajo condiciones de laboratorio.

MÉTODOS

Diseño

Se realizó un estudio experimental siguiendo un Diseño Experimental en Bloques Completamente Aleatorizado, donde cada concentración de *Persea caerulea* (0%, 0,1%, 0,2% y 0,4%) constituyó un tratamiento y cada tipo de fragmento de *Girardia festae* asumió el papel de bloque. La población muestra la constituyeron 280 fragmentos de *G. festae* (21,22), en proporciones semejantes (fragmentos de parte superior e inferior, fragmento cefálico, medio

y caudal, y fragmento izquierdo y derecho). Dentro de cada bloque, cada tratamiento fue evaluado con 10 repeticiones.

Colectión y determinación de *Persea caerulea*

Se colectó *Persea caerulea* en la zona de Bagua Chica (Amazonas, Perú), con coordenadas de 5°39'02" LS; 78°32'15" LW. Posteriormente se determinó la especie en el Herbario Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo.

Colecta y crianza del modelo biológico

Se colectaron ejemplares del género *Girardia* en cuerpos de agua dulce en la zona de Conache (-8.124497, -78.958672), Laredo, Trujillo. Posteriormente se determinó la especie *Girardia festae* por la Sección de Zoología de la Universidad Nacional de Trujillo. En las instalaciones del Laboratorio de Citometría se realizó la crianza de los especímenes colectados controlando una temperatura promedio de 22 °C y humedad relativa promedio de 86%. Dos horas por día de aireación, alimentación con hígado fresco de pollo y un cambio de agua interdiario (23).

Obtención de los extractos (21,22)

La corteza de *P. caerulea* fue cortada en pequeños fragmentos y secada a estufa por 48 horas a 60 °C. Posteriormente con la ayuda de un mortero y tamiz se obtuvo un tamizado. Se preparó un extracto acuoso a razón de 4gr/L de agua, obteniéndose por dilución los diferentes tratamientos (0,4%; 0,2%; 0,1%; 0%).

Aplicación de los tratamientos

Los fragmentos de *Girardia festae* (superior, inferior, cefálico, medio, caudal, izquierdo y derecho) fueron obtenidos a partir de cortes transversal, doble transversal y longitudinal respectivamente. Posteriormente se enfrentó en grupos de 10 fragmentos a los diferentes tratamientos por un tiempo de 10 minutos (23).

Tabulación de resultados

Las variables evaluadas fueron el tiempo en minutos de formación del blastema y tiempo en horas de regeneración a individuo completo. Los resultados fueron tabulados y se procesó el análisis de varianza y el test de comparación de medias respectivas determinándose la presencia de diferencias significativas entre las concentraciones de *Persea caerulea* y entre los diferentes tipos de fragmento de *Girardia festae* (23).

Aspectos éticos

La ejecución del presente estudio siguió los aspectos de comportamiento ético de una investigación científica de esta naturaleza, evitando la depredación y uso excesivo de ejemplares de *Girardia festae*. Asimismo, el respeto a la fidelidad de los datos.

RESULTADOS

En la Figura 1 se observan los tiempos de regeneración (en horas) que demandó la regeneración completa de siete tipos diferentes de fragmentos de *Girardia festae*

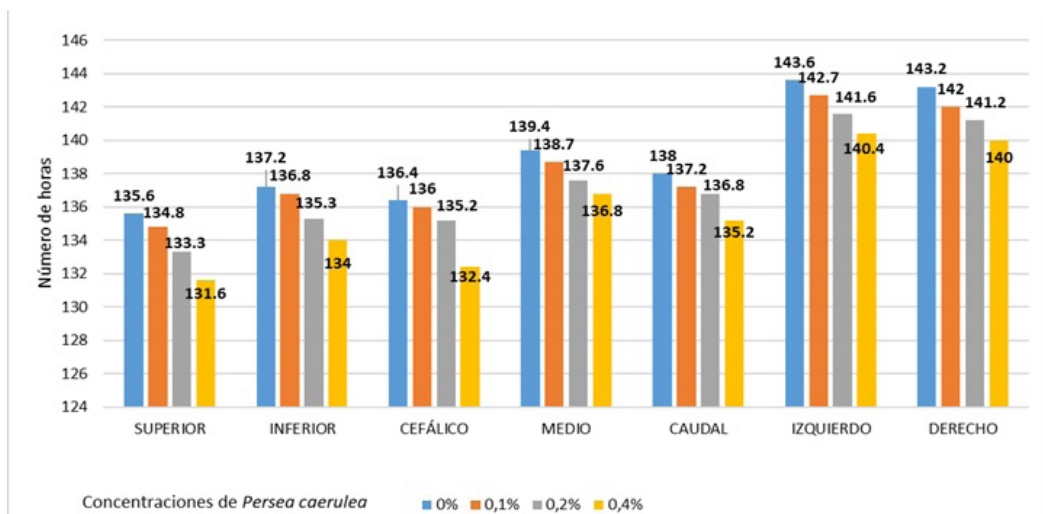


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de *Persea caerulea* sobre la regeneración de individuo completo (horas) de *Girardia festae*.

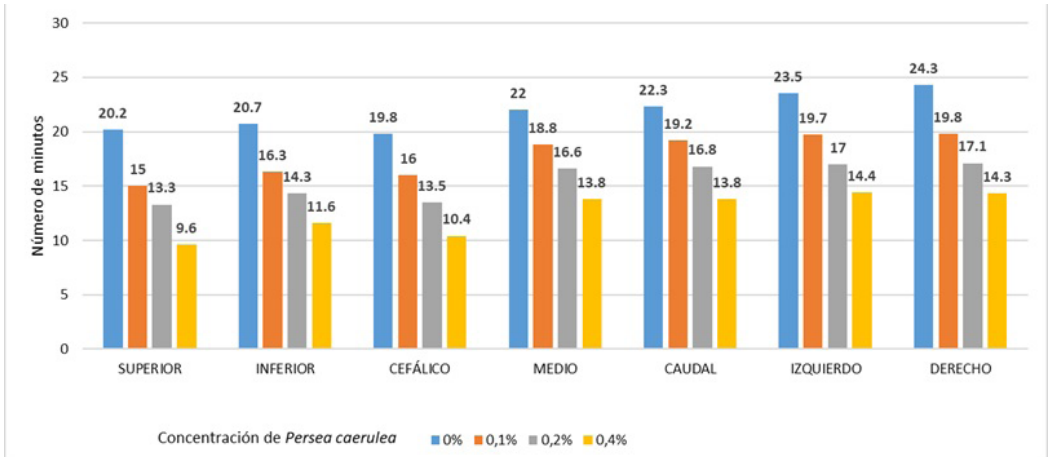


Figura 2. Efecto de diferentes concentraciones de *Persea caerulea* sobre la formación del blastema (minutos) de *Girardia festae*

(superior, inferior, cefálico, medio, caudal, izquierdo y derecho) sometidos a cuatro concentraciones de *Persea caerulea* (0,4%; 0,2%; 0,1% y 0%). Dentro de cada bloque (tipo de fragmento) cada color diferente indica la presencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Asimismo, se determinó la presencia de cinco grupos homogéneos donde el grupo que demandó menor tiempo incluye a los fragmentos superior y cefálico; le siguen los fragmentos inferior, caudal y medio como grupos individualizados y finalmente el grupo conformado por los fragmentos izquierdo y derecho.

En la Figura 2 se observan los tiempos de formación del blastema (en minutos) en los siete tipos diferentes de fragmentos de *Girardia festae* (superior, inferior, cefálico, medio, caudal, izquierdo y derecho) sometidos a cuatro concentraciones de *Persea caerulea* (0,4%; 0,2%; 0,1% y 0%). Dentro de cada bloque (tipo de fragmento) cada color diferente indica la presencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Asimismo, se determinó la presencia de dos grupos homogéneos donde el primer grupo, que demandó menor tiempo, incluye a los fragmentos superior, cefálico e inferior y el segundo grupo a los fragmentos caudal, medio, izquierdo y derecho.

DISCUSIÓN

La investigación en regeneración de tejidos empleando modelos biológicos como las planarias ha evolucionado mucho en los últimos años y los resultados positivos a este nivel nos permiten llevar dichos resultados a modelos más cercanos a humanos bajo una línea de comportamiento ético en estos temas. Las planarias pueden regenerarse en pocos días al sufrir cambios drásticos

en su cuerpo; y ese proceso se inicia con la formación de un tejido especial denominado blastema. Esta notable capacidad morfológica las convirtió en el modelo inicial ideal para el estudio de diferentes sustancias que promuevan fenómenos como la morfogénesis, polaridades y restauración de patrones y la homeostasis tisular (20,24).

En la Figura 1 se observan los tiempos de regeneración de siete tipos de fragmentos a individuo completo (en horas) por efecto de cuatro concentraciones de *Persea caerulea*. Dentro de cada tipo de fragmento los resultados de las concentraciones mostraron diferencias estadísticamente significativas (diferente color). Asimismo, se observa un comportamiento donde a mayor concentración de *P. caerulea* el tiempo de regeneración demandado es menor; por lo que podemos inferir como en otras investigaciones (23) que el efecto de ciertas sustancias, como en este estudio, es indiferente al tipo de fragmento y que resulta ser muy positivo en temas de regeneración de tejidos; al reducir el tiempo de regeneración demandó más de cuatro horas en algunos bloques, que, al ser extrapolados en temas de heridas como las quemaduras, es un tiempo muy valioso y necesario para preservar la salud y vida del paciente.

En la Figura 1 se observa que la concentración de 0,4% de *P. caerulea* promueve una reducción en menor tiempo, sobremanera en los fragmentos superior (131,6 horas) y cefálico (132,4 horas) frente a un blanco de 135,6 y 136,4 horas respectivamente. Asimismo, observamos que los fragmentos superior y cefálico son los fragmentos que regeneran en menor tiempo, con resultados semejantes a los reportados por otras investigaciones (21,22,23). Los fragmentos obtenidos por corte transversal (izquierdo y

derecho) conforman el grupo que demandó mayor tiempo de regeneración, pero incluso en ellos el efecto creciente de la concentración de *P. caerulea* promueve menor tiempo de regeneración.

Dentro del proceso de regeneración de las planarias posinjurias ocurre diferentes contracciones musculares que permiten reducir el área injuriada, a ello prosigue la secreción de una mucosidad con actividad aislante por parte de un grupo de células denominadas rabditos. Seguidamente, el proceso que determinará que ocurra o no la regeneración es la formación de blastema, lo que demanda en promedio de 20 a 30 minutos, tejido especial del que se promueve la formación del fragmento que se necesita regenerar. Esta tarea la realizan los neoblastos, células móviles que se hallan en las planarias y cuyo porcentaje en ellas es en promedio 30%. Una vez ocurrida una injuria se suscita una cadena bioquímica que indica a los neoblastos que deben movilizarse y conformar el blastema (22,23).

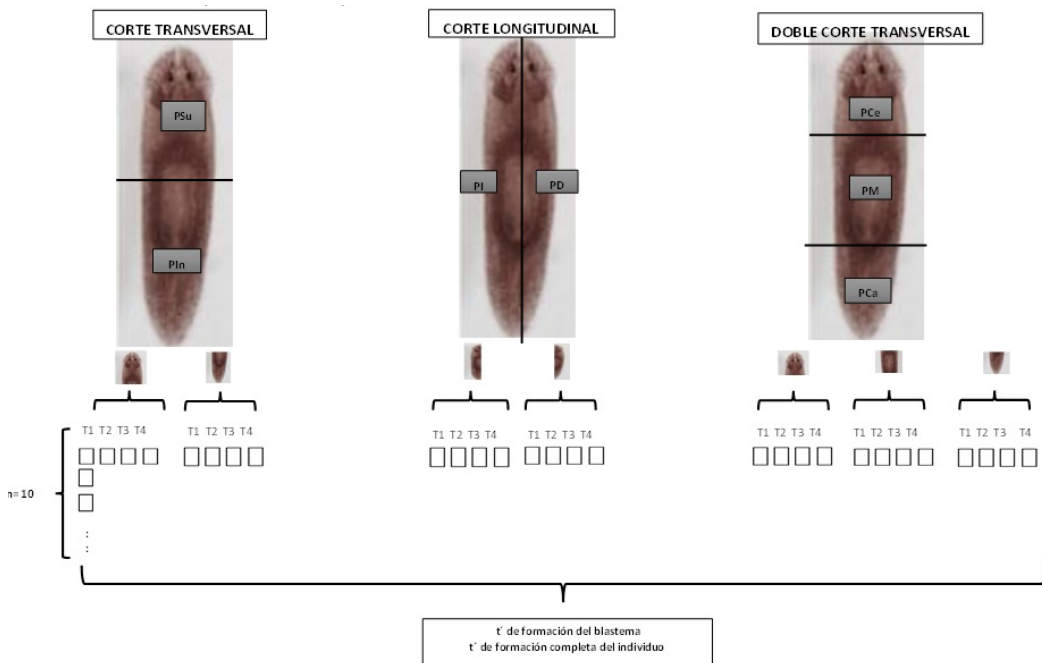
En la Figura 2 se observa el tiempo en minutos que demandó la formación del blastema en los siete tipos diferentes de fragmentos de *G. festae* (superior, inferior, cefálico, medio, caudal, izquierdo y derecho), donde la concentración de 0,4% de *P. caerulea* promovió una re-

ducción en menor tiempo, resaltando en los fragmentos superior (9,6 minutos) y cefálico (10,4 minutos) frente a un blanco de 20,2 y 19,8 minutos respectivamente. Asimismo, se observó que los fragmentos superior, cefálico e inferior son los fragmentos que regeneran en menor tiempo, con resultados semejantes a los reportados por otras investigaciones (21,22,23). Los fragmentos obtenidos por corte transversal (izquierdo y derecho) conforman el grupo que demandó mayor tiempo de regeneración, pero incluso en ellos el efecto creciente de la concentración de *P. caerulea* promueve menor tiempo para la formación del blastema.

CONCLUSIONES

Se evidenció que a mayor concentración de *Persea caerulea* el tiempo demandado para la formación de blastema y del individuo completo se reduce significativamente. La concentración de 0,4% (4g de *Persea caerulea* en 1 litro de agua) permitió un menor tiempo de formación de blastema (9,6' a 14,4') y de individuo completo (131,6 horas a 140,4 horas).

ANEXO. Esquema del diseño experimental:



BIBLIOGRAFÍA

1. Salazar A, Vega Y. Efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum*, sobre lesiones de piel inducidas en *Oryctolagus cuniculus*. (Tesis de bachiller). Universidad Nacional de Trujillo. 2014.
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). Heridas por accidentes de tránsito. 2018. Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/notes/2007/np34/es/>
3. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Heridas por accidentes en el Perú. 2018. Disponible en: https://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=2415:accidentes-transito-son-primera-causa-carga-enfermedad-que-afecta-poblacion-joven&Itemid=900.
4. Ministerio del Ambiente. Conservación en el Perú. 2019. www.minam.gob.pe
5. Mori I. Cuantificación por el método espectrofotométrico de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum*. (Tesis de bachiller). Universidad Nacional de Trujillo. 2009.
6. Mousavi SM, George R, David S, et al. Antibacterial activities of a new combination of essential oils against marine bacteria. *Aquaculture International*. 2011, 19 (1): 205-14.
7. Aldana M, Bravo K, Romero F, Trujillo L. Uso popular terapéutico del *Aloe vera* en úlceras por presión. (Tesis de Título). Universidad Surcolombiana. 2014.
8. Asto S. Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos de hojas de *Plantago australis* de páramo (*Plantago australis*) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*). (Tesis de Título). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2015.
9. Barreno A. Comprobación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*). (Tesis de Título) Escuela Politécnica del Chimborazo. 2016.
10. Lock O. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004. pp. 2, 3,7.
11. Guerrero J, Ortiz S, Peralta L, Pérez F. Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) sobre *Streptococcus mutans*, *S. sanguis* y *S. mitis* frente a clorhexidina. *Rev. Cubana Plantas Med*. 2013, 18(2): 224-36.
12. Alvarado J. Estudio Químico Comparativo de Metabolitos Fijos y Aceite Esencial De *Persea caerulea* (Ruiz & Pav) Mez y Evaluación de su Actividad Biológica. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Colombia, Colombia. 2016.
13. Ferrer H. Aportes al conocimiento taxonómico del género *Persea* (Lauraceae) en Venezuela. *Hoehnea*. 2012, 39(3), 435-78.
14. Marciaz V. Actividad biológica (farmacológica) y/o etnomédica; y compuestos fitoquímicos aislados de algunas especies de los géneros: *Persea*, *Laurus*, *Lindera*, *Aniba*, *Phoebe*, *Nectandra*, *Cassipourea*, *Cinnamomum*, *Licaria*, *Ravensara*, *Pleurothyrium*, *Dehaasia*, *Pollonia*, y *Neolitsea* (Lauraceae). *Duazary*. 2010, 7 (1), 130-51.
15. Hernández P. Regeneración biológica: Secretos de la naturaleza. *Rev.Cub.Hematol.Inmunol.Med.Transf*. 2006, 22(3): 10-7.
16. Zavala C. Metabolismo de las lipoproteínas y significado clínico. Departamento de Medicina Interna, Clínica Las Condes. Elsevier. 2006, 11(4): 20-32.
17. Alvin NT, Ferreira MA, Cabral IE, Almeida-Filho AD. The use of medicinal plants as a therapeutical resource: from the influences of the professional formation to the ethical and legal implications of its applicability as an extension of nursing care practice. *Revista latino-americana de enfermagem*. 2006, 14(3), 316-323.
18. Bely AE. Evolutionary loss of animal regeneration: pattern and process. *Integrative and comparative biology*. 2010, 50(4): 515-27.
19. Almuedo-Castillo M, Sureda-Gómez M, Adell T. Wnt signaling in planarians: new answers to old questions. *Dev. Biol*. 2012, 56(1), 53-65.
20. Saló E, Abril JF, Adell T, Cebrić F, Eckelt K, Fernández-Taboada E, Rodríguez-Esteban G. Planarian regeneration: achievements and future directions after 20 years of research. *International Journal of Developmental Biology*. 2009, 53(8), 1317.
21. Ángulo C. Capacidad de regeneración de *Dugesia tigrina* expuesta a diferentes concentraciones de *Thymus vulgaris*. (Tesis de Título). Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
22. Herrera E. Capacidad de regeneración de *Dugesia tigrina* expuesta a diferentes concentraciones de *Pelargonium roseum*. (Tesis de Título). Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
23. Comejo B, Rodríguez-Soto J, Contreras M, Aspajo C, Calderón A, León E, Escobedo C, Aldama C, Agreda J & M Valverde. Regeneración en *Girardia* sp. (Dugesidae) por efecto de nanopartículas de cobre sintetizadas por ablación láser. *Rev. Arneldea* 27(1): 229-36. 2020.
24. Urrutia A. Efecto de *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi), *Smilax glabra* (Yacón) y *Aloe vera* en el proceso regenerativo de *Dugesia* sp. (Tesis para Título) Universidad Nacional San Agustín. 2015.